

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究機関：2007～2009

課題番号：19380176

研究課題名（和文） イヌでの消炎ステロイド療法における動態学的薬物間相互作用の可能性

研究課題名（英文）： Possible pharmacokinetic drug-drug interaction during corticosteroid therapy in dogs

研究代表者

下田 実（SHIMODA MINORU）

東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・教授

研究者番号：50154323

研究成果の概要（和文）：本研究ではイヌにおいて汎用される消炎ステロイドが薬物間相互作用を引き起こす可能性について検討した。その結果、プレドニゾロン、ヒドロコルチゾンやトリアムシノロンでイヌを治療した際には薬物の酸化的代謝能や組織移行性を支配する血漿タンパク結合に影響する可能性が示された。このため、これらステロイドを一部の薬物と併用した場合、それら薬物の代謝速度や組織への移行性に影響し、その薬物の副作用を招く可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： In this study we examined possible pharmacokinetic drug-drug interaction by corticosteroid treatment in dogs. As a result, prednisolone, triamcinolone and hydrocortisone affected oxidative metabolism and the levels of drug binding protein in plasma. These corticosteroids may, therefore, result in adverse effects of some drugs, which are co-medicated, through altering biotransformation rate and distribution of the co-medicated drugs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2008 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2009 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
年度			
総計	9,500,000	2,850,000	12,350,000

研究分野： 獣医薬理学

科研費の分科・細目： 畜産学・獣医学

キーワード： 治療、薬物動態、薬物間相互作用、消炎ステロイド、イヌ

1. 研究開始当初の背景

消炎ステロイドは、小動物領域で汎用される薬物の一つである。消炎ステロイドのうち、デキサメタゾン (DXM) はシトクローム P450 3A (CYP3A) を誘導することがよく知られているが、この酵素が多くの薬物の酸化に関係するため、今までに多くの研究がラットやヒトでなされてきた。しかし、いずれの研究も臨床用量よりもはるかに高い用量を用いているため、これらの実験結果を臨床へ外挿することが困難であった。このため、我々は臨床用量を用いてラットで CYP3A の誘導について検討したが、予想に反して DXM は CYP3A 逆に down-regulate した。また、CYP2D も down-regulate した。CYP3A の down-regulation は CYP3A の基質であるキニジンの動態に影響したことから、CYP3A 基質と重篤な薬物間相互作用を引き起こす可能性が示唆された。

DXM は血漿中の塩基性薬物に対する結合タンパクである α_1 -酸性糖タンパク (AGP) 濃度に影響することが知られており、臨床用量投与では濃度を低下させ、高用量で増加させる。AGP 濃度の変動は塩基性薬物の血漿タンパク結合に影響し、その結果として薬物の分布にも影響する可能性がある。

2. 研究の目的

コルチコステロイドの作用は個々の薬物による特異性はなく、どの薬物でも同様の作用と

副作用を示す。したがって、DXM 以外のコルチコステロイドもまた、CYP3A を down-regulate し、血漿中 AGP 濃度を低下させる可能性が高いものと考えられる。このため本研究では、イヌに汎用されている DXM 以外の消炎ステロイドが CYP3A 酵素活性や血漿中 AGP 濃度に対してのどの程度影響するのか、また CYP3A 以外の CYP 活性に対しても影響するのか、臨床用量を用いた *in vitro* および *in vivo* の試験で検討し、これらの変化に起因する薬物間相互作用の可能性を明らかにすることを目的としている。本研究の成果は、消炎ステロイドによる薬物療法時の安全性を確保する上で、極めて有用な情報を提供する。

3. 研究の方法

(1) 消炎ステロイドの CYP 代謝への影響の *in vitro* 試験での評価

トリアムシノロン (TAN)、プレドニゾロン (PDSL) およびヒドロコルチゾン (HCS) 用い、抗炎症に対する臨床用量でビーグル犬を 1 週間経口処置し、肝マイクロソームを精製した。得られたマイクロソーム中のエトキシレゾルフィン脱エチル化活性 (CYP1A 活性)、トルブタミド水酸化活性 (CYP2C 活性)、プフラロール水酸化活性 (CYP2D 活性) およびミダゾラムの 1'位および 4 位の水酸化活性 (CYP3A 活性) を測定した。エトキシレゾルフィンの代謝産物は蛍光光度計

