

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02651

研究課題名（和文）輸送分子種差と遊離形濃度に基づくヒト胎児への経胎盤薬物曝露量予測モデルの構築

研究課題名（英文）Prediction model for transplacental drug exposure to the human fetus based on species differences in placental transporters and plasma unbound concentrations

研究代表者

登美 斉俊（Tomi, Masatoshi）

慶應義塾大学・薬学部（芝共立）・教授

研究者番号：30334717

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究を通じ、これまでヒト胎盤閉鎖系灌流からの定常状態における母体血/胎児血薬物濃度比（F/M比）予測精度が低かった低膜透過性薬物について、構築した胎盤透過薬物動態モデルを併用することで定常状態F/M比の推定が可能となることを明らかにした。また、ラットにおけるF/M比がヒトに比べて低い傾向にある一因はタンパク結合率の種差であり、unbound F/M比を指標とすることで克服できることを突き止めた。また、MATE1のラット胎盤特異的な発現や、胎盤MDR1のげっ歯類特異的な局在が、それぞれの基質薬物の胎児移行性種差の一因となっていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で構築した胎盤透過薬物動態モデルを活用することで、信頼性の高いヒトF/M比を、より効率的に収集することが可能となった。また、実験動物で得られた薬物の発生毒性や胎児移行性からヒトでの影響を定量的に検討する上で、非結合形薬物濃度を基準とし、種差のある胎盤トランスポーターに対する基質認識性への配慮が重要であることを明らかとした。これら成果は、薬物の胎児移行性情報をより信頼度の高い形で得ることを可能とするものであり、妊婦における安全かつ有効な薬物治療を拡大していく上で意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：Although the prediction accuracy of the steady-state fetal/maternal plasma concentration ratio (F/M ratio) of some low-membrane-permeability drugs by human placental perfusion has been low, the present study demonstrated that the steady-state F/M ratio of can be estimated by combining the originally developed pharmacokinetic model. Moreover, we clarified that one of the reasons for the lower F/M ratio in rats compared to humans is the species difference in protein binding. This can be overcome by employing the unbound F/M ratio in rats. Furthermore, we observed that the specific expression of MATE1 in rat placenta and the rodent-specific localization of placental MDR1 contribute to the species differences in the fetal transfer of substrate drugs.

研究分野：薬物動態学

キーワード：胎盤 トランスポーター

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

妊婦への薬物治療ニーズは潜在的には高いが、胎児での安全性を担保できない薬物も多く、総じて抑制的である。また、近年の胎内診断技術の向上は、胎児不整脈など胎児疾患を可視化させており、胎児への薬物治療ニーズも高まっている。つまり、胎児を含む妊婦はアンメットメディカルニーズの高い患者層である。有効性と安全性を両立した妊婦への薬物治療を進める上で、胎児血中薬物濃度は重要な指標である。薬物の胎児移行性の指標として、ヒト臍帯血中濃度は実測値として信頼できるが、妊婦での安全性が既に明確な薬物での情報に限られ、妊婦に適用可能な薬物を増やすための研究への利用は難しい。代替手法として、ヒト満期胎盤を用いた灌流実験による胎児移行性評価も、実際のヒト組織を用いた解析という点が長所である一方で、一部薬物においてヒト臍帯血で得られた胎児移行性と一致しないことが問題となっている。また、実験動物を用いた胎児移行性評価は、ラットでの胎児移行性がヒトよりも低い傾向があるなど種差があるが、原因は判然としない。以上から、ヒト胎盤灌流やラットでの胎児移行性評価で得られたデータからヒトにおける胎児移行性を予測する際の課題を克服し、予測精度を高めることは意義が大きい。

### 2. 研究の目的

本研究では、ヒト胎盤灌流およびラットでの胎児移行性評価から得られる遊離形薬物濃度比を用い、輸送体の寄与等も反映して定常状態におけるヒト胎児移行性を予測することを目標とした。具体的には、まず、ヒト胎盤灌流から得られる薬物濃度推移から、ヒト臍帯血中濃度を記述可能な薬物動態モデルとして多くの薬物に適用可能な形で構築した。また、妊娠ラットを用いた胎児移行性評価からヒト胎児移行性を外挿する際の精度を向上させるため、タンパク結合による見かけ上の種差を取り除いた上で、胎盤関門輸送体の発現量や局在の種差が胎児移行に与える影響を明らかにした。

