

【別紙2】

審査結果の要旨

氏名 宮島 真理

アロマターゼ(P450arom、CYP19A1)はアンドロゲンを経エステルへと変換する酵素であり、その阻害剤はホルモン依存性乳癌の閉経後女性に処方され、脂肪などの末梢臓器と癌のアロマターゼを阻害してエストロゲン産生を抑制する。その結果、エストロゲン依存的な細胞増殖が抑えられ、抗腫瘍効果を発揮する。アロマターゼ阻害剤は tamoxifen と比較して予後が良好であり、再発予防効果にも優れるため、閉経後乳癌のホルモン療法の第一選択薬となっている。乳癌組織と同様、脳腫瘍においてもアロマターゼの発現亢進が確認され、アロマターゼ阻害剤投与により乳癌脳転移が縮小した例も報告され、今後アロマターゼ阻害剤の乳癌脳転移への適応拡大が期待される。また、中枢神経系においてもアロマターゼの発現や活性が確認され、局所的に産生されたエストロゲンが神経伝達や神経成長の調節に関与すると考えられている。現在相反する臨床報告があるものの、アロマターゼ阻害剤服用による学習、認知能力の低下などの中枢性副作用も指摘されている。したがって、現在のアロマターゼ阻害剤を用いた抗がん治療、さらには脳内アロマターゼを副作用標的と捉えた今後の薬物治療のあり方を考える上で、アロマターゼ阻害剤の脳内曝露に基づいて、臨床投与量における脳内アロマターゼ阻害能を定量的に予測することは大変重要な課題である。アロマターゼ阻害剤の脳内曝露は、血液中での滞留性や血液中・脳中での蛋白結合、血液と脳実質との間の関門である血液脳関門における薬物輸送によって決定される。申請者は、アロマターゼを競合的に阻害する非ステロイド系アロマターゼ阻害剤に注目し、国内で臨床に用いられている anastrozole、letrozole (ともに第3世代型)、開発中止となった vorozole、共同研究先である理化学研究所で現在開発中の cetrozole、TMD-322 の5化合物を選択し、その中枢移行性を規定する因子を明らかにし、ヒト脳内におけるアロマターゼ阻害能を予測することを目的として、以下の研究を行った。

【アロマターゼ阻害剤の物理化学的特性の比較】

これまでの医薬品の物性に基づく血液脳関門透過性の予測系に関する種々の検討から、単純拡散による血液脳関門透過性は、水素結合ポテンシャル、分子量、脂溶性に依存することが示唆されている。本研究で用いた5化合物はいずれの化合物も中性化合物で、分子量も280から320、程度、脂溶性を示すlogP値も3前後と、化合物間で大きな違いは見られなかった。したがって、化合物間で単純拡散による血液脳関門透過性は大きく変わらないことが予想された。申請者が5化合物の膜透過性について MDCKII 細胞の経細胞輸送実験で評価したところ、化合物間で膜透過性はほとんど変わらず、その違いはせいぜい2倍以内であった。これは物性に基づく予測値と一致していた。る。

【マウスにおけるアロマターゼ阻害剤の中枢移行性および各諸要因の評価】

ICR マウスにアロマターゼ阻害剤を静脈内投与し、in vivo における中枢移行性を評価した。

アロマターゼ阻害剤の脳-血漿中濃度比は、anastrozoleが他の薬物の1/10程度(0.030mL/g brain)と著しく低い値を示すのに対し、他の薬物についてはいずれも0.185~0.487mL/g brain 4mL/g brain 前後と同程度であった。定常状態の脳-血漿中濃度比は、血液-脳細胞間液 (ISF) 間の取り込みクリアランス($PS_{\text{blood-ISF}}$)と排出クリアランス($PS_{\text{ISF-blood}}$)との比、脳細胞間液 (ISF) -脳実質 (parenchyma) 間の取り込みクリアランス($PS_{\text{ISF-parenchyma}}$)と排出クリアランス ($PS_{\text{parenchyma-ISF}}$)との比、血漿中非結合型薬物分率 (f_p)、脳内非結合型薬物分率 (f_{br}) から構成される。TMD-322 および vorozole の f_p は他の薬剤に比べて小さいにも関わらず、in vivo では同程度程度の脳-血漿中濃度比を示した。これは大脳ホモジネートを用いて平衡透析法により求めた f_{br} が、 f_p と同程度であったことで説明された。脳内分布容積はマウス脳スライス取り込み実験により測定した。脳実質への濃縮率 ($PS_{\text{ISF-parenchyma}}/PS_{\text{parenchyma-ISF}}$) は脳内分布容積と f_{br} の積により求められ、いずれの化合物も濃縮率は0.5~1に近くであり、脳実質細胞内への濃縮あるいは能動的な排出はないものと考えられた。上記実験で測定した脳-血漿中濃度比、 f_p 、 f_{br} および脳実質内への濃縮率から、血液脳関門における薬物輸送に関わる $PS_{\text{blood-ISF}}$ と $PS_{\text{ISF-blood}}$ の比が求められる。いずれの化合物に関しても $PS_{\text{blood-ISF}}$ と $PS_{\text{ISF-blood}}$ の比は1を下回り、特に anastrozole については、この値が0.03ととりわけ小さく、血液脳関門での排出輸送が大きく寄与していることが示唆された。この点について、マウス脳マイクロダイアリシス法で検証した。脳細胞間液中濃度を測定したところ、anastrozole の脳細胞間液中濃度は静脈内投与後すみやかに定常状態に達した。血漿中非結合型薬物濃度に比較して、脳細胞間液中濃度は10分の1程度であった。り、anastrozole の脳実質への移行が著しく制限されていることが裏付けられた。