で、その他の代謝物はHPLC法によって測定した。得られたミカエリス・メンテン動態を解析し、最大速度とミカエリス定数を算出した。

また、影響の種特異性を明らかにする目的で、ラットでも同様の実験を行った。ラットではイヌの臨床用量に加え、高用量処置(臨床用量の5、あるいは10倍量)も行った。

(2)消炎ステロイドの CYP 活性に対する阻害作用の *in vitro* 試験での評価

PDSL、HCSおよびTANのCYP1A、2C、2Dおよび3A活性に対する阻害作用を、イヌおよびラットの肝マイクロソームを用いて検討した。阻害の程度は算出した阻害定数(K_i)によって評価した。 K_i の算出には、プログラムMULTIを用い、非線形最小自乗法によって算出した。

(3)血漿中 AGP 濃度への影響の評価

TAN、PDSLおよびHCSの臨床用量でイヌを1週間経口処置し、処置中の血漿中AGP濃度推移を検討した。AGP濃度は一元放射拡散法によって、市販キットで測定した。

(4)塩基性薬物の血漿中での結合動態

イヌでの血漿を用い、リドカイン、プロプラノロール、キニジン、リンコマイシン、クリンダマイシンの結合動態を検討した。薬物を様々な濃度で血漿に添加し、市販キットによって限外濾過した。得られた濾液中の薬物濃度をHPLC法によって測定した。結合動態を非線形最小自乗法によって解析し、最大結合濃度と解離定数を算出した。

AGPへの結合特性については、ダンシルザルコシンをプローブとして用いたクエンチング法によって評価した。イヌのAGP溶液中に薬物溶液を段階的に加え、結合型ダンシルザルコシンの蛍光強度を、蛍光光度計を用いて測定した。ダンシルザルコシンの結合に対する阻害の程度から、上記の塩基性薬物の解離定数を算出した。

アルブミンへの結合については、ワルファリン(Site 1 結合物質)および1-アニリノ-8-ナフタレ

ン硫酸(Site 2 結合物質)をプローブとして用い、これらの結合に対する阻害的作用をクエンチング法によって検討した。

(5)キニジンの体内動態に対する消炎ステロイド処置の影響

消炎ステロイドのCYP活性や血漿中AGP濃度への影響が、動態学的薬物間相互作用の原因となりうるかを明らかにする目的で、イヌにPDSLを4週間投与した。投与2週間前、投与開始2日後、2週間後および4週間後に、CYP3Aの基質でありAGPに対して高親和性を示すキニジンを静注し、その体内動態に対するステロイド処置の影響を検討した。血漿中キニジン濃度はHPLC法によって測定した。

また、ラットを用いてPDSLおよびHCS処置のキニジン動態に対する影響も検討した。イソフルランの吸入麻酔下で頸動脈および頸静脈にカニューレを装着した。麻酔から覚醒したのち、静脈カニューレから投与し、動脈カニューレから採血した。

4. 研究成果

(1)消炎ステロイドの CYP 代謝への影響の *in vitro* 試験での評価

イヌの試験で得られた最大速度に基づくと、CYP1A活性は有意な影響を受けなかったが、いずれのステロイド処置でも低下の傾向を示した。CYP2C活性はPDSL処置で有意に増加し、HCS処置で増加傾向を示した。CYP2D活性はTAN処置で低下の傾向を示した。CYP3A活性はPDSL処置で有意に増加した。以上の結果から、PDSLはイヌにおいて臨床用量処置でCYP2C及び3A活性を誘導する可能性が示唆された。

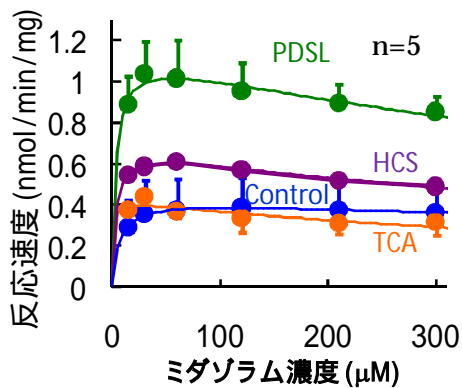


図1 イヌ肝マイクロソーム中のミダゾラムの1位水酸化反応への影響

ラットをこれらのステロイドで1週間経口処置し、各CYP活性への影響を検討した。その結果、低用量(イヌの臨床用量)および高用量(5倍あるいは10倍量)のいずれのステロイド処置でもCYP1A、2C、2Dおよび3A活性は有意に低下した。したがって、これらのステロイドはラットにおいてはCYPをdown regulateする可能性が示唆された。このため、消炎ステロイドのCYP酵素への影響は動物種によって異なることが示唆された。

