

学位論文題名

肥満病態時における免疫抑制剤
シクロスポリン A およびタクロリムスの
体内動態変動に関する研究

Influence of obesity on pharmacokinetics of
cyclosporine A and tacrolimus

金沢大学大学院自然科学研究科（博士後期課程）
生命科学専攻
分子作用学講座

澤本 一樹

I found that the dose-normalized steady-state trough concentration ratio of orally administered cyclosporine A and tacrolimus in blood is increased in obese patients with a body mass index over 25 compared with other patients. In order to investigate the mechanisms involved in this increase, we examined the influence of obesity on tacrolimus pharmacokinetics in lean and obese Zucker rats, focusing on changes in drug-metabolizing enzyme cytochrome P-450 3a2 (Cyp3a2) and drug transporter P-glycoprotein (P-gp). Zucker rats fed a normal diet were given tacrolimus intravenously at a dose of 1.0 mg/kg or orally at a dose of 3.2 mg/kg. The blood concentrations of tacrolimus in obese rats were significantly higher than those in lean rats after administration via both routes. Total clearance and steady-state volume of distribution of tacrolimus were significantly decreased, and the bioavailability was increased in obese rats, compared with lean rats. Protein expression of Cyp3a2 in the liver was significantly decreased in obese rats, compared with lean rats, while P-gp in the small intestine was also significantly decreased in obese rats. These results suggest that the high blood concentration of tacrolimus in obese patients is a consequence of increased bioavailability and decreased metabolism of this drug.

【背景・目的】

今日、世界各国における肥満者人口は増加し社会的問題となっている。このような状況の中、臨床の現場においては肥満患者に薬剤を投与する際に医師および薬剤師が投与量設定に難渋する機会が増えてきていることも報告されている。これまでに、肥満者における cytochrome P-450 (CYP) 活性が変動することが示唆されている。非肥満者と比較して肥満者では、CYP2E1 活性が上昇するとされているが、CYP3A4、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 等の分子種における変動については統一的な見解は得られていない。分布過程については、肥満者では体重あたりの脂肪重量が増えることから脂溶性薬物の体重あたりの分布容積は増加し、一方で水溶性薬物の体重あたりの分布容積は低下すると一般には考えられている。しかしながら、脂溶性が高くても肥満状態で分布容積が低下する薬剤もあり、必ずしも分配係数だけでは分布容積の変動を予測できない。また、小腸および皮膚からの吸収過程については、肥満状態での CYP およびトランスポーターの発現変動が影響を与えるかという点については今のところ明確にされていない。よって、肥満状態における各薬剤の体内動態変動要因を明らかにすることは、処方設計および治療コントロールを行う際に重要な情報となる。免疫抑制剤は、

移植医療時の拒絶反応の出現を抑えるために必要不可欠な薬剤であり、また治療域が狭いために厳密な血中濃度コントロールが必要となる。しかしながら、肥満状態における免疫抑制剤の体内動態変動については現在のところ明確にされていない。そこで本研究では、CYP3A4 および P-glycoprotein の基質となり Therapeutic Drug Monitoring 対象薬物でもある cyclosporine A および tacrolimus に焦点を当て、肥満時における血中濃度変化を明らかにすることを目的とし、ヒト血中濃度解析とラット *in vivo* および *in vitro* 実験により検討を行った。

【方法】

ヒトを対象としたレトロスペクティブ調査研究を行い、cyclosporine A および tacrolimus の定常状態での血中濃度および投与量を指標として、体格の違いによる影響を評価した。体格の指標として body mass index (BMI) 値を用いて、BMI 18.5 以下を痩せ型群、BMI 18.5-25 を標準群、BMI 25 以上を過体重および肥満群の 3 群に分類した。Cyclosporine A および tacrolimus トラフ血中濃度を投与量で補正した C/D 比の 3 群間における変動と C/D 比と BMI 値との相関性について検討を行った。

