胆汁排泄とトランスポーター

前田 和哉

要約: 近年, ヒト肝臓において非常に多くのトランスポーターが同定・機能解析されるにつれて, トランスポーターの遺伝子多型や薬物間相互作用による機能変動が薬物動態に与える影響を明らかにするための臨床研究も続々と報告されてきている. それに伴い, 異物解毒システムの中でのトランスポーターの重要性が広く認知されてきた. 代謝によって消失すると考えられてきた薬物の中にも肝取り込みトランスポーターの基質が含まれていることが明らかとなり, 取り込みトランスポーターの機能変動が薬物動態の変化につながる事例が複数報告されてきている. 本稿では, ヒト肝臓に発現する主な薬物トランスポーターを紹介すると共に, これらの遺伝子多型・薬物間相互作用が薬物動態や薬効・副作用に与える影響について概説することを目指す.

はじめに

肝臓は, 腎臓とならび, 種々の薬物の異物解毒器官として重要な役割を果たしている. 肝臓における異物解毒システムの構成要素としては, 種々の代謝酵素とトランスポーターが挙げられる (図 1). 代謝酵素は, 物質の構造変換を通じて薬物を不活性化へと導く役割を果たすのに対して, トランスポーターは, 血液側から肝臓中への薬物の取り込み, ならびに肝臓内から胆汁中への薬物および代謝物の排出に寄与することにより, 効率よく血液側から胆汁への方向性のある経細胞輸送 (ベクトル輸送) を実現している. 本稿では, 肝臓に発現するトランスポーターの基本特性について概説すると共に, 臨床薬物動態における重要性についても触れる.

1. 肝臓に発現する主な薬物トランスポーター

1) 取り込みトランスポーター

NTCP (Na^+ -taurocholate cotransporting polypeptide) は, 肝臓の血管側にのみ選択的に発現するトランスポーターで, 様々な胆汁酸を Na^+ イオンと共輸送する. 胆汁酸以外にも, dehydrodipandrosterone sul-

図1 肝臓における薬物の解毒システム

肝臓における解毒といえば, かつては, Phase I代謝 (主にCYPsによる酸化代謝), Phase II代謝 (主にグルクロン酸, グルタチオン, 硫酸基などの抱合代謝) であったが, 最近では, Phase 0肝取り込み輸送やPhase III胆汁排泄などトランスポーターを介した膜透過が一連の異物解毒の流れに組み込まれるようになった.

fate (DHEAS) や estrone-3-sulfate (E-sul) などステロイド抱合体や, 肝機能検査薬プロモスルホフタレイン, HMG-CoA還元酵素阻害薬ロスバスタチンも基質とする (1, 2).

OATP (organic anion transporting polypeptide) ファミリートランスポーターは, Na^+ イオン非依存的に基質を輸送するトランスポーターで, ヒト肝臓においては, 特に OATP1B1 と OATP1B3 が有機アニオン化合物の肝取り込みに重要な役割を果たすと考えられている. これらトランスポーターは共にヒト肝臓に選択的に発現しており, 極めて多様な構造のアニオン系化合物を認識する. 基質の中には, HMG-CoA還元酵素阻害薬 (スタチン) やアンジオテンシン変換酵素阻害薬やアンジオテンシンII受容体拮抗薬 (サルタン), また種々の抗がん薬など临床上汎用されている医薬品が多数見受けられる (3). OATP1B1 と OATP1B3 のアミノ酸レベルでのホモロジーは 80% に達しており, 基質認識性は極めて類似しているが, 一部の基質は, 片方のトラ

キーワード: 薬物トランスポーター, 遺伝子多型, 薬物間相互作用

東京大学 大学院薬学系研究科 分子薬物動態学教室 (〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1)

E-mail: kmaeda@mol.f.u-tokyo.ac.jp 原稿受領日: 2009年11月11日, 依頼原稿

Title: Transporters involved in hepatobiliary transport of drugs. Author: Kazuya Maeda

