

学 位 論 文 要 旨

薬剤性腎障害における小腸トランスポーターの発現変化と基質薬物の吸収挙動に関する研究

令和 3 年 度

北海道医療大学大学院薬学研究科

武田 芙蓉

【目的・背景】 様々な臓器で薬物動態に関与するトランスポーターの発現が確認されている。これらトランスポーターは臨床現場において薬物間相互作用の重要な要因となることが多く、近年、様々な疾患時においてその発現量が変化することが報告されている。急性腎障害 (acute kidney injury: AKI) は、薬物療法における有害事象の中で発生頻度が高く、AKIにより腎尿細管上皮細胞の刷子縁膜及び側底膜に存在するトランスポーターの発現が変化することが知られている。しかし、本病態下での腎以外の組織におけるトランスポーターの変化についてはほとんど知られていない。AKI 下でのトランスポーター機能の変化を正確に理解することは、体内動態をふまえた薬物の適正使用において非常に重要である。そこで本研究では、efflux トランスポーターである P-glycoprotein (P-gp) 及び breast cancer resistance protein (Bcrp)、influx トランスポーターである organic anion transporting polypeptide (Oatp) 1a2 及び Oatp2b1 に着目し、これらの小腸における発現量の変化とその基質薬物の吸収挙動の変化をシスプラチン (CDDP) 誘発性 AKI ラット及びゲンタマイシン (GM) 誘発性 AKI ラットを用いて検討した。

【方法】 1. CDDP 誘発性 AKI ラットにおけるトランスポーターの発現変動と基質薬物の消化管吸収挙動の検討 10 週齢の雄性 Sprague-Dawley (SD) ラットに CDDP (5 mg/kg) を単回腹腔内投与し、AKI ラットを作成した。CDDP 投与 72 時間後に十二指腸、空腸及び回腸を摘出し、ヘマトキシリン・エオシン染色により形態学的変化を観察した。また、小腸各部位における P-gp、Bcrp、Oatp1a2 及び Oatp2b1 のタンパク質発現をウェスタンブロット法により検討した。さらに、テオフィリン (TH)、6 α -メチルプレドニゾロン (MP)、ローダミン 123 (RHO)、ガチフロキサシン (GFLX)、プラバスタチン (PRV)、フェキソフェナジン (FEX) の吸収挙動の変化を小腸ループ法により評価した。加えて、PRV 及び FEX を静脈内投与し、血漿中濃度の変化について検討した。薬物の定量は全て HPLC 法にて行った。2. GM 誘発性 AKI ラットにおける小腸 P-gp 及び Oatp2b1 の発現変動と基質薬物の消化管吸収挙動の検討 10 週齢の雄性 SD ラットに GM (1,000 mg/kg) を単回腹腔内投与し、AKI ラットを作成した。GM 投与 96 時間後に小腸各部位における P-gp 及び Oatp2b1 のタンパク質発現と MP、RHO 及び PRV の吸収挙動の変化について検討した。また、PRV を静脈内投与し、血漿中濃度の変化について検討した。

【結果】 1. CDDP 誘発性 AKI ラットにおけるトランスポーターの発現変動 CDDP 投与 72 時間後の AKI ラットの十二指腸では、健常ラットと比較して著明な形態学的変化は認められなかったが、空腸及び回腸では絨毛の萎縮が見られた。AKI ラットにおける各トランスポーターの発現量を健常ラットと比較すると、efflux トランスポーターの場合、Bcrp の発現量には変化が見られなかったのに対し、P-gp では回腸の発現量が健常ラットに比べ約 38%まで減少した。一方、influx トランスポーターでは、Oatp1a2 の発現量が十二指腸にて有意に増加したのに対し、Oatp2b1 の発現量は十二指腸及び回腸においてそれぞれ約 45%、約 60%まで減少した。2. CDDP 誘発性 AKI ラットにおける基質薬物の吸収挙動 AKI ラットにおける小腸ループ内からの TH の正味吸収率には健常ラットと比較して、有意な差は認められなかった。また、MP の回腸における消失率及び RHO の正味吸収率には、健常ラットと比較して変化は認められなかった (43.3% vs.

