

博士論文

非定型抗精神病薬アリピプラゾールの 薬物トランスポーターを介した 薬物間相互作用に関する研究

平成 25 年度

長 坂 泰 久

目次

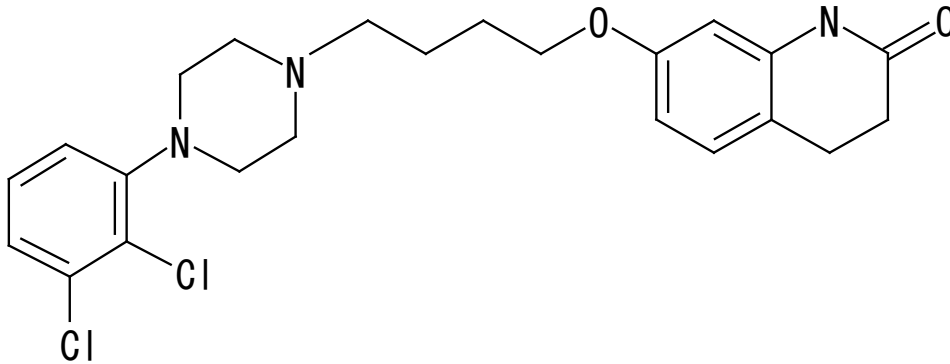
序論	1
第 I 章 アリピプラゾール及び活性代謝物の薬物トランスポーター活性に与える影響	4
第 1 節 緒言	4
第 2 節 実験材料および実験方法	5
I -2-i) 化合物及び試薬	5
I -2-ii) 試験系	5
I -2-ii)-a 細胞	5
I -2-ii)-b 膜ベシクル	6
I -2-iii) MDCKII-MDR1 細胞における P-糖蛋白基質輸送に対するアリピプラゾール及びその活性代謝物, 並びに各種非定型抗精神病薬の影響	6
I -2-iv) BCRP 及び MRP4 発現膜ベシクルでの各基質取込み活性に及ぼすアリピプラゾール及びその活性代謝物の影響	7
I -2-v) データ解析	7
I -2-v)-a P-糖蛋白を介したモデル基質の膜透過係数及び P-糖蛋白輸送活性に対する各種非定型抗精神病薬の IC ₅₀ 値算出	7
I -2-v)-b BCRP あるいは MRP4 のモデル基質輸送の uptake clearance 算出及びアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールによる BCRP 輸送活性に対する IC ₅₀ 値算出	8
第 3 節 結果	10
I -3-i) 各種非定型抗精神病薬, 並びにアリピプラゾール及び活性代謝物の P-糖蛋白活性に対する影響	10
I -3-ii) アリピプラゾール及び活性代謝物の BCRP 活性及び MRP4 活性に対する影響	13
第 4 節 考察	15
第 5 節 まとめ	16
第 II 章 アリピプラゾール及び活性代謝物の動態に及ぼす薬物トランスポーターの機能不全の影響	17
第 1 節 緒言	17
第 2 節 実験材料および実験方法	18
II -2-i) 化合物及び試薬	18
II -2-ii) 動物	18
II -2-iii) 薬物投与及び試料採取	19
II -2-iv) 血漿中及び脳内アリピプラゾールならびに活性代謝物濃度測定	19

II-2-v) データ解析	20
第3節 結果	21
II-3-i) 正常マウスにアリピプラゾールを静脈内投与後の血漿中及び脳内のアリ ピプラゾール並びに活性代謝物濃度	21
II-3-ii) 正常マウス, BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにアリピ プラゾールを経口投与後の血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びに活 性代謝物濃度	23
第4節 考察	26
第5節 まとめ	29
第III章 アリピプラゾール及び活性代謝物の薬物間相互作用可能性評価	30
第1節 緒言	30
第2節 実験材料および実験方法	31
III-2-i) 各種非定型抗精神病薬に関する相互作用評価指標の算出	31
III-2-ii) 肝ミクロゾームを用いた <i>in vitro</i> 代謝試験	31
III-2-ii)-a 化合物, 試薬及び生体試料	31
III-2-ii)-b インキュベーション	32
III-2-ii)-c 濃度測定	32
III-2-ii)-d 肝代謝固有クリアランス (CL_{int}) 値の算出	32
III-2-iii) 簡易生理学的薬物動態モデルによるアリピプラゾール及び活性代謝物の マウスにおける体内動態解析	34
第3節 結果	43
III-3-i) アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの相互作用薬としての 相互作用可能性評価	43
III-3-ii) アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの被相互作用薬として の相互作用可能性評価	44
III-3-iii) 簡易生理学的薬物動態モデルを用いたアリピプラゾール及び活性代謝 物のマウスにおける体内動態解析	45
III-3-iv) ヒトにおけるアリピプラゾール及び活性代謝物の血漿中及び脳内濃度シ ミュレーション	47
第4節 考察	50
第5節 まとめ	54
総括	55
本論文内容の誌上発表	58
謝辞	59
参考文献	60

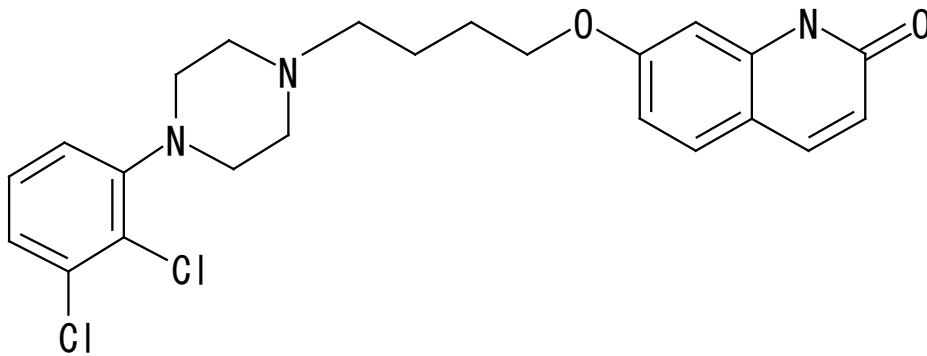
構造および略号

物質名（略号）および化学構造

Aripiprazole (ARP), アリピプラゾール



Dehydroaripiprazole (DA), デヒドロアリピプラゾール



略号表

本論文においては以下の略号を用いた。

apical:	頂側（膜）の
ARP:	Aripiprazole, アリピプラゾール
ATP:	アデノシン三リン酸
AUC:	Area under the plasma concentration-time curve, 血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC _{inf} :	Area under the plasma concentration-time curve from 0 h to infinity
basal:	基底（膜）の

BCRP:	Brest Cancer Resistance Protein
BCS:	Biopharmaceutical Classification System, 薬物の溶解性及び膜透過性に基づいた分類方法
CL_{active} :	脳コンパートメントからセントラルコンパートメントへの見かけの能動輸送クリアランス
C_b :	血液中薬物濃度
C_{br} :	脳内薬物濃度
C_h :	肝臓内薬物濃度 (添え字 A 及び DA はそれぞれアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールを示す ; 以下同様)
CL_{int} :	(hepatic) intrinsic clearance, 肝代謝固有クリアランス なお, $CL_{int,A}$ は, アリピプラゾールの肝代謝の全固有クリアランス $CL_{int,A,all}$ から, デヒドロアリピプラゾールの生成固有クリアランス即ち $CL_{int,A to DA}$ を差し引いたクリアランスとして定義
$CL_{passive}$:	セントラルコンパートメントと脳コンパートメント間の見かけの受動拡散クリアランス
CL_{tot} :	Total body clearance, 全身クリアランス
CL_{tot}/F :	Oral clearance, 経口クリアランス
C_{max} :	Maximum concentration, 最高血漿中濃度
CYP:	Cytochrome P450
dpm:	disintegrations per minute, 1 分間当たりの放射性崩壊数
F:	Absolute bioavailability, 絶対バイオアベイラビリティ
F_a :	Fraction absorbed, 経口吸収率
F_g :	Intestinal availability, 小腸アベイラビリティ
F_h :	Hepatic availability, 肝アベイラビリティ
f_h :	肝臓中非結句型分率
f_p :	血漿中非結句型分率
HPLC:	High-performance liquid chromatography, 高速液体クロマトグラフィー
IC_{50} :	50% inhibitory concentration, 50% 阻害濃度
$[I]_{1, total}$:	(阻害剤の) 定常状態下での最大血漿中濃度
$[I]_{1, free}$:	(阻害剤の) 定常状態下での最大血漿中非結句型濃度

[I] ₂ :	(阻害剤の) 消化管腔内理論濃度
k _a :	Absorption rate constant, 吸収速度定数
K _{p, brain} :	脳-血漿中濃度比
K _{p, h} :	肝臓-血漿中濃度比
LC/MS:	液体クロマトグラフィー-マススペクトロメトリー
LC/MS/MS:	液体クロマトグラフィー-タンデムマススペクトロメトリー
LogP:	Partition coefficient in an octanol/water system, オクタノール/水分配係数
MDCKII:	イヌ腎臓尿細管由来の上皮細胞株
MDR1:	Multidrug resistance protein 1, P-糖蛋白, P-glycoprotein
MRP4:	Multidrug resistance associated protein 4
m/z:	mass-to-charge ratio, 質量電荷比
MS:	マススペクトロメトリー, 質量分析装置
P _{app} :	(apparent) permeability coefficient, (見かけの) 膜透過係数
P _{app, A to B} :	apical 側から basal 側への P _{app} , 吸収方向の膜透過係数
P _{app, B to A} :	basal 側から apical 側への P _{app} , 吸収とは逆方向の膜透過係数
P _{app} ratio:	P _{app, B to A} の P _{app, A to B} に対する比
PEG400:	Polyethylene glycol 400
PET:	Positron Emission Tomography, 陽電子放出断層撮影
P-糖蛋白:	P-glycoprotein, multidrug resistance protein 1, MDR1
q.d.:	quo diem (once daily), 1 日 1 回
Q _h :	Hepatic blood flow, 肝血流量
R _b :	血液-血漿中濃度比
S.D.:	Standard deviation, 標準偏差
t _{1/2} :	(terminal) elimination half-life, (最終) 消失半減期
T _{max} :	Time to maximum concentration, 最高血漿中又は脳内濃度到達時間
V _{br} :	Brain volume, 脳容積
V _{dss} :	Distribution volume at steady state, 定常状態下分布容積
V _h :	Liver volume, 肝臓容積
V ₁ :	Distribution volume of central compartment, セントラルコンパートメントの分布容積
X _g (t):	時間 t における消化管コンパートメント内の薬物量

序論

近年、統合失調症や双極性障害等の各種精神疾患の治療における非定型抗精神病薬の使用が増加している。統合失調症とは、思考や行動、感情を1つの目的に沿ってまとめていく能力が長期間にわたって低下し、その経過中にある種の幻覚、妄想、ひどくまとまりのない行動が見られる病態であり、双極性障害は、躁状態（躁病エピソード）およびうつ状態（大うつ病エピソード）という病相（エピソード）を繰り返す精神疾患である。統合失調症は、全人口の少なくとも1%、また統合失調症及び閾値以下の（全ての診断基準を満たさない）双極性障害を含めた全ての精神疾患についてみると、3%が生涯に一度は発病すると推定されている（Kendler et al., 1996 ; Merikangas et al., 2012 ; Perälä et al., 2007）。これら精神疾患には、一般に抗精神病薬と呼ばれるドパミン D₂ 受容体遮断薬が治療に用いられるが、中でも非定型抗精神病薬は、D₂ 受容体遮断作用以外に、5-HT_{2A} 受容体等へも親和性を有することから、従来型の定型抗精神病薬と比較し、D₂ 受容体遮断による統合失調症の陽性症状（妄想、異常な興奮等）の改善のみならず陰性症状（意欲減退、自閉等）へも有効性を示し、且つ錐体外路症状等の副作用を生じにくいと考えられている（Meltzer, 2003）。

非定型抗精神病薬は、他剤との併用で使用される例が多いため、薬物間相互作用の可能性を予測することは、臨床上、極めて重要と考えられる。非定型抗精神病薬の薬物間相互作用の可能性については、他の薬剤と同様、主として薬物代謝酵素 cytochrome P450 (P450) への影響の観点から評価がなされているが、この観点からは、その多くが P450 代謝阻害能力と比較し治療有効濃度が低く、また主として肝臓の P450 である CYP3A4 及び 2D6 による代謝により消失することから、1) 相互作用薬として、他剤の動態へ及ぼす影響は少ない 2) 被相互作用薬として、ケトコナゾール（CYP3A4 阻害剤）、キニジン（CYP2D6 阻害剤）等により体内動態が影響を受けると考えられている（Urichuk, 2008; Sheehan, 2010）。

一方、近年、薬物間相互作用と薬物トランスポーターとの関連性について、医薬品医療機器総合機構（PMDA）や、米国食品医薬品局（FDA）及び欧州医薬品庁（EMA）等の規制当局の関心も高まりつつある。各種非定型抗精神病薬と薬物トランスポーターとの相互

作用を考察する上では、自身の薬効発現部位である中枢、経口剤の吸収部位である消化管、また主な薬物の消失臓器である肝臓及び腎臓に発現する薬物トランスポーターに特に注意が必要である。これらの臓器全てに発現する薬物トランスポーターとしては、P-糖蛋白、Breast Cancer Resistance Protein（以下BCRP）、Multi drug Resistance-associated Protein 4（以下MRP4）等が挙げられる。肝臓での薬物代謝のみならず、消化管吸収や、脳を含む各種組織への薬物移行及び消失の制御因子である薬物トランスポーターへの影響を含めて相互作用可能性を総合的且つ定量的に評価することは、非定型抗精神病薬の適正使用推進に大きく寄与するものと考えられる。

アリピプラゾールは、D₂受容体、また5-HT_{1A}及び5-HT_{2A}受容体に高い親和性を有する非定型抗精神病薬である。本薬剤は、D₂受容体拮抗作用を有するのみならず、D₂受容体部分作動薬としての作用も有する（Burris et al., 2002）。このため、脳内でのドパミン過剰放出時には遮断薬として抑制的に作用する一方、脳内ドパミン不足時にはドパミン作動薬として刺激する方向で作用する（ドパミンスタビライザー）。このように、作動薬或いは遮断薬としての作用を取り得ることから、より少ない副作用で効果を発現する画期的な非定型抗精神病薬として、その使用が急速に広まっている。本剤は他の非定型抗精神病薬同様、ほぼ肝臓での代謝により消失する。また肝代謝により生成する主代謝物のデヒドロアリピプラゾールは、未変化体と同等の薬理活性を有する活性代謝物である。

