

A Pharmacokinetic study of 3,4-diaminopyridine used for treating Lambert-Eaton myasthenic syndrome

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/40437

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



学位論文要旨

Lambert-Eaton 筋無力症候群治療薬
3,4-diaminopyridine の
体内動態に関する研究

A Pharmacokinetic study of 3,4-diaminopyridine
used for treating Lambert-Eaton myasthenic syndrome

金沢大学大学院自然科学研究科
生命科学専攻 分子作用学講座
石田 奈津子

主任指導教員 松下 良 教授

【Summary】

3,4-Diaminopyridine (3,4-DAP) is potassium channel inhibitor used to treat Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS). We investigated the pharmacokinetics of 3,4-DAP, which are still poorly understood, in rats and humans. The half-life ($T_{1/2}$), volume of distribution (Vd/F), and total body clearance of 3,4-DAP were 15.9 ± 3.1 min, 2.85 ± 0.73 L/kg, and 120 ± 23 mL/min/kg, respectively, following a single intravenous injection in rats. After oral administration in rats, 3,4-DAP $T_{1/2}$ and bioavailability were 33.0 ± 5.3 min and 0.251 ± 0.040 , respectively. Moreover, $T_{1/2}$ was 40.0 min in a Japanese LEMS patient and the pharmacological effect persisted even after the serum concentration decreased. In healthy Japanese volunteers, 3,4-DAP Vd/F and $T_{1/2}$ were 740–1669 L and 35.4–51.4 min, respectively. We found that 3,4-DAP was characterized by fast elimination from serum and high tissue perfusion in a dose-dependent manner. Furthermore, muscle mass was the inter-individual variability factor. Electrocardiography showed significantly prolonged PR intervals after 3,4-DAP administration; therefore, using 3,4-DAP in patients with cardiac arrhythmias, especially in cases of atrioventricular block, should be avoided. In addition, studies in rats and healthy volunteers and *in situ* indicated that food intake was one of the factors that decreased 3,4-DAP absorption.

【背景・目的】

Lambert-Eaton 筋無力症候群 (LEMS : Lambert-Eaton myasthenic syndrome) とは四肢近位筋の筋力低下, 筋萎縮, 易疲労性, 反復運動による一時的な筋力の回復, 深部腱反射の低下, 自律神経障害などを特徴とする症候群であり, 有病率は 10 万人に 1 人とされる希少疾病であり, 本症候群の 75~95% の患者においては, 電位依存性 Ca^{2+} チャンネルに対する抗体が検出される。治療に関しては, 副腎皮質ステロイド, 免疫抑制薬, コリンエステラーゼ阻害薬, 血漿交換療法, 免疫グロブリン大量静注療法などが行われている。LEMS の治療薬として 3,4-diaminopyridine (3,4-DAP) が効果的であるという報告は 1980 年代よりされている。3,4-DAP は, K^{+} チャンネル阻害剤であり, 神経筋接合部の前シナプス膜にある膜電位依存性 K^{+} チャンネルを阻害することで, 細胞膜の脱分極を引き起こし, 膜電位依存性 Ca^{2+} チャンネルを開口させ, 細胞内への Ca^{2+} の流入を促進することによりシナプス末端からの ACh の放出を促進する, という作用機序で LEMS の臨床症状を改善すると考えられている。3,4-DAP は現在欧米では LEMS の治療の第一選択とされており, 2009 年 10 月には LEMS に対するオーファンドラッグとして European Medicines Agency (EMA) より承認された。一方, 日本では医薬品として認可されていないため, 3,4-DAP の研究用試薬を治療に使用している。

3,4-DAP の薬効について, 3,4-DAP を LEMS の治療に用いた症例報告やランダム化比較試験等の報告がようやく最近になって散見されるようになったが, 3,4-DAP に関する体内動態に関しては, 十分な検討が為されていない。従って, 3,4-DAP の薬効や副作用をモニターする指標が定まっておらず, 医師の経験による治療が施されているのが現状である。3,4-DAP

