

新規C型肝炎抗ウイルス薬の代謝に 及ぼす *CYP3A5**3遺伝子多型の影響



○ 中村 裕義^{1) 2)}、松本 准³⁾、山田 治美²⁾

- 1) 国際医療福祉大学三田病院薬剤部
- 2) 国際医療福祉大学薬学部薬学科
- 3) 岡山大学薬学部

【背景】

CYP3A4/5により代謝を受ける医薬品は極めて多数存在するが、CYP3A5遺伝子多型の薬物体内動態に及ぼす影響についての検討は一部の薬物で断片的に行われているに過ぎない。一例として、CYP3A5のmRNAスプライシングエラーを引き起こしCYP3A5が発現しないCYP3A5*3/*3を有する患者とCYP3A5が発現するCYP3A5*1/*1あるいはCYP3A5*1/*3を有する患者では、タクロリムスの血中濃度を同等に維持するための投与量が数倍異なることが報告されている。一方、同じカルシニューリン阻害薬でありCYP3A4の基質であるシクロスポリンの体内動態は、CYP3A5*3多型の影響をほとんど受けない。このように、その体内動態にCYP3A5*3多型が顕著に影響する薬物とほとんど影響を受けない薬物が存在することが明らかとなってきている。

【目 的】

近年、C型肝炎ウイルス(HCV)に対する薬剤の開発は目覚ましく、これまでの治療法により持続的陰化(SVR)が得られにくかったジェノタイプに対しても高いSVRを示す新規C型肝炎治療薬(DAAs)が次々に臨床使用されるようになってきた。これらのDAAsの多くがCYP3A4/5により代謝を受けることが知られており、前述のCYP3A5*3多型の影響を受ける可能性が考えられる。

また、DAAsは極めて高額で医療費高騰の原因となっており、遺伝子型を考慮した適正な薬剤選択および至適投与法を明らかとしていくことは重要である。

本研究では遺伝子型を考慮した至適投与法に関する基礎データを得る目的で、各種DAAs代謝に及ぼすCYP3A5*3多型の影響について発現酵素を用いた*in vitro*の系で検討を行った。

※ 本研究は国際医療福祉大学倫理審査委員会の承認を得た

【方 法】

① 測定原理

本研究では、多数の医薬品を効率よくスクリーニングするための方法として、P450-Glo™アッセイ(Promega社)を応用することとした。P450-Glo™ Luciferin Substrate (Luciferin-PPXE) は、CYP3A4、CYP3A5、CYP3A7の特異的基質となり、これらの酵素により代謝を受けるとLuciferinが生成される。生成したLuciferinはルシフェラーゼ反応により、その発光量を迅速かつ極めて高感度にルミノメーターにより定量することができる。被験薬の存在の有無による発光量の差より被験薬の当該酵素との相互作用の強さを知ることができる(図1)。

② 被験薬の添加試験

被験薬として7種類のC型肝炎治療薬(テラプレビル、シメプレビル、アスナプレビル(ASV)、ソホスブビル、バニプレビル、

レジパスビル、ダクラタスビル)を各種濃度で添加し、CYP3A5 およびCYP3A4によるLuciferin-PPXE代謝における阻害の程度を測定した。被験薬の添加濃度は、各医薬品インタビューフォームに記載されている臨床用量服用時のC_{max}およびその10倍と1/10の3濃度で検討を行った。

③ CYP3A4、CYP3A5のASV代謝速度(基質減少)の比較

発現CYP3A4とCYP3A5のASV代謝速度(基質減少)の比較を行った。基質(ASV)濃度は0.1 μMとし、反応時間1, 3, 5, 10, 20, 30, 60分におけるASV濃度の測定を行った。

④ ヒト肝ミクロゾームのASV代謝(基質減少)に関する検討

HAB研究機構より入手した3種のヒト肝ミクロゾーム(CYP3A5 *1/*1、*1/*3、*3/*3)によるASV代謝速度(基質減少)の比較を行った。また、3種のミクロゾームを混合したものによるASV代謝速度(基質減少)に及ぼすCYP3CIDEおよびケトコナゾール添加の影響について検討を行った。

