

D. 考察

1) DILI 症例エントリーおよび遺伝子検体・血清検体の採取

LAINS を用いたシステムにより抽出された DILI 患者のほとんどは消化器内科のコンサルトを受けていなかったことから、LAINS を用いた患者エントリーと消化器内科コンサルトに基づくシステムを併用することで、より見逃しの少ない患者エントリーが可能となったと考えられる。なお、消化器内科のコンサルトを受けていなかった症例については、別途分担研究者・吉田晴彦講師の監修を受けることで、診断の正確性は確保出来たものと考えている。しかしながら、DILI 発症患者には当初の予測に反して、状態が重篤である患者など、代諾者も含め書面による同意取得が極めて困難な患者が少なくなく、エントリーした患者数は 64 名と少なめであることは否めない。

ただし、方法でも述べたように、本研究の特長として、得られた DILI 発症患者の遺伝子試料および血清試料は、診断の確実性が極めて高く、また、多くの症例において DILI 発症前から回復後までの経時的な血清試料が得られていることから、遺伝子解析のみにとどまらず、後述する DILI 発症メカニズムに関する研究への展開が可能であったと考えられる。さらに、本研究における分析後の残余検体については全てディープフリーザーにおいて凍結保管されていることから、今後の DILI に関する研究において極め

て貴重かつ有用な検体バンクとなると考えられた。

2) DILI 症例のゲノム解析

2.1.薬物動態関連遺伝子の網羅的解析

現在までに集積した DILI 患者の DMET Plus を用いた薬物動態関連遺伝子の網羅的 SNPs 解析の結果、添付資料 2-2 に示すように、主要な薬物代謝酵素、薬物トランスポーターに関しては、DILI 発症患者群と報告されている日本人一般集団との間で SNPs 頻度に有意な差は認められなかった。特に、glutathione *S*-transferase (GST) M1 および GSTT1 に関しては、トログリタゾン誘発性 DILI やカルバマゼピン誘発性 DILI 等との関連性が報告されていること、後述するように本研究において肝臓内グルタチオン濃度の低下が DILI 発症において重要であることが示唆されたこと等から、DILI 発症にある程度一般的に関与する可能性があると考えられたが、今回の検討の結果からは、GSTM1 および GSTT1 の欠損のみでは、一般的な DILI 発症のリスクを説明できないことが示唆された。ただし、グルタチオン合成に関わる γ -グルタミルシステイン合成酵素など、DMET Plus では解析できない遺伝子の多型により肝臓内グルタチオン濃度が変動する可能性もあることから、今後はこれらの遺伝子も解析する価値があると考えられた。

2.2.HLA 遺伝子座の解析

HLA の解析結果を添付資料 2-4 に

示す。ほとんどのハプロタイプの頻度は一般的な日本人集団における頻度と大きな差は認められなかったが、一方で、日本人においては極めて稀な allele である HLA-B*2704、*2405 が 1 例ずつ検出されるなど、興味深い結果も得られている。これらの allele は既に免疫応答に影響を与えることが示されており、DILI 発症リスクとの関連性が疑われたが、95%CI も考慮すると偶然検出された可能性も否定できず、現時点においては、DILI の発症リスクとの関連性が強く示唆される HLA allele は見出されていない。しかしながら、HLA-B*27 allele 等も含め、HLA 遺伝子は免疫応答性に極めて深く関与していることから、今後さらに症例数を増やして解析を行うことにより HLA 遺伝子と DILI 発症リスクの関連性が見出される可能性は残されていると思われる。

2.3.DILI 患者を対象とした GWAS

一方で、添付資料 2-5 に示すように GWAS による解析の結果、45 SNPs (22 遺伝子) において、コントロール群に対して有意な頻度の差が認められた。これらの遺伝子 (特許申請の可能性があるため、具体的な名称は伏せる) では、 P 値は $<10^{-4}$ にとどまっていたことから、明確な結論を得るためには、今後さらに症例数を追加し GWAS を行う必要があると考えられた。

3) 薬物血中濃度一斉分析系の構築と血中濃度測定の実施

血中薬物濃度を測定した結果、血中濃度は通常範囲内である症例が多かったが、添付資料 4-1 に示すように、ITCZ の血中濃度が臨床濃度域を大きく上回り、ITCZ の濃度にはほぼ依存して肝機能マーカーが変動している症例が 2 例見出された。

この 2 症例では、肝機能マーカーの中で ALP 値およびビリルビン値が上昇していたことから、これらの症例では胆汁うっ滞が起こっていることが示唆された (添付資料 4-1)。この 2 症例の ITCZ 服用量は 200mg/日であったが、この濃度は一般的な血中濃度推移と比較して数倍程度の高値であった (添付資料 4-2)。これらの臨床情報から、ITCZ 誘発性 DILI 発症メカニズムの少なくとも一部は ITCZ が濃度依存的に胆汁分泌を阻害することによると考え、次項に考察する一連の研究の着想を得た。

4) イトラコナゾール誘発性 DILI のメカニズム解析と in vitro 肝毒性スクリーニング系の構築

4.1.ラットを用いた胆汁分泌阻害試験

ITCZ 誘発性 DILI 患者において ITCZ トラフ濃度が一般的な日本人平均値より数倍程度高値 (1,500 ~ 2,000ng/mL) であったことから、本研究においては、ラットを用いて、トラフ値より推定される ITCZ のピーク濃度 (7,700ng/mL) を持続させた場合の胆汁分泌の変化を検討した。ラット in vivo おいて認められた胆汁流量の低下および、リン脂質の胆汁分泌の

低下のメカニズムの少なくとも一部は、ITCZ による ABCB4 を介したリン脂質の分泌阻害で説明可能であることが、in vitro のトランスポーター発現系を用いた検討により示された。本研究の結果より示唆される ITCZ の肝障害発現メカニズムを図 10 に示す。

