

# 博士論文

複数要因が及ぼす医薬品体内動態への  
影響を予測する新規基盤システム  
に関する研究

平成 30 年度

小 西 健 太 郎



## 目次

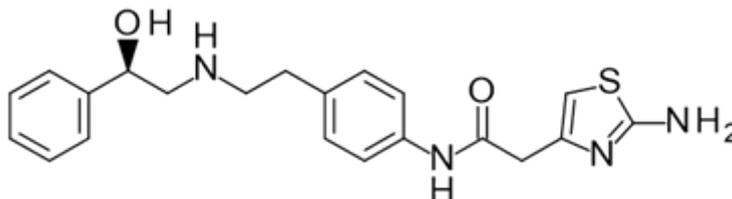
序論	1
第 I 章 ミラベグロン <i>O</i> -グルクロン酸抱合体生成に関与するヒト UGT 分子種の同定	4
第 1 節 緒言	4
第 2 節 実験材料および実験方法	5
I-2-i) 化合物および試薬	5
I-2-ii) ヒト肝マイクロゾームおよび各ヒト UGT 分子種発現系を用いたミラベグロンのグルクロン酸抱合活性測定	6
I-2-iii) 解析方法	7
I-2-iv) ヒト UGT 分子種発現系を用いた M11 生成活性の評価	8
I-2-v) 個別ヒト肝マイクロゾームにおける M11 生成活性とヒト UGT 分子種の指標基質に対するグルクロン酸抱合活性との相関性	9
I-2-vi) ヒト UGT 分子種阻害剤を用いた M11 生成活性の評価	9
I-2-vii) ヒト肝マイクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系を用いた薬物速度論解析	9
第 3 節 結果	10
I-3-i) ヒト UGT 分子種発現系を用いた M11 生成活性の評価	10
I-3-ii) 個別ヒト肝マイクロゾームにおける M11 生成活性とヒト UGT 分子種の指標基質に対するグルクロン酸抱合活性との相関性	12
I-3-iii) ヒト UGT 分子種に対する阻害剤を用いた M11 生成活性の評価	14
I-3-iv) ヒト肝マイクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系を用いた薬物速度論解析	14
第 4 節 考察	16
第 5 節 まとめ	20
第 II 章 ミラベグロンの各消失経路を考慮した健康成人における血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測する新規基盤システムの活用	21
第 1 節 緒言	21
第 2 節 解析方法	23
II-2-i) 生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定	23
II-2-ii) 生理学的薬物速度論モデルの検証	26
II-2-iii) 生理学的薬物速度論モデルの活用	26
第 3 節 結果	28
II-3-i) 生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定	28
II-3-ii) 生理学的薬物速度論モデルの検証	35
II-3-iii) 生理学的薬物速度論モデルの活用	37

第4節 考察 .....	39
第5節 まとめ .....	43
第III章 腎障害による各消失経路の機能変動を考慮した腎障害患者におけるミラベグロ ンの血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測する新規基盤システムの活用 .44	
第1節 緒言 .....	44
第2節 解析方法 .....	46
III-2-i) 腎障害による UGT2B7 タンパク発現量の変動 .....	46
III-2-ii) 腎障害による BChE 活性の変動 .....	47
III-2-iii) 腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込 むパラメータの設定および検証 .....	48
III-2-iv) 腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルの活用 .48	
第3節 結果 .....	49
III-3-i) 腎障害による UGT2B7 タンパク発現量の変動 .....	49
III-3-ii) 腎障害による BChE 活性の変動 .....	52
III-3-iii) 高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組 み込むパラメータの設定および検証 .....	54
III-3-iv) 高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルの活 用 .....	56
第4節 考察 .....	59
第5節 まとめ .....	62
総括 .....	63
本研究の誌上発表 .....	69
謝辞 .....	70
参考文献 .....	71

## 構造および略号

### 物質名および化学構造

Mirabegron, ミラベグロン



### 略号表

本論文においては以下の略号を用いた。

ADAM:	advanced dissolution, absorption, and metabolism
AUC:	area under the curve
AUC <sub>inf</sub> :	AUC extrapolated to infinity
AUC <sub>τ</sub> :	AUC in dosing interval
BA:	bioavailability
BChE:	butyrylcholinesterase
BID:	two times a day
BMI:	body mass index
B/P ratio:	blood-to-plasma partition ratio
CL <sub>cr</sub> :	creatinine clearance
CL <sub>int</sub> :	intrinsic clearance
CL <sub>po</sub> :	oral clearance
CL <sub>r</sub> :	renal clearance
C <sub>max</sub> :	maximum concentration
CYP:	individual form of cytochrome P450
DDI:	drug drug interaction

DMSO:	dimethylsulfoxide
E:	residual activity
eGFR:	estimated GFR
EM:	extensive metabolizer
$E_{\max}$ :	maximum of residual activity
$E_{\min}$ :	minimum of residual activity
$F_a$ :	fraction absorbed
FDA:	Food and Drug Administration
$F_h$ :	fraction escaping from liver metabolism
$f_{u,p}$ :	fraction unbound in plasma
$f_{u,gut}$ :	unbound fraction of drug in enterocytes
GFR:	glomerular filtration rate
HLM:	human liver microsome
HPLC:	high-performance liquid chromatography
HV:	healthy volunteers
I:	inhibitor concentration
$IC_{50}$ :	Inhibitor concentration showing the half-formation activity
IVIVE:	in vitro-in vivo extrapolation
$k_a$ :	first-order absorption rate constant
$K_{app}$ :	concentration of mechanism-based inhibitor associated with half maximal inactivation rate
$K_i$ :	concentration of inhibitor that supports half maximal inhibition
$K_{inact}$ :	inactivation rate of the enzyme
$K_m$ :	Michaelis-Menten constant
LC-MS/MS:	liquid chromatography-tandem mass spectrometry
LogP:	octanol/water partition coefficient
M11:	<i>O</i> -glucuronide of mirabegron
M13:	carbamoyl-glucuronide of mirabegron
M14:	<i>N</i> -glucuronide of mirabegron
MW:	molecular weight
$m/z$ :	mass-to-charge ratio

OCAS:	oral controlled absorption system
OCT:	organic cation transporter
PBPK:	physiologically based pharmacokinetics
PK:	pharmacokinetics
pK <sub>a</sub> :	acid dissociation constant
PM:	poor metabolizer
Q:	inter-compartmental clearance between systemic and single adjusting compartments
QD:	once a day
Q <sub>gut</sub> :	a nominal flow in gut model
QID:	four times a day
QOL:	quality of life
r:	correlation efficient
r <sup>2</sup> :	coefficient of determination
rhUGT:	recombinant human UGT
S:	substrate concentration
SD:	standard deviation
sRI:	severe renal impairment
TID:	three times a day
T <sub>max</sub> :	the time of C <sub>max</sub>
t <sub>1/2</sub> :	the elimination half-life
UDP:	uridine 5'-diphosphate
UDPGA:	UDP-glucuronic acid
UGT:	UDP-glucuronosyltransferase
V <sub>max</sub> :	maximum velocity
V <sub>sac</sub> :	distribution volume at single adjusting compartment
V <sub>ss</sub> :	distribution volume at steady state

## 序論

医療現場における患者の人種，年齢，病態および併用薬は極めて多様であり，臨床試験ならびに実臨床段階では，全ての患者背景を考慮した安全性を評価することはできない。医薬品には経口投与後，吸収，分布，代謝および排泄過程があり，特に代謝および排泄経路が複数存在する医薬品の多様な患者背景がもたらす体内動態への影響は複雑であり予測も困難であった（図1）。

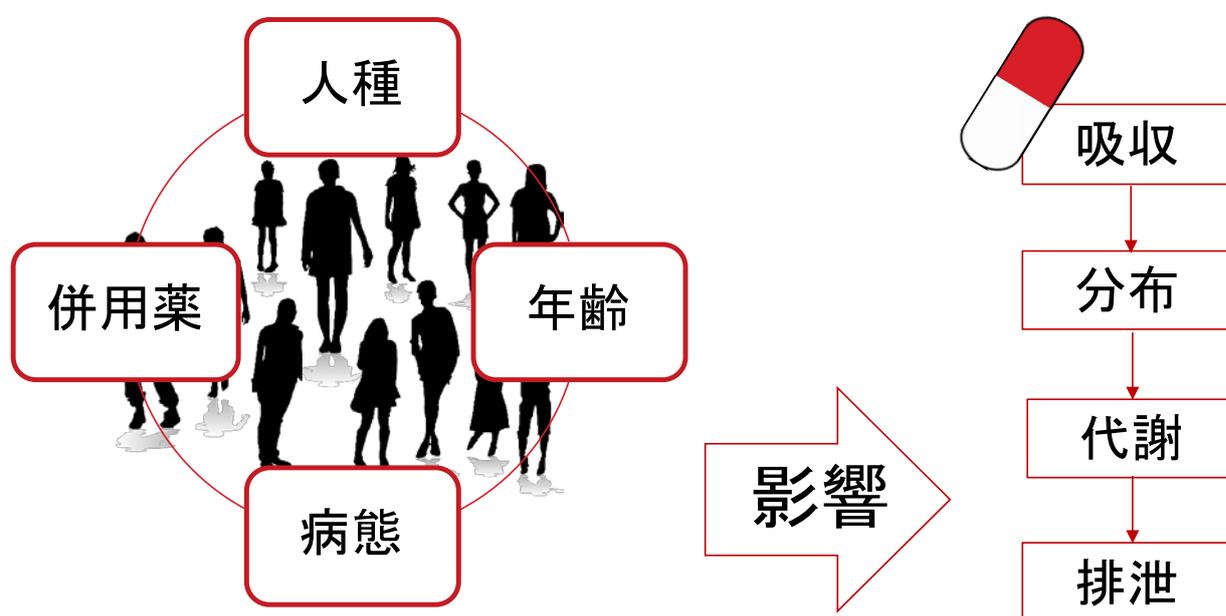


図1. 医薬品の代謝および排泄過程に影響を及ぼす多様な患者背景

これら諸問題を解決すべく，本研究においては，医療現場でのより安全な医薬品の使用に向けて，実際の患者背景を考慮でき，複数要因が及ぼす医薬品体内動態への影響を予測する新規基盤システムの活用を目的とした。本研究におけるモデル化合物として，体内からの代謝および排泄経路が複数存在する過活動膀胱治療薬ミラベグロンを選択した。

ミラベグロンは，アステラス製薬株式会社において研究および開発された世界初の選択的 $\beta_3$ アドレナリン受容体作動薬である。2011年7月に日本において，2012年6および12月に米国および欧州において，「過活動膀胱における尿意切迫感，頻尿および切迫性尿失禁」の効能および効果で製造販売承認され，国内ではベタニス<sup>®</sup>，米国ではミラベトリック<sup>®</sup>，

欧州ではベットミガ®の商品名でアステラス製薬株式会社より販売されている。過活動膀胱とは、尿意切迫感があり、しばしば頻尿を伴い、ときに切迫性尿失禁をきたす疾患であり、QOLを著しく低下させ、患者自身のみならず、その周りの家族や介護者などまで負担を強いる疾患である。疫学調査の結果から、日本では40歳以上の男女の8人に1人（12.4%）が過活動膀胱の症状を有していることが報告され、実際の患者数は810万人にもものぼると言われている（本間ら、2003）。米国においても、女性の16.9%、男性の16.0%が過活動膀胱の症状を有すると報告され（Stewart et al., 2003）、さらに過活動膀胱患者の半数以上が何らかの生活の質に影響を及ぼしていると回答している（Milsom et al., 2001）。過活動膀胱は潜在的な排尿筋過活動状態に起因していると考えられることから、その治療には膀胱収縮抑制作用を有するムスカリン受容体拮抗薬が広く用いられている。しかし、ムスカリン受容体が膀胱以外の唾液腺、腸管および毛様体筋などにも存在し、機能的役割も伴っているため、口内乾燥、便秘および霧視などの副作用を伴うことがあること（日本排尿機能学会、2005）、ムスカリン受容体拮抗薬の膀胱収縮抑制作用による排尿困難、残尿量の増加および尿閉などの副作用も懸念されることから、過活動膀胱治療薬として既存薬剤と同等以上の効果を示し、これら副作用の発現率が低い薬剤の開発が望まれてきた（山口、2009）。ミラベグロンは、膀胱平滑筋に存在する $\beta_3$ アドレナリン受容体に作用する新規作用機序を有し、膀胱弛緩作用により膀胱容量を増大させる一方、排尿期の膀胱収縮力には影響を及ぼしにくいことが示唆されている（Takasu et al., 2007; Yamaguchi et al., 2007）。臨床第3相試験において、ミラベグロンとして1日1回25 mgまたは50 mg経口投与することで過活動膀胱における尿意切迫感、頻尿および切迫性尿失禁への優れた有効性および安全性が確認された（Herschorn et al., 2013; Khullar et al., 2013; Nitti et al., 2013; Yamaguchi et al., 2014）。ミラベグロンは販売以来、過活動膀胱の新たな治療選択肢としての評価を得ており、2018年3月時点における発売国は日本、米国、欧州およびアジア・オセアニアを含む約50カ国である。

このように、ミラベグロンは過活動膀胱に対する治療において重要な薬剤であるが、QOLを向上させるための薬剤であるため、特に高い安全性が求められる。これまで、臨床試験

において、健康成人および高齢者においてミラベグロン単剤を経口単回および反復投与した際の忍容性が検討されてきた (Krauwinkel et al., 2012)。加えて、健康成人における薬物間相互作用や肝障害・腎障害による影響など様々な変動要因によるミラベグロンの体内動態への影響が検討されてきた (Lee et al., 2013; Dickinson et al., 2013)。これらの情報は、ミラベグロンを安全に使用するために重要である一方、限られた被験者群において実施された臨床試験であるため、実際の医療現場で見られるような患者背景は考慮されていない。そこで本研究では、ミラベグロン代謝について病態および併用薬から受ける複雑な影響を予測する新規基盤システムの活用を目指し、まず第 I 章では、ミラベグロンのヒト体内動態を制御する代謝酵素として、これまで未検討であったヒト UGT 分子種を同定した。第 II 章では、新規基盤システムとして生理学的薬物速度論に基づいた数理モデル (生理学的薬物速度論モデル) を選択し、第 I 章で明らかになったミラベグロンの消失経路の全体像を考慮した健康成人におけるミラベグロンの血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測する生理学的薬物速度論モデルを示した。健康成人における生理学的薬物速度論モデルを活用することで、臨床試験では検討をしていない薬剤との薬物間相互作用を予測することが初めて可能となった。第 III 章では、患者が有する疾患の中で、特に体内動態へ与える影響が複雑なため予測を困難にしている腎障害に着目し、健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに腎障害による生体の機能変動を新たに組み込み、腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移を予測する生理学的薬物速度論モデルを示した。腎障害患者における生理学的薬物速度論モデルを活用することで、臨床試験では検討が困難な腎障害患者における薬物間相互作用を予測でき、病態および作用薬または被作用薬相互の複合的な影響を薬物血中濃度の変動の視点から予測することを初めて可能にした。本研究における新規基盤システムの活用例は、ミラベグロンに限らず適用でき、実際の医療現場における患者の人種、年齢、病態および併用薬による様々な影響を考慮した医薬品体内動態を予測し、より安全な医薬品の使用に貢献するものと強く期待される。以上、本研究において、複数要因が及ぼす医薬品体内動態への影響を予測する新規基盤システムとその活用例を示したので以下に詳述する。

## 第 I 章 ミラベグロン *O*-グルクロン酸抱合体生成に関与するヒト UGT 分子種の同定

### 第 1 節 緒言

健康な白人成人男性 4 例（年齢：19～35 歳，身長：174～181 cm，体重：65.6～85.7 kg，BMI：21.7～26.7 kg/m<sup>2</sup>）に <sup>14</sup>C 標識ミラベグロン 160 mg を溶液として単回経口投与した結果，血漿中においてミラベグロンの未変化体が最も多く検出され，その AUC<sub>inf</sub> は血漿中総放射能の 22% に相当した（Takusagawa et al., 2012b）。投与後 408 時間までの放射能の平均累積排泄率は，尿中に 55.0%，糞中に 34.2%，総計で 89.2% であった。尿中に認められた放射能としては，約 25% が未変化体，約 30% が代謝物であり，糞中に認められた放射能はほぼ未変化体であった。尿中に認められた放射能の半分以上が代謝物であったことから，ミラベグロンの体内からの消失において代謝が大きな役割を果たしていることが示唆された。尿中に認められた代謝物から，ミラベグロンはアミドの加水分解（6.6% of dose in urine at 0 - 48 h），グルクロン酸抱合（3.2% of dose in urine at 0 - 48 h），二級アミンの酸化又は *N*-脱アルキル化（2.5% of dose in urine at 0 - 48 h）が主代謝経路と考えられた。これまでの検討から，アミドの加水分解には BChE が，二級アミンの酸化又は *N*-脱アルキル化には CYP3A4 および CYP2D6 の関与が同定されてきた（Takusagawa et al., 2012c）。

ヒトにおいて，ミラベグロンの直接グルクロン酸抱合代謝物として *O*-グルクロン酸抱合体（M11），カルバモイルグルクロン酸抱合体（M13）および *N*-グルクロン酸抱合体（M14）が認められた（Takusagawa et al., 2012b）。これら直接グルクロン酸抱合代謝物の中で，ヒトにミラベグロンを 25～100 mg 経口反復投与した後の血漿中および尿中においては，M11 が最も多く認められた（Krauwinkel et al., 2012）。血漿中における M11 の暴露量はミラベグロンに関連する総ての物質の暴露量の 17% に相当し，日米欧医薬品規制調和国会議 M3（R2）の基準（European Medicines Agency, 2009）からミラベグロンの主代謝物の 1 つとして同定されている。一方，M13 および M14 の暴露量に関しては，ミラベグロンに関連する総ての物質の暴露量のそれぞれおよそ 1% および 6% に相当し（Krauwinkel et al., 2012），マイナー

な代謝物と考えられた。しかしこれらの、抱合体生成に関与するヒト UGT 分子種については同定されていなかった。そこで本章では、ミラベグロンの代謝経路の全体像を明らかにするため、ミラベグロンのグルクロン酸抱合代謝、その中でも M11 生成に関与するヒト UGT 分子種の同定を行った。

## 第 2 節 実験材料および実験方法

### I-2-i) 化合物および試薬

ミラベグロン、M11 および M11 濃度測定に用いた内部標準物質 (Internal standard, YM-9674146) はアステラス製薬株式会社において合成された (Fig. I-1)。ヒト肝マイクロゾーム (n=50, 男女混合) およびリアクションフェノタイプングキット (UGT1A1, UGT1A4, UGT1A9 および UGT2B7 の活性既知の 16 個体の個別ヒト肝マイクロゾーム) は XenoTech 社より購入した。バキュロウィルス感染昆虫細胞由来各種ヒト UGT 分子種 (UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, UGT1A10, UGT2B4, UGT2B7, UGT2B10, UGT2B15 および UGT2B17) の cDNA 発現系 (各種ヒト UGT 分子種発現系) は BD Biosciences 社より購入した。UGT reaction mix solution A および B は BD Biosciences 社より購入した。メフェナム酸およびプロポフォールはそれぞれ Sigma-Aldrich 社および関東化学株式会社より購入した。その他の試薬および溶媒は HPLC 用, 分析用あるいは特級品の市販品を用いた。

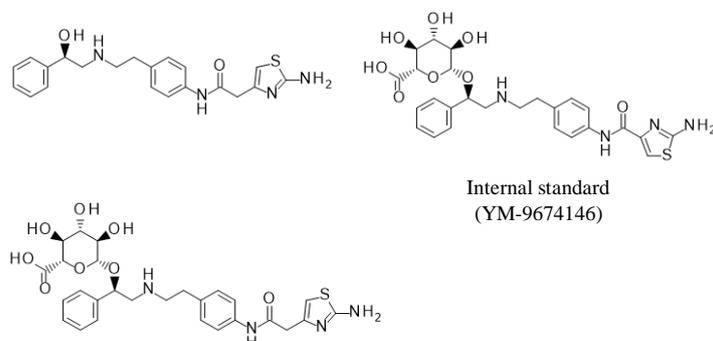


Fig. I-1. Chemical structure of mirabegron, M11, and internal standard (YM-9674146).

## I-2-ii) ヒト肝ミクロゾームおよび各ヒト UGT 分子種発現系を用いたミラベグロンのグルクロン酸抱合活性測定

ヒト肝ミクロゾームあるいは各種ヒト UGT 分子種発現系（最終濃度として 1.0 mg protein/mL）を酵素源として、50 mM Tris-HCl バッファー (pH 7.5), UDPGA (2 mM) および alamethicin (25 µg/mL) 存在下で、ミラベグロンを 37 °C, 120 分間反応させた。最終反応液量は 200 µL とし、各実験を n=3 で実施した。DMSO に溶解させたミラベグロンを最終濃度として、薬物速度論パラメータ ( $K_m$ ,  $V_{max}$  および  $CL_{int}$ ) の算出時においては 1~1000 µM, その他の代謝試験においては 100 µM に設定した。以下に詳細な手順を記す。1) UDPGA を除く反応溶液に 1 µL のミラベグロン溶液を添加し、氷上に静置させた。2) その後、37 °C で 10 分間インキュベーションさせた後、UDPGA を添加して反応を開始させた。3) 120 分後、2 mL の *tert*-butylmethylether を添加することで反応を停止させ、5 °C で 15 分間遠心分離した (1,870 g)。4) 上清 (有機層) を取り除いた後、水層 100 µL に 1 µg/mL の内部標準物質 40 µL を加え、よく攪拌した。5) 膜フィルターを用いた濾過後、濾液 5 µL を HPLC (LC-20AD, 株式会社島津製作所) にトリプル四重極質量分析計 (4000QTRAP, AB Sciex 社) を接続した LC-MS/MS システムに注入し、Teijlingen らの報告を参考にポジティブイオンモードにて M11 濃度を測定した (Teijlingen et al., 2012)。M11 および内部標準物質のマトリクス成分からの分離は、Synergi Fusion-RP (150 mm × 2.0 mm 内径, 粒子径 = 4 µm; Phenomenex 社) に SecurityGuard Standard, Fusion-RP (4 mm × 2.0 mm 内径; Phenomenex 社) を接続させたカラムを用いて行った。移動相には、75 mM 酢酸アンモニウム : 0.15% ギ酸 : 精製水 (1:1:8, v/v/v) (移動相 A) とアセトニトリル (移動相 B) を用いた。カラムは 40 °C に保ち、流速は 0.5 mL/min に設定した。移動相の勾配は、注入後 0 min から 4 min まで移動相 B の割合を 20% から 40% まで直線的に上昇させ、4.01 min から 5 min まで移動相 B の割合を 20% と一定とした。反応モニタリングイオンは、M11 に対して  $m/z$  が 573.1 の前駆イオンから 146.1 の生成イオンを、内部標準物質に対して  $m/z$  が 559.1 の前駆イオンから 246.0 の生成イオンを選択し、保持時間はそれぞれおよそ 1.8 分と 2.5 分であった。得られたクロマトグラムは Analyst version 1.5 (AB Sciex 社) を用いて解析し、濃度

既知の M11 標品について基準面積を算出することで代謝反応により生成した M11 濃度を算出した。

#### I-2-iii) 解析方法

ヒト肝ミクロゾームおよび各種ヒト UGT 分子種の M11 生成活性は以下の式から算出した。

M11 formation activity (pmol/min/mg protein)

= M11 concentration (ng/mL) / M11 molecular weight (free form) / reaction time (min) / final protein concentrations in reaction mixtures (mg protein/mL) × 1000

I-2-vi における M11 生成活性の残存率は、以下の式から算出した。

Residual activity of M11 formation (%)

= [M11 formation activity at each inhibitor concentration / M11 formation activity in control samples] × 100

IC<sub>50</sub> 値は、Phoenix<sup>®</sup> WinNonlin<sup>®</sup> 6.1 (Certara 社) を用いて、M11 生成活性の残存率と添加した阻害剤濃度の関係を式 1 にフィッティングすることで算出した。M11 生成活性の残存率が高く、IC<sub>50</sub> 値が算出できない、または算出された IC<sub>50</sub> 値が検討した阻害剤濃度範囲を超えた場合は、IC<sub>50</sub> 値を検討した阻害剤濃度の最大値より大きいとした。

$$E = E_{\min} + (E_{\max} - E_{\min}) / \{1 + ([I] / IC_{50})^{\text{hill coefficient}}\} \quad \dots \text{式 1}$$

I-2-vii における M11 生成活性に関する薬物速度論パラメータ (K<sub>m</sub> および V<sub>max</sub>) は、Phoenix<sup>®</sup> WinNonlin<sup>®</sup> 6.1 (Certara 社) を用いて、Michaelis-Menten 式 (式 2) にフィッティ

