

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 9 月 12 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08601

研究課題名(和文)慢性腎臓病患者において生じる予測不能の薬物相互作用のメカニズム解明

研究課題名(英文) Mechanism for unpredictable drug interaction in patients with chronic kidney disease

研究代表者

辻本 雅之 (Tsujimoto, Masayuki)

京都薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：90372739

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、慢性腎臓病患者において、(1) カルボキシエステラーゼの活性が上昇している可能性、(2) OATP1B1のような肝臓に発現している取り込みトランスポーターが機能低下している可能性、(3) ただし、OATP1B1の機能変動は基質により様々であるため、基質ごとの検討が必須である可能性、(4) 横紋筋毒性の増強は、血中濃度の上昇だけでなく組織毒性の増強によっても生じている可能性が明らかになった。これらの結果は、慢性腎臓病患者において予期せぬ薬物相互作用を回避する上で、有益な情報を付与するものである。

研究成果の概要(英文)：This study showed that (1) the possibility that the activity of carboxyl esterase is elevated, (2) the possibility that the function of hepatic uptake transporter (s) such as organic anion transporting polypeptide (OATP) 1B1 is decreased, (3) the possibility that the interaction mediated by OATP1B1 needs to be evaluated for each substrate, since the functional change of OATP1B1 varies depending on the substrate, (4) the possibility that enhancement of myopathy is caused not only by the increase in blood concentration but also by the enhancement of tissue toxicity of toxicity drug in patients with chronic kidney disease.

研究分野：臨床薬学、臨床薬理学

キーワード：慢性腎臓病 薬物代謝酵素 薬物トランスポーター 薬物有害事象

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病患者において、その腎機能の顕著な低下のため、腎排泄型薬物の投与量は厳密に管理されている。また、近年になり、慢性腎臓病患者において、多数の薬物の腎以外からの排泄（腎外クリアランス）が顕著に変動していることも明らかにされている。研究代表者らは、すでに慢性腎臓病患者の血清中には、(1) 薬物代謝酵素であるチトクロム P450 (CYP) 1A2 を阻害する物質が蓄積しており、その一部がキサンチン誘導体であること (M. Tsujimoto et al., Ther Apher Dial, 18, 174-180, 2014) (2) CYP2C9 を阻害する物質が蓄積しており、その一部がインドキシル硫酸であること (M. Tsujimoto et al, J Pharm Pharmacol, 62, 133-138, 2013) (3) CYP3A4 mRNA の発現を抑制する要因が存在しており、その一部が活性化ビタミン D の欠乏、並びにインドキシル硫酸などの尿毒症物質の蓄積により説明できること (M. Tsujimoto et al, Toxins, 5, 1475-1485, 2013) を明らかにしている。以上の事実は、臨床試験で示されている慢性腎臓病患者における、(1) プロプラノロール及びデュロキセチンの血中濃度上昇、(2) ワルファリンの効果増強やロサルタンの代謝クリアランスの低下、(3) エリスロマイシンの消失半減期の延長の各メカニズムを示している可能性が考えられる。以上のことから、慢性腎不全患者において、単に薬物の腎からの排泄だけでなく、腎以外からの排泄にも目を向ける必要性が高いことは明らかである。

クラリスロマイシンとコルヒチンの相互作用は、腎機能正常患者では軽微な影響しか生じないが、慢性腎臓病患者では致死的な場合がある。これは、部分的に肝臓で代謝分解され、部分的に腎から排泄されるコルヒチンの特徴に起因していると考えられる。また、同様の報告が、クラリスロマイシンとジゴキシン間でも報告されており、慢性腎臓病という特殊病態下においてのみ重篤化する薬物相互作用の存在を示唆している。

2. 研究の目的

慢性腎臓病患者において、予測不能な薬物相互作用が生じるメカニズムを明らかにするため、尿毒症物質の蓄積や必須微量元素の過不足など、慢性腎臓病患者特有の因子が、併用薬物と相加・相乗的に作用して、薬物代謝・薬物輸送、並びに毒性に影響する可能性について検討する。

3. 研究の方法

健常者血清は、プール血清を Merck Millipore Co. (Billerica, MA, USA) より購入した。末期の慢性腎臓病患者血清は、仁真会白鷺病院 (大阪、日本) にて透析患者 400 名以上から提供を受け、プール血清として実験に用いた。なお、本検討は、仁真会白鷺病院および京都薬科大学の倫理審査委員会にて承

