

柑橘系飲料および健康食品による有機アニオントランスポーターOATP2B1を介した薬物 - 飲食物間相互作用

佐藤, 宏樹

<https://doi.org/10.15017/1654984>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（創薬科学）, 論文博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

柑橘系飲料および健康食品による 有機アニオントランスポーター OATP2B1 を介した薬物－飲食物間相互作用

佐藤 宏樹

【序論】

薬物体内動態の変化は、薬理作用の減弱・増強や副作用の発現・増悪などに繋がる可能性があり、これに影響を及ぼしうる諸因子を把握しておくことは、医薬品適正使用において非常に重要である。近年、飲料や健康食品・サプリメントなどの飲食物が薬物体内動態に影響を及ぼすことが明らかとなり、薬物－飲食物間相互作用として臨床上も問題とされている。例えば、グレープフルーツジュースが消化管の CYP3A4 を阻害し、カルシウム拮抗薬などの基質薬物の血中濃度を上昇させることや、抑うつ状態を改善するといわれる健康食品のセント・ジョーンズ・ワートが CYP3A4 や P-糖タンパク質を誘導し、cyclosporine などの基質薬物の血中濃度を低下させることが知られており、医薬品添付文書にも記載されている。

Organic anion-transporting polypeptide (OATP) は、有機アニオン性化合物を輸送するトランスポーターである。近年、グレープフルーツジュースなどの柑橘系飲料が、OATP1A2 の輸送機能を阻害すること、抗ヒスタミン薬 fexofenadine やβ受容体遮断薬 celiprolol の血中濃度を顕著に低下させることが報告された。このことは、CYP3A4 や P-糖タンパク質を介した薬物－飲食物間相互作用とは異なる、薬物吸収に関与する取り込みトランスポーターである OATP を介した新たなメカニズムの薬物－飲食物間相互作用の可能性を示唆している。小腸上皮細胞の管腔側膜には OATP2B1 が発現していることが報告されているが、OATP2B1 の機能に及ぼす柑橘系ジュースの影響はこれまでほとんど報告されていない。また、健康食品には植物を原材料とするものが多数存在し、柑橘系ジュースと同様の相互作用を引き起こす可能性が推測されるが、健康食品との相互作用に関してはほとんど報告されていない。

本研究では、OATP2B1 を介した薬物－飲食物間相互作用の可能性を明らかにすることを目的とし、1) OATP2B1 の機能を評価する *in vitro* 実験系を構築し、2) 柑橘系ジュース、3) 植物エキス（健康食品）、4) 植物由来の飲食物に豊富に含まれるフラボノイド類による OATP2B1 阻害の可能性とそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

【方法】

1) OATP2B1 の輸送機能評価系の構築¹⁾

常法に従い、ヒト OATP2B1 cDNA を組み込んだ pIRESneo ベクターをヒト胎児腎由来 HEK293 細胞に導入し、OATP2B1 の安定発現株 HEK/OATP-B 細胞を構築した（構築時点で OATP2B1 は OATP-B と称されていたため、構築した細胞は HEK/OATP-B 細胞と名付けた）。構築した細胞をマルチウェルプレート上で接着培養し、常法に従い、放射標識化合物を用いた取り込み実験を行った。HEK/OATP-B 細胞での取り込みからベクターのみを導入した HEK/Mock 細胞での取り込みを差し引くことで、OATP2B1 を介した取り込みを評価した。また、各種アニオン性薬物の放射標識体を用い、新規基質を探索した。

2) 柑橘系飲料が OATP2B1 の輸送機能に及ぼす影響¹⁾

構築した OATP2B1 の輸送機能評価系を用い、柑橘系飲料およびそれらに含有される成分が及ぼす影響を検討した。なお、柑橘系飲料の検討は pH 7.4 の条件下で実施した。また、阻害様式を Lineweaver-Burk Plot により確認するとともに、プレインキュベーションの影響や細胞外 pH

の影響を検討した。

3) 植物エキス（健康食品）が OATP2B1 の輸送機能に及ぼす影響²⁾

構築した OATP2B1 の輸送機能評価系を用い、健康食品原料である植物エキスおよびそれらに含有される成分が及ぼす影響を検討した。また、阻害様式を Lineweaver-Burk plot により確認するとともに、プレインキュベーションの影響を検討した。

