

## 論文の内容の要旨

論文題目 新しい消化管吸収生理学的モデルの構築と  
P 糖タンパク質を介した薬物相互作用予測法の開発

氏 名 安藤 裕崇

### (序論)

医薬品開発では、医薬品候補化合物のバイオアベイラビリティが低い場合、薬物相互作用(DDI)の影響を強く受けるなど、開発上ならびに使用上のリスクが高くなることから、経口投与された薬物の吸収過程における高度に複雑化されたプロセスを定量的に理解し吸収性を正確に予測する必要がある。

薬物動態の複雑な現象を説明するために最もよく使用される生理学的薬物速度論(PBPK)モデルの代表的な構造として、消化管を上部から下部に向け多数に分割したモデル(多分割型モデル)があるが、このモデルでは小腸において代謝を受ける一部の薬物の経口吸収性を過小評価する傾向にある。この問題には、多分割型モデルの構造に起因する本質的な問題が関与している可能性があることから、本研究では多分割型モデルにおける問題である、1) 消化管管腔における薬物の実際の挙動を正確に反映できない点、2) 基底膜側の物質交換が正確にモデル化されていない点を解決した新しい PBPK モデルの構築を試みた。

医薬品候補化合物のバイオアベイラビリティが低いと予想された場合、特に薬物代謝酵素である CYP3A4 や P 糖タンパク質(P-gp)の基質となる薬物ではその阻害によって、血中曝露の増加を伴う DDI が起きる可能性があることから、DDI の有無、ならびにその程度を予測することは安全な医薬品開発のために重要である。「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」(DDI ガイドライン)では、P-gp 発現細胞を用いて経細胞輸送試験を行い、基底膜から頂端膜側への透過性と、その逆方向の透過性の比である **Efflux Ratio (ER)**が 2 を超える薬物で、P-gp の典型的阻害剤によって阻害された薬物の全てに対して臨床 DDI 試験実施の検討を勧めている。しかし不要な試験を回避しより意義の高い臨床試験の実施により DDI を適切に管理するためには、試験条件によって値が大きく変動することの知られている ER に代わる基準を考案する必要がある。

そこで本研究は、多分割型モデルにおける問題点を解決し消化管吸収動態を正確に予測可能な新規のモデルを作成すること、ならびに新しいモデルを用いて ER に代わる P-gp 基質の DDI リスク判定基準を見出すことを目的として実施した。

## 第一章 新しい消化管吸収モデルの構築

### 1. トランスロケーションモデルの構築

新しいモデルでは、移動の設定を行う際に自由度のある単純かつ生理学的・解剖学的に矛盾のないモデル構造を有しながら、消化管吸収の表現に重要な主要項目が適切に選択されており、幅広い医薬品開発ステージに適用可能な汎用性を有し、ヒト消化管吸収動態を正確に予測できるモデルとすることを目指した。

本研究では、新しい概念に基づいて作成された PBPK モデルであるトランスロケーションモデル(TLM)を提案する。細胞中濃度を適切にモデル化しつつ単純なモデル構造とするために、消化管管腔および小腸上皮細胞に、既存モデルでは考慮されていなかった粘膜固有層を加えた各組織に対して、それぞれ一つ設定したコンパートメントが、薬物の小腸内における位置および分布の程度によって大きさを変えながら小腸上部から下部へと移動する、多分割型モデルとは異なる概念のモデル構造とした。移動するコンパートメント内(吸収部位)では、位置の関数として定義された生理学的・解剖学的パラメーターが小腸における位置に依存して変化する。ヒトに  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$  を経口投与した時の消化管各部位における放射活性の経時変化が報告されており、これを用いて TLM における薬物の吸収部位の位置および大きさの経時変化を定義する 2 種類の関数を作成した。なお、モデル構造の単純化のため、薬物は吸収部位において一様分布すると仮定した。TLM では、他のモデルと異なり移動を表す関数の型を任意に選択できるという特徴を有する。この設定により、放射活性の実測値に一致する薬物の移動の自由な設定が可能となり、多分割型モデル以上に、吸収性に関係する小腸内局所による性質の違いを柔軟に再現できる。

薬物固有の情報である物理化学的パラメーターには実測値または計算値を、代謝クリアランスには、親和性( $K_m$ )および最大反応速度( $V_{max}$ )を *in vitro* 試験より取得し、そのまま TLM に入力した。受動輸送および P-gp による排出に関連するパラメーターは、経細胞輸送試験の結果より頂端膜から基底膜方向への膜透過性( $P_{app}$ )を算出し、細胞モデルから導いた一枚膜透過性( $P_s$ )、 $K_m$  および  $V_{max}$  を含む式へのフィッティング計算によりそれぞれ取得した。P-gp では、基準薬を用いて *in vitro* と *in vivo* の  $V_{max}$  の乖離を補正するスケールリングファクター(sf)を算出し、 $V_{max} \times sf$  として TLM に入力した。

