

薬物の腎排泄に対する尿毒症物質の影響に関する研究

平成 28 年 度

市村 祐一

【目的】尿毒症物質(UTs)とは、末期腎不全患者の体内に蓄積し、生体に対して様々な悪影響を及ぼす物質の総称である。血液中の UTs や薬物は糸球体ろ過や尿細管分泌により尿中に排泄されるが、尿細管分泌における血液中から腎上皮細胞内への輸送には、腎上皮細胞側底膜に発現する有機アニオン輸送担体(OAT)や有機カチオン輸送担体(OCT)が関与する。アニオン性 UTs のインドキシル硫酸(IS)、インドール酢酸(IA)および 3-カルボキシ-4-メチル-5-フラノプロピオン酸(CMPF)は OAT の基質であり、一方グアニジノ化合物のグアニジン(GU)やメチルグアニジン(MG)、グアニジノコハク酸(GSA)は OCT の基質である。また、腎機能検査の指標として用いられるクレアチニン(Cr)は、OAT および OCT の基質であると報告されている。したがって、これらの UTs は輸送担体を介した薬物の尿細管分泌に影響を及ぼすと予測される。また、IS や CMPF は強い血漿タンパク結合性を示すことも報告されている。

現在日本国内には、約 32 万人の血液透析(HD)患者に加え、その予備軍とされる 1,330 万人の慢性腎臓病(CKD)患者がいる。これらの患者に適切な薬物療法を施すためには薬物動態に対する UTs の影響を明らかにする必要がある。しかしながら、UTs と薬物間の相互作用についてはまだ十分に解明されていない。臨床において UTs による薬物動態変化を予測するためには、患者血漿中の UTs 濃度を知ることが重要である。血漿中 UTs 濃度を把握するには HPLC などによる分析が必要となるが、医療施設においてはより簡便な方法で UTs 濃度を推定できるのが望ましい。

本研究では、HD 患者血中の IS、IA および CMPF 濃度を測定し、臨床検査値との相関性を評価するとともに、限外ろ過法にて薬物のヒト血清アルブミン(HSA)への結合に対する UTs の影響を検討した。さらに、UTs による薬物の腎排泄に対する影響を明らかにする目的で、ラット腎皮質スライスへの種々薬物の取り込みに対する UTs の影響を比較検討した。

【方法】血漿中 UTs 濃度の測定 札幌東徳洲会病院に通院中の HD 患者および健常被験者に対して、所定の様式に従った文書を用いて研究の主旨と個人情報の保護について説明を行い、同意の得られた患者 20 名と健常被験者 5 名を対象とした。透析前後の血液各 4 mL を透析回路から採取後、遠心分離して得られた血漿中の IS、IA および CMPF 濃度を測定した。また、各 UT 濃度間ならびに血清クレアチニン(Scr)、血中尿素窒素(BUN)、推算糸球体ろ過量(eGFR)との相関性を評価した。限外ろ過法による HSA への結合実験 薬物溶液と HSA 溶液を混合して一定時間インキュベートした後、試料を限外ろ過し、得られたろ液中の薬物濃度を測定した。ラット腎皮質スライスへの取り込み実験 常法に従って調製したラット腎皮質スライスを薬物溶液に浸し、混合ガス(95% O₂: 5% CO₂)通気下、一定時間インキュベートした。その後、腎スライスをホモジネートして取り込まれた薬物量を測定した。薬物の定量 各薬物の定量はすべて HPLC 法により行った。

【結果・考察】血漿中 UTs 濃度 20 名の HD 患者における 3 種 UTs の血漿中濃度は、IS が透析前 $157.9 \pm 19.9 \mu\text{M}$ 、透析直後 $103.8 \pm 13.3 \mu\text{M}$ 、IA 濃度が透析前 $4.3 \pm 0.5 \mu\text{M}$ 、透析直後 $2.3 \pm 0.3 \mu\text{M}$ 、

CMPF が透析前 $63.0 \pm 6.3 \mu\text{M}$, 透析直後 $65.1 \pm 6.7 \mu\text{M}$ だった。一方, 健常被験者において IS は血漿中にほとんど検出されず, また IA は $2.0 \pm 0.3 \mu\text{M}$, CMPF は $12.0 \pm 2.3 \mu\text{M}$ であったことから, HD 患者では血漿中 IS 濃度が著しく上昇していることが示された。透析前後の血漿中濃度から, 各 UT の透析除去率は IS が約 33%, IA が約 47%, そして CMPF はほぼ 0% だった。