ンスポーターにのみ選択的に認識される。例えば、強心配糖体ジゴキシンやコレシストキニン オクタペプチド (CCK-8) は OATP1B3 に認識されるが OATP1B1 には認識されない(4,5)。また、同じサルタン類であっても、バルサルタン、オルメサルタンは、OATP1B1, OATP1B3 両方の基質になるものの、テルミサルタンについては、OATP1B3 選択的に輸送されることが報告されている(6-9)。また、OATP1B1 は、ビリルビンを基質として輸送する(10,11)。一部の薬物は、高ビリルビン血症を副作用として呈することがあるが、OATP1B1 を強力に阻害することにより血清中ビリルビン濃度の上昇を招いたと推測されるものが報告されている(12)。

一方、有機カチオン系化合物の肝取込みにおいては、主に OCT1 (organic cation transporter 1) が重要であると考えられる。OCT1 は、分子量の小さな水溶性の高いカチオン性化合物 (type I カチオン) を輸送することが知られている(13)。基質薬物としては、抗ウィルス薬 (アシクロビル、ガンシクロビル)、H₂ ブロッカー (ファモチジン、ラニチジン) や経口抗糖尿病薬 メトホルミンなどが挙げられる。Wang らは、Oct1 ノックアウトマウスを用いてメトホルミンの体内動態および副作用の変動について検討した結果、Oct1 ノックアウトマウスで、メトホルミンの肝臓中濃度が著しく減少しており、さらにメトホルミン投与後の血中乳酸濃度の上昇が著しく抑制されることを見出した(14,15)。このことから、OCT1 はメトホルミンの重篤な副作用である乳酸アシドーシスの発現を決定する因子の1つであることが推察されている。

2) 胆汁排泄トランスポーター

MDR1 (multidrug resistance 1; P-glycoprotein) は、肝臓のみならず、腎臓・小腸・血液脳関門など生体内のあらゆる場所に発現し、細胞内からの化合物の排出を担うトランスポーターである。MDR1 は、比較的脂溶性の高い塩基性・中性化合物を主に幅広く基質として認識する。MDR1 の胆汁排泄への関与は、ノックアウトマウスにおいて、ジゴキシンやベクロニウムの胆汁排泄が有意に低下する報告から示されている(16,17)。

一方、MRP2 (multidrug resistance-associated protein 2) は、種々の抱合代謝物を含む有機アニオンの胆汁排泄に重要な役割を果たす。MRP2 の *in vivo* における機能は、Mrp2 を遺伝的に欠損したラット EHBR (Eisai hyperbilirubinemic rat) や GY/TR⁻ ラットを用いた胆汁排泄の検討により明らかにされてきた。基質薬物としては、スタチン類やサルタン類、抗悪性腫瘍薬メトトレキサートや環状ペプチドのエンドセリン受容体拮抗薬 BQ-123 など多岐にわたる。極めて興味深い知見として、肝取込みに関与する OATP トランスポーターと MRP2 は、アミノ酸配列から見ると全く類似性は認められないものの、基質認識性は極めて類似している。その結果として、有機アニオン類は OATPs

により肝取り込みされた後、MRP2 により速やかに胆汁中へと排泄され、両者の協調的な働きにより効率的な異物解毒が実現されている(18)。また、MRP2 は還元型グルタチオンやビリルビンなど種々の内因性基質の胆汁排泄にも関与している。特に MRP2 の機能欠損は、高ビリルビン血症を主徴とする Dubin-Johnson 症候群という遺伝病を引き起こすことが知られている。

BCRP (breast cancer resistance protein) も、種々の硫酸抱合体やグルクロン酸抱合体のみならず、非抱合の化合物として種々の抗菌薬 (ニトロフラントイン、スルファサラジン、フルオロキノロン類など) や抗がん薬 (エトポシド、カンプトテシン類、インドールカルバゾール類、イマチニブなど)、フラボノイド類 (ゲニステイン、クエルセチンなど) 等、多岐にわたる構造の化合物を基質として認識すると共に、MDR1 や MRP2 と基質特異性がかなりオーバーラップしている(19,20)。これまでプラバスタチンは、Mrp2 欠損ラット EHBR において著しく胆汁排泄が低下することから、Mrp2 がスタチン類の胆汁排泄に重要な役割を果たすと信じられてきた(21) が、一方、同じスタチンのピタバスタチンでは、EHBR で胆汁排泄の低下が見られず、Bcrp ノックアウトマウスにおいて胆汁排泄が著しく低下することが見いだされた(22)。また、ロスバスタチンでは、EHBR、Bcrp ノックアウトマウスの両方で胆汁排泄の低下が見られ、MRP2、BCRP 両方の関与が考えられた(23)。このことは、類似の構造を有する同系統の薬物で共に胆汁排泄により消失する薬物であっても、それに関与する分子機構は異なるということを示した好例であるといえる。

