

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：32680

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590204

研究課題名(和文)肝取り込みトランスポーターの阻害に基づく薬物間相互作用の定量的予測

研究課題名(英文)Quantitative prediction of drug interactions based on the inhibition of hepatic uptake transporters

研究代表者

伊藤 清美 (Ito, Kiyomi)

武蔵野大学・薬学研究所・教授

研究者番号：60232435

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：肝臓への取り込みトランスポーターを介する薬物間相互作用の事例について、生理学的薬物速度論モデルに基づく解析を実施した。一例として、イトラコナゾールとゲムフィブロジルの併用によるレパグリニドの血中濃度上昇は、肝取り込みと肝代謝の両者の阻害により定量的に説明できることが示された。肝取り込みトランスポーターが関与する薬物間相互作用の定量的予測に本モデル解析を応用することにより、医薬品開発の効率化および危険な相互作用の回避につながるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Drug-drug interactions involving the hepatic uptake transporters were analyzed based on a physiologically based pharmacokinetic model. As an example, the repaglinide concentration increase by co-administration of itraconazole and gemfibrozil was quantitatively explained by the inhibition of both hepatic uptake and metabolism of repaglinide. Application of the present model analysis to quantitative predictions of drug interactions involving hepatic uptake transporters is expected to facilitate the increased efficiency in drug development and avoidance of toxic interactions.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：医療系薬学

キーワード：薬物間相互作用 生理学的薬物速度論 定量的予測 トランスポーター

1. 研究開始当初の背景

臨床において、薬物間相互作用は予期せぬ副作用や毒性につながる危険性があることから、医薬品開発過程あるいは臨床現場での適正使用において、相互作用の程度を定量的に予測することが重要である。従来、臨床で生じる薬物間相互作用の主な要因として、薬物代謝酵素の阻害あるいは誘導に基づく体内動態変動が注目され、相互作用による血中濃度変化を定量的に予測する方法論が検討されてきた。

近年、薬物の吸収・分布・排泄において、生体膜に発現する種々の薬物トランスポーターが重要な役割を担うことが明らかとなり、それらを介する薬物間相互作用の重要性についても認識されつつある。特に、種々の薬物代謝酵素が発現し、薬物代謝において最も重要な組織である肝臓では、血管側に organic anion transporting polypeptides (OATPs) などのトランスポーターが発現し、薬物の肝細胞内への取り込みに関与している。これらトランスポーターが併用薬によって阻害された場合、それらの基質となる薬物の肝細胞への取り込みが抑制され、代謝反応が抑制される結果、それらの薬物の消失が遅れ、血中濃度が上昇する可能性がある。

薬物トランスポーターによる輸送活性は Michaelis-Menten 式によって表され、併用薬により阻害が生じた場合の輸送活性の変化については、代謝阻害と同様の式で表現することが可能である。したがって、代謝阻害による血中濃度上昇予測のために既に構築した生理学的薬物速度論モデルを応用することにより、トランスポーター阻害に基づく血中濃度上昇についても定量的な予測が可能であると考えられる。これまでに、トランスポーター阻害が主なメカニズムである相互作用の定量的な予測について検討された例はない。

2. 研究の目的

本研究では、肝臓への取り込みトランスポーターの阻害に基づく薬物間相互作用を定量的に予測する方法を確立することを目的として、相互作用の臨床報告の中から肝取り込みトランスポーター (OATPs) の関与が考えられるものを抽出し、その報告での阻害薬 (相互作用薬) 併用時と非併用時の基質薬 (被相互作用薬) の血中濃度推移を、生理学的薬物速度論モデルに基づく解析により再現することを目指した。(1) レパグリニドとイトラコナゾールおよびゲムフィブロジルとの相互作用、および (2) グリベンクラミドとクラリスロマイシンとの相互作用、について、それぞれ報告されている情報に基づいて基質薬と阻害薬の体内動態を表現する生理学的薬物速度論モデルを構築し、臨床での相互作用を定量的に再現できる速度論パラメータを設定することにより、相互作用メカニズムについて検討した。

3. 研究の方法

(1) レパグリニドとイトラコナゾールおよびゲムフィブロジルとの相互作用の解析

速効型インスリン分泌促進薬であるレパグリニドの血中濃度は、臨床において、イトラコナゾールおよびゲムフィブロジルの併用により大きく上昇することが報告されている。レパグリニドは、OATPs によって肝臓に取り込まれた後、CYP2C8 および CYP3A4 によって代謝されることにより体内から消失することから、これらの阻害を組み込んだ生理学的薬物速度論モデルに基づいて解析を行った。

