

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 15 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590192

研究課題名(和文)腎不全患者における薬効変動メカニズムの解明とこれに基づく中枢作用薬の至適投与設計

研究課題名(英文)Dose optimization of the central nervous system acting compound considering its altered pharmacokinetics and pharmacodynamics in patients with acute renal failure

研究代表者

合葉 哲也(AIBA, TETSUYA)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・准教授

研究者番号：00231754

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)：急性腎不全患者において肝代謝型の中枢作用薬の場合に報告されている薬理効果の増強に関し、その増強機構を、薬物の体内動態の変化と薬物作用部位の感受性の変化の2つ観点から精査した。その結果、腎不全に併発する組織炎症が薬物動態学的な影響因子であり、これにより肝臓の薬物代謝活性が抑制されて薬物血中濃度が上昇することが明らかとなった。また、薬物作用部位の感受性変化の観点からは、腎不全に伴って生じる抑制性中枢神経系の機能亢進が大きな影響因子であることが示された。

研究成果の概要(英文)：An increased potency of the central nervous system (CNS) acting compounds are often observed in the patients with acute renal failure (ARF), even in the case of the compounds mainly undergoing the hepatic drug metabolism. Mechanisms underlying the increased potency are investigated in this study. It was revealed that the hepatic drug metabolism is suppressed with inflammation accompanying with ARF, leading to an increased plasma concentration of the compound. In addition, it was demonstrated that the suppressive neuron function is elevated with ARF. These pharmacokinetic and pharmacodynamic factors are probably involved with the ARF-related increased potency of the CNS acting compounds.

研究分野：臨床薬物動態学

キーワード：腎不全 PK/PD 代謝 睡眠薬 鎮静薬 中枢神経系 投与設計

1. 研究開始当初の背景

腎不全患者に対する薬物療法では、腎臓を排泄臓器とせず、主に肝臓で代謝され消失する肝代謝型薬物を選択することが基本となっている。これは即ち、腎不全の場合に肝代謝型薬物の血中濃度推移は変化せず、従ってその治療効果も変化しないとの基礎的認識に基づいた薬物選択法である。しかし、この認識の検証は不十分であり、実際、遮断薬プロプラノロールのように、肝代謝型薬物でありながら腎不全患者において薬物血中濃度が著しく上昇して推移する薬物も存在する。治療効果に関しても、肝代謝型の向精神薬ジアゼパムの場合、腎不全時には中枢神経系の感受性が亢進して薬効の増強が生じることから慎重な薬剤適用が指示されている。しかし、こうした腎不全患者における薬物濃度の上昇や感受性亢進のメカニズムは未だ解明されておらず、従って現状では、腎不全患者に対し科学的根拠に基づく適切な薬物投与計画を立案することは困難である。このため、腎不全時に生じる薬物血中濃度推移の変動や組織の薬物感受性の亢進のメカニズムを解明し、安全かつ効果的な薬物投与の基本指針を確立することが、薬物治療学上の重要な課題となっている。研究代表者はこれまでに、腎不全に伴って代表的な肝臓の薬物代謝酵素の発現量が低下することを明らかにし、これが腎不全時に観られる肝代謝型薬物の血中濃度変動因子であることを示してきた。しかし、腎不全が肝臓に異所的に影響を及ぼすメカニズムについては不明であり、加えて、薬物作用部位の腎不全時の感受性変化については、メカニズムの解明を初めとする詳細な検討は、これまでのところ、ほとんど行なわれていない。こうしたことから研究代表者は、腎不全が肝代謝型の中枢神経系作用薬の薬理効果に与える影響を、薬物動態学的側面、即ち薬物の血中濃度推移に与える影響と、薬力学的側面、即ち薬物作用部位の感受性に及ぼす影響の両側面から詳細に検討することを計画した。そしてこれにより腎不全に伴う中枢神経作用薬の薬理効果の変動機構を解明し、その結果に基づいて、腎不全患者における中枢作用薬の個別化至適投与設計法の確立を目指す。

2. 研究の目的

本研究では、腎不全の影響が異所的に肝臓に作用するメカニズムの解明を図るとともに、中枢神経系の薬物に対する感受性に及ぼす腎不全の影響を評価する。次いで得られた一連の知見に基づき、腎不全に伴う薬物血中濃度推移の変動と薬物作用部位の感受性変

