

[研究紹介]

薬剤部における研究

有 吉 範 高 北 田 光 一

薬剤部における研究は、主に医学部本館3Fの試験・研究室で行なっているが、大学院薬学研究院の協力講座である病院薬学研究室でも一部実施している。現在、年間を通じて研究に従事している職員は、助教授1名、主任クラス（試験研究室長）1名、常勤職員4、5名である。また例年5月に受け入れている卒業研修生（毎年10名前後）や、病院薬学研究室から受け入れている薬学部の学生（4年生1名）、大学院生（修士課程4名）、社会人大学院生（博士課程1名）の研究指導も行っているため総数は少なくはないが、職員は業務の開始前、あるいは終了後、土日祝祭日、または法人化に伴い制度化された非番や週休の日に研究せざるを得ず、他の臨床系の研究室同様、十分な時間がとれないため、一定の成果を上げるまでに長期のタイムスパンが必要なことと、論文を書き慣れた者が少ない点が悩みの種である。本稿ではここ数年の間に行なってきた研究の代表的なものについて概要を紹介する。

研究は大別すると、基礎的な研究と、より業務と密接に関連したものに分かれるが、まずは基礎的研究から紹介する。

1) 血管平滑筋細胞の形質変換機序に関する研究:

血管平滑筋細胞は様々な刺激により形質変換を起こし、動脈硬化病巣の形成や、PTCA後の再狭窄のような血管内内膜肥厚の形成に関与している。そこで、血管平滑筋細胞が分化型から増殖型へ形質変換する機構を研究することにより、上記血管病変の予防や治療に繋がる知見

を得たいと考えている。従来、血管平滑筋細胞を分化型のままで培養する方法が確立されていなかったため、形質変換の機構の研究は困難であったが、病院薬学研究室では、ハニカムと呼ばれる3次元構造のI型コラーゲンマトリックスが血管平滑筋細胞を、分化型形質を保持したままの培養に適することを見出し、現在この系を利用して様々な観点から増殖型への形質変換機序を探っている。

2) 漢方薬の薬物代謝酵素活性への影響に関する研究:

当院では本年、和漢診療科が新設されたが、本邦では1976年に漢方薬が保険医療に組み入れられた後、漢方と西洋薬が併用される例が少なくない。しかしインターフェロン α 製剤と小柴胡湯の併用による死亡例が報告されるまで、両者の併用による相互作用は注目されていなかった。その後、漢方薬に含まれる生薬中の多数の成分に関する科学的な評価がなされるようになってきたものの、薬物間あるいは、健康食品と薬物の間の相互作用の研究に比べると著しく遅れをとっている。当研究室では、*in vitro*、*in vivo*の両面から、生薬成分がヒトの代表的薬物代謝酵素cytochrome P450 (CYP)の活性に及ぼす影響を検討している。

3) CYP3A活性に及ぼす内因性ステロイドの影響に関する研究:

CYP3Aはヒトでは4つの分子種が知られており、その中でCYP3A4は成人肝臓の、CYP3A7は胎児肝臓の主要な（発現量が多）分子種であり、特にCYP3A4は生後、ヒトに

おける薬物代謝酵素の中ではもっとも重要なCYP分子種として知られている。両酵素は、異物の代謝酵素活性を有しているが、もともとの生理的機能は、ステロイドを中心とした内因性基質の代謝であると考えられている。特に胎児期においては、胎児特有の副腎胎児層より胎児の発育と妊娠維持に必要な大量のDHEA-Sが分泌されており、成人とは全く異なるステロイドの分泌パターンを示していることが知られている。したがって、内因性ステロイドのCYP活性に及ぼす影響を検討することは、妊娠中の薬物摂取の問題と絡めて重要な課題である。また成人では我々の検討結果から、性ステロイドがCYP3A4活性に影響を及ぼすようであり、薬物代謝酵素活性の性差の問題を一部説明しようと考えている。

4) 薬物動態・薬効制御蛋白質の活性および発現量の個体差に関する研究:

現在はCYP3A4, CYP2C9およびCYP2B6に焦点をあてて研究している。CYP3A4はその活性に約40-50倍の個体差があり、その個体差の原因は、主に転写レベルの違いによる酵素蛋白質の発現量の差であると信じられている。しかし、その個体差を説明しうる要因は現在まで明らかでない。上述のごとく、本酵素は、薬物代謝においてもっとも重要な酵素でありながら、この著しい活性の個体差のため、基質となる薬物の体内動態を患者個々に予測することは困難である。我々は、CYP3A4の誘導的発現の鍵となる転写因子の遺伝子上流に存在する多型が、CYP3A4活性と相関する可能性を見出しすでに発表しているが、検体数を増やしてさらに検証中である。また、CYP3A4, CYP2B6の日本人において多くみられる多型酵素の発現系を構築し、医薬品の代謝にどれほどの影響を及ぼすかを定量的に評価している。CYP3A4では、日本人に認められる多型のうち、アミノ酸置換を伴うもの(*11, *16, *18)が様々な医薬品代謝に及ぼす影響を検討している。CYP2B6では、172番目のGlnがHisになる一塩基多型(SNP)を日本人からはじめて見出し、その多型が典型的な基質の代謝酵素活性上昇を引き起こすことを以前に報告しているが、