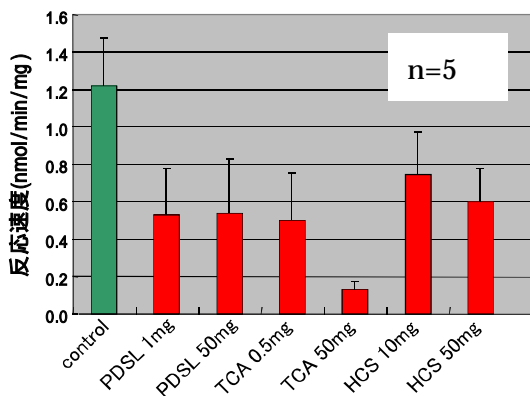


図2 ラット肝マイクロソーム中のミダゾラムの1位水酸化活性への影響

(2)消炎ステロイドのCYP活性に対する阻害作用の *in vitro* 試験での評価

イヌにおいては、いずれのステロイドもCYP1A、2Cおよび2D活性に対しては比較的弱い阻害作用を示し、CYP3A活性に対して比較的強い阻害作用を示した。特にHCSでは、臨床においてCYP3Aの基質となる薬物と有意な薬物間相互作用を引き起こす可能性が示唆された。一方、ラットにおいては、いずれのCYP活性に対しても、阻害作用は比較的弱かった。

イヌのCYP3A活性に対する阻害定数

ステロイド	K _i 値(μM)
PDSL	62.7 ± 40.3
TCA	20.1 ± 13.4
HCS	21.3 ± 12.7

mean ± S.D. (n = 4)

(3)血漿中AGP濃度への影響の評価

その結果、いずれのステロイド処置においてもAGB濃度は減少の傾向を示した。一方、ラットではいずれの消炎ステロイドでも増加の傾向を示した。これに対し、ラットにイヌの臨床用量およびその5倍量あるいは10倍量を投与した場合、TANおよびHCS処置ではAGB濃度は有意に上昇した。PDSL処置では、高用量で有意に上昇した。したがって、消炎ステロイドのAGP濃度への影響も、動物種によって異なる可能性が示唆された。

(4)塩基性薬物の血漿中での結合動態

リドカイン、プロプラノロール、キニジン、リンコマイシン、クリンダマイシンは、いずれも低濃度で高い血漿タンパク結合率を示し、算出された解離定数は数μMあるいは1μM以下(0.23~3.84μM)であった。イヌのAGP溶液とアルブミン溶液を用い、これら薬物の結合を検討した結果、いずれも主要な結合タンパクはAGPであることが示された。したがって、ステロイド処置中にこれらの塩基性薬物を併用した場合、3.で観察されたAGP濃度の変動によって血漿タンパク結合の変化を介した薬物間相互作用が起こる可

能性が示唆された。

イヌの血漿中での塩基性薬物の結合動態パラメータ

薬物	B _{max1} (μM)	K _{d1} (μM)	B _{max2} /K _{d2} *
リドカイン	9.94	0.84	0.80
プロプラノロール	5.04	2.62	1.50
キニジン	8.25	0.23	0.80
リンコマイシン	6.55	3.84	0.14
クリンダマイシン	9.52	1.48	2.91

*低親和性のため、B_{max}とK_dの比で示した

(5)キニジンの体内動態に対する消炎ステロイド処置の影響

PDSL 処置によってキニジンの体内動態は影響された。PDSL の処置が長くなるにつれ、全身クリアランスは増加の傾向を示した。分布容積は有意な増加(およそ2倍)を示した。しかし、キニジンの消失半減期は影響されなかった。分布容積と全身クリアランスの関係を解析した結果、それぞれの増加はよく相関した。したがって、AGP 濃度の低下に起因する血漿タンパク結合率の低下が、これらパラメータの変化の原因と考えられた。以上から、イヌをPDSLで治療する場合、AGP への影響を介した血漿タンパク結合に起因する薬物間相互作用が発現する可能性が示唆された。血漿中の遊離型薬物の増加は副作用を招く可能性があるので、PDSL で処置している際に高結合率を示す塩基性薬物を併用する際には、副作用に十分注意を払う必要がある。

