

薬剤師に必要なタンパク結合置換術

高村徳人,^{*,a} 徳永 仁,^a 帖佐悦男,^b 川井恵一,^c 藤田健一,^d 有森和彦^e

Pharmaceutical Skill Using Displacement of Protein Binding for Pharmacists

Norito TAKAMURA,^{*,a} Jin TOKUNAGA,^a Etsuo CHOSA,^b Keiichi KAWAI,^c
Ken-ichi FUJITA,^d and Kazuhiko ARIMORI^e

^aSecond Department of Clinical Pharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University of Health and Welfare, 1714-1 Yoshino, Nobeoka City 882-8508, Japan, ^bDepartment of Orthopedic Surgery, Miyazaki Medical College, 5200 Kihara, Kiyotake-cho, Miyazaki-gun, Miyazaki 889-1692, Japan, ^cGraduate School of Health Science, Kanazawa University, 5-11-80 Kodatsuno, Kanazawa City 920-0942, Japan, ^dDepartment of Clinical Oncology, Saitama Medical School, 38 Morohongo, Moroyama-cho, Iruma-gun, Saitama 350-0495, Japan, ^eDepartment of Pharmacy, Miyazaki Medical College Hospital, 5200 Kihara, Kiyotake-cho, Miyazaki-gun, Miyazaki 889-1692, Japan

(Received July 2, 2007)

In pharmacotherapy, to alleviate pains of patients and to provide comforts to patients, pharmacists should improve their pharmaceutical skills of their clinical sense involving pharmaceutical investigational outcomes. Without pharmaceutical skills, pharmacists cannot apply the essence of drug therapies for patients in the most urgent 24 hours treatment. To cope with these drug therapies, we have developed search methods which easily identify the diachronic change of protein binding and the factors in serum (= a new pharmaceutical distribution diagnostic method). This method can speculate diachronic change factors in serum, by monitoring diachronically binding capacities of drug binding sites on human serum albumin (HSA) and α_1 -acid glycoprotein (AGP) molecules in patient sera (add each site probe to each patient serum, and measure the free level of each probe by using TDX/FLX[®] analyzer and HPLC detector), and considering the binding capacities and values of HSA, AGP, free fatty acids, bilirubin (Bil) and blood urea nitrogen (BUN) associating with the amounts of uremic toxins laboratory tests. In addition, the diagnostic method could attempt effective administration by using the protein binding displacement of drugs that have a high protein binding capacity and small distribution volume, or high targeting (=the pharmaceutical skill of protein binding displacement). We have practiced pain control of patients with rheumatoid arthritis by the pharmaceutical skill. It is important for pharmacists to master the pharmaceutical skill in pharmacotherapy.

Key words—pharmaceutical skill; human serum albumin; α_1 - acid glycoprotein; protein binding displacement; binding site; diagnosis

1. はじめに

薬剤師のなすべきことは薬物治療において患者の苦しみを抜いて楽を与える(抜苦与楽)ことである。

^a九州保健福祉大学薬学部臨床薬学第二講座 (〒882-8508 延岡市吉野町 1714-1), ^b宮崎大学医学部整形外科 (〒889-1692 宮崎県宮崎郡清武町大字木原 5200), ^c金沢大学大学院医学系研究科保健学専攻 (〒920-0942 金沢市小立野 5-11-80), ^d埼玉医科大学臨床腫瘍科 (〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38), ^e宮崎大学医学部附属病院薬剤部 (〒889-1692 宮崎県宮崎郡清武町大字木原 5200)

*e-mail: noritotaka@phoenix.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 127 年会シンポジウム S47 で発表したものを中心に記述したものである。

そのためには薬学の研究成果(薬学サイエンス)の組み込まれた新たな技術(この技術をここでは仮に、医術と対比させて薬術とする)が薬剤師には必要となる。

これまでに、われわれはヒト血清アルブミン(HSA)及び α_1 -酸性糖タンパク質(AGP)分子上の種々の結合サイトの結合能をモニターし、HSA、AGP及び遊離脂肪酸などの臨床検査値を加味することで血清内の微視的变化を見い出すことができる薬学的分布診断法を開発している。われわれの薬術は、本診断によりタンパク結合阻害の経時的変化を見い出し、タンパク結合性の高い薬物の効果を高め

