

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：34509

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893276

研究課題名(和文)臨床研究と基礎研究の連携による薬剤性肝障害発症時の投薬基準の確立

研究課題名(英文) Establishment of the standards for suspected drugs under drug-induced liver injury by clinical and basic study

研究代表者

池村 舞 (Ikemura, Mai)

神戸学院大学・薬学部・講師

研究者番号：60709278

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：臨床現場でしばしば問題となる薬剤性肝障害が起こると、投与中の薬による治療効果とのバランスから被疑薬投与中止のタイミングを図るのに難渋する。そこで、患者データと動物モデルを用いて、抗てんかん薬フェニトインによる薬剤性肝障害発症時の肝逸脱酵素と肝機能について検討を行うこととした。患者診療情報より、投薬中止後、多くの場合、血中ALT値は速やかに低下したが、基準値に戻るまでの期間が遷延した例も見られた。モデルマウスを用いた検討では、同じALT値でも、肝機能への影響が異なる可能性を見出した。以上、薬剤性肝障害発症時には、肝機能を考慮した投薬中止基準を確立する必要性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Drug-induced liver injury (DILI) is occasionally occurred in clinical settings. It is difficult to decide when to discontinue the suspected drugs with consideration for both the symptoms of DILI and therapeutic effects by the drugs. In this study, I evaluated the hepatic enzyme level and liver function under DILI by phenytoin, antiepileptic drug, using patients' medical records and animal models. Investigation of medical records revealed that ALT levels were fallen immediately after the discontinuation of the medication in the most of study patients, but, in some cases, it was required a lot of time to return to normal level. Experiments using murine models investigated that liver function was different in spite of the same ALT level. These results suggest that it is needed to establish the standards for a discontinuation of the suspected drugs with consideration for liver function under DILI.

研究分野：医療薬学

キーワード：薬剤性肝障害 ALT 臨床 フェニトイン

### 1. 研究開始当初の背景

薬剤性肝障害は、臨床現場でしばしば問題となる有害事象であり、薬剤性肝障害を引き起こす薬物は多数知られている。その発症機序としては、中毒性、特異体質性などに分類され、病型としては、肝細胞障害型、胆汁うっ滞型、混合型に分類されるなど、薬剤性肝障害発症メカニズムは薬物により異なり、多岐にわたる。臨床現場では、血中のアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 値やアルカリホスファターゼ (ALP) 値などの生化学検査の結果や投薬歴から薬剤性肝障害の可能性を判断している。しかしながら、血中 ALT 値や ALP 値が必ずしも肝機能を反映しているとは言えず、これらの値がどの程度までなら肝機能に対する影響がないか、どの程度までなら肝障害が可逆的かといった投薬の継続・減量・中止基準がない。臨床現場では、投与中の薬物により病態が良好にコントロールされている場合や、投与薬物の変更により薬物相互作用や副作用などが懸念される場合など、投薬を継続することが望ましいケースも少なくない。従って、投薬による治療効果と薬剤性肝障害とのバランスから被疑薬を中止するタイミングを判断するのに難渋する一方、明確な薬剤性肝障害の診断基準がないため、薬剤性肝障害の重篤化を懸念し、血中 ALT 値や ALP 値の上昇が軽微であっても、被疑薬があればそれを中止せざるを得ないのが現状である [1]。以上のことから、臨床現場においては、薬剤性肝障害発症時の投薬継続・減量・中止基準が必要であると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、薬剤性肝障害発症時における肝機能を反映した投薬中止基準の確立を目指した基礎的検討と位置づけ、臨床研究と基礎研究が密に連携できる環境を活かしながら、臨床現場において薬剤性肝障害の実態を調査するとともに、動物モデルを用いて肝逸脱酵素活性と肝機能の関係について検討を行うこととした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 薬剤性肝障害を疑われた患者の診療情報の調査

