

|          |                                     |
|----------|-------------------------------------|
| 氏名       | はせがわつばさ<br>長谷川 翼                    |
| 学位の種類    | 博士（薬学）                              |
| 学位記番号    | 薬博甲 第33号                            |
| 学位授与の要件  | 学位規則第4条第1項該当者                       |
| 学位授与の年月日 | 平成29年3月24日                          |
| 学位論文題目   | 代謝酵素阻害による医薬品代謝物の<br>血中曝露の変動に関する研究   |
| 論文審査委員   | （主査）佐久間 信至<br>（副査）山下 伸二<br>（副査）片岡 誠 |

## 論文内容の要旨

一般に、薬物の代謝は異物の解毒過程と考えられるものの、代謝物の中には薬理的又は毒性学的に強い活性を有するものが存在する。薬物の代謝物に起因した有害事象を防止するため、2008年、アメリカ食品医薬品局は、「医薬品開発における代謝物の安全性担保のためのガイダンス」を公示し、ヒトにおいて一定以上の血中曝露を示す代謝物について、別途毒性試験の実施を要求している。一方、臨床上重篤な有害事象を引き起こす他の要因の一つとして、多剤併用による薬物間相互作用がある。薬物代謝酵素の阻害は、薬物間相互作用のうち最も頻度の高い事例であり、併用薬の血中濃度の上昇に伴って予期せぬ副作用が生じる。薬物の代謝物には、種々の代謝酵素に対して強い阻害作用を示すものがあり、その場合、代謝物が薬物間相互作用の要因となる。この様に薬物の代謝物は、それ自体が有する毒性によって、あるいは併用薬との相互作用によって、様々な有害事象を引き起す可能性があるため、主要な薬物代謝物の体内動態の評価は臨床上重要な課題である。

薬物間相互作用などによって肝臓の代謝酵素が阻害された場合、親薬物のみでなく、代謝物の体内動態も大きな影響を受ける。しかしながら、通常、代謝酵素の阻害は代謝物の血中濃度を低下させると考えられるため、これまで代謝酵素阻害時の薬物代謝物の体内動態に関する詳細な研究はほとんど実施されていない。

本研究では、モデル薬物として、シトクロム P450 (CYP) の典型的な基質であるミダゾラム (MDZ)、ジアゼパム (DAP) 及びタモキシフェン (TAM)

を用い、それぞれの代謝物の血中濃度推移に及ぼす CYP 阻害の影響に関する詳細な検討を行った。これら薬物は、いずれも CYP によって逐次的に代謝され、その中間代謝物が血中に検出されることが知られている。また、代謝阻害剤として、CYP の非特異的阻害剤である 1-アミノベンゾトリアゾール (ABT)を用いた。

## 第 1 章 CYP 酵素の阻害による薬物代謝物の血中曝露の変動

まず、モデル薬物として CYP3A によって代謝される MDZ を用い、ABT で前処理したラットに静脈内投与した後の、MDZ 及びその中間代謝物の血中濃度推移を観察した。その結果、ABT 前処理ラットにおいて、親薬物である MDZ の全身血中からの消失が遅延し、CYP 酵素が阻害されたことが確認された。一方この時、MDZ の中間代謝物である 1'-OH MDZ および 4-OH MDZ の血中濃度時間曲線下面積 (AUC) は、ABT 前処理によって 4.3~5.1 倍にまで上昇し、親薬物の代謝が阻害されたにもかかわらず代謝物の血中曝露が増加すると言う、極めて興味深い現象が観察された。

そこで、MDZ の中間代謝物の静注試験を実施したところ、ABT 前処理ラットでは両代謝物とも全身クリアランス ( $CL_{sys}$ ) が 1/2 程度に低下しており、中間代謝物から最終代謝物への代謝も阻害されることが示唆された。また、MDZ 静脈内投与後に全身循環血中に移行した中間代謝物の量 (血中移行量) を算出したところ、CYP 阻害によって約 2 倍増加していることが明らかとなった。

次に、DAP 及び TAM についても同様な検討を行った結果、両薬物とも ABT 前処理によってその中間代謝物の血中 AUC が有意に上昇した。そこで、これら 3 種のモデル薬物静脈内投与後の、それぞれの中間代謝物の  $CL_{sys}$  及び血中移行量に及ぼす ABT 前処理の影響を比較した結果、CYP 阻害によって中間代謝物の AUC が上昇した理由として、(1) 中間代謝物から最終代謝物への代謝が阻害されその  $CL_{sys}$  が低下した、(2) 肝臓中で生成した中間代謝物の血中への移行量が増加した、という二つの要因が関与していること、及びそれぞれの要因の関与の仕方は薬物によって異なることが示唆された。

親薬物と中間代謝物について、肝臓及び全身循環血中での動態を表す薬物速度論的モデルを用いて解析を行った結果、親薬物静脈内投与後の中間代謝物の血中 AUC は、その肝代謝固有クリアランスと反比例の関係にあること

が明らかとなった。そこで、ラット肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験を行い、各薬物の親薬物から中間代謝物、および中間代謝物から最終代謝物への代謝速度に及ぼす ABT の影響を調べた。その結果、いずれの薬物も両代謝過程が阻害され、それぞれの代謝速度定数 ( $k_1$ 、 $k_2$ ) が有意に低下することが示された。*In vitro* で求めた代謝速度定数より、各々の薬物の中間代謝物の  $CL_{sys}$  および血中移行率を算出した結果、① MDZ の中間代謝物の AUC の上昇には、中間代謝物の  $CL_{sys}$  の低下とその血中移行率の上昇の二つの要因が関与する、② DAP では主として中間代謝物の  $CL_{sys}$  の低下が原因である、③ TAM では主として中間代謝物の血中移行率の上昇が原因である、と推察された。

