

Cytochrome P450 3A4 トランスジェニックマウス を用いたヒト薬物動態の新規予測法の開発

満井, 哲也

<https://hdl.handle.net/2324/1500651>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（薬学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

論文審査の結果の要旨

医薬品開発において、化合物の薬効および毒性の評価に加えて薬物動態特性を評価することは、経口吸収性、組織移行性および体内滞留性等の特性を最適化するために重要であり、その評価方法は、ヒトの薬物動態を高い精度で予測しうるものである必要がある。評価すべき薬物動態パラメータの中で、全身クリアランス (CL_{tot}) およびバイオアベイラビリティ (F) は、薬物の薬効および毒性と密接に関係する全身曝露を決定するものであることから最も重要である。 CL_{tot} は肝クリアランス (CL_h) や腎クリアランス (CL_r) に代表される各臓器クリアランスの和として表されるが、近年の医薬品候補化合物は脂溶性が高く、肝臓で代謝を受ける割合が高く、 CL_{tot} の大部分を CL_h が占める。従って、 CL_h および F の高い精度でのヒト予測法開発は重要な課題と考えられ、薬物動態研究者の間でこれまでも研究が進められてきた。これまでのヒト CL_h の予測法としては、実験動物の *in vivo* データを利用するアニマルスケールアップ法やヒト肝組織を使った *in vitro* データを利用する *in vitro-in vivo exploratory* 法が主要な方法であるが、いずれも予測値の 1/2~2 倍の範囲に実測値が入る化合物の割合は 60%程度にとどまり、その予測精度は満足できるレベルにはない。 F についても、いくつかのアプローチが試みられているが、 F を高い精度で予測する標準的な方法は開発されていない。本研究では、マウスの遺伝子・細胞・組織の一部がヒトのものに置換されたヒト化マウスに着目し、これがヒト CL_h および F の予測ツールとなり得るか否かが検討された。なぜなら、既存のアニマルスケールアップ法の欠点である代謝種差を埋めることで精度向上が期待されたからである。ヒト化マウスの中でも、市販される 50%以上の薬物の代謝にかかわる CYP3A4 のトランスジェニックマウス、特にマウスに発現する 8 種の Cyp3a 分子種全ての遺伝子がノックアウトされたマウス (Cyp3a-KO マウス) をベースにした CYP3A4 トランスジェニックマウス (CYP3A4-Tg マウス) がヒト薬物動態予測モデルとして有用と考え、CYP3A4 基質のヒト CL_h および F 予測に対する有用性が評価された。

CL_h 予測では、6 種の CYP3A4 基質 (アルプラゾラム、フェロジピン、ミダゾラム、ニフェジピン、ニトレンジピンおよびキニジン) を CYP3A4-Tg マウスに静脈内投与し、 CL_h が算出された。さらに、生理学モデルとして Dispersion モデルを用いて CL_h から肝固有クリアランス ($CL_{int,h}$) を算出し、ヒトの $CL_{int,h}$ と比較した結果、高い相関が認められている ($R^2=0.95$)。CYP3A4-Tg マウス肝ミクロゾームを用いて CYP3A4 基質の代謝に対する CYP3A4 酵素の寄与率 ($f_{m,CYP3A4}$) を算出し、CYP3A4-Tg マウスの $CL_{int,h}$ を補正しても、ヒトの $CL_{int,h}$ との相関関係に変動は認められていない。しかし、ヒト $CL_{int,h}$ との累乗回帰により得られた回帰式を用いたヒト CL_h 予測により、6 化合物全てにおいて予測値が実測値の 1/2 から 2 倍の範囲に収まると言う。この結果は既存法によるヒト CL_h 予測精度を超えるものであり、予測精度の向上が実現された。続いて F 予測に対する有用性評価が実施された。6 種の CYP3A4 基質を CYP3A4-Tg マウスに経口投与し、静脈投与時データと比較することにより CYP3A4-Tg マウスとヒトの F の相関が検討されている。 F は吸収率 (F_a)、小腸アベイラビリティ (F_g) および肝アベイラビリティ (F_h) の積として表されることから、CYP3A4-Tg マウスとヒトの F_h および $F_a F_g$ の相関についても検討された。その結果、いずれのパラメータにも相関は認められていない。しかし、静脈内投与時の $CL_{int,h} \times f_{m,CYP3A4}$ と F 、 F_h および $F_a F_g$ の相関の検討では、 F および F_h に関しては高い相関が ($R^2=0.91$ および 0.94)、 $F_a F_g$ に関しても弱い相関が認められた ($R^2=0.36$)。従って、CYP3A4-Tg マウスの $CL_{int,h}$ を用いることでヒト F を高い精度で予測できる可能性が見出された。

CL_{tot} および F には個体差があり、 CL_{tot} および F 予測による血漿中濃度推移の予測に加えて、個人間の血漿中薬物濃度のバラツキまで予測することが、医薬品のさらなる適性使用に寄与すると期待される。これに関連して、本研究では、CYP3A4 のヒトにおけるクリアランスの個体差を生み出す要因の 1 つと

示唆されている UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) とのタンパク質間相互作用による CYP3A4 の機能変動について検討が行われた。具体的には、Cyp3a-KO、CYP3A4-Tg および wild-type の各マウスの肝臓から調製したマイクロゾームを用い、Cyp3a/3A が UGT 機能を制御するか否かについて、11 種の Ugt 発現量およびモルヒネの抱合活性が測定された。その結果、マウスの Cyp3a および発現させたヒト CYP3A4 は、モルヒネの主代謝物である 3 位のグルクロン酸抱合体を生成するマウス Ugt の V_{max} を抑制する可能性が明らかにされている。その要因として、Ugt の発現を Cyp3a および CYP3A4 が低下させる可能性が考えられた。ただ、既発表のデータも考慮すると、P450 と UGT それぞれの分子種および発現している細胞の状況によって P450-UGT 間の相互作用は内容や機構が異なる可能性が大きく、今回のモルヒネを対象とした解析のみでは全容の解明には至っていない。

本研究により、CYP3A4 基質のヒトにおける CL_h および F を既存の方法を超える高い精度で予測するには、CYP3A4-Tg マウスを活用し、in vivo 実験データから算出された $CL_{int,h}$ を用いることが有用であることが示された。その際、CYP3A4-Tg マウスの肝マイクロゾームを用いた CYP3A4 寄与率を補正項として用いることで、予測精度が向上することも示された。これらの成績は、研究開始当初の仮説を支持するものであり、本研究の成果は医薬品開発の創薬段階における成功確率の高い化合物の選択や精度の高い臨床試験プロトコールの策定への応用が期待される。また、本研究では、発現調節を介した CYP3A4 による Ugt の活性抑制が推察されたが、相互作用は分子種や発現条件により変化することも推察され、継続的な検討により個体差要因を明確にしていく重要性が明らかにされた。

本研究の成果は学術的新規性が認定できると共に、実用面での大きな寄与が期待され、この成果を上げた申請者は博士（薬学）の学位を授与するに相応しいと判定される。