

リペプチドで、非タンパク質性-SH成分として細胞内に多量に存在する。グルタチオンの細胞内濃度は、臓器によって異なるが一般に0.5~10 mMの範囲にあるとされ、通常は還元型が大部分を占める。グルタチオンの生体内における役割およびその関連酵素を表9・2に示す。グルタチオンは、細胞機能を維持するうえで極めて重要な役割を果たしていることがわかる。また、グルタチオンは活性代謝物の解毒に大きな役割を果たしており、空腹時には低下する(日差)。無理なダイエツトをするとその濃度低下により、肝での解毒能が著しく低下する。したがって、細胞内のグルタチオン濃度が低下すると、アセトアミノフェンなど多くの薬毒物の毒性が容易に発現し、またその程度も強く現れる。

表9・2 グルタチオンおよびグルタチオン依存性解毒系の役割†

グルタチオンの役割	グルタチオン関連酵素	基質
・ラジカルの捕捉 ・酸化還元による細胞機能の調節 ・各種酵素のSH供与体	グルタチオントランスフェラーゼ(細胞質) グルタチオントランスフェラーゼ(小胞体) Se含有グルタチオンペルオキシダーゼ	各種薬毒物 芳香族ニトロおよびハロゲン化合物 アルキルハロゲン化合物 アルケニル芳香族炭化水素 アレオンおよびアルケンエポキシド 脂質ヒドロペルオキシド 上記基質の一部 脂質ヒドロペルオキシド リン脂質ヒドロペルオキシド 過酸化水素 脂質ヒドロペルオキシド

† グルタチオンは、細胞内に多量に存在するトリペプチドで、それ自身が抗酸化作用を有し、細胞内の酸化還元状態の維持に役立っている。また、各種酵素の作用により、酸化的物質の消去に関与し、薬毒物の検合反応に利用され解毒作用を示す。細胞内のグルタチオン含量の減少は、薬毒物による障害を受けやすくする。

9・4 薬物アレルギー

9・4・1 薬物アレルギーの特徴

薬物アレルギーとは、薬物の投与によって誘発される薬物または代謝物を抗原とした過敏反応をいう。医薬品の副作用として発生頻度が高く、特定の医薬品において一部の人に発症し、その原因や機序は多様であり、さまざまな症状が現れ、ときに重篤な毒性を示すことがある。薬物アレルギー(過敏症)は、1) 実験動物で再現できない、2) 治療用量でも起こる、3) 用量相関性がない、4) 医薬品の構造や薬理作用と相関しない、という特徴があり、医薬品開発において問題となる場合が少なくない。

9・4・2 薬物アレルギーの分類

薬物アレルギーの症状は多彩であり、症状の80%以上は皮膚に薬疹などとして発現する。全身反応の発現頻度は低いが生命の危険を伴う重篤症状を呈する場合もある。アレルギー反応はCoombsとGellによる古典的な4型に分類される(表9・3)。医薬品によるアレルギー反応も同様に分類されるが、アレルギー反応はリンパ球を中心とした複雑なサイトカインのネットワークによって制御されており、一つの型によらない混合型の反応が多く、明確な分類は難しい。

I~III型の反応は体液性免疫反応であり、ハプテンとなる化学物質に対するIgE産生もおもにI型を、IgGやIgMは細胞傷害型のII型および、免疫複合体形成反応を特徴とするIII型の反応を起こす。II型は医薬品によって細胞表面に形成された抗原に対して抗体が結合し、補体が活性化されることが原因となり、III型は形成された免疫複合体が標的組織で障害性を示す反応である。IV型は感作T細胞を介する細胞性免疫反応であり、薬物投与から発症まで時間がかかる遅延型である。I型には、メデイエーター(化学伝達物質)によるアナフィラキシーショックを起こす即時型反応も含まれる。

表9・3 薬物アレルギーの分類とおもな皮膚症状と全身症状

反応	I型 アナフィラキシー型	II型 細胞傷害型	III型 免疫複合体型	IV型 遅延型、細胞性免疫型
抗体	IgE	IgG, M	IgG, M	T細胞
抗原	外来性抗原	細胞膜、基底膜抗原	外来性抗原、自己抗原	外来性抗原、細胞表面抗原
メデイエーター	ヒスタミン、サイトカイン	補体	補体	サイトカイン
皮膚疾患	じんま疹	薬疹	紫斑病(過敏性血管炎)、全身性紅斑性狼瘡	接触性皮膚炎、播種性紅斑
全身疾患など	アレルギー性気管支喘息、アナフィラキシーショック	溶血性貧血、顆粒球減少症、血小板減少症	肝障害、腎障害、溶血性貧血	肝障害、接触性皮膚炎、光過敏症

9・4・3 薬物アレルギーの誘発機序

生体内で抗原性を示すものは、一般に分子量数千以上の高分子であり、酵素製剤や抗体医薬品などの一部の医薬品を除いて、ほとんどの医薬品は分子量1000以下の低分子化合物であるために、それ自身には免疫原性もアレルギー原性(両者であ

わけて抗原性という)もない。薬物アレルギーには以下のような特徴がある：1) 薬物または活性代謝物(特に反応性中間体)が共有結合して抗原となる高分子の生体成分(キャリアー(carrier))が介在し細胞傷害性を示すが、キャリアーが特定されている場合はきわめて少ない；2) 生体高分子と結合する薬物または反応性中間体がハプテンとなつて、過剰な免疫応答を起こすと考えられているが、反応性中間体の構造解明は困難である場合が多い；3) ヘルパー-T細胞であるTh1細胞とTh2細胞の相互調節機能のバランスが崩れることが原因の一つと考えられている；4) ヒトにおける薬物アレルギー過敏症を予測できる実験動物が確立されていない。

薬物によるアレルギー反応の誘発は、1) 抗原感作による反応と、2) ハプテンまたは非特異的免疫複合体形成による反応に分類される。前者は、異種タンパク質やペプチド性製剤の大量投与の場合に起こるⅢ型アレルギー反応である。遺伝子組換えによって製造されたヒトタンパク質製剤は同種タンパク質であるが、細菌由来の糖鎖などが微量に混入することが原因となることが知られている。後者については、ベンジルペニシリンなどのβ-ラクタム系抗菌薬が、キャリアーと共有結合しハプテンとして働き、ⅠやⅡ型の反応を生じることが知られている。しかしほとんどの場合は、代謝反応によって生成された反応性中間体がハプテンとなり、キャリアーである生体成分と結合して抗原性を発現し、過剰な免疫反応を誘発することが原因である。

9・4・4 薬物アレルギーの症状と原因薬物

薬物アレルギーを症状から分類することは難しく、原因薬物を確定するためには抗体検査などが必要である。(表9・4)

- 1) アナフィラキシー：最も重篤な反応であり、遊離したケミカルメディエーターにより全身症状を起こす。末梢組織への血流量が減少し、臓器や組織の生理機能が障害されることにより死亡することもある。
- 2) 皮膚障害(皮膚過敏症)：Ⅰ型によるじんま疹、Ⅱ型による細胞傷害型薬疹、Ⅲ型による全身性紅斑性狼瘡(エリテマトーデス)(systemic lupus erythematosus, SLE)、Ⅳ型による接触性皮膚炎や光過敏性皮膚炎がよく知られている。

固定薬疹は薬疹の中では頻度が高く、“ピリン疹(アミノピリン)やアンチピリンなどピラゾロン系薬物による薬疹の総称”がよく知られている。同一部位に円形の紅斑を生じる。汎発性薬疹は全身性に見られる場合が多く、接触性麻疹(じんま疹)、播種性紅斑、多形紅斑や光過敏性皮膚炎などがある。多形紅斑の重症型はステイブンス・ジョンソン症候群(Stevens-Johnson syn-

表9・4 薬物アレルギーの症状と原因薬物

障害の分類	原因薬
アナフィラキシーショック	ペニシリン、ストレプトマイシン、酵素製剤
肝障害	ハロタン、トログリタゾン、フルタミド
腎障害	サルファ剤、アロプリノール、リファンピシン
顆粒球減少症	スルホンアミド系抗菌薬、ピラゾロン系薬物、バンコマイシン
血小板減少症	α-メチルドパ、インドメタシン、クロロプロマジン
溶血性貧血	ペニシリン、アセチルサリチル酸、パラアミノサリチル酸
呼吸器障害	プロカイニンアミド、ヒドララジン、ヒダントイン系薬物
SLE	ペニシリン、スルホンアミド系抗菌薬
接触性皮膚炎	バルピツール酸、ペニシリン、スルホンアミド系抗菌薬
播種性紅斑	NSAIDs、カルバマゼピン、ヒダントイン
ステイブンス・ジョンソン症候群	スルフアメトキサゾール、オキシフェンブタンゾン、ピロキシカム
中毒性表皮壊死症	ニューキノロン系抗菌薬、ケトプロフェン、グリセオフルビン
光過敏症	

drome)とよばれ、病変が皮膚粘膜移行部に頻発し、重症型は全身の各臓器不全により死亡率が約10%である。また、薬物による**中毒性表皮壊死症(toxic epidermal necrosis, TEN)**は、重篤な経過をとり、広範な紅斑の後、表皮の壊死、呼吸困難、血便などが発症する。

- 3) 肝障害：ⅡまたはⅣ型による肝炎型と、Ⅳ型による胆汁うっ滞型がある。発熱、食欲不振、嘔気を伴い、胆汁うっ滞型では黄疸が出る。投与された薬物またはその代謝物(特に反応性中間体)が肝臓中のタンパク質と共有結合して抗原性をもつ場合が多い。
- 4) 腎障害：肝臓と同様に薬によって障害を受けやすい臓器であり、Ⅱ型反応による糸球体障害と尿細管障害がある。糸球体障害は、免疫複合体の沈着によると考えられている。尿細管障害は尿細管基底膜成分が薬物と結合し構造変化を受け、抗原性をもつことによる。
- 5) 血液・造血障害：血液幹細胞の障害によって、顆粒球減少症、汎血球減少症、溶血性貧血や血小板減少症などが発症する。
- 6) 呼吸器症状：気管支喘息はⅠ型の反応であり、薬物抗原に対応したIgEが肥満細胞を介してメデイエーターを放出させる。代表的な症状は**PIE(pulmonary infiltration with eosinophilia, 好酸球性肺浸潤)**症候群である。

9・4・5 抗原性薬物の代謝的活性化

- a. ペニシリン ベンジルペニシリン(benzylpenicillin, ペニシリンG, PCG)