まず、薬剤性肝障害が疑われた患者での実態調査の妥当性を判断するため、薬剤性肝障害患者が比較的多い集団を対象として調査を行うこととした。2012年1月1日から2013年12月31日までの期間に、神戸市立医療センター中央市民病院にて、ランソプラゾール (タケプロン®OD錠、タケプロン®静注用) を投与された ICU 入室患者のうち、入室期間中にランソプラゾールによる薬剤性肝障害が疑われ、投薬が中止された患者を対象とした。対象患者の年齢、性別、ランソプラゾール投与量・投与期間、血中 ALT・アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)・

ALP・ $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)・総ビリルビン (T-bil) 値の推移について、電子カルテを用いて後方視的に調査した。

さらに、フェニトインによる薬剤性肝障害が疑われた患者について調査した。2014年1月1日から6月30日までの期間に、神戸市立医療センター中央市民病院にて、フェニトイン (アレビアチン®散、ヒダントール®錠) またはホスフェニトイン (ホストイン®静注) を投与された入院患者のうち、これらによる薬剤性肝障害が疑われ、投薬が中止された患者を対象とした。対象患者の年齢、性別、フェニトイン投与量・投与期間、さらに、血中 ALT・AST・ALP・ $\gamma$ -GTP・T-bil・アルブミン値・フェニトイン濃度の推移について、電子カルテを用いて後方視的に調査した。なお、血中フェニトイン濃度は、実測濃度とアルブミン値から補正した [2]。

#### (2) フェニトインによる薬剤性肝障害動物モデルを用いた検討

雌性 C57BL/6J マウス (8週齢) に対し、はじめの2日間、フェニトイン 50 mg/kg を1日1回腹腔内に投与し、その後、12日間、それぞれフェニトイン 50, 75, 100 mg/kg を1日1回腹腔内に毎日繰り返し投与した。なお、投与量を設定する際は、添付文書上のヒト投与量からマウス投与量に換算した [3]。マウス投与量 50 mg/kg は、おおよそヒト投与量 250 mg に相当する。経時的に採血を行い、遠心分離により得られた血漿中における ALT、総タンパク、アルブミン、コリンエステラーゼ活性を定量した。

さらに、グルタチオンの合成を阻害するブチオニンスルホキシミン (BSO) を併用し、より著しい薬剤性肝障害を示すモデルを作成した [4,5]。雌性 C57BL/6J マウス (8週齢) に対し、投与初日より、フェニトイン 50 mg/kg または 75 mg/kg を1日1回腹腔内に毎日繰り返し投与し、3日目から BSO 700 mg/kg を1日1回腹腔内に毎日繰り返し投与した。なお、3日目以降は、まず BSO を投与してから、その約2時間後にフェニトインを投与した。上記のフェニトインのみ繰り返し投与したモデルと同様に、経時的に採血を行い、血漿中における ALT、総タンパク、アルブミン、コリンエステラーゼ活性を定量した。

### 4. 研究成果

#### (1) 薬剤性肝障害を疑われた患者の診療情報の調査

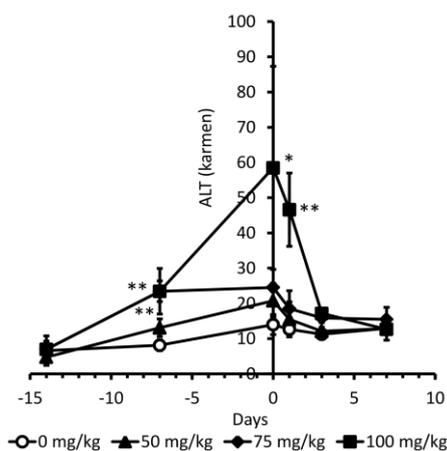
まず、薬剤性肝障害の実態調査が可能かを検証することとした。ICU ではストレス潰瘍予防を目的として酸分泌抑制薬を投与されることが多いことから、その中でも処方頻度が高く、薬剤性肝障害を引き起こすことが知られているランソプラゾールについて実態調査を行った。対象期間中にランソプラゾールによる薬剤性肝障害が疑われ、投与が中止

