

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14965

研究課題名(和文)脂質メディエーター輸送体の機能変動が薬物誘発性肝障害発症の個体差に与える影響

研究課題名(英文) Impact of alteration of lipid mediator transporter activity on interindividual variety of development of drug-induced liver injury

研究代表者

島田 紘明 (Shimada, Hiroaki)

近畿大学・薬学部・助教

研究者番号：40783444

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脂質メディエーターの一種であるプロスタグランジンE2(PGE2)は様々な原因による肝障害を抑制する肝保護因子として作用する。本研究では特異体質性に惹起される場合が多い薬物誘発性肝障害の発症の個体差の原因に、脂質メディエーター輸送体の機能変動が影響するかを明らかにすることを目的とした。結果として、PGE2の輸送体である有機アニオン輸送体(OATP2A1)が、肝臓では肝血管内皮とクッパー細胞に主に発現し、肝障害の種類によって発現変動が異なることが明らかになった。また、輸送体に加えて肝障害時の肝PGE2量調節にはPGE2不活化酵素(15-PGDH)が重要な役割を果たすことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、脂質メディエーターの動態変動を薬物誘発性肝障害の発症機序の一つとして新たに提言するものである。今回の検討では、OATP2A1の肝臓における発現局在と肝障害に伴う発現変動を明らかにしたことに加え、15-PGDHが肝PGE2量の調節に重要であることを示した。これまでの薬物誘発性肝障害の発症機序に関する検討は、薬物の体内動態に着目したものがほとんどであったが、本研究成果により内因性肝保護因子であるPGE2の肝臓における量の調節機構の一端が明らかになったことから、今後は新たにPGE2を含む肝保護因子の動態調節機構の個体差の薬物誘発性肝障害の発症への影響を検討することの重要性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Prostaglandin E2, one of the lipid mediators, serves as hepatoprotective factor against liver injury triggered by various causes. The purpose of present study is clarifying the impact of alteration of lipid mediator transporter activity on individual development of drug-induced liver injury that occurred in an idiosyncratic manner. Present results suggest that organic-anion transporting polypeptide (OATP) 2A1 that serves as PGE2 transporter is expressed in endothelial cells and Kupffer cells and its expression level is complexly regulated dependent on the types of liver injury. In addition to OATP2A1, moreover, it is revealed that hepatic 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (15-PGDH), a PGE2 inactivation enzyme, has a great impact on the regulation of hepatic PGE2 amount under liver injury conditions.

研究分野：薬物動態学

キーワード：肝障害 脂質メディエーター PGE2 トランスポーター 代謝酵素

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

薬物誘発性肝障害(DILI)は新薬の開発中止や市場撤退の原因の約 30%を占める。しかし、DILI の発症は患者の体質に依存する 경우가多く発症予測は非常に困難である。特に、肝毒性を有する薬物の体内動態に関わる代謝酵素やトランスポーター (以下、輸送体)の発現量・活性の個体差は、DILI の発症において重要である。しかし、肝毒性を有する薬物やその代謝物の体内動態に関わる代謝酵素や輸送体だけでは、DILI 発症の個体差を説明できない場合もある。

一方で生体には障害を受けた組織を修復したり、さらなる損傷から保護するための生体防御機構が存在する。肝臓では特に、プロスタグランジン(PG)やロイコトリエン(LT)などの脂質メディエーターが肝組織修復や保護に重要な役割を果たす。例えば、PG の産生酵素シクロオキシゲナーゼ (COX)や LTB<sub>4</sub> 受容体の阻害や遺伝子欠損は、四塩化炭素 (CCl<sub>4</sub>) やアセトアミノフェン (APAP) 誘発性肝障害を増悪させる。したがって、脂質メディエーターの産生酵素や代謝酵素、受容体の活性や発現量の変動は、DILI の起こりやすさや重症度に影響する可能性がある。

さらに近年では脂質メディエーターの体内動態調節における輸送体の寄与が明らかになってきた。PG や LT は生理的条件下では有機アニオンとして存在するため、細胞膜透過には輸送体の介在が必須である。一般的に細胞膜上の受容体に結合して作用を発揮するため、細胞内で産生後に細胞外へ分泌される必要がある。一方、作用を終えた PG や LT は細胞内に取込まれた後に代謝酵素により不活化される。つまり、輸送体の機能変動は脂質メディエーターの受容体近傍濃度を変化させる場合がある。例えば PG 類の輸送体として知られる有機アニオン輸送体 OATP2A1 は、炎症刺激に伴うマクロファージからの PGE<sub>2</sub> 分泌に寄与する。さらにこの OATP2A1 遺伝子欠損マウスでは肺における PGE<sub>2</sub> 動態変化に伴いプレオマイシン誘発性の肺線維症が増悪するなど、OATP2A1 が組織中の PGE<sub>2</sub> 量とその作用を調節に係ることが明らかになってきた。したがって、輸送体の機能変動は脂質メディエーター動態を破綻させ、組織障害に対する脆弱性をもたらす可能性がある。