アレルギーで最も多く見いだされる抗体はベンジルペニシロイル(BPO)基に対する抗体である(図9・3)。この抗体は、溶血性貧血、薬物熱などに関与する。しかし、アナフィラキシー反応に関与するのは、ベンジルペニシロイン酸、ベンジルペニシロニン酸などのマイナー抗原決定基(minor antigenic determinant)とよばれるBPOと異なる抗原構造の抗体である。マイナー抗原決定基が生成される過程は不明であるが、PCGの代謝過程で生成したベンジルペニシロイン酸は強力なアシル化剤で、生成したベンジルペニシロイン酸に結合して二量体が、さらにPCG重合体が生成する。同様の機序でベンジルペニシロイン酸が生体高分子に結合する可能性。また、重合体が抗原となる可能性もある。抗原に関しては上記のように不明な部分もあるが、BPO基に対する抗体が生成することが証明されている。これは低分子薬物が生体高分子と結合して抗原として認識されることをはじめて示したことに重要な意義がある。

b. ピラゾロン系解熱鎮痛薬

i) アミノピリン 以前は常用されていたアミノピリンは、アレルギー様症

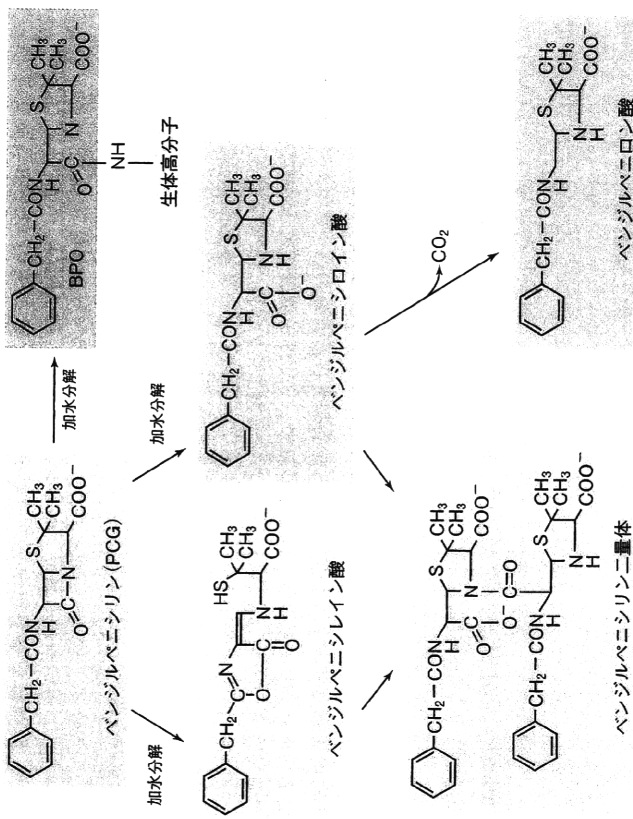


図9・3 ベンジルペニシロインの抗原化

状態の頻度が高く、アナフィラキシーショック、じんま疹、固定薬疹、紅斑性狼瘡、顆粒球減少症などを起こす。主代謝経路(図9・4)は4位の脱メチルからモノメチル体を経て4-アミノアンチピリンとなり、さらに解毒的代謝反応を受けた後、尿中に排泄される。一方、4-アミノアンチピリンは2位の脱メチルが起こり、不安定なAMPP(4-amino-5-methyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H)-one)となり重合してルバパゾン酸やメチルルバパゾン酸が生成する。AMPPはグルタチオンや他のラジカルスカベンジャーとも結合する。AMPPはモルモットの皮膚反応で紅斑が生成し、抗原性が認められている。また、別の代謝経路である5位のメチル基の酸化反応で生成する5-アルデヒド体にも抗原性が認められている。

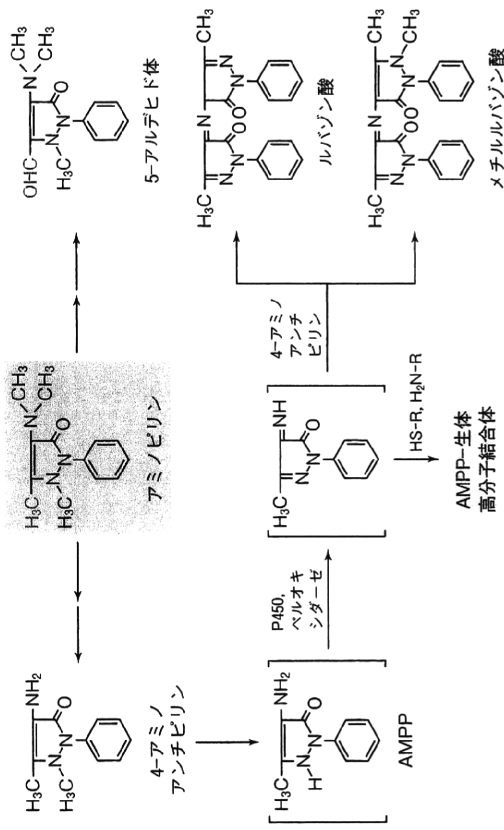


図9・4 アミノピリンの代謝的活性化

ii) アンチピリン アンチピリンの代謝(図9・5)は詳細に調べられているが、代謝物の中でノルアンチピリン-3-O-グルクロン酸抱合体および硫酸抱合体が排泄されることが知られている。これはアンチピリンがN-脱メチル後、水素が分子内転位して生成した水酸基が抱合されたものである。中間体としてノルアンチピリンが生成するが、この化合物の4位の水素は不安定で酸化反応で容易に脱離するのでラジカルを形成し、グルタチオンと結合し、また、抗原性もある。一方、5位のメチル基の酸化反応で生成する5-アルデヒド体にもタンパク質結合性がある。

チル化能が弱ければ、他の代謝反応で補足される。ヒドロラジンは肝ミクロソームやペルオキシダーゼによる酸化反応で図9・6に示すような二量体(M-I, M-II)が生成する。そのとき、グルタチオンやε-アミノ基が存在するとフタラジラジカル(Y)との結合体が生成する。紅斑性狼瘡の患者から抗核抗体が検出されているので、このラジカルが核酸や核内タンパク質に結合して抗原化すると考えられている(図の下段)。

d. ハロタン ハロタンは優れた麻酔薬として繁用されたが、その吸入による肝障害がしばしば報告され、しかも劇症肝炎を誘発し死亡することから、現在は一次選択薬としての地位を失っている。ハロタンは図9・7に示すように、P450により好氣的条件下でトリフルオロアセチルハライドを生じ、肝ミクロソームタンパク質と共有結合物を形成する。ハロタンの酸化的代謝経路で生成するトリフルオロアセチル基は、ヒト、ラット、ウサギの肝ミクロソームに存在するタンパク質ジスルフィドイソメラーゼ (protein disulfide-isomerase)、ホスホリパーゼC (phospholipase C, PLC、ホスファアザジリノシトール特異的ホスホリパーゼC)、カルシウム結合タンパク質の calregulin、カルボキシエステラーゼ (carboxylesterase)、グルコース調節タンパク質 (glucose-regulated protein, GRP) と共有結合する。また、すべての患者が同様ではないが、劇症肝炎患者抗血清はこれらの高分子を抗原として認識する。これらのことからハロタン由来の抗原が患者血清中の特異抗体や特異T細胞による免疫侵襲の標的となり肝細胞障害に関与することがわかった。ハロタン肝障害に関する実験的ならびに臨床的研究は、その他の薬物による過敏性臓器障害の機構解明にも重要な示唆を与えている。

e. スルフアメトキサゾール(スルホンアミド) スルホンアミド類による死亡例はまれであるが、重篤な副作用、スライープンス・ジヨーンソン症候群 (Stevens-

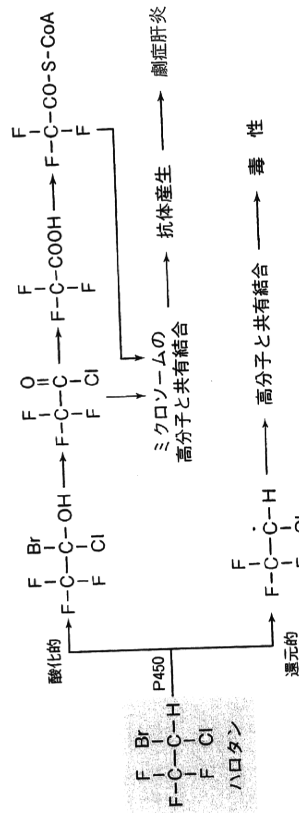


図9・7 ハロタンの代謝的活性化

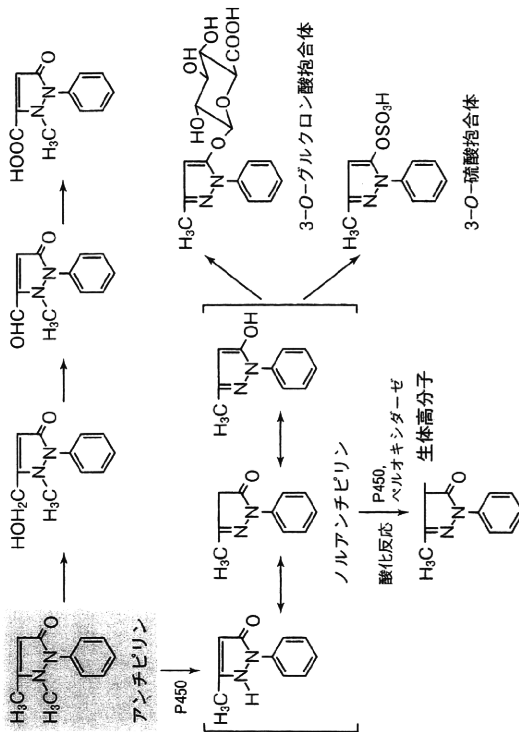


図9・5 アンチピリンの代謝的活性化

c. ヒドロラジジン ヒドロラジジンは降圧薬として使用されているが、紅斑性狼瘡が生じることが知られている。ヒドロラジジンはアセチル化で主として代謝されるので、アセチル化の遅いヒト (slow acetylator, SA) に紅斑は多く発症する。アセ

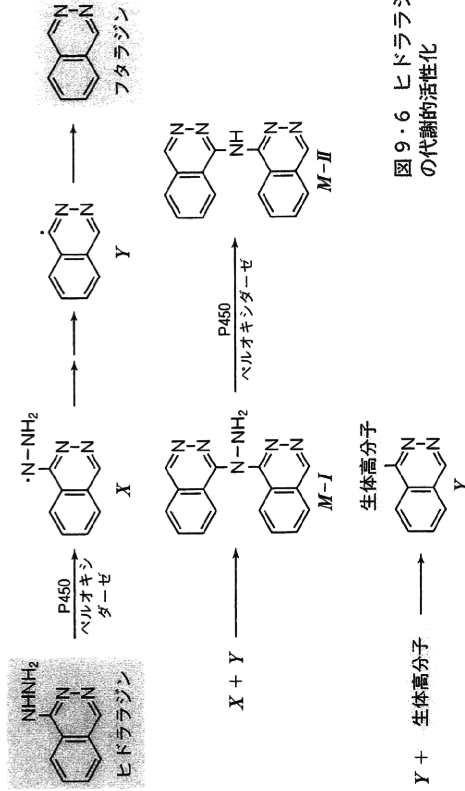


図9・6 ヒドロラジジンの代謝的活性化

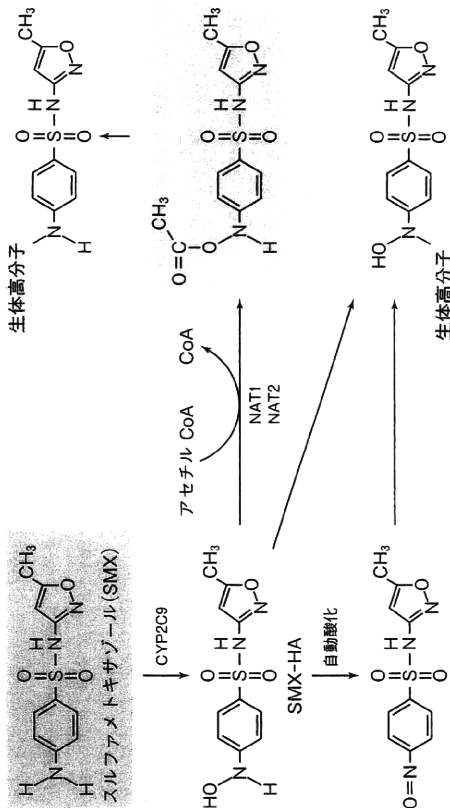


図9・8 スルファメトキサゾールの代謝的活性化 NAT: アセチルトランスフェラーゼ

Johnson syndrome), 中毒性表皮壊死症, 劇症肝炎, 悪性貧血などが起こる。皮膚の発赤などの副作用の兆候が現れたら投与を中止すべきである。

代表的なスルホンアミド化合物である抗菌薬 スルファメトキサゾール (sulfamethoxazole, SMX) の活性代謝物は、*N*-ヒドロキシ体 (SMX-HA), ニトロロン体のほか、最も反応性に富んだ *N*-アセチルスルファメトキサゾール (*N*-acetylsulfamethoxazole) が検出されている (図9・8)。遅延型スルホンアミド過敏症 (発熱, 関節炎, 血液障害, 肝障害) 患者の血液から, 肝ミクロソームに存在するジスレ