ングすることで非線形回帰により算出した。

$$V = V_{\max} \times [S] / (K_m + [S]) \quad \dots \text{式 2}$$

基質濃度 ([S]) が  $K_m$  値と比較して十分に低いとき,  $CL_{\text{int}}$  は式 3 により計算でき, Microsoft Excel 2007 (Microsoft 社) を用いて算出した。

$$CL_{\text{int}} = V_{\max} / K_m \quad \dots \text{式 3}$$

#### I-2-iv) ヒト UGT 分子種発現系を用いた M11 生成活性の評価

13 種のヒト UGT 分子種発現系を用いて I-2-ii の方法に従い単位タンパクあたりの M11 生成活性を Table I-1 に示す既報の各種ヒト UGT 分子種のタンパク発現量で補正し (Sato et al., 2014), 単位 UGT タンパク発現量あたりの M11 生成活性を評価した。さらに, Table I-1 に示す既報のヒト肝ミクロゾーム中に発現している各種ヒト UGT 分子種のタンパク発現量を用いて (Sato et al., 2014), 単位ヒト肝ミクロゾームあたりの M11 生成活性として評価した。

**Table I-1. Protein levels of UGT isoformes in pooled HLMs and rhUGTs.**

UGT isoform	1A1	1A3	1A4	1A6	1A7	1A8	1A9	1A10	2B4	2B7	2B10	2B15	2B17
pooled HLM (pmol/mg protein)	135	11.7	80.0	26.4	ND	ND	57.5	ND	98.8	152	49.5	90.8	25.5
rhUGT (pmol/mg protein)	3740	1280	826	1980	1250	4500	1900	1960	883	2720	292	878	2860

ND: not detected

Note: These data are cited by Sato et al., 2014

I-2-v) 個別ヒト肝ミクロゾームにおける M11 生成活性とヒト UGT 分子種の指標基質に対するグルクロン酸抱合活性との相関性

16 個体の個別ヒト肝ミクロゾームを用いて反応溶液をそれぞれ調製し、I-2-ii の方法に従い単位タンパクあたりの M11 生成活性を測定した。得られた M11 生成活性と XenoTech 社から提供されている UGT1A1, UGT1A4, UGT1A9 および UGT2B7 の指標基質のグルクロン酸抱合活性との相関は、GraphPad Prism version 5 (GraphPad Prism 社) を用いて、直線回帰によって解析した。ピアソンの積率相関係数 ( $r$ )、決定係数 ( $r^2$ ) および  $p$  値を算出し、 $p$  値が 0.05 未満を統計的有意とした。

I-2-vi) ヒト UGT 分子種阻害剤を用いた M11 生成活性の評価

UGT2B7 阻害剤および UGT1A9 阻害剤としてメフェナム酸およびプロポフォールを用いた。プールドヒト肝ミクロゾームを用いて、0~100  $\mu\text{M}$  メフェナム酸(ヒト UGT2B7 阻害剤) および 0~100  $\mu\text{M}$  プロポフォール(ヒト UGT1A9 阻害剤)存在下、I-2-ii の方法に従い M11 生成速度を測定した。各阻害剤濃度添加時での M11 生成活性、および残存率と各阻害剤の  $\text{IC}_{50}$  値は I-2-iii の方法に従い算出した。

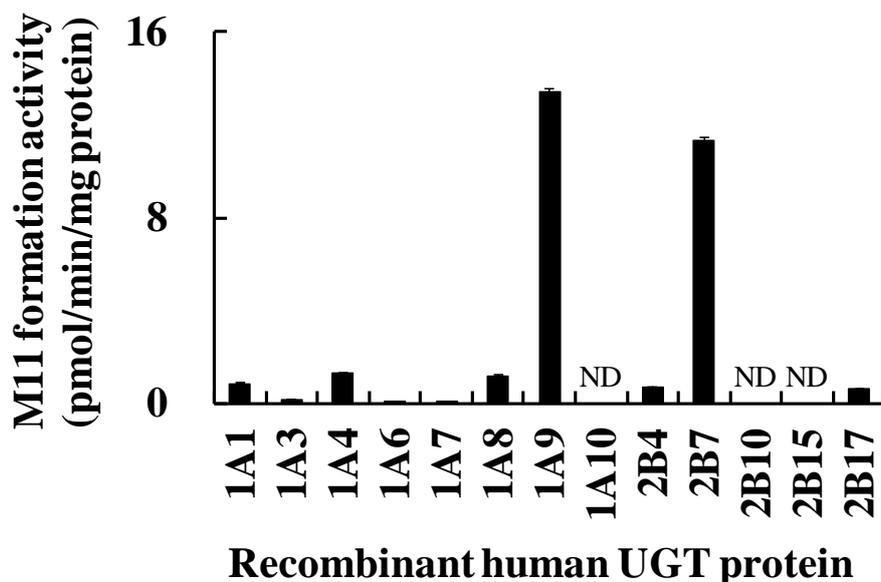
I-2-vii) ヒト肝ミクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系を用いた薬物速度論解析

ヒト肝ミクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系を酵素源として、0~1000  $\mu\text{M}$  ミラベグロン存在下で、速度論的解析を行った。単位タンパクあたりで算出された生成活性は既報のヒト肝ミクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系に発現している UGT2B7 のタンパク発現量で補正し (Sato et al., 2014), 単位 UGT タンパク発現量あたりの M11 生成活性として評価し、薬物速度論パラメータ ( $K_m$ ,  $V_{max}$  および  $CL_{int}$ ) を算出した。

### 第3節 結果

#### I-3-i) ヒト UGT 分子種発現系を用いた M11 生成活性の評価

検討した 13 種のヒト UGT 分子種発現系において、UGT1A9 および UGT2B7 でそれぞれ 13.4 pmol/min/mg protein および 11.3 pmol/min/mg protein と検討した分子種の中では高い M11 生成活性が認められた (Fig. I-2)。続いて、UGT1A4, UGT1A8, UGT1A1, UGT2B4, UGT2B17, UGT1A3, UGT1A7, UGT1A6 の順に高い M11 生成活性が認められたが、UGT1A10, UGT2B10 および UGT2B15 においては M11 生成活性が認められなかった。



**Fig. I-2. M11 formation activities per mg protein in rhUGTs. Each rhUGT (1 mg protein/mL) was incubated with 100  $\mu$ M mirabegron and 2 mM UDPGA at 37 °C for 120 min. Mean and SD of triplicate samples are represented. ND: not detected (< 0.0146 pmol/min/mg protein)**

上記で算出された M11 生成活性を既報の各種ヒト UGT 分子種の発現量で補正し (Sato et al., 2014), 単位 UGT タンパク発現量あたりの M11 生成活性として評価した結果を Fig. I-3 に示す。

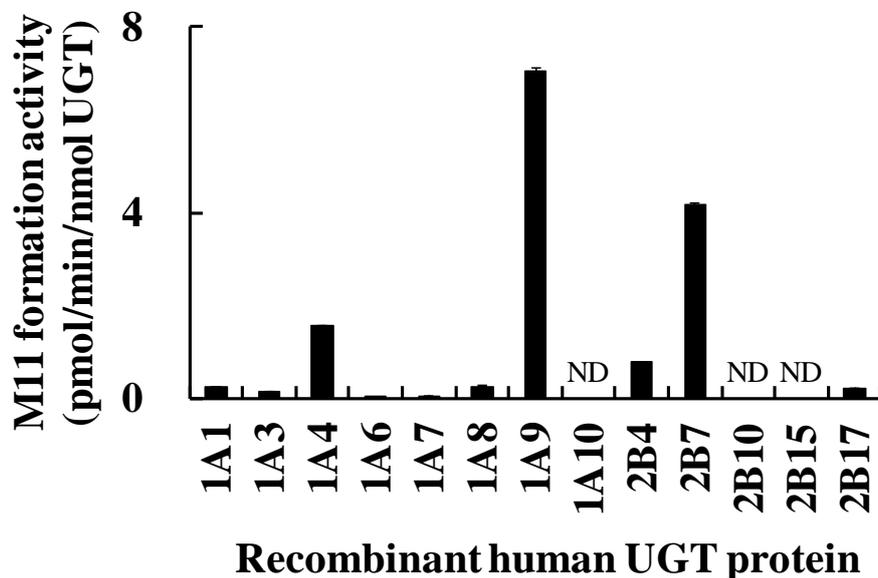


Fig. I-3. M11 formation activities per nmol UGT in rhUGTs. ND: not detected

さらに, 既報のヒト肝マイクロゾーム中の各種 UGT 分子種のマイクロゾームタンパクあたりの発現量を用いて (Sato et al., 2014), 単位ヒト肝マイクロゾームあたりの M11 生成活性として評価した結果を Fig. I-4 に示す。

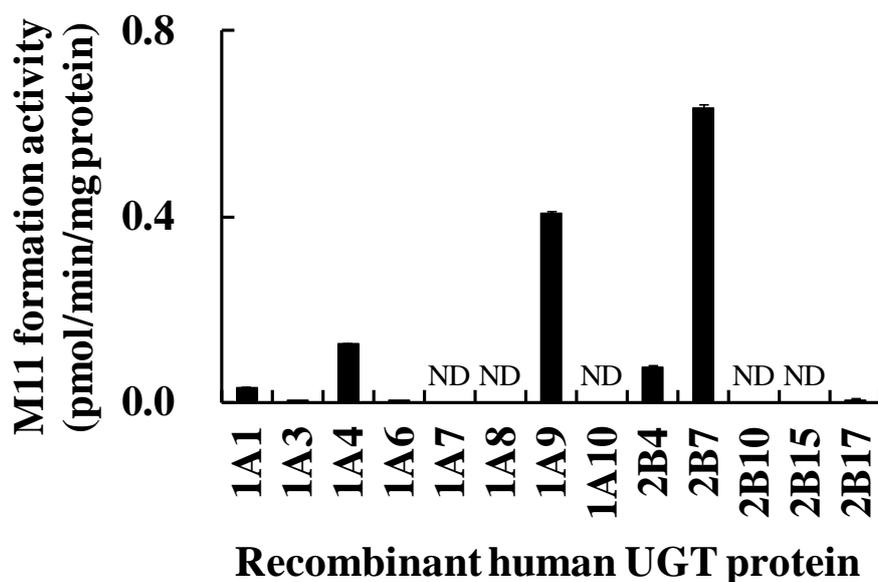
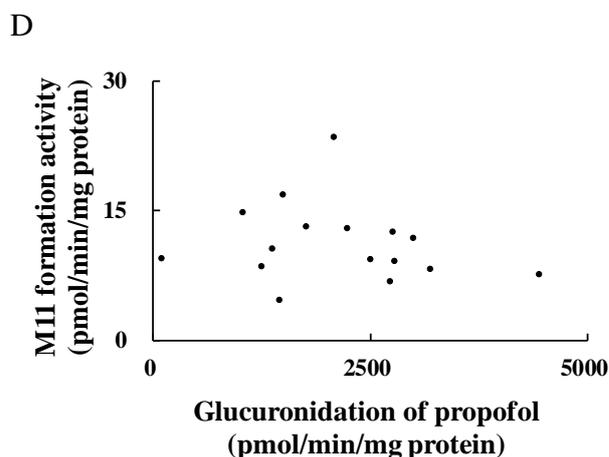
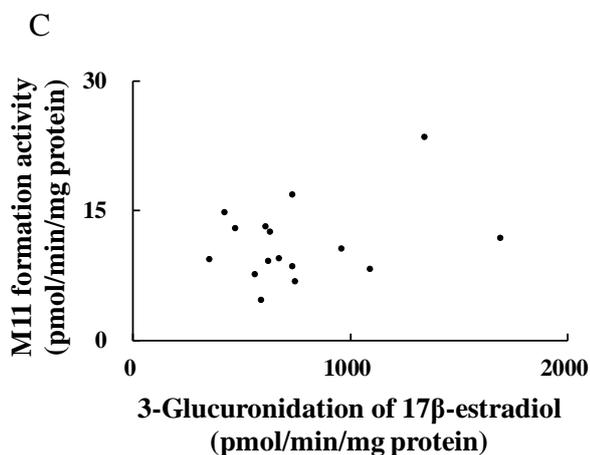
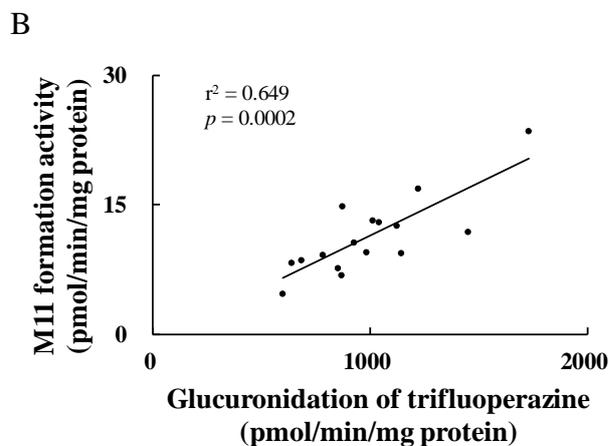
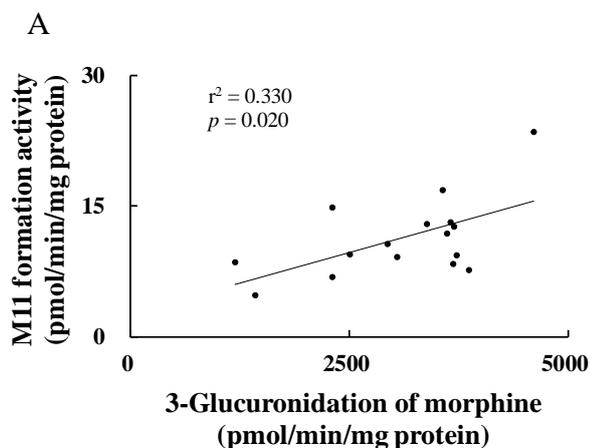


Fig. I-4. M11 formation activities per mg protein in HLMs. ND: not detected

以上の結果から、ヒト肝において M11 の生成には UGT2B7 が最も関与することが示唆され、続いて UGT1A9 であった。

I-3-ii) 個別ヒト肝マイクロゾームにおける M11 生成活性とヒト UGT 分子種の指標基質に対するグルクロン酸抱合活性との相関性

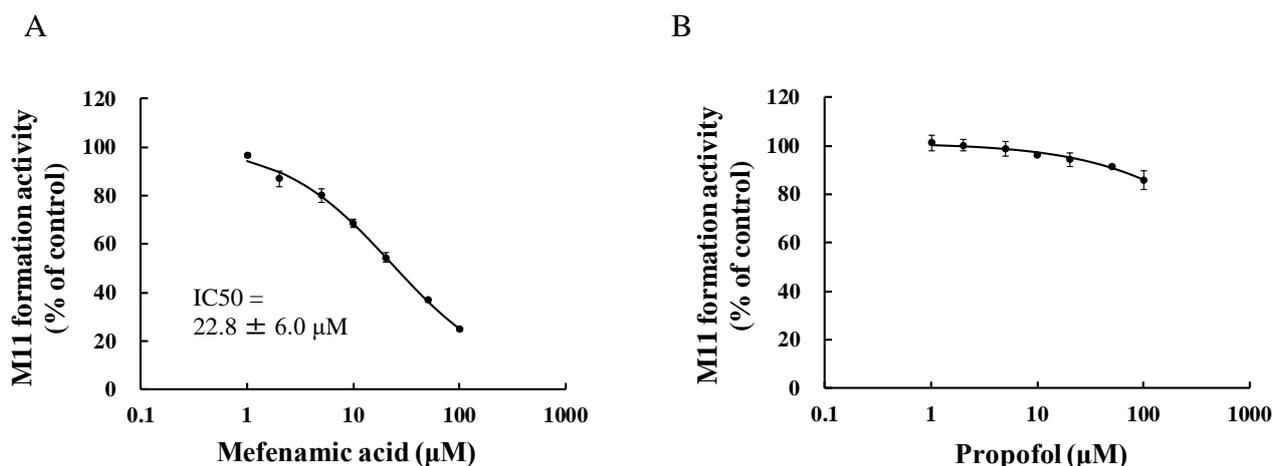
個別ヒト肝マイクロゾームにおける M11 生成活性と UGT2B7 の指標基質であるモルヒネの 3-*O*-グルクロン酸抱合活性 ( $r^2 = 0.330, p = 0.020$ ), および UGT1A4 の指標型基質であるトリフルオペラジンのグルクロン酸抱合活性 ( $r^2 = 0.649, p = 0.0002$ ) との間に有意な相関が認められた (Fig. I-5-A and B)。一方, M11 生成活性と UGT1A1 の指標基質である 17 $\beta$ -エストラジオールの 3-*O*-グルクロン酸抱合活性 ( $r^2 = 0.099, p = 0.235$ ), および UGT1A9 の指標基質であるプロポフォールのグルクロン酸抱合活性 ( $r^2 = 0.031, p = 0.511$ ) との間には相関が認められなかった (Fig. I-5-C and D)。



**Fig. I-5. Correlation between M11 formation activity and respective UGT marker enzyme activity in HLMs from 16 individual human livers. A, B, C, and D represent the correlation between M11 formation activity and UGT2B7, UGT1A4, UGT1A1, and UGT1A9 marker enzyme activity, respectively. Individual HLMs (1 mg protein/mL) were incubated with 100  $\mu$ M mirabegron and 2 mM UDPGA at 37 °C for 120 min. UGT marker enzyme activities were provided by the supplier, Xenotech, LLC. Data represent the mean of triplicate samples and lines are from linear regression analysis.**

### I-3-iii) ヒト UGT 分子種に対する阻害剤を用いた M11 生成活性の評価

ヒト肝ミクロゾームを用いた M11 生成活性は、メフェナム酸により濃度依存的に阻害され、 $IC_{50}$  値は  $22.8 \pm 6.0 \mu\text{M}$  と算出された (Fig. I-6, A)。一方、プロポフォールにより M11 生成活性は本実験設定条件下では阻害されず、 $IC_{50}$  値は  $100 \mu\text{M}$  より大きいことが示された (Fig. I-6, B)。

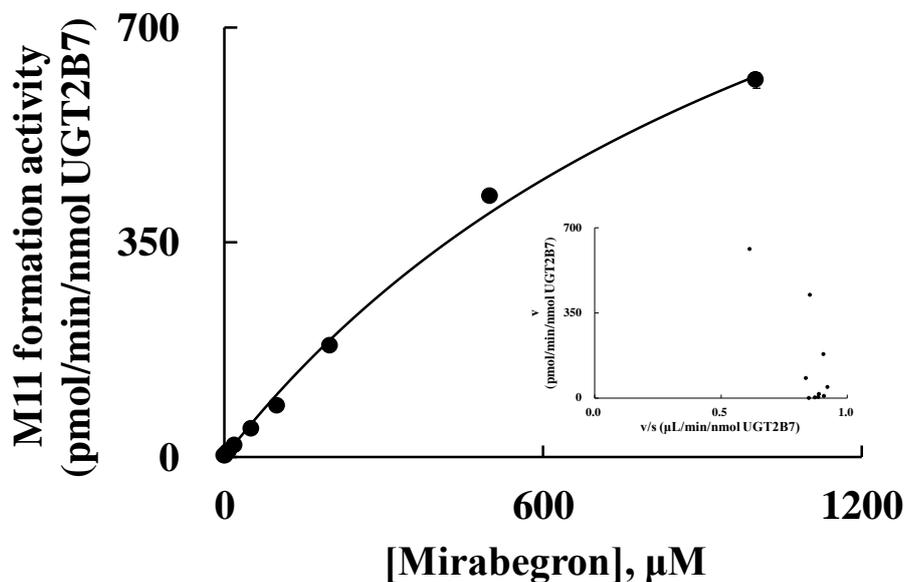


**Fig. I-6. Effect of mefenamic acid (A) and propofol (B) on M11 formations in pooled HLM. Pooled HLM (1 mg protein/mL) was incubated with 100  $\mu\text{M}$  mirabegron, UGT inhibitor, and 2 mM UDPGA at 37 °C for 120 min. Formation activity of each (% of control) represents mean and SD of triplicate samples.**

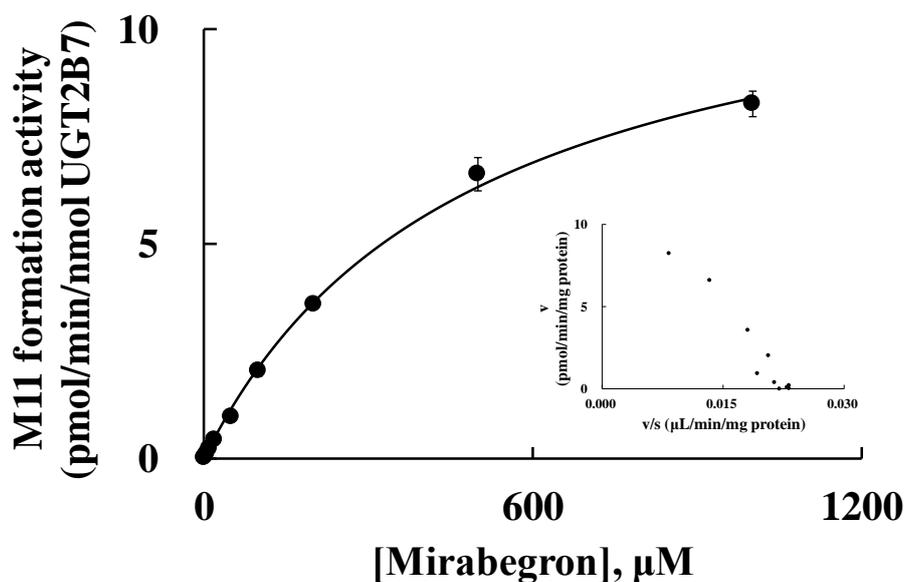
### I-3-iv) ヒト肝ミクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系を用いた薬物速度論解析

ヒト肝ミクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系を用いて算出された M11 生成活性を Michaelis-Menten 式にフィッティングした結果を Fig. I-7 に示す。ヒト肝ミクロゾームにおける  $K_m$  値は  $>1000 \mu\text{M}$  ( $1260 \pm 205 \mu\text{M}$ ) と推定され、 $V_{max}$  および  $CL_{int}$  はそれぞれ  $1410 \pm 150 \text{ pmol/min/nmol UGT2B7}$  と  $1.11 \mu\text{L/min/nmol UGT2B7}$  と外挿された。一方、ヒト UGT2B7 発現系における  $K_m$  値は  $490 \pm 40 \mu\text{M}$  と推定された。 $V_{max}$  および  $CL_{int}$  はそれぞれ  $12.5 \pm 0.5 \text{ pmol/min/nmol UGT2B7}$  と  $0.026 \mu\text{L/min/nmol UGT2B7}$  と算出された。

A



B



**Fig. I-7. M11 formation activity in pooled HLM (A) and rhUGT2B7 (B). Eadie-Hofstee plots are shown in the insert figures. Pooled HLM and rhUGT2B7 (1 mg protein/mL) was incubated with 1 to 1000 μM mirabegron and 2 mM UDPGA at 37 °C for 120 min. Mean and SD of triplicate samples are represented in Michaelis-Menten plots and mean of triplicate samples are represented in Eadie-Hofstee plots.**

## 第4節 考察

本章では、ミラベグロン *O*-グルクロン酸抱合代謝物 (M11) 生成に関与するヒト UGT 分子種の同定を試みた。

一般に、薬物代謝に関与するヒト UGT 分子種を同定する際、各種ヒト UGT 分子種の指標基質および阻害剤の情報が不足していることに加え、各臓器に発現している各種 UGT 分子種のタンパク発現量の情報が十分でないことから、ひとつの実験結果から同定することは難しく、複数の実験結果を統合し考察する必要がある。実施する実験内容については、2012年にFDAから発効された薬物間相互作用に関するドラフトガイダンスでは、各種ヒト UGT 分子種発現系を用いた実験が推奨されている (U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 2012)。そのため、本研究においては、各種ヒト UGT 分子種発現系を用いた実験から候補分子種を絞り、他の実験結果を踏まえて結論を得た。

13種のヒト UGT 分子種発現系を用いて M11 生成活性を評価し、既報の情報 (Sato et al., 2014) を用いて単位ヒト肝ミクロゾームタンパクあたりの M11 生成活性を算出した結果、UGT2B7 UGT1A9, での順に高い M11 生成活性が認められた (Fig. I-4)。Sato らが各種ヒト UGT 分子種のタンパク発現量の定量に用いたヒト肝ミクロゾームおよび各種ヒト UGT 分子種発現系は、本研究において用いたヒト肝ミクロゾームおよび各種ヒト UGT 分子種発現系と購入元が同じであることから (それぞれ XenoTechs 社および BD Biosciences 社)、Sato らから報告されているヒト肝ミクロゾームおよび各種ヒト UGT 分子種発現系における各種ヒト UGT 分子種のタンパク発現量を本研究に用いることは妥当であると考えられる。16 個体の個別ヒト肝ミクロゾームを用いた実験結果から、M11 生成活性と UGT2B7 の指標基質であるモルヒネの 3-*O*-グルクロン酸抱合活性との間に有意な相関が認められた (Fig. I-5)。一方、M11 生成活性と UGT1A9 の指標基質であるプロポフォールのグルクロン酸抱合活性との間に相関性は認められなかった。ヒト肝ミクロゾームを用いて、各ヒト UGT 分子種阻害剤添加時の M11 生成活性を評価した結果、メフェナム酸に関して濃度依存的に M11 生成活性阻害が認められた。一方、プロポフォールでは、検討した濃度範囲において M11 生

