

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

HMG-CoA 還元酵素阻害剤のチトクローム P450 を介する  
薬物相互作用の研究

氏名 石 神 未 知

抗真菌剤のイトラコナゾールと HMG-CoA 還元酵素阻害剤のシンバスタチンおよびロバスタチンを併用すると血漿中濃度が著しく上昇する薬物相互作用が報告されている。一方、HMG-CoA 還元酵素阻害剤のプラバスタチンはイトラコナゾールとの併用で薬物相互作用を生じていない。そこで、本研究はプラバスタチンと他の HMG-CoA 還元酵素阻害剤との薬物相互作用に関する差異を明らかにすることを目的として行われた。近年ヒト肝臓ミクロソームおよびチトクローム P450(P450)の種々の分子種発現系が利用できるようになったことに伴い、*in vitro* の系で併用薬の代謝阻害を簡単に調べることができるようになった。また、薬物速度論的解析を行うことで *in vitro* の系からヒトの *in vivo* での相互作用の可能性を予測することが可能となった。そこで、シンバスタチンの代謝に対するイトラコナゾールの *in vitro* 阻害試験の結果から薬物速度論的解析を行い、*in vivo* 薬物相互作用を予測した。一方、*in vitro* から *in vivo* の予測を行う際には、臓器中濃度等、ヒトでは測定不可能な部分を動物の *in vivo* 実験で補うが、P450 の分子種には種差や性差が存在するために、実験動物の結果がヒトにおける薬物相互作用を反映しない可能性もある。そこで本研究では、P450 代謝阻害を介する薬物相互作用の種差と性差に注目し、実験動物のなかでも体内動態試験に最も一般的に用いられているラットにおける P450 代謝を介する薬物相互作用の性差について検討した。

### 1. ヒトにおけるシンバスタチンとイトラコナゾールの薬物相互作用

シンバスタチンはヒト肝ミクロソーム中で代謝物 M-1 および M-2 を生成したが、プラバスタチンは代謝物を生成しなかった。シンバスタチンのヒト肝ミクロソームによる代謝は CYP3A4 阻害抗体により阻害された。ヒト肝ミクロソームによるシンバスタチン代謝はイトラコナゾールによって阻害され、その  $K_i$  値は nM のオーダーであった。イトラコナゾールの反応液中の非結合型濃度に基づいて算出した  $K_i$  値から、薬物相互作用の解析を行った。False negative を出さないことを念頭に置いて、この  $K_i$  値とイトラコナゾールのファーマコキネティックパラメータを薬物速度論のモデルに当てはめて、*in vivo* の薬物相互作用の最大値を予測した。イトラコナゾール併用時のシンバスタチンの濃度-時間曲線下面積 (AUC) はイトラコナゾール非併用時と比較して約 84 倍と算出された。以上の結果より、シンバスタチンの CYP3A4 による代謝をイトラコナゾールが阻害することによってシンバスタチンの血漿中濃度が著しく上昇することが明らかとなった。一方、プラバスタチンは CYP3A4 代謝を受けないため、イトラコナゾールの影響を受けないことが明らかとなった。

### 2. ラットにおけるシンバスタチンとイトラコナゾールの薬物相互作用の性差

雌雄ラットのシンバスタチン体内動態に対するイトラコナゾールの併用の影響を *in vivo* の系で検討した。イトラコナゾールとの併用によって、雌ラットのシンバスタチンの AUC は約 1.6 倍上昇したが、雄ラットでは、イトラコナゾールの併用によるシンバスタチンの AUC の変化は認められなかった。そこで、雄ラットではヒトの薬物相互作用を再現できなかった原因を明らかにするため *in vitro* の系で検討した。シンバスタチンの雌ラット肝ミクロソームによる主要代謝物はヒトと同様の M-1 および M-2 であった。一方雄ラットではヒトの主要代謝物とは異なる M-3 が生成した。雌雄ラット肝ミクロソームによるシンバスタチン代謝に関与する P450 分子種について、抗 P450 分子種抗体を用いて検討した結果、雌ラットでは主に CYP3A サブファミリー、雄ラットでは主に CYP2C11 が関与していることが示された。雌ラット肝ミクロソームのシンバスタチン代謝はイトラコナゾールによって阻害されたが、雄ではシンバスタチン代謝は阻害されなかった。この性差は、シンバスタチンの代謝に関与する P450 分子種が雌雄ラットで異なる事、またイトラコナゾールの CYP3A と CYP2C11 に対する阻害能力が異なる事が原因と推察された。

