

氏 名（本籍）	中 <sup>なか</sup> 井 <sup>い</sup> 大 <sup>だい</sup> 介 <sup>すけ</sup>
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 第 3 3 6 6 号
学位授与年月日	平 成 17 年 9 月 14 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
最 終 学 歴	平 成 7 年 3 月 29 日 東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了
学位論文題目	高脂血症治療薬プラバスタチンのヒト肝細胞取り 込み機構の研究

（主 査）

論文審査委員	教授 伊 藤 貞 嘉	教授 後 藤 順 一
	教授 谷 内 一 彦	

## 論文内容要旨

高脂血症治療薬プラバスタチンは、標的臓器である肝臓に選択的に作用し、類薬に比べ横紋筋融解症の発症頻度が極めて小さく、安全性の高い薬物である。その理由として、プラバスタチンは非常に脂溶性が低く、細胞の脂質二重層を容易に通過することができないが、肝細胞には血管側膜上に存在する  $\text{Na}^+$  非依存性の有機アニオン輸送担体により積極的に取り込まれることが挙げられており、主としてラットを用いて報告されていた。また、プラバスタチンは、ヒト肝臓のみ特異的に発現している OATP1B1 (human liver-specific transporter; LST-1) の基質であることが報告されており、ヒトにおいてもラット同様輸送担体を介して肝臓に取り込まれると考えられていた。しかしながら、実際に、OATP1B1 が *in vivo* で機能しているかどうかについては明らかではなかった。そこで、本研究ではヒト肝臓へのプラバスタチンの取り込み機構について、ヒト凍結肝細胞、ヒト肝 poly-A あるいは OATP1B1 を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞 (oocytes) およびヒト肝癌由来 HepG2 細胞を用いて検討を加えた。ヒト肝細胞へのプラバスタチンの取り込みは、 $\text{Na}^+$  非依存性の飽和性を示し、そのミカエリス定数 ( $K_m$ ) は  $11.5 \pm 2.2 \mu\text{M}$  であった。また、OATP1B1 発現 oocytes へのプラバスタチンの取り込みも  $\text{Na}^+$  非依存性の飽和性を示し、その  $K_m$  値は  $13.7 \pm 4.0 \mu\text{M}$  とヒト肝細胞への取り込みの  $K_m$  値とほぼ同様であった。また、ヒト肝臓 polyA mRNA を注入した oocytes へのプラバスタチンの取り込みも  $\text{Na}^+$  非依存性であり、OATP1B1 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを同時に注入することにより、プラバスタチンは oocytes へ全く取り込まれなくなった。さらに、飽和性のプラバスタチンの取り込みを示すヒト肝細胞においては OATP1B1 の発現が免疫組織化学的に確認されたが、ヒト肝細胞に比べ 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) 還元酵素阻害作用が極めて低い HepG2 細胞へのプラバスタチンの取り込みには飽和性が観察されず、OATP1B1 の発現は認められなかった。以上の結果より、ヒト肝臓では肝臓にのみ特異的に発現している OATP1B1 によりプラバスタチンが肝細胞内に取り込まれることが示された。さらに、OATP1B1 はプラバスタチンが薬効ターゲットである肝臓内の HMG-CoA 還元酵素に結合し、薬効を発現するための必須分子であることが示されたとともに、OATP1B1 の肝選択的な発現がプラバスタチンの肝選択的で安全性の高い薬理作用を付与していることが明らかとなった。また、OATP1B1 がヒト肝臓へのプラバスタチンの取り込みを担うトランスポーター分子であることを明らかにしたことは、OATP1B1 の発現・機能変動を考慮した、患者へのより効果的かつ安全な投与法設計につながる重要な知見である。

## 審査結果の要旨

高脂血症治療薬プラバスタチンは、標的臓器である肝臓に選択的に作用し、類薬に比べ横紋筋融解症の発症頻度が極めて小さく、安全性の高い薬物である。その理由として、プラバスタチンは非常に脂溶性が低く、細胞の脂質二重層を容易に通過することができないが、肝細胞には血管側膜上に存在する Na<sup>-</sup> 非依存性の有機アニオン輸送担体により積極的に取り込まれることが挙げられていた。本研究は、その本体がヒト肝臓にのみ特異的に発現している OATP1B1 (human liver-specific transporter, LST-1) であることを確立したものである。

本研究ではヒト肝臓へのプラバスタチンの取り込み機構について、ヒト凍結肝細胞、ヒト肝 poly-A あるいは OATP1B1 を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞 (oocytes) 及びヒト肝癌由来 HepG2 細胞を用いて検討を加えた。ヒト肝細胞及び OATP1B1 発現 oocytes へのプラバスタチンの取り込みは、Na<sup>-</sup> 非依存性の飽和性を示し、そのミカエリス定数 ( $K_m$ ) は約 10  $\mu$ M であった。ヒト肝臓 polyA mRNA を注入した oocytes へのプラバスタチンの取り込みは OATP1B1 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを同時に注入することにより、消失した。さらに、飽和性のプラバスタチンの取り込みには OATP1B1 の免疫組織化学的発見が必要であった。

以上の結果は、OATP1B1 がヒト肝臓へのプラバスタチンの取り込みを担うトランスポーター分子であることを明らかにした。このことは OATP1B1 の発現・機能変動を考慮した、患者へのより効果的かつ安全な投与方法設計につながる重要な知見である。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。