



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_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 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

審査担当者	主 査	教 授	小 林 正 紀
	副 査	教 授	菅 原 満
	副 査	准教授	武 隈 洋
	副 査	講 師	鳴 海 克 哉

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

博士学位論文審査等の結果について（報告）

本研究では実臨床における aldehyde oxidase (AOX) の重要性の評価を目的として、使用頻度の高い AOX 基質薬物であるチオプリン系薬剤の代謝経路に着目し、1) 有害事象自発報告データベースを使用した薬物間相互作用シグナルの検出、2) ヒト肝サイトゾルを用いた 6-mercaptopurine (6-MP) 代謝における AOX の機能解析を行った。さらに、AOX の個体間差を解明すべく、個体間差を生み出す要因の一つである一塩基多型 (SNPs) に着目し、3) ヒト AOX1 の酸化機能における個体間差の原因となる新規 AOX1-SNPs の探索を試みた。

1) 有害事象自発報告データベースを使用した薬物間相互作用シグナルの検出

チオプリン製剤である azathioprine (AZA) の副作用である血液障害および肝障害は、薬物治療の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を用いて、AOX を阻害し得る医薬品が 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、臨床における治療域で AOX を阻害し得る医薬品 (AOX 阻害薬) は、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国際医薬用語集 MedDRA における標準検索式 SMQ を参照し、相互作用の検出には reporting odds ratio (ROR) を基にしたシグナルを採用した。FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) において AZA を被疑薬とする血液障害の ROR [95%信頼区間 (CI)] は 1.81 [1.75–1.87] であった。また IC_{50}/C_{max} のスコアが高い AOX 阻害薬のうち、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。このうち clozapine は肝障害でも同様にシグナル陽性と判断された (ROR: 5.67 [CI: 3.07–10.48])。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) ヒト肝サイトゾルを用いた 6-MP 代謝における AOX の機能解析

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 xanthine oxidase (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 阻害薬剤 febuxostat を添加した際の 6-TX 生成量を評価した。その結果、各 AOX 阻害薬と febuxostat の併用により 6-TX の産生が抑制されることを確認した。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。次に、AOX 選択的かつ阻害効果の強い阻害剤として hydralazine に着目し、6-MP と hydralazine を併用した際のラット血中 6-MP 動態を評価した。その結果、hydralazine 投与に伴い 6-MP 血中濃度の増加が認められた。この相互作用の要因を確認するため、薬物動態試験の対象と同じ由来の Jcl:Wistar ラットより抽出した rat liver cytosol (RLC) を用い、HLC と同様の in vitro 6-MP 代謝阻害実験を行った。その結果、予想に反して hydralazine は 6-MP から 6-TX への酸化を阻害しなかった。したがって、RLC では HLC と異なり 6-MP の代謝にほとんど AOX が寄与していないことが明らかとなった。ラットにおける 6-MP 動態試験で確認された血中濃度増加の要因は不明であるが、AOX および XO 以外の代謝酵素や腎排泄過程における輸送体等を介した薬物間相互作用が原因の可能性が考えられる。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起きることが示唆された一方で、種差により実験動物では AOX 基質の体内動態を再現できない可能性が示された。

3) ヒト AOX1 の酸化機能における個体間差の原因となる新規 AOX1-SNPs の探索

アミノ酸配列の変異が AOX 活性に与える影響を評価した報告は存在するが、その多くが AOX の基質親和性の検証等を目的として作製された変異体であり、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、各人種集団におけるアレル頻度が 1%以上の non-synonymous SNPs を探索した。その結果、Q314R、I598N、T755I、A1083G、N1135S、H1297R の 6 種類の SNPs を見出した。各データベースより見出した上記の AOX1-SNPs の機能の評価するため、野生型 (WT) AOX1 をコードするプラスミドを鋳型に、各変異型 AOX1 発現ベクターを作製した。各ベクターを HEK293T 細胞に導入することで得られた S9 画分を使用し、AOX の典型基質である phthalazine から phthalazone への代謝量を LC-MS/MS で測定することで、AOX1 活性評価系を構築した。各変異体の AOX1 活性を評価した結果、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} の大幅な減少が確認された (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。755 番目のスレオニン、AOX1 の鉄硫黄クラスター近くに位置している。配列の近い代謝酵素である XO において、この鉄硫黄クラスター近位のアミノ酸配列がダイマー形成に重要であることが示唆されている。以上より、この 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。

これを要するに、著者は、aldehyde oxidase を介した薬物間相互作用および個体間差において新たな知見を得た。これらの成果は、新たな薬物相互作用および個体差の解明に貢献しうると考える。よって著者は、北海道大学博士 (臨床薬学) の学位を授与される資格あるものと認める。