

日本人の 1331T>C (Val444Ala) 頻度は 0.765 であり、報告が存在した中国人 (漢民族、MAF=0.722) との差は見られなかった。欧州 4 地域内の頻度 (MAF=0.542~0.580) においても基準値以上の差は認められなかった。

以上の結果から、*ABCB11* 1331T>C (Val444Ala) 多型につき、日本人と他の東アジア民族間で、基準値以上の頻度差は認められなかった。

#### 5. *SLC22A2* (OCT2) 808G>T (Ala270Ser)

*SLC22A2* (OCT2) は、腎近位尿管の血管側の側底膜に発現し、カチオン性薬物の血中から腎組織中への移行に関与しており、糖尿病薬メトホルミン等の輸送に関わっている。活性低下をもたらす多型として、808G>T (Ala270Ser) があり、メトホルミン腎クリアランスへの影響の可能性が示唆されている。

*SLC22A2* (OCT2) 808G>T (Ala270Ser) 多型の日本人頻度は 0.105 であり、中国人 (漢民族) (MAF=0.124) 及び韓国人 (0.099) との間に民族差は見られなかった。さらに、欧州 2 地域 (西および南、MAF はそれぞれ 0.092 と 0.142) において、頻度 0.05 の差が認められたが、その比は 1.54 と比較的小さなものであった。

以上の結果から、*SLC22A2* 808G>T (Ala270Ser) 多型につき、日本人と他の東アジア民族間で、基準値以上の頻度差は認められなかった。

### <薬物受容体>

#### 1. *FCGR2A* H131R

Fc $\gamma$  受容体 (FCGR) は、免疫グロブリンの Fc 領域と結合する受容体で、I、IIA、IIB、IIC、IIIA、IIIB のファミリーから構成される。FCGR2A 遺伝子がコードする Fc $\gamma$ RIIA 受容体は、マクロファージや好中球に発現しており、食食作用等に関与している。本多型は、免疫グロブリンの親和性 (Hの方が親和性高い) に関連する多型である。抗 CD20 モノクローナル抗体抗腫瘍薬 リツキシマブの奏効率低下との関連が報告されている。

*FCGR2A* H131R の MAF に関しては、日本人で 0.207、韓国人で 0.274、中国人 (漢民族) で 0.338 であった。日中において、設定した基準値以上の差 (頻度差 0.131) が認められたが、1.6 倍の差であった。一方、ヨーロッパにおいては、北地域 (0.537)、西地域 (0.464)、南地域 (0.480) の頻度は類似していたが、東地域における頻度 (ロシア、スラブ人 0.232) は他 3 地域と比較して低く、基準値以上の差 (北地域と東地域間で、頻度差 0.305、2.3 倍) が認められた。

以上の結果から、*FCGR2A* H131R について、日

本人と他の東アジア民族間で、基準値以上の差が認められたが、その程度は欧州域内の差より小さいものであった。

#### 2. *FCGR3A* F158V

本遺伝子がコードする Fc $\gamma$ RIIIA 受容体は、NK 細胞やマクロファージに発現しており、抗体依存性細胞障害活性に関与している。本多型は免疫グロブリンの親和性 (Vの方が親和性高い) に関与し、リツキシマブの奏効率や無再発生存期間の増加、抗 HER2 抗体トラスツズマブの奏効率や無増悪生存期間の増加と関連することが報告されている。

本多型の MAF は、日本人で 0.279、韓国人で 0.327、中国人で 0.349 と類似しており、設定した基準値以上の民族差は認められなかった。ヨーロッパにおける地域差においても、北地域 (0.322)、西地域 (0.371)、南地域 (0.380) の頻度は非常に類似しており、東アジアと同様に基準値以上の差は認められなかった。また、東アジア人とヨーロッパ人間の頻度も類似しており、本多型の民族差は小さいと考えられた。

以上の結果から、*FCGR3A* F158V 多型について、日本人と他の東アジア民族間で、基準値以上の頻度差は認められなかった。

### <重篤副作用関連遺伝子ハプロタイプ>

#### 1. *HLA-A\*31:01*

ヒト白血球抗原のうち、クラス I 型に属する HLA-A 分子のハプロタイプである。抗てんかん薬カルバマゼピンによる薬疹発症との相関が、日本人、韓国人、白人、漢民族で報告されている。

本ハプロタイプの日本人における MAF は 0.087、韓国人では 0.050、中国人 (漢民族) では 0.022 であり、日本人と中国人の間には、0.065 と差は小さいものの設定した基準値 (MAF0.1 未満の場合は 0.05) 以上であり、約 4.0 倍の頻度差が見られた。従って、日本人と中国人間で、*HLA-A\*31:01* に基因する薬疹の頻度に差が見られる可能性が考えられるが、中国人では特に重症であるステーブンス・ジョンソン症候群および中毒性表皮壊死症の発症に関連する *HLA-B\*15:02* の頻度が高いことが知られている。日本人と中国人における重症薬疹 (または薬疹) の頻度は、きちんと報告されていないため、現時点でのさらなる考察は難しい。一方、ヨーロッパにおけるハプロタイプ頻度は、0.022 (北) ~0.032 (南) と、4 地域でほぼ同様であった。

以上の結果から、*HLA-A\*31:01* につき、日本

人と中国人間で、基準値以上の頻度差が認められ、頻度比は約 4.0 であった。

## 2. *HLA-B\*58:01* (図 2)

クラス I 型ヒト白血球抗原の一種である HLA-B 分子のハプロタイプである。高尿酸血症薬アロプリノールによる重症薬疹 (スティーブンス・ジョンソン症候群、中毒性表皮壊死症、薬剤性過敏症症候群) 発症との関連が報告されている。

日本人におけるハプロタイプ頻度は、0.004 と非常に低い。韓国人 (0.061) および中国人 (漢民族、0.074) における頻度は、日本人に比して、それぞれ 0.057、0.070 高く、設定した基準値 (MAF が 0.1 未満の場合は 0.05) 以上であり、比にしてそれぞれ 15.3 倍、18.5 倍である。従って、本ハプロタイプ頻度には民族差が存在することが示唆された。一方、ヨーロッパ 4 地域におけるハプロタイプ頻度は、0.005 (北、南) ~0.012 (東) と非常に類似していた。

以上の結果から、*HLA-B\*58:01* につき、日本人と韓国人または中国人間で、基準値以上の頻度差が認められ、頻度比は 15 以上であった。

## 3. *HLA-B75*

HLA 抗原の血清型の一つ B75 には、*HLA-B\*15:02*、*HLA-B\*15:08*、*HLA-B\*15:11*、*HLA-B\*15:21* 等が含まれている。*HLA-B\*15:02* は主として東南アジア人においてカルバマゼピン (CBZ) 誘因性スティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS) および中毒性表皮壊死症 (TEN) と強い関連性があることが報告されている。また、*HLA-B\*15:11* は、日本人において CBZ 誘因性 SJS/TEN のマーカーである。さらに、韓国人および台湾人では *HLA-B\*15:11* が、タイ人では *HLA-B\*15:11* と *HLA-B\*15:21* が、インド人では *HLA-B\*15:08* が、それぞれ SJS/TEN 患者から検出されたとの報告がある。さらに CBZ は HLA-B75 分子に直接結合し、患者由来 T 細胞を活性化させて、細胞障害性を惹起することが示されている。

*HLA-B75* の頻度は、日本人 (0.008)、韓国人 (0.022) とともに低く、その差は 0.014 と基準値内 (0.1 未満の場合は 0.05 以上) であった。一方、中国人 (漢民族) では日韓と比較して 0.144 と高く、特に日中では 0.136 の MAF 差 (18 倍) が認められ、民族差が存在することが示唆された。一方、ヨーロッパでは、北、西、南、東どの地域においても HLA-B75 の MAF は極めて低く、調査した文献では検出されなていなかった。

以上の結果から、*HLA-B75* につき、日本人と韓国人または中国人間で、基準値以上の頻度差

が認められ、頻度比は 18 であった。

## 4. *HLA-B\*35:05*

東南アジア人 (タイ人) において、抗 HIV 薬であるネビラピン誘因性皮疹の発症との関連が報告されている。

*HLA-B\*35:05* は、日本人及び韓国人では検出されず、中国人 (漢民族) でも MAF=0.005 であり、東アジア人 3 民族ともに非常に稀なアレルであった。ヨーロッパに関しても、*HLA-B\*35:05* は、北、南、東では検出されず、西でも MAF=0.0001 と非常に低かった。

以上の結果から、*HLA-B\*35:05* は、東アジア人で頻度が低く、民族差は認められなかった。

## 5. *HLA-B\*57:01*

本ハプロタイプは、白人や黒人において、抗 HIV 薬であるアバカビル誘因性過敏症発症と関連性があることや、白人において、βラクタム系抗生物質であるフルクロキサシリン (国内未承認) による薬物性肝障害発症との関連性が報告されている。