次に、遺伝的肥満モデルラットである Zucker (fa/fa) ラットとその対象群として Zucker (+/+) ラットに tacrolimus を静脈内投与 (1 mg/kg) および経口投与 (3.2 mg/kg) した。得られた tacrolimus 血中濃度推移からモーメント解析法を用いて薬物速度論的に解析することにより、肥満時における薬物動態変動を評価した。また、tacrolimus を基質とする Cyp3a2 および P-glycoprotein の肝臓および小腸における遺伝子発現レベルおよびタンパク発現レベルを real-time PCR 法および western blotting 法を用いて評価した。

【結果・考察】

Cyclosporine A を投与された患者においては、肥満患者群では非肥満患者群と比べて C/D 比の上昇は認められず、また BMI 値と C/D 比に相関性は認められなかった (Figure 1)。また、tacrolimus を投与された患者においては、肥満患者群では非肥満患者群と比べて C/D 比の上昇が認められ、BMI 値と C/D 比に正の相関がみられた (Figure 1)。そこで次に、肥満状態における tacrolimus 体内動態変動要因を明らかにするため、肥満モデル動物を用いて検討することとした。Zucker ラットに tacrolimus を静脈内投与した場合、肥満群では対照群に比べ血中濃度は高く推移した。動態パラメーターを算出したところ、体重あたりの全身クリアランスおよび分布容積は対照群と比較して肥満群で低下した (Table 1)。その要因の一つとして、肥満群で血清中のコレステロール値およびトリグリセライド値が上昇していることから、tacrolimus と血清中リポプロテインによるタンパク結合率の上昇にともなう遊離形分率の低下が考えられた。経口投与した場合においても、肥満群では血中濃度は高く推移し、バイオアベイラビリティの上昇を認めた。肥満群では肝臓 Cyp3a2 のタンパク発現レベルは低下し、小腸上部および中部の P-glycoprotein タンパク発現レベルは低下していた (Figure 2, 3)。これらの結果から、肥満病態時においては CYP3A4 や P-glycoprotein の発現変動により、tacrolimus

の血中濃度が変化することが示唆された。

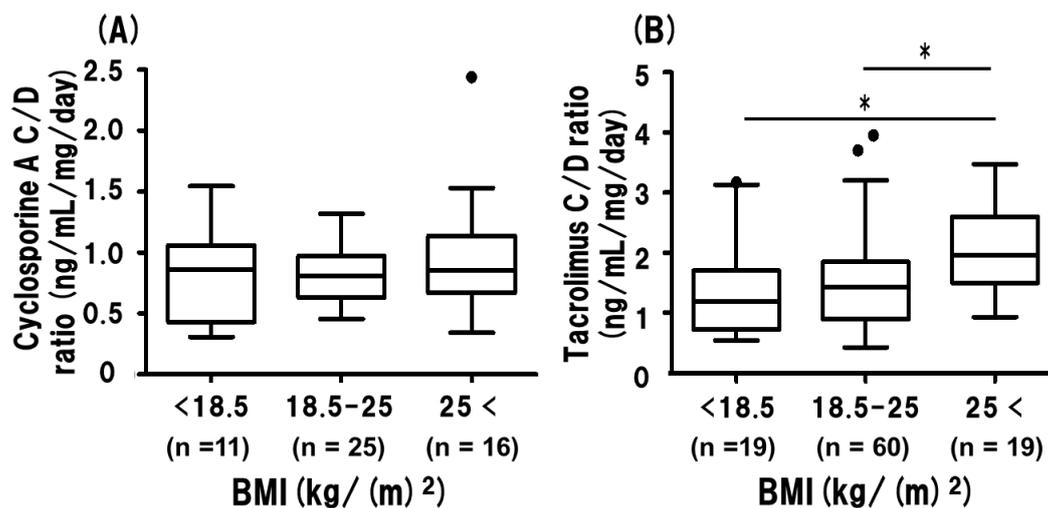


Figure 1. Comparison of C/D ratio of cyclosporine A (A) and tacrolimus (B) among patients having various BMIs.

*Significantly differences from low BMI patients at $p < 0.05$.

Table 1. Pharmacokinetic parameters of tacrolimus after intravenous and oral administration to lean (+/+) and obese (fa/fa) Zucker rats.

