

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19166

研究課題名(和文) 抗がん剤併用時の薬物吸収とIVIVEに関する研究

研究課題名(英文) The effect of 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(芝共立)・講師

研究者番号：50399143

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：抗がん剤の5-FUまたはイリノテカン暴露により誘発させた消化管障害のモデルラットにおいて、抗凝固薬ダビガトラン(DAB)の消化管吸収は有意に低下し、抗凝固作用も減弱した。さらに消化管吸収において薬物の排泄に寄与する輸送単体のP糖たんぱく質(P-gp)の発現量は、有意に上昇しており、P-gp基質であるDABの吸収低下の原因であると考えられた。続いて代表的P-gp基質のジゴキシン(DGX)を用いて検討した結果、5-FU暴露ラットの反転腸管法において、DGXの消化管取り込みは有意に低下した。一方で、イリノテカン誘発性消化管障害モデルラットでのDGXの消化管吸収は、有意な低下は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：5-Fluorouracil (5-FU) and Irinotecan, an anticancer drug, causes severe gastrointestinal damage, which may affect the absorption of orally administered drugs including the substrates of intestinal uptake and efflux transporters. This study aimed to investigate quantitatively the effect of 5-FU or Irinotecan-induced intestinal damage on the PK/PD of Dabigatran using rat model. The 5-FU and Irinotecan-induced intestinal damage may affect transporter-mediated drug absorption of orally administered drugs in the clinical setting.

研究分野：臨床薬物動態学

キーワード：消化管障害 抗がん剤 トランスポーター バイオアベイラビリティ ダビガトラン

1. 研究開始当初の背景

5-Fluorouracil (5-FU) は胃がんや大腸がん等の化学療法の key drug であるが、重篤な消化管障害を引き起こす。消化管障害時には、小腸絨毛の萎縮や脱落などにより薬物の消化管吸収に影響を与える可能性がある。しかし、臨床上、経口で用いられる薬物の吸収に対する消化管障害の影響については明らかになっていない。また、同様に、イリノテカンには副作用として下痢を伴う重篤な消化管障害を引き起こす抗がん剤である。これら抗がん剤による消化管障害は、糖類やビタミン類の消化管吸収を変動させることが報告されており、臨床上で経口投与される併用薬の消化管吸収にも影響を及ぼす可能性がある。しかし、こうした消化管障害が併用薬の消化管吸収に及ぼす影響についてはほとんど明らかにされていない。

P 糖タンパク質 (P-gp) の基質である経口抗凝固薬ダビガトランエテキシラート (DABE) は、ヒトにおけるバイオアベイラビリティ (BA) が約 7% と低く、消化管障害によって吸収過程が影響を受けた場合、その体内動態や薬効 (PK/PD) に大きな影響が出る可能性がある。我々はこれまでに 5-FU 投与により消化管障害を誘発させたモデルラットにおいて、P 糖タンパク質 (P-gp) 基質である抗凝固薬 dabigatran etexilate (DABE) の経口バイオアベイラビリティ (BA) が正常時の約 0.38 倍に低下することを明らかにしているが、この BA 低下の要因は不明である。

2. 研究の目的

本研究では上記モデルラットを用いて、5-FU 誘発性消化管障害が P-gp を介した薬物吸収過程に及ぼす影響、ならびに、他の代表的なトランスポーターである peptide transporter (Pept) 1 及び breast cancer resistance protein (Bcrp) に対する影響について検討を行った。また、イリノテカン誘発性消化管障害時における DABE の消化管吸収動態変動を明らかにすることを目的とし、イリノテカン連続投与により消化管障害を誘発させたモデルラットを作成し、DABE の PK/PD を評価するとともに、吸収動態に寄与する因子として小腸 P-gp 発現量と受動拡散経路の変動について検討した。

3. 研究の方法

5-FU 誘発性消化管障害モデルラットの作出
Sprague Dawley 系雄性ラットに 5-FU 水溶液 (30 mg/kg/day) あるいは水 (1 mL/kg/day) を 5 日間連続経口投与し、それぞれ 5-FU 群、control 群とした。最終投与から 24 時間後 (day 6) に各実験を行った。

