

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 山田 哲裕

医薬品の使用において、薬効および副作用には個人差があることが広く知られている。個人差発現のメカニズムを明らかにすることは、安全な医薬品の適正使用に大きく貢献するものである。抗悪性腫瘍薬のほとんどは、好中球減少をはじめとする重篤な副作用を伴っており、わずかな体内動態の変動が、時には生命を危険にさらすことから厳密に制御されなければならない。

投与された薬物は、経口投与された場合は、消化管より吸収された後、循環血へと到達し、薬効標的臓器へと分布することで薬効を示す一方、肝臓での代謝あるいは未変化体としての胆汁排泄および腎臓での尿中排泄を受けて体内から消失する。これらの各素過程には、数多くの薬物代謝酵素やトランスポーターが関与していることが明らかとなっている。

医薬品の薬効・副作用発現に対するトランスポーターの関わり方は以下の2種類に大別できる。一つは、薬物の消失過程に関与するトランスポーターの場合、トランスポーターの機能が薬物の全身クリアランスを決定付ける要因となっており、その機能変動により、全身の薬物の暴露が変動し、その結果として標的臓器への分布も同様に変動する場合が挙げられる。もう一つは、薬効・副作用の標的臓器そのものにトランスポーターが発現している場合である。その場合、特に分布容積が全身の分布容積と比較して非常に小さく、標的臓器局所への薬物の移行が循環血中濃度に影響を与えないようなケースだと、標的臓器の薬物濃度だけが変動することが起こりうる。

申請者は抗がん剤 docetaxel が引き起こす好中球減少症と薬物トランスポーターOATP1B3, MRP2 の遺伝子多型の関連について、そのメカニズムを明らかにするとともに、これまで遺伝子多型による機能変動が全く知られていなかった OATP1B3 の機能を、プローブ薬を用いた臨床試験より明らかにした。以下にその詳細を示す。

docetaxel の重篤な副作用の1つである好中球減少症のリスクが、Organic Anion Transporting Polypeptide (OATP)1B3, Multidrug Resistance associated Protein (MRP)2それぞれ特定の遺伝子変異により上昇することが判っていたが、そのメカニズムは不明であった。申請者は、臨床事象を説明する仮説として、docetaxel の肝取り込みは主に OATP1B3 によるものであり、遺伝子変異による機能低下が docetaxel の体内からの消失遅延を招き、全身暴露が上昇して血液毒性が重篤化した、好中球あるいはその前駆細胞に発現する MRP2 が docetaxel を細胞内から能動的に排出しており、遺伝子変異による機能低下の結果、血球細胞内の薬物の蓄積が増大し、血液毒性が重篤化した、と考えた。さらに、臨床研究の結果発見された二つの遺伝子変異は、これまでに臨床事象との関連についても報告がない。そこで本研究では、上記仮説の検証を進めると共に、docetaxel による好中球減少の程度を薬

物動態の変動とリンクさせた数理モデルを基に、トランスポーターの機能変動が血液毒性のリスクに与える影響をモンテカルロシミュレーションより考察した。また、トランスポーター機能の個人差は、遺伝的要因以外によっても生み出されることから、ヒト *in vivo* において個々のトランスポーター機能を見積もることができるプローブ薬が切望されている。そこで、OATP1B3の機能を、ヒト *in vivo* で測定可能なプローブ薬の解析についても行った。

1. Docetaxel に起因する好中球減少症のリスクを決定付ける OATP1B3 の役割とプローブ薬を用いた遺伝子多型による OATP1B3 の機能変動の検証

ヒト肝臓の血管側膜に発現している各種 Solute Carrier (SLC)ファミリートランスポーター(OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1, OAT2, Ntcp, OCT1)のうち、ヒト肝臓への取り込みには OATP1B3 が主に寄与していることを、申請者は発現細胞ならびにヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験より明らかにした。

これまでにアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 telmisartan が、OATP1B3 の選択的な基質となって肝取り込みされていることが *in vitro* 実験の結果から示唆されており、ヒト臨床において OATP1B3 の輸送機能をフェノタイピングできるプローブ基質となりうると考えられてきた。Telmisartan は、肝臓に OATP1B3 によって取り込まれた後、肝臓内で UDP-glucuronosyl transferase (UGT)によるグルクロン酸抱合を受けて胆汁排泄されることが考えられている。そこで申請者は、OATP1B3 をはじめとする一連の薬物トランスポーターおよび telmisartan の抱合代謝に関与する可能性がある UGTs のうち機能低下が明確に報告されている UGT1A1*28 について telmisartan の薬物動態との関連解析を行った。その結果、前述の docetaxel の臨床研究において有意な関連が認められた変異である OATP1B3 rs11045585 のヘテロ接合体において telmisartan の経口クリアランスは 70.5%に低下する傾向にあること(P=0.0832)、また、UGT1A1*28 のヘテロ接合体では、telmisartan の経口クリアランスが 175%に有意に上昇すること(P=0.0349)を明らかにした。