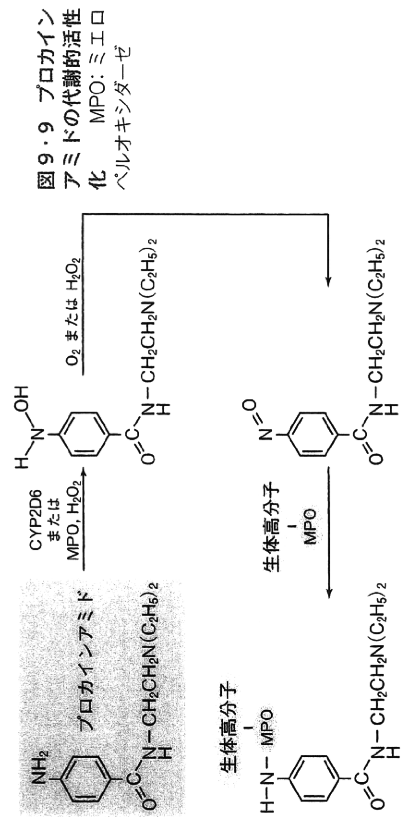


図9・9 プロカイナムアミドの代謝的活性化 MPO: ミエロペルオキシダーゼ

フィドソメラゼ (55 kDa), グルコース調節タンパク質 (80 kDa) および 96 kDa のタンパク質と付加体をつくることが知られている。

f. プロカイナムアミド (図9・9) プロカイナムアミドは局所麻酔薬として使用されているが, 全身性紅斑性狼瘡のほか, 溶血性貧血, 好中球減少症, 血小板減少症などの血液の症状が発現する。プロカイナムアミドは肝臓では CYP2D6 によって, 白血球ではミエロペルオキシダーゼ (MPO) によって *N*-水酸化され, さらに, 酸化されてニトロロン体が生成する。そしてミエロペルオキシダーゼ, 生体高分子と結合して抗原となる。

g. イソイゲノール (図9・10) イソイゲノールはイランライン油中に含まれ, 香水, 果実香料, チューインガム, セッケンの香料として用いられているが, アレルギー性接触皮膚炎を起こすことが知られている。イソイゲノールは α, β -不飽和結合があるので P450, ペルオキシダーゼにより容易に活性化され, 立体的異性体の2種の二量体が生成する。このとき, グルタチオンあるいは, ヒスチジン, メチオニン, システイン, チロシン, リシンなどの求核的アミノ酸が存在すれば, これらと結合する。よって, 皮膚のペルオキシダーゼにより活性化され, 生体

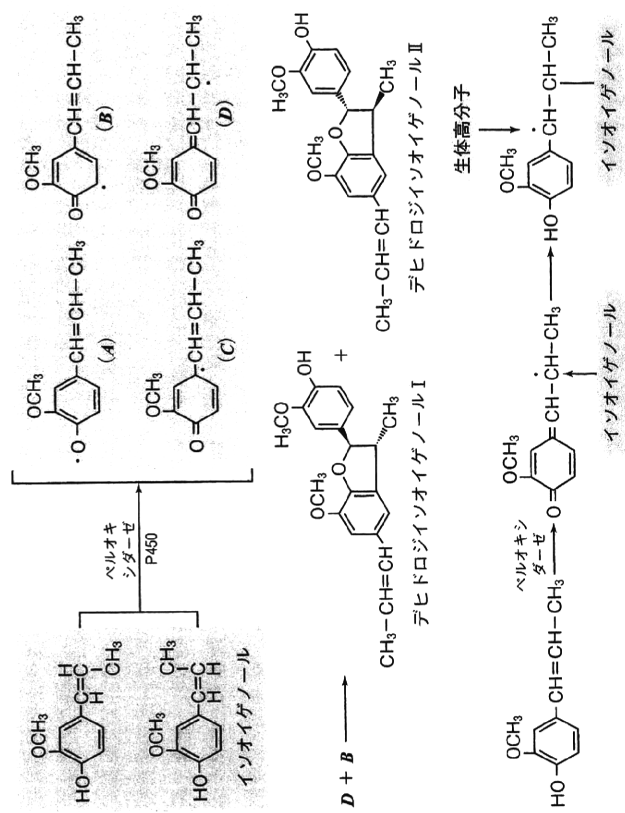


図9・10 イソイゲノールの代謝的活性化

高分子と結合し抗原化し、接触性皮膚炎を惹起すると考えられている。

9・5 薬物代謝と臓器障害

薬毒物による生体障害はさまざま要因により変動する。薬毒物による全身性の毒性の中では、毒作用の標的器官として中枢神経系の占める頻度が高く、医薬品の副作用発現器官として認められる場合も少なくない。ついで、血液と造血系から成る循環器系、肝、腎、肺、皮膚などでの出現頻度が高い。一般に筋肉や骨は、標的器官として毒性が現れるケースは低いが、ファイブレート系高脂血症用薬やシンバスチタンなどスタチン系の高コレステロール血症治療薬による横紋筋融解症が副作用として発症することもある。

以下、各種臓器について、薬毒物の代謝との関連も含めて述べる。

9・5・1 神経系

1) 有機リン系殺虫剤 酸化的脱硫による毒性発現の最も代表的な例は、農薬、有機リン系殺虫剤の暴露による神経障害である。有機リン系殺虫剤の一般化学構造式は図9・11に示す通りで、R₁, R₂は通常メトキシあるいはエトキシ基で、R₃は遊離基として種々のアリール基を導入することにより、数多くの農薬が開発されている。ホスフェート型殺虫剤は直接、またホスホロチオノ型殺虫剤は酸化的脱硫反応を受け、対応するオキソニン体へ代謝されアセチルコリンエステラーゼを阻害する。その結果、神経伝達物質アセチルコリンが加水分解されないため、その過剰蓄積による痙攣、流涎、気管支分泌亢進など多様な神経症状が誘発され、重篤な場合は呼吸麻痺により死に至る。第二次世界大戦後にわが国でも市販されたパラチオン、メチルパラチオン、テトラエチルピロリン酸 (TEPP) などには、強毒性で、急性中毒による数多くの犠牲者が出た。現在これらの殺虫剤は特定毒物として規制され使用禁止となっている。その後フェニトロチオン、馬拉チオンなど低毒性の選択毒性に優れた農薬が使用され、安全性が確立されているが、自殺企図など意図的な急性暴露による中毒の危険度は高い。最近の食品汚染の例として、2007年から2008年にかけて、中国製輸入ぎょうざを食した人たちが中毒症状を呈し、製品からわが国では承認されていない有機リン系殺虫剤 メタミドホスが検出されて大きな社会問題となった。

図9・11に代表的な例としてフェニトロチオンの代謝を示した。図示したように、フェニトロチオンはP450による酸化的脱硫反応によりフェニトロオキソンへ代謝され、アセチルコリンエステラーゼを阻害し、毒性を発現する。フェニトロチオンは脱メチル反応により毒性が消失するし、またフェニトロオキソンも加水分解

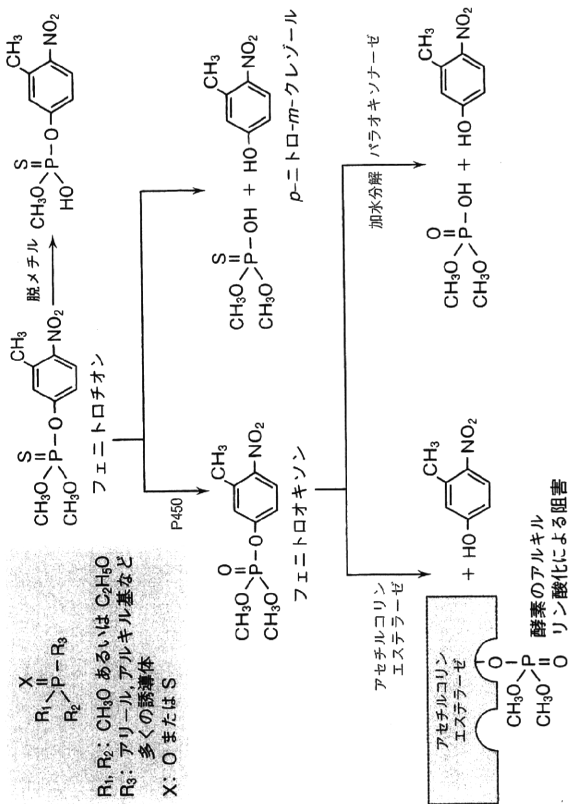


図9・11 有機リン系殺虫剤の一般化学構造 有機リン系殺虫剤の代表例としてフェニトロチオンの代謝を示す。有機リン系殺虫剤のホスホロチオノ型はいずれもP450により酸化的脱硫を受け、対応するオキソニン体アセチルコリンエステラーゼを強く阻害し毒性を発現する。

を受けると作用が消失する。このようにパラチオンなどに比較して低毒性化されている有機リン系殺虫剤は、無毒化につながる生体内代謝が速やかに行われる。

有機リン系殺虫剤の急性中毒に対しては、硫酸アトロピンおよび解毒薬ヨウ化プアラドキシム (PAM, 2-ピリジンアルドキシムメチオジド) を用いて治療する。PAMはアルキルリン酸化の隣接部位に結合し、阻害を起している物質とも複合体を形成してアセチルコリンエステラーゼと阻害物質との結合を弱め解毒する。アセチルコリンエステラーゼを阻害し神経毒性を誘発する農薬としてはカルバメート系殺虫剤もある。カルバメート系殺虫剤は、その毒性発現に生体内代謝は必要でなく、むしろ代謝により毒性は軽減ないし消失する。

1994年長野県松本市、1995年東京の地下鉄で一般市民が暴露されて死亡者を含む多数の犠牲者を出した神経毒ガス事件で使われたサリンをはじめ、タブン、ソマオンおよびVXは、いずれもアセチルコリンエステラーゼを低用量で強力に阻害し、毒性を発現する。これら神経毒ガスの化学構造は図9・12に示す通りである。

一方、パラチオン、レプトホス、EPN [O-ethyl O-p-nitrophenyl phenylphos-

Essentials for starting a pediatric clinical study (1): Pharmacokinetics in children

Tsuyoshi Yokoi

*Drug Metabolism and Toxicology, Division of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University, Kakuma-machi,
Kanazawa 920-1192, Japan*

