

薬物動態・薬効の変動に関与する薬物トランスポーターの遺伝子多型の包括的実証研究

●杉山 雄一¹⁾ ◆楠原 洋之¹⁾ ◆前田 和哉¹⁾ ◆家入 一郎²⁾

1) 東京大学大学院薬学系研究科 2) 九州大学大学院薬学研究科

<研究の目的と進め方>

薬物トランスポーターは、肝臓・腎臓などクリアランス臓器の血管側ないしは胆汁・尿側の膜上に発現しており、効率よい経細胞輸送により薬物のクリアランスを制御すると共に、脳・精巣など重要な臓器と血液とを隔てる種々の関門細胞に発現し、外来異物の重要な部位での曝露を制限する役割を果たしている。最近、特にトランスポーターの遺伝子多型と薬物動態・薬効の変動との関連性について、ヒト臨床研究を通して徐々に報告事例が増加している。種々の薬物トランスポーターの遺伝子多型が、異なる薬物の薬物動態や薬効に与える影響を観察するための臨床試験を行い、同一薬効群の複数の薬物を用いて、同じ遺伝子多型が複数の同効薬に与える影響の相違について定量的に評価することを目的とした研究を展開する。さらには、*in vitro* 実験系により、個々の薬物について個々の薬物トランスポーターにおける輸送の速度論的な特性・個々のトランスポーターの輸送全体に占める寄与率を考慮することにより、薬物による遺伝子多型の影響の受け方の違いを説明できるような、体内動態予測モデルを構築し、最終的には、*in vitro* 実験の結果を元に、ヒトでトランスポーターに遺伝子多型を持つヒトにおける薬物動態・薬効を予測可能とするモデルを完成させることを目標とする。

<2008年度の研究の当初計画>

2008年度は、主に中性域でアニオン性を示し、有機アニオントランスポーター群に認識される基質である、HMG-CoA還元酵素阻害薬やアンジオテンシンII受容体拮抗薬を中心として、それらを基質として受け入れるトランスポーターの遺伝子多型と、薬物動態や薬効との関連を明らかにするヒト臨床研究を展開する。

ロスバスタチンは、HMG-CoA還元酵素阻害薬の1種であり、既に当研究室の検討の結果より、肝取り込みは、主にOATP1B1によって輸送され、胆汁排泄は、MRP2、BCRPによって排泄されることが知られている。OATP1B1には、頻度の高い2つの変異、Asn130Asp、Val174Alaが知られており、前者はヒト*in vivo*において、基質薬物の輸送活性の上昇、後者は活性の低下を引き起こすことが知られている。一方、BCRPに関しては、Gln141Lys変異体は、発現量が低下することが知られている。本研究では、これら2つのトランスポーターの遺伝子多型が比較的頻度が高いことに着目し、両トランスポーターの遺伝子型であらかじめ層別化した健康人にロスバスタチンを単回投与した後の、薬物動態・効果に各群間で差が見られるかについてヒト臨床研究を行なう。

さらに、アンジオテンシンII受容体拮抗薬であるolmesartanやtelmisartanについては、既に会社が治験の際に臨床試験で得られたゲノムサンプルを用いて、OATP1B1、OATP1B3、MRP2など輸送に関与する一連のトランスポーター群の遺伝子多型を調

べると共に、サンプルと共に保管されている血中濃度データとを対応付けることで、遺伝子多型との関連性が認められるかどうかについて研究を進める。

また、olmesartanについては、pravastatinとの併用投与が臨床上行われうるケースが多いことから、olmesartan、pravastatinの単回投与時ならびにpravastatin、olmesartan併用投与時の血中濃度推移を、OATP1B1の遺伝子多型により層別化して検討する健康人ボランティアを対象としたクロスオーバー試験を企画した。

