

令和元年6月5日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08407

研究課題名(和文) 臨床症例に基づく抗てんかん薬の薬物相互作用発現様式の解明

研究課題名(英文) Mechanisms underlying clinical drug-drug interactions of antiepileptic drugs

研究代表者

賀川 義之 (Kagawa, Yoshiyuki)

静岡県立大学・薬学部・教授

研究者番号：90397505

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、抗てんかん薬のCYP3A4/5を介した相互作用の発現機序を解明することを目的として、血漿中4 β -hydroxycholesterol (4-OHC)濃度を指標に、薬物代謝に関与するタンパクの遺伝子多型の影響も考慮して検討した。酵素誘導能が大きい抗てんかん薬投与時の血漿中4-OHC濃度は、誘導能が小さい抗てんかん薬投与時に比べて約3.2倍有意に高値を示した。一方、CYP3A5*3およびPOR*28の遺伝子多型と血漿中4-OHC濃度には関連はみられなかった。以上より、酵素誘導剤はCYP3A4/5の代謝能を高めることで、併用する抗てんかん薬の血中濃度を低下させることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性てんかんでは抗てんかん薬の併用が必要となることが多い。これまで臨床的に抗てんかん薬併用時には薬物相互作用があり、併用薬の血中濃度が変動することが知られていた。酵素誘導剤では併用により併用薬の血中濃度低下することが報告されていたが、臨床的にその発現機序については不明であった。本研究では、4 β -hydroxycholesterolをプローブとして用いることで、酵素誘導剤とされるカルバマゼピンやフェニトンなどの抗てんかん薬がCYP3A系の酵素活性を増大させることを初めて明らかにした。本研究成果は、難治性てんかんと抗てんかん薬の併用時における治療効果を高める上で重要と考える。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate mechanisms underlying drug-drug interactions of antiepileptic drugs in epilepsy patients. We used plasma 4 β -hydroxycholesterol (4-OHC) concentration as a probe for the CYP3A activity. Administration of CYP3A inducers, such as carbamazepine or phenytoin, markedly increased plasma 4-OHC concentration up to 3.2-fold of those of non-inducer. Polymorphisms of CYP3A5*3 and POR*28 did not affect plasma 4-OHC concentration. These results indicated that a decrease in plasma concentrations of antiepileptic drugs was caused by the increased activity of CYP3A, but polymorphisms of CYP3A5*3 or POR*28 hardly influenced the CYP3A activity.

研究分野：臨床薬物動態学

キーワード：4 β -hydroxycholesterol antiepileptic drug enzyme induction CYP3A4

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

てんかんは、神経疾患の中で発症頻度が高いものの一つであり、我が国の人口の約 0.8%、約 100 万人の患者がいると推定されている。てんかんの治療の基本は抗てんかん薬 (AED) を用いた薬物療法であり、AED は発作の再発を防ぎ、さらに再発した際にも発作の重症度を軽減する効果がある。てんかんの薬物療法では単剤による導入を基本とするが、発作が十分に抑制されない場合は併用療法へと移行する。てんかんの治療期間は長期にわたることが多いため、薬物相互作用が顕在化しやすい。

AED は第一世代のフェニトイン (PHT)、フェノバルビタール (PB)、バルプロ酸ナトリウム、カルバマゼピン (CBZ)、クロバザム、スルチアムなどに加え、2006 年以降に登場した第二世代のラモトリギン、トピラマート、スチリペントール (STP)、レベチラセタムなどがあり、2013 年にはルフィナミドが発売されるなど、臨床で使用可能な薬剤は年々増加しつつある。AED には共通したいくつかの特徴がある。薬物動態学的にみると、AED は脂溶性が高く肝代謝型であり、また血漿蛋白結合率も高いものが多い。この特徴は代謝過程および分布過程における薬物相互作用と関連している。また薬理学的にみると、臨床効果が得られていることの証しは発作がないことであり、他に信頼性が高い代替薬理学的指標がない。さらに AED は、治療域が狭いものが多く、有効血中濃度を逸脱すると重篤な副作用を引き起こす危険性がある。PHT のように非線形の薬物動態を示し、少量の増量で中毒域に達するものがある。このような AED の薬物動態学的および薬理学的特徴から、日常診療では薬物血中濃度モニタリング (TDM) が実用化されており、定期的に薬物血中濃度を測定し、それに基づいて投与量を調整している。

