第16回 日本臨床薬理学会 1995年11月1日 東京・明治記念館

シンポジウム1：薬理遺伝学の発展と臨床薬理学

—分子レベルから臨床医学、医薬品開発へ—

2. 酸化的薬物代謝評価の *in vitro* から
in vivo への外挿

安 盛 俊 雄*

ヒトの薬物代謝研究においては *in vivo* から得られるデータは限られており、薬物の有効性、安全性を評価する上でも *in vitro* における代謝実験は非常に重要であり、*in vivo* からは得られない実験データを補ってきた。薬理遺伝学的研究においてもヒト肝ミクロソームなどのサンプルが代謝が正常なEM (extensive metabolizer) あるいは代謝欠損症と考えられるPM (poor metabolizer) 由来であるかが判明していれば、そのサンプルを用いて代謝実験をすることにより多くの知見が得られる。最近ではgenotypingの研究がかなり進んできており、白人については使用するサンプルがEMあるいはPM由来かを比較的容易に判定できるようになってきた。またメフェニトインの代謝欠損については、それがS体のみに表われることから、肝ミクロソームを用いてR体とS体の水酸化活性を別個に測定し、そのR/S比によりEM、PMを判定することもできる。¹⁾ しかしこれらの方法を用いてもすべての人を網羅しているとは言えず、理想的にはEMかPMかが判明している人のサンプルが入手し、それを用いるのが一番良い。このようにしてEM、PMを判定されたサンプルを用いて代謝活性を測定して両者の間に大きな差異がある薬物を見出すことができる。また異種細胞

に発現させたP450による代謝活性を測定することによりデブリスキンやメフェニトインの代謝欠損に関係している薬物を検索することもできる。しかし複数のP450種が代謝に関与している場合、必ずしも代謝活性が高いものが代謝に優先的に関与しているとは限らず、主な代謝酵素の同定にはKmやVmaxのデータも必要になる。例えば演者らが既に報告しているジアゼパムの代謝では基質濃度が高い時と低い時では代謝経路や代謝に関与するP450分子種が異なっている(図)。基質濃度が高い時ではジアゼパムの主代謝経路は3-水酸化であり、CYP3A分子種が主に関与している。²⁾ しかし基質濃度が低い時は主代謝経路はN-脱メチル化であり、CYP2C分子種が主に関与している。ではその結果、基質濃度が高い時と低い時では実験結果が異なり、基質濃度が高い時は *in vivo* のデータを反映しないことになる。^{3,4)} より生体内の薬物濃度に近い範囲で実験をすればよいことになるが、実際に代謝が行われている肝臓中の濃度は不明であり、基質濃度をどの程度に設定するかが問題になる。⁵⁾ これを解決する手段の一つとしてはラットなどの実験動物に薬物を経口投与して肝臓中、末梢血液中のフリーの薬物濃度を経時的に測定することが有効である。最後に肝臓のサンプルにも注意を要する必要がある。肝ミクロソーム中のP450含量には大きな個人差があり、⁶⁾ 遺伝的多型が存在するCYP2D6、CYP2C19の場合も同様である。また複数のP450種が同じ代謝経路に関

* 慶應義塾大学医学部薬理学

〒160 東京都新宿区信濃町 35

Fig. 基質濃度の高低によるジアゼパムの代謝経路と代謝に関与するP450分子種の変化

与している場合などではある特定のP450分子種が特異的に発現しているかなどの注意が必要であるし、さらにサンプルの由来が特定のケースにかたよることがないようにすべきであろう。もちろんできる限り新鮮なサンプルを使用すべきである。

以上のようにin vitroの代謝実験の結果をいかにしてin vivoのデータに反映させるかについては解決しなければならない問題が多く存在する。しかし多くの注意すべき点はあるもののin vitroの代謝データをin vivoへ反映させることは十分可能であり、またin vitroの代謝実験は代謝の評価という点で不可欠の手段であり、非常に有効でかつ大いに活用できるものと考えられる。

文献

- 1) Yasumori, T., Murayama, N., Yamazoe, Y. et al. : Polymorphism in hydroxylation of mephenytoin and hexobarbital stereoisomers in relation to hepatic P-450 human-2. Clin. Pharmacol. Ther., **47**: 313-322 (1990).
- 2) Yasumori, T., Nagata, K., Yang, S. K. et al. :

Cytochrome P450 mediated metabolism of diazepam in human and rat: involvement of human CYP2C in N-demethylation in the substrate concentration-dependent manner. Pharmacogenetics, **3**: 291-301 (1993).

- 3) Bertilsson, L., Henthorn, T. K., Sanz, E. et al. : Importance of genetic factors in the regulation of diazepam metabolism: Relationship to S-mephenytoin, but not debrisoquin, hydroxylation phenotype. Clin. Pharmacol. Ther., **45**: 348-355 (1989).
- 4) Sohn, D. R., Kusaka, M., Ishizaki, T. et al. : Incidence of S-mephenytoin hydroxylation deficiency in a Korean population and the interphenotypic differences in diazepam pharmacokinetics. Clin. Pharmacol. Ther., **52**: 160-169 (1992).
- 5) Yasumori, T., Li, Q., Yamazoe, Y. et al. : Lack of low Km diazepam N-demethylase in livers of poor metabolizers for S-mephenytoin 4'-hydroxylation. Pharmacogenetics, **4**: 323-331 (1994).
- 6) Shimada, T., Yamazaki, H., Mimura, M. et al. : Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals : Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. J. Pharmacol. Exp. Ther., **270**: 414-423 (1994).