### 3. 研究の方法

- (1) ヒト胎盤閉鎖系灌流から実験的に得られた母体・胎児間薬物濃度比と、実際のヒト薬物濃度比が大きく異なるメトホルミン及びジゴキシンについて、胎盤透過を記述する薬物動態モデルを構築した。薬物動態モデルを用いたシミュレーションを併用することで、ヒト胎盤灌流での実験結果から、ヒト胎児血中濃度が予測可能できるか、解析を行った。さらに、構築した薬物動態モデルが多数の薬物に対して適用可能であるかどうかを検証した。
- (2) 妊娠ラットに薬物を投与し、母獣・胎仔血漿中濃度を定量し、血漿タンパク結合率を平衡透析または限外ろ過で測定した。ラット胎仔移行性を遊離形母体血/胎児血薬物濃度比 (unbound F/M 比) で評価し、ヒト F/M 比と比較した。総薬物濃度比 (F/M 比) でラット・ヒト間の胎児移行性比較を行った場合と比べ、unbound F/M 比でのラット・ヒト間の比較を行った場合に相関性が向上するか解析した。さらに、unbound F/M 比での評価でも、胎児移行性種差が大きな薬物を見出し、その胎児移行に關与する輸送体を絞り込んだ。
- (3) ラットおよびヒト満期胎盤から細胞膜画分を調製し、胎児移行種差を生み出しうる候補輸送体のタンパク発現分子数を定量した。それら候補輸送体を阻害することで胎児移行性種差がどのように変化するのかについても、解析を行った。
- (4) 排出トランスポーターMDR1 は胎盤において母体側細胞膜に局在するが、ヒト胎盤ではMDR1 が母体血に面しているのに対し、二層の細胞層で構成されるげっ歯類胎盤関門ではMDR1 が胎児側細胞層の母体側細胞層に局在し、母体血に薬物を直接排出できない。げっ歯類胎盤関門独特のMDR1 局在が薬物移行性に与える影響について、MDR1 欠損マウスを用いた機能評価とMDR1 タンパク発現分子数の定量を通じて血液脳関門と胎盤関門で比較することで解析した。

### 4. 研究成果

- (1) ヒト胎盤閉鎖系灌流から実験的に得られた F/M 比と、実際のヒト F/M 比が大きく異なるメトホルミンおよびジゴキシンについて、その胎盤透過を記述する薬物動態モデルを構築した。本モデルを用い、ex vivo 胎盤灌流では実施不可能な長時間の濃度推移を in silico シミュレーションすることで、妊婦で得た F/M 比を再現することに成功した。つまり、灌流可能な時間には限界があり、一部の低膜透過性薬物では定常状態に到達していない状態で F/M 比を評価していることが不一致の主要因であることを明らかにするとともに、薬物動態モデルを併用することで定常状態での F/M 比を推定すれば克服できることを示した。本モデルが他の薬物に対しても適用可能であるか解析を進めた結果、解析した 7 化合物について、いずれも適切に in vivo F/M 比を予測でき、これまでの手法に比して予測精度が高い

ことも示され、汎用性の高いモデルであることが示された。さらに、本モデルを用いて、ヒト胎盤灌流試験で報告のあったMDR1阻害剤(キニジン及びベラパミル)との併用時におけるジゴキシン濃度をシミュレーションした。その結果、母体側細胞膜のMDR1と胎児側細胞膜の排出トランスポーターの両方が阻害されたとき、ジゴキシン濃度の灌流試験報告値を再現することができた。

