

博士論文

速度論パラメータの演繹的補正による腹膜透析時の
薬物動態予測に関する基礎的研究

平成 26 年 3 月

堀内 瑞樹

岡山大学大学院
医歯薬学総合研究科
博士後期課程 創薬生命科学専攻

目 次

要約	1
緒言	4
第 1 章 急性腎不全 (ARF) ラットの作製とモデル薬物の蛋白結合	13
1.1 ARF ラットに関する背景	13
1.2 グリセリン筋注法による ARF ラットの作製	15
1.3 モデル薬物の血漿中蛋白結合測定	16
1.4 考察	17
第 2 章 腹膜透析時薬物動態モデル (<i>PD</i> -PK model) の構築と検証	18
2.1 腹膜透析コンパートメントの速度論的な帰属	18
2.2 <i>PD</i> -PK model の構築	21
2.3 非線形最小二乗法による解析と <i>PD</i> -PK model の妥当性	22
2.4 考察	24
第 3 章 演繹的補正 <i>PD</i> -PK model (<i>dedPD</i> -PK model) の構築	26
3.1 <i>dedPD</i> -PK model の構築	27
3.2 モデル薬物の物性と薬物動態特性	29
3.3 <i>dedPD</i> -PK model の臨床応用性	32
第 4 章 <i>dedPD</i> -PK model の検証	33
4.1 トルブタミドの血漿中及び腹膜透析液中濃度推移の検証	33
4.2 プロプラノロールの血漿中及び腹膜透析液中濃度推移の検証	39
4.3 セファゾリンの血漿中及び腹膜透析液中濃度推移の検証	45
4.4 リチウムの血漿中及び腹膜透析液中濃度推移の検証	51
4.5 考察	57
4.6 本章の総括	62

第 5 章 <i>dedPD</i> -PK model の個別化予測への応用	64
5.1 個別化予測の検証.....	64
5.2 考察.....	69
総括.....	72
実験の部	74
参考文献	80
謝辞.....	87

要 約

日本では約 300,000 人の患者が透析療法を受けており、そのうち約 10,000 人に腹膜透析が施行されている。しかし、腹膜透析時の薬物動態に関する情報は十分ではない。腹膜透析患者に対する薬物療法では、慢性腎不全及び慢性腎不全の原因となった基礎疾患に加えて腹膜透析液への薬物移行に由来する薬物の体内動態への影響が予想されるが、この影響に関する情報は充分とは言えない。通常、医薬品の開発段階では、腹膜透析を施行していない状況下での薬物動態情報が得られており、市販時に医薬品添付文書あるいはインタビューフォームに掲載されている。これらの事前情報から、腹膜透析時の薬物動態が予測できれば、腹膜透析患者に対する薬物投与計画を設計する上で非常に有益である。本研究では、腹膜透析時の薬物動態モデルを構築し、このモデルに組み込む薬物動態パラメータとして、通常の医薬品情報として入手可能な当該医薬品の腹膜透析を行っていない時の薬物動態情報をもとに、対象薬物の血漿蛋白非結合率及び透析液量によるこれら薬物動態パラメータの演繹的補正による腹膜透析施行時の薬物動態変化の予測という概念を提唱し、その基礎的な有用性について、実験動物としてラットを用い薬物速度論的な検討を行った。臨床における腹膜透析患者の薬物投与設計支援ツールとしての本手法による予測の有用性に関する基礎的情報として以下の知見を得た。

腹膜透析施行ラットにモデル薬物を静脈内投与した時の血漿中薬物濃度推移は 2 相性を示し、2-コンパートメントモデル解析で推定される末梢コンパートメント中の薬物濃度と透析液中の薬物濃度の比がほぼ一定であった。従って、透析液は速度論的に末梢コンパートメントに帰属することが示唆された。そこで、2-コンパートメントモデルに腹膜透析液の注入に由来する論理的な修正を加えた腹膜透析時薬物動態モデル (Peritoneal Dialysis-Pharmacokinetic model : *PD*-PK model) を構築した。

PD-PK model について、さらに、腎不全時の薬物の腹膜透析液中への移行に関する薬物動態 (PK) パラメータの演繹的な補正因子として腹膜透析液量及び病態時に全身クリアランスに影響を与える血漿中蛋白非結合率を組み込んだ

新たなモデル (Deductive Peritoneal Dialysis-Pharmacokinetic model : *dedPD*-PK model) を構築した。

正常ラットと急性腎不全 (Acute renal failure : ARF) ラットにおける非透析時の血漿中薬物濃度推移から得た PK パラメータを腹膜透析液量及び血漿中蛋白非結合率を用いて演繹的に補正し、*dedPD*-PK model に組み込み、腹膜透析施行時の薬物動態の予測を試み、実測値との比較を行った。4 つのモデル薬物 (トルブタミド、プロプラノロール、セファゾリン、塩化リチウム) で検証を行い、以下の知見を得た。

- ・ 全身作用の指標となる血漿中薬物濃度の予測精度は、全てのモデル薬物で良好であった。
- ・ 受動拡散によって血漿中から透析液中に移行する薬物の透析液中薬物濃度の予測精度は良好であった (トルブタミド、プロプラノロール)。
- ・ ARF時に蛋白結合率が低下し、透析液への移行が増加する薬物動態が良好に予測できた (トルブタミド)。
- ・ トランスポーターの基質になる薬物では、ARF時における透析液中濃度の予測精度が低下する可能性が示唆された (セファゾリン)。
- ・ リチウムに関しては、今回構築した *PD*-PK modelでは薬物の透析液中への移行動態を十分に記述できなかった。

さらに、腹膜透析時の薬物濃度推移の個別化予測を試みるために、トルブタミドについて演繹的な補正因子として個体ごとの腹膜透析液量及び血漿中蛋白非結合率をモデルに組み込み、実測値との比較を試みた。実施した4例のいずれの個体においても血漿中及び透析液中の予測は良好であった。従って、本予測法を臨床に応用した際にも、個々の患者の蛋白結合率変動を薬物動態パラメータの演繹的補正に反映することにより個別化予測が可能であることが示唆された。同時に、体内動態にトランスポーターが関与する薬物では、本研究で着目した個々の個体での薬物の血漿中蛋白非結合率の変化だけでなく、腎不全時のトランスポーターによる輸送能の変化などの寄与を補正に組み込むことについて検討する必要があることが示唆された。

本研究により得られた *dedPD*-PK model による予測の利点は、以下の通りである。

- ・ 腹膜透析患者での使用頻度が高いと推定される薬物で検証を行ったところいずれの薬物でも血漿中の薬物動態は精度よく予測ができたことから全身的な薬効に関する投与設計への本予測法を適用は極めて有用と考えられる。
- ・ 患者ごとの蛋白結合率の測定により個別化投与設計が可能であり、臨床での患者ごとの多様な病態像（薬物動態変化）にも対応できると考えられる。
- ・ 母集団薬物動態（Population Pharmacokinetics : PPK）解析と比較して、大規模なデータ収集が不要であること及び構築したモデルによる予測結果の差が小さいことが挙げられる。

以上の知見は、腹膜透析患者の薬物投与設計を立案する上で有益な基礎的情報と考える。

緒 言

背景

日本透析医学会の 2012 年末の調査によれば、日本では約 300,000 人の患者が透析治療を受けており、そのほとんどは血液透析（Hemodialysis : HD）であるが、約 10,000 人に腹膜透析（Peritoneal dialysis : PD）が施行されている¹⁾。しかし、腹膜透析時の薬物の体内動態に関する情報は十分ではなく、添付文書及びインタビューフォームに薬物投与設計の面で参考とすべき投与量調整等に関して何らかの記載がある薬剤は極めて少ない。本研究では、腹膜透析に焦点をあて、腹膜透析を行っていない時の体内動態情報をもとに、体内動態パラメータの演繹的補正による腹膜透析施行時における薬物の体内動態予測の有用性について薬物速度論的な基礎的検討を行い、本手法が将来的に臨床現場での腹膜透析患者の薬物治療設計の一助となることを期待した。

慢性腎臓病の病態と生理

日本腎臓学会によれば、慢性腎臓病とは、蛋白尿などの腎臓の障害又は糸球体ろ過速度（Glomerular filtration rate : GFR）の低下などの腎機能低下が 3 ヶ月以上持続するものと定義されている²⁾。

腎不全（Renal failure）とは、一般に腎機能が正常時の 30%を下回った状態を指し、大きく急性腎不全（Acute renal failure : ARF）と慢性腎不全（Chronic renal failure : CRF）に分類される³⁾。急性腎不全が可逆性であるのに対して、慢性腎不全は不可逆性である³⁾。また、慢性腎不全のうち腎機能が正常時の 10%以下となった場合は腎臓移植や透析療法が必要となる²⁾。

慢性腎不全は、様々な慢性腎疾患により発した病態であり、腎の構成成分であるネフロン数の減少による腎機能の低下を示し、軽快することなく時間経過とともに進行する。臨床的には GFR の低下、組織的にはネフロンの減少によって特徴付けられる。ネフロンの減少は GFR の低下とともに腎血流量の低下を引き起こし、尿濃縮・希釈能、電解質酸塩基調節能、レニン-アルドステロン系調節能、プロスタグランジン産生能、エリスロポエチン産生能、ビタミン D 産生能など、腎臓が有するあらゆる調節機能が低下した状態を招く。検査値

では GFR が 30 mL/min 以下の状態又は血清クレアチニン値が 2~3 mg/dL 以上が腎不全と定義されるが、GFR の低下にかかわらず、何らかの腎機能低下が確認された状態についても広義に腎不全と解釈される³⁾。腎機能低下の進行を最小限にとどめるために原因疾患の治療が重要であり、腎機能を悪化させる因子を避けることが必要である。原因疾患として、慢性糸球体腎炎、全身性エリテマトーデスなどの膠原病、糖尿病、通風、アミロイドーシスなどの代謝性疾患、高血圧、間質性腎炎などの尿細管疾患、慢性腎盂腎炎などの感染症、多発性嚢胞腎などの先天性疾患、多発性骨髄腫などの血液疾患、抗生物質や消炎鎮痛薬などの各種薬剤による副作用、泌尿器科的疾患が挙げられる。

慢性腎不全では、尿毒症物質、水、ナトリウムの貯留、電解質の異常などにより次のような全身にわたる症状が発現する³⁾。

1) 呼吸器・循環器症状

水、ナトリウムの貯留により、心不全、肺浮腫を起こし、労作時呼吸困難、全身浮腫を自覚することがある。糖尿病性腎症では、血清クレアチニン値の割には心不全、肺浮腫を伴うことが他の原因疾患よりも多い。高血圧、心嚢液貯留などにも留意する必要がある。体重の推移、血圧のコントロール、胸部X線での心胸郭比の確認、胸水の有無の確認、心臓超音波検査での心機能の評価、心嚢液の有無の確認が必要である。

2) 消化器症状

食欲不振、悪心、嘔吐などを自覚することがある。胃炎、胃潰瘍の合併や消化管出血にも留意する。

3) 電解質異常

カリウム、マグネシウムの排泄障害及び活性型ビタミンDの低下、リンの排泄障害により、高カリウム、高マグネシウム、高リン、低カルシウム血症を呈する。高カリウム血症では不整脈、心電図異常を示すことがあり、高リン、低カルシウム血症を長く放置すると、2次性副甲状腺機能亢進症をきたし、線維性骨炎の原因となる。

4) 貧血

慢性腎不全ではエリスロポエチン産生低下による貧血が認められる。

5) 神経症状

尿毒症物質の蓄積により、中枢性及び末梢性神経症状をきたす。

6) 免疫

免疫機能は低下しており、感染症、悪性腫瘍の合併に留意すべきである。

腎不全患者に対する臨床的措置

腎機能が低下すると、本来腎臓から排泄されるべき老廃物、水分、塩分等が体内に蓄積する。慢性腎不全の根本的な治療は、腎移植以外はない。排泄されるべき物質を腎臓に代わって除去するのが、血液透析及び腹膜透析といった透析療法である。両透析とも慢性腎不全の対症療法として施行される。

日本で透析施行中の患者では、慢性腎不全の原因第1位は慢性糸球体腎炎である。しかし、1998年以降の1年ごとの新規透析導入患者の推移では、慢性腎不全の原因第1位は糖尿病性腎症となっている¹⁾。

血液透析はダイアライザーと呼ばれる透析器（人工の膜）を利用し、腹膜透析は体内の腹腔と腹膜を利用する。どちらの原理も基本的には同じで、半透膜の性質を利用して血液中から老廃物を除去し、逆にカルシウムや酢酸塩といった必要な物質を血液中に供給することにより腎機能の代行をさせるものである⁴⁾。腹膜透析は、腹膜で囲まれた腹腔内に一定量の透析液を注入し、一定時間貯留している間に腹膜を介して血液中の老廃物や水分を透析液に移行させた後、腹腔から除去し新しい液と交換する操作を反復し、血液を浄化する方法である⁴⁾ (Fig. 1)。

諸外国の中には、イギリスのように腹膜透析が透析全体の4割を占める国もあり、各国の医療事情によりその割合は大きく異なる¹⁾。日本では1980年頃から腹膜透析の臨床試験が始まり、最も普及している腹膜透析は連続携帯式腹膜透析（Continuous ambulatory peritoneal dialysis : CAPD）と呼ばれる腹膜を利用して24時間連続して透析を行う治療であり、生体腎の働きに近い治療法とされている⁵⁻⁶⁾。この他に、自動腹膜透析（Automated peritoneal dialysis : APD）も普及しており、夜間就寝中に集中して透析を行うことにより、日中は透析なしの生活を送ることができるものである。腹膜透析は、血液透析と異なり在宅での透析が可能なことから週に何回も病院に行く必要はなく、

患者の QOL 向上にもつながる。腹膜透析は血液透析と比べて水分、塩分、カリウム等の食事制限が緩やかであるが、透析液中には浸透圧調節のためにグルコースが含まれているものもあり、これらの糖分が血液中に移行するため、カロリーについては特に注意が必要となる⁷⁾。また、血液透析と比べて食事制限が緩やかであり正常に近い成長が得られること、シャントや穿刺不要であること、時間の拘束が少ない等の理由から、小児の透析対象患者では腹膜透析を選択する割合が約 70% と高くなっている¹⁻²⁾。

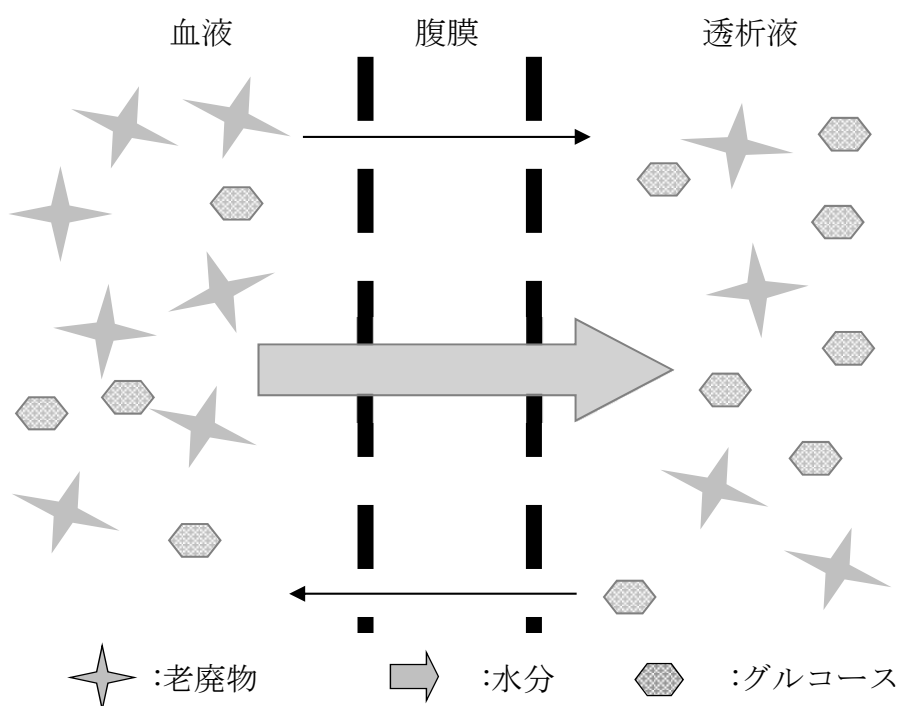


Fig. 1 腹膜透析の原理⁴⁾

腹膜の生理と物質移動

腹膜の毛細血管は腹膜の輸送の重要な障壁であり、水分と水溶性物質は3つの異なる大きさの孔を通じて輸送行われている⁴⁾。

- ・ 極小の孔 (細胞間隙) Ultra pore (transcellular pore)
半径は 0.8 nm 以下であり、水だけが通過する。
- ・ 小孔 Small pore
半径は 4~6 nm であり、内皮間の間隙といわれている。非常に多数存在し、

尿素、クレアチニン、ナトリウム、カリウムなどが通過する。

・大孔 Large pore

半径は 20~40 nm であり、蛋白のような大分子物質が通過する。

低分子の溶質ほど、容易に腹膜を通過することができる。アルブミンなどの高分子も腹膜を通過できるがその量は少ない。

腹膜透析施行時には拡散による物質の移動に加え、高張な透析液によって起こる限外ろ過によって移動する物質も存在する。この時、水分除去のために透析液中にグルコースが含まれている場合は、透析液から血液中に移動する。最近では、このグルコースの移動が慢性腎不全患者への過剰な糖分負荷として問題となっていることから浸透圧調節のためにグルコースの代わりにイコデキストリンを使った製剤も発売されるようになった。さらに、透析液中には乳酸が含まれており、乳酸に長期間暴露することにより腹膜機能が低下することから乳酸塩の濃度を低くした上で重炭酸塩を含んだ製剤も発売されている。また、腎不全時には CMPF (3-Carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate) を始めとする尿毒症物質 (Uremic toxin) が体内に蓄積するが、これらも腹膜透析によって除去される⁸⁻¹¹⁾。

上述した生理的背景から、腎不全時の病態や体内環境により、腹膜透析時には薬物の体内動態が変化することが予想される。日本では、腹膜透析に関する臨床研究が 1980 年代から開始され患者数も微増しているが、腹膜透析時の薬物治療、とりわけ体内動態変化に配慮した薬物投与設計の合理的な変更に関する情報は十分ではない。現在市販されている多くの医薬品では、添付文書又はインタビューフォームに腹膜透析施行時の情報が欠落しており、臨床現場において個々の腹膜透析患者への薬物の投与量や投与間隔の設定を難しくしている。

全身クリアランスに及ぼす蛋白結合の影響¹²⁾

一般に、全身クリアランスは式 1 に示すように肝クリアランスと腎クリアランスの和で表される。肝クリアランスは式 2 で表され、肝抽出率が低い場合は式 3 で表される。また、腎クリアランスは式 4 で表される。これらの式から肝クリアランス及び腎クリアランスは、薬物の蛋白非結合率が変化すると影響を受けて、その値が変化することが明らかである。すなわち、薬物の蛋白非結合

率は、全身クリアランスに影響を与える重要な変動因子として薬物動態予測に組み込む必要があると考えられる。後述するように、腹膜透析患者の薬物の非蛋白結合率は、個々の患者によって異なることから、全身クリアランスに及ぼす影響も患者ごとに個体差が生じることとなる。従って、腹膜透析患者においては、患者ごとの薬物の蛋白非結合率を評価した上で、薬物の投与設計を行うことは重要である。

$$CL_{total} = CL_H + CL_R \quad (式1)$$

$$CL_H = (Q_H \cdot CL_{intH} \cdot (1 - fb)) / (Q_H + CL_{intH} \cdot (1 - fb)) \quad (式2)$$

$$E_H = CL_H / Q_H < 0.3 \text{ の場合}$$

$$CL_H = CL_{intH} \cdot (1 - fb) \quad (式3)$$

$$CL_R = ((GFR \cdot (1 - fb)) + CL_{sec}) \cdot (1 - R) \quad (式4)$$

CL_{total}: 全身クリアランス

CL_R: 腎クリアランス

CL_{intH}: 肝固有クリアランス

E_H: 肝抽出率

CL_{sec}: 尿細管分泌クリアランス

CL_H: 肝クリアランス

Q_H: 肝血流速度

1-fb: 薬物の蛋白非結合率

GFR: 糸球体ろ過速度

R: 尿細管再吸収率

腹膜透析患者の体内動態変化

腹膜透析患者は、大きく次の3つの要因で薬物動態が変化すると考えられる。

1 点目は糖尿病等の慢性腎不全の基礎疾患により、2 点目は慢性腎不全の病態により、そして3 点目は腹膜透析施行によるものである。

糖尿病患者では、血中にブドウ糖が大量にあることから、アルブミンとブドウ糖が非酵素的に反応し、糖化アルブミンが生成される。アルブミンは、ブドウ糖が結合することにより、その立体構造が変化する。これにより、薬物への結合性が低下するとの報告がある¹³⁻¹⁶⁾。

腎不全患者に薬物を投与すると、腎排泄型の薬物ではその排泄が遅延する。また、肝代謝型の薬物では、薬物の蛋白結合率変化に伴う肝クリアランスへの影響だけでなく、尿毒症物質や腎不全の病態が代謝酵素の発現に影響を与えることにより、代謝が遅延又は亢進することが報告されている¹⁷⁻¹⁸⁾。さらに、腎不全時に体内に蓄積する尿毒症物質の中には、血漿中の蛋白と結合するものがあり、競合的に薬物の蛋白結合が阻害されて、非結合型が増加する場合がある。

腹膜透析患者は、以上のような体内動態変化に加えて、透析液への排泄経路が新たに加わること及び主に非結合型薬物のみが透析液に移行することから、薬物動態が複雑になると考えられる。

以上3点により腹膜透析患者では薬物動態が変化する。その変化の程度は患者の病態や腹膜透析の治療状況によって様々である。

薬物動態を制御する因子の変化と薬物動態の予測

これまで、薬物動態を制御する因子の変化に伴う薬物動態の予測法としては、生理学的 (Physiologically-based Pharmacokinetic : PBPK) モデル、母集団薬物動態 (Population Pharmacokinetic : PPK) モデルなどがあり、理論を構築することにより臨床状況を予測することは広く行われている¹⁹⁻²²⁾。

PBPK モデルは、薬物が各組織に運ばれた後の分布、代謝、排泄等の薬物動態をモデル化したものであり、生体での各組織の血流速度や固有クリアランスなどの生理学的なパラメータを反映 (well-stirred モデルや tube モデルなど) させて構築したモデルである。一般的には、薬物動態学的に重要な臓器をコンパートメントモデルとして表記し、それらに各臓器の生理学的なパラメータを組込んだモデルである。生理学的モデルは、描写力に優れているので基礎研究には極めて有用ではあるが、臨床での応用面では、個別化に必要な生理学的なパラメータを患者ごとに得ることが極めて困難であり、薬物動態の個別化予測には不向き適切なモデルである。一方、薬物相互作用による体内動態変化が予想される場合の血中濃度の予測や小児や高齢者といった特殊な集団の薬物動態予測において、前者の場合は、非臨床から得られた吸収、分布、代謝及び排泄などの薬物相互作用に関する情報を単剤投与時の医薬品の臨床試験で得られている血漿中薬物濃度推移に加味することで、後者では、成人で得られている薬物動態情報に小児あるいは加齢による薬物動態変化の情報を加味することにより、それぞれ血中濃度推移の変化を予測することを目的として PBPK モデルの応用が米国 FDA (Food and Drug Administration) のガイダンス²³⁻²⁴⁾にも記載されており、製薬企業での医薬品開発では、被験者の安全性を考慮した臨床試験の立案の上で重要な手法として活用されている²⁵⁻²⁶⁾。PBPK モデルによる予測は、小児や高齢者等の特殊集団 (ポピュレーション) の予測には優れてい

るが、患者個別の予測はできない。

PPK モデルは、対象となる集団のクライテリアを事前に明確に定義した上で、PPK パラメータによってモデルを記述するものであるが、通常、集団を特徴付ける複数のパラメータを固定因子として導入するため、PPK パラメータを得るために多数の個体データが必要であること、さらに、同一薬物であっても記述式で着目する固定効果によって回帰させるモデルが異なるため導かれる推定結果が異なることになる²⁷⁾。また、解析担当者により結果の解釈に差が出てくるとも報告されており、PPK 解析の問題となっている²⁸⁾。例として、熊谷らの解析研究²⁹⁾によれば、フェキソフェナジンの小児を対象とした母集団薬物動態解析で、体表面積とクレアチニンの検査値を共変量因子としてモデルに組み込んでいる。この 2 つの共変量選択に至るまでに、体重、身長、性別及び 7 つの臨床検査値を基本モデルに組み込み、いずれの変数が目的関数に影響を与えるか検討している。これらの検討は、解析対象集団である約 300 例の薬物濃度データを集積した後に行われており、帰納的な解析である。また、解析担当者によっては、体表面積とクレアチニン以外のパラメータを共変量因子とすることも考えられる。

他方、演繹的な手法による体内動態予測の例としては、静脈内投与時の血中薬物濃度 (*in vivo*) プロファイルを表出する濃度-時間相関に、製剤の溶出試験 (*in vitro*) から得られる溶出動態 (溶出薬物量-時間相関) を畳み込む (コンボリューション) することにより、当該製剤投与時の血中薬物濃度 (*in vivo*) プロファイルを予測する IVIVC (*in vitro-in vivo correlation*) が医薬品製剤の同等性や品質管理のガイドラインとして FDA から提示されている³⁰⁾。

一方、病態時のヒトでの薬物動態は、医薬品の開発段階では完全に予測されてはいない。特に特定の治療を受けている患者に関する薬物動態情報を収集することは困難である。腹膜透析患者の薬物動態情報を得るには、慢性腎不全に罹患かつ腹膜透析を施行している患者を対象に臨床試験を実施しなければならず、非常に難しい。