### 2. 研究の目的

種々の肝障害に対して、PGE<sub>2</sub> を外因的に投与することで肝障害が抑制されることはこれまでに知られているが、肝障害に伴い肝臓における内因性 PGE<sub>2</sub> 量がどのように調節されているかは明らかでない。そこで本研究では脂質メディエーターのうち PGE<sub>2</sub> に着目し、肝障害時の輸送体による肝組織 PGE<sub>2</sub> 動態調節機構を解明することを目的とする。脂質メディエーターの輸送体の機能変動が DILI 発症に与える影響が明らかにすることは、特異体質性に惹起される肝毒性の発現機構を理解する上で有益と考えられる。

### 3. 研究の方法

#### 健常マウスにおける肝 OATP2A1、15-PGDH 発現局在検討

BALB/C マウス (8 週齢, 雄性)の肝臓を採取し、組織免疫蛍光染色法により OATP2A1 および 15-PGDH 発現細胞を検討した。本検討ではマクロファージマーカーとして抗 F4/80 抗体、血管内皮マーカーとして抗 CD31 抗体を用いて、抗 OATP2A1 抗体や抗 15-PGDH 抗体との共局在を検討した。

四塩化炭素、アセトアミノフェン、カルバマゼピン誘発性肝障害モデルマウスにおける肝臓における PGE<sub>2</sub> 調節因子の発現変動

BALB/C マウス (8 週齢, 雄性) に 1% CCl<sub>4</sub> in corn oil を 5 mL/kg 腹腔内投与することにより CCl<sub>4</sub> 誘発性肝障害モデルマウスを、APAP を 200 mg/kg 腹腔内投与することにより APAP 誘発性肝障害モデルマウスを、CBZ を 400 mg/kg で 4 日間経口投与後、5 日目に 800 mg/kg で経口投与することにより CBZ 誘発性肝障害モデルマウスを作成した。作成した各肝障害モデルマウスの肝臓を回収し、PGE<sub>2</sub> 量調節因子として PGE<sub>2</sub> 産生酵素である COX-1、COX-2 および microsomal PGE 合成酵素(mPGES)-1 および 2、PGE<sub>2</sub> 不活化酵素 15-PGDH、PGE<sub>2</sub> 輸送体 OATP2A1 の mRNA 発現量を qPCR により、タンパク発現量をウエスタンブロットにより検討した。

#### 4. 研究成果

免疫染色により、健常マウスにおいて OATP2A1 は肝実質細胞にはほとんど発現せず、門脈や中心静脈の血管内皮細胞や類洞内皮細胞、クッパー細胞に局在していた。同様に 15-PGDH についても局在を検討したところ、ほとんどが類洞内皮細胞に発現し、部分的にクッパー細胞にも発現することが示された。以上の結果から、その他の一般的な肝細胞の基底膜に発現する OATPs とは異なり、OATP2A1 は肝細胞ではなく非実質細胞に発現することが明らかになった。また、類洞内皮細胞には 15-PGDH と OATP2A1 が局在する事から、肝臓における主要な PGE<sub>2</sub> 代謝部位は類洞内皮であることが示唆された。

CCl<sub>4</sub> 誘発性肝障害モデルマウスにおいては、CCl<sub>4</sub> 処置 6 時間後から血中および肝組織中 PGE<sub>2</sub> 量が増加した。一方で CCl<sub>4</sub> 処置後の肝ホモジネート中の肝 PGE<sub>2</sub> 産生活性は CCl<sub>4</sub> 処置前と変化せず、15-PGDH の活性が低下することが示された。また肝臓における PGE<sub>2</sub> 産生に関わる COX-1、COX-2、mPGES-1 および mPGES-2 発現は CCl<sub>4</sub> 処置により誘導されず、15-PGDH の発現低下が観察された。したがって、CCl<sub>4</sub> 誘発性肝障害時には肝 15-PGDH 発現低下により、肝 PGE<sub>2</sub> 量が増加することが初めて示された。また、肝 OATP2A1 発現は CCl<sub>4</sub> 処置により増加した一方、その他の肝細胞に発現する OATPs の発現量は減少した。さらに OATP2A1 阻害活性を有するスラミンを CCl<sub>4</sub> と共処置したマウスにおいては、CCl<sub>4</sub> 単独投与群と比較して血漿中 AST および ALT 活性が顕著に増大した。以上の結果より、CCl<sub>4</sub> 誘発性肝障害時に OATP2A1 は PGE<sub>2</sub> を輸送することで肝保護に寄与することが示唆された。APAP 誘発性肝障害モデルマウスにおいては、APAP 処置 24 時間後における肝 PGE<sub>2</sub> 量が顕著に増加した一方、肝 PGE<sub>2</sub> 代謝物量が著しく減少した。CCl<sub>4</sub> 誘発性肝障害モデルマウス同様、APAP 処置後の肝ホモジネート中の肝 PGE<sub>2</sub> 産生活性は処置前と変化せず、15-PGDH の活性が低下することが示された。PGE<sub>2</sub> 産生に関わる酵素の発現量については COX-1、COX-2 および mPGES-2 発現量は APAP 処置により変動しなかったが、mPGES-1 発現のみが約 6 倍に増加した。また 15-PGDH の発現低下が観察された。したがって、APAP 誘発性肝障害時においても基本的には肝 15-PGDH 発現低下により、肝 PGE<sub>2</sub> 量が増加することが示された。肝 OATP2A1 発現量については CCl<sub>4</sub> 誘発性肝障害と同様に APAP 誘発性肝障害モデルにおいても著しく発現が増加した。