された患者は、6名であった。症例により、かなりのばらつきが見られたものの、投与中止により、肝逸脱酵素の値は比較的速やかに低下し、投与中止後10日程度でほぼ正常値まで低下した。しかしながら、中には、肝逸脱酵素の低下が遷延した症例も見られた。以上より、薬剤性肝障害の実態調査は可能であり、また、症例により肝逸脱酵素の推移に差があったものの、ランソプラゾールによる薬剤性肝障害の実態が明らかとなった。

続いて、フェニトインによる薬剤性肝障害の実態について詳細に調査した。抗てんかん薬のフェニトインは、臨床現場でしばしば薬剤性肝障害が問題となり、また、てんかんが良好にコントロールされている場合には、可能な限り投与継続が望ましい薬物である。対象期間中にフェニトインによる薬剤性肝障害が疑われ、投与を中止された患者は12名であった。投薬期間の中央値は6.5日[2-40日]、累積投与量の中央値は3297mg[800-9510mg]であり、ばらつきが大きかった。血中ALT値、AST値は、多くの患者で、投与中止後に速やかに低下し、概ね14日以内には正常値に戻った。しかしながら、特に投与中止時のALT値が200IU/Lを超える症例では、投与中止後30日を経過しても正常値まで戻らないケースも見られた。

肝胆道系酵素であるALP・ $\gamma$ -GTP・T-bil値は、全例で測定されていなかったものの、必ずしも基準値を超える症例ばかりではなかった。また、血中フェニトイン濃度についても、全例で測定されていなかったが、補正後濃度が基準値を超えた症例はほとんどなかった。従って、フェニトインによる薬剤性肝障害は、血中濃度には直接関係しないことが示唆された。

以上の調査より、症例数が少なく、また、他の併用薬物が被疑薬として鑑別にあがる



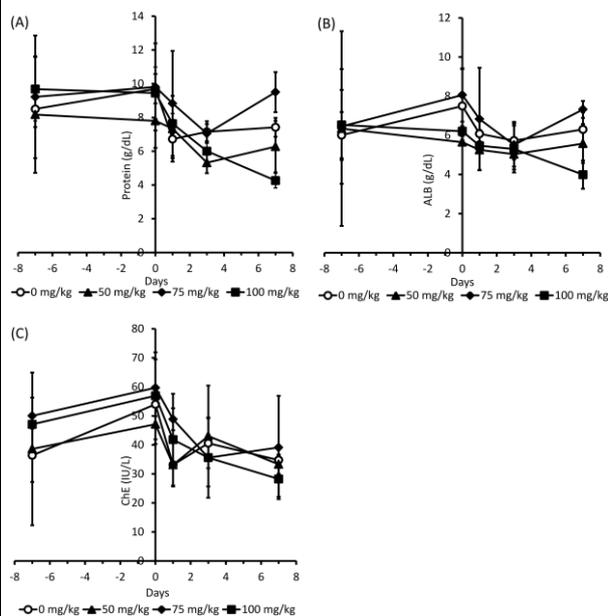
**図1 フェニトイン繰り返し投与時と中止後の血漿中ALT値の推移** Day0は投与中止日。\*;  $P < 0.05$ , \*\*;  $P < 0.01$  (vs. 0 mg/kg) karmen 単位 =  $0.482 \times$  国際単位 (IU/L, 25°C)

場合もあったが、特にフェニトイン投与時のALT値が200IU/L以上の場合において、肝機能への影響や投与中止の必要性について、今後検証していく必要性が見出された。また、肝胆道系酵素の上昇をほとんど認めなかったことから、以降の動物実験では、肝細胞由来の逸脱酵素に絞って検討することとした。

