

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2016

課題番号：24590184

研究課題名(和文) 成長過程や身体機能の変化に伴う薬物体内動態変動要因の検索

研究課題名(英文) Research of Change in Pharmacokinetics Related with Age and/or Physical Function

研究代表者

石崎 純子 (ISHIZAKI, JUNKO)

金沢大学・薬学系・准教授

研究者番号：60401890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：抗真菌薬ポリコナゾールが小児で成人より高い投与量が必要な理由についてラットを用いて調べた。その結果、薬物代謝酵素のフラビン含有モノオキシゲナーゼ(FMO)活性が幼若期で高いことが理由であることを明らかにした。一方、胆汁中に排泄された薬を再利用する働き(腸肝循環)の寄与は成長に伴って発達するため、腸肝循環を受ける薬物間の相互作用は成熟ラットで強く現れることがわかった。

以上、成長に伴うFMO活性や腸肝循環の変動が薬物体内動態や薬物間相互作用を変動させる知見を得た。

研究成果の概要(英文)：In vivo kinetics of voriconazole was found to depend on the age in human and rats. From this research with rats, the high activity of flavin-containing monooxygenase at immature stages contributed to this age-related alteration of voriconazole pharmacokinetics. On the other hand, because the capacity of enterohepatic circulation progress with growth, the drug-drug interaction related to enterohepatic circulation at mature stages is more strongly than at immature stages.

研究分野：医療薬学

キーワード：成長過程 薬物代謝 腸肝循環 ポリコナゾール ミコフェノール酸 バルプロ酸 メトトレキサート
薬物動態

1. 研究開始当初の背景

移植治療の進歩に伴い小児から高齢者まで幅広い患者集団に対して移植が行われているが、その成功の鍵は「いかに感染や拒絶反応を防ぐか？」である。抗真菌剤ポリコナゾール (VRCZ) および免疫抑制剤ミコフェノール酸 (MPA) は、それぞれ、移植後の感染および拒絶反応防止に有効な医薬品として臨床で汎用されている。しかし、これらの薬剤は個体間・個体内変動が大きく、従来の常識とは異なる使い方を要する。申請者が実際に患者の血中濃度モニタリング (TDM) を行った結果、VRCZ は成人より小児で投与量を増やす必要があった。MPA でも同様に、成人に比較して小児で高い投与量が必要であり、さらに、肝機能低下時に投与量を増やす必要があった (伊藤, 石崎ら, 医療薬学 36: 213, 2010)。しかし、この原因が不明なため、TDM による慎重な管理に基づく投与設計を行うしか対策が無かった。

申請者は VRCZ が小児で高い投与量が必要な原因を明らかにするためにラットを用いて基礎実験を行った結果、この要因が薬物の代謝過程の差であること、また、代謝酵素の中でも、誘導や阻害を受けないとして医薬品開発でも注目され始めたフラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO) 活性によることを示唆する結果を得た。

一方、MPA の動物実験の結果から、MPA の動態変動は、腸肝循環 (EHC) の寄与が成長に伴って発達するためであること、MPA を胆汁中に輸送する薬物トランスポーター Mrp2 の発現あるいは機能が成長に伴って完成されることを示唆する結果を得た。

以上より、個体間・個体内変動が大きく、かつ、従来の常識とは異なる使い方を要する医薬品は、成長過程や身体機能の変動、例えば、薬物トランスポーターや代謝酵素などが変化するため臨床使用が難しいのではないかと考え、本研究を着手するに至った。

2. 研究の目的

個体間・個体内変動が大きく、従来の常識とは異なる使い方を要する VRCZ, MPA について、成長過程や身体機能の変化に伴う体内動態変動要因を解明し、これに派生する臨床使用上の問題点を明確化する。さらに、臨床使用上、同様な問題のある医薬品をスクリーニングし、調査・研究することで、類薬も含めた適正使用情報、さらに、医薬品開発にも役立つ情報発信を目指す。

3. 研究の方法

動物実験では、Wistar 系雄性ラット (幼若群として 4 週齢、成熟群として 12 週齢) を用いた。

(1) VRCZ の体内動態変動

ラット肝ミクロソーム (RLM) における VRCZ の代謝への FMO の関与
RLM を調整し、FMO の基質であるベンジダミンを用いて FMO 活性を調べた。また FMO の特異的阻害剤であるメチマゾール (MTZ) 存在下での VRCZ の代謝阻害効果を週齢間で比較した。

