

論文の内容の要旨

論文題目 MATE 阻害剤 pyrimethamine を用いた腎臓におけるカチオン性薬物
排出輸送機構の定量的解析

氏 名 伊藤 澄人

【背景・目的】

医薬品の体内動態特性は標的分子への暴露を通じて、薬効・有害作用発現に影響を与える重要な要因である。薬物トランスポーターは薬物の組織分布の特異性、生体内からの排泄経路を決定づける重要な因子である。生体内における主要な異物排泄臓器である腎臓では、糸球体濾過のほか近位尿細管における薬物輸送（尿細管分泌）により、薬物は尿中へと排泄される。尿細管分泌過程では、血液中からの取り込み、細胞内から尿中への排出の両輸送過程にトランスポーターが関与している。経口糖尿病治療薬である metformin など、分子量が比較的小さく水溶性の高いカチオン性薬物については、organic cation transporter 2 (OCT2) が腎取り込みに関与している（図1）。一方で、尿細管上皮細胞内から管腔側への排出過程には、腎刷子縁膜ベシクルを用いた *in vitro* 試験より H⁺勾配を駆動力とした交換輸送体の関与が示唆されていた。近年、multidrug and toxin extrusion (MATE) 1 および MATE2-K が同定され、カチオン性医薬品の尿中排泄の最終段階を司るトランスポーターと考えられている。これらトランスポーターにより効率的な輸送が行われている一方で、薬物間相互作用が生じる要因ともなっており、トランスポーターの機能変動が全身レベルでどの程度の変動を生じるのかを推定することが、医薬品開発の過程で求められている。実際に、ヒスタミン H₂ 受容体拮抗薬 cimetidine は、種々のカチオン性薬物

の腎クリアランスを低下させることが報告されており、FDA の薬物間相互作用のドラフトガイダンスでは、尿細管分泌を受けると考えられている新規化合物は cimetidine との相互作用試験を行うことが推奨されている。尿細管分泌に関わる輸送担体を明らかにすることの重要性に大きな関心が寄せられている。

私は修士課程において、抗マラリア薬である pyrimethamine (PYR) が、MATEs に対して強力かつ選択性の高い阻害剤であり、臨床投与量で取り込み側のトランスポーターである OCT2 を阻害せず、MATE 機能を十分阻害する濃度に達することを明らかにしている。本研究では、PYR を用いて腎薬物輸送における MATEs の重要性を明らかにすることを目的として、以下の実験を行った。

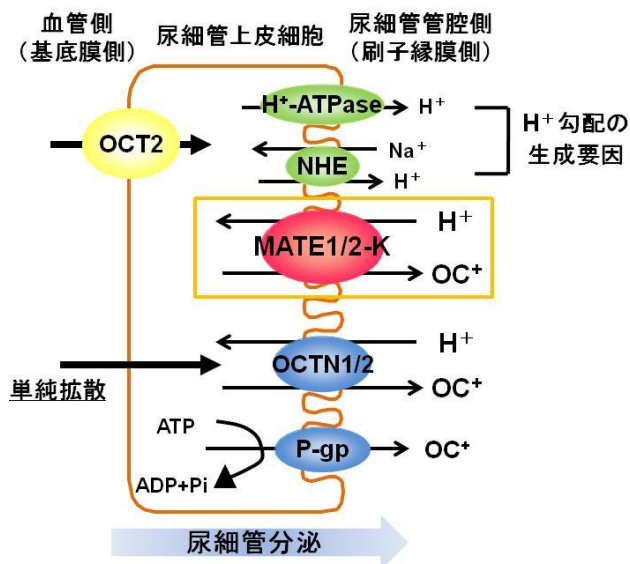


図 1. 有機カチオンの尿細管分泌機構

【方法・結果】

1. MATE プロブ阻害剤としての PYR の有用性を示すためのヒト臨床相互作用試験

1-1. Metformin と PYR との相互作用試験

健康人男性ボランティアを対象に、PYR を前投与 (50 mg, po) し、マイクロドース量 (100 μ g) または臨床投与量の metformin を経口投与し、4 期のクロスオーバー比較試験を行った。臨床投与量での PYR は血漿中非結合型濃度が 300 nM に達し、取り込み過程に影響を与えない濃度で、MATE を阻害することが期待された。PYR 投与群では、metformin (臨床投与量) の全身循環からの消失の遅延がみられた (図 2)。PYR 投与により、metformin の腎クリアランスはマイクロドース量では 23%、臨床投与量では 35% 低下した。

