

氏名	中村 任
学位(専攻分野)	博士(薬学)
学位記番号	薬博第 430 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	薬学研究科薬品作用制御システム専攻
学位論文題目	バンコマイシンの腎排泄挙動と腎毒性発現機構に関する研究

(主査)

論文調査委員 教授 乾 賢一 教授 橋田 充 教授 高倉 喜信

論文内容の要旨

グリコペプチド系抗生物質バンコマイシン (VCM) は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症に対する治療薬として繁用されているが、体内動態の個体間・個体内変動が大きいため処方設計が難しく、また、血中濃度の上昇に伴い腎毒性・聴覚毒性等の副作用が発現する可能性が報告されている。VCMのクリアランスに対しては腎臓が主要な役割を果たすが、腎排泄の機構および腎機能の影響については、未だ不明な点が多く残されている。一方、VCMの腎毒性に関しては、腎蓄積あるいは組織学的観点からの検討が行われているが、尿細管および糸球体に対する障害の選択性や毒性発現機構については不明である。そこで著者は、VCM腎排泄機構についてラットを用いて解析を行うとともに、急性腎障害モデルを作成し、排泄挙動に対する腎機能の影響について検討を加えた。さらに、腎灌流系を用いてVCMの腎排泄挙動と腎毒性との関係について解析を行うとともに、細胞系ならびにin vivo系を用いてVCMの腎毒性発現機構について検討し、以下の知見を得た。

I. バンコマイシンの腎排泄挙動

VCMの腎排泄挙動を明らかにする目的で、ラットを用いてin vivo定型クリアランス実験を行った。VCMの腎クリアランスは全身クリアランスの90%以上の値を示し、蛋白結合率で補正した非結合型VCMの腎クリアランスは糸球体濾過速度(GFR)に比べて大きな値を示した。従って、ヒトと同様ラットにおいてもVCMの主要排泄臓器は腎臓であり、また、腎排泄には糸球体濾過のみならず尿細管分泌が関与することが明らかとなった。さらに、イオン性薬物は腎尿細管において有機アニオンあるいは有機カチオン輸送系を介して分泌されることから、両性イオンであるVCMの尿細管分泌におけるこれら輸送系の関与について検討した。その結果、VCMの分泌クリアランスは、それぞれの輸送系基質・阻害剤であるプロベネシドあるいはシメチジン併用による影響は認められなかった。従って、VCMは有機アニオンあるいは有機カチオン輸送系以外の輸送系を介して分泌されるものと推察された。

VCMの腎排泄に対する腎機能の影響について検討するため、急性腎障害モデルラットを作成し、腎障害の進行に伴う腎排泄の変化をGFRと分泌クリアランスとに分離評価した。GFRは硝酸ウラニル投与後1日、2日、3日でそれぞれコントロールの62%、36%、14%に低下した。一方、分泌クリアランスはそれぞれ39%、9%、4%にまで低下していた。また、シスプラチンによる急性腎障害モデルにおいても、VCMの分泌クリアランスの低下がより顕著であった。従って、腎機能低下時にはVCMの糸球体濾過および尿細管分泌低下率が異なるため、糸球体濾過機能のみを考慮したVCMの処方設計では不十分な場合があるものと推察された。

II. バンコマイシンの腎毒性発現機構と併用薬による軽減効果

ラットを用いてVCMの腎毒性を検討したところ、VCM単回投与により投与量に依存した血漿中クレアチニンおよび尿素窒素濃度の上昇が観察された。また、ホスホマイシンやイミペネム/シラスタチンの併用により、VCM腎毒性の軽減が認

められた。そこで、VCMの腎排泄挙動と腎毒性発現機構との関係を解明する目的で、腎灌流系を用いて検討を行った。その結果、VCMの排泄比（非結合型薬物の腎クリアランス/GFR）は、パラアミノ馬尿酸（有機アニオン）、シメチジン（有機カチオン）およびアルベカシン（アミノグリコシド系抗生物質）とは異なり、VCMの腎排泄には尿細管分泌に加え再吸収が関与することが示唆された。また、ホスホマイシンやイミペネム/シラスタチンの併用により、VCMの尿細管分泌が低下する傾向を示し、VCM尿細管障害の軽減に関与することが示唆された。

VCMによる尿細管毒性の発現機構を解明する目的で、培養腎上皮細胞LLC-PK₁をモデル細胞とし、シスプラチンとの比較検討を行った。シスプラチン処理により、ネクロシスの指標となる乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）の遊離は著しく上昇し、アポトーシスの指標とされるDNAの断片化が誘導された。一方、VCM処理による有意なLDHの遊離促進およびDNAの断片化は観察されなかった。従って、VCMの毒性発現機構はシスプラチンとは異なり、尿細管上皮細胞に対する毒性は弱いことが示唆された。