*HLA-B\*57:01* の MAF は、日本人では 0.0003、韓国人では 0.0021、中国人 (漢民族) では 0.010 であり、3 民族ともに頻度 0.010 以下と低く、基準値以上の差は認められないものの、日韓間で 7 倍、日中間で 33 倍の差が認められた。ヨーロッパでも、北地域 (0.011)、西地域 (0.033)、東地域 (0.034)、南地域 (未検出) において基準値以上の差は認められなかった。

以上の結果から、*HLA-B\*57:01* は、東アジア人で頻度が低く、民族差は認められなかった。

## 6. *HLA-DQB1\*06:02*

HLA-DQB1 は、ヒト白血球抗原のクラス II 型に属している分子である。*HLA-DQB1\*06:02* は、白人において、選択的 COX-2 阻害剤ルミラコキシブ (国内未承認) による薬物性肝障害発症との関連が報告されている。

本ハプロタイプの頻度は、日本人では 0.065、韓国人では 0.074、中国人 (漢民族) では 0.085 と、頻度差は設定した基準値以下であり、顕著な差は認められなかった。ヨーロッパ 4 地域における頻度は、東 (0.119)、北 (0.156)、西 (0.114)、南 (0.124) と類似しており、いずれも頻度差は基準値以下であった。

以上の結果から、*HLA-DQB1\*06:02* につき、日本人と他の東アジア民族間で、基準値以上の頻度差は認められなかった。本ハプロタイプによる薬物性肝障害に関し、民族差は少ないと考えられる。

## 7. HLA-DQA1\*02:01

HLA-DQA1 は、ヒト白血球抗原のクラス II 型に属している分子である。主に白人において、EGFR と HER2 に働く分子標的薬ラパチニブによる薬物性肝障害発症との関連が報告されている。

東アジア 3 民族では、韓国 (0.070)、中国 (0.102) と比較して、日本人における頻度は 0.007 と非常に低く、日韓で 0.063、日中で 0.095 と基準値以上の差が認められ、ともに設定した基準値以上で、10 倍以上の差であった。一方、ヨーロッパ 4 地域における各頻度は、北 (0.138)、西 (0.112)、南 (0.149)、東 (0.141) と、類似しており、顕著な差は認められなかった。

以上の結果から、*H HLA-DQA1\*02:01* につき、日本人と韓国人または中国人間で、基準値以上の頻度差が認められ、頻度比は 10 以上であった。従って、日本人と韓国人及び中国人の間で、ラパチニブに起因する薬物性肝障害発症の頻度に差が見られる可能性が考えられる。

### (2) *in vitro* 評価系を用いた、フェニトイン共有結合性に関する遺伝子多型影響の検討

マイクロソーム画分を用いて、NADPH 添加条件下で  $^{14}\text{C}$ -フェニトインと反応させた沈殿画分から得られた抽出タンパク質を対象に解析した結果、バンドが検出された。また、初代培養肝細胞を用いた実験でも、細胞内グルタチオンレベルを低下させた条件で、薄いながらバンドが認められた。これらバンドは、 $^{14}\text{C}$ -フェニトインが共有結合したアダクトタンパク質と推定された。

次に、各 P450 分子種 (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5) を発現させたマイクロソーム画分を用いて、NADPH 添加または非添加の条件下で  $^{14}\text{C}$ -フェニトインと反応させた沈殿画分から得られた抽出タンパク質を対象に解析した結果、CYP2C19, CYP3A4, および CYP3A5 で、約 55 kDa 付近にバンドが検出された。これらは、昨年度、初代培養肝細胞を用いた実験で認められた 2 本のバンドの下のバンドの分子量と類似し、 $^{14}\text{C}$ -フェニトインが共有結合したアダクトタンパク質と推定された。

さらに、CYP2C9\*2/\*3 または CYP2C9\*3/\*3 (以上、CYP2C9 活性低下型ホモ接合) または CYP2C19\*2/\*2 (CYP2C19 活性欠損型ホモ接合) と、これら分子種の野生型のヒト肝マイクロソーム画分を用いて、フェニトインアダクトタンパク質生成における遺伝子多型影響を検討した。野生型マイクロソームと CYP2C9 の活性低下型マイクロソームでは、分子量 55 kDa 付近と 52 kDa 付近

にバンドが認められたが、CYP2C19 の活性欠損型マイクロソームでは、いずれの分子量のバンドもレベルの低下が認められ、特に下の約 52 kDa のバンドは、ほぼ消失した (図 3)。

以上の結果から、フェニトイン反応性代謝物によるタンパク質アダクト生成には、CYP2C19 と CYP3A (3A4 と 3A5) が関与すること、CYP2C19 の活性欠損型では、アダクト生成が進みにくいこと、副作用が起りにくいことが示唆された。

## D. 考察

(1) 主要薬物動態関連遺伝子の機能多型における MAF の民族差

調査対象とした 22 遺伝子の 39 多型・ハプロタイプにおいて、ヨーロッパの 4 地域に関しては、ヨーロッパ 4 地域における頻度差は、*FCGR2A* H131R、*FM03* の 2 多型および *SLC22A2* 808G>T 以外の多型、ハプロタイプについては、基準値として設定した値以下であった。*FCGR2A* の多型は、東アジア 3 民族間及びヨーロッパの 4 地域において、基準値以上の頻度差が認められたが、ヨーロッパにおいては最大で 2.3 倍 (頻度差 0.305)、日中間で 1.6 倍 (頻度差 0.131) とヨーロッパにおける違いの方が大であった。一方、後者 2 遺伝子の多型に関しては、いずれも頻度比は 2 以下であった。

一方、日中韓の東アジア民族では、*CYP2D6*\*10 のアレル頻度が日中間で基準値以上の差を示したが、比は 2 倍以下であり、*CYP2D6* 活性の民族差に与える影響は小さい可能性が考えられた。また *ABCB1* に関しても、1236C>T については日韓間で、3435C>T では日台間で、それぞれ基準値以上の差が認められたが、それぞれ 1.2 倍、1.4 倍の違いと頻度比は小さなものであった。

一方、中国人 (漢民族) と日本人間で、活性消失型である *CYP2A6*\*4 多型が、MAF 差として 0.114 (MAF 比で、2.32 倍) 認められたことから、注意すべきと考えられた。さらに、*HLA-A*\*31:01、*HLA-B*\*58:01、*HLA-B*\*75、*HLA-DQA1*\*02:01 において、設定した基準値以上の頻度差が日中韓または日中間で認められ、一部は比が 10 以上であったことから、注意すべきと考えられた。

### (2) *in vitro* 評価系を用いた、フェニトイン共有結合性に関する遺伝子多型影響の検討

フェニトインによる重症薬疹では、*HLA-B*\*51:01 の関与が報告されており、このハプロタイプでは東アジア内で頻度に民族差が認められている (日本人: 0.152、韓国人: 0.084、中国人: 0.054、台湾人: 0.044 と、日本人と台

湾人間で設定基準値以上の頻度差有り)。しかし、本ハプロタイプのみで、重症薬疹発症の民族差は説明できないとされる。さらなる民族差要因の探索のため、ヒト肝細胞、ヒト P450 発現試料および CYP2C19 等の遺伝子型が決定されたヒト肝由来ミクロソーム試料を用いて、反応性代謝物のタンパク質アダクト生成を評価する *in vitro*系により、HLA 以外の民族差要因としてのシトクロム P450 の遺伝子多型影響を解析した。

その結果、フェニトインでは、ミクロソーム画分で NADPH 依存的にバンド (フェニトイン結合蛋白質) が認められ、その生成にシトクロム P450 酵素の関与が示唆された。さらに CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5 の発現ミクロソーム画分で NADPH 依存的にバンド (フェニトインアダクトタンパク質) が認められ、その生成にシトクロム P450 酵素の関与が示唆された。即ち、シトクロム P450 の活性がアダクト形成に重要と考えられた。CYP2C19 では、\*2 (681G>A, splicing defect、日本人における MAF=0.293) と \*3(636G>A, Trp212X、同 MAF=0.124) という頻度の高い機能欠損多型が知られている。この \*2 多型をホモ接合で有する場合、52-55 kDa 付近の 2 本のバンドが減弱 (約 52 kDa のバンドは消失) したことから、CYP2C19 の活性がフェニトインのタンパクアダクト生成に関与しており、CYP2C19 の機能欠損多型を有するヒトでは、アダクト生成が減弱し、有害事象が起こりにくいことが考えられた。CYP2C19 の機能欠損多型 (\*2 と \*3) において、日中韓の間で頻度の民族差は認められない (\*2 と \*3 の合計 MAF=0.334~0.417) が、欧州白人の頻度 (MAF=0.124~0.161) とは大きな差が認められ、白人と東アジア人間の副作用発現における人種差の一要因となりうることを示唆された。