まず、イトラコナゾールおよびゲムフィブロジルとその抱合代謝物 (グルクロナイド) について、それぞれ生理学的薬物速度論モデルを構築し、薬物動態解析プログラム Napp を用いて非線形最小二乗法に基づく fitting 解析を行うことにより、報告されている血中濃度推移に合う体内動態パラメータを設定した。それらのパラメータを固定し、各々の濃度に応じたレパグリニドの肝取り込み (OATPs) および肝代謝 (CYP2C8 および CYP3A4) の阻害を生理学的薬物速度論モデル (図 1) に組み入れることにより、報告されているレパグリニドの 4 条件での血中濃度推移 (単独投与時、イトラコナゾール併用時、ゲムフィブロジル併用時、両者併用時) に対して同時 fitting を行い、血中濃度上昇を定量的に説明できるパラメータを算出した。

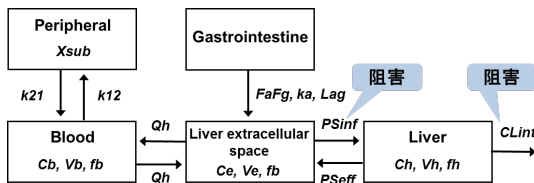


図 1 レパグリニドの生理学的薬物速度論モデル

一方、レパグリニドの肝代謝には、主に CYP2C8 及び CYP3A4 が関与することが報告されているものの、それらの寄与率について一定の見解は得られていないことから、各々の特異的な阻害薬を用いた in vitro 代謝阻害試験により、レパグリニドの代謝における両 CYP 分子種の寄与率を見積もった。具体的には、ヒト肝ミクロソームを用いて、CYP2C8 によるパクリタキセルの 6 α 位水酸化活性及び CYP3A4 によるトリアゾラムの α 位、4 位水酸化活性を測定し、モンテルカストおよびケトコナゾールがそれらを特異的に阻害する濃度について検討した。その結果をもとに、モンテルカスト (2 8 μ M) 及びケトコナゾール (0.5 2 μ M) 存在下でヒト肝ミクロソームを用いたレパグリニドの代謝試験を行い、残存レパグリニド濃度を LC/MS により測定することで、両 CYP 分子種の寄与率を算出した。

(2) グリベンクラミドとクラリスロマイシンの相互作用の解析

臨床において、クラリスロマイシンの併用により経口血糖降下薬であるグリベンクラミドの血中濃度が上昇することが報告されている。この相互作用はグリベンクラミドの消失に關与する肝取り込みトランスポーター (OATPs) および代謝酵素 (CYP3A4) をクラリスロマイシンが阻害することに起因すると考えられるが、詳細なメカニズムは不明である。そこで、上記 (1) と同様の生理学的薬物速度論モデル解析により、この相互作用のメカニズムについて検討した。まず、クラリスロマイシンおよびグリベンクラミド単独投与時の血中濃度推移について、それぞれ非線形最小二乗法に基づく fitting 解析を行い、各々の体内動態パラメータを決定した。続いて、クラリスロマイシンによる OATPs および CYP3A4 の阻害を組み入れたモデルを使用し、クラリスロマイシン非併用時および併用時における血中グリベンクラミド濃度推移を同時 fitting することにより、パラメータの最適化を行った。

一方、本相互作用のメカニズムを *in vitro* 実験により検討する目的で、凍結ヒト肝細胞を用いて OATPs による肝取り込みに対するクラリスロマイシンの阻害作用を評価した。主に OATPs によって肝臓に取り込まれ、代謝をほとんど受けないロスバスタチンを基質として使用し、種々の濃度のクラリスロマイシン存在下でのヒト肝細胞への取り込みを oil layer 法により測定した。

4. 研究成果

(1) レパグリニドとイトラコナゾールおよびゲムフィブロジルとの相互作用の解析

ゲムフィブロジルおよびその抱合代謝物 (グルクロナイド) による OATPs の阻害、イトラコナゾールによる CYP3A4 の競合阻害、ゲムフィブロジルグルクロナイドによる CYP2C8 の時間依存的阻害を組み入れた生理学的薬物速度論モデルに基づいて解析を行った結果、臨床で報告された各条件での血中レパグリニド濃度推移をほぼ再現することができ (図 2)、肝取り込み阻害および代謝阻害のパラメータとして、それぞれ報告値と矛盾しない値が得られた。また、本解析により得られたパラメータを用いて、ゲムフィブロジルの投与量や投与タイミングが異なる別の臨床試験の結果を再現できたことから、本解析に使用したモデルおよびパラメータの妥当性が確認された。すなわち、レパグリニドとゲムフィブロジルおよびイトラコナゾールとの相互作用には、ゲムフィブロジル (およびその代謝物) による OATPs 阻害と CYP2C8 阻害およびイトラコナゾールによる CYP3A4 阻害が關与することが推定された。