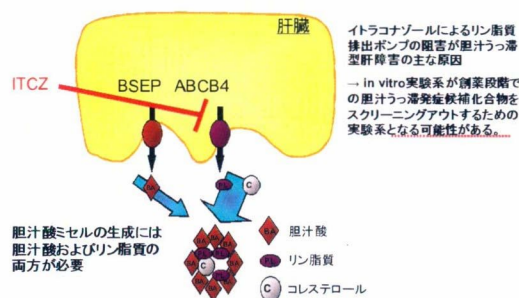


図 10 本研究から推定された ITCZ による肝障害の発症メカニズム

今回の検討においては、予測されるピーク濃度を維持した場合の影響のみを検討しているため、今後は、より低濃度で同様の MDR3 阻害作用が認められるかを検討する必要があると考えている。また、ITCZ による MDR3 の阻害様式が可逆的なものか、非可逆的なものかは明らかでないが、もし非可逆的なものであれば、一時的に高濃度の ITCZ にさらされるだけで、持続的な胆汁分泌の低下を引き起こす可能性が考えられ、今回の臨床症例を説明することが可能となると考えられる。

4.2.リン脂質の分泌阻害に着目した肝障害スクリーニング系の検討

本研究にスクリーニングを実施した 20 種類の薬物の内、7 薬物において、ABCB4 を介したリン脂質の分泌

阻害作用が見出された。また、in vitro で ABCB4 の阻害作用を示す一方、BSEP の阻害作用は有しなかったチクロピジンをラットに投与したところ、胆汁流量は有意に低下し、胆汁中へのリン脂質排泄量は有意に低下したが、胆汁酸排泄量に変化は認められず、in vitro と in vivo に良好な対応が認められた。このことは、本研究において構築した ABCB4 を介したリン脂質輸送評価系が、DILI リスクを予測する手法として有望であることを示唆している。もちろん、薬剤が胆汁うっ滞を引き起こすメカニズムとしては ABCB4 の阻害以外にも様々なメカニズムがあり、ABCB4 阻害作用のみで DILI リスクが予測できる訳ではないが、スクリーニング法の一つとして検討に値するものと確信している。

一方で、添付資料 4-3 に示すように、チクロピジンが胆汁中のグルタチオン分泌を著しく増加させ、肝臓中のグルタチオン濃度が低下することが観察された。この原因は不明であるが、メタボローム解析の結果も考慮すると、チクロピジンによる DILI の発症や増悪の要因の一つとなっている可能性が考えられることから、今後メカニズムに関する詳細な検討が必要となると考えられる。

5) DILI の新規バイオマーカー候補物質の定量分析

5.1.少数検体による検討

DILI 患者の血清検体のメタボローム解析の結果、DILI 発症時には多く

の症例で血清中のオフタルミン酸関連物質の濃度が上昇していることが示された。オフタルミン酸関連物質の濃度上昇と、DILI の被疑薬の化学構造や、DDW-J2004 による薬物性肝障害分類による DILI の分類型との関連性は認められなかった。マウスを用いた検討において、オフタルミン酸は肝臓に酸化ストレスがかかった場合に上昇することが示されていることから、これらの結果は、ヒトにおける DILI においては、ある程度一般的に、肝臓への酸化ストレスが発生していることを示唆するものと考えられた。一方、本研究において実施したメタボローム解析の結果得られたもう一つの重要な発見は、DILI 進展に伴うヒポキサンチン濃度の変動であった。この発見は後述する、DILI の新規治療法の開発に関わる基礎的研究を着想するに至る重要な臨床的知見となった。

5.2. 多検体 DILI の新規バイオマーカー候補物質の定量分析

添付資料 5-2 から明らかのように、DILI 発症患者においては、肝機能マーカーが上昇している際に、血清中の γ -Glu-X_{1~8} の濃度、および total γ -Glu-X 濃度が、コントロール群に比べて全体的に上昇している傾向が認められた。これは、上述のメタボローム解析の結果とも一致しており、血清中 γ -Glu-Xs が肝機能障害のバイオマーカーとして有望であることを示唆するデータであると考えられる。

また、添付資料 5-3 には、DILI 患

者 36 名の血清中 total γ -Glu-Xs 濃度および、ヒポキサンチン濃度の経時的变化を ALT および ALP の経時的变化と並べて示したが、total γ -Glu-Xs 濃度は、肝機能マーカー値と同期、あるいはやや先行して上昇する傾向が見られた。前述のように、血清中 γ -Glu-Xs 濃度の上昇は、肝臓内グルタチオン濃度の低下を反映している可能性が高いことから、これらの結果は、DILI 発症に先立って肝臓内グルタチオン濃度の低下が起こっていることを示唆するものと考えられる。また、興味深いことに、DILI 発症者においては、少数の例外はあるものの、肝機能マーカーの上昇が認められない DILI 発症前の段階においても平均的な total γ -Glu-Xs の濃度は健常人コントロール群の平均値 ($11.1 \pm 2.57 \mu\text{M}$, $n=10$) よりも高い傾向が認められ、DILI を発症する患者では、健常人に比べて肝臓が酸化ストレスにより強くさらされていることを示唆していると考えられる。しかしながら、本研究では、DILI 患者群とコントロール群で年齢に大きな差があることから (DILI 患者群: 59.5 ± 15.5 歳、コントロール群: 23.9 ± 2.60 歳)、加齢による影響を否定できず、今後高齢の健常人を対象としたコントロール群との比較検討が必要と考えられる。

さらに、DILI 患者においては、血清中サイトカイン X 濃度が健常人に比べて上昇しており、また、total γ -Glu-Xs 濃度と同様に、DILI 発症時にはサイトカイン X も ALT 値や ALP と

同期、あるいはやや先行して上昇する傾向が見られた（論文投稿準備中のため、詳細なデータは開示しない）。一方、本研究において、ラットに LPS 前感作後に薬物を投与することで、DILI に非常に類似した肝障害が惹起されることが確認されているが、LPS 投与により肝臓内グルタチオン濃度の低下とサイトカイン X も含めた複数のサイトカインの血清中濃度上昇が確認されていることを考慮すると、何らかの原因により肝臓内グルタチオン濃度の低下と血清中サイトカイン X 濃度の上昇が起こることで、肝臓が薬物（あるいはその代謝物による酸化ストレス）に対して脆弱になり、DILI が発症する、という仮説を考へることも可能である。しかしながら、これらの臨床データや文献情報のみからでは、この仮説を証明することは極めて困難であり、今後 DILI モデル動物を利用した基礎的な研究を積み重ねることが必要であると考えられた。なお、添付資料 5-3 に示すように、ヒポキサンチンは total γ -Glu-Xs とは逆に肝機能マーカーの上昇に同期、あるいはやや先行して低下する傾向が認められたが、この測定結果に関する考察は次項でも述べる。