【結 果】

① 被験薬の添加試験

7種類のC型肝炎治療薬の添加実験において、CYP3A5によるLuciferin-PPXE代謝阻害活性がCYP3A4のそれよりも顕著に強いものは認められなかった(図2、図3、図4左)。

② CYP3A4、CYP3A5のASV代謝速度(基質減少)の比較

CYP3A4によるASV代謝速度(基質減少)は、CYP3A5と比較して顕著に速かった(図4右)。

④ ヒト肝ミクロゾームのASV代謝(基質減少)に関する検討

ヒト肝ミクロゾームによるASV代謝速度(基質減少)試験においてCYP3A5遺伝子型(*1/*1、*1/*3、*3/*3)の影響は確認されず、CYP3A4蛋白量に依存した代謝速度の増大が認められた(図5)。

また、CYP3A4の特異的阻害薬であるCYP3CIDEおよびケトコナゾールは、3種のミクロゾームを混合したものによるASV代謝（基質減少）を顕著に阻害した。

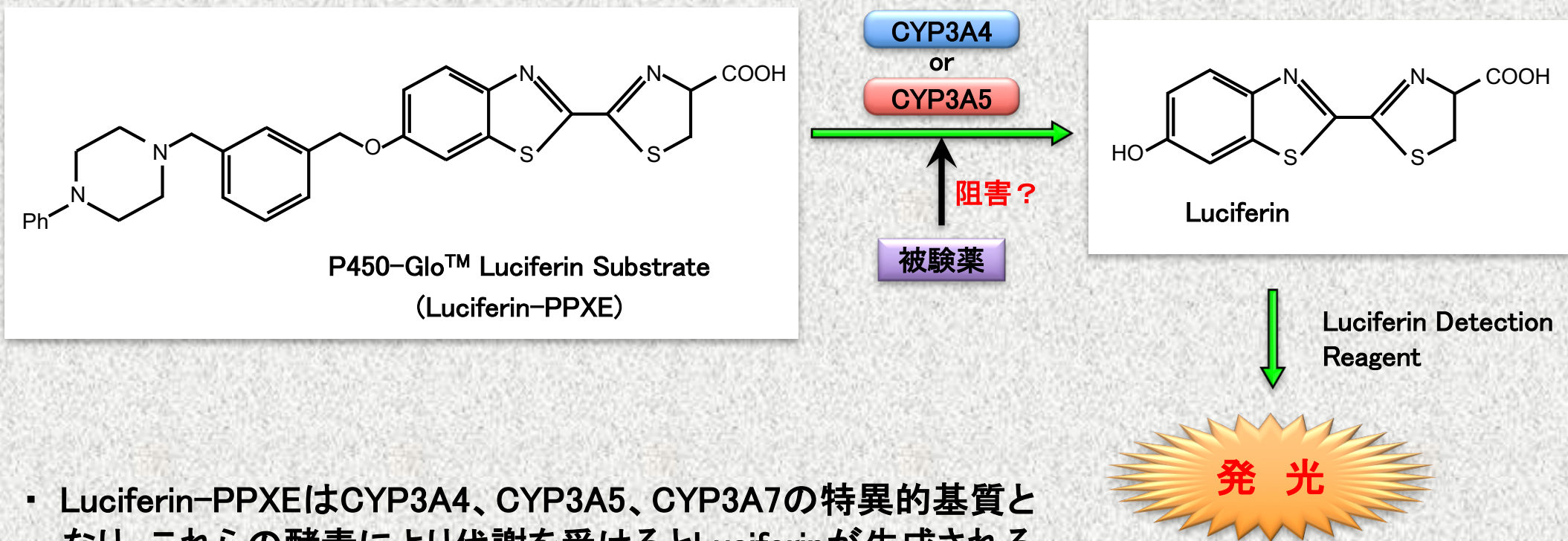
【考察】

Luciferin-PPXEを用いた1次スクリーニング試験結果より、今回検討を行った7種類のC型肝炎治療薬はCYP3A5*3遺伝子多型の影響を受ける可能性は低いことが示唆された。また、ASV代謝能（基質減少速度）の発現CYP3A4とCYP3A5での比較結果やCYP3A5*3ジェノタイプ済みの3種のヒト肝ミクロゾームでの比較結果より、ASV代謝への寄与はCYP3A4がメインでありCYP3A5の寄与は少ないと考えられた。