ラット小腸における P-gp, Pept1, Bcrp の mRNA 及びタンパク質発現量の評価

小腸の各部位 (上・中・下部) を摘出し、上皮粘膜組織における P-gp, Pept1, Bcrp の mRNA 及びタンパク質発現量をそれぞれ定量的リアルタイム PCR 法及び Western blotting 法により定量した。また、調製した試料溶液を脱糖鎖酵素 PNGase F 処置することにより P-gp タンパク質の糖鎖修飾の影響についても検討した。

ラット反転腸管法を用いた P-gp 基質薬物 digoxin に対する輸送機能の評価

常法に従って反転腸管を作製し、P-gp 基質である [³H]digoxin (DGX) 及び受動拡散マーカーである [¹⁴C]antipyrine (ANT) を含む薬液中で 120 分間インキュベーションした。反転腸管内液中の各放射活性を経時的に測定し、得られた放射活性から DGX 取込量と ANT 取込量の比 (= DGX/ANT ratio) を算出した。

P-gp 基質薬物 digoxin 及び Pept1 基質薬物 cefalexin のラット体内動態解析

各群に DGX (40 µg/kg) もしくは cefalexin (CEX, 10 mg/kg) を経口投与し、その後経時的に採血した。血漿中 DGX 及び CEX 濃度はそれぞれ LC-MS/MS 法、HPLC-UV 法により定量した。その翌日 (day 7) に DGX (300 µg/kg) もしくは CEX (10 mg/kg) を静脈内投与し、同様に血漿中濃度推移を評価し、個体ごとの BA を算出した。

P-gp 発現量および受動拡散経路に関する検討

本モデルラットから小腸組織を摘出し、P-gp 発現量を Western blotting 法で解析した。また、本モデルラットに受動拡散マーカーとしてアセトアミノフェン (APAP) 6.7 mg/kg を経口および静脈内投与した。血漿中 APAP 濃度は HPLC-UV 法にて定量した。

イリノテカン誘発性消化管障害モデルラットの作出

SD 系雄性ラットにイリノテカン 60 mg/kg または生理食塩水を 1 日 1 回 4 日間尾静脈に連続注射した。投与開始から経日的な体重、食餌量、便数、便重量の計測、投与 5 日目の便の状態 (スコア) および小腸組織スライス切片の観察を行い、それらが既報 1, 2 の消化管障害の程度と同等であることを確認することによって本モデルラットとした。

1. Kurita, A. et al. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 46, 211-220 (2000).
2. Takasuna, K. et al. *Cancer Res.* 56, 3752 (1996).

DABE の PK/PD 解析

イリノテカン投与開始後 5 日目に本モデルラットに DABE 3.0 mg/kg を経口投与し、続けて 6 日目に DABE の活性代謝物であるダビガトラン (DAB) 0.056 mg/kg を静脈内投与し、それぞれ経時的に採血した。血漿中 DAB 濃度は LC/MS/MS 法にて定量した。また、DABE の抗凝固作用は、DABE 投与前に対する投与後の活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の比 (APTT 比 = APTTpost / APTTpre) を指標として評価した。

P-gp 発現量および受動拡散経路に関する検討

本モデルラットから小腸組織を摘出し、P-gp 発現量を Western blotting 法で解析した。また、本モデルラットに受動拡散マーカーとしてアセトアミノフェン (APAP) 6.7 mg/kg を経口および静脈内投与した。血漿中 APAP 濃度は HPLC-UV 法にて定量した。

4. 研究成果

5-FU 誘発性消化管障害時における小腸 P-gp 発現及び輸送機能

5-FU 群の小腸上部における P-gp (*Mdr1a*) mRNA 発現量に有意な変化は認められなかったが、P-gp タンパク質発現量は、control 群の約 15 倍に増加していた (Fig. 1A)。また、5-FU 群では糖鎖付加の亢進も観察された (data not shown)。反転腸管法において、5-FU 群の小腸上部における DGX/ANT ratio は、control 群の約 0.38 倍に低下しており (Fig. 1B)、P-gp による DGX 輸送の亢進が示唆された。一方、小腸の中・下部における P-gp 発現量及び糖鎖修飾、並びに P-gp の輸送活性に変化は認められなかった。以上より、5-FU 誘発性消化管障害時には、糖鎖付加が亢進し、かつ輸送活性を持つ P-gp の発現量が、小腸上部限定的に増加することで、基質薬物の吸収低下が引き起こされている可能性がある。