6) ヒポキサンチンによる DILI 治療効果に関する基礎的研究

6.1. ANIT および CCL₄ 誘発肝障害モデルラットにおける検討

メタボローム解析の結果、ヒトにおいては DILI の進展に伴い、血清中ヒ

ポキサンチン濃度が低下する傾向が認められた（添付資料 5-3）。血清中のヒポキサンチン、イノシンの大部分は肝細胞由来であるため、血清中濃度低下は肝細胞内プールの枯渇を示していると考えられる。そこで、これらの化合物を外部から補うことで、肝障害の進展を抑制することができる可能性を想定して検討を行った。その結果、ANIT 誘発肝障害に対して、ヒポキサンチンおよびイノシンは強力な抑制作用を示した。また、CCL₄ 誘発性肝障害に対してもヒポキサンチンは効果は弱いものの、有意な抑制効果を示した（添付資料 6-2）。一方、同時に検討したグアニン、グアノシン、アデニン、アデノシンにおいては肝障害改善作用は認められなかったことから、これらの作用はヒポキサンチンおよびイノシンに特異的に認められるものと考えられた。文献的には ANIT は胆汁うっ滞を引き起こし、CCL₄ は肝細胞障害を引き起こすことが知られていることから、これらの結果は、肝障害のタイプに関わらず、ヒポキサンチンは肝障害抑制作用を有することを示唆していると考えられる。なお、CCL₄ 誘発性肝障害に対してヒポキサンチンおよびイノシンの肝障害抑制効果が弱かった原因としては、CCL₄ による肝障害が極めて重度であり、ヒポキサンチンおよびイノシンでは完全に抑制できなかった可能性が考えられる。実際 ANIT (50mg/kg) 投与群では 48hr 後の ALT 値は 800IU/L 程度であるが、CCL₄ (25 μ L/kg) 投与群では

2,400IU/L に達しており、CCl₄ 投与群ではより重篤な肝障害が起こっていると考えられる。今後、CCl₄ の投与量を減量し、ANIT (50mg/kg) 投与群と同程度の ALT 値上昇を示す投与量で同様の実験を実施する必要がある。

6.2.臨床使用される薬物による肝障害モデルラットにおける検討

添付資料 6-4 に示すように、LPS による前感作を行った後に VRCZ を投与した場合にのみ ALT に顕著な上昇が認められたことから、本研究で用いた VRCZ 誘発性 DILI モデルラットは臨床における DILI をある程度反映しているモデルであると考えられた。また、VRCZ 誘発 DILI モデルラット、APP 誘発 DILI モデルラットいずれにおいてもヒポキサンチンを皮下投与したところ、ALT 上昇は強力的に抑制されたことから (添付資料 6-5、6-6)、ヒポキサンチンは临床上使用されている薬物により誘発された DILI に対しても高い治療効果を示すものと考えられた。

6.3.ヒポキサンチンの肝障害改善作用のメカニズムに関する検討

上述の検討で明らかとなったヒポキサンチンあるいはイノシンによる肝障害改善効果がヒポキサンチンの直接作用であるのか、もしくはその代謝物による間接作用であるのかを検討する目的でヒポキサンチンの代謝経路阻害実験を行った。ヒポキサンチンは XO によりキサンチンに、HGPRT によりイノシンモノリン酸 (IMP) に代謝されることが知られて

おり、本検討では XO 阻害剤としてアロプリノール、HGPRT 阻害剤として 6-MP を用いた。アロプリノール併用時でもヒポキサンチンの効果は認められた一方で、6-メルカプトプリン併用時では改善効果が消失したことから (添付資料 6-3)、ヒポキサンチンが肝障害改善効果を発揮するには HGPRT による IMP 酸への代謝過程が重要であることが明らかとなった。また、アロプリノール単独投与においても肝障害改善作用が認められているが、これは、アロプリノールが XO を阻害することで、内因性ヒポキサンチンのキサンチンへの代謝が阻害された結果、相対的にヒポキサンチンが IMP へ代謝される割合が増大したことによると考えられる。

一方で、AAP 誘発性 DILI ラットにおいても、6-MP を併用した場合にはヒポキサンチンによる肝障害抑制作用はほぼ消失した (添付資料 6-7)。このことから、AAP による DILI モデルラットにおいても、ヒポキサンチンの DILI 治療作用が発現するためには、ヒポキサンチンが HGPRT により代謝される必要があると考えられた。このことは、XO 阻害剤であるアロプリノールのみを投与した場合においてもヒポキサンチンとほぼ同程度の肝障害改善作用が認められたことから支持される (添付資料 6-7)。すなわち、XO を阻害することにより、ヒポキサンチンの XO を介した代謝が低下することで、相対的に HGPRT を介した IMP の上昇が起こっていることが推

察された。

6.4. ヒポキサンチン投与による肝臓内 ATP 濃度の変動の検討

ヒポキサンチンは HGPRT により IMP に代謝されるが、IMP は、DNA 合成に必要なプリン塩基 (AMP および GMP) の重要な前駆物質であり、ヒポキサンチンの肝障害改善作用としては、肝細胞内 IMP 濃度を上昇させることにより RNA およびタンパク質合成が亢進し、障害された細胞の修復が効率的に進行することによると考えられた。そこで、その可能性を検証するため、AAP 投与ラットにヒポキサンチンを投与後に肝臓中 ATP 濃度を測定したところ、添付資料 6-8 に示すように、AAP 投与により低下した肝臓中 ATP 濃度は、AAP 投与後にヒポキサンチンを投与することで、コントロール群と同程度まで回復するが、AAP と同時に 6-MP を投与した場合、ヒポキサンチンによる肝臓中 ATP 濃度の回復は認められなかった。上述の実験事実から、ヒポキサンチンの作用メカニズムとして、細胞内 IMP 濃度上昇による RNA やタンパク質の合成促進が関与していると考えられた。ことから、ヒポキサンチンによる DILI の治療効果の発現には HGPRT により代謝されることが必須であると考えられた (図 11)。

