



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アルデヒドオキシダーゼを介した薬物間相互作用および個体間差に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	上田, 一奈太
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(臨床薬学)
Dissertation Number	甲第16302号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95308
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hinata_Ueda_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士 (臨床薬学) 氏 名 上 田 一 奈 太

学 位 論 文 題 名

アルデヒドオキシダーゼを介した薬物間相互作用および個体間差に関する研究

近年の医薬品開発においては、薬物動態における個体間差を減らすため cytochrome P450 (CYP) による代謝を受けづらい医薬品の市場が拡大している。しかしながら CYP 以外の代謝酵素 (non-CYP) の酸化、還元機能に関するエビデンスは少なく、臨床研究に non-CYP による予期せぬ代謝を原因とした、新規医薬品のドロップアウトが増加している。したがって、包括的な薬物動態予測に向け、non-CYP による代謝クリアランスや薬物間相互作用の解明が急務であると考えられる。

Aldehyde oxidase (AOX) は、xanthine oxidase (XO) と近いアミノ酸配列を有しており、薬物代謝の第 I 相反応である酸化・還元を担う代謝酵素である。またその補酵素の必要性や細胞内局在の差異から、CYP に対し相補的な役割を担うことが示唆されている。AOX はアルデヒドのみならず含窒素複素環化合物を広く基質として認識することが知られており、新規医薬品化合物として見出された EGFR 阻害剤 BIBX1382 やパーキンソン病治療薬 FK3453 等は、AOX の代謝による薬効低下を理由に開発が中止されている。また AOX が代謝に寄与する azathioprine (AZA) の治療効果と AOX の遺伝子多型には関連があることが知られている。したがって、現在上市されている医薬品の薬効および副作用の発現と AOX による代謝との関連性が示唆される。しかしながら、AOX の実臨床における重要性は未だ懐疑的である。また AOX には個体間差があることが知られているが、先行研究は限られており、その要因については不明な点が多い。本研究では、使用頻度の高い AOX 基質薬物であるチオプリン系薬剤に着目し、AOX を介した薬物間相互作用の評価を目的とした。また AOX の個体間差の解明を目的とし、新規の human AOX1-single nucleotide polymorphisms (SNPs) の同定を目指し検討を進めた。

1. 副作用自発報告データベースを用いた AOX 関連有害事象の調査

AZA の用量依存的な副作用である血液障害および肝障害は、治療中断理由の主因であり、これら副作用の発現には、AZA の複雑な代謝経路およびその代謝生成物の存在比が関連している。AOX は不活性代謝物である 6-thioxanthine (6-TX) および 6-thiouric acid (6-TUA) への変換の一部を担っていることから、AOX が AZA による有害事象と関連する可能性が考えられる。そこで、副作用自発報告データベースである Japanese Adverse Drug Event Report database, (JADER) ならびに FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) を用いて、AOX を阻害する医薬品が、AZA 誘発性血液障害および肝障害の副作用報告数に与える影響を評価した。検討に先立ち、本検討では、臨床における血中濃度域で AOX を阻害し得る医薬品 (AOX 阻害薬) を、既報の *in vitro* による AOX 機能阻害効果および各医薬品の最高血中濃度を参考に定義した (IC_{50}/C_{max})。また血液障害および肝障害は、ICH 国際医薬用語集である MedDRA における、医学的状況をグループ化した標準検索式 SMQ を基に定義した。相互作用の検出には reporting odds ratio (ROR) を基にしたシグナル検出モデルおよび Ω shrinkage measure model の 2 種を採用した。

