

機関番号：32607

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590174

研究課題名（和文）経口投与薬物の初回通過効果および薬物相互作用を予測するモデルの構築と検証

研究課題名（英文）Quantitative prediction of first pass metabolism and drug-drug interactions for orally administered drugs

研究代表者

伊藤 智夫（ITOHI TOMOO）

北里大学・薬学部・教授

研究者番号：30223168

研究成果の概要（和文）：

CYP3A 基質の経口バイオアベイラビリティと、CYP3A 阻害薬を併用したときの相互作用を定量的に予測するモデルを確立することを目的とし、CYP3A の基質としてアルプラゾラム（ALP）およびトリアゾラム（TRZ）を用い、CYP3A 阻害薬としてリトナビル（RIT）およびエリスロマイシン（ERY）を用いた。各薬物の代謝パラメータ、代謝阻害パラメータ、小腸上皮細胞内移行パラメータを *in vitro* 実験から見積り、ITAM-PK モデルに組み込むことで、ALP と RIT、ALP と ERY、TRZ と RIT、そして TRZ と ERY を併用時の薬物相互作用を定量的に予測するモデルを構築した。

研究成果の概要（英文）：

The present study aimed to establish a model to quantitatively predict the drug-drug interactions for orally administered CYP3A substrates. Alprazolam (ALP) and triazolam (TRZ) were used as CYP3A substrates, and ritonavir (RIT) and erythromycin (ERY) were used as CYP3A inhibitors. Metabolic and inhibition parameters of those drugs were obtained in *in vitro* studies. Transfer parameters in the intestinal epithelial cells were also estimated *in vitro*. The obtained parameters were incorporated into an ITAM-PK model to predict the interactions between ALP and RIT, ALP and ERY, TRZ and RIT, and TRZ and ERY.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：経口投与、初回通過効果、薬物相互作用、定量的予測

1. 研究開始当初の背景

臨床で使用される薬物の約半数が薬物

代謝酵素であるシトクロム P450（CYP）
3A4 で代謝され、小腸における CYP3A4

含量は、全 CYP 含量の 80%にも達すると報告されている。そのため、CYP3A4 の基質となる薬物を経口投与したとき、肝臓だけでなく小腸においても初回通過代謝を受けることが指摘されている。実際、薬物によっては、小腸初回通過効果が肝初回通過効果に匹敵するか、それ以上であると報告されている。

我々の構築した小腸初回通過効果予測モデル (ITAM (Intestinal transit, absorption and metabolism) モデル) を拡張して経口投与後のバイオアベイラビリティ (F) を予測し、さらに小腸および肝初回通過効果における相互作用を定量的に予測するためには、我々のモデルと肝初回通過効果予測モデルを連結させ、小腸上皮細胞および肝細胞内の薬物と阻害薬濃度を正確に見積もることが必要である。

以前に我々は、肝灌流モデルに従って肝初回通過代謝における薬物相互作用 (代謝阻害) を in vitro で半定量的に予測するモデルを提示した (K. Ito et al., *Drug Metab. Dispos.* 31(7): 945-954 2003)。この肝灌流モデルと小腸初回通過予測モデルを連結することで、経口投与後のバイオアベイラビリティと薬物相互作用を予測することが可能になると考えられる。

2. 研究の目的

CYP3A 基質の経口バイオアベイラビリティと、CYP3A 阻害薬を併用したときの相互作用を定量的に予測するモデルを確立することを目的とする。CYP3A の基質としては、アルプラゾラム (ALP) およびトリアゾラム (TRZ) を用いた。CYP3A 阻害薬としては、HIV プロテアーゼ阻害薬であるリトナビル (RIT) およびマクロライド系抗生物質であるエリスロマイシン (ERY) を用いた。RIT および ERY とともに mechanism-based inhibitor であり、自身が CYP3A で代謝されて生成した代謝物が、CYP3A に強固に結合して代謝活性を阻害する。これらの阻害薬は、相互作用が臨