(Received February 17, 2009)

ABSTRACT — During childhood, as the body weight and its function changes drastically by age, drug therapy should be arranged according to the age-related changes in pharmacokinetics of its age. The gastric absorption of oral drugs is affected by the high pH of gastric juice in newborns and slow gastric emptying up to six months of age, resulting generally in poor absorption except for lipophilic drugs. Intestinal absorption is also poor in newborns. Due to the low serum protein level, the protein binding ratio is low in newborns, though the serum protein level increases to the adult level at one to three years after birth. Drug metabolism capability generally develops quickly after birth and reaches the adult level in two to three years, though there are many exceptions. The CYP3A7 activity is relatively high just after birth, which affects the clearance of its substrate drugs. In terms of conjugation enzyme activities, sulfate conjugation develops fast and glucuronate conjugation develops slowly. Among the glucuronosyltransferase (UGT) enzymes, UGT1A1 and UGT2B7 reach the adult level by 3 months of age, whereas UGT1A6, UGT1A9 and UGT2B7 take a few years to ten years. Although there is no definitive report on enzyme induction ability, both CYP and UGT are suggested to be more inducible in children than in adults. The hepatic drug metabolism of children is characterized by the fact that the relative liver weight and hepatic blood flow rate per unit liver weight is larger in children than in adults. Drug excretion from the kidney is undeveloped in newborns, below 50% of the adult level up to the age of two to three months. Therefore, the effective dose range and toxic dose range of drugs is closer in such young subjects, but reaches adult level by the age of one year. The glomerular filtration rate is low in newborns, and rapidly increases up to 200% of that in adults in one year, and then gradually decreases to the adult level. As mentioned above, newborns, infants and children show different pharmacokinetics for different drugs and therefore cannot always be discussed in the same way. For the safe use of drugs, the pharmacokinetics data of each drug should be considered.

Key words: Pharmacokinetics, Drug metabolism, Drug disposition, Drug interactions,
Interindividual difference

INTRODUCTION

During childhood, as the body weight and its function changes drastically by age, drug therapy should be performed according to the age-related changes in pharmacokinetics of the age. In Japan, only 15.6% of prescribed drugs and 24.3% of injected drugs are officially provided with usage and dosage guidelines for children. Up to 80% of the drugs practically used for children are off-label drugs (drugs for which the indication, dosage and administration are not provided for the patient to be treated by the package insert). Most drugs have a warning that the indication for children has not been established. In addition, the rel-

ative risk of side effects for children is reported to be 3.4-fold higher than that for adults (Schmitt, *et al.*, 2002).

Age classes

In the E11 session of ICH, "Clinical Investigation of Medicinal Products in the Pediatric Population" was discussed. Age class of children is extremely important, and ICH classifies neonates (preterm newborn) as gestational age less than 41 weeks, term newborn infants as 0 to 27 days of age, infants and toddlers as 28 days to 23 months, children as 2 to 11 years, adolescents as 12 to 16-18 years depending on the region. In addition, post natal age (PNA), gestational age (GA), and post conceptional age

Correspondence: Tsuyoshi Yokoi (E-mail: tyokoi@kenroku.kanazawa-u.ac.jp)

(PCA) were introduced as $PCA = PNA + GA$. In almost no package inserts has the concept of PCA been adopted, and descriptions such as “for one week old infants, use every 12 hr” are common. Accordingly, it is known that pronatis before 36 weeks of GA frequently shows an unexpected elevation of the serum concentration of vancomycin (Fig. 1 from <http://merckmanual.banyu.co.jp/cgi-bin/disphhtml.cgi?url=19/s258.html>). Until the infant period, it is recommended to refer to the PCA for determination of the dosage. On the other hand, it has been reported that the expressions of hepatic drug-metabolizing enzymes are in accordance with the development of the infant after birth, and the half-life of drugs, such as phenytoin, diazepam, theophylline, antipyrine, carbamazepine, acetaminophen, gentamicin and digoxin are shortest at the infant period when the liver weight per body weight reaches the maximum (Klotz, *et al.*, 1975) (Fig. 2).

Factors influencing pharmacokinetics: absorption

The gastric pH of adults ranges from 1.4 to 2.0, whereas it is 6.0 to 8.0 for pronatis, 2.3 to 3.6 for full-term newborn, and reaches the adult range by the age of 1 to 2 years. The phenobarbital absorption rate from gastrointestinal (GI) tract is reported to be dependent on the gastric pH (Heimann, *et al.*, 1980) (Fig. 3). Gastric emptying is slow in infants, and reaches the adult rate (ca. 60 min) by 6 months of age. It should be noted that the peristalsis of newborns is irregular. Percutaneous absorption is high in newborns and goes down to the adult level by 3 to 5 years of age. Therefore, skin application of steroid drugs to newborns requires special attention.

Factors influencing the pharmacokinetics: distribution

The body fat of pronatis ranges from 3 to 12% of the body weight, whereas it is 12% in full term in newborns and 18% in adults. Newborn liver has a high blood flow rate per liver weight, and goes down to the adult level by the age of 6 months. The serum protein level of infants is low and shows a low protein binding rate to drugs in serum. The serum protein binding rate for acidic drugs reaches the adult level by 1 year of age, and for basic drugs by 3 to 4 years. The extracellular water volume and total body water are 60% and 75% for neonates, 20% and 50% for adults, respectively. Therefore, it should be noted that the distribution volume of newborns is larger for hydrophilic drugs and smaller for lipophilic drugs than in adults, although they increase to the adult level at the age of 3 to 5 years.

Factors influencing pharmacokinetics: excretion

Factors related to excretion differ largely between infants and adults. The glomerular filtration rate is 0.7 to 2 ml/min for pronatis, 2 to 4 ml/min for full-term newborns, and reaches the adult level (120 ml/min) by the age of 4 to 8 months. Renal tubular absorption and urine pH are low in newborns and reach the adult level by 2 to 3 months of age. Renal tubular secretion and renal blood flow rate of newborns are 20 to 30 % of those of adults. Although the dose of digoxin for infants is twice that for adults, the blood concentration is equal to that in adults due to the high renal function of infants on a per body weight basis (Iisalo *et al.*, 1973) (Fig. 4).

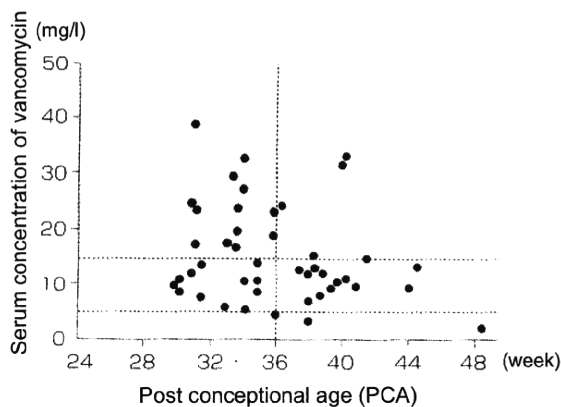


Fig. 1. Changes of serum concentration (trough score) of vancomycin prescribed according to the package insert.

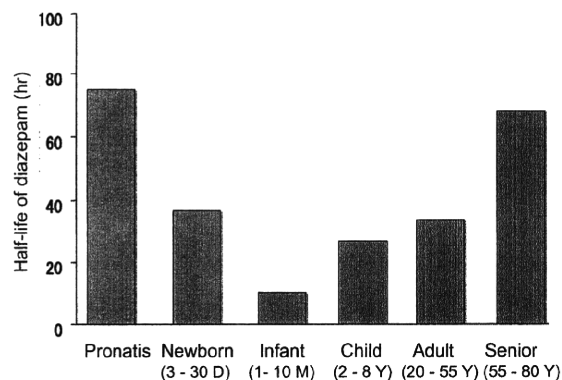


Fig. 2. Developmental change of half-life of diazepam (Klotz *et al.*, 1975).

Factors influencing pharmacokinetics: metabolism

About 80% of drugs in clinical use undergo metabolic reactions in the body. Eighty percent of these are metabolized by cytochrome P450s (CYPs). P450 isoforms are expressed in an age-dependent manner. The total CYP contents in the liver are constant from the fetal period until the age of 1 year, remaining 25% to 50% of the adult level. Sulfate conjugation and acetyl conjugation activities increase rapidly after birth, whereas glu-

curonate conjugation activities increase slowly (Treluyer *et al.*, 1997). CYP1A2 is undetectable in fetal liver and emerges from a few months after birth, requiring a few years to reach the adult expression level (Sonnier *et al.*, 1998) (Fig. 5). Therefore, theophylline, which is metabolized by CYP1A2, shows high clearance after birth and is up to twice the adult level in infants (Fig. 6). Caution is needed with theophylline for infants, especially those under the age of 2 months.

CYP2C expression at the mRNA level for 2C8, 2C9,

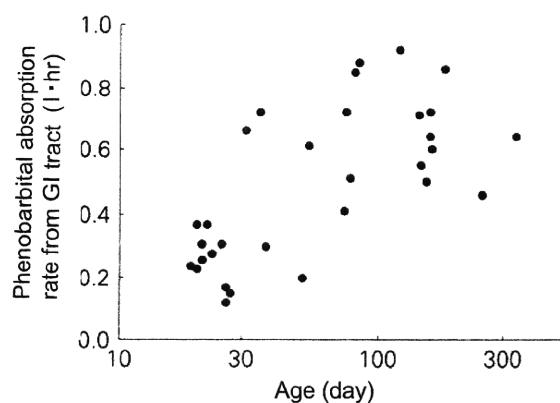


Fig. 3. Developmental change of phenobarbital absorption rate in GI tract (Heimann, 1980).

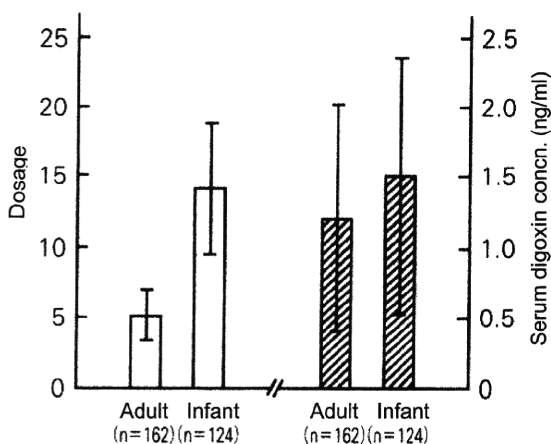


Fig. 4. Dosage and serum concentration of digoxin in adult and infant (Iisalo *et al.*, 1973).

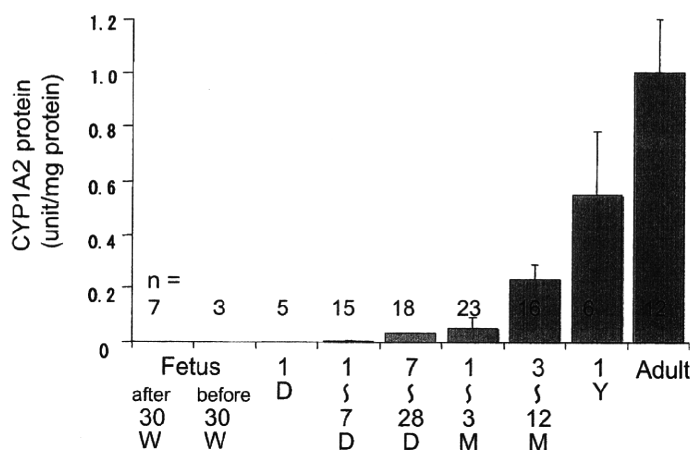


Fig. 5. Developmental change of the expression of hepatic CYP1A2 protein (Treluyer *et al.*, 1997).