一方、BSEP (bile salt export pump) は、専ら胆汁酸を排出するトランスポーターであり、NTCP による肝取り込みと協調的に機能して、胆汁酸を効率よく血管側から胆汁へと排出している。BSEP は、進行性家族性肝内胆汁うっ滞2型 (PFIC2) という致死性の遺伝病の原因遺伝子であり、胆汁酸が肝臓から排出できなくなり、肝臓内に胆汁酸が蓄積することにより発症する。また、薬剤誘導性胆汁うっ滞という副作用が知られている薬物のうち、抗糖尿病薬グリベンクラミドや抗結核薬リファンピシン、肺動脈性高血圧症治療薬ボセンタン、また致死的な肝障害が原因で市場から撤退した糖尿病治療薬トログリタゾンの硫酸抱合体などは BSEP を低濃度で強力に阻害することが *in vitro* 実験から明らかとなっている(24,25)。

2. トランスポーターの遺伝子多型が薬物動態に与えるインパクト

トランスポーターの重要性が認知されるに従い、薬物トランスポーターに関する遺伝子多型解析が急ピッチに進められ、臨床研究を通じて薬物動態や薬効・副作用との関連が明らかにされつつある。

SLCO1B1 (OATP1B1) の遺伝子多型については、特に頻度が高い A388G (N130D) と T521C (V174A) に

焦点をあてた臨床研究が複数展開されている(26). Nishizato らは、日本人における SLC01B1 変異解析を行い、T521C 変異が高頻度に A388G 変異とリンクしていることを見出した (*15 アレル)(27). 日本人では *15 は、約 15% 程度のアレル頻度で存在する. またプラバスタチンの血中濃度が *15 アレル保持者において有意に高いことを見出し、世界に先駆けて SLC01B1 の変異が薬物動態を変動させることをヒトで直接示した(27). その後、表 1 に示すような多くの基質薬物について、T521C 変異保持者では血中濃度が上昇するという統一した結果が得られている. 中にはこれまで代謝により消失すると考えられていた薬物も含まれており、取り込みトランスポーターと代謝酵素の両方の基質の場合、解毒の第 1 ステップである肝取り込み過程の機能変化は、固有クリアランスに直接影響することに留意すべきである. 薬効や副作用との関連についてもいくつか報告がある. 例えば、レパグリニドの血糖降下作用が T521C 変異保持者で上昇することが報告されている(28). また、シンバスタチンにより筋毒性を誘発した患者についてゲノムワイドな多型解析を実施したところ、唯一 SLC01B1 T521C 変異が統計的に有意なリスクファクターとして抽出されており、T521C 変異をホモで持つ患者は、野生型の患者と比較して 16.9 倍筋毒性を発症するリスクが高いことが見出されている(29). 一方、A388G 変異は、OATP1B1 の機能が亢進し、肝クリアランスの上昇につながることを示唆される臨床研究のデータが複数出されている(30, 31) が事例はまだ少ないことから、さらなる検討が求められる.

表 1 OATP1B1 の遺伝子多型が薬物動態に与える影響 ~OATP1B1*15 により血中濃度が上昇した事例~

HMG-CoA 還元酵素阻害薬
プラバスタチン
シンバスタチン (acid 体)
ビタバスタチン
アトルバスタチン
ロスバスタチン
高血糖治療薬
レパグリニド
ナテグリニド
抗アレルギー治療薬
フェキソフェナジン
肺動脈性高血圧治療薬
アトラセentan
抗がん薬
イリノテカン (SN-38)
コレステロール吸収阻害薬
エゼチミブ
ループ利尿薬
トラセミド
アンジオテンシン II 受容体拮抗薬
オルメサルタン

