29A-W3

心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)の体内動態と 医薬品開発

サントリー医薬センター

林 友二郎、○大沼 規男、金井 靖

Some Pharmacokinetical Aspects on the Drug Development of α -Human Atrial Natriuretic Peptide (α -hANP)

Yujiro HAYASHI, *Norio OHNUMA, Yasushi KANAI

Suntory Bio-Pharma Tech Center

2716-1, Kurakake, Akaiwa, Chiyoda-cho, Ohra-gun, Gunma 370-05

「はじめに」心房性ナトリウム利尿ペプチドは体液の増量や血圧の上昇による心房圧の増加に伴って心房より分泌されるアミノ酸28個よりなるペプチドホルモンであり、主に利尿作用と血管拡張作用により体液量の調節にあずかっている。本ホルモンの発見いらい約10年間、その分泌調節・作用機構・病態生理等に関する膨大な研究が積み重ねられると同時に、体液の増量を伴う諸疾患の治療への臨床応用の可能性が追及されて来た。我々は本ホルモンの作用動態と薬物動態に鑑み静脈内投与による急性心不全の治療薬としての開発を進めて来た。

本ペプチドは腎臓や血管床などの標的組織に存在する受容体への結合により細胞内 cGMP の増加を介して作用を発現するが、一方で本ペプチドのもう一つの受容体 (C-receptor) や細胞膜上に存在する中性エンドペプチダーゼにより速やかにクリアランスされる。こういった性質から本ペプチドは持続静脈内投与による医薬として開発が進められたが、体内動態の評価にあたっては本薬のペプチドホルモンとしての特性を十分に考慮することが必要であった。すなわち、1) 適切な濃度測定法の開発、2) 内因性ホルモン濃度の評価、3) 受容体への結合特性、4) 受容体分布を反映した投与薬物の分布挙動、5) 血漿中濃度の消長に及ぼす受容体結合の影響、6) C-受容体を介した代謝、7) 体内動態に基づいた作用動態の定量的評価、そして8) 動物で得られた成績に基づく臨床用量・用法の推定(ヒトへの外挿)などである。特に、1)、2)に関しては試料中標識ペプチドの安定性、抽出・分画法、RIA法の採用の可否が検討された。また、3)～8)に関しては、受容体への結合を考えた非線形動力学に基づいた解釈が必要であった。本シンポジウムでは、これらの内の主な点に絞って紹介する。

「試料中標識ペプチドの安定性、抽出・分画法の検討、RIA法の採用の可否」 試験に用いた[125I]- α -hANPは生体試料中では不安定で、蛋白分解酵素阻害剤存在下に凍結保存しても容易に分解し、これを防ぐには試料採取後ただちに煮沸して分解酵素を失活させることが必要であった。また、TCA沈殿法では未変化体と低分子代謝物を良好に分離できず、C18カラムを用いた吸着/溶出による分画法が採用された。さらに肺や腎臓では内因性のANP濃度が高く、投与薬物の臓器内濃度の測定にはRIA法を採用できなかった。

「受容体分布ならびに結合特性」 過剰量の α -hANP存在/非存在下に実施した[125I]- α -hANPのオートラジオグラフィー(ARG)により受容体の組織局在が観察された。結合特性(Kd, Bmax)については組織のホモゲネートあるいは組織切片を用いたin vitroでの結合阻害試験より推定されるのが一般的であるが、反応条件は生体内とは異なっており、推定された結合定数等をin vivoでの薬物動態の解釈に採用するには限界があった(例えば α -hANPのKd値は温度やATP濃度により大きく変動する)。そこで、我々は、種々

の用量をラットに投与して作成したARG上の黒化度を組織毎に定量し、Scatchard法で解析することにより *in vivo* での K_d と B_{max} を算出した（腎系球体： $K_d=0.6nM$, 肺： $K_d=0.2nM$ ）。

「血漿中濃度推移の非線形性」 α -hANP を $0.1\sim 2.0\mu g/kg/min$ の速度でラットに投与した時、定常状態の分布容積 (V_{ss})、全身クリアランス (CL_{tot}) はいずれも用量に従って顕著に減少した。投与速度-定常状態の血漿中濃度 (C_{ss})- V_{ss} 関係より特異的結合の B_{max} , K_d はそれぞれ $678ng/kg$, $0.35nM$ と算出され、受容体への分布（飽和過程）が血漿中濃度推移に大きく反映していることが示された（後述するように同様の成績が臨床第一相の試験成績からも得られている）。これらの成績から算出した受容体被占有率と投与量との関係が利尿・降圧作用-用量関係と良く一致したことから、上記の成績はANP受容体への α -hANP の結合を反映したものと結論された。