の至適な投与量や、有効血漿中濃度、中毒域、個体差についても不明である。3,4-DAP の副作用としては口周囲・手指の異常感覚、腹痛・下痢等の消化器症状、喘息発作の誘発、痙攣が報告されており、また過量投与では不整脈の報告がある。だがこれらの副作用について発症率や、投与量や血中濃度との因果関係についても不明であり、現状では、科学的根拠に基づいて適正に使用される状況が整っていない。

そこで本研究では、3,4-DAP の患者への安全で有効な使用方法の確立を目指し、3,4-DAP の薬物動態学的特徴を明らかにすることを目的とした。

【方法】

1. ラットにおける 3,4-DAP の体内動態の検討：ラットに 3,4-DAP の 2 mg/kg 静脈内投与及び 10 mg/kg 経口投与を行うことによって得られた血清中 3,4-DAP の濃度推移をモーメント法で解析することにより、薬物動態パラメータの算出、バイオアベイラビリティ (F) の検討を行なった。

2. LEMS 患者における 3,4-DAP 血清中濃度推移と薬物動態パラメータ：3,4-DAP 服用中の日本人 LEMS 患者に文書同意を得て、3,4-DAP 服用前後の血清中濃度を測定し、薬物動態パラメータを算出した。また、投与前と投与後に他覚所見、握力、神経伝導検査における CMAP (compound muscle action potential, 複合筋活動電位) について評価を行なった。

3. 健常日本人における 3,4-DAP の体内動態の検討：文章同意を得た健常日本人男性 5 名を対象として、10 mg 及び 20 mg の 3,4-DAP 服用した際の薬物動態パラメータの算出を行った。投与前後には薬理効果の検討のために神経伝導検査を、副作用の検討のために心電図検査を行った。また 3,4-DAP の作用部位と考えられる筋肉量と薬理効果や体内動態パラメータとの関係についても検討した。

4. 食事が 3,4-DAP の体内動態に与える影響の検討：ラットに 3,4-DAP を絶食時及び食事後に 10 mg/kg 経口投与した場合の薬物動態パラメータを算出した。また、健常日本人男性 5 名に対して、空腹時及び食事後に 3,4-DAP 10 mg 経口投与した際の薬物動態パラメータの算出を行った。さらに、食物が 3,4-DAP の消化管吸収に及ぼす影響を *n situ loop* 法を用いて検討した。

【結果・考察】

3,4-DAP 2 mg/kg 単回静脈内投与時血清中濃度推移は最初の数分間に急激に減少し、以降は最初の数分間に比較するとなだらかに減少しており、二相性を示していた。また、 $T_{1/2}$ は 15.9 ± 3.1 分、 CL_{tot} は 120 ± 23 mL/min/kg、 Vd_{ss} は 2.85 ± 0.73 L/kg であった。これらより 3,4-DAP は投与後数分間で体内の組織に分布し、平衡状態となり、血中から速やかに消失するのではないかと考えられた。また、3,4-DAP 10 mg/kg 単回経口投与時においては、投与後 37.3 分に最高血清中濃度に到達した後減衰していた。また、 $T_{1/2}$ は 33.0 ± 5.3 分、 CL_{tot}/F は 473 ± 83 mL/min/kg、 Vd_{ss}/F は 28.4 ± 6.4 L/kg であった。ラットにおける 3,4-DAP の F は 0.251 ± 0.040 であった。F は 1 でないため、F が個体間・個体内変動因子となる可能性が考えられる。