BCRP の遺伝子多型では、主にアジア人で頻度の高い (アジア人: 35%, 白人: 10%) 変異である C421A (Q141K) が注目されている. これまでにジフロモテカン、ロスバスタチン、スルファサラジンなど複数の基質薬物について C421A 変異保持者で血中濃度の上昇が見られている(32-34). 一方で、当研究室では *in vitro* 実験より C421A 変異が単位タンパク質量あたりの輸送活性には影響を与えないことを見出しており(35). また、ヒト胎盤における BCRP の発現量を遺伝子型ごとに比較したところ、C421A 変異を有している検体で、発現量が有意に

低いことが示された(36). よって臨床試験の結果は、主に小腸に発現する BCRP 発現量の低下が原因であろうと推察されているが、ジフロモテカンにおいては静脈内投与時でも血中濃度に差が見られている(34) ことから、肝臓の胆管側の BCRP の機能低下も同時に起こっている可能性が考えうる.

3. トランスポーターを介した薬物間相互作用が薬物動態に与えるインパクト

肝臓において、薬物間相互作用の標的としてのトランスポーターの重要性を広く知らしめるきっかけとなったのは、セリバスタチンとシクロスポリン A (CsA) の相互作用である. セリバスタチンは、致死的な横紋筋融解症を引き起こしたため市場から撤退を余儀なくされたが、その事例の多くで、ゲムフィブロジルなど他剤との併用が報告されていた. 一方、CsA もセリバスタチンの血中濃度を上昇させることが臨床報告されていた(37) ことから、Shitara らは、そのメカニズム解明のため検討を行った(38) (図 2). セリバスタチンは、主に CYP2C8, 一部 CYP3A4 により代謝され消失することから、当初は CsA による代謝酵素の阻害が疑われていたが、肝ミクロソームによるセリバスタチンの代謝は、30 μ M CsA 存在下においても半分以下の阻害しか見られず、一方、セリバスタチンのヒト凍結肝細胞や OATP1B1 発現細胞における取り込みを CsA は $K_i = 0.3 \sim 0.7 \mu$ M と低濃度で阻害することが示された. これらよりセリバスタチンと CsA の相互作用は、CsA によるセリバスタチンの OATP1B1 を介した肝取り込み過程の阻害が原因であることが示唆された (図 2). 一方、ゲムフィブロジルとの相互作用については、主にはゲムフィブロジル グルクロニドによる CYP2C8 の mechanism-based inhibition であることが示されたが、一部ゲムフィブロジル グルクロニドによる肝取り込み過程の阻害も寄与することが示唆されている(39, 40) (図 2). これ以後、CsA との併用投与により、複数の OATP 基質薬物 (スタチン類、レパグリニド、ボセンタンなど) の血中濃度が上昇するという臨床報告がなされている. 一方、*in vitro* 試験により臨床投与条件での肝臓入り口の最大のタンパク質非結合型血中濃度の見積もり値と OATP1B1, OATP1B3 の阻害定数 (K_i) との比較を行ったところ、OATP1B1 については、CysA に加えて抗結核薬リファンピシン、リファマイシン SV, 抗 HIV 治療薬のインジナビル、リトナビル、抗生物質クラリスロマイシンが、OATP1B3 については、CysA とリファンピシンがそれぞれ阻害しうることが示唆された(41, 42). 最大濃度を仮定した時の相互作用リスク評価ではあるが、これら薬剤と OATP 基質との相互作用の報告も実際にあることから、今後注意する必要があると思われる.

おわりに

以上、肝臓の肝胆系輸送に関与するトランスポータ

図2 セリバスタチンとシクロスポリン A ならびにゲムフィブロジルとの相互作用

(A, B) シクロスポリン A はセリバスタチンの血中濃度を上昇させている。その主原因として、シクロスポリン A がセリバスタチンの OATP1B1 を介した肝取り込みを強力に阻害することによることが示されている (37, 38)。(C, D) ゲムフィブロジルもセリバスタチンの血中濃度を上昇させている。その原因は、主には肝臓中に濃縮的に存在するゲムフィブロジルグルクロニドによる CYP2C8 の mechanism-based inhibition であることが示されているが、一部は、OATP1B1 の阻害も関与すると考えられている (40, 43)。

