

表1 3-1-10 細胞 (CYP3A4) を用いた市販のサプリメントの酵素誘導効果

		Fold of Induction			Fold of Induction
Rifampicin	(F.C) 0.1 μ M-Rifampicin	1.248	製品6	1/1000添加量	1.248
	(F.C) 0.4 μ M-Rifampicin	2.015		1/250添加量	1.001
	(F.C) 1.0 μ M-Rifampicin	11.144		1/100添加量	1.890
製品1	1/1000添加量	14.425	製品7	1/1000添加量	1.184
	1/250添加量	35.868		1/250添加量	2.537
	1/100添加量	11.444		1/100添加量	1.990
製品2	1/1000添加量	1.543	製品8	1/1000添加量	3.265
	1/250添加量	4.683		1/250添加量	1.687
	1/100添加量	22.165		1/100添加量	8.609
製品3	1/1000添加量	0.953	製品9	1/1000添加量	7.776
	1/250添加量	11.167		1/250添加量	1.949
	1/100添加量	8.912		1/100添加量	11.710
製品4	1/1000添加量	1.246	製品10	1/1000添加量	2.934
	1/250添加量	4.967		1/250添加量	2.273
	1/100添加量	24.748		1/100添加量	2.400
製品5	1/1000添加量	3.369	製品11	1/1000添加量	7.395
	1/250添加量	16.367		1/250添加量	2.349
	1/100添加量	28.265		1/100添加量	3.641

製品12	1/1000添加量	0.794	製品19	1/1000添加量	2.263
	1/250添加量	1.400		1/250添加量	3.284
	1/100添加量	1.839		1/100添加量	10.825
製品13	1/1000添加量	1.474	製品20	1/1000添加量	3.229
	1/250添加量	0.840		1/250添加量	2.302
	1/100添加量	1.081		1/100添加量	2.764
製品14	1/1000添加量	0.764	製品21	1/1000添加量	3.040
	1/250添加量	1.017		1/250添加量	7.134
	1/100添加量	1.105		1/100添加量	17.321
製品15	1/1000添加量	0.784	製品22	1/1000添加量	2.377
	1/250添加量	0.895		1/250添加量	2.006
	1/100添加量	0.817		1/100添加量	3.009
製品16	1/1000添加量	1.046	製品23	1/1000添加量	1.866
	1/250添加量	1.485		1/250添加量	8.579
	1/100添加量	1.819		1/100添加量	-4.251
製品17	1/1000添加量	0.992	製品24	1/1000添加量	2.143
	1/250添加量	1.037		1/250添加量	1.934
	1/100添加量	1.314		1/100添加量	7.371
製品18	1/1000添加量	1.119	製品25	1/1000添加量	2.171
	1/250添加量	1.021		1/250添加量	2.227
	1/100添加量	2.634		1/100添加量	5.234

製品26	1/1000添加量	2 926	製品33	1/1000添加量	1 996
	1/250添加量	2 522		1/250添加量	1 660
	1/100添加量	3 707		1/100添加量	2 328
製品27	1/1000添加量	25 724	製品34	1/1000添加量	2 258
	1/250添加量	1 944		1/250添加量	2 456
	1/100添加量	5 383		1/100添加量	6 472
製品28	1/1000添加量	18 087	製品35	1/1000添加量	1 233
	1/250添加量	4 763		1/250添加量	1 408
	1/100添加量	-41 120		1/100添加量	3 892
製品29	1/1000添加量	2 960	製品36	1/1000添加量	1 564
	1/250添加量	2 939		1/250添加量	1 505
	1/100添加量	11 046		1/100添加量	2 691
製品30	1/1000添加量	2 278	製品37	1/1000添加量	1 115
	1/250添加量	4 208		1/250添加量	1 270
	1/100添加量	29 145		1/100添加量	2 625
製品31	1/1000添加量	2 216	製品38	1/1000添加量	0 969
	1/250添加量	1 438		1/250添加量	0 889
	1/100添加量	25 693		1/100添加量	1 891
製品32	1/1000添加量	0 840	製品39	1/1000添加量	0 917
	1/250添加量	0 727		1/250添加量	0 887
	1/100添加量	1 116		1/100添加量	1 271

製品40	1/1000添加量	1 187	製品46	1/1000添加量	0 946
	1/250添加量	0 779		1/250添加量	1 358
	1/100添加量	1 306		1/100添加量	1 488
製品41	1/1000添加量	1 094	製品47	1/1000添加量	1 122
	1/250添加量	1 598		1/250添加量	1 528
	1/100添加量	5 390		1/100添加量	2 574
製品42	1/1000添加量	1 057	製品48	1/1000添加量	2 691
	1/250添加量	0 903		1/250添加量	1 810
	1/100添加量	1 427		1/100添加量	4 598
製品43	1/1000添加量	0 875	製品49	1/1000添加量	2 863
	1/250添加量	0 786		1/250添加量	3 345
	1/100添加量	1 329		1/100添加量	4 519
製品44	1/1000添加量	0 912	製品50	1/1000添加量	1 151
	1/250添加量	1 571		1/250添加量	1 732
	1/100添加量	-11 001		1/100添加量	4 253
製品45	1/1000添加量	1 481	製品51	1/1000添加量	1 445
	1/250添加量	1 917		1/250添加量	1 746
	1/100添加量	2 437		1/100添加量	2 368

表2 5-1 細胞 (CYP1A1) を用いた市販のサプリメントの酵素誘導効果

		Fold of Induction			Fold of Induction
4 μM-Omeprazole	オメプラゾール 1/250(4 μM)	7 848	製品6	1/1000添加量	1 788
				1/250添加量	1 954
				1/100添加量	1 392
製品1	1/1000添加量	1 379	製品7	1/1000添加量	0 785
	1/250添加量	4 560		1/250添加量	1 441
	1/100添加量	-69 655		1/100添加量	1 365
製品2	1/1000添加量	1 431	製品8	1/1000添加量	3 246
	1/250添加量	1 905		1/250添加量	7 121
	1/100添加量	2 686		1/100添加量	8 127
製品3	1/1000添加量	1 253	製品9	1/1000添加量	1 592
	1/250添加量	2 712		1/250添加量	2 436
	1/100添加量	8 937		1/100添加量	2 944
製品4	1/1000添加量	2 880	製品10	1/1000添加量	1 507
	1/250添加量	4 464		1/250添加量	2 984
	1/100添加量	11 793		1/100添加量	2 738
製品5	1/1000添加量	1 050	製品11	1/1000添加量	1 575
	1/250添加量	1 762		1/250添加量	2 168
	1/100添加量	4 587		1/100添加量	2 841

