

論文要旨

CYP3A4 並びに P-glycoprotein の誘導・阻害作用による薬物相互作用の予測と 抗癌剤多剤耐性克服への応用に関する研究

安田和人

多剤併用薬物治療では、併用薬物間の相互作用に起因する体内動態変動が問題となる。現在までこれらの相互作用に対し、代謝酵素 Cytochrome P450 (CYP) および薬物トランスポーターが発現標的となることが認識されてきた。肝臓や小腸に発現する CYP3A4 は処方薬物の 50% 以上の代謝に関与すると示唆され、最も重要な代謝酵素として位置づけられる。肝臓、小腸や脳に発現するトランスポーター P-glycoprotein (P-gp) は多様な薬物の細胞外排出を担い、吸収・排泄過程における動態学的役割が究明されてきた。これらのタンパク質は臓器分布性や基質特異性が広範囲に重複し、さらに核内レセプター Pregnane X Receptor (PXR) による発現調節を受けることが解明され、CYP3A4 ならびに P-gp は薬物消失機構に協調的に関与すると考えられている。以上の知見から、両因子の機能亢進や阻害作用は薬物体内動態に多大な影響を及ぼすことが予想される。従って、併用薬剤による両因子の発現量や機能の変動を予測し、また化学的に制御する方法論の確立は、薬剤の安全性や併用療法の最適化を推進するために重要であると考えられる。

本論文では第 1 章で、抗生物質による PXR を介した CYP3A4 発現誘導メカニズムを解析した。抗生物質は併用薬物として頻用されるが、代謝酵素発現の影響に関する情報は乏しい。そこで抗生物質の PXR に対する親和性と CYP3A4 の発現誘導効果を比較解析するため、PXR 結合シミュレーションおよび CYP3A4 リポーターアッセイによる検討を行った。また、肝臓・消化管由来細胞株およびヒト初代培養肝細胞において CYP3A4 mRNA、タンパク質発現、さらに代謝活性に及ぼす変化を精査した。結合シミュレーションでは nafcillin、dicloxacillin、erythromycin、troleandomycin、clindamycin、griseofulvin の PXR への親和性が予測され、リポーターアッセイではさらに tetracycline による CYP3A4 転写活性の増加が観察された。これらの薬物は CYP3A4 mRNA、タンパク質の発現量を亢進させ、nafcillin、dicloxacillin は 酵素活性を有意に上昇させることが明確となった。また troleandomycin、clindamycin、griseofulvin は PXR 依存的に P-gp 発現を顕著に誘導させることが判明した。本章で行った実験法は PXR を介した相互作用の予測に有用な解析法であることを提示し、これらの抗生物質は CYP3A4 で代謝される併用薬剤の代謝促進と P-gp の基質薬物の吸収低下を惹起することが推察された。

CYP3A4 と P-gp は基質特異性が広く重複することから、共通の阻害薬併用に起因する重篤な相互作用発現が予想される。併用療法では阻害薬のそれぞれの因子に対する寄与を考慮した薬剤選択が望ましいと考え、第 2 章では P-gp 排出機能に及ぼす CYP3A4 阻害剤の影響について比較検討した。P-gp 強制発現細胞において calcein-AM、vinblastine 細胞内蓄積、vinblastine

経細胞輸送、taxol 耐性に対する影響に基づき阻害作用を評価し、CYP3A4 に対する阻害強度と比較精査した。結果、アゾール系抗菌薬は選択的に CYP3A4 を阻害し、マクロライド系抗生物質は基質選択的な P-gp 阻害効果を示した。麦角アルカロイドによる P-gp 阻害作用は種差ならびに構造活性相関が観察され、特に bromocriptine による強力な阻害作用が明らかとなった。一部の P-gp 阻害剤は輸送基質として競合的な阻害効果を示すことから、経細胞輸送および P-gp ノックアウトマウスにおける体内分布実験により基質性の検討を行い、erythromycin および dihydroergocryptine は P-gp の基質薬物であることが確認された。本章では CYP3A4 阻害剤の P-gp 阻害作用に対する寄与を明確にし、特に麦角アルカロイド群による構造活性相関と強力な阻害作用を明示した。本章の結果が吸収・代謝過程の相互作用を回避する併用薬剤選択の一助となり、また理想的な新規医薬品の分子設計に応用できるものと思われた。

多剤耐性を獲得した腫瘍細胞に対する化学療法では、抗癌剤の細胞内取込制御を企図した P-gp 阻害薬併用による抗腫瘍効果の増強が検討されている。しかし臨床では十分な治療効果が得られておらず、分子構造や物理化学特性が異なる化合物による検討が必要であると考えられる。第3章では、前章で P-gp 阻害効果を示した bromocriptine による多剤耐性克服効果について検討を行った。白血病由来細胞株 K562 と doxorubicin 耐性株 K562-DXR において rhodamin 123 および doxorubicin の細胞内蓄積に及ぼす bromocriptine の P-gp 阻害作用を調べるとともに、P-gp 過剰発現細胞 L-MDR1 において calcein-AM の蓄積に及ぼす影響を検討した。結果、bromocriptine は cyclosporin A に匹敵する P-gp 阻害作用を示し、それぞれの基質薬物の細胞内蓄積量を顕著に増加させた。さらに抗癌剤 doxorubicin、vincristine、vinblastine、vinoreline および etoposide に耐性を示す K562-DXR 耐性株を用い、bromocriptine の耐性克服効果について検討した。結果、bromocriptine の併用により抗癌剤の細胞感受性を 430-2300 倍回復させ、特にビンカアルカロイド系抗癌剤に対して顕著な耐性克服効果を示した。本章では bromocriptine の抗癌剤多剤耐性に対する克服効果を明らかにし、化学療法における臨床応用、また麦角アルカロイドをリード化合物とした新規耐性克服剤の開発が示唆された。

肝臓や小腸に発現する薬物代謝酵素およびトランスポーターを介した相互作用の予測は、薬剤使用における安全性確保、薬物治療の最適化、さらに医薬品開発において必要不可欠である。本論文では、代謝酵素 CYP3A4 の発現誘導ならびに薬物トランスポーター P-gp の機能阻害による薬物相互作用を *in silico* および *in vitro* 実験系により予測し、さらに P-gp 阻害作用に基づく悪性腫瘍細胞に対する新規の多剤耐性克服戦略を確立し得ることを提示した。以上、薬物消失機構に基づく薬物分子設計、ならびに薬物動態特性の個人差を考慮した臨床試験の実施において、本研究で得られた基礎情報を応用することにより、臨床上有用な薬剤併用療法の開発と化学療法の発展に貢献できるものとする。