

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：32305

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16053

研究課題名（和文）アンドロゲンのP-糖タンパク質を介した薬物相互作用と中枢性作用の相関解析

研究課題名（英文）Analysis of the relationship between P-glycoprotein-mediated interactions with androgens and their effects on the central nervous system

研究代表者

溝井 健太（Mizoi, Kenta）

高崎健康福祉大学・薬学部・博士研究員

研究者番号：70849546

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究はアンドロゲンに対するP-糖タンパク質（P-gp）を介した薬物-生体内基質間相互作用（DEI）が生体内において起こり得るか否かを明らかにすることを目的とした。細胞を用いた試験より、アンドロゲンと相互作用し得る中枢作用薬などのいくつかの薬物が見出された。さらに、それらの薬物を対象とした動物試験を行い、アンドロゲンの脳内移行性はDEIの影響を受ける事が明らかとなった。本検討より、生体内の血液脳関門においてP-gpを介したDEIが起こり得る事が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

相互作用は医薬品どうしによるものが一般的に知られており、その飲み合わせの注意喚起が行われている。本研究の成果から、医薬品どうしの相互作用だけではなく、生体内基質と医薬品のP-gpを介した相互作用は生体内基質の体内動態に影響を及ぼす可能性が示唆された。そのため、生体内基質との相互作用を考慮した医薬品の新しい注意喚起（添付文書への記載の追加や修正など）が行われると期待される。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to determine whether P-glycoprotein (P-gp)-mediated drug-endogenous substrates interactions (DEIs) with androgens can occur in vivo. Cell-based studies have identified several drugs, including centrally acting drugs, that can interact with androgens. Moreover, animal studies with these drugs revealed that the brain permeation of androgens is affected by DEI. This study indicates that P-gp-mediated DEI can occur at blood-brain barrier in vivo.

研究分野：生物薬剤学

キーワード：薬物-生体内基質間相互作用 P-糖タンパク質 アンドロゲン 中枢作用薬 血液脳関門

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

P-糖タンパク質 (P-gp) は小腸や肝臓あるいは脳毛細血管などに発現している薬物輸送タンパク質のひとつであり、生体や特定の臓器への薬物の侵入を防いでいる。特に脳毛細血管内皮細胞に発現している P-gp は生体異物を脳内側から血液側に押し戻す役割を担っており、血液脳関門 (BBB) の実体として知られている。昨今、医薬品の中枢神経性副作用 (異常行動など) が問題となっているが、興味深いことに P-gp の機能低下を伴う一塩基多型が異常行動と関係している可能性が報告されている。また、ヒトにおいて脳脊髄液中のアンドロゲン濃度が上昇すると、異常行動が惹起される可能性も示唆されている。これらの知見をもとに我々は、アンドロゲン類に対する P-gp の基質認識性を調べたところ、テストステロン (TES) およびアンドロステンジオン (ADO) が P-gp の生体内基質であることを見出した。

現在、P-gp の基質となる多くの医薬品が知られており、その基質となる医薬品どうしあるいは基質と阻害薬となる医薬品との相互作用 (DDI) が知られている。しかしながら P-gp の生体内基質に関する情報は乏しいことから、生体内基質と医薬品における相互作用 (DEI) について、特に生体内基質の脳内移行性に関する知見は皆無であるため、その臨床的な可能性や意義は明らかではない。

## 2. 研究の目的

P-gp の生体内基質であるアンドロゲンの脳内移行に対する P-gp 基質薬物や阻害薬の影響を検討し、P-gp を介した DEI が生体内において起こり得るか否かを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) ヒト P-gp 過剰発現細胞を用いた検討

ヒト P-gp 過剰発現細胞 (LLC-GA5-COL150 細胞) を培養し、TES および ADO の取り込み試験を行った。また、被験薬物として P-gp 基質薬物あるいは中枢作動薬 (CAD) 存在下における TES および ADO の細胞内蓄積量 (C/M ratio) の変化を検討した。

### (2) ラット BBB キットを用いた検討

#### ① In vitro-in vivo 相関

ラット BBB キット (PharmaCo-Cell) を用いて、いくつかの P-gp 基質薬物の排出比 (ER) を算出した。これらの薬物についてラット脳/血漿中濃度比 ( $K_p, \text{brain}$ ) を既報より調査し、in vitro-in vivo 相関を解析した。

