

氏 名	やまぐちひろあき 山 口 浩 明
学 位 の 種 類	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	薬 博 第 550 号
学位授与の日付	平成 16 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 医 療 薬 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	キノロン系抗菌薬の吸収・分泌機構に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 乾 賢 一 教 授 高 倉 喜 信 教 授 橋 田 充

論 文 内 容 の 要 旨

合成薬剤であるキノロン系抗菌薬は、幅広い抗菌スペクトルと強力な抗菌作用および良好な生体内安定性と組織移行性を示すために、尿路感染症や呼吸器感染症などに対する治療をはじめとして、多くの診療科領域において繁用されている。多くのキノロン系抗菌薬は、消化管から効率よく吸収され速やかに各組織に移行し、肝臓において代謝を受けた後あるいは未変化体のまま尿中、胆汁中に排泄され体内から消失する。キノロン系抗菌薬は生理的 pH で両性イオンとして存在するものの、バイオアベイラビリティはおおむね良好であることからその吸収にトランスポータの関与が推察される。一方、ノルフロキサシンやシプロフロキサシンなど一部の薬物では、他のキノロン系抗菌薬に比べ低いバイオアベイラビリティを示すことが知られている。近年、薬物吸収障壁として消化管の役割が次第に明らかとなっており、CYP3Aをはじめとする薬物代謝酵素とともに P-糖蛋白質を含むトランスポータ群の関与が報告されている。一部のキノロン系抗菌薬では消化管で分泌を受けることが知られており、これらトランスポータの関与が推察されるがその詳細は不明である。そこで本研究では、キノロン系抗菌薬の消化管吸収および分泌機構を明らかにすることを目的として、*in vitro* および *in vivo* 実験系を用いて系統的な解析を行い以下の新知見を得た。

I. 培養ヒト腸上皮細胞 Caco-2 におけるキノロン系抗菌薬の輸送特性

Caco-2 細胞におけるグレパフロキサシンおよびレボフロキサシンの経細胞輸送について検討したところ、両薬物において側底膜側から頂側膜側への輸送、すなわち消化管分泌に対応する方向選択的な輸送が観察された。また、細胞内に取り込ませておいた薬物の排出について検討したところ、両薬物は側底膜側に比べ頂側膜側へ選択的に排出され、その頂側膜側への輸送は温度依存性を示した。以上より、頂側膜側にキノロン系抗菌薬を認識する排出トランスポータの存在することが明らかになった。さらに排出に関わるトランスポータを同定するために、分泌方向の輸送に対する種々薬物の阻害効果について検討した結果、グレパフロキサシンの消化管分泌は主に P-糖タンパク質によって担われていることが判明した。一方、レボフロキサシンの分泌方向の輸送に対する P-糖蛋白質の寄与は小さく、キノロン系抗菌薬を特異的に認識する未知のトランスポータが関与することが示唆された。

次に、キノロン系抗菌薬の吸収機構を明らかにするため、Caco-2 細胞におけるグレパフロキサシンおよびレボフロキサシンの取り込み特性を評価した。両薬物の取り込みは速やかであり、その取り込みには飽和性が認められた。また Cl^- 欠乏および ATP 枯渇条件下での取り込みが上昇したことより、排出方向に働くトランスポータと取り込み方向に働く別のトランスポータの関与が示唆された。さらに種々阻害剤に対する感受性は、有機カチオン、有機アニオン、アミノ酸、ジペプチド、モノカルボン酸など各トランスポータとは異なることから、グレパフロキサシンおよびレボフロキサシンの吸収は未知のトランスポータを介することが推察された。

II. キノロン系抗菌薬の *in vivo* 体内動態における P-糖蛋白質の役割

上述したように、*in vitro* 実験においてグレパフロキサシンの消化管分泌には主に P-糖蛋白質が、レボフロキサシンの消

化管分泌には主にキノロン系抗菌薬を特異的に認識するトランスポータが寄与していることを明らかにした。しかしながら *in vivo* 体内動態におけるこれら薬物トランスポータの寄与については不明であるため、分子実体の明らかとなっている P-糖蛋白質についてキノロン系抗菌薬の体内動態における役割を検討した。ラットにグレパフロキサシンを静脈内投与後、その血中濃度は、P-糖蛋白質阻害剤シクロスポリン A 併用により有意に上昇し、また小腸内に投与した場合は、併用により投与後初期の段階から血中濃度の顕著な上昇が認められた。グレパフロキサシンのバイオアベイラビリティを算出したところ、非併用時の53%から併用時にはほぼ100%まで上昇した。一方、シクロスポリン A 併用によるレボフロキサシンの血中濃度変化はわずかなものであった。また P-糖蛋白質をコードする遺伝子をノックアウトした *mdr1a/1b* ($-/-$) マウスを用いた検討より、グレパフロキサシンの消化管分泌には P-糖蛋白質の寄与が大きいことを実証した。以上、グレパフロキサシンのバイオアベイラビリティおよび消化管分泌は P-糖蛋白質によって制御されていることを *in vivo* レベルで初めて明らかにした。