2. Docetaxel に起因する好中球減少症のリスクを決定付ける MRP2 の役割

申請者は、MRP2 を過剰発現させた細胞において docetaxel による毒性および蓄積性が低下することを見出し、MRP2 が docetaxel を細胞外へと排出することで細胞毒性を緩和させる働きを担っていることを明らかにした。また次に申請者はラットより採取した骨髄細胞を用いて、G-CSF により促進されるコロニー形成に対して docetaxel の濃度依存的な阻害効果を観察したところ、対照群となる SD rat 由来の細胞に比べ、MRP2 を遺伝的に欠損するラット、Eisai Hyperbilirubinemic Rat (EHBR)から採取した細胞、もしくは、MRP 阻害剤 MK571 を添加した細胞では、docetaxel の阻害効果の有意に増強していることを観察した。すなわち骨髄細胞において MRP2 が docetaxel の細胞毒性に対する防御に関与しており、その機能欠損や阻害が骨髄細胞における毒性を増強することが示唆され、当初の仮説を支持する結果を得た。

3. 好中球減少を定量的に予測する数理モデルを用いた OATP1B3, MRP2 遺伝子多型が副作用発現リスクに与える影響に関する考察

薬物動態・副作用発現両方を加味した、抗がん剤が引き起こす好中球減少症を定量的に表す数理モデルが過去に提唱されている。薬物動態、薬効（副作用）を決める個々の因子にはそれぞれ個体間変動があるが、数理モデル中においてはパラメータのばらつきとして考えることができる。そこで、過去に報告例のある docetaxel の好中球減少症を説明する PK/PD モデルを用いて、各パラメータのばらつきを考慮に入れたモンテカルロシミュレーションによる仮想的なヒトのパラメータセットを発生させ、好中球数の最低値を基に好中球減少症の重篤度の grade 判定を行った。毒性非発現群と grade3, 4 の好中球減少が発現した群とで分類した際の odds ratio は、前述の臨床試験の結果における患者数 15 名以上の遺伝子型の OATP1B3/MRP2 の遺伝子型がヘテロ/ヘテロ、野生型/ヘテロ、野生型/ホモにおいてそれぞれ 9.04, 3.72, 11.8 であった。一方、シミュレーションで、docetaxel の全身クリアランスを 80%にまで低下させた場合（OATP1B3 の機能低下を想定）、および docetaxel の最大の副作用発現の半分を示す血中濃度を表す定数を 66%にまで低下させた場合（MRP2 の機能低下を想定）について、各パラメータのばらつきを考慮してランダムに生成された 500 人分の仮想パラメータセットに基づきシミュレーションを行い、odds ratio をそれぞれ算出したところ、9.84, 3.10, 10.8 と臨床報告に近いリスクの上昇となった。

以上のように申請者は、docetaxel によって引き起こされる好中球減少症のリスクと OATP1B3, MRP2 の遺伝子多型との関連性を明らかにし、また臨床研究により明確にされたトランスポーターの機能解析を通じ、遺伝子多型によって生じる OATP1B3, MRP2 の機能低下がどの程度副作用の発現リスクを高めるかに関して定量的な考察を行った。またさらに、ヒト in vivo で直接トランスポーターの機能を推定できるようなプローブ薬を探索する一環として、OATP1B3 選択的基質である telmisartan を用いた臨床試験を行うことで、先の遺伝子多型による OATP1B3 の機能低下の程度について併せて検討を行った。

本研究では医薬品の副作用発現におけるトランスポーターの重要性を、docetaxel に関する臨床研究をきっかけとして様々な実験系を駆使して、全身動態および局所動態の両側面より明らかにした。特に、OATP1B3 の新規遺伝子多型が臨床で機能変動しうる事象や薬物の血球移行における MRP2 の役割は、申請者が初めて見出したものである。さらに申請者は、数理モデルを用いた解析より、docetaxel に誘起される好中球減少症のリスク要因を定量的に解析可能とした。本研究の成果は、今後の医薬品の適正使用にあたり、トランスポーターの重要性を示唆すると共に、副作用の予測までを包含した情報提供を可能にする道を開くものであり、薬物動態の理論を活用した応用研究として極めて意義深いものである。よって、申請者を、博士（薬学）の学位を授与するに値するものと認めた。