

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：32723

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07209

研究課題名（和文）肝OATP内在性基質の体内動態メカニズム解析による生理学的薬物速度論モデルの確立

研究課題名（英文）Establishment of a physiologically-based pharmacokinetic model through the analyses of pharmacokinetic mechanisms of endogenous hepatic OATP substrates

研究代表者

吉門 崇 (Yoshikado, Takashi)

横浜薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70535096

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：肝臓に発現するOATP1B1/1B3はアニオン性薬物の肝取り込みを担っており、多くの薬物間相互作用（DDI）に關与する。OATP1B内在性基質はDDIを予測するためのバイオマーカーになり得ることから、その一つであるコプロポルフィリン（CPs）に着目して生理学的薬物速度論（PBPK）モデルを構築した。で、分子種（CP-IおよびCP-III）間の体内動態の違い、排出トランスポーター（MRP2等）の寄与等を考慮し、精緻なPBPKモデルを用いてOATP1B阻害薬による影響を定量的に解析し、DDIを予測する方法論を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

OATP1B内在性基質としてのCPsは、感受性、特異性、最小限の日内変動の観点で、最も有用なOATP1B内在性基質の一つとして考えられてきたが、多くは相関関係による議論がなされてきた。本研究でCPsの体内動態メカニズムに基づいたPBPKモデルを構築することで、精度の高い予測が可能になったことに学術的意義が存在する。また、信頼性の高いPBPKモデルを国内外で初めて確立し、革新的なDDI予測システムの構築に繋がったことにより、社会的にも意義のある研究成果が得られたと考えられる。

研究成果の概要（英文）：OATP1B1/1B3, expressed in the liver, are responsible for the hepatic uptake of anionic drugs and are involved in numerous drug-drug interactions (DDIs). Considering that endogenous substrates of OATP1B can serve as biomarkers for predicting DDIs, we focused on one such substrate, coproporphyrin (CPs), and developed a physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) model. This model takes into account differences in the pharmacokinetics between CP molecular species (CP-I and CP-III) and the contributions of efflux transporters (such as MRP2). Using this refined PBPK model, we established a methodology to quantitatively analyze the impact of OATP1B inhibitors and predict DDIs.

研究分野：分子薬物動態学、臨床薬物動態学、臨床薬理学

キーワード：薬物相互作用 トランスポーター 内因性化合物 生理学的薬物速度論モデル バイオマーカー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

HMG-CoA 還元酵素阻害薬の一つであるセリバスタチンは、重篤な副作用（横紋筋融解症）により市場からの撤退を余儀なくされたが、ゲムフィプロジルの併用による肝取り込み過程（organic anion transporting polypeptide 1B: OATP1B）と代謝過程（cytochrome P450 2C8: CYP2C8）での相互作用がリスク増加の要因であることが示唆された。その後、OATP1B が関与する DDI の研究が積み重ねられ、創薬において考慮されるべき重要な課題となっていた。実際に、医薬品候補の新規化合物（new chemical entity: NCE）の非臨床過程では、*in vitro* 試験で得られる阻害定数とヒトで想定される最大濃度との比較により false-negative を出さない予測が行われるのに対し、臨床開発過程（Phase 1 等）では、生理学的薬物速度論（PBPK）モデル等を用いたより正確な予測が有用とされ、レギュレーション側も推奨してきた。

臨床的な意義が明確である OATP1B 等のトランスポーターを候補化合物が阻害する可能性がある場合、臨床 DDI 試験でプローブ基質薬を用いることが実践されてきた。しかしながら、臨床試験を新たに実施する必要があるため、時間及びコストの面で足枷となり得る。一方、トランスポーターの内在性基質が明らかにされてきており、OATP1B に対してはヘム合成の中間代謝物であるコプロポルフィリン（CPs）、ビリルビンとそのグルクロン酸抱合体、抱合型胆汁酸等が知られていた。多くの DDI 試験において OATP1B プローブ基質薬と内在性基質の血中濃度上昇の相関も報告されており、DDI バイオマーカーとしての有用性が示唆された。

医薬品の臨床開発過程において、OATP1B 内在性基質の血中濃度推移に与える NCE の影響（阻害および誘導）をもとにして、DDI のリスクを高精度で予測する方法論が有用と考えた。内在性基質を DDI 予測のためのバイオマーカーとして開発するために、体内動態メカニズムに即した精緻な PBPK モデルを構築することで、相関論に留まることなく初めて定量的な予測が可能となると考え、本研究を開始した。

