

氏名(本籍)	黒羽正範(茨城県)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第113号		
学位授与年月日	平成14年3月13日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻		
研究指導を受けた大学	東京農工大学		
学位論文題目	Drug-drug interactions in dog liver microsomal cytochrome p-450 —Inhibition of ketoconazole on canine cytochrome p-4503A12 activity— (イヌ肝ミクロソームのチトクロームp-450における薬物間相互作用 —ケトコナゾールによるチトクロームp-4503A12阻害—)		
審査委員	主査	東京農工大学 教授	小久江 栄一
	副査	帯広畜産大学 教授	西村 昌数
	副査	岩手大学 教授	小林 晴男
	副査	東京農工大学 教授	岩崎 利郎
	副査	岐阜大学 教授	武脇 義

論文の内容の要旨

本論文は、多種薬物の併用による薬物間有害相互作用のうち、特に肝チトクローム P450 (CYP) 酵素が関与する相互作用について、イヌを用いて研究したものである。モデル薬物として、小動物臨床で汎用されているケトコナゾール (KTZ) を用い、その CYP 阻害作用と、CYP 阻害下での他の薬物の体内動態変化について研究した。

論文は8つの章から成り、1章では研究の背景と目的を、2章から7章には実験研究を、8章では総合討論を記述している。2章では、KTZの肝 CYP3A12 に対する *in vitro* での阻害作用をまとめた。ビーグル犬から摘出した肝臓ミクロソームを用い、CYP3A12 活性をミダゾラム (MDZ) を基質として検討し、KTZがMDZの代謝を競合的に強く阻害することを明らかにした。3章では、3A12以外の代謝酵素、CYP1A1/2、2C21、2D15 に対する KTZ の阻害作用を *in vitro* で検討し、これらの酵素に対する KTZ の阻害作用は非常に弱いことを記載した。4章では、KTZ の CYP3A12 阻害作用を *in vivo* で調べ、KTZ 反復経口投与による MDZ 静注後の体内動態に対する影響をまとめた。KTZ 投与開始後、MDZ の全身クリアランス (CL_{tot}) は、5日目以降で約4分の1に低下し、消失半減期は約4倍に延長した。KTZ は *in vivo* においても肝 CYP3A12 を強く阻害し、3A12 で代謝される薬物の体内動態に大きく影響を与えることが示唆された。さらに、5章で

はニフェジピン (NIF)、6 章ではキニジン (QN)を投与した場合の、KTZ との薬物間相互作用について検討した。KTZ は NIF の全身消失だけでなく、初回通過代謝も大きく阻害した。この阻害により生体内利用率は増加し、血漿 NIF 濃度は上昇した。QN では分布も影響を受け、血漿中濃度は上昇した。最後に MDZ と KTZ の *in vivo* の薬物間相互作用を *in vitro* のデータから予測し、7 章にまとめた。*in vitro* のデータから算出された MDZ の CL_{tot} は、*in vivo* の値とよく一致した。また、KTZ 反復経口投与により、各 CYP で代謝される基質の *in vivo* の代謝クリアランスがどの程度減少するかを、*in vitro* のデータから予測した。その結果、CYP3A12 では、代謝クリアランスは KTZ により 10%以下に減少、CYP1A1/2、2C21、2D15 ではほとんど影響はなかった。

以上の結果を解析し、内外の文献を参照しながら、8 章で総合考察をまとめた。KTZ は肝 CYP3A12 を強く阻害し、この酵素で代謝される薬物の体内動態に大きく影響を与える。CYP3A12 で代謝される薬物が経口投与された場合、その体内濃度は大きく上昇するので、通常用量を投薬した場合、薬物を過剰投与したのと同じ副作用を発現する可能性がある。またその上昇の程度は、薬物のクリアランスの大きさにより異なり、KTZ 反復投与時には、これらを考慮に入れた投与計画の立案が必要であるという結論に至った。特に、NIF などの高クリアランスの薬物において、体内の薬物濃度が著しく上昇する可能性があるため、過剰投与を注意する必要があることを提言している。

審 査 結 果 の 要 旨

学位申請者は、小動物臨床で多い、多種薬物の併用による、薬物間有害相互作用に注目し、特に肝チトクローム P450 (CYP)酵素が関与する相互作用について、イヌを用いて研究した。具体的には、小動物臨床で汎用されているケトコナゾール (KTZ)の CYP に対する阻害作用と、CYP 阻害下での他の薬物の体内動態に及ぼす影響を研究した。