VCMの尿細管と糸球体に対する毒性を分離評価する目的で、尿中N-acetyl- β -D-glucosaminidase活性を尿細管障害の指標として、血漿中クレアチニンおよび尿素窒素濃度を糸球体障害の指標として用い検討した。その結果、VCMの腎毒性は尿細管に比べて糸球体に対してより顕著に認められた。また、この糸球体障害はホスホマイシンやイミペネム/シラスタチンの併用により有意に軽減されることが明らかとなった。さらに、VCM腎障害モデルラットにおけるVCMの排泄挙動を評価したところ、尿細管分泌が低下するより先に糸球体濾過が低下することが観察された。従って、VCM腎毒性は、従来注目されてきた尿細管障害と比較して、糸球体障害がより高度であり、併用薬は尿細管のみならず糸球体濾過障害も軽減することが明らかとなった。

以上、著者はラットを用いてVCMの腎排泄挙動および腎毒性発現機構に関する検討を行った。その結果、VCM腎排泄には糸球体濾過のみならず尿細管分泌の関与があることを明らかにし、二つの排泄機構は腎障害によって互いに異なる変化を示すことを明らかにした。また、VCMによる腎障害は尿細管に比べて糸球体に対してより顕著に認められること、その毒性発現機構はシスプラチンとは異なることを示した。さらに、ホスホマイシンやイミペネム/シラスタチンの併用により、VCMの腎毒性の軽減が可能であることを明らかにした。これらの研究成果は、臨床におけるVCMの適正使用に際して有用な基礎的知見であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

グリコペプチド系抗生物質バンコマイシン（VCM）は、体内動態の個体間変動が大きいために処方設計が難しく、また血中濃度の上昇に伴い腎毒性等の副作用が発現する。VCMのクリアランスに対しては腎臓が主要な役割を果たすが、腎排泄機構の詳細は不明であった。一方、VCMの副作用に関しても、尿細管および糸球体に対する障害の選択性や毒性発現機構は不明であった。本論文は、VCMの腎排泄機構についてラットを用いて検討するとともに、ラットin vivo実験系ならびに培養腎上皮細胞を用いてVCMの腎毒性発現機構について解析したものであり、得られた成果は以下の通りである。

VCMの腎排泄挙動を明らかにする目的で、ラットを用いてin vivo定型クリアランス実験を行った。その結果、ヒトと同様ラットにおいてもVCMの主要排泄臓器は腎臓であり、腎排泄には糸球体濾過と尿細管分泌が関与することが明らかとなった。さらに多くの薬物は腎尿細管において有機アニオンあるいはカチオン輸送系を介して分泌されることから、VCMの尿細管分泌におけるこれら輸送系の関与について検討した。その結果、VCMの尿細管分泌に対しては従来知られている有機アニオンやカチオン輸送系の関与は少ないものと推定された。さらに、急性腎障害モデルラットを作成し、VCMの腎排泄に対する腎機能の影響について検討した。その結果、腎機能低下時にはVCMの糸球体濾過および尿細管分泌の低下率が異なるため、糸球体濾過機能のみを考慮したVCMの処方設計では不十分な場合があるものと推定された。

ラットを用いてVCMの腎毒性を検討したところ、投与量に依存した血漿中尿素窒素濃度の上昇が観察された。また、ホスホマイシンやイミペネム/シラスタチンの併用によって、VCM腎毒性は顕著に軽減されることが明らかとなった。VCMによる尿細管毒性を解析する目的で、培養腎上皮細胞LLC-PK₁をモデル細胞とし、シスプラチンの毒性との比較検討を行った。シスプラチン処理によっては、ネクロシスの指標となる乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）の遊離は著しく上昇し、ア

ポトーシスの指標とされるDNAの断片化も認められたのに対し、VCM処理によっては有意なLDHの遊離促進やDNAの断片化が観察されなかった。従って、VCMの細胞毒性発現機構はシスプラチンとは異なり、尿細管上皮細胞に対する毒性は弱いことが示唆された。また、尿中N-acetyl- β -D-glucosaminidase活性を尿細管障害の指標として、血漿中尿素窒素濃度を糸球体障害の指標として、VCM腎障害ラットにおける毒性発現部位を分離評価したところ、VCMの腎毒性は尿細管に比べて糸球体に対してより強いことが認められた。さらに、VCM腎障害モデルラットにおけるVCMの排泄挙動を評価したところ、尿細管分泌が低下するより先に糸球体濾過が低下することが観察された。従って、VCM腎毒性は、従来注目されてきた尿細管障害と比較して、糸球体障害がより高度であり、併用薬は尿細管のみならず糸球体濾過障害も軽減することが明らかとなった。

以上の研究は、臨床におけるVCMの適正使用に貢献するところ大であり、医療薬剤学の発展に寄与するものとする。よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものとする。

更に、平成11年2月18日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。