

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790151
 研究課題名 (和文) 腎不全患者における薬物体内動態擾乱因子の探索と薬物適正使用法の確立
 研究課題名 (英文) Search for disturbance factor on pharmacokinetics and establishment of the methods of the rational use of drug in the patients with renal failure
 研究代表者
 辻本 雅之 (TSUJIMOTO MASAYUKI)
 京都薬科大学・薬学部・助教
 研究者番号：90372739

研究成果の概要 (和文)：腎不全患者において、腎排泄能力のみならず肝代謝などの腎外排泄能力も変動していることが知られつつある。本研究では、腎不全患者における高血圧治療薬ロサルタン[®]の腎外排泄能力低下に、腎不全患者で蓄積しているインドキシル硫酸及びパラクレゾールによる肝代謝の阻害が関与していることを明らかにした。また、腎不全患者における高脂血症治療薬プラバスタチン[®]の腎外排泄能低下に消化管に発現する輸送担体の発現低下が関与することを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：In the patients with renal failure, it is known that the patients are decreasing not only renal clearance but also non-renal clearance. This study suggested that the decrease in non-renal clearance of antihypertensive drug losartan was induced by the inhibition of hepatic metabolism by uremic toxins, indoxyl sulfate and p-cresol. In addition, this study suggested that the decreased in non-renal clearance of lipid-lowering drug pravastatin was induced by the suppression of intestinal efflux transporter.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：薬物動態・代謝学, 腎不全

1. 研究開始当初の背景

現在、本邦において末期腎不全患者である人工透析施行患者は、増加の一途を辿っており、2006年末には26万人に達している(2009年末に29万人)。腎不全患者は、貧血・血圧

異常・心血管障害及び神経障害などの合併症が認められるため、その薬物療法には、よりの確な投与設計が求められている。腎不全患者の治療には、肝消失型薬物が頻用されるも

の、腎不全患者においては、キニーネ (*Eur J Clin Pharmacol* 49:497-501, 1996)、ロサルタン (*Clin Pharmacokinet* 38:519-526, 2000)、プラバスタチン (*Eur J Clin Pharmacol* 53:117-121, 1997) に代表される肝消失型薬物の腎外クリアランスも変動する。以上のことから、透析患者を含む腎不全患者においては、腎機能正常患者とは全く異なる体内動態を示すことは明白である。しかしながら、透析患者と腎機能正常患者の腎排泄過程以外の薬物動態の違いに関する情報は明らかに不足しており、そのことが、透析患者に対する薬物の適正使用を困難にしているのが現状である。

薬物動態学的相互作用に目を移すと、腎機能正常患者と腎不全患者では、その起こり方・危険度等で大きな違いが認められる。例えば、腎機能正常患者では、併用注意程度の軽微な相互作用であるジゴキシン-クラリスロマイシンの相互作用は、腎不全患者では、ジゴキシンの血中濃度が4倍にも上昇するという致死的な相互作用を産み出してしまふ (*Int J Clin Pharmacol Ther* 43:30-36, 2005)。また、研究代表者は、腎機能正常患者では認められない『フェキソフェナジン併用によりジゴキシン血中濃度が劇的に低下する』という透析患者2症例を見出している (論文投稿中⇒*医療薬学* 34: 252-255, 2008)。これらの相互作用は、肝消失・消化管分泌を中心とするジゴキシンの腎外クリアランスの変化に伴って生じていると考えられる。

よって、これらの事実を考え合わせると、腎不全患者における薬物体内動態は、単に腎排泄の廃絶のみを想定するのではなく、腎外クリアランスの変化にも目を向ける必要が考えられる。腎不全患者では、インドキシル硫酸及び3-Carboxy-4-methyl-5-propyl-

2-furanpropan acid (CMPF) などの尿毒症物質が体内に高濃度で蓄積している事が知られている (*J Pharmacol Exp Ther* 278:786-792, 1996)。これらは、蛋白結合率が高いため人工透析でも除去されにくいのが特徴である。また、Sunら (*Drug Metabol Dispos* 32:1239-1246, 2004) は、ラットにおいて、CMPFが、エリスロマイシンの有機アニオン輸送ポリペプチド (Oatp) 1a4を介した肝取り込みを阻害すること、CMPF及びインドキシル硫酸が、エリスロマイシンのCytochrome P450 (CYP) 3aを介した肝代謝過程を阻害することを報告している。これらは、尿毒症物質が、肝消失過程において肝取り込みトランスポーター及び薬物代謝酵素を阻害することにより薬物の肝クリアランスを低下させる可能性を示唆するものである。また、慢性腎不全ラットにおいて、肝取り込みトランスポーターOatp1の発現が抑制されることも報告されている。よって、これらの発現抑制により薬物の肝クリアランスが低下している可能性も考えられる。この発現低下に尿毒症物質が関与しているのか、また、尿毒症物質同様に尿毒症患者で高濃度に蓄積しているTNF-alpha及びIL-6などの炎症性サイトカインが関与しているのかは現在のところ不明である。いずれにしても、このような情報は、動物レベルでは散見されるものの、ヒトにおける情報は皆無である。また、腎不全患者の薬物動態学的相互作用の情報も明らかに不足している。よって、今後、腎不全患者における体内動態データを網羅的に収集・解析し、腎機能正常者との違いを把握すること、また、その違いが生じているメカニズムについて詳細に解き明かすことは、腎不全患者の薬物適正使用を行うために不可欠である。

