

審査結果の要旨

氏名 堀川 雅人

これまで薬物間相互作用に関する研究の多くは、代謝酵素に関するものが中心であった。近年、肝胆管側膜に発現するトランスポーター群が種々薬物の胆汁排泄、効果/副作用に重要な役割を果たすことが明らかにされつつある。本研究は胆管側膜トランスポーターを介した薬物間相互作用の可能性の検証とその応用を目的とし、胆汁排泄における薬物間相互作用を積極的に利用した抗癌剤塩酸イリノテカン（以下 CPT-11）の副作用（消化管毒性）の軽減、および臨床で胆汁うっ滞が報告されている薬物のうっ滞が肝胆管側膜トランスポーター-阻害で説明しうるかを検討した。

1. CPT-11 の消化管毒性に関する検討

CPT-11は幅広い抗癌活性を有する薬剤であるが、副作用として遅延性下痢を起こす。CPT-11はプロドラッグであり投与後、活性代謝物SN-38を生成する。CPT-11、SN-38およびSN-38グルクロン酸抱合体（以下SN38-Glu）は胆汁排泄を受け、消化管内へと排泄される。現在まで提唱されている下痢発生の主な仮説は、胆汁排泄されたSN-38自身あるいは胆汁排泄されたSN38-Gluの消化管内脱抱合から生じたSN-38による消化管障害の可能性などである。我々はSN-38およびSN38-Gluは主に胆管側膜トランスポーター MRP2/ABCC2を介して胆汁排泄されることを明らかにしてきた。そこでMRP2阻害によりSN-38およびSN38-Gluの胆汁排泄を阻害することで下痢の軽減を試みた。ラット肝胆管側膜ベシクル(以下 CMVs)へのMRP2の典型基質、S-(2,4-dinitrophenyl)-glutathione 抱合体（以下DNP-SG）の取り込みに対する各化合物の阻害を検討することでMRP2の阻害剤検索を行った。阻害剤の K_i 値と文献情報からの臨床濃度の関係およびヒト半減期から、経口投与で持続性が期待されるProbenecid が最も適切な化合物であると考えられた。阻害剤の効果をin vivo ラットで検証するため、各種阻害剤を静脈内定速注入し、定常状態後 CPT-11を静注したところ、SN-38およびSN38-Gluの胆汁排泄阻害が確認された。また、Probenecidの胆汁排泄阻害における種差を検討する目的でラット、サルおよびヒト肝臓のCMVsへのCPT-11およびその代謝物の取り込みに対する影響を検討した。3種ともにSN-38およびSN38-Gluで濃度依存的な阻害傾向を示し、 K_i 値に明確な種差は認められなかった。

以上、SN-38およびSN38-Gluの胆汁排泄阻害に最も有効な化合物はProbenecidと考えられ、排泄阻害効果に種差は観察されず、臨床においてもProbenecid併用がSN-38およびSN38-Gluの胆汁排泄を阻害する可能性が示唆された。

2. 消化管毒性とSN-38の消化管への暴露に及ぼすProbenecid 併用の影響

Probenecidの併用はSN-38およびSN38-Gluの胆汁排泄を減少させるが、血中濃度は増加させるため、そのままの用量ではover dose となる。そこでProbenecid併用ではCPT-11の用量を1/2にすることで、血中濃度は減量前と同等とし、胆汁排泄をさらに減少させることが可能であると考えた。上記観点よりCPT-11の投与量は2点設定し、2倍用量でのCPT-11単独投与群、CPT-11単独投与群、およびProbenecid併用のCPT-11投与群間で比較を行った。ラットにおけるProbenecidの下痢抑制効果をスコア化したところ、2倍用量でのCPT-11単独投与群では投与開始後5日目より全例が重度の下痢症状を示した。一方、Probenecid併用群ではその程度は軽度であり、重度症例は認められなかった。このときの血漿中SN-38濃度は2倍用量でのCPT-11単独投与群とProbenecid併用群でほぼ同程度であり、骨髄抑制マーカーである白血球数減少もこの結果を反映したものとなった。また、Probenecidの併用はCPT-11誘発の体重減少を一部改善し、摘出消化管における絨毛細胞のマーカー酵素においても改善効果を示した。

次にProbenecidによる下痢軽減効果の裏付けとしてSN-38の消化管内暴露について検討した。CPT-11をProbenecidと併用および単独で静脈内注入し、実験終了後に消化管を摘出し、消化管粘膜層内SN-38濃度を測定した。その結果、Probenecid併用群は2倍用量、同用量でのCPT-11単独投与群と比較し、粘膜層におけるSN-38濃度を低下させ、さらに K_p 値（消化管細胞内濃度を血漿中濃度により除した値）は顕著に低下させた。

以上ラットにおいてProbenecidの併用はCPT-11誘発の下痢を軽減し、このことはProbenecidがSN-38の消化管粘膜層への暴露を減少させたことに起因すると考えられた。

3. 肝胆管側膜ベシクルを用いた胆汁うっ滞の予測

Bile flowは肝胆管側膜トランスポーターBSEP/ABCB11およびMRP2によってそれぞれ濃縮的に排泄された胆汁酸類とglutathioneが駆動力となっている。そこで、臨床でうっ滞が報告されている薬物を用い、胆管側膜トランスポーターの阻害でうっ滞が説明しうるかを検討した。ラットCMVsを用い、taurocholate（BSEPの典型的基質）とDNP-SGの取り込みに対する影響を検討した。 K_i 値と文献情報より得られた臨床濃度の関係から阻害の程度をまとめたところ、大半の化合物で K_i 値は臨床濃度よりもはるかに大きく阻害の可能性は低いと考えられた。しかし一部化合物ではトランスポーター阻害によるうっ滞の可能性も認められた。種差の可能性を考え、ヒトCMVsにおいても検討を行った。taurocholateの取り込みに対してヒトでは、cloxacillin、glibenclamideはラットのそれよりもはるかに高い阻害活性を示した。

以上、検討した大部分の化合物では、親化合物によるトランスポーター阻害ではうっ滞を説明できなかったが、一部化合物ではその可能性が認められた。また、BSEPに対するcloxacillin、glibenclamideの阻害効果はヒトで強く出る傾向があり、臨床でのうっ滞mechanismの可能性の一部としてBSEP阻害が考えられた。

以上本研究は、胆汁排泄における薬物間相互作用を利用し、SN-38 の消化管暴露を減少させることで消化管毒性が軽減できることを明らかとした。また、臨床上胆汁うっ滞を示す薬物の大部分は、自身によるトランスポ-タ-阻害でのうっ滞の可能性は低いが、一部化合物でのその可能性を示唆し、阻害効果の種差についても言及した。

これらの知見は薬物体内動態における相互作用研究に重要な情報を与え、今後の医薬品開発に貢献できることを提起しており、博士（薬学）の学位を授与するに値するものと認めた。