成活性に対する阻害効果は認められなかった (Fig. I-6)。今回 UGT2B7 阻害剤として用いたメフェナム酸は、ヒト UGT1A1 および UGT1A9 抱合反応に対しても阻害効果を有するすることが報告されている (Joo et al., 2015; Mano et al., 2007b; Mano et al., 2007c; Mano et al., 2007d; Walsky et al., 2012)。Joo ら (2015) の報告によると、メフェナム酸の UGT2B7, UGT1A1 および UGT1A9 に対する IC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 3.6 μM, 26.8 μM および 11.2 μM である。従って、メフェナム酸添加により認められたヒト肝マイクロゾームの M11 生成活性阻害から、M11 の生成に UGT1A1 および UGT1A9 の関与の可能性が示唆された。しかし、1) 各ヒト UGT 分子種発現系を用いた検討から、UGT1A1 の M11 生成活性が低いこと (Fig. I-4) および 16 個体の個別ヒト肝マイクロゾームを用いた実験結果から、M11 生成活性と UGT1A1 の指標基質である 17β-エストラジオールの 3-O-グルクロン酸抱合活性との間に有意な相関が認められなかったこと (Fig. I-5)。2) 16 個体の個別ヒト肝マイクロゾームを用いた実験結果から、M11 生成活性と UGT1A9 の指標基質であるプロポフォールのグルクロン酸抱合活性との間に有意な相関が認められなかったこと (Fig. I-5) および検討した濃度範囲においてプロポフォールが M11 生成活性を阻害しなかったこと (Fig. I-6) から M1 生成反応について UGT1A1 および UGT1A9 の寄与は低いと考えられる。同様に、プロポフォールは UGT2B7 阻害能を有することが報告されているが (Mano et al., 2007a; Zhang et al., 2005), UGT1A9 に対する IC<sub>50</sub> 値 (およそ 50~100 μM) は UGT2B7 に対する IC<sub>50</sub> 値 (400 μM 以上) に比べ低濃度である。本検討結果より、100 μM のプロポフォールにより M11 生成活性が阻害されなかったことから (Fig. I-6)、ヒト肝における M11 生成に関して UGT1A9 の寄与が低いことが考えられた。さらに、ヒト肝マイクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系を用いた薬物速度論解析において、ミラベグロン濃度依存的に M11 の生成が確認された (Fig. I-7)。以上の結果から、ミラベグロン代謝 (M11 生成) に最も関与するヒト UGT 分子種は UGT2B7 であると推察された。

13 種のヒト UGT 分子種発現系を用いた実験においては、M11 生成における UGT1A9 の関与が示されたが (Fig. I-4)、16 個体の個別ヒト肝マイクロゾームを用いた実験およびヒト肝マイクロゾームを用いた阻害実験からは、M11 生成における UGT1A9 の関与が認められな

かった (Fig. I-5 および 6)。これは、UGT1A9 が単独で発現している環境下では UGT1A9 によるグルクロン酸抱合反応が起こるが、各種ヒト UGT 分子種が混在している生体環境下に近いヒト肝マイクロゾーム中では UGT1A9 によるグルクロン酸抱合反応が、UGT2B7 と比較し起こりづらく、生体環境下では M11 生成における UGT1A9 の寄与が低いことが考えられた。

16 個体の個別ヒト肝マイクロゾームを用いた実験の結果、M11 生成活性と UGT1A4 の指標基質であるトリフルオペラジンのグルクロン酸抱合活性との間に有意な相関が認められた (Fig. I-5-B)。しかし、ヒト UGT1A4 発現系を用いた実験結果から、UGT1A4 の高い M11 生成活性は認められなかった (Fig. I-4)。加えて、UGT2B7 阻害剤であるメフェナム酸によりヒト肝マイクロゾームの M11 生成活性が阻害され、UGT1A4 の寄与が低いことが示唆された (Fig. I-6-A)。この不一致に対する明確な理由は不明であるが、検討に用いた 16 個体の個別ヒト肝マイクロゾームにおいて、XenoTech 社から提供されているモルヒネの 3-O-グルクロン酸抱合活性とトリフルオペラジンのグルクロン酸抱合活性との間に有意な相関が認められていることが考えられる ( $r = 0.683$ )。そのため、M11 生成活性とトリフルオペラジンのグルクロン酸抱合活性との間に認められた有意な相関は、M11 生成活性とモルヒネの 3-O-グルクロン酸抱合活性との有意な相関に起因する可能性があり、各種ヒト UGT 分子種発現系を用いた実験結果およびヒト肝マイクロゾームを用いた阻害実験結果を考慮すると、M11 生成における UGT1A4 の寄与は低いと判断した。

ヒト肝マイクロゾームを用いた薬物速度論解析から、 $K_m$  値が  $1260 \mu\text{M}$  と算出された (Fig. I-7-A)。この濃度は、ミラベグロンを 1 日 1 回 50 mg を反復経口投与後の定常状態における  $C_{\text{max}}$  (およそ  $50 \text{ ng/mL}$ ;  $0.125 \mu\text{M}$ ; Krauwinkel et al., 2012) と比較して十分高いことから、臨床におけるミラベグロンの用法・用量の範囲においては、ヒト肝の M11 生成活性は飽和せず、UGT2B7 の  $CL_{\text{int}}$  はミラベグロンの濃度に依らず式 3 において示されるように一定であることが示唆された。

UGT2B7 には遺伝子多型 (UGT2B7\*1 と UGT2B7\*2) が存在することが報告されている (Bhasker et al., 2000)。そのアレル頻度は、欧米人と日本人では異なり、それぞれ、

0.511/0.489 (UGT2B7\*1/\*2) および 0.732/0.268 (UGT2B7\*1/\*2) であるが、UGT2B7\*1 と UGT2B7\*2 のグルクロン酸抱合活性に統計的な有意差は認められていない。このことから、UGT2B7 の遺伝子多型によるミラベグロンの体内動態が受ける影響は軽微であることが示唆された。

本検討結果から、ミラベグロンの体内からの消失経路として CYP3A4, CYP2D6 および BChE による代謝ならびに未変化体の尿中排泄のみならず (Krauwinkel et al., 2012; Takusagawa et al., 2012c), UGT2B7 により代謝されることを明らかにした。このように体内からの消失経路が複数存在することは、例えば併用薬により、特定の消失経路が阻害された際、代替消失経路の存在によりミラベグロンの体内動態が受ける影響は軽微であり、薬物間相互作用の観点から利点であると考えられる。

## 第5節 まとめ

ヒト肝ミクロゾームおよびヒト UGT 分子種発現系を用いて、M11 生成活性を評価した。各実験結果から (Table I-2), ミラベグロン代謝 (M11 生成) に最も関与するヒト UGT 分子種は UGT2B7 であると推察された。これまで明らかになっていた CYP3A4, CYP2D6 および BChE によるミラベグロンの代謝に加え, 新たにグルクロン酸抱合代謝に関与する代謝酵素を明らかにした。

**Table I-2. Summary of the study results for M11 formation.**

M11 formation	UGT1A1	UGT1A4	UGT1A9	UGT2B7
rhUGTs study	×	×	○	○
Correlation study	×	○	×	○
Inhibition study	○	-	×	○
Kinetics study	-	-	-	○

○: possibility of contribution to M11 formation

×: less possibility of contribution to M11 formation

-: no data

## 第 II 章 ミラベグロンの各消失経路を考慮した健康成人における血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測する新規基盤システムの活用

### 第 1 節 緒言

本章では、新規基盤システムとして生理学的薬物速度論に基づいた数理モデル（生理学的薬物速度論モデル）を選択し、第 I 章において明らかになったミラベグロンの消失経路の全体像を考慮した健康成人における血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測する生理学的薬物速度論モデルの活用を検討した。

第 I 章において、ミラベグロン代謝に関与するヒト UGT 分子種が同定されたことから、これまでの知見と合わせ、ミラベグロン代謝には CYP3A4, CYP2D6, BChE および UGT2B7 が主に寄与していることが明らかとなった (Takusagawa et al., 2012c)。ミラベグロン代謝における CYP3A4 の寄与は、ミラベグロンと強力な CYP3A4 阻害剤であるケトコナゾールとの臨床薬物間相互作用試験においても確認され、1 日 1 回 400 mg のケトコナゾールを反復経口投与後、ミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  がそれぞれ 1.45 倍および 1.81 倍に上昇することが確認されている (Lee et al., 2013)。一方で、CYP2D6 の EM および PM の表現型を有する健康成人において、ミラベグロンの血中濃度推移が同程度であったことから、ミラベグロン代謝における CYP2D6 の寄与は低いと考えられた (Lee et al., 2013)。これまでミラベグロン代謝における BChE および UGT2B7 の寄与を検証した臨床試験は実施されていない。

そこでミラベグロンの消失経路の全体像をまとめた後、健康成人におけるヒト血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測するため、新規基盤システムとして生理学的薬物速度論モデルの活用を検討した。生理学的薬物速度論モデルは薬物動態分野におけるモデリング&シミュレーションにおいて有用なツールであり、その特徴として、組織成分、重量および代謝酵素の発現量などが考慮された各臓器を解剖学的に正しく配置し血流でつないだ生体のシステム側の要素（生理学的情報）と、血漿中タンパク結合率、膜透過性、分布容積および代謝安定性などの薬剤側の要素から構成されていることが挙げられる (Rowland et

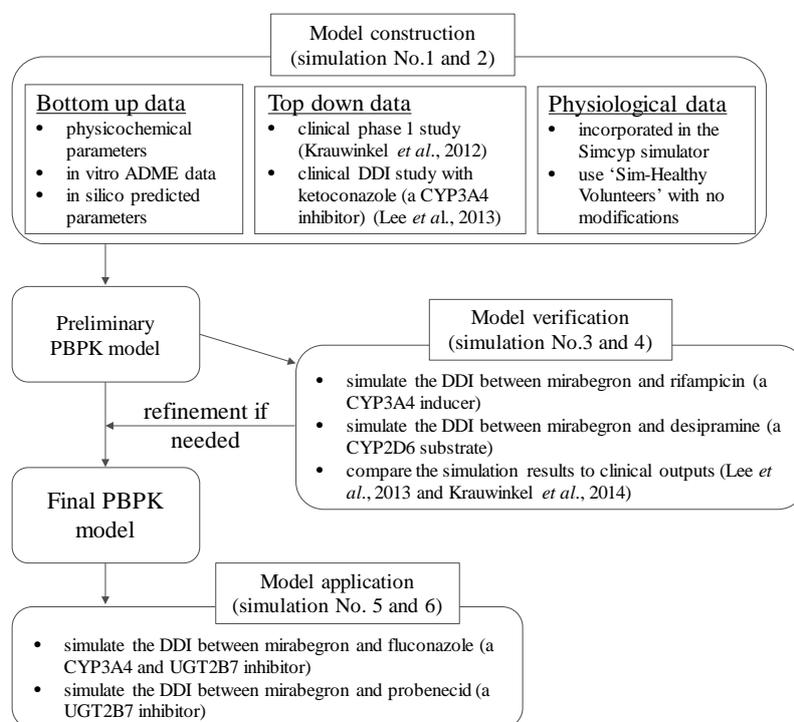
al., 2011)。各臓器間の薬物の移行は、血流および代謝などを考慮した物質収支式で記述し、時間と共に変化する各臓器内の薬物量をシミュレーションすることが可能である。生理学的薬物速度論モデルを用いる利点として、例えば、ある医薬品の生理学的薬物速度論モデル解析に用いた生体のシステム側の要素を、他の医薬品の生理学的薬物速度論モデル解析にも適用可能であることが挙げられる。また、生体のシステム側の要素の変動が医薬品体内動態に与える影響を検討することが可能である。生理学的薬物速度論モデルを用いた解析結果は、臨床試験の実施可否の判断および試験デザイン策定に活用され、また、薬の安全な使用のための用法・用量として添付文書に記載されている (Luzon et al., 2017; Shebley et al., 2018)。

ミラベグロンは、ヒト肝ミクロゾームを用いた *in vitro* CYP 阻害試験から CYP2D6 を直接かつ時間依存的に阻害することが示されている (Takusagawa et al., 2012a)。そのため、CYP2D6 の指標基質であるデシプラミンとの臨床薬物間相互作用試験が実施され、1 日 1 回 100 mg のミラベグロンを反復経口投与後の定常状態において、50 mg 単回投与のデシプラミンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  がそれぞれ 1.79 倍および 3.41 倍に上昇した (Krauwinkel et al., 2014)。本研究においては、ミラベグロンの各消失経路に加え、ミラベグロンが有する CYP2D6 に対する阻害作用を生理学的薬物速度論モデルに組み込んだ。このようなミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用することで、1) これまで推定が困難であった各消失経路の寄与率の算出、2) ミラベグロンと CYP3A4, BChE および UGT2B7 に対する阻害作用を有する医薬品との薬物間相互作用予測、3) ミラベグロンと CYP2D6 により代謝される医薬品との薬物間相互作用予測が初めて可能となる。さらに第 III 章で述べるような病態による生体側の機能状態の変化を新たに組み込むことで、病態がミラベグロンの体内動態に与える影響および病態時における薬物間相互作用予測が可能になる。

## 第2節 解析方法

### II-2-i) 生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定

生理学的薬物速度論モデルの検討には、Simcyp Simulator V16 および V17 (Certara UK, Simcyp Division, Sheffield, UK) を用いた。Simcyp Simulator には人種・年齢・性別に応じた身長や体重, 遺伝子多型などに関する人口統計学および遺伝学の情報に加え, 各臓器重量・血流量・代謝酵素の発現量などに関する解剖学的および生理学的な情報があらかじめデータベースとして搭載されており, IVIVE の手法を基にして, 仮想の母集団において個体間のばらつきも考慮した血漿中濃度推移をシミュレーションすることができるソフトウェアである (Jamei et al., 2009a; Jamei et al, 2013)。本章の健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定 (model construction), 生理学的薬物速度論モデルの検証 (model verification) および生理学的薬物速度論モデルの活用 (model application) に関するワークフローの全体像を Fig II-1 に示す。



**Fig. II-1. Flow chart for construction, verification, and application of a physiologically-based pharmacokinetic model for mirabegron.**

まず、健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定では、ミラベグロンの物理化学的情報、吸収・分布・代謝・排泄に関する情報、代謝酵素に対する阻害定数などの情報を臨床試験結果、*in vitro* 試験結果および *in silico* 予測結果から収集した。生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定の際に用いた臨床試験は、健康成人における第1相臨床試験から得られた血漿中濃度推移 (Krauwinkel et al., 2012)、およびミラベグロンとケトコナゾール (CYP3A4 阻害剤) との臨床薬物間相互作用試験 (Lee et al., 2013) である。得られたミラベグロンの情報に、血流量や各臓器重量、代謝酵素の発現量などの健康成人の生理学的情報を合わせることで健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに必要なパラメータを設定した。続いて、生理学的薬物速度論モデルの検証において、パラメータ設定の際には用いていないミラベグロンとリファンピシン (CYP3A4 誘導剤)、およびミラベグロンとデシプラミン (CYP2D6 基質) との臨床薬物間相互作用結果の再現性を検討した (Krauwinkel et al., 2014; Lee et al., 2013)。最後に生理学的薬物速度論モデルを活用し、臨床試験では未検討であるミラベグロンとプロベネシド (UGT2B7 阻害剤)、およびミラベグロンとフルコナゾール (UGT2B7 および CYP3A4 阻害剤) との薬物間相互作用を予測した。以下に、それぞれを詳述する。

健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータを以下の1～3の手順にて決定した。1) これまでに得られている知見から、ミラベグロンの代謝経路の全体像をまとめた。2) 生理学的薬物速度論モデルに組み込む要素を考慮し、吸収および分布に関するモデル構造を決定した。3) 分布に係わるパラメータ ( $V_{ss}$ ,  $V_{sac}$  および  $Q$ ) および代謝に係わるパラメータ (CYP3A4 および UGT2B7 の  $CL_{int}$ ) は、健康成人に1日1回100 mgのミラベグロンを反復経口投与した臨床第1相試験における血漿中濃度推移 (Krauwinkel et al., 2012) および健康成人に1日1回400 mgのケトコナゾールを反復投与中にミラベグロン (100 mg) を単回投与した臨床薬物間相互作用試験の結果 (Lee et al., 2013) を再現できるように設定した。その他のパラメータに関して、分子量 (MW)、オクタノール/水 分配係数 (LogP) および酸解離定数 ( $pK_a$ ) はアステラス製薬株式会社の社内資料から引用した。血液-血漿中濃度比 (B/P ratio)、血漿中タンパク非結合型分率 ( $f_{u,p}$ )

および膜透過性 (permeability) は in vitro 試験から得た (data not shown)。消化管における吸収率 ( $F_a$ ) および吸収速度定数 ( $k_a$ ) は、膜透過性から予測した (Jamei et al., 2009b)。消化管壁にある腸細胞中におけるタンパク結合は  $f_{u,gut} = 1$  と仮定した。BChE によるミラベグロンの血漿中半減期は、ヒト血漿を用いた in vitro 代謝安定性試験の結果から 72.5 min とした (data not shown)。腎クリアランスは、健康成人に 1 日 1 回 100 mg のミラベグロンを反復経口投与した臨床第 1 相試験の結果から得た (11.2 L/h, Krauwinkel et al., 2012)。ミラベグロンの CYP2D6 に対する阻害能に関するパラメータ ( $K_i$ ,  $K_{app}$  および  $K_{inact}$ ) は、ヒト肝ミクロゾームを用いた in vitro CYP 阻害試験結果から算出した (Takusagawa et al., 2012a)。健康成人の生理学的情報およびケトコナゾールの薬剤側の情報は Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されており、それぞれ “Sim-Healthy Volunteers” および “Sim-Ketoconazole-400 mg QD” を修正せずに用いた。II-2-i におけるシミュレーションの試験デザインは、実際の臨床試験デザインと同様に実施した (Krauwinkel et al., 2012; Lee et al., 2013)。母集団のばらつきを捉えるために、合計で  $n=200$  以上でシミュレーションを実施した。健康成人に 1 日 1 回 100 mg のミラベグロンを反復経口投与後の血漿中濃度推移および各 PK パラメータ ( $C_{max}$  および  $AUC_t$ ) と、シミュレーションで得られた血漿中濃度推移および各 PK パラメータ ( $C_{max}$  および  $AUC_t$ ) を比較した。さらに、健康成人に 1 日 1 回 400 mg のケトコナゾールを反復投与中にミラベグロン (100 mg) を単回投与した際の薬物間相互作用の程度 (阻害剤併用による  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  の変動倍率である  $C_{max}$  ratio および  $AUC_{inf}$  ratio) と、シミュレーションから予測された薬物間相互作用の程度 ( $C_{max}$  ratio および  $AUC_{inf}$  ratio) を比較した。ミラベグロンにおける各消失経路の寄与率をシミュレーションから推定した。

## II-2-ii) 生理学的薬物速度論モデルの検証

II-2-i においてパラメータを設定したミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルの妥当性を検証するため、パラメータ設定には用いていない臨床薬物間相互作用試験（ミラベグロンとリファンピシン<CYP3A4 誘導剤>およびミラベグロンとデシプラミン<CYP2D6 基質>との臨床薬物間相互作用試験）（Krauwinkel et al., 2014; Lee et al., 2013）の再現性を検討した。健康成人の生理学的情報、リファンピシンおよびデシプラミンの薬剤側の情報は Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されており、それぞれ“Sim-Healthy Volunteers”, “SV-Rifampicin-MD”および“SV-Desipramine”を修正せずに用いた。II-2-ii において実施したシミュレーションの試験デザインは実際の臨床試験デザインと同様に実施した（Krauwinkel et al., 2014; Lee et al., 2013）。母集団のばらつきを捉えるために、合計で n=200 以上でシミュレーションを実施した。シミュレーションから予測された薬物間相互作用の程度（ $C_{max}$  ratio および  $AUC_{inf}$  ratio）を実測の臨床薬物間相互作用の程度（ $C_{max}$  ratio および  $AUC_{inf}$  ratio）と比較した。シミュレーションの結果、必要に応じてミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込んでいる各パラメータを調整した。

## II-2-iii) 生理学的薬物速度論モデルの活用

II-2-ii において検証されたミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用し、臨床試験において検討をしていないミラベグロンと UGT2B7 に対する阻害能を有する医薬品との薬物間相互作用を予測するため、ミラベグロンとプロベネシド（UGT2B7 阻害剤）、およびミラベグロンとフルコナゾール（UGT2B7 および CYP3A4 阻害剤）との薬物間相互作用を予測した。健康成人の生理学的情報、プロベネシドおよびフルコナゾールの薬剤側の情報は Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されており、それぞれ、“Sim-Healthy Volunteers”, “SV-Probenecid”および“SV-Fluconazole”を修正せずに用いた。II-2-iii において実施したシミュレーションの試験デザインは Table II-1 に記載した（Simulation No.5 および 6）。母集団のばらつきを捉えるために、n=200 でシミュレーションを実施した。シミュレーションから

薬物間相互作用の程度（ $C_{max}$  ratio および  $AUC_{inf}$  ratio）を予測した。

**Table II-1. Trial design for each simulation.**

Simulation No.	1	2	3	4	5	6
Process	Construction	Construction	Verification	Verification	Application	Application
Version	16	16	16	16	17	17
Population	Sim-Healthy Volunteers					
Substrate	Mirabegron	Mirabegron	Mirabegron	Sim-Desipramine	Mirabegron	Mirabegron
Inhibitor	-	Sim-Ketoconazole-400 mg QD	SV-Rifampicin	Mirabegron	SV-Probecid	SV-Fluconazole
Age (year)	19-45	19-55	18-54	18-53	20-50	
Proportion of females	0.5	0.478	0.458	0.5	0.5	
No. of trial	10	10	10	10	10	
No. of subjects in each trial	28	23	24	28	20	
Size	280	230	240	280	200	
Start day	1	1	1	1	1	
End day	14	14	14	20	14	
Duration of study (h)	312	312	312	456	312	
Dose of substrate	100 mg BID on Day1 and 100 mg QD on Day2-7	100 mg on Day4	100 mg on Day8	50 mg on Day14	100 mg on Day11	
Dose of inhibitor	-	400 mg QD on Day1-9	600 mg QD on Day1-11	100 mg QD on Day1-19	500 mg QID on Day1-13	200 mg QD on Day1-13

QD: once a day, BID: two times a day, QID: four times a day

### 第3節 結果

#### II-3-i) 生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定

臨床ヒトマスバランス試験 (Takusagawa et al., 2012b), ミラベグロン代謝に関与する代謝酵素同定試験 (Takusagawa et al., 2012c) および第I章において得られた結果を合わせ, ミラベグロンの代謝経路の全体像を明らかにした (Fig. II-2)。