4) 植物フラボノイドが OATP2B1 の輸送機能に及ぼす影響³⁾

構築した OATP2B1 の輸送機能評価系を用い、22 種の植物フラボノイドが及ぼす影響を検討し、50% 阻害濃度 (IC₅₀) を常法に従い算出した。算出した IC₅₀ を阻害作用の指標として、各フラボノイドの脂溶性 (clogP)、平面構造、置換基 (水酸基、メチル基、配糖体) との関係を検討した。また、IC₅₀ の逆対数 (pIC₅₀) を従属変数、clogP、平面構造、置換基を独立変数とし、quercetin を基本構造としてダミー変数を用いた重回帰分析を変数減少法により行った。重回帰分析には、SPSS 21 を用いた。

【結果】

1) OATP2B1 の輸送機能評価系の構築¹⁾

構築した HEK/OATP-B 細胞は、OATP2B1 の典型的基質である estrone-3-sulfate を濃度依存的に取り込んだ (親和定数 K_t: 7.14 μM)。また、OATP2B1 の基質として glibenclamide (K_t: 6.26 μM) を同定した (図 1)。

2) 柑橘系飲料が OATP2B1 の輸送機能に及ぼす影響¹⁾

OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate および glibenclamide の取り込みは、グレープフルーツジュースおよびオレンジジュース (図 2)、グレープフルーツジュースに含まれる naringin をはじめとするフラボノイド (図 3) により濃度依存的に阻害された。グレープフルーツジュースおよび naringin における Lineweaver-Burk plot は y 軸上で交差 (競合阻害) した。グレープフルーツジュースによる阻害はプレインキュベーション後の washout により回復 (可逆的阻害) した。OATP2B1 を介した取り込みに対して細胞外 pH の影響は認められなかった。

3) 植物エキス（健康食品）が OATP2B1 の輸送機能に及ぼす影響²⁾

OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate の取り込みに対する阻害作用は、通常摂取量から想定した消化管内濃度においてイチヨウ葉、緑茶、ビルベリー、大豆、ブドウ種子、バナバ葉、エキナケア、エゾウコギ、ブラックコホシユ、クワ葉の順に強く、大麦、ハト麦、ルチン、ラフマ、パッションフラワーでは影響を認めなかった (図 4)。阻害の強かったイチヨウ葉エキスおよび緑茶エ

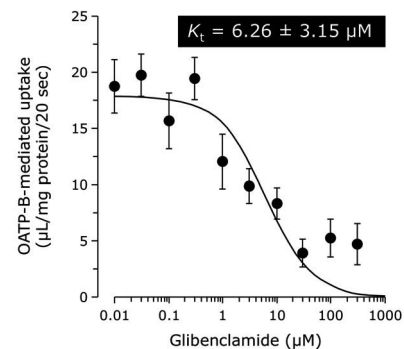


図 1. OATP2B1 を介した濃度依存的な glibenclamide の取り込み
平均値 ± 標準誤差 (n=8)

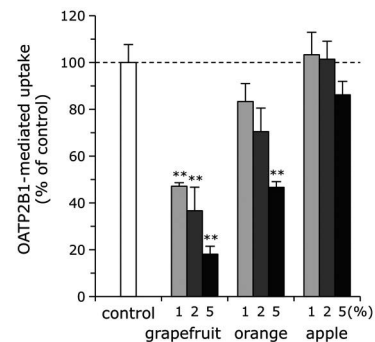


図 2. OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate の取り込みに及ぼすジュースの影響
平均値 ± 標準誤差 (n=3)、** p<0.01

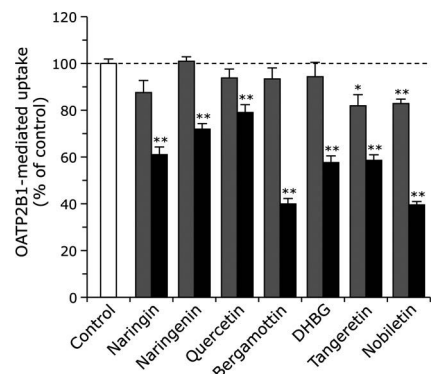


図 3. OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate の取り込みに及ぼす各種ジュース中成分の影響
■ 1 μM, ■ 10 μM
平均値 ± 標準誤差 (n=3)、* p<0.05、** p<0.01

キスは、OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate の取り込みを濃度依存的に阻害し、IC₅₀ はそれぞれ 11.4 μg/mL および 22.1 μg/mL であった。イチヨウ葉エキスにおける Lineweaver-Burk plot は y 軸上で交差（競合阻害）し、その阻害はプレインキュベーション後の washout により回復（可逆的阻害）した。イチヨウ葉エキスに含まれるフラボノイド（図 5）、緑茶エキスに含まれるカテキン（図 6）による阻害が認められた。

