

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860125

研究課題名(和文) 抗がん剤投与による消化管障害が薬物の吸収に及ぼす影響に関する研究

研究課題名(英文) The effect of anticancer agent induced gastrointestinal damage on drug absorption

研究代表者

秋好 健志 (AKIYOSHI, TAKESHI)

慶應義塾大学・薬学部・助教

研究者番号：50399143

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、抗癌剤誘発消化管障害モデルラットに抗凝固薬ダビガトランエテキシラート(DABE)を経口投与し、消化管障害時のDABEの体内動態と薬効を評価した。ラットに5-FUを5日間経口投与し、消化管障害モデル動物とした。これにDABEを経口投与後、体内動態および薬効を評価した。消化管障害群ではDABのCmax及びAUCが対照群の約30%程度に低下し、抗凝固作用の指標である活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)比も低下していた。抗がん剤使用時にはDABEの薬効変動に注意が必要である。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the effects of 5-FU induced gastrointestinal damage on dabigatran pharmacokinetics(PK) and pharmacodynamics(PD) in rats. After oral administration of DABE, the PK parameters of Cmax and AUC of DAB in the 5-FU group were decreased by 30% compared to that of control group. Moreover, the PD parameter of activated partial thromboplastin time (aPTT) in the 5-FU group was also reduced. We concluded that intensive monitoring of DABE PK/PD under treatment with 5-FU is required.

研究分野：臨床薬物動態学

キーワード：消化管障害 5-FU ダビガトラン

1. 研究開始当初の背景

临床上、一部の抗がん剤 (5-FU やイリノテカンなど) 投与後に高頻度に生じる消化管障害は、それらの dose limiting factor となっている。一方、通常、経口投与された薬物は、上部消化管において主に経細胞輸送 (単純拡散および輸送担体による能動輸送)、一部は細胞間隙輸送により吸収され、全身へ移行するため、抗がん剤により消化管障害が発現したときには、抗がん剤以外の薬物の吸収にも何らかの影響が生じている可能性が考えられる。これまでに抗がん剤投与による消化管障害については多数報告されているが、その際に併用している薬剤の薬物動態プロファイルについては報告されているものはない。また、上述のように抗がん剤投与の下痢を伴う消化管障害、特に、投与後数日目以降に生ずる下痢においては、薬物の直接作用のみならず、白血球減少に伴う免疫抑制による二次的な原因も関与しており、結果的に消化管上皮細胞間のタイトジャンクションの脆弱化により、物質透過性の亢進を招くと考えられている。実際、Melichar らは 5-FU などの抗癌剤投与により消化管障害 (下痢症状) を呈した患者において低吸収性単糖類のマンニトールと非吸収性二糖類のラクツロースの透過性を検討した結果、後者の尿中排泄量が増加することを報告した¹⁾。一方、消化管障害時には、消化管上皮細胞膜上に発現しているさまざまな機能タンパク質の発現や機能も低下する可能性が報告されている。実際、ビタミン A は、消化管上皮細胞において加水分解、消化管上皮細胞への取り込み、再エステル化などの過程を経て吸収されるが、抗癌剤による消化管障害時には、その吸収は低下する¹⁾。一方、消化管障害によりタクロリムスの血中濃度が最大約 10 倍に上昇することが報告されている²⁾。これは、消化管障害によるタクロリムスの消化管での排泄に關与する P-糖蛋白質の発現量の減少と関係しているといわれている³⁾。すなわち、薬物吸収過程で吸収を助け、または吸収を阻害している生理的なプロセスは、消化管障害時には損なわれ、その結果、薬物の吸収が低下又は上昇する可能性があることが示唆されている。このように、抗がん剤投与時に発生する消化管障害時の併用薬の体内動態プロファイルについては数件の臨床報告はあるが、報告は断片的であり、体系的に明らかにした報告はない。

