

令和元年5月30日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08097

研究課題名(和文)腎不全に伴う抑制性中枢神経系の機能変調機構の解明と抗不安鎮静薬の個別化処方設計

研究課題名(英文) Mechanism underlying potentiated pharmacological effects of sedatives with renal failure

研究代表者

合葉 哲也 (AIBA, TETSUYA)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：00231754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：重症重篤病症例では、障害臓器以外でも組織の薬物感受性が変化して治療効果が変動する。本研究では、こうした感受性の変化機構の解明を目的に、抗不安鎮静薬の中枢抑制作用が腎障害に伴って増強するメカニズムを動物実験系により精査した。その結果、腎不全時には、薬物作用の発現に深く関与する神経細胞の塩素イオン輸送担体の発現量が減少して、神経細胞の塩素イオン調節機能の変調が生じ、これにより興奮性の神経刺激が強く抑制されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬物療法の個別化至適化は、患者疾病の迅速な回復と生活の質の向上に資することに加え、医療費や社会保障費の削減に帰することにおいて重要である。今回の研究成果は、薬物の治療効果が患者の全身状態の変化によって変動すること、そしてその変動が薬の標的部位の感受性変化に因ることを明らかにしたものである。薬物感受性の変化に応じて患者毎に治療薬の処方量を調節することで、これまで以上に効果的な薬物療法の個別化至適化の実施が可能である。

研究成果の概要(英文)：Pharmacological potency of therapeutic compounds alters in patients with severe disease, in which it is known that besides the affected organ, non-affected organs that are not immediately connected with the disease respond to therapeutic compounds in an altered manner. To clarify mechanism underlying the altered response, we examined the potentiation of the pharmacological effects of sedatives in rats with experimentally induced renal failure. It was demonstrated that the cerebral expression of chloride transporter protein alters with renal failure, suggesting that cellular regulation regarding chloride concentration alters with renal failure to allow the action potential in the nerve cells to be more effectively suppressed.

研究分野：臨床薬物動態学

キーワード：投与設計 個別化医療 腎不全 中枢神経系 PK/PD

1. 研究開始当初の背景

生体の内部環境の恒常性は、生体を構成する組織や臓器のすべてがそれぞれ適切に機能し、且つ協働することで維持されている。従って、疾病によって何れかの臓器が障害された場合、その影響は少なからず全身性に波及するが、現状の薬物療法では、こうしたひとつの臓器の障害が他の組織や臓器に及んで機能変化を起こすことを考慮していない。例えば、腎不全患者への薬物療法では、腎臓を排泄臓器とせず、肝臓で代謝消失を受けるような薬物選択が基本である。この基本の背景には、腎不全では肝代謝型薬物の血中濃度推移は変化せず、治療効果も変化しないとの認識が存在する。しかしその妥当性は疑わしい。実際、遮断薬のプロプラノロールは代表的な肝代謝型薬物であるが、その血中濃度は腎不全患者において著しく上昇すること、また、抗不安鎮静薬ジアゼパムの薬理作用は腎不全時に増強することが報告されている。このため、例えば腎不全患者の場合に、現行の薬物療法の基本に依って肝代謝型薬物を用いる場合でも、薬物の血中濃度推移と薬効発現の変化を的確に把握し、科学的根拠に基づく適切な薬物投与計画を立案することが不可欠である。しかし現時点では、投与計画立案の基盤になる科学的なエビデンスは存在せず、上述の腎不全患者における薬物濃度の上昇や薬効増強のメカニズムの理解も進んでいない。こうした現状から、腎不全のような臓器障害の影響が、肝臓や中枢神経系の機能にどのように及び、そしてその結果、薬物の血中濃度推移や標的組織の薬物感受性がどのように変動するかについてを詳細に解明し、よって薬物療法の基本指針を再構築することが希求されている。これまでのように臓器障害と薬物挙動の関係のみに注目するのではなく、患者の病状と全身状態を包括的に評価して、薬物療法の個別化至適化を図ることが、薬物治療学における喫緊の課題である。