#### E. 結論

薬物代謝酵素・トランスポーター・抗体受容体分子の遺伝子多型・ハプロタイプに関しては、日中韓における民族差はヨーロッパ同様に、小さいことが示唆された。一方、薬疹や薬物性肝障害発症に関連する HLA 分子のハプロタイプでは、民族差の存在が、特に日中間で示唆された。

フェニトインのタンパク質アダクト形成に関与する CYP2C19 において、活性消失型多型はアダクト形成を低下させることが示唆され、副作用発現における人種差の一因となっている可能性が考えられた。

#### F. 健康危険情報:

該当無し

#### G. 研究発表:

##### 論文発表

1. Sai K, Saito Y.: Ethnic differences in the metabolism, toxicology and efficacy of three anticancer drugs. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 7: 967-988 (2011).
2. Sudo C, Azuma Y, Maekawa K, Kaniwa N, Sai K, Saito Y.: Current movements of four serious adverse events induced by medicinal drugs based on spontaneous reports in Japan. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku.*, 129: 111-117 (2011).
3. Kurose K, Sugiyama E, Saito Y.: Population differences in major functional polymorphisms of pharmacokinetics/pharmacodynamics-related genes in Eastern Asians and Europeans: implications in the clinical trials for novel drug development. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 27: 9-54 (2012).
4. Kaniwa N, Saito Y.: Pharmacogenomics of severe cutaneous adverse reactions. *Pharmacogenomics*, 14: 595-598 (2013).
5. Kaniwa N, Saito Y.: Pharmacogenomics of severe cutaneous adverse reactions and drug-induced liver injury. *J. Hum. Genet.*, 58: 317-326 (2013).
6. Kaniwa N, Saito Y.: The risk of cutaneous adverse reactions among patients with the *HLA-A\* 31:01* allele who are given carbamazepine, oxcarbazepine or eslicarbazepine: a perspective review. *Ther. Adv. Drug Saf.*, 4: 246-253 (2013).

##### 学会発表

1. 黒瀬光一、杉山永見子、斎藤嘉朗: アジアおよびヨーロッパにおける薬物応答関連遺伝子の機能多型に関する民族差比較。日本薬学会第 132 年会 (2012.3、札幌)
2. 斎藤嘉朗: 副作用予防における遺伝子情報活用の現状と展望 (SJS, TEN)。医療薬学フォーラム 2012 (2012.7、福岡市)
3. 斎藤嘉朗、前川京子、佐井君江、鹿庭なほ子、黒瀬光一: ヒト試料を用いたバイオマーカー

- 一研究の現状と問題点。第 33 回日本臨床薬理学会学術総会（2012. 11、沖縄県宜野湾市）。
4. 斎藤嘉朗、杉山永見子、佐井君江、阿佐野霞、高松昭司：アジア人における薬物応答関連遺伝子の機能多型に関する民族差比較：日本薬物動態学会第 28 回年会（2013. 10, 東京）
  5. 斎藤嘉朗、杉山永見子、松澤由美子、阿佐野霞、高松昭司、佐井君江：遺伝子多型からみた東アジア圏の民族差：第 34 回日本臨床薬理学会学術総会（2013.12、東京）
  6. 佐井君江、松澤由美子、杉山永見子、花谷忠昭、斎藤嘉朗：東および東南アジア地域における薬物応答性遺伝子多型の民族差：日本薬学会第 134 年会（2014.3、熊本）
- G. 知的財産権の出願・登録状況：  
該当無し

## CYP2A6\*4

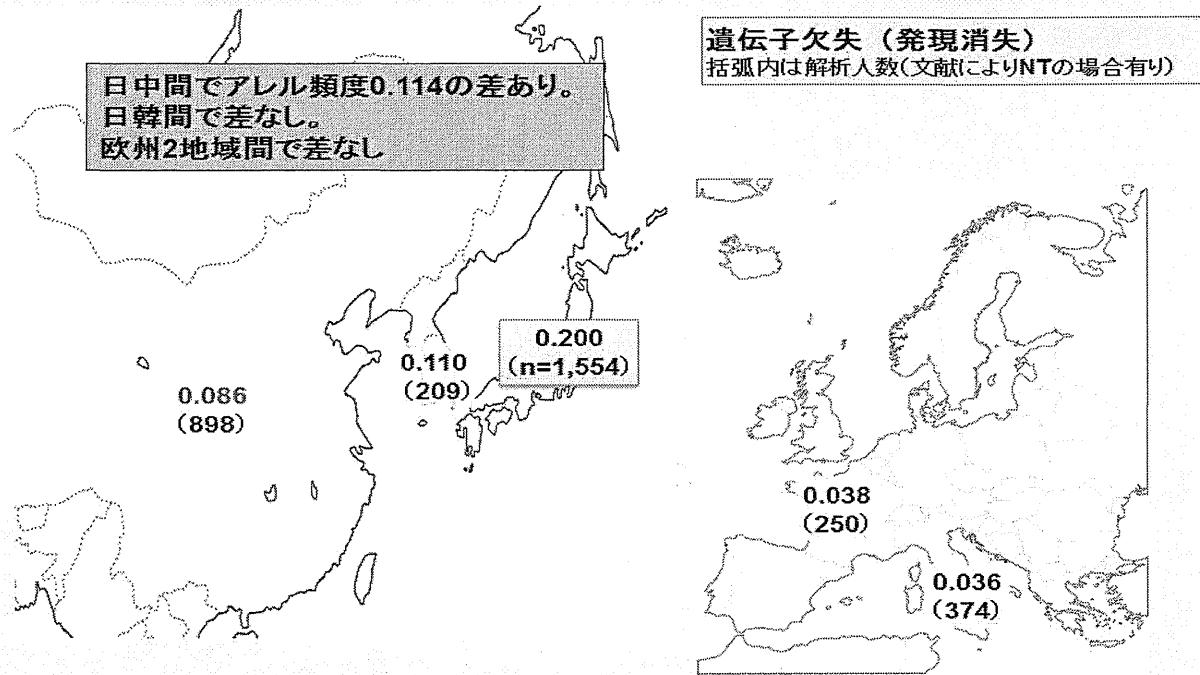


図1 東アジアおよびヨーロッパにおける CYP2A6\*4 のアレル頻度分布

## HLA-B\*58:01

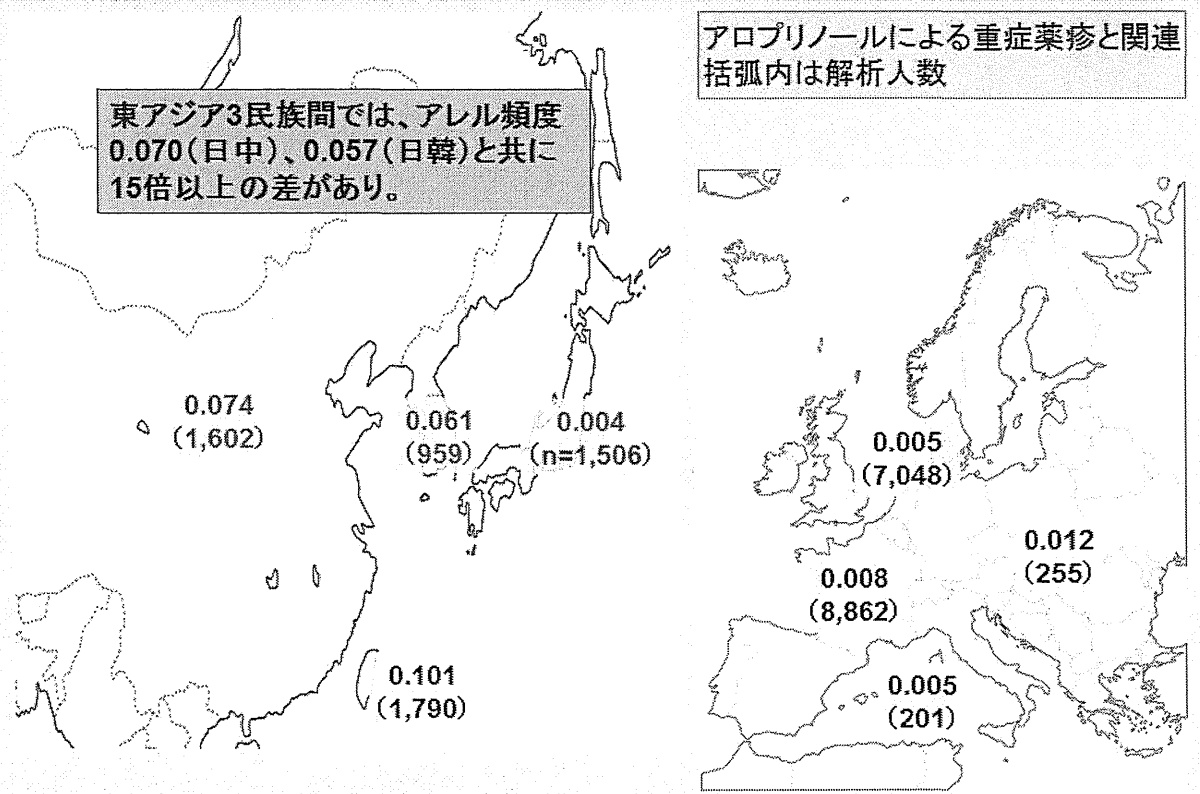
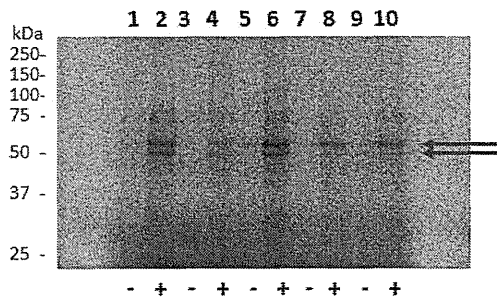


