

## 論文の内容の要旨

論文題目 全身暴露およびインビトロ結合試験を基にした、ドパミン D2受容体拮抗薬およびヒスタミンH1受容体拮抗薬の中枢における受容体占有率予測

氏 名 金光 佳世子

中枢薬の開発では、P I の後期または P II の初期に proof of concept (POC)試験の1つとして、陽電子放射断層撮影(PET)によるターゲットの占有率(receptor occupancy, RO)が測定される。実際に、開発薬物の選択やその後の PET 試験のデザインにあたり、RO 最高値やその到達時間、持続時間などに関する議論が行われるが、実験動物や経験に基づいて結論されることが多い。また、多くの試験において最高血漿中濃度到達時間( $T_{max}$ )で RO が測定されている。本研究では、PET 試験実施前に合理的な試験計画を立案できないか、また RO の持続にはどのような特性が関係するのか。薬物間相互作用が生じた場合薬効にどの程度影響するのか。について検証するため、①受容体との相互作用に関わるパラメータの測定(受容体からの解離の半減期の評価)、②脳内における非特異的結合評価、③血液脳関門(BBB)における能動輸送に関わるトランスポーター評価、④血漿中の滞留性(全身クリアランス、分布容積、非結合形分率)に関する薬物動態パラメータの取得を行い、生理学的薬物動態 (PBPK) モデルを用いた検討を行った。

### 1. ドパミン D2 受容体占有率時間推移の予測

ドパミン D2 受容体拮抗薬は統合失調症及び関連疾患の治療に用いられている。PET 等の試験に基づき、D2 の RO は 70-80%の間が適した範囲であり、RO が 80%を超えた患者で錐体外路への副作用リスクが高くなると提唱されている。本試験では、日本において第二世代の統合失調症治療薬として用いられている quetiapine と perospirone に着目した。経口投与後、perospirone(消失半減期  $t_{1/2}$ : 1.9 時間)は quetiapine ( $t_{1/2}$ : 3.1—5.5 時間)よりも速く体循環から消失する。既に perospirone による RO の時間推移が $^{11}C$ raclopride を D2 受容体の PET トレーサーとして健常人男性で評価されている。本試験では、quetiapine の RO 時間推移を評価した。その結果、perospirone による RO は投与後 25.5

時間において 31% 以上だったのに対し、quetiapine による同じ時点の RO は 1% 以下であったことから、perospirone は quetiapine よりも RO の持続が長いことが判明した。両化合物のラット脳におけるドパミン D2 受容体に対する阻害定数( $K_i$ )には顕著な違い(それぞれ 329 nM, 1.77 nM)があるため、perospirone の RO の持続には阻害定数に関連する解離速度が決定因子になっている可能性が考えられたが、文献情報では説明できなかった。加えて perospirone の代謝物として、薬理活性のある ID-15036 は未変化体の 4 倍程度の血漿中暴露があり、これが perospirone の中枢作用に関与していることも考えられた。そこで、RO の持続を決定する要因を理解するため、D2 受容体結合及び脳内動態の速度論解析を実施し、両化合物を経口投与後の脳内 RO 時間推移を予測した。

始めに $[^3\text{H}]$ raclopride のヒト D2 受容体発現細胞膜に対する親和性、被験物質(quetiapine, perospirone 及び ID-15036)の阻害定数を評価し、さらに $[^3\text{H}]$ raclopride 及び被験物質の結合定数( $k_{\text{on}}$ )・解離定数( $k_{\text{off}}$ )を評価した。perospirone の受容体からの解離の半減期は 15 分程度であり、quetiapine よりも長いものの、RO 持続の違いを説明するには不十分であると考えられた。このことから、これらの脳内動態に潜在しているメカニズムが RO 持続の原因であると考えた。