日本人 LEMS 患者における 3,4-DAP 18.3 mg 経口投与時の血清中濃度は 15 分で最大となり、その後は減少した。3,4-DAP の半減期は 40.0 分であった。投与前と投与後の患者の状態を比較した場合、自覚症状は投与後 30 分には改善しており、60 分、110 分と経過するごとに改善し、また、他覚所見も投与後 110 分では改善し、握力も 0.5~2 kg の改善が見られた。このことから 3,4-DAP 投与によって患者自身でも感じられる程度の症状の改善が現れていることがわかった。しかし、CMAP では手関節・肘部刺激の場合、反復刺激の場合ともに変化がみられなかった。これには薬効の発現にタイムラグがあり、服用後 60 分ではなく、更に時間が経過した後に測定を行ったら改善がみられたのかもしれない。今回の採血点での最高血清中濃度は 3,4-DAP 服用後 15 分となり、その後の血清中濃度は減少した。しかし、自覚症状は服用後 30 分よりも 60 分で改善し、服用後 110 分経過しても自覚症状の改善は持続していた。

5 名の健常日本人男性において、3,4-DAP 10 mg 投与時の血清中濃度は 37 ± 22 分で最大となり、その後は減少した。 $T_{1/2}$ は 51.4 ± 24.4 分であった。 CL_{tot}/F は 1312 ± 714 L/hr, Vd/F は 1669 ± 889 L となった。3,4-DAP 20 mg 投与時の血清中濃度は 39 ± 20 分で最大となり、その後は減少した。 $T_{1/2}$ は 35.4 ± 13.2 分であった。 CL_{tot}/F は 983 ± 1106 L/hr, Vd/F は 740 ± 403 L となった。3,4-DAP 20 mg 投与時には 10 mg 投与時と比較して、最高血清中濃度 および AUC は約 4 倍、 Vd/F は約 1/2 となり、投与量依存性がある可能性が示唆された。一方 Vd/F に低下が見られた原因としては、投与量を上げることで分布過程に飽和が生じた可能性が示唆される。薬理効果の検討のために神経伝導検査を行ったが、服用後 20 分後でも 90 分後でも神経伝導検査のパラメータに変化は見られなかった。副作用の検討のために心電図検査を行ったところ、正常範囲内ではあるが PR 間隔や QRS 幅の延長が見られた。また、1 名で臨床上問題とならないものの自動判定において服用後に第 1 度の房室ブロックと判定された。これは 3,4-DAP が K^+ チャネルの豊富な心臓に取り込まれ、薬理作用を呈した結果だと考えられる。これまでも、3,4-DAP の副作用として不整脈が報告されており、不整脈、特に房室ブロックの既往を有する患者に 3,4-DAP を投与する際には慎重に行うべきであるといえる。また、筋肉量と体内動態パラメータとの相関を検討すると、筋肉量が多いほど、AUC/D は低くなるという傾向が見られた。これは筋肉量が多いほど、作用部位である筋肉へ効率よく取り込まれた結果であると考えられる。一方で Vd/F については筋肉量との相関は見られなかった。また、今回検討した対象者は筋肉率では 37.4~42.4 % と筋肉質である集団であり、また筋肉量に大きなばらつきが見られなかったため、正しく評価されていない可能性にも注意する必要があるため、筋肉量の変動が大きい、より多くの母集団での検討が望まれる。

ラットに対して、絶食時に 3,4-DAP を 10 mg/kg 経口投与したところ血清中濃度は 37.3 ± 3.7 分で最大となり、その後は減少した。 $T_{1/2}$ は 33.0 ± 5.3 分であり、AUC は 21541 ± 3441 ng/mL/min となった。エレンタール投与 30 分後に 3,4-DAP を投与した群では、血清中濃度は 52.2 ± 2.0 分で最大となり、その後は減少した。 $T_{1/2}$ は 16.7 ± 2.3 分であり、AUC は