2. 研究の目的

抗癌剤 (5-FU など) を経口投与すると、下痢などを伴う消化管障害が高頻度に発生するが、この時、併用薬物の吸収にも影響が生じている可能性が報告されている。しかし、抗癌剤による消化管障害が併用薬の薬物動態に与える影響について体系的・定量的に明らかにした報告はない。そこで本研究では、まずラットを用いて抗癌剤による消化管障

害モデルを確立する。次に、モデル薬物として、消化管の薬物輸送担体 p 糖タンパクの基質であるダビガトランの体内動態の変動を解析し薬物の吸収動態に対する抗がん剤誘発性消化管障害の影響を解析する。さらに、ダビガトランの薬理作用として抗凝固作用の変動についても評価を行う。

3. 研究の方法

(1) 消化管障害モデルラットの作出

抗癌剤として 5-FU 30 mg/kg を SD 雄性ラット 7 週齢に、1 日 1 回、計 5 日間連続経口投与した。この間、ラットの体重、食事量、便数について計測した。また、5 日目に、十二指腸、小腸 (空腸、回腸)、結腸を摘出し、3-4 μm のスライス切片を Hematoxylin - Eosin (HE) 染色後、標本を作製し、顕微鏡で観察した。また、各小腸部位 (Upper, Middle, Lower) における小腸上皮粘膜組織中の Mdr1a 及び Pept1 の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法により評価した。

(2) モデル薬物の体内動態および薬効の評価
上述 (1) で作出した消化管障害モデルラットに p 糖タンパク (p-gp) 基質薬剤であるダビガトランエテキシラート (DABE) を経口投与またはその活性代謝物であるダビガトラン (DAB) を静脈内投与した。その後、一定時間ごとに採血を行い、血中 DAB 濃度を LC/MS/MS 法により定量した。また、薬理作用の評価として、DABE 投与前日と投与 30 分後の血漿を用い、活性化部分トロンボプラスチン時間の (APTT) 比を算出した。

4. 研究成果

(1) 消化管障害モデルラットの作出

5-FU 30 mg/kg (以下 5-FU) 投与群の体重は、投与開始 2 日目から徐々に減少を始め、5 日目に投与開始時の $89.4 \pm 4.4\%$ (mean \pm SD) となった。また、同様に、同群の食事は投与開始 5 日目に $23.5 \pm 24.8\%$ に減少した。また同群の便数は、5 日目に投与開始時の $33.5 \pm 24.1\%$ に減少した。5-FU 投与群の小腸上皮スライス切片の観察結果より、絨毛の委縮、脱落、平坦化、陰窩の縮小などの特徴が見られた (図 1)。

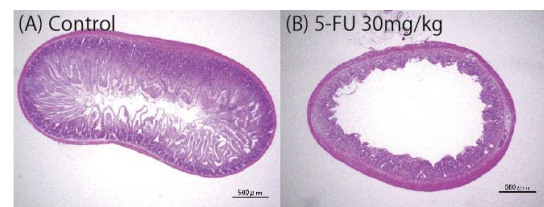


図 1 SD ラット雄に水または 5-FU 30 mg/kg を 5 日間連続経口投与した時の小腸スライス切片 (A) Control, (B) 5-FU 30mg/kg 投与

小腸上皮粘膜中の各 mRNA 発現量 (図 2) については、Control 群と比較して、Upper, Middle, Lower での発現量は 5-FU 投与によりそれぞれ約 1.03 倍、約 0.85 倍、約

0.86 倍に変化したが、統計的に有意な差は認められなかった。一方で、Pept1 の相対発現量は、control 群と比較して、5-FU 投与により Upper では約 0.21 倍に有意に低下しており、Middle では約 1.84 倍に有意に増加していた。また、Lower でも有意差はないものの約 1.39 倍に増加していた。