### 2. 研究の目的

本研究の核心をなし、CPs を対象として精緻な PBPK モデル構築のために明らかにする必要があると考えて設定した項目を以下に列挙する。

- ・我々は PBPK モデルを用いて、CP-I の血中濃度変動をもとに DDI を定量的に予測する方法論の開発に取り組んできた。DDI バイオマーカーの PBPK モデル構築にあたって全ての未知パラメータが必ずしも一意に定まらない場合でも、DDI を予測する上で本質的なパラメータを見出すことはできるか？ ロバストな PBPK モデルを構築することは可能だろうか？

- ・MRP2 の機能が低下する Dubin-Johnson 症候群では、尿中の CPs 分子種（CP-I と CP-III）の比率が変化し、相対的に CP-I が増える。CP-III に比べて CP-I の胆汁排泄は MRP2 に依存しており、この経路が低下することで（血中への逆排出を経て）尿中へと排泄されやすくなったのであろうか？ 血中への逆排出に能動的な輸送機構（MRP3 や MRP4）はどのくらい関与するか？ CP-I と CP-III の体内動態の違いを明確にすることで、NCE による OATP1B および MRP2 への影響を分離評価することができる。

- ・一般的にはヒトに近いと言われるカニクイザルにおいて、CPs の体内動態を示した論文が複数報告されている。これらのデータを統合的に解析することで、カニクイザルにおける CPs の PBPK モデルを構築することは可能か？ 前臨床から臨床への橋渡しに用いることを提案したいが、種差の特徴および程度を明らかにすることが必要となる。

これらの項目に対してアプローチしながら、CP-I と CP-III の精緻な PBPK モデルを構築し、OATP1B 阻害・誘導薬による影響を解析することで DDI を定量的に予測する方法論を確立することを目的とした。多数のデータ（血中濃度推移）を矛盾なく説明可能な PBPK モデルのパラメータセットを得る必要があるが、新規パラメータ推定法であるクラスターガウスニュートン法（CGNM）を用いることで、初期値に依存することなく、複数の候補解を同時に得ることができる。加えて、体内動態のメカニズム解析を目的とした *in vivo* 実験や、*in vivo* では推定が困難なパラメータを補う目的で *in vitro* 実験を実施し、明らかとなった種々ファクターを PBPK-CGNM 解析において同時に考慮することで（middle-out 解析）、候補解の中から最も実態に近いと考えられるパラメータセットを絞り込むことを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究で実施した方法を以下に列挙する。

- ・CGNM の活用による CP-I のヒト PBPK モデルの構築：自主臨床試験において、OATP1B 阻害薬のリファンピシン（RIF）およびシクロスポリン（CsA）を経口投与した際の CP-I 血中濃度推移の変化を説明可能な PBPK モデルを構築した。血中濃度実測値に対する CGNM を用いたフィッティングにより、PBPK モデルにおける OATP1B の *in vivo* 阻害定数（ $K_{i,u,OATP}$ ）を含む多数のパラメータを同時に推定した。

- ・CPs の体内動態に影響を与える排出トランスポーターのラット試験に基づいた解析：内在性 CP-I/III ベースラインの数十倍かつ OATP1B が飽和しない範囲で血中濃度が定常状態となるよう

SD ラットおよび EHBR に定速静注し、体内動態の詳細な解析に必要なデータ（血漿中濃度・肝臓内濃度・胆汁排泄量）を得た。ヒト PBPK モデルを基に構築したラット PBPK モデルと CGNM を用いて、データに対するフィッティングを実施することにより、ラット個体間で共通するパラメータと個体毎に異なるパラメータを推定した。また、排出トランスポーターによる寄与率の検討を行うために、定量的プロテオミクス（ターゲットプロテオミクス）の導入を進めた。

・ヒトと類似した CPs 体内動態を示すカニクイザルの報告を基にした種差の解析：カニクイザルにおける複数の CPs に関するデータ、重水素標識体を経口および静注投与時の血漿中濃度、RIF および CsA 投与前後の血漿中濃度、更に肝臓内濃度等を収集した。カニクイザルの生理解剖学的パラメータや CPs の尿中および胆汁中排泄データから算出したクリアランス等を考慮した PBPK モデルを構築し、CGNM を用いた実測値に対するフィッティングにより未知パラメータを推定した。RIF もしくは CsA を用いた臨床 DDI 試験の PBPK-CGNM 解析で得られたヒトのパラメータと比較した。