認を得て行った。健常者血清および末期の慢性腎臓病患者血清は、メタノールにより除タンパク処理したものを研究に用いた。まず、各血清の 3 倍量のメタノールを加え、10 分間振盪 (300 strokes/min) 後、1630 g で 30 分間遠心分離し、上清を 50°C、窒素気流下にて蒸発乾固した。得られた残渣に用いた血清の 10 倍量の HEPES 含有 HBSS を加え、1 分間の攪拌後、0.22 μm のメンブランフィルターにより濾過したものを実験に用いた。

薬物代謝酵素の活性は、各 CYP のリコンビナント酵素、ヒト肝ミクロソーム、ヒト結腸癌細胞 LS180 細胞を用いた P450-Glo Assay により評価した。トランスポーターの活性は、有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1B1 および 1B3 を強制発現させた HEK293 細胞を用いて評価した。また、ヒト横紋筋モデル細胞として、RD 細胞を用いた。薬物代謝酵素・トランスポーターの mRNA 発現変動は、リアルタイム RT-PCR 法により評価した。

4. 研究成果

本検討では、慢性腎臓病患者において認められる抗がん剤 (イリノテカン) の活性代謝物である SN-38 の血中濃度が顕著に増大するメカニズムを (1) 最大血中濃度の上昇、(2) 消失半減期の延長という 2 点から明らかにした。まず、慢性腎臓病患者の血清中には、イリノテカンから SN-38 への代謝に關与するカルボキシエステラーゼを活性化する因子が蓄積していることを明らかにした (図 1 H. Koide, M. Tsujimoto et al, Cancer Chemother Pharmacol, 81, 1121-1128, 2018)。

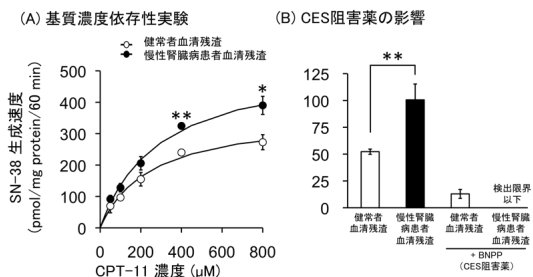


図1 ヒト肝ミクロソームにおけるCPT-11代謝に及ぼす慢性腎臓病患者血清残渣の影響
 (A) 慢性腎臓病患者血清残渣の同時処置は、健常者血清残渣の場合と比較して、SN-38生成速度を有意に上昇させた。
 (B) 慢性腎臓病患者血清残渣の同時処置によるSN-38生成速度の上昇は、カルボキシエステラーゼ (CES) 阻害薬であるBNPPの共存により消失した。

この現象は、慢性腎臓病患者において、SN-38 の最大血中濃度が上昇する要因であると示唆される。一方で、慢性腎臓病患者の血清中には、SN-38 の肝消失に重要な役割を果たしている OATP1B1 が機能低下させる要因が存在していること、その機能低下に慢性腎臓病患者特有の尿毒症物質だけでなく、腎機能正常者にも一般的に存在している血清成分が協同的に關与していることを明らかにした (図 2 Y. Katsube, M. Tsujimoto et al., Cancer Chemother Pharmacol, 79, 783-789, 2017)。

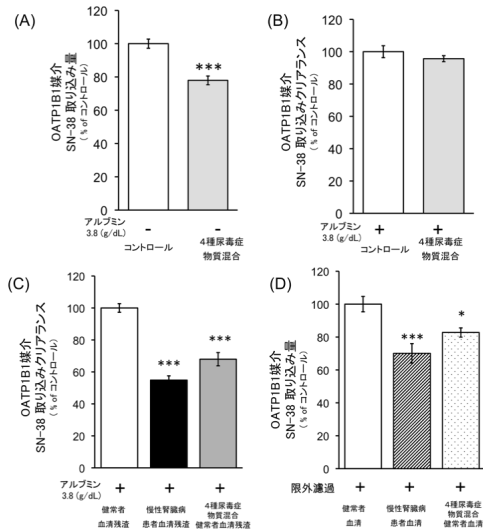


図2 OATP1B1発現細胞におけるSN-38取り込みに及ぼす慢性腎臓病患者血清残渣および尿毒症物質の影響
 (A) アルブミン非存在下において、4種尿毒症物質(インドキシル硫酸、インドール酢酸、馬尿酸、CMPF)混合は、SN-38の取り込みを阻害した。
 (B) アルブミン存在下において、4種尿毒症物質混合は、SN-38の取り込みを阻害しなかった。
 (C) アルブミン非存在下において、慢性腎臓病患者血清残渣および4種尿毒症物質混合健康者血清残渣は、SN-38の取り込みを阻害した。
 (D) 限外濾過した慢性腎臓病患者血清および4種尿毒症物質混合健康者血清は、SN-38の取り込みを有意に阻害した。