床上問題となっている薬物であり、本研究では、これら 2 つの阻害薬による薬物相互作用を予測するモデルの構築を目指した。

まず、ヒト小腸および肝ミクロソームを用いた in vitro 代謝実験から、CYP3A 基質の小腸上皮および肝での代謝を見積もる。次に、CYP3A 阻害薬共存下における代謝実験から、in vitro で各阻害薬の阻害定数を求める。一方、Caco-2 細胞を用いた薬物輸送実験から、CYP3A 基質および阻害薬の小腸上皮内の移行速度を見積もる。得られたパラメータ値を、ITAM モデルと肝灌流モデルを連結した ITAM-PK (ITAM based pharmacokinetic) モデルに組み込むことにより、阻害薬が小腸および肝初回通過効果において、CYP3A をどの程度阻害し、またその結果 CYP3A4 基質の経口バイオアベイラビリティおよび基質の血中濃度がどの程度上昇するかを定量的に予測した。

3. 研究の方法 後述

4. 研究成果 後述

5. 主な発表論文等 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

Narawa T, Itoh T. Stereoselective transport of amethopterin enantiomers by the proton-coupled folate transporter. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 25:283-289 2010.

今井康人, 飯島 肇, 蓮沼智子, 山田好則, 渡邊 誠, 武藤正樹, 鈴木順子, 伊藤智夫 抗がん剤後発医薬品の適正使用への問題点と問題解決への新たな視点 *臨床医薬* 26(4) 297-306 2010.

今井康人, 飯島 肇, 蓮沼智子, 山田好則, 渡邊 誠, 武藤正樹, 鈴木順子, 伊藤智夫 抗がん剤後発医薬品の適正使用への問題点と問題解決への新たな視点 第 3 報: 薬剤師を中心としたアンケート調査結果から *臨床医薬* 26(6) 425-433 2010.

Jinno F, Takeuchi T, Tagawa Y, Kondo T, Itoh T and Asahi S. Differences in the pharmacokinetics of 4-amino-3-chlorophenyl hydrogen sulfate, a metabolite of Resatorvid, in rats and dogs. *Drug Metab. Disp.* 40:648-654, 2012.

〔学会発表〕(計 11 件)

西矢博紀,伊藤智夫 PAMPAを用いた小腸アベイラビリティの定量的予測 日本薬学会第130年会(岡山) 2010.3.28 [日本薬学会第130年会要旨集4 p.210 2010.3]

吉川慧,伊藤智夫 ニフェジピンの小腸アベイラビリティの定量的予測 日本薬学会第130年会(岡山) 2010.3.28 [日本薬学会第130年会要旨集4 p.210 2010.3]

高野絵美,伊藤智夫 ラット皮膚マイクロソームを用いた *in vitro* 代謝実験 日本薬学会第130年会(岡山) 2010.3.28 [日本薬学会第130年会要旨集4 p.211 2010.3]

西矢博紀,伊藤智夫 PAMPAを用いた小腸アベイラビリティの定量的予測 日本薬学会第130年会(岡山) 2010.3.28 [日本薬学会第130年会要旨集4 p.210 2010.3]

吉川慧,伊藤智夫 ニフェジピンの小腸アベイラビリティの定量的予測 日本薬学会第130年会(岡山) 2010.3.28 [日本薬学会第130年会要旨集4 p.210 2010.3]

高野絵美,伊藤智夫 ラット皮膚マイクロソームを用いた *in vitro* 代謝実験 日本薬学会第130年会(岡山) 2010.3.28 [日本薬学会第130年会要旨集4 p.211 2010.3]

吉川慧,伊藤智夫 ニフェジピンの小腸アベイラビリティの定量的予測 日本薬物動態学会第25年会(大宮) 2010.10 [日本薬物動態学会第25年会要旨集p.152 2010]

金森基泰,伊藤智夫 リトナビルによるCYP3A4阻害の検討 日本薬物動態学会第25年会(大宮) 2010.10 [日本薬物動態学会第25年会要旨集p.210 2010]

吉川慧,外川雄貴,伊藤智夫 フェロジピンとキニジンの小腸アベイラビリティの定量的予測 日本薬学会第131年会(静岡) 2011.3.29 [日本薬学会第131年会要旨集4 p.218 2011.3]