2. 研究の目的

腎不全患者の薬物適正使用を推進するために、腎不全患者における腎外クリアランスに及ぼす末期腎不全患者血清並びにその成分である尿毒症物質の影響について検討する。また、腎不全患者特有の相互作用と考えられるジゴキシン-フェキソフェナジンの相互作用メカニズムについて明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ヒトミクロソームにおける薬物代謝に及ぼすヒト透析患者血清及び尿毒症物質の影響

ヒトミクロソームにおける薬物代謝に及ぼすヒト透析患者血清（除蛋白・濾過滅菌）の影響について検討を加える。透析患者血清中に高濃度で含まれている尿毒症物質（CMPF、インドキシル硫酸、インドール酢酸、パラクレゾール、馬尿酸）についても阻害実験も行い、その原因物質を同定する。

(2) ヒト肝培養細胞およびヒト消化管培養細胞における各種薬物の取り込みに及ぼすヒト透析患者血清の影響

肝における薬物取り込みトランスポーターであるOATP1B1、OATP1B3及びOAT2の発現が確認できているHep3B細胞を用いて、各種薬物の肝取り込みに及ぼすヒト透析患者血清及び尿毒症物質存在時の取り込み阻害実験を行う。また、消化管のモデル細胞であり、取り込みトランスポーターOATP2B1や排出トランスポーターMDR1及びMRP2の消化管トランスポーターが豊富に発現しているCaco-2細胞を用いて、薬物の消化管輸送に及ぼすヒト透析患者血清及び尿毒症物質の影響について検討を加える。

(3) ヒト肝培養細胞及びヒト消化管培養細胞への透析患者血清処置による影響

透析患者における薬物体内動態の変動が、薬物代謝酵素および薬物トランスポーターの発現誘導・発現抑制に起因している可能性が考えられる。よって、Hep3B細胞及びCaco-2細胞に透析患者血清を処置することにより、それら蛋白質のmRNA発現変動を観察する。また、それに伴う機能変化についても代謝実験・輸送実験により評価する。発現変動が認められた遺伝子については、その原因物質の特定のため、透析患者血清中に高濃度で含まれている尿毒症物質やサイトカイン（TNF-alpha、IL-6、IL-1beta）処置による発現変動も併せて検討する。

4. 研究成果

(1) ロサルタンの代謝クリアランスに及ぼす透析患者血清の影響

ヒト肝ミクロソームにおける、ロサルタンの代謝クリアランスは、10%透析患者血清存在下において10%健常者血清存在下の31%まで有意に低下した。また、いくつかの尿毒症物質が、ロサルタンの代謝クリアランスを濃度依存的に低下させた（図1）。

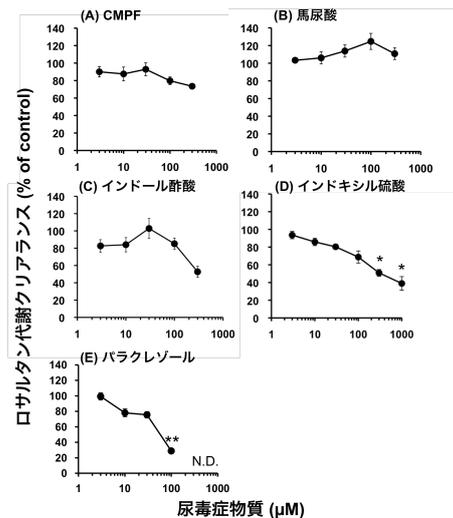


図1 ヒトミクロソームにおけるロサルタン代謝に及ぼす尿毒症物質の影響

平均値±標準誤差 (n=3, 4)
*p<0.05, **p<0.01 vs. control (Dunn's test)

特に、インドキシル硫酸及びパラクレゾールは、透析患者の血中遊離型濃度付近でも阻害した。さらに重要なことに、10%透析患者血清中と同等の濃度である20 μMのインドキシル硫酸及びパラクレゾールを溶解した10%健常者血清は、10%透析患者血清と同等の阻害強度を示した(図2)。