化を考慮した、中枢神経系作用薬の個別化至適投与設計法の確立を目指す。

3. 研究の方法

腎不全に伴う薬効変動メカニズムの薬物速度論的側面からの解明は、実験動物(ラット)を対象に作成した病態モデルを用いて行った。研究代表者は既に先行研究において、腎不全時に肝臓の薬物代謝酵素の発現量が変動することを明らかにしている。こうしたことから本研究では、腎不全の影響が肝臓に伝播する機序の解明を試みた。具体的には、急性腎不全が組織炎症を併発することに着目し、ラットに対し炎症惹起物質のカラゲニン足蹠皮下投与することで、急性局所炎症モデルを作成した。この病態モデルラットに肝代謝型薬物の急速静脈内投与を行い、経時的な血液試料の採取を行って、薬物の血中濃度推移を評価した。また、この病態モデルラットの摘出肝臓から肝ミクロソームを調製し、これを用いて肝臓の薬物代謝酵素の発現量をウエスタンブロット法により定量的に評価した。また、肝ミクロソームを用いたインキュベーション実験を行って、薬物の肝代謝速度を測定した。対象薬物には、代表的な肝代謝型の麻酔薬であるミダゾラムを選択した。これら一連の検討により得られた結果を対照群における値と比較することで、組織炎症が肝臓に及ぼす影響を評価した。併せて、肝臓に対する腎不全の影響が、組織炎症の影響を考えることで、どの程度説明可能となるかについても検討を加えた。

一方、腎不全に伴う薬効変動メカニズムの薬力学的側面からの解明については、薬物作用部位の感受性を適切に評価する際に、腎不全に伴う薬物の血中濃度や脳組織移行性の変化の影響を排除する必要があることから、こうした条件での感受性評価を可能とする薬物の脳室内直接投与法を新たに構築して行った。脳室内直接投与法では、予め右側脳室に挿入し固定した薬物投与用のカテーテルを用いて、薬物を直接脳室内へ持続的に投与し、その薬効の発現潜時を測定する。実験では、対象薬物に催眠鎮痛作用を持つ抗てんかん薬のフェノバルビタールを用い、尾部をクリップで強く挟むことによる痛覚刺激を経時的に与えて、薬物投与開始から痛覚消失が生じるまでの時間を測定して、薬効の発現潜時を評価した。薬効発現に要する薬物量は薬効の発現潜時と薬物投与速度より算出した。薬物作用部位の感受性と腎不全の関係は、グリセロール処置により実験的に腎不全を惹起した病態モデルラットを対象として、薬効発現潜時及び薬効発現に要する薬物量を測定し、これを対照群と比較し評価した。

4. 研究成果

腎不全に伴う薬効変動メカニズムの薬物速度論的側面については、研究代表者が先行研究において、薬物代謝酵素の肝臓における発現量が腎不全時に低下することを既に見出しているが、腎臓の機能不全が異所的に肝臓に作用する機構が不明であった。そこで本研究では、こうした腎不全の影響の異所的伝播のメカニズムの解明を試みた。まず、腎不全に伴う組織炎症に着目し、炎症が薬物動態に与える影響を精査した。具体的には、一連の実験に先立って、ラット足蹠に炎症惹起物質のカラゲニンを投与することで、急性末梢組織炎症モデルを構築した。この病態モデルの場合、腎機能を正常に保ちながら、腎不全病態と同程度の組織炎症が末梢組織に生じている。これを用いて、代表的な肝代謝型薬物ミダゾラムの静脈内投与を行い、薬物の血中濃度推移を検討したところ、ミダゾラムの循環血液中からの消失に遅滞傾向が認められた他、ミダゾラム代謝物の生成遅延と血液中の濃度低下が観察された。次いで、ミダゾラム代謝物の生成遅延メカニズムを検討する目的で、急性局所炎症モデルラットより調製した肝ミクロソームを用いて、ミダゾラムの代謝実験を行ったところ、ミダゾラム代謝消失反応速度の低下が示され、併せて代謝物の生成速度の低下も明らかとなった。更にウエスタンブロット法によりミダゾラムの肝代謝に関わる薬物代謝酵素 CYP3A2 の発現量を評価したところ、その発現量に著しい減少が認められた。これらの結果、局所炎症が異所性に肝機能に影響を与えることが明らかになった。従って、腎不全患者では、機能不全となった腎組織から炎症性因子が循環血液中に放出され、そしてその炎症性因子が肝臓に作用して、薬物代謝酵素の発現量を変化させる結果、薬物血中濃度推移が変動することが強く示唆された。これら一連の研究成果は、その進行状況と併せて、関係する複数の学会で報告した他、専門学術誌にて公表した（論文番号）。

腎不全に伴う薬効変動メカニズムの薬力学的側面からの解明は、薬物の脳室内直接投与方法により評価した。この手法では、腎不全に伴って生じ得る薬物の血中濃度推移や脳組織移行性の変化を排除し、薬物作用部位の感受性を評価することが可能である。まず、ラットにグリセロール処置を行って実験的腎不全を惹起し、その後、側脳室へのカテーテル留置を行い、側脳室薬物直接投与方法を構築した。これを用いて脳室内への中枢神経系作用薬フェノバルビタールの微量持続投与を行い、痛覚刺激への反応消失の有無を指標として薬理の発現潜時を評価したところ、腎

