

論文の内容の要旨

論文題目 医薬品の代謝/輸送を考慮した消化管吸収過程 における定量的予測法の構築

氏名 高野 順市

【序論】

(1) 消化管吸収における代謝/輸送過程の飽和に起因した非線形薬物動態

経口投与された薬物は、主に小腸上皮細胞を介して吸収され、肝臓での初回通過代謝を免れて全身循環血に到達する。ヒト消化管には、代表的な異物排除機構として代謝酵素 cytochrome P450 (CYP)3A や管腔側膜上に発現する排出トランスポーターP-glycoprotein (P-gp)等が発現しており、様々な薬物の消化管吸収の抑制に寄与している。CYP3A/P-gp は基質認識性がオーバーラップすると共に、非常に広範な薬物を基質として認識することが知られている。CYP3A/P-gp 基質薬物に関する創薬研究上の懸念点としては、消化管吸収性が低い傾向を示すことに加え、それに伴う薬物動態の大きな個人差がみられる点や、薬物動態の非線形性を生み出す要因となりうる点が挙げられる。特に、薬物動態の非線形性は、ヒト血中薬物濃度の予測を困難にし、創薬段階で本来は吸収性が高いにも関わらず「吸収性が低い薬物」とする誤った判断に陥ることや、投与量を漸増した際に予期せぬ急激な濃度上昇が引き起こされ、重篤な副作用を招く一因となりうる。従って、CYP3A/P-gp 活性の消化管吸収への影響を定量的に予測することは、医薬品開発において重要な課題である。

(2) 数理モデルを用いた消化管吸収過程における定量的予測法の構築の必要性と課題

これまで薬物の消化管吸収の定量的予測には、Caco-2 細胞単層膜を用いた膜透過性やヒトリコンビナント CYP3A を用いた代謝活性を評価し、個々の *in vitro* 評価系で得られた実験データに基づき、受動拡散による吸収率、トランスポーター及び代謝の影響をそれぞれ各要因に絞り込んで予測するアプローチがとられてきた。一方、*in vivo* における薬物の経口吸収は、製剤の崩壊・薬物の溶解の後に、消化管上皮細胞を介した受動拡散による膜透過に加え、代謝酵素を介した代謝・トランスポーターを介した膜透過輸送を経て門脈血中へと到達することから、これらの各素過程を統合的に扱い、消化管からの薬物の吸収率として定量的に予測する方法論が求められている。しかし、これらを包括的に評価可能な *in vitro* 実験系は存在せず、*in vivo* 動物実験では、代謝酵素/トランスポーターの種差が問題となる。近年、生理学的な実体を比較的反映した消化管モデルである Advanced compartmental

absorption and transit (ACAT) model を適用し、消化管吸収における CYP3A/P-gp の役割を解析する試みがなされている。しかし、個々の *in vitro* 実験の結果から *in vivo* 消化管吸収性を予測するには様々な課題があり、非線形性も考慮した消化管吸収率×消化管アベイラビリティ($F_a F_g$)を定量的に予測することは困難である。一方で、種々の *in vitro* 実験の結果に基づき、CYP3A を介した代謝/P-gp を介した輸送活性を数理モデルに適切に組み込むことで、 $F_a F_g$ を定量的に予測可能な方法論の構築が可能であると考えた。これにより非線形性を示す消化管吸収動態を予測可能にすること、さらには、完成したモデルを用いて、創薬の現場で実践可能な予測法の提案を目指して以下の研究を進めることとした。

