〈抄録〉第30回 日本臨床薬理学会年会 2009年12月3～5日 横浜
シンポジウム12：非臨床データのヒトへの外挿

2. In vitro 試験に基づいた薬物トランスポーターによる 肝腎振り分けの予測

楠 原 洋 之*

薬物動態には、医薬品の標的蛋白への曝露を制御しているため、医薬品の薬剤応答性に深く関与している。そのため、医薬品開発の初期段階において、開発候補化合物のヒト体内動態を予測することは、効率的な医薬品開発の推進に大きく貢献する。肝臓と腎臓は生体内の主要な医薬品排泄臓器であり、各臓器における医薬品排泄能力は血液中に曝露を決定する重要な要因となる。さらに、経口吸収後、薬物は肝臓を通過した後、循環血中へと吸収されるため、肝臓における医薬品排泄能力は、経口投与された薬物の吸収率も決定する重要な要因である。

近年、薬物動態の制御因子として薬物トランスポーターの重要性が明らかにされてきた^{1,2)}。薬物トランスポーターは細胞膜に発現する膜蛋白であり、多様な化合物を基質とし、肝臓や腎臓などの医薬品排泄臓器への分布や排泄に関与しており、体内動態特性を決定する要因のほか、薬物間相互作用や遺伝子多型による個体間変動の要因ともなる。スタチンやサルタンなど分子内にカルボン酸など生理的なpHで負電荷を帯びる官能基を有する薬物は、細胞膜透過能が小さいため、薬物トランスポーターによる細胞内への取込みが効率的な排泄機構の形成には不可欠である。こうしたトランスポーターとして、肝細胞の基底膜側にはOATP1B1とOATP1B3が、腎近位尿細管の基底膜側にはOAT1とOAT3が同定され、これらトランスポーターの輸送能力が血液中における医薬品の滞留性、また排泄経路の肝腎振り分けを決定する要因となる^{1,2)}。講演では、これらトランスポーターが体内動態に深く関わる薬物について、*in vitro* 試験に基づいた体内動態予測法を紹介した。

1. Pravastatin の体内動態モデル

Pravastatin は高脂血症治療薬として用いられ、おもに肝臓での胆汁排泄が主排泄経路となり、肝細胞内への取込みにはOATP1B1が、胆汁中への排泄はMRP2により行われる。Pravastatin の薬効標的であるコレステロール合成の律速段階に関わるHMG-CoA還元酵素は肝細胞内に存在していることから、肝臓中濃度は薬効に深く関与している。一方、横紋筋融解症は血中曝露が指標となる。Pravastatin の体内動態特性に基づいて、薬効や有害作用発現に深く関わる動態パラメータを明らかにするため、薬物速度論モデルを構築した³⁾。ラット肝臓から遊離肝細胞や胆管側膜ベシクルを調製し、*in vitro* 試験により、肝取込み能力、また胆管側排出能力を測定した。収率や細胞数の補正を行い、*in vivo* パラメータへと外挿したところ、実測値との間には乖離があり、取込み過程に対して2.5、胆汁排泄過程に対して21の補外係数 (scaling factor, SF) が必要であった。ヒト体内動態パラメータを推定するため、ヒト凍結肝細胞、胆管側膜ベシクルを用いて、ラットで測定したSFを用いて、*in vivo* へと外挿したところ、臨床で報告されている pravastatin の経口投与ならびに静脈内投与後の血漿中濃度の時間推移を再現することができた³⁾。

2. 肝消失の律速段階

Pravastatin の体内動態モデルを用いて、肝臓内への取込み、胆汁中へのパラメータを変動させ、血液中濃度、また薬効標的である肝臓中濃度に与える影響を評価した³⁾。その結果、取込み能力 (OATP1B1 の輸送能力) の変動は血漿中濃度には大きく影響を与えるものの、肝臓中濃度に与える影響は非常に小さく、反対に胆管側膜での排出能力 (MRP2 の輸送能力) は肝臓中濃度に大きく影響を与えるものの、血液中濃度の時間推移にほとんど影響を与えない。細胞内に取り込ま

