

シクロスポリンの腸管部位特異的吸収に関する研究

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/2297/14633

氏名	金 明姫
学位の種類	博士 (薬学)
学位記番号	博甲第 805 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 22 日
学位授与の要件	課程博士 (学位規則第 4 条第 1 項)
学位授与の題目	シクロスポリンの腸管部位特異的吸収に関する研究
論文審査委員 (主査)	宮本 謙一 (医学部附属病院・教授)
論文審査委員 (副査)	辻 彰 (自然科学研究科・教授), 横井 毅 (医学系研究科・教授), 加藤 将夫 (自然科学研究科・助教授), 横川 弘一 (医学部附属病院・助教授)

Summary

Cyclosporin A (CyA) is used as an immunity restraint agent, but the oral bioavailability (BA) has been known to varied among patients and even in individual. On the other hand, it has been reported that CyA is a substrate of drug transporter P-glycoprotein (P-gp) and metabolism enzyme CYP3A. This study aimed to clarify whether P-gp and/or CYP3A in the intestinal tract and liver is the decision factor of BA of CyA. In normal control mice, CyA was absorbed more in the upper intestine than in the lower intestine, and the expression of *CYP3A* mRNA was higher in the upper intestine than in the lower intestine, while that of *mdr1a* mRNA was in the opposite order. After dexamethasone (DEX) treatment, *CYP3A* and *mdr1a* mRNAs were potently induced in the lower and upper intestine, respectively. In the *in vivo* and *in situ* experiments using *mdr 1a/1b(-/-)* mice and the corresponding normal control mice, it was clarified that the oral BA of CyA could be mainly controlled by CYP3A in the upper intestine, rather than the liver by under physiological conditions, but when P-gp and CYP3A was induced by the steroid, the intestinal absorption of CyA was significantly inhibited by P-gp of the upper intestine, and was not influenced by CYP3A. From these results, under physiological conditions, the oral BA of CyA is mainly controlled by CYP3A in the upper intestine, but when P-gp is induced, the intestinal absorption of CyA may be inhibited. These findings may be contribute to improvement for BA of CyA and immunosuppression therapy.

緒言

免疫抑制療法に広く使用されている cyclosporin A (CyA) は有効血中濃度域が狭い上、腸管からの吸収に安定性を欠き、患者間の経口 bioavailability (BA) はもちろん、同一患者においても、ばらつきが大きいことから、血中濃度モニタリングは不可欠な薬剤である。その要因として、CyA は薬物輸送トランスポータ P-glycoprotein (P-gp) や薬物代謝酵素 (CYP3A) の基質であるため、これらの蛋白質の関与が考えられる。しかし、CyA の経口投与後の腸管からの吸収に、どの程度 P-gp があるいは CYP3A が関与しているかについて、詳細には明らかにされていない。そこで、本研究は、CyA の BA に対する小腸特異的部位の P-gp および CYP3A の寄与を解明する目的で、wild-type および *mdr 1a/1b* knockout [*mdr 1a/1b*(-/-)] マウスを用いて、dexamethasone (DEX, 1あるいは75 mg/kg/day) を7日間腹腔内投与した群 (DEX 処置群) と無処置群で比較検討した。

Wild-type および *mdr1a/1b*(-/-) マウスの cyclosporin A の体内動態

まず、無処置と DEX 処置した wild-type および *mdr1a/1b*(-/-) マウスを用いて、小腸部位および肝臓における P-gp および CYP3A の発現について検討した。DEX 無処置 wild-type マウスの小腸各部位の *mdr1a* mRNA の発現量は回腸、空腸、十二指腸の順に、*CYP3A* mRNA の発現量は逆に十二指腸、空腸、回腸の順に高かった。また、低用量 DEX (1 mg/kg, i.p.) 処置群では十二指腸および肝臓の *mdr1a* mRNA のみが、高用量 DEX (75 mg/kg, i.p.) 処置群では、更に回腸および肝臓の *CYP3A* mRNA も有意に誘導されることが示された。