る術 (=タンパク結合置換術) である。

ここでは、本診断法の概要と本診断に基づき施行した薬剤師の臨床センスを生かした関節リウマチ (RA) 患者の疼痛緩和のための投与方法 (=タンパク結合置換術) を中心に述べる。

2. 薬学的分布診断法の概要

2-1. 原理 われわれが開発した薬学的分布診断法¹⁾とは、薬物の代謝能や腎輸送能の個体間の差異 (標準的な個体との差異) を見出す遺伝子診断とは異なり、1個体内 (各々の個体) の経時的な血清内の微視的変動とその要因を同時に見出すための手法である。本診断法は、血清内微環境の探索ができ、その結果を基に薬物投与タイミングも見出すことができることより、これまでに存在しなかったユニークな技術 (=薬術) である。

生体内における薬理効果の強弱は、標的組織への遊離形薬物の移行量に大きく依存する。その主要な調節因子の1つが血清タンパク結合である。Figure 1に示すように、吸収された薬物は、循環血液中に移行したのち、程度の差はあるものの様々な血清タンパク質と結合する。このような血清タンパク質の中で、薬物のタンパク結合を大きく左右するものに、HSA, AGP, γ -グロブリン及びリポタンパク質などがある。その中でも、酸性薬物と主に結合するHSA及び塩基性薬物と主に結合するAGPは特に重要となる。それぞれのタンパク分子上に、例えば、HSAではサイトI, II及びIIIの3個程度²⁾ (サイ

トIIIに分類される薬物は稀であるため、主にサイトIとIIの2個と考えてもよい)、AGPでは酸性及び塩基性薬物結合サイトが存在し、2つのサイトは大きくオーバーラップしているため1つのAGP薬物結合サイトが存在するとみなしてもよい (Fig. 2).³⁾ そして各々のサイトへの結合性は薬物によって大きく異なることが広く知られている。さらに、HSAには遊離脂肪酸 (FFA) の結合サイトが存在し、²⁾ FFAの増大によりFFAの第一結合サイト近傍のサイトII (FFAの第二結合サイトにほぼ相当) を阻害する。^{4,5)} 加えて、ビリルビン (Bil) や尿毒症物質に深く関連する尿素窒素 (BUN) による各結合サイトへの結合阻害も重要である (Fig. 2).⁵⁾ また、タンパク結合力が強く血中濃度が高い薬物^{6,7)} も各々の結合サイトを阻害することになる (Fig. 2)。もしFFAや結合阻害能を有する薬物等により特定の結合サイトが大きく阻害されれば、その結合サイトに結合していた薬物の遊離濃度は一時的に増加し薬効の増強を生じる可能性がある。このような場合は少ない投与量で薬効を最大限に引き出すタイミングを決定することが可能となってくる。したがって、HSA及びAGPの各結合サイトの薬物結合性を、結合サイト特異的な薬物 (サイトプローブ) を使ってモニタリングできれば、FFAなどの内因性物質や共存薬物の影響による薬物結合の経時変化を推定でき、投与设计に役立てることができる。そこで、われわれは、HSA分子上のサイ