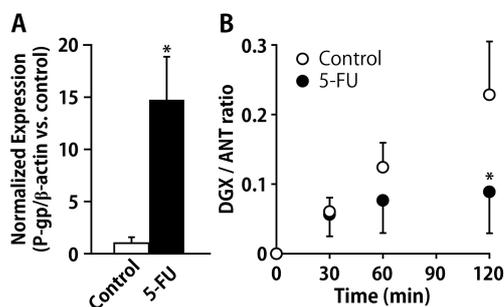


Fig. 1 5-FU 曝露時のラット小腸上部における P-gp タンパク質発現量 (A) および DGX 取込量 / ANT 取込量比 (B) mean ± SD, n = 5, *; p < 0.05

5-FU 誘発性消化管障害時における DGX 経口投与時の体内動態

DGX 経口投与時の 5-FU 群における平均吸収時間 (MAT) は、control 群の約 3.0 倍に延長

していたが、DGX 最高血漿中濃度 (C_{max})、血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) 及び BA に有意な差は認められなかった (Data not shown)。先行研究においては、DABE の C_{max} (0.32 倍 vs. control)、AUC (0.50 倍) 及び BA (0.38 倍) は、有意に低下していた。この違いの要因として、両薬物では能動輸送と受動拡散の寄与や、主な吸収部位が異なることが挙げられる。例えば DABE は主に小腸上部で吸収されるため、5-FU 曝露による小腸上部 P-gp 発現量増加の影響を強く受ける一方で、DGX は小腸全体にわたって吸収され、上部における吸収低下の影響が比較的小さかった可能性がある。

5-FU 誘発性消化管障害時の Pept1 及び Bcrp 発現、並びに CEX 経口投与時の体内動態

5-FU 群の小腸上皮粘膜における Pept1 及び Bcrp の発現量は control 群の約 2~3 倍に増加していた (data not shown)。一方、Pept1 基質薬物 CEX の体内動態は両群でほぼ同等であった (data not shown)。以上より、小腸トランスポーターに対する 5-FU 誘発性消化管障害の影響は、質的にも量的にもトランスポーター毎に異なることが示唆された。

イリノテカン曝露による消化管障害の誘発イリノテカン投与群では体重、食餌量、便数、便重量の経日的な減少と重篤な下痢が確認された (Data not shown)。また、小腸組織スライス切片からは小腸絨毛の萎縮や短縮が観察された (Fig. 2)。これらは既報 1, 2 のラットにおけるイリノテカンによる消化管障害の程度と同等であった。

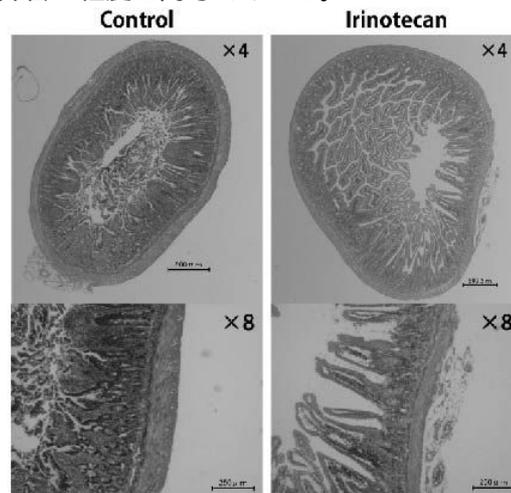


Fig. 2 イリノテカン投与5日目のラット小腸切片画像

イリノテカン誘発性消化管障害時における DABE 経口投与時の体内動態

本モデルラットにおける DABE の最高血中濃度 (C_{max})、血中濃度 時間曲線下面積 (AUC) および BA は、control 群に比べてそれぞれ、83%、68%、84% 有意に低下し、APTT 比は、51% の有意な低下、すなわち抗凝固能