#### 4. 研究成果

CGNM を用いた解析により、複数の臨床データ（CP-I 血中濃度推移）を矛盾なく説明可能なパラメータセットを得ることができた。推定したパラメータのうち、 $K_{i,u,OATP}$  に加えて、CP-I の見かけの肝固有クリアランス ( $CL_{int,all}$ ) および生合成速度 ( $v_{syn}$ ) のみが狭い範囲で得られてきた。 $K_{i,u,OATP}$  の median 値は 53 nM (25-75 percentile は 46-60 nM) であり、既報 2) で得られた値よりさらに低くなる傾向があった。CP-I と同様に、RIF 3-dose 臨床試験で OATP1B のプローブ基質薬として投与されたピタバスタチン (PTV) およびロスバスタチン (RSV) についても PBPK-CGNM 解析を実施し、それぞれの血中濃度実測値を良好に説明可能なパラメータセットが得られた。 $K_{i,u,OATP}$  は、PTV に対する median 値が 262 nM (25-75 percentile は 252-274 nM)、RSV に対する median 値が 145 nM (25-75 percentile は 144-146 nM) であったことから、本解析からも基質依存性を考慮することの意義が示唆された。本研究から、DDI バイオマーカーの PBPK モデル構築にあたって全ての未知パラメータが必ずしも一意に定まらない場合でも、DDI を予測する上で本質的なパラメータを見出し、ロバスタな PBPK モデルの構築を可能とする方法論を提案した。OATP1B 内在性基質である CP-I を例とした阻害定数の基質依存性を考慮して予測することの重要性と併せて、今後必要性の高い DDI 試験の計画や候補化合物の選択等に広く活用可能と考えられる。

続いて、SD ラットおよび EHBR の個別データを同時に解析し、CP-I/III 体内動態に関するデータを説明可能なパラメータの組み合わせが多数得られた。SD ラットと EHBR で比較すると、CP-I/III の  $Oatp1b$  を介した肝取り込みクリアランスに違いはなかった。次に、胆汁排泄クリアランスは  $Mrp2$  欠損に伴う低下が再現されていた。最後に、血管側への排出クリアランスは CP-I/III とともに EHBR で高い値が得られる傾向が見られたが、CP-I の方がより顕著であった。ラットにおいて  $Mrp2$  欠損の代償的に  $Mrp3/4$  の機能が亢進することで、CP-I/III の排泄経路が胆汁中から血液 尿中へと変化する可能性が示唆された。CP-I/III 輸送への  $Mrp3/4$  寄与率と、 $Mrp3/4$  機能亢進の程度の違いについては、肝輸送トランスポーターのターゲットプロテオミクス解析を進めている。