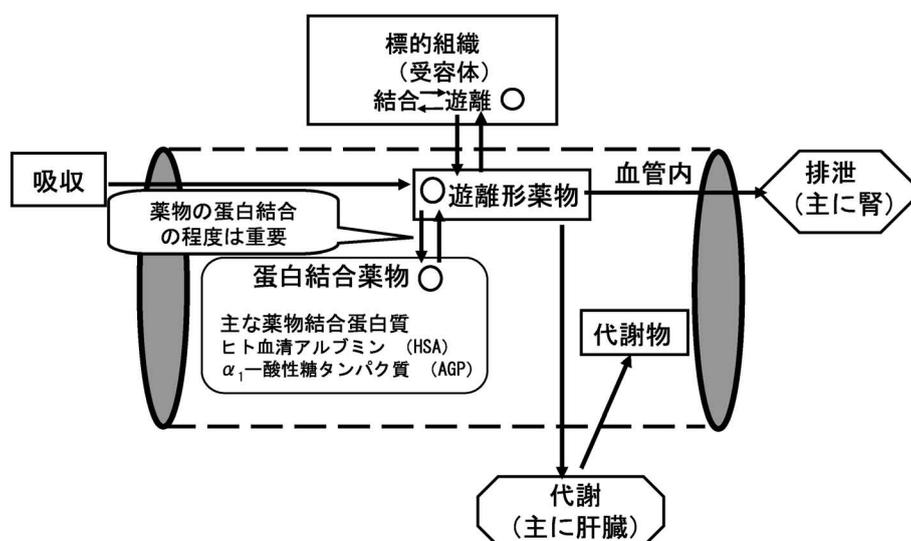


Fig. 1. ADME of Drug which Bind to Serum Proteins

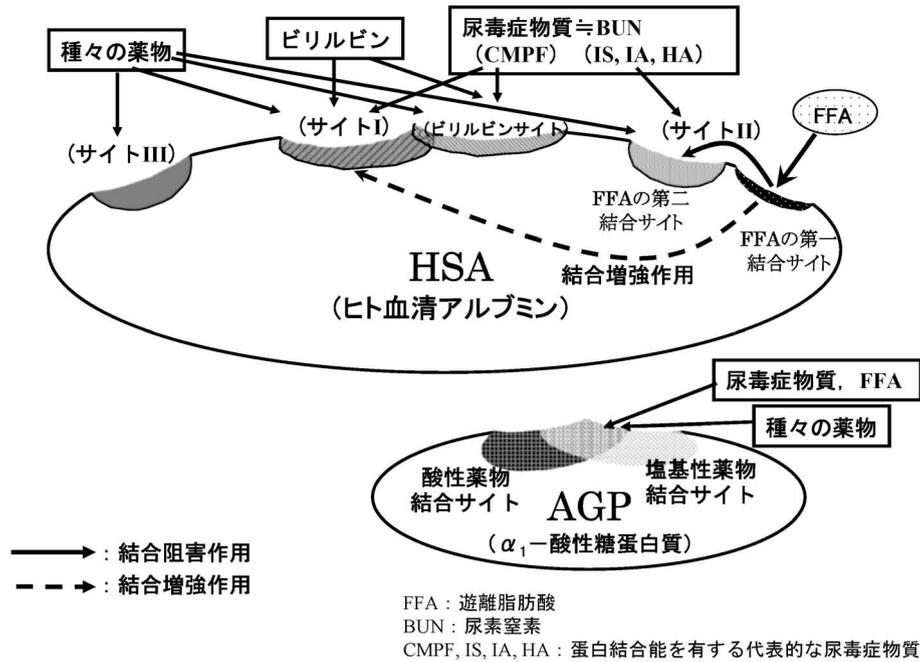


Fig. 2. Influence of Binding Factors on Protein Binding Capacities in Binding Sites

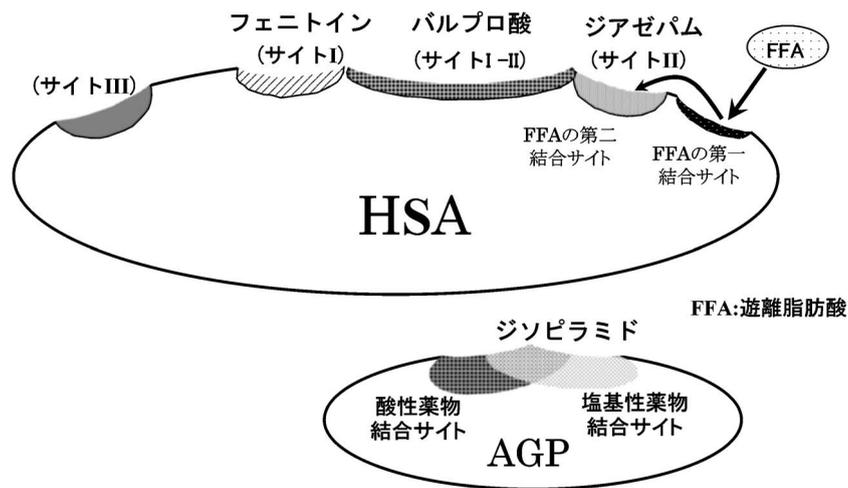


Fig. 3. Site Probes for Monitoring on Protein Binding Capacities in Binding Sites

