

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790605

研究課題名(和文)ナドロールを用いた薬物トランスポーターを介する薬物相互作用のインビボ評価法の確立

研究課題名(英文)Development of in vivo evaluation method for drug transporter-mediated drug interactions using nadolol

研究代表者

三坂 眞元(Misaka, Shingen)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：10583635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：遮断薬ナドロールの体内動態に関与しうる薬物トランスポーターを同定するとともに、ナドロールが薬物トランスポーターを介する薬物相互作用の新たなインビボ指標薬となりうるかを検討した。ナドロールは複数の薬物トランスポーターの基質となり、臨床試験からはそれら薬物トランスポーターの阻害薬と併用することでナドロールの体内動態が顕著に変動することが明らかとなった。特に緑茶はナドロールの吸収を著しく阻害し、血中濃度および薬効を減弱させることがヒトにおいて初めて示された。これらの知見から、ナドロールが薬物トランスポーターのインビボ指標薬として有用であると共に、緑茶飲用に起因する新たな薬食相互作用が示された。

研究成果の概要(英文)：We investigated 1) whether nadolol is a substrate of drug transporters and 2) whether nadolol could be a novel in vivo probe drug for the evaluation of drug transporter-mediated drug interactions. In vitro experiments revealed that nadolol is a substrate of some drug transporters such as organic anion transporting polypeptide 1A2. In addition, we demonstrated for the first time that green tea ingestion markedly reduced plasma concentrations of nadolol as well as its blood pressure lowering effect in healthy volunteers. These findings indicate 1) the usefulness of nadolol as an in vivo probe drug for drug transporters, and 2) possible food-drug interactions caused by green tea.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：薬物トランスポーター ナドロール 薬食相互作用 薬物間相互作用 臨床試験 緑茶

## 1. 研究開始当初の背景

薬物トランスポーターは薬物代謝酵素とともに薬物の体内動態、薬効ならびに副作用発現に関与する。そのため、新薬候補化合物に関しては薬物トランスポーターの基質となるか、または阻害・誘導作用を有するか否かの検討、さらに既存の薬物では薬物トランスポーターを介した薬物相互作用や有害事象の予測ならびに起こし得る場合においてはその臨床的意義の評価は重要な課題である。現在、臨床において薬物トランスポーターを介した薬物相互作用の評価法は十分に確立されていない。その理由として、各薬物トランスポーターの輸送活性を *in vivo* で評価する際の指標となる薬物が限られていること、またこれまでに報告されている指標薬においても複数の薬物トランスポーターの基質となるものが多いこと、などが挙げられる。これらの問題を解決するために新たな指標薬の探索が試みられているが個々の薬物トランスポーターに対して最適な *in vivo* 活性指標薬は未だ見出されていない。

薬物トランスポーターの *in vivo* 活性指標薬となるための条件としては、標的となる薬物トランスポーターの基質であるのみならず、ヒト生体内で薬物代謝酵素による代謝反応を受けないことが肝要である。さらに長期間臨床で使用されていて、安全性や忍容性が確認されている薬物が適している。

近年、種々の  $\beta$  アドレナリン受容体遮断薬について有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1A2 を介した細胞への取り込みを *in vitro* で調べた研究により、親水性かつ非選択的  $\beta$  遮断薬のナドロールが OATP1A2 の基質となることが報告された。また、ナドロールは *in vitro* において P-糖タンパク質 (P-gp) により細胞外へ排出されることも示唆されている。さらに、ナドロールは生体内において代謝を受けずに主に尿中へと排泄されること、これまで長い間臨床で使用されており安全性が確かめられていることから、上記薬物トランスポーターに対する新たな *in vivo* 活性指標薬となる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究ではナドロールに着目し、種々の薬物トランスポーターの基質となるかを詳しく調べ、薬物トランスポーターを介する薬物相互作用における *in vivo* 活性指標薬となり得るかを基礎および臨床試験により検討し、新たな *in vivo* 評価法を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) ナドロールの細胞輸送を担う薬物トランスポーターの同定

