

論文の内容の要旨

論文題目 内因性代謝物プローブを用いた合成抗菌薬 DX-619
による薬物相互作用の定量的解析

氏名 今村 勇一郎

序論

医薬品の重篤な臨床副作用は、開発中および市販後の精力的な遡及的研究によってそのメカニズムおよびリスク評価方法が創薬研究にフィードバックされ、次世代の安全性の高い医薬品創出につながる。

DX-619 は第一三共で創生された合成抗菌薬であり、グラム陽性菌、なかでもメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*Methicillin-resistant staphylococcus aureus*, MRSA) に優れた抗菌活性を有し、臨床では注射剤として MRSA 感染初期の治療薬としての使用が期待されていた。DX-619 の単回および連投増試験 (臨床第 1 相試験, Ph1) において、血漿中クレアチニンの一過性の上昇が認められ、本上昇が DX-619 由来の腎毒性によるものであった場合には当該薬剤の適応患者が限定されると考えられた。一方、チトクロム P450 (CYP) を介した mechanism-based inhibition (MBI) は、阻害薬が被薬物相互作用薬の血漿中濃度の過剰暴露を惹起するため、医薬品開発においては重要なリスク要因として認識されているが、DX-619 は創薬初期の段階で CYP3A4 に対する MBI を有することが確認されていた。これら 2 つの問題点は、開発の go/no-go および方針展開に影響を与える非常に重要な問題と認識され、早期にそのメカニズムやリスクを把握しておく必要がある。

本研究では、Ph1 検体を分析し *in vitro* 試験と数理的モデルとの統合的解析に基づいて薬物相互作用を定量的に予測することを目的として以下の研究に取り組んだ。

1. DX-619 投与時の血中クレアチニン濃度増加メカニズムの解析

体液の維持および老廃物・異物・生体代謝物の排泄恒常性の維持のために、尿量の実に約 100 倍の体液が糸球体でろ過されることから、糸球体ろ過速度 (GFR) は腎機能を代表する指標として重要であり、GFR について臨床で最も簡便に行うことのできる指標が内因性クレアチンクリ

アランス (CL_{cre}) とされている。そのため DX-619 投与による血漿クレアチニン濃度上昇が腎毒性由来であるか否かの判断は非常に重要である。そこで DX-619 投与時の CL_{cre} および GFR をそれぞれ正確に見積もるための臨床試験 (GFR study) が行われた。すなわち DX-619 を 4 日間連続投与し (800 mg/日)、DX-619 投与前 (baseline) および投与最終日 (day 4) に CL_{cre} および、非イオン性ヨード造影剤イオヘキソールの腎クリアランス ($CL_{iohexol}$) の変動を比較した。一方、クレアチニンの排泄については糸球体ろ過に加えて尿細管分泌が存在するために、他の GFR の指標 (イヌリンクリアランスなど) と比較して CL_{cre} が overestimate されることが考えられている。糸球体ろ過がある分子量以下の分子を透過させるサイズ選択的な排泄過程であるのに対し、分泌・再吸収過程にはさまざまなトランスポーターが関与し、医薬品の臓器内への分布および排泄経路の寄与率を支配している。既報によれば、クレアチニンの尿細管分泌にとって特に有機カチオントランスポーターであるヒト OCT2、および近年微生物の薬剤排出機能を担うことで知られる MATE ファミリー (ヒト MATE1 および MATE2-K) の関与が示唆されている。そこで本研究では、血中クレアチニン濃度の増加は DX-619 による尿細管分泌阻害であり、DX-619 の腎有機カチオントランスポーター阻害を考慮することで説明できると考えた。

クレアチニンの尿細管分泌について網羅的に腎薬物トランスポーターの関与を検討したところ、クレアチニンは OCT2 および OAT3 の基質であり、ヒト腎取り込みクリアランスに換算すると尿細管基底膜側では OCT2 の輸送の寄与が高いと考えられた。また、腎トランスポーターに対する DX-619 の阻害定数 (K_i) と血漿遊離型 DX-619 濃度を比較したところ、GFR study において OCT2 および MATEs の阻害が生じることが確認された。DX-619 投与時のクレアチニンの変動を定量的に評価するために数理的モデルを構築し、クレアチニンの尿細管分泌を DX-619 が競合阻害した場合の血漿中クレアチニン濃度の変動を simulation した。結果、血漿中クレアチニン濃度上昇が起こるためには、尿細管分泌 (GFR の 50%程度) および再吸収 (同 10%程度) が必要であることが確認された。

以上の結果から、DX-619 による血漿中クレアチニン濃度の増大は、クレアチニンの OCT2/MATEs による尿細管分泌に対する DX-619 による機能阻害によって説明できることを明らかにした。また、DX-619 は薬効が期待される用量 (800 mg) で、カチオン性薬物の腎排泄を阻害すること、およびクレアチニンは内因性の OCT2/MATEs プローブとなり得ることが示された。

2. *In vitro* 試験に基づいた DX-619 の Mechanism-based Inhibition (MBI) による *in vivo* 肝 CYP3A4 阻害能の定量的予測

2-1. DX-619 投与時の CYP3A4 に対する薬物相互作用リスクの評価

MBI は、反応性代謝物が代謝酵素と共有結合することで酵素を不可逆的に失活させ、再び平時と同等の代謝活性環境を得るには一定時間 (酵素の生合成時間) を要するため、MBI の臨床に与えるインパクトは極めて大きい。米国食品医薬品局 (FDA) や欧州医薬品庁 (EMA) においては明確な判断基準のもとそのリスク評価 (非臨床/臨床) を実施することが定められている。加えて MBI を検証するための臨床薬物相互作用試験 (DDI study) は被験者への影響も小さくないことから慎重に実施する必要がある。そこで、医薬品開発においては Ph1 あるいはそれ以前の段階

