



研究領域1 生体リスク軽減に繋がる食生活環境に応じた機能タンパク分子の

産生制御活性を有する食品、生体成分の探索と評価法の研究

Identification of dietary compounds and factors regulating production of functional proteins associated with adaptability, and development of analytical methods for evaluation of the effects

菅谷 純子 Junko SUGATANI 薬学研究科医療薬学専攻生体情報分子解析学教室 教授

Professor, Laboratory of Clinical Molecular Cell Biology, Division of Clinical Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



Profile

2008年 静岡県立大学薬学部教授
 2007年 静岡県立大学薬学部准教授
 2002年 静岡県立大学薬学部助教
 2000年 米国立環境衛生研究所客員研究員
 1996年 静岡県立大学薬学部講師
 1984- 米国テキサス州立大学医学部客員研究員
 1986年 関西医科大学医学部講師
 1982- 1996年 関西医科大学医学部助手
 1975年 関西医科大学医学部助手
 1973年 大阪大学薬学部卒業

2008 Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka
 2002 Associate Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka
 2000 Guest Researcher, Pharmacogenetics section, Laboratory of Reproductive and Developmental Toxicology, National Institute of Environmental Health Sciences, NC, USA
 1996 Assistant Professor, Graduate School of Pharmaceutical Science, University of Shizuoka
 1984- Guest Scientist, Department of Biochemistry, University of Texas, Health Science Center at San Antonio, USA
 1982- 1996 Assistant Professor, Kansai Medical University
 1975 Research Associate, Kansai Medical University
 1973 Bachelor of Pharmaceutical Sciences, University of Osaka

Contact

T E L 054-264-5779
 +81-54-264-5779
 e-mail sugatani@u-shizuoka-ken.ac.jp
 U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/rinsho/

序論

近年、生活習慣病発症の危険因子である肥満症の増加が社会的問題となっていることから、本研究では栄養過多モデル動物の薬物代謝酵素/薬物トランスポーター発現レベルならびに薬物動態の変動、高脂肪食摂取が核内受容体を介した誘導機構に及ぼす影響を解析することにより、栄養過多に起因した生活習慣病患者が薬物を適正に使用するための基礎的成果を提供し、医薬品有害事象回避手法の開発とその臨床応用の基盤形成を目標とした。

成果

生活習慣病の原因ともなる肥満時における薬物の生体への影響を、脂肪肝を形成したラットを用いて検討した。高脂肪・高糖質食(HF)を3週間摂取させ脂肪肝を形成させたHF群では、フルバスタチン(8mg/kg/日)投与4日後より血清ASTレベルが上昇し、8日後には血清ALT、ASTレベルが顕著に上昇し、肝実質細胞の障害が増悪化するとともに、横紋筋融解症で特徴的な血中CKレベルの上昇、後肢骨格筋繊維の損傷が認められ死亡することを初めて見出した。処理4日目に、フルバスタチンの血中濃度が上昇し、その原因がフルバスタチンの肝取り込み、代謝、排出の変動に起因しているのか明らかにするために、普通食(SD)群、HF群における、薬物代謝酵素と薬物トランスポーターの発現におよぼすフルバスタチンの影響を解析した。フルバスタチンの代謝に関わる薬物代謝酵素(CYP2C、UGT1A3)の発現変動はあまり認められなかったが、フルバスタチンを肝実質細胞に取り込むトランスポーターOatp2の発現レベルが、HF群においてフルバスタチン投与後早期に顕著に低下しており、このことがフルバスタチンの血中濃度の増大を惹起し、肝実質細胞の障害を誘発し、重篤な副作用(横紋筋融解症)の発現に繋がったことを明らかにした。

また、ショ糖を原料に微生物由来イヌリン合成酵素により合成したイヌリン(以下合成イヌリン)によるHF食摂餌動物における脂肪組織、肝臓、血中脂質レベルの低下作用、脂肪肝の進展抑制効果を分子レベルで解析した。5%合成イヌリン含有HF食を3-12週間摂取させたラットでは、HF食摂餌による体重、血清、肝TGおよび総コレステロール含量の増大の抑制、門脈血グルコースレベルの増大の抑制、血清イヌリンレベルの増大の抑制、アディポネクチンレベルの低下の抑制、門脈血短鎖脂肪酸(プロピオン酸)レベルの低下の抑制がフルクトース重合度DP=16~17の合成イヌリン摂取時に最も効果的に見られた。合成イヌリン摂取により認められた抗肥満作用の生体内分子機構として、HF食摂餌下に発現亢進する脂肪酸合成酵素速酵素acetyl-CoA carboxylase mRNAならびに脂肪酸合成酵素fatty acid synthase mRNAレベルの抑制に起因していることを明らかにした。