#### ② 輸送試験

ヒト P-gp 過剰発現細胞を用いた取り込み試験において P-gp と相互作用した被験薬を対象とし、TES および ADO の BBB 輸送試験を行った。TES および ADO の脳内移行性が BBB によって制限されているかを確認し、また、被験薬物存在下におけるそれらの ER の変化を検討した。

### (3) ラットを用いた検討

ラット BBB キットを用いた輸送試験において TES の ER を低下させた被験薬を対象とし、その被験薬をラット (Wistar) の腹腔内に投与した。24 時間毎に複数回投与後、ラットの全脳および血漿を採取し、TES の  $K_p, \text{brain}$  を算出した。

## 4. 研究成果

### (1) ヒト P-gp 過剰発現細胞を用いた検討

TES はシクロスポリン A (CSA)、ジゴキシン (DGX)、オセルタミビル (OTV) 存在下のとき、ADO はフェキソフェナジン (FEX) 存在下のとき、細胞内蓄積量が有意に増加した (Fig. 1)。また CAD を被験薬とした場合、フルニトラゼパム (FNZ)、リスペリドン (RPD)、トラゾドン (TZD) は TES の細胞内蓄積量を有意に増加させたが、ADO の細胞内蓄積量を増加させる被験薬は見出されなかった (Fig. 2)。一方、TES あるいは ADO の細胞内蓄積量を有意に低下させる被験薬はいくつか見出された。本検討より、P-gp の生体内基質である TES あるいは ADO に対して DEI を起こす薬物あるいは起こさない薬物がある事が明らかとなった。

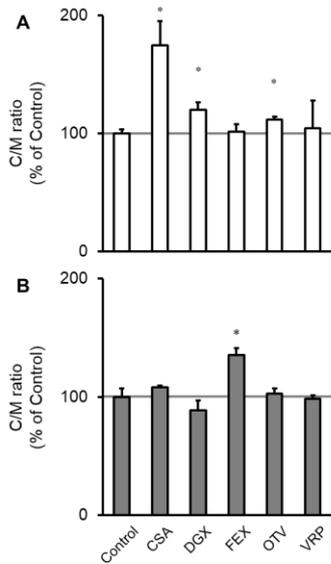


Fig. 1. ヒトP-gp過剰発現細胞を用いたTES (A) およびADO (B) の細胞内蓄積量に対するP-gp基質薬物の影響

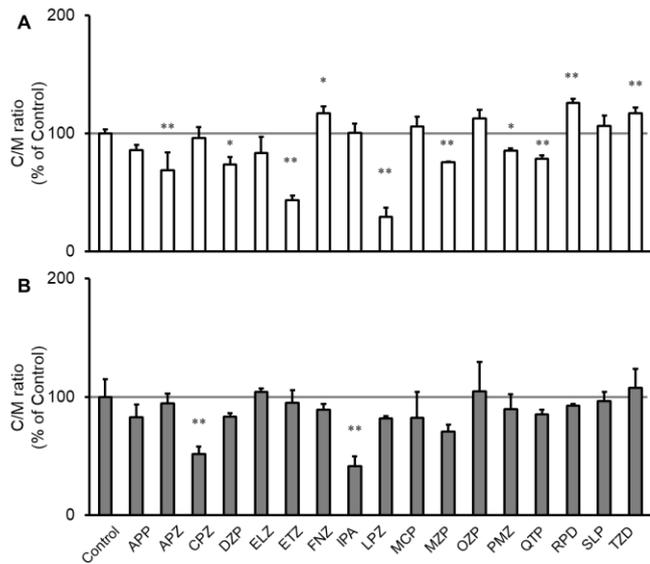


Fig. 2. ヒトP-gp過剰発現細胞を用いたTES (A) およびADO (B) の細胞内蓄積量に対するCADの影響

## (2) ラット BBB キットを用いた検討

### ① In vitro-in vivo 相関

いくつかの P-gp 基質薬物について、それらの ER と Kp,brain は負の相関を示した。さらにテスト化合物を追加したところ、それらは回帰直線の 2 倍の範囲内に収まった (Fig. 3)。したがって、BBB キットはラット生体内における P-gp 基質薬物の脳内移行性を反映する可能性が示唆された。

