

フェキソフェナジンとの相互作用を引き起こす
柑橘果汁中阻害成分の網羅的定量解析に基づく
相互作用の推定

慶應義塾大学 医学部 病院薬剤学教室 准教授

あきよし たけし
秋好 健志

フェキソフェナジンとの相互作用を引き起こす 柑橘果汁中阻害成分の網羅的定量解析に基づく相互作用の推定

慶應義塾大学薬学部 調査・研究 実施者氏名 秋好 健志

(慶應義塾大学医学部病院薬剤学教室 東京都新宿区信濃町 35 総合医科学研究棟 4階 4S7)

【要旨】

【目的】

代表的な抗アレルギー薬フェキソフェナジン (FEX) は、処方箋医薬のみならず OTC 薬としても汎用されている。この FEX の消化管吸収を担う Organic Anion Transporting Polypeptides (OATP) は、市販の柑橘果汁により阻害を受け、food-drug interaction (FDI) が惹起される。柑橘果汁中の阻害成分の種類や含量は、柑橘の品種のみならず、同種個体間においても異なるため、柑橘果汁が常に FDI を引き起こすとは限らない。本研究では、本邦で市販されている各種柑橘中の OATP 阻害成分の網羅的に定量解析するとともに、アメリカ食品医薬品局 (FDA) の相互作用 (DDI) ガイダンスに従った DDI リスク評価を行うことで、FEX 服用時の FDI の臨床的意義を定量的に明らかにすることを目的に検討を行った。

【方法】

本邦の市中小売店で入手したグレープフルーツなど柑橘類複数種類について、手絞りにて果汁を採取した。得られた果汁中の OATP 阻害成分を HPLC-UV 法にて定量した。得られた果汁中の各阻害成分濃度を用いて、医薬品医療機器総合機構が提示する薬物相互作用ガイドラインに基づき、一定量の柑橘果汁を飲用した際の消化管における FDI リスクを推定した。

【結果】

各柑橘果汁中の阻害成分 A, B, C 濃度が最も高かった品種は、それぞれ柑橘 A, B, C であった。個体間差が最も大きかったのは、阻害成分 A, B, C において、柑橘 B であり、それぞれ 4～10 倍程度異なった。柑橘果汁を一定量摂取した際の消化管における FDI リスクについて、OATP では柑橘 D、柑橘 E、柑橘 F の全個体において FDI リスクありと判定されたものの、柑橘 G、柑橘 H、柑橘 I では、個体間で FDI リスク判定結果の有無は個体間で異なった。

【考察】

柑橘果汁中の各阻害成分濃度は、品種のみならず個体間でも大きく異なることが明らかになった。したがって、各成分の品種間差には、柑橘の系統や、それに基づく各成分の生合成関連遺伝子の発現の有無が寄与している可能性が考えられる。また、FDI リスクも柑橘の品種のみならず個体ごとに異なることが示された。

1、研究目的

有機アニオン輸送ポリペプチド (organic anion transporting polypeptides; OATPs) は、solute carrier (SLC) ファミリーに分類される取り込みトランスポーターであり、主な分子種として OATP1A2、OATP1B1、OATP1B3、OATP2B1 等が知られている。OATPs のなかでも OATP1A2 は脳、肝臓、腎臓、小腸に、OATP2B1 は肝臓、小腸、心臓等に発現しており、両者ともに estrone-3-sulfate (E1S) や胆汁酸等の内因性物質を細胞内へ輸送することが知られている [1]。また、外因性物質としては、OATP1A2 は fexofenadine (FEX) や methotrexate、rosuvastatin 等、OATP2B1 は glibenclamide や pravastatin 等と言った臨床上重要な薬物を基質としている [1]。

小腸では OATP1A2/2B1 は共に小腸管腔側に発現しており、前述した基質の消化管吸収を担っている [1-4]。

これらの小腸 OATPs は、飲食物 - 薬物間相互作用 (food-drug interaction; FDI) が生じる部位としても注目されている。例えば、ヒト臨床試験において FEX 120 mg とグレープフルーツ (grapefruit; GF) またはオレンジ (orange; OR) の果汁 1,200 mL (FEX 服用時に 300 mL、その後 30 min 毎に 3 hr 後まで 150 mL 摂取) を併用した場合、FEX の血漿中濃度 - 時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve; AUC) が 30 ~ 40% まで減少したことが報告されている [5]。In vitro 実験において、GF 及び OR 果汁が OATPs 阻害活性を有することが示されていることから、本 FDI は柑橘果汁による OATPs 阻害に起因していると考えられている [5, 6, 7]。

これまでに 上述の GF (*Citrus paradisi*)、OR (*C. sinensis*)、以外にも複数種の柑橘果汁が OATPs 阻害活性を有することが報告されているものの、それら以外の柑橘果汁について、OATPs 輸送活性に対する阻害の有無や程度については明らかになっておらず、それらの果汁が OATPs 基質薬物と FDI を引き起こす可能性についても評価されていない。また、柑橘果汁中阻害成分濃度は、同じ栽培品種でも個体間 (果汁飲料の場合はブランド間) で大きく変動すると考えられるが、その個体間差が柑橘果汁摂取による FDI リスクにどの程度の影響を及ぼすのかは不明である。