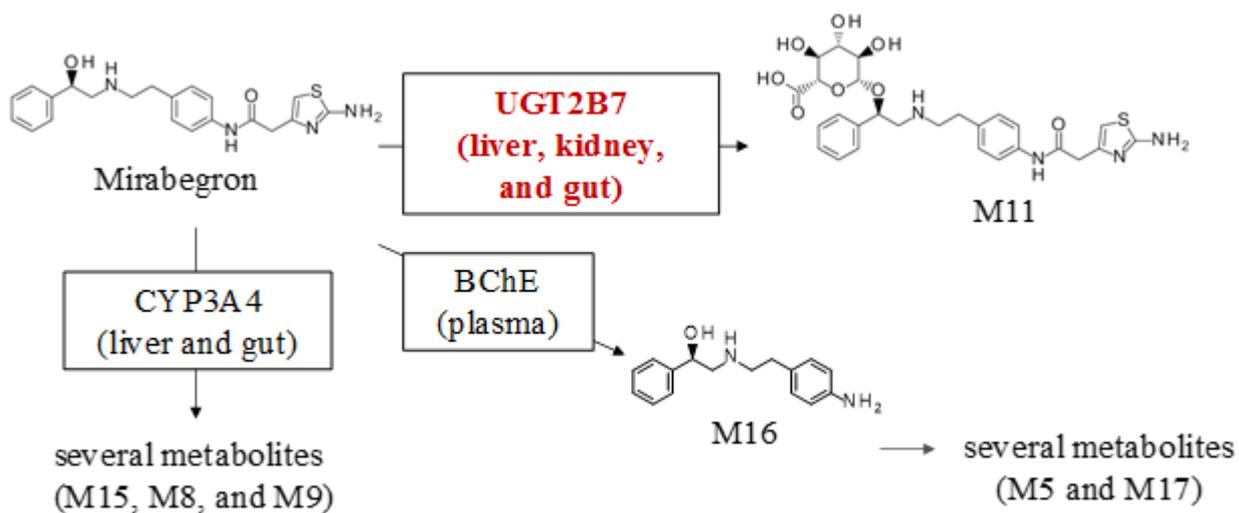
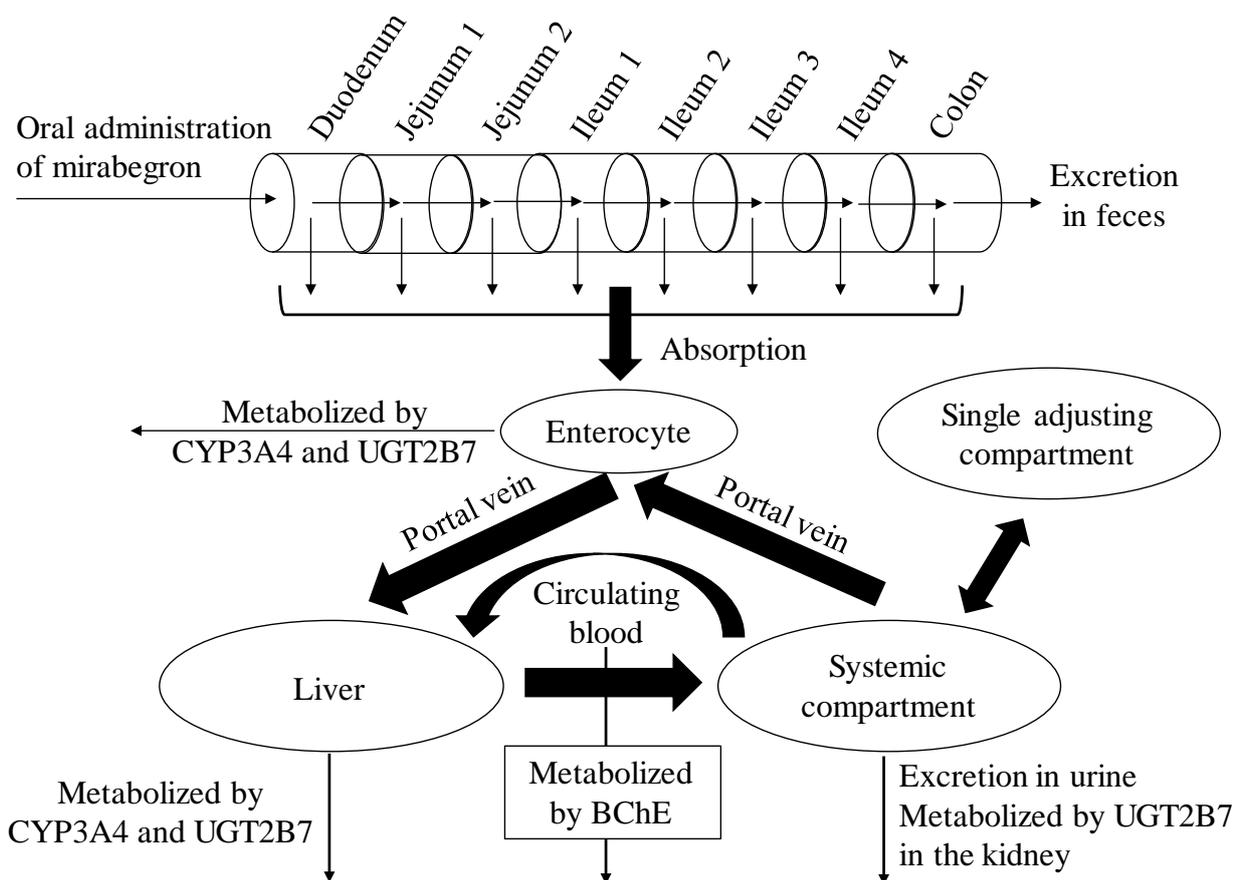


Fig. II-2. Overall metabolic pathway for mirabegron.

ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルでは、吸収モデルとして、ミラベグロンが採用している OCAS 錠（経口持続吸収型徐放システム）による腸内の環境に影響されず一定量が放出し続ける特徴を考慮するため、消化管を 8 つに分け、消化管の各部位における薬物の溶解、移行、吸収および代謝を考慮できる ADAM モデルを (Jamei et al., 2009b)、分布モデルとして、ミラベグロンの消失経路の全体像を考慮することができる最も簡易化されたモデル構造として肝臓および中心コンパートメントからなる minimal PBPK モデルを選択した (Fig. II-3) (Rowland et al., 2010)。OCAS 錠における健康成人に 1 日 1 回 100 mg のミラベグロンを反復経口投与後の  $T_{max}$  を再現するために (Krauwinkel et al., 2012), Table II-2 に記載の溶解曲線 (Dissolution profile) を設定した。



**Fig. II-3. Structure of a physiologically-based pharmacokinetic model for mirabegron.**

**Table II-2. Parameters used in constructing of PBPK model for mirabegron.**

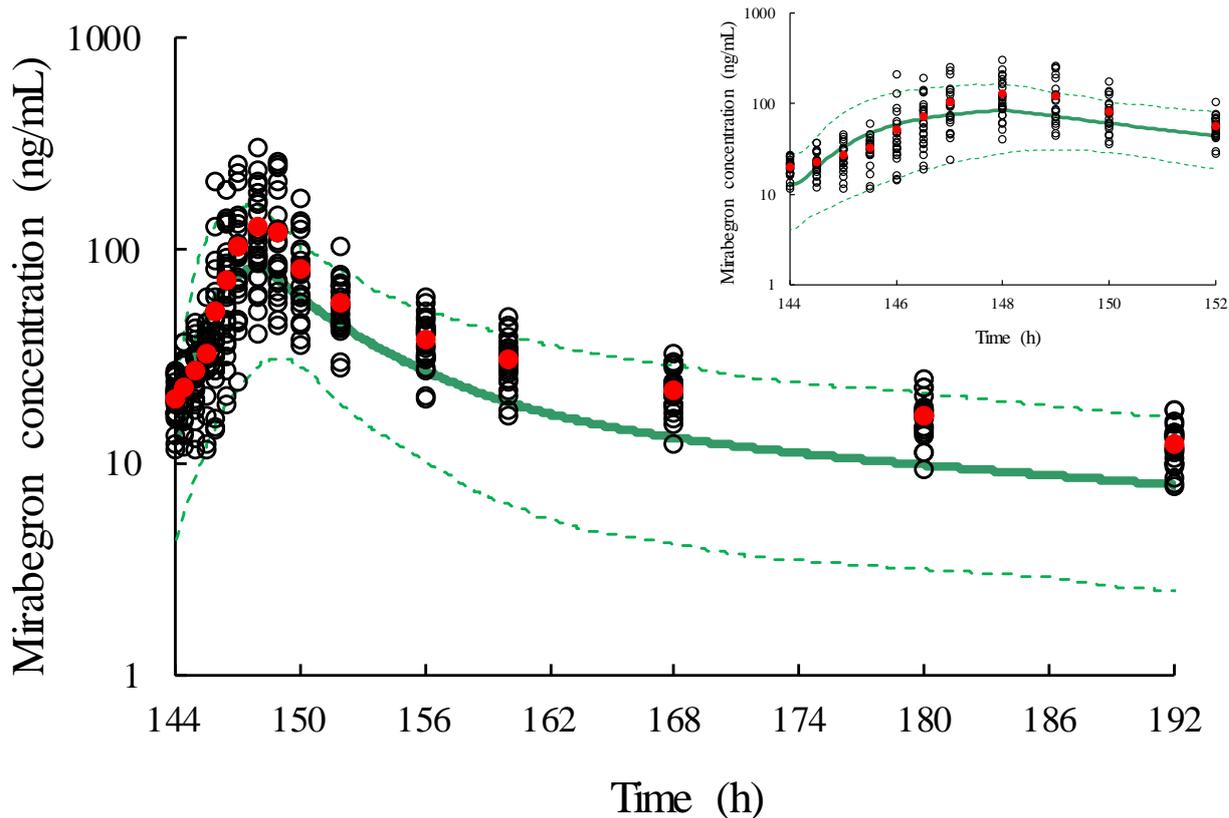
Parameter	Value	Source
Physicochemical parameters		
MW (g/mol)	396.5	IUPAC2001
Log P	2.1 <sup>a</sup>	
pK <sub>a</sub>	4.5 and 8.0 <sup>a</sup> (Diprotic Base)	-
B/P ratio	1.42 <sup>a</sup>	Experimental (human
f <sub>u,p</sub>	0.27 <sup>a</sup>	blood/plasma)
Absorption model: ADAM model		
Permeability	7.31 x 10 <sup>-6</sup> cm/s	Experimental (Caco-2)
Dissolution profile	Time (h)	0      4
	Release (%)	0      100
F <sub>a</sub>	0.68	Optimized to clinical data
k <sub>a</sub> (/h)	0.37	Simcyp predicted
Q <sub>gut</sub> (L/h)	5.7	
f <sub>u,gut</sub>	1.0	Assumption
Distribution model: minimal PBPK model		
V <sub>ss</sub> (L/kg)	14.7	
Q (L/h)	21.6	Optimized to clinical data
V <sub>sac</sub> (L/kg)	12.3	
Elimination type: Enzyme kinetics		
CL <sub>int</sub> for CYP3A4 (μL/min/mg protein)	0.30	Optimized to clinical data
CL <sub>int</sub> for UGT2B7 (μL/min/mg protein)	0.32	Optimized to clinical data
Plasma t <sub>1/2</sub> for BChE (min)	72.5 <sup>a</sup>	Experimental (human plasma)
CL <sub>r</sub> (L/h)	11.2	Observed value
Interaction parameters		
K <sub>i</sub> for CYP2D6 (μM)	6.50	
K <sub>app</sub> for CYP2D6 (μM)	1.75	Experimental (human liver
K <sub>inact</sub> for CYP2D6 (/h)	1.34	microsomes)

<sup>a</sup>: unpublished data

吸収および分布モデルを決定した後、分布に係わるパラメータ (V<sub>ss</sub>, V<sub>sac</sub> および Q) および代謝に係わるパラメータ (CYP3A4 および UGT2B7 の CL<sub>int</sub>) を推定するために以下の4ステップを実施した。1) ミラベグロンとケトコナゾールとの臨床薬物間相互作用試験の結果 (Lee et al., 2013) を踏まえ、肝臓における CYP3A4 による代謝の寄与率を暫定的に 50% と仮定し、実測のミラベグロンの CL<sub>po</sub> から CYP3A4 の CL<sub>int</sub> を算出し、初期値とした。2)

健康成人に1日1回100 mgのミラベグロンを反復経口投与後の血漿中濃度推移(Krauwinkel et al., 2012)を再現可能な $V_{ss}$ ,  $V_{sac}$ ,  $Q$ およびUGT2B7の $CL_{int}$ をNelder-Mead法を用いたフィッティングにより推定した。3) 推定されたパラメータをミラベグロンのPBPKモデルに組み込み、ミラベグロンとケトコナゾールとの薬物間相互作用をシミュレーションし、健康成人に1日1回400 mgのケトコナゾールを反復投与中に100 mgのミラベグロンを単回投与した臨床薬物間相互作用試験(Lee et al., 2013)の結果( $C_{max}$  ratio および  $AUC_{inf}$  ratio)と比較した。4) 1で設定したCYP3A4の $CL_{int}$ の値を調整し、4においてミラベグロンとケトコナゾールとの薬物間相互作用の程度が再現できるまで1~4を繰り返した。各シミュレーションの試験デザインおよび最終的に得られたミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込んだパラメータをTable II-1 (Simulation No. 1 および 2) および Table II-2 に示す。

健康成人に1日1回100 mgのミラベグロンを反復経口投与後の血漿中濃度推移をシミュレーションした結果をFig. II-4 および Table II-3 に示す。予測された平均血漿中濃度推移の形状と実測の平均血漿中濃度推移の形状が類似していること、および各PKパラメータの予測値と実測値の乖離が2倍以内であることから、ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルが健康成人に1日1回100 mgのミラベグロンを反復経口投与後の血漿中濃度推移および各PKパラメータを再現できることが確認された。

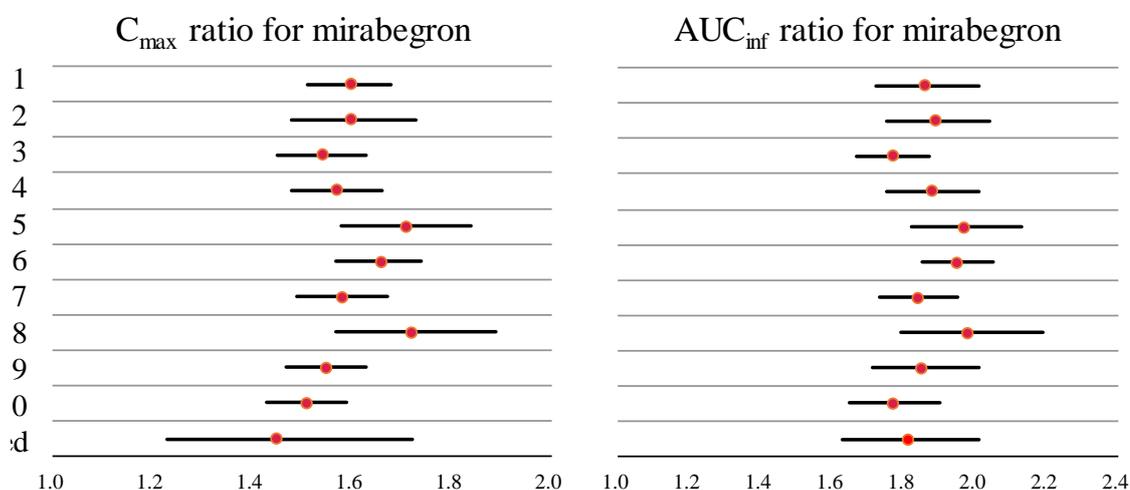


**Fig. II-4.** The observed and simulated plasma concentration-time curves after multiple oral administrations of 100 mg mirabegron. Red closed circle represents observed mean value, black open circle represents observed individual value, green solid line represents simulated mean, and green dotted line represents simulated 5<sup>th</sup> and 95<sup>th</sup> percentile. Inset figure shows the enlargement of the mirabegron plasma concentration-time curves from 144 h to 152 h.

**Table. II-3.** Observed and simulated PK parameters after multiple oral administrations of 100 mg mirabegron.

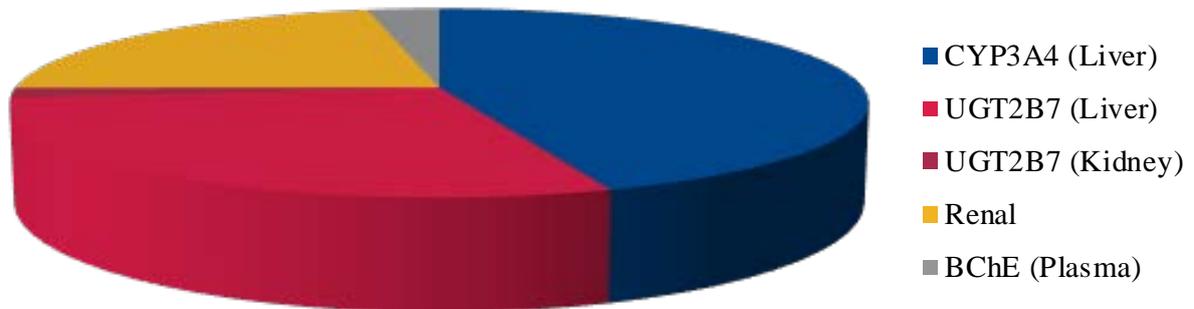
	$C_{max}$ (ng/mL)	$AUC_{\tau}$ (ng $\times$ h/mL)
Observed	173	1150
Simulated	88.3	1480

また、ミラベグロンとケトコナゾールとの薬物間相互作用を予測した結果を Fig. II-5 に示す。その結果、いずれのシミュレーショントライアルにおいても、予測された  $C_{\max}$  ratio および  $AUC_{\text{inf}}$  ratio の幾何平均値と実測の幾何平均値の乖離が 2 倍以内であることから、ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いることで、実際の臨床薬物間相互作用試験の結果 (Lee et al., 2013) を再現できることが確認された。全シミュレーショントライアルの結果をまとめた  $C_{\max}$  ratio および  $AUC_{\text{inf}}$  ratio の幾何平均値が 1.60 および 1.87 であるのに対し、実測値は幾何平均値としてそれぞれ 1.45 (1.23 - 1.72) と 1.81 (1.63 - 2.01) であった (括弧内の数値は 90%CI)。



**Fig. II-5. The observed and predicted  $C_{\max}$  and  $AUC_{\text{inf}}$  ratios for mirabegron in each DDI simulation trial with/without ketoconazole. Red circle represents mean (observed) or geometric mean (predicted) of  $C_{\max}$  ratio and  $AUC_{\text{inf}}$  ratios. Black line represents 90% confident interval (90% CI).**

ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いたシミュレーション結果から各消失経路の寄与率が、肝臓における CYP3A4 が 44%、UGT2B7 が 29%、腎臓における UGT2B7 が 1.6%、血漿中における BChE が 3.2%、未変化体の腎排泄が 22%と推定された (Fig II-6)。

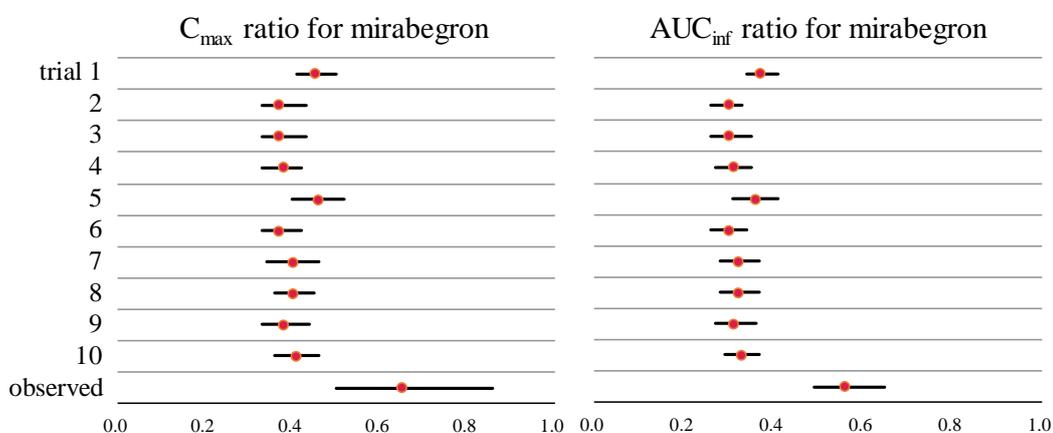


**Fig. II-6. Estimated contribution ratio of each elimination pathway of mirabegron.**

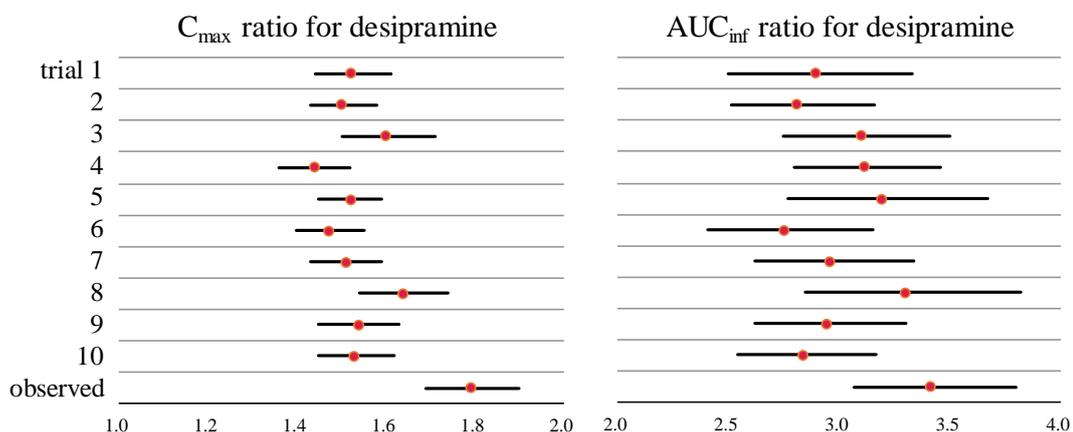
## II-3-ii) 生理学的薬物速度論モデルの検証

II-3-ii)におけるシミュレーションの試験デザインは Table II-1 (Simulation No. 3 および 4) に示す。II-3-i)においてパラメータを設定したミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いて、ミラベグロンとリファンピシン、およびミラベグロンとデシプラミンとの薬物間相互作用を予測し、臨床薬物間相互作用試験 (Krauwinkel et al., 2014; Lee et al., 2013) の結果 ( $C_{\max}$  ratio および  $AUC_{\text{inf}}$  ratio) と比較した (Fig. II-7)。

A



B

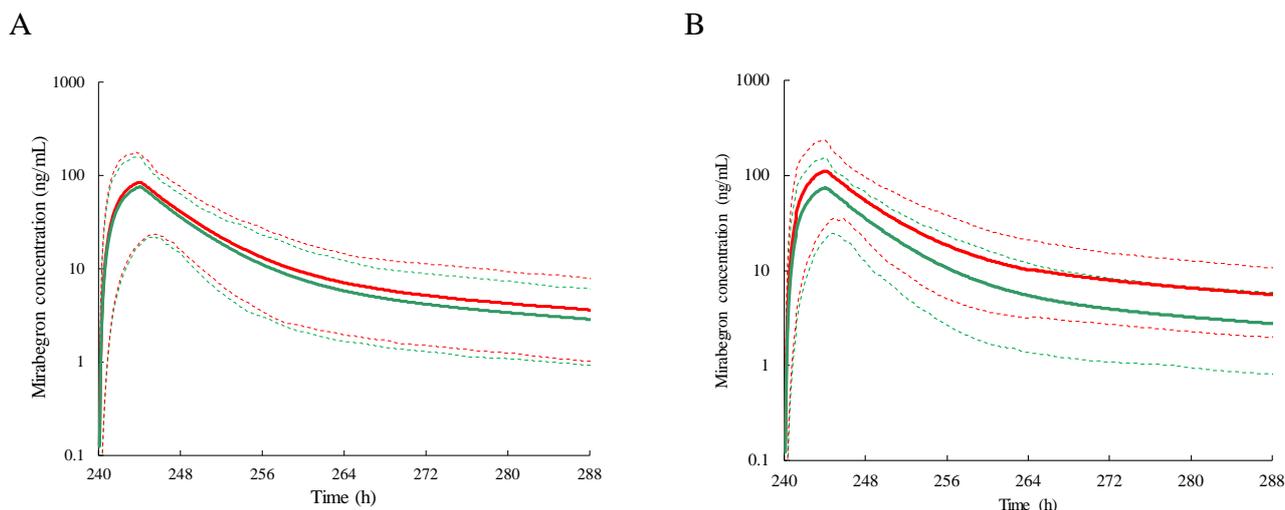


**Fig. II-7. The observed and predicted  $C_{\max}$  and  $AUC_{\text{inf}}$  ratios for mirabegron in each DDI simulation trial with rifampicin (A), and the observed and predicted  $C_{\max}$  and  $AUC_{\text{inf}}$  ratios for desipramine in each DDI simulation trial with mirabegron (B). Red circle represents mean (observed) or geometric mean (predicted) of  $C_{\max}$  and  $AUC_{\text{inf}}$  ratios. Black line represents 90% confident interval (90% CI).**

その結果、いずれのシミュレーショントリアルにおいても、予測された  $C_{\max}$  ratio および  $AUC_{\text{inf}}$  ratio の幾何平均値と実測の幾何平均値の乖離が 2 倍以内であることから、II-3-i においてパラメータを設定した生理学的薬物速度論モデルを用いることで、パラメータ設定には用いていない臨床薬物間相互作用試験の結果 (Krauwinkel et al., 2014; Lee et al., 2013) を再現できることが確認された。そのため II-3-i において設定したミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込まれているパラメータを調整する必要がないと判断した。全シミュレーショントリアルの結果をまとめ、リファンピシンを併用することで予測されたミラベグロンの  $C_{\max}$  ratio および  $AUC_{\text{inf}}$  ratio は幾何平均値としてそれぞれ 0.40 および 0.32 であるのに対し、実測値は幾何平均値としてそれぞれ 0.65 (0.50 - 0.86) および 0.56 (0.49 - 0.65) であった (括弧内の数値は 90%CI)。一方、ミラベグロンを併用することで予測されたデシプラミンの  $C_{\max}$  ratio および  $AUC_{\text{inf}}$  ratio は幾何平均値としてそれぞれ 1.53 および 2.98 であるのに対し、実測値は幾何平均値として 1.79 (1.69 - 1.90) および 3.41 (3.07 - 3.80) であった (括弧内の数値は 90%CI)。