### 3. ヒトにおけるメキサゾラム代謝に対する各種 HMG-CoA 還元酵素阻害剤の影響

抗不安薬メキサゾラムのヒト肝ミクロソーム代謝は、P450 分子種阻害抗体を用いた検討より CYP3A4 が関与することが明らかとなった。各種 HMG-CoA 還元酵素阻害剤によるヒト肝ミクロソームのメキサゾラム代謝に対する  $K_i$  値を比較すると、すべての HMG-CoA 還元酵素阻害剤でラクトン型のほうがアシッド型より強い阻害を示した (図 1)。各種 HMG-CoA 還元酵素阻害剤の logP 値と CYP3A4 阻害の  $K_i$  値の相関をプロットしたところ、脂溶性が高いものほど強い CYP3A4 阻害を示す傾向が認められた。ラクトン型プロドラッグであるシンバスタチンおよびロバスタチンは CYP3A4 代謝阻害を示した。アシッド型であり、かつ logP 値が負を示すプラバスタチンは CYP3A4 の代謝を阻害しなかった。また、logP 値が正の値を示すアシッド型であるフルバスタチン、セリバスタチン、アトルバスタチンも CYP3A4 の代謝を阻害した。

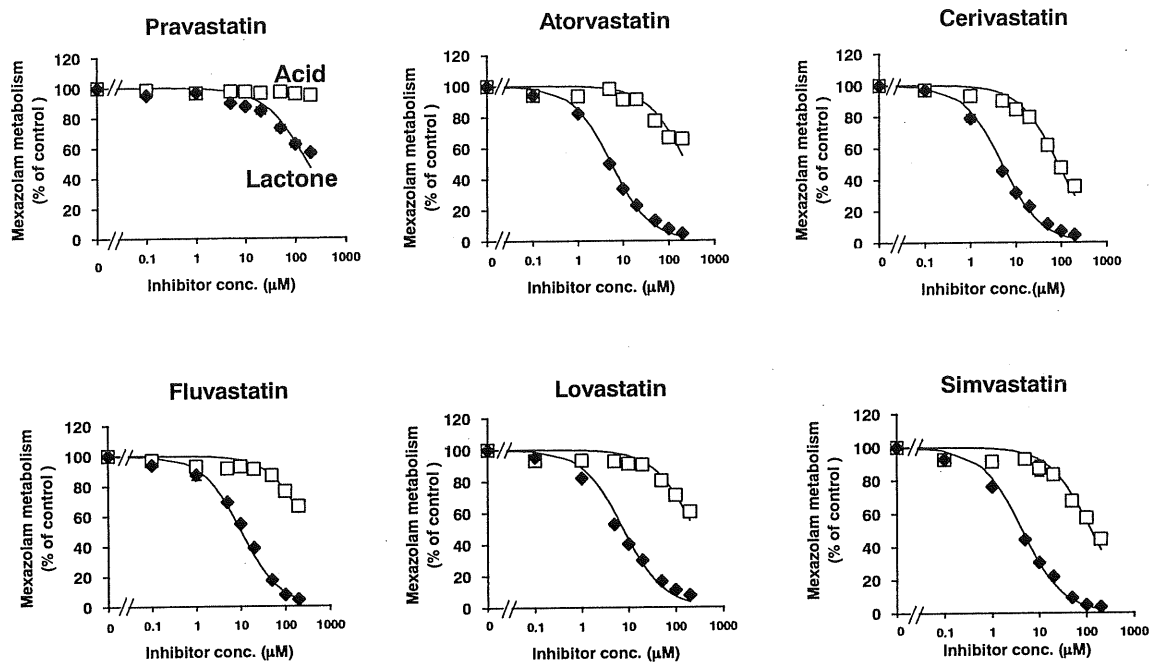


図1 ヒト肝ミクロソームによるメキサゾラム代謝に対するHMG-CoA還元酵素阻害剤の影響

#### 4. ラットにおけるメキサゾラム代謝に対する各種 HMG-CoA 還元酵素阻害剤の阻害の性差

雌雄ラット肝ミクロソームによるメキサゾラムの代謝に関与する P450 分子種について、P450 分子種阻害抗体を用い検討した結果、雌ラットでは主に CYP3A サブファミリー、雄ラットでは主に CYP2C11 が関与していることが示された (図2)。一方、デキサメサゾン投与ラット肝ミクロソームのメキサゾラム代謝に関与する P450 は雌雄とも主に CYP3A サブファミリーであることが推定された。雌ラット肝ミクロソームによるメキサゾラム代謝は、プラバスタチン (アシッド) 以外の HMG-CoA 還元酵素阻害剤によって阻害され、一方、雄ラット肝ミクロソームでは、プラバスタチン (アシッド) およびシンバスタチンアシッド以外の HMG-CoA 還元酵素阻害剤によって阻害された。