

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 女性の健康の包括的支援実用化研究事業  
(英語) Project for whole implementation to support and ensure the female life

研究開発課題名 : (日本語) 性差を考慮した薬物性肝障害の発症予測手法の構築  
(英語) Development of prediction method for drug-induced liver injuries considering the gender differences

研究開発担当者 (日本語) 鈴木 洋史  
所属 役職 氏名 : (英語) The University of Tokyo Hospital, Professor, Hiroshi Suzuki

実施期間 : 平成 28 年 11 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 患者側のリスク要因評価手法の構築  
開発課題名 : (英語) Development of evaluation method for patient-related risk factors

研究開発分担者 (日本語) 鈴木 洋史  
所属 役職 氏名 : (英語) The University of Tokyo Hospital, Professor, Hiroshi Suzuki

分担研究 (日本語) 薬物側のリスク要因評価手法の構築  
開発課題名 : (英語) Development of evaluation method for compound-related risk factors

研究開発分担者 (日本語) 本間 雅  
所属 役職 氏名 : (英語) The University of Tokyo Hospital, Lecturer, Masashi Honma

分担研究 (日本語) 肝障害患者カルテ情報の精査  
開発課題名 : (英語) Careful examination for the patient records

研究開発分担者 (日本語) 森屋 恭爾  
所属 役職 氏名 : (英語) The University of Tokyo Hospital, Professor, Kyoji Moriya

## II. 成果の概要（総括研究報告）

薬物性肝障害はその発症機序に従って、中毒性機序のものの特異体質性機序のものに大別されるが、臨床で観察される薬物性肝障害症例は特異体質性機序に分類されるものが大きな割合を占める。特異体質性機序の薬物肝障害の発症頻度には性差の存在が指摘されており、男性に発症者の偏る薬剤がある一方で、女性に発症者が偏る薬剤もあり、また男女間で差が認められない薬剤もあるなど、薬剤ごとに傾向が異なることが知られている。実際、東京大学医学部附属病院の急性期病棟に入院中の患者においてタゾバクタム/ピペラシリンによる肝障害の発症例を調査した結果、男性の発症頻度が女性と比較して大きかった。一方、ザフィルルカストやジクロフェナクに関しては、女性における発症頻度が高く、カルバマゼピンに関しては男女間で発症頻度に大きな差は無いと報告されている。

これまでの様々な研究から、特異体質性機序の薬物性肝障害に関しては、様々な生理的・病理的要因に起因する薬物応答性の個人差（生体側のリスク要因）と、医薬品の化合物としての特性に起因する肝障害誘発特性の差異（化合物側のリスク要因）が重なることで発症すると想定されている。このような背景を踏まえると、生体側のリスク要因に何らかの性差が存在している可能性に加え、化合物側のリスク要因においても、肝細胞毒性発現過程に関与する複数のシグナルパスウェイにおいて、いずれの部分に化合物が影響を与えるか、その毒性発現機構の違いによって性差が生じる可能性が考えられる。すなわち、薬物性肝障害の発症を正確に予測するためには、性差の影響も考慮した患者側発症リスク特性、および性差の影響も考慮した医薬品側誘発リスク特性、双方を正確に見積もり、総合的に判断することが必要である。これらの手法が完成することで、事前の予測に基づいて該当する投薬を回避する、あるいは投薬の継続期間中は肝機能検査値を注意深く追跡し、薬物性肝障害の発症や重症化の早期検出と休薬、などの副作用マネジメントを臨床に実装することが可能となる。そこで本研究では、患者側の薬物性肝障害発症リスクを評価するためのバイオマーカーの確立を目指す検討（項目1/3．患者側のリスク要因評価手法の構築）、および医薬品側の薬物性肝障害誘発リスクを評価するためのスクリーニング系の構築を目指す検討（項目2．薬物側のリスク要因評価手法の構築）の大きく分けて2つの側面から、性差による影響を考慮して研究を進める。

