

審査の結果の要旨

氏名 竹原 一成

複数の薬物を併用した際に、単剤での使用時とは異なる体内動態特性を示すことは、薬物動態学的薬物相互作用(drug-drug interactions, DDI)と呼ばれる。DDIの結果が患者の不利益とならないよう、薬物相互作用リスクがある薬物は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、医薬品開発において、開発薬物の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。竹原は、本研究において、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、医薬品開発に利用可能なバイオマーカーを同定した。

ヒト肝特異的に発現するトランスポーター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関与する。OATP1Bは多様な化合物を基質とし、内因性代謝物に加えて、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。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り、OATP1B基質となる薬物の血漿中濃度-時間曲線下面積の増加が生じる。OATP1B1の機能低下を伴うSNPsに注目した臨床薬理遺伝学解析に基づいて、スタチンによる筋障害の発現や、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作用の増強が報告されている。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第一相試験以降となり、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第一

相試験から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。

本学位論文は、二章から構成されている。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バイオマーカー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ー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多いカ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ーとして知られる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、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、rifampicin300 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では比較的良好的な相関($r^2 = 0.65, 0.70, 0.48$)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。本研究や先行研究により、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、1つの薬物が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と考えられる。

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。内在性バイオマーカーに関するデータの収集や活用事例の蓄積を経て、将来的にガイドラインへ組み込まれることも期待される。

上記の通り、本研究は医薬品開発に貢献する研究成果であり、本論文は博士(薬科学)の学位請求論文として合格と認められる。