【研究内容】

(1) 消化管吸収における代謝/輸送過程の飽和に起因した非線形薬物動態を実証するための臨床研究

消化管 CYP3A/P-gp の飽和に起因した非線形薬物動態を示すモデル薬物の選定

臨床使用されている薬物の中から、消化管 CYP3A/P-gp の飽和に起因した非線形薬物動態を示すモデル薬物を選定するために、消化管での CYP3A/P-gp を介した薬物相互作用リスクの指標として過去に提案された drug interaction number (DIN) を活用した。DIN は、P-gp 基質で 27.9L、CYP3A 基質で 9.4L を超えると、薬物相互作用リスクが高いと判断できる指標である。quinidine 及び verapamil の DIN は、先の閾値より高値を示したことから、両薬物は消化管 P-gp/CYP3A の飽和に起因する非線形な消化管吸収動態を示すと推定されたが、これまでにヒト臨床での実証はされていなかった。

Quinidine 及び verapamil の用量漸増臨床試験

そこで、統一した試験系で投与量依存的な薬物動態を評価し、消化管 CYP3A/P-gp の飽和に起因した両薬物の体内動態の非線形性を実証すべく、健常成人男性を対象に quinidine 及び verapamil の経口投与量 (quinidine : 0.1-100mg、verapamil : 0.1-80mg) を漸増する薬物動態試験を実施した。臨床試験の結果、両薬物の投与量で規格化した血漿中濃度-時間曲線下面積($AUC_{0-12}/dose$)は投与量依存的に増加し、薬物動態の非線形性が観察された。次に、肝臓における CYP3A 代謝飽和の影響を検討すべく、両薬物の最大の投与量において理論的に考えうる肝臓入口の最大蛋白非結合形薬物濃度($C_{u,in max}$)と *in vitro* 実験から評価した CYP3A の K_m 値を比較したところ、共に前者の方が小さかったことから、本臨床試験で観察された薬物動態の非線形性は、主に消化管吸収過程での CYP3A 代謝及び P-gp 輸送の飽和に起因することが示唆された。

(2) ACAT モデルを用いた CYP3A/P-gp 基質薬物の消化管吸収率の非線形性に関する定量的予測法の構築

生理学的消化管モデルを用いた際の bottom-up approach によるパラメータ設定の課題と解決法

ACAT model を利用して消化管吸収の定量的予測法を構築する際、*in vitro* 実験データを順

次積み上げて数理モデル上にパラメータ設定することで、in vivo 消化管吸収を再現する bottom-up approach の適用には様々な課題がある。例えば、in vitro 実験データから求められる代謝・輸送の速度論パラメータは、実験材料や実験条件の違いにより報告間で大きな差が認められること、また、P-gp のように消化管部位ごとの蛋白発現量に関する情報が不足していることが挙げられる。そのため、コントロールされた統一の条件下で複数薬物のパラメータを取得することが予測モデルの精度を高める上で重要であると考えられた。そこで、CYP3A を介した代謝及び P-gp を介した輸送について in vitro 実験の速度論パラメータを取得し、複数の薬物における in vitro 実験と in vivo 試験結果の乖離を包括的に説明しうるパラメータとして scaling factor (SF)を設定することとした。薬物の物性および CYP3A/P-gp 活性に関する in vitro 実験データおよび臨床試験の薬物動態データに基づき同時フィッティングすることで、複数の CYP3A/P-gp 基質薬物の消化管吸収を最も精度よく予測可能な SF を見積もり、高精度で安定した予測結果を期待できる数理モデル構築を試みた。

消化管吸収予測モデルの構築

モデル構築には、CYP3A、P-gp それぞれの選択的基質ならびに両方の基質となる計 12 薬物を用いた。基質薬物は、臨床における薬物動態の線形性、代謝及び排出固有クリアランスの大小の観点から、特性の多様性を考慮して選択した。各薬物について in vitro 代謝・輸送実験データを統一された条件のもと取得し、ACAT model に組み込むことで各基質薬物の $F_a F_g$ をシミュレーションにより求めた。まず、CYP3A/P-gp 両方の機能を考慮せずに受動拡散による膜透過のみを用いて $F_a F_g$ を見積もった際には、ほとんどの基質薬物の予測値は実測値とは一致せず過大評価となったことから、消化管 CYP3A/P-gp がこれら薬物の消化管吸収の抑制に働いていることが示唆された。次に、in vitro 実験より評価した CYP3A を介した代謝及び P-gp を介した輸送の速度論パラメータを組み込み、CYP3A の V_{max} に対する SF (SF_{CYP3A})及び P-gp の V_{max} に対する SF (SF_{P-gp})を同時フィッティングにより最適化したところ、ほとんどの基質薬物の predicted $F_a F_g$ は、observed $F_a F_g$ に近い値となり、12 基質のうち 8 基質については、両者の乖離は 1.5 倍以内であった。

