

別紙 1

博士論文要旨

論文題目 : 安定同位体 *iv* 法を用いた経口医薬品の体内動態
および薬物間相互作用の解析

申請者 南 景子 印

研究分野 薬 剤 学

紹介教授 山下 伸二

前臨床における薬物の体内動態試験は、新規医薬品候補化合物の吸収、分布、代謝、排泄の各プロセスを明らかにすることを目的として実施される。中でも経口剤開発においては、投与後良好な吸収性を示す化合物の開発が最も重要な課題であり、その指標として生物学的利用率 (BA) が算出される。BA を正確に算出するためには経口投与および静脈内投与後の血中濃度推移に関するデータが必要であり、通常、マウスやラットなどの小動物では、それら二つの試験がそれぞれ別の個体群を用いて独立して実施される。したがって、一連の試験に多くの実験動物が必要となる上、BA をはじめとした動態に関する速度論的パラメータ (Pharmacokinetic (PK) パラメータ) はそれぞれの試験群の平均値を用いて算出されるため、個体ごとの動態に関する詳細な情報を得ることは困難である。さらに、薬物間相互作用を検証する場合には、同様の試験を併用薬投与群と非投与群で行う必要があるため、試験プロトコールはより複雑となり、その実施には多大なコストと時間を要する。

筆者は、薬物の経口投与と静脈内投与を同一個体において一度に実施可能な新たな試験法として、安定同位体 *iv* 法 (stable isotope-intravenous injection (*iv*) method) を考案した。これは、薬物を経口投与した後、その薬物分子の一部を重水素等の非放射性同位体で置換した同位体標識体をごく微量静脈内投与する手法である。標識体の体内動態が元の薬物と同じであるという前提の基、薬物とその標識体の血中濃度を高感度液体クロマトグラフィー質量分析技術を用いて分離定量することにより、経口と静脈内投与の動態に関するデータを一度の試験で得ることが出来る。本手法を用いることにより、個体ごとに BA 等

の PK パラメータを算出可能である上、試験に用いる動物数を大きく低減できるものと期待される。

本研究では、安定同位体 *iv* 法（以下、同位体 *iv* 法）を用いて、体内動態の非線形性、薬物間相互作用の解析を行うことにより、本手法の動態解析における妥当性を検証するとともに、前臨床試験への適応性、有用性について詳細な検討を行った。

第 1 章 安定同位体 *iv* 法の検証と非線形体内動態の解析

同位体 *iv* 法は、薬物とその標識体が同じ体内動態を示すことを前提としている。そこで、ベラパミル (VER) およびテルミサルタン (TEL) の 2 つの薬物について、重水素 (^2H) で置換した標識体の PK パラメータをそれぞれの非標識体と比較した。まず、VER とその重水素 6 置換体である VER-d6 について肝ミクロソームを用いた代謝実験を行ったところ、両化合物の代謝パターンは同等であった。また、VER と VER-d6 および TEL とその重水素 3 置換体である TEL-d3 をそれぞれラットに静脈内投与したところ、VER、TEL とともに標識体と非標識体の血中濃度推移に有意な差は認められなかったことから、両薬物の重水素標識体は同位体 *iv* 法に適用可能であることが確認された。

薬物の体内動態試験における同位体 *iv* 法の有用性を検証するため、TEL の非線形動態に関する速度論的な解析を試みた。4 群のラットに 0.1, 2, 6, 20 mg/kg の TEL を経口投与した後、TEL-d3 を 0.005 mg/kg 静脈内投与した。個々のラットにおいて、TEL の血中濃度推移より血中曝露量の指標となる AUC_{po} を、TEL-d3 の血中濃度推移より全身クリアランス (CL_{tot})、分布容積 (Vd) 等の PK パラメータを算出した。その結果、TEL 経口投与後の血中濃度は投与量の増加に伴って上昇するものの、その関係は線形とはならず、シグモイド型の複雑な非線形性を示すことが明らかとなった。この時、TEL の門脈中への吸収率 ($F_a \cdot F_g$) は、低用量 (0.1 ~ 6 mg/kg) では投与量とともに上昇し、高用量 (6 ~ 20 mg/kg) では逆に低下した。低用量域で $F_a \cdot F_g$ が上昇した理由としては、消化管に発現している P-糖タンパク質 (P-gp) が飽和し、消化管上皮細胞から管腔中への排出輸送速度が低下したためと考えられた。また、高用量域での $F_a \cdot F_g$ の低下は、TEL の消化管内での溶解飽和に起因するものと推察された。

一方、TEL の CL_{tot} は投与量が 2 ~ 6 mg/kg の範囲で有意に低下した。TEL は肝臓に発現している organic anion transporting polypeptide (OATP) によって血中から効率的に肝臓に取り込まれるため、その肝クリアランス (CL_h) は OATP トランスポーターを介した肝取り込み速度によって律速される。TEL の体内からの消失における尿中排泄の寄与は無視できることから ($\text{CL}_{\text{tot}} \cong \text{CL}_h$)、その CL_{tot} が投与量の増加とともに低下した理由として、OATP による肝取り

込みの飽和が主たる要因と考えられた。以上、経口投与後の薬物の吸収および体内からの消失に関する各過程を速度論的に解析する上で、同位体 *iv* 法は極めて有用な手法となることが示された。

