

サルを用いた肝有機アニオン輸送ポリペプチド 1B を介する 薬物動態学的相互作用の評価法に関する研究

高橋 剛視

緒言

肝臓に主に発現する有機アニオン輸送ポリペプチド (organic anion transporting polypeptide, 以下 OATP と記す) 1B 分子は, 血液から肝細胞内への薬物の能動的な取り込みに関与する. 併用薬 (作用薬) が OATP1B を阻害すると, 典型的な OATP1B 基質であり, 被相互作用薬となるスタチン系薬物の血中濃度が上昇する薬物動態学的相互作用が生じる. この相互作用に, OATP1B1 遺伝子多型に伴う取り込み機能不全の影響も加わると, 循環血中に極めて高濃度となったスタチン系薬物は, 時に致死性の横紋筋融解症を発症させる. 近年, OATP1B の基質となる医薬品が報告されはじめており, 非臨床段階で医薬候補品の OATP1B を介する相互作用を定量的に予測する方法の確立が望まれている. これまで, OATP1B を介する相互作用のリスク評価法としては, ヒト由来肝細胞や OATP1B 発現細胞を用いた *in vitro* 試験系が報告されている. しかしながら, 既法は, いずれも阻害ポテンシャルの評価に留まっており, 被相互作用薬の血中濃度がどの程度変動するかを定量的に評価することは困難である. そこで本研究では, ヒトに遺伝的, 生理学的に類似し, 安全性および薬物動態に関わる非臨床試験に広く使用されるカンクイザル (サル) を用い, 遺伝的多型性を示す OATP1B を介した医薬候補品の相互作用の *in vitro* および *in vivo* を統合する定量的評価系を構築することを目的とした.

1. サル肝細胞および組換えタンパク質発現細胞を用いたサル OATP1B の機能評価

サルはヒトと同様に 2 つの OATP1B ファミリーに属する OATP1B1 および OATP1B3 を有する. サル肝臓における mRNA 発現量は, ヒトでの報告と同様に, OATP1B1 が最も高く, 次に OATP1B3 の順であった. サル組換え OATP1B1, OATP1B3 遺伝子を発現する細胞系を作製し, 4 つの典型的基質を含む 11 のヒト OATP1B 基質薬の取り込みを調べた. その結果, 対応するヒト OATP1B と概ね同等のサル OATP1B の基質認識性が明らかとなった (図 1). さらにサル OATP1B1 および OATP1B3 を介したピタバスタチンの取り込みの親和性を表す K_m 値は, それぞれヒト OATP1B1 および OATP1B3 の報告値と同程度であった.

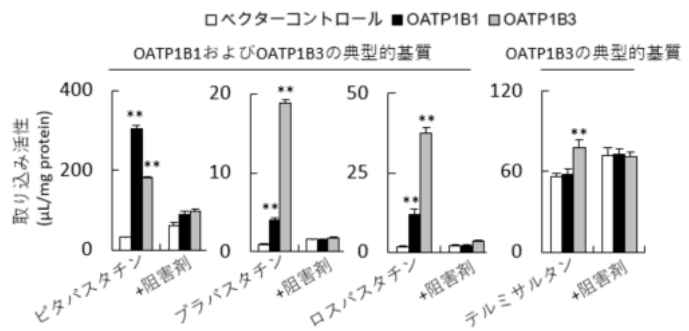


図 1. サル OATP1B1 および OATP1B3 発現細胞の基質認識性. ** は $p < 0.01$ vs. ベクターコントロールを表す.

シクロスポリン A およびリファンピシンはヒト OATP1B の典型的阻害薬として知られている. 調べた中で取り込み活性の高いピタバスタチンをプローブ基質として, サルおよびヒト凍結肝細胞ならびにサル OATP1B1 および OATP1B3 発現細胞を用い, シクロスポリン A およびリファンピシンの阻害強度を検討した. 報告されているヒト OATP1B の結果と比較すると, シクロスポリン A およびリファンピシンの阻害強度 (50%阻害濃度, IC50) はサルおよびヒト凍結肝細胞ならびにサルおよびヒト OATP1B の間でほぼ同等であった. 近年基質薬を加える前の一定時間, シクロスポリン A を前添加 (プレインキュベーション) することにより, ヒト OATP1B の阻害強度が増加することが報告された. そこで, サル OATP1B1 および OATP1B3 発現細胞を用い, このプレインキュベーション効果を検討したところ, ヒトの場合と同様の結果を得た.

サルにおいても, OATP1B1 遺伝子に 16 の非同義置換を伴う遺伝子多型を 96 頭のサルの解析より見出した. ピタバスタチンを基質に用い, これら組換えタンパク質の *in vitro* での取り込み機能変化を同様に解析したところ, 顕著な機能低下を伴う遺伝子多型は, 調べた範囲において, 認められなかった.

以上, OATP1B1 および OATP1B3 の機能的な特徴は, プレインキュベーション効果を含め, サルとヒトで類似していることが明らかとなった. *In vitro* でのこれらの検証結果を元に, サル *in vivo* に進めて薬物相互作用試験を実施するにあたり, 現状で用いるサル個体の OATP1B1 遺伝子多型を予め検討する重要性は低いことが示唆された.