CBZ 誘発性肝障害モデルマウスについては、CBZ 処置後 24 時間において CBZ 処置したマウスの約 25% で顕著な血漿中 ALT 活性の増加が確認された。また ALT が顕著に増大した群 (CBZ 誘発性肝障害モデルマウス) については、CBZ 非処置群や ALT 非上昇群と比較して顕著に肝 PGE<sub>2</sub> 量が増加した。ALT 上昇群については CCl<sub>4</sub> および APAP 誘発性肝障害モ

デルと同様に、肝 PGE<sub>2</sub> 産生活性は誘導されず、15-PGDH 活性が低下した。また、CCl<sub>4</sub> および APAP 誘発性肝障害モデルとは異なり、肝 OATP2A1 発現は CBZ 誘発性肝障害モデルマウスでは発現が顕著に低下した。

以上の検討から、肝障害時の輸送体による肝組織 PGE<sub>2</sub> 動態調節機構までは明らかにできなかったが、肝血管内皮およびクッパー細胞に局在する OATP2A1 発現変動が肝障害の種類に依存して異なること、少なくとも OATP2A1 発現が上昇する CCl<sub>4</sub> 誘発性肝障害においては OATP2A1 阻害条件下で肝障害が増悪することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shimada Hiroaki, Hashimoto Ryota, Aoki Aya, Yamada Saya, Oba Ken-ichi, Kawase Atsushi, Nakanishi Takeo, Iwaki Masahiro	4. 巻 155
2. 論文標題 The regulatory mechanism involved in the prostaglandin E2 disposition in carbon tetrachloride-induced liver injury	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids	6. 最初と最後の頁 102081 ~ 102081
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.plefa.2020.102081	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Shimada Hiroaki, Hashimoto Ryota, Aoki, Aya, Yamada Saya, Kawase Atsushi, Iwaki Masahiro
2. 発表標題 The role OATP2A1 in hepatoprotection against CCl4-induced liver injury
3. 学会等名 IUTOX 15th International Congress of Toxicology（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iwaki Masahiro, Hiroaki Shimada, Hashimoto Ryota, Oba Ken-ichi, Kawase Atsushi
2. 発表標題 The regulatory mechanism of hepatic PGE2 disposition in carbamazepine-induced liver injury
3. 学会等名 IUTOX 15th International Congress of Toxicology（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大場憲一、島田紘明、吉川幸加、川瀬篤史、岩城正宏
2. 発表標題 薬物誘発性肝障害における肝プロスタグランジンE2量調節機構
3. 学会等名 第62回 日本脂質生化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroaki Shimada, Ryota Hashimoto, Aya Aoki, Sachika Yoshikawa, Masaya Nakahama, Atsushi Kawase, Masahiro Iwaki
2. 発表標題 Regulation of hepatic Prostaglandin E2 disposition under liver injury condition
3. 学会等名 59th International Conference of the Bioscience of Lipids (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大場憲一, 島田紘明, 橋本凌汰, 川瀬篤史, 岩城正宏
2. 発表標題 カルバマゼピン誘発性肝障害におけるProstaglandinE2動態調節
3. 学会等名 未来創薬医療イノベーションシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大場憲一, 島田紘明, 橋本凌汰, 川瀬篤史, 岩城正宏
2. 発表標題 カルバマゼピン誘発性肝障害における肝プロスタグランジンE2動態調節機構
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島田紘明, 橋本凌汰, 青木 彩, 川瀬篤史, 岩城正宏
2. 発表標題 四塩化炭素誘発性肝障害におけるOATP2A1の役割
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横飛暉斗、島田紘明、吉川幸伽、川瀬篤史、岩城正宏
2. 発表標題 Acetaminophen誘発性肝障害における肝Prostaglandin E2量調節機構とその意義
3. 学会等名 第70回 日本薬学会関西支部
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大場憲一、島田紘明、橋本凌汰、川瀬篤史、岩城正宏
2. 発表標題 Carbamazepine誘発性肝障害における肝prostaglandin E2 量調節機構
3. 学会等名 第70回 日本薬学会関西支部
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------