45.2%, 17.3% vs. 15.6%). GFLX の正味吸収率は AKI ラットで有意に低下した (47.9% vs. 23.0%). P-gp 阻害剤であるベラパミル共存下では, MP の回腸における消失率は健常ラットと同程度に約 79%まで増加し, RHO 及び GFLX の正味吸収率もそれぞれ約 31%, 約 66%まで増加した. 一方 Oatp2b1 の基質である PRV の正味吸収率は AKI ラットで低下傾向を示した (35.9% vs. 22.8%). これを反映して PRV の血漿中濃度推移は投与後 60 分より有意に低下し, 血漿中濃度時間曲線下面積 AUC_{0-120} は 32.3%まで減少した. 一方で, FEX では, 正味吸収率に低下傾向が見られたものの (26.9% vs. 18.7%), 血漿中濃度推移及び AUC_{0-120} に大きな変化は認められなかった. PRV 及び FEX の静脈内投与後の血漿中濃度推移には健常ラットと AKI ラット間で有意差は認められなかった. 3. GM 誘発性 AKI ラットにおける P-gp 及び Oatp2b1 の発現変動と基質薬物の吸収挙動 AKI ラットにおける P-gp 発現量は, 健常ラットと比較し回腸で約 162%にまで有意に増加した. しかし, MP の回腸における消失率及び RHO の正味吸収率には健常ラットと AKI ラット間で有意差は認められなかった (43.3% vs. 51.5%, 17.3% vs. 22.1%). また, AKI ラットにおける Oatp2b1 の発現量, PRV の正味吸収率及び AUC_{0-120} , さらに静脈内投与後の血漿中濃度推移には, 健常ラットと差が認められなかった.

【考察】 CDDP の腹腔内投与により小腸の形態学的変化が引き起こされたが, TH の結果から単純拡散による膜透過性には影響を及ぼさないことが示された. CDDP 誘発性 AKI ラットの回腸における P-gp 発現量が著しく減少したことから, P-gp 基質薬物の吸収が促進されることが予想された. しかし, MP の回腸における吸収率は健常ラットと同程度であり, ベラパミル共存下で, その吸収率は健常ラットと同様に著しく上昇した.¹⁾ 一方, GM 誘発性 AKI ラットでは, CDDP 誘発性 AKI ラットでの結果と異なり, 回腸における P-gp の発現量は健常ラットと比較し, 有意に増加した. この結果より, P-gp 基質薬物の吸収がさらに抑制されることが予測されたが, MP の回腸での吸収率は健常ラットと同程度であり, 吸収率の減少は見られなかった. これらの結果は, ラット回腸の P-gp 発現量が著しく減少あるいは増加しても, MP に対する P-gp の吸収抑制効果が健常ラットと同程度に維持されていることを示唆した. RHO 及び GFLX の吸収実験の結果もこのことを支持していると考えられた. また, CDDP 誘発性 AKI ラットにおいて小腸 Bcrp の発現量に変化がなかったことは, AKI 下での efflux トランスポーターの制御が共通の方向性及び同じ様式で生じているのではないことを示唆した.

CDDP 誘発性 AKI ラットでは小腸 Oatp2b1 の発現量が低下し, これを反映して代表的基質である PRV の吸収率は低下した.²⁾ PRV を静脈内投与した場合の血中濃度推移に AKI ラットと健常ラットで差が見られなかったことは, 肝に存在する Oatps を介した PRV の血漿クリアランスが変化していないことを示唆した. 一方, GM 誘発性 AKI ラットでは小腸 Oatp2b1 の発現量に変化が認められず, また PRV の吸収挙動も変化しなかったことは AKI 下でのトランスポーターの制御が薬物依存的に起こる可能性を示すと考えられた. また, P-gp, Oatp1a2, Oatp2b1 の基質である FEX の正味吸収率や血漿中濃度推移に健常ラットと CDDP 誘発性 AKI ラットの間で有意な差が認められなかったが, この要因として, 3 つのトランスポーターの発現や機能変化が複雑に関与している可能性が考えられた.

【結論】 本研究より, 小腸 P-gp は発現量の変化が引き起こされた場合, その輸送能力を変化させて, 生体異物の輸送に対するゲートキーパー機能を一定に維持する機序が存在することが推察された. また, 薬剤誘発性 AKI 時における小腸 efflux トランスポーターと influx トランスポーターの応答性には違いが存在し, それらの機能は一方的に制御されるのではなく, 薬物の体内動態に複雑で多面的な影響を及ぼすことが示唆された. これらの知見は薬剤誘発性 AKI による薬物動態の変化の一端を明らかにしたものであり, 臨床における薬物の適正使用や個別化医療の最適化につなげる上での極めて有用な知見であると考えられる.

- 1) Takeda *et al.*, Downregulated expression of intestinal P-glycoprotein in rats with cisplatin-induced acute kidney injury causes amplification of its transport capacity to maintain "gatekeeper" function. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **423**, 115570 (2021).
- 2) Takeda *et al.*, Downregulated expression of organic anion transporting polypeptide (Oatp) 2b1 in the small intestine of rats with acute kidney injury. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **40**, 100411 (2021).