Human embryonic kidney (HEK) 293 細胞に OATP 分子種として、OATP1A2、OATP1B1、OATP1B3 および OATP2B1、また有機カチオントランスポーター (OCT) 分

子種として、OCT1 および OCT2 を発現させた細胞系を用いた。各細胞系においてナドロールの細胞内輸送を調べた。

(2) ラットにおけるナドロールと薬物トランスポーター阻害または誘導薬との相互作用の検討

SD 系雄性ラットに P-gp 阻害薬としてイトラコナゾール、P-gp 誘導薬としてデキサメタゾン、Oatp 阻害薬としてナリンギンを処置した後、ナドロールを経口投与した。投与後、24 時間までナドロール血中濃度および尿中排泄量を測定した。

SD 系雄性ラットに緑茶抽出物 (GTE) または主要な緑茶カテキンであるエピガロカテキンガレート (EGCG) を処置した後、ナドロールを経口投与した。投与後 24 時間までの血漿中および尿中ナドロール濃度は HPLC により定量した。

(3) ヒトにおけるナドロールと薬物トランスポーター阻害または誘導薬との相互作用の検討

文章同意を得られた健常男性 10 名を対象にランダム化オープン 4 期クロスオーバー法で行い、休薬期間は 2 週間とした。被験者はプラセボ、イトラコナゾール、リファンピシンおよびグレープフルーツジュースの 4 群に分けられ、ナドロールの経口投与量は 30 mg とした。プラセボ群において被験者はナドロールと水 (300 mL) を同時に服用した。イトラコナゾール群では、ナドロールとイトラコナゾール (100 mg) を水と共に同時に服用した。リファンピシン群では、リファンピシン (450 mg/日) をナドロール投与の前日まで 6 日間連日服用し、試験日はナドロールのみを水と共に服用した。グレープフルーツジュース群では、ナドロールとグレープフルーツジュース (300 mL) を同時に服用した。ナドロール投与後 48 時間まで経時的に採血、脈拍数・血圧測定および蓄尿を行った。ナドロール血漿中濃度および尿中排泄量は HPLC を用いて測定し、薬物動態パラメータを算出した。

文章同意を得られた健常成人 10 名を対象にランダム化オープン 2 期クロスオーバー法で行い、休薬期間は 2 週間とした。被験者は緑茶または水 (700 mL/日) を 2 週間連日服用し、15 日目にナドロール (30 mg) を緑茶または水 (350 mL) と共に服用した。さらに服用 30 分後に緑茶または水を 350 mL 飲用した。ナドロール投与後 48 時間まで経時的に採血、脈拍数・血圧測定および蓄尿を行った。ナドロール血漿中濃度および尿中排泄量は HPLC を用いて測定し、薬物動態パラメータを算出した。

## 4. 研究成果

(1) ナドロールの細胞輸送を担う薬物トランスポーターの同定

ナドロールはOATP1A2、OCT1およびOCT2の基質であることが明らかとなった。一方、ナドロールはOATP1B1、OATP1B3およびOATP2B1によって輸送されなかった。またOATP1A2を介したナドロールの細胞内取り込みは、OATP1A2阻害剤であるナリンギン、BSP、ペラパミル、EGCGおよび緑茶によって有意に阻害された。

(2) ラットにおけるナドロールと薬物トランスポーター阻害または誘導薬との相互作用の検討

ナドロールの最高血漿中濃度 ( $C_{max}$ ) および血漿中濃度 - 時間曲線下面積 (AUC) はイトラコナゾールの前投与により、コントロールに比べてそれぞれ 1.7 倍および 2.4 倍有意に増加した。また ICZ 投与群では NDL の尿中排泄量の増加および脈拍数の顕著な減少が認められた。DEX 投与群では NDL の  $C_{max}$  および AUC はコントロールと比較し、それぞれ 0.7 倍減少および 1.5 倍増加した。ナリンギン投与群において、ナドロールの  $C_{max}$  および AUC はコントロール群との間に差異は認められなかった。ラットにおいて P-gp 阻害は NDL の体内動態および薬効を顕著に変動させること、またナリンギンはナドロールの体内動態に影響しないことが示唆された。