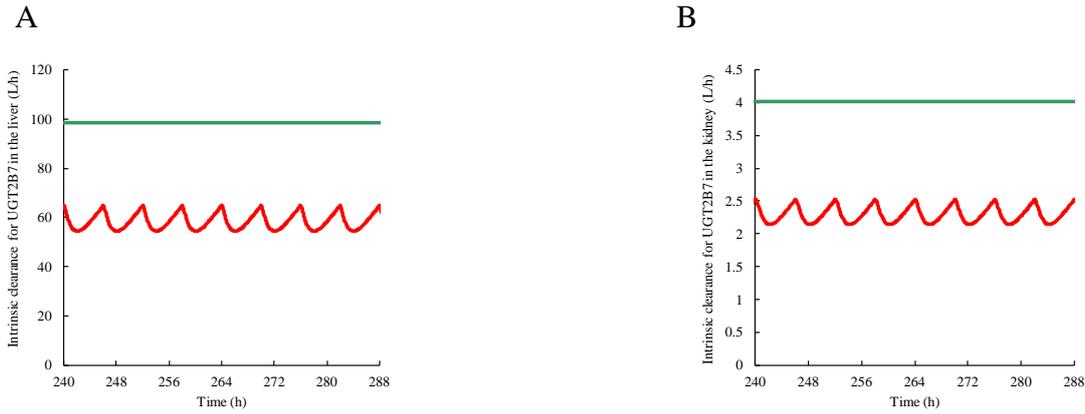
### II-3-iii) 生理学的薬物速度論モデルの活用

II-3-ii にて検証されたミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用し、プロベネシドあるいはフルコナゾールを併用した際のミラベグロンの血漿中濃度推移の予測結果を Fig. II-8 に示す。

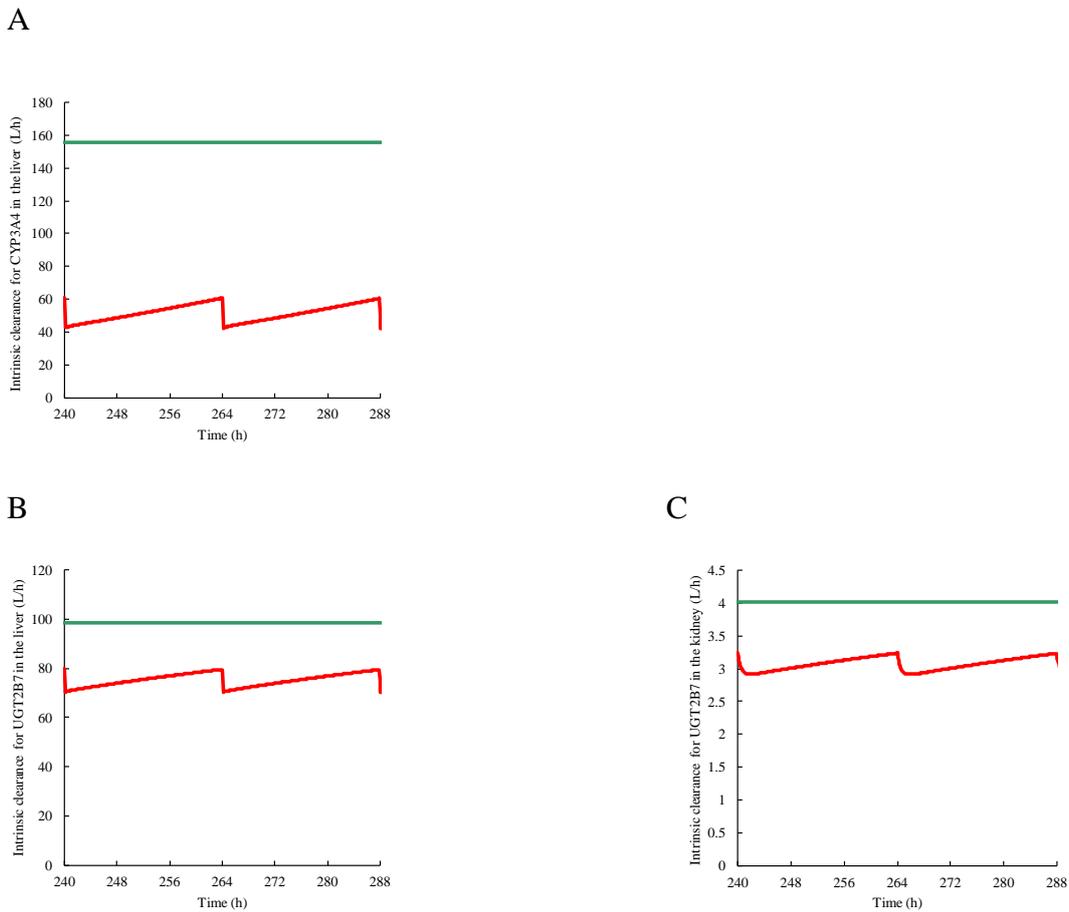


**Fig. II-8.** The simulated plasma concentration-time curves for mirabegron without (green line) and with (red line) probenecid (A) or fluconazole (B). Solid line represents mean plasma concentration-time curve, and dash line represents 5<sup>th</sup> or 95<sup>th</sup> percentile.

プロベネシドを併用することでミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  が幾何平均値としてそれぞれ 1.12 および 1.15 倍上昇することが予測された。一方、フルコナゾールを併用することでミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  が幾何平均値としてそれぞれ 1.50 および 1.74 倍上昇することが予測された。シミュレーション結果から、プロベネシドはミラベグロンの肝臓および腎臓における UGT2B7 の  $CL_{int}$  をそれぞれおよそ 39% および 42% 阻害することが推定された (Fig. II-9)。一方、フルコナゾールはミラベグロンの肝臓および腎臓における UGT2B7 の  $CL_{int}$  をそれぞれおよそ 24% および 23% 阻害し、加えて、肝臓の CYP3A4 の  $CL_{int}$  をおよそ 67% 阻害することが推定された (Fig. II-10)。



**Fig. II-9. Simulated intrinsic clearances for UGT2B7 in the liver (A) and kidney (B). Green line represents without probenecid and red line represents with probenecid.**



**Fig. II-10. Simulated intrinsic clearances for CYP3A4 in the liver (A), UGT2B7 in the liver (B), and UGT2B7 in the kidney (C). Green line represents without fluconazole and red line represents with fluconazole.**

## 第4節 考察

本章では、ミラベグロンの各消失経路を考慮した健康成人における血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測する新規基盤システムとして生理学的薬物速度論モデルを選択し、市販ソフトウェアである **Simcyp Simulator** を用いて検討を行った。

ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータを設定し、既報の臨床試験の結果を再現するためには、各消失経路のクリアランスを精度よく推定することが重要である。そのために、まず、これまでに得られている知見および第 I 章で得られた結果を基にミラベグロンの消失経路の全体像を明らかにした (Fig. II-2)。ミラベグロンの消失経路の全体像から、ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルには、CYP3A4, BChE, UGT2B7 による代謝および未変化体の尿中排泄の寄与を組み込む必要があった。しかし、エステラーゼや UGT のような CYP 以外の代謝酵素 (non-CYP) により代謝される化合物の生理学的薬物速度論モデルに関する報告は少なく、パラメータの設定方法が確立されていない。その理由として、*in vitro* で得られた non-CYP による代謝クリアランスをヒト *in vivo* クリアランスにスケールアップするための方法論が確立されていないことが挙げられる。そこで、本研究においては、CYP3A4 および UGT2B7 の  $CL_{int}$  は、*in vitro* で得られた代謝クリアランスからスケールアップするのではなく、臨床試験結果を再現可能な値を推定することにした。一方、BChE によるミラベグロンのヒト血漿中半減期は、ヒト血漿を用いた *in vitro* 代謝安定性試験におけるミラベグロンの血漿中半減期 (72.5 min) を用いた。この方法は、BChE で代謝されることが知られているミバクリウムのヒト血漿を用いた *in vitro* 代謝安定性試験における血漿中半減期 (血漿中 BChE の活性が 760 U/L の時, 9.4 min, ミバクリウムの isomer は不明) に対し、ミバクリウムのヒト血漿中半減期 (血漿中 BChE の活性がおよそ 800 U/L の時, 56 min [cis-cis], 2.1 min [cis-trans], 2.7 min [trans-trans] であり、その存在比 1:2:1 と仮定した際の混合物の半減期が 3.5 min) と大きなかい離がないことから妥当だと考えられる (Cook et al., 1989; Østergaard D et al., 2002)。臨床試験の結果から、ミラベグロンの経口クリアランスおよび腎クリアランスが算出されていることに加え、上

述のように BChE によるミラベグロンの血漿中半減期が算出されているため、CYP3A4 および UGT2B7 の  $CL_{int}$  は、健康成人におけるミラベグロンの血漿中濃度推移 (Krauwinkel et al., 2012) およびケトコナゾールとの臨床薬物間相互作用試験の結果 (Lee et al., 2013) から推定可能と考えられた。Simcyp Simulator を用いることの利点として、健康成人における各臓器中の CYP3A4 および UGT2B7 のタンパク発現量、ならびにケトコナゾールを含む薬物動態分野において代表的な医薬品の情報がデータベースとして搭載されていることが挙げられる。加えて、搭載されているデータベースは Certere 社によってその妥当性が検証されている。そのため、上述の方法によりミラベグロン代謝における CYP3A4 および UGT2B7 の  $CL_{int}$  を推定することが可能となった。

ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定では、健康成人における血漿中濃度推移およびケトコナゾールとの臨床薬物間相互作用試験の結果を用いた (Krauwinkel et al., 2012; Lee et al., 2013)。ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いることで、パラメータ設定には使用していないミラベグロンとリファンピシン、およびミラベグロンとデシプラミンとの臨床薬物間相互作用 (Krauwinkel et al., 2014; Lee et al., 2013) を再現でき、生理学的薬物速度論モデルの妥当性が検証された。ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いたシミュレーション結果から、ミラベグロン代謝における血漿中 BChE の寄与率が 3.2% と算出された (Fig II-6)。しかし、ヒトマスバランス試験において BChE により生成されると推定されている代謝物が血中における主代謝物のひとつであることを踏まえると、その寄与率の低さが奇異に見えるかもしれない。実際、ヒトマスバランス試験において尿中に認められた BChE により生成した代謝物 (M16, M5 および M17 を合わせて 6.6% of dose) は、CYP3A4 により生成した代謝物 (M15, M8 および M9 を合わせて 2.5% of dose) あるいは UGT2B7 により生成した代謝物 (M11 として 3.2% of dose) よりも多い (Takusagawa et al., 2012b)。また、1 日 1 回 100 mg のミラベグロンを反復経口投与後の血漿中において、CYP3A4 により生成した代謝物 (M15 および M8) と比べ、BChE により生成した代謝物 (M16 および M5) の半減期が長くかつ AUC が高い (Krauwinkel et al., 2012)。これら臨床試験の結果と本検討において推定された BChE の寄与率の結果を合わせ

ると、ミラベグロン代謝における BChE の寄与は低いですが、M16 および M5 の薬物動態学的特徴として、体内からの消失が比較的遅いことが考えられる。このことが、ヒトマスバランス試験において BChE により生成された代謝物が主代謝物として同定されたひとつの理由であろう。

UGT2B7 は主に肝臓と腎臓に発現が認められており、ミラベグロン代謝における UGT2B7 の寄与率が肝臓においては 29%、腎臓においては 1.6% とおよそ 18 倍の差が認められた (Fig II-6)。この差は、Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている健康成人の肝臓と腎臓の臓器の大きさの違い、および臓器 1g あたりのミクロゾーム含量 (mg protein/g tissue) の違いにより説明が可能である。

ミラベグロンの体内からの消失における未変化体の尿中排泄の寄与は 22% と推定され (Fig II-6)、健康成人を対象とした臨床第 1 相試験の結果から、腎クリアランスは 11.2 L/h と算出されている (Krauwinkel et al., 2012)。糸球体濾過速度および血液中タンパク結合率から算出される糸球体濾過によるミラベグロンの尿中排泄クリアランスはおよそ 1.3 L/h であり、ミラベグロンの腎排泄には糸球体濾過に加え、腎尿細管からの分泌の関与が示唆された。ミラベグロンは、*in vitro* における検討結果から OCT2 および P-糖蛋白の基質であることが示されている (Takusagawa et al., 2013) (OCT2 に関しては data not shown)。OCT2 は腎臓の血管側に発現が認められている取り込みトランスポーターであり、一方、P-糖蛋白は消化管の管腔側および肝臓の胆管側のみならず、腎尿細管側にも発現している排泄トランスポーターであることを考えると、OCT2 および P-糖蛋白がミラベグロンの腎尿細管からの分泌に寄与している可能性が考えられた。

ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いたシミュレーション結果から、ミラベグロンは主に肝臓における CYP3A4 および UGT2B7 による代謝、ならびに未変化体の尿中排泄により消失されることが推察された (Fig II-6)。複数の消失経路を有することは、薬物間相互作用の被作用薬としては利点であり、仮に 1 つの消失経路を併用薬により阻害されたとしてもその医薬品の体内動態に対する影響は軽微であると考えられる。実際に、強力な CYP3A4 阻害剤であるケトコナゾールとの臨床薬物間相互作用試験では、ミラベグロン

の  $AUC_{inf}$  の上昇率は 2 倍にも満たなかった (Lee et al., 2013)。同様に、UGT2B7 阻害剤であるプロベネシドとの薬物間相互作用シミュレーションでは、ミラベグロンの  $AUC_{inf}$  の上昇率は 1.15 倍と予測され、ミラベグロンの体内動態への影響は軽微であった。この時、ミラベグロンの UGT2B7 の  $CL_{int}$  に対する阻害率は、肝臓および腎臓において共に 40% 程度であり (Fig. II-9)、今後、同様な阻害率をもたらす阻害剤併用時における薬物間相互作用の程度を考察することが可能となった。しかし、複数の消失経路を同時に阻害された場合には、それぞれ単独の消失経路を阻害された際の薬物間相互作用の程度から考えられる影響よりも大きくなる可能性があることに注意が必要である。その例として、中程度の CYP3A4 阻害剤かつ UGT2B7 阻害剤であるフルコナゾールとの薬物間相互作用シミュレーションでは、 $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  がそれぞれ 1.50 倍および 1.74 倍上昇することが予測された。これらの結果から、プロベネシドおよびフルコナゾールと同程度の UGT2B7 に対する阻害能を有する医薬品の併用であれば、健康成人においてミラベグロンの用量を調整する必要性は低いことが考えられる。このような考察および処方に対する提案は、第 I 章においてミラベグロン代謝に関与するヒト UGT 分子種を同定し、その情報を第 II 章においてミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込んだことで初めて可能になり、仮にミラベグロンが UGT2B7 により代謝される情報が得られておらず、生理学的薬物速度論モデルに組み込まれなければ、本章において実施したような UGT2B7 に対する阻害能を有した医薬品との薬物間相互作用を評価することはできなかった。

アルツハイマー病治療薬であるリバスチグミンは BChE を阻害することが知られており (Jann et al., 2002)、このような BChE 阻害剤併用がミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  に与える影響について検討するため、ミラベグロンの BChE の血漿中半減期が仮に 72.5 min からその 10 倍である 725 min に変動した際のミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  の上昇率を予測した。その結果、ミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  がそれぞれ 1.02 倍および 1.05 倍と算出され (data not shown)、BChE 阻害剤がミラベグロンの体内動態に与える影響は限定的であると考えられた。

上述のようにミラベグロンが OCT2 および P-糖蛋白質の基質であり、特に P-糖蛋白質に

関しては、消化管壁から消化管管腔へと医薬品を排泄する機能も担っているため、ミラベグロンの用量が増加することで消化管における P-糖蛋白質の機能が飽和し、ミラベグロンの吸収量が用量比以上に上昇することがミラベグロンの PK の非線形性のメカニズムとして考察されている (Krauwinkel et al., 2012)。しかし、ヒトにおける OCT2 および P-糖蛋白質のタンパク発現量、および *in vitro* 輸送活性からヒト *in vivo* 輸送活性を算出する方法論が確立されていないことから、ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに OCT2 および P-糖蛋白質の基質性の情報を組み込むことができない。しかし、本章におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルには、医薬品体内動態を予測する上で最も重要である主消失経路に関する情報は全て組み込まれており、現時点で解明されている知見は考慮されている。今後、新たに得られる知見を生理学的薬物速度論モデル組み込むことで、それらの機能変動を考慮した予測が可能になると思われる。このような制限の下、ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルのさらなる活用例として、1) CYP3A4, BChE および UGT2B7 に対する阻害作用を有する医薬品との薬物間相互作用予測、2) CYP2D6 により代謝される医薬品との薬物間相互作用予測、3) 病態により生体側の機能変動がミラベグロンの血漿中濃度推移に与える影響および病態時の薬物間相互作用の予測が考えられる。

## 第5節 まとめ

ミラベグロンの各消失経路を考慮した健康成人における生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータを設定し、既報の臨床試験結果を再現できることを確認した。ミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用することで、臨床試験では検討していない UGT2B7 に対する阻害能を有する医薬品との薬物間相互作用を評価することが初めて可能となった。加えて、これまで不明であった各消失経路の寄与率を算出することが可能になり、血漿中 BChE 阻害によるミラベグロンの体内動態への影響が軽微であることが示唆された。

### 第 III 章 腎障害による各消失経路の機能変動を考慮した腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測する新規基盤システムの活用

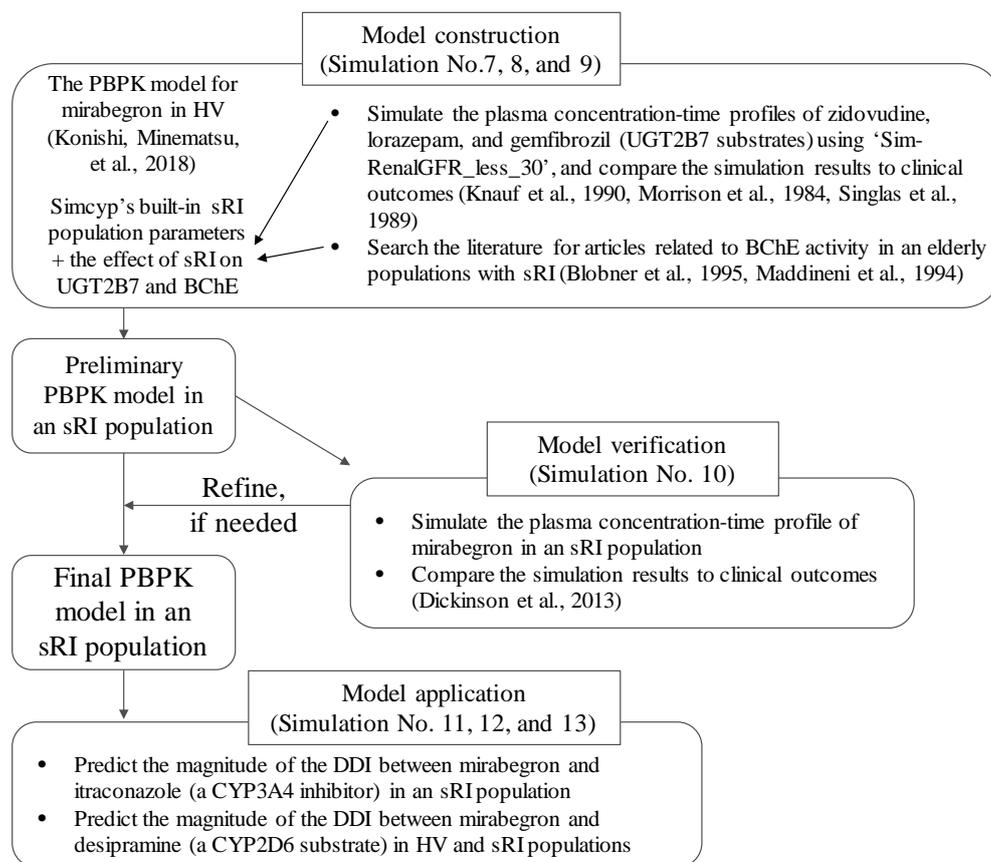
#### 第 1 節 緒言

本章では、第 II 章で示した健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに、腎障害による生体の機能変動を新たに組み込んだ腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移を予測する生理学的薬物速度論モデルを活用し、臨床試験において評価が困難な腎障害患者における薬物間相互作用を予測した。

慢性腎障害は腎機能低下およびそれに伴う合併症の発症のみならず、心血管系疾患リスクを上昇させることが知られている (Levey et al., 2005; Levey et al., 2012; Sarnak et al., 2003)。米国においてその患者数は年々増加傾向にあり、透析もしくは腎移植をした患者数は 1991 年には 20 万 9 千人であったのに対し、2004 年には 47 万 2 千人であった (Coresh et al., 2007)。慢性腎障害においては、その定義から GFR の低下が認められているため、腎排泄を受ける薬物の体内動態が変化することが予想される。さらに、腎障害により、肝臓に発現している代謝酵素にも影響を及ぼし、腎排泄型薬物以外の薬物においてもその体内動態を変動させる要因であることが知られている (Dreisbach, 2009; Nolin et al., 2008; Sun et al., 2006; Zhang et al., 2009)。このことは、2010 年に FDA から発効された腎障害患者における臨床試験実施のためのドラフトガイダンスにも記載され、肝代謝型薬物においても、腎障害患者に投与する可能性がある場合は、腎障害患者を対象とした臨床試験の実施が推奨されている (U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, 2010)。ミラベグロンの開発段階においても、腎障害患者を対象とした臨床試験が実施されており、正常腎機能被験者群と比べ、 $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  の幾何平均値は、軽度の腎機能障害患者群 (eGFR が 60~89 mL/min/1.73m<sup>2</sup>) では 1.06 倍および 1.31 倍、中等度群 (eGFR が 30~59 mL/min/1.73m<sup>2</sup>) では 1.23 倍および 1.66 倍、重度群 (eGFR が 15~29 mL/min/1.73m<sup>2</sup>) では 1.92 倍および 2.18 倍に増加した (Dickinson et al., 2013)。このように、腎障害によるミラベグロンの体内動態変動が検討されている一方、腎障害患者における薬物間相互作用の

ように実際の医療現場でみられる複数要因による複雑な体内動態変動は検討されていない。加えて、上述のように腎障害が及ぼす医薬品体内動態への影響は複雑であり、予測する方法論が望まれていた。そこで本章では、第 II 章で示した健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを基に、Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている重度腎障害患者の生理学的情報 (“Sim-RenalGFR\_less\_30”) を用いて (Rowland Yeo et al., 2011), 腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測する生理学的薬物速度論モデルの活用を検討した。以下、特に記載がない限り、腎障害の程度は重度とする。

本章の腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定 (model construction), 生理学的薬物速度論モデルの検証 (model verification) および生理学的薬物速度論モデルの活用 (model application) に関するワークフローの全体像を Fig. III-1 に示す。



**Fig. III-1. Workflow for the construction, verification, and application of a PBPK model for mirabegron in an sRI population.**

Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている腎障害患者の生理学的情報 (“Sim-RenalGFR\_less\_30”) は、健康成人の生理学的情報 (“Sim-Healthy Volunteers”) を基に設定されており、腎障害による GFR の低下およびヒト血清中アルブミン量の低下が考慮されている。さらに、腎障害による肝臓中 CYP3A4 のタンパク発現量の低下が考慮されているが、UGT2B7 のタンパク発現量の変動に関しては情報がなく、健康成人における UGT2B7 のタンパク発現量が暫定的に組み込まれている。そこでまず、UGT2B7 基質であるジドブジン、ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの生理学的薬物速度論モデルを用いて、腎障害患者におけるそれぞれの血漿中濃度推移を再現可能な UGT2B7 のタンパク発現量を推定した。一方、腎障害による BChE 活性への影響は、文献調査より得た。得られた情報を新たに組み込んだ腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いることで、腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移を再現できることを確認した。その後、腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用することで、腎障害患者におけるミラベグロンとの薬物間相互作用を初めて予測可能にした。以下に内容を詳述する。

## 第 2 節 解析方法

### III-2-i) 腎障害による UGT2B7 タンパク発現量の変動

腎障害による UGT2B7 のタンパク発現量の変動を推定するため、UGT2B7 基質であるジドブジン、ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの生理学的薬物速度論モデルおよび腎障害患者におけるこれら 3 化合物の血漿中濃度推移を用いた。腎障害患者におけるジドブジンの血漿中濃度推移は Singlas ら (1989) から、ゲムフィブロジルの血漿中濃度推移は Knauf ら (1990) から、ロラゼパムの血漿中濃度推移は Morrison ら (1984) からそれぞれ報告されている。ジドブジン、ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの薬剤側の情報は、Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されており、それぞれ“SV-Zidovudin”, “SV-Gemfibrozil”