学位申請論文は 8 つの章から成り、実験研究の部分は第 2 章から第 7 章に記述されている。第 2 章には、KTZ の肝 CYP3A12 に対する *in vitro* での阻害作用をまとめた。ビーグル犬から摘出した肝臓から精製したミクロソームを用いて、阻害作用を調べた。ミクロソームの CYP3A12 活性はミダゾラム (MDZ) を基質として評価した。KTZ は MDZ の代謝を競合的にかなり強く阻害した。このことから、KTZ が肝 CYP3A12 を強く阻害することを証明した。次に、CYP3A 以外の薬物代謝関連の CYP 酵素、CYP1A1/2、CYP2C21、CYP2D15 に対する KTZ の阻害作用を *in vitro* で検討し、第 3 章にまとめた。これらの酵素に対する阻害作用は、CYP3A12 の場合と比較して非常に弱かった。第 4 章では、KTZ の肝 CYP3A12 に対する阻害作用を *in vivo* で調べ、KTZ 反復経口投与による MDZ 静注後の体内動態に対する影響を検討した。KTZ 投与開始後、MDZ の全身クリアランス (CL_{tot}) は低下し、5 日目以降 4 分の 1 近くにまで低下し、

消失半減期も約 4 倍に延長した。このことから、KTZ は *in vivo* においても肝 CYP3A12 を強く阻害し、CYP3A12 で代謝される薬物の体内動態に大きく影響を与えることが示唆された。さらに、ニフェジピン (NIF) とキニジン (QN) を経口投与した場合の、KTZ との薬物間相互作用について検討した。NIF については第 5 章、QN については第 6 章にまとめた。KTZ は NIF の全身からの消失だけでなく、初回通過代謝も大きく阻害した。この阻害により、バイオアベイラビリティは増加し、血漿中 NIF 濃度は著しく上昇した。QN では、消失だけでなく分布も影響を受け、血漿中濃度は上昇した。最後に、MDZ と KTZ の *in vivo* の薬物間相互作用を *in vitro* のデータから予測し、第 7 章にまとめた。*in vitro* データから算出された MDZ の CL_{tot} は *in vivo* の値とよく一致した。また、KTZ 反復経口投与によって、各 CYP で代謝される基質の *in vivo* の代謝クリアランスがどの程度減少するかを *in vitro* のデータから予測した。CYP3A12 では、代謝クリアランスは KTZ により 10% 以下に減少すると予測されたが、CYP1A1/2、CYP2C21、CYP2D15 ではほとんど影響はなかった。

以上の結果を解析し、内外の文献と照合して、第 8 章で総合考察としてまとめた。KTZ は肝 CYP3A12 を強く阻害し、CYP3A12 で代謝される薬物の体内動態に大きく影響を与える。CYP3A12 で代謝される薬物が経口投与された場合、その体内濃度は大きく上昇するので、通常用量を投薬した場合、薬物を過剰投与したのと同じ副作用を発現する可能性がある。またその上昇の程度は、薬物のクリアランスの大きさにより異なり、KTZ 使用時には、このことを考慮に入れた投薬が必要である、という結論に至った。特に、NIF などの高クリアランスの薬物において、体内の薬物濃度が著しく上昇する可能性があるので、過剰投与にならないように注意が必要であることを提言している。

以上の論文内容について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

基礎となる学術論文

題目 : Effect of multiple dosing of ketoconazole on pharmacokinetics of midazolam, a cytochrome P-450 3A substrate in beagle dogs

著者名 : Kuroha Masanori, Azumano Akinori, Kuze Yoji, Shimoda Minoru & Kokue Eiichi

学術雑誌名 : Drug Metabolism and Disposition, 30 · 1 · 63 - 68 · 2002.

題目：Effect of oral ketoconazole on first-pass effect of nifedipine after oral administration in dogs

著者名：Kuroha Masanori, Kayaba Hideki, Kishimoto Shizuka, Khalil Waleed F., Shimoda Minoru & Kokue Eiichi

學術雜誌名：Journal of Pharmaceutical Sciences, (in press)

既発表學術論文

題名：Effects of altered plasma α -1-acid glycoprotein levels on pharmacokinetics of some basic antibiotics in pigs: simulation analysis

著者名：Kuroha Masanori, Son Deok-Soo, & Shimoda Minoru

學術雜誌名：Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, (in press)