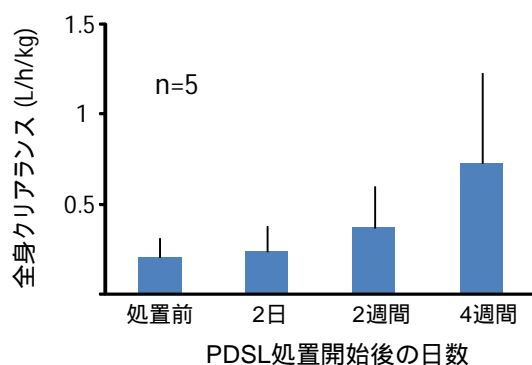


図3 イヌに PDSL 処置した際のキニジン静注後の全身クリアランスの変化

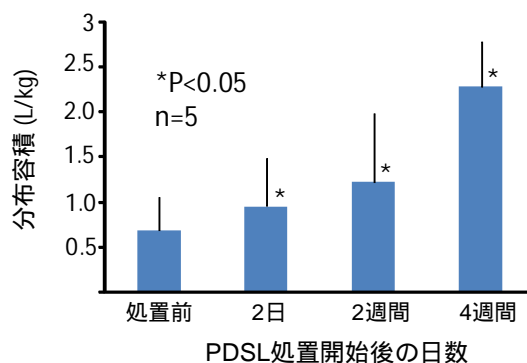


図4 イヌに PDSL 処置した際のキニジンの分布容積の変化

一方、ラットに対し、PDSL および HCS をイヌの臨床用量で1週間投与した場合、キニジンの分布容積は低下し、全身クリアランスも低下した。これらの変化に対応し、消失半減期も延長した。分布容積の増加は血漿中 AGP 濃度の増加に伴った血漿タンパク結合率の上昇に起因するものと考えられ、また全身クリアランスの低下は、血漿タンパク結合率の増加および CYP3A 活性が低下したことによるものと考えられた。このように、ラットではイヌとは異なる薬物間相互作用を示した。したがって、イヌで予想される消炎ステロイド投与時の薬物間相互作用は、種特異的である可能性がある。

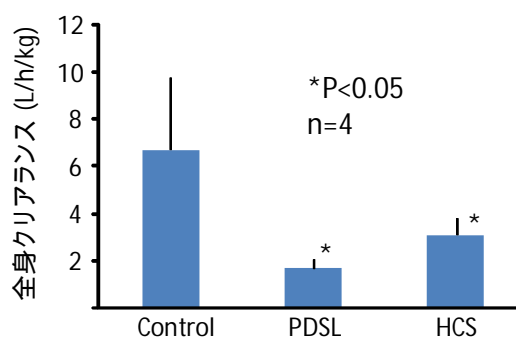


図5 ラットに消炎ステロイド処置した際のキニジンの全身クリアランスへの影響

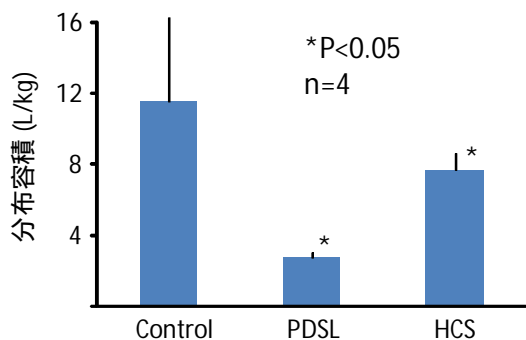


図5 ラットに消炎ステロイド処置した際のケニジンの分布容積への影響

(6)結論

本研究ではイヌを消炎ステロイドで処置した際の動態学的薬物間相互作用の可能性を検討した結果、血漿中 AGP 濃度を低下させることに起因する併用薬の副作用発現の可能性を明らかにした。小動物領域においては、消炎ステロイドはネコにも汎用されるが、本研究の結果はその作用機序から、ネコにおいても薬物間相互作用が発現する可能性を示唆する。しかし、ラットでは消炎ステロイド処置によって、血漿中 AGP 濃度は増加し、CYP 活性は低下した。イヌ型なのか、ラット型なのか、ネコにおいても検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 3 件)

田中由衣、犬におけるステロイド系抗炎症薬の投与が肝 CYP 酵素活性に及ぼす影響について、第 148 回日本獣医学会学術集会、2009 年 9 月 25 日、鳥取

飯沼雄司、ラットにおける消炎ステロイド投与の肝 CYP 酵素活性に対する影響、第 146 回日本獣医学会学術集会、2008 年 9 月 24 日、宮崎

島田圭吾、犬におけるステロイドの CYP 活性に対する阻害作用、第 146 回日本獣医学会学術集会、2008 年 9 月 24 日、宮崎

6. 研究組織

(1)研究代表者

下田 実 (SHIMODA MINORU)
東京農工大学・大学院共生科学技術
研究院・教授
研究者番号: 50154323

(2)研究分担者

岩崎 利郎 (IWASAKI TOSHIRO)
東京農工大学・大学院共生科学技術
研究院・教授
研究者番号: 50262754