および“SV-Lorazepam”を修正せずに用いた。また、腎障害患者の生理学的情報は、Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている“Sim-RenalGFR\_less\_30”を修正せずに用いて、必要に応じて UGT2B7 のタンパク発現量を変動させた。シミュレーションに用いた試験デザインは、既報の臨床試験デザインと同様に設定した。母集団のばらつきを捉えるために、合計で n=200 以上でシミュレーションを実施し、予測および実測されたジドブジン、ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの血漿中濃度推移をプロットした。ジドブジンについては、予測および実測の年齢、体重、CL<sub>cr</sub>、C<sub>max</sub>、AUC、CL<sub>po</sub>、CL<sub>r</sub>を比較した。ゲムフィブロジルについては、健康成人における血漿中濃度推移を実測の腎障害患者の血漿中濃度推移とした。これは、Knauf ら（1990）の報告において、制酸剤を併用している腎障害患者の C<sub>max</sub> および AUC が低下することが示されており、制酸剤を併用していない腎障害患者の血漿中濃度推移が健康成人と同等であることが報告されているためである。ロラゼパムに関しては、Morrison ら（1984）により、ロラゼパムを 1.5 mg 経口および静脈内単回投与後の血漿中濃度推移に加え、0.5 mg 経口反復投与後の血漿中濃度推移を用いた。シミュレーション結果を確認し、“Sim-RenalGFR\_less\_30”にデータベースとして搭載されている UGT2B7 のタンパク発現量を変動することで、腎障害患者におけるジドブジン、ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの血漿中濃度推移を再現できる UGT2B7 のタンパク発現量を推定した。

### III-2-ii) 腎障害による BChE 活性の変動

BChE の活性には個人差が大きく、年齢や性別によっても異なり、新生児では成人の 65% 程度だが、数週間で成人の約 1.3 倍まで上昇する。その後、成人と同等になり、さらに加齢と共に低下していくことが知られている（株式会社セロテック、平成 29 年）。腎障害患者の多くが高齢であることを考慮し、加齢と共に低下する BChE 活性の変動と腎障害による BChE 活性の変動とを分けて文献調査を行った。

### III-2-iii) 腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定および検証

III-2-i および III-2-ii において得られた腎障害患者における UGT2B7 のタンパク発現量および BChE の活性を“Sim-RenalGFR\_less\_30”および第 II 章において示したミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに新たに組み込み、腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルとした。腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルの妥当性を検証するため、腎障害患者を対象としたミラベグロンの臨床第 1 相試験 (Dickinson et al., 2013) の再現性を検討した。シミュレーションに用いた試験デザインは、既報の臨床試験デザインと同様に設定した (Dickinson et al., 2013)。母集団のばらつきを捉えるために、合計で n=200 以上でシミュレーションを実施し、予測および実測のミラベグロンの血漿中濃度推移をプロットした。加えて、予測および実測の年齢、体重、 $f_p$ 、 $C_{max}$ 、 $AUC_{inf}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $CL_r$  を算出し、同時に、腎障害患者におけるミラベグロンの各消失経路の寄与率をシミュレーション結果から推定した。腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移を再現するために、必要に応じて生理学的薬物速度論モデルに組み込まれているパラメータを調整した。

### III-2-iv) 腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルの活用

III-2-iii にて検証された腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用し、腎障害患者におけるミラベグロンとの薬物間相互作用を予測した。併用薬には、強力な CYP3A4 阻害剤としてイトラコナゾールを、CYP2D6 指標基質としてデシプラミンを選択した。イトラコナゾールおよびその代謝物ならびにデシプラミンの生理学的薬物速度論モデルは、Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている“SV-Itraconazole\_Fasted Soln”および“SV-OH-Itraconazole”ならびに“Sim-Desipramine”を修正せずに用いた。シミュレーションに用いた試験デザインは、腎障害患者を対象としたミラ

ベグロンの臨床第 1 相試験，健康成人を対象としたミラベグロンとケトコナゾールとの臨床薬物間相互作用試験およびミラベグロンとデシプラミンとの臨床薬物間相互作用試験を参考にした (Dickinson et al., 2013., Krauwinkel et al., 2014, Lee et al., 2013)。母集団のばらつきを捉えるために，合計で n=200 以上でシミュレーションを実施し，薬物間相互作用の程度 ( $C_{max}$  ratio および  $AUC_{inf}$  ratio) を予測した。ミラベグロンとデシプラミンとの薬物間相互作用のシミュレーションにおけるミラベグロンの投与量は，ミラベグロンの用法・用量である 50 mg および 25 mg に設定し，さらに，腎障害患者と健康成人における薬物間相互作用の差異を考察するため，健康成人における薬物間相互作用シミュレーションを実施した。その際には，第 II 章で示した健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用し，シミュレーションに用いた試験デザインは健康成人におけるミラベグロンとデシプラミンとの臨床薬物間相互作用試験を参考にした (Krauwinkel et al., 2014)。最後に，腎障害患者におけるミラベグロンとイトラコナゾールとの薬物間相互作用の予測結果から得られた  $AUC_{inf}$  ratio および  $C_{max}$  ratio に，既報の腎障害によるミラベグロン単剤の  $AUC_{inf}$  上昇率および  $C_{max}$  上昇率 (Dickinson et al., 2013) を乗じて，正常腎機能高齢者の  $AUC_{inf}$  と比較した際の  $AUC_{inf}$  上昇率および  $C_{max}$  上昇率を算出した。

### 第 3 節 結果

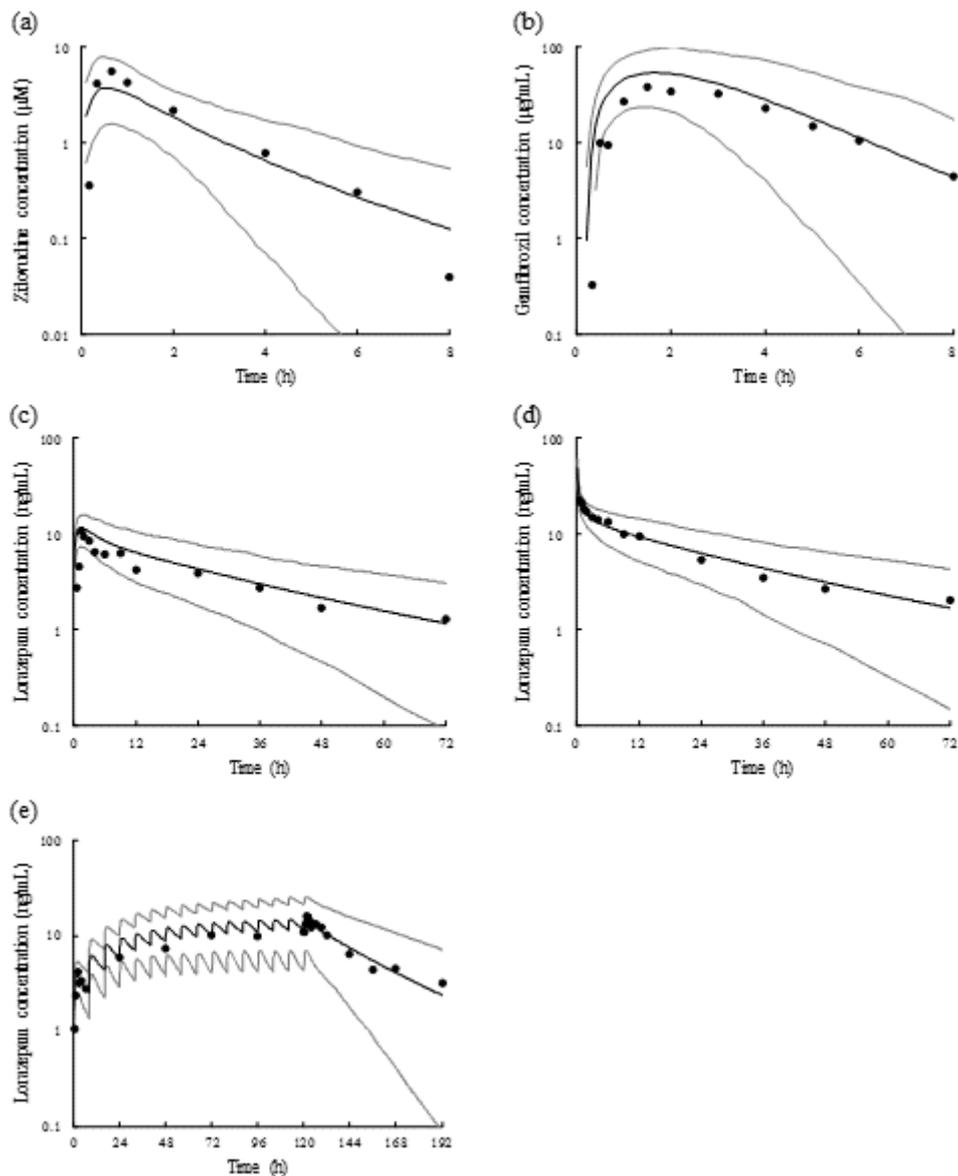
#### III-3-i) 腎障害による UGT2B7 タンパク発現量の変動

腎障害患者におけるジドブジン，ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの血漿中濃度推移シミュレーションに用いた試験デザインおよびシミュレーション結果ならびに予測されたジドブジンの各 PK パラメータを Table III-1 (Simulation No. 7, 8 および 9) および Fig III-2 ならびに Table III-2 に示す。

**Table III-1. Simulation design for each simulation.**

Simulation No.	7	8	9	10	11	12	13
Process	Construction	Construction	Construction	Verification	Application	Application	Application
Population	Sim-RenalGFR_less_30						Sim-Healthy Volunteers
Substrate	SV-Zidovudin e	SV-Gemfibro zil	SV-Lorazepam	Mirabegron_sRI	Mirabegron_sRI	Sim-Desipramin e	Sim-Desipramin e
Inhibitor	-	-	-	-	SV-Itraconazole _Fasted Soln and SV-OH-Itracona zole	Mirabegron_sRI	Mirabegron
Age range (years)	36-76	42-72	35-69 (single po/iv) 49-69 (multiple po)	42-75	42-75	42-75	18-53
Proportion of females	0.430	0.625	0.500	0.444	0.444	0.444	0.500
No. of trials	20	30	40 (single po/iv) 60 (multiple po)	30	30	30	10
No. of subjects in each trial	14	8	6 (single po/iv) 4 (multiple po)	9	9	9	28
Population size	280	240	240	270	270	270	280
Start day	1	1	1	1	1	1	1
End day	2	2	4 (single po/iv) 9 (multiple po)	6	14	20	20
Duration of study (h)	24	24	72 (single po/iv) 192 (multiple po)	120	312	456	456
Dose of substrate	200 mg on Day 1	900 mg on Day 1	1.5 mg on Day 1 (single po/iv) 0.5 mg TID on Day 1-5 and 0.5 mg on Day 6 (multiple po)	100 mg on Day 1	100 mg on Day 4	50 mg on Day 14	50 mg on Day 14
Dose of inhibitor	-	-	-	-	200 mg QD on Day 1-9	25 or 50 mg QD on Day 1-19	25 or 50 mg QD on Day 1-19
Reference	Singlas et al., 1989	Knauf et al., 1990	Morrison et al., 1984	Dickinson et al., 2013	-	-	-

iv: intravenous administration, po: oral administration, QD: once a day, TID: three times a day



**Fig III-2. Observed and simulated plasma concentration-time profiles of zidovudine after a single oral administration at 200 mg (a), gemfibrozil after a single oral administration at 900 mg (b), lorazepam after a single oral administration at 1.5 mg (c), lorazepam after a single intravenous administration at 1.5 mg (d), and lorazepam after multiple oral administrations at 0.5 mg (e) in an sRI population. Black lines represent the simulated mean plasma concentration-time profiles, and gray lines represent the simulated 5<sup>th</sup> and 95<sup>th</sup> percentiles. Closed circles represent the observed data from published clinical studies (Singlas et al., 1989; Morrison et al., 1984; Knauf et al., 1990).**

**Table III-2. Observed and simulated demographic and PK parameters after a single oral administration of zidovudine at 200 mg to an sRI population.**

	Age (years)	Weight (kg)	CL <sub>cr</sub> (mL/min)	C <sub>max</sub> (μmol/L)	AUC (μmol × h/L)	CL <sub>po</sub> (mL/min)	CL <sub>r</sub> (mL/min)
Observed (Singlas et al., 1989)	59	70.8	18	6.2	11.7	1228	16.7
Simulated	61	70.3	21*	3.9	9.5	1651	43.3

Data are mean values.

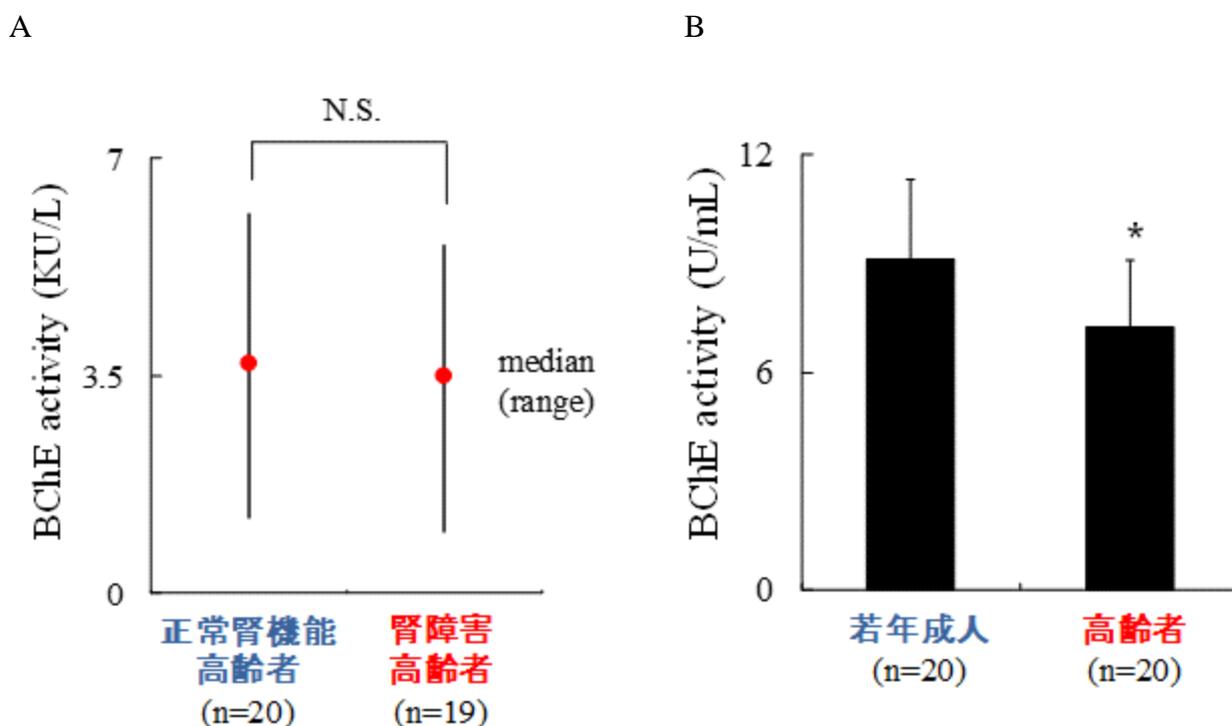
\*: CL<sub>cr</sub> was calculated by Cockcroft-Gault equation (Cockcroft et al., 1976)

腎障害患者におけるジドブジン，ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの予測された平均血漿中濃度推移の形状は，実測の平均血漿中濃度推移の形状と類似し，Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている腎障害患者の生理学的情報(“Sim-RenalGFR\_less\_30”)を修正せずに用いることで実測を再現可能であることが確認された。また，ジドブジンの各 PK パラメータ (C<sub>max</sub> および AUC) の予測値と実測値の乖離が 2 倍以内であることから，シミュレーションの結果が実測を再現可能であることが確認された。以上の結果より，健康成人と同等な UGT2B7 のタンパク発現量を仮定することで，ジドブジン，ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの腎障害患者における血漿中濃度推移を再現可能であった。さらに，実測の被験者群の年齢 (35~76 歳) から，腎障害のみならず加齢による UGT2B7 のタンパク発現量への影響も考慮されており，以降のシミュレーションにおける高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込む UGT2B7 のタンパク発現量は，健康成人の UGT2B7 のタンパク発現量と同等とした。

### III-3-ii) 腎障害による BChE 活性の変動

Blobner ら (1995 年) の報告から，コントロール群 (腎機能が正常な高齢者) における偽性コリンエステラーゼの活性が 3.7 KU/L であるのに対し，腎障害患者群 (高齢者) では 3.5 KU/L と有意な差は認められなかった (Fig III-3A)。一方，Maddineni ら (1994 年) の報

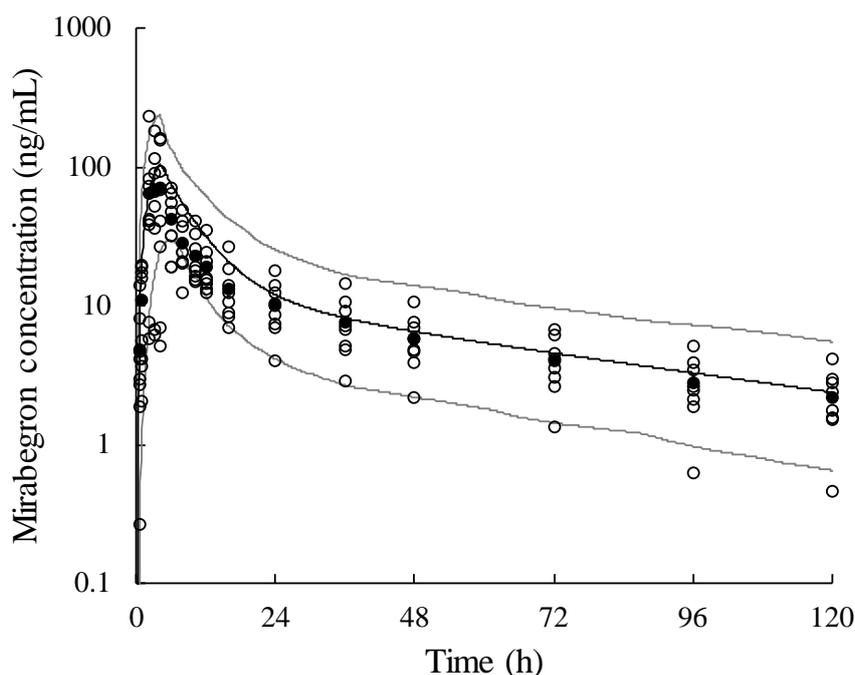
告から、健康若年成人における血漿中コリンエステラーゼの活性が 9.11 U/mL に対し、高齢者における活性が 7.23 U/mL と有意に低下し、その比はおよそ 0.8 倍であることが示されている (Fig III-3B)。第 II 章で示した健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルは若年成人におけるモデルであることに加え、腎障害患者の多くが高齢者であることを考慮して、高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込む BChE の活性は、健康若年成人における BChE の活性より 20% 程低下させた (Table II-2 における Plasma  $t_{1/2}$  for BChE の値を 72.5 min から 91.4 min に変更した “Mirabegron\_sRI” を作成した)。



**Fig III-3.** The effect of severe renal impairment (A) or aging (B) on butyrylcholinesterase activity. **A:** the data represents median and range cited from Blobner et al., 1995. **B:** the data represents mean and SD cited from Maddineni et al., 1994. \*:  $p < 0.01$

III-3-iii) 高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータの設定および検証

III-3-i および III-3-ii において得られた結果から、Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている腎障害患者の生理学的情報 (“Sim-RenalGFR\_less\_30”) および高齢腎障害患者におけるミラベグロンの薬剤側の情報 (“Mirabegron\_sRI”) を用いることで、高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルとした。高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルの妥当性を検証するために、高齢腎障害患者を対象にしたミラベグロンの臨床第 1 相試験 (Dickinson et al., 2013) の再現性を確認した。シミュレーションに用いた試験デザインを Table III-1 (Simulation No. 10) に、結果を Figure III-4 および Table III-3 に示す。



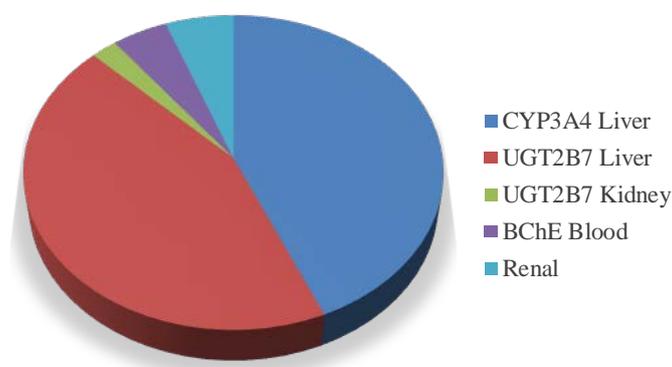
**Fig III-4. Observed and simulated plasma concentration-time profile for mirabegron after a single oral administration at 100 mg to an sRI population. Black line represents the simulated mean plasma concentration-time profile, and gray lines represent the simulated 5th and 95th percentiles. Closed and open circles represent the observed mean and individual data, respectively, from a published clinical study (Dickinson et al., 2013)**

**Table III-3. Observed and simulated demographic and PK parameters after a single oral administration of mirabegron at 100 mg to an sRI population.**

	Age (years)	Weight (kg)	$f_p$	$C_{max}$ (ng/mL)	$AUC_{inf}$ (ng × h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	$CL_r$ (L/h)
Observed	65	73.3	0.27	93.8	1239	52.1	2.3
(Dickinson et al., 2013)	(42-75)	(53.2-83.2)	(15)	(75)	(53)	(23)	(36)
Simulated	62	70.3	0.33	111	1610	51.8	1.9
	(42-75)	(37.2-116)	(9)	(57)	(45)	(26)	(24)

Age and weight data indicate mean (range). All other values indicate mean (%CV).

