

日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2010における 「有機アニオントランスポータOAT1とOAT3に対する シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の影響」の演題発表に関する報告書

本庄 宏旭

平成22年11月28日、静岡県立大学で行われた日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2010において、「有機アニオントランスポータOAT1とOAT3に対するシクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の影響」の演題発表を行った。静岡県立大学へは名古屋駅から静岡駅まで新幹線を利用し、JR在来線に乗り換え最寄りの駅まで移動した後、徒歩で会場まで向かった。

発表内容

目的

今日、methotrexateはリウマチ、白血病や悪性腫瘍などの様々な疾患に用いられている。Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) との併用によりmethotrexateの血中濃度上昇に伴う有害事象が発症したことが、1986年、Thyssらによって報告された (Lancet 327: 256-258, 1986)。これまでにmethotrexateの消失経路が分子レベルで明らかになり、有機アニオントランスポータOAT1やOAT3などを介し尿細管分泌されると考えられている。さらにNSAIDsがOAT1やOAT3を強く阻害することも示されており、OAT1とOAT3はmethotrexateとNSAIDsの相互作用に関与すると考えられている。近年、NSAIDに代わり、シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬が用いられる機会が多くなっているが、シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬と有機アニオントランスポータの相互作用に関連する報告は少ないのが現状である。そこで本研究はシクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬が有機アニオントランスポータOAT1、OAT3に及ぼす影響について検討するため、アフリカツメガエル卵母細胞を用いた薬物輸送実験を行った。

方法

まず、ヒトOAT1とヒトOAT3のcDNAを含むpBK-CMVベクターを制限酵素Xba Iで処理し、T3 RNA PolymeraseとインキュベーションすることによってそれぞれのOATのcRNAを合成した。次にアフリカツメガエル卵母細胞

にOATのRNAを注入し、2~3日間培養することによって、OAT1とOAT3の発現卵母細胞を構築した。卵母細胞を³Hメトトレキサート及び³Hエストロン硫酸とシクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬を含む緩衝液中で一定時間、インキュベートした後、卵母細胞中の放射活性を測定することによりOAT1とOAT3の機能を評価した。

結果1

最初にOAT1によるメトトレキサート取り込みに及ぼす種々シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の影響について検討した (図1)。水を注入した卵母細胞と比べ、OAT1発現卵母細胞によるメトトレキサートの取り込みは高く、OAT1によるメトトレキサートの輸送が認められた。セレコキシブ、エトリコキシブを併用してもOAT1によるメトトレキサートの取り込み量の変化は見られなかった。更にロフェコキシブやバルデコキシブの影響も観察されなかった。従って、OAT1によるメトトレキサートの輸送はシクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の影響を受けないことが判明した。

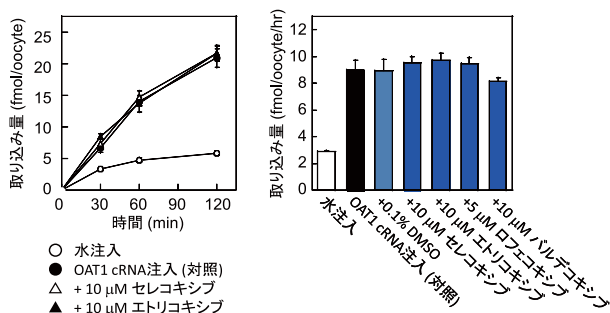


図1. OAT1によるメトトレキサート取り込みに及ぼす種々シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の影響

結果2

次にOAT3によるメトトレキサート取り込みに及ぼす種々シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の影響につ

いて解析した (図2)。OAT3発現卵母細胞によるメトトレキサートの取り込みは水注入卵母細胞と比べ、時間依存的に増加した。セレコキシブの影響は見られなかったものの、エトリコキシブはOAT3によるメトトレキサート取り込みを阻害した。またロフェコキシブ、バルデコキシブによる有意な阻害効果が認められた。従って、エトリコキシブ、ロフェコキシブおよびバルデコキシブはOAT3を阻害することが明らかになった。

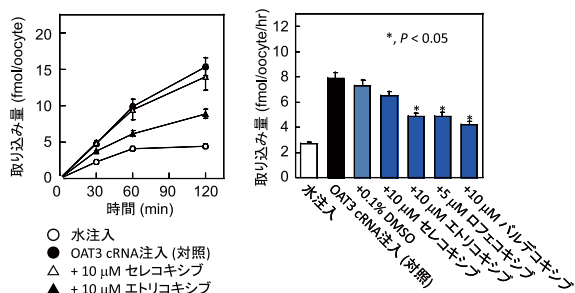


図2. OAT3によるメトトレキサート取り込みに及ぼす種々シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の影響

結果3

OAT3に対するシクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の親和性を調べるため、OAT3によるエストロン硫酸取り込みに及ぼす種々シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の用量依存的影響について解析した。エトリコキシブ、ロフェコキシブおよびバルデコキシブでは、OAT3に対する用量依存的な阻害効果が認められ、エトリコキシブとバルデコキシブの50%阻害濃度はそれぞれ9.75μMと3.49μMと算出された。

結果4

最後にエトリコキシブの阻害様式を明らかにするため、Eadie-Hofsteeプロット解析を行った。OAT3を介したエストロン硫酸の取り込みは、その濃度に依存して上昇し、エトリコキシブの共存によりその取り込みは低下した。OAT3によるエストロン硫酸の輸送に関するEadie-Hofsteeプロットは、エトリコキシブの併用によって、傾きに変化が認められたが、y軸切片への影響は観察されなかった。従って、エトリコキシブはOAT3を競合的に阻害することが示された。

結論

以上、OAT1に対して種々シクロオキシゲナーゼ-2選択的阻害薬の阻害効果は認められなかった。一方、OAT3に対する阻害効果はエトリコキシブ、バルデコキシブ及びロフェコキシブにおいて観察され、エトリコキシブはOAT3を競合的に阻害することが判明した。エトリ

コキシブの臨床上起こりうる血中濃度は最大1μMであり、OAT3に対する50%阻害濃度と比較した場合、その適正使用によってエトリコキシブがOAT3を強く阻害する可能性は低いと考えられた。

以下には、質疑応答の際になされた質問とその返答を記した。

質問1：メトトレキサートの尿細管分泌においてOAT3の寄与はどの程度か。

返答1：OAT3の寄与率は高いことが報告されているが、本研究ではOAT1によるメトトレキサートの輸送量はOAT3と匹敵していることが示されたので、今後、OAT1の関与について調査していきたいと考えています。

質問2：エトリコキシブはOATにより輸送されるか。

返答2：エトリコキシブは代謝によって消失することが示されています。これまでの検討から代謝される薬物の多くは、OATによって輸送されないもので、エトリコキシブも輸送されないのではないかと推察しています。