展望

本研究の成果から、スタチンを用いた薬物療法において血中ASTレベルの測定が、脂肪肝患者におけるスタチンによる重篤な副作用である横紋筋融解症の防止に役立つことが示唆された。酵素合成によるイヌリンの、従来評価されている血糖上昇抑制作用などに加えて、肝障害発症防止効果等の新たな機能効果について検討することにより、新視点からのイヌリン摂取効果を評価でき、本研究の成果は生活習慣に伴う各種疾患の防止に寄与するサプリメント製品の開発にも繋がり、新たな効果を持つ機能性食品の開発を可能とするものである。

Introduction

The liver is the major site of clearance for most statins. Hepatic elimination involves metabolic enzymes and drug transporters. Impaired nutritional status, such as in starvation, fasting, and high-lipid diets, and pathophysiological factors such as diabetes reportedly affect liver drug-metabolizing phase I and II enzymes and transporters, leading to the altered hepatic metabolism of drugs, carcinogens, steroid hormones, and fatty acids. However, little is known about the role of nutrition in the adverse effects of statins. In the present study, we used rats fed a high-lipid and high-sucrose (HF) diet to investigate whether nutritional status affects statin-induced adverse effects such as severe hepatotoxicity and myopathy.

In addition, to elucidate whether dietary inulin prevents the development of metabolic disease, we examined the effects of inulin, enzymatically synthesized from sucrose, on serum and liver lipid profiles, blood biochemical variables and hepatic expression of lipid metabolism-related enzyme and transcription factor genes in rats fed the HF diet. Our ultimate aim was to elucidate whether dietary factors can prevent severe adverse effects of statin therapy and to develop convenient analytical methods for evaluation of the effects of functional factors and dietary compounds.

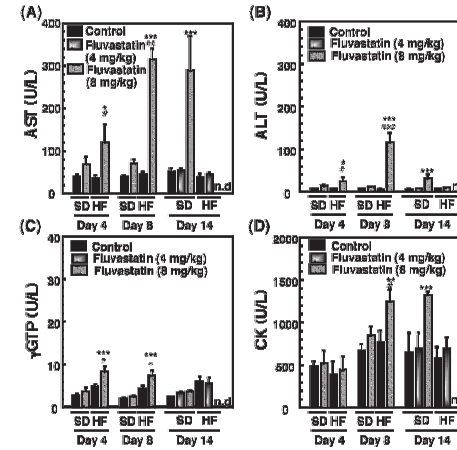
Results

Rats that consume an HF diet develop hepatic steatosis. Treatment with fluvastatin (8 mg/kg) ameliorates hypertriglyceridemia and hepatic steatosis in rats on standard (SD) diets, but causes increases in concentrations of plasma aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase, leg muscle weakness and myositis in those on HF diets. Fluvastatin at the concentrations that we found in the plasma of HF diet-fed rats causes release of AST from Chang liver cells and suppression of cell growth. Thus, we performed this study to determine whether the increase in systemic exposure resulted from suppression of uptake or metabolism of fluvastatin in the liver. We found no significant differences between SD and HF diet-fed groups in baseline concentrations of Oatp1, Oatp2, Mrp2, Mrp3, Mdr1b, CYP1A, CYP2C, CYP3A, UGT1A3, or UGT2B1 proteins. In contrast, Oatp1, Mrp3, CYP1A, CYP2C, and UGT2B1 protein concentrations were moderately decreased and those of CYP3A and Oatp2 mRNA markedly suppressed by fluvastatin, whereas Mrp2, Mdr1b, UGT1A1, and UGT1A3 protein concentrations did not change significantly. The amounts of constitutive androstane receptor, pregnane X receptor, and hepatocyte nuclear factor 4α proteins were decreased in the liver cell nuclei of fluvastatin-treated HF diet-fed rats, which correlated with decreases in Oatp2, CYP2C, and CYP3A. Taken together, these results indicate that nutritional status may influence the adverse effects of fluvastatin, and inhibition of transporter-mediated hepatic uptake in HF diet-fed animals may suppress elimination of fluvastatin.

Treatment with inulin for 3 weeks reduced the increase in liver concentrations of triacylglycerol and total cholesterol in rats fed the HF diet, but not in those fed the SD diet. Moreover, the concentrations of portal plasma propionate and circulating serum adiponectin, which are decreased in HF rats, recovered to nearly normal levels after administration of inulin. In addition, dietary inulin suppresses increases in concentrations of portal plasma insulin and circulating serum leptin and induction of acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthase mRNAs in the liver of HF rats, consistent with the reduction of liver lipids. These observations indicate that dietary inulin may prevent the development of metabolic disease.

Perspectives

This study provides clues to treating statin-induced liver failure associated with lipid accumulation, since fluvastatin increases serum AST concentrations in HF diet-fed rats and this precedes increases in serum CK concentrations and muscle damage. In order to prevent severe adverse effects in patients with hepatic steatosis, we should be alert to the warning sign of an increase in serum AST concentrations. In addition, dietary inulin is useful for preventing the development of metabolic diseases, such as hyperlipidemia and hyperinsulinemia caused by consuming an HF diet, by suppression of hepatic lipogenesis.

