

令和元年6月6日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08416

研究課題名(和文) 肺MAC症治療におけるクラリスロマイシンとフルオロキノロン系抗菌薬の薬物相互作用

研究課題名(英文) Study on the drug interaction between clarithromycin and quinolone antibiotics in the treatment for pulmonary Mycobacterium avium complex disease

研究代表者

青山 隆夫 (Aoyama, Takao)

東京理科大学・薬学部薬学科・教授

研究者番号：60262028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肺MAC症治療のクラリスロマイシン(CAM)にリファンピシン(RFP)などを加えた多剤併用療法で無効あるいは副作用が発現した場合に、レボフロキサシン(LVFX)等のキノロン系抗菌薬を併用すると治療効果が減弱する。本研究は、肺MAC症患者を想定したRFP前処置マウスに、CAMおよびLVFXを経口投与後のCAMの体内動態から相互作用の有無を明らかにした。CAM;LVFXの各併用量比において、血漿中濃度に変化は認められなかった。一方、LVFX併用により肺組織から気道上皮被覆液(ELF)へのCAM移行率が低下する傾向が見られた。気道上皮細胞上のMDR1で両剤が拮抗したことが原因と考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年増加傾向にあるMycobacterium aviumを原因菌とする肺MAC症の治療は主薬のクラリスロマイシン(CAM)にリファンピシン(RFP)などを併用する。治療に難渋する場合にはレボフロキサシン(LVFX)等のキノロン系抗菌薬が併用するが、反対に効果が減弱することがある。そこで、肺MAC症患者を想定したRFP前処置マウスにCAMおよびLVFXを経口投与後のCAMの体内動態を検討した結果、LVFX併用により肺組織から治療標的部位の気道上皮被覆液(ELF)へのCAM移行率が低下する傾向が見られた。患者においても同様の現象が起きている可能性があり、治療において留意すべきであると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We reported that the combination therapy of levofloxacin (LVFX) and recommended regimen, which includes clarithromycin (CAM) and rifampicin (RFP) aggravated clinical outcome of pulmonary Mycobacterium avium complex (MAC) disease. We considered that the pharmacokinetic interaction that lowering the concentration of CAM at the therapeutic target site (epithelial lining fluid; ELF) was the cause of poor clinical outcome, we investigated the pharmacokinetic interaction between CAM and LVFX in RFP pretreated mice. CYP3A expression level was increased in liver and small intestine, and MDR1 also increased in lung, but there were no significant differences in the concentrations of CAM in ELF between CAM;LVFX group (20;150, 40;100, 60;50 mg/kg p.o.) and CAM group. However, the transfer rate of CAM to ELF decreased with increasing doses of LVFX. Our results suggested that taking CAM, LVFX and RFP in combination may cause aggravation of the clinical outcome of MAC disease.

研究分野：医療薬学

キーワード：肺MAC症 クラリスロマイシン リファンピシン レボフロキサシン キノロン系抗菌薬 薬物相互作用  
MDR1 気道上皮被覆液

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

肺 *Mycobacterium avium* complex (MAC) 症の治療は、主薬のクラリスロマイシン (CAM) にリファンピシン (RFP) とエタンブトール (EB) を加えた多剤併用療法が推奨されている。この治療に対して無効あるいは副作用が発現した場合には、レボフロキサシン (LVFX) 等のキノロン系抗菌薬を併用することがある。しかし、肺 MAC 症患者を対象とした本研究室の後ろ向き臨床研究において、Control 群 (CAM + RFP + EB) と LVFX 併用群 (CAM + RFP + EB または CAM + RFP + LVFX) の喀痰中菌陰性化率を比較した結果、両剤の併用で治療成績が低下することが示された。この原因は薬物動態上の相互作用にあると仮定しているが、マウスに CAM および LVFX を経口投与後の薬物動態を調査した本研究室の *in vivo* 実験において、LVFX 併用下においても CAM の体内動態に変化は認められなかった。臨床において、肺 MAC 症患者は RFP を服用しており、MDR1 および CYP3A が誘導された状態であると考えられる。CAM および LVFX はともに MDR1 の基質であり、CAM は CYP3A による代謝を受けることから、RFP は両剤の体内動態に影響を及ぼすことが予想される。