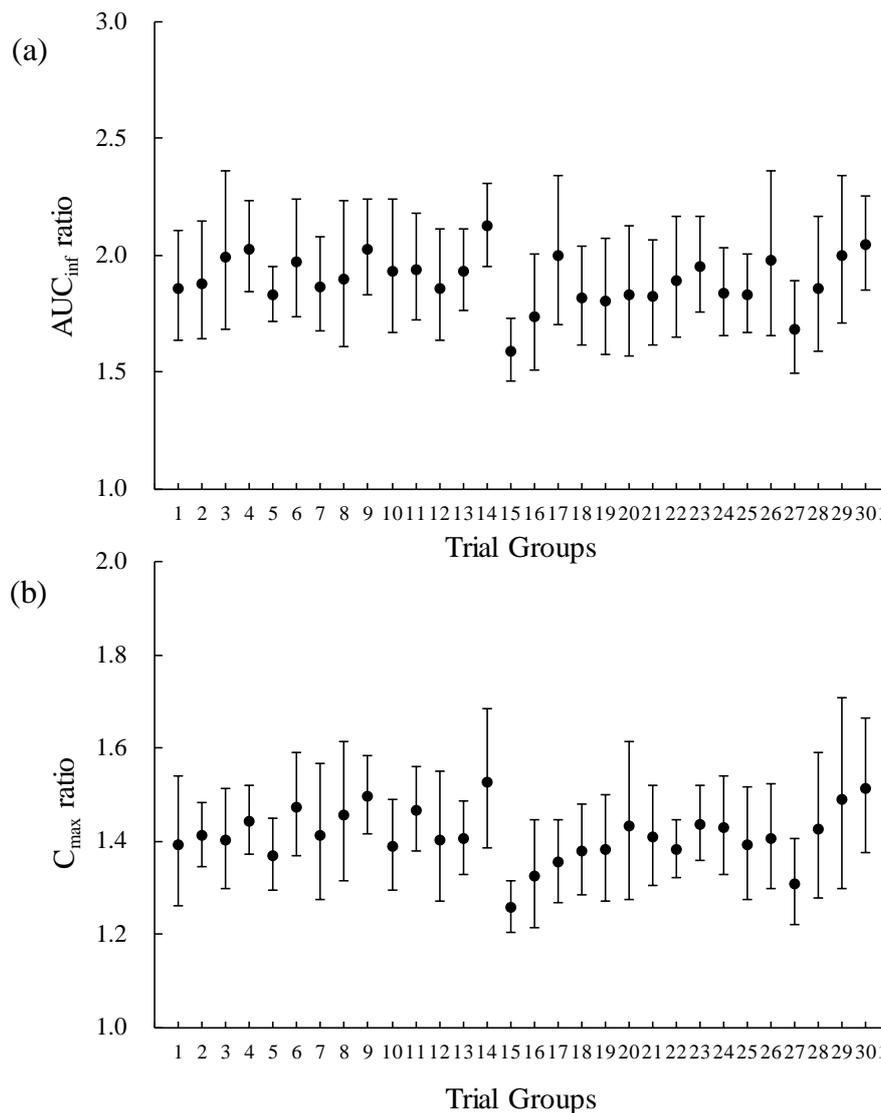
予測された平均血漿中濃度推移の形状と実測の平均血漿中濃度推移の形状が類似していること、および各 PK パラメータ ( $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$ ) の予測値と実測値の乖離が 2 倍以内であることから、高齢腎障害患者における血漿中濃度推移および各 PK パラメータを再現でき、高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルおよび組み込んだ高齢腎障害患者における生理学的な情報の妥当性が確認された。そのため、高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込まれているパラメータを調整する必要はないと判断した。シミュレーション結果から推定された高齢腎障害患者における各消失経路の寄与率は、肝臓における CYP3A4 が 44%、UGT2B7 が 44%、腎臓における UGT2B7 が 2.2%、血漿中における BChE が 4.7%、未変化体の腎排泄が 5.8%であった (Fig III-5)。



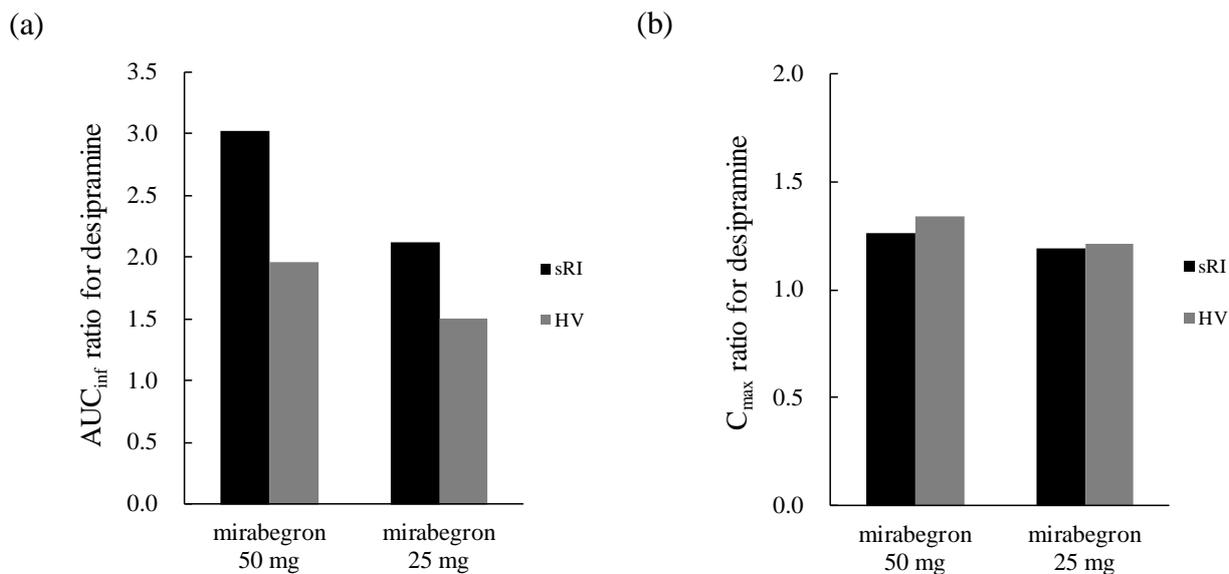
**Fig III-5. Simulated contribution ratio of each elimination pathway of mirabegron in an sRI population.**

### III-3-iv) 高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルの活用

III-3-iiiにて検証された高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用した、高齢腎障害患者におけるミラベグロンとイトラコナゾール、およびミラベグロンとデシプラミンとの薬物間相互作用シミュレーションの試験デザインを Table III-1 (Simulation No. 11, 12および13) に、結果を Figure III-6 および 7 に示す。



**Fig III-6. The predicted  $AUC_{inf}$  (a) and  $C_{max}$  (b) ratios for mirabegron in each simulation trial group following itraconazole co-administration to an sRI population. Closed circles represent the predicted geometric means of  $AUC_{inf}$  and  $C_{max}$  ratios, and the range of the black lines represent the 90% confidence intervals.**

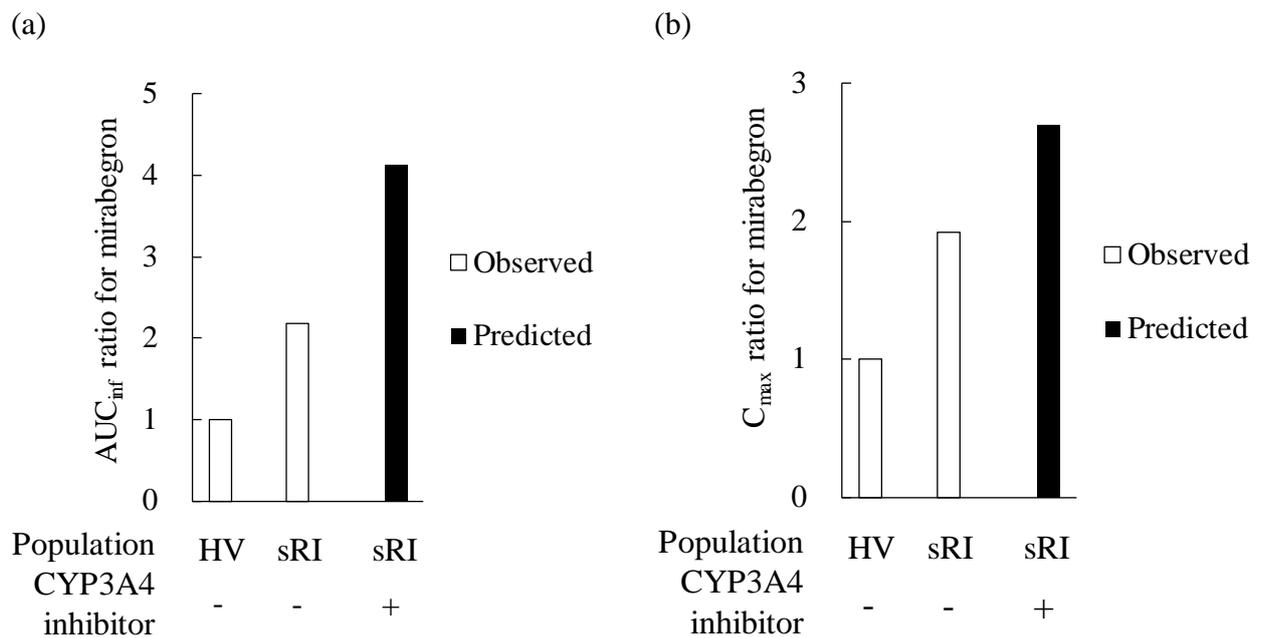


**Fig III-7. The observed and predicted  $AUC_{inf}$  (a) and  $C_{max}$  (b) ratios for desipramine following multiple oral co-administrations of mirabegron (50 and 25 mg) to a severe renal impairment (sRI) population and healthy subjects (HV). Black bars represent the predicted geometric mean ratios in an sRI population, and gray bars represent the predicted geometric mean ratios in healthy subjects.**

Fig III-6 には高齢腎障害患者におけるミラベグロンとイトラコナゾールとの薬物間相互作用を予測した結果をシミュレーショントライアル毎に示しており、全シミュレーショントライアルの結果をまとめた  $AUC_{inf}$  ratio および  $C_{max}$  ratio は幾何平均値として 1.89 および 1.41 と予測された。一方、Fig III-7 には、高齢腎障害患者におけるミラベグロンとデシプラミンとの薬物間相互作用を予測した結果を示しており、高齢腎障害患者において、50 mg ミラベグロン投与によりデシプラミンの  $AUC_{inf}$  および  $C_{max}$  は幾何平均値として 3.03 倍および 1.26 倍に、25 mg ミラベグロン投与により 2.12 倍および 1.19 倍に上昇することが予測された。一方、健康成人において、50 mg ミラベグロン投与によりデシプラミンの  $AUC_{inf}$  および  $C_{max}$  は幾何平均値として 1.96 倍および 1.34 倍に、25 mg ミラベグロン投与により 1.51 倍および 1.21 倍に上昇することが予測された。

高齢腎障害患者においてイトラコナゾールを併用することでミラベグロンの  $AUC_{inf}$  および  $C_{max}$  が 1.89 倍および 1.41 倍上昇することが予測されたこと、および既報の情報から、

高齢腎障害患者におけるミラベグロン単剤服用時の  $AUC_{inf}$  および  $C_{max}$  が、正常腎機能高齢者におけるミラベグロン単剤服用時の  $AUC_{inf}$  および  $C_{max}$  と比較し、それぞれ 2.18 倍および 1.92 倍に上昇することから (Dickinson et al., 2013)、高齢腎障害患者がイトラコナゾールを併用した際のミラベグロンの  $AUC_{inf}$  および  $C_{max}$  は、正常腎機能高齢者においてミラベグロン単剤服用時の  $AUC_{inf}$  および  $C_{max}$  と比較し、それぞれ 4.12 倍 ( $= 1.89 \times 2.18$ ) および 2.71 倍 ( $= 1.41 \times 1.92$ ) 倍に上昇することが予測された (Fig. III-8)。



**Fig. III-8. Observed and predicted  $AUC_{inf}$  (a) and  $C_{max}$  (b) ratios for mirabegron in healthy elderly volunteers (HV) and a severe renal impairment (sRI) population with/without a strong CYP3A4 inhibitor.**

## 第4節 考察

本章では、まず、腎障害による UGT2B7 のタンパク発現量および BChE の活性の変動を推定した。続いて、既知の腎障害による生体の機能変動に加え、推定された UGT2B7 のタンパク発現量および BChE の活性の変動を第 II 章で示した健康成人における生理学的薬物速度論モデルに新たに組み込むことで、腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移を再現できることを確認した。最後に、腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用し、腎障害患者におけるミラベグロンとの薬物間相互作用を予測した。

腎障害による UGT2B7 の発現量の変動を推定するため、UGT2B7 基質であるジドブジン、ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの生理学的薬物動態速度論モデルおよび腎障害患者における血漿中濃度推移を用いた。その結果、Singlas ら (1989)、Knauf ら (1990) および Morrison ら (1984) から報告されている腎障害患者におけるジドブジン、ゲムフィブロジルおよびロラゼパムの血漿中濃度推移は Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている腎障害患者の生理学的情報 (“Sim-RenalGFR\_less\_30”) を修正せずに用いることで再現可能であった (Fig III-2)。Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている腎障害患者の生理学的な情報には、腎障害による GFR の低下、ヒト血清中アルブミン量の低下および肝臓中 CYP3A4 のタンパク発現量の低下などが考慮されており、CYP3A4 で代謝されるジルチアゼムおよびレパグリニドの腎障害患者における血漿中濃度推移を再現できることが確認されている (Rowland Yeo et al., 2011)。しかし、腎障害患者における UGT2B7 のタンパク発現量に関する情報は限定的であり、現時点において、Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている腎障害患者の生理学的情報 (“Sim-RenalGFR\_less\_30”) における UGT2B7 のタンパク発現量は、健康成人における UGT2B7 のタンパク発現量が暫定的に組み込まれている。本検討により、腎障害患者における UGT2B7 基質の血漿中濃度推移が Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている腎障害患者の生理学的情報 (“Sim-RenalGFR\_less\_30”) を修正せずに用いることで再現できたことから、腎障害患者に

における UGT2B7 のタンパク発現量は健康成人における発現量と同等であり，腎障害による影響が軽微であることが示唆された。本検討で得られた知見は，腎障害患者における他の UGT2B7 基質の体内動態を予測する際にも有用であると考えられる。

腎障害による BChE 活性の変動は文献より得た。その際，腎障害患者の多くは高齢であること，および BChE の活性は加齢により低下することを考慮し，BChE 活性の変動を加齢による影響と腎障害による影響に分けて調査した。その結果，Maddineni ら（1994 年）の報告から，高齢者における血漿中コリンエステラーゼの活性が成人における血漿中コリンエステラーゼの活性と比較しておよそ 0.8 倍であることが示されており，一方，Blobner ら（1995 年）の報告から，腎障害患者群における偽性コリンエステラーゼの活性はコントロール群（腎障害患者群と年齢，性別および体重を合わせた正常腎機能高齢者）における偽性コリンエステラーゼの活性と有意な差は認められなかった。これは，Head-Rapson ら（1995 年）の報告でも同様な結果が示されており，健康成人と腎障害患者における BChE の活性および指標基質である mivacurium の半減期に有意な差は認められていない。本検討で得られた知見は，高齢腎障害患者における他の BChE 基質の体内動態を予測する際にも有用であると考えられる。

以上のように推定された高齢腎障害患者における UGT2B7 のタンパク発現量および BChE の活性を新たに組み込んだ高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いることで，臨床試験における高齢腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移が再現可能であることが確認された（Fig III-4）。この結果から，高齢腎障害患者における UGT2B7 のタンパク発現量および BChE の活性のみならず，改めて Simcyp Simulator にデータベースとして搭載されている腎障害患者の生理学的情報（“Sim-RenalGFR\_less\_30”）の妥当性が確認された。

高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用し，高齢腎障害患者におけるミラベグロンとの薬物間相互作用を予測した。併用薬には，強力な CYP3A4 阻害剤としてイトラコナゾールを選択した。これは，2013 年に欧州医薬品庁からケトコナゾールによる肝障害発症リスクが報告され（European Medicines Agency, 2013），臨床薬物間

相互作用試験においてはケトコナゾールに代わりイトラコナゾールが使用されるようになったためである。イトラコナゾールにはその代謝物として水酸化イトラコナゾールが知られており、親化合物と共に CYP3A4 への直接阻害能を有している (Isoherranen et al., 2004)。本検討により、高齢腎障害患者においてイトラコナゾールを併用することでミラベグロンの  $AUC_{inf}$  を幾何平均値として 1.89 倍上昇させることが予測された。この上昇率は、健康成人においてケトコナゾールを併用した際に上昇するミラベグロンの  $AUC_{inf}$  と同等であった (Fig. II-5)。この理由として、健康成人および高齢腎障害患者において、ミラベグロンの消失に対する肝臓中 CYP3A4 の寄与率が 44% と同じであったことが考えられる。高齢腎障害患者における CYP3A4 のタンパク発現量は健康成人と比較して低下しているが、その他の要因も腎障害により変動したため、結果として肝臓中 CYP3A4 の寄与率に変動をもたらさなかったと考えられる。肝臓中 UGT2B7 については、健康成人における寄与率が 29% であるのに対し、高齢腎障害患者では 44% と上昇することが予測されたため、UGT2B7 阻害剤を併用した際には、ミラベグロンの  $AUC_{inf}$  の上昇率は高齢腎障害患者の方が健康成人に比べ高いことが予想される。

本シミュレーション結果より、高齢腎障害患者においてイトラコナゾールを併用することで、ミラベグロンの  $C_{max}$  が非併用時と比較して 1.41 倍、 $AUC_{inf}$  が 1.89 倍上昇することが予測され、これは正常腎機能高齢者がミラベグロン単独服用した際の  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  の 2.71 倍および 4.12 倍であることが計算された。本結果により、高齢腎障害患者において強力な CYP3A4 阻害剤を併用する際に、ミラベグロンの用量を半量もしくは 1/4 量から処方を開始するなど、より患者に適したミラベグロンの処方を提案することが可能になると考えられる。

CYP2D6 指標基質であるデシプラミンとの薬物間相互作用について、これまで、健康成人において 1 日 1 回 100 mg のミラベグロンを服用した際にデシプラミンに与える影響が検討されていたが (Krauwinkel et al., 2014)、より医療現場の患者背景を考慮するために、本章においてはミラベグロンの用法・用量である 1 日 1 回 50 mg もしくは 25 mg を服用した際にデシプラミンに与える影響を高齢腎障害患者および健康成人を対象にシミュレーシ

ョンを実施した。その結果、高齢腎障害患者において、腎障害によるミラベグロンの暴露上昇に伴い、肝臓における CYP2D6 の  $CL_{int}$  が健康成人と比較しより阻害されることが予測された (data not shown)。一方、腎障害による肝臓中 CYP2D6 のタンパク発現量の低下のため、デシプラミンの  $F_h$  は腎障害患者の方が高く、ミラベグロンの CYP2D6 阻害作用に伴うデシプラミンの  $F_h$  の上昇率、すなわち BA の上昇率は健康成人の方が高いことが予測された (data not shown)。ミラベグロン併用によるデシプラミンの  $AUC_{inf}$  の上昇率が高齢腎障害患者の方が高い理由は (Fig III-7a)、ミラベグロンによりデシプラミンの肝臓における CYP2D6 の  $CL_{int}$  が阻害されることが  $AUC_{inf}$  の上昇の主要因であるためと考えられる。一方、ミラベグロン併用によるデシプラミンの  $C_{max}$  の上昇率が高齢腎障害患者と健康成人とで同等である理由は (Fig III-7b)、腎障害によりミラベグロンの CYP2D6 の  $CL_{int}$  阻害作用が増強したことと、高齢腎障害患者においてはデシプラミンの BA の上昇が抑えられたことが均衡されたためと考えられた。

## 第5節 まとめ

腎障害患者における UGT2B7 のタンパク発現量は健康成人におけるタンパク発現量と同等であり、腎障害による影響が軽微であることが示唆された。また、文献調査から高齢腎障害患者における BChE の活性は健康若年成人における BChE の活性に比べおよそ 20%低下すると考えられた。得られた情報を新たに組み込んだ高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いることで、高齢腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移を再現できることが確認された。高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用することで、臨床試験において検討が困難である高齢腎障害患者における薬物間相互作用を初めて予測可能にした。

## 総括

本研究では、医薬品を安全に使用する上での創薬および育薬段階の課題に対する取組みを行った。医療現場における患者の人種、年齢、病態および併用薬は極めて多様であり、臨床試験ならびに実臨床段階では、これら全ての患者背景を考慮した安全性を評価することはできない。特に、代謝および排泄経路が複数存在する医薬品の多様な患者背景がもたらす体内動態への影響は複雑であり予測も困難である。本研究では、これら緒問題を解決し、医療現場でのより安全な医薬品の使用に向けて、実際の患者背景を考慮でき、複数要因による医薬品の体内動態変動を予測する新規基盤システムの活用をミラベグロンをモデル化合物として検討した。

ミラベグロンは、アステラス製薬株式会社において研究および開発された過活動膀胱を適応症とする世界初の選択的  $\beta_3$  アドレナリン受容体作動薬である。過活動膀胱とは、尿意切迫感があり、しばしば頻尿を伴い、ときに切迫性尿失禁をきたす疾患であり、患者の QOL を著しく低下させるのみならず、その周りの家族や介護者などまで負担を強いる疾患である。ミラベグロンについては、過活動膀胱における尿意切迫感、頻尿および切迫性尿失禁への優れた有効性および安全性が臨床試験において確認されており、販売以来、過活動膀胱の新たな治療選択肢としての評価を得ている。ミラベグロンの体内からの消失経路としてこれまで、CYP3A4 および BChE による代謝ならびに未変化体の尿中排泄が明らかにされてきたが、主代謝経路のひとつであるグルクロン酸抱合代謝に関与するヒト UGT 分子種は同定されておらず、UGT のタンパク発現量の変動に起因するミラベグロンの体内動態変動の予測は困難であった。また、臨床試験において、健康成人における薬物相互作用および肝障害・腎障害患者におけるミラベグロンの体内動態変動が検討されてきたが、これらはひとつの変動要因による影響を検討した臨床試験であり、病態時における薬物間相互作用のように実際の医療現場でみられる複数要因によるミラベグロンの体内動態変動については臨床試験において検討されていない。そこで本研究ではまず、ミラベグロンの複数の代謝経路のうち、不明であったヒト UGT 分子種を同定した。その後、全ての消失経路の主要代謝酵素を組み込んだ生理学的薬物速度論モデルを用いて、健康成人におけるミラベグ

ロンの血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測した。最後に、腎障害によるすべての消失経路の機能変動を生理学的薬物速度論モデルに新たに組み込むことで、病態および作用薬または被作用薬相互の影響を予測することを可能にした。

第 I 章では、ミラベグロン代謝に関与するヒト UGT 分子種を同定した。各種ヒト UGT 分子種発現系におけるミラベグロンの主代謝物のひとつであり直接グルクロン酸抱合体である M11 の生成活性を評価した。その後、既報の各種ヒト UGT 分子種発現系およびヒト肝マイクロゾーム中に発現している各種ヒト UGT 分子種のタンパク発現量で補正し、ヒト肝マイクロゾーム中における M11 生成活性をヒト UGT 分子種ごとに算出した結果、UGT2B7 により最も高い M11 生成活性が得られ、続いて UGT1A9 であった。16 個体の個別ヒト肝マイクロゾームを用いた実験結果から、M11 生成活性と UGT2B7 の指標基質であるモルヒネの 3-O-グルクロン酸抱合体の生成活性との間に有意な相関が認められた。一方、M11 生成活性と UGT1A9 の指標基質であるプロポフォールのグルクロン酸抱合体の生成活性との間には相関は認められなかった。また、ヒト肝マイクロゾームにおいて、UGT2B7 阻害剤であるメフェナム酸が濃度依存的に M11 生成活性を阻害したのに対し、UGT1A9 阻害剤であるプロポフォールは検討した濃度範囲において M11 生成活性を阻害しなかった。以上の結果から、M11 生成において UGT2B7 の関与が支持された。さらに、ヒト肝マイクロゾームおよびヒト UGT2B7 発現系を用いた速度論的解析結果から、両酵素源においてミラベグロン濃度依存的な M11 の生成が認められた。以上の結果から、ヒト肝における M11 生成に最も関与するヒト UGT 分子種は UGT2B7 であると推察された。

第 II 章では、新規基盤システムとして生理学的薬物速度論モデルを選択し、第 I 章において明らかになった UGT2B7 の関与を含め、ミラベグロンの全ての消失経路を考慮した健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いて血漿中濃度推移および薬物間相互作用の予測を試みた。まず、臨床試験結果、in vitro 試験結果および in silico 予測結果など、ミラベグロンに関する薬剤側の情報を収集し、健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルに組み込むパラメータを設定した。続いて、健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルの妥当性を検証するため、パラメータ設定

には用いていないミラベグロンと強力な CYP3A4 誘導剤であるリファンピシン、およびミラベグロンと CYP2D6 指標基質であるデシプラミンとの薬物間相互作用を予測した結果、両臨床薬物間相互作用試験の結果を再現できることが確認された。健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いたシミュレーション結果から、ミラベグロンの各消失経路の寄与率を初めて算出可能になった。各消失経路の寄与率が算出されたことにより、例えば、併用薬により血漿中 BChE 活性が低下するような場合においても、BChE の寄与率が 3.2% と低いため、BChE 阻害剤がミラベグロンの体内動態に及ぼす影響は軽微であることが示唆された。健康成人におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用することで、臨床試験において未検討の併用薬との薬物間相互作用を予測することが初めて可能となった。その例として、ミラベグロンと UGT2B7 阻害剤であるプロベネシドとの薬物間相互作用を予測した結果、プロベネシドを併用することでミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  がそれぞれ 1.12 倍および 1.15 倍上昇することが予測された。同様に、UGT2B7 阻害剤でありかつ CYP3A4 阻害剤であるフルコナゾールとの薬物間相互作用を予測した結果、ミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  がそれぞれ 1.50 および 1.74 倍上昇することが予測された。これらの結果から、健康成人において、プロベネシドおよびフルコナゾールと同程度の UGT2B7 に対する阻害能を有する医薬品を併用する際には、ミラベグロンの用量を調整する必要性は低いことが示唆された。

第 III 章では、腎障害による各消失経路の機能変動を考慮した生理学的薬物速度論モデルを用いて、腎障害患者におけるミラベグロンの血漿中濃度推移および薬物間相互作用を予測した。腎障害による生理学的な変動に関して、糸球体濾過速度の低下、血清中アルブミン量の低下および肝臓中 CYP3A4 のタンパク発現量の低下など、一部については情報が得られていたが、UGT2B7 のタンパク発現量および BChE の活性の変動については新たに情報を追加し、生理学的薬物速度論モデルに組み込む必要があった。腎障害による UGT2B7 のタンパク発現量の変動は、典型的な他種医薬品の臨床情報を用いた解析により、腎障害患者における UGT2B7 のタンパク発現量は健康成人と比較し、変動しないことを明らかにした。一方、腎障害による BChE の活性の変動は、文献調査の結果、高齢腎障害患者にお