製品12	1/1000添加量	4 304	製品19	1/1000添加量	0 862
	1/250添加量	1 678		1/250添加量	1 350
	1/100添加量	2 216		1/100添加量	1 775
製品13	1/1000添加量	1 125	製品20	1/1000添加量	3 483
	1/250添加量	1 616		1/250添加量	8 539
	1/100添加量	2 249		1/100添加量	2 024
製品14	1/1000添加量	1 688	製品21	1/1000添加量	1 938
	1/250添加量	2 753		1/250添加量	2 376
	1/100添加量	6 899		1/100添加量	3 943
製品15	1/1000添加量	2 369	製品22	1/1000添加量	0 776
	1/250添加量	2 390		1/250添加量	1 425
	1/100添加量	1 884		1/100添加量	1 274
製品16	1/1000添加量	0 872	製品23	1/1000添加量	0 606
	1/250添加量	0 960		1/250添加量	1 906
	1/100添加量	1 339		1/100添加量	66 102
製品17	1/1000添加量	0 006	製品24	1/1000添加量	0 905
	1/250添加量	0 015		1/250添加量	0 707
	1/100添加量	0 003		1/100添加量	1 410
製品18	1/1000添加量	1 273	製品25	1/1000添加量	0 828
	1/250添加量	2 796		1/250添加量	1 689
	1/100添加量	3 117		1/100添加量	4 586

製品26	1/1000添加量	0 798	製品33	1/1000添加量	0 004
	1/250添加量	1 244		1/250添加量	0 011
	1/100添加量	2 426		1/100添加量	0 011
製品27	1/1000添加量	1 253	製品34	1/1000添加量	1 356
	1/250添加量	0 894		1/250添加量	1 576
	1/100添加量	1 490		1/100添加量	3 097
製品28	1/1000添加量	3 295	製品35	1/1000添加量	2 118
	1/250添加量	5 874		1/250添加量	2 632
	1/100添加量	166 787		1/100添加量	4 778
製品29	1/1000添加量	1 264	製品36	1/1000添加量	1 490
	1/250添加量	1 535		1/250添加量	3 142
	1/100添加量	1 649		1/100添加量	2 811
製品30	1/1000添加量	1 602	製品37	1/1000添加量	1 938
	1/250添加量	1 791		1/250添加量	2 376
	1/100添加量	3 103		1/100添加量	3 943
製品31	1/1000添加量	1 541	製品38	1/1000添加量	2 999
	1/250添加量	2 278		1/250添加量	0 916
	1/100添加量	2 632		1/100添加量	0 993
製品32	1/1000添加量	1 363	製品39	1/1000添加量	0 006
	1/250添加量	1 998		1/250添加量	0 006
	1/100添加量	2 708		1/100添加量	0 020

製品40	1/1000添加量	2 185	製品46	1/1000添加量	0 990
	1/250添加量	3 508		1/250添加量	1 532
	1/100添加量	3 592		1/100添加量	1 407
製品41	1/1000添加量	1 687	製品47	1/1000添加量	0 850
	1/250添加量	2 504		1/250添加量	2 025
	1/100添加量	8 987		1/100添加量	2 499
製品42	1/1000添加量	0 960	製品48	1/1000添加量	0 006
	1/250添加量	1 048		1/250添加量	0 008
	1/100添加量	1 679		1/100添加量	0 009
製品43	1/1000添加量	0 789	製品49	1/1000添加量	1 395
	1/250添加量	1 183		1/250添加量	1 924
	1/100添加量	1 482		1/100添加量	1 790
製品44	1/1000添加量	0 734	製品50	1/1000添加量	5 535
	1/250添加量	2 134		1/250添加量	7 042
	1/100添加量	1 635		1/100添加量	43 045
製品45	1/1000添加量	2 421	製品51	1/1000添加量	26 868
	1/250添加量	4 014		1/250添加量	21 467
	1/100添加量	4 993		1/100添加量	24 126

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

研究課題： いわゆる「健康食品」と医薬品との併用に関わる 安全性評価に関する研究

研究分担報告書

いわゆる「健康食品」と医薬品との併用実態に関する調査研究

研究分担者 頭金 正博 名古屋市立大学大学院薬学研究科・教授
研究分担者 松永 民秀 名古屋市立大学大学院薬学研究科・教授
研究協力者 大森 栄 信州大学医学部附属病院薬剤部・教授/薬剤部長
研究協力者 百瀬 泰行 信州大学医学部附属病院薬剤部・副薬剤部長

研究要旨： 健康食品と医薬品との相互作用を回避するためには、それらの使用実態を明らかにすることが必要である。そこで、信州大学医学部附属病院における入院時の持参薬及び健康補助食品の摂取状況調査の情報を用いて、患者での健康食品と医薬品の併用の実態を調査した。その結果、健康食品の使用実態としては、グルコサミンやブルーベリー系が比較的多く使用されており、また、医薬品としてはアムロジピンが多く併用されていた。少数例ではあるが中程度以上の健康被害（特に血液凝固系に係わる健康被害）を生じる可能性のある併用例もみられた。また、健康食品の摂取に影響を与える要因としては、一部で入院の原因となった原疾患の影響が見られたが、多くの場合は、性別や年齢によって影響を受けていると考えられた。

A. 研究目的

サプリメントや栄養補助食品等のいわゆる「健康食品」は、食品として取り扱われるため、医薬品と異なり、それらの使用については消費者の判断に委ねられ、規制する法律等はない。また、使用実態についてもほとんど把握されていない。一方、サプリメントや栄養補助食品であっても、一定の生理的、あるいは薬理的作用を有するものもあり、生理機能が低下している患者や、医薬品を服用している患者においては、想定外の健康被害が生じる可能性もある。特に、医薬品と同時に服用する場合は、これらの健康食品と医薬品との相互作用が懸念される。そこで、健康食品と医薬品との相互作用を回避するためには、まず

その使用状況の実態を明らかにすることが求められている。本研究においては、信州大学医学部附属病院における入院時の持参薬（服用中及び服用経験のある医薬品及び健康食品、以下持参薬という）の摂取状況調査の情報を用いて、患者での健康食品の使用状況と同時期に服薬している医薬品の種類を調べた。また、健康食品を摂取している患者の背景要因を調べ、健康食品の摂取に与える患者背景要因の影響を検討した。本研究は、調査結果が入力されたカルテ調査を主たる研究とした後ろ向き観察研究である。

