

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590181

研究課題名(和文)経口投与可能な腎排泄性薬剤の消化管吸収機構と変動性評価

研究課題名(英文)Variability of bioavailability and intestinal absorption mechanism of mizoribine and bisoprolol

研究代表者

橋本 征也 (Hashimoto, Yukiya)

富山大学・大学院医学薬学研究部(薬学)・教授

研究者番号：90228429

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：薬物のバイオアベイラビリティ(F)に個体間変動がある場合、薬物動態パラメーターである経口クリアランス(CL/F)と見かけの分布容積(V/F)の間には正の相関が観察される。本研究では、免疫抑制薬ミゾリビンと遮断薬ビソプロロールの臨床薬物動態試験を行い、母集団薬物動態解析の手法を用いて、CL/FとV/Fの相関の有無を評価した。その結果、小児腎移植患者においてミゾリビンのFに個体差があること、また循環器疾患患者においてビソプロロールのFに個体差があることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The large variability of bioavailability (F) of drugs induces the positive correlation between oral clearance (CL/F) and apparent volume of distribution (V/F). In the present study, we performed the clinical pharmacokinetic trials of mizoribine and bisoprolol. The population pharmacokinetic analysis was performed by use of the nonlinear mixed effects model (NONMEM) program. As the results, we observed the positive correlation between CL/F and V/F of mizoribine in pediatric patients of renal transplantation, indicating large variability of F of the drug. In addition, we observed the positive correlation between CL/F and V/F of bisoprolol in Japanese patients with cardiovascular diseases, indicating large variability of F of the drug.

研究分野：薬物動態学

キーワード：バイオアベイラビリティ

### 1. 研究開始当初の背景

医薬品を適正に使用するにあたっては、薬物血中濃度と薬効・副作用の関係を定量化するとともに、薬物動態変動機構を明らかにし、患者個々に投与設計を行うことが必要である。申請者は、平成12年の臨床薬学専攻の新設に伴う研究室の立ち上げ以来、「薬物動態と薬効・毒性の基礎と臨床、特に疾患・薬物併用・遺伝的多型に伴う薬物代謝酵素とトランスポーター機能の変動機構の解析、およびそれらに基づく薬物個別投与設計に関する研究」のテーマで仕事を進めてきた。当初筆者は、小腸や肝臓で初回通過代謝を受けたり、代謝酵素に遺伝的多型が存在する、あるいは薬物間相互作用が多発するなど、薬物動態の変動が大きい肝代謝型薬剤の個別投与設計に重点をおいて、基礎および臨床研究を進めてきた。

一方、腎排泄性薬剤の腎クリアランス (CL<sub>r</sub>) は、クレアチニンクリアランス (CL<sub>cr</sub>) を指標として簡便に計算可能 (CL<sub>r</sub>=a・CL<sub>cr</sub>) であり、一般的に静脈内投与後の血中濃度予測性も比較的良好である。核酸類似構造を有する免疫抑制薬ミゾリピンは、水溶性が高く単純拡散では脂質二重膜を透過できないが、Concentrative Nucleoside Transporter (CNT) と Equilibrative Nucleoside Transporter (ENT) を介して効率的に消化管上皮細胞を透過する。そして、経口投与後に体内に吸収されたミゾリピンは、血漿蛋白結合や代謝を受けず、殆ど全てが未変化体として腎臓から尿中に排泄されるため、患者の腎機能の個体差がミゾリピンの体内動態変動の主要因と考えられてきた。しかし筆者らは、成人腎移植患者における経口免疫抑制薬ミゾリピンの体内動態に極めて大きな個体差があることを明らかにし、その主要因は消化管吸収率 (バイオアベイラビリティ) の個体差であることを解明した。

### 2. 研究の目的

本研究では、核酸類似薬ミゾリピンに加えカチオン性薬剤 (主にβ遮断薬ピソプロロール) に着目し、「経口投与可能な腎排泄性薬剤の消化管吸収機構と変動性評価」を進展させる。

### 3. 研究の方法

ミゾリピンは肝(初回通過)代謝を受けず、血漿中蛋白結合も殆ど無いことから、経口クリアランス(CL/F)と見かけの分布容積(V/F)の関係は無相関になると予想された。しかし、実際に成人腎移植患者を対象とした臨床薬物動態試験データの母集団解析を行ったところ、ミゾリピンのCL/FとV/Fの間に強い正の相関が観察された。2011年に報告したこの知見は、ミゾリピンの消化管吸収は良好であると考えられてきたが、実際の患者ではF、すなわち消化管吸収は不完全でかなりの個