ナドロールの  $C_{max}$  および AUC は GTE および EGCG 前投与により、対照群に比べ有意に低下した。さらに、GTE および EGCG 前投与はナドロールの尿中排泄量を減少させたが、消失半減期には影響しなかった。これらの結果はラットにおいて緑茶カテキン類、特に EGCG はナドロールの体内動態を著しく変動させることを示唆した。またその機序として、緑茶カテキンがナドロールの小腸からの吸収を阻害することが考えられた。

(3) 臨床試験

健康成人男性において、イトラコナゾールの併用はナドロールの  $C_{max}$ 、AUC および尿中排泄量を対照群に比べ有意に増加させた。加えて、ナドロールによる降圧作用は収縮期・拡張期血圧ともにより顕著に現れた。一方、リファンピシンの併用はナドロールの AUC を低下させ、かつ消失半減期を減少させる傾向がみられた。また、グレープフルーツジュースの併用はナドロールの AUC を対照群に比べわずかに減少させたものの、脈拍数や血圧には対照群との間に差異はみられなかった。これらの結果より、ナドロールとイトラコナゾールを併用した場合、ナドロールの血中濃度が上昇し、さらにナドロールの降圧作用が増強されることが示唆された。この薬物相互作用の機序として、イトラコナゾールが小腸上皮細胞にける P-gp を介したナドロールの排出を阻害することが考えられる。

健康成人において、緑茶の併用は、ナド

ロールの  $C_{max}$ 、AUC および尿中排泄量を対照群に比べ顕著に低下させた。一方、ナドロールの腎クリアランスは変化しなかった。ナドロール収縮期血圧低下作用は緑茶の併用によって有意に減弱した。これらの結果および(1)の in vitro 実験より、緑茶とナドロールの相互作用は、緑茶カテキンが小腸におけるナドロールの吸収を阻害することによって引き起こされたことが示唆された。ナドロールの吸収を担うトランスポーターをしては OATP1A2 の関与が示唆されたものの、今後、他の薬物トランスポーターについてもナドロールの輸送に関与するか検討が必要と考えられる。

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6件)

Shingen Misaka, Junichi Yatabe, Fabian Müller, Kozue Takano, Hartmut Glaeser, Midori S. Yatabe, Satomi Onoue, José P. Werba, Hiroshi Watanabe, Shizuo Yamada, Martin F. Fromm, Junko Kimura. Response to “effect of green tea with exceptionally high catechin content on nadolol plasma concentration. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2014, 95 (6): 589, 査読有.

Shingen Misaka, Junichi Yatabe, Fabian Müller, Kozue Takano, Keisuke Kawabe, Hartmut Glaeser, Midori S. Yatabe, Satomi Onoue, José P. Werba, Hiroshi Watanabe, Shizuo Yamada, Martin F. Fromm, Junko Kimura. Green tea ingestion greatly reduces plasma concentrations of nadolol in healthy subjects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2014, 95 (4): 432-438, 査読有.

Shingen Misaka, Fabian Müller, Martin F. Fromm. Clinical relevance of drug efflux pumps in the gut. *Current Opinion in Pharmacology*, 2013, 13:847-852, 査読有.

Shingen Misaka, Nozomu Miyazaki, Tetsuhito Fukushima, Shizuo Yamada, Junko Kimura. Effects of green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate on pharmacokinetics of nadolol in rats. *Phytomedicine*, 2013, **20** (14): 1247-1250, 査読有.

Shingen Misaka, Nozomu Miyazaki, Midori S. Yatabe, Tomoyuki Ono, Yayoi Shikama, Tetsuhito Fukushima, Junko Kimura. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction of nadolol with itraconazole, rifampicin and

grapefruit juice in healthy volunteers. *Journal of Clinical Pharmacology*, 2013, **53** (7): 738-745, 査読有.