本研究の概要

本研究では腹膜透析非施行時の薬物動態から腹膜透析施行時の薬物動態を予測する理論を構築し、実際の臨床現場での薬物投与設計立案のための基礎的知見を得ることを目的とした。多くの医薬品の添付文書及びインタビューフォームには、腎不全時の薬物濃度推移情報が医薬品情報として示されていることから、まず、腹膜透析を行っていない時の体内動態パラメータを通常の 2-コンパートメントモデルで解析し、算出することとした。

次に、2-コンパートメントモデルに腹膜透析施行下で想定される腹膜透析液に由来する薬物動態 (PK) パラメータの論理的補正を加え、2-コンパートメントモデルを基本とした腹膜透析時薬物動態モデル (Peritoneal Dialysis-Pharmacokinetic model : *PD*-PK model) を構築した。さらに腎不全時の当該薬物の血漿中蛋白非結合率を PK パラメータの演繹的な補正因子として組み込んだ演繹的腹膜透析時薬物動態モデル (Deductive Peritoneal Dialysis-Pharmacokinetic model : *dedPD*-PK model) を構築し、腹膜透析施行下に静脈内投与された薬物の血漿中及び腹膜透析液中の濃度推移プロファイルの予測手法としての本モデルの有用性について、ラットをモデル動物とした実験系での実測値との比較による評価を試みた。同時に、腎不全時の薬物動態変化についても確認するため、ARF ラットを作製し、ARF 動物での *dedPD*-PK model の有用性についても検討を行った。なお、本研究では、モデル薬物として、糖尿病治療薬トルブタミド、高血圧治療薬プロプラノロール、セフェム系抗生物質セファゾリン及びリチウム (塩化リチウム) を選択した。

本研究の最終目標は、非臨床で構築した *dedPD*-PK model の構築理論を臨床で応用することである。本研究で得られた基礎的知見をもとに、臨床での応用に向けた改良を行うことにより、腹膜透析時の血漿中及び腹膜透析液中の濃度推移を予測することである。本研究で構築した予測に必要な慢性腎不全患者の血漿中薬物濃度推移は、添付文書、インタビューフォーム及び文献から入手可能な場合が多く、個々の患者における対象薬物の蛋白結合データは実測が可能であることから、腹膜透析非施行時の血漿中薬物濃度推移をモデル化し、演繹的に腹膜透析施行時の薬物濃度推移を推定する理論を構築することにより、臨床現場での薬物治療設計の一助となるものと期待される。

第1章 急性腎不全（ARF）ラットの作製とモデル薬物の蛋白結合

腎不全時の薬物療法を考える場合、薬物の体内動態の変化の要因として、腎機能低下だけでなく、体内に尿毒症物質が蓄積することによる肝機能低下¹⁸⁾、蛋白結合の競合阻害、トランスポーターを介した輸送系での阻害³¹⁻³²⁾など様々な生体への影響を勘案する必要がある。腎不全時のこのような薬物動態変化を実験的に検証するためには、病態モデル動物での評価が不可欠となる。

本章では、本研究で慢性腎不全の病態モデル動物として使用した急性腎不全（ARF）ラットの作製と病態評価について論述する。

1.1 ARF ラットに関する背景

急性腎不全とは、「何らかの原因により急速に腎機能が低下して、体液の恒常性ホメオスタシスを維持できなくなり、その結果窒素代謝物の蓄積が起こること」と定義されており、発症原因により次の3種類に定義されている³³⁾。出血、脱水、ショックなどに伴う循環障害を原因とする腎前性腎不全、腎実質障害を一次的原因とする腎性腎不全、及び尿細管あるいは尿管の閉塞を原因とする腎後性腎不全である。

急性腎不全を実験動物で検討する目的で腎性腎不全あるいは腎後性腎不全に対応するラットの病態モデルが作製されている。腎性腎不全モデルとしては、病態の作製方法が簡便で、比較的再現性の良い、次の3種の腎不全モデルラット作製法が汎用されている。

第1の方法は、グリセリン筋注法³⁴⁻³⁵⁾である。この実験モデルでは、グリセリンを多量に筋肉注射することにより、筋肉の融解及び壊死を引き起こし、myoglobin (Mb) が血中に遊離されることにより急性腎不全が起こると考えられている。具体的には、ラットを24時間飲水させずに脱水状態とした後、50%グリセリンを10 mL/kgの割合で大腿部に筋肉注射し、24時間後に実験に使用する。Mbによる急性腎不全発症機序はKnochel³⁶⁾によると、

- ① Mb 沈殿物による尿細管閉塞
- ② Mb の尿細管細胞に対する直接障害
- ③ Mb による腎血流の低下に伴う糸球体ろ過速度の減少

によるものと考えられている。また、Mb や Hemoglobin が尿の酸性化によって分離する ferrihemate による直接的な尿細管毒性も報告されている。ヒトの場合、rhabdomyolysis（筋融解症）に伴い急性腎不全を生じることが知られており、グリセリン筋注による急性腎不全モデルはこの病態に対応する実験モデルと考えられる。

第 2 の方法は、塩化第二水銀筋注法³⁷⁾である。塩化第二水銀は腎毒性物質であり、これを投与すると近位尿細管の広範囲に変性、壊死が起こり急性腎不全となる。具体的には、ラットに塩化第二水銀を 5 mg/kg で大腿部に筋肉注射し、48 時間後に実験に使用する。この実験モデルは、腎毒性物質による急性腎不全モデルである。塩化第二水銀は毒性が強く、実験に用いる場合には安全性に十分に配慮して行う必要があることに加え、実験後の廃棄物処理にも留意しなければならない。

第 3 の方法は、腎 5/6 切除術 (5/6 nephrectomy) 法³⁸⁾である。腎を外科的に切除することにより腎機能不全を発現させる方法である。一般に 5/6 nephrectomy の場合、左腎の上下それぞれ 1/3 を切除し、1~2 週間後に右腎の全摘出を行い、さらに 4~6 週間おいて実験に使用するのが普通であり、慢性腎不全のモデルとして使用される。急性腎不全モデルとして使用する場合は、左腎の上下それぞれ 1/3 の切除と右腎の全摘出を同時に行い、48 時間後に実験に使用する。本法は、一般に慢性腎不全のモデルとされており、本研究の最終目標に最も近いモデルであるが、モデル作成にあたり開腹が必要であり、腹腔に透析液を注入する必要がある本研究に使用するのは難しい。

以上 3 種の方法を挙げたが、本研究では実験時及び環境への安全性の観点、あるいは実験系として開腹手術を避ける理由から第 1 の方法である大腿部へのグリセリン投与により作製した急性腎不全ラットを用いて実験を行った。腎性急性腎不全の主な腎組織所見として、尿細管壊死、近位尿細管細胞変性、尿細管内円柱などが挙げられるが、本研究で採用したグリセリン筋注法では、近位尿細管に壊死及び変性が観察されることが報告されている³⁴⁾。

腎不全時には、正常時には排泄される窒素を多く含んだ尿毒症物質 (Uremic toxin) が体内に蓄積する。尿毒症物質は血中蛋白結合率の高い場合が多く、蓄積により薬物の蛋白結合が競合的に阻害され遊離形薬物が増加する⁸⁻¹¹⁾。腹膜

透析施行によりこれらの尿毒症物質は透析液中に排泄される。また、腹膜透析時には腹腔中への蛋白の漏出が報告されている⁴⁾が、本研究では正常ラット及び急性腎不全ラットを用いて単回の腹膜透析を実施しているのみであるため腹膜透過性の亢進は極めて低いと考えられることから腹腔中への蛋白の漏出は考慮せずにモデルの構築及び解析を行った。しかし、腹膜炎を併発した場合には、多量の蛋白漏出が報告されており、実際の臨床現場ではこの点についても注意が必要となる。

1.2 グリセリン筋注法による ARF ラットの作製

1.2.1 ARF ラットの作製方法

24 時間脱水したラットに、50%グリセリンを 10 mL/kg の割合で大腿部に筋肉注射し、24 時間後に実験に使用した。詳細は、実験の部に記載した。

1.2.2 ARF ラットの病態評価

グリセリン筋注法により作製した ARF ラットの病態評価を行うために、血清中の尿素窒素 (Blood urea nitrogen : BUN) 及び血清中のクレアチニン (Creatinine : Cr) を測定した。なお、グリセリンによる ARF モデルでは、血清中の BUN 及びクレアチニンが上昇することが報告されており^{31),35)}、これらの検査値が病態モデル作製の指標として妥当であると判断した。

BUN は、尿素窒素 B-テストワコー (和光純薬工業、大阪) を用いて、Cr は、Creatinine Assay Kit (BioVision、USA) を用いて測定した。詳細は、実験の部に示した。

1.2.3 BUN 及びクレアチニンの測定結果

血清中の BUN 及びクレアチニンの測定結果を Table 1 に示した。ただし、BUN 及び Cr の測定は、研究に用いた全個体では行っておらず、研究初期の 6 例でのみ実施した。ARF ラットの 6 例で BUN 及び Cr の値が正常ラットと比べて高値を示し、報告されている文献情報^{34-35),39)}と同程度であったことから、本研究で行った ARF ラット作製の実験手技により ARF モデルラットの病態が確実に作製されることが確認できた。

Table 1 Blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (Cr) in rats with experimental ARF

	Normal rats	ARF rats
BUN (mg/dL)	16.64 ± 1.39	118.2 ± 26.0*
Cr (mg/dL)	0.979 ± 0.033	5.007 ± 0.879*

Results are expressed as the mean ± S.D. of 6 experiments, respectively.

* $p < 0.05$; compared with Normal rats

1.3 モデル薬物の血漿中蛋白結合測定

第1章で構築した *PD*-PK model の検証に必要となる正常ラット及びARFラットの血漿中蛋白結合率を算出した。なお、リチウムは血中で蛋白と結合しない⁴³⁻⁴⁴⁾ため、本章では検討しなかった。モデル薬物の選択理由は、第3章で論術する。

In vitro で測定した各薬物の蛋白結合率を Table 2 に示した。トルブタミドとセファゾリンでは、ARFラットにおいて蛋白結合率の有意な低下が認められた。プロプラノロールの蛋白結合率は、ARFラットで若干低くなったが、正常ラットとの間に有意差は認められなかった。なお、結合率の測定を行った薬物濃度（トルブタミド：100 µg/mL、プロプラノロール：1 µg/mL、セファゾリン：100 µg/mL）ではこれらの薬物の蛋白結合は線形と考えられる⁴⁰⁻⁴²⁾。

Table 2 Plasma protein binding (fb) of the model drugs in Normal and ARF rats

	Protein binding (fb)		fu^{ARF}/fu^{Normal}
	Normal rats	ARF rats	
Tolbutamide	0.933 ± 0.004	0.837 ± 0.048*	2.43
Propranolol	0.876 ± 0.018	0.830 ± 0.085	1.37
Cefazolin	0.891 ± 0.010	0.780 ± 0.107*	2.02

Results are expressed as the mean ± S.D. of 3-6 experiments.

* $p < 0.05$; compared with Normal rats

fu^{ARF} : Unbound fraction ($fu = 1 - fb$) of drug in ARF rats

fu^{Normal} : Unbound fraction ($fu = 1 - fb$) of drug in Normal rats

1.4 考察

アルブミンには、薬物が結合するサイトがいくつかあることが知られている^{11),40)}。トルブタミドは、アルブミンの結合サイト I (ワルファリンサイト) に結合することが知られている^{11),40)}。アルブミンの結合サイトには種差があることが知られているが、サイト I についてはヒトとラットでは大きな種差がないことが報告されている⁴⁵⁾。また、腎不全時に体内に蓄積する尿毒症物質 **CMPF** の血中濃度は **BUN** と相関が認められるという報告がある³⁵⁾。**CMPF** はアルブミンのサイト I に結合する⁴⁶⁾ことから、結果としてトルブタミドのアルブミンサイト I への結合を競合的に阻害し、蛋白結合率を低下させたと考えられる。

腎不全患者では、プロプラノロールの非結合形の割合が増加することが報告されている⁴⁷⁾。しかし、プロプラノロールの血漿タンパク結合に関しては、アルブミンには結合するが、サイト I 及びサイト II (ジアゼパムサイト) には結合しないことが知られている⁴¹⁾。一方、尿毒症物質の中には、**CMPF** のようにサイト I 及び II 以外のアルブミン結合サイトにも結合する物質が存在し⁸⁻¹⁰⁾、腎不全時にはアルブミンのサイト I 及びサイト II 以外のいずれかの結合サイトでのプロプラノロールの血漿タンパク結合に競合阻害が生じている可能性が考えられる。また、塩基性薬物であるプロプラノロールは、血漿中の α -1 酸性糖蛋白 (**AGP**) にも結合することが知られている⁴⁸⁾。**AGP** は、腎機能低下時に血中濃度が上昇するとの報告もあり、これによる蛋白結合の環境変化も考えられる⁴⁶⁾。

セファゾリンは、アルブミンのビリルビンサイトに結合する⁴²⁾ことが知られている。また、**CMPF** を含む数種類の尿毒症物質が、ビリルビンサイトにも結合することが報告されており⁸⁻¹⁰⁾、ビリルビンサイトでセファゾリンと競合的な結合阻害が起こったものと推察される。

第2章 腹膜透析時薬物動態モデル (PD-PK model) の構築と検証

本章では、腹膜透析施行に伴い考慮すべき腹膜透析液の速度論モデルにおける帰属コンパートメントについて速度論的な解析を行い、解析結果をもとに PD-PK model の構築を試みた。

2.1 腹膜透析コンパートメントの速度論的な帰属

腹膜透析時の薬物の体内動態研究の実施に先立ち、ラット腹膜透析施行モデルを構築した (確立した実験法の詳細は、実験の部で詳述する)。

腹膜透析を施行した正常ラット及び ARF ラットにトルブタミド (TB) を 10 mg/kg で投与し、血漿中及び透析液中の薬物濃度を測定した。腹膜透析施行時の血漿中薬物動態は正常ラット及び ARF ラットともに分布相 (α 相) と消失相 (β 相) の 2 相性が認められたため、それぞれについて Fig. 2 に示す 2-コンパートメントモデルに基づいて解析を行った。

血漿中薬物濃度の実測値を式 5 にあてはめ、非線形最小二乗法プログラム “MULTI”⁴⁹⁾により得られたパラメータを Table 3 に示した。この時、各パラメータは式 6~12 を満たしており、投与量を D とした。これらのパラメータから、血漿中薬物濃度に対する Fitting curve (C_1) と末梢コンパートメント中薬物濃度の Simulation curve (C_2) を描いた。Fig. 3 にこの時得られた C_1 及び C_2 を、薬物濃度の実測値とともに示した。なお、 C_2 は式 13~15 を満たしている。

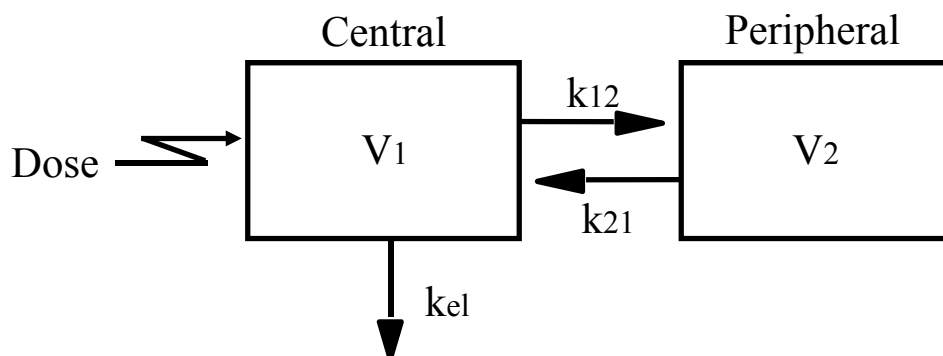


Fig. 2 2-Compartment model

V_1, V_2 : Volume of distribution of each compartment in 2-compartment model
Dose: Dose of drug administered via the bolus intravenous injection
 k_{el}, k_{12}, k_{21} : First-order transfer rate constant

Table 3 Pharmacokinetic parameters of TB after i.v. bolus injection based on 2-compartment model

Parameter	Normal rats	ARF rats
A (μg/mL)	61.15 ± 7.21	39.25 ± 5.63
B (μg/mL)	44.64 ± 3.62	33.47 ± 4.52
α (hr ⁻¹)	1.77 ± 0.51	2.51 ± 0.98
β (hr ⁻¹)	0.0965 ± 0.0413	0.114 ± 0.037
k ₁₂ (hr ⁻¹)	0.640	0.101
k ₂₁ (hr ⁻¹)	1.06	1.41
k _{el} (hr ⁻¹)	0.161	0.204
V ₁ (mL/kg)	94.52	137.5
V ₂ (mL/kg)	57.02	98.96

$$C_1(t) = A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad (\text{式5})$$

$$V_1 = D / (A + B) \quad (\text{式6})$$

$$k_{21} = (A \cdot \beta + B \cdot \alpha) / (A + B) \quad (\text{式7})$$

$$A = D \cdot (k_{21} - \alpha) / (V_1 \cdot (\beta - \alpha)) \quad (\text{式8})$$

$$B = D \cdot (k_{21} - \beta) / (V_1 \cdot (\alpha - \beta)) \quad (\text{式9})$$

$$\alpha + \beta = k_{12} + k_{21} + k_{el} \quad (\text{式10})$$

$$\alpha \cdot \beta = k_{21} \cdot k_{el} \quad (\text{式11})$$

$$V_2 = k_{12} \cdot V_1 / k_{21} \quad (\text{式12})$$

$$C_2(t) = M \cdot e^{-\alpha \cdot t} + N \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad (\text{式13})$$

$$M = D \cdot k_{12} / (V_2 \cdot (\beta - \alpha)) \quad (\text{式14})$$

$$N = D \cdot k_{12} / (V_2 \cdot (\alpha - \beta)) \quad (\text{式15})$$

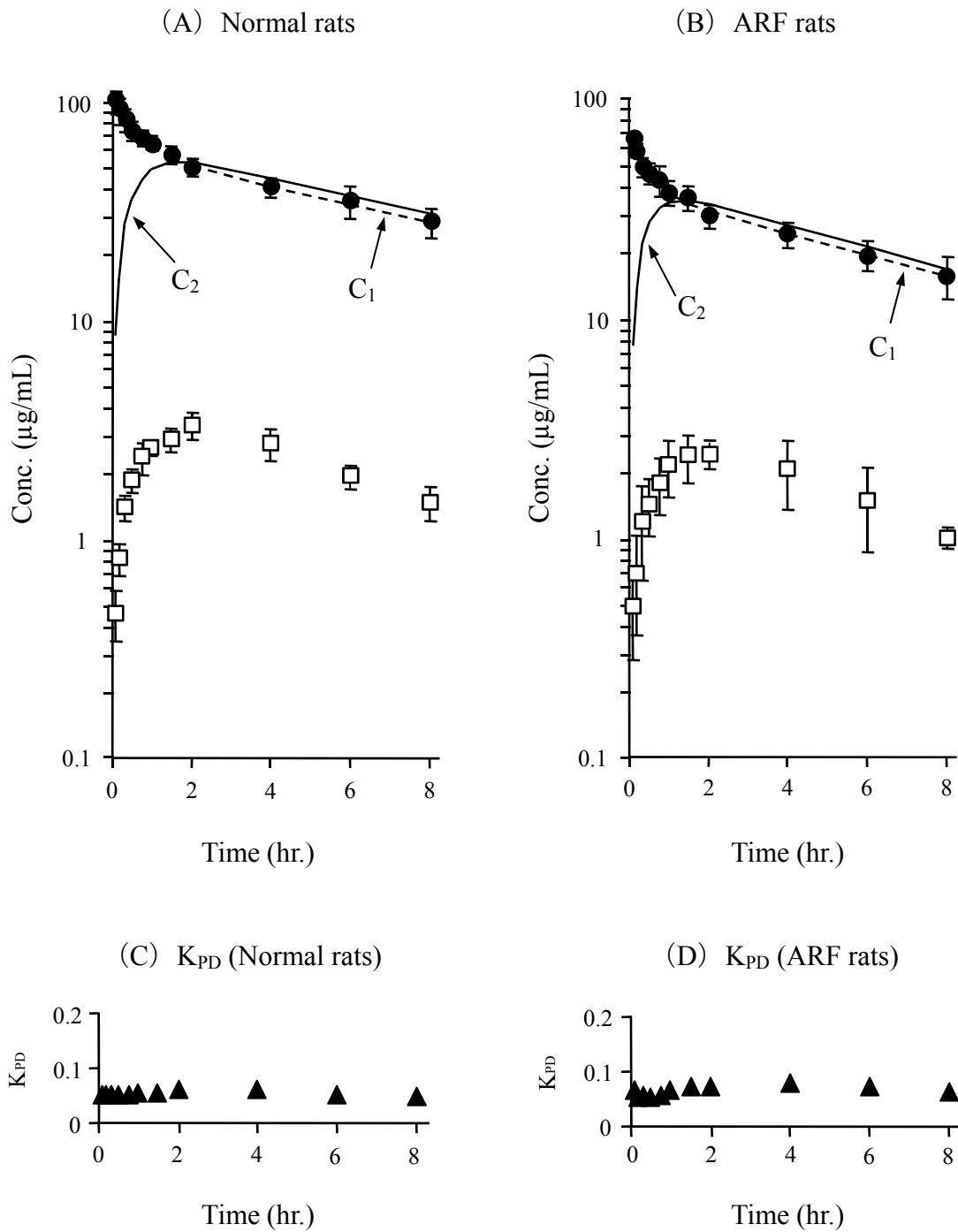


Fig. 3 Concentration-time profiles of TB in plasma and dialysate after i.v. bolus injection PD rats (A, B) and their K_{PD} value profiles (C, D)

Keys: ●, TB concentration in plasma; □, TB concentration in dialysate
 C₁ line: Fitting curves for plasma concentration profile, C₂ line: Simulation curves for concentration profiles in the peripheral compartment, K_{PD} ($= \square/C_2$ line): Equilibrium coefficient between the peritoneal dialysate and peripheral compartment
 Results are expressed as the mean \pm S.D. of 5-6 experiments.

得られた結果から透析液中の TB が速度論的にどのコンパートメントに帰属するか検討を行った。Fig. 3 の上側に示した透析液中の薬物濃度の実測値 (□) と末梢コンパートメント中の薬物濃度の予測値である Simulation curve (C_2) を比較することにより、腹膜透析時における TB の体内動態変化について検討を試みた。そこで、透析液中の薬物濃度の実測値と末梢コンパートメント中の薬物濃度の予測値の比 (K_{PD}) を求めた。この比は、透析液と末梢コンパートメントの間の分配係数とみなすことができる。この K_{PD} を時間に対してプロットしたものを Fig. 3 の下側に示した。正常ラット及び ARF ラットともに K_{PD} の値は、実験時間中ほぼ一定であることから TB の場合、透析液は速度論的に末梢コンパートメントに帰属することが示唆された。

2.2 PD-PK model の構築

2.1 の結果から腹膜透析時における TB の体内動態モデルとして、2-コンパートメントモデルの末梢コンパートメント内に透析液を想定した Fig. 4 に示すモデルを構築した。本研究では、このモデルを腹膜透析時薬物動態モデル (*PD-PK model*) と名称した。

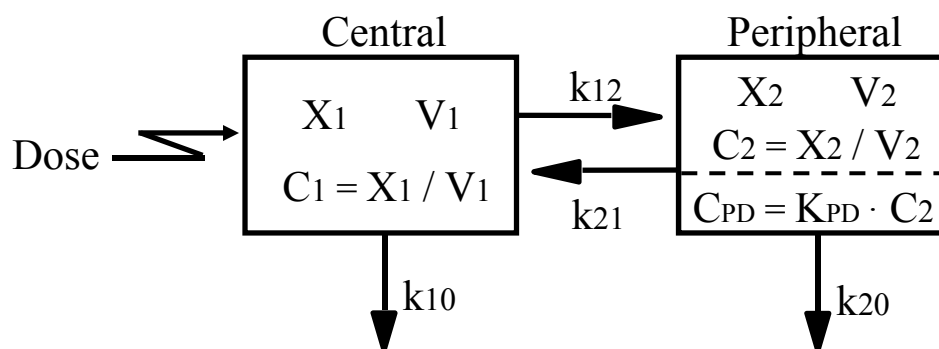


Fig. 4 Peritoneal Dialysis-PK model (*PD-PK model*)

Dose: Dose of drug administered via the bolus intravenous injection
 k_{10} , k_{12} , k_{21} : First-order transfer rate constant
 k_{20} : Elimination rate constant from peripheral compartment by the sampling
 X_1 , X_2 : Amount of drug in each compartment
 V_1 , V_2 : Volume of distribution of each compartment
 C_1 , C_2 : Concentration of drug in each compartment
 C_{PD} : Concentration of drug in dialysate

本モデルでは、 t は TB 投与後の時間を表し、 X_1 、 X_2 はそれぞれ血漿コンパートメント、末梢コンパートメントにおける薬物量を表している。また、 C_1 、 C_2 は X_1 、 X_2 を各コンパートメントの分布容積で除することにより得られた血漿中及び末梢コンパートメント中の薬物濃度を示すものである。さらに、 C_{PD} は透析液中の薬物濃度を、 K_{PD} は透析液と末梢コンパートメントの間の分配係数である。 k_{10} 、 k_{12} 、 k_{21} は内因性の移行速度定数を示し、 k_{20} はサンプリングによる消失速度定数を示している。速度定数を用いて各コンパートメント中の薬物量の変化速度を表した式 16 及び式 17 をラプラス変換で積分することにより、それぞれのコンパートメント中の薬物量 X_1 、 X_2 を表す式 18 及び式 19 を得た。

$$dX_1/dt = -(k_{10} + k_{12}) \cdot X_1 + k_{21} \cdot X_2 \quad (\text{式16})$$

$$dX_2/dt = k_{12} \cdot X_1 - (k_{21} + k_{20}) \cdot X_2 \quad (\text{式17})$$

$$X_1 = H \cdot e^{-\alpha \cdot t} + J \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad (\text{式18})$$

$$X_2 = S \cdot e^{-\alpha \cdot t} + T \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad (\text{式19})$$

なお、 H 、 J 、 S 、 T 、 α 、 β の間には以下の関係式 20～式 25 が成立している。

$$H = (D \cdot (k_{20} + k_{21} - \alpha)) / (\beta - \alpha) \quad (\text{式20})$$

$$J = (D \cdot (k_{20} + k_{21} - \beta)) / (\alpha - \beta) \quad (\text{式21})$$

$$S = D \cdot k_{12} / (\beta - \alpha) \quad (\text{式22})$$

$$T = D \cdot k_{12} / (\alpha - \beta) \quad (\text{式23})$$

$$\alpha + \beta = k_{10} + k_{12} + k_{20} + k_{21} \quad (\text{式24})$$

$$\alpha \cdot \beta = k_{10} \cdot k_{21} + k_{12} \cdot k_{21} + k_{12} \cdot k_{20} \quad (\text{式25})$$

2.3 非線形最小二乗法による解析と PD-PK model の妥当性

本節では、2.2 で構築した PD-PK model の妥当性について検討を行った。Fig. 4 で示した PD-PK model から導かれた各コンパートメント中の薬物量を表す式 18 及び式 19 をそれぞれの分布容積で除することにより血漿中薬物濃度及び末梢コンパートメント中薬物濃度を表す下記の式 26 及び式 27 を得た。さらに透析液中の薬物濃度は C_2 に K_{PD} を乗じた式 28 で表した。

$$C_1 = X_1 / V_1 \quad (\text{式26})$$

$$C_2 = X_2 / V_2 \quad (\text{式27})$$

$$C_{PD} = K_{PD} \cdot C_2 \quad (\text{式28})$$

静脈内に投与した時の血漿中及び透析液中の2つの薬物濃度推移データをここで導いた理論式へ同時あてはめ計算を行い、非線形最小二乗法プログラム“MULTI”を用いてパラメータを推定した。このとき得られたパラメータをTable 4に示した。このパラメータを用いた理論曲線を実測値と比較検討し、血漿中及び透析液中の体内動態変化を示した結果をFig. 5に示した。これらの理論曲線は、実測値と非常によく一致していることから、腹膜透析時のTBの体内動態は構築したPD-PK modelで説明可能であり、モデルの妥当性が示唆された。

Table 4 Pharmacokinetic parameters of TB after i.v. bolus injection based on PD-PK model shown in Fig. 4.