「C-受容体を介した代謝と中性エンドペプチダーゼによる代謝」 ANP はC-受容体を介して血液の中から除去される一方、全身に広く分布した中性エンドペプチダーゼにより代謝（分解）されることが多くの研究者により指摘されたが、*in vivo* でのそれらの寄与の程度については明らかでなかった。そこで、ラットにC-受容体に選択的に結合するANPアナログ ($Acm\text{-}\alpha$ -hANP) を過剰量投与した条件下に生理量 ($0.2\mu g/kg$: 受容体被占有率 $< 10\%$) およびその500倍量 ($100\mu g/kg$: 受容体被占有率 $> 90\%$) を投与して、血漿や主要臓器中の代謝物を分析したところ、過剰の $Acm\text{-}\alpha$ -hANP による代謝阻害は低用量でのみ観察され、高用量では全く観察されなかった。この成績から、生理量の α -hANP は主にC-受容体を介した代謝を受けること、中性エンドペプチダーゼによる代謝は多量に投与された時に主に寄与することが確認された。

「動物で得られた成績のヒトへの外挿」 臨床第一相試験ではヒトの CL_{tot} はラットの $1/2.5\sim 1/4$ であったが V_{ss} に差は観察されず、分布容積の投与量による変化（減少）がラットの場合と同様に明瞭に観察された。特筆すべきは、推定された特異的結合の容量および結合解離定数がヒトとラットとで殆ど同じだったことである（ヒト： $B_{max}=942ng/kg$, $K_d=1.2ng/ml$ ($0.41nM$), ラット： $B_{max}=678ng/kg$, $K_d=1.1ng/ml$ ($0.35nM$))。この成績は、血漿中濃度を基礎に比較するとき、ヒトでもラットと同様の用量-作用関係が観察されることを予想させるものである。

「ANP分泌が亢進している急性心不全患者に更に α -hANP を投与することの意義」 我々の成績によれば、 α -hANP による治療対象である急性心不全患者の血漿中ANP濃度は $283\pm 73.9pg/ml$ で健康人 ($20.8\pm 1.87pg/ml$) の約13倍に増加しているが、それでもヒトで推定された受容体の K_d 値 ($1.2ng/ml$) の $1/4$ 程度の濃度にすぎない。すなわち、ANPの分泌が亢進し、血漿濃度が増加していても結合すべき受容体にはなお十分な余地があることがわかる。

ちなみに臨床成績では $0.1\sim 0.2\mu g/kg/min$ の投与で、投与20分以内に $1.6\sim 4ng/ml$ の濃度が達成された。換言すれば、 α -hANP の作用はANP受容体を介して発現し、その作用強度は当該受容体の被占有率に比例すると考えられること、また、受容体の K_d 値以下の血漿中濃度範囲ではほぼ濃度に比例して α -hANP の作用が発現すると考えられることから、急性心不全患者に対する臨床期待用量として $0.1\mu g/kg/min$ を推定することができるのである。

「まとめ」 以上、 α -hANP を医薬品として開発するに際して考慮した体内動態試験の一端を紹介した。一応、ペプチド性ホルモンとしての特性に着目して論を進めたが、ここで議論した点は必ずしも本ペプチドにのみ特徴的というわけではない。これらの点はいずれも薬理活性物質を医薬品として開発する場合に、基本的に、考慮されるべきものである。

一般に薬物の用量-作用関係は受容体との量論的な関係を反映して「log-linear」の関係を示すことが多いにも拘わらず、これらが体内動態に反映して来る場合はそれほど多くないことが、ここで紹介したようなアプローチが一般的なものとなっていない理由の一つであろう。しかしながら、近年、遺伝子工学により可能となった極めて高い選択性と生理活性を示す内因性物質の薬物動態の研究に際しては、線形動力学を単純に適用するだけでは不十分であり、対象毎に作用動態をも考慮した試験法ならびに解析法の工夫が必要になるものと思われる。