腎不全時の薬物療法を適切に行う場合には、薬物の血中濃度の変動メカニズムの理解に加え、治療標的組織の薬物感受性の亢進もしくは減弱メカニズムを理解することが不可欠である。これらに関し研究代表者は、先ず先行研究において薬物血中濃度の変動メカニズムを精査し、既に認識されている腎不全時の尿毒症物質の血中レベル上昇に起因する薬物肝代謝の阻害に加え、消化管の薬物吸収率が腎不全に伴って増大することや、薬物代謝酵素の発現量が低下することを見出し報告してきた。また、治療標的組織における薬物感受性の変化については、腎不全に伴う側脳室脈絡叢の機能変化を先に解析しており、塩素イオンの輸送担体 NKCC1 の発現が腎不全時に増加することを見出している。神経細胞内の塩素イオン濃度は GABA 作動性抑制性神経細胞の活動電位に大きく影響することから、この知見は、腎不全に伴う中枢神経系の薬物感受性の変動に、神経細胞の塩素イオン濃度調節機構が深く関与することを示唆するものとなっている。

2. 研究の目的

腎不全に伴って著しい薬効変動が生じる抗不安鎮静薬を対象に、薬物の体内動態と標的部位の薬物感受性の変動機構を解明し、また得られた知見に基づいて、患者の病態や全身状態に応じた薬物療法の個別化至適化手法を確立する。

3. 研究の方法

本研究の目的は実臨床における薬物療法の個別化至適化の推進と普及にあるが、一連の研究のうちの基礎的部分については、非臨床的に実施することが、時間や費用、倫理的観点からも適当であると考えられる。他方、疾病状態が身体機能に与える変化を精査する場合、培養細胞系やタンパク質発現系に代表される極めて単純化された実験系では、重要な事象を意図せず見逃す可能性を否定できない。こうしたことから、今回は実験動物を用いる方法を主たる実験系として採用した。重症重篤病態に伴って組織の薬物感受性の変動するメカニズムの解明にあたり、先ずは適切な動物実験系の確立が必要である。研究代表者は、先行研究の中で幾つかの病態モデル動物を作成し確立してきているが、その経験を踏まえ、本研究では安定した病態状況を簡便に再現可能であるグリセロール誘発型急性腎不全モデルラットを重症重篤病態モデルとして選択した。

モデル薬物には中枢神経系作用薬のフェノバルビタールを用いた。フェノバルビタールについては、既に先行研究において、その薬理効果である中枢抑制作用が腎不全時に増強することが報告されている。なお、病態に伴う薬理効果の変動、特に薬物標的部位の感受性変化を評価し解析するためには、これに重なって観測される影響因子、即ち、薬物の血中濃度推移や組織移行動態の病態時変化に起因する薬理発現推移の変動を、適切に回避或いは排除することが必要となる。本研究では、フェノバルビタールの中枢抑制作用の評価において、脳室内直接投与法を用いることで、こうした問題の解決を図った。脳室内直接投与法は、脳室内に微小プローブを挿入し、微量薬液を継続的に脳室内に注入する手法である。この手法を用いることで、病態モデル動物で生じる薬物の体内挙動と組織移行性の変化を考慮して、中枢神経系における薬物濃度と薬理作用の関係を適切に評価することが可能である。フェノバルビタールの薬理効果は、痛覚消失を指標として評価した。即ち、ラット脳室内に薬物投与を開始した後、経時的にラット尾部先端をクリップで強く挟んで、その際の忌避行動の有無を観察し、忌避行動が消失した時点までに投与した薬物量を評価に用いた。これにより薬理効果の変動が認められた場合には、摘出脳組織から細胞膜分画を超速心法によって調製し、これを試料としてウエスタンブロッティングと免疫染色を行い、特定のタンパク質の脳中枢組織における発現量を評価した。