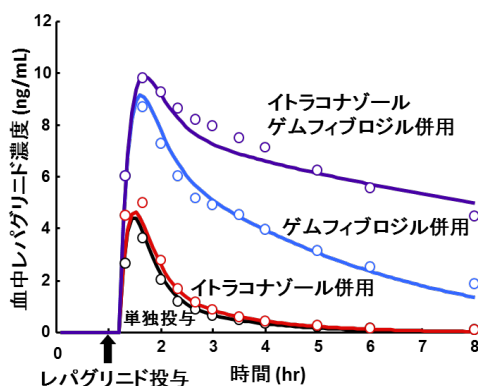


図 2 レパグリニド単独経口投与時、イトラコナゾール併用時、ゲムフィブロジル併用時、および両者併用時の血中レパグリニド濃度推移。シンボルは実測値、曲線は fitting 曲線を表す。

一方、ヒト肝ミクロソームを用いた代謝阻害実験の結果、 $4 \mu\text{M}$ 程度のモンテルカストは CYP3A4 活性にほとんど影響を与えず CYP2C8 を大きく阻害し、 $0.5 - 1.0 \mu\text{M}$ のケトコナゾールは CYP2C8 活性にほとんど影響を与えず CYP3A4 を選択的に阻害することが明らかとなった。レパグリニド代謝における CYP2C8 の寄与率は、使用した緩衝液濃度に依存するものの、60-90%程度と算出された。上記のモデル解析において fitting により求めた CYP2C8 の寄与率は 80%程度となり、両結果はほぼ一致した。

(2) グリベンクラミドとクラリスロマイシンの相互作用の解析

クラリスロマイシンによる OATPs の競合阻害および CYP3A4 の時間依存的阻害を組み込んだ生理学的薬物速度論モデルに基づいて解析を行った結果、臨床で報告されている血中濃度推移がほぼ再現され、fitting により求められた OATP1B1 に対するクラリスロマイシンの阻害定数は、*in vitro* での報告値と比べて数倍小さい値となった。また、本相互作用でのグリベンクラミドの血中濃度上昇において、CYP3A4 阻害と比較して OATPs 阻害の寄与が大きいことが明らかとなった。

一方、凍結ヒト肝細胞を用いてロスバスタチンの取り込み実験を行った結果、クラリスロマイシンは臨床濃度において OATPs を阻害する可能性が示唆され、上記のモデル解析の結果が裏付けられた。

薬物間相互作用の予測に関するこれまでの研究は、薬物代謝過程の阻害あるいは誘導に基づく血中濃度変化を予測したものがほとんどであり、トランスポーターによる輸送過程における相互作用を対象とした予測研究はほとんどなされていなかった。特に肝臓への取り込みトランスポーターの阻害は、基質薬物の肝臓内代謝酵素への曝露に影響することから、代謝酵素阻害と同様の血中濃度上昇をもたらす可能性があり、临床上、重要

であると考えられる。相互作用を事前に防ぐために、それぞれの薬物を単独投与した時の体内動態情報や *in vitro* での阻害パラメータから、相互作用の程度を定量的に予測することが重要となる。

本研究では、代表的な肝取り込みトランスポーターである OATPs を介する薬物間相互作用に着目し、生理学的薬物速度論モデルに基づいて解析を実施することにより、臨床で報告されている相互作用のメカニズムを推定することができた。特に、レパグリニドとイトラコナゾールおよびゲムフィブロジルとの相互作用については、複数の併用薬が存在する場合の複雑な相互作用を定量的に説明することに成功し、得られた成果をまとめた論文 (Kudo *et al.*, Drug Metab Dispos, 2013, 41, 362-371) について、The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics (ASPET) から James R. Gillette Drug Metabolism Best Paper Award を受賞した。

今後、このようなモデル解析の事例を蓄積し、トランスポーターが関与する薬物間相互作用についても定量的予測方法を確立することにより、医薬品開発の効率化および臨床試験での危険や無駄の回避に貢献できることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Kudo T, Hisaka A, Sugiyama Y, Ito K. Analysis of the repaglinide concentration increase produced by gemfibrozil and itraconazole based on the inhibition of the hepatic uptake transporter and metabolic enzymes. Drug Metab Dispos, 2013, 41(2), 362-371. 査読有

Godoy P, Hewitt NJ, Albrecht U 他 91 名 (Ito K 48 番目). Recent advances in 2D and 3D *in vitro* systems using primary hepatocytes, alternative hepatocyte sources and non-parenchymal liver cells and their use in investigating mechanisms of hepatotoxicity, cell signaling and ADME. Arch Toxicol, 2013, 87(8), 1315-1530. 査読有