この現象は、慢性腎臓病患者において、SN-38の消失半減期が延長する一つの要因であることが示唆される。

本研究では、上記の通り、薬物の体内動態に大きな影響を有している OATP1B1 について、薬物相互作用の観点から非常に興味深い知見も得た。いくつかの経口抗がん薬が、OATP1B1 を介した基質薬物の取り込みを有意に阻害すること、ある基質薬物を阻害した物質が、別の基質薬物の取り込みを促進する場合があることを明らかにした。(図3 H. Koide, M. Tsujimoto et al, Xenobiotica, 2017, published online)

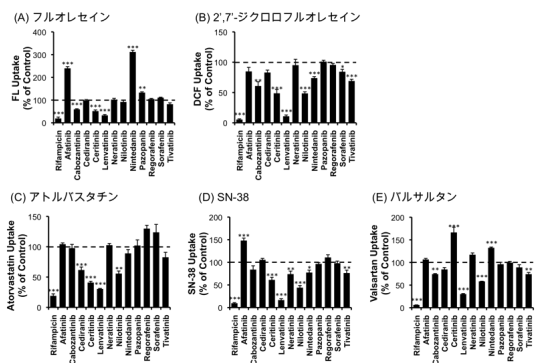


図3 OATP1B1発現細胞における5種の基質取り込みに及ぼす12種分子標的薬の影響

(A) FLの取り込みは、カボザンチニブ、セリチニブおよびレンパチニブの同時処置により低下した一方で、アフマチニブ、ニロチニブおよびバニチニブの同時処置により増大した。
 (B) DCFの取り込みは、カボザンチニブ、セリチニブ、レンパチニブ、ニロチニブ、モンテダニブ、ソラフェニブおよびチバチニブの同時処置により低下した。
 (C) アトルバスタチンの取り込みは、セジラニブ、セリチニブ、レンパチニブおよびニロチニブの同時処置により低下した。
 (D) SN-38の取り込みは、セリチニブ、レンパチニブ、ネラチニブ、ニロチニブ、モンテダニブおよびチバチニブの同時処置により低下し、アフマチニブの同時処置により増大した。
 (E) バルサルタン取り込みは、カボザンチニブ、レンパチニブ、ニロチニブおよびチバチニブの同時処置により低下し、セリチニブおよびモンテダニブの同時処置により増大した。

すなわち、阻害物質や誘導物質が基質の薬物

輸送能に影響する程度が、基質の種類によって大きく異なることを明らかにした。これらの事実は、OATP1B1の基質認識部位や阻害物質・誘導物質が影響する部位が複数存在することを意味しており、慢性腎不全患者血清中の要因も含めた薬物相互作用が実に多様であることを意味している。今後、慢性腎臓病患者における OATP1B1 を介した薬物相互作用メカニズムの全貌を明らかにするためには、OATP1B1の分子機構に着目した、さらなる詳細な検討が必要であろう。

慢性腎臓病患者における予測不能の薬物相互作用は、薬物代謝酵素や薬物トランスポーターなど、薬物動態の変動だけで生じるものではない。慢性腎臓病患者においてリスクが高まる HMG-CoA 還元酵素阻害薬(スタチン系薬物)やコルヒチンの横紋筋障害が、多剤の併用により、相加的・相乗的に組織毒性を高めている可能性も考えられる。研究代表者は、すでに、慢性腎臓病患者血清中には横紋筋モデル細胞におけるスタチン毒性を増強する要因が存在していること、そのメカニズムの一部が、尿毒症物質の蓄積であることを *in vitro* 実験において明らかにしている(H. Uchiyama, M. Tsujimoto et al, Toxin, 6, 2612-2625, 2014)。本検討では、尿毒症物質のみでは完全に説明できなかった慢性腎臓病患者血清の要因を明らかにした。すなわち、横紋筋細胞における亜鉛や銅などの必須微量元素の不足がスタチン毒性の増強に繋がる可能性を明らかにした(図4 H. Uchiyama, M. Tsujimoto et al, Toxin, 10, published online, 2018)。

