

博士論文（要約）

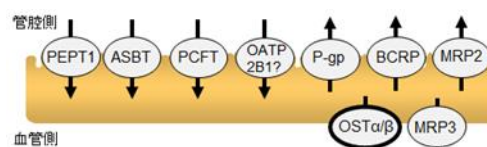
医薬品の消化管吸収における  
胆汁酸トランスポーターOST $\alpha/\beta$ の寄与の解析

中山 丈史

## 【序論】

消化管は、経口投与された医薬品が循環血中に至るまでの最初の関門となることから、医薬品の消化管吸収機構の理解は、創薬において薬効・副作用の個人間変動の要因を明確にし、医薬品候補化合物を最適化する上で必須である。消化管上皮細胞には、管腔側/血管側それぞれの膜上に種々のトランスポーターの発現が認められており（図1）、個々の基質認識性に従い、様々な物質の体内への吸収を厳密に制御していると考えられる。これまで最もよく研究がなされてきたのは、管腔側膜上に発現する P-glycoprotein (P-gp)や breast cancer resistance protein (BCRP)など一連の排出トランスポーター群で、これらが基質薬物の消化管吸収を抑制する方向に機能していることは、遺伝子欠損動物を用いた解析や、機能低下を伴う遺伝子多型や阻害薬との相互作用と基質薬物の消化管吸収率との関連を観察するヒト臨床試験を通じて実証されてきた。一方で、管腔側から血管側への医薬品の吸収方向に機能するトランスポーター群については、その候補となりうるトランスポーターの蛋白発現は確認されているものの、機能的な意義の実証には未だ至っておらず、コンセンサスが得られていないのが現状である。

Organic solute transporter  $\alpha/\beta$  (OST $\alpha/\beta$ )は、げっ歯類では消化管内で回腸選択的に発現が認められており、血管側膜上に局在して、肝臓から消化管腔へ分泌された種々の胆汁酸を上皮細胞内から血管側へ汲み出すことにより胆汁酸の効率よい腸肝循環の一端を担っていることが、Osta-knockout (KO)マウスを用いた解析により示されている。これまで当研究室の富貴澤や私は、OST $\alpha/\beta$  が実に多様なアニオン性や両性イオン薬物が基質として輸送されうることを明らかにしてきた。OST $\alpha/\beta$  が促進拡散型のトランスポーターであることを考慮すると、胆汁酸同様、上皮細胞内に吸収された薬物の血液中への排出を促進することで、様々な基質薬物の効率よい消化管吸収に寄与する可能性を着想した。そこで本研究では、OST $\alpha/\beta$  が医薬品の消化管吸収に果たす役割を明確にすべく、OST $\alpha/\beta$  の良好な基質薬物について in situ, in vivo 系における解析を実施した。



【図1】消化管上皮細胞に発現する主なトランスポーター

## 【方法・結果】

### 1. OST $\alpha/\beta$ 基質薬物のマウス回腸検体における吸収方向の透過性は Osta-KO マウスにより低下する。

OST $\alpha/\beta$  過剰発現系において良好な基質となることが既知の薬物を選択し、消化管検体を介した吸収/分泌両方向の物質の透過性を定量的に評価可能な Ussing chamber 法を用いて、野生型(WT)および Osta-KO マウス由来の回腸部における薬物の透過性を比較した。その結果、分泌方向の輸送については、Osta-KO マウスで有意な低下は観察されなかった。一方、sulfasalazine や trichlormethiazide など複数の基質薬物について、Osta-KO マウス由来の検体

において吸収方向の輸送が有意に低下したことから、少なくとも回腸部において  $Osta/\beta$  が基質薬物の吸収方向の透過に寄与していることが示唆された。

## 2. $OST\alpha/\beta$ 基質薬物のマウス回腸部における組織内濃度基準の吸収割合は、 $Osta$ -KO マウスにおいて低下する。

前項の  $Osta$ -KO マウスにおける吸収方向の透過性の低下が、血管側膜を介した膜透過の低下に由来することを確認するために、WT および  $Osta$ -KO マウスの回腸部の管腔側を  $Osta/\beta$  基質薬物を含む緩衝液で灌流し、灌流開始後 90 分間の血漿中濃度推移および 90 分後の回腸組織内濃度を測定した。その結果、前項の実験で吸収方向の透過が低下していた sulfasalazine や trichlormethiazide など複数の薬物について、その血漿中濃度が  $Osta$ -KO マウスで有意に低値を示した。一方、これら薬物をマウスに静脈内定速投与した時、WT と  $Osta$ -KO マウスの間で血漿中濃度には有意な差が認められなかったことから、ここで見られた血漿中濃度の低下は、回腸部からの薬物吸収の低下によるものと考えられた。さらに、 $Osta$ -KO マウスで、小腸組織内から血管側への排出能力の指標として、血漿中濃度を 90 分時点における回腸組織内濃度で除した値を見積もったところ、WT マウスと比較して低値となった。このことは、回腸からの薬物吸収の低下が、血管側膜上の膜透過の低下に起因することを示唆しており、 $Osta/\beta$  が吸収低下の直接の原因となっていることがより強く示唆された。