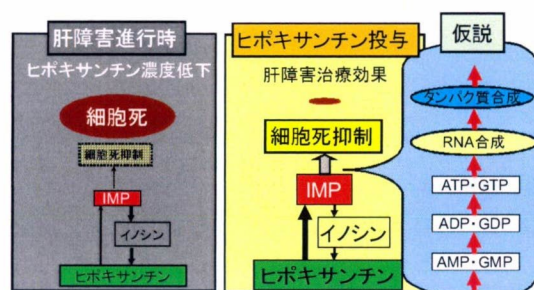


図 11 ヒポキサンチンによる肝障害改善作用の発現メカニズムの仮説

この仮説をさらに強固に実証するためには、放射性同位体標識ヒポキサンチンを投与した後に肝細胞に RNA として取り込まれた放射活性を測定するなど実験を実施する必要があると考えている。今後、より詳細なメカニズムの検証が必要ではあるが、これらの結果はヒポキサンチンやイノシンが DILI の治療薬として有望であることを示唆していると考えられる。

7) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義および今後の活用について

本研究の最も特徴的な点は、DILI 発症患者の遺伝子解析 (ゲノム解析) を行うと同時に、DILI 発症前後の血清検体も収集し、薬物血中濃度測定およびメタボローム解析を実施した点である。すなわち遺伝子情報 (ゲノム情報) という常に不変の情報の解析に加え、DILI の発症から回復に至る経時的サンプルの薬物濃度解析、内因性物質の濃度変動の解析、というダイナミックな観点からのアプローチを加えることで、DILI の発症機構の本質の解明に迫ろうとする点に学術的な特色を見出すことができる。これまで

に、DILI 発症患者の経時的な生体内反応の変化を総合的に解析しようとする試みは国際的にも全く例が無く、本研究により得られた知見の学術的・国際的意義は極めて高いものと確信している。事実、本報告書で述べた胆汁うっ滞型 DILI の発症メカニズムの解析や、ヒポキサンチンによる肝障害改善作用の発見、DILI の発症におけるグルタチオンの役割に関する解析は、国際的に見ても類を見ない独創的な研究成果であるが、本研究において、DILI の発症から回復に至る経時的な血清検体の収集が可能であったからこそ達成可能であったと確信している。

今後、本研究の成果は学術論文、国内外の学会発表等の形で公表される予定である。また本研究において集積された DILI 患者症例情報はデータベース化され、国内外の研究者が利用可能とする予定である。本研究で得られた重要な知見を基に、DILI に関する研究がさらに活性化することが期待される。

E. 結論

本研究は、ゲノム解析による DILI の発症に関わる遺伝的素因の同定、血中薬物濃度測定に基づく DILI の発症メカニズムの解明を主要な目的として 3 年計画で実施された。

ゲノム解析の結果、DILI の遺伝的素因の確定には至らなかったものの、DMET Plus による解析、HLA 遺伝子座の解析、および GWAS 等の手法を駆使することで、DILI のリスクに関連する可能性のある候補遺伝子を見出すなど、重要な結果が得られた。

一方、薬物濃度測定からは、胆汁うっ滞型 DILI を発症した患者において ITCZ 血中濃度が上昇していたことを手がかりに検討を重ね、ITCZ が胆汁中へのリン脂質排出を担う ABCB4 を阻害することを突き止めた。また、ABCB4 機能の in vitro 解析系を確立し、新規の肝毒性スクリーニング系として有用であることを示すなど極めて重要な進捗があった。

さらに、平成 20 年度より順次開始したメタボローム解析により、DILI

の進展に伴って γ -Glu-Xs やヒポキサンチン濃度が変動することを見出したことにより、DILI の発症メカニズムに関する研究は飛躍的に進捗した。まず、DILI の発症には肝臓内グルタチオン濃度が極めて重要であり、DILI 発症患者では肝臓内グルタチオン濃度が低下していることを示唆する知見を得た。一方で、ヒポキサンチンの測定データからは DILI 発症時には肝臓内の核酸代謝が変化していることが示唆され、詳細な検討の結果、DILI の進展には肝臓内 ATP 濃度が非常に重要であることを示唆する知見を得ている。さらには、ヒポキサンチン投与により肝臓内 ATP 濃度を維持することで、DILI の発症が抑えられることを示し、DILI の治療法開発に繋がりを果している。

図 12 に示すように、本研究により得られた知見は、DILI の克服に直接貢献すると共に、広く国内外の研究者に発信することで、DILI 研究をさらに加速させる役割をも担う、極めて重要な研究成果であると確信している。

図12 今後の展望・社会への影響



F. 健康危険情報

該当ありません。

G. 研究発表

以下には本研究の研究期間内に出版された論文リスト、および学会発表のリストを示す。

【原著論文】

1. Honma M, Kozawa M, Suzuki H: Methods for the quantitative evaluation and prediction of cyp enzyme induction using human in vitro systems. *Expert Opinion on Drug Discovery* 5(5); 491-511, 2010
2. Hisaka A, Ohno Y, Yamamoto T, Suzuki H: Theoretical considerations on quantitative prediction of drug-drug interactions. *Drug Metab Pharmacokinet* 2010;25 48-61.
3. Hisaka A, Ohno Y, Yamamoto T, Suzuki H: Prediction of pharmacokinetic drug-drug interaction caused by changes in cytochrome p450 activity using in vivo information. *Pharmacol Ther* 2010;125:230-248.
4. Ikebuchi Y, Takada T, Ito K, Yoshikado T, Anzai N, Kanai Y, Suzuki H: Receptor for activated c-kinase 1 regulates the cellular localization and function of abcb4. *Hepato Res* 2009;39:1091-1107.
5. Hisaka A, Kusama M, Ohno Y, Sugiyama Y, Suzuki H: A proposal for a pharmacokinetic interaction significance classification system (PISCS) based on predicted drug exposure changes and its potential application to alert classifications in product labelling. *Clin Pharmacokinet* 2009;48:653-666.
6. Kozawa M, Honma M, Suzuki H. Quantitative prediction of in vivo profiles of CYP3A4 induction in humans from in vitro results with reporter gene assay. *Drug Metab Dispos* 2009;37:1234-1241
7. Kobayashi K, Ito K, Takada T, Sugiyama Y, Suzuki H. Functional analysis of nonsynonymous single nucleotide polymorphism type ATP-binding cassette transmembrane transporter subfamily C member 3. *Pharmacogenet Genomics* 2008; 18: 823-833.
8. Ohno Y, Hisaka A, Ueno M and Suzuki H. General framework for the prediction of oral drug interactions caused by CYP3A4 induction from in vivo information. *Clin Pharmacokinet* 2008 ;47 ;669-680.
9. Ohno Y, Hisaka A and Suzuki H. General framework for the quantitative prediction of

CYP3A4-mediated oral drug interactions based on the AUC increase by coadministration of standard drugs. Clin Pharmacokinet. 2007;46(8): 681-96.