* 東京大学大学院薬学系研究科
〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

れた後、大部分が胆汁中へと排泄される場合にみられる現象で、pravastatin の肝消失の律速段階が肝取込みであるために生じる。OATP1B1 の遺伝子多型や薬物間相互作用により、血液中濃度が大きく影響をうけることが知られているが、この変動は薬効にはほとんど影響を与えないことになる。これは肝取込みの低下に反比例して、血液中濃度が増加するため、その積である肝取込み速度は影響を受けないためである。コレステロール低下作用に、OATP1B1 の遺伝子多型が与える影響は非常に小さい。反対に、MRP2 の機能変動は薬効に強く影響を与えることが予想されるが、この点に関する情報は得られていない。

肝消失速度が肝取込み速度を比較することで律速段階の判定ができ、atorvastatin, pitavastatin, fluvastatin, rosuvastatin についても、pravastatin 同様肝取込みが律速となることが示唆されている⁴⁾。Atorvastatin と fluvastatin の主排泄メカニズムは肝代謝であり、それぞれ CYP3A4 と CYP2C8/2C9 により行われる。従来、CYP による代謝はヒト肝ミクロソームを用いることで定量的な評価が可能であると言われてきたが、atorvastatin と fluvastatin の血液中濃度を決定する要因は肝取込みであるため、肝ミクロソームから外挿した値ではこれら薬物の肝固有クリアランスを説明できない (atorvastatin については 3~5 倍程度の、fluvastatin については 24~33 倍の乖離がみられた)⁴⁾。取込み律速である場合には、代謝や排泄の変動を血液中濃度の時間推移から検出することは難しい。スタチンのように組織中濃度が薬効の重要な指標となる場合、一見薬効レベルでの相互作用と考えられるものの中にも、薬物動態レベルでの相互作用 (代謝や胆汁排泄の阻害) である可能性も否定できない。

3. 腎排泄能力の定量的予測

腎臓では、糸球体におけるろ過 (糸球体ろ過) と近位尿細管における分泌により医薬品の排泄が行われる。糸球体ろ過は分子サイズ選択的な排泄機構であり、アルブミン等血清蛋白への結合と糸球体ろ過速度 (GFR) により決定される。これに対して、尿細管分泌ではトランスポーターによる排泄能力が尿細管分泌の受けやすさを決定する。アニオン性薬物の腎取込み

能力を評価する手法として、摘出腎から調製した腎スライスをを用いた解析が行われてきた。腎スライスで評価した取込みに対して、便宜上 15 と SF を置いたところ、スタチン等 12 種のアニオン性化合物の大部分は *in vivo* で観察された腎クリアランスの 3 倍以内にあり、良好な予測性を示した⁵⁾。SF が大きい要因としては、切片であるためバッファーから薬液が浸透するわずかな細胞だけが取込みに働くため、輸送能力を過小評価しているためと考えられる。Valsartan と olmesartan については、予測値と実測値との乖離が大きかった。この理由としては、両化合物が腎臓で再吸収をうけるためと考えているが、さらに解析が必要である。

4. 結 論

今回検討したアニオン性薬物の肝消失、腎尿細管分泌では、血液中から細胞内への取込み過程が律速段階となり、血液中濃度を決定していることが示唆された。取込み過程の輸送能力の変動は血液中濃度に強く影響するものの、反対に組織中濃度にはほとんど影響を与えない。こうした特性のため、凍結肝細胞や腎組織切片での *in vitro* 輸送実験ならびに SF を用いることで、*in vivo* 体内動態を定量的に予測することができる。

文 献

- 1) Kusuhara H, Sugiyama Y. Pharmacokinetic modeling of the hepatobiliary transport mediated by cooperation of uptake and efflux transporters. *Drug Metab Rev* (in press).
- 2) Kusuhara H, Sugiyama Y. In vitro-in vivo extrapolation of transporter-mediated clearance in the liver and kidney. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2009; **24**: 37-52.
- 3) Watanabe T, Kusuhara H, Maeda K, Shitara Y, Sugiyama Y. Physiologically based pharmacokinetic modeling to predict transporter-mediated clearance and distribution of pravastatin in humans. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009; **328**: 652-62.
- 4) Watanabe T, Kusuhara H, Maeda K, Kanamaru H, Saito Y, Hu Z, et al. Investigation of the rate-determining process in the hepatic elimination of HMG-CoA reductase inhibitors in rats and humans. *Drug Metab Dispos*. 2010; **38**: 215-22.
- 5) Watanabe T, Maeda K, Kondo T, Nakayama H, Horita S, Kusuhara H, et al. Prediction of the hepatic and renal clearance of transporter substrates in rats using in vitro uptake experiments. *Drug Metab Dispos*. 2009; **37**: 1471-9.