In vivo での各種代謝酵素阻害の影響

VRCZ (10 mg/kg) 静脈内投与後の血漿中濃度推移を、各種代謝酵素を阻害した条件下で比較した。FMO 阻害剤として MTZ, CYP3A2 阻害剤としてケトコナゾールを用いた。

(2) MPA とシクロスポリン (CsA) との相互作用のラット週齢間での比較

MPA (5 mg/kg) 静脈内投与後の血漿中濃度推移、および、胆汁・尿中排泄におよぼす CsA の影響を比較した。胆汁排泄は胆管カニューレ処置 (BDC) ラットで、尿中排泄は非処置 (NT) ラットで評価した。

(3) バルプロ酸 (VPA) と CsA との相互作用

ヒトでの検証

臨床試験

金沢大学附属病院情報システムを用いて 2009 年 7 月 1 日 ~ 2011 年 3 月 31 日の期間に VPA の TDM が実施された患者を抽出した。電子カルテより患者情報、VPA の投与量と TDM 結果、各種臨床検査値、併用薬および CsA 併用の有無を調査した。

本試験は金沢大学医学倫理審査委員会の承認を得て実施した (審査番号: 1224)。

タンパク結合実験

ヒト血清に最終濃度 100 $\mu\text{g/mL}$ の VPA を添加し 37 $^{\circ}\text{C}$ 、1 時間インキュベート後の総および遊離形 VAP 濃度を測定し、遊離形分率を算出した。CsA (200, 2000 mg/mL) 共存下で同様に算出した。

動物実験

VPA (VPA-Na として 75 mg/kg) 静脈内投与後の血漿中濃度推移におよぼす CsA の影響を比較した。

(4) メトトレキサート (MTX) とグリチルリチン酸 (GZ) との相互作用

臨床試験

金沢大学附属病院情報システムを用いて 2008 年 4 月 1 日から 2013 年 3 月 31 日の期間に MTX の TDM が実施された患者を抽出した。電子カルテより患者情報、MTX の投与量・投与方法および血漿中濃度、各種臨床検査値および併用薬を調査した。MTX 投与

後 24, 48, 72 時間後のいずれかの時間において血漿中濃度が基準値以上の患者を排泄遅延群とした。正常群, 排泄遅延群で医薬品ごとに併用された割合を算出した。

本研究は金沢大学医学倫理審査委員会の承認を得て実施した(承認番号: 1539)。

動物実験

12 週齢ラットを用いて, MTX 50 mg/kg を腹腔内投与後の血漿中濃度推移および尿中排泄におよぼす GZ の影響を調べた。BDC 処置ラットに MTX を定速静注し, MTX 定常状態下で GZ を静脈内投与し, 経時的に採血および胆汁を採取した。

4. 研究成果

(1) VRCZ の体内動態変動

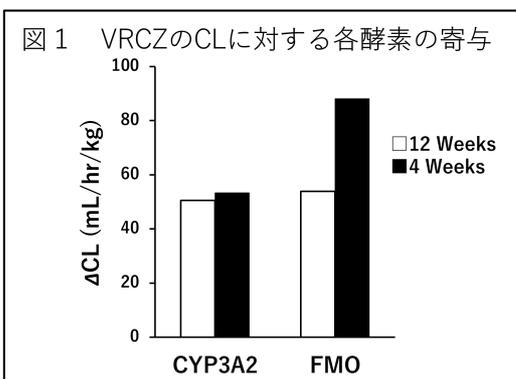
RLM における VRCZ の代謝への FMO の関与

ラットの FMO 活性は 12 週齢より 4 週齢で高いこと, ヒトと同様に VRCZ の代謝には FMO が関与することがわかった。さらに, 12 週齢に比較して 4 週齢では FMO 阻害の影響を受けやすいことが示唆された。

In vivo での各種代謝酵素阻害の影響

VRCZ 血漿中濃度推移は, いずれの週齢でも各種代謝酵素阻害剤併用により有意に上昇し, VRCZ の代謝には CYP3A2 や FMO が関与し, これらの酵素阻害により VRCZ のクリアランス(CL)が低下することがわかった。