肝臓のP450による代謝を介したアリピプラゾールの薬物間相互作用の可能性は、その動態特性から、他の非定型抗精神病薬と同等と考えられる。一方、薬物トランスポーターを介した相互作用に関しては、アリピプラゾールがP-糖蛋白阻害薬あるいは基質であることを示唆する報告があるものの（Broccatelli et al., 2011, Kirschbaum et al., 2010）、BCRPやMRP4との関連についての報告例はない。更に、本剤の薬物間相互作用可能性について、薬物トランスポーターを介した相互作用の観点から定量的に考察、また他の抗精神病薬と比較した報告例はない。

以上の背景の下、本研究では、非定型抗精神病薬であるアリピプラゾール及びその活性代謝物であるデヒドロアリピプラゾールに関し、相互作用薬として他剤の薬物動態に影響

を及ぼす可能性，また被相互作用薬として他剤併用時にその薬物動態が影響を受ける可能性について，主として薬物トランスポーターとの相互作用の観点から定量的な考察を行った上で，薬物代謝及び脳への薬物移行の観点を合わせて総合的に評価することを目的とした．第Ⅰ章では，*in vitro* 評価系を用いて，P-糖蛋白，BCRP 及び MRP4 活性に対するアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの影響を，他の非定型抗精神病薬との比較も含めて評価した．第Ⅱ章では，アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの薬物動態に及ぼす P-糖蛋白及び BCRP の機能不全の影響について検討した．第Ⅲ章では，これら薬物トランスポーターを介したアリピプラゾールの相互作用薬，被相互作用薬の両面からの相互作用可能性について，各種クライテリアに基づく評価，更に肝臓での代謝及び脳からの薬物トランスポーターによる能動的排出過程を考慮して新規に構築した薬物動態モデルによる解析を含めた定量的な評価を行った．以上，本研究によって，肝代謝及び脳への移行の各過程で体内動態が制御される既存或いは新規の非定型抗精神病薬に関し，臨床での種々状況に応じた適切な投与設計を支援する統合的かつ定量的な薬物間相互作用の評価基盤を確立したので以下に詳述する．

第 I 章 アリピプラゾール及び活性代謝物の薬物トランスポーター活性に与える影響

第 1 節 緒言

近年、薬物トランスポーターを介した薬物間相互作用の可能性に対する注目が高まっており、中でも P-糖蛋白及び BCRP については、米国食品医薬品局 (FDA) が発行した臨床薬物相互作用試験に関するドラフトガイダンス (FDA Guidance for Industry, 2012; <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>) においても、新規開発化合物の開発過程で必ず検討しておくべき重要な薬物トランスポーターと位置付けられている。P-糖蛋白及び BCRP は、いずれも ATP 結合カセットトランスポーター (ABC トランスポーター) と呼ばれる ATP のエネルギーを用いて物質の輸送を行うトランスポーターファミリーに属し、小腸の管腔側膜、血液脳関門 (BBB) の血管内皮細胞膜、肝臓の胆管側膜及び腎臓の近位尿細管等に発現し、数々の医薬品の消化管吸収、各臓器への分布並びに消失への関与が報告されている (The International Transporter Consortium, 2010)。P-糖蛋白及び BCRP の阻害剤或いは基質としては、シクロスポリン (Saeki et al., 1994; Ozvegy-Laczka et al., 2001)、ゲフィチニブ (Ozvegy-Laczka et al., 2004)、イマチニブ (Ozvegy-Laczka et al., 2004)、パクリタキセル (Polli et al., 2001)、イリノテカン (Maliapaard, 2001) 等の抗癌剤が例として多く挙げられるが、非定型抗精神病薬の中にも、これらの阻害剤或いは基質となる薬剤が存在する (リスペリドン等)。

P-糖蛋白及び BCRP 同様、MRP4 も消化管、脳、肝臓及び腎臓に発現する ABC トランスポーターである。MRP4 については、その阻害剤或いは基質となる薬剤の報告例は限られているものの、抗癌剤のトポテカン (Leggas et al., 2004) や抗インフルエンザ薬であるオセルタミビル (タミフル) の活性代謝物の Ro64-0802 の中枢移行性制御に関与しているとの報告がなされている (Ose et al., 2009)。このように、いずれのトランスポーターも、薬物の安全性評価上において重要な意義を有すると考えられる。

本章では、非定型抗精神病薬のアリピプラゾール及び活性代謝物であるデヒドロアリピ

プラゾールの P-糖蛋白活性に対する影響について、他の非定型抗精神病薬と同一条件での比較検討を行った。また、これまで報告例の無い両化合物の BCRP 及び MRP4 活性に対する影響についても評価を行った。

第 2 節 実験材料および実験方法

I -2-i) 化合物及び試薬

アリピプラゾール、デヒドロアリピプラゾール、リスペリドン、パリペリドン、オランザピン及びジプラシドンは、Toronto Research Chemicals Inc.より購入した。[³H]ジゴキシン及び[³H]エストラジオール-17β-(β-D-グルクロニド) (E₂17βG) は PerkinElmer 社より、また[³H]メトトレキサートは Moravek Biochemicals よりそれぞれ購入した。その他の試薬及び溶媒は HPLC 用、LC/MS 用あるいは特級品の市販品を用いた。

I -2-ii) 試験系

I -2-ii)-a 細胞

MDCKII-MDR1 細胞（イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来の細胞株に P-糖蛋白を強制発現させた細胞）は、The Netherlands Cancer Institute より入手した。MDCKII-MDR1 細胞を、 4×10^5 cells/insert の細胞密度で Transwell® (ポリカーボネート製多孔性フィルタ, pore size: 0.4 μm, surface area: 1.12 cm², Corning Life Sciences 社) の culture insert に播種し、CO₂ インキュベータ (37°C, CO₂: 5%) 中で 3~4 日間培養することにより単層膜を形成させて、経細胞輸送実験に供した。なお、培地には、10% ウシ胎児血清 (FBS) 及び 1% ペニシリン (10000 U/mL) / ストレプトマイシン (10000 μg/mL) を含む Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) を使用した。

I -2-ii)-b 膜ベシクル

ヒト breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2 としても知られる) 及び multidrug resistance associated protein 4 (MRP4, ABCC4 としても知られる) の発現膜ベシクル (バキユロウィルス発現系によりこれらトランスポーターを高発現させた昆虫由来 Sf9 細胞から調製した細胞膜画分) は, ジェノメンブレン社で製造されたものを使用した.

I -2-iii) MDCKII-MDR1 細胞における P-糖蛋白基質輸送に対するアリピプラゾール及びその活性代謝物, 並びに各種非定型抗精神病薬の影響

P-糖蛋白活性は, P-糖蛋白の基質である $[^3\text{H}]$ ジゴキシンの MDCKII-MDR1 細胞における双方向性輸送, 即ち頂側膜 (apical) 側から基底膜 (basal) 側, またその逆方向での膜透過性を指標に評価した. また膜透過実験には, 20 mM N-2-水酸化エチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸 (HEPES) で pH を 7.4 に調整し, 37°C で予め加温したハックス平衡塩液 (HBSS) を使用した. Culture insert 及びプレート中の培地を除去後, プレートに各種薬剤, 即ちアリピプラゾール, デヒドロアリピプラゾール, リスペリドン, パリペリドン, オランザピン, ジプラシドン及びベラパミルを含む HBSS (阻害評価用 HBSS) あるいは含まない HBSS (対照用 HBSS) を 1500 μL 添加した. ここで, basal 側から apical 側への輸送評価用の well には, $[^3\text{H}]$ ジゴキシンを含む阻害評価用あるいは対照用 HBSS を添加した. HBSS で軽くリンスした culture insert に, 各 HBSS を 500 μL 添加 (apical 側から basal 側への輸送評価用のウェルには, $[^3\text{H}]$ ジゴキシンを含む各 HBSS を添加) し, CO_2 インキュベータ中に予め設置したオービタルシェーカー上にプレートを設置して反応を開始した. インキュベーションは 37°C, n = 3 で行い, 2 時間後に, $[^3\text{H}]$ ジゴキシンを添加した well の反対側からサンプルを採取した. 採取したサンプルを 4 mL のシンチレーションカクテル Hionic-Fluor (PerkinElmer 社) に溶解し, 液体シンチレーションカウンター Tri-Carb3100TR (PerkinElmer 社) を用い放射能を測定した.

I -2-iv) BCRP 及び MRP4 発現膜ベシクルでの各基質取込み活性に及ぼすアリピプラゾール及びその活性代謝物の影響

BCRP あるいは MRP4 の発現膜ベシクル(最終蛋白濃度:0.67 mg/mL), モデル基質 (BCRP 用には $[^3\text{H}]$ メトトレキサート (最終濃度:100 μM), MRP4 用には $[^3\text{H}]$ E₂17 β G (最終濃度:5 μM)) を含む反応バッファー (50 mM 3-[N-モルホリノ]プロパンスルホン酸 (MOPS) -Tris (pH 7.0), 70 mM 塩化カリウム, 7.5 mM 塩化マグネシウム) (30 μL) を氷上の反応チューブに分注した. 37°C で3分間プレインキュベートし, 20 μL の10 mM Mg-ATP あるいは Mg-AMP 液を各反応チューブに添加して反応を開始した. インキュベーションは37°C, n=3 で行った. 5分後に40 mM MOPS-Tris 及び70 mM 塩化カリウムからなる氷冷した washing-mix 液 (200 μL) を加えて反応を停止し, 吸引ろ過に供するまで氷上に静置した. 各反応液 (200 μL) を, 氷冷した washing-mix 液 (4 mL) で1度洗浄したガラス繊維フィルター (GF/F 25 mm, Whatman 社) でろ過した. ガラス繊維フィルターは, 4 mL の氷冷した washing-mix 液で4度洗浄し, その後, 10 mL のシンチレーションカクテル Hionic-Fluor の入ったバイアルに移した. 残りの反応液 (50 μL) は別のバイアルに移し, 10 mL の Hionic-Fluor に溶解した. フィルター及び反応液中の放射能を, 液体シンチレーションカウンターを用いて測定した. $[^3\text{H}]$ メトトレキサートあるいは $[^3\text{H}]$ E₂17 β G の取込み量は, 得られた放射能値をもとに算出した.

I -2-v) データ解析

I -2-v)-a P-糖蛋白を介したモデル基質の膜透過係数及び P-糖蛋白輸送活性に対する各種非定型抗精神病薬の IC₅₀ 値算出

アリピプラゾール及び活性代謝物デヒドロアリピプラゾールを含む各種非定型抗精神病薬存在下, 非存在下における MDCKII-MDR1 細胞単層膜を介した apical 側から basal 側あるいは basal 側から apical 側方向のモデル基質 (ジゴキシン) の累積透過量 (Q [nmol ある

いは dpm]) を算出した。膜透過係数 (P_{app}) は、以下の式に従い、累積膜透過量とインキュベーション時間 (t [秒]) から算出した。

$$P_{app} \text{ (cm/sec)} = [dQ/dt]/A/C_0$$

dQ/dt : 輸送速度 (nmoL 或いは dpm/sec)

A : 膜表面面積 (cm^2)

C_0 : 初期濃度 (nmoL 或いは dpm/mL)

Basal 側から apical 側への膜透過係数 ($P_{app,B \text{ to } A}$) の apical 側から basal 側への膜透過係数 ($P_{app,A \text{ to } B}$) に対する比 ($P_{app} \text{ ratio}$) は以下の式により求めた。

$$P_{app} \text{ ratio} = [P_{app,B \text{ to } A} \text{ の平均値}] / [P_{app,A \text{ to } B} \text{ の平均値}]$$

また、各種非定型抗精神病薬の非存在下及び存在下での P-糖蛋白を介したジゴキシンの経細胞輸送活性 (basal 側から apical 側方向の膜透過係数; それぞれ P_0 及び P_1) は、P-糖蛋白の典型的阻害剤である 200 μM のベラパミル存在下で、P-糖蛋白の基質の輸送が完全に阻害されると仮定し、以下の式により求めた (Gao et al., 2001)。

$$P_0 = P_{app,1} - P_{app,3}$$

$$P_1 = P_{app,2} - P_{app,3}$$

$P_{app,1}$: 各種非定型抗精神病薬非存在下でのジゴキシンの $P_{app,B \text{ to } A}$ (cm/sec)

$P_{app,2}$: 各種非定型抗精神病薬存在下でのジゴキシンの $P_{app,B \text{ to } A}$ (cm/sec)

$P_{app,3}$: 200 μM のベラパミル存在下存在下でのジゴキシンの $P_{app,B \text{ to } A}$ (cm/sec)

各種非定型抗精神病薬のジゴキシンの P-糖蛋白介在性輸送に対する阻害の IC_{50} 値は、 P_1 / P_0 ratio 及び各薬剤の添加濃度の関係から、GraphPad Prism (version 5.03 ; GraphPad Software 社) を用いて非線形回帰分析により算出した。

I -2-v)-b BCRP あるいは MRP4 のモデル基質輸送の uptake clearance 算出及びアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールによる BCRP 輸送活性に対する IC_{50} 値算出

BCRP あるいは MRP4 発現膜ベシクルへの各基質 (メトトレキサートあるいは $\text{E}_217\beta\text{G}$) の取込みに関しては、uptake clearance を以下の式により算出した。

Uptake clearance ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$)

= uptake amount into vesicle (dpm)/concentration in reaction mixture (dpm/ μL)

/incubation time (min)/protein content (mg protein)

BCRP あるいは MRP4 を介した各基質の輸送活性 (ATP-dependent uptake clearance) は, ATP 存在下での uptake clearance 値から, AMP 存在下での uptake clearance を差し引くことにより求めた.

BCRP のモデル基質輸送に対するアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの IC_{50} 値は, 両化合物存在下, 非存在下の ATP-dependent uptake clearance 比 (百分率; % of control) 及び添加濃度との関係から, GraphPad Prism (version 5.03 ; GraphPad Software 社) を用いて非線形回帰分析により算出した.