図2 東アジアおよびヨーロッパにおける HLA-B\*58:01 のアレル頻度分布

## フェニトインアダクトタンパクの生成におけるCYP2C19多型の影響



Lane	Microsome	1※
1	HLM150 (pooled)	-
2	HLM150 (pooled)	+
3	HH651 (2C9 *2*3)	-
4	HH651 (2C9 *2*3)	+
5	HH519 (2C9 *3*3)	-
6	HH519 (2C9 *3*3)	+
7	HH40 (2C19 *2*2 PM <sup>2※</sup> )	-
8	HH40 (2C19 *2*2 PM)	+
9	HH689(2C19 *2*2 PM)	-
10	HH689(2C19 *2*2 PM)	+

1※ + or - : NADPH regeneration system

2※ PM: poor metabolizer (2C19欠損)

Microsome	Gender/ Age/ Race	CYP2C9 Diclofenac 4'-hydroxylase pmol/(mg x min)	CYP2C19 (S)-Mephenytoin 4'-hydroxylase pmol/(mg x min)	CYP3A4 Testosterone 6β-hydroxylase pmol/(mg x min)	CYP3A4 Western blot pmol/mg
HLM150 (pooled)		3100	57	4600	67
HH651(2C9 *2*3)	M/31/C	550	9.4	720	ND
HH519(2C9 *3*3)	M/70/C	720	8.4	6400	ND
HH40 (2C19 *2*2 PM)	M/66/A	1700	1.6	2400	ND
HH689(2C19 *2*2 PM)	F/46/C	2800	5.4	2300	ND

フェニトインアダクトタンパク質の生成には、CYP2C19とCYP3A4が寄与し、CYP2C19の活性消失型多型は、生成を減弱させることが示唆された。

3

図3 フェニトインアダクトタンパク質の生成に関するCYP2C19多型の影響

母集団薬物動態解析による東アジア民族間における民族的要因に関する研究

研究分担者 松本 宜明 日本大学 教授

**研究要旨：**

医薬品の開発時間の短縮は、近年の大きな課題となっている。本研究では、平成 21 年度～22 年度に実施された日中韓および白人を対象とした臨床薬物動態試験のデータを用い、遺伝子情報等を組み込んだ母集団薬物動態解析を行い、民族的要因について明らかにすることを目的とした。同一の試験計画に基づいて、日本人、韓国人及び中国人の健康成人男子における臨床試験が行われた。また、対照として、米国在住の白人に対して同様な試験計画による試験が行われた。東アジア民族間における民族的要因の探索としてメロシキカム、シンバスタチン及びモキシフロキサシンの母集団薬物動態解析を行い、最終モデルを決定することができた。そのモデルにより薬物動態に対する影響因子を調べ、さらに薬効への影響を考察した。シンバスタチンの解析では、オープンアシッド体の分布容積に対する年齢の影響が認められたが、その薬効への影響は小さいことが示唆された。モキシフロキサシンの未変化体については、腎クリアランスに対する GFR と韓国人、分布容積に対する LBM と韓国人の影響が認められた。代謝物 2 種については BSA、*UGT1A1* 遺伝子多型並びに白人及び韓国人の影響が認められた。これらの影響による薬物動態の変動は顕著ではなく、薬効への変動は小さいと思われる。メロシキカムの解析では、クリアランスに対する *CYP2C9* 遺伝子多型の影響が大きく認められた。*CYP2C9*\*3/\*3 の変異は薬効に影響すると考えられる。

**A. 研究目的：**

医薬品の開発時間の短縮は、近年の課題である。本研究では、平成 21 年度～22 年度に実施された日中韓および白人を対象とした臨床薬物動態試験のデータを用い、遺伝子情報等を組み込んだ母集団薬物動態解析を行い、日本人を対象とした民族的要因について明らかにすることを目的とした。東アジア民族間における民族的要因の探索としてメロシキカム、シンバスタチン及びモキシフロキサシンの母集団薬物動態解析を行い、最終モデルを決定し、そのモデルにより薬物動態に対する影響因子を調べ、さらに薬効への影響を考察することを目的とした。

**B. 研究方法：**

シンバスタチン：日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究：健康成人男性を対象としたシンバスタチンの薬物動態学的臨床試験（UMIN000003644）によって得られたデータを用い、母集団薬物動態解析を実施した。日本人、韓国人、中国人及び白人、各民族 40 名、合計 160 名の健康成人男性を対象とし、シンバスタチン 20 mg を非盲検下で単回投与した後の 24 時間後までの血漿中薬物濃度を測定した。採血時間はシンバスタチン投与前、投与後 0.5、1、1.5、

2、3、4、5、6、8、12 及び 24 時間後とし、シンバスタチン及び 4 種類の代謝物を測定した。薬物動態モデルの基礎検討には薬物動態解析プログラム Phoenix WinNonlin および SAAM II を用いた。母集団薬物動態解析には非線形混合効果のプログラム NONMEM 7.2.0（First order conditional estimate with interaction (FOCE-I) 法）を用いて計算を実施した。最初にモデル構築可能な代謝物選定、及び適切なモデルの検討を行った。また、ブートストラップ法にて 1000 個のデータを復元抽出法にて作成し、得られた薬物動態パラメータの検証を実施した。シンバスタチン及び代謝物の薬物動態パラメータの個人間変動は対数正規分布を仮定した。シンバスタチン及び代謝物の残差変動は、それぞれ等比誤差及び混合誤差モデルとした。

モキシフロキサシン：日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究：健康成人男性を対象としたモキシフロキサシンの薬物動態学的臨床試験（UMIN000002968）によって得られたデータを対象とした。例数は日本人、韓国人、中国人及び白人でそれぞれ 20、19、20 及び 20 例、計 79 例であった。モキシフロキサシン 400 mg を単回投与後の未変化体及び代謝物である M 1 並びに M 2 における血漿及び尿のデータを



対象とし、血漿データはモキシフロキサシン投与前、投与後 0.5、1、1.5、2、3、4、6、12、24、36、及び 48 時間、尿データについては投与前、投与後 0-6、6-12、12-24 及び 24-48 時間に採取した。母集団薬物動態解析には非線形混合効果のプログラム NONMEM 7.2.0 (FOCE-I 法)を用いて計算を実施した。基本モデルとして、未変化体、M 1 及び M 2 に対して、尿中排泄を加味した経口 1-コンパートメント及び 2-コンパートメントモデルを検討した。薬物動態パラメータの個人間変動は対数正規分布を仮定した。残差変動は等比誤差モデル、等差誤差モデルおよび混合誤差モデルを検討した。解析の際には以下の仮定を考慮した：1. 投与された未変化体はすべて未変化体、M1 又は M2 のいずれかの形で吸収される。2. M1 及び M2 の吸収速度定数及びラグタイムは未変化体のものと同様である。3. 腸管循環の影響は無視することができる。4. 以前に報告されているマスバランス試験の結果から、代謝物 2 種における腎クリアランスと腎外クリアランスの割合を固定した。5. マスバランス試験で認められた糞中の未変化体はグルクロナイド体である M2 由来のものとした。また、得られた最終モデルに対し、ブートストラップ法を用いて薬物動態パラメータの頑健性を検討した。