(2) フェニトインによる薬剤性肝障害動物モデルを用いた検討

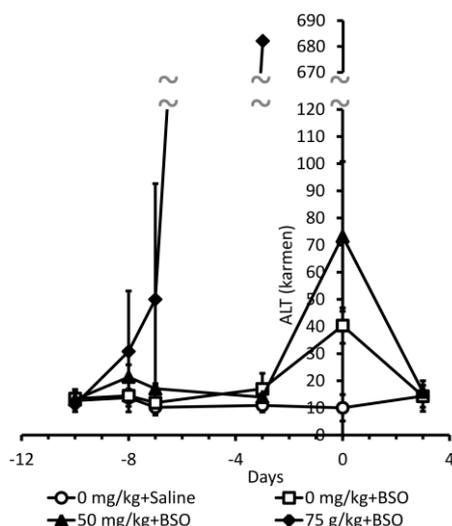
モデルマウスを用いて、薬剤性肝障害発症時の肝機能への影響について検討することとした。まず、フェニトインを毎日繰り返し投与したマウスにおける血漿中ALT値を経時的に測定した(図1)。添付文書上の投与量に相当するマウス投与量50mg/kgを繰り返し投与したマウスでは、ほとんど血漿中ALT値の上昇を認めなかったが、添付文書上の投与量を超えるマウス投与量75mg/kgもしくは100mg/kgを繰り返し投与したマウスでは、投与開始より徐々に血漿中ALT値が上昇し、対照群と比較して有意に高かった。しかしながら、そのALT値は、基準値から大幅に逸脱するレベルではなく、また、投与中止とともに速やかに低下した。

同じモデルマウスにおいて、肝機能の指標として血漿中総タンパク濃度、アルブミン濃度、コリンエステラーゼ活性を経時的に測定したところ、投与量によらず、ほとんど変化がなかった(図2)。従って、本検討で用いたモデルマウスにおいては、肝機能への影響はほとんどなかったものと考えられる。



**図2 フェニトイン繰り返し投与時と中止後の血漿中総タンパク濃度 (A)、アルブミン濃度 (B)、コリンエステラーゼ活性 (C) の推移** Day0は投与中止日。

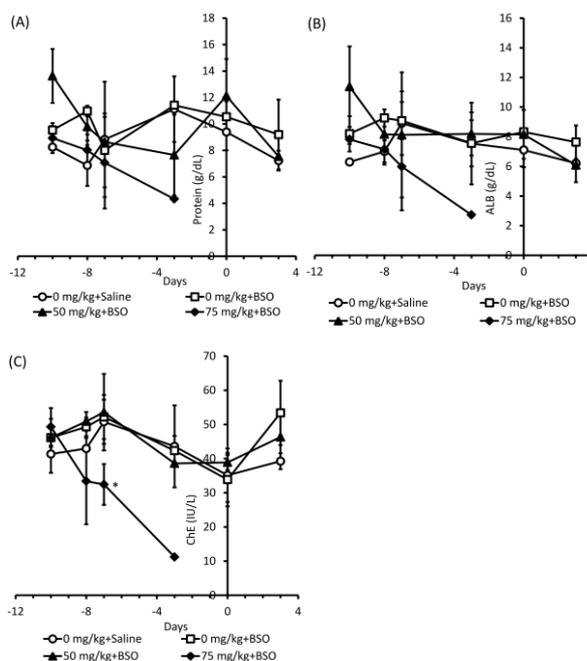
以上のフェニトインのみの繰り返し投与では、肝機能に影響を及ぼす程度の肝障害を引き起こすことはなかった。以降では、より著しい肝障害を示すモデルとして、フェニトインと BSO の両者を毎日繰り返し投与したモデルマウスを用いて同様に検討した。BSO 単独では、ほとんど血漿中 ALT 値の上昇を認めなかったのに対し、特にフェニトイン 75 mg/kg と BSO の 2 剤を繰り返し投与したモデルにおいて、投与開始早期より、血漿中 ALT 値の著しい上昇を認めた (図 3)。しかしながら、フェニトイン 75 mg/kg と BSO の 2 剤を繰り返し投与した全マウスが投与開始数日で死亡した。