薬物代謝酵素の誘導や阻害様式を解明する上で、肝細胞などの代謝酵素の mRNA 量が指標になることが知られている。しかし、ヒトでは深部臓器の生体組織を採取して mRNA 量を測定することは困難であり、代替指標を用いて代謝酵素活性を判断することが求められている。ヒトにおける CYP3A4/5 活性を測定するために数種の候補となる指標が報告されている。外因性のプローブ薬物としてミダゾラムやエリスロマイシンを投与する方法があるが、外因性薬物の投与は患者側に負担が大きく、臨床適用が制限される。内因性マーカーとして、血漿中 4 β -hydroxycholesterol (4-OHC) 濃度を用いる方法が報告されている。4-OHC はコレステロールの生体内代謝産物であり、外因性の薬物を投与する必要がなく利便性が高い。

2. 研究の目的

本研究では、AED の相互作用により生じる酵素誘導および阻害の発現様式を解明することで、てんかん治療成績の向上に資するため、内因性の代謝酵素マーカーを測定して CYP3A4/5 活性の変動を評価する。さらに、これらの研究で得られた結果に基づいて、薬物相互作用の影響を考慮した AED の新規投与法の開発を目指す。

3. 研究の方法

AED 服用患者から採取した血漿中 4-OHC 濃度の測定は、高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて行った。内部標準物質に 4 β -hydroxycholesterol-d7 を用いた。血漿中 4-OHC をアルカリでけん化した後、n-hexan を用いて液-液抽出し、減圧遠心下で有機相を蒸発させた後、LC-MS/MS 溶離液を加えて再溶解させ、光学異性体を分離可能なキラル分離カラムを装着した LC-MS/MS に注入した。なお、静岡てんかん・神経医療センターおよび静岡県立大学の研究倫理委員会の承認を得た後、患者の同意を得た上で研究を開始した。

4. 研究成果

今回開発した血漿中 4-OHC 測定法によって、4-OHC の鏡像体である 4 α -hydroxycholesterol を 4-OHC と明確に分離することに成功した。その上で、90 名の AED 服用患者の 108 血液検体を用いて血漿中 4-OHC 濃度を測定した。対象となった患者を (1) CYP3A4/5 を誘導する PHT、PB および CBZ の服用患者、(2) CYP3A を阻害する AED である STP の服用患者、(3) CYP3A4/5 の誘導および阻害作用を有さない AED の服用患者の 3 群に分類して CYP3A4/5 活性を評価した。血漿中 4-OHC 濃度と 4-OHC/総コレステロール濃度比は良好な相関を示したことから、以後は総コレステロール濃度で補正せず、血漿中 4-OHC 濃度を CYP3A4/5 活性の指標として用いた。誘導剤服用群、誘導剤および阻害剤非服用群、阻害剤服用群の血漿中 4-OHC 濃度 (mean \pm S.D.) は、それぞれ 275.2 \pm 156.6 ng/mL、86.5 \pm 37.68 ng/mL および 86.2 \pm 46.98 ng/mL であり、誘導剤服用群は誘導剤非服用群と比較して 3.2 倍有意に高い血漿中 4-OHC 濃度を示した。また、CBZ および PHT 服用患者における血漿中 4-OHC 濃度は薬剤の用量依存的に増加することが明らかになり、投与量あたりの誘導能を算出したところ両剤ともほぼ同等であった。次に、CYP3A5*3 および POR*28 遺伝子多型と血漿中 4-OHC 濃度との関係を検討した。CYP3A5*3 および POR*28 は、4-OHC の体内動態に有意な影響を与えなかった。