被験物質の脳内動態を特徴づけるため、脳内非結合形分率( $f_{\text{br}}$ )の評価及び BBB を介した受動輸送クリアランス(PS)の予測を行った。本試験において  $f_{\text{br}}$  は、マウス脳ホモジネートを用いた非特異的結合評価( $f_{\text{u,brain homogenate}}$ )、定量的物理化学パラメータ-活性相関( $f_{\text{u,brain silico}}$ )、及びマウス *in vivo* 試験( $f_{\text{u,brain vivo}}$ , モデルフィッティングにより算出)の 3 種の方法で評価した。 $f_{\text{br}}$  を評価する際、脳ホモジネートでは細胞の構造や pH 勾配が破壊されているため、細胞の構造が保たれている系での検討が推奨されている。そこで、RO 予測では  $f_{\text{u,brain vivo}}$  を用いることとした。BBB を介した薬物の透過は受動拡散と仮定した。

被験物質の臨床での血中濃度時間推移を用いて薬物動態パラメータを算出し、取得した上記パラメータを用いて、PBPK モデルにより脳内非結合形濃度( $C_{\text{u,brain}}$ )及び D2 の RO 時間推移を予測した。いずれの RO の予測値も PET 試験での実測値とよく合っていた。perospirone の代謝物 ID-15036 は D2 受容体に対して perospirone よりも 10 倍程度阻害活性が低いものの、ID-15036 の血中及び  $C_{\text{u,brain}}$  の最高値は perospirone よりもそれぞれ 4 及び 17 倍高く、結果的に ID-15036 は RO の最高値では 60% 程度を占めることが示唆された。しかし投与 24 時間後には ID-15036 の RO は 2% まで低下し、RO の持続は perospirone よりも短いと予測された。

次に  $K_i$  ( $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ ), PS, 及び  $f_{\text{br}}$  の値を変化させることで RO に対する感度分析を行った。 $f_{\text{br}}$  の値を  $f_{\text{u,brain vivo}}$  から  $f_{\text{u,brain homogenate}}$  や  $f_{\text{u,brain silico}}$  に変えると、quetiapine による RO の予測には影響を与えなかったが、perospirone 及び ID-15036 では RO の持続を説明することができず、 $f_{\text{u,brain vivo}}$  が最も適していると考えられた。このことから、perospirone による RO の持続は、 $f_{\text{u,brain vivo}}$  が小さいため脳内の分布容積が大きくなり、脳からの消失が遅くなったためであると考えられた。

quetiapine 及び perospirone の主要消失経路は CYP3A4 による代謝であるため、薬物間相

相互作用の脳内 RO に対する影響を予測した。CYP3A4 の阻害剤併用時、両化合物の AUC がそれぞれ 523% 及び 582% 上昇し、 $T_{max}$  では副作用の発現に対する閾値(80%)を超えると予想された。

## 2. ヒスタミン H1 受容体占有率時間推移の予測

ヒスタミン H1 受容体拮抗薬 (抗ヒスタミン薬) はアレルギー疾患治療に広く用いられている。特に第一世代薬に見られる副作用の 1 つである鎮静は、中枢の H1 受容体の占有に原因があると考えられており、PET 試験による RO の大きさに基づき、鎮静性(50~100%の占有率)、弱鎮静性(20~100%)及び非鎮静性(0~20%)に分類されている。これまでに報告されている臨床試験における RO の評価時点は、 $T_{max}$  または他のより遅い時点と限られているため、抗ヒスタミン薬の投与量または血漿中濃度と RO の関係について定量的な解析はなされていない。そこでモデル化合物として、鎮静性 (diphenhydramine 及び ketotifen) と非鎮静性の抗ヒスタミン薬 (betastine 及び olopatadine) を選択し、1 項と同様に中枢における RO 時間推移を予測し、その違いについて検討した。

初めに H1 受容体結合試験を実施した。diphenhydramine による [ $^3$ H]mepyramine の H1 受容体への結合阻害は瞬時に定常状態に達したため、以降の解析には瞬時平衡を仮定した。

