

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15393

研究課題名（和文）緩和医療でのワルファリン適正使用に向けた、鎮痛薬-ワルファリン相互作用の機序解明

研究課題名（英文）Mechanism elucidation of analgesic-warfarin interaction for proper use of warfarin in palliative medicine

研究代表者

石井 浩二 (ISHII, Koji)

長崎大学・病院（医学系）・助教

研究者番号：40404248

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では緩和医療を受ける患者の体内でのワルファリン（S体、R体）あるいは代謝物の量を調べた結果、血中濃度が低いと予想したS体がR体と同程度の患者や、比較的少ないとされる10-ヒドロキシワルファリンが7-ヒドロキシワルファリンよりも多い患者が認められ、鎮痛薬の併用でワルファリンの体内動態が予想された。一方、ワルファリンと代謝物の血中濃度に個別の抗凝固活性を加味した“actual anticoagulant activity”を算出したところ、PT-INR・ワルファリン週間投与量・actual anticoagulant activityの間に指数関数式が成立することがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗凝固作用をもつワルファリンは医療上広く使われている。しかし、ワルファリンの効果の強さは個人差が大きく、これまで遺伝子による予測などが試みられてきたが、有効との判断はなされていない。本研究では、鎮痛薬を多用する緩和医療を受けている患者のワルファリンの体内寿命（体内から出ていくまでの過程や速さ）が通常と異なることを見出した。また、ワルファリンと体内で変化した代謝物を個別に測定し、測定値とそれぞれの活性値を掛け合わせた実活性がワルファリンの投与量と相関することを明らかにした。以上の結果は、ワルファリンの適正使用に大きく貢献するものと期待される。

研究成果の概要（英文）：The present study was undertaken to examine whether in vivo vitamin K epoxide reductase complex 1 (VKOR) “actual” antagonism activity, calculated by the concentrations and the reported anticoagulant activities of the R- and S-warfarin enantiomers and their metabolites, correlates with the weekly dose of warfarin. Five patients under palliative care were enrolled in our study and 20 serum samples were analyzed by an enantioselective high-performance liquid chromatography ultraviolet detection method. In vivo VKOR inhibition activities of S-warfarin, R-warfarin, 7- and 10-hydroxywarfarin were calculated as the ratio of drug or metabolite concentration to the IC50. The mean drug concentrations (\pm SD) of S- and R-warfarin, 7-hydroxywarfarin and 10-hydroxywarfarin were 334 ± 154 ng/ml, 370 ± 115 ng/ml, 42 ± 15 ng/ml and 80 ± 44 ng/ml, respectively. Good correlation ($R^2 = 0.69-0.72$) was obtained between the weekly warfarin dose and the ratios of INR/ actual antagonism activity.

研究分野：麻酔科

キーワード：ワルファリン 光学異性体

1. 研究当初の背景

抗凝固作用をもつワルファリンは医療上広く使われている。しかし、ワルファリンの効果の強さは個人差が大きく、これまで遺伝子による予測などが試みられてきたが、有効との判断はなされていない。近年、医療技術や治療薬の発展により心臓弁膜症に対して弁置換術を行った後の患者生存期間は延長している。また、同様のがん患者においても、特になん対策基本法制定後の国を挙げてのがん対策によりがん患者の治療期間、生存期間も延長している。また、がん対策基本法でがん治療中の患者においても緩和ケアの充実が図られ緩和医療のサービスを受ける患者が増えている。それに伴い医療用麻薬を使用しているがん患者も増加しているが、ワルファリンと鎮痛薬の相互作用は以前から知られているもののその機序はいまだ不明である。ワルファリンを服用中のがん患者に痛みが生じた場合であっても安全に鎮痛薬調整を行えることは意義があると考えられる。

2. 研究の目的

ワルファリンは臨床で長年汎用されてきたが他の薬剤や食品との相互作用が多く、その作用機序も不明なものが多い。直接経口抗凝固薬 (DOAC: direct oral anticoagulants) が登場し、使用が減少傾向にあるが、現時点で DOAC がワルファリンに比べ深部静脈血栓予防に優れているとの報告はなく、相互作用に注意しながら今後もワルファリンの使用は続くと予想される。これまで、ワルファリンの相互作用機序は遺伝子解析を中心に進められてきたが、各代謝酵素の変異をもつ日本人は数%程度であり、国内使用に有用な情報ではなく、またもともとの代謝活性では相互作用を説明できない事例が多い。本研究では、(1) 緩和医療を受けている患者や心臓弁膜手術後管理でワルファリンが今後も使用されること、(2) 鎮痛薬との相互作用でワルファリンの抗凝固作用が変化することを念頭に「緩和医療や心臓弁膜置換術後に鎮痛薬とワルファリンを併用した日本人患者のうち、抗凝固能が増加した患者で代謝物がどのように変化したのか？」という点を調べる。

3. 研究の方法

(1) ワルファリン (S 体・R 体) および代謝物の血中濃度測定法の確立

先に開発したワルファリンの光学異性体のキラル分離に加え、7-および 10-ヒドロキシワルファリンの定量が同時に可能な HPLC-UV 法を確立する。具体的には S-および R-ワルファリン、7-および 10-ヒドロキシワルファリンを Chiralcel OD-3R で分離し、それぞれを紫外可視吸光度で定量する。各物質の標準品を入手し、検量線を作製して良好な定量性が得られるシステムを確立する。