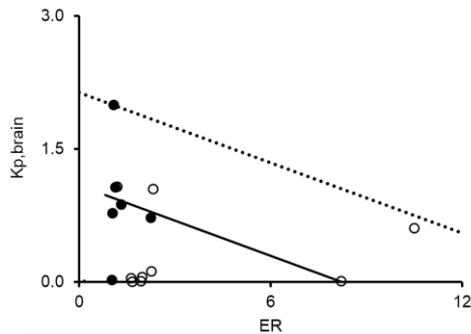


Fig. 3. In vitro-in vivo相関

### ② 輸送試験

TES および ADO のみかけの透過係数は、脳内への取り込み方向よりも血液側への排出方向において有意に高い値を示した。TES の ER は CSA、DGX、OTV、FNZ、RPD の存在下において有意に低下し、TZD 存在下では有意に増加した (Fig. 4A)。また ADO の ER は FEX 存在下において有意に低下した (Fig. 4B)。本検討より、TES および ADO は BBB において脳内移行を制限されており、P-gp を介した DEI によってそれらの脳内移行性が変化する可能性が示唆された。

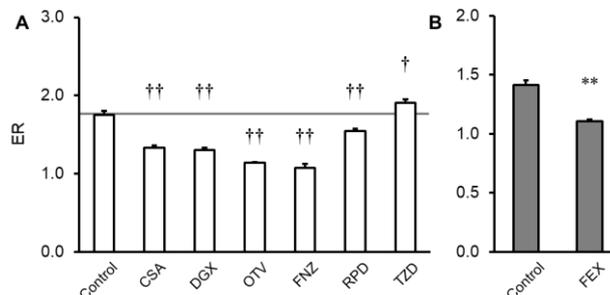


Fig. 4. ラットBBBキットを用いたTES (A) およびADO (B) の排出比に対する被験薬の影響

(3) ラットを用いた検討

被験薬物の腹腔内投与群は非投与群よりも TES の  $K_{p,brain}$  が有意に高い値を示した (Fig. 5)。したがって、生体内の BBB において、DEI によって TES の脳内移行性が亢進する可能性が示唆された。

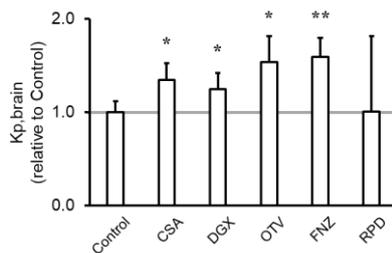


Fig. 5. ラットを用いた被験薬存在下におけるTESの脳/血漿中濃度比の変化

以上の検討から、生体内において P-gp を介した DEI が起こり得る事が示された。特に、P-gp の生体内基質であるアンドロゲンの脳内移行性は DEI による影響を受ける事を明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Hiroki Sunakawa, Reiko Takahashi, Kenta Mizoi, Takuo Ogihara                                |
| 2. 発表標題<br>Analysis of drug-endogenous-substrate interaction on blood-brain barrier via P-glycoprotein |
| 3. 学会等名<br>日本薬物動態学会第37回年会、横浜   |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>砂川大樹、高橋玲子、張協義、塚正彦、古宮淳一、崔吉道、溝井健太、荻原琢男 |
| 2. 発表標題<br>P-糖タンパク質を介した血液脳関門における薬物-内因性基質相互作用の評価 |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第143年会、札幌                       |
| 4. 発表年<br>2023年                                 |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kenta Mizoi, Reiko Takahashi, Saori Takahashi, Takuo Ogihara  |
| 2. 発表標題<br>Effects of P-glycoprotein-mediated drug-endogenous-substrate interactions on blood-brain barrier permeability of testosterone |
| 3. 学会等名<br>日本薬物動態学会第36回年会（オンライン）   |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Hiroki Sunakawa, Saori Takahashi, Kenta Mizoi, Takuo Ogihara |
| 2. 発表標題<br>IVIVC assessment for BBB permeability using rat BBB kit      |
| 3. 学会等名<br>日本薬物動態学会第36回年会（オンライン）  |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>溝井健太, 高橋玲子, 高橋紗織, 砂川大樹, 荻原琢男        |
| 2. 発表標題<br>血液脳関門におけるP-糖タンパク質を介した薬物-生体内基質間の相互作用 |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第142年会 (オンライン)                 |
| 4. 発表年<br>2022年                                |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>溝井健太, 高橋玲子, 高橋紗織, 荻原琢男                |
| 2. 発表標題<br>テストステロンに対するP-糖タンパク質を介した薬物-生体内基質間の相互作用 |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第141年会 (オンライン)                   |
| 4. 発表年<br>2021年                                  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|                           |                       |    |

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 |
|---------|---------|
|         |         |