**図 3 BSO とフェニトイン繰り返し投与時と中止後の血漿中 ALT 値の推移** Day0 は投与中止日。karmen 単位 =  $0.482 \times$  国際単位 (IU/L, 25°C)

また、同じモデルマウスを用いて、血漿中総タンパク濃度、アルブミン濃度、コリンエステラーゼ活性を経時的に測定した。BSO 単独やフェニトイン 50 mg/kg と BSO の 2 剤の繰り返し投与では、対照群とほとんど変わらなかったのに対し、フェニトイン 75 mg/kg と BSO の 2 剤の繰り返し投与では、血漿中タンパク濃度とアルブミン濃度が経時的に低下し、特に血漿中コリンエステラーゼ活性は著しく低下した (図 4)。以上より、投与開始早期より血漿中 ALT 値が上昇し始め、最終的に著しい上昇を認めたケースで、肝機能が低下していたと考えられる。

以上の結果より、肝逸脱酵素活性の上昇が軽度である場合、肝機能への影響はかなり少ない可能性が見出された。また、同じ血漿中 ALT 値 (50~60 karmen) (図 1、図 3) でも、コリンエステラーゼ活性などが異なることから、同じレベルの肝逸脱酵素活性を示した場合でも、それまでの肝臓への曝露量の違いなどが肝機能に影響する可能性があり、血漿中 ALT 値の推移を注意深く観察しながら肝



**図 4 BSO とフェニトイン繰り返し投与時と中止後の血漿中総タンパク濃度 (A)、アルブミン濃度 (B)、コリンエステラーゼ活性 (C) の推移** Day0 は投与中止日。\*;  $P < 0.05$  (vs. 0 mg/kg + Saline)

機能への影響を考慮する必要性が示唆された。

以上、血中肝逸脱酵素活性と肝機能は必ずしも相関せず、肝機能を考慮した投薬中止基準確立の必要性が示唆された。本結果は、薬剤性肝障害発症時の被疑薬継続可否の判断と今後の投薬中止基準の確立に、有益な基礎的情報を提供するものとする。

#### <引用文献>

- Ghabril M, Chalasani N, Bjornsson E. "Drug-induced liver injury: a clinical update" *Curr Opin Gastroenterol.* 26: 222-226, 2010
- 間々田久美子、粕谷泰次、辺見 仁、高橋洋一、染谷一彦、高尾良洋、佐々木康人『アルブミン値低下を伴ったてんかん患者のフェニトイン蛋白結合率の変動』*YAKUGAKUZASSHI.* 105: 475-480, 1985
- Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. "Dose translation from animal to human studies revisited" *FASEB J.* 22: 659-661, 2007
- Watanabe T, Sagisaka H, Arakawa S, Shibaya Y, Watanabe M, Igarashi I, Tanaka K, Totsuka S, Takasaki W, Manabe S. "A novel model of continuous depletion of glutathione in mice treated with l-buthionine (S,R)-sulfoximine" *J Toxicol Sci.* 28: 455-469, 2003
- Sasaki E, Matsuo K, Iida A, Tsuneyama K, Fukami T, Nakajima M, Yokoi T. "A novel mouse model for phenytoin-induced liver

injury: involvement of immune-related factors and P450-mediated metabolism” *Toxicol Sci.* 136: 250-263, 2013

## 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 2 件)

1. 藤田和美、**池村 舞**、橋田 亨  
『フェニトインによる肝障害発症時の肝逸脱酵素の評価』  
第4回日本薬剤師レジデントフォーラム  
2015年2月7日  
東京女子医科大学 (東京都新宿区)
2. **池村 舞**、橋田 亨  
『フェニトインの投薬中止基準の確立を目指した薬剤性肝障害モデルを用いた検討』  
日本薬学会第135年会  
2015年3月25日～28日  
神戸学院大学ほか (兵庫県神戸市)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

池村 舞 (IKEMURA, Mai)

神戸学院大学 薬学部 講師

研究者番号：60709278