

# 論文の内容の要旨

## 論文題目

Prediction of pharmacokinetics of anionic drugs involving drug transporters  
— application of a physiologically based pharmacokinetic model  
and importance of the hepatic uptake process —

(トランスポーターが関与するアニオン性薬物の体内動態の定量的予測  
— 生理学的薬物速度論モデルの利用と肝取り込み過程の重要性 —)

氏 名 渡 邊 貴 夫

メカニズムに基づき薬物動態、薬効、毒性を精度高く予測することで、医薬品臨床開発の成功確率が向上するものと大きく期待されている。生理学的薬物速度論 (PBPK) モデルは、実体に即したパラメータを利用することで、医薬品の薬効・毒性の決定因子として重要な血中および臓器中濃度—時間推移を予測することに広く用いられており、特に病態、薬物間相互作用、遺伝子多型などによる生理的あるいは薬物固有のパラメータの変動が薬物の体内動態に与える影響を定量的に予測する上で有用である。

生体内の主要な異物排泄臓器である肝臓では、薬物トランスポーター (以下 TP) は医薬品の肝取り込みおよび胆汁中への排泄に関わり、これまでに TP に関連する薬物間相互作用や遺伝子多型が薬物動態の個体間変動の要因となることが複数報告され、肝臓の TP が薬物の体内動態を規定する重要な因子であることが臨床においても実証されている。従って、医薬品開発の早期に、候補化合物について TP の関与する薬物動態、薬物間相互作用および個体間変動を定量的に予測することは、個人差の小さく、安全性の高い医薬品の創製につながる。そこで本研究では、*in vitro* 試験に基づいた TP を介する膜輸送クリアランスの予測法を確立し、さらに TP による膜透過過程を組み入れた PBPK モデルを構築することにより、ヒト薬物動態の予測および薬物間相互作用や遺伝的要因による TP の活性変動が薬物動態に与える影響を定量的に予測することを目的とした。

本研究では、高脂血症治療薬として広く使用されている HMG-CoA 還元酵素阻害薬 (スタチン) をモデル薬物として選択した。肝臓はスタチンの薬効標的臓器ならびにクリアランス臓器である。スタチンの副作用は筋障害であり、極めて重篤なものとして横紋筋融解症が知られている。

スタチンの肝臓および筋肉への暴露は、それぞれ薬効および副作用の決定因子となる。プラバスタチンは OATP1B1 によって肝臓に取り込まれ、MRP2 によって胆汁中に排泄される。OATP 1B1 の機能低下を伴う遺伝子多型では、(1) スタチンの血漿中曝露は高いが、薬効にほとんど差は認められないこと、(2) 筋障害の発現頻度が有意に高いこと、が報告されている。また、アトルバスタチンとシンバスタチンは主に CYP3A4 による代謝が主消失経路であるが、CYP3A4 の強力な阻害剤であるイトラコナゾールと併用すると、アトルバスタチンの血漿中 AUC の上昇はシンバスタチンのそれと比較して小さいこと、一方、取り込みトランスポーターの阻害剤であるシクロスポリン A は、どちらのスタチンの AUC も同程度上昇させることが報告されている。これらの事象を合理的に説明するために、肝消失を取り込み、バックフラックス、胆汁排泄および代謝の素過程に分解して、モデリング&シミュレーションの手法により解析するとともに、予測した素過程を再統合することで体内動態予測を行った。

第 1 章では、肝臓コンパートメントに TP による膜輸送過程を組み入れた全身の PBPK モデルを構築し、プラバスタチンの体内動態の予測および TP の活性変動が薬物動態に与える影響の定量的予測を試みた。まず、ラットにおける PBPK モデリングを行った。肝取り込み ( $PS_{inf}$ )、シヌソイド膜上の単純拡散、胆管側膜上での胆汁排泄 ( $PS_{bile}$ ) および代謝 ( $CL_{met,int}$ ) の肝クリアランスを構成する各素過程の固有クリアランスを種々の *in vivo* 実験により見積もり、PBPK モデルに組み入れることによって、プラバスタチンを静脈内または十二指腸内投与したときの血漿中濃度および胆汁排泄の時間推移を精度よく再現することに成功した。さらに、肝取り込み、胆汁排泄および代謝の各固有クリアランスの  $K_m$  値を使用することにより、静脈内投与後の血漿中濃度および累積胆汁排泄量の非線形性を再現することも可能であった。また、肝取り込み、胆汁排泄および代謝の各素過程のクリアランスで決定される肝臓中濃度推移を用量依存性も含めて再現できた。非線形性も含めて *in vivo* 体内動態を再現できたことから、この PBPK モデルはプラバスタチンのラットにおける体内動態を記述するのに妥当なモデルであると考えられた。次に、同じ PBPK モデルを用いてプラバスタチンのヒトにおける体内動態の予測を試みた。ラットの肝細胞、胆管側膜ベシクルおよび肝 S9 を用いて *in vitro* の  $PS_{inf}$ 、 $PS_{bile}$  および  $CL_{met,int}$  を求め、それぞれについて *in vivo* パラメータに対する比 (*in vivo*/*in vitro*) を求めた。この比をスケールリングファクター (SF) とし、ヒトにおける  $PS_{inf}$ 、 $PS_{bile}$  および  $CL_{met,int}$  の *in vivo* パラメータは、ラットと同様の *in vitro* 実験により得た値に、この SF を乗ずることによって算出した。これらのパラメータを使用してヒトの静脈内あるいは経口投与後の血漿中濃度推移をシミュレーションしたところ、臨床試験での報告値を再現することに成功した。