Parameter	Normal rats	ARF rats
A (μg/mL)	58.35 ± 4.81	33.05 ± 2.69
B (μg/mL)	42.14 ± 2.92	27.27 ± 3.12
α (hr ⁻¹)	1.64 ± 0.32	1.87 ± 0.50
β (hr ⁻¹)	0.105 ± 0.042	0.118 ± 0.035
k ₁₂ (hr ⁻¹)	0.571	0.664
k ₂₁ (hr ⁻¹)	0.976	1.12
k ₁₀ (hr ⁻¹)	0.126	0.183
k ₂₀ (hr ⁻¹)	0.0717	0.0193
K _{PD} (-)	0.0571	0.0676
V ₁ (mL/kg)	96.74	148.7
V ₂ (mL/kg)	56.57	88.15

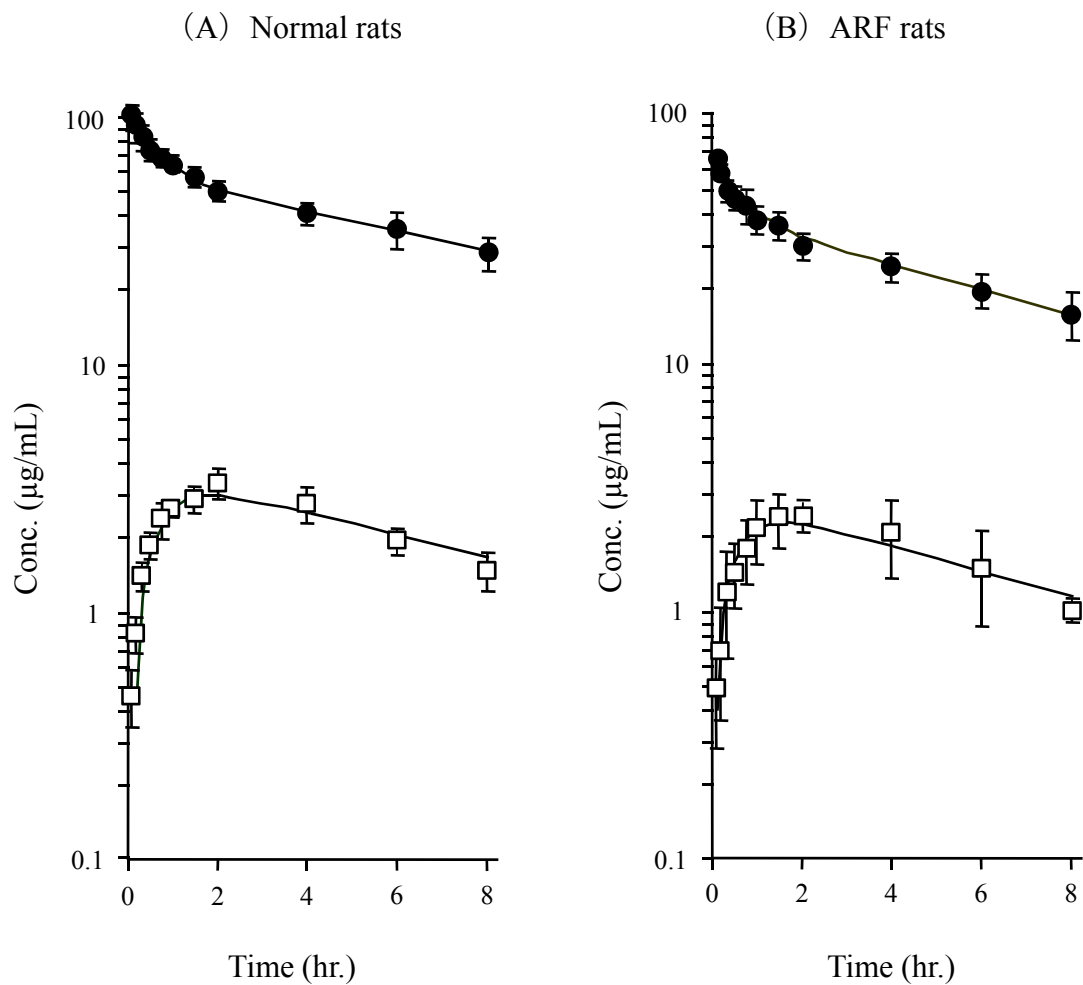


Fig. 5 Concentration-time profiles of TB in plasma and dialysate after i.v. bolus injection PD rats

Keys: ●, TB concentration in plasma; □, TB concentration in dialysate
 —: Fitting curves were generated from the peritoneal dialysis PK model (Fig. 4) and the parameters (Table 4) by the nonlinear least squares program “MULTI” as C_1 and C_{PD} .
 Results are expressed as the mean \pm S.D. of 5-6 experiments.

2.4 考察

本章では、TB の薬物濃度について腹膜透析時薬物動態モデル (*PD-PK model*) を構築して速度論的解析を試みた。

腹膜透析時の血漿中薬物濃度推移が 2 相性を示したため、2-コンパートメントモデルで解析を行い、末梢コンパートメント中の薬物濃度の予測値と透析液中の薬物濃度の比を分配係数 K_{PD} とおいたところ、 K_{PD} の値が実験時間中ほ

ば一定であった。このことから、末梢コンパートメント内に透析液を想定した *PD*-*PK* model (Fig. 4) を構築してシミュレーションを行った結果、実測値と Fittig curve が非常によく一致した。したがって、腹膜透析時における透析液中の TB は速度論的に末梢コンパートメントに帰属し、末梢コンパートメントと透析液間に平衡定数 K_{PD} をおくことにより説明が可能であることが示唆された。

一般に、同一個体であっても速度論的に異なるコンパートメントが加わる場合は薬物動態が変化すると予想される。例として、佐野らの研究⁵⁰⁾では、心肺装置を新たなコンパートメントとしてモデルを構築している。本研究では、速度論的に末梢コンパートメントに帰属していることから別のコンパートメントとせず平衡定数 K_{PD} をおくことにより説明した。

また、フルコナゾールについて検討した青山らも、同様に透析液は末梢コンパートメントに帰属すると述べている⁵¹⁾。これらの知見から末梢コンパートメント容積の増加及び透析液への薬物移行動態を速度論モデルとして記述することができれば、腹膜透析施行時の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移を予測することができると考えた。

以上、本章で得られた知見に基づき、通常医薬品情報に示される当該医薬品の腹膜透析を行っていない時の体内動態情報をもとに、体内動態パラメータの演繹的補正による腹膜透析施行時の薬物動態変化の予測法について検討し、実際の臨床への応用を提案することを最終目的として動物モデルを用いた研究を実施した。その研究内容を次章以降に論述する。

第3章 演繹的補正 PD-PK model (*dedPD*-PK model) の構築

医薬品添付文書に掲載されている臨床試験におけるデータを解析した薬物動態情報は、腹膜透析を施行していない腎機能低下患者で得られた情報がほとんどであり、この腹膜透析非施行患者の薬物動態情報から腹膜透析時の薬物動態変化を予測することが可能となれば、投与量や投与間隔などの投与設計を行う上で臨床的に極めて有用と考えられる。そこで、著者は、帰納的解析により得た腹膜透析非施行時の薬物動態モデル及びパラメータを基本情報として、新たに *in vitro* 蛋白結合率データ及び透析液量のパラメータを演繹的に組込んで腹膜透析時の体内動態モデルとして再構築することを試み、新しい概念として演繹的修正薬物動態モデル (*dedPD*-PK model) を構築し、その腹膜透析時の薬物動態の予測特性について検討を行った。

本研究における腹膜透析時の薬物動態モデルの構築と構築したモデルの検証の流れを Table 5 に示した。

Table 5 本研究における腹膜透析時の薬物動態モデルの構築と構築したモデルの検証の流れ

-
1. 腹膜透析非施行ラットの血漿中薬物動態を 2-コンパートメントモデルにより解析し、腹膜透析非施行時の薬物動態パラメータを算出。
 2. 1.で得られたパラメータに腹膜透析液の注入により変化すると考えられる条件（透析液量）を加味した PD-PK model を構築。
 3. PD-PK model に、腹膜透析施行により変化すると考えられる条件（透析液量、蛋白非結合率）を加味し、演繹的な補正を加味した腹膜透析時の薬物動態モデル (*dedPD*-PK model) を構築。
 4. 構築した *dedPD*-PK model を用いて腹膜透析施行時の血漿中及び腹膜透析液中の薬物動態を予測する。
 5. 腹膜透析施行ラットにモデル薬物を投与し、血漿中及び腹膜透析液中の薬物濃度推移を測定し、実測値と 4.で得られた予測値を比較し、*dedPD*-PK model の有用性を検証（第4章に記載）。
-

3.1 *dedPD*-PK model の構築

第 2 章で論述した *PD*-PK model について、さらに、腎不全時の薬物の腹膜透析液中への移行に関する PK パラメータの演繹的な補正因子として腹膜透析液量 (V_{PD}) 及び病態時に全身クリアランスに影響を与える血漿中蛋白非結合率 ($1-f_b$) を組み込んだ新たなモデルを構築することとした。

本節では、以下の 2 点を仮定することにより、透析液の投与量 (体積) を考慮した腹膜透析施行時の末梢コンパートメントの分布容積 V_{2PD} を新たに設定した。

- (1) 全身循環から腹腔中への薬物移行は血漿蛋白と結合していない非結合型のみが関与する。
- (2) 腹膜透析液中の薬物の拡散は、全身循環から腹腔中への薬物移行に比べ十分に速い。

V_{2PD} は、非透析時の末梢コンパートメント V_2 と腹膜透析施行により新たに加わる透析液の体積 (V_{PD}) 及び薬物の血漿中蛋白非結合率 ($1-f_b$) を用いて式 29 として表記できる。

$$V_{2PD} = V_2 + V_{PD} \cdot (1 - f_b) \quad (\text{式29})$$

しかし、腹膜透析に使用される透析液は、全身循環血からの除水効果も期待するために一般に高張溶液となっている。そこで、腹膜透析液中への水の移動を考慮し、 V_{2PD} は式 29 の第 2 項に補正係数 F を乗じた式 30 として定義した。

$$V_{2PD} = V_2 + F \cdot V_{PD} \cdot (1 - f_b) \quad (\text{式30})$$

なお、本研究で用いたダイアニール®-N PD-2 1.5 の浸透圧比は 1.2 (総浸透圧 : 346 mOsm⁵²⁾) であることから、補正係数 F は多く見積もっても $F=1.2$ 程度と考えられる。

ここで、 V_{2PD} を考慮した新たな演繹的補正腹膜透析時薬物動態モデル (*dedPD*-PK model) を構築し、Fig. 6 に示した。*dedPD*-PK model における腹膜透析時の血漿中濃度は式 31 で表され、この際の各パラメータは式 32~38 を

満たすことになる。なお、*dedPD*-PK model では、中心コンパートメントに関するパラメータである V_1 、 k_{12} 及び k_{el} については、腹膜透析の有無に関わらず同じであると仮定し、これらのパラメータは非透析時の結果から帰納的に算出したパラメータを固定値として使用した。固定値とした以外の速度論パラメータとして薬物の血漿中蛋白結合率や投与した透析液量などをPKパラメータの演繹的な修正因子として組み込むこととした。投与量はDとした。

$$C_{1ded}(t) = P \cdot e^{-\gamma \cdot t} + Q \cdot e^{-\delta \cdot t} \quad (\text{式31})$$

$$V_1 = D / (P + Q) \quad (\text{式32})$$

$$k_{21PD} = (P \cdot \delta + Q \cdot \gamma) / (P + Q) \quad (\text{式33})$$

$$P = D \cdot (k_{21PD} - \gamma) / (V_1 \cdot (\delta - \gamma)) \quad (\text{式34})$$

$$Q = D \cdot (k_{21PD} - \delta) / (V_1 \cdot (\gamma - \delta)) \quad (\text{式35})$$

$$\gamma + \delta = k_{12} + k_{21PD} + k_{el} \quad (\text{式36})$$

$$\gamma \cdot \delta = k_{21PD} \cdot k_{el} \quad (\text{式37})$$

$$V_{2PD} = k_{12} \cdot V_1 / k_{21PD} \quad (\text{式38})$$

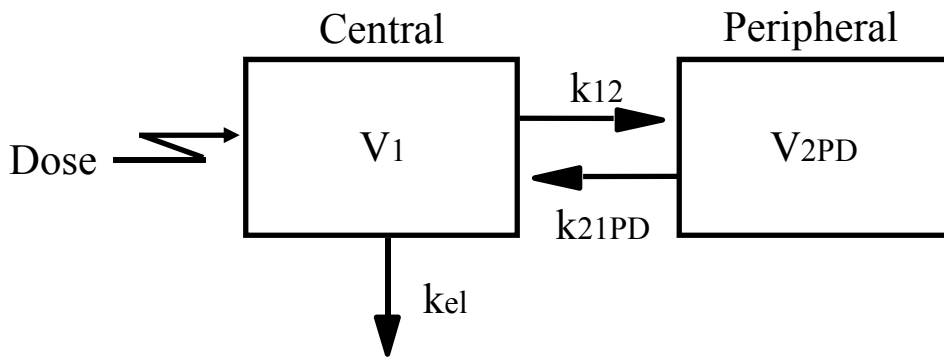


Fig. 6 Deductive Peritoneal Dialysis-Pharmacokinetic model (*dedPD*-PK model)

V_1 : Volume of distribution of each compartment in 2-compartment model (Non-PD condition)

V_{2PD} : Volume of peripheral compartment of 2-compartment model and peritoneal dialysate infused

Dose: Dose of drug administered via the bolus intravenous injection

k_{el} , k_{12} , k_{21PD} : First-order transfer rate constant

このようにして構築した*dedPD*-PK model において、末梢コンパートメントの薬物濃度推移 $C_{2ded}(t)$ は式39で表される。式39中の V_{2PD} は、式30で算出され

たものを用いる。

$$C_{2ded}(t) = D \cdot k_{12} / (V_{2PD} \cdot (\delta - \gamma)) \cdot e^{-\gamma \cdot t} + D \cdot k_{12} / (V_{2PD} \cdot (\gamma - \delta)) \cdot e^{-\delta \cdot t}$$

(式39)

さらに、*dedPD*-PK model において透析液中薬物濃度 $C_{PDded}(t)$ は式 40 で表すことができるものとした。

$$C_{PDded}(t) = C_{2ded}(t) \cdot (1 - f_b)$$

(式40)

透析液中薬物濃度 $C_{PDded}(t)$ の推移は速度論的には末梢コンパートメントの薬物濃度推移 $C_{2ded}(t)$ に帰属する。この場合、末梢コンパートメントの薬物濃度推移 $C_{2ded}(t)$ は、血漿中（中心コンパートメント中）の蛋白結合形及び非結合形の総和である血漿中全薬物濃度で記述されることに注意を要する。式40に式39を代入することにより、式41が得られる。

$$C_{PDded}(t) = (D \cdot k_{12} / (V_{2PD} \cdot (\delta - \gamma)) \cdot e^{-\gamma \cdot t} + D \cdot k_{12} / (V_{2PD} \cdot (\gamma - \delta)) \cdot e^{-\delta \cdot t}) \cdot (1 - f_b)$$

(式41)

腹膜透析施行時の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移は、演繹的に構築した *dedPD*-PK model において、それぞれ式31及び式41で記述することができる。

次章以降では、ラットを動物モデルとして、次節で紹介する体内動態特性の異なるモデル薬物について、構築した *dedPD*-PK model から導かれる腹膜透析施行時の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移をそれぞれ式 31 及び式 41 で予測し、実測値と比較することで検証を試みた。また、正常ラットに加えて実験的に ARF ラットを作製し、急性腎不全時における本モデルの有用性についても検討を加えた。

3.2 モデル薬物の物性と薬物動態特性

本研究では、モデル薬物として薬物動態特性の異なる (Table 6) トルブタミ

ド、プロプラノロール、セファゾリン及びリチウムを選択した。以下に各モデル薬物の概要を述べる。

Table 6 モデル薬物の薬物動態特性 (ヒト)

	TB	PPL	CEZ	Li
物性	酸性薬物	塩基性薬物	酸性薬物	イオン性薬物
主排泄経路	肝	肝	腎	腎
全身クリアランス	15 mL/min	500 mL/min	86.5 mL/min	42 mL/min
分布容積	0.12 L/kg	3.6 L/kg	0.15 L/kg	0.84 L/kg
蛋白結合率	95%	80.5-95.8%	58-86%	結合しない
消失半減期	5.9 hr	4 hr	2 hr	18 hr

3.2.1 トルブタミド (TB) ⁵³⁻⁵⁴⁾

糖尿病治療に用いられる経口薬である。1998年以降の1年ごとの透析導入患者の推移では、導入原因の1位は糖尿病性腎症であることから、腹膜透析患者に糖尿病薬が併用される例は多いと考えられる。本研究では、糖尿病薬の中から薬物動態特性に関する情報が豊富なトルブタミドを選択した。トルブタミドは、スルホニルウレア (SU) 系経口血糖降下剤であり、主として膵臓β細胞を刺激して内因性インスリンの分泌を促進すると考えられている。トルブタミドは、肝代謝型薬物であるが、重篤な腎機能障害患者には禁忌、軽度の腎機能障害患者には慎重投与となっている。ヒトにける全身クリアランス (CL_{total}) は 15 mL/min、分布容積 (Vd) は 0.12 L/kg、血漿中の蛋白結合率は 95% であり、消失半減期は 5.9 hr である。トルブタミドは、SU 剤の中でも作用時間が比較的短く、作用も弱いので、軽症例や高齢者に用いられることが多い薬物である。本研究でのトルブタミドの投与量は 10 mg/kg とした。

3.2.2 プロプラノロール (プロプラノロール塩酸塩) (PPL) ⁵⁵⁻⁵⁶⁾

高血圧治療に用いられる経口薬である。2012年の調査では、約6割の透析患者 (血液透析を含む) に対し降圧薬が使用されていた¹⁾ことから、腹膜透析

療法と高血圧治療薬の併用について検討することは重要な意味を持つ。本研究では、高血圧治療薬の中から薬物動態特性に関する情報が豊富なプロプラノロールを選択した。交感神経 β 受容体遮断作用により、心拍数の増加を抑制し、心仕事量を減少させ、降圧作用を示す。高血圧の他、狭心症及び不整脈治療にも使われる。プロプラノロールは、肝代謝型の薬物であるが、重篤な腎機能障害患者では慎重投与となっている。ヒトにおける CL_{total} は 500 mL/min、Vd は 3.6 L/kg、血漿中の蛋白結合率は 80.5~95.8% であり、消失半減期は 4 hr である。本研究でのプロプラノロールの投与量は 2 mg/kg とした。

3.2.3 セファゾリン (セファゾリンナトリウム) (CEZ) ⁵⁷⁻⁵⁸⁾

注射剤として用いられる抗生物質であり、静脈内及び筋肉内注射される。国際腹膜透析学会のガイドライン ⁵⁹⁾によれば、腹膜透析時の腹膜炎の治療は、原因菌が同定する前に開始される。多くの場合で、セファゾリンやセファロチンなどの第 1 世代のセファロスポリンに加えて、緑膿菌を含むグラム陰性菌を広範囲にカバーする抗菌薬の組み合わせが適しているとされている。従って、セファゾリンが腹膜透析患者に使用される頻度が高いと予想されることから抗生物質のモデル薬物として選択した。作用機序は細菌細胞壁の合成阻害であり、ペニシリン結合蛋白 (PBP) に強い結合親和性を有する。抗菌スペクトルはグラム陽性菌、グラム陰性菌の広範囲にわたっており、特にグラム陽性球菌ではブドウ球菌属、レンサ球菌属、肺炎球菌、グラム陰性桿菌では、大腸菌、肺炎桿菌、プロテウス・ミラビリス、プロビデンシア属に優れた抗菌力を示す。作用形式は殺菌的である。セファゾリンは、腎排泄型の薬物であり、高度の腎障害患者では慎重投与となっている。ヒトにおける CL_{total} は 86.5 mL/min、Vd は 0.15 L/kg、血漿中の蛋白結合率は 58~86% であり、消失半減期は 2 hr である。本研究でのセファゾリンの投与量は 5 mg/kg とした。

3.2.4 リチウム (塩化リチウム) (Li)

血漿コンパートメントから透析液中への薬物移行には、血漿中の遊離形薬物が関与すると考えられる。このことから薬物の血漿中蛋白結合率は、透析液への移行動態に大きく影響することが予想される。本研究では、血漿蛋白との結

合が実質的に認められないモデル薬物としてリチウムを選択し、構築した *dedPD*-PK model による体内動態の予測における蛋白結合の寄与について検討を加えた。臨床では、炭酸リチウムが用いられているが、本検討では塩化リチウムを用いた。

炭酸リチウムは躁病治療に用いられる経口薬である⁴³⁻⁴⁴。作用機序はまだ完全に解明されていないが、リチウムは中枢神経系における、NA 作動系、DA 作動系、5 HT 作動系において、際立った作用機序になるものはなく、多くの作用が複合的に関連して作用するものと推測されている⁴³⁻⁴⁴。腎排泄型の薬物であり、腎障害患者では禁忌とされている⁴⁴。ヒトにおける CL_{total} は 42 mL/min、Vd は 0.84 L/kg、消失半減期は 18 hr である。本研究でのリチウムの投与量は塩化リチウムとして 2 mmol/kg とした。

3.3 *dedPD*-PK model の臨床応用性

本研究では、演繹法による腹膜透析時の薬物動態予測法を構築し、ラットの動物モデルを用いて検証実験を行った。なお、検証結果については第 4 章で詳述する。構築した *dedPD*-PK model を実際に臨床へ応用した時の流れを Table 7 に示した。なお、Table 7 は Table 5 に示したモデル活用の流れに対応させて臨床応用時の流れとして記述したものである。

Table 7 *dedPD*-PK model を臨床に応用した時の流れ

-
1. 腹膜透析を実施していない腎機能低下患者の薬物濃度推移データ又は薬物動態パラメータを添付文書及び文献等から入手する。入手した情報が薬物濃度推移であれば、薬物動態パラメータを算出する。
 2. 患者個人ごとに薬物の血漿中蛋白結合率を測定する。
 3. 1. で得られたパラメータに透析液量及び 2. で実測した蛋白結合率を加味し、*dedPD*-PK model を用いて腹膜透析施行時の血漿中及び腹膜透析液中の薬物動態を予測する。
 4. 3. で予測した薬物濃度推移により、必要があれば薬物の投与量や投与間隔の調節を行う。
-

第 4 章 *dedPD*-PK model の検証

第 3 章では、腹膜透析非施行時の血漿中薬物濃度推移から常法に従いコンパートメントモデルを用いて帰納的に薬物動態パラメータを算出し、得られた薬物動態パラメータに腹膜透析時の透析液量及び蛋白非結合率を薬物動態パラメータの演繹的な補正因子として、*PD*-PK model に組み込むことで演繹的補正 *PD*-PK model (*dedPD*-PK model) を構築した。

本章では、薬物動態特性の異なる 4 つのモデル薬物について、この *dedPD*-PK model を用いて、腹膜透析施行時の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移を推定し、実測値と比較することにより *dedPD*-PK model の予測性の検証を行った。