第3節 結果

I-3-i) 各種非定型抗精神病薬, 並びにアリピプラゾール及び活性代謝物の P-糖蛋白活性に対する影響

P-糖蛋白の典型的基質であるジゴキシンの MDCKII-MDR1 細胞における経細胞輸送評価結果を **Table I-1** に示す. ジゴキシンの経細胞輸送活性は, basal 側から apical 側方向の方が apical 側から basal 側方向と比較し顕著に高く, $P_{app, ratio}$ は 10 以上の値であった. また, 本方向性輸送活性は, P-糖蛋白の典型的阻害剤である 200 μ M のベラパミル存在下でほぼ消失した ($P_{app, ratio}$: 1.3~1.5). これらの結果は, 各種基質薬剤の P-糖蛋白発現細胞系での経細胞輸送評価結果の既報とよく一致しており (Taub et al., 2005), 本 MDCKII-MDR1 細胞系を用いて, P-糖蛋白活性に対する各種薬剤の影響を評価可能であると考えられた.

Table I-1. Transcellular transport of digoxin in MDCKII-MDR1 cells in the absence or in the presence of verapamil.

Group name	Experiment 1			P_{app} ratio	Experiment 2			P_{app} ratio
	P_{app} value ($\times 10^{-6}$ cm/sec)				P_{app} value ($\times 10^{-6}$ cm/sec)			
	Individual	Average	SD		Individual	Average	SD	
Control Apical \rightarrow Basal	0.85			12.8	0.90			15.4
	0.81	0.85	0.03		0.80	0.85	0.05	
	0.88				0.84			
Control Basal \rightarrow Apical	12.65			1.5	13.59			1.3
	9.98	10.84	1.57		12.35	13.03	0.63	
	9.89				13.16			
+ Inhibitor (verapamil) Apical \rightarrow Basal	1.44			1.5	1.82			1.3
	1.25	1.44	0.19		1.87	1.87	0.06	
	1.64				1.93			
+ Inhibitor (verapamil) Basal \rightarrow Apical	2.36			1.5	2.40			1.3
	2.05	2.17	0.17		2.36	2.38	0.02	
	2.10				2.38			

MDCKII-MDR1 細胞でのジゴキシンの P-糖蛋白を介した経細胞輸送活性 (basal 側から apical 側方向 ; P_0) に対する各種非定型抗精神病薬 (リスペリドン, パリペリドン, オランザピン及びジプラシドン) の影響を検討した (**Fig. I-1**). リスペリドン及びパリペリドンは,

P-糖蛋白活性を濃度依存的に阻害し，その IC_{50} 値はそれぞれ 27 及び 85 μM であった．またオランザピンも，高濃度添加時において，P-糖蛋白活性に対する濃度依存的な阻害傾向を示したが，その程度は弱く，検討した最高添加濃度（100 μM ）においても， P_1/P_0 ratio は 0.5 より高い値であった（50%未満の阻害率； $IC_{50} > 100 \mu\text{M}$ ）．一方，ジプラシドンは，検討した濃度範囲において，P-糖蛋白活性に対する阻害作用は殆ど示さなかった．

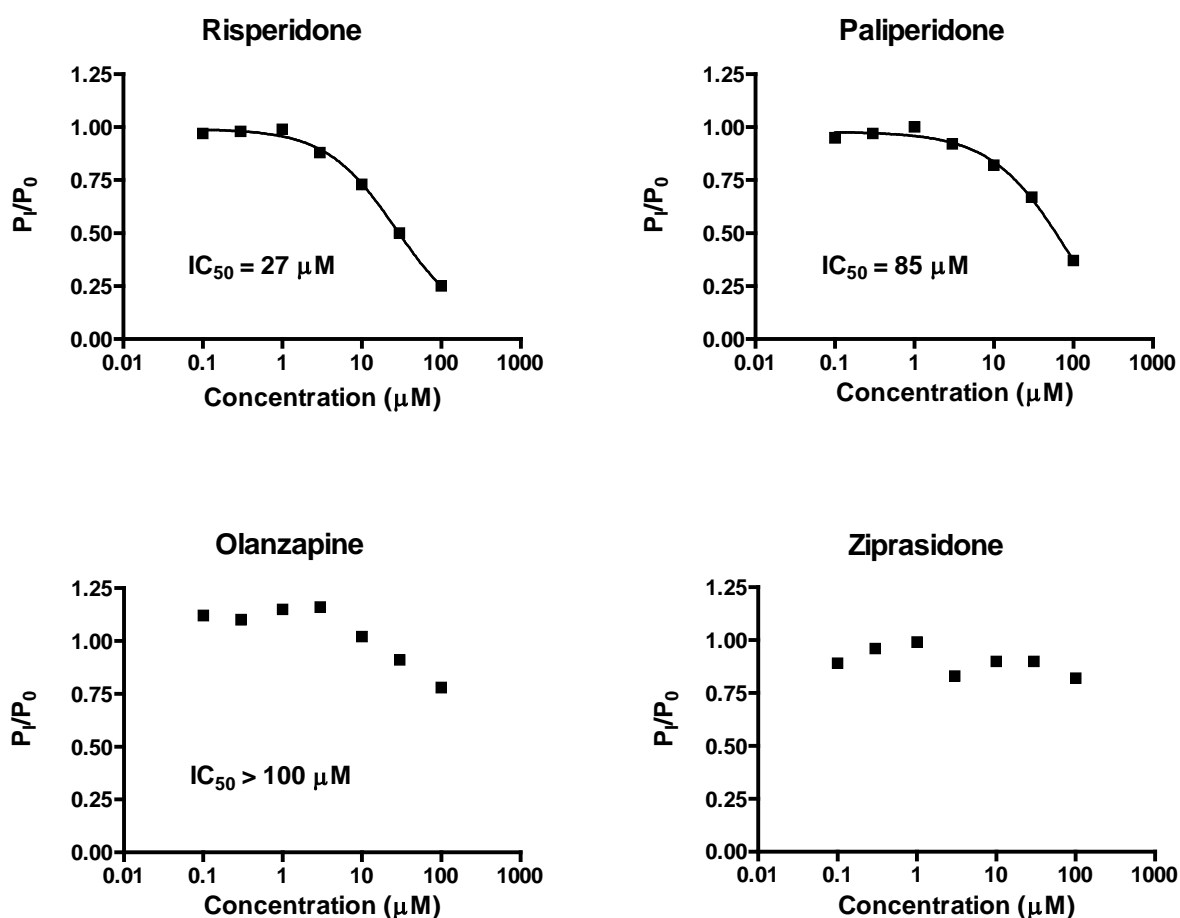


Fig. I-1. Concentration-dependent inhibition of the P-glycoprotein-mediated transport of digoxin (1 μM) by risperidone, paliperidone, olanzapine and ziprasidone in MDCKII-MDR1 cells. Each data point (P₁/P₀ ratio) was calculated by using the P_{app} values in the absence and in the presence of test compounds that are obtained from triplicate experiments. IC₅₀ values were estimated by fitting data (solid line) to the following equation:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + (X/\text{IC}_{50})^n)$$

where X is the inhibitor concentration, Y is the P₁/P₀ ratio, and n is the slope factor. Bottom and Top represent minimum and maximum Y values, respectively.

同一の評価系を用いて、P-糖蛋白によるジゴキシン輸送活性に対するアリピプラゾール及び活性代謝物デヒドロアリピプラゾールの影響を検討した (Fig. I-2)。両化合物とも、P-糖蛋白活性に対して濃度依存的な強い阻害作用を示し、その IC₅₀ 値はそれぞれ 1.2 及び 1.3 μM であった。

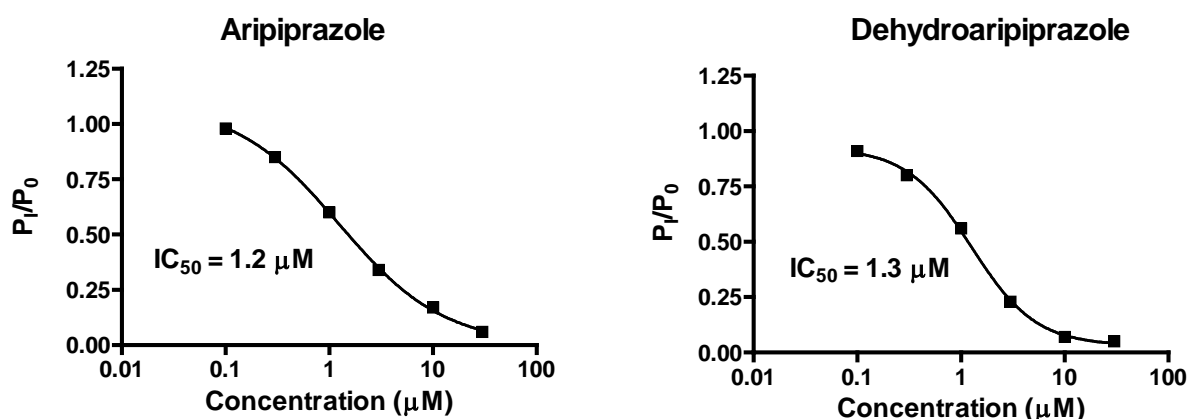


Fig. I-2. Concentration-dependent inhibition of the P-glycoprotein-mediated transport of [³H]digoxin (1 μM) by aripiprazole and dehydroaripiprazole in MDCKII-MDR1 cells. Each data point (P₁/P₀ ratio) was calculated by using the P_{app} values in the absence and in the presence of test compounds that are obtained from triplicate experiments. IC₅₀ values were estimated by fitting data (solid line) to the following equation:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + (X/\text{IC}_{50})^n)$$

where X is the inhibitor concentration, Y is the P₁/P₀ ratio, and n is the slope factor. Bottom and Top represent minimum and maximum Y values, respectively.

I -3-ii) アリピプラゾール及び活性代謝物のBCRP活性及びMRP4活性に対する影響

ヒトBCRP発現膜ベシクルでのメトトレキセート輸送活性に対するアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの影響を検討した (**Fig. I-3**)。両化合物とも、BCRP活性に対しても濃度依存的な阻害作用を示し、そのIC₅₀値はそれぞれ3.5及び0.52 μMと、P-糖蛋白に対してとほぼ同等の阻害強度であった。

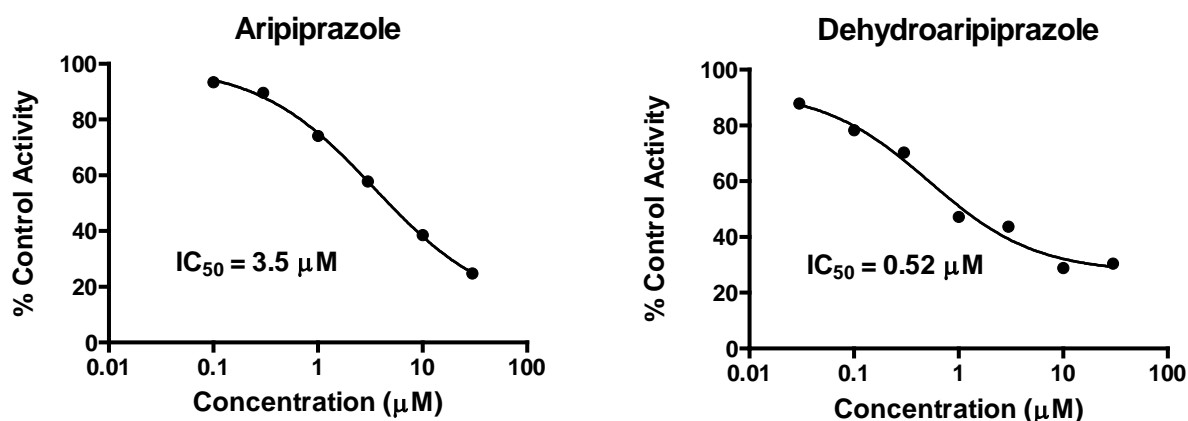


Fig. I-3. Concentration-dependent inhibition of the BCRP-mediated transport of [³H] methotrexate (10 μM) by aripiprazole and dehydroaripiprazole using insect cell-derived BCRP membrane vesicles. Each data point represents the mean of triplicate experiments. IC₅₀ values were estimated by fitting data (solid line) to the following equation:

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + (X/\text{IC}_{50})^n)$$

where X is the inhibitor concentration, Y is the percent control activity, and n is the slope factor. Bottom and Top represent minimum and maximum Y values, respectively.

更に、ヒト MRP4 発現膜ベシクルでのエストラジオール 17β-グルクロナイド輸送活性に対しするアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの影響を検討したが (Fig. I-4), 両化合物とも、MRP4 活性に対しては、殆ど明確な阻害作用を示さなかった。

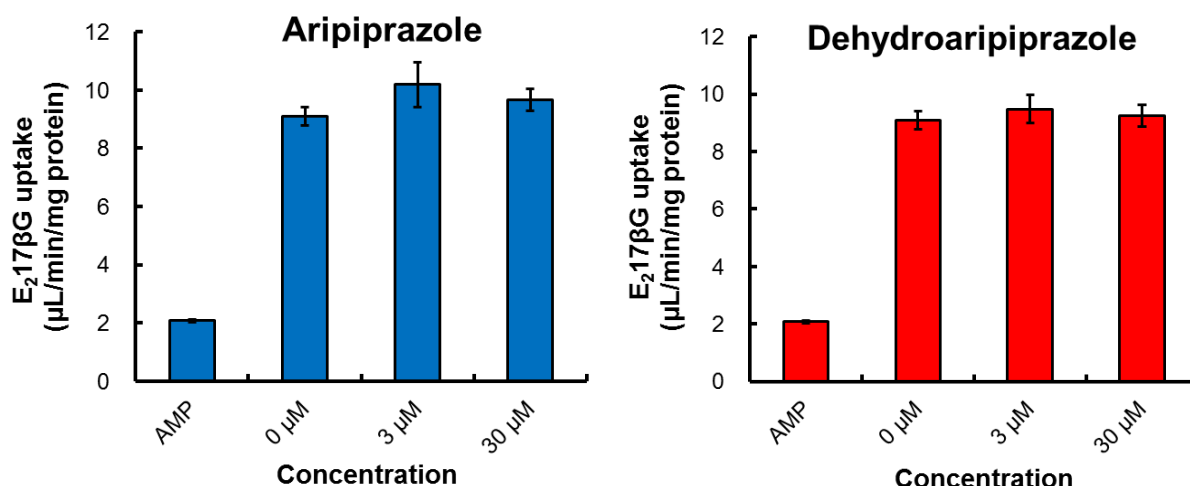


Fig. I-4. The uptake of [³H] estradiol 17β-glucuronide (10 μM) into insect cell-derived MRP4 membrane vesicles in the absence or in the presence of aripiprazole or dehydroaripiprazole. Each column and bar represents the mean ± SD of three samples.