2. ピタバスタチンを用いたサル *in vivo* 肝 OATP1B を介する相互作用試験

サルにピタバスタチンを静脈内および経口単独投与して調べたところ、ピタバスタチンのサル腎未変化体排泄率は 2.6%であった。このことから、ヒトと同様に、ピタバスタチンは主にサル肝臓に取り込まれ、代謝および/もしくは胆汁排泄されることが示唆された。

経口投与された被作用薬であるピタバスタチンは、作用薬がもたらす消化管を介した吸収の変化および/もしくは肝臓を介した消失の変化に伴い、その薬物動態が変化する。シクロスポリン A を経口投与 4 時間後にピタバスタチンを静脈内投与したところ、ピタバスタチンの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は単独投与に比べて 3.2 倍上昇した (図 2A)。ピタバスタチンの薬物動態学パラメータである全身クリアランスおよび分布容積が減少したため、ピタバスタチンの肝取り込みをシクロスポリン A が阻害したことが示唆された。サルにシクロスポリン A を経口投与 1 時間後にピタバスタチンを経口投与したところ、ピタバスタチンの AUC は単独投与に比べて 10.6 倍上昇した (図 2B)。消化管を介さない静脈内投与時の結果を利用して、経口投与時の本相互作用を肝臓での寄与のみに分離評価すると、観測された AUC 上昇率のうち 4.5 倍分に相当した。本評価結果は、ヒトでピタバスタチンおよびシクロスポリン A を経口投与時に肝臓を介した相互作用として考察されているピタバスタチンの報告 AUC 上昇率 4.6 倍と近似した。さらに、リファンピシチンを用いて同様の検討を行った結果、ピタバスタチンを経口投与後のリファンピシチン併用による AUC 上昇率は 14.8 倍であった。同様に、ピタバスタチンを静脈内投与時の AUC 比から肝臓を介する相互作用を分離評価すると 5.0 倍分と算出され、ヒトでの報告 AUC 上昇率 5.7 倍と近似した。

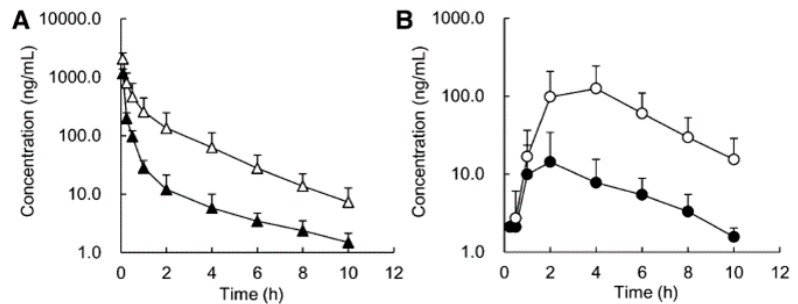


図 2. サルに 0.3 mg/kg を静脈内 (A) および経口投与後 (B) のピタバスタチン血漿中濃度に及ぼすシクロスポリン A (75 mg/kg, 経口) の影響。▲および●はコントロール, △および○はシクロスポリン A 併用群を表す。

さらにシクロスポリン A の薬物動態学的パラメータおよびサルの生理学的パラメータを用いて肝臓の OATP1B 近傍の理論的最高血中濃度 ($0.077 \mu\text{mol/L}$) および濃度推移を予測し、第 1 項に述べた *in vitro* 実験で求めた IC_{50} 値と比較したところ、プレインキュベーション処理により得た IC_{50} 値 ($0.027 \mu\text{mol/L}$) を用いることにより、相互作用をより精緻に予測できることが示唆された。以上、サルを用いたピタバスタチンの静脈内投与および経口投与を組み合わせることで阻害薬の併用効果を検討することにより、ヒト肝臓の OATP1B 阻害リスクを予め定量的に評価しうることが判明した。

結論

本研究では、カニクイザルを用い、ピタバスタチンをプローブ基質に用いた肝 OATP1B を介する薬物動態学的相互作用の *in vitro* および *in vivo* の統合的評価方法を考案した。非臨床段階の *in vitro* 評価にて、評価対象医薬開発候補品の潜在的なヒトあるいはサル OATP1B 阻害ポテンシャルが予想された場合、その程度に応じて、サルを用いた *in vivo* 薬物相互作用試験の適用が、創薬効率化推進に有用であると示唆された。本研究結果は、ヒトでは直ちに検討実施が困難な相互作用予測の局面を打開し、安全な薬物動態学的相互作用のリスクを低減した医薬候補品の早期創出に寄与するものと期待される。

本研究の誌上発表

1. [Takahashi T, Ohtsuka T, Yoshikawa T, Tatekawa I, Uno Y, Utoh M, Yamazaki H, and Kume T. \(2013\) Pitavastatin as an *in vivo* probe for studying hepatic organic anion transporting polypeptide mediated drug-drug interactions in cynomolgus monkeys. Drug Metab Dispos 41: 1875–1882.](#)
2. [Takahashi T, Ohtsuka T, Uno Y, Utoh M, Yamazaki H, and Kume T. \(2016\) Pre-incubation with cyclosporine A potentiates its inhibitory effects on pitavastatin uptake mediated by recombinantly expressed cynomolgus monkey hepatic organic anion transporting polypeptide. Biopharm Drug Dispos 37: 479–490.](#)
3. [Takahashi T, Uno Y, Yamazaki H, and Kume T. \(2019\) Functional characterization for polymorphic organic anion transporting polypeptides \(OATP/SLCO1B1, 1B3, 2B1\) of monkeys recombinantly expressed with various OATP probes. Biopharm Drug Dispos 40: 62–69.](#)