不全群の場合に、腎機能が正常な対照群と比べて、薬効発現潜時の有意な短縮が認められた。この検討条件における腎不全群の組織薬物感受性の亢進は約3倍であった。一方、中枢性痙攣薬ピクロトキシンを用いた場合、薬物に対する感受性は腎不全群と対照群の差異は認められなかった。フェノバルビタール並びにピクロトキシンの薬理効果は、共にGABA受容体を介するものであることから、腎不全群ではGABA受容体の機能変調が生じていることが示唆された。次いで、ヒスタミン受容体遮断薬であるジフェンヒドラミンを用いて、中枢性の痙攣発作の発現潜時を評価したところ、ピクロトキシンの場合とは異なり、腎不全群において、薬物性痙攣が惹起されるまでの効果発現潜時の増大が観察された。ジフェンヒドラミンはGABA受容体に直接作用せずに痙攣を惹起することから、この結果から、腎不全時の抑制性神経系の機能亢進は、GABA作動性神経系に限らず、脳中枢系において広く生じていることが示唆された。抑制性神経系の機能亢進機構については現時点では不明である。これに関して研究代表者は、薬物の脳室内直接投与方法を応用して脳室内に脳脊髄液採取用のプローブ留置を行い、更にリチウムイオンを指標に用いることで、体循環血液から脳脊髄液へのナトリウムイオンの移行動態を評価した。その結果、腎不全群では体循環血液から脳脊髄液へのナトリウムイオンの流入が抑制されることを見出している（論文番号）。これら一連の知見とともに、GABA受容体が塩化物イオンチャンネルの機能を併せ持ち、神経細胞内の細胞内電位調節に関与していることを鑑みると、腎不全時に脳神経系を灌流する脳脊髄液の電解質組成が変化することが、抑制性神経系の機能変調の主要因であることが強く示唆される。今後、炎症性因子の体循環血中濃度と、抑制性神経系の機能変調の関係を明らかにすることで、腎不全に伴う薬効変動を考慮した中枢作用薬の個別化至適投与設計が果たせるものとする。

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7件)

Kajikawa N, Doi M, Kusaba J-I, Aiba T. Effect of carrageenan-induced acute peripheral inflammation on the pharmacokinetics and hepatic metabolism of midazolam in rats. *Drug Metab Pharmacokinet*, 29: 400-406 (2014).

【査読有】

Murakami Y, Shimizu Y, Ogasawara A, Ueshima S, Nakayama M, Kawata K, Kakuta H, Aiba T. Interspecies comparison of hepatic metabolism of six newly synthesized retinoid X receptor agonistic compounds possessing a 6-[N-ethyl-N-(alkoxyisopropylphenyl)amino]nicotinic acid skeleton in rat and human liver microsomes. Drug Dev Ind Pharm, 40: 1065-1071 (2014). 【査読有】

Kono K, Okada A, Ishikawa A, Aiba T. Effect of carrageenan-induced acute peripheral inflammation on the electrolyte disposition to cerebrospinal fluid in rats. Biol Pharm Bull, 36: 1829-1834 (2013). 【査読有】

Masuda A, Goto Y, Kurosaki Y, Aiba T. In vivo application of chitosan to facilitate intestinal acyclovir absorption in rats. J Pharm Sci, 101: 2449-2456 (2012). 【査読有】

〔学会発表〕(計 2 4 件)

藤本和貴、合葉哲也、他3名：急性腎不全ラットにおける肝臓の薬物代謝酵素の発現調節機構の変調、日本薬学会第135年会、2015-3-26、神戸市

合葉哲也、岡田淳芳、他3名：Altered pharmacological potency of the CNS-acting compounds in rats with acute renal failure、第29回日本薬物動態学会・第19回国際薬物動態学会合同年会、2014-10-21、米国カリフォルニア州サンフランシスコ市

土居雅美、合葉哲也、他2名：Acute renal failure alters the induced mRNA expression of hepatic CYP3A subfamily in rats、第29回日本薬物動態学会・第19回国際薬物動態学会合同年会、2014-10-20、米国カリフォルニア州サンフランシスコ市

堀友紀、清水康正、合葉哲也：急性肺機能障害ラットにおける肝薬物代謝の活性変動、日本薬学会第134年会、2014-3-30、熊本市

岡田淳芳、合葉哲也、他3名：Evaluation of the pharmacodynamics of CNS-acting compounds in rats with acute renal failure、第28回日本薬物動態学会年会、2013-10-11、東京都江戸川区

土居雅美、合葉哲也、他3名：急性局所炎症に伴う薬物肝代謝活性の変動メカニズ

ム

△の検討、日本薬学会第133年会、2013-3-28、横浜市

梶川典子、合葉哲也、他3名：Effects of acute local inflammation on the hepatic expressions of CYP3A subfamily in rats、第27回日本薬物動態学会年会、2012-11-22、東京都江戸川区

土居雅美、合葉哲也、他3名：ラット肝CYP3A代謝活性に及ぼす急性局所炎症の影響、第51回日本薬学会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、2012-11-10、松江市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

合葉 哲也 (AIBA, Tetsuya)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・
准教授
研究者番号：00231754

(2) 研究分担者

北村 佳久 (KITAMURA, Yoshihisa)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・
准教授
研究者番号：40423339

(3) 連携研究者 なし