

血清蛋白結合に関連した臨床検査値の解釈

高村 徳人,^{*,a} 徳永 仁,^a 有森和彦^b

Interpretations of Laboratory Test Data on Serum Protein Binding

Norito TAKAMURA,^{*,a} Jin TOKUNAGA,^a and Kazuhiko ARIMORI^b

^aSecond Department of Clinical Pharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University of Health and Welfare, 1714-1 Yoshino, Nobeoka City 882-8508, Japan, and ^bDepartment of Pharmacy, Miyazaki Medical College Hospital, 5200 Kihara, Kiyotake-cho, Miyazaki-gun, Miyazaki 889-1692, Japan

(Received September 12, 2006)

Serum proteins that are important in the serum protein binding of drugs are human serum albumin (HSA) and α_1 -acid glycoprotein (AGP). Several binding sites exist on HSA and AGP molecules. HSA, AGP, free fatty acid (FFA), blood urea nitrogen (BUN) and bilirubin, which can all be determined by laboratory test, affect the binding capacities of binding sites on these proteins. The increase and decrease of HSA and AGP influence the binding capacities of all binding sites. As an additional influence on the binding sites on protein molecules, the increment of FFA decrease the binding capacity of site II, while binding capacity of site I is enhanced by FFA. Increase in bilirubin remarkably decreases the binding capacity of site I. BUN data are associated with the amounts of several uremic toxins, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanate (CMPF), indole-3-acetate (IA), indoxyl sulfate (IS) and hippurate (HA). With CMPF, the binding capacity of site I is decreased, while IA, IS, HA contribute to the binding inhibition of site II of HSA. If we can monitor binding capacities of binding sites of HSA and AGP, laboratory test data can be interpreted from a pharmaceutical perspective regarding protein binding, because changes in laboratory test data that are endogenous substance concentrations have an influence on the binding capacities of those binding sites.

Key words—laboratory test data; human serum albumin; α_1 -acid glycoprotein; protein binding; binding site; diagnosis

1. はじめに

一般に、血清蛋白結合能の変動は病態の変化と大きく関係するため、当然のことながら、それらの病態を反映する臨床検査値は血清蛋白結合能と大きく関連する場合が多い。そこで、われわれは本来医学的な観点から見出された臨床検査値を薬学的（蛋白結合的）に解釈するための薬学的分布診断法¹⁾を薬剤師技術向上のために開発し構築してきた。

本診断法は、患者血清中の HSA 及び AGP 分子上におけるそれぞれの薬物結合サイトの結合能の変化を経時的にモニターすることができる（一定量の患者血清に各サイトプローブを一定量添加し限外ろ

過したのち、それぞれのプローブの遊離濃度を測定するもの）。その薬学的結果は、臨床検査の項目である HSA, AGP, 遊離脂肪酸, BUN（尿毒症物質の量とほぼ相関する）及びビリルビン等の濃度の変動から影響を受けた結果が反映されるものである。^{2,3)}

ここでは、薬物の血清蛋白結合とそれに着目することの意義、及び蛋白結合に影響を及ぼす臨床検査値とその影響を薬学的に解釈するための薬学的分布診断法についてわれわれの臨床経験も含め概説する。

2. 薬物の体内での動き（蛋白結合、代謝、排泄）

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つが血清蛋白結合である。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蛋白質と結合する。このような血清蛋白質の中で、薬物の蛋白結合を大きく左右するものに、HSA, AGP, γ -

^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 126 年会シンポジウム S12 で発表したものを中心に記述したものである。