最後に、カニクイザルにおける PBPK-CGNM 解析により、CPs のデータを説明可能なパラメータセットを多数得た。RIF および CsA 投与試験のデータを個別解析した場合には、推定されたパラメータで identifiable と判定されるものは少なかった。次に、RIF および CsA 投与試験間で共通するパラメータと独立したパラメータを設定して同時解析した場合には、ヒトにおける解析と同様に、 $v_{syn}$ 、 $CL_{int,all}$  および  $K_{i,u,OATP}$  が identifiable となった。カニクイザルで推定された CP-I の  $v_{syn}$  と  $CL_{int,all}$  はヒトに比べて数倍高かったことから、生合成に関わる酵素群と消失に関わるトランスポーター群の種差を考慮する必要があると考えられた。実際に肝細胞を用いた実験でヒトよりも大きい肝取り込みクリアランスが観測された。以上の成果をもとに、ヒトにおいて CPs を基にした DDI 予測の観点で注意を要するメカニズム・種差の存在等を提唱すべく、論文化を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshikado T.	4. 巻 143
2. 論文標題 Development of Prediction Methods for Drug-Drug Interactions Based on the Construction of Physiologically Based Pharmacokinetic Models for Hepatic OATP Substrate Drugs and Endogenous Substrates.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Yakugaku Zasshi	6. 最初と最後の頁 11-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/yakushi.22-00145	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshikado T, Aoki Y, Mochizuki T, Rodrigues AD, Chiba K, Kusuhara H, Sugiyama Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Cluster Gauss-Newton method analyses of PBPK model parameter combinations of coproporphyrin-I based on OATP1B-mediated rifampicin interaction studies.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 1341-1357
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/psp4.12849	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Mochizuki T, Aoki Y, Yoshikado T, Yoshida K, Lai Y, Hirabayashi H, Yamaura Y, Rockich K, Taskar K, Takashima T, Chu X, Zamek-Gliszczynski MJ, Mao J, Maeda K, Furihata K, Sugiyama Y, Kusuhara H.	4. 巻 15
2. 論文標題 Physiologically-based pharmacokinetic model-based translation of OATP1B-mediated drug-drug interactions from coproporphyrin I to probe drugs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Transl Sci.	6. 最初と最後の頁 1519-1531
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cts.13272	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計21件（うち招待講演 12件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Takashi Yoshikado
2. 発表標題 Comprehensive PBPK analyses of coproporphyrin I, an endogenous substrate of hepatic OATP1B, by using a cluster Gauss-Newton method
3. 学会等名 23rd ICCP450/38th JSSX International Joint Meeting, September, Shizuoka (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉門 崇
2. 発表標題 内因性化合物の生理学的速度論モデル解析に基づいた薬物相互作用予測法の開発
3. 学会等名 日本薬剤学会第38年会, 5月, 名古屋 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉門 崇
2. 発表標題 PBPKモデル解析におけるクラスターガウスニュートン法の活用は複雑な体内動態を示す薬物・内因性化合物の研究に役立つ
3. 学会等名 薬物動態談話会第46年会, 11月, 浜松 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 友田 有加菜, 吉門 崇, 永田 莞奈, 岡田 賢二, 岡 美佳子, 千葉 康司
2. 発表標題 Mrp2欠損ラットを用いたOATP1Bs内在性基質のPBPKモデル解析
3. 学会等名 日本薬学会第144年会, 3月, 横浜
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 葛西 航貴, 吉門 崇, 友田 有加菜, 岡田 賢二, 岡 美佳子, 千葉 康司
2. 発表標題 OATP1B内在性基質コプロポルフィリンI体内動態の生理学的速度論モデル解析: ヒトとカニクザルの比較
3. 学会等名 日本薬学会第144年会, 3月, 横浜
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 吉門崇
2. 発表標題 肝トランスポーターを介した薬物相互作用のバイオマーカーを用いた予測  新しい計算科学に基づいた生理学的薬物速度論モデル構築による予測法の提案
3. 学会等名 日本薬剤学会第37年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takashi Yoshikado
2. 発表標題 Proposals for predicting drug efficacy/safety based on the estimation of intracellular concentrations; from the perspective of in vitro experiments- and modeling-based pharmacokinetic analyses
3. 学会等名 37th JSSX Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 葛西 航貴, 吉門 崇, 千葉 康司
2. 発表標題 肝OATP1B内在性基質であるコプロポルフィリンIの体内動態解析 PBPKモデルを用いた包括的解析
3. 学会等名 第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉門崇、青木康憲、望月達貴、千葉康司、楠原洋之、杉山雄一
2. 発表標題 OATP1B内在性基質コプロポルフィリンIと阻害薬リファンピシンの相互作用解析 ~生理学的薬物速度論モデルとクラスターガウスニュートン法の活用~
3. 学会等名 日本薬剤学会 第36年会、オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉門崇
2. 発表標題 トランスポーター内在性基質のPBPKモデリングに基づいた薬物相互作用リスクの定量的予測
3. 学会等名 第25回 薬物動態談話会セミナー、オンライン（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉門崇
2. 発表標題 生理学的薬物速度論解析の現在地；新しい計算機科学との融合
3. 学会等名 第65回 日本薬学会関東支部大会、オンライン（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Yoshikado, Yasunori Aoki, Tatsuki Mochizuki, Koji Chiba, Hiroyuki Kusahara, and Yuichi Sugiyama
2. 発表標題 Global parameter estimation for the physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) model of coproporphyrin I, an endogenous substrate for hepatic OATP1B, by Cluster Gauss-Newton method
3. 学会等名 36th JSSX Annual Meeting, online (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉門崇
2. 発表標題 肝OATP内在性基質コプロポルフィリンIをバイオ マーカーとして用いた薬物相互作用の予測： PBPKモデルを用いた定量的アプローチの例
3. 学会等名 第42回 日本臨床薬理学会学術総会、仙台（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉門崇
2. 発表標題 薬物相互作用のメカニズムに基づいた定量的解析：OATP基質薬（プローブ）および内在性基質の活用
3. 学会等名 第30回日本医療薬学会年会，11月，オンライン（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	杉山 雄一  (Sugiyama Yuichi)  (80090471)	城西国際大学・薬学部・特別栄誉教授   (32519)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------