体差が存在することを示している。本研究では、まず小児腎移植患者におけるミゾリピンの臨床薬物動態データの母集団解析を行い、この母集団においてもCL/FとV/Fの間に正の相関が観察されることを確認する。

小腸においてミゾリピンを吸収するCNTはNa<sup>+</sup>と共役したトランスポーターである。従って、食事の食塩含量の多寡によって、ミゾリピンの消化管吸収率が変化する可能性がある。本研究では、健常成人を対象とした臨床試験を追加し、食塩の負荷によってミゾリピンの消化管吸収率 (= 累積尿中排泄率) が増加するか否かを検討する。

ミゾリピンと同様に、受容体遮断薬ピソプロロールも肝初回通過代謝を殆ど受けず、大半は腎臓から排泄される。そのため筆者らは、ピソプロロールのCL/FをCL<sub>cr</sub>の関数として記述する母集団解析を2005年に報告したが、原因が不明なCL/Fの個体間変動が残存することに疑問を持っていた。そこで、ミゾリピンと同様にピソプロロールの消化管吸収も健常被験者では良好と報告されているが、実際の患者では不完全な可能性があるとの仮説を立て、循環器疾患患者を対象とした臨床薬物動態試験を追加・実施する。そして、臨床薬物動態データの母集団解析を行い、ピソプロロールのCL/FとV/Fの間に正の相関が観察されることを確認する。

筆者らは、1999年に有機カチオン性の薬物であるジフェンヒドラミンが、培養腸上皮細胞Caco-2へH<sup>+</sup>との対向輸送で取り込まれることを報告した。その後2010年までに、別のヒト腸上皮細胞LS180にも同一のトランスポーターが存在し、キニジンやプロカインアミド等のカチオン性薬物を輸送することを明らかにした。しかし当時は、このトランスポーターの臨床薬理的な重要性は認識できていなかったため、機能解析は十分とは言えず、分子種の同定を試みるには至っていない。本研究では、Caco-2細胞に比べ短い培養期間で薬物の取り込み実験が可能なLS180細胞を用いて、ピソプロロールの小腸吸収機構を解析する。

### 4. 研究成果

51名の小児腎移植患者 (男性32名、女性19名) からミゾリピン血中濃度データ (353点) を収集し、非線形混合効果モデル (NONMEM) 法を用いて母集団解析を行った。吸収ラグタイムを仮定した一次吸収1-コンパートメントモデルに当てはめ動態パラメーターを算出したところ、成人腎移植患者と同様に、小児腎移植患者においても腎機能で補正したCL/Fと体重で補正したV/Fの間に有意な正の相関が観察された。従って、成人のみならず小児においてもミゾリピンの体内動態には大きな個体差が存在し、その主要因は成人と同様に消化管吸収率 (バイオアベイラビリティ) の個体差であると考えられた。筆者らは2011年に、CNT1(SLC22A1)の

G565A 変異を有する健常成人では、ミゾリビンの消化管吸収率（累積尿中排泄率）が有意に低下することを報告し、CNT1 の活性変動がミゾリビンの消化管吸収の個体差の一要因となっていることを明らかにした。しかし、ミゾリビンが CNT1 だけでなく CNT2 によっても輸送されるなら、ミゾリビンと共輸送される Na<sup>+</sup> の負荷によって、ミゾリビンの消化管吸収を改善出来る可能性があると考えられる。そこで、MDCK 細胞に CNT1 と CNT2 を強制発現させた細胞を用いて、ミゾリビンの取り込み活性を測定した。その結果、CNT1 のみならず CNT2 を発現させた細胞においても、Na<sup>+</sup> の共存下にミゾリビンの取り込みが有意に増大した。そこで、SLC22A1-565A/A を有する健常被験者 3 名、および SCL22A1-565G/A を有する被験者 6 名にミゾリビン単独、あるいはミゾリビンに食塩を負荷した際のミゾリビン累積尿中排泄率を測定したところ、食塩負荷時にミゾリビンの尿中排泄が有意に増加した。この知見は、CNT1 (SLC22A1) に遺伝子変異を有し、ミゾリビンの消化管吸収率が低い患者では、食塩を摂取することによって、ミゾリビンの消化管吸収を改善できる可能性を示している。

筆者らは 2005 年に 40 名の循環器疾患患者におけるピソプロロール血中濃度データを NONMEM 法によって解析し、母集団動態パラメーターを報告した。その際、患者の腎機能で補正してもなお、CL/F には 20% 以上の個体間変動係数が認められた。今回、臨床患者においては、ピソプロロール経口投与後の消化管吸収は必ずしも完全では無いとの作業仮説を立て、ピソプロロール血中濃度データを追加するとともに、バイオアベイラビリティの変動性を考慮した母集団動態解析を行った。今回の検討では、循環器疾患患者 12 名を追加し、52 名分のピソプロロール血中濃度データを解析した。すなわち、患者の腎機能で補正した CL/F と体重で補正した V/F の間の相関を検討したところ、両者の間には統計的に有意な正の相関が観察された。従って、ピソプロロールの消化管吸収率は、少なくとも対象とした母集団では完全ではなく、かつ大きな個体差があると考えられた。