シクロホスファミドでも著しく代謝が亢進することを見出した。CYP2C9はN末端に近い部位で連続的なアミノ酸の置換が起こり、その後はまた通常のアミノ酸に戻る新規のスプライシングバリエーション(SV)を見出したため、その機能評価を行なった。このSVの翻訳産物は、異物代謝酵素活性を欠失していると考えられたが、ヘム蛋白質としての性質は保持していた。興味深いことに調べた8検体のヒト肝臓全てに発現しており、何らかの生理的機能を有している可能性がある。なお、この研究過程で、脂肪肝では、CYP2C9の発現レベルが著しく低下する可能性を見出し、脂肪肝を有する患者では、CYP2C9で代謝される薬物の動態に注意が必要であると考えられる。

また、DNA修復酵素の一つ、アルキルグアニンアルキル転移酵素(MGMT)の遺伝子上流域に見出した多型がMGMTの転写活性に影響を及ぼすことを見出し、アルキル化剤に対する遺伝的感受性を規定している可能性を見出した。

5) 肝外組織に発現するCYPの薬物代謝学的意義に関する研究:

心臓で重要な生理的機能を担っていると考えられており、小腸では一部の抗アレルギー薬の代謝に大きく寄与しているCYP2J2, および肺で特徴的に多く発現しているCYP2F1は、薬物代謝学的意義に関する検討がほとんど進んでいないCYP分子種である。これら酵素の異物代謝能が大きい場合、これらが主に発現している小腸、肺は経口投与ならびに吸入時に初回通過代謝の主たる場となることから、これら酵素の活性が薬物動態に及ぼす影響は大きいものと予想される。これまでにこれらの異種細胞発現系を構築した。

6) 薬物代謝反応に関わるCYP分子種の同定に関する研究:

医薬品の代謝に関わる主要な酵素を同定することは、薬物間相互作用を避けるための基礎的情報として重要である。しかし、現在汎用されている医薬品の中でも、未だにその主代謝酵素が明確でないものがある。現在、当研究室では、グラニセトロンとチクロピジンの代謝に主

要に関わるCYP分子種を同定中である。

次に業務により関連性が高い研究内容として、

1) CYP2C9 遺伝子多型診断の臨床応用:

CYP2C9は、フェニトインやワルファリンのほか、グリベンクラミドをはじめとする各種SU剤、NSAIDsなどの代謝に関与している臨床上重要なCYP分子種である。これら薬剤の中でも特にフェニトインは、薬物動態が非線形性を示すことから、若干の増量でも血中濃度の急激な上昇を招く。CYP2C9には遺伝的多型が知られており、特にコドン359のIleがLeuに置換するSNPは、本酵素のフェニトイン代謝能力を著しく低下させる。このCYP2C9*3と呼ばれる多型は、ヘテロ接合体で有する個体が日本人では25人に一人程度であり、臨床現場でもときどき遭遇する。上述したようにフェニトインはCYP2C9の野生型遺伝子をホモ接合体で有する個体でも代謝に飽和が認められる薬物であるため、片側の遺伝子が低活性酵素を発現するような個体では、さらに血中濃度上昇の危険性が高い。以前、急性骨髄性白血病にて当院で造血幹細胞移植を施行された患者において、移植前処置のアルキル化剤の副作用である痙攣を抑えるために投与されたフェニトインで異常な血中濃度上昇と副作用の発現が見られた例があった。回復後、患者の同意を得て遺伝子多型診断を行ったところ、CYP2C9*3のヘテロ接合体であったことを契機に、必要と考えられる場合には、投与に先立って遺伝子多型診断を実施する体制を整えた。

2) 小児におけるブスルファン血中濃度測定と動態解析に基づく至適投与設計:

ブスルファンは造血幹細胞移植の前処理で汎用されるアルキル化剤であるが、投与量が少なすぎると白血病など原疾患の再発を招き、逆に多すぎると肝中心静脈閉塞症などの重篤な副作用を招くため、適切な投与量の設計が必要である。本剤は、吸収段階の個体差が大きく、また加齢によってクリアランスが大きく異なる（小児で大きく、成人で小さい）という特徴があるため、経口剤しか認可されていない本邦では、血中濃度の制御が極めて難しい。通常、薬剤