B. 研究方法

本調査研究においては、信州大学医学部附属病院の電子カルテに記入されている

入院患者の情報（年齢、性別、原疾患名、持参した健康食品名及び持参あるいは処方された医薬品名、薬剤アレルギー・副作用に関する診療情報、血液・生化学検査値）を用いた。平成 22 年 9 月 1 日～平成 24 年 9 月 30 日までに信州大学医学部附属病院に新規入院した全ての患者のうち、薬剤師による入院時のチェックで健康食品摂取が申告された 790 名を調査対象患者とした。これらの患者の電子カルテ情報から、匿名化された患者 ID とともに、年齢、性別、診療科、入院時診断名、健康食品の名称と成分、服薬していた医薬品名を抽出した。この情報を用いて、健康食品と医薬品を併用している患者数や、健康食品を摂取している患者の背景要因の影響を検討した。

（研究倫理上の配慮）

本調査の実施については、研究代表者である東北薬科大学と実地調査を担当する名古屋市立大学、信州大学の研究倫理委員会等で承認された後に実施された。

C. 研究結果

健康食品と医薬品の併用実態

790 名の患者を対象にした調査において、最も使用されている健康食品はグルコサミン（125 名）であり、続いてブルーベリー系食品（107 名）であった。その他にも表 1 に示すように使用されている健康食品は多岐に亘っていた。一方、健康食品を使用している患者で併用されている医薬品はカルシウム拮抗薬のアムロジピン（127 名）が最も多かったが、併用薬も多岐に亘っていた。また、健康食品毎に併用されている医薬品を調べた（表 2）。その結果、いずれの健康食品においても、アムロジピンや酸化マグネシウムが多く併用されており、これら 2 剤は健康食品の摂取

に係わらず高頻度で使用されているためと考えられた。一方、全対象患者での使用頻度と比較して 2 倍以上の使用頻度を示したのは、グルコサミンとアスピリンの併用（全対象患者でのアスピリンの使用頻度が 7.9 % に対して、グルコサミン使用者では 16.8 %）と、黒酢とロスバスタチンの併用（全対象患者でのロスバスタチンの使用頻度が 4.9 % に対して、黒酢使用者では 12.6 %）であった（表 2）。

「健康食品・サプリメント（成分）のすべて～ナチュラルメディシン・データベース～」に医薬品と健康食品との併用によって中程度以上の健康被害が生じる可能性がある」と記載されている組み合わせについて、70 名の全対象患者での使用症例を探したところ、表 3 に示すように、比較的、血液凝固系に係わる健康被害が想定される症例が多かった。また、薬物代謝酵素の CYP3A4 の強い誘導作用が確認されたウコンを使用している患者で、CYP3A4 の基質となる医薬品を併用している症例を探したところ、少数ではあるが表 4 に示すように併用症例があった。今回、集積した医療情報にはこれらの症例の転帰は記載されておらず、実際に健康被害を生じたのかはわからなかった。

健康食品の摂取に影響を与える患者要因

健康食品を摂取していた 790 名の男女比は、約 4:6 であり、女性の方が若干多かった（表 5）。また、男女での使用する健康食品を比較したところ、男性では DHA/EPA の使用頻度が女性と比較して高かった。一方、女性ではコラーゲンとヒアルロン酸の使用頻度が高かった（表 6）。また、全対象患者を年齢で 3 群に層別化して使用する健康食品を比較したところ、年

年齢によって使用頻度が大きく異なる健康食品があった。最も顕著な差を示した健康食品はグルコサミンで、年齢が高くなるに従って使用頻度も高くなった。一方、コラーゲンは65歳未満では最も使用されている健康食品であるが、65歳以上での使用頻度は低かった(表7)。また、疾患毎に使用されている健康食品の頻度を調べたところ、悪性腫瘍患者においては、全対象患者の約27%を占めることから、健康食品毎の使用頻度は、全対象患者での健康食品毎の使用頻度と大きく変わることはなかったが(表8)、表9に示すフコダインや霊芝等の多糖類やキノコ類に属する健康食品の使用頻度は全対象患者と比較して特徴的に高かった。以上の結果から、健康食品の摂取は、単に罹患している原疾患のみならず、性別や年齢によっても影響も受けていることが明らかになった。

D. 考察

患者の入院時に持参薬や日常的に摂取している健康補助食品を聞き取る調査をしている医療機関は比較的多いと推測されるが、信州大学医学部附属病院においては、それらの情報を電子カルテ上に記載し、さらに摂取している健康補助食品の効能や成分を薬剤師が調査している。これらの作業は多大な労力を費やすが、薬物療法に必要な情報を入手するといった治療上の有用性に加えて、健康補助食品の使用実態を明らかにするためのデータベース構築にとっても大変有用である。そこで、当研究においては、それらの貴重な情報を用いて、市販薬や健康補助食品と処方薬の併用の実態について調査することとした。

健康食品の使用実態としては、グルコサミンやブルーベリー系が比較的多く使用されおり、また、医薬品としてはアムロジ

ピンが多く使われていたことから、グルコサミンとアムロジピン、ブルーベリー系とアムロジピンの併用症例の割合が多くなっていた。健康食品と医薬品との併用で比較的多い特徴的な併用としては、グルコサミンとアスピリンおよび黒酢とロスバスタチンとの併用があげられる。黒酢とロスバスタチンはいずれも脂質低下作用を期待していると推定されることから、高脂血症患者が併用している可能性が考えられる。しかし、グルコサミンとアスピリンについては、両者の薬理活性から推定される併用する理由は不明であった。また、少数例ではあるが中程度以上の健康被害を生じる可能性のある併用例もみられた。今回の調査では、併用による健康被害の確認までは至らなかったが、これまで以上に健康食品と医薬品との併用に医療関係者のみならず、一般の消費者も注意をする必要があることを示唆している。特に、血液凝固系に係わる健康被害に関する併用例が多かったことは、血液凝固系に重点をおいて監視をする必要性を示していると思われる。また、食品と医薬品の相互作用に関して、薬物動態上で相互作用を引き起こす例がグレープフルーツジュースとカルシウム拮抗薬との併用などで報告されている。今回の調査においてもCYP3A4の強い誘導作用のあるウコンが、CYP3A4の基質となる医薬品と併用されている症例もあった。このような薬物動態上の相互作用についても注意が必要である。