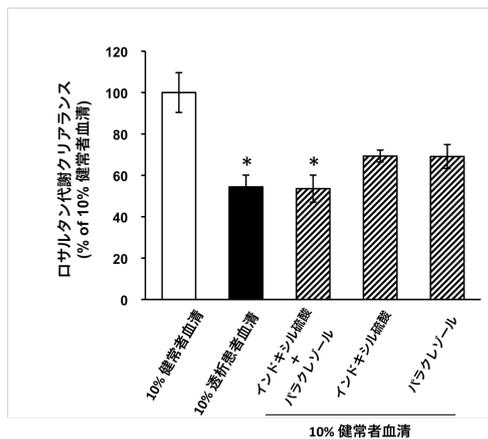


図2 ヒトブロードミクロソームにおけるロサルタン代謝に及ぼす健常者血清中のインドキシル硫酸及びパラクレゾールの影響
平均値±標準誤差 (n=3, 4)
*p<0.05 vs. 10%健常者血清 (Dunn's test)

以上の結果から、透析患者で認められるロサルタンの腎外クリアランスの低下は、インドキシル硫酸及びパラクレゾールによるロサルタン代謝の低下に起因することが示唆された。

(2) プラバスタチンの腎外クリアランスに及ぼす透析患者血清の影響

ヒト消化管上皮細胞モデル Caco-2 細胞におけるプラバスタチンの蓄積は、10%透析患者血清の同時処置または前処置により有意に増大した(図3)。

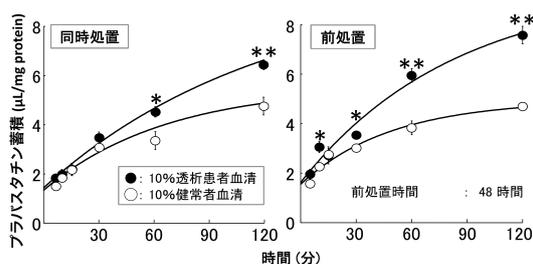


図3 ヒト小腸モデル細胞におけるプラバスタチン蓄積に及ぼす透析患者血清の影響
平均値±標準誤差 (n=3-4)
*p<0.05, **p<0.01 vs. 10% 健常者血清 (Student's t-test)

また、10%透析患者血清の前処置により、プラバスタチンの消化管分泌に関与している多剤耐性関連タンパク質 (MRP) 2 mRNA 発現が有意に低下した。従って、透析患者で認められるプラバスタチンの腎外クリアランスの低下は、一部、消化管の MRP2 発現抑制並びに消化管分泌の阻害による消化管クリアランスの低下が関与することが示唆された。

一方、ヒト肝細胞モデル Hep3B 細胞の場合、透析患者血清の同時処置は、プラバスタチンの初期取り込みクリアランスに影響しなかった。しかしながら、透析患者血清を前処置することにより、プラバスタチンの初期取り込みクリアランスは、有意に低下した(図4)。

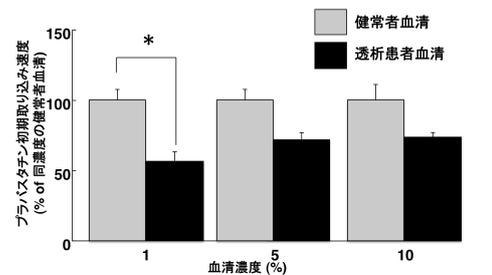


図4 ヒト肝モデル細胞におけるプラバスタチン初期取り込み速度に及ぼす透析患者血清の影響
平均値±標準誤差 (n=3-4)
*p<0.05, vs. 健常者血清 (Tukey-Kramer's test)

その結果に対応して、透析患者血清の前処置は、プラバスタチンの肝取り込みトランスポーターとして知られている有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1B1 mRNA の発現を有意に低下させた。以上の結果から、肝 OATP1B1 発現の抑制もまた、プラバスタチンの腎外クリアランスの低下に関与している可能性が示唆された。

(3) 透析患者におけるジゴキシン-フェキソフェナジン相互作用の機構解明

フェキソフェナジン及び透析患者血清の単独処置は、Caco-2 細胞へのジゴキシン取り込みに影響しなかったものの、透析患者血清単独処置は、MDR1 mRNA 発現量を有意に増加し、

その基質であるローダミン123の取り込み量を有意に低下させた。一方で、フェキソフェナジン及び透析患者血清の同時存在下では、ジゴキシンの取り込み量は有意に低下し、それは、取り込み速度の抑制に起因することが示された(図5)。