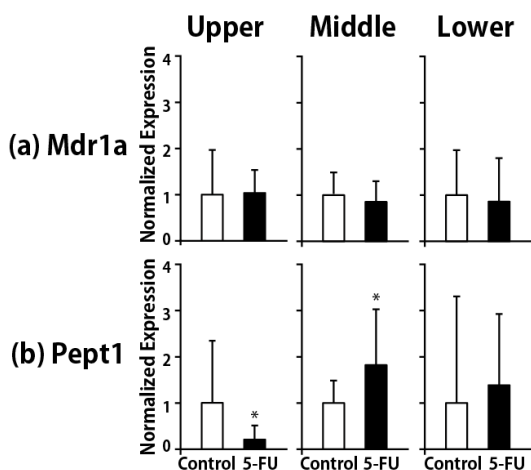


図2 各小腸部位における (a) Mdr1a 及び (b) Pept1 の mRNA 相対発現量
Mdr1a 及び Pept1 の発現量は β -actin の発現量で規格化し、control に対する相対値を示した。
Upper: n=6, Middle: n=6, Lower: n=7, *, p < 0.05 vs control, Data are mean \pm SD

(2) DAB 体内動態の変化

図3に示すように、5-FU 投与群は control 群と比較して C_{max} と $AUC_{po, 0-360 \text{ min}}$ がそれぞれ 34.5%、27.9%にまで有意に低下した。その一方で control 群と 5-FU 群共に T_{max} は 20 分であり違いは認められなかった。また、両群に DAB を静脈内投与した結果、両群の DAB 血中濃度推移は、同等であった(図4)。さらに、バイオアベイラビリティ (BA) を算出した結果、control 群、5-FU 群の BA はそれぞれ $9.91 \pm 2.49\%$ (mean \pm SD)、 $3.74 \pm 2.08\%$ (mean \pm SD) であり、5-FU 投与群で BA が control 群の約 38% 程度に有意に低下した。

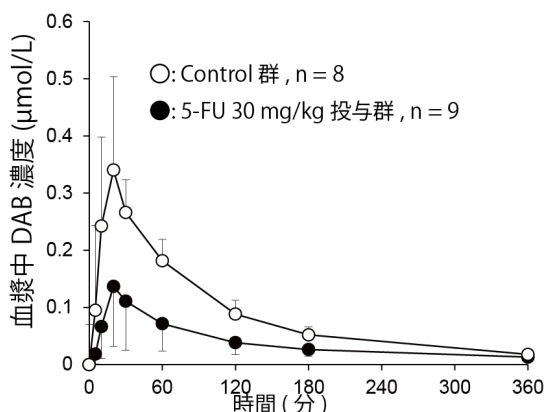


図3 DABE 経口投与後の血漿中 DAB 濃度推移
Data are Mean \pm S.D.,

(3) DAB の抗凝固作用に対する影響

図5に示すように、APTT 比は control 群において 1.59 ± 1.01 (mean \pm SD) であった

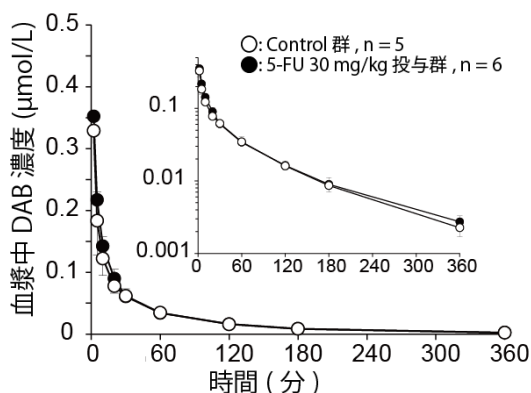


図4 DAB 静脈内投与後の血漿中 DAB 濃度推移
Data are Mean \pm S.D.,
のに対し、5-FU 投与群では 1.18 ± 0.56 と有意ではないものの低下している傾向が認められた。

以上の結果より、まず、モデルラットの作出について、5-FU 30 mg/kg の 5 日間連続経口投与により引き起こされた、体重、食量等の減少および小腸上皮粘膜の脱落や委縮は、これまでに報告⁴⁻⁶⁾されている消化管障害の状態と同様の变化であり、本法において抗癌剤誘発性消化管障害モデルラットを作出できたと考える。次に、この消化管障害モデルラットにおけるダビガトランの血中濃度は、control 群と比べ、おおよそ 1/3 程度に低下していた。さらに静脈内投与時の血中濃度推移が両群で変化なかったことから、今回の PK の変動は、消化管吸収過程の障害により引き起こされたと考えられる。