なお、第 1 章で算出した薬物の蛋白結合率を測定するために使用した個体とは別の個体群を用いて本章の検証を行った。

4.1 トルブタミドの血漿中及び腹膜透析液中濃度推移の検証

4.1.1 腹膜透析非施行時のトルブタミドの薬物動態パラメータ

ラットにおける非透析時のトルブタミドの血漿中薬物濃度推移は、正常ラット及び ARF ラットのいずれの場合でも分布相 (α 相) と消失相 (β 相) の 2 相性が認められた。取得したトルブタミドの血漿中薬物濃度推移 (Fig. 7) を帰納的な速度論モデル (2-コンパートメントモデル) で解析し、第 2 章の式 5 ~ 12 で記述される各群の体内動態パラメータを非線形最小二乗法によるフィッティングにより推定した。血漿中薬物濃度推移から推定した正常ラットと ARF ラットにおける非透析時のトルブタミドの PK パラメータを Table 8 に示した。なお、ヒトにおいては、これらが既得の医薬品情報 (医薬品添付文書情報等) として提示され、後述の演繹的補正に係ることになる。また、これらのパラメータから描出される血漿中薬物濃度推移をそれぞれ Fig. 7 中に実線で示した。本節で得られた薬物濃度推移は著者の関連先行研究⁶⁰⁻⁶¹⁾と差はなく、再現性が認められた。

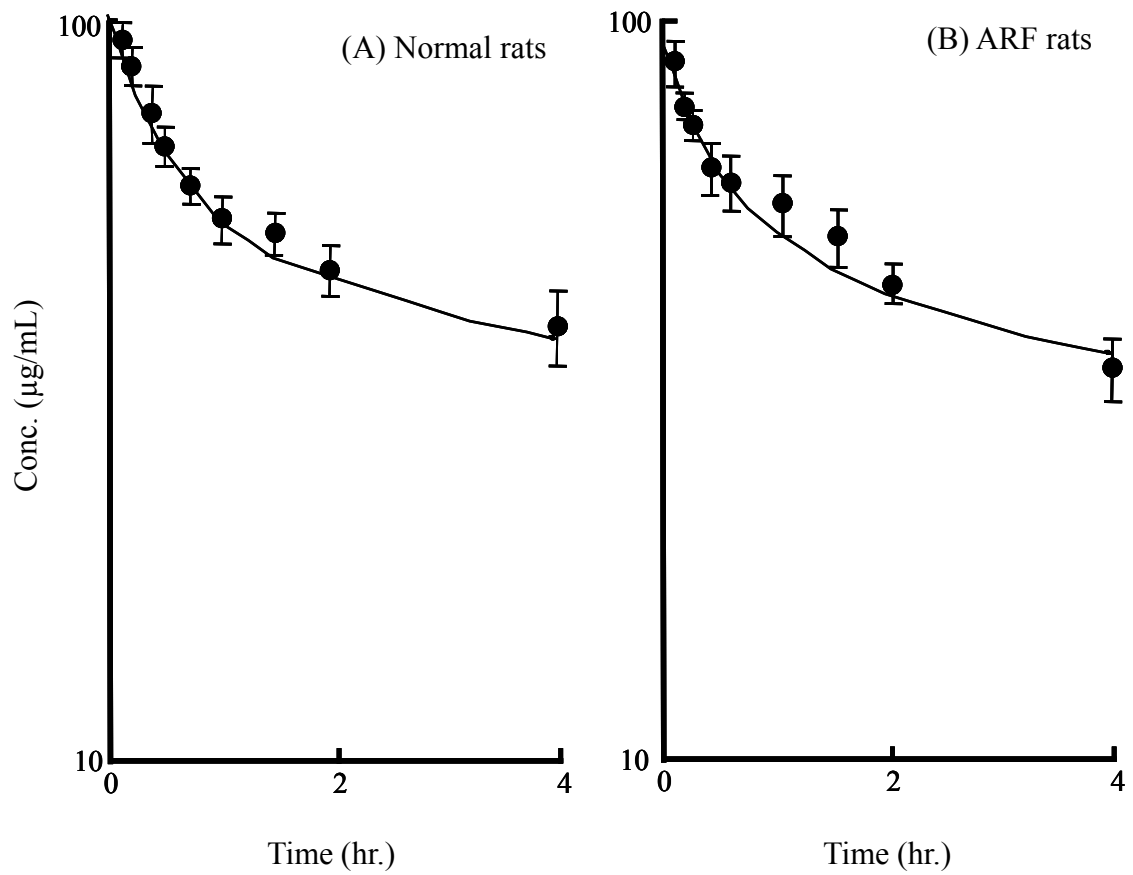


Fig. 7 Concentration-time profiles of TB in plasma after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Key: ●, TB concentration in plasma

The left panel (A) and the right panel (B) represent the profiles in Normal and ARF rats, respectively. Results are expressed as the mean \pm S.D. of 5 experiments. Each line represents the fitting curve drawn by the inductive PK parameters listed in Table 8.

Table 8 Pharmacokinetic parameters of TB based on 2-compartment model after i.v. bolus in injection in the non-PD condition

Parameter	Normal rats	ARF rats
A ($\mu\text{g/mL}$)	61.23 \pm 5.39	50.00 \pm 8.13
B ($\mu\text{g/mL}$)	43.35 \pm 6.32	27.30 \pm 5.58
α (hr^{-1})	1.02 \pm 0.22	1.25 \pm 0.80
β (hr^{-1})	0.0682 \pm 0.0291	0.103 \pm 0.019
k_{12} (hr^{-1})	0.586	0.786
k_{21} (hr^{-1})	0.428	0.450
k_{el} (hr^{-1})	0.0163	0.0287
V_1 (mL/kg)	95.6	129
V_2 (mL/kg)	131	226

4.1.2 腹膜透析時のトルブタミドの薬物動態推移の予測

次に、Table 8 に示した腹膜透析非施行時のトルブタミドの PK パラメータから *dedPD*-PK model (Fig. 6) に基づいて演繹的に補正し、腹膜透析施行時の PK パラメータを算出した (Table 9)。なお、Table 9 には、注入した腹膜透析液の除水に関する補正係数 F を 1.0 で算出した場合のパラメータを示した。

Table 9 Calculated deductive pharmacokinetic parameters of TB for the simulation by the *PD*-PK model in the PD condition

Parameter	Normal rats	ARF rats
P ($\mu\text{g/mL}$)	62.51	51.24
Q ($\mu\text{g/mL}$)	42.07	26.06
γ (hr^{-1})	1.00	1.22
δ (hr^{-1})	0.0662	0.0985
k_{21PD} (hr^{-1})	0.408	0.420
V_{2PD} (mL/kg)	138	243

次に Table 8 に示す k_{12} 及び Table 9 に示す演繹的に導出した PK パラメータを用いて腹膜透析時の薬物濃度推移を *dedPD*-PK model により予測し、実測値との比較を試みた。トルブタミドを腹膜透析施行ラットに急速静脈内投与した時の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移を Fig. 8 に示した。なお、図中の実線及び点線は第 3 章の式 31 及び式 41 による予測薬物濃度推移を示しており、実線は透析液の容積変化がない $F=1.0$ の場合の、点線は除水効果の予測最大値である $F=1.2$ の場合の濃度推移予想である。図からも明らかなように、 F の変動 ($1.0\sim 1.2$) による予測曲線の違いはわずかであり、実質的な予測精度に及ぼす影響は小さいことが明らかとなった。

次に、*dedPD*-PK model の予測精度を確認するため、予測値を横軸に、実測値を縦軸にとり、両者の相関性を Fig. 9 に示した。なお、Fig. 9 では $F=1.0$ の結果のみを示した。

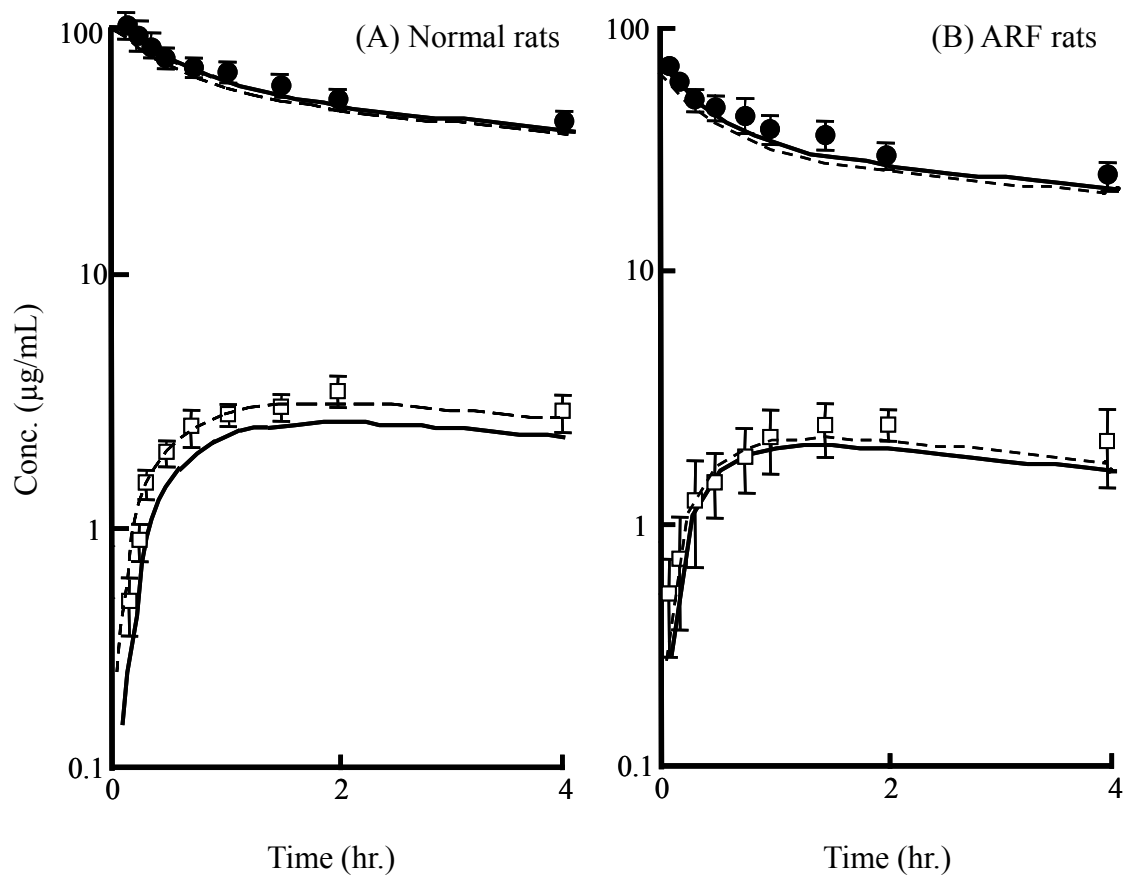


Fig. 8 Concentration-time profiles of TB in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Keys: ●, TB concentration in plasma; □, TB concentration in dialysate

The left panel (A) and the right panel (B) represent the profiles in Normal and ARF rats, respectively. Results are expressed as the mean \pm S.D. of 5-6 experiments. All simulation lines (solid line: $F=1.0$, dotted line: $F=1.2$) were generated from the *dedPD*-PK model (Fig. 6) and the corresponding parameters (Tables 8 and 9).

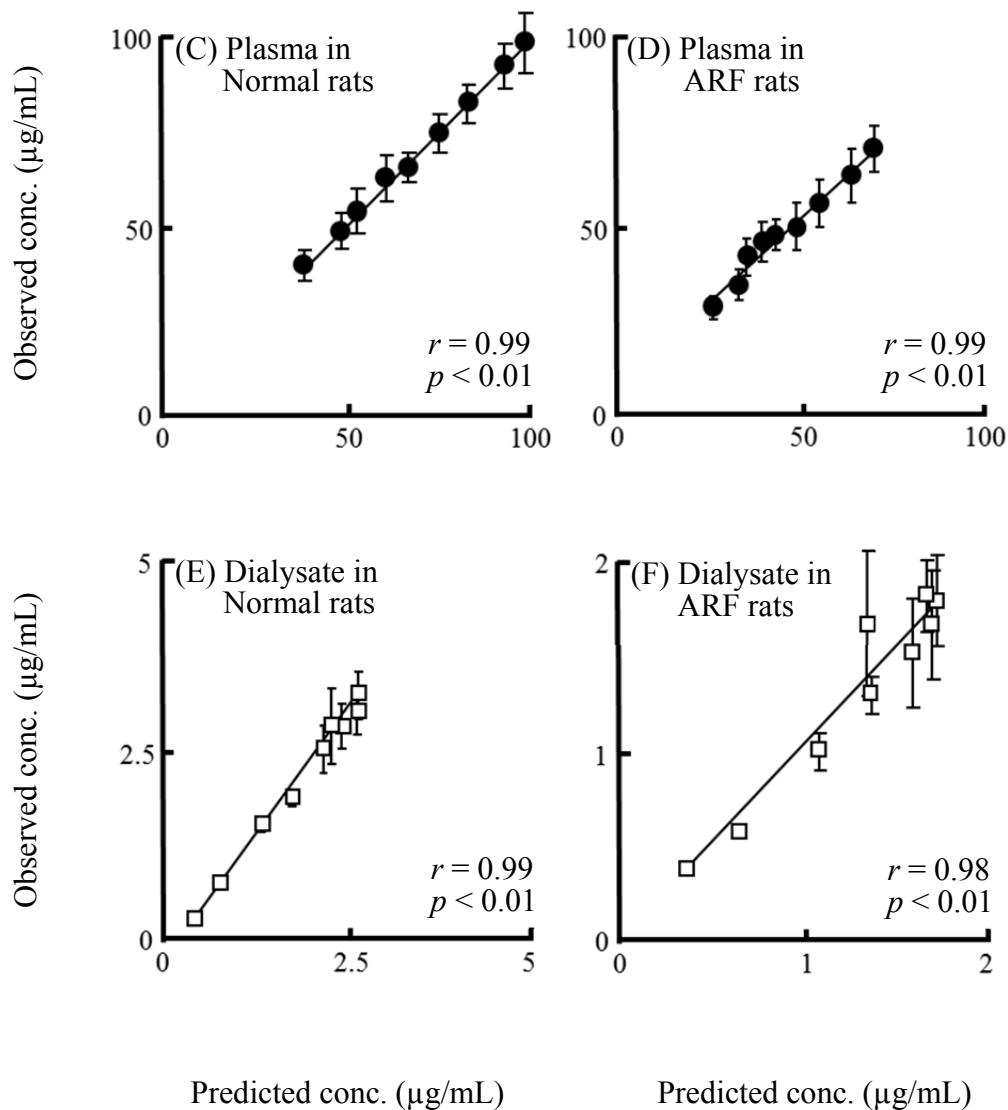


Fig. 9 Prediction accuracy for the profiles of TB in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Keys: ●, TB concentration in plasma; □, TB concentration in dialysate
 Prediction accuracy for profiles of TB in plasma ((C) and (D)) and in dialysate ((E) and (F)) in the *PD*-PK model is presented as predicted-observed relation.

4.1.3 小括 (トルブタミド)

非透析時の血漿中薬物動態から得られた PK パラメータを演繹的に補正し、構築した *dedPD*-PK model により予測した腹膜透析時のトルブタミドの血漿中薬物濃度推移は、Fig. 8 に示すように正常ラット及び ARF ラットにおいて実

測値を極めて良好に予測していた。透析液中の薬物濃度推移についても、実測値と予測値との良好な相関が認められた (Fig. 9) ことから、トルブタミドにおける *dedPD*-PK model の予測性は、極めて良好であることを明らかにすることができた。

除水に関する補正係数 F が予測値に及ぼす影響については、 $F=1.0$ と $F=1.2$ の両方で予測を試みた (Fig. 8) が、これらの条件での予測値に大きな相違は認められず、いずれの場合も実測値とほぼ等しいものであった。これらの検討結果から、トルブタミドの薬物動態を考える上で、今回使用した透析液 (ダイアニール®-N PD-2 1.5) の浸透圧による血漿から腹腔内の透析液中への水分の移動の影響は小さいことが推察された。この理由として、本研究で使用した透析液中のブドウ糖濃度が 1.36% (w/v) と低く、浸透圧による除水効果が低かったためと考えられる。

4.2 プロプラノロールの血漿中及び腹膜透析液中濃度推移の検証

4.2.1 腹膜透析非施行時のプロプラノロールの薬物動態パラメータ

ラットにおける非透析時のプロプラノロールの血漿中薬物濃度推移は、正常ラット及び ARF ラットのいずれの場合でも分布相 (α 相) と消失相 (β 相) の 2 相性が認められた。取得した正常ラットのプロプラノロールの血漿中薬物濃度推移及び ARF ラットの検討から得られたプロプラノロールの血漿中薬物濃度推移 (Fig. 10) を帰納的な速度論モデル (2-コンパートメントモデル) で解析し、第 2 章の式 5~12 で記述される各群の PK パラメータを非線形最小二乗法によるフィッティングにより推定した。血漿中薬物濃度推移から推定した正常ラットと ARF ラットにおける非透析時のプロプラノロールの PK パラメータを Table 10 に示した。また、これらのパラメータから描出される血漿中薬物濃度推移をそれぞれ Fig. 10 中に実線で示した。

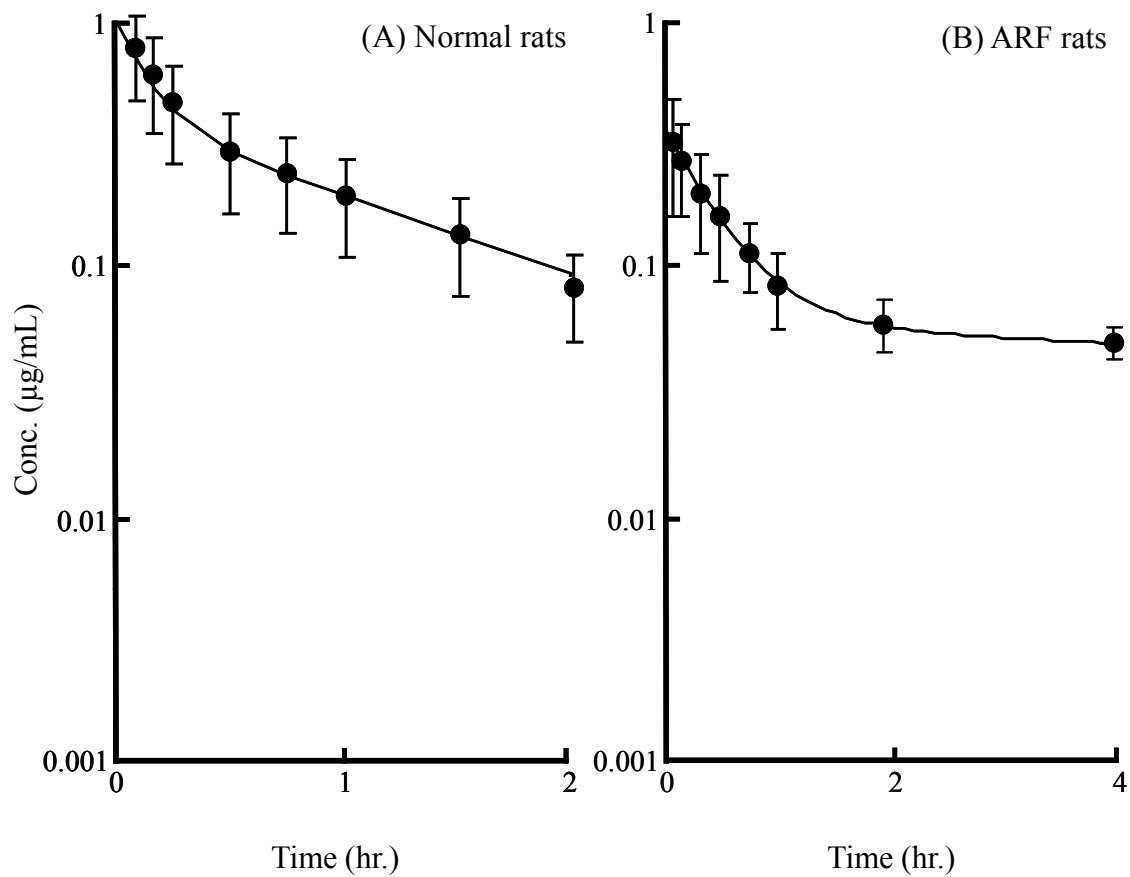


Fig. 10 Concentration-time profiles of PPL in plasma after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Key: ●, PPL concentration in plasma

The left panel (A) and the right panel (B) represent the profiles in Normal and ARF rats, respectively. Results are expressed as the mean \pm S.D. of 3 experiments. Each line represents the fitting curve drawn by the inductive PK parameters listed in Table 10.

Table 10 Pharmacokinetic parameters of PPL based on 2-compartment model after i.v. bolus in injection in the non-PD condition

Parameter	Normal rats	ARF rats
A ($\mu\text{g/mL}$)	0.716 ± 0.087	0.317 ± 0.087
B ($\mu\text{g/mL}$)	0.454 ± 0.030	0.171 ± 0.026
α (hr^{-1})	7.26 ± 1.24	2.40 ± 0.14
β (hr^{-1})	0.78 ± 0.05	0.25 ± 0.03
k_{12} (hr^{-1})	3.12	1.68
k_{21} (hr^{-1})	3.06	0.68
k_{el} (hr^{-1})	1.80	0.31
V_1 (L/kg)	2.21	2.61
V_2 (L/kg)	2.34	9.43

4.2.2 腹膜透析時のプロプラノロールの薬物動態推移の予測

次に、Table 10 に示した腹膜透析非施行時のプロプラノロールの PK パラメータから *dedPD*-PK model (Fig. 6) に基づいて演繹的に補正し、腹膜透析施行時の PK パラメータを算出した (Table 11)。なお、Table 11 には注入した腹膜透析液による除水に関する補正係数 F を 1.0 で算出した場合のパラメータを示した。

Table 11 Calculated deductive pharmacokinetic parameters of PPL for the simulation by the *PD*-PK model in the PD condition

Parameter	Normal rats	ARF rats
P ($\mu\text{g/mL}$)	0.846	0.477
Q ($\mu\text{g/mL}$)	0.277	0.155
γ (hr^{-1})	1.68	2.12
δ (hr^{-1})	0.99	0.35
k_{21PD} (hr^{-1})	2.98	0.64
V_{2PD} (L/kg)	2.38	9.45

次に Table 10 に示す k_{12} 及び Table 11 に示す演繹的に導出した PK パラメータを用いて腹膜透析時の薬物濃度推移を *dedPD*-PK model により予測し、実測値との比較を試みた。プロプラノロールを腹膜透析施行ラットに急速静脈内投与した時の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移を Fig. 11 に示した。なお、図中の実線及び点線は第 3 章の式 31 及び式 41 による予測薬物濃度推移を示しており、実線は透析液の容積変化がない $F=1.0$ の場合の、点線は除水効果の予測最大値である $F=1.2$ の場合の濃度推移予想である。図からも明らかなように、 F の変動 ($1.0\sim 1.2$) による予測曲線の違いはわずかであり、実質的な予測精度に及ぼす影響は小さいことが明らかとなった。

次に、*dedPD*-PK model の予測精度を確認するため、予測値を横軸に、実測値を縦軸にとり、両者の相関性を Fig. 12 に示した。なお、Fig. 12 では $F=1.0$ の結果のみを示した。

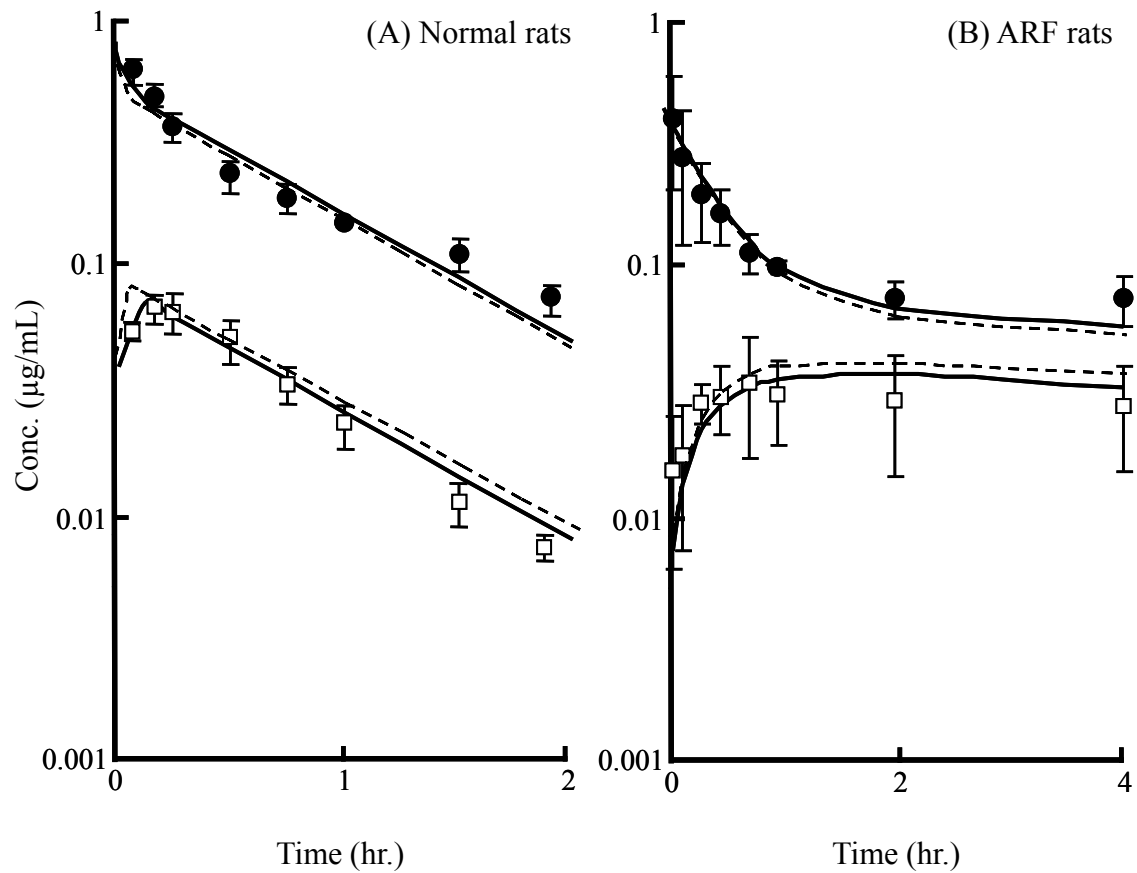


Fig. 11 Concentration-time profiles of PPL in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Keys: ●, PPL concentration in plasma; □, PPL concentration in dialysate

The left panel (A) and the right panel (B) represent the profiles in Normal and ARF rats, respectively. Results are expressed as the mean \pm S.D. of 3-5 experiments. All simulation lines (solid line: $F=1.0$, dotted line: $F=1.2$) were generated from the *dedPD*-PK model (Fig. 6) and the corresponding parameters (Tables 10 and 11).