メロキシカム：日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究：健康成人男性を対象としたメロキシカムの薬物動態学的臨床試験 (UMIN000004173) によって得られたデータを対象とした。日本人、韓国人、中国人及び白人、それぞれ 30、29、30、30 名、合計 119 名の健康成人男性を対象とし、メロキシカム 7.5 mg を非盲検下で単回投与した後の血漿中薬物濃度を測定した。採血はメロキシカム投与前、投与後 1、2、3、4、5、6、8、12、24、36、48、60、および 72 時間後に行った。薬物動態モデルの基礎検討には薬物動態解析プログラム Phoenix WinNonlin および SAAM II を用いた。母集団薬物動態解析には非線形混合効果のプログラム NONMEM 7.2.0 (FOCE-I 法)を用いて計算を実施し、メロキシカム体内動態の変動要因を探索した。薬物動態パラメータの個人間変動は対数正規分布を仮定した。残差変動は等比誤差モデル、等差誤差モデルおよび混合誤差モデルを検討した。さらに、文献より得られたデータを対象にメロキシカム薬物動態/薬力学モデルを構築し、シミュレーションによりメロキシカムの薬効の変動要因を調べた。

(倫理面での配慮)

本研究で解析するデータの研究計画は大学院医療情報ネットワーク (Universityhospital Medical Information Network, UMIN) に登録されている。本研究の解析は、厚生労働省の「臨床研究に関する倫理指針」に則って行われ、母集団薬物動態解析については倫理審査委員会 (日本大学薬学部臨床研究に関する倫理審査委員会及び国立医薬品食品衛生研究所研究倫理審査委員会) で審査され承認を受けた。

### C. 研究結果および考察：

シンバスタチン：測定した 4 種類の代謝物のうち、3 種類の代謝物の多くの測定点は定量下限値未満のため、モデル構築には至らなかった。3 種類の代謝物の血漿中濃度推移を図 1 に示す。血漿中シンバスタチン濃度データ数は 1650 点、血漿中シンバスタチンオープンアシッド体濃度データ数は 1645 点であった。シンバスタチン及び代謝物の 1 つであるオープンアシッド体のデータについては、モデルが正常に収束し、評価が可能であった。モデル評価の結果、シンバスタチンは 2 つのコンパートメント、オープンアシッド体を 1 つのコンパートメントとし、各コンパートメントから排泄し、シンバスタチンからオープンアシッド体のコンパートメントに連結するモデルが構築された (図 2)。ブートストラップ法にて、1000 個のデータを作成し、上述したモデルを当てはめ、復元抽出したすべてのデータセットにおいて、各々の薬物動態パラメータを求めた。その結果、シンバスタチン及びオープンアシッド体のそれぞれで高い収束率が確認され、最初に求めた薬物動態パラメータの頑健性が確認された。本研究の最終モデルによる共変量解析の結果、オープンアシッド体の分布容積に年齢の影響が確認されたが、シンバスタチン及びオープンアシッド体の薬物動態に人種による影響は認められなかった。さらにオープンアシッド体の分布容積に年齢の影響は、本研究のデータの範囲では 10% 程度の変動のため、薬効への影響は小さいと思われるが、今後検証する必要があると考える。

モキシフロキサシン：解析に使用した血漿中濃度データ数は未変化体、M 1 及び M 2 でそれぞれ 869, 764 及び 869 点であり、尿中濃度データ数は未変化体、M 1 及び M 2 でそれぞれ 316 点であった。未変化体、M1 及び M2 の薬物動態 (図 3) を記述するために 10 のコンパートメントを用いてモデル構築を試みた。初回通過効果による M1 及び M2 の生成はバイオアベイラビリティを用いて表現した。代謝機構もモデルに加えた。尿中排泄

を考慮した経口 2-コンパートメントモデルに対し、全ての薬物動態パラメータに個体間変動を仮定した場合には、薬物動態パラメータの算出のための繰り返し計算は正常に収束しなかったが、吸収速度定数、クリアランス、中心コンパートメント分布容積のみに個体間変動を仮定した場合には、薬物動態パラメータの算出が正常に収束した。また、尿中排泄を考慮した経口 1-コンパートメントモデルに対し、吸収速度定数、クリアランス、分布容積に個体間変動を仮定した解析においても、薬物動態パラメータの算出は正常に収束した。モデル評価の結果、未変化体、M1 及び M2 の薬物動態をラグタイム有りの一次吸収を伴う尿中排泄を考慮したコンパートメントモデルで記述した。未変化体のみが 2-コンパートメントモデルに従い、代謝物 2 種については 1-コンパートメントモデルに従った(図 4)。得られた最終モデルでのバイオアベイラビリティを含む各化合物の薬物動態パラメータは以前に報告されていたものと一致していた。ブートストラップ法により薬物動態パラメータの頑健性を検討した結果、最終モデルにおける未変化体、M1 及び M2 のいずれのパラメータについても高い頑健性が示された。また、VPC による評価においても最終モデルは観察値をよく記述できていた。日本人との差を民族差として共変量解析を行った結果、モキシフロキサシンの未変化体については、腎クリアランスに対する GFR と韓国人、分布容積に対する LBM と韓国人の影響が認められ、代謝物 2 種については BSA、UGT1A1 遺伝子多型並びに白人及び韓国人の影響が認められたが、これらの影響による未変化体の AUC への影響は小さく、薬効への変動は小さいと考えられる。

メロキシカム：解析に使用した血漿中濃度データ数は 1547 点であった。薬物動態パラメータの算出が正常に収束し、目的関数値が低値を示した並行吸収 1-コンパートメントモデル(図 5)を基本モデルとし、共変量探索を行った。クリアランスの変動要因として CYP2C9 遺伝子多型が、分布容積の変動要因として除脂肪体重が認められた。本研究により得られたメロキシカム母集団薬物動態モデルを用いシミュレーションした CYP2C9\*1/\*1 および CYP2C9\*3/\*3 被験者の血中濃度-時間曲線を図 6 に示す。薬物動態パラメータの東アジア民族間差および東アジア民族と白人との人種差は見出されなかった。変動要因として認められた CYP2C9 遺伝子多型および除脂肪体重によるトロンボキサン B<sub>2</sub> 生成率の変動を調べるため、構築したメロキシカム薬物動態/薬力学モデルを用い、メロキシカム 7.5 mg 単回投与における投与後 96 時間までのトロンボキサン B<sub>2</sub> 生成

率をシミュレーションした。CYP2C9\*3/\*3 変異型のトロンボキサン B<sub>2</sub> 生成率は、他の遺伝子変異に比べ大きく変動し薬効への影響が考えられる。除脂肪体重の変動による影響は、CYP2C9 遺伝子型による変動に比べ小さく、トロンボキサン B<sub>2</sub> 生成率の変動はほとんど認められなかった。

薬物の体内動態および薬効に影響する因子には、遺伝子、生体周期、生体の病態、コンプライアンス、環境、人種と様々な因子を考察しなければならない。とりわけ遺伝子は明確なターゲットとなる。一方、薬物測定の本質のコントロールも重要で、測定方法の開発から運用まで臨床研究結果を大きく左右する。これらの基本的な情報を確実なものにすることが重要と考えられる。本研究ではこれらの要因を可能な限り無くして、薬物動態試験を行い、その結果を母集団薬物動態解析法に基づいて詳細に検討した。シンバスタチンおよびメロキシカムにおいて民族差による薬物動態の影響は認められなかった。モキシフロキサシンは一部人種の影響が検出された。一方、シンバスタチンの薬物動態に関する民族差に影響は認められないことから、薬効の変動の要因を今後探索する必要がある。また、モキシフロキサシンは一部の人種差が詳細な母集団薬物動態解析で検出できたが、その観点から薬効への変動を検証する必要がある。さらにメロキシカムは大きな薬物動態の変動の因子が遺伝子であることが明らかになったことから、このことによる薬効への影響をさらに検証する必要があると考えられる。

D. 健康危険情報：  
なし

E. 研究発表：

1. 佐藤尚子、青山隆彦、上野高浩、福田昇、藤田朋恵、鈴木立紀、池田康彦、熊谷雄治、松本宣明「脂質異常症治療薬のバイオマーカーである血中メバロン酸濃度推移の概日リズムモデリング」(医療薬学フォーラム 2011 第 19 回クリニカルファーマシーシンポジウム；7 月 9 日、旭川市民文化会館、旭川)
2. 青山隆彦、平田清貴、林宏行、松本宣明「フルコナゾールおよびミダゾラム母集団薬物動態解析における prediction-corrected visual predictive check の実施例」(第 27 回 Population Pharmacokinetics 研究会；10 月 14 日、昭和大学上條講堂、東京都)
3. Aoyama T, Hirata K, Hayashi H and Matsumoto Y, 「Fluconazole dosing regimen in critically

ill patients: population pharmacokinetic analysis and Monte Carlo simulation]

(International Symposium on Past, Present and Future of Molecular Pharmacokinetics Integration of Basic Science, Drug Development and Regulation; January 16, Hitotsubashi Hall, Tokyo)

4. 浅野梓、青山隆彦、山田香苗、林宏行、青山幸生、松本宜明「プロポフォルの母集団薬物動態/薬効解析」(第29回 日本TDM学会・学術大会 2012年 6月16日 神戸)