【結論】

今回検討を行った7種類のC型肝炎治療薬の代謝に対してCYP3A5の遺伝子多型が影響する可能性は低い。

図1 P450-Glo™ Luciferin Substrateを使用した CYP3A5・CYP3A4の基質となる薬物探索の原理



- Luciferin-PPXEはCYP3A4、CYP3A5、CYP3A7の特異的基質となり、これらの酵素により代謝を受けるとLuciferinが生成される。
- 生成したLuciferinにLuciferin Detection Reagentを添加するとその生成量に応じ発光する。
- 被験薬の存在によりその発光量が減少する場合は被験薬が当該酵素の基質である可能性がある。

図2 各種C型肝炎治療薬のCYP3A4、CYP3A5による Lusiferin-PPXE代謝に対する阻害活性の比較(1)

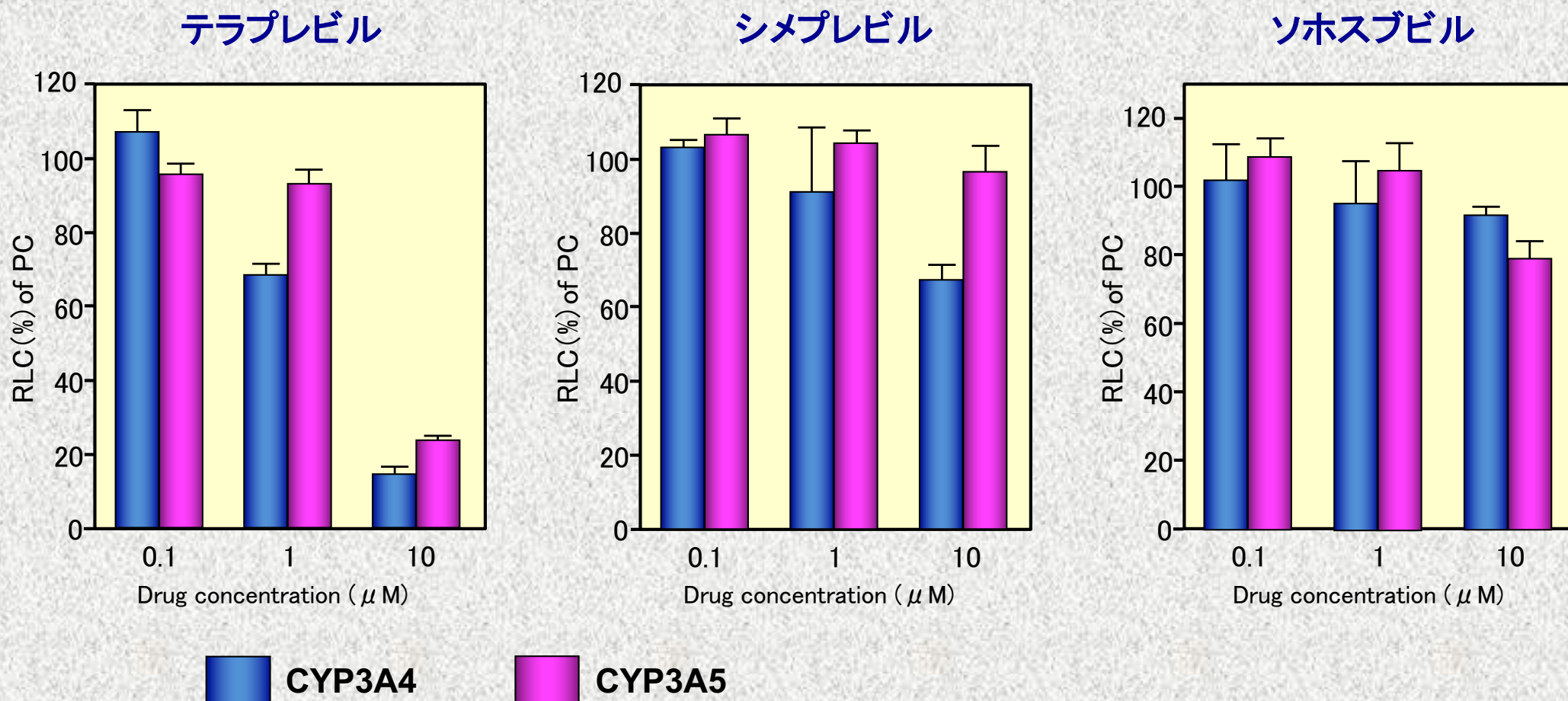


図3 各種C型肝炎治療薬のCYP3A4、CYP3A5による Lusiferin-PPXE代謝に対する阻害活性の比較(2)

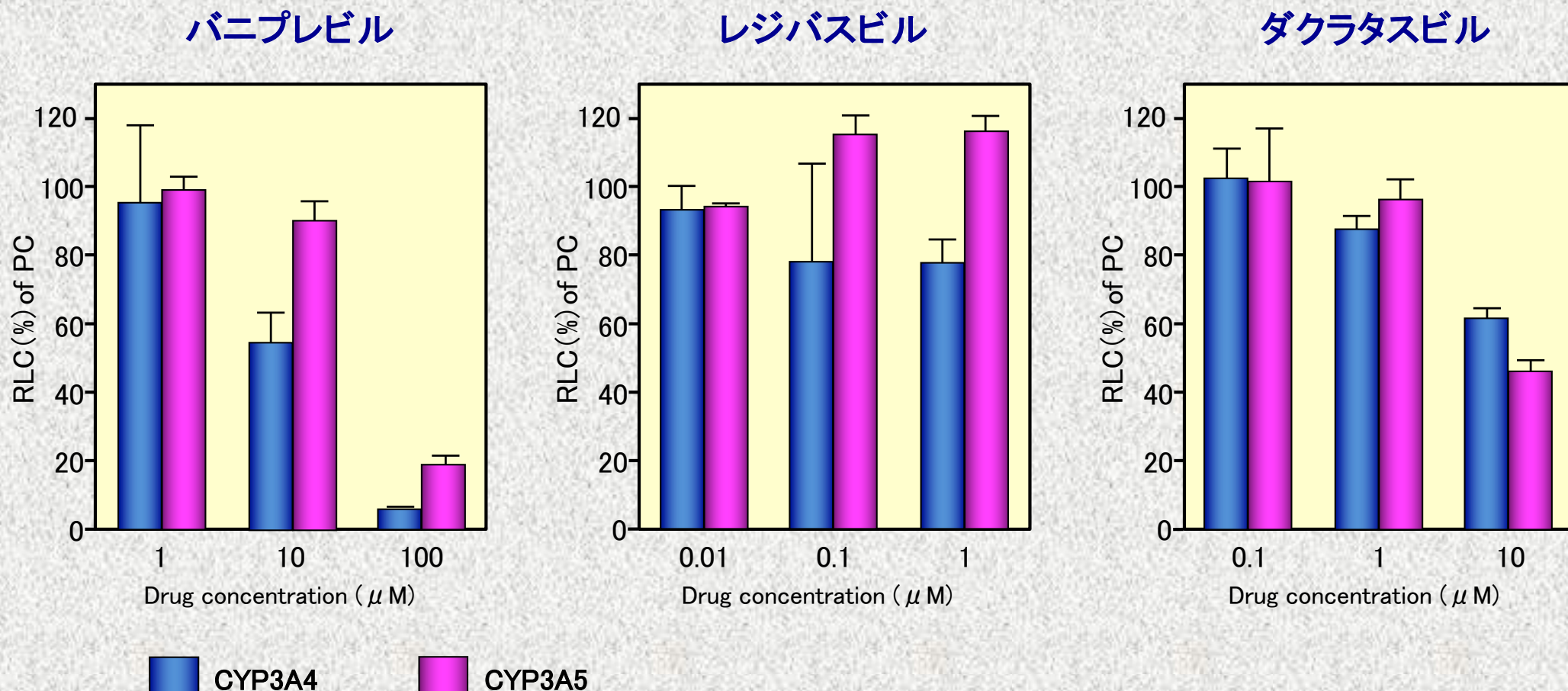
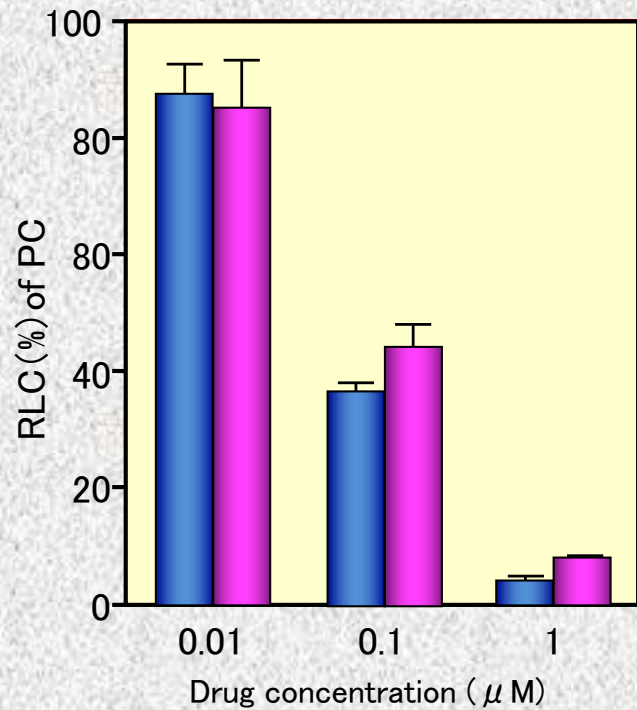