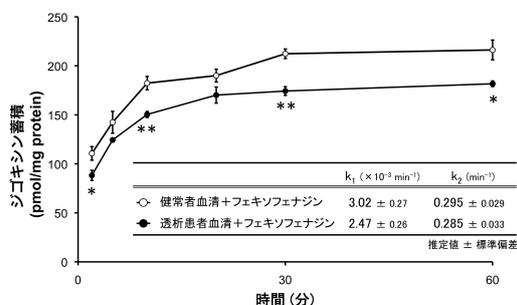


図5 ヒト小腸モデル細胞におけるジゴキシン蓄積に及ぼす透析患者血清及びフェキソフェナジン共存の影響
平均値 ± 標準誤差 (n=4)
*p<0.05, ** p<0.01 vs. 健康者血清+フェキソフェナジン (Student's t-test)

また、フェキソフェナジン共存下のみジゴキシンの取り込みを阻害するという同様の現象が、インドキシル硫酸+フェキソフェナジン処置時、並びにCMPF+フェキソフェナジン処置時においても認められた(図6)。

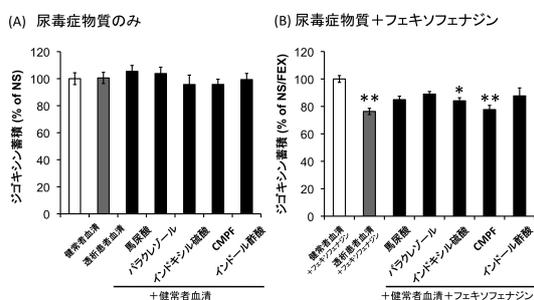


図6 ヒト小腸モデル細胞におけるジゴキシン蓄積に及ぼす尿毒症物質及びフェキソフェナジン共存の影響
平均値 ± 標準誤差 (n=4)
*p<0.05, ** p<0.01 vs. 健康者血清+フェキソフェナジン (Tukey-Kramer test)

従って、透析患者におけるフェキソフェナジン併用によるジゴキシンの血中濃度低下メカニズムとして、透析患者特有の体内物質とフェキソフェナジンとの協同作用によるジゴキシンの消化管吸収低下が関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① 辻本雅之, 4. 透析患者における腎外クリアランスの変動-第54回日本透析医学会シンポジウムより-. 日本透析医学会雑誌, 43, 46-48 (2010).
- ② Tsujimoto M, Higuchi K, Shima D, Yokota H, Furukubo T, Izumi S, Yamakawa T, Otagiri M, Hirata S, Takara K, Nishiguchi K, Inhibitory effects of ureamic toxins 3-indoxyl sulfate and p-cresol on losartan metabolism. *J Pharm Pharmacol*, **62**, 133-138 (2010).

[学会発表] (計8件)

- ① 辻本雅之ら, ジゴキシンの肝取り込みに及ぼす透析患者血清とフェキソフェナジンとの協同作用. 日本薬学会第130年会(岡山), 2010. 3. 28-30.
- ② 横田人士, 辻本雅之ら, 慢性腎不全時に生じるプラバスタチンの腎外クリアランス低下に及ぼす中部小腸Oatp2b1の関与. 難病克服を目指した分子基盤創薬科学の開拓成果発表会(京都), 2010. 3. 15.
- ③ 志摩大介, 辻本雅之ら, 末期腎不全患者特有の現象であるフェキソフェナジン併用時のジゴキシン血中濃度低下に対する消化管吸収過程の関与. 難病克服を目指した分子基盤創薬科学の開拓成果発表会(京都), 2010. 3. 15.
- ④ Daisuke Shima, Masayuki Tsujimoto etc., Mechanism for decreased digoxin concentration by fexofenadine in hemodialysis patients. 24th JSSX Annual Meeting in Kyoto, 2009. 11. 27-29.
- ⑤ 横田人士, 辻本雅之ら, 慢性腎不全モデルラットにおける薬物トランスポータ

一の組織特異的な発現変動. 医療薬学フォーラム 2009/第 17 回クリニカルファーマシーシンポジウム (京都), 2009. 7. 11-12.

- ⑥ 辻本雅之, 透析患者における腎外クリアランスの変動; シンポジウム 13「透析における薬物投与の問題点」. 第 54 回日本透析医学会学術集会・総会 (横浜), 2009. 6. 5-7.
- ⑦ Masayuki Tsujimoto etc., The influence of uremic serum and uremic toxins on intestinal and hepatic excretion of pravastatin. International Symposium on Integrated Medicinal Science - On the basis of traditional medicine to biomolecular system - (Kyoto), 2008. 12. 13
- ⑧ 辻本雅之ら, プラバスタチンの消化管及び肝消失に対する透析患者血清及び血清成分の影響. 第 2 回日本腎と薬剤研究会・学術大会 (熊本), 2008. 12. 6-7.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻本 雅之 (TSUJIMOTO MASAYUKI)

京都薬科大学・薬学部・助教

研究者番号: 9 0 3 7 2 7 3 9