2C18, and 2C19 in fetus is about 10% of that of adult, and reaches the adult level soon after birth. However, it is known that the expression level of protein and the enzyme activity are not correlated (Koukouritaki *et al.*, 2004). The protein level of CYP2C9 increases rapidly after birth, whereas that of CYP2C19 increases slowly and takes 5 years to reach the adult level (Sonnier *et al.*, 1998) (Fig. 7). *S*-warfarin, which is metabolized by

CYP2C9, shows higher clearance rates in infants and toddlers than in adults. It is important to note that this difference is not significant when adjusted by the liver weight (Takahashi *et al.*, 2000). The mRNA of CYP2D6 is highly expressed in fetus, but its activity is less than 5% of that in adults. In general, the mRNA levels are higher in infants than in adults, but the activities are considerably low, and the reason for this has not yet been determined

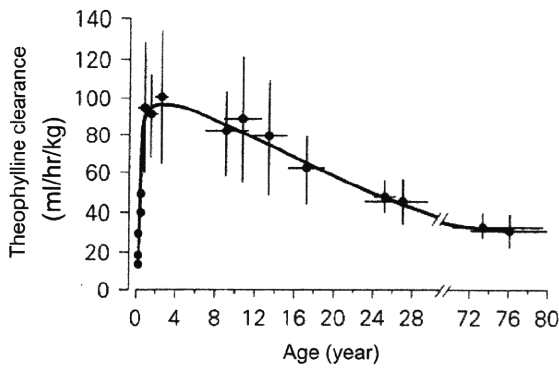


Fig. 6. Developmental change of theophylline clearance (Treluyer *et al.*, 1997).

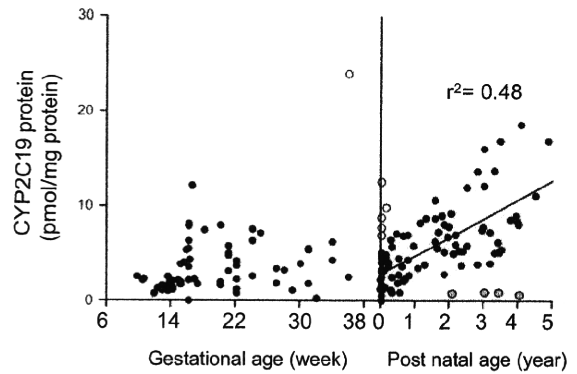


Fig. 7. Developmental change of CYP2C19 protein (Koukouritaki *et al.*, 2004). The coefficient of determination (r^2) was calculated after excluding nine outliers (open and hatched circles) based on a residual analysis.

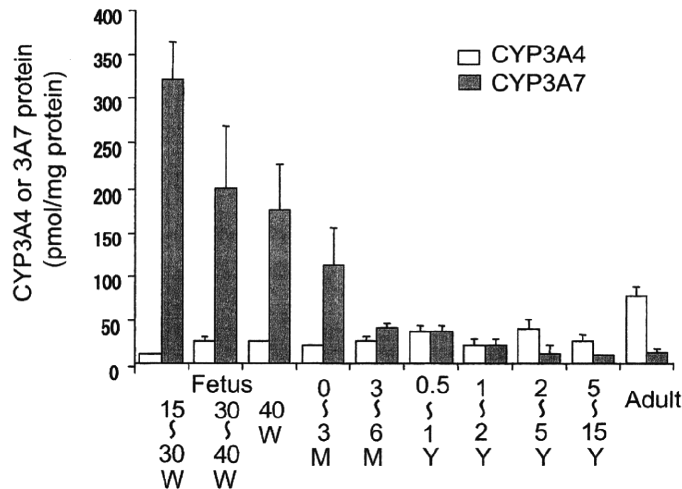


Fig. 8. Developmental changes of hepatic CYP3A4 and CYP3A7 protein (Stevens *et al.*, 2003).

Pharmacokinetics in children

(Treluyer *et al.*, 1991).

In terms of CYP3A, until the year 2000, it was believed that the total CYP3A level was rather constant during the transition from the fetal type CYP3A7 to the adult type CYP3A4. However, recent studies revealed that the expression of CYP3A7 protein is highest in the first trimester, and CYP3A4 protein gradually increases throughout the developmental period (Stevens *et al.*, 2003) (Fig. 8). On the other hand, the expression of CYP3A5 is reported to be independent of age. At present, there is no definitive report on the induction capability of CYP enzymes. However, the possibility that enzyme induction is stronger in infants than in adults has been suggested by a study on clearance differences during the co-administration of carbamazepine and other antiepileptic drugs (Yukawa, 2007).

Other than CYPs, detailed reports are available on flavin-containing monooxygenases (FMO). A renal FMO1 is mainly expressed in the fetal period and diminishes after birth. In contrast, a hepatic FMO3 starts to appear 4 weeks after birth and requires 10 years to reach the adult level (Koukouritaki *et al.*, 2002). Due to low FMO activ-

ities in infants, administration of FMO substrate drugs requires careful attention.

Among the glucuronosyltransferase (UGT) isoforms, UGT1A1 and UGT2B7 develop quickly, whereas UGT1A6, UGT1A9 and UGT2B7 develop slowly, and it is noted that UGT1A6 takes ten years to reach the adult level (Mirochnick *et al.*, 1999) (Fig. 9).

In conclusion, although it is difficult to generalize this issue of pharmacokinetic of children, since each drug is involved differently in the developmental stages. Concerning drugs metabolized mainly in liver, it is known that an invert correlation is demonstrated between age and hepatic drug clearance normalized by body weight, however, when normalized by liver weight or body surface area, a constant rate will be obtained between age and hepatic drug clearance. It is very important for the safety use of drugs to children to pay special attention to the characteristics of children's pharmacokinetics.

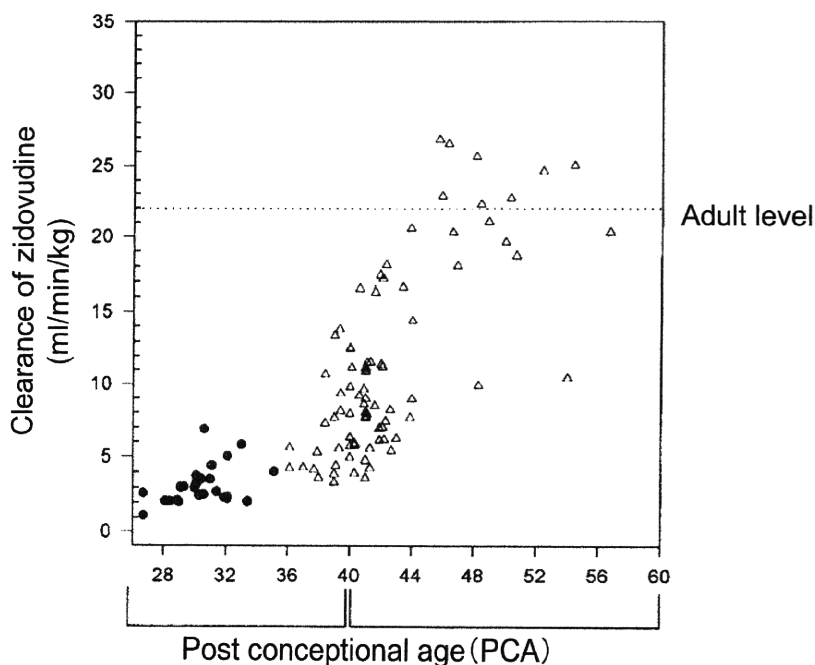


Fig. 9. Individual estimates of zidovudine clearance versus postconceptional age (Mirochnick *et al.*, 1999). Open triangles, infants, solid circles, preterm infants.

ACKNOWLEDGMENT

This peer-reviewed article is based upon a lecture presented at the 35th Annual Meeting of Japanese Society of Toxicology, June 2008 in Tokyo under the theme of "Children's Toxicology", June 2008 in Tokyo.

REFERENCES

- Heimann, G. (1980): Enteral absorption and bioavailability in children in relation to age. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **18**, 43-50.
- Iisalo, E., Dahl, M. and Sundqvist, H. (1973): Serum digoxin in adults and children. *Int. J. Clin. Pharmacol.*, **7**, 219-222.
- Klotz, U., Avant, G.R., Hoyumpa, A., Schenker, S. and Wilkinson, G.R. (1975): The effects of age and liver disease on the disposition and elimination of diazepam in adult man. *J. Clin. Invest.*, **55**, 347-359.
- Koukouritaki, S.B., Simpson, P., Yeung, C.K., Rettie, A.E. and Hines, R.N. (2002): Human hepatic flavin-containing monooxygenases 1 (FMO1) and 3 (FMO3) developmental expression. *Pediatr. Res.*, **51**, 236-243.
- Koukouritaki, S.B., Manro, J.R., Marsh, S.A., Stevens, J.C., Rettie, A.E., McCarver, D.G. and Hines, R.N. (2004): Developmental expression of human hepatic CYP2C9 and CYP2C19. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **308**, 965-974.
- Mirochnick, M., Capparelli, E. and Connor, J. (1999): Pharmacokinetics of zidovudine in infants: A population analysis across studies. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **66**, 16-24.
- Schmitt, M., Blackman, D.J., Middleton, G.W., Cockcroft, J.R. and Frenneaux, M.P. (2002): Assessment of venous capacitance. Radionuclide plethysmography: methodology and research applications. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **54**, 565-576.
- Sonnier, M. and Cresteil, T. (1998): Delayed ontogenesis of CYP1A2 in the human liver. *Eur. J. Biochem.*, **251**, 893-898.
- Stevens, J.C., Hines, R.N., Gu, C., Koukouritaki, S.B., Manro, J.R., Tandler, P.J. and Zaya, M.J. (2003): Developmental expression of the major human hepatic CYP3A enzymes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **307**, 573-582.
- Takahashi, H., Ishikawa, S., Nomoto, S., Nishigaki, Y., Ando, F., Kashima, T., Kimura, S., Kanamori, M. and Echizen, H. (2000): Developmental changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin enantiomers in Japanese children. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **68**, 541-555.
- Treluyer, J.M., Jacqz-Aigrain, E., Alvarez, F. and Cresteil, T. (1991): Expression of CYP2D6 in developing human liver. *Eur. J. Biochem.*, **202**, 583-588.
- Treluyer, J.M., Gueret, G., Cheron, G., Sonnier, M. and Cresteil, T. (1997): Developmental expression of CYP2C and CYP2C-dependent activities in the human liver: in-vivo/in-vitro correlation and inducibility. *Pharmacogenetics*, **7**, 441-452.
- Yukawa, E. (2007): Approach to individualized pharmacotherapy -Analysis of population pharmacokinetic parameters-. *TDM Research*, **24**, 8-16.