<2008年度の成果>

1. *in vitro*実験に基づくヒトにおけるpravastatinの体内動態予測モデルの構築・シミュレーション

Pravastatinは、主に肝臓より、また一部が腎臓より未変化体として胆汁排泄される薬物である。本薬物は水溶性が高く、その膜透過過程には一連のトランスポーターの関与が示唆されている。肝取り込み過程においてはOATP1B1、胆汁排泄過程についてはMRP2の関与が示唆されている。また近年、これらトランスポーターの遺伝子多型により、pravastatinの血中濃度に変動が出る報告がされているが、薬効については論文により異なった結果が得られている。Pravastatinの薬効標的は肝臓内のHMG-CoA還元酵素であることから、薬効を規定する要因としては、肝臓内濃度が重要であるが、ヒトにおいて肝臓内の薬物濃度を見積もるのは容易ではない。そこで、本研究では、pravastatinのヒトにおける体内動態の予測モデルの構築・各分子の機能変化が動態に与える影響のシミュレーションを目的とした。

まず、臓器内濃度が測定可能なラットを用いて、遊離肝細胞を用いた肝取り込み・S9画分を用いた肝代謝、胆管側膜ベシクル(CMV)を用いた胆汁排泄の各素過程の速度論パラメータを*in vitro*実験により評価し、それらのデータを元に生理学的薬物速度論のコンセプトに基づき全身モデルを構築して、血中・臓器中濃度のシミュレーションを行なった。その結果、*in vitro*実験の結果に適当なscaling factorを乗じたデータをモデルの中で用いることで、投与量依存的な血漿中ならびに肝臓中濃度の時間推移を良好に予測することができた。一方、ヒト凍結肝細胞やヒトCMVのデータを元にヒトにおける予測モデルも同様に構築し、良好に静脈内投与および経口投与後の血漿中濃度推移を再現できるモデルが完成した。さらに、取り込みトランスポーターの機能低下をモデル上でシミュレーションした結果、血漿中濃度の有意な上昇は見られたが、肝臓中濃度は血漿中濃度の上昇ほどは影響を受けないことが示唆された。この結果は、ヒト臨床研究で、OATP1B1*15多型(機能低下を引き起こす)をもつヒトで、pravastatinの効果に大きな差が見られないとする過去の臨床研究の結果と合致するものである。

2. アンジオテンシンII受容体拮抗薬telmisartan、olmesartanの血中

濃度に与える薬物トランスポーターおよび代謝酵素の遺伝子多型の影響

過去の治験などで得られた、薬物動態関連遺伝子のゲノム解析を将来的に行うことに対し同意を得ているヒトのゲノムサンプルを用いて、telmisartan, olmesartan の血漿中濃度と各種トランスポーターおよび代謝酵素の遺伝子多型との関連を探索した。その結果、telmisartan については、主な肝取り込みトランスポーターである OATP1B3 の遺伝子多型 (T334G, G699A) との間の相関は認められなかった一方、抱合酵素である UGT1A1 の多型との間に相関が認められ、現在、その原因について検討中である。一方、olmesartan については、OATP1B1 の一部の遺伝子多型と薬物動態の間に一定の相関が解析の結果から認められたとする preliminary な結果を持っており、今後より詳細に解析を進めていく予定である。

3. olmesartan と pravastatin の単剤ならびに併用投与時における血中濃度推移の変動ならびに OATP1B1 遺伝子型が血中濃度推移に与える影響に関する臨床研究

Olmesartan と pravastatin の単剤投与時における血中濃度と同時に併用投与したときの血中濃度を比較したところ、両薬剤とも血中濃度推移には影響が見られなかったことから、これら薬剤は臨床における使用において、薬物動態学的な相互作用はおきないことが実証された。これは、両薬剤が OATP1B1 (1B3) を介して肝取り込みされていることが既にヒト肝細胞を用いた当研究室の検討から明らかにされていること、さらには、両者の蛋白非結合型薬物の血漿中濃度と OATP1B1, OATP1B3 の K_m , K_i 値を比較すると、薬物濃度の方が K_m , K_i 値よりはるかに低い濃度であることから考えても妥当性のある結果であるといえる。さらに、OATP1B1 の遺伝子多型との関連について調べたところ、olmesartan については、OATP1B1*15 アレル保持者における血中濃度は、*1b アレル保持者と比較して血漿中濃度が高い傾向が示された。一方、pravastatin については、本試験では、過去の試験と異なり *1b, *15 アレル保持者間で有意な血漿中濃度の差は観察されなかったが、pravastatin のエピマーで、生体内で低 pH 条件下で非酵素的に産生される事が想定されている RMS-416 と pravastatin の濃度の和について層別化したところ、*1b 保持者より *15 保持者において血漿中濃度が有意に高値を示した。