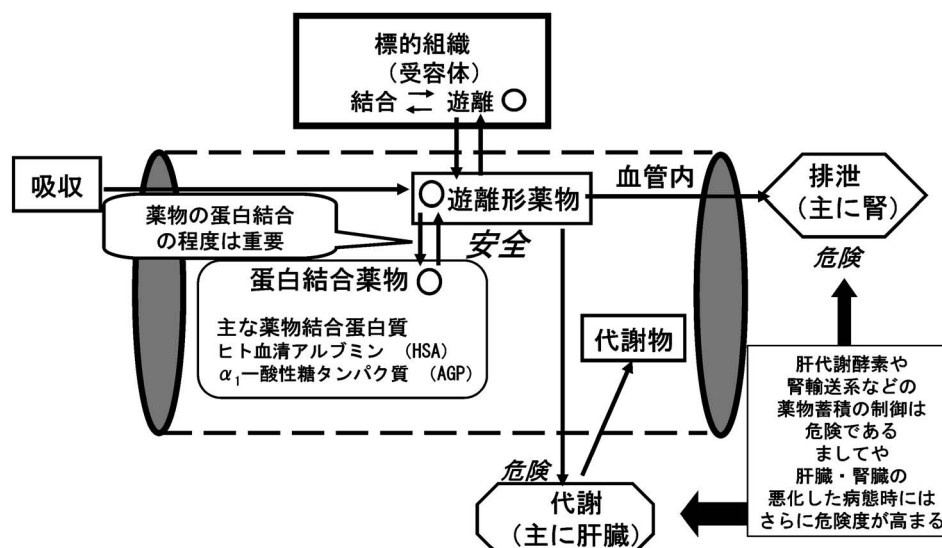


Fig. 1. ADME of Drug which Bind to Serum Proteins

グロブリン及びリポ蛋白質などがある。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 は特に重要である。それぞれの蛋白分子上に、例えば、HSA ではサイト I, II 及び III の 3 個程度⁴⁾ (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 個と考えるてもよい)、AGP では酸性及び塩基性薬物結合サイトが存在するが 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。⁵⁾そして各々のサイトへの結合性が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、薬物には肝でのチトクローム P450 (CYP) に代表される薬物代謝及び腎での有機アニオン及びカチオンに代表される輸送蛋白を介した排泄が大きく関与している。

重篤な肝・腎障害が生じた場合は、主に HSA が低下しビリルビン及び尿毒症物質などの蛋白結合阻害物質の上昇を引き起こすため、薬物の蛋白結合が低下し血液中と組織中との平衡のバランスは組織側へ傾くことより、血中濃度は程度の差はあるものの低下する。よって、血中濃度上昇による体内蓄積の可能性はない。一方、同様の臓器障害が生じた場合、薬物代謝能及び腎輸送系の排出能は低下するため、高濃度の薬物の蓄積を短期間で引き起こすこととなる。したがって、薬物の蛋白結合能の低下と体内蓄積との因果関係は弱い、薬物の代謝能及び腎輸送系の排出能の低下と体内蓄積との因果関係は強

く危険性が高まる。したがって、重篤な肝・腎障害に蛋白結合以外を利用して薬物投与設計することは難しい。

3. 結合サイトの結合阻害の要因及び遊離濃度と薬理効果の関係

結合サイトの結合阻害の増大要因としては、1) 蛋白結合の強い薬物濃度の上昇 (臨床治療濃度の高いもの、⁶⁾ 2) 内因性物質濃度の増大^{2,3)} (FFA, ビリルビン, BUN など), 3) 血清蛋白質の減少 (出血, ネフローゼ⁷⁾), 4) 血清蛋白質の修飾化 (グリコシル化)⁸⁾などの 4 つが考えられる。1) 以外はすべて臨床検査値と直接関係する。これら 4 つの要因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高い (Fig. 2)。もしこのようなタイミングを利用して投与設計を試みる場合は少ない投与量で薬効を最大限に引き出せるかもしれない。これ以降は、臨床検査値に関連する 2)–4) について解説する。

4. 蛋白結合 (結合サイト) に影響を及ぼす病態とその臨床検査値の変動

Table 1 に蛋白結合 (結合サイト) に影響を及ぼす病態とその臨床検査値の変動を示す。酸性薬物の蛋白結合に影響を及ぼす第一の因子として挙げられる臨床検査項目は HSA である。これは各結合サイトにおける蛋白結合能に直接関係する。HSA の低下は腎障害, 肝障害 (特に劇症肝炎・肝硬変), 糖