3 種 UTs の血漿中濃度の間には相関性はみられなかった。また IA と CMPF では腎機能検査との間に相関性は認められなかったが, IS 濃度と Scr (透析前: $r = 0.643$, 透析直後: $r = 0.744$) および eGFR (透析前: $r = -0.558$, 透析直後: $r = -0.645$) の間に有意な相関が認められたことから, Scr および eGFR は血漿中 IS 濃度を予測する有用なパラメーターであると考えられた。

HSA への結合性 限外ろ過法より算出された HSA への結合率は, IS が $64.8 \pm 1.2\%$, IA が $29.0 \pm 2.1\%$ として CMPF はほぼ 100% だった。これらの HSA 結合率と透析除去率との間には, 良好な負の相関 ($r = -0.970$) が認められた。CKD 患者は様々な生活習慣病を併発していることが多く, UTs と薬物の間では血漿タンパク結合を巡って相互作用が起こることが指摘されている。そこで, 脂質異常症の治療に汎用されるプラバスタチンをモデル化合物として, 3 種 UTs による HSA 結合への影響を検討した。プラバスタチンの HSA 結合率は $23.4 \pm 0.5\%$ だったが, この値は CMPF 共存下で $20.6 \pm 0.8\%$ とほとんど変化しなかったが, IS および IA 共存下ではそれぞれ $2.8 \pm 1.1\%$, $16.6 \pm 2.4\%$ まで有意に低下した。CMPF は HSA のサイト I に, 一方 IS と IA はサイト II に結合することが報告されている。ここでの知見は, プラバスタチンなどのスタチン系薬がサイト II に結合し, その結合が IS や IA によって影響されることを示唆した。

ラット腎皮質スライスへの薬物取り込みに対する種々 UTs の影響 アニオン性薬物のメロペネム (MEPM) とメトトレキサート (MTX) のラット腎皮質スライスへの取り込み量は, それぞれ $19.8 \pm 1.2 \text{ pmol/mg wet tissue}$, $39.9 \pm 1.7 \text{ pmol/mg wet tissue}$ であり, MTX が約 2 倍高い値を示した。MEPM と MTX の取り込み量は IS および IA 共存下で有意に低下したが, その程度は MEPM に比べ MTX で小さかった。また, MEPM は MTX の取り込みに有意な影響を及ぼさなかった。したがって, 両薬物の腎上皮細胞側底膜を介した輸送は IS による阻害を受けるものの, 関与する輸送担体は異なると考えられた。MTX の輸送には OAT3 や還元型葉酸輸送担体が関与し, 一方の MEPM の取り込みには OAT1 の寄与が大きいと推測された。

両イオン性薬物のピアペネム (BIPM) の取り込み量 ($5.5 \pm 0.7 \text{ pmol/mg wet tissue}$) は, IS, IA ならびに CMPF 共存下で低下する傾向を示したことから, OAT による輸送が一部寄与しているとみなされた。これに対し, OCT1 および OCT2 を阻害すると報告されている MG 共存下では, BIPM の取り込み量に大きな変化は認められなかった。

カチオン性薬物のメトホルミン (MET) の取り込み量 ($111.6 \pm 4.5 \text{ pmol/mg wet tissue}$) は, OCT を阻害することが報告されている GU および MG によって阻害された。一方, 腎上皮細胞への取り込みに OATP4C1 が関与することが報告されている GSA 共存下では, MET の取り込み量に変化はみられなかった。また, IS は MET 取り込みをほとんど変化させなかったことから, IS は OCT に影響を及ぼさないと考えられた。BIPM と MET の取り込みはテトラエチルアンモニウム共存下で低下したことから, 共通の輸送機構が関与すると考えられた。しかしながら, MET に BIPM を, BIPM に MET をそれぞれ共存させたところ, MET の取り込みは変化せず, BIPM の取り込みのみが有意に低下した。したがって, MET は BIPM と共通の輸送機構と異なる輸送機構によって腎上皮細胞内に取り込まれると推察された。

Cr を MEPM, MTX, BIPM または MET に共存させて取り込み実験を行ったところ, MEPM, MTX および BIPM の取り込みが有意に低下したことから, Cr は OAT によって尿細管分泌を受けるとして影響を及ぼす可能性が示唆された。

【結論】 IS は, HD 患者の血液中に高濃度で存在し, HSA のサイト II に結合する薬物の置換を引き起こすこと, さらに尿細管分泌に関わる輸送担体を介して薬物の腎排泄に影響を及ぼすことが示唆された。また, HD 患者における IS の血漿中濃度は, Scr や eGFR を用いて予測可能であることが示された。GU, MG, GSA および Cr は類似の構造を有するが, 薬物の尿細管分泌に対する影響はそれぞれ異なることが示された。これらの知見は, 腎機能が著しく低下した患者に薬物を投与する際に, UTs による薬物動態への影響を考慮し, 適切な投与量を設定するための一助となると考えられる。