10419 ± 728 ng/mL/min となった。また、絶食時の投与では F は 25.1 ± 4.0 %、食後投与では 12.1 ± 0.8 % となった。AUC および F はそれぞれ絶食時の約 50 % であり、有意な低下が見られた。T_{max} の有意な延長や、C_{max} の低下傾向が見られた。食事による AUC の変化の原因としては胃内容物排出速度の変化、または 3,4-DAP の吸収率自体の低下等が原因として考えられた。一方、健常日本人男性 5 名において、3,4-DAP 10 mg 経口投与を行ったところ、空腹時投与では血清中濃度は 20 ± 6 分で最大となり、その後は減少した。T_{1/2} は 46.3 ± 29.3 分であり、AUC は 734 ± 215 ng/mL/min であった。食後投与では、血清中濃度は 37 ± 22 分で最大となり、その後は減少した。T_{1/2} は 51.4 ± 24.4 分であり、AUC は 566 ± 295 ng/mL/min であった。したがって AUC は 20 % 程度低下していることがわかった。ラットでの検討と同様に健常人においても、T_{max} の延長や C_{max} の低下傾向が見られ、AUC は低下傾向を示した。したがって 3,4-DAP を経口で服薬する際には、食事の影響を考慮する必要があることが明らかとなった。そこで、3,4-DAP の消化管吸収の特性を明らかにするために *in situ loop* 法にて、まず投与量による 3,4-DAP の消化管吸収の違いについて検討した。2 mg/kg 投与群では、0.2 mg/kg 投与群と比較して、上部の吸収が有意に抑制されることがわかった。上部、中部、下部それぞれにおいて 0.2 mg/kg 投与群では経過時間に比例して吸収率が増加したのに対し、2 mg/kg 投与群では吸収が頭打ちになる様子が見られた。このことから、3,4-DAP の腸管からの吸収は受動拡散ではなく何らかの能動輸送が関与していることが示唆された。次に、食物の栄養成分が 3,4-DAP の腸管からの吸収に及ぼす影響を検討した。半消化態栄養剤であるテルミール 2.0 α 投与群ではコントロール群と比較して上部および下部で 7 % 程度の吸収率の低下が見られた。また、成分栄養剤であるエレンタール投与群では、コントロール群と比較して上部、中部、下部にて 5~10 % 程度の吸収率の低下が見られた。これらのことから、食物摂取により 3,4-DAP の腸管からの吸収率が抑制されることがわかった。また、テルミール投与群でもエレンタール投与群でも同様な傾向が見られたため腸管からの吸収の抑制には、食事の成分による差は少ないことが示唆された。ラットの実験により、エレンタール投与群では AUC や F が約 50 % 低下したのに対し、今回の *in situ* での実験ではエレンタール投与群では腸管からの吸収は 5~10 % 程度の抑制しか見られず、食事による腸管からの吸収抑制だけでは説明できなかった。この原因としては、*in vivo* では 3,4-DAP の副作用として下痢の報告があることから、3,4-DAP が腸管の K⁺チャネルに作用することで腸管の蠕動運動が促進され、3,4-DAP の腸管内での滞留時間が短くなったために吸収率が大きく低下したことが考えられる。

【結論】

本研究では、3,4-DAP の患者への安全で有効な使用方法の確立を目的とし、3,4-DAP のラットとヒトにおける体内動態について検討した。そして、以下のような結果を得た。

1. ラットにおける 3,4-DAP の薬物動態パラメータについては、血清中半減期は単回静注時では 15.9 ± 3.1 分と短く、分布容積が 2.85 ± 0.73 L/kg と大きく、全身クリアランスは 120 ± 23 mL/min/kg と大きかった。また、経口投与時の血清中濃度半減期は 33.0 ± 5.3 分であった。

ラットでのFは 0.251 ± 0.040 であった。

2. 日本人の LEMS 患者一症例について、血清中濃度測定と体内動態パラメータを算出した。その患者の 3,4-DAP の血清中半減期は 40.0 分であり、ラット経口投与時とほぼ同じであった。また、3,4-DAP の血清中濃度が低下しているにもかかわらず、効果は持続していた。