両タイプマウスに、CyA (10 mg/kg) を静脈内および経口投与し、CyA の体内動態を比較検討した。まず、DEX 無処置の場合、静脈内投与時では、*mdr 1a/1b*(-/-) マウスの AUC_{0-24h} 値は wild-type マウスに比べて有意に高く、 CL_{tot} 値は有意に小さかった。また、経口投与時でも、*mdr 1a/1b*(-/-) マウスの AUC_{0-24h} 値は wild-type マウスに比べて大きかったが、BA 値はわずかな上昇しか見られなかったことから、正常状態下では、小腸や肝臓等の P-gp の寄与は小さいものと考えられた。

一方、DEX 処置により、P-gp および CYP3A が発現誘導されるが、低用量 DEX 処置群では小腸および肝臓の P-gp が、高用量 DEX 処置群では小腸および肝臓の P-gp および CYP3A が有意に誘導された。そして、DEX 処置した場合、両タイプマウスの CyA 静脈内投与後の CL_{tot} はいずれも DEX 投与量依存的に上昇したが、両タイプマウス間で差は見られなかった。このことから、肝臓等での P-gp の発現誘導は CyA の体内動態には大きな影響を与えないことが示唆された。しかし、DEX 処置 wild-type マウスにおいて、その BA 値は無処置群に比べて DEX 低用量および高用量処置群でそれぞれ 43% および 25% に大きく低下し、一方、*mdr 1a/1b*(-/-) マウスにおいて、89% および 73% とその低下は小さ

かったことから、小腸で誘導された P-gp は CyA の経口 BA に大きく寄与することが示唆された。

In situ loop 法による P-glycoprotein および CYP3A の寄与の評価

Wild-type および *mdr1a/1b(-/-)* マウスを用いて、無処置対照群と DEX 75 mg/kg/day を 7 日間連日腹腔内投与した群 (DEX 処置群) で、小腸上部と下部の各 5 cm の loop 内に CyA (40 nmol) を投与した。

投与 45 min 後の CyA の loop 内残存率は、DEX 無処置両タイプマウスのいずれも小腸上部よりも小腸下部で、大きかった。しかし、小腸上部 loop 内投与時では、両タイプマウス間で差が見られなかったが、小腸下部 loop 内投与では、CyA の loop 内残存率は *mdr1a/1b(-/-)* マウスに比べて、wild-type マウスで有意に大きかった。一方、DEX 処置 wild-type マウスの小腸上部 loop 内投与時、CyA の loop 内残存率は無処置群に比べ、有意に高くなり、小腸下部 loop 内投与時では、変化が見られなかった。また、DEX 処置 *mdr1a/1b(-/-)* マウスにおいては、無処置群に比べ、小腸上部および小腸下部 loop 内投与時のいずれの場合も変化が見られなかった。これらのことは、CyA の BA に対する P-gp の寄与は、小腸上部で小さく、逆に小腸下部で大きいことがわかった。しかし、DEX を処置することにより、小腸上部で誘導された P-gp の BA に対する寄与は大きくなることが示唆された。

一方、無処置両タイプマウスの代謝酵素活性ポテンシャル (V_{max}/K_m) 値は、いずれも、小腸下部に比べて小腸上部で著しく大きかった。このことは、無処置群の門脈中の CyA の代謝物 M17 と CyA の濃度比 ($M17/CyA$) が小腸上部で小腸下部に比べて高かったことと、よく一致していた。また、両タイプマウスの肝臓の V_{max}/K_m 値は小腸上部より約 2~3 倍高い値を示し、更に、DEX 処置により、これらの値は無処置群に比べ、小腸上部で約 3 倍、肝臓で約 10 倍と上昇した。特に、小腸下部の V_{max}/K_m 値は、無処置群の小腸上部のレベルまでに上昇することがわかった。このことも、門脈中の $M17/CyA$ 濃度比が DEX 処置群の小腸下部で、小腸上部の無処置群のレベルまでに上昇していたことと一致していた。