の減弱が観察された (Data not shown)。また、両群の DABE の PK/PD には正の相関が認められた。従って、本モデルラットでは、DABE の BA が低下し DAB 血漿中濃度が低下することにより、その薬効も低下したと考えられる。

本モデルラットの小腸 P-gp 発現量は、control 群と比べ約 2~5 倍に上昇していた。一方、APAP 経口投与後の Cmax および AUC は、control 群に比べ 46%、24% 低下していた。また、平均吸収時間は 134% 増大傾向、すなわち APAP の吸収遅延が示唆された。

【総括】

5-FU 誘発性消化管障害時には P-gp 基質薬物の吸収動態が変動する可能性があるが、その変動の程度は基質薬物ごとに異なることが示唆された。イリノテカン誘発性消化管障害モデルラットにおいて、DABE の消化管吸収と薬効の低下が示された。その要因として小腸 P-gp 発現量上昇が考えられた。臨床においても、5-FU やイリノテカン使用時には DABE の消化管吸収と薬効が低下する可能性があるため、APTT を注意深くモニターする必要があり、投与量の調節や別の抗凝固療法への切り替えが必要かもしれない。また、イリノテカン誘発性消化管障害時には P-gp 発現量が増加し、一般に P-gp 基質薬物の消化管吸収が低下する可能性がある。

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 2 件)

1) Tsujii K, Hattori T, Imaoka A, Akiyoshi T, Ohtani H. 5-FU-induced gastrointestinal damage impairs the absorption and anticoagulant effects of dabigatran etexilate. *J Pharm Sci* 2018 107 1430-1433. (査読有)

2) Yotsumoto K, Akiyoshi T, Wada N, Imaoka A, Ohtani H, 5-Fluorouracil treatment alters the expression of intestinal transporters in rats *Biopharm. Drug Dispos.* 2017 38 (8): 509-516. (査読有)

[学会発表](計 7 件)

1) 土谷聡耀、今岡鮎子、秋好健志、大谷壽一。イリノテカンによる消化管障害がジゴキシンの吸収に与える影響。第 61 回日本薬学会関東支部会 東京, 2017, 9 優秀発表賞受賞

2) 四元敬一、今岡鮎子、秋好健志、大谷

壽一。5-FU 誘発性消化管障害時のジゴキシンの吸収変動。第 1 回フレッシュャーズ・カンファランス, 東京 2017, 6 優秀発表賞受賞

3) 服部智貴, 今岡鮎子, 秋好健志, 大谷壽一。イリノテカン誘発性消化管障害時におけるダビガトランの吸収動態変動とその要因。日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017.3

4) 四元敬一, 今岡鮎子, 秋好健志, 大谷壽一。5-FU 曝露によるトランスポーター基質薬物の吸収過程への影響。第 10 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 前橋, 2016.11

5) 服部智貴, 今岡鮎子, 秋好健志, 大谷壽一。イリノテカンによる消化管障害がダビガトランの吸収に及ぼす影響。第 26 回日本医療薬学会年会, 京都, 2016.9

6) 四元敬一, 秋好健志, 今岡鮎子, 大谷壽一。5-FU 誘発性消化管障害時における各種薬物トランスポーターの発現変動。第 11 回トランスポーター研究会, 京都, 2016.7

7) 和田直樹, 秋好健志, 今岡鮎子, 辻井一成, 大谷壽一。抗がん剤曝露時のダビガトラン クラリスロマイシン薬物相互作用に対する消化管障害の影響。第 9 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 千葉 (2015/11)

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・専任講師
研究者番号: 50399143

(2) 研究協力者

大谷 壽一 (OHTANI Hisakazu)
今岡 鮎子 (IMAOKA Ayuko)
辻井 一成 (TSUJII Kazunari)
和田 直樹 (WADA Naoki)
四元 敬一 (YOTSUMOTO Keiichi)
服部 智貴 (HATTORI Tomoki)
土谷 聡耀 (TSUCHITANI Toshiaki)