		Lean (+/+)	Obese (fa/fa)
i.v.	AUC _{0→∞} (ng h/mL)	888 ± 50	1381 ± 90*
	CL _{tot} (mL/min/kg)	19.1 ± 1.1	12.3 ± 0.8*
	MRT (h)	5.49 ± 0.21	5.77 ± 0.28
	Vd _{ss} (L/kg)	6.29 ± 0.44	4.26 ± 0.33*
	t _{1/2} (h)	4.35 ± 0.43	5.39 ± 0.24
p.o.	AUC _{0→∞} (ng h/mL)	257 ± 108	800 ± 119*
	CL _{tot} /F (mL/min/kg)	323.9 ± 82.7	72.2 ± 7.8*
	T _{max} (h)	1.4 ± 0.5	0.5 ± 0.1
	C _{max} (ng/mL)	64.5 ± 35.3	141.3 ± 43.5
	Bioavailability (%)	8.30 ± 3.49	18.60 ± 2.53*

Data are means ± S.E. (n =5-6).

*Significantly different from the lean (+/+) group at $p < 0.05$; Student's unpaired *t*-test.

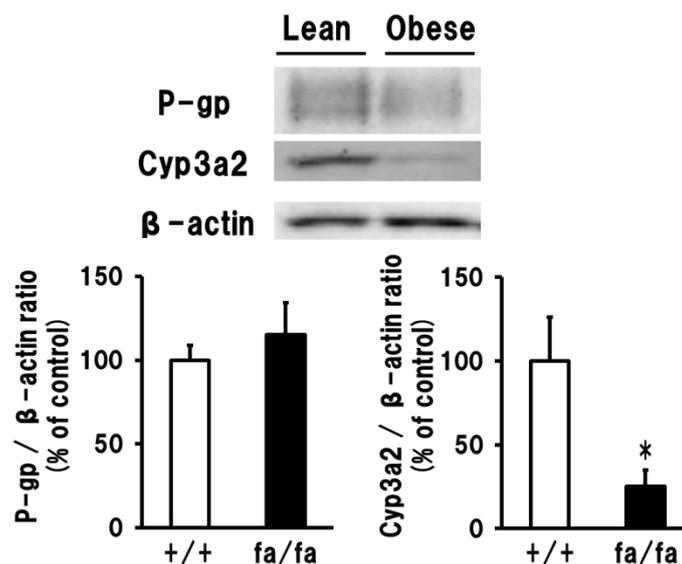


Figure 3. Western blot analysis of protein expression of P-glycoprotein and Cyp3a2 in the liver of lean (+/+) (open column) and obese (fa/fa) (closed column) Zucker rats.

Data are means ± S.E. (n =6).

*Significantly different from the lean (+/+) group at $p < 0.05$; Student's unpaired *t*-test.