5. 槇石美聡、青山隆彦、飯盛美由紀、中野行孝、林宏行、松本宜明、藤戸博「アジスロマイシン坐剤の in vitro - in vivo 相関を用いた薬物動態モデルの構築」(医療薬学フォーラム 2012 第20回クリニカルファーマシーシンポジウム 2012年 7月14日 福岡)

6. 島田崇史、辰野正浩、青山隆彦、上野高浩、福田昇、藤田朋恵、鈴木立紀、池田康彦、熊谷雄治、松本宜明「メタボリックシンドロームに関わる検査値(レプチン, アディポネクチン)の24時間経時的推移の基礎検討」(医療薬学フォーラム 2012 第20回クリニカルファーマシーシンポジウム 2012年 7月14日 福岡)

7. 牧田朋実、辰野正浩、青山隆彦、上野高浩、福田昇、藤田朋恵、鈴木立紀、池田康彦、熊谷雄治、松本宜明「メタボリックシンドロームに関わる検査値 (HDL・LDL コレステロール, 中性脂肪)の24時間経時的推移の基礎検討」(医療薬学フォーラム 2012 第20回クリニカルファーマシーシンポジウム 2012年 7月15日 福岡)

8. 平田清貴、白石振一郎、青山隆彦、奈良弘恵、大下順子、松本宜明、片山志郎、横田裕行「集中治療患者におけるアルベカシンの最高血中濃度と効果に関する検討」(第33回日本臨床薬理学会 2012年 11月30日 沖縄)

9. 辰野正浩、青山隆彦、牧田朋実、島田崇史、上野高浩、福田昇、藤田朋恵、鈴木立紀、池田康彦、熊谷雄治、松本宜明「メタボリックシンドロームに関わる検査値(アディポネクチン・レプチン)の24時間経時的推移の基礎検討」(第33回日本臨床薬理学会 2012年 11月30日 沖縄)

10. 鈴木大輔、青山隆彦、頭金正博、斎藤嘉朗、川合眞一、松本宜明「メロキシカム母集団薬物動態解析による薬物動態の民族間差の検討」(日本薬学会第133年会 2013年 3月29日 横浜)

11. 鈴木大輔、青山隆彦、松本宜明「PK/PD 解析によるメロキシカムの薬効評価」(日本薬剤学会第28年会, 平成25年5月23-25日, 名古屋)

12. 影山明、青山隆彦、松本宜明「モキシフロキサシン薬物動態モデルによるランジットモ

デルのパラメータ推定の検討」(第30回 TDM 学会・学術会, 平成25年5月25日26日, 熊本)

13. 荻野知美、青山隆彦、松本宜明「メロキシカム体内動態変動要因が薬効に与える影響の検討」(医療薬学フォーラム 2013 第21回クリニカルファーマシーシンポジウム, 平成25年7月20日, 金沢)

14. 小栗朋恵、原真由美、青山隆彦、青山幸生、林宏行、松本宜明「錠剤および細粒投与におけるアセトアミノフェンの母集団薬物動態解析」(医療薬学フォーラム 2013 第21回クリニカルファーマシーシンポジウム, 平成25年7月20日, 金沢)

15. 青山隆彦、荻野知美、上野高浩、福田昇、永瀬浩喜、松本宜明「ラットにおけるピロールイミダゾールポリアミドの定量的構造-薬物動態相関解析」(日本薬学会第134年会, 平成26年3月27-30日, 熊本)

16. 大塔有希子、青山隆彦、鈴木豊史、深水啓朗、伴野和夫、松本宜明「飽和性・不飽和性コンポーネントにより構成される膜透過速度式のパラメータ推定性の検討」(日本薬学会第134年会, 平成26年3月27-30日, 熊本)

F. 知的財産権の出願・登録状況：  
なし

#### G. 添付資料

(1). Aoyama T, Hirata K, Hirata R, Yamazaki H, Yamamoto Y, Hayashi H and Matsumoto Y, Population pharmacokinetics of fluconazole after administration of fosfluconazole and fluconazole in critically ill patients. J Clin Pharm Ther (2011)

doi:10.1111/j.1365-2710.2011.01297.x [Epub ahead of print]

(2). 石田潔正、小鍛冶由佳、黒川恵美、高田祥世、田中宏昌、青山隆彦、松本宜明. 母集団薬物動態解析における診断プロットを用いたモデル診断の診断者の個人差に関する調査. TDM 研究 29(1) 14-20. (2012)

(3). Kajiwara M, Ueno T, Fukuda N, Matsuda H, Shimokawa T, Kitai M, Tsunemi A, Fuke Y, Fujita T, Matsumoto K, Matsumoto Y, Ra C, Soma M. Development of PI Polyamide Targeting Fc Receptor Common Gamma Chain for The Treatment of Immune-Complex Related Renal Disease. Biol Pharm Bull. 2012, 35(11), 2028-35.

(4). Kamei T, Aoyama T, Tanaka C, Nagashima T, Aoyama Y, Hayashi H, Nagase H, Ueno T, Fukuda

N, Matsumoto Y. Quantitation of pyrrole-imidazole polyamide in rat plasma by high-performance liquid chromatography coupled with UV detection. *J Biomed Biotechnol.* 2012, Article ID 715928.

(5). Effects on serum uric acid by difference of the renal protective effects with atorvastatin and rosuvastatin in chronic kidney disease patients. Kose E, An T, Kikkawa A, Matsumoto Y, Hayashi H. *Biol Pharm Bull.* 2014;37(2):226-31.

(6). A novel gene regulator, pyrrole-imidazole polyamide targeting ABCA1 gene increases cholesterol efflux from macrophages and plasma HDL concentration. Tsunemi A, Ueno T, Fukuda N, Watanabe T, Tahira K, Haketa A, Hatanaka Y, Tanaka S, Matsumoto T, Matsumoto Y, Nagase H, Soma M. *J Mol Med (Berl).* 2014 May;92(5):509-21. doi: 10.1007/s00109-013-1118-x. Epub 2014 Jan 25.

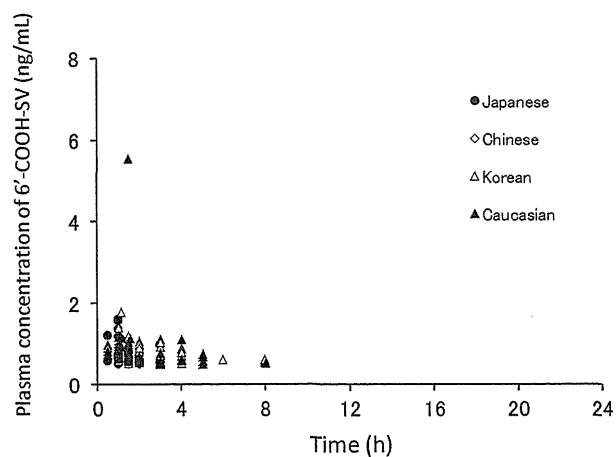
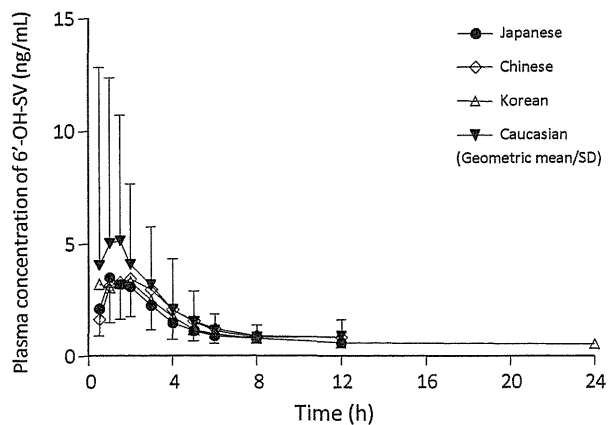
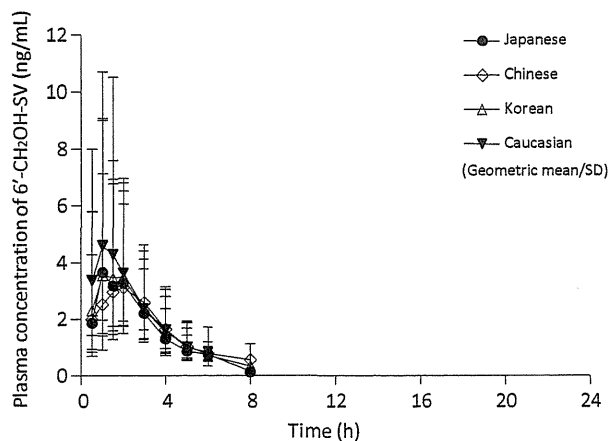


