

論文の内容の要旨

論文題目： 医薬品開発における内因性基質を用いた肝 organic anion transporting polypeptide(OATP) 1B 介在性薬物相互作用の定量的リスク評価法に関する研究

氏名： 竹原 一成

医薬品開発において理想的な薬物動態プロファイルを得ることは、薬効の最大化および副作用の軽減を可能とする用法用量の設定に繋がり、その是非が上市の成功確率に大きく寄与する。臨床現場においては複数の薬物を併用する機会も多く、併用により、単剤での使用時とは異なる効果を示す薬物相互作用 (drug-drug interactions, DDI) の回避もその一つである。薬物相互作用に関与する薬物は患者の不利益とならないよう併用注意あるいは併用禁忌として使用を制限される場合があり、DDI リスクの有無やその程度に関して慎重に評価する必要がある。本研究では、薬物の体内動態に関わる代謝酵素およびトランスポーターの阻害により生じる薬物動態学的薬物相互作用に着目した。

ヒト肝特異的に発現する organic anion transporter polypeptide 1B1 (OATP1B1) および OATP1B3 (以後、OATP1B) は、血液側からの種々アニオン性化合物の肝細胞内取り込みに寄与するトランスポーターとして知られている。その基質認識性は非常に広範であり、内因性物質のほか、高脂血症治療薬や抗 HCV 薬をはじめとした多くの医薬品の体内動態の一端を担う重要なトランスポーターである。同時に、cyclosporine A や rifampicin などこれらを阻害する薬物も多く報告されており、これら阻害薬との併用による DDI により OATP1B 基質となる薬物の血漿中濃度の増加が生じる。スタチンによる横紋筋融解症の発現や、repaglinide の血糖値低下作用の増強、irinotecan の好中球減少の頻度上昇など OATP1B 阻害に伴う血漿中濃度増大に起因する予期せぬ効果や副作用の増強と SNPs の関連について報告されている。そのため、開発候補品が OATP1B 阻害剤および基質となる際には、各規制当局から発出された医薬品開発における薬物相互作用に関するガイドライン・ガイダンスに定められた評価フローに従い、DDI リスク評価の実施が求められている。

OATP1B 阻害剤に関する DDI リスク評価には、*in vitro* 試験によって得られたパラメータおよび第一相試験 (Phase1 試験) など臨床早期段階で得られたヒト薬物動態パラメータを用いて R 値を算出する。算出した R 値があらかじめ設定されたカットオフ値を超え、リスク有りと判断された場合、プローブ薬として指定された典型的基質を用いた臨床 DDI 試験による *in vivo* での DDI リスク評価が推奨される。しかしながら、このリスク判定には偽陽性のみならず偽陰性も一定数含まれることが報告されている。

その他にも、臨床 DDI 試験の実施に関連した医薬品開発上の課題は存在する。その 1 つは臨床試験におけるタイムライン上の問題である。予測には薬理学的作用量における薬物動態パラメータを用いる必要があるため、必然的に臨床 DDI 試験の実施判断のタイミングは Phase1 試験以降となり、開発計画全体へ影響を及ぼしかねない。その他、プローブ薬および治験薬を投薬することとなるため被験者側にとって負担となることや、患者背景に基づく DDI リスクを反映できないなど、実臨床上のリスクの洗い出しに限界があることも課題として挙げられる。臨床 DDI 試験の実施にあたっては費用がかかるため、コストの観点からも確度の高い評価に基づく実施判断が求められる。

このような課題を解決する手段として OATP1B 等、トランスポーターの内因性基質を代替プローブとして用いる手法が近年注目されている。内因性基質で代替することで DDI リスク判定がプローブ薬の併用なく可能となる。このことは、臨床 DDI 試験の実施を待たず用量漸増試験を含む Phase1 試験から DDI が観測可能であることを意味しており、早期かつ定量的にそのリスクを把握できると考えられる。そこで本研究では、OATP1B の DDI バイオマーカーとなりうる内因性基質を見出し、*in vitro* および *in vivo* での各種評価によりその特性を明らかにするとともに、臨床試験を実施し検討することで医薬品開発における DDI リスク評価としての OATP1B 内因性基質の利用法の確立を目指した。

第一章第一節では、臨床における早期かつ定量的な DDI リスク評価を可能とする OATP1B の DDI バイオマーカーの候補選出として、OATP1B 内因性基質の新規同定を行った。過去のメタボローム解析およびそれに付随する知見により、胆汁酸抱合体 glycochenodeoxycholic acid-3-sulfate (GCDCA-S) および chenodeoxycholic acid-24-glucuronide (CDCA-24G) を新規の OATP1B 内因性基質候補として得た。肝取り込みに寄与する可能性のある hOATP1B1、hOATP1B3 および human sodium-taurocholate cotransporting polypeptide (hNTCP) の強制発現細胞を用いて検討したところ、GCDCA-S および CDCA-24G は OATP1B1、OATP1B3 および NTCP の内因性基質であることが示された。また、OATP1B の阻害剤である rifampicin は

hOATP1B1 および hOATP1B3 による取り込みを阻害し、NTCP の阻害剤である pioglitazone は hOATP1B1、hOATP1B3 および hNTCP を介する全ての取り込み活性を低下させた。これら阻害剤の特性を利用し OATP1B と NTCP を区別することで、凍結ヒト肝細胞における GCDCA-S および CDCA-24G の肝取り込みには主に OATP1B が寄与していることが示された。