## 3. $OST\alpha/\beta$ は、マウス *in vivo* における trichlormethiazide の経口吸収に寄与する。

*In vivo* での消化管吸収における  $Osta/\beta$  の役割を検討するため、WT と  $Osta$ -KO マウスそれぞれに  $OST\alpha/\beta$  基質薬物を経口投与後、血漿中濃度推移を測定した。その結果、trichlormethiazide の血漿中濃度は、 $Osta$ -KO マウスで有意に低下し、血漿中  $AUC_{0-\infty}$  は 47.7% 低下した。これより、 $OST\alpha/\beta$  が、*in vivo* で基質薬物の経口吸収に関与していることを初めて実証することができた。その一方で、回腸部に投与した場合には薬物吸収の低下が認められた fluvastatin や sulfasalazine の血漿中濃度推移については、 $Osta$ -KO マウスで低下しなかった。

## 4. $Osta$ -KO マウスで経口吸収が低下しなかった薬物の一部は、消化管上部での吸収が下部と比較して優位である。

Ussing chamber 試験および回腸灌流試験において  $OST\alpha/\beta$  の吸収への寄与が示唆されたものの、*in vivo* 経口吸収が  $Osta$ -KO マウスで低下しなかった薬物については、経口投与後、消化管上部で吸収される割合が大きく、下部に至るまでに吸収の大部分が終わっている可能性が考えられた。そこで、WT マウスの十二指腸および回腸部それぞれを用いて灌流試験を行い、血漿中濃度推移を測定した。その結果、*in vivo* 経口吸収が  $Osta$ -KO マウスで低下しなかった fluvastatin の吸収は、消化管上部の方が有意に大きいことが明らかとなった一方

で、Osta-KO マウスで経口吸収に差がみられた trichlormethiazide については、消化管上部と下部で吸収性に有意な差は認められなかった。一方、sulfasalazine はむしろ、消化管下部での吸収が優位であることが分かった。これらより、少なくとも fluvastatin の経口吸収が Osta-KO マウスで低下しなかった要因の一つとして、消化管吸収率が良好であり、消化管上部で薬物の大半の吸収が終わる可能性が考えられた。一方で、sulfasalazine について in vivo での吸収に差がつかなかった理由は本仮説からは説明できないことが示唆された。

## **5. OST $\alpha$ / $\beta$ 基質薬物の一部は、血管側膜上に発現する MRP3 の基質となる。**

OST $\alpha$ / $\beta$  基質でありながら、OST $\alpha$ / $\beta$  が in vivo 経口吸収に影響する薬物が限局されている原因の一つとして、OST $\alpha$ / $\beta$  と同様に消化管上皮細胞の血管側膜上に発現が認められる multidrug resistance-associated protein 3 (MRP3)の血管側での排出輸送における相対的な寄与の相違が考えられた。しかしながら、過去の MRP3-KO マウスを用いた研究では、methotrexate や各種グルクロン酸抱合体等限られた基質群における吸収への関与の報告しかなされてない。そこで、OST $\alpha$ / $\beta$  基質薬物について、human MRP3 発現膜ベシクルを用いた薬物輸送試験を行い、MRP3 の基質認識性を検討した。その結果、Osta-KO マウスで回腸部での透過に差が見られなかった pravastatin や atenolol など複数の薬物が MRP3 基質となっていることが確認された。一方で、trichlormethiazide や hydrochlorothiazide は MRP3 基質とならないことが示唆された。

### **【考察・結論】**

本研究の結果、複数の OST $\alpha$ / $\beta$  基質薬物について、マウス回腸部における吸収方向の輸送に OST $\alpha$ / $\beta$  が寄与しうることが明らかとなった。一方で、in vivo での消化管吸収に明確な差がみられた薬物は trichlormethiazide に限られた。その原因として、①OST $\alpha$ / $\beta$  はマウス消化管において回腸選択的に発現するため、fluvastatin のように消化管上部の吸収が優位な薬物では、消化管から吸収される薬物全体に占める消化管下部からの吸収の寄与が小さくなり、OST $\alpha$ / $\beta$  の重要性が低下する、②OST $\alpha$ / $\beta$  基質の一部は、OST $\alpha$ / $\beta$  と同じ膜上に発現する MRP3 基質にもなっており、MRP3 による膜透過の相対的な寄与が大きい可能性がある、などが考えうる。一方で、sulfasalazine は上記①②の条件には該当しないが、腸内細菌による管腔内での代謝による吸収抑制が主要な寄与を占めているものと推定される。

なお、OST $\alpha$ / $\beta$  は、マウス消化管の回腸部選択的な発現を示すが、ヒト消化管では OST $\alpha$ / $\beta$  は消化管上・中部にも発現していることが示されている。従って、OST $\alpha$ / $\beta$  は、ヒトではマウスに比べより多くの薬物の消化管吸収に関与する可能性があり、今後、ヒト消化管における OST $\alpha$ / $\beta$  の消化管吸収に対する寄与を明らかにする必要があると考えている。