

氏名（本籍）	都丸 充子	（千葉県）
学位の種類	博士(薬学)	
学位記番号	甲第157号	
学位授与年月日	平成24年9月26日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者	
学位論文の題名	Studies on the contribution of drug transporters and metabolic enzymes in the pharmacokinetics of oral pharmaceutical drugs	
論文審査委員	主査	教授 高山 幸三
	副査	教授 杉山 清
	副査	教授 大西 啓

論文内容の要旨

経口投与された医薬品は、主に消化管で吸収され、肝臓で代謝された後、体外に排泄される。近年、分子生物学的手法の進歩により、消化管や肝臓に発現するさまざまな代謝酵素およびトランスポーターが同定されており、医薬品の体内動態にどのような代謝酵素およびトランスポーターが関与しているのかを明らかにすることは、医薬品の適正利用に重要であると考えられる。

消化管吸収を決める要因としては、薬物の溶解性、消化管における膜透過性および初回通過効果などが考えられる。消化管における初回通過効果に関与する因子としては消化管上皮細胞内に発現するCYP3Aおよび消化管上皮細胞に発現するP-gpが主要因子であると考えられてきた。しかし、近年、BCRP、MRP2などの排泄トランスポーターの他にOATP、PEPTなどの取込みトランスポーターなど、消化管にさまざまなトランスポーターが発現していることが明らかになり、これらトランスポーターの消化管吸収への寄与が注目されている。また、肝臓での代謝に関与する主要因子は主にCYP3Aなどの代謝酵素であると考えられていたが、肝臓の血管側に発現する取込みトランスポーターも重要な役割を担っているという報告がある。

排泄トランスポーターの1つであるBCRPは比較的最近見出されたトランスポーターであるが、ヒト消化管においてはその他の排泄トランスポーターと比較してmRNAレベルは同等かそれ以上であることが報告されており、消化管におけるBCRPの役割が非常に重要なものであると考えられている。また、トランスポーターの遺伝子多型に関する研究から、BCRPの一塩基多型（BCRP-C421）の日本

人における頻度が約30%にも及ぶことが報告されている。そのため、BCRPの遺伝子多型と薬物動態・薬効の変動との関連性について詳細な検討が必要と考えられるが、その検討においてはBCRPに特異的な基質薬物(プローブ基質)が必要であり、その特定化が強く望まれている。

サルファサラジンは、潰瘍性大腸炎、クローン病、また関節リウマチの治療に用いられている薬物であるが、経口バイオアベイラビリティが3-12%と非常に低い。近年、このサルファサラジンがヒトT細胞由来細胞を用いた実験によりBCRPのプローブ基質となることが示された。動物実験においても、Bcrp欠損マウスにサルファサラジンを経口投与後のAUCが正常マウスと比較して111倍も上昇したことから、サルファサラジンの経口吸収がBCRPによって抑制されていることが示唆されている。これらの報告から、サルファサラジンがBCRPのプローブ基質になる可能性が考えられているが、最近の報告によるとサルファサラジンの消化管吸収にはBCRPだけではなく、他の排泄トランスポーターであるMRP2の関与も示唆されている。また、通常、排泄トランスポーターが関与する薬物の吸収は、その排泄に飽和が見られるため、ある投与量以上になると薬物の暴露量の上昇がみられる。しかし、最近実施された臨床試験においては、投与量の増加とともに薬物の暴露の減少がみられている。これらの報告から、サルファサラジンをBCRPのプローブ基質として使用するためにはサルファサラジンの消化管吸収に関する機構を明らかにする必要があると考えられた。

第1章においては、マウス反転腸管を用いて、BCRPのプローブ基質として使用されているサルファサラジンの消化管吸収に関する検討を行った。マウス反転腸管を用いてサルファサラジンの吸収特性を評価したところ、サルファサラジンの濃度依存的な吸収クリアランスの変化が観察されなかった。一方、BCRPの阻害剤であるKo134存在下およびBcrp欠損マウスにおいては、サルファサラジンの濃度依存的な吸収クリアランスの低下がみられた。このことはサルファサラジンの吸収に取込みトランスポーターが関与していることを示唆している。すなわち、サルファサラジンの消化管吸収においては、排泄トランスポーターだけでなく、取込みトランスポーターが関与しており、このことがサルファサラジンの濃度依存的な吸収クリアランスの変化が見られなかった原因であると考えられた。なお、臨床試験においては取込みトランスポーターの飽和により、サルファサラジン高用量における暴露量の低下がみられたと考えられた。本研究により、プローブ基質の特性を明らかにすることで、臨床で得られている知見を説明し得る結果を得ることができた。そこで、第2章では、すでに臨床で使