項目1/3（患者側のリスク要因評価手法の構築）に関しては、平成28年度はまず、東京大学医学部倫理委員会の承認を受け、東京大学医学部附属病院に入院中に薬物性肝障害を発症した患者の血清検体収集を開始した。院内の臨床検査値検索システムを用いたスクリーニングを毎週行うことで、漏れのないように薬物性肝障害の可能性のある患者を抽出し、引き続きカルテ情報の精査を行なって登録候補となる患者の絞り込みを行い、文書による同意を取得して登録、血清検体の回収へと進むシステムを構築した。現在順調に検体収集が進行している。また、健常人におけるバイオマーカー候補物質の正常値範囲を推定するために、日本赤十字社の保管血液検体を用いた解析を行う計画であり、保管検体の供与を受けるため、日本赤十字社との契約締結を完了した。項目2（薬物側のリスク要因評価手法の構築）に関しては、平成28年度はまず、ヒト培養肝細胞を用いた肝細胞毒性評価アッセイ系の高精度化に着手した。製薬企業の薬物動態部門などにおいて、ヒト肝臓の性質を良く反映する培養細胞モデルとして汎用されているHepaRG<sup>TM</sup>細胞を入手し、ヒトにおける肝細胞障害の発現プロファイルをより精度良く反映できる実験系の構築を開始した。ラット初代培養肝細胞を用いた過去の研究経験を踏まえ、培養系に添加する炎症性サイトカインおよび酸化ストレス誘導剤の曝露濃度・時間を検討し、薬物毒性に対する感受性が大幅に亢進する条件を設定した。また、細胞の50%が障害されるEC<sub>50</sub>値に加え、臨床における肝障害をより正確に反映するため、20%の細胞障害に対応するEC<sub>20</sub>値も指標として使用できるようにアッセイ系の構築を行なった。

Drug-induced liver injuries (DILIs) are classified into two groups, intrinsic toxicity-related type and idiosyncratic type, based on the molecular mechanisms involved in the DILI development, and the large portion of DILI cases observed in clinical situations are considered to be idiosyncratic type. Previous reports have indicated that gender differences are observed in the development rates for idiosyncratic DILI associated with various drugs, however; the tendencies are different depending on the drugs. For example, female patients are more susceptible to DILI development associated with zafirlukast and diclofenac, while gender differences were not detected in the case of carbamazepine. In addition, retrospective study in the University of Tokyo Hospital indicated that male patients were more susceptible to DILI development associated with tazobactam/piperacillin.

Based on previous studies, it has been assumed that both the individual differences in toxicological responses due to various physiological and pathological factors (= patient-related risk factors) and the difference in the compound properties to induce hepatocyte damages (= compound-related risk factors) are largely involved in the development of idiosyncratic DILI. Based on this concept, the gender differences in idiosyncratic DILI development are possibly due to the gender differences in patient-related risk factors and differences in compound-related risk factors, for example, differences in the signaling pathways/molecules affected by the causative drug. Therefore, it is necessary for accurate prediction of idiosyncratic DILI development to evaluate both the patient-related risk factors and the compound-related risk factors considering the influence of gender differences. Establishment of this prediction method for idiosyncratic DILI development will provide measures to implement clinical management methods for idiosyncratic DILI risks; to avoid the administration of high-risk drugs and/or to detect the possibility of idiosyncratic DILI development at the very early stage. In the present study, we will proceed with the investigations from the two viewpoints; one is to establish biomarkers reflecting the patient-related risk levels (Part 1/3), and the other is to establish the assay system to evaluate the compound-related risk levels (Part 2).

Part 1/3 : In fiscal year 2016, we submitted the application to the institutional review board (IRB) in the Faculty of Medicine, the University of Tokyo and obtained approval of our clinical research plan. Subsequently, we constructed the weekly screening system for clinical test values of patients in the University of Tokyo Hospital to extract suspected cases of idiosyncratic DILI. After careful examination of the candidate patient records, we obtained written informed consent from each patient and collected serum samples. In addition, we have contracted with Japanese Red Cross Society to be provided with stored blood specimens of healthy subjects.

Part 2 : In fiscal year 2016, we have started to develop the assay system using human hepatocellular cell lines which enables the accurate evaluation of hepatocellular toxicity of compounds. As the first choice, we used HepaRG™ cells, which are often used for the evaluation of hepatic drug metabolisms in pharmaceutical companies. Based on the previous studies using rat primary hepatocytes, we set the experimental conditions largely promoting HepaRG cells sensitivity to the compound toxicity. We also modified the assay system to determine EC<sub>20</sub> values in addition to EC<sub>50</sub> values, since these values might be useful for further evaluations.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

本年度は該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

本年度は該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

本年度は該当なし

(4) 特許出願

本年度は該当なし