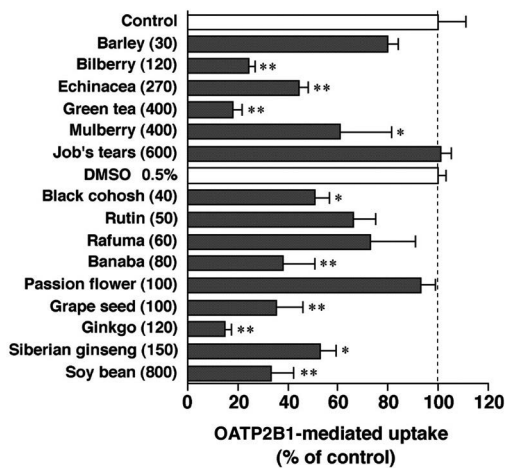


図 4. OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate の取り込みに及ぼす植物エキスの影響
() 内は μg/mL、平均値±標準誤差 (n=3)、* p<0.05、** p<0.01

4) 植物フラボノイドが OATP2B1 の輸送機能に及ぼす影響³⁾

OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate の取り込みに対する検討した 22 種のフラボノイドの IC₅₀ は、cynaroside の 1.45 μM から flavone の 308 μM まで幅広い値を示した。アグリコンでは pIC₅₀ と clogP の間に有意な相関を認めたが (r=-0.601、p=0.027)、配糖体では相関が認められなかった。同位置に同一の置換基を有するフラボン類とフラバノン類の間で、IC₅₀ はほぼ同等であった。フラボノイドの 3、3'、4' 位への水酸基付加により IC₅₀ は低下（阻害効果は増強）し、3'、4' 位の水酸基のメチル化により IC₅₀ は上昇（阻害効果は減弱）し、7 位の水酸基へのグルコース付加により IC₅₀ は顕著に低下（阻害効果は増強）した。重回帰分析により得られた最終モデル式は $pIC_{50}=0.343(clogP)+0.885(C3-Glc)+1.19(C7-Glc)+1.27(C7-Neo)-0.411(C3'-H)-1.16(C4'-H)-0.473(C4'-OCH_3)+4.05$ であり（図 7）、上記を支持する結果であった。

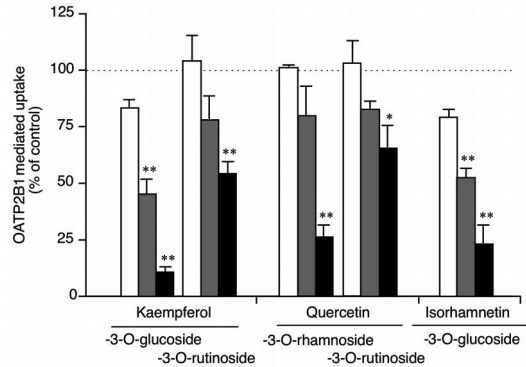


図 5. OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate の取り込みに及ぼすフラボノイド配糖体の影響
□ 1 μM、■ 10 μM、■ 100 μM
平均値±標準誤差 (n=3)、* p<0.05、** p<0.01

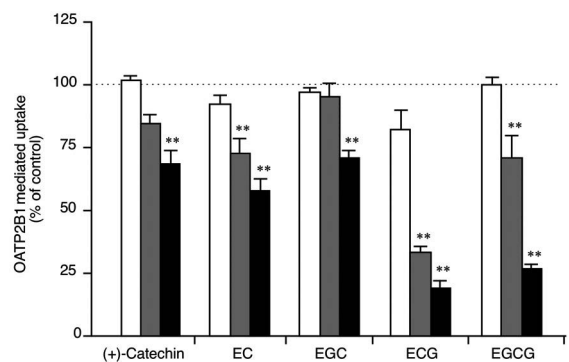


図 6. OATP2B1 を介した estrone-3-sulfate の取り込みに及ぼすカテキン類の影響
□ 1 μM、■ 10 μM、■ 100 μM
平均値±標準誤差 (n=3)、** p<0.01

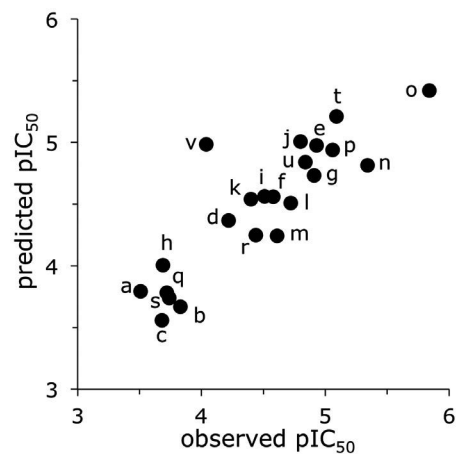


図 7. 各種フラボノイド類の OATP2B1 阻害効果の実測値 (observed pIC₅₀) と重回帰分析により得られた予測値 (predicted pIC₅₀) の関係
a: Flavone b: 7-Hydroxyflavone c: Chrysin
d: Apigenin e: Luteolin f: Kaempferol
g: Quercetin h: Acacetin i: Diosmetin
j: Isorhamnetin k: Naringenin l: Eriodictyol
m: Hesperetin n: Apigetrin o: Cynaroside
p: Astragalin q: Nicotiflorin r: Quercitrin
s: Rutin t: Isorhamnetin 3-glucoside,
u: Naringin v: Miscanthoside