この時、雄に比較して雌の  $K_i$  値が低値を示し、HMG-CoA 還元酵素阻害剤のメキサゾラム代謝阻害能には性差が認められた。さらに、デキサメサゾンで CYP3A サブファミリーを誘導した雄ラット肝ミクロソームによるメキサゾラム代謝に対しては、シンバスタチンアシッドは阻害を示した。これらの結果より、阻害の性差はメキサゾラム代謝に関与する P450 分子種が雌雄で異なる事、またシンバスタチンアシッドの CYP2C11 と CYP3A サブファミリーに対する阻害能力が異なるためと推察された。また、メキサゾラム代謝阻害に関しては、雄ラットよりも雌ラットの方がヒトを反映しており、さらに雄ラットもデキサメサゾン誘導することによってヒト型の阻害を示すことが明らかとなった。

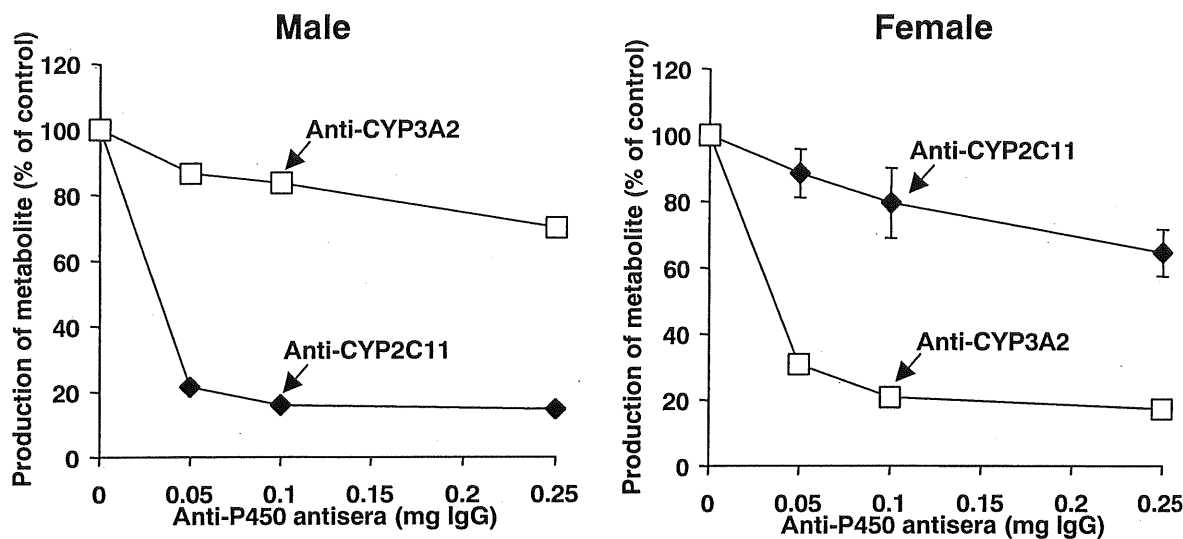


図2 雌雄ラット肝ミクロソームのメキサゾラム代謝に対するP450分子種阻害抗体の影響

【結論】

ラットによるメキサゾラムの代謝および HMG-CoA 還元酵素阻害剤の阻害には性差があり、雌ラットの方がヒトを反映していることが明らかとなった。さらに、ラットによるシンバスタチンの代謝、およびイトラコナゾールの阻害にもメキサゾラムと同様の性差があり、雌ラットがヒトに類似した相互作用を示した。この薬物相互作用の性差は、代謝に関与する P450 分子種が雌雄ラットで異なる事が原因であることが明らかとなった。代謝に関与する薬物相互作用の試験の目的で、ラットをヒトのモデル動物として用いる場合は、代謝に関与する分子種の種差や性差を考慮に入れる必要性が示された。

ヒト肝ミクロソームを用いた検討より、HMG-CoA 還元酵素阻害剤の脂溶性と CYP3A 阻害能力には相関があり、脂溶性が高い薬物ほど CYP3A の阻害活性が高い傾向が示された。この結果は、P450 が脂溶性薬物を水溶性に変換し、体外に排出する役割を果たしていることから考えると、脂溶性が高い薬物ほど P450 に対する親和性が高く、その延長として P450 阻害が生じることを合理的に説明できる。こうした観点から、P450 による代謝をほとんど受けない水溶性の高いアシッド型として投与されるプラバスタチンは、薬物相互作用の回避という特徴を有すると結論できる。