健康食品の使用に影響を与える患者要因について探索したところ、前述の黒酢とロスバスタチンの併用や、多糖類やキノコ類の使用が悪性腫瘍患者で多い点からは、患者の原疾患が健康食品の摂取に影響を与えていると考えられた。しかし、健康食品の使用全体からみるとこのような症例

は一部であり、多くの場合は、性別や年齢によって影響を受けていると考えられた。従って、健康食品を使用している患者の大半が、入院の原因となった疾患の治癒を目的としてはいないと推測される。この点は、医療関係者が患者に対して健康食品について問診をする際の注意点と思われる。

健康食品は、医薬品と比較して毒性評価データが一般的には少ない。一部の健康食品については、新機能食品として内閣府食品安全委員会でリスク評価が行われる可能性もあるが、食品安全委員会では、基本的には健常人を対象にしたリスク評価を行っており、医薬品との併用に関しては、評価項目としていない。従って、今後は、健康食品についても、より詳細な毒性評価データが必要になると考えられる。

E. 結論

健康食品の使用実態としては、グルコサミンやブルーベリー系が比較的多く使用されており、また、医薬品としてはアムロジピンが多く併用されていた。少数例ではあるが中程度以上の健康被害を生じる可能性のある併用例もみられた（特に血液凝固系に係わる健康被害）。また、健康食品の摂取に影響を与える要因としては、一部で入院の原因となった原疾患の影響が見られたが、多くの場合は、性別や年齢によって影響を受けていると考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Maekawa K, Nishikawa J, Kaniwa N, Sugiyama E, Koizumi T, Kurose K, Tohkin M, Saito Y. Development of a rapid and inexpensive assay for detecting a surrogate genetic polymorphism of HLA-B*58:01: a partially predictive but useful biomarker for allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in Japanese. *Drug Metab Pharmacokinet.* 27, 447-450 (2012).

2. 著書

該当なし

3. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

表1 多く使用される健康食品

健康食品[%]
グルコサミン[15.8]
ブルーベリー系[13.5]
コラーゲン[12.0]
黒酢（香醋）[11.6]
DHA・EPA[10.1]
にんにく[9.9]
ヒアルロン酸[9.2]
コンドロイチン[8.6]
デキストリン[7.8]
葉酸[7.6]

表2 健康食品と併用される割合が高い医薬品

グルコサミン (n=125)	黒酢（香醋） (n=87)	にんにく (n=77)	コラーゲン (n=88)	ベリー系 (n=100)
アムロジピン [19.2]	アムロジピン [25.0]	アムロジピン [22.1]	酸化マグネシウム [15.9]	アムロジピン [17]
アスピリン [16.8]	エチゾラム [16.1]	酸化マグネシウム [10.4]	ロキソプロフェン [14.8]	メコバラミン [15]
酸化マグネシウム [12.0]	ロスバスタチン [12.6]	ケトプロフェン [10.4]	アムロジピン [12.5]	酸化マグネシウム [14]
レバミピド [11.2]	酸化マグネシウム [11.5]	ロスバスタチン [10.4]	メコバラミン [12.5]	ロキソプロフェン [13]
ニフェジピン [11.2]	レバミピド [8.0]	メコバラミン [9.1]	ニフェジピン [11.4]	テルミサルタン [12]

[%]

ヒアルロン酸 (n=72)	コンドロイチン (n=68)	大麦若葉 (n=37)	DHA・EPA (n=80)	葉酸 (n=55)
------------------	-------------------	----------------	-------------------	--------------

アムロジピン [19.4]	アムロジピン [22.1]	酸化マグネシウム [18.9]	エチゾラム [16.3]	ロキソプロフェン [16.4]
レバミピド [18.1]	メコバラミン [17.6]	アロプリノール [13.5]	アムロジピン [13.4]	レバミピド [14.5]
エチゾラム [16.6]	酸化マグネシウム [16.1]	アムロジピン [13.5]	アスピロン [13.4]	酸化マグネシウム [14.5]
酸化マグネシウム [15.2]	アスピリン [10]	エチゾラム [13.5]	メコバラミン [13.4]	メコバラミン [10.9]
ロキソプロフェン [15.2]	ニフェジピン [10]	ロキソプロフェン [8.1]	ワルファリンK [9.0]	ファモチジン [9.1]

[%]

医薬品 (n=790) [%]
アムロジピン[16.1]
酸化マグネシウム[10.0]
ロキソプロフェン[9.9]
レバミピド[9.7]
エチゾラム[9.1]
メコバラミン[8.4]
ランソプラゾール[8.2]
アスピリン[7.8]
アロプリノール[6.2]
ニフェジピン[6.2]
アトルバスタチン[6.2]
ケトプロフェン[5.7]
カンデサルタン[5.6]
ロスバスタチン[5.0]
オメプラゾール[4.7]

表3 相互作用の起こりうる健康食品と医薬品の組み合わせの実症例数

健康食品(n数)	相互作用の可能性のある医薬品	症例数(件)
----------	----------------	--------

グルコサミン (125)	ワルファリン	6
ブルーベリー (92)	糖尿病治療薬	7
ビルベリー (71)	糖尿病治療薬	6
	血液凝固抑制	24
にんにく (78)	CYP3A4 代謝	11
	血液凝固抑制	23
DHA (72)	血液凝固抑制	22
	降圧薬	18
イチョウ葉エキ ス (24)	CYP2C19 代謝	6
	糖尿病治療薬	6
デビルズクロウ (10)	降圧薬	5