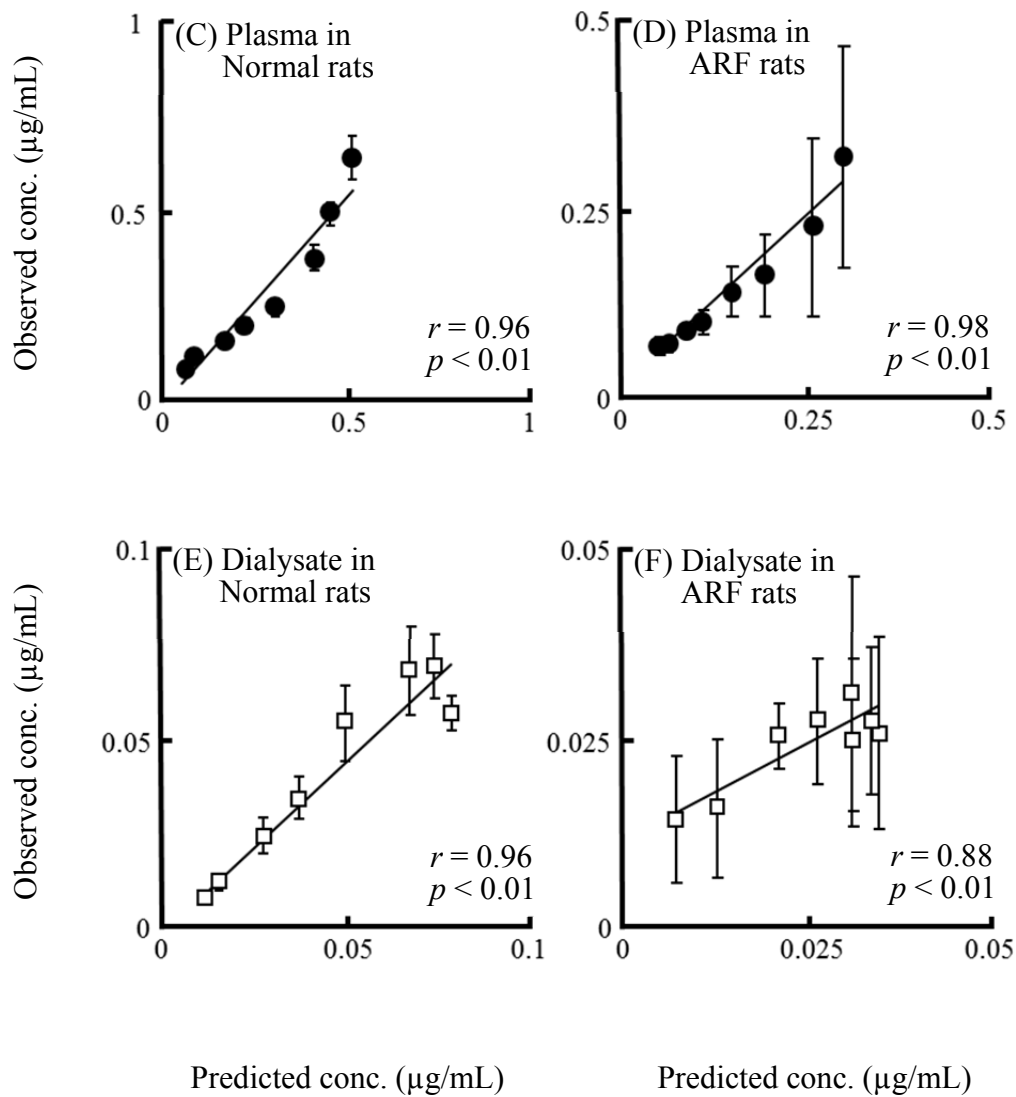


Fig. 12 Prediction accuracy for the profiles of PPL in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Keys: ●, PPL concentration in plasma; □, PPL concentration in dialysate
 Prediction accuracy for profiles of PPL in plasma ((C) and (D)) and in dialysate ((E) and (F)) in the *PD*-PK model is presented as predicted-observed relation.

4.2.3 小括（プロプラノロール）

非透析時の血漿中薬物動態から得られた PK パラメータを演繹的に補正し、構築した *dedPD*-PK model により予測した腹膜透析時のプロプラノロールの血漿中薬物濃度推移は、Fig. 11 に示すように正常ラット及び ARF ラットにおいて実測値を極めて良好に予測していた。透析液中の薬物濃度推移についても、実測値と予測値との良好な相関が認められたことから、プロプラノロールにおける *dedPD*-PK model の予測性は、良好であることを明らかにすることができた。

除水に関する補正係数 F が予測値に及ぼす影響については、 $F=1.0$ と $F=1.2$ の両方で予測を試みた (Fig. 11) が、これらの条件での予測値に大きな相違は認められず、いずれの場合も実測値とほぼ等しいものであった。従って、今回使用した透析液の浸透圧による影響は小さいと推察された。

プロプラノロールは、血中のアルブミン及び AGP の両方に結合する^{40-41),47)}。尿毒症物質には、アルブミン及び AGP のいずれかに結合するもの、両方に結合するものがあり、腎不全時にはプロプラノロールの蛋白結合に対して複雑に影響していると考えられる。ARF 時は競合阻害により、プロプラノロールの血漿中蛋白結合率が低下し、それに伴って非結合形が増加すると考えられる。しかし、腎不全時の尿毒症物質により起こると予想されるこれらの薬物動態変化は予測精度に影響を与えなかった。

4.3 セファゾリンの血漿中及び腹膜透析液中濃度推移の検証

4.3.1 腹膜透析非施行時のセファゾリンの薬物動態パラメータ

ラットにおける非透析時のセファゾリンの血漿中薬物濃度推移は、正常ラット及び ARF ラットのいずれの場合でも分布相 (α 相) と消失相 (β 相) の 2 相性が認められた。取得したセファゾリンの血漿中薬物濃度推移 (Fig. 13) を帰納的な速度論モデル (2-コンパートメントモデル) で解析し、第 2 章の式 5 ~12 で記述される各群の PK パラメータを非線形最小二乗法によるフィッティングにより推定した。血漿中薬物濃度推移から推定した正常ラットと ARF ラットにおける非透析時のセファゾリンの PK パラメータを Table 12 に示した。また、これらのパラメータから描出される血漿中薬物濃度推移をそれぞれ

Fig.13 中に実線で示した。

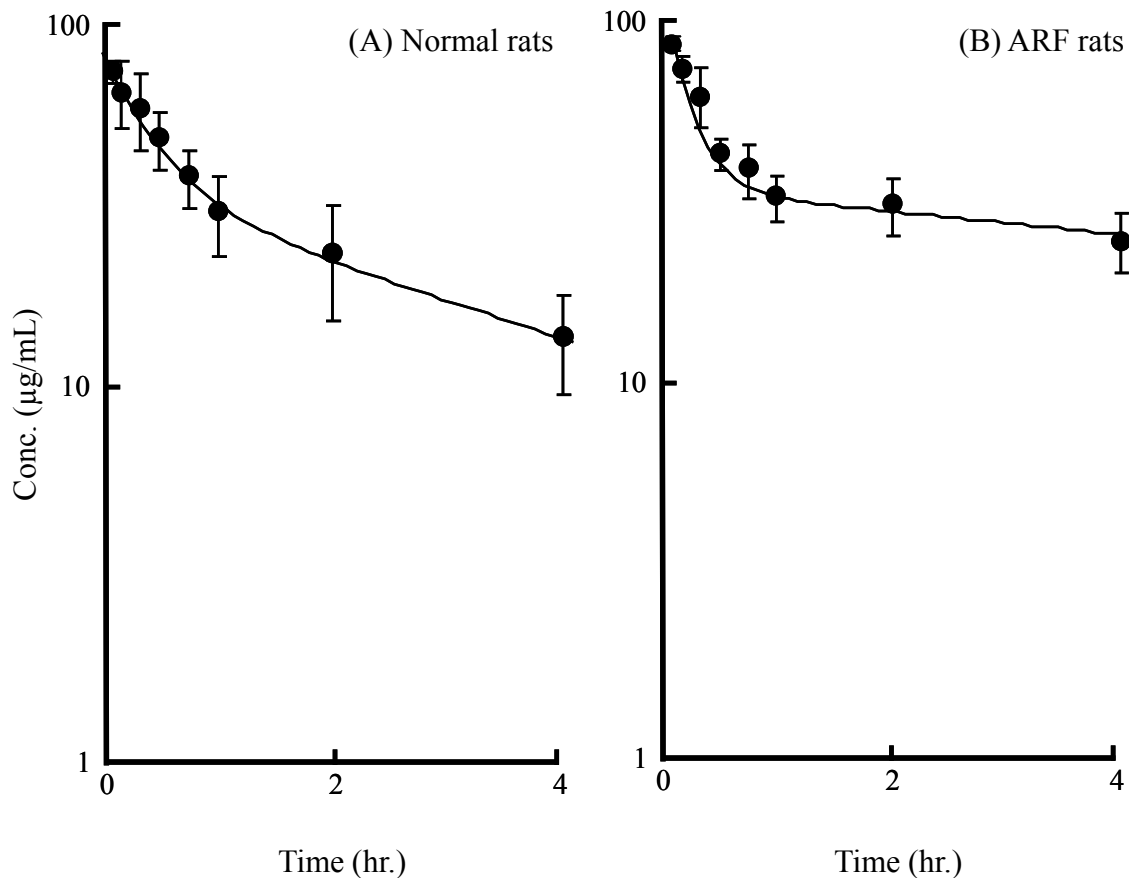


Fig. 13 Concentration-time profiles of CEZ in plasma after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Key: ●, CEZ concentration in plasma

The left panel (A) and the right panel (B) represent the profiles in Normal and ARF rats, respectively. Results are expressed as the mean \pm S.D. of 3 experiments. Each line represents the fitting curve drawn by the inductive PK parameters listed in Table 12.

Table 12 Pharmacokinetic parameters of CEZ based on 2-compartment model after i.v. bolus in injection in the non-PD condition

Parameter	Normal rats	ARF rats
A ($\mu\text{g/mL}$)	43.63 \pm 5.44	55.15 \pm 4.27
B ($\mu\text{g/mL}$)	32.34 \pm 5.58	44.76 \pm 1.74
α (hr^{-1})	2.24 \pm 0.62	4.29 \pm 0.62
β (hr^{-1})	0.221 \pm 0.050	0.0542 \pm 0.0142
k_{12} (hr^{-1})	0.923	2.27
k_{21} (hr^{-1})	1.08	1.95
k_{el} (hr^{-1})	0.459	0.119
V_1 (mL/kg)	65.81	50.05
V_2 (mL/kg)	56.16	58.27

4.3.2 腹膜透析時のセファゾリンの薬物動態推移の予測

次に、Table 12 に示した腹膜透析非施行時のセファゾリンの PK パラメータを *dedPD*-PK model (Fig. 6) に基づいて演繹的に補正し、腹膜透析施行時の PK パラメータを算出した (Table 13)。なお、Table 13 には、注入した腹膜透析液の除水に関する補正係数 F を 1.0 で算出した場合のパラメータを示した。

Table 13 Calculated deductive pharmacokinetic parameters of CEZ for the simulation by the *PD*-PK model in the PD condition

Parameter	Normal rats	ARF rats
P ($\mu\text{g/mL}$)	55.36	68.60
Q ($\mu\text{g/mL}$)	20.56	31.31
γ (hr^{-1})	1.84	3.47
δ (hr^{-1})	0.152	0.0382
k_{21PD} (hr^{-1})	0.905	1.42
V_{2PD} (mL/kg)	67.15	80.27

次に Table 12 に示す k_{12} 及び Table 13 に示す演繹的に導出した PK パラメータを用いて腹膜透析時の薬物濃度推移を *dedPD*-PK model により予測し、実測値との比較を試みた。セファゾリンを腹膜透析施行ラットに急速静脈内投与した時の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移を Fig. 14 に示した。なお、図中の実線及び点線は第 3 章の式 31 及び式 41 による予測薬物濃度推移を示しており、実線は透析液の容積変化がない $F=1.0$ の場合の、点線は除水効果の予測最大値である $F=1.2$ の場合の濃度推移予想である。図からも明らかなように、 F の変動 ($1.0\sim 1.2$) による予測曲線の違いはわずかであり、実質的な予測精度に及ぼす影響は小さいことが明らかとなった。

次に、*dedPD*-PK model の予測精度を確認するため、予測値を横軸に、実測値を縦軸にとり、両者の相関性を Fig. 15 に示した。なお、Fig. 15 では $F=1.0$ の結果のみを示した。

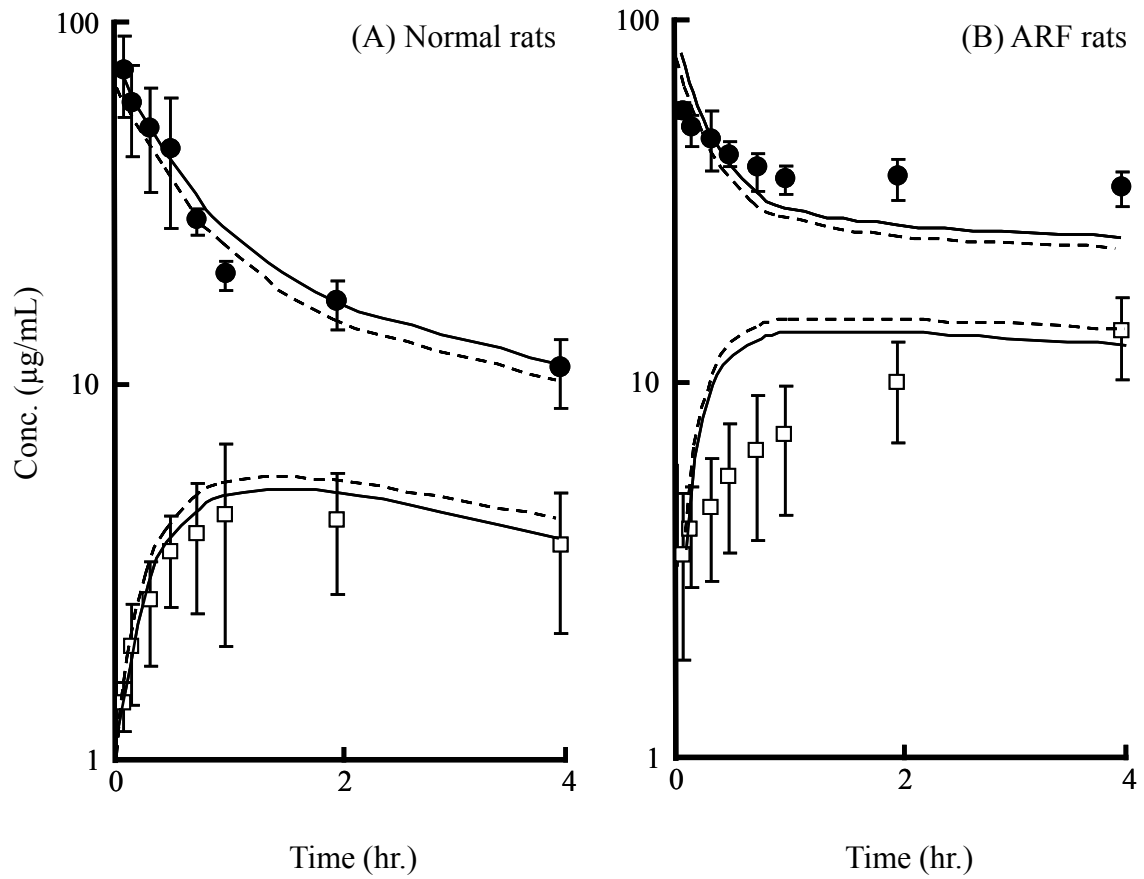


Fig. 14 Concentration-time profiles of CEZ in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Keys: ●, CEZ concentration in plasma; □, CEZ concentration in dialysate
 The left panel (A) and the right panel (B) represent the profiles in Normal and ARF rats, respectively. Results are expressed as the mean \pm S.D. of 3 experiments. All simulation lines (solid line: F=1.0, dotted line: F=1.2) were generated from the *dedPD*-PK model (Fig. 6) and the corresponding parameters (Tables 12 and 13).

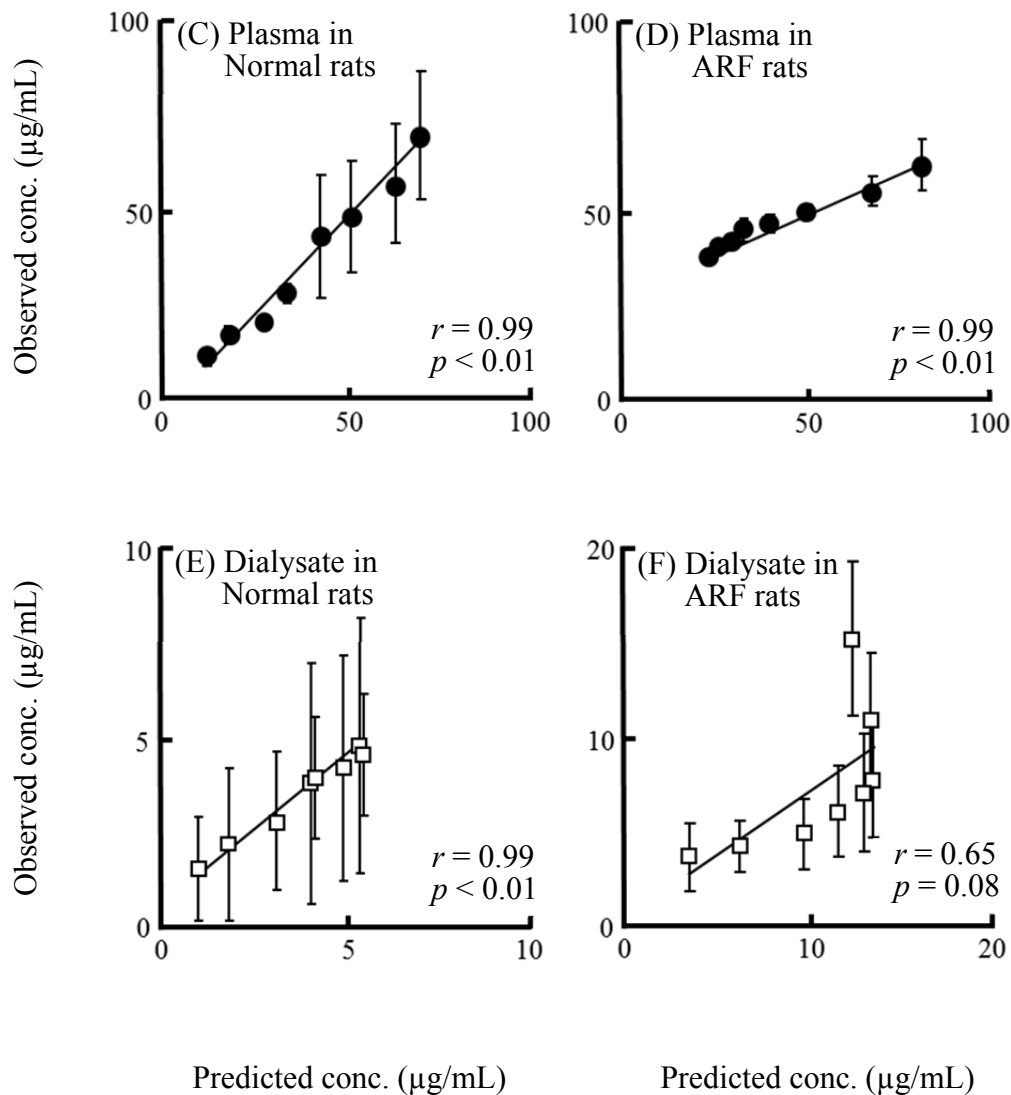


Fig. 15 Prediction accuracy for the profiles of CEZ in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Keys: ●, CEZ concentration in plasma; □, CEZ concentration in dialysate
 Prediction accuracy for profiles of CEZ in plasma ((C) and (D)) and in dialysate ((E) and (F)) in the *PD*-PK model is presented as predicted-observed relation.

4.3.3 小括 (セファゾリン)

非透析時の血漿中薬物動態から得られた PK パラメータを演繹的に補正し、構築した *dedPD*-PK model により予測した腹膜透析時のセファゾリンの血漿中薬物濃度推移は、Fig. 14 に示すように正常ラット及び ARF ラットにおいて

実測値を良好に予測していた。透析液中の薬物濃度推移については、Fig. 14に示すように正常ラットでは実測値と予測値が合っていたが、ARFラットでは乖離が認められた。ARFラットでは薬物動態に影響を及ぼすような何らかの変化が起きており、その変化は構築したモデルでは説明できなかった。

除水に関する補正係数 F が予測値に及ぼす影響については、 $F=1.0$ と $F=1.2$ の両方で予測を試みた (Fig. 14) が、これらの条件での予測値に大きな相違は認められず、いずれの場合も実測値とほぼ等しいものであった。従って、今回使用した透析液の浸透圧による影響は小さいと推察された。

セファゾリンは、腎臓の有機アニオントランスポーター (OAT) で輸送され、OAT3 発現量とセファゾリン消失速度に相関があることが報告されている⁶²⁾。また、腎不全時に体内に蓄積する CMPF、IS (Indoxyl sulfate)、HA (Hippuric acid) などの尿毒症物質が OAT によって血液中から尿細管細胞内に取り込まれるとの報告がある⁶³⁾。さらに、ラット腎不全モデルにおいて OAT の発現低下が報告されている⁶⁴⁻⁶⁸⁾。

以上から、腎不全時にはセファゾリンと尿毒症物質が OAT による輸送で競合阻害が起こっていること及び OAT 発現量の低下が起こっていることからセファゾリンの排泄が低下すると考えられる。本検証では、透析液中の実測値が予測値を下回った。腹腔で OAT がどの程度発現しているかは不明であるが、尿毒症物質による有機アニオン排泄低下が影響していると推察される。なお、OAT が尿細管以外にも骨細胞、血球細胞、筋細胞にも発現していることは報告されている⁶⁹⁾。

4.4 リチウムの血漿中及び腹膜透析液中濃度推移の検証

4.4.1 腹膜透析非施行時のリチウムの薬物動態パラメータ

香本らの研究⁷⁰⁾において、ラットにおける非透析時のリチウムの血漿中薬物濃度推移は、正常ラット及び ARF ラットのいずれの場合でも分布相 (α 相) と消失相 (β 相) の 2 相性が認められた。先行研究⁷⁰⁾において取得したリチウムの血漿中薬物濃度推移 (Fig. 16) を帰納的な速度論モデル (2-コンパートメントモデル) で解析し、第 2 章の式 5~12 で記述される各群の PK パラメータを非線形最小二乗法によるフィッティングにより推定した。血漿中薬物濃度

推移から推定した正常ラットとARFラットにおける非透析時のリチウムのPKパラメータをTable 14に示した。また、これらのパラメータから描出される血漿中薬物濃度推移をそれぞれFig. 16中に実線で示した。

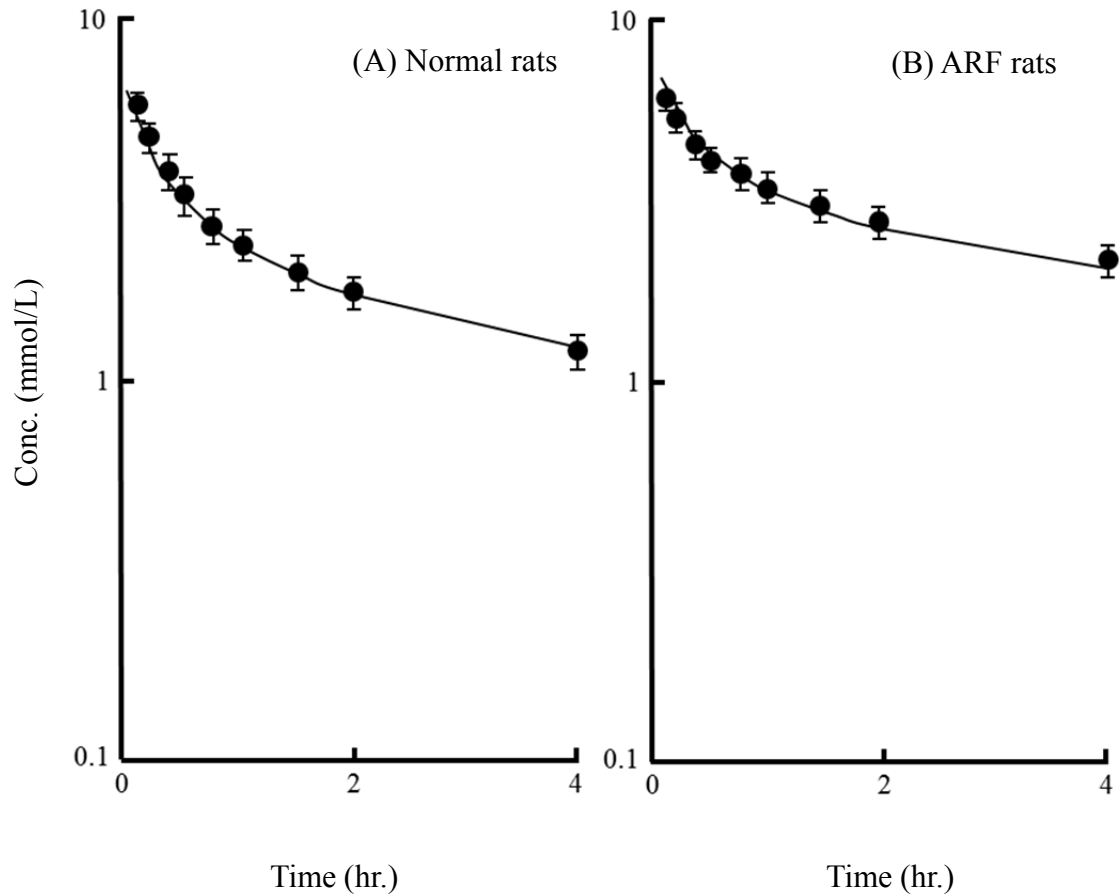


Fig. 16 Concentration-time profiles of Li in plasma after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Key: ●, Li concentration in plasma

The left panel (A) and the right panel (B) represent the profiles in Normal and ARF rats, respectively. Data are quoted by the previous report.⁷⁰⁾ Results are expressed as the mean \pm S.D. of 4 experiments. Each line represents the fitting curve drawn by the inductive PK parameters listed in Table 14.