図1 シンバスタチン代謝物の血漿中濃度推移

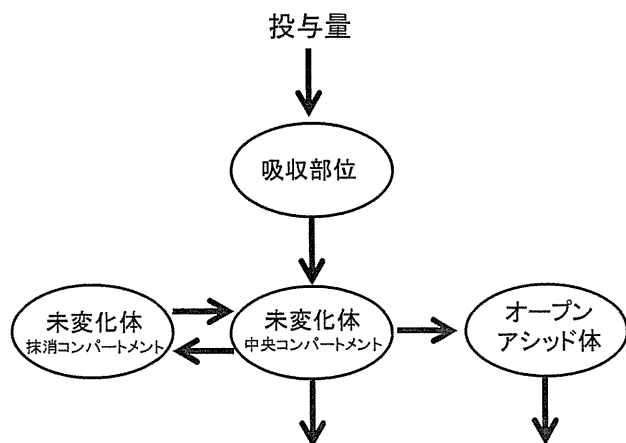


図2 シンバスタチンの薬物動態モデル

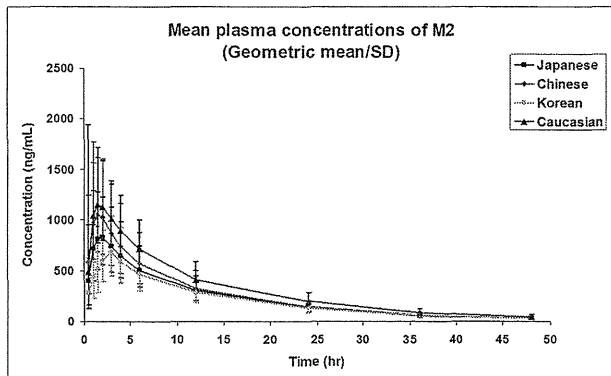
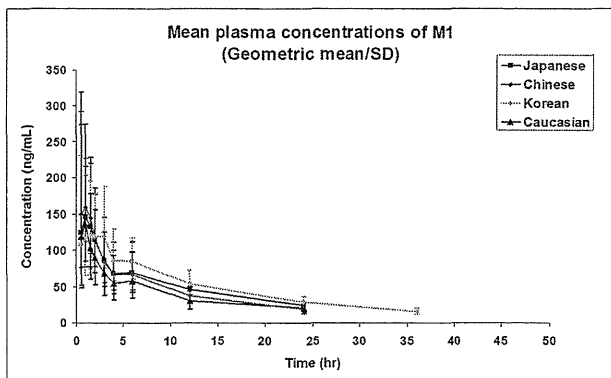
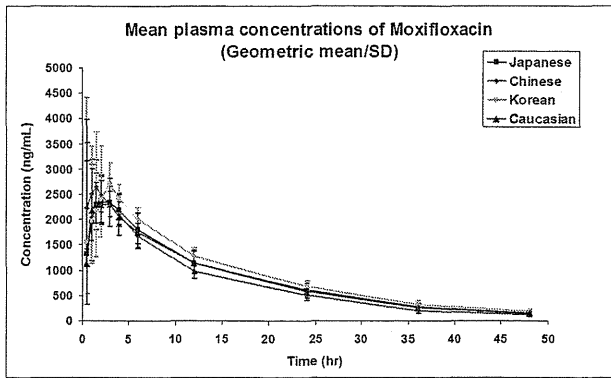


図3 モキシフロキサシン 400mg 投与後の未変化体、M1 及び M2 の血漿中濃度推移

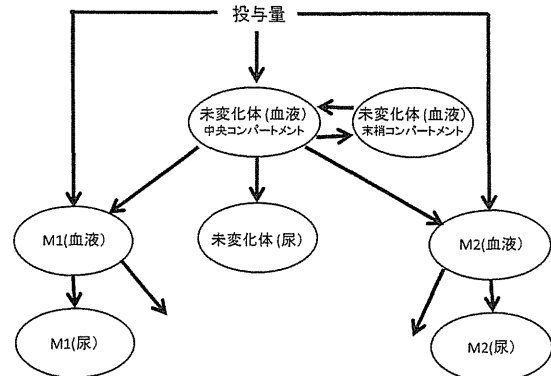


図4 モキシフロキサシンの薬物動態モデル

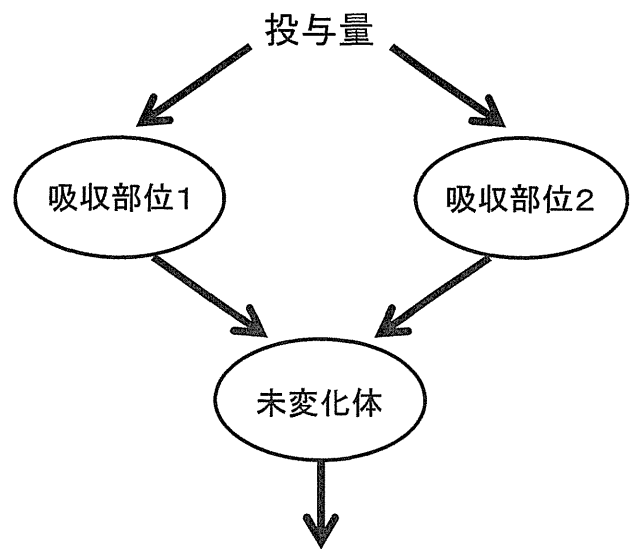


図5 メロキシカムの薬物動態モデル

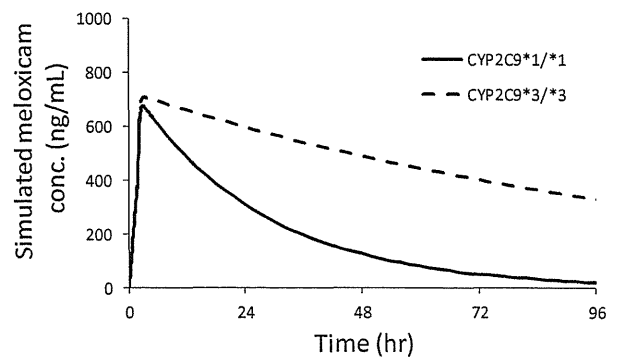


図6 メロキシカム血中濃度推移に対する CYP2C9 遺伝子型の影響

投与量 7.5 mg, 除脂肪体重 55.0 kg における血中濃度推移.

遺伝子発現を場にした薬物代謝の民族差に関する基盤研究

研究分担者 田中廣壽 東京大学 医科学研究所 教授

研究要旨：

我が国を含む東アジア諸民族を国際共同治験に組み込む治験システムの構築において、医薬品の応答性における民族的要因を補完することはきわめて重要と思われる。近年、核内レセプターの分子生物学的研究基盤を背景にその作用を選択的に制御する創薬が活発に展開されている。本研究は、核内レセプターの中でも臨床薬理学的に重要なグルココルチコイドレセプターGR と PXR に焦点をあて、それらの周辺分子の同定、エピジェネティック制御機構の解明、を通じて、これらのリガンドとなる薬剤の薬効と副作用の民族差、人種差を解明する分子基盤を確立することを目的とする。

GR に関しては、核内タンパク HEXIM1 が GR にリガンド非依存性に結合し、その機能を抑制することがわかった。HEXIM1 は 7SK RNA を介さず、タンパク・タンパク相互作用によって GR 機能を負に制御する。今後、HEXIM1 の遺伝子レベルの多型解析から GR を標的とした薬剤の効果に関する民族差に迫る。PXR はある種の薬物依存性に CYP3A4 などの薬物代謝酵素の発現を遺伝子レベルで制御する。これまで PXR 自体の民族的差は軽微とされていた。わたしどもは、質量分析法などによって新たな PXR 結合タンパク候補を複数単離した。まず、CBP/p300 は転写共役因子として知られ、PXR の転写調節機構にもすでに関与することが報告されていた。今回、それに加え、PXR と相互作用する因子として p60 を単離した。P60 は PXR 応答性レポーター遺伝子発現を負に制御した。かかるタンパク・タンパク相互作用は乳がん細胞株において顕著に認められ、乳がんの病因病態とこれらの分子の関係が示唆された。今後、GR、PXR による遺伝子発現制御のエピジェネティック制御機構をさらに明確にすることによって、これらのレセプターを標的とする医薬の薬効・副作用の民族差・人種差に関わる分子基盤を解明しようとする。

A. 研究目的：

医薬品の応答性における民族的要因を補完することによって、我が国を含む東アジア諸民族を国際共同治験に組み込む治験システムの構築が可能になり、日本および東アジア諸国を含めた国際共同治験が効率的に実施できるものと考えられる。そこで、薬効を規定する薬効受容体の遺伝子変異と薬効の発現について基礎的に検討し、薬効に民族差を生じる原因の一部を解明する方法を確立することは急務と言える。