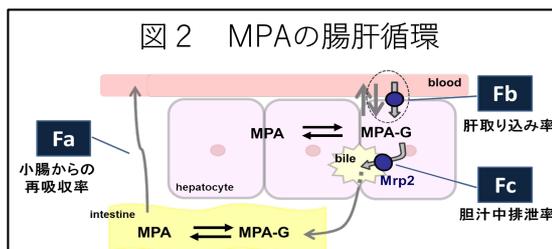
VRCZ 単独投与時の CL と各種阻害剤併用時の CL の差(ΔCL)を各酵素の寄与として週齢間で比較した結果, CYP3A2 の寄与は週齢間で差が見られなかったが, FMO の寄与は 4 週齢では 12 週齢の 1.6 倍と大きかった(図 1)。



これらのことから, ラットにおける VRCZ の週齢間の動態の違いは FMO 活性の差が一因であることがわかった。FMO は薬物間相互作用を誘発する危険性は低い, 小児から成人までの幅広い年齢層に投与される医薬品の場合は, 成長過程で動態変動する可能性があることがわかった。

(2) MPA と CsA との相互作用のラット週齢間での比較

MPA の体内動態は 4 週齢より 12 週齢で CsA により強く影響を受けたが, CsA の胆汁排泄阻害は週齢間で同程度であった。EHC 率は, 消化管からの再吸収率(F_a), 循環血から肝臓への取り込み率(F_b), 肝臓から胆管への胆汁排泄率(F_c)の積で表せる(Tes FLS, et al., J Pharmacokinet Biopharm 10: 455, 1982)(図 2)。



また, EHC 率は, NT 群と BDC 群の血中濃度-時間曲線下面積(AUC)の差より算出され, これらの関係は次式で表せる。

$$\begin{aligned} \text{EHC 率} &= F_a \cdot F_b \cdot F_c \\ &= (\text{AUC}_{\text{NT}} - \text{AUC}_{\text{BDC}}) / \text{AUC}_{\text{NT}} \\ \text{AUC}_{\text{NT}} &: \text{NT 群での AUC,} \\ \text{AUC}_{\text{BDC}} &: \text{BDC 群での AUC} \end{aligned}$$

この式を用いて算出した EHC 率と関連するパラメータを算出した(表 1)。

表 1 腸肝循環率と関連するパラメータ

	4 Weeks		12 Weeks	
	Control	CsA	Control	CsA
腸肝循環率(%)	1.56	—	21.0	12.3
$F_a \cdot F_b$	0.0323	—	0.374	0.379
F_c	0.529	0.272	0.571	0.324

この結果, 12 週齢のラットで EHC 率が高い要因は $F_a \cdot F_b$ によることがわかった。ここで, F_a は週齢差が無いとされていることより(Lindahl A, et al., Pharm Res, 14: 1278, 1997), MPA の体内動態の週齢差は, EHC のうち F_b , すなわち, 血中から肝臓への取り込みの差に由来することが示唆された。

4 週齢では CsA 併用時の NT 群と BDC 群の AUC がほぼ等しく EHC 率, $F_a \cdot F_b$ は算出不能であった。しかし, F_c の結果および 12 週齢での比較より, CsA による EHC 阻害は主に胆汁排泄によるが, この阻害効果に週齢差が無いことがわかった。さらに, MPA の体内動態や CsA との相互作用の週齢差は, MPA の循環血中から肝臓への取り込みの差が関与する可能性があり, 関係するトランスポーターなどを視野に入れて, さらに検討を行っていく。

(3) VPA と CsA との相互作用

MPA は主に移植患者に使用されるため症例数が限定される。そこで、MPA と同様に EHC を受け、かつ、臨床で抗てんかん剤として汎用され TDM が日常的に行われているバルプロ酸 (VPA) を用いて、MPA と同様の傾向が得られるかについて検討した。

ヒトでの検証

調査対象期間における VPA の TDM 件数は 1434 件 (60 症例)、うち解析対象件数は 988 件 (408 症例) で、CsA 併用件数は 45 件 (4 症例) であった。