Phenytoin, valproic acid and disopyramide can be assayed by TDX/FLX (fluorescence polarization immunoassay) analyzer. Diazepam is only measured by HPLC (Diazepam can not be measured by TDX/FLX® analyzer.).

ト I 領域のサイトプローブとしてフェニトイン, サイト I から II 領域 (バルプロ酸), サイト II 領域 (ジアゼパム), 及び AGP 分子上の全般的な薬物結合サイト領域 (ジソピラミド) を見い出している (Fig. 3) (フェニトイン, バルプロ酸及びジソピラミドをサイトプローブとして使用する第一の理由は, アボットジャパン社の自動血中濃度測定装置 TDX/FLX® でそれらの薬物の遊離濃度は簡便に測定できるからである). それぞれのサイトプローブ

を用いて各々の結合サイトの薬物結合性を評価し (評価はサイトプローブの遊離濃度より直接判断する), その評価と各結合サイトの結合能に影響を及ぼす HSA, AGP, FFA, BUN (尿毒症物質の量とほぼ相関する) 及び Bil 等の濃度を加味することで, それぞれの結合サイトの変動要因を見出し診断する方法を確立し, これを薬学的分布診断法と名付けている (本診断法は, HSA, AGP, FFA, BUN 及び Bil などの本来医学的な観点から見い出

された臨床検査値を薬学的に解釈するための方法でもある⁸⁾。本診断法の手順の概要については Fig. 4 に示す (本診断法には時間 T_1 と T_2 に採取した経時的な血清サンプル S_1 と S_2 を用いる)。

2-2. 診断とその基本的な考え方 本診断法を施行することで、タンパク結合を基準とした動態学的見地から、薬学的分布診断を下す。例えば、

- 1) HSA 量低下によるサイト I およびサイト II の結合低下状態
- 2) サイト II 結合阻害物 (内因性物質あるいは薬物) 存在によるサイト II の結合低下状態
- 3) HSA 量低下および FFA 増加によるサイト II の結合低下状態
- 4) 低 HSA 量におけるサイト II 結合阻害物存在増加 (内因性物質あるいは薬物) によるサイト II の結合低下状態

などである。本診断では、 T_1 時に比べ T_2 時のタンパク結合がどのような要因により結合状態が変化したかを示している。

ここで、ある RA 患者の診断例について説明する (Fig. 5)。本診断法においてサイト II に関連するサイトプローブであるジアゼパム及びバルプロ酸の遊離濃度が著しく増加している (バルプロ酸はサイト I と II 結合能の変動をモニターできるが、本症例の

場合、フェニトイン遊離濃度は S_1 と S_2 で差がなかったため、バルプロ酸遊離濃度の変動はサイト II 結合阻害による影響と判断できる)。この変動要因について順に考えると、まず、2つのサンプルの採取間隔は8時間弱であり、当然、短時間で生じているサイト II に関しての影響なので FFA の著しい増加を疑いたくなるが、FFA はほとんど変化がないので関連はない。その他の要因を考えてみると、この患者は重度の腎及び肝障害もないため BUN や Bil の蓄積は考慮しなくてよい。したがって、2つのサイトプローブ遊離濃度の増加は内因性物質によるものではない。このことから、可能性は低い服用薬物を疑いたくなる。処方調べてみるとサイト II の結合阻害能の高いナブメトン錠 (ナブメトンの活性代謝物である 6-メトキシ-2-ナフチル酢酸 (6MNA) の最高血中濃度到達時間約4時間) を昼食後に服用していた患者であることが判明した。また、本症例は HSA 濃度が健常人に比べ低下しているため、内因性物質や薬物濃度の変動により各結合サイトの結合能は影響を受け易くなっていると考えられる。ここでの診断名は“低 HSA 量におけるサイト II 結合阻害物 6MNA 存在増加によるサイト II の結合低下状態”となる。この患者の HSA は 3.1 g/dl 前後であることより軽度の低栄養状態であると考えられ