(2) 緩和治療中ならびに心臓弁膜置換術後管理中の患者の血中濃度測定

ワルファリン使用中の上記患者のうち、鎮痛薬を併用する患者を抗凝固能増加群と非増加群に分け、(1) で確立したシステムを用いて、ワルファリン (S 体、R 体) および代謝物の血中濃度を測定する。本研究では、各群の患者のワルファリンおよびその代謝物の測定を行い、鎮痛薬使用前後の増加率を患者ごとに算出する。得られた各群の増加率について、2 群間の

Student's t 検定により、有意差の有無を調べる。ただし、この際に鎮痛薬以外の要因が血中濃度の増加に影響していないかを慎重に吟味する。例えば、オキシコドン以外に抗凝固能増加群に共通して併用されている薬剤がないか、または合併症がないか、などの要因が考えられる。特に、CYP2C9、CYP2C19 あるいは CYP3A4 を阻害する薬剤が併用されていないか、注意深く調査する。研究代表者が所属する緩和ケアチームが 2017 年 10 月時点で介入中の患者 24 名のうちワルファリン服用中の患者は 4 名であり、その全員がオキシコドンを内服中である。当院緩和ケアチームは年間に 300～350 名の患者に対して介入しており、対象患者は年間で数十名に上ると予想されるため、本研究の目標患者数を 100 名に設定する。なお、患者の選定と検体採取は以下の基準で行う。当院緩和ケアチームへ紹介された患者のうち、オピオイドが必要ながん性疼痛を有するワルファリン使用患者とする。口頭と文書により同意を取得した後にワルファリンの効果 PT、APTT を用いて評価する。

(3) in vitro 阻害実験

(2)の詳細な解析で、鎮痛薬併用以外にワルファリンあるいは代謝物の増加に伴う PT-INR の延長が説明できない場合に、鎮痛薬によるワルファリンの代謝阻害実験を行う。

(4) 相互作用に關与する CYP 以外の酵素の特定

血中濃度の測定結果から CYP 以外の酵素の關与が疑われた場合は、抗ワルファリン抗体を固定化した磁気ビーズを調製し、ヒト血中でワルファリンと結合している酵素タンパク質を回収した後、質量分析装置で酵素を特定する。具体的には、回収された酵素タンパク質をトリプシン消化し、得られたペプチドを LC-MS/MS で分析する。そして、MS/MS スペクトルをヒトタンパク質データベースの理論的 MS/MS スペクトルと照合することで、酵素タンパク質を同定する。最後に同定された酵素の市販品を用いて、in vitro の阻害実験で、酵素阻害が起きているか否か、阻害が起きていればどの程度阻害するのかについて調べる。

上記のような方法での研究を行った。開始後は当院緩和ケアチームへ紹介される患者のうちワルファリン使用中の患者に対して、口頭及び文書により同意を得たのちに試験への参加とした。参加後、がん治療を行う各診療科の採血に合わせて研究用の採血を追加して検体を得ている。現時点では 6 名の患者を登録しており解析を進めている。参加患者が予定よりは集まっていないが、現在集まっている患者のうち採血回数の多い患者を対象に解析を進め学会発表「ワルファリンおよびその代謝物のキラル分離定量にもとづく、緩和治療中患者の体内動態変動に関する検討」を行った。

4 . 研究成果

本研究では緩和医療を受ける患者において、ワルファリンと医療用麻薬を含めた鎮痛薬との併用による相互作用により、ワルファリンの代謝がどのように影響を受けワルファリンの抗凝固作用が変化するのかを調査することを目的とした。当初は数十人の患者をリクルートして調査を行う予定としていたが、リクルートできた患者数が少なく、また、緩和医療を受けている患者のため、全身状態の変化が大きく長期間にわたって複数回のサンプルを採取することができなかった患者が予想よりも多かった。

当初の計画通りには調査が進まなかったため、代替策としてワルファリンの体内での動態に注目した調査に変更して調査を継続した。ワルファリンの体内での S 体、R 体、あるいはワルフ

ァリン代謝物の量を調べた結果、血中濃度が低いと予想した S 体が、R 体と同程度の患者や、比較的少ないとされる 10-ヒドロキシワルファリンが 7-ヒドロキシワルファリンよりも多い患者が認められ、鎮痛薬の併用でワルファリンの体内動態が通常と異なることが予想された。

一方、ワルファリンと代謝物の血中濃度に個別の抗凝固活性を加味した “ actual anticoagulant activity ” を算出したところ、PT-INR・ワルファリン週間投与量・actual anticoagulant activity の間に指数関数式が成立することがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kobayashi Shuhei, Ishii Koji, Yamada Yasuko, Ryu Emi, Hashizume Junya, Nose Seiichi, Hara Tetsuya, Nakashima Mikiro, Ohyama Kaname	4. 巻 47
2. 論文標題 Combination index of the concentration and in vivo antagonism activity of racemic warfarin and its metabolites to assess individual drug responses	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Thrombosis and Thrombolysis	6. 最初と最後の頁 467 ~ 472
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11239-018-1780-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林周平, 石井浩二, 龍恵美, 橋詰淳哉, 能勢誠一, 山田靖子, 中嶋幹郎, 大山要
2. 発表標題 ワルファリンおよびその代謝物のキラル分離定量にもとづく, 緩和治療中患者の体内動態変動に関する研究
3. 学会等名 日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2018年 ~ 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	大山 要 (OHYAMA Kaname)		