工藤敏之, 伊藤清美. 薬物代謝酵素とトランスポーター. 呼吸, 2013, 32(5), 439-446. 査読無

伊藤清美. 薬物代謝における薬物間相互作用の定量的予測. Drug Metab Pharmacokinetic ニュースレター, 2012, 27(5), 8-11. 査読無

〔学会発表〕(計 20 件)

伊藤清美. M&S の基礎と解析事例. 第 34

回日本臨床薬理学会学術総会 (2013 年 12 月 4 - 6 日, 東京国際フォーラム, 東京)

伊藤清美. 薬物相互作用のリスクを予測する. 第 2 回日本くすりとう糖病学会学術集会 (2013 年 11 月 23 - 24 日, 星薬科大学, 東京)

Kudo T, Shitara Y, Sugiyama Y, Ito K. Analysis of the glibenclamide concentration increase by clarithromycin using a physiologically based pharmacokinetic model. 日本薬物動態学会第 28 回年会 (2013 年 10 月 9 - 11 日, タワーホール船堀, 東京)

Ito K, Sugiyama Y. Prediction of simultaneous inhibition of transporters and enzymes: Interaction between repaglinide and gemfibrozil/itraconazole. 16th International Conference on Drug-Drug Interactions (2013 年 6 月 24 - 27 日, Red Lion Hotel, Seattle, USA)

Kudo T, Komatsu S, Tanaka R, Oya Y, Hisaka A, Sugiyama Y, Ito K. Estimation of the contribution of CYP2C8 and CYP3A4 in the metabolism of repaglinide by human liver microsomes. 日本薬物動態学会第 27 回年会 (2012 年 11 月 20 - 22 日, タワーホール船堀, 東京)

Kudo T, Sugiyama Y, Hisaka A, Ito K. Analysis of the glibenclamide concentration increase by clarithromycin based on the inhibition of hepatic uptake transporter and metabolic enzymes using a physiologically based pharmacokinetic model. ISSX 18th North American Regional Meeting (2012 年 10 月 14 - 18 日, Hilton Anatole Dallas Hotel, Texas, USA)

Ito K, Kudo T, Sugiyama Y. Analysis of the repaglinide concentration increase by gemfibrozil and itraconazole based on the inhibition of hepatic uptake transporter and metabolic enzymes. 19th MDO and 12th European ISSX Meeting (2012 年 6 月 17 - 21 日, Grand Huis ter Duin Hotel, Noordwijk aan Zee, the Netherlands)

伊藤清美. 生理学的薬物速度論モデルを用いた薬物間相互作用の定量的予測方法に関する研究. 日本薬剤学会第 27 年会 (2012 年 5 月 24 - 26 日, 神戸国際会議場, 兵庫)

工藤敏之, 杉山雄一, 伊藤清美. トランスポーターを介した薬物間相互作用の生理学的速度論モデルによる予測 (5): clarithromycin 併用による血中 glibenclamide 濃度上昇の薬物動態学的

解析. 日本薬学会第27年会 (2012年5月24 - 26日, 神戸国際会議場, 兵庫)
Kudo T, Komatsu S, Tanaka R, Sugiyama Y, Ito K. Analysis of the repaglinide concentration increase by itraconazole and gemfibrozil considering the concentration profiles of both substrate and inhibitors. 日本薬物動態学会第26回年会 (2011年11月16 - 18日, 広島国際会議場, 広島)

〔図書〕(計 4 件)

伊藤清美, 大野泰雄, 久米俊行, 斎藤嘉朗, 鈴木洋史, 永井尚美, 樋坂章博, 前田和哉. 薬物相互作用ガイドラインの作成. GCPハンドブック 第5版, 株式会社じほう, 2014, pp. 28-41

伊藤清美, 杉山雄一. 薬物間相互作用. 疾患から見た臨床薬理学 第3版, 株式会社じほう, 2012, pp. 82-91

工藤敏之, 伊藤清美, 杉山雄一. 薬物トランスポーターについて教えてください. 薬剤師のための糖尿病療養指導ガイド, 株式会社じほう, 2012, pp. 37-44

伊藤清美, 杉山雄一. 薬物代謝酵素とトランスポーター. 臨床薬理学 第3版, 医学書院, 2011, pp. 84-89

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 清美 (ITO, Kiyomi)
武蔵野大学・薬学研究所・教授
研究者番号: 60232435

(2) 研究分担者

工藤 敏之 (KUDO, Toshiyuki)
武蔵野大学・薬学研究所・助教
研究者番号: 10584815