そこで本研究では、複数種の柑橘類 について、複数個の個体の果汁を用いて、果汁中の阻害成分含量及びその個体間差を明らかにするとともに、それら成分の含量をもとに、FDI リスクを定量的に予測し、その品種及び果実個体間差を評価した。

2、研究方法

2-1 柑橘類と搾汁

グレープフルーツを含む各柑橘類は、日本全国の市中小売店にて購入した。また、各柑橘

種について、入手可能な複数個の個体も同時に購入した。

各果実を二分割した後、外果皮を取り除いて砂じょう（果肉部分）を押し潰すようにして手搾り果汁を得た。手搾り果汁は、ナイロンメッシュを用いて吸引濾過することで搾汁残渣を除去した。これら 柑橘果汁は 4° C, 条件で遠心分離し、上清をシリンジフィルターを用いて濾過することで不溶性物質を取り除き、次項の阻害成分濃度の定量に供した

2-2 HPLC-UV 法を用いた阻害成分定量

2-1 で得た濾過済み柑橘果汁を精製水によって希釈して 以下の方法にて阻害成分 を定量した。

各阻害成分の検量線範囲を 0.03 ~ 300 μM とした。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 装置は Prominence-i LC-2030C pump/detector (Shimadzu, Kyoto, Japan) を使用した。カラムには Cosmosil 5C18-MS- II column (4.6 × 250 mm, Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) を用い、カラム温度は 25° C に設定した。移動相には 10 mM リン酸緩衝液 (pH 6.0) (A)、アセトニトリル (B) を使用し、流速 1.0 mL/min にて以下に示す条件でグラジエント溶離を行った: 0 ~ 8 min: 17% B; 8 ~ 23 min: 17 ~ 35% B, linear; 23 ~ 30 min: 35 ~ 70% B, linear; 30 ~ 35 min: 70% B; 35 ~ 40 min: 70 ~ 17% B, linear; 40 ~ 50 min: 17% B。検出波長は 280 nm、注入量は 25 μL とした。定量下限は 0.1 μM または 0.3 μM であった。

2-3 柑橘果汁の全個体における FDI リスク評価

アメリカ食品医薬品局 (FDA) 及び医薬品医療機器総合機構 (PMDA) が提示している薬物-薬物間相互作用 (DDI) リスク評価に関するガイドライン [8, 9] を参考に、本研究で得られた各柑橘の阻害成分の濃度と既報の阻害強度 K_i 値から FDI リスク評価を行った。

当該ガイドラインでは、小腸の取り込みトランスポーターを考慮した DDI については言及していないものの、小腸における薬物代謝酵素阻害を考慮した DDI 試験実施基準を定めている。ここでは、単一阻害剤の消化管内濃度 [IGI] と阻害強度 K_i 値から算出される、阻害剤存在下と非存在下における基質薬物の固有クリアランス比 (R 値) を DDI 試験実施基準として定めている (式 1)。柑橘果汁は OATPs 各阻害成分の混合物であることから、各阻害成分の消化管内濃度 [IGI_{total}] と阻害強度 $K_{i, total}$ 値の比の総和を R' 値とし、式 2 に基づき $R' > 10$ を FDI リスクありとして定めた。

$$R = 1 + \frac{[IGI]}{K_i} > 11 \quad \dots \text{式 1}$$

$$R' = \sum \left(\frac{[IGI_{FVs, PMFs}]}{K_{i, FVs, PMFs}} \right) > 10 \quad \dots \text{式 2}$$

ここで [IGI,total] は 10% ジャバラ果汁または 100% 柑橘果汁を摂取後、消化管内で希釈された場合の各阻害成分の消化管内濃度 (μM) である。

3、研究成果

3-1 各柑橘中の阻害成分濃度

阻害成分 A は検討した全ての果汁から検出されたのに対して、阻害成分 B は数種を除く全個体から、阻害成分 C は柑橘 H の全個体及び柑橘 L の 1 個体を除く全個体で検出されたが、阻害成分 D はいずれの柑橘果汁においても検出されなかった。今回検討した柑橘の中でも、阻害成分 A は柑橘 M に最も高濃度に含まれ、その濃度は約 1 mM であった。同様に、阻害成分 B は柑橘 G、柑橘 A、柑橘 H、柑橘 B において、阻害成分 C は柑橘 C と柑橘 D において高濃度に検出された。

各柑橘果汁中の阻害成分濃度の個体間差はいずれの阻害成分についても柑橘 B で最大であり、阻害成分 A、阻害成分 B、阻害成分 C の果汁中濃度には、max/min としてそれぞれ 10 倍、4 倍、4 倍の個体間差があった。