【総説・著書】

1. 樋坂章博, 鈴木洋史: 代謝酵素, トランスポーターによる薬物間相互作用, 個人間変動が薬効, 副作用に与える影響の解析. 創薬科学の魅力 - 東京大学大学院薬学系研究科からの発信 - 杉山雄一ほか編集 2010; 広川書店: 399-419.
2. 山本武人, 鈴木洋史: 抗がん剤の薬物体内動態・薬物毒性と薬理ゲノミクス. 最新医学 臨床遺伝子学'09 2009; 第64巻
3. 山本武人, 鈴木洋史. Pharmacogenomics と小児医療. 小児内科 2008; 40: 18-23.
4. 山本武人, 樋坂章博, 鈴木洋史. ゲノムと薬物代謝. 最新医学 2007; 62(9): 210-220
5. 山本武人, 鈴木洋史. 薬物体内動態の個人差と遺伝素因. ゲノム医学 2007; 7(3): 39-44

【学会発表】

1. 大久保聡, 山本武人, 樋坂章博, 中島克佳, 小林大介, 鈴木洋史: ポリコナゾール投与患者において認められた体内動態の非線形性に関する研究. 日本薬学会第130年会 2010年3月28日~30日; 岡山
2. 山本奈央子, 本間雅, 鈴木洋史:

チロシンキナーゼ阻害薬の副作用発現における、オプターゲット阻害の重要性. 日本薬学会第130年会 2010年3月28日~30日; 岡山

3. Suzuki H, Yoshikado T, Yamamoto T, Yamaji H, Ito K, Takada T: Effect of itraconazole on the biliary secretion of phospholipids in vitro and in vivo. 3rd FEBS Special Meeting ABC2010 2010年2月27日~3月5日; Innsbruck, Austria
4. 小沢政成, 本間雅, 千葉厚, 曾我朋義, 吉田晴彦, 山本武人, 池淵祐樹, 伊藤晃成, 鈴木洋史: ラット肝障害モデルに対するヒポキサントンの肝障害発症抑制効果の検討. 第24回日本薬物動態学会 2009年11月27~29日; 京都
5. 山本武人, 本間雅, 曾我朋義, 徳永勝士, 松下正毅, 横田浩充, 矢富裕, 吉田晴彦, 後藤順, 辻省次, 鈴木洋史: 薬物誘発性肝障害患者のゲノム・メタボローム解析. 第24回日本薬物動態学会 2009年11月27~29日; 京都
6. 山本奈央子, 本間雅, 鈴木洋史: Egfrキナーゼ阻害薬による皮膚毒性発現メカニズムの解析. 第24回日本薬物動態学会 2009年11月27~29日; 京都
7. 清水秀俊, 伊藤晃成, 鈴木洋史: ウルソデオキシコール酸による胆管形態変化. 第31回胆汁酸研究会 2009年11月7日; 東京
8. 吉門崇, 高田龍平, 山本武人, 山

- 道寛子, 伊藤晃成, 三田智文, 鈴木洋史: 胆汁脂質輸送体発現系を用いた薬物誘発性胆汁うっ滞のメカニズム解析. 第31回胆汁酸研究会 2009年11月7日;東京
9. 本間雅, 千葉厚, 山本武人, 曾我朋義, 横田浩充, 矢富裕, 吉田晴彦, 後藤順, 辻省次, 鈴木洋史: 薬物性肝障害の新規治療法の検討. 第17回クリニカルファーマシーシンポジウム 2009年7月11~12日;京都
 10. 本間雅, 千葉厚, 山本武人, 曾我朋義, 横田浩充, 矢富裕, 吉田晴彦, 後藤順, 辻省次, 鈴木洋史: 臨床で観察される薬物誘発性肝障害の解析(2). 日本薬剤学会第24年会 2009年5月21-23日;静岡
 11. 山本武人, 本間雅, 曾我朋義, 徳永勝士, 松下正毅, 横田浩充, 矢富裕, 吉田晴彦, 後藤順, 辻省次, 鈴木洋史: 臨床で観察される薬物誘発性肝障害の解析(1): 薬物誘発性肝障害患者を対象としたゲノム・メタボローム解析. 日本薬剤学会第24年会 2009年5月21-23日;静岡
 12. 吉門崇, 高田龍平, 山本武人, 山道寛子, 伊藤晃成, 三田智文, 横田浩充, 矢富裕, 吉田晴彦, 後藤順, 辻省次, 鈴木洋史: 臨床で観察される薬物誘発性肝障害の解析(3): 胆汁形成阻害を介したイトラコナゾール誘発性肝障害: 日本薬剤学会第24年会, 2009年5月21-23日, 静岡,
 13. 千葉厚, 本間雅, 山本武人, 鈴木洋史. 薬物性肝障害に対する治療法の検討. 日本薬学会第129年会 2009年3月26日~28日; 京都..
 14. 吉門崇, 高田龍平, 山本武人, 山道寛子, 伊藤晃成, 三田智文, 鈴木洋史. イトラコナゾールによる胆汁脂質輸送体阻害の検討. 日本薬学会第129年会 2009年3月26日~28日; 京都..
 15. Suzuki H, Yoshikado T, Ito K and Takada T. Functional analysis of ABCB4 and its mutants in vitro. 2nd FEBS Special Meeting ABC2008, Innsbruck, Austria. Mar. 1~8, 2008
 16. Yoshikado T, Takada T, Ito K and Suzuki H. Characterization of cholestatic ABCB4 mutants using in vitro adenovirus expression system. 8th International ISSX Meeting, Sendai, Japan. Oct. 9~12, 2007
- H. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 曾我朋義, 杉本昌弘, 末松誠, 本間雅, 山本武人, 鈴木洋史 「肝臓疾患マーカー、その測定方法、装置及び医薬品の検定方法」、国際特許出願、PCT/JP2009/069950
 2. 本間雅, 鈴木洋史, 山本武人, 千葉厚, 辻省次, 曾我朋義 「肝疾患診断剤及び予防治療剤」 特願 2009-025464
 3. 曾我朋義, 本間雅, 鈴木洋史, 山本武人, 末松誠 「薬剤性肝炎マーカー、並びに、それらの利用方法」 特願 2008-328133