<国内外での成果の位置づけ>

薬物トランスポーターの遺伝子多型に関する臨床研究については、当研究室が世界に先駆けて、薬物 (pravastatin) の血漿中濃度推移に OATP1B1 の遺伝子多型が影響を及ぼすことを示して以来、現在、世界各国の複数のグループで薬物トランスポーターの遺伝子多型と薬物動態・薬効・副作用との関連を探索する臨床研究が急増しているのが現状である。しかしながら、当研究の特色は、単にヒト臨床試験の実施にとどまらず、in vitro 実験の結果も踏まえて、分子の機能変化の視点からヒト体内動態予測モデルの構築を行い、定量的に臨床試験の結果を説明することまでを研究目標としており、これまで一貫して数理モデルを用いた薬物動態予測を研究してきた当グループならではの独自性のある研究が展開できると考えている。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

年度初めに計画した 2008 年の実験計画は概ね実行できており、達成度は高いと考えている。ロスバスタチンの薬物動態・効

果と薬物トランスポーターの遺伝子多型との関連を探索する臨床研究については、クリニック・九州大学・東京大学共に倫理委員会の承認を得られており、薬の提供体制が整え次第、試験を開始できる体制にあるが、会社と大学間の共同研究契約の条文に関するすり合わせに時間を要しており、試験を実施できない状況にある。ただ、本問題は近日中に解決する見込みであり、共同研究契約が成立次第、順次臨床研究を実施することが出来ると考えている。

<今後の課題>

前述のロスバスタチンの薬物動態・効果と薬物トランスポーターの遺伝子多型との関連を探索する臨床研究については、実施体制が整い次第、すぐに臨床研究を行う予定である。さらに今後は、各トランスポーターのプローブ薬を用いた体内動態を支配するトランスポーター機能のフェノタイプング法の確立へ向けた臨床研究を進めると共に、in vitro 実験から in vivo 薬物動態を予測できる方法論のさらなる確立・実証へ向けた研究を展開する予定である。また、PET リガンドを用いた臓器中濃度の測定を通じて、ヒトにおいて直接非侵襲的に臓器への薬物の取り込み・排泄の素過程を観察できる実験系を構築し、薬物トランスポーターの遺伝子多型が薬物の挙動の素過程の変動に与える影響を定量的に調べるための臨床研究の実施基盤を作成する。

また、高脂血症薬については、これまでに報告されてきた薬物動態・薬効関連遺伝子の遺伝子多型と、実際の患者さんにおける治療効果・副作用の履歴との間の相関を複数の病院において調べるために臨床試験ならびに薬剤誘導性肝障害を発症した患者に対して、過去に報告がある肝障害に関連する複数の遺伝子多型について調べることにより、肝障害のリスクファクターとなる遺伝子多型を臨床現場において同定することを目的とした試験についても企画する予定である。

<成果公表リスト>

- 1) 論文/プロシーディング (査読有)
 1. 0811201457 (原著論文) Watanabe, T., Kusahara, H., Maeda, K., Shitara, Y. and Sugiyama, Y. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Predict Transporter-mediated Clearance and Distribution of Pravastatin in Humans. *J Pharmacol Exp Ther*, in press (2008).
 2. 0901172339 (原著論文) Suwannakul, S., Ieiri, I., Kimura, M., Kawabata, K., Kusahara, H., Hirota, T., Irie, S., Sugiyama, Y., and Higuchi, S. Pharmacokinetic interaction between pravastatin and olmesartan in relation to SLCO1B1 polymorphism. *J Hum Genet*, 53(10), 899-904 (2008).
- 2) 総説
 3. 0811201509 (総説 (査読有)) Maeda, K. and Sugiyama, Y. Impact of genetic polymorphisms of transporters on the pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicological properties of anionic drugs. *Drug Metab Pharmacokinetic*, 23, 223-35 (2008)