金森基泰,伊藤智夫 Ritonavir併用時におけるCYP3A4基質のヒト小腸初回通過効果の予

測 日本薬学会第131年会(静岡) 2011.3.29 [日本薬学会第131年会要旨集4 p.223 2011.3]

徳重枝里子,菅谷藍,伊藤智夫 ITAM-PK モデルを用いたエリスロマイシンとトリアゾラムの相互作用の予測 日本薬学会第132年会(札幌) 2012.3.31 [日本薬学会第132年会要旨集4 p.310 2012.3]

〔図書〕(計 4 件)

伊藤智夫(分担執筆) 第2章(P.4-51) 薬学実務実習開始前の共用試験(平成20年度) 東京 NPO 法人 薬学共用試験センター 2009.6.18

伊藤智夫(分担執筆) 第1章 薬学共用試験の準備状況(P.5-16) 文部科学省医療系養成推進等委託事業 薬学共用試験初年度の準備・実施状況および事後解析に関する調査・研究報告書 東京 一般社団法人 薬学教育協議会 2010.3

伊藤智夫(分担執筆) 第2章および第3章(P.3-110) 薬学実務実習開始前の共用試験(平成21年度) 東京 NPO 法人 薬学共用試験センター 2010.6.10

伊藤智夫(分担執筆) 第2章および第3章(P.3-77) 薬学共用試験(平成22年度) 東京 NPO 法人 薬学共用試験センター 2011.6.23

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者
伊藤 智夫 (ITOH TOMOO)
研究者番号 : 30223168

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし

3. 研究の方法

ヒト肝および小腸マイクロソームを用いた代謝実験、代謝阻害実験より、基質および阻害薬の代謝パラメータや代謝阻害パラメータを *in vitro* で算出した。また、Caco-2 細胞を用いた透過実験、蓄積実験より、基質および阻害薬の小腸上皮細胞内の移行パラメータを *in vitro* で見積もった。これらの *in vitro* で算出されたパラメータ値を、下記の ITAM (Intestinal transit, absorption and metabolism) モデルに肝灌流モデルを連結した ITAM-PK (ITAM-based pharmacokinetic) モデルに組み込むことで、CYP3A4 基質と阻害薬の薬物相互作用を定量的に予測した。

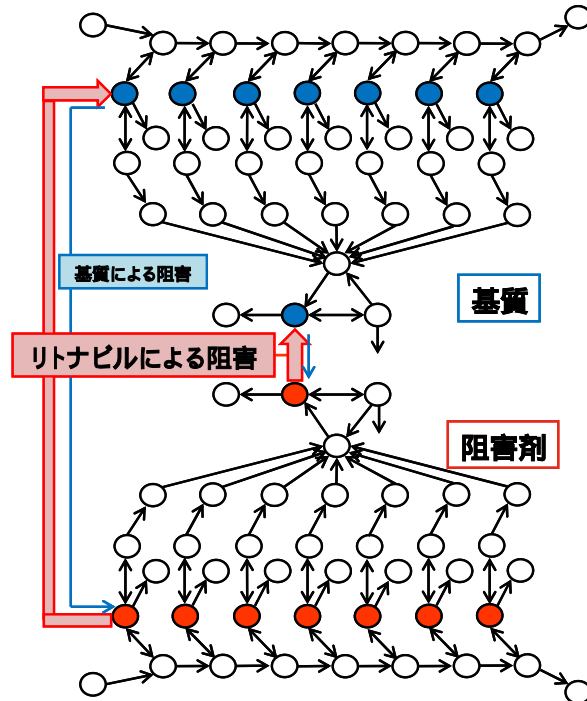


Fig.1 ITAM-PK model for drug-drug interaction

CYP3A4 基質として alprazolam (ALP) および triazolam (TRZ) を、CYP3A4 阻害薬として ritonavir (RIT) および erythromycin (ERY) を用いた。