3. 健常人での 3,4-DAP の体内動態は Vd/F は 740 L から 1669 L と大きく、また $T_{1/2}$ は 35.4 分から 51.4 分と短く、血清中からの消失は早い組織への移行性は良い特徴を示す薬物であることが示された。この事はラットや LEMS 患者における体内動態と同様な傾向であった。健常人では、投与量上げると AUC は上昇し、 Vd/F は低下し、投与量依存性がある可能性が示唆された。また、筋肉量が多いほど、AUC は低くなる傾向が見られ、筋肉量の違いが個体間変動因子となりうることを示唆された。3,4-DAP の副作用として心電図の波形に異常を示すことがわかり、不整脈、特に房室ブロックの既往のある患者に投与する際には慎重投与が求められる。

4. 食事は 3,4-DAP の吸収率を低下させる因子の 1 つである。

以上より、3,4-DAP の体内動態変動因子として、投与量や筋肉量、食事の影響があげられることが示された。

本研究により、3,4-DAP のラットおよび健常日本人における体内動態に関する情報が示され、3,4-DAP の体内動態的特徴の概要が明らかとなった。特に、3,4-DAP の体内動態変動因子として、投与量、筋肉量、食事の影響が示唆された。また、副作用として心臓への影響に注意することが示された。これらの点を考慮することにより、希少疾患である LEMS 患者に対する 3,4-DAP を用いた薬物治療の個体差を抑え、適正な薬物治療を行う上での基礎的な知見が得られた。更に、本邦での 3,4-DAP の臨床開発を促進することも期待される。

学位論文審査報告書 (甲)

1. 学位論文題目

Lambert-Eaton 筋無力症治療薬 3,4-diaminopyridine の体内動態に関する研究

2. 論文提出者 (1) 所 属 生命科学 専攻 分子作用学 講座

(2) 氏 名 いしだ なつこ
石田 奈津子

3. 審査結果 (1) 判 定 (いずれかに○印) 合 格 ・ 不合格

(2) 授与学位 博 士 (薬学)

4. 学位論文審査委員

5. 審査結果の要旨 (600~650 字)

Lambert-Eaton 筋無力症候群 (LEMS) は四肢近位筋の筋力低下、筋萎縮などを特徴とする希少疾病である。LEMS の薬物治療については、3,4-diaminopyridine (3,4-DAP) が、神経筋接合部の前シナプス膜にある膜電位依存 K^+ チャンネルを阻害することで LEMS の臨床症状を改善すると考えられ 1980 年代より臨床に供されている。しかしながら、3,4-DAP は、国内では医薬品として市販されておらず、研究用試薬が内服されているのが現状である。更に、3,4-DAP の体内動態に関しては十分な検討が為されておらず、個体間および個体内変動についての知見は断片的であった。そこで本研究では、3,4-DAP の患者への安全で有効な使用方法の確立を目指し、3,4-DAP の薬物動態学的特徴を明らかにすることを目的とした体内動態に関する臨床試験および動物実験を実施し、3,4-DAP に関して以下の成果を得た。

- 1) 3,4-DAP の分布容積は大きく、半減期が短い特徴をラット、健常人で共通に備える。
- 2) LEMS 患者の知見より、血中濃度と薬効のずれ (反時計回りのヒステレシス) の可能性が示唆された。
- 3) 健常人において体内動態は非線形性を有する。
- 4) 体内動態変動因子として、筋肉量の影響が示唆された。
- 5) 3,4-DAP は PR 間隔延長する可能性が示唆された。
- 6) 食物の共存下で吸収が遅延することが *in situ* におけるラットの検討から示唆された。

本研究により、3,4-DAP のラットおよび健常人における体内動態に関する情報が得られ、3,4-DAP の体内動態的特徴の概要が明らかとなった。特に、3,4-DAP の体内動態変動因子として、用量依存性、筋肉量、食事の影響が示唆された。また、副作用として心臓への影響に注意することが示された。これらの知見は、今後のさらなる検証が必要ではあるが、現に 3,4-DAP の薬物治療が行われている患者および医療関係者には有効で安全な薬物治療を行う上で有益な示唆を与えるものであり、更に、希少疾病である LEMS に対する 3,4-DAP の今後の臨床開発を推進する上でも有用な知見を与えるものとして、博士 (薬学) 論文に値すると判定された。