核内レセプターはリガンド依存性転写因子として多彩な生理的役割を果たしている。従来、グルココルチコイドに対する応答性の人種差、民族差のメカニズムはGRの遺伝子多型、SNIPsに関する研究から解析されてきたが、いまだにその分子基盤は脆弱であり、臨床薬理学的応用可能な成果に乏しい。近年、GRを含む核内レセプターによる遺伝子発現制御は組織あるいは遺伝子選択的なエピジェネティック制御を受ける実態が明らかとなり、GRと標的DNAを含むその周辺分子の解析からグルココルチコイド応答性の理解が進展している。しかし、かかる研究をグルココルチコイド応答性の民族差や人種差に結びつけた

研究はない。一方、pregnane X receptor (PXR) は胆汁酸などの内因性生理活性物質や薬剤をリガンドとし、それらの吸収・分配・代謝・排泄を担う臓器である肝臓と小腸に高発現している特異な核内レセプターである。その代表的標的遺伝子には、CYP3A4、CYP7 $\alpha$ などがある。これまで、PXRの遺伝子多型、SNIPsと薬物の有効性、副作用の民族差、人種差に関して臨床薬理学的重要性から多くの研究がなされてきた。しかし、PXRのエピジェネティック制御機構には不明な点が多く、その周辺分子の解析も立ち後れている。そこで、われわれは、核内レセプターの中でも臨床薬理学的に重要なこれらの二つの分子に焦点をあて、転写共役因子を含むそれらの周辺分子の同定、エピジェネティック制御機構の解明、を通じて、これらのリガンドとなる薬剤の薬効と副作用の民族差、人種差を解明する分子基盤を確立することを目的とする。

B. 研究方法：

- 1) GR、PXR 機能をエピジェネティックに制御する分子の同定とその機能解析

すでに構築した Flag タグ付き GR、PXR 発現系を bait として GR、PXR 結合タンパク質を質量分析法によって網羅的に同定する。各々に関して、発現プラスミドを作成し、GR、PXR 応答性遺伝子発現に与える影響をトランスフェクション法を用いたレポーターアッセイで検討する。

## 2) 同定した周辺分子の個体における機能解析

各々の核内レセプターに関して、同定したエピジェネティック制御分子のアデノウイルス発現系構築、遺伝子改変動物作成などによって個体における役割の解析を行う。

(倫理面での配慮)

組み替え DNA 実験、動物実験などは法令、施設基準などを遵守して実施した。

## C. 研究結果 :

Flag-GR、GST-HEXIM1 を用いた解析などから、核内タンパク HEXIM1 が GR にリガンド非依存性に結合することを見いだした。HEXIM1 は脳、肺、肝臓、心筋などにおいて高発現していたが、心筋においては胎生期の右心系圧が高い時期に発現しており、出生後は速やかに消失することがわかった。HEXIM1 は non-coding RNA と通常結合しているが、GR と複合体を形成する際には 7SK RNA は関与していなかった。HEXIM1 発現アデノウイルスを用いた検討などから、GR と HEXIM1 は直接のタンパク-タンパク相互作用によって結合することがわかった。Cre-loxP システムを用いて臓器特異的 HEXIM1 トランスジェニックマウス作出系を樹立した。すでに、aMHC-Cre マウスとの交配によって心筋特異的 HEXIM1 トランスジェニックマウスの作成に成功した。かかるマウスは外観上は野生型と区別できない。また、通常の飼育下では寿命も同等であった。GR との相互作用を個体レベルで明確にするため、心筋特異的 GR 遺伝子破壊マウスもあわせて作成した。現在、これら 2 系統のマウスを交配させ、ダブルノックアウトマウスを作成中である。今後、グルココルチコイド応答の個体差に関する HEXIM1 の意義をかかる動物モデルを用いてさらに究明する。

同様に、質量分析法によって PXR 結合タンパク候補を単離した (図 1)。中でも、既知のタンパク質である CBP/p300 は PXR に直接結合し CYP3A4 などの標的遺伝子発現を正に制御することがわかった。今回、分子量 60kDa のタンパク p60 に関して分子生物学的に解析した (図 2-4

)。その結果、p60 は PXR 応答性レポーター遺伝子発現を負に制御した。かかるタンパク-タンパク相互作用は乳がん細胞株において顕著に認められ、乳がんの病因病態とこれらの分子の関係が示唆された。

## D. 健康危険情報 :

とくになし。

## E. 研究発表 :

1. Shimizu N, Yoshikawa N, Ito N, Maruyama T, Suzuki Y, Takeda S, Nakae J, Tagata Y, Nishitani S, Takehana K, Sano M, Fukuda K, Suematsu M, Morimoto C, Tanaka H. Crosstalk between Glucocorticoid Receptor and Nutritional Sensor mTOR in Skeletal Muscle. *Cell Metab.* 13(2):170-182, 2011
2. Mu SY, Shimosawa T, Ogura S, Wang H, Uetake Y, Kawakami-Mori F, Marumo T, Yatomi Y, Geller DS, Tanaka H, Fujita T. Epigenetic modulation of the renal  $\beta$ -adrenergic-WNK4 pathway in salt-sensitive hypertension. *Nat. Med.* 17(5):573-580, 2011
3. Toyokawa G, Cho H-S, Iwai Y, Yoshimatsu M, Takawa M, Hayami S, Maejima K, Shimizu N, Tanaka H, Tsunoda T, Field H, Kelly J, Neal D, Ponder B, Maehara Y, Nakamura Y, and Hamamoto R. The histone demethylase JMJD2B plays an essential role in human carcinogenesis through positive regulation of cyclin-dependent kinase 6. *Cancer Prev. Res.* 4(12):2051-2061, 2011
4. Yoshikawa N, Shimizu N, Maruyama T, Sano M, Matsushashi T, Fukuda K, Kataoka M, Satoh T, Ojima H, Sawai T, Morimoto C, Kuribara A, Hosono O, Tanaka H. Cardiomyocyte-specific overexpression of

HEXIM1 prevents right ventricular hypertrophy in hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *PLoS One*. 2012;7(12):e52522. doi: 10.1371/journal.pone.0052522.

5. Kondo S, Iwata S, Yamada T, Inoue Y, Ichihara H, Kichikawa Y, Katayose T, Souta-Kuribara A, Yamazaki H, Hosono O, Kawasaki H, Tanaka H, Hayashi Y, Sakamoto M, Kamiya K, Dang NH, and Morimoto C. Impact of the integrin signaling adaptor protein NEDD9 on prognosis and metastatic behavior of human lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2012;18(22):6326-38. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2162
6. Osamu Hosono, Noritada Yoshikawa, Noriaki Shimizu, Shigeru Kiryu, Masaaki Uehara, Hiroshi Kobayashi, Ryo Matsumiya, Akiko Kuribara, Takako Maruyama, Hirotohi Tanaka. Quantitative analysis of skeletal muscle mass in patients with rheumatic diseases under glucocorticoid therapy - comparison among bioelectrical impedance analysis, computed tomography, and magnetic resonance imaging. *Modern Rheumatology*, in press
7. 松宮遼、清水宣明、吉川賢忠、丸山崇子、田中廣壽 [リウマチ性疾患にみられる筋病変と合併症]ステロイドミオパチーの診断と治療 リウマチ科 (0915-227X)49 巻 4 号 463-470、2013 年 4 月
8. 田中廣壽、細野治、小林弘、吉川賢忠、松宮遼 [関節リウマチ - ケアからキュアを目指した治療]薬物治療とその留意点 ステロイド 日本臨床 (0047-1852)71巻7号1261-1265、2013年7月
9. 吉川賢忠、田中廣壽 RAにおけるステロイドの功罪と新規ステロイド剤の開発への期待 リウマチ科 (0915-227X)51巻2号218-228、2014年2月

F. 知的財産権の出願・登録状況：  
なし。

G. 添付資料  
なし。



図1 グルココルチコイドレセプターGRはHEXIM1と結合する

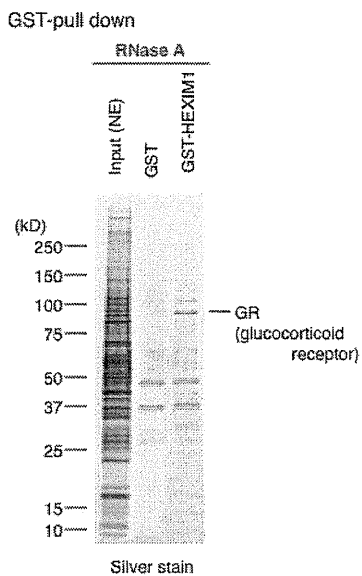


図2 各組織におけるHEXIM1のタンパク発現

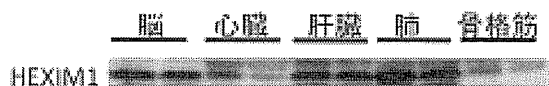


図3 PXRとp60の相互作用 - 免疫沈降法による検討