部の業務で行っているTDMは、投与後の薬物の血中濃度をモニターし、対処的な方法で投与量や投与間隔を変えるものである。しかし本研究では、本投与の一週間前に半量を試験的に投与し、その際の薬物動態を解析することによって算出した至適投与量で本投与を行い、良好な成績を上げている。また、その際得られた情報を元に、小児における母集団薬物動態パラメータを算出し、年齢などの影響因子を考慮に入れたモデルを構築している。今後は、多回採血を行わずとも、構築したモデルを用いて少ない採血ポイントで個々の患者の薬物動態が予測可能か、モデルを評価していく予定である。

3) 医薬品の適正使用推進のための調査・研究:

日常業務の中から緊急に調査・解決が必要と考えられるテーマにつき、その都度立ち上げている類の研究の例として、以下に2件示す。①アンジオテンシン変換酵素阻害薬(ACEI)およびアンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)は、その心保護作用のために心血管外科手術後の患者に汎用されているが、K保持性利尿薬併用患者や、腎機能低下患者では高K血症を惹起する危険性がある。当院の症例で調査を行ったところ、全体解析の結果では、これら薬剤の使用において有意なK値上昇は認められなかったが、K値上昇をみた個々の症例の解析結果では、これら薬剤との因果関係が疑われる症例があり、患者個々での慎重な観察が必要と考えられた。②腎機能低下のため血液透析(HD)導入となった患者に、腎排泄型アミノグリコシド系抗生物質アルベカシン(ABK)を投与する際には、一般に添付文書のノモグラムが適用されるが、これに基づき投与した場合は、ピーク濃度が有効治療域に達しないことを見出した。また従来推奨されているHD直後の投与では、残存する腎機能をさらに障害してしまい、一方HD直前の投与では有効性が期待できない可能性が高いことから、HD施行前3時間の投与でほぼ理想的な薬物動態を得ることができた。ただし薬効・副作用との関連性を明確にする必要がある。

4) チクロピジン誘発肝障害の原因探索のための pharmacogenomics 解析:

塩酸チクロピジン (パナルジン[®]他) は、抗血小板療法の代表的薬剤として血栓性疾患の治療に汎用されている。しかし肝障害、無顆粒球症、血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) 等の死亡例を含む重篤な副作用が報告されており、その発現は9割が投与開始後2ヶ月以内に発生する。しかしながら、警告欄の設置を含む数回の緊急安全性情報の発出による注意喚起にも関わらず副作用報告数は減少していない。本研究では、上記3大副作用のうち、日本人で特に報告件数が高い肝障害のリスクを規定する (日本人における) 遺伝学的素因を探る研究を行っている。チクロピジンは、究極活性体 (酸化されたチエノピリジン環の加水分解的開裂産物) となる過程で 2-oxo 体を生成する。2-Oxo 体は S-oxide 体より生成すると考えられており、肝障害の機序には、おそらくこの反応性の高い S-oxide 体が何らかの関与をしているものと推察されている。S-oxide 体は不安定で定量できないため、S-oxide 体生成量の代用として 2-oxo 体が測定される。これまでのヒトの13CYP分子種を用いた研究で、2-oxo 体を生成する主な分子種が、CYP2B6 を含む幾つかの分子種に限定されることを見出した。現在、これら分子種の S-oxide 体生成における寄与の程度を明確にする実験を行っていると共に、肝障害を起こした患者ならびに起こさなかった患者、計

150名程度の CYP2B6 遺伝子多型診断を行い、CYP2B6 の遺伝子多型が肝障害と関連する因子か否かを統計学的に解析中である。

5) ゲフィチニブ応答性遺伝子変異診断法の臨床応用:

非小細胞肺癌に対する分子標的薬剤ゲフィチニブ (イレッサ[®]) は、奏効する患者には劇的な効果を発揮するが、レスポンドアの比率は概ね10-20%程度とされている。したがって、患者の応答性を事前に予測した上で投与を行なうことは、非応答性患者への無意味な投与や、間質性肺炎等の重篤な肺障害のリスクを避ける上で極めて重要である。本年3月25日に厚生労働省は本邦での使用継続を決定したが、今後の使用には3月15日に日本肺癌学会がまとめた新しいガイドラインを参考にしようとの見解を示している。ガイドラインでは、これまでゲフィチニブ感受性が高いとされる女性、腺癌、非喫煙者と共に、それら患者に多い EGFR 遺伝子に変異のある患者への適用を推奨している。しかし EGFR 遺伝子の変異を判定する標準的方法は確立されておらず、検査結果には偽陰性があると考えられている。本研究では、これらの問題を解決する遺伝子診断法を構築し、臨床検体に適用して、ゲフィチニブ感受性と EGFR 遺伝子変異との関連性を定量的に解析し、ゲフィチニブ感受性個体の予測精度を向上させることを目的としている。