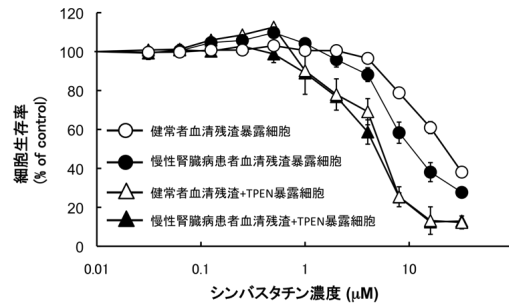


図4 シンバスタチン処置後の横紋筋細胞生存率に及ぼす慢性腎臓病患者血清およびTPEN暴露の影響
 健康者血清暴露細胞と比較して、慢性腎臓病患者血清暴露細胞において、より低濃度でシンバスタチンの毒性が顕在化した。一方で、亜鉛キレート剤であるTPENを同時処置することで、両細胞間の細胞毒性の差異は消失した。

また、クラリスロマイシンは、CYP3A4を阻害することによりコルヒチンの横紋筋毒性のリスクを高めるだけでなく、コルヒチンの横紋筋毒性を増強することも明らかにした(M. Tsujimoto et al, *in preparation*)。以上の結果から、慢性腎臓病患者における薬物相互作用のリスク増大を考える場合は、単に血中濃度の変化に着目するだけではなく、組織毒性の増強についても検討する必要があると考えられる。

以上、本研究をまとめると、慢性腎臓病患

者において、

カルボキシエステラーゼの活性化に伴い、プロドラッグの活性体の最大血中濃度が上昇している可能性

OATP1B1 などの肝取り込みトランスポーターの機能低下により、OATP 基質の半減期が延長している可能性

ただし、OATP1B1 の機能変動は基質により様々であるため、個別の検討が必須である可能性

横紋筋毒性などの増強は、血中濃度の上昇だけでなく組織毒性の増強によっても生じている可能性 が明らかになった。

これらの結果は、慢性腎臓病患者において予期せぬ薬物相互作用を回避する上で、有益な情報を付与するものである。

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4件)

- 1) Yurie Katsube, Masayuki Tsujimoto, Hiroyoshi Koide, Megumi Ochiai, Ayako Hojo, Kaori Ogawa, Kengo Kambara, Nao Torii, Daisuke Shima, Taku Furukubo, Satoshi Izumi, Tomoyuki Yamakawa, Tetsuya Minegaki, Kohshi Nishiguchi: Cooperative inhibitory effects of uremic toxins and other serum components on OATP1B1-mediated transport of SN-38, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 79, 783-789 (2017). DOI: 10.1007/s00280-017-3276-y
- 2) Hiroyoshi Koide, Masayuki Tsujimoto, Ai Takeuchi, Miyu Tanaka, Yoko Ikegami, Mayu Tagami, Syoko Abe, Miki Hashimoto, Tetsuya Minegaki, Koshi Nishiguchi: Substrate-dependent effects of molecular-targeted anticancer agents on activity of organic anion transporting polypeptide 1B1, *Xenobiotica*, published online (2017). DOI: 10.1080/00498254.2017.1393582
- 3) Hitoshi Uchiyama, Masayuki Tsujimoto, Naomi Shimada, Koji Tsutsui, Ayaka Nitta, Takuya Yoshida, Taku Furukubo, Satoshi Izumi, Tomoyuki Yamakawa, Hidehisa Tachiki, Tetsuya Minegaki, Koshi Nishiguchi: Evaluation of Trace Elements in Augmentation of Statin-Induced Cytotoxicity in Uremic Serum-Exposed Human Rhabdomyosarcoma Cells., *Toxin*, 10, published online (2018). DOI: 10.3390/toxins10020053
- 4) Hiroyoshi Koide, Masayuki Tsujimoto, Yurie Katsube, Megumi Ochiai, Ayako Hojo, Taku Furukubo, Satoshi Izumi, Tomoyuki Yamakawa, Dausuke Shima, Tetsuya Minegaki, Kohshi Nishiguchi: Acceleration of carboxylesterase-mediated activation of

irinotecan to SN-38 by serum from patients with end-stage kidney disease, *Cancer Chemother Pharmacol*, 81, 1121-1128 (2018). DOI: 10.1007/s00280-018-3583-y.