図4 発現CYP3A4、CYP3A5によるアスナプレビル代謝

ASVのCYP3A4、CYP3A5によるLusiferin-PPXE代謝に対する阻害活性の比較

アスナプレビル



CYP3A4

CYP3A5

発現系3A4と3A5のASV代謝活性
(基質減少)の比較

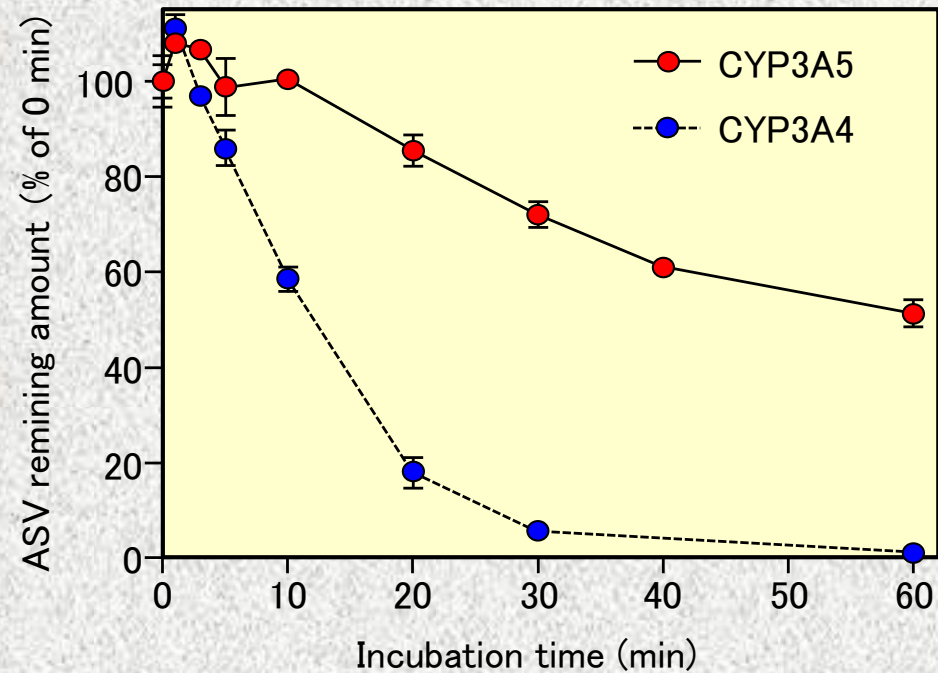
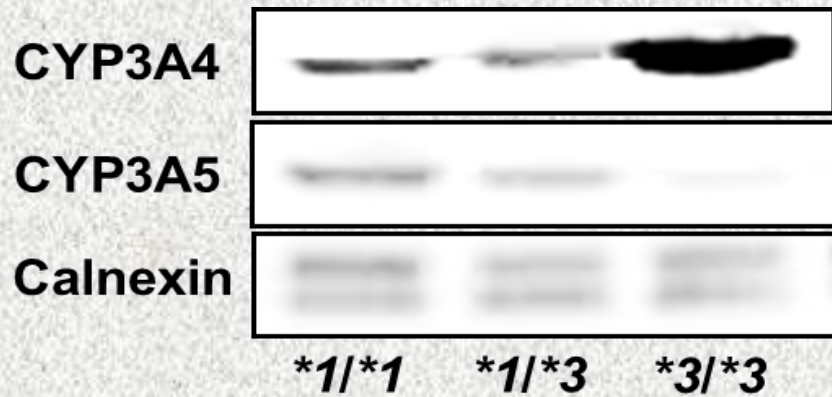