以上より、AED 併用時に、CYP3A4/5 の基質となる AED の血漿中濃度が変動する原因は、CYP3A4/5 活性の変動によることが明らかになった。実臨床での投与量を勘案すると、CBZ がより強力な CYP3A4/5 阻害作用を有することが示唆された。また、CYP3A4/5 活性に及ぼす影響は、Genetic factor よりも Non-genetic factor の方が大きいと考えられる。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (計 10 件)

1. Yoshiaki Yamamoto, Naotaka Usui, Takuji Nishida, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai,

- Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Effect of CYP Inducers/Inhibitors on Topiramate Concentration: Clinical Value of Therapeutic Drug Monitoring. *Therapeutic Drug Monitoring*, 39, 55-61, 2017
2. Yoshiaki Yamamoto, Kiyohito Terada, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Influence of antiepileptic drugs on serum lipid levels in adult epilepsy patients. *Epilepsy Res*, 127, 101-106, 2016.
 3. Yoshiaki Yamamoto, Naotaka Usui, Takuji Nishida, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Therapeutic Drug Monitoring for Perampanel in Japanese Epilepsy Patients. *Ther Drug Monit*, 39, 446-449, 2017.
 4. Masaki Tashiro, Takafumi Naito, Yoshiyuki Kagawa, Junichi Kawakami. Influence of cytochrome P450 genotype on the plasma disposition of prochlorperazine metabolites and their relationships with clinical responses in cancer patients. *Ann Clin Biochem*, 55, 385-393, 2017.
 5. Yoshiaki Yamamoto, Naotaka Usui, Takuji Nishida, Miho Mori, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Influence of renal function on pharmacokinetics of antiepileptic drugs metabolized by CYP3A4 in a patient with renal impairment. *Ther Drug Monit*, 40, 144-147, 2018.
 6. Motoaki Ishikawa, Michiyasu Kawai, Toshio Maeda, Yoshiyuki Kagawa. Prediction of neutrophil reduction using plasma paclitaxel concentration after administration in patients with uterine, ovarian, or cervical cancers in an outpatient clinic. *Cancer Chemother Pharmacol*, 81, 399-411, 2018.
 7. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, Asako Horino, Naotaka Usui, Takuji Nishida, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Influence of Inflammation on the Pharmacokinetics of Perampanel. *Ther Drug Monit*, 40, 725-729, 2018.
 8. Yoshiaki Yamamoto, Naotaka Usui, Takuji Nishida, Miho Mori, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Influence of renal function on pharmacokinetics of antiepileptic drugs metabolized by CYP3A4 in a patient with renal impairment. *Ther Drug Monit*, 40, 144-147, 2018.
 9. Tomoka Fushimi, Tomonobu Uchino, Yasunori Miyazaki, Ichiro Hatta, Miyuki Asano, Hiyori Fujino, Rie Suzuki, Shun Fujimori, Daichi Kamiya, Yoshiyuki Kagawa. Development of phospholipid nanoparticles encapsulating 3-O-cetyl ascorbic acid and tocopherol acetate (TA-Cassome) for improving their skin accumulation. *Int J Pharm*, 548, 192-205, 2018.
 10. Tomonobu Uchino, Sayaka Kato, Ichiro Hatta, Yasunori Miyazaki, Tomonori Suzuki, Kohta Sasaki, Yoshiyuki Kagawa. Study on the drug permeation mechanism from flurbiprofen-loaded glyceryl monooleyl ether-based lyotropic liquid crystalline nanoparticles across the skin: Synchrotron X-ray diffraction and confocal laser scanning microscopy study. *Int J Pharm*, 555, 259-269, 2019.