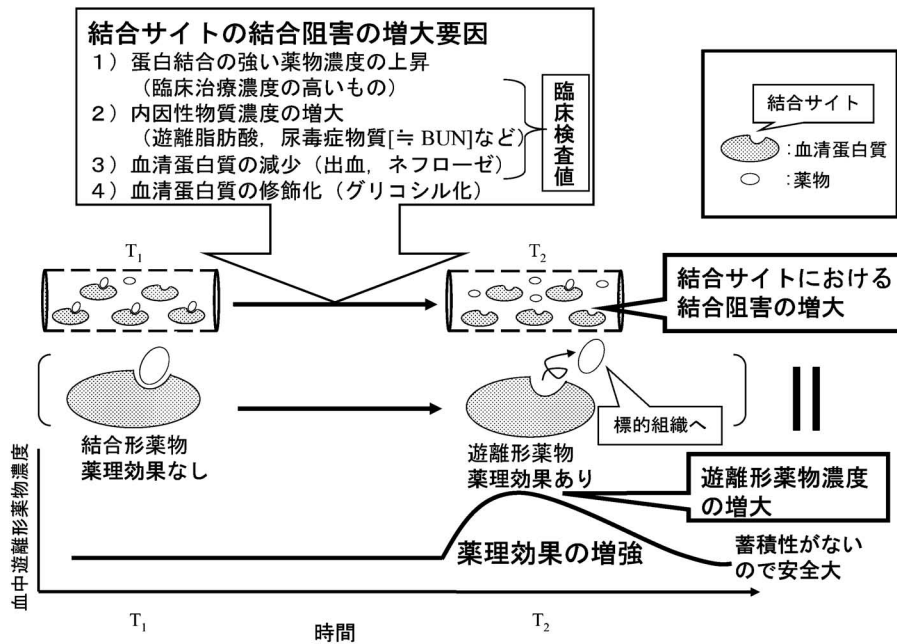


Fig. 2. Factors of Protein Binding Inhibition and Relationship between Free Drug Concentration and Pharmacological Effect

Table 1. The Relationship between Diseases Associated Protein Binding and Laboratory Test Data

病態等	HSA (3.8—5 g/dl)	AGP (70—80 mg/dl)	FFA (50—800 μEq/l)	BUN (≒尿毒症物質) (8—20 mg/dl)	総ビリル ビン (0.2—1.2 mg/dl)	グルコ アルブミン (12—16%)
腎障害	↓	↑		↑		↑ (糖尿病性腎症)
HD 前→HD 後	↑ (直後濃縮)	↑ (直後濃縮)	↑	↓		
肝障害 (劇症肝炎)	↓	↓			↑	
糖尿病	↓					↑
炎症性疾患 (RA, 癌, 感染)	↓	↑				
ネフローゼ	↓	↓				
出血 (手術, 血尿, 下血)	↓	↓				
心筋梗塞		↑	↑			
空腹・満腹状態			↑ (↓) (満腹状態)			

矢印の太さは増減の大きさを示す

尿病, 炎症性疾患 (RA, 癌, 感染), ネフローゼ, 出血 (手術, 血尿, 下血) が挙げられる。この中で, 急激に HSA の低下がみられるのは出血であろう。逆に HSA が増加する場合は血液透析 (HD) による血液濃縮の場合であり, その後徐々に元の値に戻る。HSA が異常に高い値を示すアルブミン過剰症という疾患も存在する。

塩基性薬物の蛋白結合に影響を及ぼす因子として

挙げられる臨床検査項目は AGP である。腎障害, HD による血液濃縮, 炎症性疾患 (RA, 癌, 感染) 及び心筋梗塞に AGP の増加が生じる。一方, 肝障害 (特に劇症肝炎), ネフローゼ及び出血 (手術, 血尿, 下血) のときに AGP は減少する。

HSA 及び AGP の増減は全結合サイトにおける薬物結合能の強弱に均一な影響を与えるのに対し, FFA, BUN, ビリルビン等の内因性物質濃度の増減

は特定の結合サイトの薬物結合能に不均一な影響を及ぼすこととなる。FFAは空腹時に高値を示し、満腹時に低値を示す。⁹⁾ さらに、FFAはHD施行中に増加する。そのため薬学的意義は高いが医学的な意義は低いようである（薬学的にはFFAの変動により投与設計が企図できるが、医学的には値の日内変動が大きな検査項目は診断する際に参考にならない場合が多い）。BUNは腎障害時に上昇する。特に、HDの直前は著しく高く、直後は低値となっている。ビリルビンは肝障害特に劇症肝炎時に増大する。また、グルコアルブミンは糖尿病や糖尿病性腎症のときに増大している。