第4節 考察

本章では、各種非定型抗精神病薬とアリピプラゾール及び活性代謝物デヒドロアリピプラゾールの P-糖蛋白活性への影響について、MDCKII-MDR1 細胞におけるジゴキシン (P-糖蛋白の典型的基質) の経細胞輸送活性に対する影響を指標として比較検討を行った。各種非定型抗精神病薬の P-糖蛋白活性に対する影響は、薬剤により様々であり、リスペリドン、パリペリドンが P-糖蛋白活性に対して弱い阻害作用を示す一方、オランザピンやジプラシドンは、明確な阻害作用は示さなかった (Fig. I-1)。一方、同一の評価系において、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは、P-糖蛋白活性に対して濃度依存的な強い阻害作用を示し、その IC₅₀ 値はいずれも約 1 μM と低い値であった (Fig. I-2)。これらの結果より、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは、他の非定型抗精神病薬と比較し、強い P-糖蛋白阻害作用を有することが示唆された。

また、BCRP 活性への影響について、ヒト BCRP 発現膜ベシクルにおけるメトトレキサート輸送活性を指標として検討した結果、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは、BCRP 活性に対しても濃度依存的な強い阻害作用を示し、その阻害の IC₅₀ 値は P-糖蛋白に対する阻害作用とほぼ同等であった (Fig. I-3)。更に、MRP4 活性への影響について、ヒト MRP4 発現膜ベシクルにおけるエストラジオール 17β-グルクロナイド輸送活性を指標として検討した結果、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは、検討した濃度範囲で殆ど MRP4 活性に対する阻害作用を示さなかった (Fig. I-4)。

Wang らは、ヒト BCRP 発現 MCF7/MX100 細胞における抗癌剤ミトキサントロン (BCRP の典型的基質) の BCRP を介した輸送活性に対する各種非定型抗精神病薬の影響を検討しており、リスペリドン、パリペリドン及びオランザピンの BCRP 活性に対する阻害の IC₅₀ 値は、それぞれ 38.1, 51.0 及び > 100 μM と報告している (Wang et al., 2008)。この報告値及び本研究結果より、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは、P-糖蛋白活性に対してと同様、BCRP 活性に対しても、他の非定型抗精神病薬と比較し強い阻害作用を有する可能性が示唆された。しかしながら、本研究に用いた系とは異なる評価系での報告

値との比較であることから、両化合物と他の非定型抗精神病薬との **BCRP** 活性に対する阻害作用の比較については、今後、同一の評価系を用いて更に検証を行う必要があると考えられる。

第5節 まとめ

アリピプラゾール及び活性代謝物デヒドロアリピプラゾールは、**P**-糖蛋白活性に対し、他の非定型抗精神病薬と比較し、より強い阻害作用を示した。また、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは、**BCRP** 活性に対しても、**P**-糖蛋白活性に対してと同等の阻害作用を示す一方、**MRP4** 活性には殆ど影響を与えないことが明らかとなった。

第 II 章 アリピプラゾール及び活性代謝物の動態に及ぼす薬物トランスポーターの機能不全の影響

第 1 節 緒言

第 I 章では、非定型抗精神病薬のアリピプラゾール及びその活性代謝物のデヒドロアリピプラゾールに関して、各種薬物トランスポーター活性への影響を評価した。一方、医薬品の他剤との相互作用可能性を考える上で、当該薬剤が他剤の動態を制御する因子（肝臓の代謝酵素、薬物トランスポーター等）に対して与える影響のみならず、自身の動態がこれら制御因子を介して受ける影響についても評価することが重要である。この意味で、各種薬物トランスポーターの遺伝的欠損動物（P-糖蛋白欠損マウス、BCRP 欠損マウス等）は、薬剤の動態の制御因子の解明並びにその機能不全が体内動態に及ぼす影響の評価に有益なツールであると考えられる。

アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの動態への P-糖蛋白の関与については、既に Kirschbaum らによる報告例がある (Kirschbaum et al., 2010)。本報告によれば、アリピプラゾールを腹腔内投与後の P-糖蛋白欠損マウスにおけるアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの $K_{p, \text{brain}}$ (脳/血漿中濃度比) 値は、正常マウスの $K_{p, \text{brain}}$ 値と比較し、それぞれ 2.5 倍及び 4.3 倍高かった。本結果から、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの脳移行性が P-糖蛋白により制御される可能性が示唆されたが、これまで BCRP により両化合物の体内動態が制御されるか否か、またその機能不全に加え、P-糖蛋白の機能不全が伴った場合に両化合物の動態に及ぼす影響の程度について報告した例は無かった。そこで、本章では、これらの点を明らかにするために、正常マウス、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにアリピプラゾールを単回経口投与したときの血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾール濃度推移について、3 種のマウス間で比較を行った。

第2節 実験材料および実験方法

II-2-i) 化合物及び試薬

アリピプラゾールは東京化学工業，デヒドロアリピプラゾールは Toronto Research Chemicals Inc.，パパベリンは Cayman Chemical Company より購入した．ポリエチレングリコール 400 (PEG400) は和光純薬工業より購入した．その他の試薬及び溶媒は，HPLC 用，LC/MS 用あるいは特級品の市販品を用いた．

II-2-ii) 動物

日本クレア株式会社より入手した正常マウス (系統:FVB/NJcl, 性別:雄性), また Taconic Farms Inc.より入手した BCRP 欠損マウス (系統:FVB.129P2-*Abcg2*^{tm1Abs}N7, 性別:雄性) 及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウス (系統:FVB.129P2-*Abcb1a*^{tm1Bor}*Abcb1b*^{tm1Bor}*Abcg2*^{tm1Abs}N7, 性別:雄性) を使用した．アリピプラゾール投与時の週令 (体重) は, 正常マウスは 8 週令 (23~31 g), BCRP 欠損マウスは 7~8 週令 (20~27 g), P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスは 7~8 週令 (20~28 g) であった．12 h の明暗期サイクルで温湿度管理された室内で動物を飼育した．飼料は, 市販のげっ歯類用飼料 (MF, オリエンタル酵母工業株式会社) を使用し, 自由摂取とした．水は公営水道水を使用し, 自動給水または給水瓶で与えた．給水瓶使用時には, 水は適宜交換した．アリピプラゾール投与 16 h 前より絶食を行い, 薬物投与後 4 h の試料採取後より給餌を再開した．動物実験に関するすべての手続きおよび操作は, アステラス製薬株式会社 動物実験委員会の承認下で行った．

II-2-iii) 薬物投与及び試料採取

薬物投与は絶食下で行った。正常マウスに単回静脈内及び経口投与時、また BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスに単回経口投与時のいずれにおいても、アリピプラゾールを 5%ジメチルスルホキシド (DMSO) 含有 50%PEG400 溶液に溶解し、投与液を調製した。静脈内投与時には、本投与液を 2 mg/5 mL/kg の用量で注射針付きシリンジを用いて尾静脈内に投与し、経口投与時には、本投与液を 2 mg/5 mL/kg の用量で経口ゾンデ付きシリンジを用いて胃内に投与した。薬物投与後の試料 (血漿及び脳) 採取は 1 個体 1 時点で実施し、動物の例数は 1 時点 3 例とした。血漿及び脳試料の採取時点を以下に示す。

静脈内投与時：投与後 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 及び 48 h

経口投与時：投与後 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 及び 48 h

所定時間にイソフルラン吸入麻酔下、ヘパリンナトリウム処理済みの 27G 注射針付シリンジを用いて下大静脈より全採血した。採取した血液は遠心分離 (8,000×g, 4°C, 5 min) し、血漿を採取した。血漿は、濃度測定時まで冷凍庫 (許容範囲: -30°C~-10°C) で凍結保存した。全採血後、全脳を摘出した。全脳の重量を測定し、全重量の 4 倍量のリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を加え、シェイクマスターオートを用いてホモジネートとした。調製した全脳ホモジネートは、濃度測定時まで冷凍庫 (許容範囲: -30°C~-10°C) で凍結保存した。

II-2-iv) 血漿中及び脳内アリピプラゾールならびに活性代謝物濃度測定

アセトニトリル/精製水/ギ酸混合溶液 (500 : 500 : 1, v/v/v; 溶液 A) 40 µL 及び 1 ng/mL パパベリン溶液 (内部標準液; 溶媒 : DMSO/溶液 A = 1 : 9, v/v) 20 µL を血漿測定試料 20 µL 及び脳測定試料 100 µL に添加した。検量線試料を調製するため、ブランク血漿 20 µL 及びブランク脳ホモジネート 100 µL に溶液 A 20 µL, 内部標準液 20 µL および既知濃度のアリ

ピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾール混合溶液（溶媒：溶液 A）20 μ L を添加した。これらのサンプルに 2% リン酸 0.4 mL を添加して遠心後、予めメタノール 0.2 mL 及び 2% リン酸 0.2 mL でコンディショニングした固相プレート（Oasis HLB μ Elution Plate 30 μ m, Waters）に上清を添加した。減圧下吸引し、メタノール/精製水混合溶液（5 : 95, v/v）0.5 mL で洗浄した後、アセトニトリル/ギ酸混合溶液（500 : 1, v/v）0.2 mL を添加し、減圧下吸引によりポリプロピレン製プレートに溶出した。溶出液に精製水 0.2 mL を添加し攪拌した試料を、LC-20AD システム（島津製作所）および QTRAP®5500 質量分析計（AB SCIEX）を用いて分析した。LC カラムは Luna phenyl-hexyl（粒径 3- μ m, 100 \times 2 mm ; Phenomenex）を使用した。移動相は A 液を 1 M 酢酸アンモニウム/ギ酸/精製水（20 : 1 : 1000, v/v/v）、B 液をアセトニトリルとし、40% A および 60% B（アイソクラティック）とした。またカラム温度を 40°C、流速を 0.2 mL/min とした。LC/MS 分析のイオン化にはエレクトロスプレーイオン化（ESI）法を用い、陽イオン検出モードとした。またマルチプルリアクションモニタリングを行い、モニターイオンはアリピプラゾールについて m/z 450.1 \rightarrow 287.1、デヒドロアリピプラゾールについて m/z 446.0 \rightarrow 285.0、パパベリンについて m/z 340.0 \rightarrow 324.0 とした。

II-2-v) データ解析

単回経口投与後の血漿中及び脳内のアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの最高濃度（ C_{max} ）並びにそれに到達する時間（ T_{max} ）には実測値を用いた。終末相の消失速度定数（ λ ）を最小二乗法によって算出し、消失半減期（ $t_{1/2}$ ）を $t_{1/2} = 0.693/\lambda$ の関係より求めた。血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC）は最終測定時点までを台形法により算出し、それ以降は λ 値を用いて無限時間まで外挿計算した（ AUC_{inf} ）。全身クリアランス（ CL_{tot} ）は単回静脈内投与時の投与量を AUC_{inf} で除すことにより求めた。血漿中濃度推移の 1 次モーメントとして平均滞留時間（MRT）を定義し、静脈内投与時の定常状態分布容積（ Vd_{ss} ）を $Vd_{ss} = MRT \times CL_{tot}$ の関係より求めた。これらの薬物動態学的パラメータは、Phoenix

WinNonlin 6.1 (Pharsight Corp.) を使用して算出した。また、正常、BCRP 欠損及び P-糖蛋白/BCRP 欠損の各種マウスに経口投与時のアリピプラゾールの AUC_{inf} と、正常マウスに静脈内投与時のアリピプラゾールの AUC_{inf} より、各種マウスにおける絶対バイオアベイラビリティ (F) を算出した。また、単回経口投与後の血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾール濃度値より、各種マウスにおける各測定時点での脳/血漿濃度比 ($K_{p, brain}$) を算出した。各種マウスにおける F 及び $K_{p, brain}$ 値は、Microsoft Office Excel 2003 を用いて算出した。

第 3 節 結果

II-3-i) 正常マウスにアリピプラゾールを静脈内投与後の血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びに活性代謝物濃度

正常マウスにアリピプラゾールを 2 mg/kg の用量で単回静脈内投与後の血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾール濃度を測定し、薬物速度論的パラメータを求めた (Fig II-1, Table II-1A 及び 1B)。正常マウスにアリピプラゾールを静脈内投与後、血漿中アリピプラゾール濃度はほぼ二相性の消失を示し、消失半減期 ($t_{1/2}$) は 4.4 h であった。また CL_{tot} 及び Vd_{ss} は、それぞれ 703 mL/h/kg 及び 3770 mL/kg であった。血漿中デヒドロアリピプラゾール濃度は、投与後速やかに上昇してほぼ一定の値を推移しながら 8 h に最高値に達し、その後 4.9 h の $t_{1/2}$ で消失した。また、脳内のアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾール濃度は、いずれも血漿中濃度と概ね並行な推移を示した。

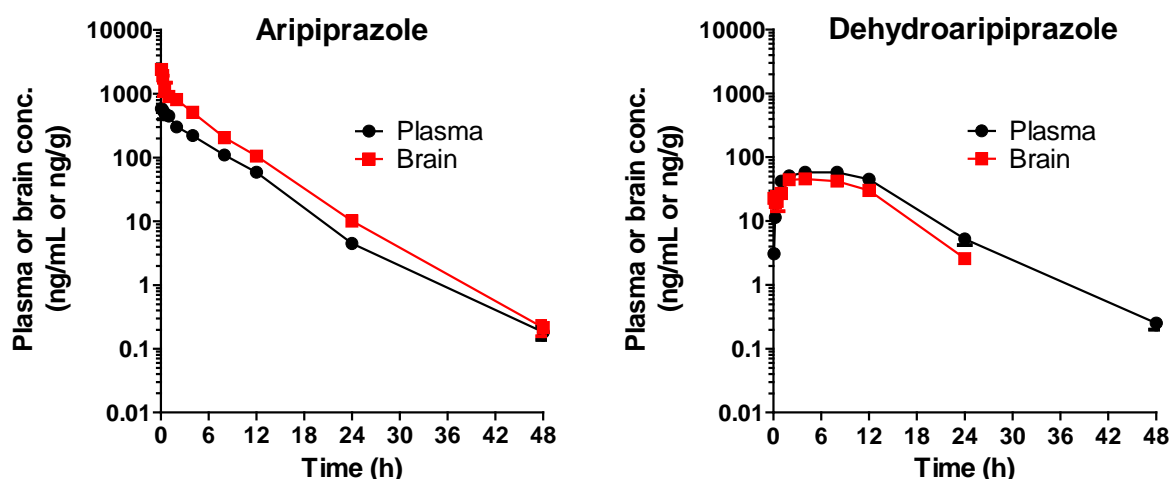


Fig. II-1. Plasma and brain concentration-time profiles of aripiprazole and dehydroaripiprazole after a single intravenous administration of aripiprazole to normal mice at a dose of 2 mg/kg. Each point represents the mean \pm S.D. of data from three mice.