更に、*mdr1a/1b(-/-)* マウスにおいて、CyA 静脈内投与時の場合、M17 のみかけの組織-血中濃度比 ($K_{b,app}$ 値) は肝臓、小腸上部、小腸下部の順に約 4.8, 2.3, 1.5 であった。しかし、CyA 経口投与時の場合、小腸上部の M17 の $K_{b,app}$ 値は著しく大きくなり、静脈投与時の約 10 倍となった。しかし、肝臓や小腸下部では、静脈内投与時と有意な差は見られなかった。このことは、経口投与時の場合、CyA は肝臓の CYP3A よりむしろ小腸上部の CYP3A によって主に代謝されることが示唆された。一方、小腸下部で誘導された CYP3A の寄与は CyA の BA に対して小さいものと考えられた。

以上のことから、P-gp および CYP3A の基質となり、小腸上部で吸収される CyA のような薬物の BA の決定因子は、正常状態で、小腸上部の P-gp ではなく、肝臓よりむしろ、小腸上部の CYP3A であることが示された。しかし、DEX などの併用薬物あるいは外来刺激を受け、P-gp および CYP3A の発現量が誘導された時には、小腸上部で誘導された P-gp の排出ポンプ効果が薬物の BA に大きく寄与し、一方、小腸下部および肝臓で誘導された CYP3A の寄与は小さいことが示唆された。

総括

本研究では、経口投与時の CyA の腸管部位特異的な吸収に関わる P-gp および CYP3A の関係を明らかにした。ここで得られた知見は、今後、経口投与時の適正な薬物療法を実践する際に、BA の変動やその改善を考慮する上で、重要なエビデンスとして有意義なものであると考える。

学位論文審査結果の要旨

免疫抑制療法に広く使用されている cyclosporin A (CyA) は、薬物輸送トランスポータ P-glycoprotein (P-gp) や薬物代謝酵素 CYP3A の基質である事は良く知られているが、これらのタンパク質が CyA の消化管吸収にどのような寄与をしているかを明確に示した研究は見当たらない。

本研究は、*mdrla/b* ノックアウトマウスを用い、かつ、P-gp や CYP3A の発現誘導剤である dexamethasone (DEX) 投与することによる小腸の部位別の CyA の BA の変化を詳細に検討し、以下のような成果を得た。

- 1) Wild-type マウスでは、*mdrla* mRNA および P-gp の発現量は、小腸上部より小腸下部で多く、*CYP3A* mRNA およびそのタンパク質発現量は、逆であった。DEX 処置により、小腸上部では P-gp が、小腸下部では CYP3A が有意に誘導された。
- 2) CyA の体内動態において、正常状態では P-gp の寄与は小さいと考えられたが、DEX 処置 wild-type マウスの BA は著しく低下した。*mdrla/b* ノックアウトマウスでは DEX 処理による BA の低下の程度は小さかった。
- 3) *in situ* loop 法により小腸上部と小腸下部における CyA の吸収動態を検討したところ、CyA は小腸上部での吸収が大きく、DEX 処置により小腸上部からの吸収は低下した。一方、CYP3A の CyA 代謝活性は小腸上部で高いが、*mdrla/b* ノックアウトマウスを DEX 処理することによる CYP3A 活性の誘導は小腸下部で優位に起こるため CyA の吸収量の変化は少なかった。

以上より、正常状態下では CyA の BA に対して P-gp より CYP3A が大きく関与しており、DEX による誘導時には P-gp の寄与が大きい事を明らかにした。このように、本研究は、CyA の消化管吸収の様態を詳細に明らかにしただけでなく、本薬剤の吸収変動の要因の一部をも明らかにした点で、移植医療のみならず、薬物動態研究の発展に寄与する労作であり、博士(薬学)に値すると評価された。