5. 各結合サイトに影響を及ぼす要因

一般に、薬物の投与は1日1から3回施行される。したがって、薬剤師が薬物投与設計に蛋白結合を利用する場合は、どの結合サイトにどれくらいの期間で影響を及ぼしているのかを知ることが重要である。それをFig. 3に示す。まず1日のうちで数回変動する内因性物質としてFFAが存在する。FFAの第一結合サイトはサイトIIの隣に位置するため増加してくるとサイトII（FFAの第二結合サイト）の結合を阻害する。そのとき、サイトIの結合は逆に増強する。HD施行中及びその直後においては、血栓防止剤のために使用されるヘパリンによるリパーゼ活性の上昇によりFFA（1500—2500

$\mu\text{Eq/l}$ ）の著しい増大を生じる場合もある。¹⁰⁾ この場合は、著しく増加したFFAがサイトIを直接阻害するために、結合は増強から阻害へと変わることになる。

BUNの変動と尿毒症物質であるIA, IS, HA及びCMPFの変動は相関する（ただし、HD直後に関してBUNとCMPFの相関性は低い）。サイトIに結合するものにCMPFがあり、サイトIIに結合するものにIA, IS, HAがある。HDによりIA, IS, HAはかなり除去されるが、CMPFの結合定数は 10^7 M^{-1} と尿毒症物質の中で最大であるためほとんど除去できない¹⁰⁾（本来、CMPFはHDによりわずかに除去されるが、血管内の水分量も減るため、逆にCMPF濃度はわずかに増加することもある）。したがって、HD施行時BUNの減少と共に低下するのはサイトIIに結合するIA, IS, HAであるため、サイトIIの結合性のみがHD後上昇し、一方、サイトIの結合性はHD前後においてほとんど変化しない場合が多い。サイトI及びIIに結合する薬物は、尿毒症物質により結合阻害を通常受けている。その状況下でHDが施行されるとFFAが著しく増加し、そのFFAが尿毒症物質の結合を阻害し、そこで追い出された尿毒症物質が、再びサイトI及びIIに結合する薬物を相乗的に阻害するカスケード効果という現象を生じる可能性がある。²⁾

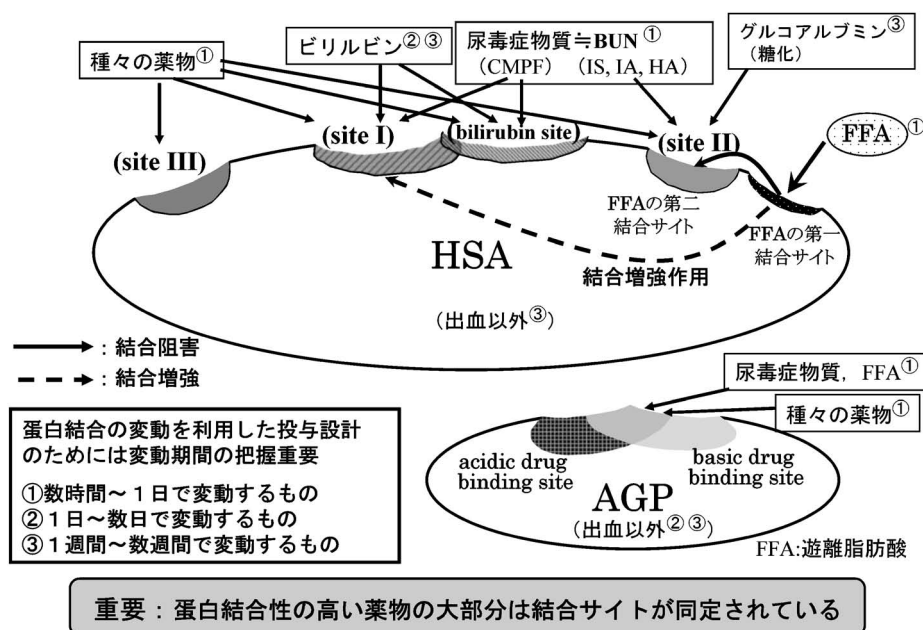


Fig. 3. Influence of Binding Factors on Protein Binding Capacities in Binding Sites