3-1 ALP と RIT の相互作用の予測

ヒト投与試験での報告 (Greenblatt et al.,2000) に従ってシミュレーションを行った。得られた最高血中濃度(C_{max})、薬物血中濃度 - 時間曲線下面積(AUC)、AUC 上昇率(Eq. 1)を *in vivo* における報告値と比較し、モデルの妥当性の検証を行った。なお、比較に用いた報告値の C_{max} および AUC には、基質である ALP の R_B 値を乗算することで血漿中濃度から血中濃度へと補正した値を使用した。

$$AUC_{ratio} = \frac{AUC_{substrate+inhibitor}}{AUC_{substrate+placebo}} \quad \text{Eq.(1)}$$

3-2 TRZ と RIT の相互作用の予測

ヒト投与試験での報告 (Clum-Merdek et al.,2006) に従ってシミュレーションを行った。 C_{max} 、AUC、AUC 上昇率を *in vivo* における報告値と比較し、モデルの妥当性の検証を行った。なお、比較に用いた報告値の C_{max} および AUC には、基質である TRZ の R_B 値を乗算することで血漿中濃度から血中濃度へと補正した値を使用した。

3-3 ALP と ERY の相互作用の予測

ヒト投与試験での報告 (Yasui et al., 1996) に従ってシミュレーションを行った。 C_{max} 、AUC、AUC 上昇率を *in vivo* における報告値と比較し、モデルの妥当性の検証を行った。なお、比較

に用いた報告値の C_{max} および AUC には、基質である ALP の R_B 値を乗算することで血漿中濃度から血中濃度へと補正した値を使用した。

3-4 TRZ と ERY の相互作用の予測

ヒト投与試験での報告 (Clum-Merdek et al.,2006) に従ってシミュレーションを行った。 C_{max} 、AUC、AUC 上昇率を *in vivo* における報告値と比較し、モデルの妥当性の検証を行った。なお、比較に用いた報告値の C_{max} および AUC には、基質である TRZ の R_B 値を乗算することで血漿中濃度から血中濃度へと補正した値を使用した。

4 . 研究の成果

MBI 効果の強さの指標となる k_{obs} 値(見かけの酵素不活化速度定数)を用いて RIT と ERY の MBI 効果の強さを比較すると、RIT では肝ミクロソームにおいて 0.52 min^{-1} 、小腸ミクロソームにおいて 0.66 min^{-1} 、ERY では肝ミクロソームにおいて 0.0016 min^{-1} 、小腸ミクロソームにおいて 0.0022 min^{-1} となり、ERY に比べて RIT は非常に強力な *mechanism-based inhibitor* であることが分かった。

この k_{obs} 値を用いて、阻害薬の代謝反応における CYP 活性の変化を計算すると、RIT については小腸ミクロソームで 30%、肝ミクロソームで 0.6%、ERY については小腸ミクロソームで 65%、肝臓ミクロソームで 50%にまで CYP 活性が低下していたと考えられた。つまり、阻害薬の代謝反応において CYP 活性が低下していた場合、得られた代謝パラメータには既に MBI 効果が含まれている可能性がある。ITAM-PK model において、MBI 効果はミクロソーム量の減少として表しているが、阻害薬の代謝パラメータが MBI 効果を含むとき、阻害薬自身に対する MBI 効果が過剰評価される可能性が考えられた。

これらのことから、ITAM-PK model において、阻害薬自身の代謝に対する MBI 効果を考慮した場合【MBI(+)]と考慮しない場合【MBI(-)]の2通りで薬物間相互作用のシミュレーションを行い、基質濃度、阻害薬濃度、ミクロソーム量の推移を予測し、ヒトにおける報告値(C_{max} :最高血中濃度、 T_{max} :最高血中濃度到達時間、AUC:血中濃度-時間曲線下面積、AUC 上昇率:単独投与時に対する併用時の AUC の割合)との比較を行った。なお、ERY については MBI(-)の計算が収束しなかったため、自身に対する MBI 効果の影響については、RIT についてのみ検討した。