基礎編 1

薬物動態と医薬品の薬効・副作用

——代謝を中心として

横井 毅

よこい つよし：金沢大学医薬保健研究域 薬学系

● はじめに

日常的に処方される薬による症状の改善の程度は大きな個人差があり、疾病によっては患者の半分以上に薬効が認められない場合も珍しくないといわれている。患者の約 10% に薬によるなんらかの副作用が発現しているという米国 FDA (食品医薬品局) の統計もある。1998 年の Lazarou ら¹⁾による 39 件の前向き研究のメタアナリシスでは、米国で深刻な副作用の発生率は 6.7% であり、致死的な副作用の発生率は 0.32% と見積もられており、社会的損失は膨大なものであると報告された。

臨床においては、薬は単独ではなく併用して用いられる場合が多く、併用療法として薬の相乗作用や拮抗作用を利用して治療効果を上げている場合もあるが、多くの場合は薬物相互作用による副作用の原因となる。薬物相互作用は、薬理活性を中心とした薬力学的機序と薬物動態学的機序による 2 種類に分けられるが、『Hansten and Horn's Drug Interactions Analysis and Management 2008』によると、2383 件の相互作用事例の約 3 割は薬力学的機序に、6 割以上は薬物動態学的機序に起因するといわれている。さらに、薬物動態学的機序の 90% 以上は薬物代謝過程を介した相互作用が占めており、な

かでも主要な薬物代謝酵素であるシトクロム P450 (CYP) が関与する酵素阻害や酵素誘導に起因している。したがって、CYP に対する理解を深めることは、日常の処方における副作用発現を回避するための有用な情報となる。

● 薬物代謝酵素の分類と特徴

薬を代謝する酵素はおもに肝臓と小腸の小胞体に発現しており、基質特異性が異なる多くの分子種が存在する。図 1a は、ヒト肝臓における CYP 分子種の平均的存在比を示す²⁾。最も基質特異性が低い CYP3A4 が約 30% と発現量が多く、次いで CYP2C9, CYP2E1, CYP1A2 の順である²⁾。一方、ヒト小腸では CYP3A が圧倒的に多く、次いで CYP2C9 である(図 1b)³⁾。CYP3A という記載は、CYP3A4 と CYP3A5 の両分子種を足した値であるという意味であるが、基質特異性はほとんど同じである。経口薬の場合には、肝臓よりも小腸での相互作用に注意を要するといわれる理由は、小腸には CYP3A が多く存在するためである。

世界で最も使われている薬 200 種類の統計⁴⁾によると、図 2a に示すように、CYP での代謝が 72% であり、次いでグルクロン酸転移酵素 (UGT) によるグルクロン酸抱合代謝が 15%、

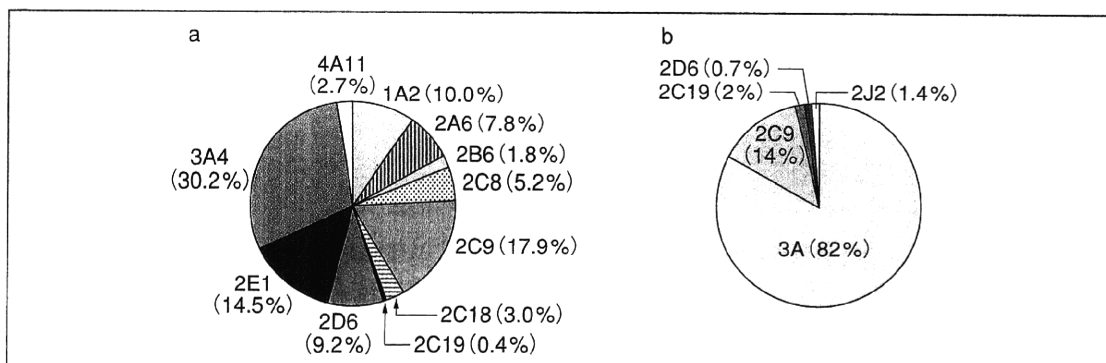


図 1 ヒト肝臓 (a) および小腸 (b) における CYP 分子種の割合
(a: 文献 2 より引用, b: 文献 3 より引用)

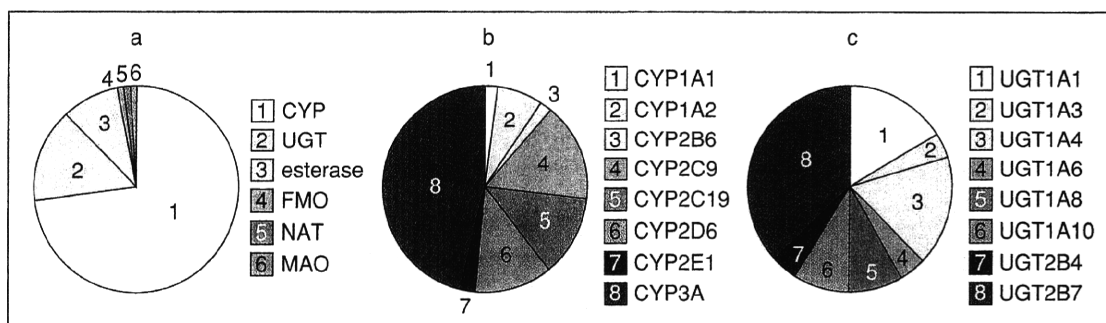


図 2 世界のトップ 200 医薬品の主要な代謝クリアランス (文献 4 より引用)

UGT: UDP-グルクロン酸転移酵素, FMO: フラビン含有モノオキシゲナーゼ, NAT: N-アセチル転移酵素, MAO: モノアミンオキシダーゼ

エステラーゼが7%である。さらに、図 2b に示すように、CYP のなかでは、CYP3A が最も多種類の薬の代謝を担い、ついで、CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 である。要約すると、CYP3A は臨床で使用されている約半分の薬の代謝に関与することから、肝臓での薬の代謝の主役であるが、基質特異性が低いために、薬の併用投与において、同じ CYP3A で代謝されることによる薬物相互作用の可能性が最も高い分子種である。CYP2C19 の発現量は低いにもかかわらず、関与する薬が多いのが特徴である。一方、CYP2D6 は統合失調症治療薬や抗不整脈薬などを特異的に代謝することも、処方時に留意する必要がある。エタノールの代謝をする CYP2E1 は、肝での発現量が高いが、代謝に関与する薬は少ない。UGT は図 2a に示すように、全体の 15% ほどの代謝を担っているが、モルフィンなどの代謝をする UGT2B7、ついで塩酸イリノテ

カンやビリルビンの代謝をする UGT1A1 が主要な代謝を担っている (図 2c)。

● 代謝過程での相互作用

臨床で問題となる相互作用の 90% 以上に CYP が関与しているといわれており、CYP が関与する薬物間相互作用には、「阻害」によるものと「誘導」によるものに大別される。

表 1 にヒトの CYP を阻害する代表的な薬を示す⁵⁾。併用薬による CYP の阻害反応は、①同一の分子種による競合的阻害が最も一般的である。②非特異的阻害に分類されるのは、シメチジン、イソニアジド、アゾール系抗真菌薬などであり、多くの CYP のヘムに結合し、非特異的に CYP の活性を阻害する。①と②は可逆反応であり、併用薬の変更または中止によって阻害は消失する。③不可逆的な阻害も生じうる。トロレアンドマイシンやエリスロマイシンなどは、

表 1 ヒトの CYP を阻害する代表的な薬 (文献 5, p.175 より許諾を得て転載)

CYP	阻 害 薬
CYP1A2	ニューキノロン (エノキサシン, ノルフロキサシン, シプロフロキサシン), フルボキサミン, フルオキセチン, フラフィリン, α -ナフトフラボン, イミプラミン, フルタミド
CYP2C8	トリメトプリム, モンテルカスト, ケルセチン
CYP2C9	フルバスタチン, スルファメトキサゾール, アミオダロン, イソニアジド, リトナビル, フルボキサミン
CYP2C19	オメプラゾール, アミオダロン, フルボキサミン, カルバマゼピン, フルオキセチン
CYP2D6	キノジン, プロパフェノン, ハロペリドール, イミプラミン, シメチジン*, アミオダロン, ジルチアゼム, パロキセチン, フルオキセチン, セルトラリン, クロザピン
CYP3A4/5	アゾール系抗真菌薬** (ケトコナゾール, イトラコナゾール, フルコナゾール), マクロライド系抗菌薬 (エリスロマイシン, クラリスロマイシン, トリアセチルオレアンドマイシン), シメチジン*, エチニルエストラジオール, ノルエチステロン, ダナゾール, プロモクリプチン, プスピロン, シクロスポリン, リトナビル, インジナビル

* すべての CYP を阻害するが, CYP2D6 と CYP3A4 に対して比較的強い阻害作用を示す。

** すべての CYP を阻害するが, CYP3A4 に対して強い阻害作用を示す。

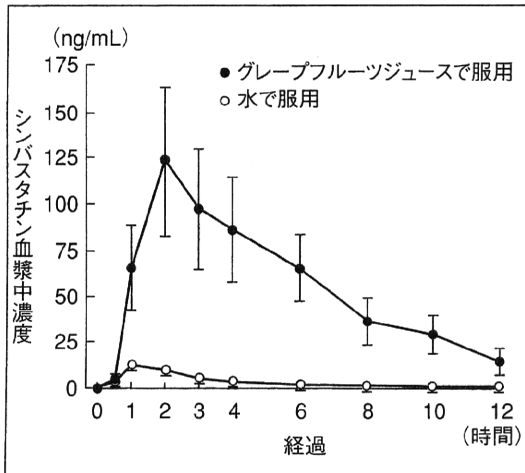


図 3 グレープフルーツジュースによるシンバスタチンの血漿中濃度の上昇

代謝されて CYP と不可逆的に結合することによって強い阻害を生じる。このため, 14 員環ではなく, 阻害がきわめて弱い 16 員環のマクロライド系抗菌薬であるロキタマイシンやスピラマイシンの使用が推奨される。グレープフルーツジュースには CYP3A4 の強力な阻害物質であるフラノクマリン誘導体が含まれており, CYP3A4 で代謝される薬は代謝を受けないために, 血漿中濃度が予期しない高濃度になる場合がある⁶⁾。図 3 には, CYP3A4 で代謝されるシンバスタチンをグレープフルーツジュースで服用した場合の血漿中の薬物濃度について示す。

表 2 には CYP を誘導する代表的な薬を示

す⁵⁾。誘導はさまざまな機構によって生じるが, ほとんどは誘導薬が核内受容体に結合し, 遺伝子の転写活性が上昇することで mRNA が増え, 酵素が増えることによる。薬物代謝にかかわる重要な転写因子として, PXR (プレグナン X 受容体) と CAR (恒常的アンドロスタン受容体) がある。近年, 民間生薬の抗うつ薬であるセントジョーンズワート (St. John's Wort) の使用が問題となっている (図 4)⁷⁾。この生薬の成分が PXR に強く結合し, CYP3A4 を強く誘導することによって, CYP3A4 で代謝される免疫抑制薬シクロスポリン, 避妊薬エチニルエストラジオール, 抗 HIV 薬やカルシウム拮抗薬などの薬効が著しく減弱する。CYP3A4 を誘導する薬物は表 2 以外にも多く知られている。また, CYP3A4 で代謝されると同時に, CYP3A4 に対して誘導作用も示す薬も珍しくないことに注意する必要がある。

● 薬物代謝酵素活性の個人差

ヒトは遺伝的に多様であり, すべての薬物代謝酵素には遺伝子多型が存在し, 酵素活性の個人差の最も大きな要因のひとつとなっている。CYP に起因する遺伝子多型と薬物相互作用により, 米国の市場から撤退した薬として, 1998 年の terfenadine, mibefradil, bromfenac, 1999 年の astemizole, 2000 年の cisapride, alosetron, 2001 年の cerivastatin, 2003 年の nefazodone が