- (2) 妊娠ラットに薬物を持続投与したところ、ジゴキシンおよびインドメタシンのラット胎児-母体血中濃度比(F/M比)は、いずれもヒトの38%であったが、胎児-母体非結合形血中濃度比(unbound F/M比)はヒトと同程度であった。この原因は、妊娠満期のヒト胎児血漿中アルブミン濃度は母体血漿中の1.2倍であるのに対し、ラットでは約半分であるため、unbound F/M比は同程度であっても、総薬物濃度基準のF/M比だと胎児移行性を見かけ上低く見積もるためである。本結果から、ラット母胎間でタンパク非結合分率が異なる薬物の少なくとも一部において、ラットでの胎児移行性評価にタンパク非結合分率を用いることでヒトへの外挿精度が高まることが示された。また、有機カチオン性薬物メトホルミン投与後のF/M比を評価したところ、ヒトにおけるF/M比の10%以下であった。メトホルミンはタンパク結合しないにも関わらず、ラットでの移行性が低いいため、メトホルミンの胎盤透過機構における種差が移行性種差の原因となっていると考えられた。
- (3) メトホルミンの胎児移行性種差の原因となるトランスポーターを同定するため、有機カチオントランスポーターの胎盤細胞膜画分におけるタンパク発現分子数を質量分析により定量した。その結果、organic cation transporter 3 (OCT3)はヒト、マウス、ラットいずれの動物種においても発現が検出された一方、multidrug and toxin extrusion protein 1 (MATE1)については、ラットにおいてのみ発現が検出された。以上の結果から、メトホルミンのラット胎児移行抑制に関与するトランスポーター候補として、MATE1を抽出することができた。妊娠ラットあるいはマウスにMATE1の基質であるメトホルミンあるいは1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP<sup>+</sup>)を投与したところ、いずれの化合物についてもラットにおけるF/M比がマウスよりも有意に低いことが示された。さらに、同様の実験条件下で、MATE1阻害剤であるピリメタミンの前投与を行ったところ、ラットにおけるF/M ratioが有意に上昇した一方で、マウスにおいてはほとんど変化しなかった。本結果は、胎盤MATE1が阻害されることでラットにおける胎仔移行性が上昇する一方、マウスにおいてはMATE1の発現がないことから胎仔移行性が変化しなかったためと考えられる。本結果から、ヒト・マウスと異なり胎盤にてMATE1が高発現するラットにおいては、MATE1によりメトホルミンが母獣へと排出され、胎仔移行がより強く抑制されていることが示唆された。
- (4) マウス胎盤関門でのMDR1発現分子数は血液脳関門の23%であった。パクリタキセルのF/M比のMDR1欠損型/野生型比は7.5となった一方、ジゴキシンは1.4であった。以上のデータから胎盤関門の血液脳関門に対するMDR1単分子あたり薬物分布抑制活性比( $R_{p/b}$ )を算出したところ、パクリタキセルは1.1、ジゴキシンは0.044となった。つまり、MDR1単分子あたり薬物分布抑制能はパクリタキセルでは胎盤と脳で同程度である一方、胎盤MDR1のジゴキシン分布抑制能は脳と比較して著しく低いことが示された。胎盤関門を構成する二層の細胞層がconnexin26でgap結合していることを踏まえたマウス胎盤関門透過モデルを構築したところ、gap結合を介した透過の単純拡散透過に対する比が大きくなるほどMDR1の薬物分布抑制能が発揮できなくなることが判明した。この比がパクリタキセルと比べジゴキシンで大きいため、マウス胎盤関門MDR1によるジゴキシンの胎児分布抑制能が小さくなったと考えられる。また、ヒト胎盤関門におけるMDR1タンパク発現分子数はマウス胎盤関門での発現分子数の4%程度と見積もられた。ヒトと比較してマウスにおける胎盤関門でのMDR1発現分子数は高い一方、gap結合の存在によってMDR1の抑制効果が打ち消されるため、MDR1による胎児移行抑制能がマウスでより強く表れるのは一部の基質薬物に限られることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujita Arimi, Noguchi Saki, Hamada Rika, Shimada Tsutomu, Katakura Satomi, Maruyama Tetsuo, Sai Yoshimichi, Nishimura Tomohiro, Tomi Masatoshi	4. 巻 2
2. 論文標題 Quantitative Comparison of Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2) Expression and Function Between Maternal Blood-Brain Barrier and Placental Barrier in Mice at Different Gestational Ages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Drug Delivery	6. 最初と最後の頁 932576
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fddev.2022.932576	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 -
1. 著者名 Akashi Tomoya, Noguchi Saki, Takahashi Yu, Nishimura Tomohiro, Tomi Masatoshi	4. 巻 112
2. 論文標題 L-type Amino Acid Transporter 1 (SLC7A5)-Mediated Transport of Pregabalin at the Rat Blood-Spinal Cord Barrier and its Sensitivity to Plasma Branched-Chain Amino Acids	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 1137 ~ 1144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xphs.2022.12.028	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 Fujita Arimi, Noguchi Saki, Hamada Rika, Inoue Satoko, Shimada Tsutomu, Katakura Satomi, Maruyama Tetsuo, Sai Yoshimichi, Nishimura Tomohiro, Tomi Masatoshi	4. 巻 39
2. 論文標題 Limited Impact of Murine Placental MDR1 on Fetal Exposure of Certain Drugs Explained by Bypass Transfer Between Adjacent Syncytiotrophoblast Layers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutical Research	6. 最初と最後の頁 1645 ~ 1658
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11095-022-03165-6	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 -
1. 著者名 Kurosawa Ken, Noguchi Saki, Nishimura Tomohiro, Tomi Masatoshi, Chiba Koji	4. 巻 50
2. 論文標題 Transplacental Pharmacokinetic Model of Digoxin Based on Ex Vivo Human Placental Perfusion Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Disposition	6. 最初と最後の頁 287 ~ 298
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1124/dmd.121.000648	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 -

1. 著者名 Fokina Valentina M., Patrikeeva Svetlana, Wang Xiao-ming, Noguchi Saki, Tomi Masatoshi, Konig Jorg, Ahmed Mahmoud S., Nanovskaya Tatiana	4. 巻 111
2. 論文標題 Role of Uptake Transporters OAT4, OATP2A1, and OATP1A2 in Human Placental Bio-disposition of Pravastatin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 505 ~ 516
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2021.09.035	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 該当する