別添 3

4. 本間雅、鈴木洋史、山本武人、千葉厚、辻省次、曾我朋義 「肝疾患 予 防 治 療 剤」 特 願
2008-322262

表 1-1 本研究で集積した DILI 患者のサマリー

匿名化 I.D.	年齢 (歳)	性別	被疑薬
HT_01	43	M	特定できず
HT_02	71	M	ポリコナゾール等
HT_03	38	M	フェニトイン等
HT_04	76	M	セフォチアム等
HT_05	69	F	イトラコナゾール等
HT_06	83	M	ゾピクロン他
HT_07	71	M	ランソプラゾール等
HT_08	59	M	オメプラゾール等
HT_09	41	M	ロフラゼフ酸エチル等
HT_10	73	F	ミアンセリン等
HT_11	78	F	クラリスロマイシン等
HT_12	45	M	イトラコナゾール等
HT_13	79	F	ワルファリン等
HT_15	70	M	脂肪乳剤等
HT_16	37	F	イトラコナゾール等
HT_17	71	F	脂肪乳剤等
HT_18	28	M	スプラタスト等
HT_19	35	F	特定できず
HT_20	78	M	エナラプリル等
HT_21	76	F	クロピドグレル等
HT_22	74	M	セフメタゾン等
HT_23	71	F	オメプラゾール等
HT_24	74	M	バンコマイシン等
HT_25	63	M	ミゾピリン等
HT_26	52	M	バンコマイシン
HT_27	77	M	特定できず
HT_28	49	M	特定できず
HT_29	59	F	ポリコナゾール等
HT_30	41	F	タクロリムス等
HT_31	64	M	バルサルタン
HT_32	64	M	ST 合剤、ファモチジン等
HT_33	67	M	化学療法剤等
HT_34	63	M	ベンズブロマロン、AraC 等

次ページへ

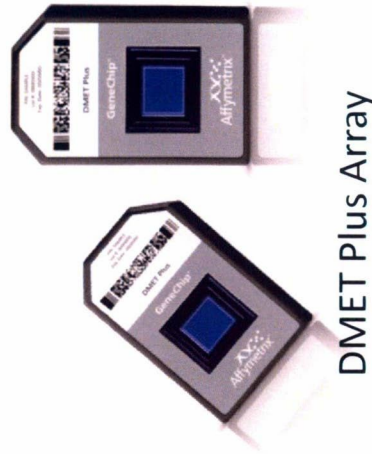
添付資料 1-1

前ページより			
HT_35	62	M	ST 合剤、ファモチジン等
HT_36	67	M	化学療法剤等
HT_37	65	F	シタラビン
HT_38	62	M	セファゾリン
HT_39	61	F	アセトアミノフェン
HT_40	63	M	ファモチジン、タゾバクタム、ピペラシリン
HT_41	73	M	化学療法剤等
HT_42	57	F	ST 合剤等
HT_43	63	F	NSAIDs
HT_44	54	M	ベンズプロマロン
HT_45	70	M	カルベジロール
HT_47	23	M	セフメタゾール
HT_49	44	F	リトドリン
HT_50	72	F	セファゾリン
HT_51	35	M	ファモチジン、プレドニゾロン
HT_52	58	F	タゾバクタム、ピペラシリン等
HT_53	32	M	イトラコナゾール、ポリコナゾール
HT_54	74	M	微量金属製剤等
HT_55	43	F	フルコナゾール、メロペネム
HT_56	66	F	サイモグロブリン
HT_57	63	F	ゼヴァリン
HT_60	39	F	セフェピム
HT_61	35	F	ST 合剤、イマチニブ他
HT_62	37	F	ST 合剤、アトルバスタチン他
HT_63	76	M	ST 合剤
HT_65	40	F	ゲムシタビン
HT_67	77	M	スルバクタム、アンピシリン
HT_68	75	F	特定できず
HT_69	46	M	フルバスタチン、メトホルミン
HT_70	58	M	セファゾリン
HT_71	79	M	ワルファリン、トピラマート、クロナゼパム