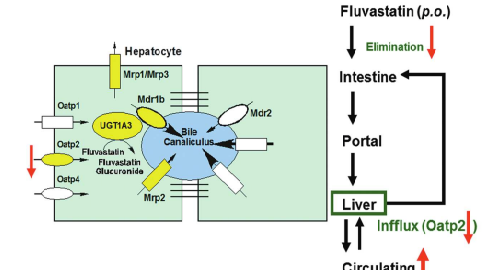


【図1】フルバスタチン副作用のバイオマーカーとなる血清因子の経時変化。高脂肪高糖質(HF)食を1週間摂取し脂肪肝を形成させたラットにフルバスタチン(8 mg/kg/日)を投与すると4日後より血清ASTレベルが上昇し、8日後には血清ALT、ASTレベルが顕著に上昇し、肝実質細胞の障害が増悪化するとともに、横紋筋融解症で特徴的な血中CKレベルが上昇する。普通食摂餌群と比べて#p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001。高脂肪高糖質摂餌群と比べて#p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 versus HF diet-fed control rats. n.d.: 未測定

【Figure 1】 Effects of fluvastatin treatment on serum concentrations of AST, ALT, α-guanosine-5'-phosphate (α-GTP), and creatine kinase (CK) in rats fed an SD or HF diet and administered fluvastatin. Rats (7 weeks of age) were fed an SD or HF diet for 1 week and then given fluvastatin (0, 4, or 8 mg/kg) with the diet daily. We killed the rats 4, 8, or 14 days after starting fluvastatin. Values are the mean ± S.E. (n = 4), *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 versus SD diet-fed control rats. #P < 0.05; ##P < 0.01; ###P < 0.001 versus HF diet-fed control rats. n.d., not determined.

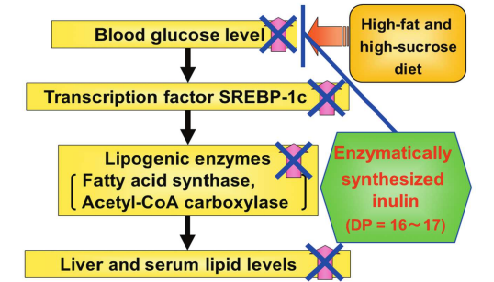
代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. Y. Yamazaki, T. Hashizume, H. Morioka, S. Sadamitsu, A. Ikari, M. Miwa, J. Sugatani: Diet-induced lipid accumulation in liver enhances ATP-binding cassette transporter g5/g8 expression in bile canaliculi. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 26, 442-50 (2011)
2. J. Sugatani, S. Sadamitsu, M. Kurosawa, S. Ikushiro, T. Sakaki, A. Ikari, M. Miwa: Nutritional status affects fluvastatin-induced hepatotoxicity and myopathy in rats. *Drug Metab. Dispos.* 38, 1655-1664 (2010)
3. J. Sugatani, M. Osabe, M. Kurosawa, N. Kitamura, A. Ikari, M. Miwa: Induction of UGT1A1 and CYP2B6 by an antimetabolic factor in HepG2 cells is mediated through suppression of cyclin-dependent kinase 2 activity: Cell-cycle dependent expression. *Drug Metab. Dispos.* 38, 177-186 (2010)
4. M. Osabe, J. Sugatani, T. Fukuyama, S. Ikushiro, A. Ikari, M. Miwa: Expression of hepatic UDP-glucuronosyltransferase IA1 and IA6 correlated with increased expression of the nuclear constitutive androstane receptor and peroxisome proliferators-activated receptor α in male rats fed a high-fat and high-sucrose diet. *Drug Metab. Dispos.* 36, 294-302 (2008)
5. J. Sugatani, M. Osabe, T. Wada, K. Yamakawa, Y. Yamazaki, T. Takahashi, A. Ikari, M. Miwa: Comparison of enzymatically synthesized inulin, resistant maltodextrin and clofibrate effects on biomarkers of metabolic disease in rats fed a high-fat and high sucrose (cafeteria) diet. *Eur. J. Nutr.* 47, 192-200 (2008)



【図2】フルバスタチンの肝実質細胞内への取り込みに関わる薬物トランスポーターOatp2の発現抑制がフルバスタチンの血中濃度を上昇させ、肝実質細胞の障害を誘発し、重篤な副作用(横紋筋融解症)を惹起する

【Figure 2】 Fluvastatin causes severe hepatotoxicity and myopathy in rats fed the HF diet and this is associated with suppression of hepatic organic anion transporting polypeptide 2.



【図3】高脂肪・高糖質食摂餌動物における酵素合成イヌリンによる脂肪合成酵素(脂肪酸合成酵素、アセチルCoAカルボキシラーゼ)の発現抑制を介した肝臓、血中脂質レベルの低下作用と脂肪肝進展抑制効果

【Figure 3】 Enzymatically synthesized inulin modulates hepatic and serum lipid accumulation through suppressing hepatic expression of lipogenic enzymes such as fatty acid synthase and acetyl-CoA carboxylase in rats fed HF diet.