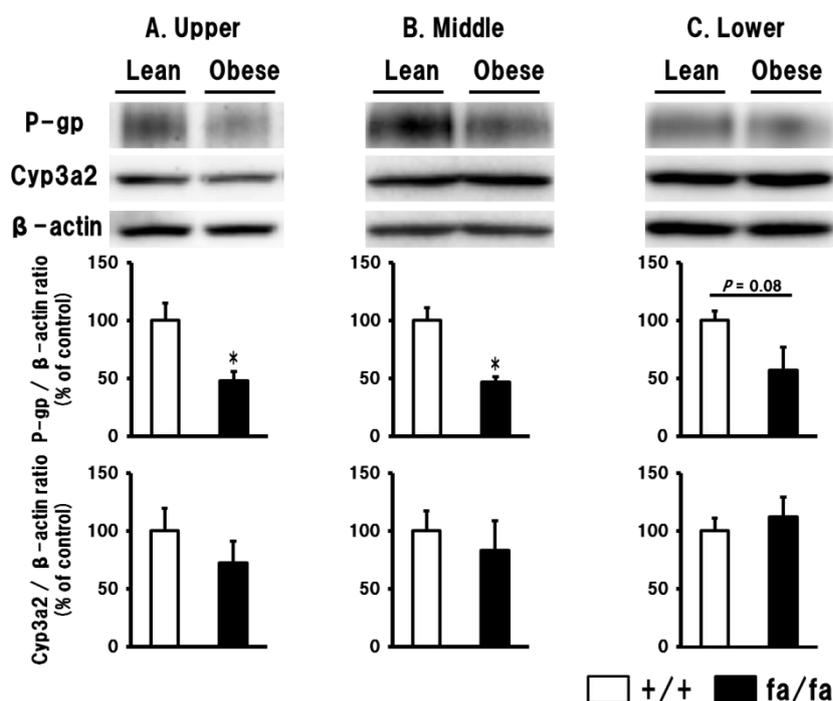


Figure 4. Western blot analysis of protein expression of P-glycoprotein and Cyp3a2 in the upper, middle and lower sites of the small intestine of lean (+/+) (open column) and obese (fa/fa) (closed column) Zucker rats.

Data are means \pm S.E. (n =5).

***Significantly different from the lean (+/+) group at $p < 0.05$; Student's unpaired *t*-test.**

【結論】

本研究の結果、肥満病態時には免疫抑制剤 tacrolimus のバイオアベイラビリティが上昇し、全身クリアランスが低下することが明らかとなった。またその要因の一つとして、肝臓および小腸の薬物代謝酵素およびトランスポーターの発現レベル変動が寄与する可能性が示唆された。今日、医療の個別化の重要性に対する認識が高まりつつあるが、医療者が薬物療法における適切な投与量設定を行うことは、疾患に対する治療効果の向上および副作用回避に大変重要であり、患者の QOL に大きく貢献することができると考えられる。よって、肥満病態時の薬物動態変動要因を認識することは、移植医療時における免疫抑制剤の初期投与量設定やその後の血中濃度管理などにおいて重要であり、本研究の成果は、意義深いものとする。

学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

肥満病態時における免疫抑制剤シクロスポリン A およびタクロリムスの体内動態変動に関する研究

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 さわもと かずき
澤本 一樹

3. 審査結果の要旨（600～650字）

肥満による生理状態の変化が薬物の吸収、分布、代謝、排泄過程に影響を与えることが明らかになりつつあるが、未だ明確にされていないことも多い。とりわけ免疫抑制剤について、肥満時の体内動態変動および薬物投与設計に関する報告は少ない。そこで本研究では、CYP3A4 および P 糖タンパク質 (P-gp) の基質となり Therapeutic Drug Monitoring (TDM) 対象薬物でもある cyclosporine A および tacrolimus に焦点を当て、肥満時における血中濃度変化とその機序について検討して、以下のような成果を得た。

- 1) Cyclosporine A あるいは tacrolimus を投与された患者の BMI 値とトラフ血中濃度/投与量比 (C/D 比) の関係を見ると、tacrolimus 投与患者で BMI 値 25 以上の肥満患者群では非肥満患者群と比べて C/D 比が上昇し、BMI 値と C/D 比の間には正の相関関係がみられた。
- 2) 雄性 Zucker ラットに tacrolimus を静脈内投与した場合、肥満 (fa/fa) 群では対照 (+/+) 群に比べ血中濃度は高く推移し、体重あたりの全身クリアランスおよび分布容積は対照群と比較して肥満群で低下した。
- 3) 同様に Zucker ラットに tacrolimus を経口投与した際も、肥満群では血中濃度は高く推移し、バイオアベイラビリティの上昇を認めた。
- 4) 肥満群では肝臓 Cyp3a2 のタンパク発現レベルは低下し、小腸上部および中部の P-gp タンパク発現レベルは低下していた。

これらの結果から、肥満病態時においては CYP3A4 や P-gp の発現変動により、tacrolimus の血中濃度が変化することが示唆されたことより、肥満患者では CYP3A4 や P-gp の基質となる薬物の投与設計には注意を払うことが必要であることを示した。このように、本研究は、肥満病態時の薬物の投与にあたっては、初期投与量設定やその後の血中濃度管理などが重要であることを示した意義深い研究であると評価され、博士(薬学)論文に値すると判定された。

4. 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)