次いで、TLM による吸収動態関連パラメーターの予測性を確認することで、TLM の記述の妥当性と医薬品開発への適用性を評価した。CYP3A4 基質薬の小腸代謝アベイラビリティ( $F_G$ )ならびにバイオアベイラビリティ( $F$ )の予測精度はいずれも良好であり、特に  $F$  の予測結果は、解析対象の薬物が異なるなど解析上の違いはあるものの、市販ソフトウェアによる予測精度と同等以上であった。

上皮細胞中濃度の予測が適切であるか確認すること目的として、吸収動態の非線形性について予測した。 $F_A$  と  $F_G$  の積( $F_A F_G$ )と投与量の関係を CYP3A4 基質に対して予測したところ、良好に予測できることが明らかとなった。一方 P-gp では、 $F_A F_G$  と投与量の関係が実測値と合う sf を設定できるか解析を行った。その結果、多くの投与量における  $F_A F_G$  の値が、文献値と近い値になる sf を決めることが可能であった。このことから、P-gp を介した非線形動態、さらに同様のメカニズムで起こる DDI の予測研究に、TLM が使用可能と考えられた。

吸収過程全体を通した予測性を評価するため、CYP3A4、P-gp、およびそれら両方の基質になる薬物に加え、難溶解性薬物の血漿中濃度推移を予測した。その結果、血漿中

濃度推移が良好に予測された。

## 第二章 P-gp を介した薬物相互作用の予測フレームワークの開発

上皮細胞内における P-gp による排出機能が併用薬等により阻害されると、血液に流入する薬物量が増加する DDI が起こる。現在、DDI ガイドラインにおいて、P-gp 基質の臨床 DDI 試験実施の要否に対するカットオフ基準として用いられている ER は、試験条件間でその値が大きく変動する。そこで ER に代わる新しい基準探索を行った。ER の問題は、ER が膜透過性、P-gp の活性、ならびに試験条件を含むハイブリッドなパラメーターであるためと考えられたため、新しい基準には消化管吸収の素過程を表すパラメーターを用いることが望ましいと考えられた。基準に用いるパラメーターの探索を行うに際し、解析に必要な P-gp 基質薬の情報が少ないといった問題が明らかになったことから、必要な薬物数を補うため、仮想薬物をランダムに発生させることとした。

仮想薬物をランダムに発生させるためのパラメーターが、妥当あることを確認した後、DDI による  $F_A$  増加率と ER の関係について考察した。基準薬にはジゴキシンを用いた。その結果、ER を用いた DDI リスク判定に **false negative** が存在することが明らかとなり、DDI リスクのカットオフクライテリアとしては不十分であることが示唆された。

そこで ER に変わる新しいパラメーターの探索を行った。探索では TLM に入力する薬物固有のパラメーター全てを対象にして、 $F_A$  増加率と各パラメーターとの関係を精査した。その結果、P-gp による排出クリアランス( $CL_{eff}$ )と、*in vitro* と *in vivo* における頂端膜側の pH を補正した膜透過性( $P_u$ )の比である  $CL_{eff}/P_u$  に、 $F_A$  増加率と良好な相関があることが明らかとなった。仮想薬物の  $CL_{eff}/P_u$  と  $F_A$  増加率の間に観察された正の相関は、文献で報告されている種々の薬物の DDI の程度と矛盾が無く、さらに  $CL_{eff}/P_u$  が **false negative** の無い、より正確な DDI リスクの予測が可能なパラメーターであることが明らかとなった。 $CL_{eff}/P_u$  を使用する手順を以下に示す。i) 経細胞輸送試験を行い、 $CL_{eff}$  ならびに  $P_u$  を算出する。その際、同試験内に基準薬(例：ジゴキシン)を設定し、同様に  $CL_{eff}/P_u$  を算出し、被験薬物と基準薬における  $CL_{eff}/P_u$  の比を算出する。この値が、本研究で示された  $F_A$  を 1.25 倍増加させる薬物の  $CL_{eff}/P_u$  と、基準薬の  $CL_{eff}/P_u$  の比である 0.125 を上回った場合、P-gp 阻害による DDI リスク有り と判定する。

以上のように、**false negative** の可能性を減らし、試験条件に影響を受けないと考えられる、ER に代わる DDI リスク判定パラメーターを提唱した。

(まとめ)

消化管多分割型 PBPK モデルの問題点を解決した新しい構造を有する TLM を構築し、これを用いて、P-gp の基質薬の DDI を ER に代わって簡易的に予測するための方法論を考案した。

本研究を通じて、これまで困難であった小腸における複雑な薬物動態の定量的な予測が可能になり、かつ、P-gp 基質薬の簡易的予測法ができたことから、効率的かつ安全な医薬品開発に貢献するための基盤が構築できた。