表4 ウコンと CYP 3 A4 基質の医薬品の併用症例

CYP3A4 基質医薬品	のべ患者数
ニフェジピン	1
アムロジピン	1
レバミピド	1
グリベンクラミド	1
計	4

表5 男女比

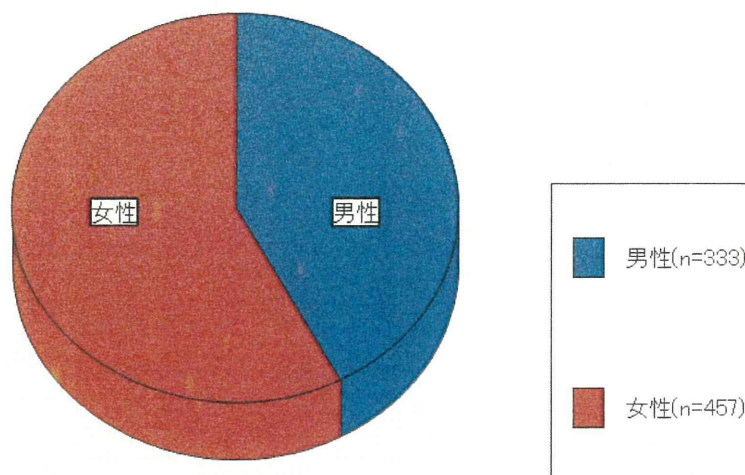


表6 健康食品の摂取に対する性別の影響

全体(n=790)	女性 (n=457)	男性(n=333)
グルコサミン[15.8]	グルコサミン[15.5]	グルコサミン[16.2]
ブルーベリー類[13.5]	コラーゲン[13.8]	ブルーベリー類[16.0]
コラーゲン[12.0]	黒酢 (香醋) [12.3]	DHA・EPA[13.0]
黒酢 (香醋) [11.6]	ブルーベリー類[10.9]	にんにく[11.4]
DHA・EPA[10.1]	ヒアルロン酸[10.5]	黒酢 (香醋) [10.8]
にんにく[9.9]	コンドロイチン[9.0]	コラーゲン[9.6]
ヒアルロン酸[9.2]	にんにく[8.8]	コンドロイチン[8.1]
コンドロイチン[8.6]	葉酸[8.8]	ヒアルロン酸[7.2]
デキストリン[7.8]	DHA・EPA[7.9]	葉酸[6.0]
葉酸[7.6]	胚芽[5.3]	大麦若葉[5.4]
		[%]

表7 健康食品の摂取に対する年齢の影響

全体(n=790)	15歳以上 65未満(339)	65歳以上 75歳未満(255)	75歳以上(188)
グルコサミン (125)	コラーゲン(42)	グルコサミン(49)	グルコサミン(51)
ブルーベリー類(107)	ブルーベリー類(42)	ブルーベリー類(38)	コンドロイチン(28)
コラーゲン(95)	葉酸(42)	黒酢 (香醋) (36)	ヒアルロン酸(28)
黒酢 (香醋) (92)	黒酢 (香醋) (30)	DHA・EPA(33)	にんにく(27)
DHA・EPA(80)	グルコサミン(25)	にんにく(32)	黒酢 (香醋) (26)

表8 健康食品の摂取に対する疾病による影響

悪性腫瘍(219)	眼瞼下垂症 (27)	狭心症 (18)
黒酢 (香醋) [12.3]	DHA・EPA (7)	グルコサミン (3)
コラーゲン[12.3]	ベリー系 (4)	コラーゲン (3)
グルコサミン[12.3]	コラーゲン (4)	DHA・EPA (3)
ブルーベリー類[11.9]	イチョウ葉エキス (4)	コンドロイチン (3)
DHA・EPA[10.5]	グルコサミン (3)	ヒアルロン酸 (2)

表9 悪性腫瘍患者で特に使用率が高い健康食品

フコイダン	(9/9)
霊芝	(7/10)
マイタケ	(5/7)
雲南紅豆杉	(5/6)
しいたけ	(4/6)
オルニチン	(4/4)

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

研究課題： いわゆる「健康食品」と医薬品との併用に関わる 安全性評価に関する研究

研究分担報告書

ヒト iPS 細胞から肝・腸管上皮細胞への分化および誘導評価

研究分担者 松永 民秀 名古屋市立大学大学院薬学研究科・教授
研究協力者 岩尾 岳洋 名古屋市立大学大学院薬学研究科・助教
研究協力者 近藤 祐樹 名古屋市立大学大学院薬学研究科・博士後期課程 2 年

研究要旨： 本研究では、薬物代謝および毒性試験への利用を目指し、ヒト人工多能性幹細胞（iPS 細胞）から、肝細胞および腸管細胞への分化誘導を行った。その結果、ヒト iPS 細胞から肝細胞様細胞の分化誘導に成功した。さらに、mRNA 発現解析および機能解析の結果から、今回用いた低分子化合物 1 はヒト iPS 細胞から肝細胞への分化促進剤として有用であることが明らかとなった。また、腸管上皮細胞様の機能を有する細胞への分化誘導にも成功し、低分子化合物 A および B は腸管幹細胞への分化を促進することも明らかとなった。

A. 研究目的

医薬品開発の薬物動態試験において実験動物が多用されているが、種差があるため結果をヒトへ外挿することが困難である。一方、ヒト初代肝細胞や凍結肝細胞ではロット間差が大きく、良質の肝細胞を安定して入手することが難しいため、研究の障害となっている。ヒト人工多能性幹（induced pluripotent stem: iPS）細胞は、2007 年に山中らによって樹立された。このヒト iPS 細胞は、多分化能とほぼ無限の増殖能をもつ細胞であり、医薬品開発のための安定した細胞供給源として期待される。現在、iPS 細胞から肝細胞への分化誘導方法がいくつか報告されている。その主な方法として分化誘導に増殖因子等の液性因子が用いられているが、非常に高価であること等が課題となっている。そのため、安価で取り扱いの容易な低分子化合物を分化誘導因子として用いることは非常に有用であると考えら

れる。本研究では、低分子化合物がヒト iPS 細胞から肝細胞への分化誘導に与える影響を明らかにすることを目的とした。また、腸管も肝と同様、医薬品の薬物動態への関与が大きいことから、ヒト iPS 細胞から腸管細胞への分化も行った。

B. 研究方法

本研究では、国立成育医療研究センターにおいて樹立されたヒト iPS 細胞株（Windy）を用いた。

ヒト iPS 細胞から肝細胞への分化

ヒト iPS 細胞をアクチビン A 処理することで内胚葉に、続いてジメチルスルホキシドにて肝芽細胞に分化させ、オンコスタチン M、デキサメタゾン、肝細胞増殖因子によって成熟させる方法にて肝細胞に分化誘導した。薬物代謝酵素の誘導剤処理は 40 μ M リファンピシン（RIF）を含む培地で回収前 48 時間培養することで行った。また、分化

の際に低分子化合物 1 もしくは 2 を添加し、肝細胞への分化に及ぼす影響について検討した。

分化後の細胞は real-time PCR 法により mRNA 発現解析を行った。低分子化合物 1 を添加した細胞においては、免疫蛍光染色にてアルブミン (ALB) 陽性細胞の分布を、インドシアニンググリーン (ICG) 染色により ICG 取り込み及び排泄能を、過ヨウ素酸シッフ (PAS) 染色によりグリコーゲン貯蔵能を評価した。