ビリルビンは FFA と同等の HSA 結合性の高い内因性物質である。劇症肝炎の重症度によるところは大きい。ビリルビンは 1 日から数日で急激に上昇する（数週間かけて上昇することもある）。ビリルビンサイトとサイト I は近隣に位置している。⁴⁾したがって、ビリルビンの増大により、それらのサイトに結合する薬物は阻害される。サイト I にはワルファリン、フロセミド及びフェニトインなどを代表とする多くの薬物が分類されている。¹¹⁾この結合サイトは FFA の上昇の程度によって影響を受ける形態が異なるため FFA のモニターは重要である。

HSA の糖化（グリコシル化）によりサイト II の結合性が低下することが報告されている。^{12,13)}この要因により生じるサイト II への結合阻害の影響はグルコアルブミン値の把握が重要であろう。

FFA 及び尿毒症物質は、AGP の結合サイトに影響を及ぼすといわれているが、HSA の濃度が著しく低下した場合のみに生じる現象であるとわれわれは考えている。

6. 薬学的分布診断法（＝血清内探索法）について

これまで病態時に関連する臨床検査項目とそれらの変動による HSA 及び AGP の各結合サイトへの影響について経験も含めた知識を述べた。しかし、この知識を習得したとしても、目前の患者に対し蛋白結合的（＝薬学的）観点からの確な判断を行ったことにはならない。そこで、われわれは、蛋白結合に関連する臨床検査値と HSA 及び AGP の各結合サイトの薬物結合能をそれぞれ対応させることで、どの臨床検査項目（HSA、AGP、FFA、BUN 及びビリルビンなど）がどの程度存在すると、実際に HSA 及び AGP の各結合サイトの薬物結合能はどの程度になるか把握できる診断法が必要であると考えた。そこで、この HSA 及び AGP の各結合サイトの薬物結合能を簡便にモニタリングするために HSA 分子上のサイト 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（なぜ、フェニトイン、バルプロ酸及びジソピラミドのサイトプローブを選択したかという、ほとんどの中規模病院でアボットジャパン社の自動血中濃度測定装置（TDX/FLX[®]）は保

有されており、その装置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。ただし、ジアゼパムは HPLC にて測定する）。それらのサイトプローブの規定量を経時的に採取した患者血清（0.5 ml）に添加し、限外ろ過後それぞれのプローブの遊離濃度を測定し、臨床検査値の変動から診断を下すという簡単な手法である。われわれは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 及びビリルビンなどの本来医学的な観点から見出された臨床検査値を各サイトの結合能の程度を薬学的数値に正確に変換する方法である）。¹⁾本診断法は、血清内の微視的变化に気付きその要因を見出す方法なので血清内探索法と称する場合もある。本診断法の評価法の概要については、臨床検査項目に関連する結合阻害物質の増減による影響を例に取り、Fig. 4 に示す（本診断法には時間 T₁ と T₂ に採取した経時的な血清サンプル S₁ と S₂ を用いる）。この場合の診断は、“内因性の結合阻害物質減少による結合サイトの結合増強状態”となる。この診断内容には、T₁ 時に比べ T₂ 時の蛋白結合がどのような要因により結合状態がどのように変化したかを盛り込むこととしている。

これまでにわれわれは疼痛コントロールの困難な関節リウマチ患者（RA）に対し本診断法を施行し、その診断が“低 HSA における FFA 増加によるサイト II 結合低下状態”であった場合は、ジクロフェナク坐剤—遊離脂肪酸（FFA）療法^{1,14)}（蛋白結合置換術）を用いて疼痛緩和を行ってきている（FFA によるサイト II 阻害は Fig. 3 に示す）。この理由として、ジクロフェナクはサイト II に強く結合し、分布容積も小さく、シクロオキシゲナーゼ 2（COX-2）の選択性も有する薬物であるため、FFA の増加により、ジクロフェナクのサイト II 結合は阻害され（HSA 濃度が低いほど、FFA によるサイト II の阻害は大きい。）炎症部位への組織移行量が増したものと考えられる。

