

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 今村 勇一郎

医薬品開発の成功確率を上昇させる要因として、ヒトでの期待された薬効の獲得、予測可能かつ個人内・個人間変動の小さい体内動態、およびより低い毒性リスク等が挙げられる。この中で体内動態を理由とした医薬品開発の中止例は減少傾向にある一方、有効性および安全性を理由とした開発中止例は依然として多い。特に薬物間相互作用（DDI）および副作用は、患者サイドおよび企業サイド双方に多大な影響を与えるため、その発現メカニズムに関する研究に加え、それらを早期にモニターすべく関連するバイオマーカーが求められている。過去に重篤な結果を招いた事例の遡及的研究によって、その発症メカニズムに基づいたリスク評価方法が創薬研究にフィードバックされ、安全性の高い次世代の医薬品創出につながってきた。

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、MRSA 感染初期の治療薬として期待されていた。DX-619 の開発過程において、既存のキノロン系抗菌薬では報告されていない 2 つの問題点が見いだされた。1 つは、DX-619 の単回および連投漸増試験（臨床第 1 相試験）において、血漿中クレアチニン濃度の一過性の上昇が認められた点である。もう 1 つは、創薬初期の段階で薬物代謝酵素チトクロム P450 (CYP) の 1 分子種である CYP3A4 を不可逆的に阻害する mechanism-based inhibition (MBI) 活性を有することが見出された点である。これら 2 つの問題点は、DX-619 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った。

申請者である今村は、本研究において臨床第 1 相試験検体を分析し *in vitro* 試験と薬物速度論モデルとの統合的解析に基づいて、腎薬物トランスポーター・肝代謝酵素との薬物間相互作用を定量的に予測・検証することに取り組んだ。本論文は二章から構成されており、第一章では、DX-619 投与時の血漿中クレアチニン濃度の増加は、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か検証を試みた。第二章一節では、DX-619 投与時の CYP3A4 に対する薬物相互作用リスクを *in vitro* データを使用した予測、および cortisol から CYP3A4 代謝により生成する 6 β -hydroxycortisol (6 β -OHF) をバイオマーカーとして、*in vivo* における DX-619 投与時の肝 CYP3A4 活性を評価し、予測の妥当性を検証した。第二章二節では、肝 CYP3A4 活性の指標とした見かけのコレチール 6 β 水酸化クリアランス (CL_{6 β -OHF}) の妥当性を検証する目的で、6 β -OHF の腎排泄挙動を明らかにし、6 β -OHF 腎排泄阻害が CL_{6 β -OHF} に基づいた肝 CYP3A4 活性推定に与える影響を検討した。以下に研究の概略を示す。

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

クレアチンの代謝物であるクレアチニンは腎機能診断のバイオマーカーとして広く使われている。そのため DX-619 投与による血漿クレアチニン濃度上昇が、腎毒性由来であるのか否かの判断は非常に重要である。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、クレアチニンの腎クリアランス (CL_{cre}) および、外因性 GFR マーカーである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 ($CL_{iohexol}$) を比較した。その結果、 $CL_{iohexol}$ の変動は認められなかったものの、 CL_{cre} の低下が認められた。クレアチニンの尿中排泄については、糸球体ろ過に加えて尿細管分泌が関与する。クレアチニンの尿細管分泌には、有機カチオントランスポーターである OCT2、および近年微生物の薬剤排出機能を担うことでも知られる MATE ファミリー (MATE1 および MATE2-K) の関与が示唆されている。そこで申請者は、DX-619 は腎有機カチオントランスポーター阻害能を有し、臨床投与量において、クレアチニンの尿細管分泌を阻害した結果、血中クレアチニン濃度の増加が生じたものと考え、以下の試験を行った。

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、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、血漿クレアチニン濃度上昇が認められた投与量において、OCT2 および MATEs の阻害が生じえることを確認した。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) が必要であることを示した。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、本結果は、DX-619 は薬効が期待される用量 (800 mg) で、メトホルミンなど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を示している。

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 試験) 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、臨床第1相試験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が模索されている。