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 藤田 有美, 濱田 リカ, 井上 慧子, 野口 幸希, 嶋田 努, 崔 吉道, 西村 友宏, 登美 斉俊
2. 発表標題 齧歯類における組織薬物分布に対するBCRP寄与の胎盤関門と血液脳関門の比較
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 登美 斉俊
2. 発表標題 薬物の胎盤透過を規定するメカニズムと薬物選択
3. 学会等名 第8回日本医薬品安全性学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤田 有美, 濱田 リカ, 井上 慧子, 野口 幸希, 嶋田 努, 崔 吉道, 西村 友宏, 登美 斉俊
2. 発表標題 マウス胎盤関門と血液脳関門の組織薬物分布抑制におけるMDR1寄与比較
3. 学会等名 日本薬剤学会第37年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋 駿太, 稲垣 舞, 野口 幸希, 西村 友宏, 登美 斉俊
2. 発表標題 マウス胎盤におけるPGE2受容体サブタイプの発現評価
3. 学会等名 第66回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原田 裕香子, 西村 友宏, 野口 幸希, 登美 斉俊
2. 発表標題 ラット妊娠前のestrogen 作用不全が妊娠後期の血圧および胎仔成長に与える影響
3. 学会等名 第66回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村 綾音, 西村 友宏, 石本 尚大, 野口 幸希, 加藤 将夫, 登美 斉俊
2. 発表標題 マウス胎盤OCTN1がエルゴチオネインの胎児移行に果たす役割
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 織井 啓介, 西村 友宏, 野口 幸希, 登美 斉俊
2. 発表標題 ラット胎盤におけるOatp1a5, 2b1, 4a1のmRNA発現とイルベサルタンおよびオルメサルタンに対する取り込み活性の評価
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 榊原 早織, 野口 幸希, 平原 優有, 舟橋 和毅, 加島 里菜, 西村 友宏, 登美 斉俊
2. 発表標題 アンジオテンシン 受容体拮抗薬 (ARBs) の経細胞輸送におけるOAT4の役割
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石鍋 巧朗, 野口 幸希, 菅沼 名津季, 西村 友宏, 登美 斉俊
2. 発表標題 単一細胞遺伝子発現解析に基づくマウス栄養膜幹細胞から分化する細胞集団の分布
3. 学会等名 第30回日本胎盤学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田島 幸佳, 西村 友宏, 野口 幸希, 登美 斉俊
2. 発表標題 ヒト血管内皮細胞HUEhT-1による絨毛外栄養膜細胞HTR-8/SVneoの浸潤誘導
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 登美 斉俊, 野口 幸希, 西村 友宏
2. 発表標題 ヒト胎盤透過性の定量予測に向けたアプローチ
3. 学会等名 第61回日本先天異常学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂井 真衣子, 中口 佳美, 西村 友宏, 野口 幸希, 石本 尚大, 加藤 将夫, 登美 育俊
2. 発表標題 メトホルミンのマウス胎盤透過に寄与する輸送体の検討
3. 学会等名 第61回日本先天異常学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱田 リカ, 植田 有美, 野口 幸希, 西村 友宏, 登美 育俊
2. 発表標題 ダントロレンの胎盤透過に及ぼす排出輸送体の影響評価
3. 学会等名 第61回日本先天異常学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomi M, Nomura T, Noguchi S, Nishimura T
2. 発表標題 Effect of maternofetal albumin concentration gradient on species differences in fetal drug transfer
3. 学会等名 International Federation of Placenta Associations (IFPA) 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomi M
2. 発表標題 Placental control of fetal drug transfer
3. 学会等名 The 1st International Conference on Pharmaceutical Sciences and Military Pharmacy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 Fujita A, Hamada R, Inoue S, Noguchi S, Shimada T, Sai Y, Nishimura T, Tomi M
2. 発表標題 The comparison of the MDR1 contribution to the drug distribution of the placental barrier and blood-brain barrier
3. 学会等名 第15回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤田 有美, 濱田 リカ, 井上 慧子, 野口 幸希, 嶋田 努, 崔 吉道, 西村 友宏, 登美 斉俊
2. 発表標題 マウス胎盤関門と血液脳関門のMDR1関門透過制御寄与の比較
3. 学会等名 第42回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒沢 健, 千葉 康司, 野口 幸希, 西村 友宏, 登美 斉俊
2. 発表標題 Ex vivoヒト胎盤灌流試験を用いたジゴキシンのヒト胎盤薬物動態モデル
3. 学会等名 日本薬物動態学会第36回年会
4. 発表年 2021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	千葉 康司  (Chiba Koji)  (30458864)	横浜薬科大学・薬学部・教授    (32723)	

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
---------	---------