で MBI の臨床への影響を定量的に確認できる手段を日々模索している。

In vitro からの臨床 MBI の予測手法として、分子薬物動態研から *physiologically-based pharmacokinetic model* (PBPK model) が提唱され、非臨床データのみから阻害剤の被相互作用薬への影響が時間推移とともに推定可能となっている。そこで、DX-619 投与時 (1200 mg, 反復 15 日投与) の肝臓中 CYP3A4 含量に関する PBPK model を構築したところ、肝臓中 CYP3A4 を最大で平時の 25-53%にまで低下させると予測された。一方、糖質コルチコイドである cortisol (F) とその CYP3A4 による 6 β -水酸化体、6 β -hydroxycortisol (6 β -OHF) より求まる cortisol の見かけの 6 β 水酸化クリアランス ($CL_{6\beta\text{-OHF}} = X_{6\beta\text{-OHF}}/AUC_F$) が *in vivo* CYP3A4 マーカーとして検討されつつある。そこで、DX-619 投与時 (1200 mg, 反復 15 日投与) の $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ を求めたところ、placebo の最大 27%にまで低下し、上記 PBPK model の予測結果とほぼ一致した。

2-2. 6 β -hydroxycortisol の腎排泄阻害が $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ に基づいた肝 CYP3A4 活性推定に与える影響

$CL_{6\beta\text{-OHF}}$ は Ph1 から評価可能であり、DDI study のような健常被験者の負担 (プローブ薬投与) およびコスト面 (費用および時間) 等、利点が多い。一方、 $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ はその構成要素に関して肝 CYP3A4 代謝活性 (CL_{CYP3A4}) に加えて、6 β -OHF の腎クリアランス ($CL_{\text{renal},6\beta\text{-OHF}}$)、全身クリアランス ($CL_{\text{total},6\beta\text{-OHF}}$) のファクターを含むため、 $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ の評価に際し、MBI 化合物による $CL_{\text{renal},6\beta\text{-OHF}}$ の変動も考慮すべきであると考えられた。実際、 $CL_{\text{renal},6\beta\text{-OHF}}$ は糸球体ろ過速度 ($fu \times GFR$) より大きく尿細管分泌を受けること、およびそれが DX-619 投与によって $fu \times GFR$ まで低下し尿細管分泌は完全に阻害されることが確認された。*In vitro* の検討により 6 β -OHF は、OAT3、MATE1 および MATE2-K の基質であることが確認され、DX-619 の阻害定数と血漿遊離型 DX-619 濃度の比較によって、DX-619 (1200 mg) 投与時に MATE1 の阻害が生じることが確認された。6 β -OHF の OAT3、MATE1、MATE2-K を介した尿細管分泌は、これらの阻害剤を利用することで、腎クリアランスの変動が見かけの 6 β 水酸化クリアランスに与える影響を評価できると考えられた。そこで、probenecid (OAT1/3 阻害剤) の併用投与による benzylpenicillin (OAT3 基質) の、pyrimethamine (MATEs 阻害剤) の併用投与による metformin (OCT2/MATE1 基質) の腎クリアランスがそれぞれ低下した薬物相互作用試験に関して $CL_{\text{renal},6\beta\text{-OHF}}$ の解析を試みた。その結果、probenecid 投与群で $CL_{\text{renal},6\beta\text{-OHF}}$ の有意な低下が認められ、一方 pyrimethamine ではわずかな低下のみ認められた。また、 $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ は 6 β -OHF の腎排泄阻害の影響を受けなかった。

以上の結果から、DX-619 1200 mg 投与時の CYP3A4 活性は、 $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ によって 73%の低下が、 E_{act} によって 47-75%の低下がそれぞれ確認された。この情報に基づいて、薬効用量 (800 mg) での CYP3A4 活性が推定可能となった。また、 $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ は 6 β -OHF の腎排泄阻害の影響を受けないことが示唆された。Probenecid 投与によって 6 β -OHF の血中濃度の増加、ならび $CL_{\text{renal},6\beta\text{-OHF}}$ が低下したことから、これらは OAT3 バイオマーカーとして薬物相互作用の評価に利用することができると思われた。

総括

本研究により、DX-619 の臨床開発研究を通じて腎薬物トランスポーター阻害が原因の血中クレアチニン濃度上昇が起こりえること、およびこれは OCT2/MATEs の阻害によって定量的に説明可能であることを示した。また、ヒト CYP3A4 が関連した薬物相互作用予測において、内因性 6 β -OHF を用いた CL_{6 β -OHF} および PBPK model による E_{act} の算出アプローチはそれぞれ有用であることを示した。また、6 β -OHF は大部分が尿中に排泄され、OAT3 および MATEs による尿細管分泌を受けるがこれらトランスポーターの阻害は、CL_{6 β -OHF} に影響を与えないことを確認した。本研究の副次的な成果として、クレアチニンは OCT2/MATEs の、6 β -OHF は OAT3 のそれぞれ Ph1 で評価可能な内因性プローブとしてトランスポーターの薬物相互作用評価に有用であることを示した。

展望と提言

本研究で得られた薬物相互作用の方法論を臨床の比較的初期に適用することにより、非臨床での予測と併せて多面的な解析が可能となり、確かなエビデンスをもとにした以降の臨床試験に対する対応策が可能になると期待される。一方、新規内因性プローブの知見から、トランスポーター阻害能を有する医薬候補化合物について、臨床早期にそのリスクが予測できると期待される。