【考察】

本研究で構築した HEK/OATP-B 細胞による estrone-3-sulfate の取り込みの K_t 値は既報と同程度であり、OATP2B1 の機能の評価が可能な *in vitro* 実験系を構築できた。構築した系を用いて、糖尿病治療薬 glibenclamide が OATP2B1 の基質であることを初めて同定した。ただし、glibenclamide は脂溶性が高いため細胞膜を主に単純拡散によって透過し、また、肝代謝酵素 CYP2C9 や CYP3A4 で代謝されるため、ヒトの薬物動態における変動要因として OATP2B1 の寄与は小さい可能性が示唆される。

構築した OATP2B1 機能評価系を用いて、グレープフルーツジュースおよびオレンジジュースが OATP2B1 の輸送機能を阻害することが示された。また、健康食品の原料であるイチヨウ葉エキスおよび緑茶エキスでも強い阻害が認められた。グレープフルーツまたはオレンジジュースの摂取により fexofenadine やレニン阻害薬 aliskiren の血中濃度が顕著に低下することが報告されており、これらは OATP2B1 の基質であることから、本相互作用の一部に OATP2B1 が関与している可能性が推測される。柑橘系ジュースは日常的に摂取される飲料であり、イチヨウ葉エキスは加齢による記憶障害に効果があるとされ、特に欧州ではよく用いられており、緑茶エキスには体重低下作用があり、本邦では茶カテキンが脂肪の消費をしやすくするとして特定保健用食品として販売されている。したがって、これら飲料や健康食品と医薬品が併用される可能性は十分に考えられるが、OATP2B1 の基質となる薬物と併用した場合には、薬物の血中濃度が低下する可能性が推測される。

グレープフルーツジュース、イチヨウ葉エキス、緑茶エキスによる阻害の実体として、それぞれに豊富に含まれている naringin、フラボノイド配糖体、epigallocatechin gallate などのカテキン類が OATP2B1 の輸送機能を阻害したことから、これらのフラボノイド類が阻害に関与していると考えられる。さらに、種々フラボノイドの影響を検討したところ、OATP2B1 に対する IC_{50} 値は幅広い値を示し、フラボノイドが OATP2B1 と相互作用するのに必要な因子の存在が示唆された。特に、フラボノイドの 4', 3, 3' 位への水酸基付加により OATP2B1 阻害効果が増強し、3', 4' 位の水酸基のメチル化により阻害効果は減弱すると考えられる。

臨床において、薬物-飲食物間相互作用は薬物治療の成否に繋がる重要な問題の一つである。本研究では、薬物の吸収を低下させるメカニズムの一つとして、フラボノイド類を含有する飲食物による OATP2B1 の阻害を明らかにした。これは、OATP2B1 の基質薬物と柑橘系ジュースあるいは植物エキスを原料とする健康食品を併用すると、治療の失敗に繋がる可能性を示唆している。OATP2B1 の基質に関する情報が少ない現状では、患者によるこれら飲食物の摂取状況を十分に把握し、予期しない治療効果の変動に備えることが求められる。

【発表論文】

- 1) [Sato H](#), Yamashita F, Tsujimoto M, Murakami H, Koyabu N, Ohtani H, Sawada Y. Citrus juices inhibit the function of human organic anion-transporting polypeptide OATP-B. *Drug Metab Dispos.* **33**(4): 518–523, 2005. doi: 10.1124/dmd.104.002337.
- 2) Fuchikami H, [Sato H](#), Tsujimoto M, Ohdo S, Ohtani H, Sawada Y. Effects of herbal extracts on the function of human organic anion-transporting polypeptide OATP-B. *Drug Metab Dispos.* **34**(4): 577–582, 2006. doi: 10.1124/dmd.105.007872.
- 3) [Sato H](#), Fuchikami H, Ohtani H, Tsujimoto M, Ohdo S, Sawada Y. Inhibitory effects and structure-activity relationship of flavonoids with respect to human organic anion-transporting polypeptides, OATP2B1. *Int J Pharm Phytopharmacol Res.* **5**(3): 1–8, 2015.