ける BChE の活性は健康若年成人における BChE の活性と比較し、およそ 20%低下していることが明らかとなった。腎障害によるすべての消失経路の機能変動を考慮した高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを用いることで、ミラベグロンの高齢腎障害患者における血漿中濃度推移を再現できたことから、高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルおよび組み込んだ高齢腎障害患者の生理学的な情報の妥当性が検証された。高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用することで、臨床試験では検討が困難な高齢腎障害患者における薬物間相互作用を予測することが初めて可能となった。その例として、高齢腎障害患者において、強力な CYP3A4 阻害剤であるイトラコナゾールを併用することで、ミラベグロンの  $C_{max}$  および  $AUC_{inf}$  がそれぞれ 1.41 倍および 1.89 倍上昇することが予測された。また、ミラベグロンを併用することによるデシプラミンの  $AUC_{inf}$  に対する影響は、健康成人と比較し高齢腎障害患者の方が大きいことが予測され、高齢腎障害患者に対して、より注意した処方設計が必要になることが示唆された。このように高齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルを活用してシミュレーションを実施することで、医療現場でみられる実際の患者に対する適切な処方設計支援を可能にした。

本研究におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルには、医薬品体内動態変動を予測する際に最も重要である消失経路の全体像が考慮されている。そのため、病態や併用薬による各消失経路の機能変動に起因する医薬品体内動態変動をシミュレーションすることが可能である。しかし、生体の生理学的情報が不明である要素の機能変動や不明なメカニズムに起因する医薬品体内動態変動は、それらを生理学的薬物速度論モデルに考慮することができないため、そのような変動因子が医薬品体内動態に与える影響を予測することは難しい。今後の研究の進展により、不明であった生理学的情報やメカニズムが解明された際には、生理学的薬物速度論モデルに新たに組み込むことで、それらの機能変動に起因する医薬品体内動態変動を予測することが可能になるであろう。

以上、本研究において、ミラベグロン代謝に関与するヒト UGT 分子種として UGT2B7 を同定し、ミラベグロンの消失経路の全体像を明らかにした。そして、健康成人および高

齢腎障害患者におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論に基づいた数理モデルを活用することで、年齢、病態および作用薬または被作用薬相互の影響を全て考慮した予測を初めて可能にした。

本研究における新規基盤システムの各要素と活用例を図 2 に示す。まず、物理化学的情報、吸収・分布・代謝・排泄に関する情報、代謝酵素に対する阻害定数などの薬剤側の情報を臨床試験結果、*in vitro* 試験結果および *in silico* 予測結果から収集する。薬剤の消失経路のような重要な情報が不足している場合には、実験などにより情報を追加する必要がある。得られた薬剤側の情報に、健康成人における血流量や各臓器重量、代謝酵素の発現量などの生理学的情報を合わせることで健康成人におけるその薬剤の生理学的薬物速度論モデルとなる。本研究におけるミラベグロンの生理学的薬物速度論モデルは、CYP3A4 による代謝のみならず、UGT2B7 およびブチリルコリンエステラーゼの寄与を考慮した初めての例である。このような生理学的薬物速度論モデルを活用することで、臨床試験では検討されていない健康成人における様々な薬剤との薬物間相互作用を作用薬、被作用薬双方向から検討可能になる。その後、本研究では、腎障害による生体の機能変動を考慮したが、腎障害に限らず、特殊集団における生体の機能変動を考慮することで、特集集団における生理学的薬物速度論モデルとなり、人種、年齢、病態および併用薬による様々な影響を検討することが可能になる。本研究において明らかとなった腎障害による UGT2B7 のタンパク発現量および BChE の活性変動は初めての知見であり、これらの情報は今後、腎障害患者における生理学的情報として有用である。このようにデータベースとして搭載されていない腎障害患者における生理学的情報を新たに検証し加えていくことで、今後、どのような医薬品に対しても腎障害の影響を予測することが可能になると考えられる。

本研究における新規基盤システムの活用例は、ミラベグロンに限らず適用でき、医療現場において今後、実際の患者背景を考慮したより安全な医薬品の使用に貢献するものと強く期待される。

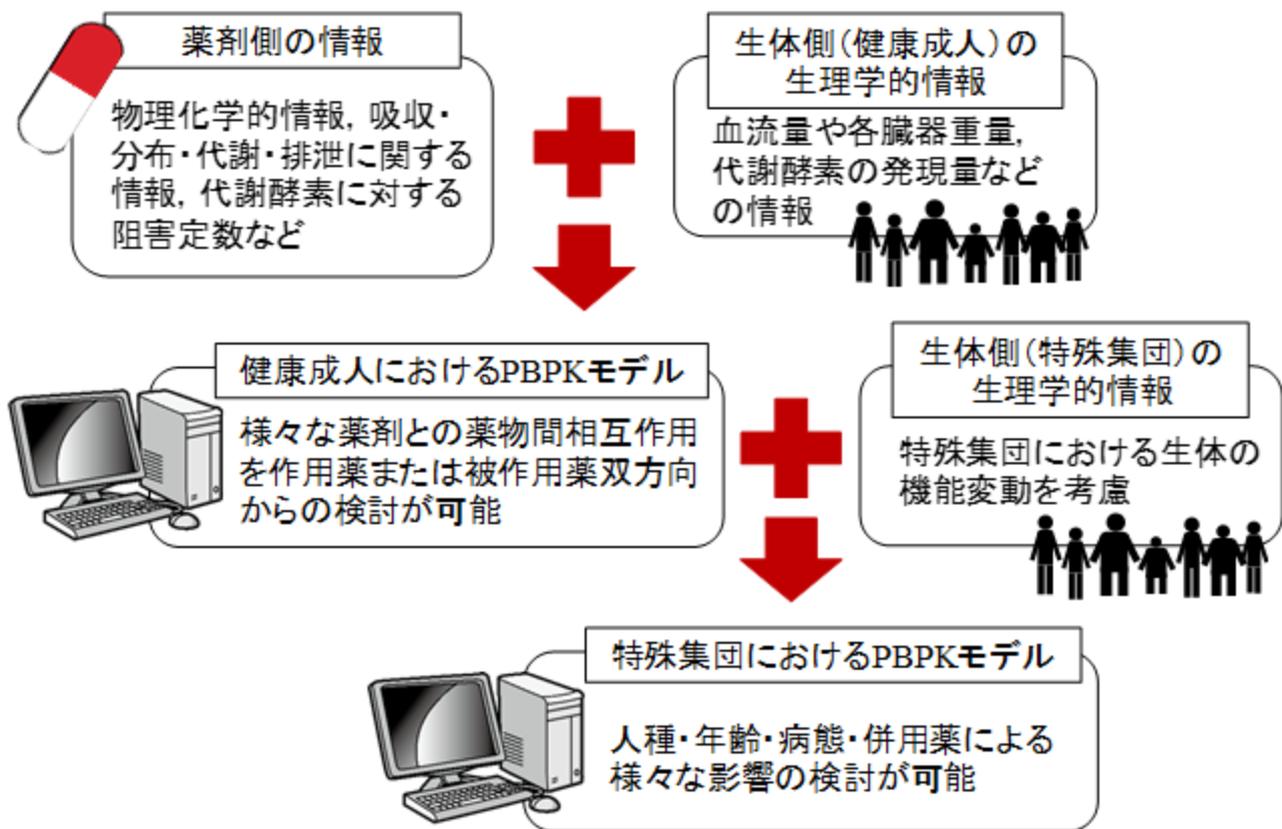


図 2. 本研究における新規基盤システムの各要素と活用例

## 本研究の誌上発表

本学位論文の内容は下記の原著論文として発表した。

Konishi K, Tenmizu D, Takusagawa S. (2018). Identification of Uridine 5'-Diphosphate-Glucuronosyltransferases Responsible for the Glucuronidation of Mirabegron, a Potent and Selective beta3-Adrenoceptor Agonist, in Human Liver Microsomes. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 43, 301-9. doi: 10.1007/s13318-017-0450-x.

Konishi K, Minematsu T, Nagasaka Y, and Tabata K. Physiologically based pharmacokinetics modeling for mirabegron considering multi-elimination pathway mediated by cytochrome P450 3A4, Uridine 5'-Diphosphate-Glucuronosyltransferase 2B7, and butyrylcholinesterase. *Xenobiotica*, in press. (doi:10.1080/00498254.2018.1523489).

Konishi K, Minematsu T, Nagasaka Y, and Tabata K. Application of a physiologically-based pharmacokinetic model for the prediction of mirabegron plasma concentrations in a population with severe renal impairment. *Biopharm Drug Dispos*, in press. (doi: 10.1002/bdd.2181).

## 謝辞

本論文は筆者がアステラス製薬株式会社 薬物動態研究所において、安全で有効な新薬処方設計支援のため、新規基盤システムに関する研究の成果をまとめたものです。

稿を終えるにあたり、本論文の主査としてご審査賜りました昭和薬科大学 薬理学研究室教授 渡邊泰男博士に謹んで深謝の意を表します。副査としてご審査賜りました同大学 薬物治療学研究室教授 水谷顕洋博士，衛生化学研究室教授 石井功博士および予備審査の労をおとりいただいた生化学研究室教授 伊東 進博士，薬剤学研究室教授 宇都口直樹博士に深謝の意を表します。

昭和薬科大学 薬物動態学研究室教授 山崎浩史博士には、本論文を作成するにあたってご懇篤なご指導ご鞭撻をいただくとともに、成果発表の貴重な機会を与えていただきました。ここに謹んで深謝致します。同研究室講師 村山典恵博士には、論文作成にあたって有益なご助言とご支援をいただきました。ここに深謝の意を表します。また、同研究室准教授 清水万紀子博士および同研究室の皆様には、種々のご便宜をお計らいいただきました。ここに感謝の意を表します。

本研究は、筆者がアステラス製薬株式会社 薬物動態研究所において、田端健司研究所長，長坂泰久研究室長，峯松剛博士の終始ご懇篤なご指導ご助言のもとに遂行したものであります。また、実験および論文作成に際し、多くのご援助をいただきましたアステラス製薬株式会社 臨床薬理部 田草川伸博士，アステラス製薬株式会社 薬物動態研究所 天水大介博士に感謝申し上げます。研究遂行にあたり、有益なご討論とご助言をいただきました，元アステラス製薬株式会社 代謝研究所 碓井孝志博士，野口清博士および白神歳文博士，アステラス製薬株式会社 薬物動態研究所 成富洋一博士，アステラス製薬株式会社 研究プログラム推進部 岩坪隆史博士，アステラス製薬株式会社 薬事監査部 部長 宮下愛次氏，橋本匡氏に御礼申し上げます。更に，常日頃変わらぬご支援，ご協力をいただきましたアステラス製薬株式会社 薬物動態研究所の諸氏に厚くお礼申しあげます。

最後に、私の研究に理解を示してくれた妻の祥子と娘の葵依に深く感謝します。

## 参考文献

Bhasker CR, McKinnon W, Stone A, Lo AC, Kubota T, Ishizaki T, Miners JO. (2000). Genetic polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7) at amino acid 268: ethnic diversity of alleles and potential clinical significance. *Pharmacogenetics*, 10, 679-85.

Blobner M, Jelen-Esselborn S, Schneider G, Mann R, Kling M, Lupp P, Schneck HJ, Kochs E. (1995). Effect of renal function on neuromuscular block induced by continuous infusion of mivacurium. *Br J Anaesth*, 74, 452-4.

Cook DR, Stiller RL, Weakly JN, Chakravorti S, Brandom BW, Welch RM. (1989). In vitro metabolism of mivacurium chloride (BW B1090U) and succinylcholine. *Anesth Analg*, 68, 452-6.

Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Levey AS. (2007). Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA*, 298, 2038-47.

Østergaard D, Viby-Mogensen J, Pedersen NA, Holm H, Skovgaard LT. (2002). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mivacurium in young adult and elderly patients. *Acta Anaesthesiol Scand*, 46, 684-91.

Dickinson J, Lewand M, Sawamoto T, Krauwinkel W, Schaddelee M, Keirns J, Kerbusch V, Moy S, Meijer J, Kowalski D and others. (2013). Effect of renal or hepatic impairment on the pharmacokinetics of mirabegron. *Clin Drug Investig*, 33, 11-23.

Dreisbach AW. (2009). The influence of chronic renal failure on drug metabolism and transport. *Clin Pharmacol Ther*, 86, 553-6.

European Medicines Agency (2009) ICH Topic M3 (R2): Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals

European Medicines Agency (2013) European Medicines Agency recommends suspension of marketing authorisations for oral ketoconazole - Benefit of oral ketoconazole does not outweigh risk of liver injury in fungal infections -

Head-Rapson AG, Devlin JC, Parker CJ, Hunter JM. (1995). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the three isomers of mivacurium in health, in end-stage renal failure and in patients with impaired renal function. *Br J Anaesth*, 75, 31-6.

Herschorn S, Barkin J, Castro-Diaz D, Frankel JM, Espuna-Pons M, Gousse AE, Stolzel M, Martin N, Gunther A, Van Kerrebroeck P. (2013). A phase III, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled, multicentre study to assess the efficacy and safety of the beta(3) adrenoceptor agonist, mirabegron, in patients with symptoms of overactive bladder. *Urology*, 82, 313-20.

本間之夫, 柿崎秀宏, 後藤百万, 武井実根雄, 山西友典, 林邦彦 (2003) 排尿に関する疫学的研究委員会. 排尿に関する疫学的研究. *日本排尿機能学会誌* 14:266-277.

Isoherranen N, Kunze KL, Allen KE, Nelson WL, Thummel KE. (2004). Role of itraconazole metabolites in CYP3A4 inhibition. *Drug Metab Dispos*, 32, 1121-31.

Jamei, M., Marciniak, S., Edwards, D., Wragg, K., Feng, K., Barnett, A., & Rostami-Hodjegan, A. (2013). The simcyp population based simulator: architecture, implementation, and quality assurance. *In Silico Pharmacol*, 1, 9.

Jamei M, Marciniak S, Feng K, Barnett A, Tucker G, Rostami-Hodjegan A. (2009a). The Simcyp population-based ADME simulator. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 5, 211-23.

Jamei M, Turner D, Yang J, Neuhoff S, Polak S, Rostami-Hodjegan A, Tucker G. (2009b). Population-based mechanistic prediction of oral drug absorption. *AAPS J*, 11, 225-37.

Jann MW, Shirley KL, Small GW. (2002). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors. *Clin Pharmacokinet*, 41, 719-39.

Joo J, Kim YW, Wu Z, Shin JH, Lee B, Shon JC, Lee EY, Phuc NM, Liu KH. (2015). Screening of non-steroidal anti-inflammatory drugs for inhibitory effects on the activities of six UDP-glucuronosyltransferases (UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A9 and 2B7) using LC-MS/MS. *Biopharm Drug Dispos*, 36, 258-64.

株式会社セロテック (平成 29 年) 改定 ChE 測定法のガイド – JSCC 勧告法と正確な測定値の確認方法 – ([http://serotec-labo.com/img/guide/ChE\\_guide.pdf](http://serotec-labo.com/img/guide/ChE_guide.pdf))

Khullar V, Amarenco G, Angulo JC, Cambronero J, Hoye K, Milsom I, Radziszewski P, Rechberger T, Boerrigter P, Drogendijk T and others. (2013). Efficacy and tolerability of mirabegron, a beta(3)-adrenoceptor agonist, in patients with overactive bladder: results from a randomised European-Australian phase 3 trial. *Eur Urol*, 63, 283-95.

Knauf H, Kolle EU, Mutschler E. (1990). Gemfibrozil absorption and elimination in kidney and liver disease. *Klin Wochenschr*, 68, 692-8.

Krauwinkel W, Dickinson J, Schaddelee M, Meijer J, Tretter R, van de Wetering J, Strabach G, van Gelderen M. (2014). The effect of mirabegron, a potent and selective beta3-adrenoceptor agonist, on the pharmacokinetics of CYP2D6 substrates desipramine and metoprolol. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 39, 43-52.

Krauwinkel W, van Dijk J, Schaddelee M, Eltink C, Meijer J, Strabach G, van Marle S, Kerbusch V, van Gelderen M. (2012). Pharmacokinetic properties of mirabegron, a beta3-adrenoceptor agonist: results from two phase I, randomized, multiple-dose studies in healthy young and elderly men and women. *Clin Ther*, 34, 2144-60.

Lee J, Moy S, Meijer J, Krauwinkel W, Sawamoto T, Kerbusch V, Kowalski D, Roy M, Marion A, Takusagawa S and others. (2013). Role of cytochrome p450 isoenzymes 3A and 2D6 in the in vivo metabolism of mirabegron, a beta3-adrenoceptor agonist. *Clin Drug Investig*, 33, 429-40.

Levey AS. (2012). A decade after the KDOQI CKD guidelines. *Am J Kidney Dis*, 60, 683-5.

Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, De Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Eknoyan G. (2005). Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*, 67, 2089-100.

Luzon E, Blake K, Cole S, Nordmark A, Versantvoort C, Berglund EG. (2017). Physiologically based pharmacokinetic modeling in regulatory decision-making at the European Medicines Agency. *Clin Pharmacol Ther*, 102, 98-105.

Maddineni VR, Mirakhur RK, McCoy EP. (1994). Plasma cholinesterase activity in elderly and young adults. *Br J Anaesth*, 72, 497.

Mano Y, Usui T, Kamimura H. (2007a). Contribution of UDP-glucuronosyltransferases 1A9 and 2B7 to the glucuronidation of indomethacin in the human liver. *Eur J Clin Pharmacol*, 63, 289-96.

Mano Y, Usui T, Kamimura H. (2007b). Inhibitory potential of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on UDP-glucuronosyltransferase 2B7 in human liver microsomes. *Eur J Clin Pharmacol*, 63, 211-6.

Mano Y, Usui T, Kamimura H. (2007c). Predominant contribution of UDP-glucuronosyltransferase 2B7 in the glucuronidation of racemic flurbiprofen in the human liver. *Drug Metab Dispos*, 35, 1182-7.

Mano Y, Usui T, Kamimura H. (2007d). The UDP-glucuronosyltransferase 2B7 isozyme is responsible for gemfibrozil glucuronidation in the human liver. *Drug Metab Dispos*, 35, 2040-4.

Milsom I, Abrams P, Cardozo L, Roberts RG, Thuroff J, Wein AJ. (2001). How widespread are the symptoms of an overactive bladder and how are they managed? A population-based prevalence study. *BJU Int*, 87, 760-6.

Morrison G, Chiang ST, Koepke HH, Walker BR. (1984). Effect of renal impairment and hemodialysis on lorazepam kinetics. *Clin Pharmacol Ther*, 35, 646-52.

日本排尿機能学会 (2005) 過活動膀胱診療ガイドライン. 過活動膀胱ガイドライン作成委員会編. 東京: ブラックウェルパブリッシング

Nitti VW, Khullar V, van Kerrebroeck P, Herschorn S, Cambroner J, Angulo JC, Blauwet MB, Dorrepaal C, Siddiqui E, Martin NE. (2013). Mirabegron for the treatment of overactive bladder: a prespecified pooled efficacy analysis and pooled safety analysis of three randomised, double-blind, placebo-controlled, phase III studies. *Int J Clin Pract*, 67, 619-32.

Nolin TD, Naud J, Leblond FA, Pichette V. (2008). Emerging evidence of the impact of kidney disease on drug metabolism and transport. *Clin Pharmacol Ther*, 83, 898-903.

Rowland Yeo K, Aarabi M, Jamei M, Rostami-Hodjegan A. (2011). Modeling and predicting drug pharmacokinetics in patients with renal impairment. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 4, 261-74.

Rowland Yeo K, Jamei M, Yang J, Tucker GT, Rostami-Hodjegan A. (2010). Physiologically based mechanistic modelling to predict complex drug-drug interactions involving simultaneous

competitive and time-dependent enzyme inhibition by parent compound and its metabolite in both liver and gut - the effect of diltiazem on the time-course of exposure to triazolam. *Eur J Pharm Sci*, 39, 298-309.

Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ and others. (2003). Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension*, 42, 1050-65.

Sato Y, Nagata M, Tetsuka K, Tamura K, Miyashita A, Kawamura A, Usui T. (2014). Optimized methods for targeted peptide-based quantification of human uridine 5'-diphosphate-glucuronosyltransferases in biological specimens using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metab Dispos*, 42, 885-9.

Shebley M, Sandhu P, Emami Riedmaier A, Jamei M, Narayanan R, Patel A, Peters SA, Reddy VP, Zheng M, de Zwart L and others. (2018). Physiologically Based Pharmacokinetic Model Qualification and Reporting Procedures for Regulatory Submissions: A Consortium Perspective. *Clin Pharmacol Ther*, 104, 88-110.

Singlas E, Pioger JC, Taburet AM, Colin JN, Fillastre JP. (1989). Zidovudine disposition in patients with severe renal impairment: influence of hemodialysis. *Clin Pharmacol Ther*, 46, 190-7.

Stewart WF, Van Rooyen JB, Cundiff GW, Abrams P, Herzog AR, Corey R, Hunt TL, Wein AJ. (2003). Prevalence and burden of overactive bladder in the United States. *World J Urol*, 20, 327-36.

Sun H, Frassetto L, Benet LZ. (2006). Effects of renal failure on drug transport and metabolism. *Pharmacol Ther*, 109, 1-11.

Takasu T, Ukai M, Sato S, Matsui T, Nagase I, Maruyama T, Sasamata M, Miyata K, Uchida H, Yamaguchi O. (2007). Effect of (R)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-4'-{2-[(2-hydroxy-2-phenylethyl)amino]ethyl} acetanilide (YM178), a novel selective beta3-adrenoceptor agonist, on bladder function. *J Pharmacol Exp Ther*, 321, 642-7.

Takusagawa S, Miyashita A, Iwatsubo T, Usui T. (2012a). In vitro inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes by mirabegron, a potent and selective beta3-adrenoceptor agonist. *Xenobiotica*, 42, 1187-96.

Takusagawa S, Ushigome F, Nemoto H, Takahashi Y, Li Q, Kerbusch V, Miyashita A, Iwatsubo T, Usui T. (2013). Intestinal absorption mechanism of mirabegron, a potent and selective beta(3)-adrenoceptor agonist: involvement of human efflux and/or influx transport systems. *Mol Pharm*, 10, 1783-94.

Takusagawa S, van Lier JJ, Suzuki K, Nagata M, Meijer J, Krauwinkel W, Schaddelee M, Sekiguchi M, Miyashita A, Iwatsubo T and others. (2012b). Absorption, metabolism and excretion

of [(14)C]mirabegron (YM178), a potent and selective beta(3)-adrenoceptor agonist, after oral administration to healthy male volunteers. *Drug Metab Dispos*, 40, 815-24.

Takusagawa S, Yajima K, Miyashita A, Uehara S, Iwatsubo T, Usui T. (2012c). Identification of human cytochrome P450 isoforms and esterases involved in the metabolism of mirabegron, a potent and selective beta3-adrenoceptor agonist. *Xenobiotica*, 42, 957-67.

Teijlingen R, Meijer J, Takusagawa S, Gelderen M, Beld C, Usui T. (2012). Development and validation of LC–MS/MS methods for the determination of mirabegron and its metabolites in human plasma and their application to a clinical pharmacokinetic study. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 887–888:102–11.

U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (2010) Guidance for Industry – Pharmacokinetics in patients with impaired renal function – Study design, data analysis, and impact on dosing and labeling (draft guidance).

U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (2012) Guidance for Industry – Drug interaction studies – Study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations (draft guidance).

Walsky RL, Bauman JN, Bourcier K, Giddens G, Lapham K, Negahban A, Ryder TF, Obach RS, Hyland R, Goosen TC. (2012). Optimized assays for human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) activities: altered alamethicin concentration and utility to screen for UGT inhibitors. *Drug Metab Dispos*, 40, 1051-65.

Yamaguchi O, Chapple CR. (2007). Beta3-adrenoceptors in urinary bladder. *Neurourol Urodyn*, 26, 752-6.

Yamaguchi O, Marui E, Kakizaki H, Homma Y, Igawa Y, Takeda M, Nishizawa O, Gotoh M, Yoshida M, Yokoyama O and others. (2014). Phase III, randomised, double-blind, placebo-controlled study of the beta3-adrenoceptor agonist mirabegron, 50 mg once daily, in Japanese patients with overactive bladder. *BJU Int*, 113, 951-60.

山口脩 (2009)  $\beta_3$  受容体作動薬. *泌尿器外科* 22:1487-1492

Zhang D, Chando TJ, Everett DW, Patten CJ, Dehal SS, Humphreys WG. (2005). In vitro inhibition of UDP glucuronosyltransferases by atazanavir and other HIV protease inhibitors and the relationship of this property to in vivo bilirubin glucuronidation. *Drug Metab Dispos*, 33, 1729-39.

Zhang Y, Zhang L, Abraham S, Apparaju S, Wu TC, Strong JM, Xiao S, Atkinson AJ, Jr., Thummel KE, Leeder JS and others. (2009). Assessment of the impact of renal impairment on systemic exposure of new molecular entities: evaluation of recent new drug applications. *Clin Pharmacol Ther*, 85, 305-11.