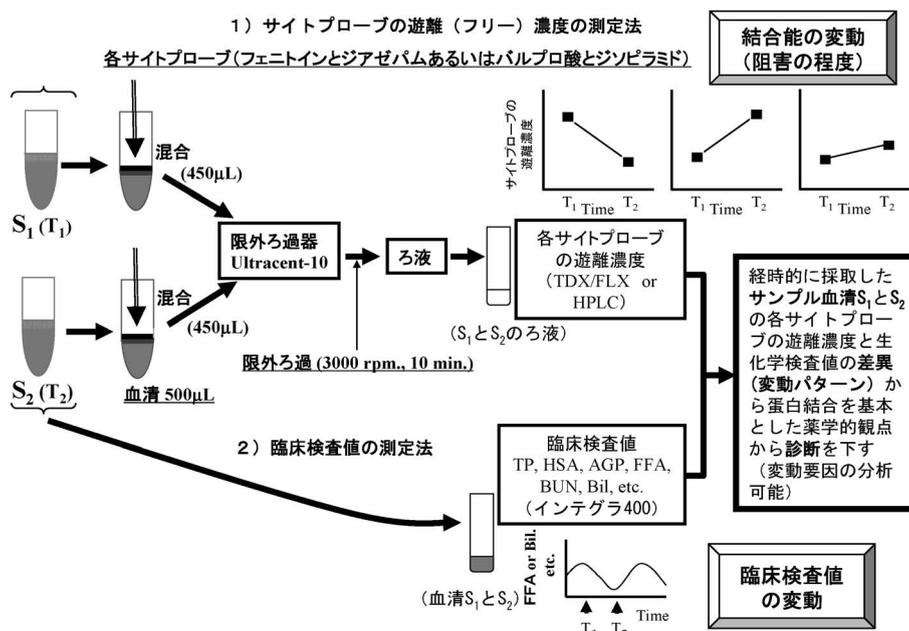


Fig. 4. Outline of a New Diagnostic Method of Protein Binding Monitoring on Binding Sites of HSA and AGP by Using Site Probes *In vitro* (=A new pharmaceutical distribution diagnostic method)

サイトプローブ・臨床検査 月日・時刻	遊離 フェニトイン (サイト I) μg/ml	遊離 バルプロ酸 (サイト I-II) μg/ml	遊離 ジアゼパム (サイト II) μM	遊離 ジシプラミド (AGP薬物結合 サイト) μg/ml	TP g/dl	HSA g/dl	AGP mg/dl	FFA μEq/L (=μM)
8/1 10:00 (T ₁)	6.06	14.48	0.71	1.14	5.31	3.08	0.118	159
8/1 17:50 (T ₂)	6.14	17.50	1.24	1.14	5.46	3.11	0.118	161

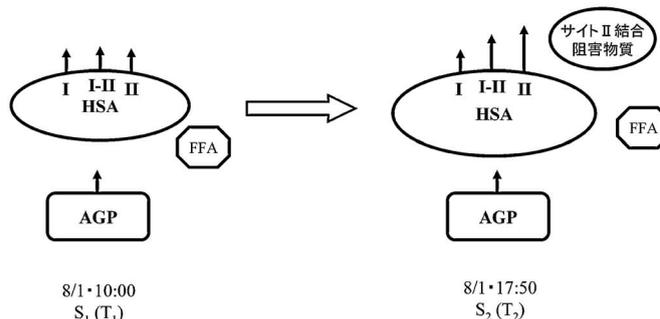


Fig. 5. Data and Its Scheme of a New Pharmaceutical Distribution Diagnostic Method
Each length of arrow in each binding site represents degree of binding inhibition, each length of arrow of S₁ in each binding site is standard.