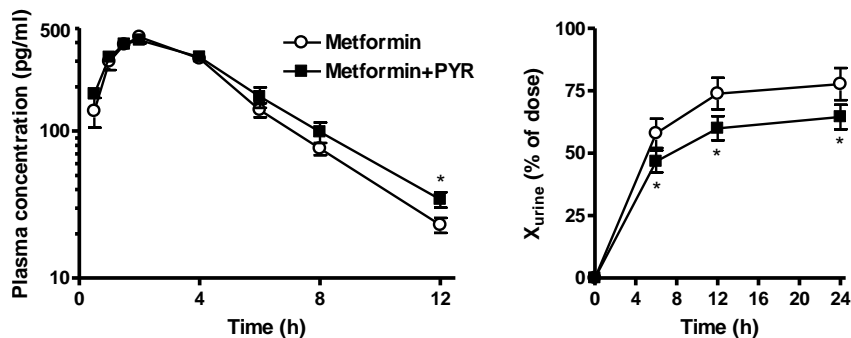


図 2. Metformin の血漿中濃度および尿中排泄におよぼす PYR の阻害効果

1-2. MATE 内因性プローブ基質と PYR との腎排泄過程における相互作用

ヒト臍出腎から調製した腎刷子縁膜小胞 (BBMV) において、 H^+ 勾配存在下で、内因性 MATE 基質である N-methylnicotinamide (NMN) の輸送を測定した。その結果、BBMV による NMN の取り込みは飽和性を示し、PYR によってほぼ完全に阻害された。BBMV における NMN の輸送は metformin によって競合的に阻害され、NMN は metformin と同じトランスポーターを共有していることが示唆された。また、前述の臨床検体を用いて、NMN の血漿中濃度・尿中排泄量を決定したところ、PYR 投与により尿中排泄量の顕著な低下が観察された。PYR 投与群では NMN の腎クリアランスが 69%減少し、ほぼ糸球体ろ過速度にまで低下した。PYR 投与により、腎クリアランスの低下による、血漿 creatinine 値の増加も認められた。

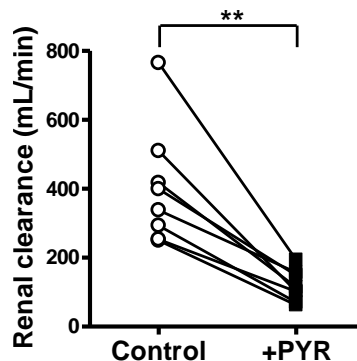


図 3. PYR による NMN 腎クリアランスの低下

2. Cimetidine との腎薬物相互作用の臨床データの解析

2-1. OCTs および MATEs に対する cimetidine の阻害定数の算出

Cimetidine による薬物間相互作用は OCT2 阻害と言われているが、OCT2 に対する阻害定数に基づくと、臨床投与量での OCT2 阻害効果は無視できる程度と予測される。MPP⁺、tetraethylammonium (TEA)、metformin、*m*-iodobenzylguanidine (MIBG)、ASP など OCTs および MATEs 基質を複数選択し、OCTs および MATEs 強制発現細胞における取り込みに対して、cimetidine の阻害定数を測定した。OCT2 に対する K_i 値は基質によらず 92~146 μM であり、MATE1 および MATE2-K に対する K_i 値はそれぞれ、1.1~3.8、2.1~6.9 μM であった。臨床投与量 (400 mg b.i.d) 服用後の非結合型最高血漿中濃度 (7.0~9.0 μM) であることを考慮すると、臨床における cimetidine の相互作用部位は OCT2 ではなく MATE 阻害によるものであることが示唆された。

2-2. カチオン性薬物の腎臓内動態・尿中排泄速度に対する cimetidine の影響

野生型マウスに PYR (20 $\mu mol/kg$ 、単回静脈内投与) または cimetidine (静脈内持続投与 1500 nmol/min/kg) に投与し、cimetidine との相互作用が報告されている薬物および MATE 基質 (静脈内持続投与 10 nmol/min/kg) の血漿中濃度、尿中排泄速度、腎臓中濃度を測定した。両阻害剤による阻害効果に違いはみられず、amiloride・ASP・cephalexin・MIBG・ranitidine・sulpiride・TEA の腎臓-血漿中濃度比の増加が認められた。一方、cimetidine との相互作用が報告されているにも関わらず、fexofenadine・pilsicainide・pindolol・procainamide・triamterene・varenicline では、マウスではその相互作用を再現することができなかった。

2-3. 蛍光プローブによる近位尿細管薬物輸送の生体イメージング

ASP は蛍光物質であり、共焦点蛍光顕微鏡を用いることによって ASP の組織中濃度の経時変化を観察することができる。野生型マウスに PYR (20 $\mu\text{mol/kg}$) を前投与後、ASP (50 nmol/min/kg)、fluorescein (10 nmol/min/kg) を尾静脈から投与し、*in vivo* 共焦点蛍光顕微鏡を用いて、腎臓内の薬物分布を測定した。Fluorescein をネガティブコントロールとして用いた。近位尿細管上皮細胞での fluorescein の蛍光強度は PYR 投与の有無で変化しなかったのに対し、PYR 投与群では ASP の蓄積が認められた。

【総括】

本研究を通じて、PYR は MATE を介した metformin の尿細管分泌を阻害し、ヒトにおける MATE の寄与を評価するうえで有用であることを示した。また、NMN が metformin、creatinine よりも MATE 機能変動の検出に優れた内因性基質であることを明らかにした。ヒトに投与可能な MATE 蛋白選択的阻害剤を見出したことにより、MATE 蛋白の重要性を実験動物だけではなく、ヒトにおいても検証することが可能とした。マウス腎臓において種々薬物の排出輸送に関わることから、MATEs は薬物動態学上重要なトランスポーターであると考えている。内因性プローブ基質の発見により metformin のようなプローブ基質を投与した臨床試験を行うことなく MATE の機能変動を調査することが可能となり、医薬品の腎尿細管分泌に働くトランスポーター研究は大きく前進すると考えられる。cimetidine の相互作用は従来から信じられていた OCT2 の阻害ではなく、MATE 阻害であるという仮説を提唱した。さらに ^{11}C Metformin や SPECT リガンドである MIBG と cimetidine との相互作用試験を行うことによって、ヒトにおいても cimetidine の相互作用部位が MATE であるということが実証されるものと期待している。FDA の薬物間相互作用ドラフトガイダンスに MATE も追加される予定であり、本研究の成果は、医薬品体内動態の最適化、薬物間相互作用の回避など医薬品の適正使用に貢献するものと期待される。