Table II-1A. Pharmacokinetic parameters of aripiprazole after a single intravenous administration of aripiprazole to normal mice at a dose of 2 mg/kg.

Specimen	CL _{tot} (mL/h/kg)	Vd _{ss} (mL/kg)	t _{1/2} (h)	AUC _{inf} (ng·h/mL or ng·h/g tissue)
Plasma	703	3770	4.4	2850
Brain	-	-	4.1	6550

Each parameter was calculated from the mean concentration-time profile in plasma and brain.
-: Not calculated.

Table II-1B. Pharmacokinetic parameters of dehydroaripiprazole after a single intravenous administration of aripiprazole to normal mice at a dose of 2 mg/kg.

Specimen	C _{max} (ng/mL or ng/g tissue)	T _{max} (h)	t _{1/2} (h)	AUC _{inf} (ng·h/mL or ng·h/g tissue)
Plasma	58.3	8.0	4.9	987
Brain	45.9	4.0	3.8	680

Each parameter was calculated from the mean concentration-time profile in plasma and brain.

II-3-ii) 正常マウス, BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにアリピプラゾールを経口投与後の血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びに活性代謝物濃度

正常マウス, BCRP 欠損 (Bcrp KO) マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損 (Mdr1a/1b/Bcrp KO) マウスにアリピプラゾールをそれぞれ 2 mg/kg の用量で単回経口投与後の血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾール濃度を測定し, 各種マウス間での両化合物の血漿中及び脳内推移を比較した (Fig II-2 及び 3 並びに Table II-2 及び 3).

アリピプラゾールを経口投与後の血漿中アリピプラゾール濃度は, BCRP 欠損及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウス共に, 正常マウスと比較しやや高値を示したものの顕著な差はみとめられず (C_{max} として 0.89 倍, AUC_{inf} として 1.3 倍), いずれも正常マウスと同様, 4.5 及び 4.6 h の $t_{1/2}$ で消失した (正常マウスの $t_{1/2}$: 4.1 h). 各種マウスの絶対バイオアベイラビリティ (F) 値は, 正常マウス, BCRP 欠損及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスでそれぞれ 64%, 84% 及び 84% であった. 一方, 脳内アリピプラゾール濃度については, BCRP 欠損マウスは, 血漿中濃度と同様, 正常マウスと比較し大きな差はみとめられなかったが, P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスの脳内濃度は, 正常マウスより高い濃度で推移し, AUC_{inf} 値は正常マウスの約 5 倍高い値であった.

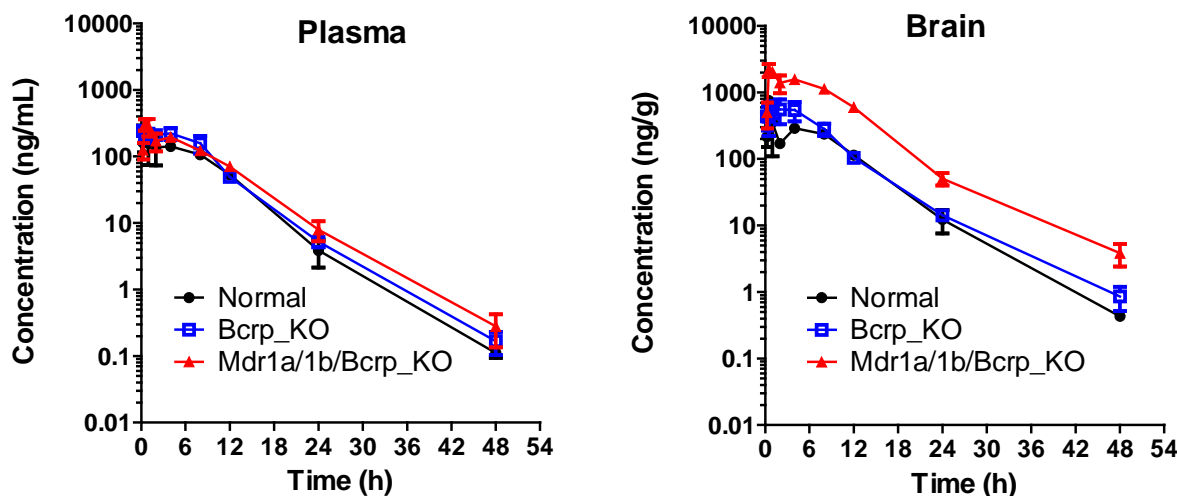


Fig. II-2. Aripiprazole concentration-time profiles in plasma and brain after a single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) to normal, Bcrp knockout and Mdr1a/1b/Bcrp knockout mice. Each point represents the mean \pm S.D. of data from three mice.

Table II-2. Pharmacokinetic parameters of aripiprazole after a single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) to normal, Bcrp knockout and Mdr1a/1b/Bcrp knockout mice.

Specimen	PK parameters	Normal	Bcrp KO	Mdr1a/1b/Bcrp KO
Plasma	C_{max} (ng/mL)	272	243	304
	T_{max} (h)	0.5	0.25	0.5
	$t_{1/2}$ (h)	4.1	4.5	4.6
	AUC_{inf} (ng·h/mL)	1810	2400	2400
	F (%)	64	84	84
Brain	C_{max} (ng/g tissue)	751	573	2190
	T_{max} (h)	0.5	1	0.5
	$t_{1/2}$ (h)	4.5	5.3	5.1
	AUC_{inf} (ng·h/g tissue)	3810	5400	19500

Each parameter was calculated from the mean concentration-time profile in plasma and brain.

同様の比較を、血漿中及び脳内デヒドロアリピプラゾール濃度についても行った。アリピプラゾール同様、血漿中濃度は、各種マウス間で大きく異ならない推移を示す一方、脳内濃度は、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにおいて、正常マウスと比較し、顕著に高い濃度で

推移した。

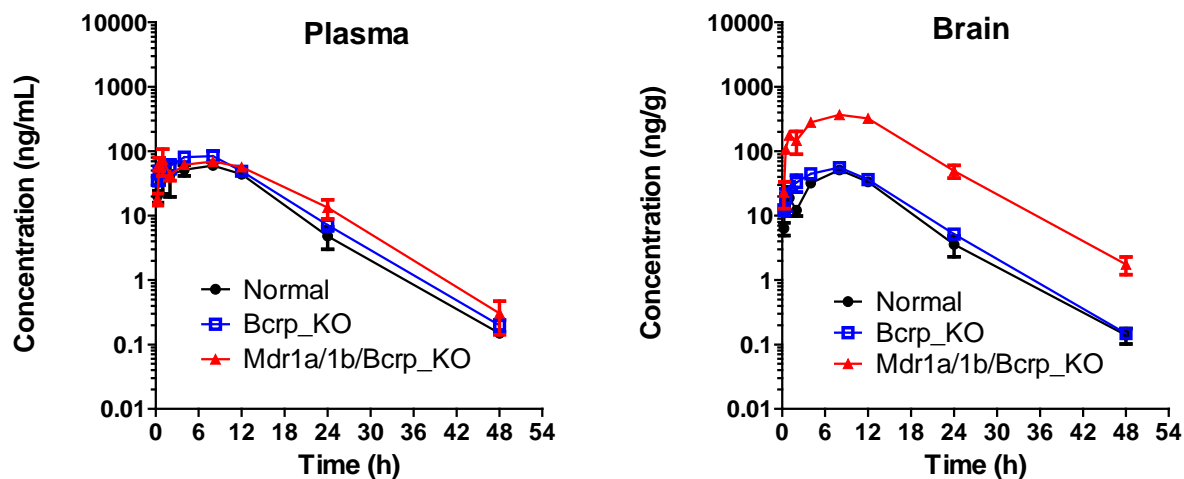


Fig. II-3. Dehydroaripiprazole concentration-time profiles in plasma and brain after a single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) to normal, Bcrp knockout and Mdr1a/1b/Bcrp knockout mice. Each point represents the mean \pm S.D. of data from three mice.

Table II-3. Pharmacokinetic parameters of dehydroaripiprazole after a single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) to normal, Bcrp knockout and Mdr1a/1b/Bcrp knockout mice.

Specimen	PK parameters	Normal	Bcrp KO	Mdr1a/1b/Bcrp KO
Plasma	C_{max} (ng/mL)	60.1	84.0	74.4
	T_{max} (h)	8.0	8.0	1.0
	$t_{1/2}$ (h)	4.4	4.5	4.7
	AUC_{inf} (ng·h/mL)	950	1250	1310
Brain	C_{max} (ng/g tissue)	51.0	55.7	369
	T_{max} (h)	8.0	8.0	8.0
	$t_{1/2}$ (h)	4.3	4.2	4.8
	AUC_{inf} (ng·h/g tissue)	675	821	6220

Each parameter was calculated from the mean concentration-time profile in plasma and brain.

アリピプラゾールを正常マウス、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにそれぞれ経口投与後の血漿中及び脳内濃度推移より、各種マウスにおけるアリピプラゾール

の脳内移行性について、 $K_{p, \text{brain}}$ 値を基準に比較した (Table II-4). いずれの測定時点においても、BCRP 欠損マウスにおけるアリピプラゾールの $K_{p, \text{brain}}$ 値は、正常マウスと概ね同等の値を示した. 一方、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにおけるアリピプラゾールの $K_{p, \text{brain}}$ 値は、正常マウスと比較し、各測定時点で約 3~4 倍高い値であった. また、同様の比較をデヒドロアリピプラゾールにおいて実施した結果、未変化体同様、正常マウス及び BCRP 欠損マウスの $K_{p, \text{brain}}$ 値は概ね同等である一方、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスの $K_{p, \text{brain}}$ 値は、正常マウスの約 4~7 倍高値を示した.

Table II-4. Brain to plasma concentration ratios ($K_{p, \text{brain}}$) of aripiprazole and dehydroaripiprazole after a single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) to normal, Bcrp knockout and Mdr1a/1b/Bcrp knockout mice.

Time (h)	Aripiprazole			Dehydroaripiprazole		
	Normal	Bcrp KO	Mdr1a/1b/Bcrp KO	Normal	Bcrp KO	Mdr1a/1b/Bcrp KO
0.25	1.3	1.8	4.0	0.31	0.35	1.3
0.5	2.8	2.1	7.2	0.43	0.43	1.7
1	2.3	2.6	7.2	0.50	0.55	2.4
2	1.2	2.7	8.2	0.28	0.55	3.4
4	2.0	2.4	8.1	0.62	0.55	4.5
8	2.2	1.8	9.2	0.85	0.66	5.3
12	2.2	2.1	8.5	0.77	0.74	5.7
24	3.2	2.7	6.4	0.74	0.72	3.7
48	3.8	5.1	13.8	0.62	0.50	5.7

第4節 考察

本章では、正常マウス、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにアリピプラゾールを単回経口投与したときのアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの体内動態を、各種マウス間で比較した.

各種マウスにアリピプラゾールを単回経口投与したとき、血漿中のアリピプラゾールの濃度推移は、BCRP 欠損及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウス共に、正常マウスと比較しやや高値を示したものの顕著な差はみとめられず、いずれも正常マウスと同様、約 4~5 h の $t_{1/2}$ で

消失した。またその $t_{1/2}$ は、正常マウスに静脈内投与したときの $t_{1/2}$ ともほぼ同等であった。

更に、正常マウスに静脈内投与したときの AUC_{inf} 値を基に算出した正常マウス、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスの F 値はそれぞれ 0.64, 0.84 及び 0.84 であった。

一般に薬物の $t_{1/2}$ は、全身クリアランス (CL_{tot}) 及び分布容積 (V_d) により、以下の式で表される。

$$t_{1/2} = 0.693 \cdot V_d / CL_{tot}$$

上式より、正常マウス、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウス間で $t_{1/2}$ がほぼ同等の値を示した理由としては、1) 各種マウスにおけるアリピプラゾールの V_d 及び CL_{tot} 値がほぼ同等の値であった 2) BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウス共、或いはそのいずれかのマウスにおいて、正常マウスと比較し、 V_d 及び CL_{tot} がいずれも同程度に上昇、或いは減少していたという 2 つの可能性が考えられる。一方、P-糖蛋白及び BCRP は、共に薬物排出トランスポーターとして薬物の経口吸収及び組織への移行を制御するのみならず、薬物の肝臓及び腎臓での消失に寄与するため、その機能不全により、薬物の V_d が上昇する、或いは CL_{tot} が減少する可能性がある。しかしながら、両トランスポーター（或いはそのいずれかのトランスポーター）の機能欠損により、2) の状況が生ずる可能性、即ち V_d の上昇と共に CL_{tot} も同程度上昇する、或いは CL_{tot} が減少すると共に V_d も同程度減少する状況は考えにくい。以上を含めて考えると、本検討結果から、P-糖蛋白及び BCRP の機能障害は、アリピプラゾールのマウスにおける V_d のみならず CL_{tot} 、即ち消失過程に殆ど影響を与えないと推察された。また、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにおける F 値は、正常マウスより若干高い（約 1.3 倍）値を示したが、上述の内容及び本化合物の主消失経路が肝臓での代謝と推察され、これら薬物トランスポーターの機能欠損により小腸及び肝臓のアベイラビリティ (F_g 及び F_h) に影響が出るとは考えにくいことから、その要因として、P-糖蛋白或いは BCRP 機能不全により吸収率 (F_a) が上昇した可能性が考えられた。

各種マウスにアリピプラゾールを単回経口投与したとき、デヒドロアリピプラゾールの血漿中濃度は、アリピプラゾールと同様、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウ

ス共に、正常マウスと比較しやや高値で推移したものの、顕著な差はみとめられなかった。また BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスと正常マウスとの AUC_{inf} 比は 1.3～1.4 倍程度と、アリピプラゾールにおける比率とほぼ同等であった。更に、 $t_{1/2}$ はいずれのマウスもほぼ同等であった。これらの結果から、P-糖蛋白及び BCRP の機能障害は、マウスにおけるデヒドロアリピプラゾールの肝代謝にも殆ど影響を与えず、また各トランスポーターの機能欠損マウスでの若干の血漿中濃度上昇は、未変化体であるアリピプラゾールにおける濃度上昇を反映していると推察された。

一方、正常マウス、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにアリピプラゾールを経口投与したとき、脳内アリピプラゾール濃度は、正常マウスに静脈内投与したときと同様に、各種マウスで血漿中アリピプラゾール濃度とほぼ並行な推移を示した (Fig. II-2.)。このことから、アリピプラゾールの脳内濃度は血漿中濃度と速やかに平衡に達すると考えられた。また BCRP 欠損マウスの脳内濃度は、血漿中濃度と同様、正常マウスと比較し、大きな差はみとめられず、血漿中濃度の上昇比以上の上昇はみとめられなかったが、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスの脳内濃度は、正常マウスより明らかに高い濃度で推移し、 AUC_{inf} 値は正常マウスの約 5 倍高い値であった。同様の傾向は、デヒドロアリピプラゾールの脳内濃度についてもみとめられ、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスの脳内濃度の AUC_{inf} 値は、正常マウスの AUC_{inf} 値の約 10 倍と、より顕著であった。これらの結果より算出されたアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの $K_{p, brain}$ 値を各種マウス間で比較した結果、BCRP 欠損マウスにおける $K_{p, brain}$ 値は、両化合物とも正常マウスとほぼ同等であったが、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにおける $K_{p, brain}$ 値は、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールでそれぞれ正常マウスの約 3～4 倍及び 4～7 倍高い値であった。

近年、P-糖蛋白欠損マウス、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスを用いた脳内移行性の評価結果が幾つかの薬剤に関し報告されている。これらにおいて、P-糖蛋白単独、或いは BCRP 単独の欠損マウスにおける $K_{p, brain}$ 値は正常マウスと大きく異ならない一方で、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにおける $K_{p, brain}$ 値が顕著に高い報告例もある (Polli et al., 2009; Kodaira et al., 2010)。これらの事象の要因の説明は研究者毎により様々な考察が成さ

れているが、いずれも、それぞれ単独の薬物トランスポーターの欠損マウスでは見かけ上明確な寄与がみとめられなくとも、当該薬物の脳移行性が両トランスポーターによって制御されうるといふ点において共通の見解が提示されている。しかしながら、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの脳移行性については、Kirschbaum らの報告値による P-糖蛋白欠損マウスの $K_{p, \text{brain}}$ 値と本検討の P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスの $K_{p, \text{brain}}$ 値に大きな差はなく、一方で BCRP 欠損マウスの両化合物の $K_{p, \text{brain}}$ 値は正常マウスとほぼ同等であった。これらを総合的に判断すると、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールのマウスの脳移行性は、P-糖蛋白により制御されているものの、BCRP の寄与は殆ど無い、即ち両化合物の脳移行性は P-糖蛋白の機能不全により影響を受けるものの、BCRP の機能不全による影響は殆ど受けないと推察された。

第 5 節 まとめ

アリピプラゾールを経口投与後のアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの血漿中濃度は、P-糖蛋白及び BCRP のいずれの機能不全によっても、大きな影響は受けないと考えられた。一方、アリピプラゾールを経口投与後のアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの脳移行性は、P-糖蛋白の機能不全によって影響を受けるものの、BCRP の機能不全によっては殆ど影響を受けないと推察された。

第Ⅲ章 アリピプラゾール及び活性代謝物の薬物間相互作用可能性評価

第1節 緒言

薬物トランスポーターを介した薬物間相互作用可能性の評価については、これまでに規制当局や専門家等によって、種々のクライテリアが提唱されている。このうち、The International Transporter Consortium (ITC) の白書においては、開発化合物の IC_{50} と最高血漿中非結合型濃度 $[I]_{1, free}$ との比較において「0.1 より大で可能性あり」、或いは IC_{50} と消化管腔内濃度 $[I]_2$ との比較において「10 より大で可能性あり」を基準に P-糖蛋白或いは BCRP を介した他剤との薬物間相互作用可能性を評価し、可能性が否定できないと判断された場合には臨床での相互作用試験の実施を推奨している (The International Transporter Consortium, 2010)。 $[I]_{1, free}$ を基準とした比較は、肝臓、腎臓及び脳での相互作用、また $[I]_2$ を基準とした比較は消化管での相互作用に対応している。なお、この場合の消化管腔内濃度は、化合物投与量を、コップ 1 杯の水の量 (約 250 mL) で除した値としている。

一方、Tachibana らは、これとは別に、化合物投与量を IC_{50} で除した値を Drug Interaction number (DIN) と規定し、この値を基準に P-糖蛋白と開発化合物との相互作用可能性を評価する方法を提唱している (Tachibana et al., 2009)。本評価法は、消化管での相互作用可能性を意識した基準であり、前述の $[I]_2$ と IC_{50} との比較に対応するものと考えられる。

本章では、上記の基準を参考に、アリピプラゾールの薬物トランスポーターを介した相互作用可能性について、相互作用薬として他剤の薬物動態に及ぼす影響、また被相互作用薬として自身の薬物動態が受ける影響を定量的に評価した。更に、P-糖蛋白の機能不全及び P450 代謝阻害が同時に生じた場合等、臨床での使用において生じうる様々な状況における本薬剤の被相互作用薬としての影響の受け方を明らかにするべく、簡易的な生理学的薬物動態モデルを構築し、種々条件下でアリピプラゾールを経口投与後の統合失調症患者における血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの濃度推移の記述を試みた。

第2節 実験材料および実験方法

III-2-i) 各種非定型抗精神病薬に関する相互作用評価指標の算出

アリピプラゾール、デヒドロアリピプラゾール及び各種非定型抗精神病薬に関し、臨床用量での定常状態下における血漿中最大濃度 ($[I]_{1,\text{total}}$) 及び血漿中非結合型分率 (f_p) を文献情報より取得し (Lublin et al., 2005; Citrome et al., 2007; Heykants et al., 1994; Boom et al., 2009; Callaghan et al., 1999; Aweeka et al., 2000), 血漿中非結合型濃度 ($[I]_{1,\text{free}}$), 消化管腔内濃度 ($[I]_2$) 及び Drug Interaction Number (DIN) を算出した。得られた $[I]_{1,\text{free}}$ 及び $[I]_2$ と P-糖蛋白活性或いは BCRP 活性に対する各化合物の IC_{50} 値との比 ($[I]_{1,\text{free}}/IC_{50}$ 及び $[I]_2/IC_{50}$) を算出し、各クライテリアと比較した。なお、P-糖蛋白活性に対する IC_{50} 値が算出不可能であったオランザピン及びジプラシドンに関しては、*in vitro* 系での評価における両化合物の最高添加濃度 (100 μM) を IC_{50} として、それぞれの $[I]_{1,\text{free}}/IC_{50}$ 及び $[I]_2/IC_{50}$ を算出した。

III-2-ii) 肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝試験

アリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの血漿中及び脳内濃度に関する薬物動態解析に先立ち、解析に使用するパラメータ (肝代謝固有クリアランス) の初期値算出を目的として、マウス及びヒト肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝試験を実施した。

III-2-ii)-a 化合物、試薬及び生体試料

アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは Toronto Research Chemicals Inc., パパベリンは Cayman Chemical Company より購入した。マウス及びヒト由来の肝ミクロゾームは XenoTech, LLC より購入した。その他の試薬及び溶媒は HPLC 用, LC/MS 用あるいは特級品の市販品を用いた。

III-2-ii)-b インキュベーション

インキュベーションはすべて duplicate で行った. 肝ミクロゾーム (0.1 mg of protein/mL), 1 mM NADPH 溶液及びアリピプラゾールまたはデヒドロアリピプラゾール (1 μ M) を含む 0.10 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) をインキュベーションすることにより, アリピプラゾールの代謝速度, アリピプラゾールからのデヒドロアリピプラゾールの生成速度及びデヒドロアリピプラゾールの代謝速度を測定した. アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは最初に 1%酢酸含有 50%アセトニトリルに溶解し, 反応溶液中の最終アセトニトリル濃度は 0.5% (v/v) とした. 37°C でプレインキュベーション (5 min) した後, NADPH 溶液を加えることで反応を開始した. 37°C でインキュベーション (10–40 min) した後, 氷冷した 0.1%ギ酸含有アセトニトリルを 2 倍量加えることで反応を停止した. 遠心後, 上清に等量の 0.1%ギ酸を添加しよく混和した後, 次項に示す方法により分析した.

III-2-ii)-c 濃度測定

前項で調製した試料を, Prominence システム (島津製作所) および API4000 質量分析計 (AB SCIEX) を用いて分析した. LC カラムは Luna phenyl-hexyl (粒径 3 μ m, 100 \times 2 mm; Phenomenex) を使用した. 移動相は A 液を 1 M 酢酸アンモニウム/ギ酸/精製水 (20 : 1 : 1000, v/v/v), B 液をアセトニトリルとし, 40% A および 60% B (アイソクラティック) とした. カラム温度を 40°C, 流速を 0.2 mL/min とした. LC/MS 分析でのイオン化はエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法を用い, 陽イオン検出モードとした. またマルチプルリアクションモニタリングを行い, モニターイオンはアリピプラゾールについて m/z 450.2 \rightarrow 287.0, デヒドロアリピプラゾールについて m/z 446.0 \rightarrow 285.0, パパベリンについて m/z 340.0 \rightarrow 324.0 とした.

III-2-ii)-d 肝代謝固有クリアランス (CL_{int}) 値の算出

アリピプラゾールの代謝, アリピプラゾールからのデヒドロアリピプラゾールの生成及びデヒドロアリピプラゾールの代謝の各測定結果から, 各過程の代謝固有クリアランス (そ

れぞれ $CL_{int, A, all}$ $CL_{int, A to DA}$ 及び $CL_{int, DA}$ を算出した。 $CL_{int, A to DA}$ は、デヒドロアリピプラゾールの生成速度を、アリピプラゾールの添加初濃度 ($C_0 : 1 \mu M$) で除することにより算出した。一方、 $CL_{int, A, all}$ 及び $CL_{int, DA}$ は、反応の直線性が保たれているインキュベーション時間内での単位時間当たりのアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの減少量より、下記関係式 (integration-plot 法) に基づき算出した。

$$\frac{dX_t}{dt} = CL_{int} \cdot C_t \quad (1)$$

ここで、 X_t 及び C_t は反応液中でのある時点 t での化合物 (アリピプラゾールあるいはデヒドロアリピプラゾール) 量及び濃度を表す。式 (1) の CL_{int} は $CL_{int, A, all}$ 或いは $CL_{int, DA}$ を表す。式 (1) より導かれる以下の式 (2) (AUC_t : 反応開始時間から時間 t までの化合物の濃度-時間下曲線面積), また以下の式 (3) より算出される X_t より、 $CL_{int, A, all}$ 及び $CL_{int, DA}$ を算出した。

$$X_t = CL_{int} \cdot AUC_t \quad (2)$$

$$X_t = V \cdot (C_0 - C_t) \quad (3)$$

ここで、 V は反応液容量、 C_0 及び C_t はそれぞれ化合物の反応液中初濃度及び時点 t での反応液中濃度を表す。なお、両化合物の各 CL_{int} 値の算出は、Microsoft Excel 2007 を用いて実施した。また反応液中濃度は、Hallifax 及び Houston 提唱の方法 (Hallifax and Houston, 2006) により算出した肝ミクロソーム非結合型分率 ($f_{u, mic}$) で補正した。得られた各 CL_{int} 値を **Table III-1** に示す..

Table III-1. Values of hepatic intrinsic clearance (CL_{int}) for the metabolism of aripiprazole and dehydroaripiprazole obtained from *in vitro* experiments using mouse and human liver microsomes.

Species	$CL_{int, A, all}$ (mL/min/kg)	$CL_{int, A to DA}$ (mL/min/kg)	$CL_{int, DA}$ (mL/min/kg)
Mouse	253	78.9	272
Human	157	72.8	135

III-2-iii) 簡易生理学的薬物動態モデルによるアリピプラゾール及び活性代謝物のマウスにおける体内動態解析

アリピプラゾール並びに活性代謝物デヒドロアリピプラゾールの各種マウスにおける血漿中及び脳内濃度に関する薬物動態解析は、NONMEM ver.7.2 (ICON 社) を用いて実施した。はじめに、Fig. III-1 に示すように、正常マウスにアリピプラゾールを単回経口投与したときのアリピプラゾールの消化管から肝臓への移行、またアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの肝臓での代謝及び肝臓から全身循環への移行、更に脳への移行及び脳から全身循環への戻りを、脳からの能動的汲み出し過程を含めて表した簡易生理学的薬物動態モデル (simplified PBPK model) を構築した。なお、本モデルの構築においては、既報の薬物動態モデル (Yamazaki et al., 2010) を参考とした。各コンパートメントにおける薬物の物質収支を式 (4) ~ (10) に示す。