ピソプロロールの消化管吸収機構を解析するため、ヒト腸上皮細胞 LS180 における取り込みを評価した。その結果、ピソプロロールの取り込みは、細胞外 pH の変化によって顕著に変動し、酸性条件下で取り込みは大きく減少した。一方、細胞内 pH を NH<sub>4</sub>Cl の前処理によって酸性化させるとピソプロロールの取り込みは増加し、NH<sub>4</sub>Cl の急性処理によって細胞内 pH をアルカリ化させるとピソプロロールの取り込みは大きく低下した。これらの知見は、ピソプロロールの消化管吸収は、少なくとも一部は H<sup>+</sup> と有機カチオンの対向輸送系が担っていると考えられた。また、LS180 細胞へのピソプロロール

の取り込みは、メトホルミンやシメチジンなど水溶性の有機カチオン共存下では変化しないものの、キニジンやジフェンヒドラミンなど脂溶性の有機カチオン共存下では顕著に阻害された。これらの知見より、ピソプロロールの消化管吸収には、薬物の脂溶性に依存した受動輸送のみならず、特殊な輸送機構が関与しており、消化管管腔内の pH の個体差や個体内変動によってピソプロロール消化管吸収は大きく影響を受ける可能性があると考えられた。

## 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) Ishida K., Fukao M., Uemura O., Hashimoto Y., Advantages and disadvantages of conditional estimation methods for population pharmacokinetic analysis of mizoribine. *Jap. J. Pharm. Health Care Sci.*, **40**, 643-651 (2014). 査読有
- 2) Ishida K., Horie A., Nishimura M., Taguchi M., Fujii N., Nozawa T., Inoue H., Hashimoto Y., Variability of bioavailability and intestinal absorption characteristics of bisoprolol. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **28**, 491-496 (2013). 査読有
- 3) Ishida K., Fukao M., Watanabe H., Taguchi M., Miyawaki T., Matsukura H., Uemura O., Zhang Z., Unadkat J. D., Hashimoto Y., Effect of salt intake on bioavailability of mizoribine in healthy Japanese Males. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **28**, 75-80 (2013). 査読有
- 4) Ishida K., Motoyama O., Shishido S., Tsuzuki K., Hashimoto Y., Population pharmacokinetics of mizoribine in pediatric patients of renal transplantation. *Clin. Exp. Nephrol.*, **16**, 799-804 (2012). 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

- 1) 深尾美紀、石田和也、伊東裕通、上村治、橋本征也、ミゾリビンの母集団薬物動態解析における FOCE 法の利点と欠点、日本薬剤学会第 29 年会、2014 年 5 月 20-22 日、神戸。
- 2) 石田和也、堀江明日佳、西村麻希、田口雅登、藤井望、能澤孝、井上博、橋本征也、ピソプロロールのバイオアベイラビリティ変動性評価と消化管吸収特性、第 7 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム、2013 年 11 月 23-24 日、仙台。
- 3) Ishida K., Fukao M., Takabayashi M., Taguchi M., Itoh H., Hashimoto Y.,

- variability of bioavailability of mizoribine in healthy males and mechanisms of barrier function for intestinal absorption. 日本薬物動態学会第28年会、2013年10月9-11日、東京.
- 4) Fukao M., Ishida K., Watanabe H., Taguchi M., Miyawaki T., Matsukura H., Uemura O., Unadkat J. D., Hashimoto Y., Improvement of the intestinal absorption of mizoribine by salt intake in healthy Japanese males. 日本薬物動態学会第27年会、2012年11月20-22日、千葉.
- 5) 堀江明日佳、西村麻希、石田和也、田口雅登、能澤孝、井上博、橋本征也、ピソプロロールの消化管吸収機構と変動性評価、日本薬剤学会第27年会、2012年5月24-26日、神戸.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

橋本 征也 (HASHIMOTO, Yukiya)  
富山大学・大学院医学薬学研究部(薬学)・  
教授  
研究者番号：90228429

### (2) 研究分担者

能澤 孝 (NOZAWA, Takashi)  
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・  
准教授  
研究者番号：00180737

石田 和也 (ISHIDA, Kazuya)  
富山大学・大学院医学薬学研究部(薬学)・  
助教  
研究者番号：90550509