第 2 章 薬物代謝酵素およびトランスポーターを介した薬物間相互作用の解析

本章では、同位体 *iv* 法を用いて経口剤の薬物間相互作用に関する速度論的な解析を試みた。まず代謝酵素を介した薬物間相互作用として、CYP3A4 の基質である VER と、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)、およびイトラコナゾール (ITZ) を併用した際の VER の体内動態の変化を観察した。同位体 *iv* 法では、VER の経口投与および VER-d6 の静脈内投与を阻害剤無/有の 2 群のラットを用いて行い、それぞれの血中濃度から VER の PK パラメータを算出した。その結果、ABT および ITZ の併用によって経口投与後の VER の AUC_{po} が上昇し、特に $F_a \cdot F_g$ に顕著な上昇が認められた。VER の CL_{tot} も阻害剤併用によって低下したもののその程度は約 20% と小さく、吸収過程での相互作用が血中曝露上昇の主たる要因であることが示唆された。また、ABT は P-gp 等のトランスポーターに対する阻害効果は有さないことから、消化管での代謝阻害による F_g の上昇が大きく寄与しているものと推察された。以上の結果は、経口投与と静脈内投与試験を別々に行う従来法を用いた場合と同様であったことから、同位体 *iv* 法を用いた薬物間相互作用解析の妥当性が確認された。さらに、同位体 *iv* 法では必要な動物の数が従来法の 1/2 に低減できること、および同一個体における吸収と消失過程を一度の試験で解析可能であることなどの点で、従来法に比べて優れた手法と考えられた。

次に、トランスポーターを介した薬物間相互作用として、OATP トランスポーターの基質であるアトルバスタチン (ATV) に、その阻害剤であるリファンピシン (RIF) を併用した時の ATV の体内動態の変化を同位体 *iv* 法により解析した。同位体標識体として、非標識体と同じ体内動態を示した重水素 5 置換体の ATV-d5 を用いた。その結果、RIF 併用により経口投与後の ATV の AUC_{po} は 25 倍にも上昇し、吸収率の上昇および消失速度の低下の二つの要因が関与していることが明らかとなった。また、個体ごとに求めた RIF の平均血中濃度と ATV の $F_a \cdot F_g$ 、 CL_{tot} 等の PK パラメータの間に有意な相関が認められたことより、阻害剤である RIF の吸収率のばらつきが、ATV の血中濃度推移の個体間変動の原因の一つであることが示唆された。これは、薬物間相互作用を解析する上で、阻害を受ける薬物のみでなく、阻害する側の薬物の体内動態にも十分な注意が必要であることを示唆する結果と考えられた。

第 3 章 薬物間相互作用における種差の検討およびヒトへの外挿

第 1 章、第 2 章において、同位体 *iv* 法がラットの様な小動物における体内

動態試験に有用であることを示した。実際の医薬品開発では、小動物による試験の後、さらにイヌ、サル等の大動物を用いた試験を行い、ヒトへの外挿が試みられる。そこで本章では、臨床的にも問題となっている ATV とシクロスポリン (CsA) との薬物間相互作用について、ラットおよびイヌを用いた同位体 *iv* 法による試験を行い、薬物間相互作用の動物間種差を明らかにするとともに、ヒトへの外挿を試みた。

経口投与後の ATV および静脈内投与後の ATV-d5 の血中濃度推移に及ぼす CsA 併用の影響を観察したところ、ラット、イヌどちらにおいても CsA との併用により ATV の AUC_{po} は大きく上昇した。CsA 併用による ATV の血中曝露量の上昇率を臨床報告値と比較したところ、ラットとヒトはほぼ同程度 (9.8 倍、8.7 倍) であったのに対し、イヌでは 31 倍と顕著に大きく、相互作用の程度に明らかな種差が認められた。一般に、薬物経口投与後の AUC_{po} は、門脈中への吸収率 ($F_a \cdot F_g$) と、肝臓での消失能 (肝固有クリアランス、 $CL_{h,int}$) とのバランスによって決定される。CsA 併用による ATV の $F_a \cdot F_g$ の上昇はラット、イヌともほぼ 3 倍程度であったのに対し、 $CL_{h,int}$ はイヌにおいて 1/10 程度にまで低下したことから (ラットでは 1/3 程度)、イヌでは OATP トランスポーターによる ATV の肝取り込み能が高く、それが CsA 併用によって大きく低下したことが AUC_{po} の顕著な上昇を引き起こした要因と考えられた。これらの結果を臨床データと比較したところ、ヒトにおける ATV の AUC_{po} の上昇率は約 8 倍、肝臓の OATP の阻害による取り込み速度の低下は 1/3 程度と予測されたことから、肝臓の OATP トランスポーターを介した薬物間相互作用を検討する上で、ラットはヒトモデルとして適した実験動物であることが示唆された。

本検討においても、阻害剤である CsA 経口投与後の血中濃度推移には個体間で大きなばらつきが認められ、さらにラット、イヌともに阻害剤の血中濃度に依存して ATV の AUC_{po} が変化することが明らかとなった。また、ATV、CsA とも血中濃度の個体間変動はラットにおいて特に顕著であり、その理由として、ラットの消化管は P-gp や CYP 酵素の活性が高く様々な薬物の吸収を阻止するための強力なバリアとして機能しており、個体間でのバリア機能の程度の違いが、これら薬物の吸収率に大きな影響を及ぼしたものと推察された。

以上、薬物の動態解析のための新たな手法として、安定同位体 *iv* 法の妥当性を検証するとともに、本手法が経口剤の相互作用を解析する上で多くの利点を有していることを示した。また、小動物のみでなくイヌなどの大動物にも応用可能であり、ヒトでの体内動態や相互作用を予測する上でも有用な手法であることを明らかにした。今後、本研究で得られた成果が新たな医薬品の開発に寄与するとともに、薬物間相互作用に起因した有害事象の発現を回避するための有用な知見となることを期待する。