[学会発表] (計 12 件)

1. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Therapeutic monitoring for topiramate in patients with refractory epilepsy. 第 50 回日本てんかん学会, 2016.10.8 (静岡市.)
2. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Inhibitory effect of stiripentol on pharmacokinetics of clobazam in patients with Dravet syndrome. American Epilepsy Society Annual Meeting, 2016.12.2 (Houston, 米国).
3. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, Kiyohito Terada, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Use of antiepileptic drugs and risk of dyslipidemia: a large-scale cross-sectional study. 11th Asia Oceania Epilepsy Congress, 2016.5.13 (Hong Kong, 中国).
4. 榊原綾海, 山本吉章, 小尾智一, 前田利男, 谷澤康玄, 賀川義之. Donepezil 薬物動態と遺伝子多型との関連性. 日本薬学会第 137 年会, 2017.3.25 (仙台市).
5. Yoshiyuki Kagawa, Ayami Sakakibara, Tomokazu Obi, Yoshiaki Yamamoto. Relationship between blood disposition of donepezil and development of BPSD (behavioral and psychological symptom of dementia) in patients with dementia. 12th China-Japan International Symposium on Health Sciences, 2017.2.10 (Hangzhou, 中国).
6. 鈴木利昌, 山本吉章, 小尾智一, 石橋由美子, 谷澤康玄, 賀川義之. 認知症患者の QOL 改善を目的とした Memantine の PK-PD 解析. 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会, 2017.11.26 (鈴鹿市).
7. 飯塚美帆, 石井康子, 江川仁美, 長江優吾, 加藤純, 酒井直樹, 竹原誠也, 池谷延房, 中島重紀, 賀川義之. パルプロ酸の体内動態に及ぼす個体間差要因に関する研究. 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会, 2017.11.26 (鈴鹿市).
8. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue. Risk factors for hyponatremia in Japanese patients with epilepsy. 13th China-Japan International Symposium on Health Science, 2018.11.15 (静岡市).
9. 禾本 大樹, 山本 吉章, 谷澤 康玄, 賀川 義之. 内因性 CYP3A 活性を指標とした抗てんかん薬の薬物間相互作用発現様式の解明. 医療薬学フォーラム 2018 第 26 回クリニカルファー

マシーシンプोजウム, 2018.6.23(東京都).

10. Hiroki Nogimoto, Yoshiaki Yamamoto, Yasuharu Yazawa, Yoshiyuki Kagawa. Drug interaction study among antiepileptic drugs using plasma 4 β -hydroxycholesterol as an endogenous biomarker. 第23回 静岡健康・長寿学術フォーラム, 2018.11.16 (静岡市)
11. Satoru Nagumo, Yasuharu Yazawa, Yoshiyuki Kagawa. Determination of N-acetylglucosamine concentration in plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. 第23回 静岡健康・長寿学術フォーラム, 2018.11.16 (静岡市)
12. 賀川 義之. 内因性 CYP3A 活性指標を用いた抗てんかん薬の薬物間相互作用発現機序の解明. 中部乳酸菌研究会, 2018.11.29 (静岡市).

(図書)(計 3 件)

1. 吉尾 隆, 鍋島俊隆, 渡辺泰裕, 早勢伸正, 賀川義之, 大井一弥, 丸山徹, 渡辺朋子, 野田幸裕, 本屋敏郎, 松尾和廣, 高村徳人, 唯野貢司, 加藤裕芳 編. visual core pharma 薬物治療学 第7版, 南山堂, 2018.
2. 川西正祐, 小野秀樹, 賀川義之 編. 図解 薬害・副作用学 改訂2版, 南山堂, 2018.
3. 吉尾 隆, 鍋島俊隆, 渡辺泰裕, 早勢伸正, 賀川義之, 大井一弥, 丸山徹, 渡辺朋子, 野田幸裕, 本屋敏郎, 松尾和廣, 高村徳人, 唯野貢司, 加藤裕芳 編. visual core pharma 薬物治療学 第8版, 南山堂, 2019.

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 山本 吉章

ローマ字氏名: Yamamoto Yoshiaki

所属研究機関名: 独立行政法人国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター

部局名: 臨床研究部

職名: 治験管理室主任

研究者番号(8桁): 60596245