る。⁹⁾ さらに、本症例以外について説明を加えると、AGPの急激な増加がみられる症例がある。AGPはCRPと同様に感染・炎症の指標となることより、¹⁰⁾ 感染・炎症が悪化したことが強く疑われる。また、血液透析施行中の短い時間（4時間程度）でのHSAの上昇が観察された場合は循環血液量の急激な低下を示しており、血圧低下や体内からの除水の程度を推察するための指標となる（透析時の重大な問題として急激な血圧低下や過度の除水が挙げられる）。このことから、本診断法は薬学的観点からのバイタルチェックに活用できる。

このように本診断法を用いれば血清内を探索できるのである。これらの診断を基に、投与時期や投与量を決定し、あるいは併用薬剤を変更したりして、患者にとって安全かつ有効な投与設計を企図することが重要である。われわれは、本診断法により積極的に絶妙な投与タイミングを見出し、現段階より、ベター・ベストな投与設計を行うことを“タンパク結合置換術”と称している。

3. 薬学的分布診断法の治療への応用例（タンパク結合置換術）

3-1. RA患者の疼痛緩和を目的とした本診断と攻めの投与方法について RA患者の疼痛緩和には、一般に非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）の投与が連日行われる。この投与は一生涯に渡る場合が多い。痛みの激しい患者さんには、内服薬及び坐

剤の、両方のNSAIDが併用される。特に坐剤は効き目も鋭いことから、痛みの増強に対し、増量して投与されるのが現状である。しかしながら、坐剤の高用量長期投与は、肝・腎障害等の副作用発現につながる可能性が高くなっていく。したがって、薬学的分布診断法により、安全かつ有効な攻めの投与タイミングを見出し、痛みと副作用を同時に解決せねばならない。

一般に、ジクロフェナクを代表とするNSAIDの坐剤は直腸より吸収され直接血中へ入るため短時間で最高血中濃度に到達するが、HSAのサイトIIに強く結合し、分布容積も小さいために、血管内に留まることとなり、薬効が抑えられる傾向にある。しかしながら、そのサイトの結合が一時的にでも阻害されると、炎症部位への組織移行性が増大し、薬効も高まると予想される。そこで、このようなジクロフェナクの特性を生かすために、薬学的分布診断により最適な投与タイミングを割り出すことで、ジクロフェナク坐剤の減量投与や投与回数の低減も可能となっていく。特に、坐剤の投与間隔の延長は、内服のNSAIDのみでコントロールできる期間の延長につながり、坐剤の投与を自らできない患者における心理的負担を回避でき（医療スタッフからの坐剤の投与を苦痛と感じる患者は多い）、医療者や家族の負担も軽減できることになる（坐剤の投与は内服に比べかなり手間が掛かる）。

このような、薬学的分布診断を基にしたベター・ベストな投与方法として、われわれは現在2つの投与方法を考案し施行している (Fig. 6).

投与方法1) ジクロフェナク坐剤-FFA療法^{1,11)} FFAの増大はサイトIIとの結合を競合的に阻害する。したがって、HSA値が低く、かつFFA値が高い場合にはサイトIIの結合阻害が可能となり、ジクロフェナク坐剤の薬効が増大する場合がある。一般に、FFAは空腹時に上昇してくるため、¹²⁾ 間食を制限することでサイトIIの結合阻害のタイミングを作り出せる (薬剤師の指導により患者体内のFFAを操ることができる)。そこに、ジクロフェナク坐剤の投与時間を合わせることで薬効の増大を企図できる。病態の悪化が進行している場合はHSA値が著しく低下することが多いため、本療法は有効である。