3-2 柑橘果汁の OATPs 阻害を介した FDI リスクの評価

OATPs-1 輸送活性に対し、柑橘 G および柑橘 H の各 1 個体のみが FDI リスクありと判定された。

OATPs-2 輸送活性に対し、柑橘 A および柑橘 H の全個体、柑橘 B および柑橘 G、柑橘 I の一部の個体が FDI リスクありと判定された

4、考察

果汁中濃度の個体間変動は、いくつかの阻害成分において柑橘 B において最も大きかった。具体的には、柑橘 B の個体のうち、1 個体 X について他の個体と比べて阻害成分 A の濃度が約 10 倍、阻害成分 B の濃度が約 0.3 倍、阻害成分 C の濃度が約 3 倍となっていた。個体 X は台湾産であり、他の個体が日本産であることから、このフラバノン濃度の違いは産地に起因する可能性が考えられた。実際、Shimizu らによれば、台湾で栽培される主要品種と日本で栽培される主要品種では、遺伝的に同一ではないことが示されている。従って、流通名としては同じ柑橘であっても、必ずしも遺伝的に同一ではないと考えられる。以上より、柑橘果汁の FDI リスクは、栽培品種間だけでなく個体間における OATPs 阻害成分の濃度変動の影響を受けると考えられる。

本研究で明らかになった阻害成分の個体間差の程度は、収穫時期やブランドの異なる柑橘

果汁中に含まれるフラバノン濃度を定量した既報の結果とおおむね一致した。すなわち、当該既報の阻害成分濃度の個体間差の指標として対数標準偏差 (mean log deviation; MLD) を算出すると、阻害成分 A では 0.148 ~ 1.15、阻害成分 B では 0.0918 ~ 0.556、阻害成分 C では 0.0868 ~ 0.720 であった。本研究における柑橘果汁中阻害成分濃度の個体間差は、これら既報の結果と同様の傾向を示していると考えられる。

5、まとめ

本研究で対象としたグレープフルーツを含む各柑橘における阻害成分の果汁中濃度は、品種間及び果実個体間で大きく変動した。OATPs 残存活性を指標として FDI リスクを評価したところ、FDI リスクは品種間だけでなく、果実個体間によっても異なることが明らかとなった。

6、調査・研究発表 (口頭又は誌上発表)

上記研究結果について、現在、英文誌投稿準備中のため、詳細は伏して記載している。

7、引用文献

- [1] Kalliokoski A, Niemi M. Impact of OATP transporters on pharmacokinetics. *Br J Pharmacol.* 158 (3): 693-705. (2009)
- [2] Couto N, Al-Majdoub ZM, Gibson S, Davies PJ, Achour B, Harwood MD, Carlson G, Barber J, Rostami-Hodjegan A, Warhurst G. Quantitative Proteomics of Clinically Relevant Drug-Metabolizing Enzymes and Drug Transporters and Their Intercorrelations in the Human Small Intestine. *Drug Metab Dispos.* 48 (4): 245-254. (2020)
- [3] Glaeser H, Bailey DG, Dresser GK, Gregor JC, Schwarz UI, McGrath JS, Jolicoeur E, Lee W, Leake BF, Tirona RG, Kim RB. Intestinal Drug Transporter Expression and the Impact of Grapefruit Juice in Humans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* 81: 362-370. (2007)
- [4] Kobayashi D, Nozawa T, Imai K, Nezu J, Tsuji A, Tamai I. Involvement of Human Organic Anion Transporting Polypeptide OATP-B (SLC21A9) in pH-Dependent Transport across Intestinal Apical Membrane. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 306 (2): 703-708. (2003)

- [5] Dresser GK, Bailey DG, Leake BF, Schwarz UI, Dawson PA, Freeman DJ, Kim RB. Fruit juices inhibit organic anion transporting polypeptide-mediated drug uptake to decrease the oral availability of fexofenadine. *Clin Pharmacol Ther.* 71 (1): 11-20. (2002)
- [6] Bailey DG, Dresser GK, Leake BF, Kim RB. Naringin is a major and selective clinical inhibitor of organic anion-transporting polypeptide 1A2 (OATP1A2) in grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther.* 81 (4): 495-502. (2007)
- [7] Morita T, Akiyoshi T, Sato R, Uekusa Y, Katayama K, Yajima K, Imaoka A, Sugimoto Y, Kiuchi F, Ohtani H. Citrus Fruit-Derived Flavanone Glycoside Narirutin is a Novel Potent Inhibitor of Organic Anion-Transporting Polypeptides. *J Agric Food Chem.* 68: 14182-91. (2020)
- [8] 独立行政法人医薬品医療機器総合機構. 医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン. 2018年7月23日.
- [9] Food and Drug Administration. Drug-Drug Interaction Assessment for Therapeutic Proteins Guidance for Industry. June 2nd, 2023.

8、謝辞

本研究は貴財団の「一般用医薬品セルフメディケーション振興財団・研究助成金」のご支援により実施いたしました。ここに心より御礼申し上げます。