用されているリトナビルのブースト効果の機構について各種プローブ基質を用いて明らかにするための研究を行った。

リトナビルはHIVプロテアーゼ阻害剤として開発されたが、CYP3Aをはじめとする代謝酵素およびさまざまなトランスポーターを強力に阻害することから、HIV治療におけるブースト療法に用いられるようになった。ウイルス治療においては、十分な抗ウイルス効果を得るためにある一定の抗ウイルス薬の血中濃度の維持が必要である。リトナビルブースト療法においては、リトナビルが代謝酵素やトランスポーターを強力に阻害することにより併用薬剤の血中濃度を上昇・維持させることができることから、併用薬の投与量や投与間隔を減らせるといった利点がある。

リトナビルブースト療法の1つとして用いられているサキナビルは高選択性のHIVプロテアーゼ阻害薬であるが、ヒトにサキナビルを経口投与後の経口バイオアベイラビリティは約4%と非常に低く、これまでも経口バイオアベイラビリティを改善するために製剤の改良が試みられてきたが、効果的な改善は見られなかった。しかし、リトナビル併用により有効血中濃度を得られることが明らかとなったため、現在ではサキナビル単独で使用されることはなく、臨床においてはリトナビルとの併用での処方となっている。

サキナビルの経口バイオアベイラビリティが低い要因としては、サキナビルがCYP3AおよびP-gpの基質であるために、経口投与後、消化管および肝臓において広範な初回通過効果を受けるためと考えられており、リトナビルを併用することで、消化管においてCYP3A/P-gpが、肝臓においてCYP3Aが阻害されて、血中濃度が上昇すると考えられてきた。なお、最近ではサキナビルが肝臓の血管側に発現している取込みトランスポーターOATP1B1/1B3の基質であるという報告もある。そこで、サキナビルが関与しているトランスポーターおよび代謝酵素のうち、消化管吸収において主要因子であるCYP3A/P-gpおよび肝取込みに重要な役割を担っているOATP1B1についてプローブ基質を用いた評価を行った。

はじめに、マウスを用いた *in vivo* 実験により、サキナビルの経口吸収におけるリトナビルの効果が肝代謝 (F_h) において高いのか消化管における初回通過効果 ($F_a \cdot F_g$) において高いのかを確認したところ、サキナビルを経口投与後のAUCはリトナビル併用により325倍上昇し、このときのサキナビルの $F_a \cdot F_g$ の上昇率は38倍、一方で F_h の上昇率はわずか2倍であった。この結果から、消化管における初回通過効果に対するリトナビルの阻害作用によりサキナビルの劇的なバイオアベイラビリティの上昇が起こっていると考えられた。さらにマウス肝ミ

クロゾームを用いた阻害試験で得られた K_i 値からAUC上昇率を予測したところ、*in vivo*実験と同様にリトナビルが消化管で高いという結果が得られた。一方、CYP3A、P-gpおよびOATP1B1のプローブ基質であるミダゾラム、フェキソフェナジンおよびプラバスタチンに対するリトナビルの阻害効果を検討したところ、リトナビル併用によるAUCの上昇率はそれぞれ5、13および7倍であった。さらにヒトにおけるCYP3Aの阻害剤であるイトラコナゾールはサキナビルの経口吸収に影響を与えなかった。ヒトにおけるサキナビルの主要代謝酵素はCYP3Aであり、リトナビルのもつCYP3Aに対する強力な阻害効果によりサキナビルの経口吸収が上昇すると考えられている。しかし、本研究において、CYP3Aの基質であるミダゾラムのAUC上昇が5倍程度であり、イトラコナゾールによる阻害効果も見られなかったことから、サキナビルの代謝についてはヒトとマウスでの種差が大きいと考えられた。

本研究をまとめると、BCRPのプローブ基質として繁用されているサルファサラジンの消化管吸収にはBCRPだけではなく、取込みトランスポーターも関与していることが示唆され、この結果から、すでに報告されている臨床試験での知見を説明することが可能となった。また、臨床で使用されているリトナビルのブースト効果の機構解明に関する検討では、その効果が肝臓よりも消化管において高いことを明らかとしたが、各プローブ基質を用いた評価により、マウスにおいてはサキナビルの代謝にはヒトとは異なる代謝酵素が関与していることが明らかとなった。以上のように、本研究では、代謝酵素および薬物トランスポーターが関わる経口医薬品の薬物動態についてプローブ基質を用いて解析し、今後の薬物動態解析に活用される有用な基礎的知見が得られた。