[学会発表](計9件)

- 1) 木村朱季、辻本雅之、内山 仁、結城絵理子、佐伯 崇、吉田拓弥、古久保拓、和泉 智、山川智之、峯垣哲也、西口工司: OATP1B1 を介したプラバスタチン輸送に及ぼす末期腎不全患者血清の影響. 第9回日本腎臓病薬物療法学会学術集会・総会 2015(仙台), 2015.10.
- 2) 勝部友理恵、辻本雅之、落合 愛、小出博義、北条亜矢子、小川佳織、神原健吾、鳥居奈央、古久保拓、和泉 智、山川智之、峯垣哲也、西口工司: 尿毒症物質の有機アニオン輸送ポリペプチド 1B1 阻害作用に対する健常者血清成分の増強効果. 日本薬学会第136年会(横浜), 2016. 3.
- 3) 入江裕子、辻本雅之、吉田拓弥、藤岡春乃、川上祥代、中谷沙紀、住本菜摘、須本真理子、中川智加、松本光司、峯垣哲也、西口工司: アリスキレンの肝消失過程に及ぼす有機アニオン輸送ポリペプチド 1B1 及び 1B3 の関与. 日本薬学会第136年会(横浜), 2016. 3.
- 4) Yurie Katsube, Masayuki Tsujimoto, Hiroyoshi Koide, Megumi Ochiai, Ayako Hojo, Daisuke Shima, Taku Furukubo, Satoshi Izumi, Tomoyuki Yamakawa, Tetsuya Minegaki, Kohshi Nishiguchi: The Identification of the Mechanism of Elevated Plasma Concentration of SN-38 in Patients with Endstage Kidney Disease: Focus on Metabolic Enzymes and Transporter in the Liver. 2016 AAPS Annual Meeting and Exposition (Denver, Colorado, USA), 2016. 11.
- 5) 小出博義、辻本雅之、竹内あい、田中美優、池上葉子、田上真優、峯垣哲也、西口工司: OATP1B1 安定発現細胞による

OATP1B1 を介した SN-38 輸送に及ぼす分子標的薬の影響. 第 37 回日本臨床薬理学会学術総会 (米子), 2016. 12.

- 6) 田中美優、辻本雅之、小出博義、竹内あい、池上葉子、田上真優、阿部祥子、橋本実季、峯垣哲也、西口工司: OATP1B1 を介した基質の取り込みに及ぼす分子標的薬の影響. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017. 3.
- 7) Hitoshi Uchiyama, Masayuki Tsujimoto, Tadakazu Shinmoto, Hitomi Ogino, Tomoko Oda, Ayaka Nitta, Koji Tsutsui, Naomi Shimada, Takuya Yoshida, Taku Furukubo, Satoshi Izumi, Tomoyuki Yamakawa, Hidehisa Tachiki, Tetsuya Minegaki, Kohshi Nishiguchi: Effects of uremic serum on statin-induced cytotoxicity and its mechanism. 2017AAPS Annual Meeting and Exposition (San Diego, USA), 2017. 11.
- 8) 下野香帆、辻本雅之、内山 仁、板谷あゆみ、古久保拓、和泉 智、立木秀尚、山川智之、峯垣哲也、西口工司: 末期腎不全患者においてコルヒチン及びクラリスロマイシンの相互作用が重篤化するメカニズムの解明. 第 38 回日本臨床薬理学会学術総会 (横浜), 2017. 12.
- 9) 小出博義、辻本雅之、竹内あい、田中美優、池上葉子、田上真優、阿部祥子、橋本実季、峯垣哲也、西口工司: 分子標的抗がん薬による OATP1B1 の活性変動は基質の種類により異なる. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018. 3.

〔その他〕

ホームページ等

<http://labo.kyoto-phu.ac.jp/byouyaku/byouin-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻本 雅之 (TSUJIMOTO MASAYUKI)
京都薬科大学 臨床薬学分野・講師
研究者番号 : 9 0 3 7 2 7 3 7

(2) 研究分担者

西口 工司 (NISHIGUCHI KOHSHI)
京都薬科大学 臨床薬学分野・教授
研究者番号 : 8 0 3 7 9 4 3 7

峯垣 哲也 (MINEGAKI TETSUYA)
京都薬科大学 臨床薬学分野・助教
研究者番号 : 1 0 5 4 9 3 0 6