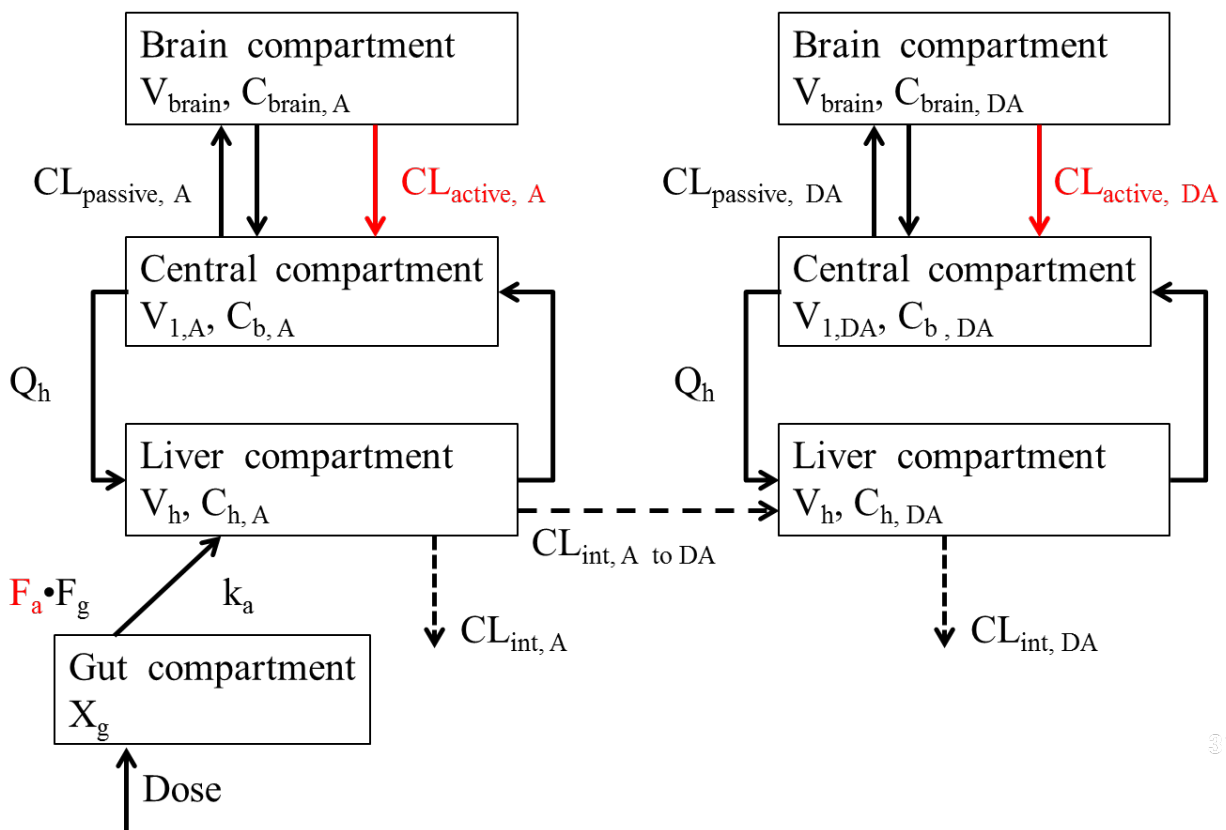


Fig. III-1. Simplified PBPK model for aripiprazole and dehydroaripiprazole in plasma and brain after single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) to mice.

$$\frac{dX_g(t)}{dt} = -k_a \cdot X_g(t) \quad \text{where at } t = 0, X_g(0) = \text{Dose} \cdot F_a \cdot F_g \quad (4)$$

$$\begin{aligned} V_h \cdot \frac{dC_{h,A}}{dt} \\ = Q_h \cdot C_{b,A} - \frac{Q_h \cdot C_{h,A} \cdot R_{b,A}}{K_{p,h,A}} + k_a \cdot X_g - (\text{CL}_{\text{int},A} + \text{CL}_{\text{int},AD}) \cdot \frac{C_{h,A}}{K_{p,h,A}} \cdot f_{p,A} \end{aligned} \quad (5)$$

$$\begin{aligned} V_{l,A} \cdot \frac{dC_{b,A}}{dt} \\ = \frac{Q_h \cdot C_{h,A} \cdot R_{b,A}}{K_{p,h,A}} - Q_h \cdot C_{b,A} - \text{CL}_{\text{passive},A} \cdot \frac{f_{p,A}}{R_{b,A}} \cdot C_{b,A} \\ + (\text{CL}_{\text{passive},A} + \text{CL}_{\text{active},A}) \cdot f_{br,A} \cdot C_{br,A} \end{aligned} \quad (6)$$

$$V_{br} \cdot \frac{dC_{br,A}}{dt} = \text{CL}_{\text{passive},A} \cdot \frac{f_{p,A}}{R_{b,A}} \cdot C_{b,A} - (\text{CL}_{\text{passive},A} + \text{CL}_{\text{active},A}) \cdot f_{br,A} \cdot C_{br,A} \quad (7)$$

$$\begin{aligned} V_h \cdot \frac{dC_{h,DA}}{dt} \\ = Q_h \cdot C_{b,DA} - \frac{Q_h \cdot C_{h,DA} \cdot R_{b,DA}}{K_{p,h,DA}} + \text{CL}_{\text{int},AD} \cdot \frac{C_{h,A}}{K_{p,h,A}} \cdot f_{p,A} - \text{CL}_{\text{int},DA} \cdot \frac{C_{h,DA}}{K_{p,h,DA}} \cdot f_{p,DA} \end{aligned} \quad (8)$$

$$\begin{aligned} V_{l,DA} \cdot \frac{dC_{b,DA}}{dt} \\ = \frac{Q_h \cdot C_{h,DA} \cdot R_{b,DA}}{K_{p,h,DA}} - Q_h \cdot C_{b,DA} - \text{CL}_{\text{passive},DA} \cdot \frac{f_{p,DA}}{R_{b,DA}} \cdot C_{b,DA} \\ + (\text{CL}_{\text{passive},DA} + \text{CL}_{\text{active},DA}) \cdot f_{br,DA} \cdot C_{br,DA} \end{aligned} \quad (9)$$

$$V_{br} \cdot \frac{dC_{br,DA}}{dt} = \text{CL}_{\text{passive},DA} \cdot \frac{f_{p,DA}}{R_{b,DA}} \cdot C_{b,DA} - (\text{CL}_{\text{passive},DA} + \text{CL}_{\text{active},DA}) \cdot f_{br,DA} \cdot C_{br,DA} \quad (10)$$

Fig. III-1 及び式 (4) ~ (10)中の各パラメータは以下を表す。

- $X_g(t)$: 時間 t における消化管コンパートメント内の薬物量
 F_a : アリピプラゾールの経口吸収率
 F_g : アリピプラゾールの消化管（小腸）でのアベイラビリティ

k_a :	アリピプラゾールの吸収速度定数
V_h :	肝臓容積
Q_h :	肝血流量
C_h :	肝臓内薬物濃度 (添え字 A 及び DA はそれぞれアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールを示す ; 以下同様)
C_b :	血液中薬物濃度
$K_{p,h}$:	肝臓-血漿中濃度比
R_b :	血液-血漿中濃度比
f_p :	血漿中非結合型分率
CL_{int} :	肝代謝固有クリアランス なお, $CL_{int,A}$ は, アリピプラゾールの肝代謝の全固有クリアランス $CL_{int,A,all}$ から, デヒドロアリピプラゾールの生成固有クリアランス $CL_{int,A to DA}$ を差し引いたクリアランスとして定義.
V_1	セントラルコンパートメントの分布容積
f_h :	肝臓中非結合型分率
C_{br} :	脳内薬物濃度
$CL_{passive}$:	セントラルコンパートメントと脳コンパートメント間の見かけの受動拡散クリアランス
CL_{active} :	脳コンパートメントからセントラルコンパートメントへの見かけの能動輸送クリアランス
V_{br}	脳コンパートメントの容積

k_a の初期値は, アリピプラゾールを正常マウスに単回経口投与したときの血漿中アリピプラゾールを, 1 次吸収過程を含む 1-コンパートメントモデルにあてはめて算出した (Phoenix WinNonlin ver. 6.2 を使用). Q_h 及び V_h は文献からの報告値 (花野ら, 医薬品開発のためのファーマコキネティクス実験法, 1985) で固定した. またマウスとヒトとでアリピプラゾールの f_p に種差は無いと仮定し, f_p 値はヒトでの報告値 (エビリファイ錠イン

タビューフォーム改訂第 15 版, 2013) で固定した. R_b 値は両化合物とも 1 と仮定した. 更に, ACD/LogP calculator (Advanced Chemistry Development Inc.) を用いて算出した cLogP 値は, アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールでそれぞれほぼ同等 (3.46 及び 3.23) であり, 両化合物の物性に大きな差はないと考えられたことから, デヒドロアリピプラゾールの f_p 値は, アリピプラゾールと同一の値とした. またアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの $K_{p,h}$ は, 以下の式 (11) より算出した (Poulin and Theil, 2002).

$$K_{p,h} = \frac{P \cdot 0.02289 + 0.72621}{P \cdot 0.00396 + 0.960581} \cdot \frac{f_p}{f_h} \quad (11)$$

ここで, P はオクタノール-水分配係数を, また f_h は肝臓中非結合型分率を表す. なお, P 値は, 上述の cLogP 値より, 以下の式 (12) を用いて算出した.

$$P = 10^{\log P} \quad (12)$$

f_h はアルブミン, グロブリン及びリポプロテインの組織液-血漿中濃度比が全て 0.5 と仮定して, 以下の式 (13) より算出した (Yamazaki et al., 2010).

$$\frac{f_p}{f_h} = 0.5 \cdot (f_p + 1) \quad (13)$$

また, $V_{1,A}$ (アリピプラゾールのセントラルコンパートメントの容積) の初期値は, 静脈内投与したときの血漿中アリピプラゾール濃度からモデル非依存的な方法で算出した Vd_{ss} 値 (Table II-1A) より, 以下の式 (14) を用いて算出した.

$$V_1 = Vd_{ss} - V_h \cdot \frac{K_{p,h} \cdot F_h}{R_b} \quad (14)$$

ここで F_h は, 肝アベイラビリティを表す. また絶対バイオアベイラビリティ (F) は以下の式 (15) で表される.

$$F = F_a \cdot F_g \cdot F_h \quad (15)$$

正常マウスと P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスとで, アリピプラゾールの各肝代謝固有クリアランスに差が無く, また P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにおける $F_a \cdot F_g$ は 1 であると仮定 ($F_g = 1$ も仮定) し, 式 (15) より, P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスの F 値 (Table II-2; 0.84) をマウスの F_h として固定した. 更にこの F_h 値と式 (15) 及び正常マウスの F 値 (Table II-2; 0.64)

より、正常マウスの F_a 値を算出し固定した ($F_a = 0.76$)。なお、 $V_{1,DA}$ (デヒドロアリピプラゾールのセントラルコンパートメントの容積) の初期値は、 $V_{1,A}$ と同一とした。

$CL_{int,A}$, $CL_{int,A \text{ to } DA}$ 及び $CL_{int,DA}$ の初期値は、以下に示す手順に従って算出した。はじめに、アリピプラゾールのマウスにおける全身クリアランス (CL_{tot}) を肝クリアランス (CL_h) と等しいと仮定し、以下の式 (16) より、 $CL_{int,A,all}$ を算出した。

$$CL_{int,A,all}' = \frac{R_b}{f_p} \cdot \frac{Q_h \cdot CL_h}{Q_h - CL_h} \quad (16)$$

この値と、III-2-ii)-b で *in vitro* 試験より算出した $CL_{int,A,all}$ 値から、 $CL_{int,A,all}$ に関する *in vivo/in vitro* 比を算出した ($CL_{int,A,all}$ の *in vivo / in vitro* 比 : 6.8)。この比を、III-2-ii)-b で算出した $CL_{int,A \text{ to } DA}$ 及び $CL_{int,DA}$ に乗じることで、 $CL_{int,A \text{ to } DA}$ 及び $CL_{int,DA}$ の初期値とした。更に、ここで得られた $CL_{int,A \text{ to } DA}$ の初期値を、上述の $CL_{int,A,all}$ から差し引くことにより $CL_{int,A}$ の初期値とした。

これらパラメータの初期値及び固定値を用いて、最初に正常マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにアリピプラゾールを経口投与したときの血漿中アリピプラゾール濃度を、上述の簡易生理学的薬物動態モデルから脳コンパートメントを除いたモデルにあてはめ、 ka , $V_{1,A}$, $CL_{int,A}$ 及び $CL_{int,A \text{ to } DA}$ を算出した。次に、これらパラメータを固定したうえで、脳コンパートメントを含む簡易生理学的薬物動態モデルに脳内アリピプラゾール濃度推移をあてはめて、 $CL_{passive,A}$ 及び $CL_{active,A}$ を算出した。更に、これら算出値を初期値として、 ka , $V_{1,A}$, $CL_{int,A}$, $CL_{int,A \text{ to } DA}$, $CL_{passive,A}$ 及び $CL_{active,A}$ の最終推定値を同時あてはめにより得た。これらのアリピプラゾールに関する各パラメータ推定値を固定した上で、今度はデヒドロアリピプラゾールに関する各パラメータ、即ち $V_{1,DA}$, $CL_{int,DA}$, $CL_{passive,DA}$ 及び $CL_{active,DA}$ を、血漿中及び脳内デヒドロアリピプラゾール濃度実測値を用い、アリピプラゾールと同様のあてはめ計算により算出した。なお、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスと正常マウスとの動態の違いは、吸収過程及び脳からの能動的汲み出しのみで生じていると仮定し、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスのデータ解析においては、 $F_a \cdot F_g = 1$ 、また $CL_{active,A}$ 及び $CL_{active,DA} = 0$ とした上で、残りのパラメータ値は正常マウスと同一の値が得られる形であてはめ計算を行った。また、 f_{br} 及び V_{br} 値は報告値 (Di et al., 2011; 花野ら, 医薬品開発のためのファーマコ

キネティクス実験法, 1985) で固定した. デヒドロアリピプラゾールの f_{br} 値は, アリピプラゾールと同一とした. 各パラメータの固定値及び算出結果を **Table III-2.**に示す.

Table III-2. Parameters used for the mouse PBPK model.

	Symbol	Aripiprazole (ARP)	Dehydroaripiprazole (DA)	Unit
Octanol-water partition coefficient	logP	3.46	3.23	
Hepatic intrinsic clearance (converted from ARP to DA)	$CL_{int, A \text{ to DA}}$	70500	-	mL/h/kg
Hepatic intrinsic clearance (elimination of ARP; not converted to DA)	$CL_{int,A}$	58600	-	mL/h/kg
Hepatic intrinsic clearance (elimination of DA)	$CL_{int,DA}$	-	125000	mL/h/kg
Liver-plasma concentration ratio	$K_{p,h}$	2.7	2.6	
Plasma unbound fraction	$f_{u,p}$	0.008	0.008*	
Brain unbound fraction	$f_{u,brain}$	0.001	0.001*	
Ratio of the blood to plasma concentration	R_b	1*	1*	
Volume of systemic circulation	V_l	5150	3130	mL/kg
Hepatic volume	V_h	59.1	59.1	mL/kg
Hepatic blood flow rate of systemic circulation to the tissue compartment	Q_h	4908	4908	mL/h/kg
Brain volume	V_{brain}	15.2	15.2	mL/kg
Absorption rate constant	k_a	5.03	-	h^{-1}
Clearance (passive)	$CL_{passive}$	59400	14300	mL/h/kg
Clearance (active; P-gp)	CL_{active}	157000	146000	mL/h/kg
Fraction absorbed intestinal availability	$F_a \cdot F_g$	0.76	0	
Dose	Dose	2	-	mg/kg

*: Assumed values.