In vitro からの臨床 MBI の予測手法として、金光らが physiologically-based pharmacokinetic model (PBPK モデル) を提唱しており (Kanamitsu S *et al* Pharm Res 17:419-26, 2000)、非臨床データに基づいて、阻害剤投与時の標的代謝酵素活性の時間推移を推定する方法を提唱している。そこで、本モデルに基づいて、DX-619 投与時 (1200 mg, 反復 15 日投与) の肝臓中 CYP3A4 含量 (E_{act}) を推定したところ、 E_{act} は最大で平時の 25-53% にまで低下すると予測された。一方、糖質コルチコイドである cortisol (F) の血漿中濃度の AUC と CYP3A4 により生成する 6 β -水酸化体、6 β -hydroxycortisol (6 β -OHF) の尿中排泄量で定義される $CL_{6\beta-OHF}$ ($X_{6\beta-OHF}/AUC_F$) は、肝 CYP3A4 活性のマーカーとして、主に薬物誘導に関する領域で使用されてきた。DX-619 投与時 (1200 mg, 反復 15 日投与) の $CL_{6\beta-OHF}$ を求めたところ、placebo の最大 27% にまで低下した。本結果は、予測値とほぼ一致したことから、これら手法がそれぞれ CYP3A4 に対する薬物相互作用リスク評価として有用であることを示している。また、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。

2.2 6 β -hydroxycortisol の腎排泄阻害が $CL_{6\beta-OHF}$ に基づいた肝 CYP3A4 活性推定に与える影響

$CL_{6\beta-OHF}$ は臨床第1相試験から評価可能であり、プローブ薬を用いた DDI 試験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、 $CL_{6\beta-OHF}$ はその構成要素に肝 CYP3A4 代謝活性 (CL_{CYP3A4}) に加えて、6 β -OHF の腎クリアランス ($CL_{renal, 6\beta-OHF}$) および全身クリアランス ($CL_{total, 6\beta-OHF}$) を含むため、CYP3A4 活性以外にこれらパラメータも $CL_{6\beta-OHF}$ の変動要因となり得る。実際、申請者は $CL_{renal, 6\beta-OHF}$ は糸球体ろ過速度 ($fu \times GFR$) より大きく、6 β -OHF は尿細管分泌を受けること、および DX-619 投与 (1200 mg) によって、 $CL_{renal, 6\beta-OHF}$ は $fu \times GFR$ まで低下することから、尿細管分泌が完全に阻害されることを確認している。強制発現系を用いた *In vitro* 試験により、6 β -OHF は、OAT3、MATE1 および MATE2-K の基質であることが確認された。第一章で明らかにしたように、DX-619 は MATE1 阻害能を有している。MATE1 阻害が腎クリアランスの低下を生じたものと考察している。DX-619 投与時は、CYP3A4 阻害と腎薬物トランスポーター阻害が生じていることから、果たして $CL_{renal, 6\beta-OHF}$ の低下が、 $CL_{6\beta-OHF}$ に影響を与えるか評価することは難しい。そこで、6 β -OHF の尿細管分泌に関わると想定しているトランスポーター (OAT3、MATE1、MATE2-K) に対する阻害剤を利用し、 $CL_{total, 6\beta-OHF}$ の変動が $CL_{6\beta-OHF}$ に与える影響を評価した。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で

の検体を用いて、 $CL_{\text{renal, } 6\beta\text{-OHF}}$ ならびに $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ を評価した。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た。一方、pyrimethamine ではわずかに低下した。また、 $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ は $6\beta\text{-OHF}$ の腎排泄阻害の影響を受けないことを明らかにした。以上の結果より、probenecid 投与によって $6\beta\text{-OHF}$ の血中濃度の増加、ならびに $CL_{\text{renal, } 6\beta\text{-OHF}}$ が低下したことから、これらのパラメータが OAT3 バイオマーカーとして薬物相互作用の評価に有用であることを示している。

以上のように、申請者は 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、ヒト CYP3A4 が関連した薬物相互作用予測において、内因性 $6\beta\text{-OHF}$ を用いた $CL_{6\beta\text{-OHF}}$ および PBPK モデルによる 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。本研究では、比較的古くからバイオマーカーとして知られていたクレアチニンおよび $6\beta\text{-OHF}$ を取り上げたが、in vitro 試験の結果を数理モデルを用いて統合的に解析し、薬物代謝酵素 (CYP3A4) ならびに腎薬物トランスポーター (OAT3, OCT2, MATE) のバイオマーカーとしてのクレアチニンおよび $6\beta\text{-OHF}$ の解析の信頼性向上に貢献した。また、これらの評価はいずれも臨床第 1 相試験以前で実施が可能であり、医薬品の臨床開発における極めて初期の段階において、腎薬物トランスポーターが関与した DDI および肝 CYP3A4 が関与する DDI を定量的に評価することを可能とした点は評価に値する。

本研究の成果は、市販後重篤な DDI リスクが発生するリスクを、臨床開発の初期に、簡便にバイオマーカーを用いて定量的に予測することで、医薬品開発の意思決定のための重要な情報を提供し、安全性の高い医薬品開発に貢献するものである。以上の理由により、博士 (薬学) の学位を授与するに値するものと認めた。