ヒト iPS 細胞から腸管細胞への分化

ヒト iPS 細胞をアクチビン A 処理することで内胚葉に、続いて線維芽細胞増殖因子 2 にて腸管系譜細胞に分化させ、上皮細胞成長因子によって腸管細胞に分化誘導した。CYP3A4 の誘導剤処理は 10 nM $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミン D_3 (VD_3) を含む培地で回収前 48 時間培養することで行った。また、分化の際に低分子化合物 A および B を添加し、腸管幹細胞への分化に及ぼす影響について検討した。

分化後の細胞は real-time PCR 法により mRNA 発現解析を行った。また、 β -Ala-Lys-AMCA (ジペプチド) の取り込みおよび sucrase- isomaltase (腸管上皮細胞の特異的マーカー) の免疫蛍光染色を行うことで機能を評価した。

C. 研究結果

ヒト iPS 細胞から肝細胞への分化

分化後の細胞において、形態学的に肝細胞に特徴的な多核の細胞が観察され、肝細胞マーカーの発現が認められた (Fig. 1)。また、ALB、プレグナン X 受容体 (PXR)、CYP2C9、CYP2C19、CYP3A4 及び UGT1A1 に関して、これらの mRNA 発現は低分子化合物 1 の添加により増加した (Fig. 2)。一方、低分子化合物 2 の添加によるこれら肝細胞

マーカーの mRNA 発現に顕著な差は認められなかった。CYP3A4 の誘導剤である RIF 処理を行ったところ、低分子化合物 1 を添加することで、増加した CYP3A4 がさらに 5 倍の mRNA 発現の誘導が認められた (Fig. 3)。しかし、低分子化合物 2 を添加した場合には RIF による CYP3A4 の mRNA 発現の誘導自体全く認められなくなった。

低分子化合物 1 を添加して分化させた細胞において、ALB 免疫蛍光染色を行ったところ、ほぼ全ての細胞で陽性を示した (Fig. 4)。また、この細胞は ICG 取り込み及び排泄能が認められ、PAS 染色にも陽性像を示した。

ヒト iPS 細胞から腸管細胞への分化

我々が行った検討で最も効率が良かった分化条件で分化させた細胞において、 β -Ala-Lys-AMCA の取り込みがみとめられ、この細胞は sucrase- isomaltase が発現していた (Fig. 5)。また、 VD_3 で処理することで、7 倍程度の CYP3A4 の発現誘導が認められた (Fig. 6)。さらに、低分子化合物 A および B を分化の過程で処理することにより、腸管幹細胞マーカーの LGR5 および EphB2 の発現レベルの上昇が認められた (Fig. 7)。

D. 考察

肝細胞への分化において、我々が行った分化誘導法で分化させたヒト iPS 細胞は、敷石状で多核など形態学的な肝細胞の特徴を示し、各種肝細胞マーカー遺伝子を発現したことから、分化した細胞は肝細胞様細胞であることが示唆された。また、低分子化合物 1 の添加により、ヒト iPS 細胞由来肝細胞の肝細胞マーカーの mRNA 発現量が増加し、低分子化合物 1 はヒト iPS 細胞から肝細胞への分化誘導において、分化を促進することが示唆された。さらに、RIF の

添加によって CYP3A4 が誘導され、薬物代謝酵素の誘導剤に対する応答性が肝細胞に類似していることが明らかとなった。低分子化合物 2 を添加して分化させた細胞は、肝細胞マーカーの mRNA 発現の上昇は認められず、分化に影響を与えない、もしくはむしろ抑制することが明らかとなった。なお、RIF による CYP3A4 の mRNA 発現誘導が認められなかった可能性として、CYP3A4 の誘導に関与する核内受容体 PXR の発現が低下したためと考えられた。

低分子化合物 1 を用いて分化させたヒト iPS 細胞の ALB 免疫蛍光染色の結果より、ほぼ全ての細胞が肝細胞様細胞に分化したことが示唆された。また、ヒト肝細胞と同様に、ICG 取り込み及び排泄能並びにグリコーゲン貯蔵能も有していた。これらの結果より、低分子化合物 1 を添加し分化させた細胞が肝細胞の機能を有する肝細胞様細胞であることが示唆された。

腸管細胞への分化において、ヒト iPS 細胞から分化させた細胞は腸管上皮マーカーである sucrase- isomaltase が発現していた。また、本細胞において腸管上皮細胞に特異的に発現しているペプチドトランスポーター SLC15A1/PEPT1 の基質薬物 (β -Ala-Lys-AMCA) の取り込みが認められた。さらに、VD₃ によりビタミン D 受容体 (VDR) を介した CYP3A4 の発現誘導がみとめられたことから、ヒト iPS 細胞より腸管上皮細胞様の機能を有する細胞が作製できたことが示唆された。また、低分子化合物 A および B の添加は、腸管幹細胞への分化を促進することも明らかとなった。

E. 結論

我々はヒト iPS 細胞から肝細胞様細胞の分化誘導に成功した。さらに、今回用いた低分子化合物 1 はヒト iPS 細胞から肝細胞

への分化促進剤として有用であることが明らかとなった。また、腸管細胞への分化において、腸管上皮細胞様の機能を有する細胞への分化誘導に成功した。さらに、低分子化合物 A および B は腸管幹細胞への分化を促進することが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsunaga T, Maruyama M, Matsubara T, Nagata K, Yamazoe Y, Ohmori S. Mechanisms of CYP3A Induction by Glucocorticoids in Human Fetal Liver Cells. *Drug Metab Pharmacokinet.* 27, 653-657 (2012).
2. Suzuki E, Matsunaga T, Aonuma A, Sasaki T, Nagata K, Ohmori S. Effects of Hypoxia-Inducible Factor-1 α Chemical Stabilizer, CoCl₂ and Hypoxia on Gene Expression of CYP3As in Human Fetal Liver Cells. *Drug Metab Pharmacokinet.* 27, 398-404 (2012).
3. Maruyama J, Matsunaga T, Yamaori S, Sakamoto S, Kamada N, Nakamura K, Kikuchi S, Ohmori S. Differentiation of monkey embryonic stem cells to hepatocytes by feeder-free dispersion culture and expression analyses of cytochrome P450 enzymes responsible for drug metabolism. *Biol Pharm Bull.* 36, 292-298 (2012).
4. Tsuchiya H, Matsunaga T, Aikawa K, Kamada N, Nakamura K, Ichikawa H, Sasaki K, Ohmori S. Evaluation of human embryonic stem cell-derived hepatocyte-like cells for detection of CYP1A inducers. *Drug Metab Pharmacokinet.* 27, 598-604 (2012).
5. Takezawa T, Matsunaga T, Aikawa K, Nakamura K, Ohmori S. Lower expression of HNF4 α and PGC1 α might impair rifampicin-mediated CYP3A4 induction under conditions where PXR overexpressed in human fetal liver cells. *Drug Metab Pharmacokinet.* 27, 430-438 (2012).
6. Nakamura K, Matsuzawa N, Ohmori S, Ando Y, Yamazaki H, Matsunaga T. Clinical

evidence of the pharmacokinetics change in thalidomide therapy. *Drug Metab Pharmacokinet.* 28: 38-43 (2013).