論文審査の結果の要旨

経口投与された医薬品は、主に消化管で吸収され、肝臓で代謝された後、体外に排泄される。近年、分子生物学的手法の進歩により、消化管や肝臓に発現するさまざまな代謝酵素およびトランスポーターが同定されており、これら因子の医薬品の体内動態への関与を明らかにすることは、医薬品の適正利用に重要である。消化管吸収を決める要因には薬物の溶解性、膜透過性および初回通過効果などがあり、消化管における初回通過効果に関与する主要因子はCYP3A および P-gp であると考えられてきた。しかし、消化管にはさまざまなトランスポーターが発現していることが明らかとなり、消化管吸収への寄与が注目されている。また、肝代謝に関与する主要因子はCYP3Aなどの代謝酵素であると考えられていたが、取込みトランスポーターについてもその重要性が報告されている。BCRPは排泄トランスポーターの1つであり、ヒト消化管における発現は他の排泄トランスポーターと同等かそれ以上であることが報告されている。そのため、消化管における重要性が認識されており、BCRPに特異的な基質薬物（プローブ基質）の特定化が強く望まれている。近年、潰瘍性大腸炎、クローン病および関節リウマチの治療に用いられているサルファサラジンがBCRPのプローブ基質となることが示された。一方で、サルファサラジンの消化管吸収におけるMRP2の関与や投与量の増加とともに薬物の暴露が減少するという臨床試験の結果が報告されている。そのため、サルファサラジンをBCRPのプローブ基質として使用するためには、その消化管吸収に関する機構を明らかにする必要がある。本研究では、経口医薬品の薬物動態における薬物トランスポーターおよび薬物代謝酵素の寄与について、以下に示す詳細な検討を行った。

はじめに、マウス反転腸管を用いてサルファサラジンの吸収特性が評価された。その結果、濃度依存的な吸収クリアランスの変化が観察されなかったが、BCRPの阻害剤であるKo134存在下およびBcrp欠損マウスにおいては、濃度依存的な吸収クリアランスの低下が認められた。このことはサルファサラジンの吸収には取込みトランスポーターも関与しており、このことが濃度依存的な吸収クリアランスの変化が認められず、また臨床試験において高用量における暴露量が低下した原因であると考えられた。本研究により、プローブ基質の特性を明らかにすることで臨床での知見を説明することができたことから、すでに臨床で使用されているリトナビルのブースト効果の機構を明らかにするため

に各種プローブ基質を用いた研究を行った。

リトナビルは HIV プロテアーゼ阻害剤として開発されたが、さまざまな代謝酵素およびトランスポーターを強力に阻害することから、HIV 治療におけるブースト療法に用いられている。リトナビルブースト療法の 1 つとして用いられているサキナビルは、経口バイオアベイラビリティが約 4% と非常に低く、この要因としては、サキナビルが CYP3A および P-gp の基質であることから、経口投与後、消化管および肝臓において広範な初回通過効果を受けるためであると考えられている。また、最近ではサキナビルが OATP1B1/1B3 の基質であるという報告もある。そこで、消化管吸収において主要因子である CYP3A/P-gp および肝取込みに重要な役割を担っている OATP1B1 についてプローブ基質を用いた評価が行われた。マウスを用いた *in vivo* 実験において、サキナビルを経口投与後の AUC はリトナビル併用により 324 倍上昇し、このときの消化管における初回通過効果の上昇率は 38 倍、一方で肝代謝の上昇率はわずか 2 倍であったことから、サキナビルの劇的なバイオアベイラビリティの上昇はリトナビルの消化管における初回通過効果に対する阻害作用によるものであると考えられた。またマウス肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 実験からも同様の結果が得られた。一方、CYP3A、P-gp および OATP1B1 のプローブ基質であるミダゾラム、フェキソフェナジンおよびプラバスタチンの AUC はリトナビル併用によりそれぞれ 5、13 および 7 倍上昇し、ヒトにおける CYP3A の阻害剤であるイトラコナゾールはサキナビルの経口吸収に影響を与えなかった。ヒトにおいてはリトナビルの CYP3A に対する強力な阻害効果によりサキナビルの経口吸収が上昇すると考えられているが、本研究結果からはサキナビルの代謝について、ヒトとマウスでの種差が大きいことが示唆された。

以上のように本研究では、プローブ基質を用いた解析により、代謝酵素および薬物トランスポーターが関わる経口医薬品の薬物動態について、今後の薬物動態解析に活用される有用な基礎的知見が得られている。本論文は博士（薬学）の学位にふさわしい内容である。