



# Effects of acid and lactone forms of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on the induction of MDR1 expression and function in LS180 cells

山崎, 大輔

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2010-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4791

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004791>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



|            |                  |
|------------|------------------|
| 氏 名        | 山崎 大輔            |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（医学）           |
| 学 位 記 番 号  | 博い第 4791 号       |
| 学位授与の 要 件  | 学位規則第 5 条第 1 項該当 |
| 学位授与の 日 付  | 平成 22 年 3 月 25 日 |

【 学位論文題目 】

Effects of acid and lactone forms of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on the induction of MDR1 expression and function in LS180 cells (LS180 細胞における MDR1 遺伝子発現および機能に及ぼす HMG-CoA 還元酵素阻害剤の影響)

審 査 委 員

|     |     |       |
|-----|-----|-------|
| 主 査 | 教 授 | 平田 健一 |
|     | 教 授 | 松尾 雅文 |
|     | 教 授 | 中村 俊一 |

Effects of acid and lactone forms of 3-hydroxy-3-methylglutaryl  
coenzyme A reductase inhibitors on the induction of MDR1  
expression and function in LS180 cells

LS180 細胞における MDR1 遺伝子発現および機能に及ぼす HMG-CoA 還元酵素阻害剤の影響

神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻  
薬物動態学  
(指導教員： 平井 みどり 教授)

山崎 大輔

<緒言>

薬物体内動態の変化は、薬物の有効性や安全性に重大な影響を及ぼすことがあり、薬物の体内動態に影響を及ぼす諸因子を把握しておくことは、医薬品を適正使用する上で非常に重要である。中でも、薬物などの生体異物により薬物代謝酵素や薬物トランスポーターの遺伝子発現が誘導される結果、薬物動態および薬理効果が変動することがあり、临床上重大な問題になっている。

一方、高脂血症治療薬の HMG-CoA 還元酵素阻害剤 (スタチン系薬剤) は血中脂質濃度を低下させ、心血管病変に対する優れた予防効果を示すことから、高脂血症の治療に広く用いられている。しかしながら、高脂血症患者では、糖尿病や高血圧症などを併発していることが少なくないことから、多くの薬剤がスタチン系薬剤と併用処方されており、これら薬剤との相互作用が懸念される。

また、スタチン系薬剤は、生体内において acid 体と lactone 体との間で相互変換されており、両者が複雑に薬物間相互作用に関与していることが示唆されている。

そこで、本研究では、代表的な薬物動態関連遺伝子である multidrug resistance protein 1 (MDR1) および cytochrome P450 3A (CYP3A) 遺伝子発現量に及ぼすスタチン系薬剤の影響を検討するとともに、その発現誘導機序の解明を目的とした。また、acid 体と lactone 体での発現誘導能の違いについても検討した。

<方法>

MDR1 mRNA 発現量に及ぼす種々スタチン系薬剤の影響

LS180 細胞は  $\alpha$ -minimum essential medium ( $\alpha$ -MEM) 培地にて培養した。6-well plate に  $1 \times 10^6$ /well の濃度で播種し 4 日間培養した後に、種々スタチン系薬剤 (10  $\mu$ M) を含む培地に置換し、24 時間薬物を暴露した細胞から RNA を抽出し、mRNA の発現量を real-time quantitative RT-PCR 法により測定した。

MDR1 輸送能に及ぼす種々スタチン系薬剤の影響

MDR1 により特異的に輸送されることが知られている蛍光物質 rhodamine (Rh) 123 を用い、スタチン処置下、未処置下における細胞内 Rh123 蓄積を Flow Cytometry により検討した。

種々スタチン系薬剤による MDR1 遺伝子発現誘導機構における核内受容体の寄与

核内受容体の一種である pregnane X receptor (PXR)、constitutive androstane receptor (CAR) の antagonist 存在下、非存在下における、スタチンによる MDR1 遺伝子発現誘導能への影響を検討した。

#### <結果・考察>

MDR1 mRNA 発現量に及ぼす種々スタチン系薬剤の影響を検討した結果、数種のスタチン系薬剤で MDR1 および CYP3A の mRNA 発現が誘導することが示され、cerivastatin acid, simvastatin lactoneにおいて特に強い誘導能が認められた。また、lactone 体の誘導能は acid 体よりも強いことが示されたことから、薬物間相互作用の際には acid 体と lactone 体の両者を考慮する必要があることが示唆された。

cerivastatin acid および simvastatin lactone 処置下において、細胞内 Rh123 蓄積量の減少が示された。このことから、スタチンによる MDR1 mRNA 発現誘導は、MDR1 タンパク質の機能の変化を伴っていることが示唆された。

次に、PXR 特異的な antagonist である sulforaphane を併用して、発現誘導機構における核内受容体の寄与を検討した。sulforaphane の併用によりスタチンの MDR1 mRNA 発現誘導能は抑制されることが示され、特に atorvastatin lactone, lovastatin acid および lovastatin lactone ではほぼ完全に誘導能が阻害された。また cerivastatin acid, fluvastatin acid, simvastatin lactone においても発現誘導能が中程度に抑制された。その一方で pitavastatin acid による発現誘導は、sulforaphane 存在下においても影響が認められなかった。