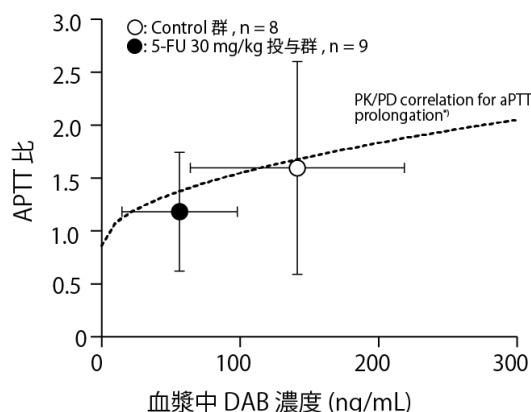


図5 DAB 経口投与前後の APTT 比と DAB 経口投与 30 分後の血漿中 DAB 濃度の関係

破線は既報^{*)}における APTT 比と DAB 濃度の関係
Data are Mean \pm S.D.,
*) Br J Clin Pharmacol 64(3), 292-303. (2007)

今回、消化管障害における DAB の吸収低下は、小腸上皮における DAB の単純拡散を介した透過が減少している可能性がある。本研究において得られた小腸スライス切片画像からも、小腸上皮細胞の刷子縁膜 (brush border membrane) が破壊されていることが確認されており、消化管障害により小腸の有効表面積が減少していると考えられる。

また、mRNA レベルではあるが、Mdr1a 発現に顕著な変動は認められていないことから、p-gp タンパクの発現を介した DAB の排泄は、促進されていないと考える。以上より、DAB の経細胞経路による吸収の低下により、今回の PK の変動が引き起こされたと考えられる。

一方で、Pept1 mRNA 発現量は、小腸上部 (upper) において、5-FU 暴露下では減少していた。このことから、Pept1 蛋白の発現量の低下を介したセファレキシンの Pept1 基質薬剤の体内動態の変動、すなわち、Pept1 基質薬剤の吸収量低下が引き起こされる可能性が示唆される。現在、この点について、各輸送担体のタンパク発現量及び体内動態について鋭意検討中である。

まとめとして、5-FU による消化管障害動物では、DABE の消化管吸収が低下し薬効が減弱していたことから、臨床においても抗がん剤使用時の DABE の薬効変動には注意が必要かもしれない。

引用文献

- 1) Melichar B *et al.*, *Am J Clin Oncol*, 31(6):580-584,2008
- 2) Hochleitner BW *et al.*, *Transpl Int*, 14(4):230-233,2001
- 3) Lemahieu W *et al.*, *Am J Transplant*, 5(6):1383-1391,2005
- 4) Saegusa Y *et al.*, *Journal of Gastroenterology*, **43**(5), 531-537. (2008)
- 5) Tanaka H *et al.*. *Gastroenterology*, **114** (4), 714-723. (1998)
- 6) 後藤哲宏 ら., *がんと化学療法* **38**(5), 765-769. (2011)

5. 主な発表論文等

[学会発表](計 2 件)

- ・辻井一成、秋好健志、今岡鮎子、大谷壽一
ダビガトランの体内動態及び薬効に対する
抗がん剤誘発消化管障害の影響 日本薬学
会第 135 年会 2015
- ・岩崎景子、秋好健志、江川瞬、手塚淑人、
大江知之、増野匡彦、大谷壽一. 抗がん剤
による消化管障害モデル動物の作成と評価.
日本薬学会第 133 年会 2013

6. 研究組織

(1)研究代表者

秋好 健志 (AKIYOSHI Takeshi)
慶應義塾大学・薬学部・助教
研究者番号：5 0 3 9 9 1 4 3

(2)研究協力者

辻井 一成 (TSUJII Kazunari)
四元 敬一 (YOTSUMOTO Keiichi)