図5 CYP3A5遺伝子型の異なるヒト肝マイクロゾームによるアスナプレビル代謝活性の比較

3種のヒト肝マイクロゾームのウエスタンブロットによるCYP3A4およびCYP3A5蛋白量の比較



3種のヒト肝マイクロゾームによるASV代謝活性(基質減少)の比較

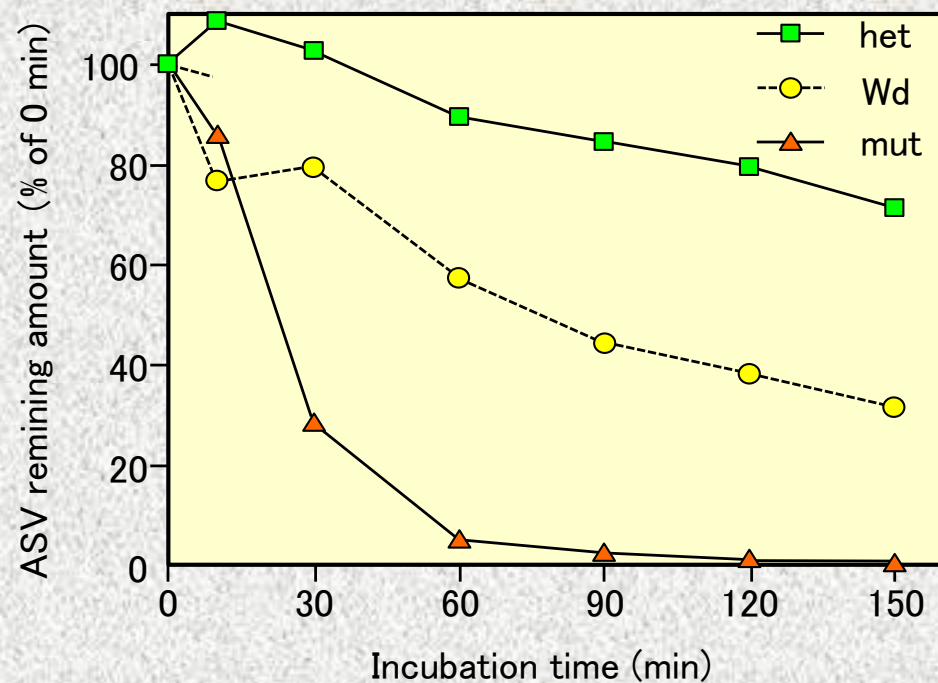
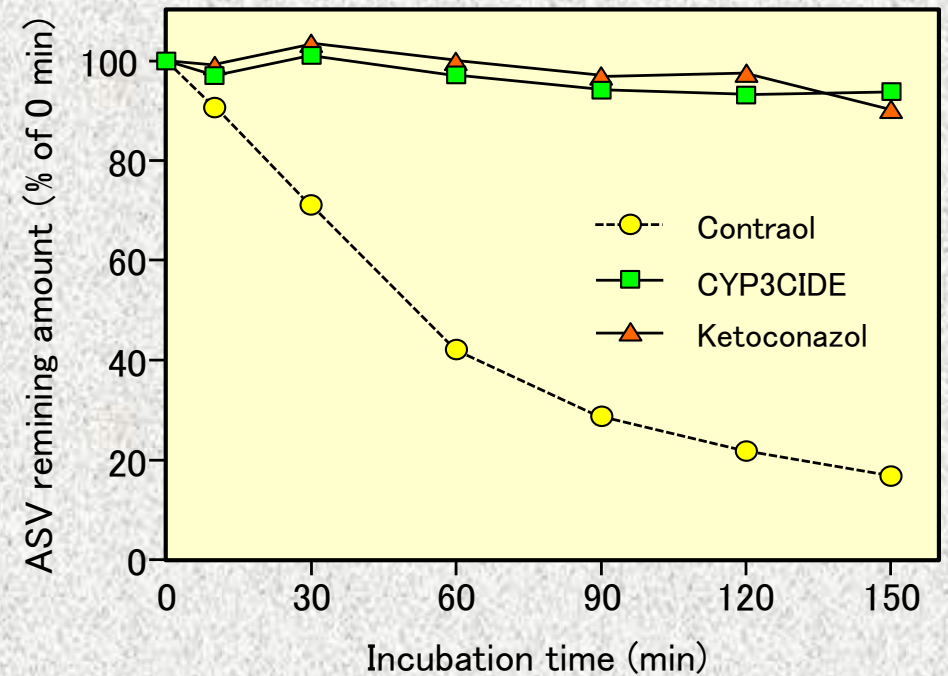