表 2 ヒトにおいて CYP を誘導する代表的な薬 (文献 5, p.188 より許諾を得て転載)

CYP	誘導薬	誘導により代謝が亢進する薬
1A2	オメプラゾール, タバコの煙, 焼肉, カルバマゼピン, リトナビル, リファンピシン	テオフィリン, カフェイン, フェナセチン, プロプラノロール, 芳香族アミン
2A6	フェノバルビタール, リファンピシン	ヘキソバルビタール, ニコチン, クマリン
2B6	フェノバルビタール, リファンピシン	ヘキソバルビタール, シクロホスファミド
2C	フェノバルビタール, リファンピシン, フェニトイン, カルバマゼピン	フェニトイン, ヘキソバルビタール, トルブタミド, ワルファリン, ピロキシカム
2E1	アルコール, イソニアジド	エチルアルコール, バラセタモール, ハロタン
3A4	リファンピシン, フェノバルビタール, フェニトイン, トリアセチルオレアンドマイシン, カルバマゼピン, デキサメタゾン, ネルフィナビル, タキソール	トリアゾラム, メダゼパム, ジアゼパム, ニフェジピン, ワルファリン, リドカイン, ジソピラミド, ステロイド, シクロスポリン, テルフェナジン, ゾニサミド, ベラパミル, ジアフェニルスルホン (ダブゾン)
4A	クロフィブラート	中級脂肪酸
2D6	いまだ知られていない	

知られている⁸⁾。また、1995～2000年の18の副作用調査と論文報告においては、副作用が報告されたすべての薬の59%が遺伝子多型を示す酵素によって代謝されるものであったが、売り上げ上位200品目中では7%であった ($p < 0.001$) ことから、薬効が優れた薬でも、遺伝子多型を示す酵素で代謝される薬の使用は控えられている⁹⁾。2004年と2005年の2年間に、米国で患者が救急医療扱いになった薬の副作用事例は、インスリンに次いでワルファリンが多く(推定43400件)¹⁰⁾、これにはCYP2C9とVKORC1 (vitamin K epoxide reductase complex 1) 酵素の遺伝子多型が直接関与している。したがって、遺伝子多型に起因する個人差の情報は副作用を回避し、薬を有効利用するために重要である。CYPの詳しい遺伝子多型情報については、国際命名委員会を <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/> で参照願いたい。

● 臨床適用への課題

薬物代謝酵素、とりわけCYPについての基礎的研究成果の蓄積は十分であると考えられるが、実際の臨床において副作用を回避するための情報が不足しているのが現状である。たとえば、CYP2D6には70種類以上の遺伝子多型が報告されているが、ヒト *in vivo* での代謝活性に及ぼす影響が精査されている遺伝子変異は半分にも満たない。さらに変異遺伝子の頻度と種類に

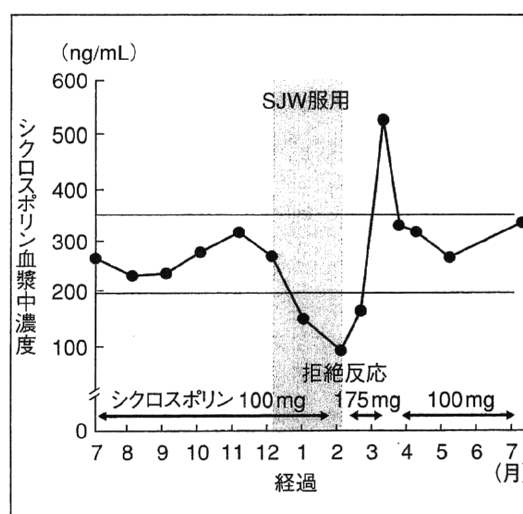


図 4 セントジョーンズワート (SJW) 服用によるシクロスポリンの血漿中濃度への影響

著しい人種差が存在する。薬物代謝酵素活性は、飲酒、嗜好品、喫煙、食事、環境因子、併用薬や疾病によって影響されることも知られているが、ヒト *in vivo* において、どの分子種にどの程度の影響が及ぶかについては、情報がきわめて限られている。さらに、添付文書またはインタビューフォームには、どの代謝酵素で代謝されるか、遺伝子変異を有するヒトでは、AUC (薬物血中濃度-時間曲線下面積) が10倍上昇するので注意が必要であるなど、同じCYP3A4で代謝される薬のなかでも特に注意を要する薬のリスト等が記載されている。しかし、どういう状

態の患者にどれだけの投与量の増減をするべきであるという記載はない。すなわち、臨床情報が不足しているために、遺伝子診断による多型情報や注意すべき併用薬の情報も、実際の薬用量の決定には直接結びつかない。

こうした問題を解決するためには、個々の相互作用発現事例を精査し、レトロスペクティブな検討を積み上げる必要がある。特に病態時における相互作用についての臨床データの蓄積が望まれている。さらに、必要かつ可能であればプロスペクティブな臨床研究の実施が多くの患者の利益につながると考えられる。抗うつ薬や統合失調症治療薬について、CYP2D6の遺伝子型を考慮して、投与量の調節とその量について考察した優れた論文がある¹¹⁾。塩酸イリノテカンの投与量に及ぼすUGT遺伝子多型については、多くのレトロスペクティブやプロスペクティブな臨床研究が進められている^{12,13)}。

● おわりに

近年、CYPを中心とした薬物代謝酵素に関する基礎および臨床情報の蓄積が充実してきている。また、相互作用を利用して投与量を減量する試みや、個人差を克服する治験も行われている。安全で有効に薬の使用を推進するためにも、開発時のみならず市販後の相互作用情報の集積は重要である。臨床における相互作用や副作用発現の可能性を科学的に考える手段として、「薬物代謝酵素」に関心をもっていただきたい。

文献

1) Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998 ;

279 : 1200-5.

- 2) Imaoka S, Yamada T, Hiroi T, et al. Multiple forms of human P450 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. Systematic characterization and comparison with those of the rat. *Biochem Pharmacol* 1996 ; 51 : 1041-50.
- 3) Paine MF, Hart HL, Ludington SS, et al. The human intestinal cytochrome P450 "PIE". *Drug Metabol Dispos* 2006 ; 34 : 880-6.
- 4) Williams JA, Hyland R, Jones BC, et al. Drug-drug interactions for UDP-glucuronosyltransferase substrates: A pharmacokinetic explanation for typically observed low exposure (AUC_t/AUC) ratios. *Drug Metabol Dispos* 2004 ; 32 : 1201-8.
- 5) 加藤隆一. 臨床薬物動態学 改訂第4版. 南江堂 ; 2009. p.173-228.
- 6) Lilja JJ, Kivisto KT, Neuvonen PJ. Grapefruit juice-simvastatin interaction: Effect on serum concentrations of simvastatin, simvastatin acid, and HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacol Ther* 1998 ; 64 : 477-83.
- 7) Barone GW, Gurley BJ, Ketel BL, et al. Drug interaction between St. John's wort and cyclosporine. *Ann Pharmacother* 2000 ; 34 : 1013-6.
- 8) Wienkers LC, Heath TG. Predicting in vivo drug interactions from in vitro drug discovery data. *Nat Rev Drug Discov* 2005 ; 4 : 825-33.
- 9) Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, et al. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA* 2001 ; 286 : 2270-9.
- 10) Budnitz DS, Pollock DA, Weidenback KN, et al. National surveillance of emergency department visits for outpatient adverse drug events. *JAMA* 2006 ; 296 : 1858-66.
- 11) Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, et al. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* 2004 ; 9 : 442-73.
- 12) Innoenti F, Undevia SD, Iyer L, et al. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Oncol* 2004 ; 22 : 1382-8.
- 13) Hasegawa Y, Ando Y, Ando M, et al. Pharmacogenetic approach for cancer treatment-tailored medicine in practice. *Ann N Y Acad Sci* 2006 : 1086 : 223-32.



化合物を医薬品にするために必要な薬物動態試験 (その3) 代謝⑦

創薬
シリーズ(4)

第II相代謝の評価と創薬

横井 毅

要約：チトクロム P-450 (CYP) を中心とした前臨床試験スクリーニング系の発達により、第II相代謝酵素で触媒される候補化合物が増加傾向にあると言われている。ヒトにおける代表的な第II相代謝酵素は、グルクロン酸抱合酵素 (UGT) であり、近年多くの研究成果が集積されてきている。しかし、CYP と比べ前臨床試験スクリーニングへの応用は進んでいない。UGT のヒト *in vivo* 代謝反応の予測系の確立は、UGT の様々な特性が原因で進展していない。特異的阻害薬が無いこと、活性化が認められること、さらに抱合代謝物による UGT 阻害などが試験系を難しくしている。さらに、種差および肝外臓器における情報は極めて少ない。グルタチオン抱合や硫酸抱合代謝物は、排出型トランスポーターの影響を受けるが、体内動態に及ぼす影響の検討が必要である。今後、CYP 等の第I相と第II相酵素反応を同時に考慮できる評価系の構築が期待されている。

1. はじめに

創薬の初期段階において薬物動態に起因する問題で開発中止になる事例は、近年著しく減少したと言われている。その理由は第I相薬物代謝酵素、特にCYPを中心とした基礎研究が長足の進展をしたことにあり、創薬初期段階のみならず臨床での副作用発現の回避に至るまで、幅広い貢献をしている。近年、創薬初期段

階においてCYPに起因する酵素誘導や阻害の問題を起こす可能性がある化合物はスクリーニングで排除されている。その結果、代謝反応を受け難い化合物や、CYP以外の代謝酵素で触媒される化合物が増加傾向にある。

第II相抱合代謝酵素として、UGT、硫酸抱合酵素 (SULT)、グルタチオン抱合酵素 (GST)、アセチル抱合酵素 (NAT)、アミノ酸抱合やメチル抱合を触媒する酵素等が知られている。図1には、世界のトップ200の医薬品の主要代謝クリアランス等について示す(1)。全クリアランスのうち代謝が約72%を占め(図1A)、そのうち約70%がCYPであり、次にUGT、エステラーゼ、フラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO)、NAT、モノアミンオキシダーゼ (MAO) の順である。第II相酵素ではUGTが主要代謝酵素(全体の約15%)であり、次いでNAT(全体の約2%)である(図1B)。その他の第II相代謝酵素の関与は、トップ200の医薬品では報告されていない。また、ヒトでの第II相代謝酵素に起因する相互作用のほとんどにUGTの関与が報告され、抱合代謝全体の約40%をUGTが担っているという報告もある(2)。従って、開発時において最も注意を要する第II相代謝酵素はUGTであり、本稿ではUGTの評価と医薬品開発を中心に述べる。

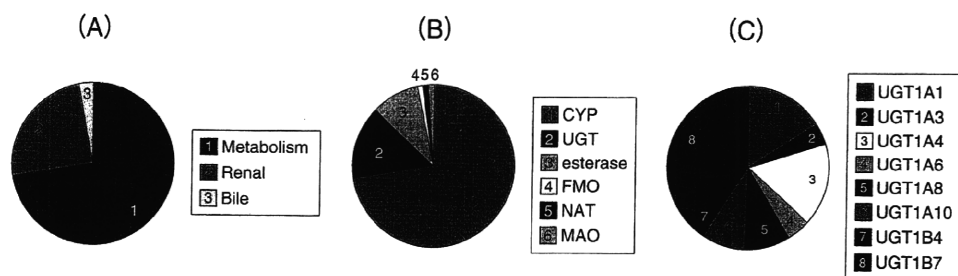


図1 世界のトップ200の医薬品の主要代謝クリアランス (文献1より改変)