7. Sasaki T, Takahashi S, Numata Y, Narita M, Tanaka Y, Kondo Y, Kumagai T, Matsunaga T, Omori S, Nagata K. Hepatocyte nuclear factor 6 enhances the expression of the CYP3A4 gene in hepatocyte-like cells differentiated from human induced pluripotent stem cells. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2013 in press

2. 著書

該当なし

3. 学会発表

1. Iwao T, Nagata K, Matsunaga T. Differentiation into functional enterocyte-like cells from human induced pluripotent stem cells. 19th Microsomes and Drug Oxidations (MDO) and 12th European Regional International Society for the Study of Xenobiotics (ISSX) Meeting, June 2012 (Noordwijk aan Zee, The Netherlands).
2. Iwao T, Nakamura K, Nagata K, Matsunaga T. Generation of human induced pluripotent stem cell derived enterocytes with peptide transport function. 26th JSSX Annual Meeting, November 2012 (Chiba).
3. Kondo Y, Iwao T, Yoshihashi S, Mimori K, Sugiyama R, Sasaki T, Nagata K, Kurose K, Niwa T, Yamaor S, Ohmori S, Nakamura K, Matsunaga T. Small molecule compounds enhance differentiation to hepatocytes from human induced

pluripotent stem cells. 26th JSSX Annual Meeting, November 2012 (Chiba).

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1. 発明の名称：人工多能性幹細胞を肝細胞へ分化誘導する方法