まず、併用時の RIT の AUC の予測値を報告値と比較したところ、基質が ALP のとき、RIT の AUC は、MBI(+)のとき報告値の約 5 倍、MBI(-)のとき約 1/5 となった。基質が TRZ のときは、MBI(+)で約 5 倍、MBI(-)で約 1/3 となり、RIT 単独投与時は MBI(+)で 1.7 倍、MBI(-)で約 1/3 となった。RIT の AUC は、MBI(+)で過大評価となり、MBI(-)で過小評価となったため、MBI(+)、MBI(-)のどちらの方法でも、阻害薬濃度を正しく予測することはできないと考えられた。よって、阻害薬の自身に対する MBI 効果を正しく評価する方法の検討が必要であると考えられる。

RIT 併用時の ALP の AUC 上昇率は MBI(+)で 5.88 倍、MBI(-)で 5.63 倍となり、報告値

(AUC 上昇率 2.47 倍) の約 2.5 倍と過大評価となった。ALP 単独投与時の AUC の予測値は有意差なしであったこと、また、併用時の AUC が過大評価であり、肝における CYP のほとんどが不活化されていたため消失のほとんどが腎排泄に依存していたことから、AUC 上昇率を正確に見積もるには腎クリアランスの見積もりを正しく行う必要があると考えられた。

TRZ と RIT 併用では、報告値の誤差が大きかったこともあり、TRZ の C_{max} 、AUC はすべて有意差なしとなり、予測は良好に行われた。しかし、TRZ のバイオアベイラビリティは報告値 0.44 に対して予測値 0.73 とかなり大きく見積もられた。これは肝固有クリアランスの見積もりがうまくいっていないことが原因と考えられ、今後、最適な肝ミクロソーム含量を見積もる必要がある。

ヒトを対象とした *in vivo* 試験の結果では、対象となったグループの被験者の年齢、性別、体重などの違いにより、報告値にばらつきが生じる。TRZ と ERY と *in vivo* 投与試験 (Phillip et al., 1986) では、TRZ 0.5mg 単独投与における AUC は $12.5 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ であった一方、TRZ と RIT の *in vivo* 投与試験 (Clum-Merdek et al., 2006) では、TRZ 0.5mg 単独投与における AUC は $22.5 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ と、両者には約 1.8 倍の差がみられた。同様に、ALP と ERY の *in vivo* 投与試験 (Yasui et al., 1996) では、ALP 1mg 単独投与における AUC は $244 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ であった一方、ALP と RIT の *in vivo* 投与試験 (Greenblatt et al., 2003) では、ALP 1mg 単独投与における AUC は $207 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ と、両者には約 1.2 倍の差がみられた。

今回行った TRZ + RIT、ALP + ERY、TRZ + ERY の相互作用の予測において、AUC 上昇率の予測値は、報告値に対して有意差なしとなった。この 3 組については、相互作用はある程度予測できたと考えられる。ALP + RIT については、AUC 上昇率の予測値は報告値に対して有意差ありの結果となったが、腎排泄部分にその原因があると考えられた。今後は腎クリアランスの見積もりを検討することで、精度の高い予測が可能になるものと思われる。

今後の課題として、MBI を起こす薬物での真のパラメータを算出する手法を確立すること、肝ミクロソームを用いて RIT の代謝パラメータ及びミクロソーム非結合型分率を求め、ミクロソームの CYP 活性を補正した上で相互作用の予測を再度行うこと、肝代謝を正確に見積もるために肝ミクロソーム含量を最適化する方法を確立することがあげられる。また、CYP3A4 以外の代謝酵素で代謝される薬物の薬物間相互作用についても予測を行うことで、ITAM-PK model の汎用性を向上することも必要である。

ALP と RIT の相互作用を予測したとき、ALP のように消失経路の大部分が肝代謝であり一部が腎排泄される薬物では、肝代謝が阻害された場合、消失を腎排泄に依存していることがわかった。ALP の腎排泄はマイナーな消失経路であるため、腎クリアランスについては正確な値が得られなかった。薬物間相互作用の臨床試験は、ほとんどの場合、健常人において調べられている。しかしながら、実際の患者で薬物間相互作用が起きる場合、その患者の腎機能が正常であるとは限らない。腎機能障害を有する患者が ALP と RIT を併用した時、健常人に比べて相互作用が大きく現れる可能性がある。薬物間相互作用を正確に予測するには、患者の腎機能や肝機能なども視野に入れていく必要があると考えられる。