【アロマターゼ阻害剤の血液脳関門を介した輸送の評価】

in situ 脳灌流法により測定した血液脳関門透過性においても、他の4化合物が良好な透過性を示すのに対して、anastrozole は5化合物の中で、突出して低い値(0.110mL/g brain)を示した。初期取り込み過程から anastrozole の中枢移行性が制限されていることが分かった。マウス脳マイクロダイアリシス法で脳細胞間液中濃度を測定したところ、anastrozole の脳細胞間液中濃度はすみやかに定常状態に達した。血漿中非結合型薬物濃度に比較して、脳細胞間液中濃度は10分の1程度であり、anastrozole の脳実質への移行が著しく制限されていることが裏付けられた。

血液脳関門にはABCトランスポーターP-gp、Bcrp、Mrp4が発現しており、その能動的なみ出しにより種々薬物の中枢移行性を抑制していることが知られている。ヒトP-gp発現MDCK IIでは、コントロール細胞に比較して anastrozole、vorozole について有意な方向性経細胞輸送が観察され、これら化合物はP-gp基質となることがin vitroで確認された。さらに、in vivoでの寄与率を推定するため、P-gpノックアウトマウスで脳-血漿中濃度比を測定した。P-gpノックアウトマウスにおいて、anastrozole の脳-血漿濃度比 ($K_{p,\text{brain}}$) は野生型マウスの5.4倍に、vorozole の $K_{p,\text{brain}}$ は2.3倍に増加したことから、これらの薬物は血液脳関門でP-gpによる能動的排出輸送を受けることが明らかとなった。Vorozole と異なり、anastrozole はP-gpノックアウトマウスにおいても、その $K_{p,\text{brain}}$ は依然として1を下回ることから、P-gp以外のトランスポ

ーターによるくみ出しを受けることも示唆されたている。letrozole、cetrozole、TMD-322 はヒト P-gp、BCRP 発現 MDCK II において、コントロール細胞に対して有意な方向性経細胞輸送が観察されず、また P-gp、Bcrp ノックアウトマウスにおける $K_{p,brain}$ は野生型マウスと同程度であった。Mrp4 ノックアウトマウスにおいても、アロマターゼ阻害剤の $K_{p,brain}$ はすべて野生型マウスと同程度であった。Cetrozole、letrozole と TMD-322 においてはいずれの化合物においても、これら既知排出トランスポーターの関与は限定的であるものと考えられたる。

【ヒト臨床投与量での末梢および脳内アロマターゼ阻害能の評価】

マウスでの脳実質内への濃縮率をヒトと同等であると仮定して、申請者は、市販薬である anastrozole ならびに letrozole で、末梢・脳内アロマターゼ阻害能を比較した。どちらの薬物も末梢臓器に比較して、脳内アロマターゼ阻害能は弱かった。しかし、letrozole の現行の投与量では脳細胞間液中濃度は十分に脳内アロマターゼを阻害する濃度に達しているおり、letrozole 服用時には脳内アロマターゼによる中枢作用が抑制されることが期待される。

以上、本研究から、アロマターゼ阻害剤は分子量、脂溶性などの物理化学的特性が類似しているが、血液脳関門における排出輸送の受け方は異なり、その結果として異なる細胞間液-血漿中濃度比を示すことを明らかにした。Anastrozole は他の 4 化合物と比較して、特に顕著な能動的な排出を受けるうけることが示唆され、これは P-gp による能動的な排出くみ出しによるものであることが結論づけられた。他の 4 化合物についても、anastrozole ほどではないものの、能動的な排出くみ出しを受けることが示唆され、vorozole については anastrozole 同様、P-gp による能動的な排出によるものと結論づけられたものの、。残りの 3 化合物他の薬物については、既知排出トランスポーター (P-gp、Bcrp、Mrp4) ではその排出輸送を説明できないことから、他のトランスポーターの関与が考えられる。In vitro アロマターゼ阻害能に基づくと、letrozole については現行の投与量でも脳内アロマターゼを十分阻害することが予想され、乳癌脳転移への利用も期待される。本研究では、申請者は、アロマターゼ阻害剤間での中枢移行性の違いを見出し、さらにそのような違いを規定する因子を明らかにした。アロマターゼ阻害剤間のこのような違いを利用することで、治療目的 (末梢臓器でのアロマターゼ阻害、乳がんの脳転移など中枢神経系でのアロマターゼ阻害) に応じて合わせたアロマターゼ阻害剤の投与量設計や薬剤の選択が可能となり、患者の quality of life の向上に貢献するものである。以上を考慮し、博士 (薬学) の学位を授与するに値するものと認めた。