本章で用いた 3 種のモデル薬物の中間代謝物は、いずれも薬理活性を有した活性代謝物である。したがって、ここに示した結果は、薬物間相互作用等によって肝臓での代謝が阻害された場合、薬物の中間代謝物の血中曝露増加による予期せぬ薬効の増強、さらには副作用の発現の可能性を示唆するものと考えられた。

## 第 2 章 親薬物経口投与後の中間代謝物の血中曝露に及ぼす CYP 阻害の影響

臨床的に用いられている多くの薬物は経口的に投与されることから、実際の臨床における代謝物の血中曝露の変動を明らかにするためには、親薬物を経口投与した後の血中濃度を調べる必要がある。そこで、MDZ をラットに経口投与した後の中間代謝物の血中濃度推移に及ぼす CYP 阻害の影響を観察したところ、MDZ 及び両中間代謝物の血中 AUC はそれぞれ 35.1、18.6、12.3 倍と顕著に上昇することが明らかとなった。MDZ 経口投与後の中間代謝物の血中曝露が、静脈内投与の場合よりも顕著に上昇した理由を明らかにするため、静脈内投与試験との比較による経口吸収率 (F) の算出、及び門脈カニューレラットを用いた門脈中での中間代謝物の濃度推移の測定を実施した。その結果、コントロールラットにおいては、投与された MDZ のおよそ 3/4 が全身循環に移行する前に最終代謝物に代謝され、中間代謝物として血中に移行する量は投与量の 1/4 以下であったのに対し、ABT 前処理ラットでは初回通過代謝がほぼ完全に阻害され、投与量とほぼ同量の MDZ が、代謝されることなく全身循環血中に移行することが示された。すなわち、

CYP 阻害によって MDZ の全身循環血中への吸収率がほぼ 100%となった結果、肝臓においてより多くの中間代謝物が生成し、その血中曝露が増加したものと推察された。

臨床的に用いられている医薬品の多くが経口剤であることから、本結果は、薬物間相互作用によって肝代謝が阻害された場合には、親薬物のみでなくその代謝物の血中曝露の上昇にも十分な注意を払う必要があることを示すものと考えられた。

### 第 3 章 臨床における中間代謝物の血中曝露増加の可能性

本研究で CYP 阻害剤として用いた ABT は、強力な阻害効果を有する試薬であり、実際の臨床における薬物間相互作用とは質的にも異なる可能性がある。そこで、臨床的に繁用されているケトコナゾール (KTZ) を CYP 阻害剤として用い、MDZ のラット静脈内投与試験を行った結果、ABT で前処理した場合と同様、MDZ の中間代謝物の血中 AUC の上昇が確認された。したがって、臨床現場で実際に生じる薬物間相互作用によっても、薬物の中間代謝物の血中曝露の増加が引き起こされる可能性が示唆された。

薬物を投与される患者には、肝疾患などが原因で肝臓での薬物代謝機能が低下した患者も多く存在する。そこで、四塩化炭素 (CCl<sub>4</sub>) を腹腔内投与することによって急性肝障害モデルラットを作成し、MDZ の中間代謝物の血中曝露の変動について検討を行った。急性肝障害モデルラットに MDZ を静脈内投与した結果、両中間代謝物の血中 AUC の上昇が確認され、その上昇率は ABT 前処理ラットを上回る値であった。CCl<sub>4</sub> 処理によって肝臓の CYP 酵素の発現量が低下することが報告されていることから、急性肝障害によって MDZ の中間代謝物の肝代謝固有クリアランスが低下し、その血中移行量が増加したものと推察された。本結果より、薬物間相互作用のみでなく、肝疾患等によって肝代謝能が低下した場合にも、親薬物とともにその代謝物の血中曝露の変動に注意する必要があると考えられた。

最後に、これまでラットを用いて明らかにしてきた現象が、ヒトにおいても同様に認められる可能性について検証を行うことを目的として、肝臓での代謝活性及び代謝酵素の遺伝的ホモロジーがヒトに近いカニクイザルを用いた検討を行った。その結果、ラットの場合と同様、ABT 前処理による CYP 阻害によって、MDZ の中間代謝物の血中 AUC の有意な上昇が確認された。

さらに、カニクイザルの肝ミクロソームを用いて *in vitro* 代謝試験を行ったところ、ABT 処理によって中間代謝物の代謝速度定数の低下が観察されたことから、カニクイザルにおいて MDZ の中間代謝物の血中 AUC が上昇した理由として、中間代謝物の  $CL_{sys}$  の低下及び血中移行量の増加が考えられた。また、ヒト肝ミクロソームを用いて検討を行った結果、カニクイザルのミクロソームと同様の結果が得られたことから、CYP 酵素が阻害された場合には、ヒトにおいても中間代謝物の血中曝露が増加する可能性が示唆された。

以上、本研究では、薬物間相互作用等によって肝臓での薬物代謝能が低下した場合、薬物の中間代謝物の血中曝露が増加するという新たな現象を見出し、*in vitro* から *in vivo* に至る詳細な検討によってそのメカニズムを明らかにするとともに、実際の臨床においても同様な現象が生じる可能性を示した。薬物の代謝物の中には、親薬物を凌ぐ強い薬効、あるいは親薬物には認められない毒性を有するものも多く存在することから、本研究で得られた結果は、医薬品の安全性を担保する上で極めて重要な知見と考えられる。今後、本研究の成果が、新規医薬品の開発における代謝物の薬物動態学的評価、さらに臨床現場における代謝物による有害事象の発現の防止に役立てられることを期待する。