一部の抗ヒスタミン薬は BBB において P 糖タンパク (P-gp) を介した能動的な排泄を受ける。またヒトの不死化脳血管内皮細胞において、diphenhydramine の取り込みに関してプロトン共役有機カチオン輸送の存在が示唆されている。従って、BBB を介した能動的な取り込みや排泄について検討した。P-gp ノックアウト (KO) マウスを用いた報告から、bepotastine 及び olopatadine の正常マウスとの脳内移行性の比を算出した。また BBB における P-gp タンパクの発現はマウスと比較してヒトで低いと報告されており、P-gp を介したクリアランスに関する種差について考慮するため、ヒト P-gp 発現細胞における経細胞輸送を評価し、PET 速度論解析の報告がある [ $^{11}$ C]verapamil をリファレンスとして、relative activity factor (RAF) メソッドにより bepotastine 及び olopatadine の排泄能を外挿した。さらにマイクロダイアリシス (MD) 試験を実施したところ、diphenhydramine 及び ketotifen の間質液 (ISF) 中濃度 ( $C_{ISF}$ ) は血漿中非結合形濃度 ( $C_{u,plasma}$ ) よりも高いものの、bepotastine 及び olopatadine の  $C_{ISF}$  は  $C_{u,plasma}$  よりも低かった。サル MD 試験では、diphenhydramine の  $C_{ISF}$  は  $C_{u,plasma}$  と同程度であり、種差の存在が示唆された。

得られたデータを用いて、抗ヒスタミン薬を投与後の RO 時間推移を 1 項と同様の方法で予測した。ただし、BBB を介した取り込みと排泄の比である  $PS_{inf} : PS_{eff}$  をサル MD 及び P-gp KO マウスのデータを用いて補正した。予測した RO は、少なくとも報告されている時点付近ではよく合っていたものの、bepotastine 及び olopatadine による RO は血漿中濃度が  $T_{max}$  に達したところで最高値に達しておらず、予測した最高値は鎮静性の抗ヒスタミン薬で認められた値に近かった。

次に感度分析を行った。 $PS_{inf} : PS_{eff}$  比を一定にして PS を 10 分の 1 にした場合、

diphenhydramine 及び ketotifen では RO の最高値が減少するとともに RO 推移が遅くなった。これらのパラメータ推定精度が RO の持続に影響すると考えられる。diphenhydramine 及び ketotifen では RO に対する能動的な取り込みの影響も評価した。マウスの MD データを用いた場合 diphenhydramine による RO の持続は延長したものの、 $PS_{inf}$  を  $PS_{eff}$  と等しくした場合には顕著な影響はなかった。予測値を考慮すると、サル MD のデータが diphenhydramine による RO に適していると考えられ、ヒト BBB においては能動的な取り込みの寄与が低いと考えられた。ketotifen による血漿  $T_{max}$  での予測 RO は能動的な取り込みがない場合やマウス MD のデータを用いた場合でも影響がなかったが、RO の持続は顕著に変化した。投与後 12 h またはそれよりの後の RO の評価が望まれる。

bepotastine では投与後 1 時間で得られた RO に合うように  $K_i$  値を増加させると、12 時間後の RO を説明できなかった。また、本モデルを用いて olopatadine を 1 日 2 回反復投与した場合の 1 日目、4 週間目の投与後 75 分の RO 報告値を再現することができた。

diphenhydramine の眠気の発生確率は他の抗ヒスタミン薬の値よりも高い。血漿の  $T_{max}$  で得られた RO (diphenhydramine, 56%; ketotifen, 72%; bepotastine, 15%; olopatadine, 15%) または予測した  $RO > 50\%$  となる持続時間 (diphenhydramine 50 mg, 12 h; ketotifen, 16 h; bepotastine, 5 h; olopatadine, 13 h) は、抗ヒスタミン薬による鎮静効果の測定基準とはならない可能性があり、この RO 予測の正当性を立証するには、さらなる臨床試験が望まれる。

## 総括及び今後の展望

PK/PD パラメータに関する非臨床データや一部臨床データを統合することで、臨床投与量における D2 拮抗薬や抗ヒスタミン薬の、臨床で得られた RO を合理的に説明可能であることを実証することができた。RO の持続には  $k_{off}$  の半減期や脳内からの半減期  $[1/(f_{br} \times PS_{eff})]$  が関わり、これらの半減期が長い場合には血漿中濃度半減期と比較して RO が持続すると考えられた。血液脳関門で能動輸送を受ける薬物の場合には、予測精度の改善のための複数の時点での RO 測定など、臨床データのさらなる収集が必要である。

本取り組みは、医薬品開発のための臨床試験デザイン、オンターゲット及びオフターゲット作用の予測、臨床における薬物間相互作用が中枢作用に及ぼす影響の予測にも役立つと考えられる。