CsA 併用患者では対照群に比べ VPA の C/D 比の低下傾向がみられた。また、個体内で CsA が中断・再開された 1 症例では、CsA の中断により VPA の C/D 比が上昇し、再開により低下していた。一方、CsA の存在下で VPA の遊離形分率は変動しなかった。

しかし、CsA 併用患者は 4 症例と小数で、かつ、他の併用注意薬が併用されている症例も含まれるため CsA のみによる影響とは断定できなかった。

動物実験

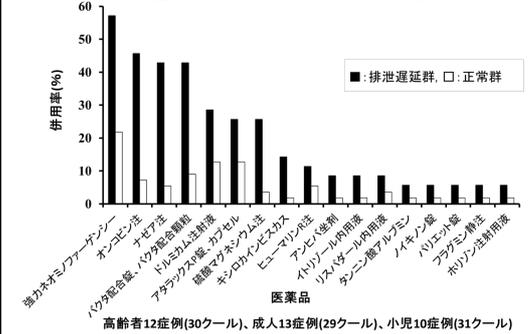
12 週齢では、CsA 併用により VPA の血漿中濃度が有意に低下し、全身クリアランスは 1.8 倍に有意に増加したが、4 週齢では、CsA 併用による変動はみられなかった。すなわち、VPA でも MPA と同様に、CsA 併用による体内動態変動が週齢間で異なり、12 週齢で CsA の影響を強く受けることがわかった。

(4) MTX と GZ との相互作用

臨床試験

MTX 大量療法 (HD-MTX) 施行患者 (35 症例、90 クール) での各医薬品の併用率のうち、排泄遅延群の併用率が正常群の 2 倍以上の医薬品を示す (図 3)。

図 3 HD-MTX療法施行時における排泄遅延群と正常群での併用薬の比較



排泄遅延群の併用率が 40% 以上の医薬品 4 剤のうち、添付文書に記載がないものは 3 剤で、

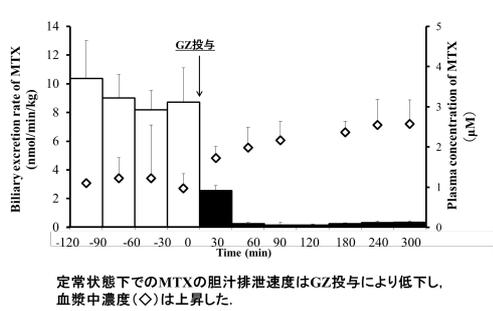
文献調査の結果、強力ネオミノファーゲンシー® (主成分 GZ) とオンコピン® (ピンクリスチン) が MTX と相互作用することで MTX の排泄を遅延させる可能性が示唆された。

動物実験

GZ 併用により、MTX 腹腔内投与後 8 時間までの MTX の血漿中濃度が有意に上昇し、全身 CL は 1/2 と有意に低下した。一方、腎 CL は GZ 併用によりコントロール群の約 1.5 倍と有意に上昇し、血漿中濃度の上昇と矛盾する結果が得られた。

一方、MTX を持続点滴静注した定常状態下では GZ 投与により MTX の胆汁への排泄が著しく阻害され、血漿中濃度は上昇した (図 4)。

図 4 GZによるMTXの胆汁排泄への影響



定常状態下での MTX の胆汁排泄速度は GZ 投与により低下し、血漿中濃度 (◇) は上昇した。

電子カルテによる調査、および、ラットでの結果より、ヒトでも MTX の排泄遅延に GZ の併用が関与することが強く示唆された。

以上、成長に伴う FMO 活性や EHC 能の変動が薬物体内動態や薬物間相互作用の影響を変動させる知見を得た。本研究での臨床試験は全て後方視的試験であったためヒトでの検証には至らなかった。しかし、動物実験結果より、仮説を強く支持する結果が得られており、今後、これらの結果に基づいた臨床試験を実施して、臨床での適正使用の指標となる情報を発信していきたい。

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 5 件)

石崎純子, 臨床能力の維持・向上を目指した薬学教育・臨床研究への取り組み, 薬学雑誌, 137(1), 9-12 (2017) 査読有

URL:

https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/137/1/137_16-00220-2/pdf