4．研究成果

脳室内直接投与法を用いてフェノバルビタールの中枢抑制作用発現に要する薬物量を比較評価したところ、腎不全ラットでは、対照群に比べ、著しく少ない薬物量で中枢抑制作用が発現することが示された。フェノバルビタールは、中枢神経系の GABA-A 受容体に作用して、この薬理効果を発現させることが知られている。このため次に、GABA-A 受容体に作用することなく、同様の中枢抑制作用を発揮するカルバミン酸エチルを用いて検討を行ったところ、腎不全群と対照群の比較において、薬効発現に必要な薬物量に差異は認められなかった。従って、腎不全に伴って中枢神経系抑制薬の薬理効果は増大するが、この増大は、GABA-A 受容体を作用標的とする薬物に特異的であることが明らかとなった。この一方で、腎不全ラットにおける大脳皮質の GABA-A 受容体の発現量を測定したところ、発現量は対照群に比べ低下していた。よって、腎不全時に観察されるフェノバルビタールの薬理作用の増大は、GABA-A 受容体の発現量変化には関係せず、GABA-A 受容体の機能的な変調が関係することが示唆された。GABA-A 受容体にフェノバルビタールが作用すると、内包する塩素イオンチャネルが開口し、神経細胞内に塩素イオンが流入する。このことから次に、神経細胞の塩素イオン調節機構に視点を移し、検討を進めた。神経細胞には GABA-A 受容体の他、塩素イオン輸送に携わる電解質輸送担体として NKCC1 及び KCC2 が存在している。そこで、腎不全ラット大脳皮質におけるこれらの発現量を評価したところ、NKCC1 発現量の変化は認められなかったものの、KCC2 発現量には低下が認められた。NKCC1 と KCC2 はそれぞれ塩素イオンの神経細胞への流入と神経細胞からの流出過程に関与している。従って、腎不全ラットでは、KCC2 の発現量低下によって、神経細胞内の塩素イオン濃度レベルが上昇している可能性が考えられた。これを裏付ける目的で、NKCC1 阻害剤ブメタニドの脳室内直接投与を行い、これにより惹起される硬直性痙攣の発現潜時を評価したところ、腎不全群の発現潜時の著しい延長が観察された。こうした一連の知見から、腎不全時に観察されるフェノバルビタールの薬理効果の増強は、次のようなメカニズムで因るものと考えられる。即ち、腎不全時には中枢神経細胞の塩素イオン輸送機構に機能変調が生じ、細胞内の塩素イオン濃度が高い水準で維持される。この場合に、GABA-A 受容体を介する塩素イオンの神経細胞への流入が生じると、通常より少ない流入量でも神経の活動電位の抑制が生じ、結果としてフェノバルビタールの薬理効果の増強が観察される。なお、腎不全時の KCC2 発現量変動機構については、続く検討において、その発現を調節する TrkB 受容体の発現量と受容体のリン酸化状態が、腎不全群でともに増加することを示す結果が得られている。これは、神経影響因子 BDNF が一連の薬理効果増強機構に関与することを示唆するものであり、興味深い。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

1)

査読有り)

Okada A, Suzuki K, Hara K, Kojina M, Aiba T. In vivo study on mechanism underlying increased pharmacological effects of phenobarbital in rats with glycerol-induced acute renal failure. Biol. Pharm. Bull. 42, 501-506, 2019. doi: 10.1248/bpb.b18-00659

2)

査読有り)

Hori Y, Shimizu Y, Aiba T. Altered hepatic drug-metabolizing activity in rats suffering from hypoxemia with experimentally induced acute lung impairment. Xenobiotica 48, 576-583, 2018. doi: 10.1080/00498254.2017.1349969

〔学会発表〕(計4件)

1)

鈴木啓一郎、岡田淳芳、原啓介、松本和也、神志那萌子、合葉哲也： 中枢神経抑制薬の麻酔作用に及ぼす末梢組織炎症の影響、第28回日本医療薬学会年会、2019

2)

神志那萌子、西脇あかね、鈴木啓一郎、藤本和貴、合葉哲也： 急性組織炎症病態における糖尿病治療薬ナテグリニドの体内動態と薬効解析、第28回日本医療薬学会年会、2019

3)

原啓介、岡田淳芳、合葉哲也： Alteration of the pharmacological effects of the CNS-acting compounds in rats with acute renal failure、第30回日本薬物動態学会年会、2015

4)

堀友紀、清水康正、合葉哲也： An increased hepatic drug metabolizing activity accompanied with experimentally induced lung impairment and hypoxemia in rats、第30回日本薬物動態学会年会、2015

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：北村 佳久

ローマ字氏名：Yoshihisa KITAMURA

所属研究機関名：岡山大学

部局名：大学病院

職名：准教授

研究者番号(8桁)：40423339

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。