

# 論文内容要旨

## オベチコール酸による CYP1A2 ダウンレギュレーションに関する研究

主指導教員：古武 弥一郎教授  
(医系科学研究科 生体機能分子動態学)

副指導教員：小澤 孝一郎 教授  
(医系科学研究科 治療薬効学)

副指導教員：田原 栄俊 教授  
(医系科学研究科 細胞分子生物学)

石田 千尋

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 【序論】

医薬品による CytochromeP450 (CYP) の代謝活性変化は、主に CYP 阻害や酵素誘導によって惹起され、対象 CYP で代謝される併用医薬品の薬物動態を変化させる。

CYP ダウンレギュレーションは酵素誘導と逆の現象で、転写レベルで CYP の代謝活性を低下させる現象を指すが、医薬品による CYP ダウンレギュレーションとそのメカニズムに関する知見は限定的で、薬物間相互作用 (drug-drug interaction ; DDI) ガイドラインの *in vitro* 評価法が成熟していないのが現状である。よって、医薬品による CYP ダウンレギュレーションが疑われる *in vivo* 事例を集約し、その医薬品を検証化合物とした *in vitro* でのメカニズム検討や、*in vitro* で確認された代謝活性変動からヒト *in vivo* に対する影響を定性的・定量的に予測できるか検証することは重要である。

本研究では CYP1A2 基質のカフェインとオベチコール酸 (OCA) のヒト *in vivo* 臨床薬物相互作用試験結果 (Edwards *et al.*, Adv. Ther. 2017) に着目し、OCA が CYP1A2 ダウンレギュレーションを惹起する可能性を考え、酵素誘導評価で汎用されるヒト肝細胞を用いた *in vitro* 評価系における OCA の CYP1A2 に対する影響を検討することを目的とした。

## 【方法】

### ①OCA の CYP1A2 阻害能の評価

200 ドナー由来プールヒト肝ミクロソームを用いて、CYP1A2 典型基質フェナセチン (10  $\mu$ M) 代謝活性に対する OCA (1,10,100  $\mu$ M) の影響を評価した。フェナセチンの代謝開始と同時に OCA を曝露することで可逆的阻害作用を、代謝開始前に OCA をプレインキュベーションすることで時間依存性阻害作用を評価した。

### ②OCA がヒト接着肝細胞の CYP1A2 mRNA、代謝活性に及ぼす影響

5 ドナーヒト接着肝細胞を播種後、OCA またはコントロールとして DMSO を 24 時間おきに曝露した。48 時間後に回収した肝細胞の CYP1A2 mRNA 発現変動を real-time PCR 法で評価した。また 72 時間後に CYP1A2 代謝活性変動を評価した。

### ③OCA が CYP1A2 転写因子の mRNA に及ぼす影響

②で得られたサンプルを用いて、CYP1A2 の転写因子である aryl hydrocarbon receptor (AhR)、aryl hydrocarbon receptor repressor (AhRR)、aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (Arnt) の mRNA 発現変動を real-time PCR 法で評価した。

## 【結果】

### ①OCA の CYP1A2 阻害能の評価

10  $\mu$ M まで OCA は CYP1A2 を阻害しなかった。また、プレインキュベーション下の 100  $\mu$ M でのみ、有意な CYP1A2 代謝活性の低下が認められた。

### ②OCA がヒト接着肝細胞の CYP1A2 mRNA、代謝活性に及ぼす影響

OCA は CYP1A2 mRNA 発現 (Fig.2A) および代謝活性を全ての濃度で有意に低下させた。一方、OCA による有意な細胞死は認められなかった。48 時間後の CYP1A2 mRNA 発現と

CYP1A2 代謝活性の相関関係を各ドナーの個体値をプロットすることで検討したところ、正の相関が認められた ( $R^2$  値=0.7175)。また、100  $\mu$ M OCA を曝露したサンプルの個体値を除いたところ、 $R^2$  値は増加した ( $R^2$  値=0.8520)。

### ③OCA が CYP1A2 転写因子の mRNA に及ぼす影響

OCA は有意に AhR mRNA 発現を低下したが、AhRR や Arnt については有意な変化は認められなかった。

#### 【考察】

OCA は細胞死を起こさない濃度でヒト接着肝細胞の CYP1A2 mRNA 発現および代謝活性を有意に低下させたことから、CYP1A2 ダウンレギュレーションを惹起していることが示唆された。また、48 時間後の CYP1A2 mRNA 発現と CYP1A2 代謝活性には正の相関が認められ、OCA は転写レベルで CYP1A2 を制御し、CYP1A2 代謝活性を低下させたことが示唆された。100  $\mu$ M OCA を曝露したサンプルの個体値を除くことで  $R^2$  値が増加した原因として、100  $\mu$ M OCA では CYP1A2 ダウンレギュレーションと CYP1A2 阻害の両方が CYP1A2 代謝活性の低下に反映された可能性が考えられた。OCA は AhR mRNA 発現を有意に低下させ、OCA による CYP1A2 ダウンレギュレーションのメカニズムの 1 つに、AhR mRNA 発現減少が関与する可能性が示唆された。

#### 【結論】

本研究より OCA が *in vitro*、*in vivo* 両方で CYP1A2 ダウンレギュレーションを起こし、CYP1A2 ダウンレギュレーションのメカニズム検証や *in vitro* 評価法構築などに利用できる可能性が示唆された。