Table 14 Pharmacokinetic parameters of Li based on 2-compartment model after i.v. bolus in injection in the non-PD condition

Parameter	Normal rats	ARF rats
A (mmol/L)	1.69 ± 0.16	1.67 ± 0.22
B (mmol/L)	1.21 ± 0.11	1.44 ± 0.31
α (hr ⁻¹)	3.00 ± 0.72	2.29 ± 0.66
β (hr ⁻¹)	0.167 ± 0.024	0.0630 ± 0.0099
k_{12} (hr ⁻¹)	1.45	1.13
k_{21} (hr ⁻¹)	1.35	1.10
k_{el} (hr ⁻¹)	0.371	0.132
V ₁ (mL/kg)	345	321
V ₂ (mL/kg)	369	329

4.4.2 腹膜透析時のリチウムの薬物動態推移の予測

次に、Table 14 に示した腹膜透析非施行時のリチウムの PK パラメータから *dedPD*-PK model (Fig. 6) に基づいて演繹的に補正し、腹膜透析施行時の PK パラメータを算出した (Table 15)。なお、Table 15 には、注入した腹膜透析液による除水に関する補正係数 F を 1.0 で算出した場合のパラメータを示した。

Table 15 Calculated deductive pharmacokinetic parameters of Li for the simulation by the *PD*-PK model in the PD condition

Parameter	Normal rats	ARF rats
P (mmol/L)	1.87	1.88
Q (mmol/L)	1.03	1.23
γ (hr ⁻¹)	2.74	2.05
δ (hr ⁻¹)	1.44 × 10 ⁻¹	5.43 × 10 ⁻²
k_{21PD} (hr ⁻¹)	1.06	8.42 × 10 ⁻¹
V _{2PD} (mL/kg)	469	429

次に Table 14 に示す k_{12} 及び Table 15 に示す演繹的に導出した PK パラメータを用いて腹膜透析時の薬物濃度推移を *dedPD*-PK model により予測し、実測値との比較を試みた。なお、リチウムの実測値データは、香本の関連先行研究⁷⁰⁾ で得られている値を使用した。リチウムを腹膜透析施行ラットに急速静脈内投与した時の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移を Fig. 17 に示した。なお、図中の実線及び点線は第 3 章の式 31 及び式 41 による予測薬物濃度推移を示しており、実線は透析液の容積変化がない $F=1.0$ の場合の、点線は除水効果の予測最大値である $F=1.2$ の場合の濃度推移予想である。図からも明らかなように、 F の変動 ($1.0\sim 1.2$) による予測曲線の違いはわずかであり、実質的な予測精度に及ぼす影響は小さいことが明らかとなった。

次に、*dedPD*-PK model の予測精度を確認するため、予測値を横軸に、実測値を縦軸にとり、両者の相関性を Fig. 18 に示した。なお、Fig. 18 では $F=1.0$ の結果のみを示した。

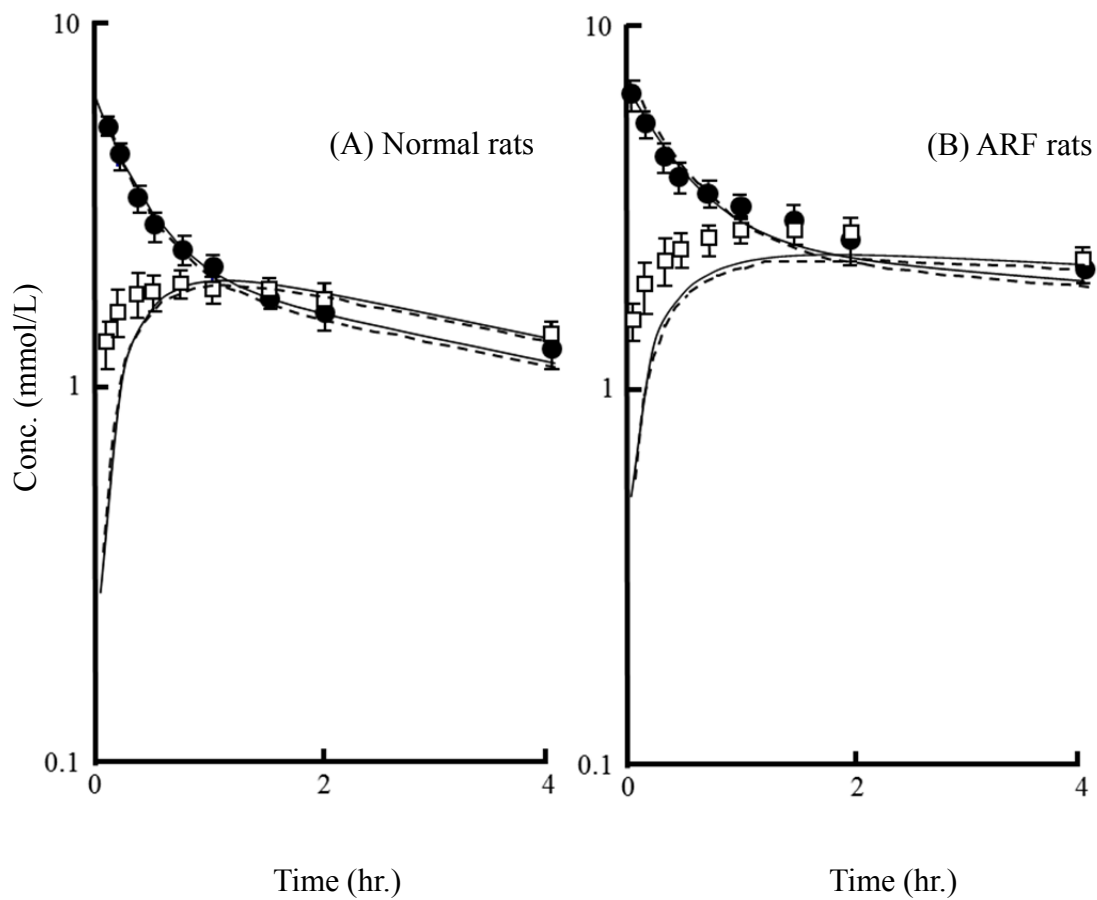


Fig. 17 Concentration-time profiles of Li in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Keys: ●, Li concentration in plasma; □, Li concentration in dialysate

The left panel (A) and the right panel (B) represent the profiles in Normal and ARF rats, respectively. Data are quoted by the previous report.⁷⁰⁾ Results are expressed as the mean \pm S.D. of 4 experiments. All simulation lines (solid line: F=1.0, dotted line: F=1.2) were generated from the *dedPD*-PK model (Fig. 6) and the corresponding parameters (Tables 14 and 15).

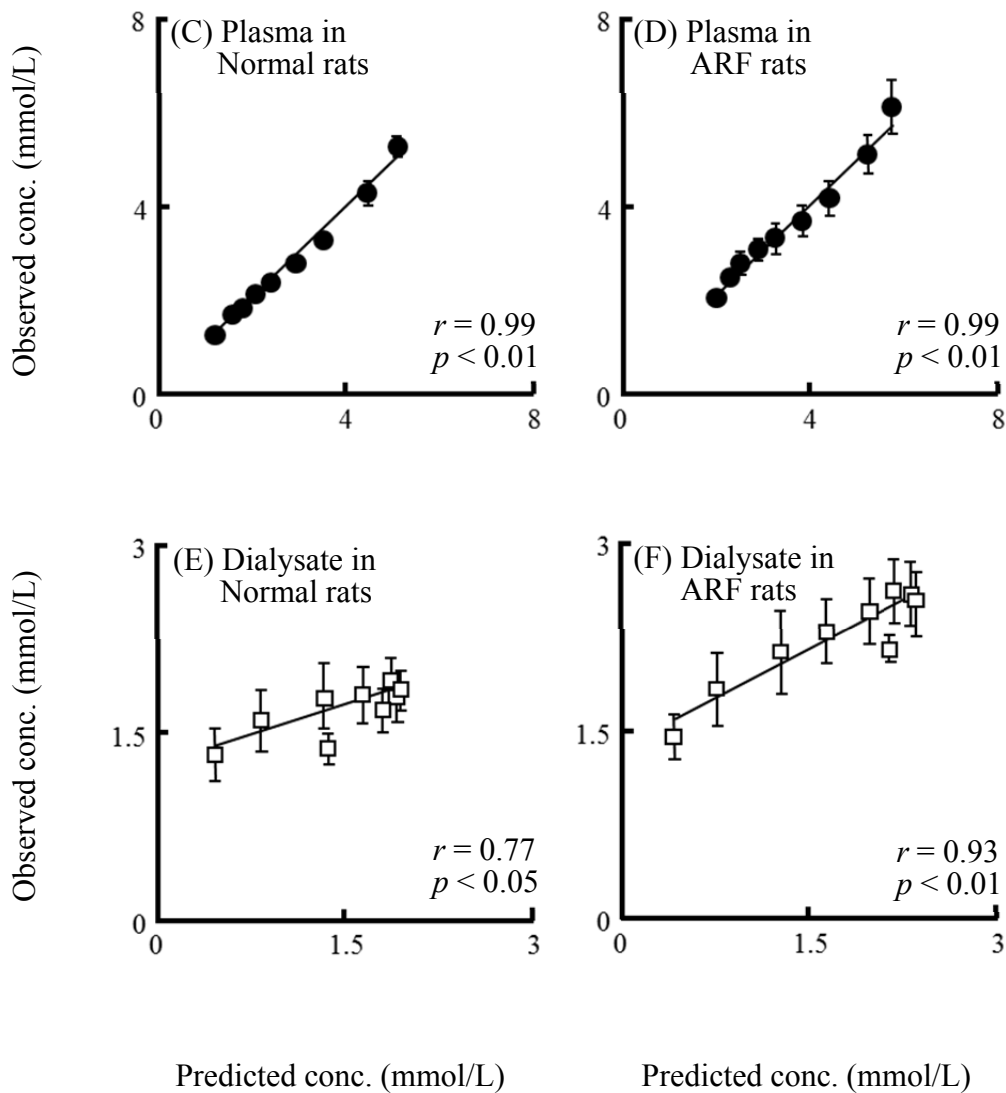


Fig. 18 Prediction accuracy for the profiles of Li in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in Normal and ARF rats

Keys: ●, Li concentration in plasma; □, Li concentration in dialysate
 Prediction accuracy for profiles of Li in plasma ((C) and (D)) and in dialysate ((E) and (F)) in the *PD*-PK model is presented as predicted-observed relation.

4.4.3 小括（リチウム）

非透析時の血漿中薬物動態から得られた PK パラメータを演繹的に補正し、構築した *dedPD-PK model* により予測した腹膜透析時のリチウムの血漿中薬物濃度推移は、Fig. 17 に示すように正常ラット及び ARF ラットにおいて実測値を極めて良好に予測していた。一方、透析液中の薬物濃度推移は、正常ラット及び ARF ラットの両方で実測値と予測値の間に相関性は認められたものの、数値としては 2 つの値の間に乖離が認められた。

除水に関する補正係数 F が予測値に及ぼす影響については、 $F=1.0$ と $F=1.2$ の両方で予測を試みた (Fig. 17) が、これらの条件での予測値に大きな相違は認められず、いずれの場合も実測値とほぼ等しいものであった。従って、今回使用した透析液の浸透圧による影響は小さいと推察された。

セファゾリンの場合と異なり、正常ラット及び ARF ラットの両方で実測値と予測値に差が認められたことから、ARF の病態に関わらず、リチウムの血液から透析液への移行が構築したモデルでは説明できないと考えられる。

生体に投与されたリチウム製剤は、体液中ではリチウムイオン (Li^+) として存在する。1 価の陽イオンである Li^+ は、細胞の活動電位を担うナトリウムイオン (Na^+) やカリウムイオン (K^+) よりも小さい。リチウムで実測値と予測値に乖離が生じた詳細な理由は不明であるが、極めて低分子のイオン性の薬物であることや生体内の他の 1 価のカチオンの輸送系の寄与など、今回構築した *PD-PK model* ではリチウムの体内動態特性を十分に記述できていなかったことが考えられた。

4.5 考察

4.5.1 血漿中薬物濃度推移の予測

今回検証した 4 つの薬物とも、良好な予測性が認められた。血漿中薬物濃度推移は、薬物の全身作用を示す指標であり、血漿中薬物濃度推移が精度良く予測できたことは、患者の全身作用性の薬物療法の有効性及び安全性の管理の面で非常に重要かつ有益であると考えられる。

4.5.2 透析液中薬物濃度推移の予測

今回、検証した4つの薬物のうちトルブタミド及びプロプラノロールについては、正常ラット及びARFラットともにその予測精度は極めて良好であった。これは、2つの薬物が受動拡散によって血漿中から透析液中に移行する薬物であり、このような性質を持つ薬物では透析液への移行を精度よく予測できたためと考えられる。

しかし、セファゾリンではARFラットで、リチウムでは正常ラット及びARFラットともに予測精度が低かった。これは、各薬物の項で述べたようにセファゾリン及びリチウムが持つ薬物特有の性質が影響しているものと考えられた。透析液中の薬物濃度が治療上意味を持つのは、主に腹膜炎治療に抗生物質を使用する場合であり、このような場合は特に注意が必要である。

通常、腹膜透析は透析液を1日に数回交換しながら長期間に渡って実施する治療法である。そして、透析液交換時に透析液中に存在する薬物が除去され、これが腹膜透析時の透析クリアランスとなる。本研究では、腹膜透析単回施行時の薬物濃度推移を予測したが、透析液の交換を考慮した腹膜透析時の薬物動態モデルを構築することにより、受動拡散によってのみ移行する薬物では透析液交換後の腹膜透析施行時の予測が可能と考えられる。今後は透析液交換による薬物動態変化を考慮した *dedPD*-PK model を発展させた予測モデルの構築が必要であると考えられる。

今回検証を行った薬物のうち、受動拡散で透析液に移行するトルブタミドとプロプラノロールは、血漿中蛋白結合率が高くかつ透析液への移行が小さいため、全身クリアランスに対する透析クリアランスの影響は小さかった。今後は、透析液への移行がある程度予想される薬物を用いて検証を行うことにより、全身クリアランスと透析クリアランスの関係をより明確にする必要があると考えられる。

4.5.3 蛋白結合

モデル薬物の血漿中蛋白非結合率に関わらず血漿中の薬物濃度推移の予測精度は、いずれの薬物も良好であった (Figs. 8, 11, 14 and 17)。

一方、Fig. 19 に示すように、各透析液採取時点での実測値と予測値の比を計

算し、算出した比を総採取時点で平均化することにより算出した腹膜透析液中薬物濃度推移の予測精度は、薬物の血漿中蛋白非結合率が低い(概ね 0.2 以下) 場合は 0.8 以上であったのに対し、非結合率が高い(概ね 0.2 以上) 薬物を ARF ラットに投与した場合の腹膜透析液中薬物濃度の場合は予測精度が若干低下する可能性が示唆された。今後、この予測精度の低下が直接的に薬物の血漿中蛋白非結合率と関係するか否かについては、蛋白非結合率が 0.5 前後の薬物で検討を行うことに加えて、腎不全時のトランスポーターによる輸送能の変化など、血漿中蛋白非結合率以外の要因についても検討する必要があると考えられた。

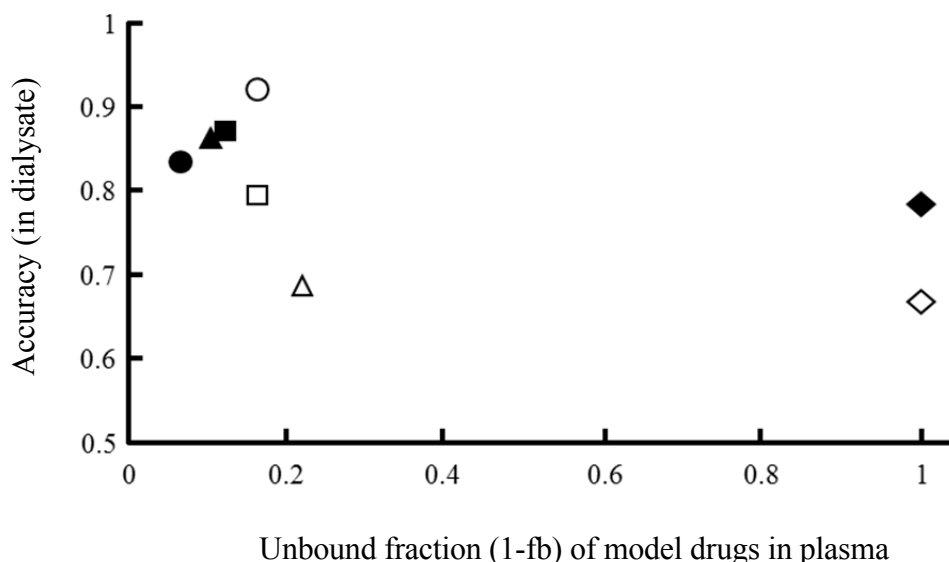


Fig. 19 Prediction accuracy in peritoneal fluid versus plasma protein unbound fraction (1-fb) in plasma of the model drugs in Normal and ARF rats

Keys: ●, ○, Unbound fraction of TB; ■, □, Unbound fraction of PPL; ▲, △, Unbound fraction of CEZ; ◆, ◇, Unbound fraction of Li
Closed symbols expressed as normal rats. Open symbols expressed as ARF rats.

4.5.4 分布容積

予測性が良好であったトルブタミドとプロプラノロールは、ヒトでの分布容積がそれぞれ 0.12 L/kg、3.6 L/kg であり、本研究で算出した正常ラットの分布容積でも 0.23 L/kg、4.6 L/kg と 2 つの薬物間で大きな差が認められた。いずれも良好な予測性を示したことから、分布容積の大小にかかわらず、蛋白結

合率を補正因子として組み込むことで良好な予測ができると考えられる。

4.5.5 除水の影響

本研究で評価したモデル薬物は、4 つともに透析液の浸透圧を考慮した除水の補正係数 $F=1.0$ 、 $F=1.2$ の結果に差は認められなかった。よって、今回使用したダイアニール®-N PD-2 1.5 では、透析液の浸透圧を考慮する必要はないと考えられた。Table 16 に日本で発売されている腹膜透析液の浸透圧比を記載した。浸透圧比は、最大で 1.8 程度であった。浸透圧比の大きい透析液での検討は行っていないが、大きければ除水による V_{PD} 及び V_{2PD} の増加による透析液中の薬物濃度推移に影響する可能性があると考えられる。

Table 16 腹膜透析液の浸透圧比一覧

製品名	浸透圧比	製品名	浸透圧比
ダイアニール®-N		ミッドペリック®	
PD-2 1.5, PD-4 1.5	1.2	135, L135	1.2
PD-2 2.5, PD-4 2.5	1.4	250, L250	1.4
PD-2 4.25, PD-4 4.25	1.7	400, L400	1.8
エクストラニール®	1.0	ペリセート®	
ステイセーフバランス®		360, 360NL	1.3
1/1.5, 2/1.5	1.2	400N	1.4
1/2.5, 2/2.5	1.4	400NL	1.5
1/4.25, 2/4.25	1.8	460	1.8

各製品の添付文書から抜粋

4.5.6 腹膜機能の変化を考慮したモデルの拡張

本章では、ラット ARF モデルを使って *dedPD*-PK model の検証を試みたが、本概念は実際の臨床での個々の腎不全患者での薬物動態の予測あるいは治療管理への応用が求められる。一般に、腎不全患者の病態や合併症の状況、さらには併用薬の投与状況は多岐であり、通常の数値モデルにこれらの要因を逐次

組み込んだモデルは、例え構築できたとしても個々の患者により変動するパラメータ数が多くなるため構築したモデル及び変動させるパラメータの適正を検証することは事実上不能である。しかし、本章で検証したように *PD*-PK model のパラメータとして、注入する腹膜透析液量と対象とする薬物の蛋白非結合率により演繹的に補正したパラメータを組み込んで構築した *dedPD*-PK model により、種々の薬物の血漿中濃度推移が予測可能であることが明らかとなった。本章で得られた知見は、腹膜透析施行時の透析液交換による薬物除去動態を精度よく予測するための基礎的な知見として重要である。血漿中濃度推移に比べ、予測精度が低かった腹膜透析液中濃度の予測については、トランスポーターの病態変化や併用薬物の共存による影響に関する *in vitro* での知見を新たにモデルに組み込むことで予測性の改善が期待される。本節では、このような試みのひとつとして、腹膜機能の変化をモデルに組み込むことを試みた。

腹膜透析を長期間行うと、半透膜の機能が低下してくることが知られている^{4),71)}。今回の研究で用いた動物モデルは、急性腎不全の病態であり、腹膜の半透膜機能低下は考慮していないが、実際に臨床で応用する場合は考慮する必要がある。そこで、この腹膜機能変化を考慮し、式の拡張を考えた。*dedPD*-PK model の式 30 に、末梢コンパートメントと透析液コンパートメント間の移行動態変化に数学的な重みを与えるパラメータとして補正係数 **K** を設定し、式 42 とした。この定数 **K** は、腹膜機能低下だけでなく、その他の腎不全時の病態を考慮する際にモデルに組み込んで使用することができるパラメータである。また、このパラメータとしては、数学的な観点からは逆数や指数関数に近似したパラメータとして組み込むことも可能であり、今後、モデルの改良を行う際に一定の自由度を付与することができる。

$$V_{2PD} = V_2 + \underline{K} \cdot F \cdot V_{PD} \cdot (1 - f_b) \quad (\text{式42})$$

本研究でのこれまでの検討は、**ARF** ラットを使用した単回透析の研究であるので、**K** の変化を考慮せずに検証実験を実施した (**K**=1 として実施した) ものである。この補正係数 **K** の導入の要否については、今後の腹膜透析に係る病態の臨床研究の進展を待つことになるが、導入に際しては *in vitro* 実験などか

ら別途検討を行い、適当な定数あるいは近似関数を推定する必要がある。

4.6 本章の総括

4.6.1 検証結果について

本章では、正常ラットと ARF ラットにおける非透析時の血漿中薬物濃度推移から腹膜透析施行時の薬物動態を予測し、実測値との比較を行った。4 つのモデル薬物で検証を行い、以下の知見を得た。

- ・全身作用の指標となる血漿中薬物濃度の予測精度は、全てのモデル薬物で良好であった。
- ・受動拡散によって血漿中から透析液中に移行する薬物の透析液中薬物濃度の予測精度は良好であった。
- ・トルブタミドは ARF 時に蛋白結合率が低下し、透析液への移行が増加するが、この変化は予測に影響を与えなかった。
- ・トランスポーターの基質になる薬物では、病態時にトランスポーターの寄与度が変化することにより、予測精度が下がる可能性がある。
- ・今回構築した *PD*-PK model ではイオン性薬物の体内動態特性を十分に記述できていなかった可能性がある。
- ・腹膜透析液の浸透圧比が 1.2 程度であれば、除水の影響は少ない。

4.6.2 *dedPD*-PK model を用いた予測法の利点

検証結果から得られた *dedPD*-PK model を用いた予測法の利点は、以下の通りである。

- ・検証を行ったいずれの薬物でも血漿中の薬物動態は精度よく予測ができたことから全身暴露の評価では本予測法を適用しても問題ないと考えられる。
- ・臨床での患者個人ごとの病態は非常に様々であるが、全身クリアランスに影響を与える薬物の蛋白結合変化に起因する薬物動態変化に対応できると考えられる。
- ・母集団薬物動態 (PPK) 解析と比較して以下の点が挙げられる。
 - 大規模なデータ収集が不要である。
 - 解析担当者による予測結果の差が小さい。

4.6.3 今後の課題

腹膜透析は、透析液を1日に数回交換しながら長期間に渡って実施する治療法である。本研究では、腹膜透析単回施行時のモデル構築しかできておらず、今後は透析液交換による薬物動態変化を考慮した *dedPD*-PK model を発展させた予測モデルの構築が必要であると考えられる。