一と、それらが臨床薬物動態に与える影響について概説した。従来、代謝酵素により消失すると考えられてきた薬物のうち、肝取り込みトランスポーターの基質にもなる薬物が次第に増加傾向にあり、この場合、遺伝子多型や薬物間相互作用による取り込みトランスポーターの機能変動は、直接肝固有クリアランスに影響を与えることから、留意が必要である。現在ではヒト肝臓試料（凍結肝細胞・肝ブロック）が入手可能となり、ヒトにおける肝取り込み・胆汁排泄の予測が可能となりつつある。一方、ヒトでは容易に測定できない肝臓中濃度についても PET や SPECT などイメージング技術を利用することで非侵襲的に定量化することが出来ることから、予測の妥当性をより精度よく行える環境が整いつつある。今後、ヒト体内動態予測のための *in vitro* 実験・モデル構築と妥当性評価のための臨床研究が並行して行われ、予測事例がさらに集積する必要性があると考えている。

文 献

- Ho RH, et al. *Gastroenterology*. 2006;130:1793-1806.
- Meier PJ, et al. *Hepatology*. 1997;26:1667-1677.
- Maeda K, et al. *Drug Bioavailability*. Wiley-VCH Verlag GmbH; 2009. p. 277-332.
- Kullak-Ublick GA, et al. *Gastroenterology*. 2001;120:525-533.
- Ismair MG, et al. *Gastroenterology*. 2001;121:1185-1190.
- Yamashiro W, et al. *Drug Metab Dispos*. 2006;34:1247-1254.
- Ishiguro N, et al. *Drug Metab Dispos*. 2006;34:1109-1115.
- Yamada A, et al. *Drug Metab Dispos*. 2007;35:2166-2176.
- Nakagomi-Hagihara R, et al. *Drug Metab Dispos*. 2006;34:862-869.
- Cui Y, et al. *J Biol Chem*. 2001;276:9626-9630.
- Briz O, et al. *Biochem J*. 2003;371:897-905.
- Campbell SD, et al. *Chem Biol Interact*. 2004;150:179-187.
- Koepsell H, et al. *Pharm Res*. 2007;24:1227-1251.
- Wang DS, et al. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302:510-515.
- Wang DS, et al. *Mol Pharmacol*. 2003;63:844-848.
- Smit JW, et al. *Br J Pharmacol*. 1998;124:416-424.
- Kawahara M, et al. *J Pharm Sci*. 1999;88:1281-1287.
- Giacomini KM, et al. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* 11th edition. McGraw-Hill; 2005. p. 41-70.
- Mao Q, et al. *Aaps J*. 2005;7:E118-E133.
- Robey RW, et al. *Drug Transporters*. John Wiley & Sons, Inc; 2007. p. 319-358.
- Yamazaki M, et al. *Biopharm Drug Dispos*. 1996;17:607-621.
- Hirano M, et al. *Mol Pharmacol*. 2005;68:800-807.
- Kitamura S, et al. *Drug Metab Dispos*. 2008;36:2014-2023.
- Funk C, et al. *Mol Pharmacol*. 2001;59:627-635.
- Kostrubsky VE, et al. *Toxicol Sci*. 2003;76:220-228.
- Ishiguro N, et al. *Drug Metab Dispos*. 2008;36(4):796-805.
- Nishizato Y, et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2003;73:554-565.
- Niemi M, et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2005;77:468-478.
- Link E, et al. *N Engl J Med*. 2008;359:789-799.
- Mwinyi J, et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2004;75:415-421.
- Maeda K, et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;79:427-439.
- Yamasaki Y, et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2008;84(1):95-103.
- Zhang W, et al. *Clin Chim Acta*. 2006;373:99-103.
- Sparreboom A, et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2004;76:38-44.
- Kondo C, et al. *Pharm Res*. 2004;21:1895-1903.
- Kobayashi D, et al. *Drug Metab Dispos*. 2005;33:94-101.
- Muck W, et al. *Clin Pharmacol Ther*. 1999;65:251-261.
- Shitara Y, et al. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;304:610-616.
- Ogilvie BW, et al. *Drug Metab Dispos*. 2006;34:191-197.
- Shitara Y, et al. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;311:228-236.
- Hirano M, et al. *Drug Metab Dispos*. 2006;34:1229-1236.
- Matsushima S, et al. *Mol Pharmacol*. 2008;73:1474-1483.
- Backman JT, et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2002;72:685-691.