また、PXR と CAR の両方の機能を阻害する coumestrol、もしくは CAR antagonist の picrotoxin を併用したところ、pitavastatin acid による発現誘導能は抑制された。これらのことから、pitavastatin 以外のスタチンでは、核内受容体の PXR がその発現誘導に関与しているのに対し、pitavastatin による発現誘導では PXR の関与はほとんどなく、CAR の関与が示唆された。

つまり、この研究により、医薬品を適正に使用するための情報を臨床現場に提供することができ、薬物間相互作用を未然に防止することが可能であると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

|                                  |                                                                                                                                                                                                                            |     |       |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------|
| 受付番号                             | 甲 第 2054 号                                                                                                                                                                                                                 | 氏 名 | 山崎 大輔 |
| 論文題目<br>Title of<br>Dissertation | Effects of acid and lactone forms of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on the induction of MDR1 expression and function in LS180 cells<br><br>LS180 細胞における MDR1 遺伝子発現および機能に及ぼす HMG-CoA 還元酵素阻害剤の影響 |     |       |
| 審査委員<br>Examiner                 | 主 査 平田 健一<br>Chief Examiner<br>副 査 松尾 雅文<br>Vice-examiner<br>副 査 中村 俊一<br>Vice-examiner                                                                                                                                    |     |       |
| 審査修了日                            | 平成 21 年 9 月 16 日                                                                                                                                                                                                           |     |       |

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

薬物体内動態の変化は、薬物の有効性や安全性に重大な影響を及ぼすことがあり、薬物の体内動態に影響を及ぼす因子として、薬物などの生体異物により薬物代謝酵素や薬物トランスポーターの遺伝子発現が誘導される結果、薬物動態および薬理効果が変動することがあり、臨床上重大な問題になっている。高脂血症治療薬の HMG-CoA 還元酵素阻害剤（スタチン系薬剤）は血中脂質濃度を低下させ、心血管病変に対する優れた予防効果を示すことから、高脂血症の治療に広く用いられている。しかしながら、スタチン系薬剤は、多くの薬剤との相互作用が懸念され、また、生体内において acid 体と lactone 体との間で相互変換されており、両者が複雑に薬物間相互作用に関与していることが示唆されている。

申請者らは、代表的な薬物動態関連遺伝子である multidrug resistance protein 1 (MDR1) および cytochrome P450 3A (CYP3A) 遺伝子発現量に及ぼすスタチン系薬剤の影響について、また、acid 体と lactone 体での発現誘導能の違いについて検討した。

LS180 細胞は  $\alpha$ -minimum essential medium ( $\alpha$ -MEM) 培地にて培養し、種々スタチン系薬剤 (10  $\mu$ M) を含む培地に置換し、mRNA の発現量を real-time quantitative RT-PCR 法により測定した。また、MDR1 により特異的に輸送される rhodamine (Rh) 123 を用い、スタチン処置下、未処置下における細胞内 Rh123 蓄積を Flow Cytometry により検討した。核内受容体の一種である pregnane X receptor (PXR)、constitutive androstane receptor (CAR) の antagonist 存在下、非存在下における、スタチンによる MDR1 遺伝子発現誘導能への影響を検討した。

MDR1 mRNA 発現量に及ぼす種々スタチン系薬剤の影響を検討した結果、数種のスタチン系薬剤で MDR1 および CYP3A の mRNA 発現が誘導することが示され、cerivastatin acid, simvastatin lactone において特に強い誘導能が認められた。また、lactone 体の誘導能は acid 体よりも強いことが示された。cerivastatin acid および simvastatin lactone 処置下において、細胞内 Rh123 蓄積量の減少が示された。このことか

ら、スタチンによる MDR1 mRNA 発現誘導は、MDR1 タンパク質の機能の変化を伴っていることが示唆された。次に、PXR 特異的な antagonist である sulforaphane を併用して、発現誘導機構における核内受容体の寄与を検討した。sulforaphane の併用によりスタチンの MDR1 mRNA 発現誘導能は抑制されることが示され、特に atorvastatin lactone, lovastatin acid および lovastatin lactone ではほぼ完全に誘導能が阻害された。また cerivastatin acid, fluvastatin acid, simvastatin lactone においても発現誘導能が中程度に抑制された。その一方で pitavastatin acid による発現誘導は、sulforaphane 存在下においても影響が認められなかった。また、PXR と CAR の両方の機能を阻害する coumestrol、もしくは CAR antagonist の picrotoxin を併用したところ、pitavastatin acid による発現誘導能は抑制された。これらのことから、pitavastatin 以外のスタチンでは、核内受容体の PXR がその発現誘導に関与しているのに対し、pitavastatin による発現誘導では PXR の関与はほとんどなく、CAR の関与が示唆された。

本研究は、薬物動態関連因子にスタチンが影響し、さらにスタチンの種類や acid 体と lactone 体によっても作用に違いがあることを明らかにし、医薬品を適正に使用する上で重要な知見を得たものとして価値あるものと認める。よって本研究は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。