一方、臨床における腹膜機能低下等の病態変化を加味する必要がある場合は、本研究で構築した *dedPD*-PK model は、さらに、末梢コンパートメントと透析液コンパートメント間の移行動態変化に数学的な重みを与えるパラメータとして補正係数 K (式 42) として導入することで、長期の腹膜透析施行時に臨床上問題が提起されている腹膜機能の変化を加味した予測も可能となると推察される。

本章の検討では、血漿中蛋白結合は薬物投与実験に使用した個体とは別の個体から算出しかつ平均値を使用していることから病態のばらつきを正確に考慮できていない。また、透析液量も体重換算で同一にしていることから、この点でも個体差を考慮できていない。実際の臨床に応用した場合は、個々の患者ごとに病態が大きく異なっており、この個体差を考慮する必要がある。今後、患者の病態に合わせた個別化の医療は進んでいくと予想されることから、本研究でもより精度の高い評価をしておく必要があると考え、次章では個体ごとに演繹的補正を行うことによる個別化予測を行うこととした。

第 5 章 *dedPD*-PK model の個別化予測への応用

第 4 章の検証では、非透析時の血漿中薬物濃度推移（平均値）と他個体から得られた蛋白非結合率の平均値、固定した透析液量を用いた予測を行い、検証を行った。しかし、これでは、実際の患者での適用について限界があると考え、個体ごとの予測を試みた。臨床で本予測法を個々の患者の薬物動態予測へ応用する場合には、患者の様々な病態を考慮した投与計画が必要となる。このため、本章では、トルブタミドを試験薬として個々の ARF ラットでの薬物動態予測を試みることにより、個別化予測への *dedPD*-PK model の応用について検討を行った。個々の ARF ラットから採血して得た血漿を用い、*in vitro* でトルブタミドの被検ラット血漿中での蛋白結合率を測定し、透析液量についても個体間で変動がある場合について、*dedPD*-PK model の有用性の検証を行った。本検討は 4 例で実施した。

5.1 個別化予測の検証

5.1.1 個々の ARF ラットの病態指標と蛋白非結合率

第 4 章で行った検証と比較して以下の点を変更した。

- ・蛋白非結合率 ARF 群としての平均値 → 個体ごとの測定値
- ・透析液量 体重換算で 10% → 全個体 30 mL で統一
- ・薬物濃度推移の予測と評価 ARF 群の平均 → 個体ごと

各個体の蛋白非結合率、透析液量及び BUN を Table 17 に示した。同一個体から薬物濃度測定用の採血と蛋白結合測定用の採血を実施することから、採血量が多くなる。これにより、採血量を減らすため、病態の指標は BUN のみを確認した。なお、各個体で蛋白非結合率と BUN に明らかな相関は認められなかった。

Table 17 Plasma protein unbinding (1-fb) of the TB, volume of dialysate (V_{PD}) and BUN in ARF rats

Parameter	ARF rats			
	No.1	No.2	No.3	No.4
1-fb	0.086	0.134	0.092	0.077
V_{PD} (mL/kg)	125	100	111	80
BUN (mg/dL)	106.0	136.2	108.4	89.4

5.1.2 各個体での透析時の薬物動態推移の予測

次に、*dedPD*-PK model に基づいて Table 17 の 1-fb 及び V_{PD} の結果を用いて演繹的に補正により PK パラメータを導出し、Table 18 に示した。なお、Table 18 では、補正係数は $F=1.0$ で算出した結果のみ示した。

Table 18 Calculated deductive pharmacokinetic parameters of TB for the simulation by the *PD*-PK model in the PD condition

Parameter	ARF rats			
	No.1	No.2	No.3	No.4
P ($\mu\text{g/mL}$)	50.86	51.02	50.77	50.50
Q ($\mu\text{g/mL}$)	26.44	26.28	26.53	26.80
γ (hr^{-1})	1.23	1.23	1.24	1.24
δ (hr^{-1})	9.99×10^{-3}	9.93×10^{-3}	1.00×10^{-2}	1.01×10^{-2}
k_{21PD} (hr^{-1})	4.28×10^{-1}	4.25×10^{-1}	4.31×10^{-1}	4.37×10^{-1}
V_{2PD} (mL/kg)	237	240	236	233

4 章で得られた非透析時の PK パラメータ及び Table 18 のパラメータを用いて腹膜透析時の薬物濃度推移を予測し、実測値との比較を試みた。トルブタミドを腹膜透析施行の ARF ラットに急速静脈内投与した際の血漿中及び透析液中の薬物濃度推移を Fig. 20 に示した。なお、図中の実線は第 3 章の式 31 及び式 41 による予測薬物濃度推移を示し、 $F=1.0$ のものである。

4例の薬物動態学的な差を確認するために、全身クリアランスと血漿中及び透析液中の薬物濃度曲線下面積（Area under the concentration curve : AUC）をTable 19に示した。

予測値の精度を確認するため、予測値を横軸に、実測値を縦軸にとり、両者の相関性を Fig. 21 に示した。

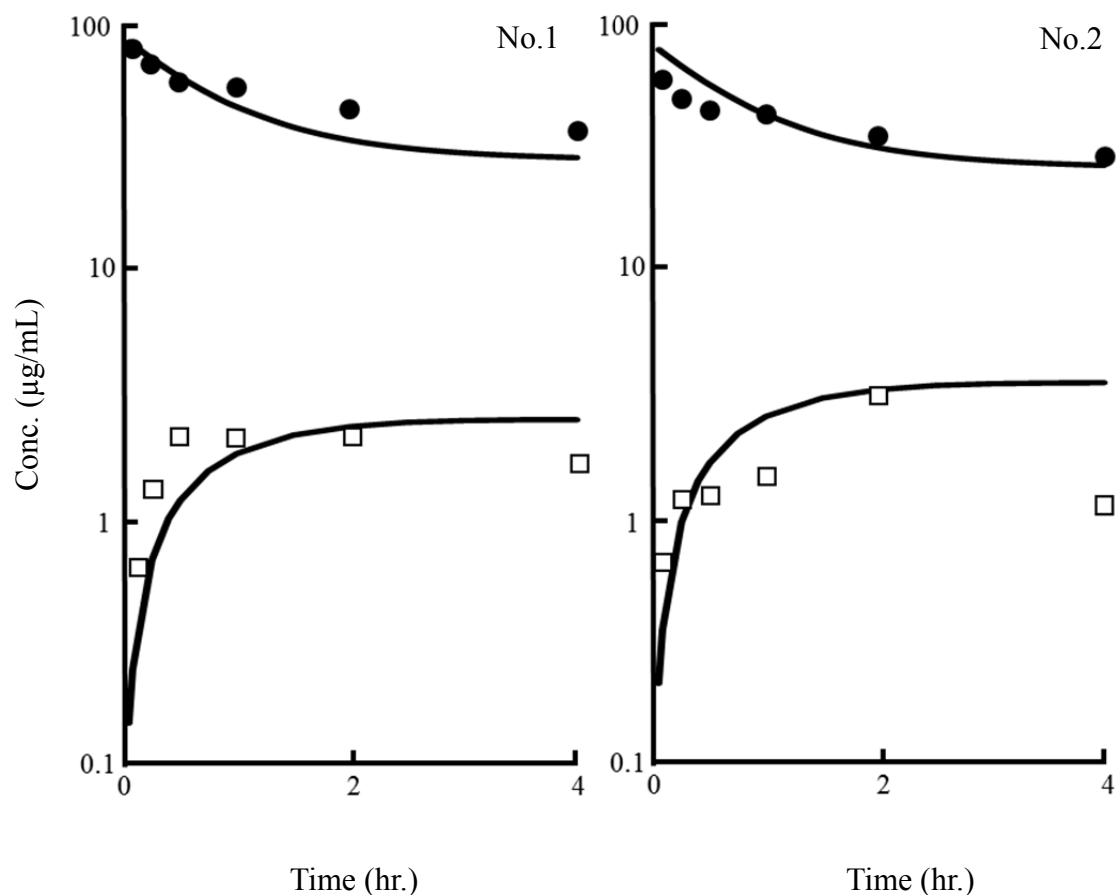


Fig. 20 Concentration-time profiles of TB in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in ARF rats

Keys: ●, TB concentration in plasma; □, TB concentration in dialysate
 All simulation lines ($F=1.0$) were generated from the *dedPD*-PK model (Fig. 6) and the corresponding parameters (Tables 8 and 18).

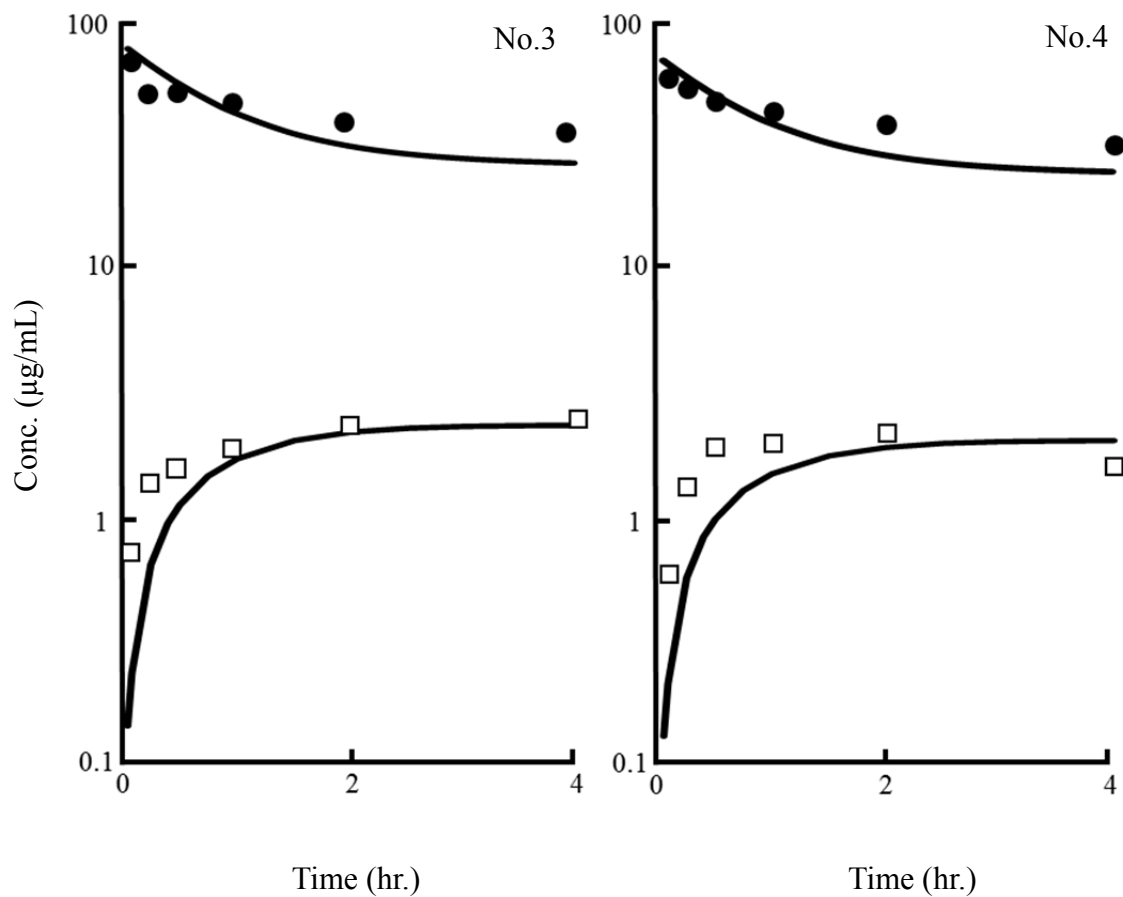


Fig. 20 Continued

Table 19 Pharmacokinetic parameters of TB after i.v. bolus administration to ARF rats

Parameter	ARF rats			
	No.1	No.2	No.3	No.4
CL_{total} (mL/hr/kg)	23.92	29.20	20.57	21.50
$AUC_{Plasma(0-4)}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	169.40	141.41	160.89	167.41
$AUC_{Dialysate(0-4)}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	7.12	7.48	8.27	7.56

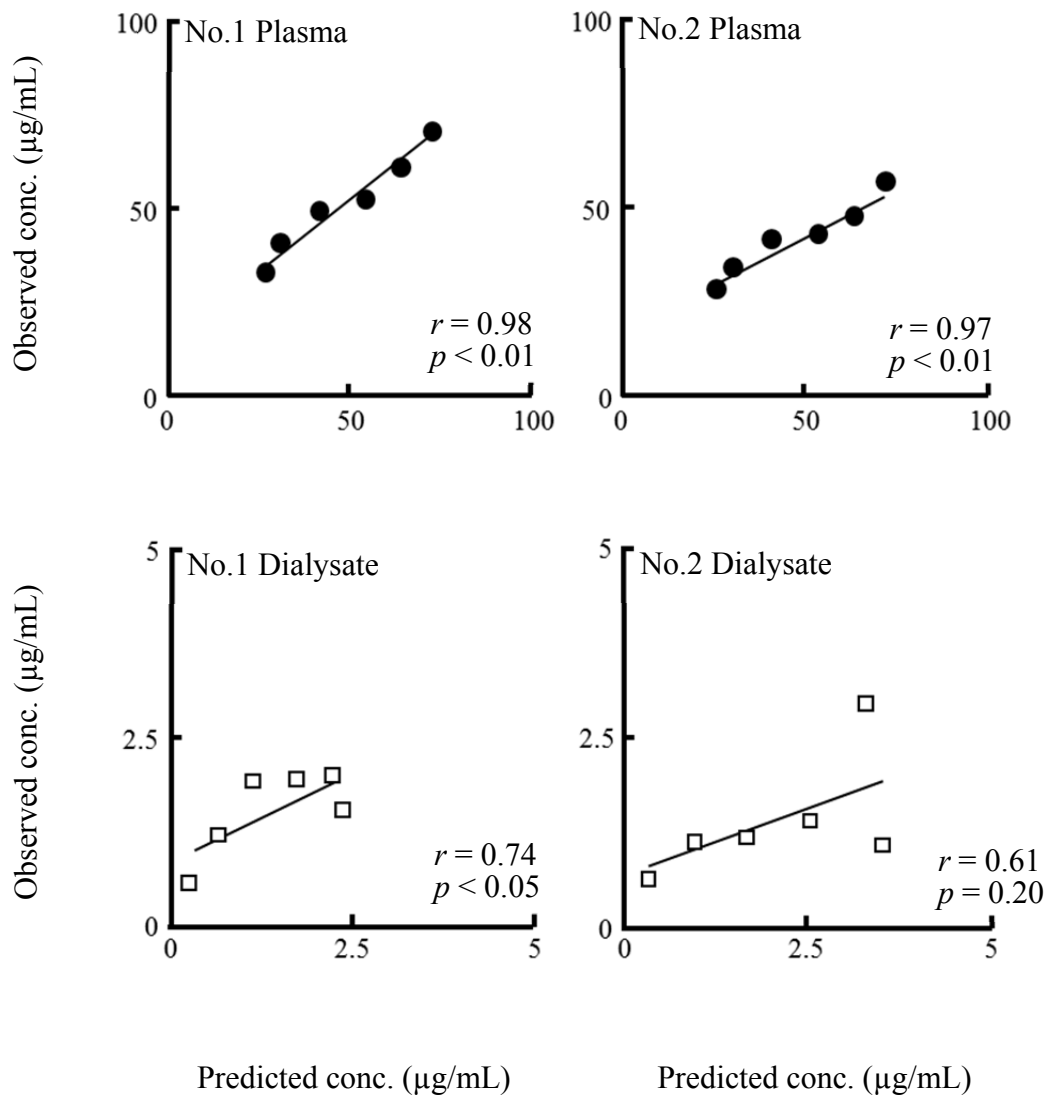


Fig. 21 Prediction accuracy for the profiles of TB in plasma and in peritoneal dialysate after bolus i.v. injection in ARF rats

Keys: ●, TB concentration in plasma; □, TB concentration in dialysate
 Prediction accuracy for profiles of TB in plasma (Upper panels) and in dialysate (Under panels) in the *PD*-PK model is presented as predicted-observed relation.

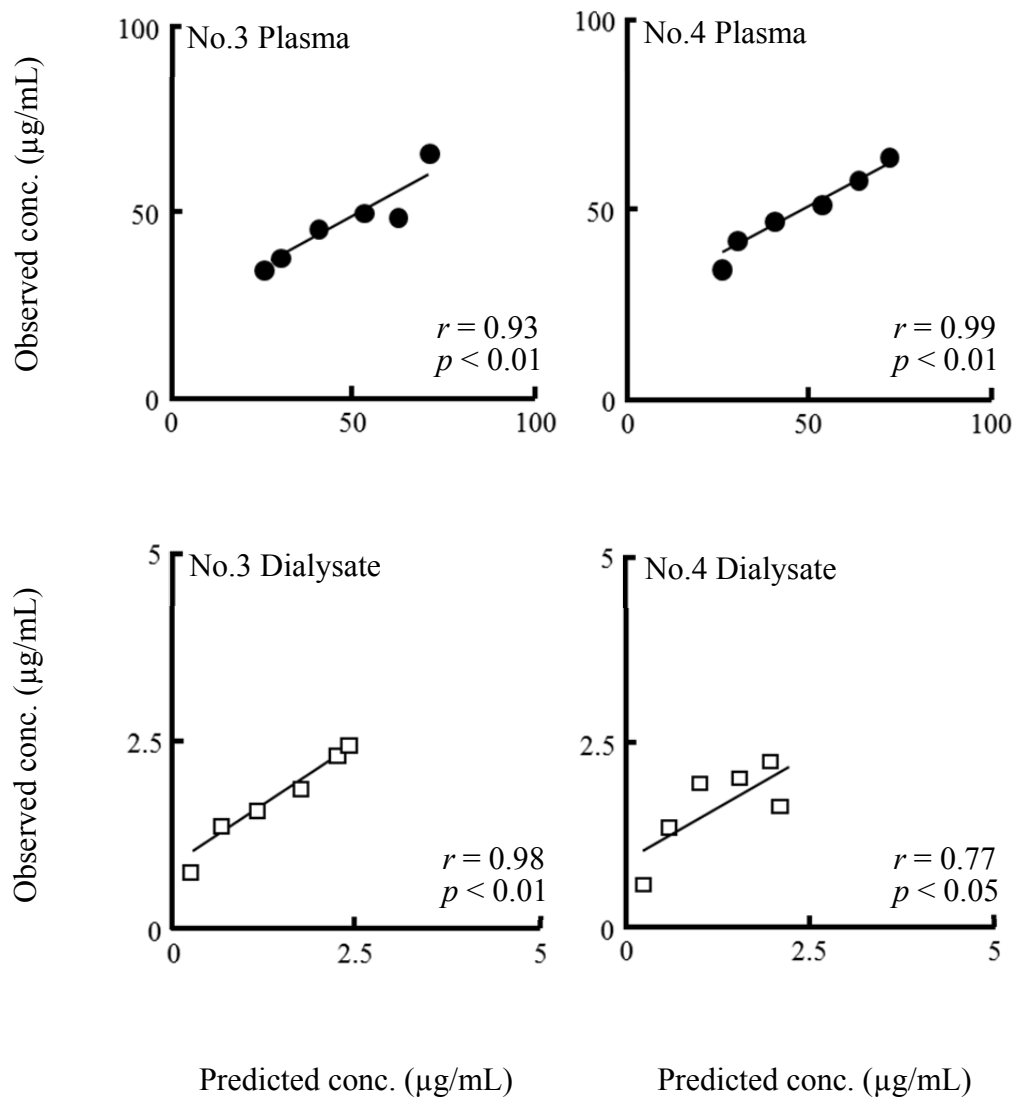


Fig. 21 Continued

5.2 考察

4例のARFラットについて、トルブタミドの血漿中蛋白非結合率を算出したところ、約1.7倍の差が認められた。実験的に作成した動物モデルでもこの程度の差があることから、実際の臨床では、患者の病態に起因する蛋白非結合率の差はこれよりも大きくなると推察される。従って、患者ごとに薬物の蛋白非結合率を測定した上で、予測を行うことは重要である。

ARF ラットにおける非透析時の血漿中薬物濃度推移から各個体の蛋白結合率と透析液量を演繹的な補正因子として使用し、腹膜透析施行時の薬物動態を予測し、実測値との比較を行った。4 例で実施し、いずれも血漿中の薬物濃度推移を良好に予測していた。透析液中の薬物濃度は No.2 の個体で実測値と予測値に相関が認められなかったが、これは投与後 4 時間の実測値と予測値の乖離が大きかったためと考えられる。その他の時点では、実測値と予測値に大きな乖離は認められなかった。

また、今回検討を行った 4 例での個体差は全身クリアランスで約 1.4 倍、AUC は血漿中及び透析液中ともに約 1.2 倍であった。腹膜透析を施行している慢性腎不全患者では、尿毒物質の蓄積や併用薬物などの影響により蛋白非結合率及び薬物動態の個体間差はさらに大きくなる場合があると推察されるので、その患者で蛋白非結合率を測定し、これに基づいた演繹的補正による体内動態の予測は薬物投与設計において有用な手段となるものと推察される。

ラットにおいて個体ごとの演繹的補正パラメータによる本モデルの予測性を検証しても良好な結果が得られたことから、トルブタミドに関してはヒトでも患者個人の対象薬物の蛋白結合率を測定し、演繹的補正に組み込むことにより良好な予測が可能となることが示唆された。透析を実施するような末期腎不全患者においては病態及びこれに起因する薬物の血中蛋白結合率が変化することが予想される。特に本研究で注目した薬物の蛋白結合率は、病態の進行具合や併用薬物により大きく変化する可能性があり、透析液への移行を含めた薬物動態に大きく関係することから、患者ごとに結合率を測定し、モデルに組み込んで血漿中及び透析液中の薬物濃度推移を予測することは、薬物治療の薬効を保証し、安全性を確保する上で必須であると考えられる。

腹膜透析液量についても、患者ごとに治療方針が作成されていることから、本モデルに組み込む重要な個別化パラメータの一つである。実際の臨床では、透析液量の注入量は 1 回あたり 2 L であることが多い。本研究に換算すると 30~40 mL/kg となり、実験の 100 mL/kg よりも少ない。本章では、透析液量に幅を持たせて検討を行っても予測精度に問題なかったことから、実際の臨床に適用した時でも透析液量の注入量が予測精度に与える影響は小さくなる可能性が示唆された。

以上から、本予測法を臨床に応用した時に、個々の患者の蛋白結合率変動の違いを反映した予測に対応できる可能性が示唆された。本研究で構築した *dedPD*-PK model は、腹膜透析患者の個別化薬物投与設計に際しての血漿中及び透析液中の薬物濃度推移の簡便で合理的な予測法に関する基礎的な知見として有用であると考えられる。

総 括

腹膜透析時の薬物動態に関する情報は十分ではない。腹膜透析を施行していない状況下で得られた薬物動態情報から、腹膜透析時の薬物動態が予測できれば、腹膜透析患者に対する薬物治療を設計する上で非常に有益である。本研究では腹膜透析施行時の薬物濃度推移を推定する基礎的理論を構築し、4つのモデル薬物を用いてラットを動物モデルとした検証を行い、以下に示すような知見を得た。

- 1) トルブタミドの腹膜透析時の血漿中薬物濃度推移が2相性を示し、2-コンパートメントモデルで解析を行ったところ、末梢コンパートメント中の薬物濃度の予測値と透析液中の薬物濃度の比がほぼ一定であった。このことから、透析液のコンパートメントは速度論的に2-コンパートメントモデルの末梢コンパートメントに帰属することが示唆された。そこで、2-コンパートメントモデルに腹膜透析液の注入に由来する論理的な修正を加えた腹膜透析時薬物動態モデル (*PD-PK model*) を構築した。
- 2) *PD-PK model* について、さらに、腎不全時の薬物の腹膜透析液中への移行に関するPKパラメータの演繹的な補正因子として腹膜透析液量及び病態時に全身クリアランスに影響を与える血漿中蛋白非結合率を組み込んだ新たなモデル (*dedPD-PK model*) を構築した。
- 3) 4つのモデル薬物（トルブタミド、プロプラノロール、セファゾリン及び塩化リチウム）を用いて、正常ラット及びARFラットにおける非透析時の血漿中薬物濃度推移から *dedPD-PK model* により、腹膜透析施行時の薬物動態を予測し、実測値との比較を行った。
 - ・全身作用の指標となる血漿中薬物濃度の予測精度は、全てのモデル薬物で良好であった。
 - ・受動拡散によって、血漿中から透析液中に移行する薬物では、透析液中の薬物濃度推移を良好な精度で予測できた。

- ・トルブタミドは ARF 時に蛋白結合率が低下し、透析液への移行が増加するが、この変化は予測に影響を与えなかった。
- ・トランスポーターの基質になる薬物では、病態時にトランスポーターの寄与度が変化することにより、予測精度が下がる可能性がある。
- ・今回構築した *PD*-PK model ではイオン性薬物の体内動態特性を十分に記述できていなかった可能性がある。

4) トルブタミドについて、個体ごとの血漿中蛋白非結合率、透析液量を演繹的な補正因子としてモデルに組み込み、腹膜透析時の薬物濃度推移を予測し、実測値との比較を行った。4 例で実施し、血漿中及び透析液中薬物濃度推移を良好に予測していた。実測の血漿中蛋白非結合率、実際の透析液量で補正しても実用的な予測結果が得られた。

このことから、本予測法を臨床に応用した際に、個々の患者の蛋白結合率変動の違いを反映した予測に対応できる可能性が示唆された。本研究で構築した *dedPD*-PK model は腹膜透析患者の個別化薬物投与設計に向けた基礎的知見として提案できると考える。