FAERSにおいてAZAを被疑薬とする血液障害のROR [95% CI] は1.81 [1.75–1.87] であった。またIC₅₀/C_{max}のスコアが高いAOX阻害薬剤の内、chlorpromazine (ROR: 47.92 [CI: 26.35–87.14]), clozapine (15.69 [10.73–22.93]), hydralazine (6.28 [3.60–10.94]), quetiapine (5.70 [4.40–7.38]) の併用報告では、RORの有意な増加が認められた。また上記の医薬品は、 Ω shrinkage measure modelにおいても同様にシグナル陽性 (chlorpromazine (Ω_{025} : 2.82), clozapine (0.25), hydralazine (0.82), quetiapine (1.20)) となった。またこの内、clozapineは肝障害においてもシグナルが検出された (ROR: 5.67 [CI: 3.07–10.48], Ω_{025} : 0.32)。以上より、AOX阻害薬がAZA誘発性有害事象を増加する可能性が示された。

2. 6-Mercaptopurine (6-MP) 代謝における各種AOX阻害薬剤による薬物動態変動

先の副作用データベース研究を踏まえ、AZAの代謝経路の一部である6-MPの不活性化における各種AOX阻害薬の影響を評価することとした。6-MPはAOXおよびXOにより6-TXを経て6-TUAへ酸化されることから、human liver cytosol (HLC) 中の6-MPに対し、各種AOX阻害薬 (amitriptyline, chlorpromazine, clomipramine, clozapine, hydralazine, quetiapine, raloxifene) およびXO阻害薬febuxostatを添加した際の6-TX生成量を評価した。その結果、全てのAOX阻害薬が6-TXへの代謝を阻害することが明らかとなった。また各AOX阻害薬をfebuxostatと併用させることで、さらに6-TXの産生が抑制された。Raloxifeneを除くその他のAOX阻害薬は、recombinant XOを介した6-MPの酸化を阻害しなかったことから、AOX選択的な阻害効果を有していることが示唆される。以上より、本検討条件において6-MPの代謝にAOXが強く関連することが明らかとなった。

そこでhydralazineと6-MPを併用した際のラット血中6-MP動態を評価したところ、hydralazine投与に伴い6-MP濃度が増加した。この要因を確認するため、rat liver cytosol (RLC) を用い、同様の6-MP代謝阻害実験を行った。その結果、RLCではHLCと異なり、6-MPの代謝にAOXが寄与していない可能性が示された。本検討におけるhydralazine併用に伴う血中6-MP濃度の増加は、代謝以外の腎排泄過程等における相互作用が原因と考えられる。以上の結果より、ヒト体内においてAOXを介した薬物間相互作用が生じることが示唆された一方で、種差により実験動物では再現できないことが明らかとなった。

3. SNPsによるAOX1活性の差異ならびにその機序の解明

SNPsがAOX活性に与える影響を評価した報告はあるが、populationが考慮されておらず、実臨床において存在するSNPsがAOXの個体間差の要因となるか否かに関する知見は不足している。そこでヒトに唯一発現するAOXアイソフォームであるAOX1について、公開ゲノムデータベースを参考に見出した各人種集団におけるアレル頻度が1%以上のnon-synonymous SNPsが、AOX1活性に与える影響を評価した。各SNPsの影響を評価する上で、データベースより見出した6種類のAOX1-SNPs vectorをHEK293T細胞に導入することで、各変異型AOX1活性評価系を構築した。検討の結果、T755I変異 (rs35217482) により、AOXのphthalazine酸化機能が減少することが明らかとなった。またK_m値は野生型 (WT) と同等であった一方で、V_{max}が大きく減少した (V_{max}: WT/ 13.03, T755I/ 3.08 pmol/min/mg protein)。AOXは二量体形成に伴う代謝活性の増大が知られている。そこでNative-PAGE/Western blottingにより、各変異型AOX1の二量体形成比を評価した。その結果、T755I変異のみ二量体存在割合が減少していた。以上より、T755I変異は基質結合ポケットの構造に影響を与えず、酸化速度を減少させるSNPsであり、実臨床において個体間差の要因となりうる遺伝子多型である可能性が示された。

総括

本研究より、AOXは薬物間相互作用の原因となる可能性があり、臨床研究等による、より詳細な検討が必要な代謝酵素であると考えられる。また本検討により、AOXの基質薬物の薬理活性および副作用発現に影響を与え得る、新規AOX1遺伝子多型を見出した。