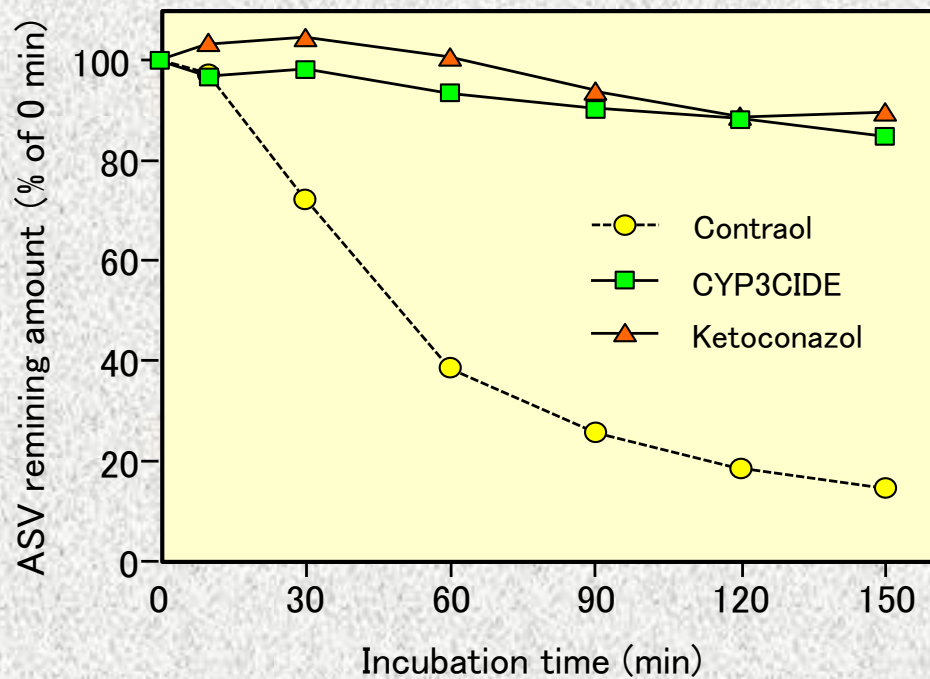


図6 ヒト肝ミクロゾームによるアスプレナビル代謝に対するCYP3CIDEおよびケトコナゾール添加の影響



HAB研究機構より入手したミクロソーム(Expressor: Wdおよびhet 計8名、Non-expressor: mut9名)を混合したものを使用