CYP3A/P-gp 基質薬物の消化管吸収過程での非線形性の予測

quinidine 及び verapamil の用量漸増臨床試験で認められた消化管吸収の非線形性について、構築したモデルの予測性を検討したところ、両薬物の消化管吸収の非線形性は概ね予測可能であった。また、CYP3A、P-gp それぞれの寄与を消失させたシミュレーションの結果より、verapamil の消化管吸収抑制には CYP3A が大きく寄与する一方、quinidine の場合は、CYP3A/P-gp 両方が寄与することが示唆された。さらに、モデル構築に用いた 12 種の薬物について、投与量依存的な非線形な消化管吸収特性の予測性を検証した。その結果、一部の薬物を除き、薬物動態の線形/非線形性を良好に説明できた。

CYP3A 及び P-gp の機能が $F_a F_g$ に与える影響を明らかにするためのシミュレーション

次に、上記で構築したモデルを用いて、CYP3A/P-gp の機能が薬物の消化管吸収に与える影響を特徴づけるために、quinidine の速度論パラメータを起点として、CYP3A/P-gp 活性お

よび受動拡散による膜透過性に関するパラメータを変動させた時の F_aF_g の変化をシミュレーションした。その結果、CYP3A を介した代謝固有クリアランスの大小は F_aF_g に与える影響が大きい一方で、膜透過性の影響は限定的であることが分かった。一方で、P-gp による輸送固有クリアランスと膜透過性については、その両者のバランスが F_aF_g を決定づけることが分かった。

以上、複数の CYP3A/P-gp 基質について、*in vitro* 実験のパラメータに基づき、*in vivo* 消化管吸収過程での CYP3A による代謝及び P-gp による排出過程を組み込んだ消化管吸収の予測モデルの最適化に成功し、CYP3A/P-gp の飽和に起因した薬物動態の非線形性や消化管吸収の非線形性に対する CYP3A/P-gp の相対的な寄与の定量的評価が可能であることを示すことができた。

【総括および今後の展望】

CYP3A/P-gp 基質薬物について、ヒト臨床試験で消化管 CYP3A/P-gp の飽和に起因する薬物動態の非線形性を実証すると共に、非線形薬物動態を示す複数の薬物について、*in vitro-in vivo* 間の CYP3A/P-gp の速度論パラメータを繋ぐ SF を最適化した消化管吸収モデルを構築することにより、 F_aF_g を良好に予測できることを示した。本研究成果を踏まえ、創薬における開発候補化合物の消化管吸収の定量的予測の方法論を提案する。本方法論を適用するためには、まず各ラボで標準化されたプロトコールに従って、CYP3A 代謝/P-gp 輸送実験において reference となる典型基質を複数評価し、ACAT model 解析によりラボの評価系の性能を反映した SF を本研究の方法論に従って見積もる必要がある。それに続き、最適化した SF を組み込んだ ACAT model を使って、開発候補化合物の *in vitro* 実験データを基にヒトにおける F_aF_g の予測を実施することで、従来の方法に比べより予測精度を高めることができると考えている。但し、本研究では薬剤の崩壊・溶解性は考慮していないため、一部の薬物で予測精度が良好でない結果も見られた。ACAT model は、薬物の崩壊・溶解性も組み込むことができることから、今後は、製剤・物理薬剤領域の研究者と協働して製剤としての経口医薬品の吸収予測に取り組んでいきたいと考えている。