投与方法2) ジクロフェナク坐剤-ナブメトン (レリフェン[®]) 錠療法^{1,11)} HSA値が4 g/dl以上の場合には、本投与方法を視野に入れることも重要である。持続性NSAIDのナブメトン錠を併用すると、ナブメトンの活性代謝物である6MNAは、HSAのサイトIIに強く結合し、しかも高濃度を長時間に渡り保つことが可能なため、強力なサイトII結合阻害薬として使用できる。一般的に痛みの強いRA患者では、坐剤及び内服のNSAIDが併用されているが、内服のNSAIDをナブメトン錠に変更するだけで、処方構成は同じで、坐剤の低減が期待できる。

本診断法は投与方法1及び2を施行する前後に行

い、その診断から結合阻害の要因、時期や程度を把握し投与タイミング及び投与量を決定する。また、本診断はその投与方法の妥当性を確認でき、その投与方法の再考にも利用できる特徴を有する。このような投与方法を行う場合、われわれは担当医師等と協議し、患者に詳しく薬物投与方針を説明している。

3-2. 本診断に基づく攻めの投与方法の症例 ジクロフェナク坐剤 (ボルタレンサポ) の減量に成功した症例^{1,11)}を紹介する (ここでは、NSAID以外の処方薬の記載は省く)。

症例1) 68歳、女性 (入院)、変形性膝関節症 (左膝人工関節置換術)、RA

経過: ジクロフェナク坐剤 (ボルタレンサポ (50 mg)) 2個、2×を朝食後及び夕食前 (分食による間食あり) に使用していたが痛みは増強してきた。さらに、ジクロフェナク坐剤の副作用に対し患者の不安が増していた。

薬学的診断: 低HSA量におけるFFA増加によるサイトII結合低下状態

診断による投与方針: 診断によりFFAによる結合阻害が大きいことが判明した。したがって、投与方法1を選択した。起床時から朝食前であれば当然FFAは上昇し、昼食後から夕食までに間食をさせないこと (間食中止に関しては薬剤師の指導が重要) で夕食前はFFAが上昇する。このことから、ジクロフェナク坐剤 (25 mg) 1個1×朝食30分前、及びジクロフェナク坐剤 (25 mg) 1個1×夕食前に

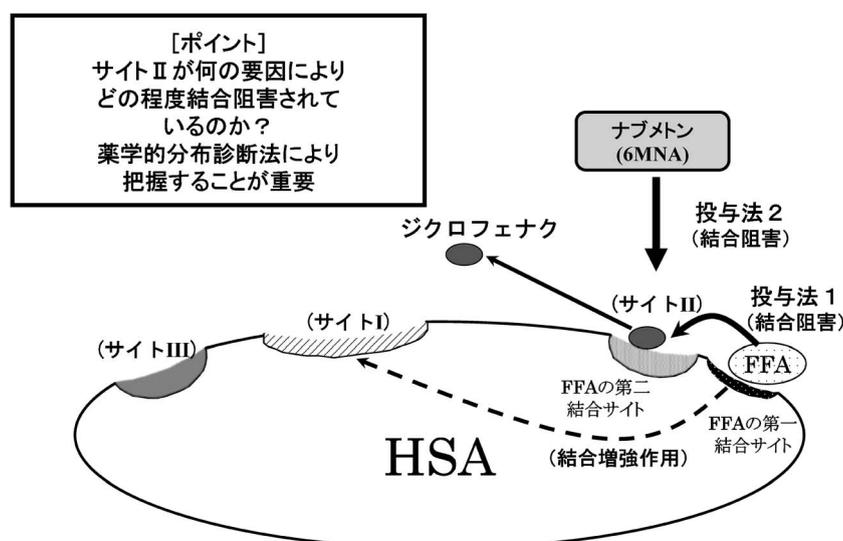


Fig. 6. Binding Inhibitory Mechanism of Site II on HSA by FFA and 6MNA

減量する方針をたてた。

結果：ジクロフェナク坐剤（50）2個，2×からジクロフェナク坐剤（25）2個，2×へ減量したにも係わらず，疼痛コントロールは可能となる（膝痛：FS6→FS2，リウマチ熱：FS10→FS6→FS2）（FSはface scaleの略）。この減量により，患者は副作用回避も実感できた。