## 2. 研究の目的

肺 MAC 症患者を想定した RFP 前処置マウスに、CAM および LVFX を経口投与後の CAM の体内動態から、薬物動態上の相互作用の有無を明らかにすることを目的とした

## 3. 研究の方法

### (1) RFP 前処置マウスにおける MDR1 および CYP3A タンパク質発現量の評価

精製水に RFP を懸濁した RFP 懸濁液 (8.75 mg/mL) を 50 mg/kg の投与量で経口投与した群を RFP 前処置群 (n=8) とし、精製水を投与した群を対照群 (n=8) とした。両群ともに 1 日 1 回 5 日間経口投与を行なった。RFP 最終投与の 24 hr 後に脳、肺、肝臓および小腸を採取した。各組織を生理食塩水で洗浄した後、液体窒素中で急速凍結し、サンプル処理まで -80 で凍結保存した

凍結した各組織をミキサーミルで粉砕し、超音波処理した後、遠心分離し、上清を採取することでタンパク質抽出液を得た。BCA タンパク質アッセイキットによりタンパク質量を定量した。サンプルからタンパク質を分離し、MDR1、CYP3A、 $\alpha$ -actin にそれぞれ 1 次抗体と 2 次抗体を反応させた。タンパク質の検出には、高感度 HRP 用発光試薬を用い、画像解析システムとしては ChemiDoc™ XRS+ を用いた。また、Image Lab 6.0 を用いてデンストメトリー解析を行い、各タンパク質発現量を定量した。

### (2) RFP 前処置条件下において CAM に LVFX を併用することによる CAM 薬物動態への影響の検討

一昼夜絶食させたマウスを対照群 (n=5) または RFP 前処置群 (n=8) に無作為に振り分け、対照群には精製水、RFP 前処置群には RFP 懸濁液 (8.75 mg/mL) を 50 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 5 日間経口投与した。最終投与から 24 時間後に各群のマウスを CAM (20, 40, 60 mg/kg) 単独投与群 (n=8) または CAM-LVFX (20-150, 40-100, 60-50 mg/kg) 併用投与群 (n=8) に無作為に振り分け、2.5%アラビアゴム水溶液に懸濁した CAM または CAM と LVFX を経口で単回投与した。所定の時間 (投与 4 hr 後) に腹大静脈から約 0.5 mL 採血した。採血後、マウスの気管支にカニューレを挿管し、そこへ 37 に加温した生理食塩水 0.5 mL を注入し、約 0.3 mL の気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid: BALF) を得た。生体試料を遠心分離して得た上清は、定量まで -80 で凍結保存した。加えて、肺組織の採取をし、生理食塩水で洗浄した後、定量まで -80 で凍結保存した。

生体試料中 CAM 濃度は、Oswald らの報告を改変した LC-MS/MS 法により測定した。ELF 中 CAM 濃度の換算は、Quanti Chrom Urea Assay Kit (Bio Assay Systems) を用いて血漿および BALF 中尿素窒素濃度を測定することにより行った。

## 4. 研究成果

### (1) RFP 前処置マウスにおける MDR1 および CYP3A タンパク質発現量の評価

RFP 前処置群における MDR1 発現量は、Control 群に小腸では増加傾向が認められ、肺では有意な増加が認められた。RFP 前処置群における CYP3A 発現量は、Control 群に比べ、肝臓および小腸で有意な増加が認められた。

RFP 前処置により、RFP により、核内受容体である Pregnane X receptor (PXR) が活性化し、各タンパク質の転写が促進されたことが原因と考えられる。RFP 服用により、ヒトやマウスで小腸における MDR1 タンパク質発現量が増加することが報告されているが、肺での MDR1 タンパク質発現量変化を調査した報告はなく、本研究により、マウスにおいて RFP が肺の MDR1 発現を誘導することが明らかとなった。