素過程の変動が血中動態ならびに肝臓中動態に与える影響をシミュレーションした結果、肝取り込み活性の変動は血漿中濃度に大きな影響を与えたが、胆汁排泄活性やバックフラックス活性の変動は、血漿中濃度にほとんど影響を与えなかった。反対に、取り込み活性の変動は肝臓中濃度 (薬効標的部位) にはほとんど影響を与えなかったのに対し、胆汁排泄活性の変動は、肝臓中濃度に大きく影響した。以上より、取り込み TP 活性の低下は血漿中濃度ひいては筋肉中濃度の上昇を引き起こし、ミオパチーの発現を増長する可能性が示唆された。また、取り込み TP 活性の低下は薬効標的臓器である肝臓中の濃度には大きな影響を与えないことから、薬効発現にはほ

とんど影響しないことが示唆された。これらの予測結果は、いずれも臨床報告と一致するものであった。

ヒト凍結肝細胞を用いて測定したプラバスタチンの *in vitro* 取り込みクリアランスを *in vivo* へと外挿したところ、その絶対値は overall 肝固有クリアランス ( $CL_{int,all}$ ) と等しく、プラバスタチンの肝クリアランスは取り込み過程が律速段階であることが示唆された。そこで、第 2 章においては、プラバスタチンと同様にアニオン性官能基を有する他のスタチンも含め、肝クリアランスの律速段階について検討した。主に胆汁排泄によって消失するピタバスタチン、シトクロム P450 による代謝によって消失するアトルバスタチンおよびフルバスタチンについて検討した。ラット *in vivo* 試験により、各スタチンの  $CL_{int,all}$  を求め、さらに取り込みクリアランスを *in vivo* に近い肝灌流系である Multiple Indicator Dilution (MID) 法によって取得した。プラバスタチン、アトルバスタチンおよびフルバスタチンでは、MID 法で得た肝取り込みクリアランスは  $CL_{int,all}$  と同程度であり、ラットの肝クリアランスにおいて取り込み過程が律速段階であると考えられた。また、代謝クリアランスの予測に最も汎用される肝ミクロソームまたは S9 フラクシオンから得た代謝固有クリアランスでは、 $CL_{int,all}$  を過小評価しており、 $CL_{int,all}$  を予測するためには、取り込み過程を考慮すべきであると考えられた。次に、ラットで定義した SF を用いて、ヒト *in vitro* の実験値からヒトの *in vivo* の取り込みクリアランスを外挿し、ヒトの  $CL_{int,all}$  と比較を行った。ヒト凍結肝細胞では、いずれのロットでも飽和性が認められ、肝取り込みに TP の関与が示唆された。ヒト肝細胞から得た取り込みクリアランスにラット SF を乗じたヒト *in vivo* の取り込みクリアランスの推定値は臨床報告値から算出した  $CL_{int,all}$  と同程度であり、ヒトにおいても取り込み過程が肝クリアランスの律速段階であることが示唆された。第 1 章のシミュレーション結果とあわせて考察すると、取り込み TP の活性変動はこれらスタチンの有害作用発現のリスク要因となるものの、薬効には影響を与えないこと、ならびに各スタチンの胆汁排泄/代謝過程の活性変動は有害作用発現には大きな影響を与えないものの薬効には強く影響を与えることが示唆された。CYP3A4 の阻害剤であるイトラコナゾールがアトルバスタチンの AUC をそれほど変動させなかった現象は、肝取り込み過程がアトルバスタチンの肝クリアランスの律速段階であるためであることが示唆された。

本研究において、プラバスタチンをモデル薬物として、TP 基質の体内動態を記述できる PBPK モデルを構築し、動物実験を併用することで、ヒトの *in vitro* 実験パラメータからヒトの体内動態を予測することができることを示した。また、スタチン類の肝クリアランスにおいて、取り込み過程が律速段階であり、体内動態の予測には取り込み過程を考慮することの重要性を明らかにした。さらに、取り込み過程の変動は有害作用のリスク要因となること、および肝細胞内からの消失過程の変動は薬効に強く影響を与えることが示唆された。本研究で得た知見は取り込み過程に TP が関わる他のアニオン性薬物の体内動態予測にも応用可能であり、本研究成果は創薬段階におけるヒト薬物動態予測の精度向上に貢献するものと考えられる。なお、本研究内容は、FDA および国際トランスポーターコンソーシアムから発表された医薬品開発における TP 研究に関する白書 (Nature Reviews Drug Discovery 誌) において、TP の *in vivo* におけるインパクトを推定する方法論として有用であると紹介された。