症例2）47歳，女性（外来），RA

経過：エトドラク錠（NSAID）2T，2×朝夕食後とジクロフェナク坐剤（25）1個1×起床時，併用していたが痛みは増大し疼痛コントロールが不良となる。そこで，外来患者のため確実性の高い投与方法2（ナブメトン錠2T，1×夕食後に投与し，ジクロフェナク坐剤1個1×起床時に投与）を開始した。

薬学的診断：低HSA量におけるサイトII結合阻害物（ナブメトンの代謝活性物質6MNA）存在によるサイトII結合低下状態

診断による投与方法：診断により，サイトIIの結合阻害効果はナブメトン錠服用の方がエトドラク錠服用よりも著しく大きいことが判明した。したがって，投与方法2を継続することに決定した（ナブメトン錠を夕食後に投与することで6MNAによるサイトII結合阻害効力は起床時まで十分持続している。さらに起床時は空腹であるためFFAの増加も利用できる。このケースは投与方法1+投与方法2となっている。）。

結果：投与方法2を施行1週間後に，ジクロフェナク坐剤の投与は不必要となりナブメトン錠2T，1×夕食後のみの服用で疼痛コントロール可能となる（開始時：ジクロフェナク坐薬を投与するとFS8→FS4.5，1週間後：終日FS4）。坐剤の投与は家族により施行されていたため，坐剤の中止は本人の心的苦痛を取り除くことにもなった。

症例中に記載したFSの鎮痛効果の指標は後述の通りである。0：全く痛みがない，2：ほとんど痛みがなくかなり快適な状態，4：軽度の痛みがあり少し辛い，6：中程度の痛みがあり辛い，8：かなり痛みがありとても辛い，10：耐えられないほど強い痛みがある。これまでわれわれの経験では，FSを常に5以下にできれば疼痛コントロールは良好であると考えている。

4. おわりに

現在，高度な学問分野として位置する遺伝子レベルにおいて，薬物の代謝酵素や腎輸送系タンパクの個体差を把握し，それにより適切な投与設計を施行しようとする研究が進められているが，いまだ完成には至っていない。われわれは遺伝子レベルの高度な基礎研究から薬剤師の技術をみつめるのではなく，もっと身近で簡単なタンパク結合の研究から薬剤師の技術を完成させようと全力で取り組んできた。そこから生まれた薬学的分布診断法とその診断に基づく投与方法（タンパク結合置換術：薬剤師の臨床センスの投入された術）を24時間ベッドサイドで戦う薬剤師のための薬術として定着させたいと願っている。

REFERENCES

- 1) Takamura N., Arimori K., Chosa E., *Farumashia*, **39**, 956-960 (2003).
- 2) Fehske K. J., Muller W. E., Wollert U., *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 687-692 (1981).
- 3) Otagiri M., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **20**, 309-323 (2005).
- 4) Sakai T., Maruyama T., Imamura H., Shimada H., Otagiri M., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **278**, 786-792 (1996).
- 5) Takamura N., Maruyama T., Otagiri M., *Clin. Chem.*, **43**, 2274-2280 (1997).
- 6) O'Reilly R. A., Goulart D. A., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **219**, 691-694 (1981).
- 7) Takamura N., Maruyama T., Chosa E., Kawai K., Tsutsumi Y., Uryu Y., Yamasaki K., Deguchi T., Otagiri M., *Drug Metab. Dispos.*, **33**, 596-602 (2005).
- 8) Takamura N., Tokunaga J., Arimori K., *Yakugaku Zasshi*, **127**, 231-236 (2007).
- 9) Blackburn G. L., Bistran B. R., Maini B. S., *J. Parenter. Enteral Nutr.*, **1**, 11-22 (1977).
- 10) Kremer J. M., Wilting J., Janssen L. H., *Pharmacol. Rev.*, **40**, 1-47 (1988).
- 11) Arimori K., Takamura N., *Kyushu Pharm. Bull.*, **57**, 19-27 (2003).
- 12) Wolever T. M., Bentum-Williams A., Jenkins D. J., *Diabetes Case*, **18**, 962-970 (1995).