7. おわりに

薬学的観点である HSA 及び AGP の各結合サイトの結合性を調べてみると、臨床検査項目に挙げられた内因性物質により影響を受けることが分かってきた。その影響を捉える薬学的手法を薬学的分布診断法と称している。まさに、本診断法は本来医学的な観点から見出された臨床検査値を薬学的に解釈す

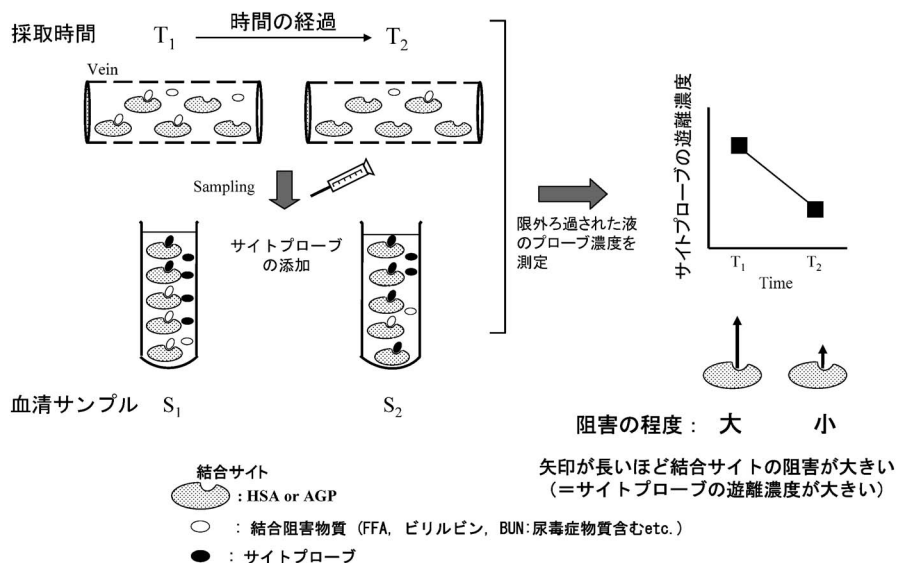


Fig. 4. A New Diagnostic Method of Protein Binding Monitoring on Binding Sites of HSA and AGP by Using Site Probes *In vitro*

るための方法であることが理解できるであろう。われわれは、今後、薬剤師が行う本診断に基づく蛋白結合置換術（薬術¹⁾：薬学の研究成果を臨床で耐え得る薬剤師技術にまで高めたもの）が臨床の場で根付くことを期待するものである。

REFERENCES

- 1) Takamura N., Arimori K., Chosa E., *Farumashia*, **39**, 956–960 (2003).
- 2) Takamura N., Maruyama T., Otagiri M., *Clin. Chem.*, **43**, 2274–2280 (1997).
- 3) Brodersen R., Robertson A., *Mol. Pharmacol.*, **36**, 478–483 (1989).
- 4) Fehske K. J., Muller W. E., Wollert U., *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 687–692 (1981).
- 5) Otagiri M., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **20**, 309–323 (2005).
- 6) 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).
- 7) Keller E., Hoppe-Seyler G., Schollmeyer P., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **32**, 442–449 (1982).
- 8) Shaklai N., Garlick R. L., Bunn H. F., *J. Biol. Chem.*, **259**, 3812–3817 (1984).
- 9) Wolever T. M., Bentum-Williams A., Jenkins D. J., *Diabetes Care*, **18**, 962–970 (1995).
- 10) Sakai T., Maruyama T., Imamura H., Shimada H., Otagiri M., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **278**, 786–792 (1996).
- 11) Sjöholm I., Ekman B., Kober A., Ljungstedt-Pahlman I., Seiving B., Sjödin T., *Mol. Pharmacol.*, **16**, 767–777 (1979).
- 12) Worner W., Preissner A., Rietbrock N., *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **43**, 97–100 (1992).
- 13) van Boekel M. A., van den Bergh P. J., Hoenders H. J., *Biochim. Biophys. Acta*, **1120**, 201–204 (1992).
- 14) Arimori K., Takamura N., *Kyushu Pharm. Bull.*, **57**, 19–27 (2003).