匿名化 I.D. は同意撤回などの影響で必ずしも連続していない。

DMET Plusにより判定可能な薬物動態関連遺伝子

Gene Symbol	Gene Symbol	Gene Symbol	Gene Symbol	Gene Symbol
ABCB1	CHST5	CYP4F12	NQO1	SLC6A6
ABCB11	CHST6	CYP4F2	NR112	SLC7A5
ABCB4	CHST7	CYP4F3	NR113	SLC7A7
ABCB7	CHST8	CYP4F8	NR3C1	SLC7A8
ABCC1	CHST9	CYP4Z1	ORM1	SLCO1A2
ABCC2	COMT	CYP51A1	ORM2	SLCO1B1
ABCC3	CROT	CYP7A1	PNMT	SLCO1B3
ABCC4	CYP11A1	CYP7B1	PON1	SLCO2B1
ABCC5	CYP11B1	CYP8B1	PON2	SLCO3A1
ABCC6	CYP11B2	DKK	PON3	SLCO4A1
ABCC8	CYP17A1	DPYD	POR	SLCO5A1
ABCC9	CYP19A1	EPHX1	PPARD	SPG7
ABCG1	CYP1A1	EPHX2	PPARG	SULT1A1
ABCG2	CYP1A2	FAAH	PTGIS	SULT1A2
ABP1	CYP1B1	FMO1	RALBP1	SULT1A3
ADH1A	CYP20A1	FMO2	RPL13	SULT1B1
ADH1B	CYP21A2	FMO3	RXRA	SULT1C1
ADH1C	CYP24A1	FMO4	SEC15L1	SULT1C2
ADH4	CYP26A1	FMO5	SERPINA7	SULT1E1
ADH5	CYP27A1	FMO6	SETD4	SULT2A1
ADH6	CYP27B1	G6PD	SLC10A1	SULT2B1
ADH7	CYP2A13	GSTA1	SLC10A2	SULT4A1
AHR	CYP2A6	GSTA2	SLC13A1	TBXA1
AKAP9	CYP2A7	GSTA3	SLC15A1	TPMT
ALB	CYP2B6	GSTA4	SLC15A2	TPSG1
ALDH1A1	CYP2B7	GSTA5	SLC16A1	TYMS
ALDH2	CYP2B7P1	GSTM1	SLC19A1	UGT1A1
ALDH3A1	CYP2C18	GSTM2	SLC22A1	UGT1A10
ALDH3A2	CYP2C19	GSTM3	SLC22A11	UGT1A3
AOX1	CYP2C8	GSTM4	SLC22A12	UGT1A4
ARNT	CYP2C9	GSTM5	SLC22A13	UGT1A5
ARSA	CYP2D6	GSTO1	SLC22A14	UGT1A6
ATP7A	CYP2E1	GSTP1	SLC22A2	UGT1A7
ATP7B	CYP2F1	GSTT1	SLC22A3	UGT1A8
CBR1	CYP2J2	GSTT2	SLC22A4	UGT1A9
CBR3	CYP2S1	GSTZ1	SLC22A5	UGT2A1
CDA	CYP39A1	HMGCR	SLC22A6	UGT2B11
CES2	CYP3A4	HNMT	SLC22A7	UGT2B15
CHST1	CYP3A43	MAOA	SLC22A8	UGT2B17
CHST10	CYP3A5	MAOB	SLC28A1	UGT2B28
CHST11	CYP3A7	MAT1A	SLC28A2	UGT2B4
CHST13	CYP46A1	METTL1	SLC28A3	UGT2B7
CHST2	CYP4A11	NAT1	SLC29A1	UGT8
CHST3	CYP4B1	NAT2	SLC29A2	VKORC1
CHST4	CYP4F11	NNMT	SLC5A6	XDH



GeneChip Scanner 3000 7G system

薬物動態に関連する225遺伝子のSNPsを一斉解析可能である。

表 2-1-A 本研究における DILI 患者を対象とした DMET Plus によるタイプリング結果-1

CYP1A2 (n=120)									
アリル	*1	others	*4	*8	*9	*7	*6	*5	*3
頻度 (%)	100.0	0.00							
[95% CI]	[98.0-100.0]	[0.00-2.00]							
対照 (%)	98.6	1.40							
CYP2A6 (n=110)									
アリル	*1	*4	*8	*9	*7	*6	*5	*3	*2
頻度 (%)	73.6	3.64	1.82	21.8					
[95% CI]	[65.4-81.9]	[0.14-7.13]	[0.00-4.32]	[14.1-29.5]					
対照 (%)									
CYP2B6 (n=118)									
アリル	*1	*2	*4	*5	*7	*6	*5	*3	*2
頻度 (%)	80.5	1.69	0.85	0.85	15.3	0.85			
[95% CI]	[73.4-87.7]	[0.00-4.02]	[0.00-2.50]	[0.00-2.50]	[8.77-21.7]	[0.00-2.50]			
対照 (%)									
CYP2C19 (n=128)									
アリル	*1	*2	*3	*4	*5	*6	*7	*8	*9
頻度 (%)	58.6	30.5	10.9						
[95% CI]	[50.1-67.1]	[22.5-38.4]	[5.53-16.3]						
対照 (%)	53.90	35.00	11.10						
CYP2C9 (n=128)									
アリル	*1	*3	*5	*7	*9	*8	*6	*4	*2
頻度 (%)	96.1	1.56	0.78						
[95% CI]	[92.6-99.5]	[0.00-3.71]	[0.00-2.31]						
対照 (%)	98.2	1.80	N.R.						
CYP2D6 (n=128)									
アリル	*1	*2	*10	*14	*18	*13	*11	*9	*8
頻度 (%)	41.4	18.8	35.9	0.78					
[95% CI]	[32.6-49.9]	[11.8-25.5]	[27.4-44.3]	[0.00-2.31]					
対照 (%)	40.1	13.0	38.6	N.R.					
CYP3A4 (n=128)									
アリル	*1	*7	*6	*5	*4	*3	*2	*1	*8
頻度 (%)	97.7	2.34							
[95% CI]	[95.0-100.0]	[0.00-4.96]							
対照 (%)	98.7	1.30							
CYP3A5 (n=126)									
アリル	*1	*3	*5	*6	*7	*8	*9	*10	*11
頻度 (%)	22.2	77.0	0.00						
[95% CI]	[15.0-29.48]	[69.6-84.3]	[0.00-2.34]						
対照 (%)	23.3	76.8	0.00						

対照としては、過去に報告のある日本人における遺伝子解析結果を示す。N.R.: 報告なし

表 2-1-B 本研究における DILI 患者を対象とした DMET Plus によるタイプピンング結果-2

TPMT (n=128)										
ABCC2 (n=128)		*1	*2	*3	*4	アリル		*1	*3	
頻度 (%)		89.8	7.03	1.56	1.56	頻度 (%)		100.0	0.00	
[95% CI]		[84.6-95.1]	[2.60-11.5]	[0.00-3.71]	[0.00-3.71]	[95% CI]		[98.0-100.0]	[0.00-2.00]	
対照 (%)		86.9	9.30	1.90	0.80	対照 (%)		99.2	0.80	
GSTM1 (n=63)										
ABCG2 (n=124)		*1	*2			発現パターン		Wild	Null	
頻度 (%)		62.1	37.9			頻度 (%)		47.6	52.4	
[95% CI]		[53.6-70.6]	[29.4-46.4]			[95% CI]		[35.3-60.0]	[95% CI]	
対照 (%)		45.3	31.9			対照 (%)		52.90	47.10	
GSTT1 (n=64)										
NAT2 (n=128)		*4	*5	*6	*7	*12	発現パターン		Wild	Null
頻度 (%)		72.7	2.34	15.63	7.81	1.56	頻度 (%)	59.4	40.6	
[95% CI]		[64.9-80.4]	[0.00-4.96]	[9.33-21.9]	[3.16-12.5]	[0.00-3.71]	[95% CI]	[47.3-71.4]	[28.6-52.7]	
対照 (%)		44.0	N.R.	3.20	19.00	N.R.	対照 (%)	61.1	38.80	
GSTM1/GSTT1 (n=63)										
SULT1A1 (n=128)		*1	*2			M1 type/T1 type		W/W	W/N	N/N
頻度 (%)		87.5	12.5			頻度 (%)		25.4	22.2	33.3
[95% CI]		[81.8-93.2]	[6.77-18.2]			[95% CI]		[14.7-36.2]	[95% CI]	[21.7-45.0]
対照 (%)		83.50	16.50			対照 (%)		29.0	24.0	32.0