Itai S., Suga Y., Hara Y., Izumi K., Maeda Y., Kitagawa Y., Ishizaki J., Shimada T., Mizokami A., Sai Y., Co-administration of dexamethasone

increases severity and accelerates onset day of neutropenia in bladder cancer patients on methotrexate, vinblastine, adriamycin and cisplatin chemotherapy: a retrospective cohort study, J. Pharm. Health Care Sci., (2017) 3:3, 査読有
DOI: 10.1186/s40780-016-0072-5
Ishizaki J., Tsuda T., Suga Y., Ito S., Arai K., Sai Y., Miyamoto K., Change in pharmacokinetics of mycophenolic acid as a function of age in rats and effect of coadministered amoxicillin/clavulanate, Biol. Pharm. Bull., 35(7), 1009-1013 (2012), 査読有
URL:
<http://dSPACE.lib.kanazawa-u.ac.jp/dSPACE/bitstream/2297/31994/1/PH-PR-ISHIZAKI-J-1009.pdf>

〔学会発表〕(計 11 件)

北川佳奈, 石崎純子, 菅 幸生, 崔 吉道, 松下 良: ミコフェノール酸とシクロスポリンとの相互作用に関する研究 - ラット週齢間での比較 -, 日本薬学会第 137 年会, 仙台国際センター他(宮城県・仙台市), 2017 年 3 月 27 日

石崎純子: 臨床能力の維持・向上を目指した薬学教育・臨床研究への取り組み, 日本薬学会第 136 年会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), 2016 年 3 月 27 日

中野智尋, 石崎純子, 北川佳奈, 三坂 恒, 菅 幸生, 崔 吉道: メトトレキサートとグリチルリチン酸との相互作用の検討, 第 25 回日本医療薬学会年会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), 2015 年 11 月 21 日

石崎純子, 河辺志帆, 菅 幸生, 崔 吉道: ポリコナゾールの体内動態に関する研究 - ラット週齢間での比較 -, 日本薬学会第 135 年会, 神戸学院大学他(兵庫県・神戸市), 2015 年 3 月 26 日

守作美咲, 石崎純子, 東 夏宵, 菅 幸生, 崔 吉道: シクロスポリン A によるバルプロ酸の体内動態への影響, 第 24 回日本医療薬学会年会, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市), 2014 年 9 月 28 日

守作美咲, 石崎純子, 東 夏宵, 河辺志帆, 菅 幸生, 荒井國三, 崔 吉道, 宮本謙一: シクロスポリン A によるバルプロ酸血清中濃度への影響, 第 22 回日本医療薬学会年会, 朱鷺メッセ他(新潟県・新潟市), 2012 年 10 月 28 日

〔その他〕

アウトリーチ活動

石崎純子: 医療チームで取り組む医薬品開発 - 治験コーディネーター(CRC)として治験にかかわって -, 石川県在名企業産業交流研究会, 平成 26 年度会員要望企画(第 3 回)「機械産業と育薬人材」の先端産業研修会, 石川四高記念文化交流館(石川県・金沢市), 2014 年 12 月 22 日,

石崎純子: 科学的根拠に基づく薬物療法の構築のために - 「育薬」研究の実際と「問題発見」のセンス -, 石川県在名企業産業交流研究会, 平成 26 年度 第 3 回特別企画「女性力事業」の先端産業研修会, 石川四高記念文化交流館(石川県・金沢市), 2014 年 8 月 22 日,

石崎純子: 「大学での医療系薬学教員」・「大学病院での薬剤師」の仕事 - 病院での薬剤師の仕事を中心に -, 職業理解講座, 富山県立高岡高校(富山県・高岡市), 2014 年 7 月 26 日

石崎純子: 医療現場の薬剤師 - 病院での薬剤師の仕事を中心に -, 「職業理解講座」富山県立高岡高校(富山県・高岡市), 2012 年 7 月 21 日

ホームページ情報

<http://www.p.kanazawa-u.ac.jp/lab/joho.html>

<http://www.p.kanazawa-u.ac.jp/~druginfo/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石崎 純子 (ISHIZAKI JUNKO)

金沢大学・薬学系・准教授

研究者番号: 60401890

(2) 研究分担者

崔 吉道 (SAI YOSHIMICHI)

金沢大学・大学病院・教授

研究者番号: 40262589

(3) 連携研究者

菅 幸生 (SUGA YUKIO)

金沢大学・薬学系・助教

研究者番号: 00467101