以上、本研究で構築した *dedPD*-PK model は腹膜透析患者の個別化薬物投与設計に向けた基礎的知見として提案できると考える。

実験の部

第 1 章 実験の部

1.1 グリセリン筋注法による ARF ラットの作成

1.1.1 試薬

グリセリンはキシダ化学（大阪）から購入した。生理食塩水で 50%に希釈して使用した。

1.1.2 実験動物

実験には、体重 250～330 g Wistar 系雄性ラット（日本チャールス・リバー、横浜）を用いた。動物は、ステンレス製 5 連ケージ内に 2 匹ずつ飼育し、餌及び水は自由に与えた。飼育室の相対湿度を 40～50%、室温を 20～25℃に維持し、12 時間の明暗サイクル（点灯 AM 8:00、消灯 PM 8:00）に設定した。

1.1.3 グリセリン投与

24 時間脱水したラットに、50%グリセリンを 10 mL/kg の割合で大腿部に筋肉注射し、24 時間後に実験に使用した。その際、50%グリセリンは二等分割して両側の大腿部にゆっくりと筋肉注射した。なお、注射部位からの液漏れを防ぐため、瞬間接着剤を使用して傷口を接着した。50%グリセリン投与後は、水は自由に与えた。

1.2 ARF ラットの病態評価

1.2.1 血中尿素窒素（BUN）の測定

尿素窒素 B-テストワコー（和光純薬工業、大阪）を用いて血清中の尿素窒素濃度の測定を行った。

測定原理：ウレアーゼ・インドフェノール法

試料にウレアーゼを作用させると、試料中の尿素がアンモニアに分解される。このアンモニアは、ニトロプルシッドナトリウムの存在下でサリチル酸と次亜塩素酸と反応してインドフェノールを生成する。このインドフェノールのアルカリ性で呈する青色の吸光度を 570 nm で測定することにより、試

料中の尿素窒素濃度を求める。

1.2.2 血中クレアチニンの測定

Creatinine Assay Kit (BioVision, Milpitas, CA, USA) を用いて血清中のクレアチニン濃度の測定を行った。

測定原理 : Jaffe 反応

試料に除蛋白試液を加えて遠沈後、上清を分離する。この上清にピクリン酸を作用させると、試料中のクレアチニンはアルカリ溶液中でピクリン酸と反応して橙赤色の縮合物を生じる (Jaffe 反応)。この橙赤色の吸光度を 520 nm で測定することにより試料中のクレアチニン濃度を求める。

1.3 モデル薬物の蛋白結合測定

1.3.1 試薬

トルブタミド (TB) は Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) から、塩酸プロプラノロール (PPL) 及びセファゾリンナトリウム (CEZ) はナカライテスク (京都) から購入した。他の全ての試薬は特級品を用いた。

1.3.2 サンプル調製

正常ラット及び ARF ラットから血漿を採取し、*in vitro* で薬物の蛋白結合率を算出した。ARF ラットの血漿は、薬物投与あるいは腹膜透析を実施していない動物から採取した。*In vitro* で蛋白結合を測定する場合、同一個体からの血漿が相当量 (本研究では約 1 mL) 必要となるため第 4 章に論述する薬物投与を行った個体とは別の個体から採取した血漿を使用した。

採取した血液は、3,000 g で 10 分間遠心分離した。得られた血漿 490 μ L に、あらかじめ最終濃度の 50 倍となるように薬物を溶解させた溶液 (添加溶液) を 10 μ L 添加した。なお、添加溶液中の有機溶媒量は、血漿に添加後の最終濃度が 1%以下となるようにした。Table 20 にモデル薬物の最終濃度及び添加溶液の溶媒を示した。

Table 20 Final concentration and vehicle for stock solution for model drugs

Drug	Final concentration	Vehicle for stock solution
TB	100 µg/mL	MeOH
PPL	1 µg/mL	H ₂ O
CEZ	100 µg/mL	MeOH

薬物混合後の血漿試料を限外ろ過膜チューブ（Amicon® Ultra-0.5 Centrifugal Filter Devices, Millipore, Billerica, MA, USA）に充填し、14,000 *g*で10分間遠心分離を行い、限外ろ過液を得た。限外ろ過前の血漿試料及び得られた限外ろ過液にろ過処理した3倍量のメタノールを加え、よく攪拌した後再度3,000 *g*で10分間遠心分離し、この時の上清を血漿試料とした。HPLCを用いて血漿試料中の薬物濃度を測定し、それぞれ血漿中全薬物濃度（Ct）及び非結合形薬物濃度（Cf）とした。結合形薬物濃度（Cb）は、Ct及びCfを用いて式43から算出した。

$$C_b = C_t - C_f \quad (\text{式 43})$$

さらに、蛋白結合率fbは、式44から算出した。

$$fb = C_b / C_t \quad (\text{式 44})$$

1.3.3 薬物の定量

血漿試料中の薬物濃度は逆相系高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて定量した。クロマトグラフィーにはLC-10ATvpポンプ（島津製作所、京都）、CRO-6Aカラムオーブン（島津製作所）、Inertsil ODS逆相系カラム（4.6 mm i.d. × 150 mm, GL Science）を用いた。薬物の検出には、SPD-10A紫外外部検出器（島津製作所）又はRF-10AXL蛍光検出器（島津製作所）を用いた。その他の測定条件をTable 21に示す。

Table 21 Analytical condition for HPLC

Drug	Mobile phase	Flow	Wave
TB	0.05% phosphoric acid : 2-propanol : MeOH (45 : 2 : 53)	1.0 mL/min	228 nm (UV)
CEZ	0.1 mol/L potassium phosphate : MeOH (73 : 27)	1.0 mL/min	272 nm (UV)
PPL	10 mmol/L phosphate buffer (pH 2.15) : MeOH (63 : 37)	1.2 mL/min	293 / 356 nm (FL)

1.3.4 統計処理

得られた実測値は、平均値±標準偏差で示し、2群間の差については Student の t 検定を用いて統計学的に検討し、危険率 5%以下を有意差ありと判定した。

第 2 章 実験の部

2.1 実験材料

2.1.1 試薬

第 1 章 実験の部に示した試薬に加え、次の試薬を用いた。ウレタン (ethyl carbamate) は石津製薬 (大阪) から購入し、生理食塩水に溶解し 30%に調製したものを用いた。ダイアニール®-N PD-2 1.5 腹膜透析液はバクスター (東京) から購入した。その他の全ての試薬は特級品を用いた。

2.1.2 実験動物

第 1 章に準ずる。

2.1.3 ARF ラットの作成

第 1 章に準ずる。

2.2 投与実験

2.2.1 実験方法

ラットの体重を測定し、ウレタン麻酔の投与量 (3.3 mL/kg) を決定後、ラットの後頭部の皮下に注射した。さらに、頸静脈部と大腿静脈部の皮膚を除去

し、両血管を露出させた。腹膜透析非施行実験では、この後に薬物投与を行った。一方、腹膜透析施行実験では、さらにシリコンカテーテル（カテーテル長 30 mm, I.D. 0.95 mm, O.D. 1.30 mm トップ、東京）をサーフロー®留置針 18G（テルモ、東京）を用いて腹部右下の皮下に挿入し、ニードルのみを引き出し、瞬間接着剤（アロンアルファ、東亜合成、東京）で安定に固定し、三方活栓（トップ）を取り付けた。あらかじめ 37°C に加温しておいた透析液（体重の 10%、100 mL/kg）を取り付けた三方活栓から 1 分以上かけてゆっくりと注入し、腹膜透析を開始した。腹膜透析開始後、すぐに薬物投与を行った。

薬物は大腿静脈から約 1 分間かけて急速投与した。薬物投与後、血液及び透析液を投与後 4 時間まで経時的に回収し、実験の部 2.2.2 に示す方法で処理し、血漿及び透析液試料を得た。採血回数は、TB 及び Li は 9 回、PPL 及び CEZ は 8 回実施した。

2.2.2 検体の処理

血液及び透析液の回収は、それぞれ 250 μ L 及び 300 μ L とした。血液はヘパリン処理したポリエチレンチューブに回収後、遠心分離（3,000 g、10 分間）した。上清にろ過処理した 3 倍量のメタノールを加え、よく攪拌した後、再度遠心分離（3,000 g、10 分間）した。この時の上清を血漿サンプルとした。透析液は、腹腔から直接採取し、マイクロフィルター（Cosmonice Filter W 0.45 μ m、ナカライテスク）で加圧ろ過したものを透析液サンプルとした。

2.2.3 薬物の定量

トルブタミド、プロプラノロール及びセファゾリンは HPLC を用いて定量した。定量法は実験の部 1.3.3 に示した。

第 4 章 実験の部

4.1 実験材料

第 2 章に準ずる。塩化リチウムはナカライテスクから購入し、生理食塩水に溶解させて使用した。

4.2 投与実験

第2章に準ずる。リチウムの定量はZ-6100形偏光ゼーマン原子吸光光度計（日立計測器サービス、東京）を用いて定量した。測定にはホローカソードランプ（日立計測器サービス）、空気-アセチレンフレイム、標準バーナを用いた。ランプ電流値は10 mA、波長は670.8 nm、スリット幅は0.4 nm、バーナ高さは7.5 mmとした。助燃ガス圧力（流量）は160 kPa（15.0 L/min）、燃料ガス圧力（流量）は7 kPa（2.2 L/min）とした。

第5章 実験の部

5.1 実験材料

第2章に準ずる。腎機能の指標はBUNのみ測定した。

5.2 蛋白結合実験

第1章に準ずる。ただし、本章では同一個体から採取した血液を用いて蛋白結合実験及び薬物投与実験を実施した。

5.3 投与実験

5.3.1 実験方法

第2章に準ずるが、以下の点を変更した。

- ・注入する透析液量をラットの体重に関わらず30 mLとした。
- ・採血量を減らすため、採血回数を6回とした。

5.3.2 検体の処理

第2章に準ずる。

5.3.3 薬物の定量

第2章に準ずる。

参考文献

- 1) わが国の慢性透析療法の現況 (2012年12月31日) 日本透析医学会 編 (2012).
- 2) CKD 診療ガイド 社団法人日本腎臓学会 編 東京医学社 (2012).
- 3) 標準腎臓病学 編集: 菱田 明、楨野 博史 医学書院 (2002).
- 4) 臨床透析ハンドブック第3版 (P213) 編集: 飯田喜俊、今田聰雄 メディカル・サイエンス・インターナショナル社 (2002).
- 5) Alloatti S., Manes M., Paternoster G., Gaiter A.M., Molino A. and Rosati C.: Peritoneal dialysis compared with hemodialysis in the treatment of end-stage renal disease. *J. Nephrol.*, **13**: 331-342 (2000).
- 6) Gao H., Lew S.Q. and Bosch J.P.: The effects of increasing exchange volume and frequency on peritoneal dialysis adequacy. *Clin. Nephrol.*, **50**: 375-380 (1998).
- 7) Grodstein G.P., Blumenkrantz M.J., Kopple J.D., Moran J.K. and Coburn J.W.: Glucose absorption during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Int.*, **19**: 564-567 (1981).
- 8) Watanabe H., Miyamoto Y., Otagiri M. and Maruyama T.: Update on the pharmacokinetics and redox properties of protein-bound uremic toxins. *J. Pharm. Sci.*, **100**: 3682-3695 (2011).
- 9) Takamura N., Maruyama T. and Otagiri M.: Effects of uremic toxins and fatty acids on serum protein binding of furosemide: possible mechanism of the binding defect in uremia. *Clin. Chem.*, **43**: 2274-2280 (1997).
- 10) Tsutsumi Y., Maruyama T., Takadate A., Shimada H. and Otagiri M.: Decreased Bilirubin-Binding Capacity in Uremic Serum Caused by an Accumulation of Furan Dicarboxylic Acid. *Nephron*, **85**: 60-64 (2000).
- 11) Kragh-Hansen U., Chuang V.T. and Otagiri M.: Practical aspects of the ligand-binding and enzymatic properties of human serum albumin. *Biol. Pharm. Bull.*, **25**: 695-704 (2002).
- 12) 臨床薬理学 (P141) 日本臨床薬理学会 編 医学書院 (1998).

- 13) Day J.F., Thornburg R.W., Thorpe S.R. and Baynes J.W.: Nonenzymatic glycosylation of rat albumin. *J. Biol. Chem.*, **254**: 9394-9400 (1979).
- 14) Okabe N. and Hashizume N.: Drug binding properties of glycosylated human serum albumin as measured by fluorescence and circular dichroism. *Biol. Pharm. Bull.*, **17**: 16-21 (1994).
- 15) Koyama H., Sugioka N., Uno A., Mori S. and Nakajima K.: Effects of glycosylation of hypoglycaemic drug binding to serum albumin. *Biopharm. Drug Dispos.*, **18**: 791-801 (1997).
- 16) Koizumi K., Ikeda C., Ito M., Suzuki J., Kinoshita T., Yasukawa K. and Hanai T.: Influence of glycosylation on the drug binding of human serum albumin. *Biomed. Chromatogr.*, **12**: 203-210 (1998).
- 17) Kusaba J., Kajikawa N., Kawasaki H., Kurosaki Y. and Aiba T.: Comparative study on altered hepatic metabolism of CYP3A substrates in rats with glycerol-induced acute renal failure. *Biopharm. Drug Dispos.*, **33**: 22-29 (2012).
- 18) Dreisbach A.W. and Lertora J.J.: The effect of chronic renal failure on drug metabolism and transport. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, **4**: 1065-1074 (2008).
- 19) Tsuji A., Nishide K., Minami H., Nakashima E., Terasaki T. and Yamana T.: Physiologically based pharmacokinetic model for cefazolin in rabbits and its preliminary extrapolation to man. *Drug Metab. Dispos.*, **13**: 729-739 (1985).
- 20) Pertinez H., Chenel M. and Aarons L.: A physiologically based pharmacokinetic model for strontium exposure in rat. *Pharm. Res.*, **30**: 1536-1552 (2013).
- 21) Lesko L.J. and Schmidt S.: Individualization of drug therapy: history, present state, and opportunities for the future. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **92**: 458-466 (2012).
- 22) Takano R., Kataoka M. and Yamashita S. Integrating drug permeability with dissolution profile to develop IVIVC. *Biopharm. Drug Dispos.*, **33**: 354-365 (2012).

- 23) Zhao P., Zhang L., Grillo J.A., Liu Q., Bullock J.M., Moon Y.J., Song P., Brar S.S., Madabushi R., Wu T.C., Booth B.P., Rahman N.A., Reynolds K.S., Gil B.E., Lesko L.J. and Huang S.M.: Applications of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation during regulatory review. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **89**: 259-267 (2011).
- 24) FDA Guidance for Industry: Drug Interaction Studies - Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations *DRAFT GUIDANCE* (2012).
- 25) Barrett J.S., Della Casa Alberighi O., Läer S. and Meibohm B.: Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling in children. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **92**: 40-49 (2012).
- 26) Polasek T.M., Patel F., Jensen B.P., Sorich M.J., Wiese M.D. and Doogue M.P.: Predicted metabolic drug clearance with increasing adult age. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **75**: 1019-1028 (2013).
- 27) 湯川 榮二: 薬物治療の患者個別化へのアプローチ -母集団薬物動態パラメータ解析の意義-. *TDM 研究*, **24**: 8-16 (2007).
- 28) 石田 潔正, 小鍛冶 由佳, 黒川 恵美, 高田 祥世, 田中 宏昌, 青山 隆彦, 松本 宜明: 母集団薬物動態解析における診断プロットを用いたモデル診断の診断者の個人差に関する調査. *TDM 研究*, **29**: 14-20 (2012).
- 29) 熊谷 雄治, 井出 洋一, 小祝 紀美子: フェキソフェナジン塩酸塩の使用実態下における小児及び成人での母集団薬物動態及び安全性の検討. *TDM 研究*, **27**: 25-32 (2010).
- 30) FDA Guidance for Industry: Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of In Vitro/In Vivo Correlations (1997).
- 31) Saito H.: Pathophysiological regulation of renal SLC22A organic ion transporters in acute kidney injury: Pharmacological and toxicological implications. *Pharmacol. Ther.*, **125**: 79-91 (2010).
- 32) Deguchi T., Takemoto M., Uehara N., Lindup E.W., Suenaga A. and Otagiri M.: Renal clearance of endogenous hippurate correlates with expression levels of

- renal organic anion transporters in uremic rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **314**: 932-938 (2005).
- 33) 新内科学大系 37卷B 泌尿器疾患 (P165) 本田西男 中山書店 (1974).
- 34) Huang Z.H., Murakami T., Okochi A., Yumoto R., Nagai J. and Takano M.: Expression and function of P-glycoprotein in rats with glycerol-induced acute renal failure. *Eur. J. Pharmacol.*, **406**: 453-460 (2000).
- 35) Kimura T., Kobayashi A., Kobayashi M., Numata K., Kawai Y., Kurosaki Y., Nakayama T., Mori M. and Awai M.: Intestinal Absorption of Drugs in Rats with Glycerol-Induced Acute Renal Failure. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**: 1847-1856 (1988).
- 36) Vertel R.M. and Knochel J.P.: Acute renal failure due to heat injury. An analysis of ten cases associated with a high incidence of myoglobinuria. *Am. J. Med.*, **43**: 435-451 (1967).
- 37) Yoshitomi H., Abo S., Yamashita N., Ikeda K., Takeda M. and Goto S.: Plasma protein –furosemide binding in acute renal failure in rabbits. *Yakugaku Zasshi*, **103**: 589-593 (1983).
- 38) Nouaille-degorce B., Veau C., Dautreuil S., Tod M., Laouari D., Carbon C. and Farinotti R.: Influence of renal failure on ciprofloxacin pharmacokinetics in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**: 289-292 (1998).
- 39) Homsy E., Janino P. and Faria J.B.: Role of caspases on cell death, inflammation, and cell cycle in glycerol-induced acute renal failure. *Kidney Int.*, **69**: 1385-1392 (2006).
- 40) Muller N., Lapique F., Drelon E. and Netter P.: Binding sites of fluorescent probes on human serum albumin. *J. Pharm. Pharmacol.*, **46**: 300-304 (1994).
- 41) Zhu X., Ding Y., Lin B., Jakob A. and Koppenhoefer B.: Study of enantioselective interactions between chiral drugs and serum albumin by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, **20**: 1869-1877 (1999).
- 42) Nerli B., Romanini D. and Pico G.: Structural specificity requirements in the binding of beta lactam antibiotics to human serum albumin. *Chem. Biol. Interact.*, **104**: 179-202 (1997).

- 43) Meyer J.M.: Lithium. In Laurence, L.B., Bruce, A.C. and Bjorn, C.K. (eds.): *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 12th edition*, New York, McGraw-Hill Companies, Inc., pp. 445-451 (2011).
- 44) 炭酸リチウム：リーマス[®]錠100/200 インタビューフォーム 大正富山医薬品株式会社
- 45) Kosa T., Maruyama T. and Otagiri M.: Species differences of serum albumins: I. Drug binding sites. *Pharm. Res.*, **14**: 1607-1612 (1997).
- 46) Takamura N., Tokunaga J. and Arimori K.: Interpretations of laboratory test data on serum protein binding. *Yakugaku Zasshi*, **127**: 231-236 (2007).
- 47) Bianchetti G., Graziani G., Brancaccio D., Morganti A., Leonetti G., Manfrin M., Segà R., Gomeni R., Ponticelli C. and Morselli P.L.: Pharmacokinetics and Effects of Propranolol in Terminal Uraemic Patients and in Patients Undergoing Regular Dialysis Treatment. *Clin. Pharmacokinet.*, **1**: 373-384 (1976).
- 48) 臨床薬物動態学改訂第4版 (P49) 加藤隆一 南江堂 (2009).
- 49) Yamaoka K., Tanigawara Y., Nakagawa T. and Uno T.: A pharmacokinetic analysis program (multi) for microcomputer. *J. Pharmacobiodyn.*, **4**: 879-885 (1981).
- 50) Masuda Z., Kurosaki Y., Ishino K., Yamauchi K. and Sano S.: Pharmacokinetic analysis of flomoxef in children undergoing cardiopulmonary bypass and modified ultrafiltration. *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **56**: 163-169 (2008).
- 51) Aoyama T., Ogata K., Shimizu M., Hatta S., Masuhara K., Shima Y., Kimura K. and Matsumoto Y.: Pharmacokinetics of fluconazole and fosfluconazole after intraperitoneal administration to peritoneal dialysis rats. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **20**: 485-490 (2005).
- 52) ダイアニール-N PD-2 1.5 腹膜透析液 インタビューフォーム バクスター株式会社
- 53) Powers A.C. and D'Alessio D.: Tolbutamide. In Laurence, L.B., Bruce, A.C. and Bjorn, C.K. (eds.): *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 12th edition*, New York, McGraw-Hill Companies, Inc., pp. 1255-1257 (2011).

- 54) トルブタミド:ヘキストラスチノン[®]錠 0.5g/散 100% インタビューフォーム サノフィ株式会社
- 55) Westfall T.C. and Westfall D.P.: Propranolol. In Laurence, L.B., Bruce, A.C. and Bjorn, C.K. (eds.): *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 12th edition*, New York, McGraw-Hill Companies, Inc., pp. 320 (2011).
- 56) プロプラノロール:インデラル[®]錠10mg/20mg インタビューフォーム アストラゼネカ株式会社
- 57) Petri Jr. W.A.: Cefazolin. In Laurence, L.B., Bruce, A.C. and Bjorn, C.K. (eds.): *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 12th edition*, New York, McGraw-Hill Companies, Inc., pp. 1493-1499 (2011).
- 58) セファゾリン:セファメジン[®]α 注射用 0.25g・0.5g・1g・2g インタビューフォーム アステラス製薬株式会社
- 59) Working Group Committee for the Preparation of Guidelines for Peritoneal Dialysis, Japanese Society for Dialysis Therapy: 2009 Japanese Society for Dialysis Therapy Guidelines for Peritoneal Dialysis. *Ther. Apher. Dial.*, **14**: 489-504 (2010).
- 60) Aiba T., Horiuchi M., Makita T., Komori Y., Kawasaki H. and Kurosaki Y.: Peritoneal dialysis alters tolbutamide pharmacokinetics in rats with experimental acute renal failure. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **21**: 291-296 (2006).
- 61) Makita T., Aiba T., Izuwa Y., Komori Y., Kawasaki H. and Kurosaki Y.: Efficacy of peritoneal dialysis of tolbutamide in rats under conditions of the plasma unbound fraction being increased. *Biopharm. Drug Dispos.*, **30**: 1-8 (2009).
- 62) Sakurai Y., Motohashi H., Ueo H., Masuda S., Saito H., Okuda M., Mori N., Matsuura M., Doi T., Fukatsu A., Ogawa O. and Inui K: Expression levels of renal organic anion transporters (OATs) and their correlation with anionic drug excretion in patients with renal diseases. *Pharm. Res.*, **21**: 61-67 (2004).

- 63) Deguchi T., Kusuhara H., Takadate A., Endou H., Otagiri M. and Sugiyama Y.: Characterization of uremic toxin transport by organic anion transporters in the kidney. *Kidney Int.*, **65**: 162-174 (2004).
- 64) Sun H., Frassetto L. and Benet L.Z.: Effects of renal failure on drug transport and metabolism. *Pharmacol. Ther.*, **109**: 1-11 (2006).
- 65) Matsuzaki T., Watanabe H., Yoshitome K., Morisaki T., Hamada A., Nonoguchi H., Kohda Y., Tomita K., Inui K. and Saito H.: Down regulation of organic anion transporters in rat kidney under ischemia reperfusion-induced acute renal failure. *Kidney Int.*, **71**: 539-547 (2007).
- 66) Schneider R., Sauvant C., Betz B., Otremba M., Fischer D., Holzinger H., Wanner C., Galle J. and Gekle M.: Downregulation of organic anion transporters OAT1 and OAT3 correlates with impaired secretion of para-aminohippurate after ischemic acute renal failure in rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, **292**: F1599-F1605 (2007).
- 67) Morisaki T., Matsuzaki T., Yokoo K., Kusumoto M., Iwata K., Hamada A. and Saito H.: Regulation of renal organic ion transporters in cisplatin-induced acute kidney injury and uremia in rats. *Pharm. Res.*, **25**: 2526-2533 (2008).
- 68) Aleksunes L.M., Augustine L.M., Scheffer G.L., Cherrington N.J. and Manautou J.E.: Renal xenobiotic transporters are differentially expressed in mice following cisplatin treatment. *Toxicol.*, **250**: 82-88 (2008).
- 69) Enomoto A. and Niwa T.: Roles of organic anion transporters in the progression of chronic renal failure. *Ther. Apher. Dial.*, **11**: S27-S31 (2007).
- 70) Komoto M., Ando T., Komori Y. and Kurosaki Y.: Effects of peritoneal dialysis on pharmacotherapy: pharmacokinetics of lithium in acute renal failure rats. *19th Annual meeting of the Japanese Society for the Study of Xenobiotics.*, p. 343 abstract (2004).
- 71) Rubin J., Nolph K., Arfania D., Brown P. and Prowant B.: Follow-up of peritoneal clearances in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Int.*, **16**: 619-623 (1979).

謝 辞

終わりに臨み、本研究の遂行にあたり、終始御懇篤なる御指導ならびに御鞭撻を賜りました岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 製剤設計評価学分野 黒崎勇二 教授に深甚なる謝意を表します。

本論文を纏めるに際して、種々の貴重な御助言を賜りました岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 臨床薬物動態学分野 合葉哲也 准教授に謹んで深謝致します。

本研究に御協力いただいた森山総一郎 修士、高畑友紀子 学士に心より御礼申し上げます。

研究及び実験の実施にあたり、御協力いただきました岡山大学薬学部 製剤設計学分野及び臨床薬物動態学分野の教室員の皆様に感謝致します。