対照としては、過去に報告のある日本人における遺伝子解析結果を示す。N.R.: 報告なし

表 2-2-A 本研究における DILI 患者の HLA クラス I 遺伝子座の解析結果 (53 症例, 106 アリル)

Sample	HLA-A 遺伝子		HLA-B 遺伝子		HLA-Cw 遺伝子	
	遺伝子型	セロタイプ	遺伝子型	セロタイプ	遺伝子型	セロタイプ
HT1	*2402/*3303	A24/A33	*4403/*5201	B44/B52	*1202/*1403	Blank/blank
HT2	*0101/*2601	A1/A26	*5201/*5502	B52/B55	*0303/*1202	Cw9/blank
HT3	*1101/*3303	A11/A33	*5801/*6701	B58/B67	*0302/*0702	Cw10/Cw7
HT4	*2402/*2402	A24/A24	*0702/*4002	B7/B61	*0304/*0702	Cw10/Cw7
HT5	*2402/*2602	A24/A26	*4006/*5201	B61/B52	*0801/*1202	Cw8/blank
HT6	*0206/*2402	A2/A24	*4001/*5901	B60/B59	*0102/*0304	Cw1/Cw10
HT7	*2402/*2402	A24/A24	*0702/*1518	B7/B71	*0702/*0801	Cw7/Cw8
HT8	*0206/*2402	A2/A24	*1518/*2704	B71/B27	*0704/*1202	Cw7/blank
HT9	*0201/*2402	A2/A24	*1511/*3501	B75/B35	*0303/*0801	Cw9/Cw8
HT10	*2402/*3101	A24/A31	*2705/*5201	B27/B52	*0102/*1202	Cw1/blank
HT11	*0207/*2402	A2/A24	*4601/*5201	B46/B52	*0102/*1202	Cw1/blank
HT12	*2402/*2402	A24/A24	*0702/*5201	B7/B52	*0702/*1202	Cw7/blank
HT13	*2402/*2402	A24/A24	*0702/*4601	B7/B46	*0102/*0702	Cw1/Cw7
HT15	*2402/*3101	A24/A31	*0702/*5601	B7/B56	*0401/*0702	Cw4/Cw7
HT16	*2402/*3101	A24/A31	*5101/*5101	B51/B51	*1402/*1502	Blank/blank
HT17	*2602/*3101	A26/A31	*1501/*5101	B62/B51	*0303/*1402	Cw9/blank
HT18	*0201/*3101	A2/A31	*4002/*5101	B61/B51	*0304/*1402	Cw10/blank
HT19	*1101/*2601	A11/A26	*3901/*5601	B39/B56	*0102/*0702	Cw1/Cw7
HT20	*0201/*2402	A2/A24	*3501/*5504	B35/B55	*0303/*0303	Cw9/Cw9

表 2-2-A (続き)

Sample	HLA-A 遺伝子			HLA-B 遺伝子			HLA-Cw 遺伝子		
	遺伝子型	セロタイプ	遺伝子型	セロタイプ	遺伝子型	セロタイプ	遺伝子型	セロタイプ	
HT21	*2402/*2402	A24/A24	*3501/*4001	B35/B60	*0303/*0304	Cw9/Cw10			
HT22	*0201/*0210	A2/A210/A2	*3501/*4006	B35/B61	*0303/*0801	Cw9/Cw8			
HT23	*1101/*2402	A11/A24	*4801/*4801	B48/B48	*0801/*0803	Cw8/Cw8			
HT24	*0206/*2402	A2/A24	*5201/*5502	B52/B55	*0102/*1202	Cw1/blank			
HT25	*0207/*2602	A2/A26	*4006/*5201	B61/B52	*0801/*1202	Cw8/blank			
HT26	*2402/*3303	A24/A33	*1518/*440301	B71/B44	*0704/*1403	Cw7/Cw1/blank			
HT27	*0301/*2402	A3/A24	*4402/*4801	B44/B48	*0501/*0803	Cw5/Cw8			
HT28	*2402/*2402	A24/A24	*4006/*5401	B61/B54	*0102/*0801	Cw1/Cw8			
HT29	*1101/*3101	A11/A31	*4002/*670101	B61/B67	*0304/*0702	Cw10/Cw7			
HT30	*0206/*2601	A2/A26	*3501/*4002	B35/B61	*0303/*0303	Cw9/Cw9			
HT31	*0201/*3101	A2/A31	*1511/*4001	B75/B60	*0303/*0304	Cw9/Cw10			
HT32	*2402/*3303	A24/A33	*440301/*5101	B44/B51	*1402/*1403	Cw1/bla/nk/Cw1/blank			
HT34	*0206/*1101	A2/A11	*1501/*4001	B62/B60	*0304/*0401	Cw10/Cw4			
HT35	*2402/*3101	A24/A31	*5101/*5201	B51/B52	*1202/*1402	Blank/Cw1/blank			
HT36	*0206/*2402	A2/A24	*5101/*5201	B51/B52	*1202/*1402	Blank/Cw1/blank			
HT37	*2402/*3303	A24/A33	*5201/*5801	B52/B58	*0302/*1202	Cw10/blank			
HT38	*0207/*2402	A2/A24	*5201/*5201	B52/B52	*1202/*1202	Blank/blank			
HT40	*2402/*2402	A24/A24	*5401/*5601	B54/B56	*0102/*0102	Cw1Cw1			
HT41	*2402/*3101	A24/A31	*0702/*3501	B7/B35	*0702/*0801	Cw7/Cw8			