キーワード：グルクロン酸抱合，硫酸抱合，動態予測

金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 薬物代謝化学研究室 (〒920-1192 金沢市角間町)

E-mail: tyokoi@kenroku.kanazawa-u.ac.jp 原稿受領日：2009年8月6日，依頼原稿

Title: Evaluation of phase II drug metabolizing enzymes in the discovery stage. Author: Tsuyoshi Yokoi

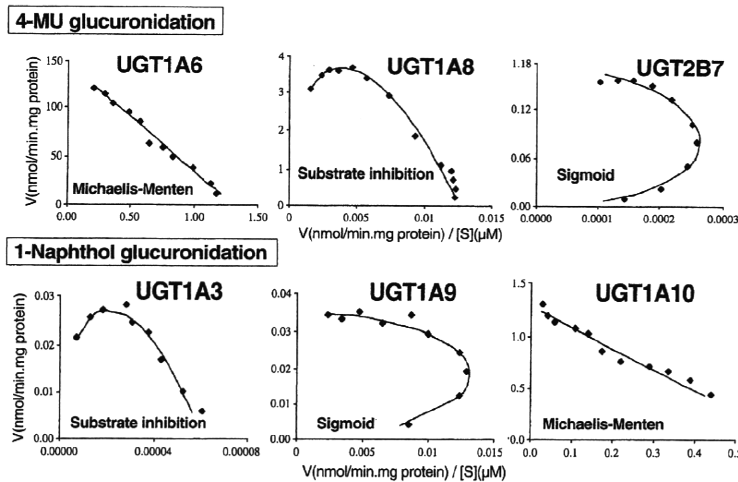


図2 UGT分子種発現系による4-MUと1-ナフトールのグルクロン酸抱合反応のEadie-Hofsteeプロット(文献7より改変)

2. グルクロン酸抱合酵素 (UGT)

UGTは、フェノール基やアルコール基に対してO-グルクロン酸抱合、カルボン酸に対してエステル型グルクロン酸抱合、第1~3級アミンに対してN-グルクロン酸抱合を触媒することが知られている。UGTにはUGT1とUGT2ファミリーがあり、UGT1は1つの遺伝子から13種類の異なるエクソン1の選択的スプライスによって多くの分子種が発現し、エクソン2~5は同じ配列である。UGT2は6つのエクソンから成る通常の遺伝子構造である。UGTは一般に基質特異性が低いことが知られている。1種類のUGTがいずれの反応をも触媒したり、1つの代謝経路に複数のUGTが関与する場合も多い。肝と小腸に高い活性があり、UGT1A8やUGT1A10は小腸に高く発現し、肝では発現していない。

1) UGTの活性測定

UGTは小胞体膜内側に存在しているために、in vitroでの活性測定には補酵素であるUDP-グルクロン酸(UDP-GA: 3-5 mM添加)や基質との反応性を上げる為に、小胞体膜に穴を開ける試薬であるアラメチン(30-50 μM/mg protein添加)を加える必要がある。酵素源としては、市販品であるヒト肝マイクロソーム、各分子種発現系酵素またはヒトヘパトサイトを用いる。ヘパトサイトには補酵素を加える必要はないが、極めて高価であるために使用に限られる傾向にある。固有クリアランスの算出には、基質の減少で測定する方法もあるが、様々な理由から推奨できない。とりわけ阻害試験には必ず代謝物を指標として検討する必要がある。しかし、多くの場合には代謝物が市販されていないために、グルクロン酸結合を切る酵素であるβグルクロニダーゼ処理後、HPLC等を用いて標品を精製し

て定量に供する必要がある。

In vitroでの試験結果からin vivoクリアランスを予測することは、CYPの場合よりもかなり困難である。In vitroではアラメチンを必要とするほど基質と酵素の反応性が悪いために、予測値はin vivoの実測値をはるかに下回ることが多い。肝マイクロソームでは、 K_m 値が10倍以上高いこともある。従って、よりin vivoに近い値を得られるヒトヘパトサイトの使用が推奨されるが、大きな個人差の影響を考慮する必要がある。マイクロソームの反応系に2%の牛血清アルブミンを添加すると改善される場合もあるが、非結合型の濃度の考慮が必要となり(3)、基質によっては反応性の改善が認められない場合もある。さらに、in vitroの反

応において、UGT酵素が活性化されて予期しない高い活性が認められる場合がある(4)。この活性化は、一定の範囲内の基質濃度のみで認められる場合が多く、基質濃度を変化させた検討が必要である理由の一つである。さらに、グルクロン酸抱合代謝物が、特定のUGT分子種に対してのみ強い酵素阻害を示すことも珍しくない(5)。さらに、補酵素の分解物であるUDPが他の分子種の活性阻害に働くことも知られているが(6)、この現象は反応液中での総活性値が高い場合に認められる。同じ基質に対して、異なる分子種が様々なキネティックを示すことも念頭に置く必要がある(図2)(7)。以上のように、UGTの活性測定に際しては、多くの因子による影響に十分に注意を払う必要がある。

2) UGT分子種同定と阻害試験

開発候補化合物の主代謝分子種の同定方法はCYPの場合と同様である。しかし、UGTは分子種間の基質認識の特異性が低いために、より注意して実施することが肝要である。ヒト肝マイクロソームにおける各分子種特異的な基質として、UGT1A1にはビリルビンまたはエストラジオール、UGT1A3にはトリフルオロペラジン、UGT1A9にはプロポフォル、UGT2B7にはモルフィンまたはジブジンを使用するが、市販のヒト肝マイクロソームには各活性がデータシートとして添付されるようになってきた。これらを用いて、開発候補化合物のグルクロン酸抱合活性と各分子種の活性との相関を検討する。この時にヒト肝マイクロソームの検体において、各分子種の活性値が適度に分散している必要がある。

UGT分子種発現系を用いて開発候補化合物を代謝させ、分子種を同定する。この場合にもUGTの低い基質特異性を考慮する必要がある。in vivo推定 K_m 値だけではなく、高い基質濃度でlow affinityの関与も

必ず検討する必要がある。

阻害試験は特に慎重に実施する必要がある。UGTの分子種特異的な阻害薬は殆ど知られていない。従って、基本的には high affinity の基質を阻害薬として用いる検討方法が実施される。さらに、肝ミクロソームと UGT 発現系の両者での阻害定数を比較検討する必要がある。こうした検討でも説明が難しい結果が得られることもあり、これには肝ミクロソームと UGT 発現系の両者における膜環境の差異が影響していると考えられ、さらに、別の複数の種類の基質兼阻害薬について、 K_m 、 IC_{50} および検出限界値を考慮して検討する必要がある。

3) UGT と薬物間相互作用

UGT に起因する薬物間相互作用の臨床例は CYP と比較して著しく少なく、その程度も軽いとされている (1)。臨床例のまとめが Kiang らによって報告されている (8)。開発候補化合物において、グルクロン酸抱合が主消失経路であり、単一分子種で触媒される場合には、薬物間相互作用を想定した検討が必須である。中でも、内因性基質であるビリルビンを抱合解毒できる分子種は UGT1A1 のみであるために、阻害により高ビリルビン血症が惹起される場合がある (9)。また、CYP による代謝物が UGT1A1 を強く阻害することが高ビリルビン血症の原因となる場合もあるので注意が必要である (10)。

モルフィンを基質とする UGT2B7 は、アシルグルクロノイド生成反応を最も効率的に触媒する分子種である。UGT1A3 もその触媒活性を少なからず有している。アシルグルクロノイドの毒性評価方法については確定していない。開発候補化合物やその代謝物がカルボン酸を有する場合が多いために、今後の定量的な毒性評価の確立が待たれている (11)。

UGT は PXR (pregnane X receptor) や CAR (constitutive androstane receptor) によって発現調節をされているために、こうした転写因子の発現に影響を及ぼす化合物について、開発段階で考慮する必要がある。転写因子が抱合酵素の活性に及ぼす影響の定量的評価法は確立されていない。さらに、UGT は Nrf2 (NF-E2-related factor 2) によって発現調節を受けており、キノン、カテコール、パーオキシドなどの親電子性化合物類によって誘導を受け、解毒能に影響を及ぼすことが考えられる。

遺伝子多型については、体質性黄疸に関連する多型が, Grigler-Najjar 症候群や Gilbert 症候群について詳しく研究されている (12)。我が国では、塩酸イリノテカンの投与患者について、UGT1A1*28 の遺伝子診断の実施についての保険適用が 2008 年 11 月から認可されている。

4) UGT の種差と臓器分布

種差については、詳しい研究情報が極めて少ないの

が現状である。ラットの分子種の数は、マウスに比較して報告が少ない (13)。ラットおよびマウスの肝ミクロソームではイミプラミンやトリフルオロペラジンのグルクロン酸抱合活性は検出できない。肝ミクロソームにおけるエストラジオールのグルクロン酸抱合活性の K_m は、ヒトと同程度であるが、 V_{max} はヒトの 15 倍ほど高い (14)。

In vitro からヒト in vivo への外挿を目指した in silico 系の開発には、正確なクリアランスの予測が必要である。そのためには、肝外組織、特に腸管組織における第 II 相代謝酵素についても詳しい定量的検討が必要であるが、研究が進展していない。エストラジオールのグルクロン酸抱合活性のクリアランスは、ヒトでは肝と小腸では、ほぼ同じであるが、ラットおよびマウスでは、小腸より肝で 7 倍ほど高い。他の基質においても同様の傾向が認められる (14)。

実験動物における、UGT 分子種の種類、発現量、基質特異性、さらには発現臓器差についても、さらに詳しく検討し、前臨床開発に資する必要がある。最終的には CYP と同様に relative activity factor (RAF) による予測ができることが望まれている。

3. 硫酸抱合酵素 (SULT)

硫酸抱合を触媒する SULT は、主に *p*-ニトロフェノールなどのフェノール性水酸基を有する化合物や、アドレナリン、ドパミンやエストロゲンなどの内因性物質等を基質とする SULT1 ファミリー、アルコール性水酸基や内因性ステロイド類を基質とする SULT2 ファミリーと、アミンを基質とする SULT3 がある。

多くの内因性物質の代謝に主として硫酸抱合に係わることが知られている。しかし、環境化学物質以外の薬物等外来異物の硫酸抱合については殆ど知られておらず、ミノキシジルの他には、タモキシフェン、ラロキシフェンやナプロキセンの代謝の一部に関与しているという報告がある。SULT は食品に含まれるフラボノイド化合物やポリフェノール化合物によって強く阻害される場合がある。しかし、薬物によってヒト硫酸抱合活性が阻害された報告は無い。さらに、SULT は PXR によって転写調節されているが、PXR を活性化する薬物による相互作用の報告も無いため、現状では前臨床試験段階で特別な注意を払う必要がないと考えられている。

4. グルタチオン抱合酵素 (GST)

GST は求核性のグルタチオンと親電子性の化合物との抱合反応を触媒する酵素であり、主に肝可溶性画分に存在する。グルタチオン抱合により化合物の水溶性は著しく上昇し、胆汁や尿中への排泄を促進する重要な解毒排泄機構の一つである。すなわち、GST は主に CYP による薬物の代謝的活性化反応によって生