Ⅲ. 腎障害時におけるキノロン系抗菌薬の消化管分泌変動の比較解析

腎障害は種々薬物の体内動態を変化させることが知られている。腎障害時における体内動態変化には、薬物の腎排泄遅延のみならず代謝や消化管吸収の変動を伴う場合も存在する。しかしながら、薬物トランスポータを介する消化管輸送におよぼす腎障害の影響については情報が乏しい。そこで、シスプラチン誘発急性腎障害モデルラットを用い、グレパフロキサシン、レボフロキサシンおよびシプロフロキサシンのバイオアベイラビリティならびに消化管分泌におよぼす腎障害の影響を比較精査した。腎障害モデルラットにおいて、グレパフロキサシンの最高血中濃度やバイオアベイラビリティの上昇が認められたが、シプロフロキサシンにおいてはこれらの顕著な低下が観察された。また、腎障害モデルラットにおけるレボフロキサシンの消化管分泌クリアランスは対照群に比べ変化が認められなかったものの、グレパフロキサシンおよびシプロフロキサシンの消化管分泌クリアランスはそれぞれ低下および上昇していた。また、培養細胞を用いた検討から、グレパフロキサシンは主に P-糖蛋白質を介して消化管分泌を受けること、一方シプロフロキサシンは P-糖蛋白質では輸送されず異なる分泌トランスポータを介すること、レボフロキサシンでは両トランスポータの寄与が確認された。従ってキノロン系抗菌薬の消化管分泌におよぼす腎障害の影響は薬物によって異なり、腎障害時には P-糖蛋白質の機能低下ならびにキノロン系抗菌薬を認識する分泌トランスポータの機能亢進が起こっていると推察された。

以上、著者はキノロン系抗菌薬の消化管吸収・分泌機構を *in vitro* および *in vivo* 実験系を用いて解析した。得られた研究成果はキノロン系抗菌薬の体内動態制御機序を解明するものであり、新規トランスポータの関与を強く示唆するものである。さらに薬物併用時や病態時におけるキノロン系抗菌薬の消化管挙動を定量的にとらえることが可能となったことから、本研究は薬物間相互作用の予測や副作用発現の回避など医薬品適正使用を推進する上で有用な基礎的知見になると考える。

論文審査の結果の要旨

キノロン系抗菌薬は、幅広い抗菌スペクトルと強力な抗菌作用および良好な組織移行性を示すために、多くの診療科領域において繁用されている。キノロン系抗菌薬は生理的 pH で両性イオンとして存在し、低脂溶性であるにも拘らずバイオアベイラビリティが良いことから、その吸収にトランスポータの関与が考えられるが未だ十分解明されていない。一方、一部のキノロン系抗菌薬は消化管で分泌を受けるためバイオアベイラビリティの低いことで知られているが、消化管吸収障壁である P-糖蛋白質の関与については不明の点が残されている。申請者は *in vitro* および *in vivo* 実験系を用いて系統的な解析を行い、キノロン系抗菌薬の消化吸収および分泌機構を明らかにした。

培養ヒト腸上皮細胞 Caco-2 におけるグレパフロキサシンおよびレボフロキサシンの経細胞輸送について検討した結果、両薬物において分泌に対応する方向選択的な輸送が示された。また、細胞内にあらかじめ負荷した薬物の排出について検討したところ、両薬物は側底膜側に比べ頂側膜側へ選択的に排出された。従って、頂側膜側にキノロン系抗菌薬を認識する排出トランスポータの存在することが推察された。さらに分泌方向の輸送に対する種々薬物の阻害効果について検討した結果、グレパフロキサシンの消化管分泌は主に P-糖蛋白質によること、一方、レボフロキサシンの輸送にはキノロン系抗菌薬を特異的に認識する未知のトランスポータの寄与が大きいことが判明した。

次に、キノロン系抗菌薬の *in vivo* 体内動態における P-糖蛋白質の役割が、P-糖蛋白質阻害剤シクロスポリン A 併用下

でのラットにおける検討によって確認された。また、P-糖蛋白質をコードする遺伝子をノックアウトした*mdrla/1b* (-/-) マウスを用いた検討によって、グレパフロキサシンの消化管分泌にはP-糖蛋白質の寄与が大きいことが実証された。

さらに、シスプラチン誘発急性腎障害モデルラットを用いた検討から、腎障害時にグレパフロキサシンのバイオアベイラビリティ上昇、シプロフロキサシンは顕著な低下が観察されたが、レボフロキサシンでは変化が認められなかった。また、これらの変化は、消化管分泌クリアランスの変化と対応することがわかった。培養細胞を用いた検討から、グレパフロキサシンは主にP-糖蛋白質を介して消化管分泌を受け、シプロフロキサシンはP-糖蛋白質では輸送されず別の分泌トランスポーターを介すること、レボフロキサシンでは両トランスポーターの寄与が確認された。以上より、キノロン系抗菌薬の消化管分泌におよぼす腎障害の影響は薬物によって異なり、腎障害時にはP-糖蛋白質の機能低下ならびにキノロン系抗菌薬を認識する分泌トランスポーターの機能亢進が起こっていることが判明した。

これらの研究成果は、キノロン系抗菌薬の消化管吸収制御機序を明らかにしたもので、薬物併用時や病態時における医薬品適正使用を推進する上で有益な基礎的知見であり、医療薬剤学の発展に寄与するものと考えられる。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成16年2月24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。