### (2) RFP 前処置群マウスまたは Control 群マウスに CAM 単剤投与時の体内動態

CAM 単剤投与時の血漿、肺組織および ELF 中 CAM 濃度は、RFP 前処置により有意に減少した。小腸や肝臓で CYP3A が誘導されたことにより、小腸における吸収低下および肝臓での代謝亢進が生じたことが原因と考えられる。現在、肺 MAC 症治療に RFP が用いられるが、RFP の有効性

を示す十分なエビデンスはない。RFP は主薬である CAM のバイオアベイラビリティを著しく低下させることから、RFP 併用の必要性について検討する必要があると考える。

### (3) RFP 前処置マウスに CAM 単独または CAM-LVFX 併用投与時の CAM 体内動態

平均血漿中 CAM 濃度は CAM 群と CAM-LVFX 群で有意差は認められなかった。平均肺組織中 CAM 濃度は CAM 群と CAM-LVFX 群で有意差は認められなかった。平均 ELF 中 CAM 濃度は CAM 群と CAM-LVFX 群で有意差は認められなかった。

平均 ELF 中 CAM 濃度を平均肺組織中 CAM 濃度で除し、肺組織から ELF への CAM 移行率を算出した。CAM 移行率は、CAM 群で  $0.56 \pm 0.45$  (CAM: 20 mg/kg),  $0.60 \pm 0.48$  (40 mg/kg),  $0.63 \pm 0.32$  (60 mg/kg), CAM-LVFX 群で  $0.40 \pm 0.14$  (CAM-LVFX: 20-150 mg/kg),  $0.69 \pm 0.49$  (40-100 mg/kg),  $0.95 \pm 1.13$   $\mu\text{g/mL}$  (60-50 mg/kg) であった (Figure 1)。

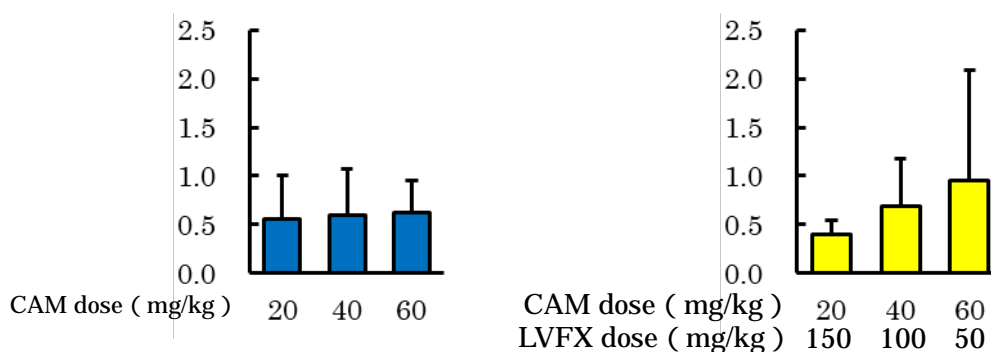


Fig. 1 CAM 単独投与時の血漿、肺組織および ELF 中 CAM 濃度 (n=6-8, mean±S.D.)  
Dunnnett 検定 CAM20 vs CAM40, 60 mg/kg CAM20-LVFX150 vs 40-100, 60-150 mg/kg

RFP 前処置マウスに CAM-LVFX を投与した際の血漿、肺組織および ELF 中 CAM 濃度は CAM 単剤群と有意な差は認められなかった。一方、肺組織から ELF への CAM 移行率は、LVFX の用量の増加に伴い減少する傾向が見られた。CAM の ELF 移行には MDR1 が関与することから、気道上皮細胞上の MDR1 で CAM と LVFX が拮抗した可能性がある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

中村真菜、河野洋平、下村斉、青山隆夫、肺 MAC 症治療におけるクラリスロマイシンとキノロン系抗菌薬の相互作用に関する研究 - マウスの気道上皮被覆液への移行性からの検討 - 日本薬学会第 138 年会、金沢、Mar, 2018

有賀あいみ、池澤知華、浅賀香里、中村真菜、河野洋平、下村斉、青山隆夫、肺 MAC 症治療におけるクラリスロマイシンとキノロン系抗菌薬の相互作用に関する研究 (2) - マウスの気道上皮被覆液への移行性からの検討 -、日本薬学会第 139 年会、千葉、Mar, 2019

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：

番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。