発明者：松永民秀、岩尾岳洋、近藤祐樹、吉橋幸美

出願番号：特願 2012-247010

出願日：2012年11月19日

特許出願人：公立大学法人名古屋市立大学

2. 発明の名称：人工多能性幹細胞を腸管上皮細胞へ分化誘導する方法

発明者：松永民秀、岩尾岳洋

出願番号：特願 2013-036434

出願日：2013年2月26日

特許出願人：公立大学法人名古屋市立大学

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

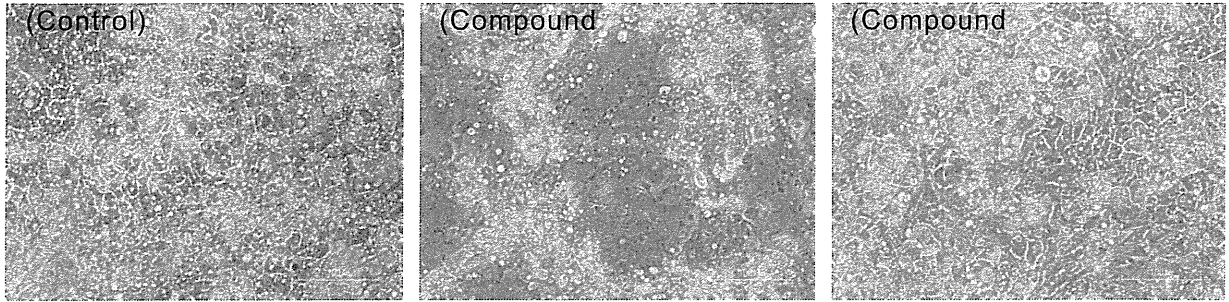


Fig. 1. 分化させたヒト iPS 細胞由来肝細胞様細胞の形態学的変化

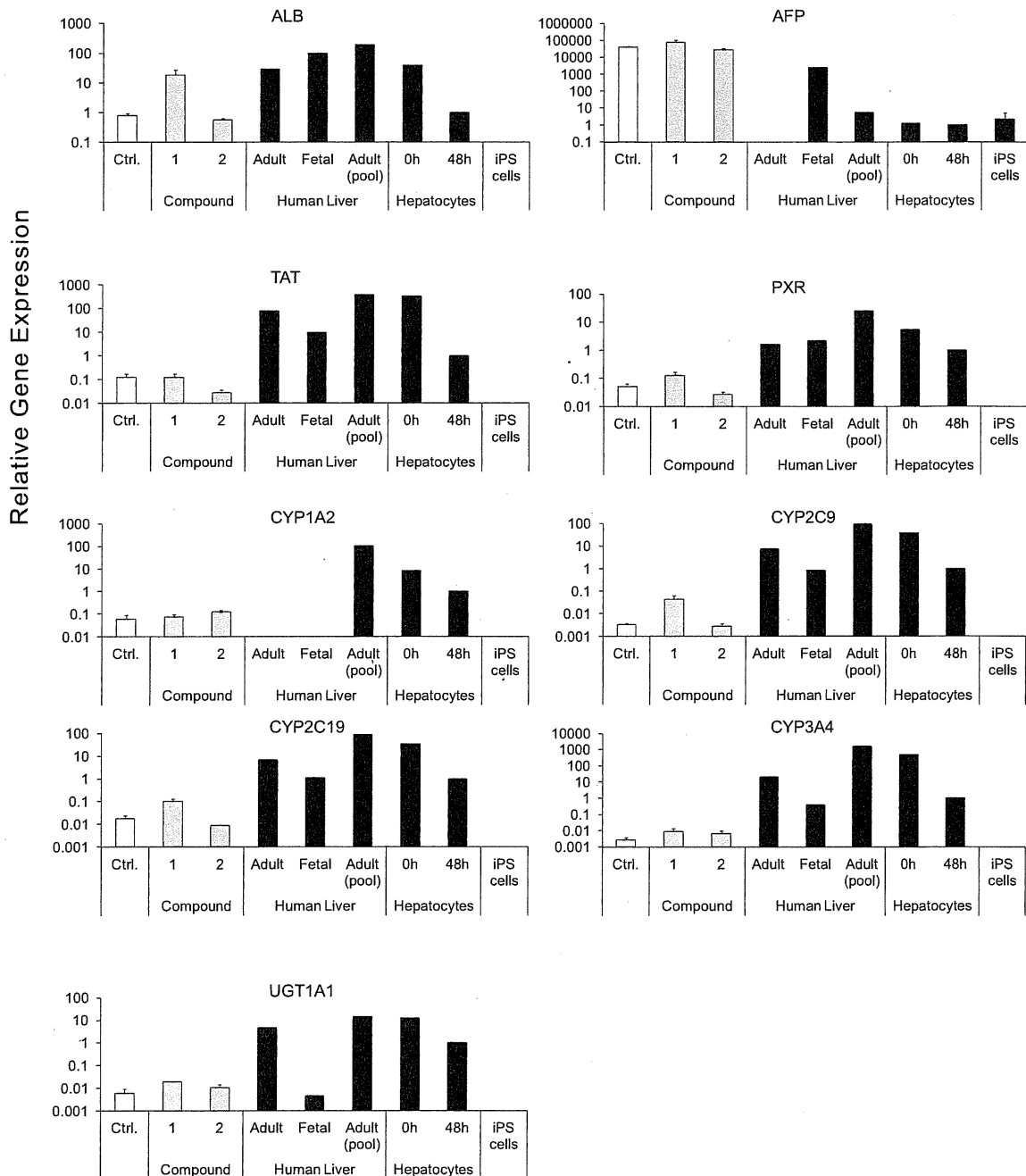


Fig. 2. 分化させたヒト iPS 細胞由来肝細胞様細胞における肝細胞マーカーの発現

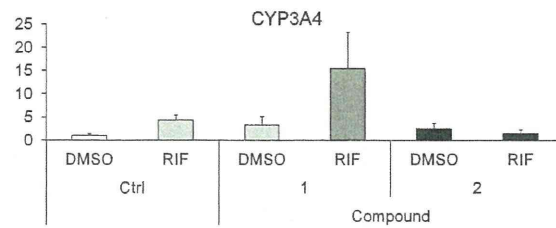


Fig. 3. 分化させたヒト iPS 細胞由来肝細胞様細胞の RIF に対する CYP3A4 の応答性

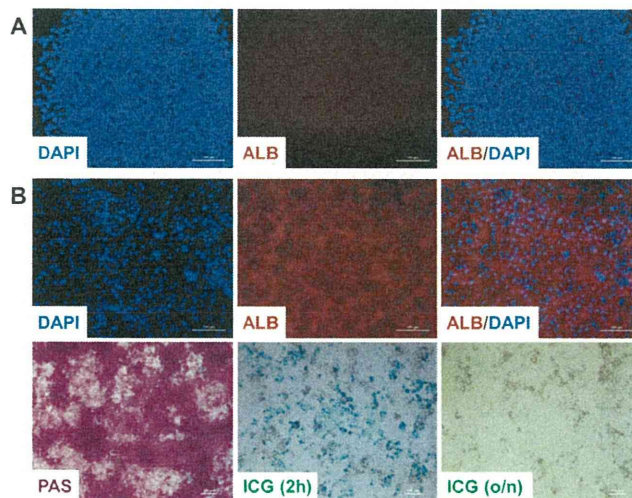


Fig. 4. 低分子化合物 1 を用いて分化させたヒト iPS 細胞由来肝細胞様細胞の ALB 免疫蛍光染色、ICG 染色及び PAS 染色
 (A) 未分化ヒト iPS 細胞の ALB 免疫蛍光染色
 (B) 低分子化合物 1 を用いて分化させたヒト iPS 細胞由来肝細胞様細胞

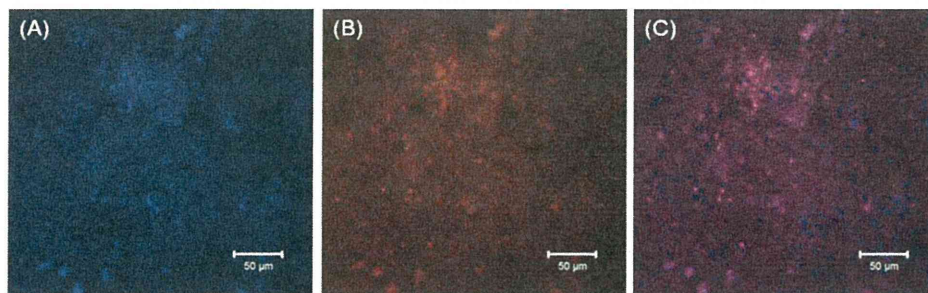


Fig. 5. ヒト iPS 細胞由来腸管細胞における β -Ala-Lys-AMCA 取り込みおよび sucrase- isomaltase 免疫蛍光染色

- (A) β -Ala-Lys-AMCA の取り込み
- (B) sucrase- isomaltase 免疫蛍光染色
- (C) (A) と (B) をマージした画像

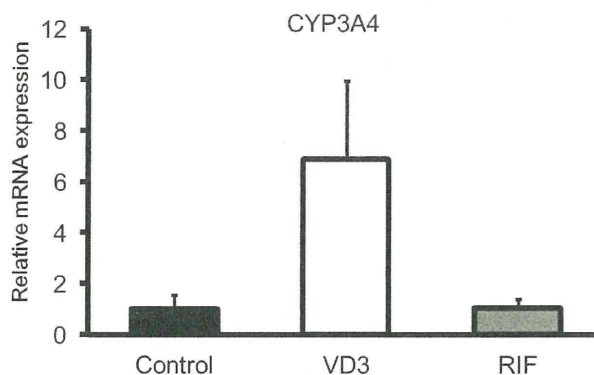


Fig. 6. ヒト iPS 細胞由来腸管細胞の VD_3 に対する CYP3A4 の応答性

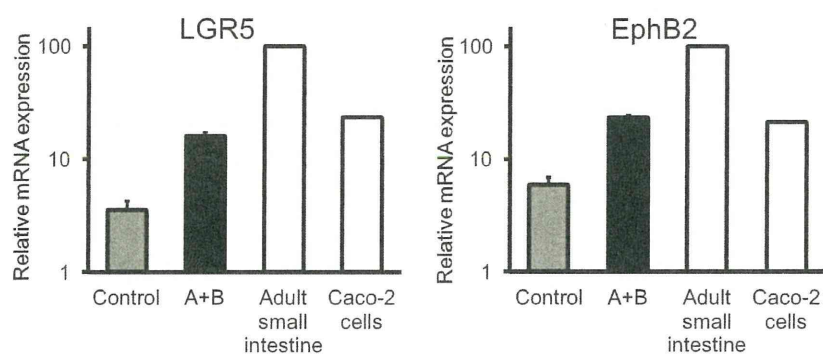


Fig. 7. ヒト iPS 細胞から腸管幹細胞への分化に対する低分子化合物の効果