Nozomu Miyazaki, Shingen Misaka, Hiroshi Ogata, Tetsuhito Fukushima, Junko Kimura. Effects of itraconazole, dexamethasone and naringin on the pharmacokinetics of nadolol in rats. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2013, **28** (4): 356-361, 査読有.

〔学会発表〕(計8件)

Shingen Misaka, Fabian. Müller, Hartmut Glaeser, Jörg König, Martin F. Fromm. Influence of a green tea catechin on organic anion transporting polypeptide 1A2-mediated nadolol transport. 20th International Symposium on Microsomes & Drug Oxidations, May 18-22, 2014, Stuttgart, Germany.

Shingen Misaka, Fabian. Müller, Hartmut Glaeser, Jörg König, Martin F. Fromm. Role of organic anion transporting polypeptide 1A2 and 2B1 in cellular uptake of nadolol. 11th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics, August 28-31, 2013, Geneva, Switzerland.

Shingen Misaka, Nozomu Miyazaki, Junichi Yatabe, Keisuke Kawabe, Kozue Takano, Tomoyuki Ono, Satomi Onoue, Tetsuhito Fukushima, Hiroshi Watanabe, Shizuo Yamada, Junko Kimura. Effects of chronic consumption of green tea on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of nadolol in healthy volunteers. 113th American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics Annual Meeting, March 14-17, 2012, National Harbor, Maryland.

三坂 眞元, 宮崎 希, 川邊 圭祐, 山田 静雄, 木村 純子. Effects of green tea and catechins on the pharmacokinetics of nadolol in rats. 第85回日本薬理学会年会, 2012年3月14-16日, 京都.

Shingen Misaka, Nozomu Miyazaki, Midori Yatabe, Hiroshi Ogata, Tomoyuki Ono, Yayoi Shikama, Junko Kimura. Effects of itraconazole, rifampicin and grapefruit juice on the pharmacokinetics of nadolol in healthy volunteers. 10th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics, June 26-29, 2011, Budapest, Hungary.

宮崎 希, 三坂 眞元, 谷田部 緑, 尾形 浩, 小野 委成, 色摩 弥生, 福島 哲仁, 木村

純子. 健常人においてイトラコナゾール、リファンピシン、グレープフルーツジュースがナドロールの体内動態および薬効に与える影響. 第32回日本臨床薬理学会年会, 2011年12月1-3日, 浜松.

宮崎 希, 三坂 眞元, 木村 純子. ラットにおいてナドロールの薬物動態と薬効に及ぼすナリンギン、イトラコナゾールおよびデキサメタゾンの影響. 第62回日本薬理学会北部会, 2011年9月29日, 仙台. 三坂 眞元, 宮崎 希, 谷田部 緑, 川邊 圭祐, 尾形 浩, 尾上 誠良, 山田 静雄, 木村 純子. Effects of itraconazole, dexamethasone and grapefruit juice on the pharmacokinetics of nadolol in rats. 第84回日本薬理学会年会, 2011年3月22-24日, 横浜.

〔図書〕(計2件)

Shizuo Yamada, Yuko Taki, Shingen Misaka, Takashi Okura, Yoshiharu Deguchi, Keizo Umegaki, Hiroshi Watanabe, Yasuo Watanabe and Margot Skinner. Chapter 4, Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Interaction of Functional Foods with Medicines. Bioactives in Fruit: Health Benefits and Functional Foods, p59-80, [Margot Skinner and Denise Hunter eds.], Wiley-Blackwell (July, 2013). ISBN: 978-0-470-67497-0.

Shizuo Yamada, Shingen Misaka, Yoshihiko Ito, Hiroshi Watanabe, Keizo Umegaki. Effects of Natural Products on Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Drugs. Pharma-Nutrition, AAPS Advances in Pharmaceutical Sciences Series 12, [Gert Folkerts and Johan Garssen eds.], Springer (July, 2014). ISBN: 978-3-319-06151-1

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

<http://www.fmu.ac.jp/home/yakuri/top-index/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三坂 眞元 (MISAKA SHINGEN)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号: 10583635