第一章第二節では、GCDCA-S および CDCA-24G の DDI リスク評価可能な代替プローブとしての妥当性検証を目的に、臨床検体および非臨床動物を用いた *in vivo* 評価を実施した。臨床検体を用いた検討として、rifampicin 投与前後における GCDCA-S、CDCA-24G に加え、胆汁酸を含むその他の OATP1B DDI バイオマーカの血漿中濃度を測定した。rifampicin 非投与時と投与時を比較したところ、GCDCA-S の AUC 比 (AUC ratio, AUCR) は同時に投与された OATP1B 基質薬と比較し顕著な増大を示したことから、GCDCA-S の代替プローブとしての有用性が示された。一方で、CDCA-24G は血漿中濃度の上昇は見られたものの、分析感度上の問題により AUCR が算出不可であったため、臨床において内因性バイオマーカに適さないと結論付けた。非臨床における検討では、医薬品開発においてヒトの動態を予測する目的で利用されることの多いカイニクイザルおよびヒト肝移植キメラマウスを用いた。両動物モデルともに、rifampicin 投与による GCDCA-S を含む胆汁酸硫酸抱合体の血漿中濃度の増大が確認された。また、サルにおいては OATP1B の内因性バイオマーカとして知られる coproporphyrin (CP) も同様に血漿中濃度の上昇が見られた。加えて、胆汁分流通モデルによる検討から、胆汁酸硫酸抱合体は腸肝循環を受けることが示唆され、AUCR を観測する際にその影響を考慮することにより確度の高い DDI リスク評価に繋がると考えられた。

医薬品開発における OATP1B 内因性基質を利用した定量的 DDI リスク評価の有用性については認識されているものの、これまでに OATP1B 阻害時における汎用されるプローブ薬と内因性基質間の AUC の相関関係について検討されていなかった。そこで第二章では、医薬品開発における定量的 DDI リスク評価の実用に向け、rifampicin 300 mg および 600 mg の 2 用量を用いた用量反応性試験を実施した。プローブ薬として OATP1B 基質であるスタチンを用いた。GCDCA-S、CP-I、total bilirubin および direct bilirubin を測定し、それぞれの血漿中濃度推移における rifampicin の用量反応性、および AUC における内因性基質同士あるいはプローブ薬と内因性基質間の相関関係について検討を行った。各種スタチンは rifampicin 投与による血漿中濃度の増大が見られたが、用量反応性を示したものは atorvastatin および pitavastatin であった。また、内因性基質の血漿中濃度および AUC は rifampicin 投与により増大し、total bilirubin を除き、用量反応性を示

した。AUCに関して、direct bilirubin および CP-I において GCDCA-S と良好な相関 ($r^2 = 0.74, 0.78$)、total bilirubin においては弱い相関 ($r^2 = 0.30$) が見られた。また atorvastatin の AUC に対して、GCDCA-S、direct bilirubin および CP-I では比較的良好な相関 ($r^2 = 0.65, 0.70, 0.48$) が示された。本検討により、内因性基質 GCDCA-S、direct bilirubin および CP-I は OATP1B 阻害の程度が AUCR に反映されること、および典型的プローブ薬である atorvastatin と相関を示すことを明らかとし、これらの内因性基質が臨床における定量的 DDI リスク評価に適応可能であることを示した。

本研究を通じ、内因性基質を用いたヒト動態を想定した前臨床モデルにおける DDI リスク評価、および臨床試験早期から可能な DDI リスク評価を新たに確立するに至った。前臨床段階において化合物動態プロファイルを加味した in vivo リスク判定により、ヒトにおける薬物相互作用に関する検討の前段階としての活用が期待される。臨床試験においては、用量漸増試験など臨床開発早期から DDI リスク評価を行うことで、より定量的かつ信頼度の高い考察に基づいて、臨床 DDI 試験の可否判断や適切な試験設計に活かすことが出来る。また、プローブ薬が不要なため試験全般にわたり観察が可能であり、反復投与時の長期的な評価や患者における DDI に関する情報など、実臨床におけるリスクの把握にも活かされる。

また、GCDCA-S がプローブ薬と良好な相関を示すことや、全身クリアランスおよび肝取り込みに対する OATP1B の寄与が大きいこと、検出が容易であることなどから有望なマーカーである事を裏付けた。胆汁酸抱合体に限らず、CP、direct bilirubin といった他の DDI バイオマーカー候補の有用性も同時に示した。本研究や既報より、それぞれの内因性基質固有の特徴を持つことが伺える。DDI リスク評価の対象となる開発候補品は多種多様であり、OATP1B に限らずその他の代謝酵素やトランスポーターへ影響を及ぼす可能性は常に存在する。これら内因性基質の多くは LC-MS/MS のような汎用される分析法で試料のロスが無く薬物濃度と同時に測定できるため、可能な限り複数の DDI バイオマーカーを測定することが OATP1B の DDI リスク評価を正しく捉える上で望ましい。

近年、医薬品開発の取り巻く環境を踏まえると、本研究により明らかとなった内因性基質による DDI リスク評価はより拡大していくことが予想される。ナレッジや活用例の蓄積を経て、将来的にガイドラインへ組み込まれることにも期待したい。