得られた各パラメータの最終推定値を用いて, アリピプラゾールを正常マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスに経口投与後の血漿及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾール濃度推移をシミュレーションし, 実測値と比較した. これら比較結果の図示化には, R ver. 3.0.1 (無料ソフトウェア) を使用した.

III-2-iv) ヒトの血漿中アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾール濃度に関する薬物動態解析

前項で構築した簡易生理学的薬物動態モデルを用いて、ヒトの血漿中アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの体内動態を記述できるか否かを確認した。はじめに、健康成人にアリピプラゾールを 15 mg 単回経口投与したときの血漿中アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾール濃度の文献報告値 (Mallikaarjuna et al, 2008 ; 濃度推移のグラフのみ表示) を、Simple Digitizer ver. 3.1.1 (無料ソフトウェア) を用いて数値化した。ここで得られた血漿中濃度推移を、III-2-iii) で構築した簡易生理学的薬物動態モデルを用いてあてはめ、 k_a 、 $V_{1,A}$ 、 $V_{1,DA}$ 、 $CL_{int,A}$ 、 $CL_{int,A to DA}$ 及び $CL_{int,DA}$ を算出した。 k_a の初期値は、報告値 (Kim et al., 2008) を用いた。 $V_{1,A}$ の初期値は、 Vd_{ss} の報告値 [AbilifyTM (aripiprazole) tablets prescribing information (online)] から、正常マウスと同一の手法により算出した。ヒトにおける尿中未変化体 (アリピプラゾール) 排泄率が 1%未満である (エビリファイ錠インタビューフォーム改訂第 15 版, 2013) ことから、マウス同様、全身クリアランス (CL_{tot}) は肝クリアランス (CL_h) と等しいとし、更にヒトにおける絶対バイオアベイラビリティ (F) 値 (0.87 ; 同インタビューフォーム) 及び経口クリアランス (CL_{tot}/F) 値 (4.23 L/h ; 同インタビューフォーム) より算出した CL_{tot} 値を用い、 F_h を以下の式 (17) より算出した。

$$F_h = 1 - \frac{CL_h}{Q_h} \quad (17)$$

ここで得られた F_h 値、また F 値と $F_g = 1$ の仮定より、式 (15) を用いて F_a 値を算出し固定値とした。 $CL_{int,A}$ 、 $CL_{int,A to DA}$ 及び $CL_{int,DA}$ の初期値は、マウスと同一の手法により算出した ($CL_{int,A,all}$ の *in vivo* / *in vitro* 比 : 0.55)。これらパラメータの初期値及び固定値を用いて、簡易生理学的薬物動態モデルへのあてはめ計算により、 k_a 、 $V_{1,A}$ 、 $V_{1,DA}$ 、 $CL_{int,A}$ 、 $CL_{int,A to DA}$ 及び $CL_{int,DA}$ の最終推定値を得た。各パラメータの固定値及び算出結果を **Table III-3** に示す。

Table III-3. Parameters used for the human PBPK model.

	Symbol	Aripiprazole (ARP)	Dehydroaripiprazole (DA)	Unit
Octanol-water partition coefficient	logP	3.46	3.23	
Hepatic intrinsic clearance (converted from ARP to DA)	CL _{int, A to DA}	168	-	L/h
Hepatic intrinsic clearance (elimination of ARP; not converted to DA)	CL _{int,A}	145	-	L/h
Hepatic intrinsic clearance (elimination of DA)	CL _{int,DA}	-	454	L/h
Liver-plasma concentration ratio	K _{p,h}	2.7	2.6	
Plasma unbound fraction	f _{u,p}	0.008	0.008*	
Brain unbound fraction	f _{u,brain}	0.001	0.001*	
Ratio of the blood to plasma concentration	R _b	1*	1*	
Volume of systemic circulation	V _l	456	207	L
Hepatic volume	V _h	1.7	1.7	L
Hepatic blood flow rate of systemic circulation to the tissue compartment	Q _h	86.9	86.9	L/h
Brain volume	V _{brain}	1.5	1.5	L
Absorption rate constant	k _a	0.853	-	h ⁻¹
Clearance (passive)	CL _{passive}	4158*	1001*	L/h
Clearance (active; P-gp)	CL _{active}	10990*	10020*	L/h
Fraction absorbed intestinal availability	F _a ·F _g	0.9	-	
Dose	Dose	15	-	mg

*: Assumed values.

全てのパラメータの最終推定値を用いてヒトにアリピプラゾールを単回経口投与後の血漿中アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾール濃度推移をシミュレーションし、実測値と比較すると共に、脳内の両化合物濃度推移のシミュレーションも実施した。なお、CL_{passive} 及び CL_{active} の値はマウスと同一とした（ヒトの平均体重を 70 kg として、体重換算した値を使用した）。

更に、構築した簡易生理学的薬物動態モデルを用いて、種々状況下でのヒトの血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの濃度推移をシミュレーションした。はじめに、アリピプラゾールの使用例として、統合失調症患者に 4 週間、本剤を以下の **Fig. III-2** に示すスケジュールで増減しながら 1 日 1 回反復投与した場合を想定し、併用薬が無く、P-糖蛋白機能が正常な統合失調症患者における本条件下での血漿中及び脳

内濃度推移をシミュレーションした。

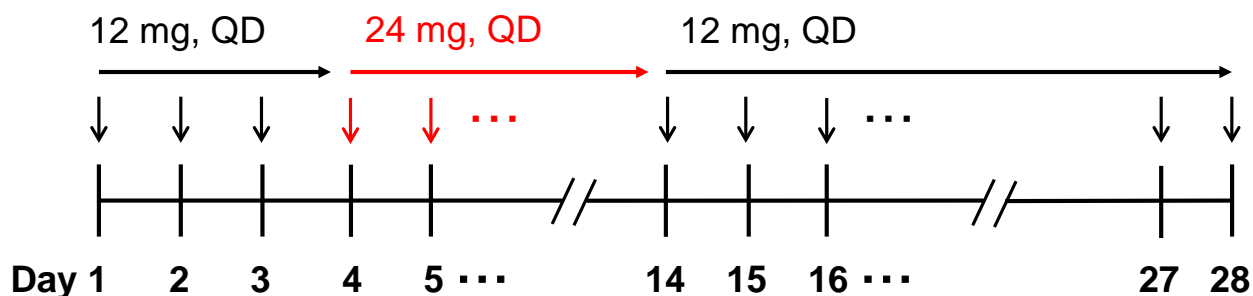


Fig. III-2. Hypothetical dosing regimens of aripiprazole for schizophrenia treatment

その上で、併用薬によるアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの肝代謝阻害により全ての代謝過程の CL_{int} 値が通常時の 1/5 に低下している場合、更に遺伝多型等で P-糖蛋白機能が通常時の 1/5 に低下している患者にこの併用薬を投与した場合（全ての代謝過程の CL_{int} 値が通常時の 1/5 に低下）における血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの濃度推移をシミュレーションし、上述の通常状態での濃度推移と比較した。全てのシミュレーションは、NONMEM ver.7.2 (ICON 社) を用いて行った。またシミュレーション結果の図示化には、R ver. 3.0.1 (無料ソフトウェア) を使用した。

第3節 結果

III-3-i) アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの相互作用薬としての相互作用可能性評価

アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの相互作用薬としての相互作用可能性の評価結果を **Table III-4** に示す. アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールに関し, 最大非結合型濃度 ($[I]_{1, free}$) と P-糖蛋白或いは BCRP に対する両化合物の IC_{50} 値の比 ($[I]_{1, free} / IC_{50}$) を算出した結果, いずれも 0.01 未満であり, International Transporter Consortium (ITC) により提唱された肝臓, 腎臓及び脳に発現しているこれらトランスポーターを介した相互作用可能性の基準値 (> 0.1) より大幅に小さい値であった. 本結果から, アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールが, 肝臓, 腎臓及び脳に発現している P-糖蛋白及び BCRP を介してこれらの基質となる薬剤と直接相互作用を起こす可能性は低いと考えられた. 一方, 小腸管腔濃度 ($[I]_2$) と P-糖蛋白或いは BCRP に対するアリピプラゾールの IC_{50} 値の比は, いずれも ITC 提唱の基準値 (> 10) より高い値であった. 更に, Tachibana らにより提唱された DIN 値を基準とした比較においても, アリピプラゾールの DIN 値は, P-糖蛋白を介した相互作用可能性の基準 ($> 27.9 L$) を上回る値であった. 以上の結果から, アリピプラゾールが, 小腸に発現している P-糖蛋白あるいは BCRP を阻害することにより, これらの基質となる薬剤の体内動態に影響を及ぼす可能性が示唆された.

一方, 検討した他の非定型抗精神病薬 (リスペリドン, パリペリドン, オランザピン及びジプラシドン) についても, 各基準に基づく評価を行った結果, 全ての化合物について, $[I]_{1, free} / IC_{50}$, $[I]_2 / IC_{50}$ 及び DIN のいずれも基準値未満であった. 本結果から, これらの非定型抗精神病薬が, P-糖蛋白あるいは BCRP を介してその基質となる薬剤の体内動態に影響を及ぼす可能性は低いと推察された.

Table III-4. Values of MDR1 (P-glycoprotein)- or BCRP-mediated DDI indices for aripiprazole, dehydroaripiprazole, and other atypical antipsychotics.

Compound	Transporter	IC ₅₀ (μM)	[I] _{1,total} /IC ₅₀	[I] _{1,free} /IC ₅₀	[I] ₂ /IC ₅₀	DIN (L)
Aripiprazole	MDR1	1.2	0.93	0.0093	215	54
	BCRP	3.5	0.33	0.0033	77	19
Dehydroaripiprazole	MDR1	1.3	0.19	0.0019	-	-
	BCRP	0.52	0.46	0.0047	-	-
Risperidone	MDR1	27	< 0.001	< 0.001	1.1	0.27
Paliperidone	MDR1	85	< 0.001	< 0.001	0.33	0.082
Olanzapine	MDR1	-	< 0.001*	< 0.001*	< 1.3*	< 0.32*
Ziprasidone	MDR1	-	< 0.0015*	< 0.001*	< 1.7*	< 0.43*

*: The values were calculated using IC₅₀ of 100 μM.

III-3-ii) アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの被相互作用薬としての相互作用可能性評価

はじめに、P-糖蛋白の阻害剤であるラパチニブ、ドロネダロン、ラノラジン、ダルナビア、トルバプタン、エトラビリン及びマラビロックの薬物間相互作用可能性の基準値と、実際にこれら阻害剤をP-糖蛋白の典型的基質であるジゴキシンの併用したときのジゴキシンの暴露量変化に関する文献報告 (Agarawal et al, 2013) からの抜粋を **Table III-5** に示す。いずれの薬剤についても、 $[I]_{1,free}/IC_{50}$ は 0.1 より小さい値であることから、これらの薬剤が肝臓、腎臓及び脳 (BBB) に発現する P-糖蛋白を介してジゴキシンの体内動態に影響を及ぼした可能性は低いと考えられた。同様に、これらの P-糖蛋白との併用により、肝臓、腎臓及び脳 (BBB) に発現する P-糖蛋白を介してアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの体内動態が影響を受ける可能性も低いと推察された。

一方、上記の薬剤のいずれにおいても、 $[I]_2/IC_{50}$ は基準値 (10) を上回る値であり、特にジゴキシンの動態に実際に影響を及ぼしたラパチニブ、ドロネダロン、ラノラジン、ダルナビア及びトルバプタンについては、100 を超える値を示した。以上より、これらの P-糖蛋白阻害剤は、主として消化管での P-糖蛋白阻害により、ジゴキシンの動態に影響を与えている可能性が示唆された。アリピプラゾールのヒトにおける絶対バイオアベイラビリティ (F) は 87% (エビリファイ錠インタビューフォーム改訂第 15 版, 2013) であり、吸収

率 (F_a) は更に高いと推察される。実際に、本研究における薬物動態解析において、ヒトにおけるアリピプラゾールの F_a の推定値は 0.9 であった (Table III-3 ; $F_g = 1$ と仮定) ことから、消化管における P-糖蛋白や BCRP が併用薬により完全に阻害された場合においても、アリピプラゾールの F_a に与える影響は無視しうる程度と考えられた。

以上より、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの体内動態が、P-糖蛋白或いは BCRP 阻害剤により影響を受ける可能性は低いと推察された。

Table III-5. Values of MDR1 (P-glycoprotein; P-gp)-mediated DDI indices for typical P-gp inhibitors and their effect on the exposure to digoxin (typical P-gp substrate).

Drugs	$[I]_{1,total}/IC_{50}$	$[I]_{1,free}/IC_{50}$	$[I]_2/IC_{50}$	Mean % change in digoxin exposure	
				C_{max} (% change)	AUC (% change)
Lapatinib	1	< 0.1	1355	NR	180
Doronedarone	0.09	< 0.1	1349	NR	150
Ranolazine	0.04	< 0.1	2987	46	60
Darunavir	0.33	< 0.1	146	15	58
Tolvaptan	0.23	< 0.1	109	30	20
Etravirine	0.04	< 0.1	76	19	18
Maraviroc	0.01	< 0.1	13	4	0.5

Agarawal et al, J Clin Pharmacol. 2013 53(2):228-33.に記載の table より抜粋。一部パラメータの表記を改編

III-3-iii) 簡易生理学的薬物動態モデルを用いたアリピプラゾール及び活性代謝物のマウスにおける体内動態解析

正常マウスにアリピプラゾールを 2 mg/kg 単回経口投与したときの血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾール濃度推移を, Fig で示した簡易生理学的薬物動態モデルで良好に再現できるか否かを確認した。モデルへのあてはめ計算及び両化合物の物性値から算出したパラメータ, また種々文献報告値を元に固定したパラメータを用いて簡易生理学的薬物動態モデルにより推定した血漿中及び脳内濃度推移と実測値との比較結果を Fig. III-3 に示す。モデルによる推定値は, 実測値を良好に再現した。

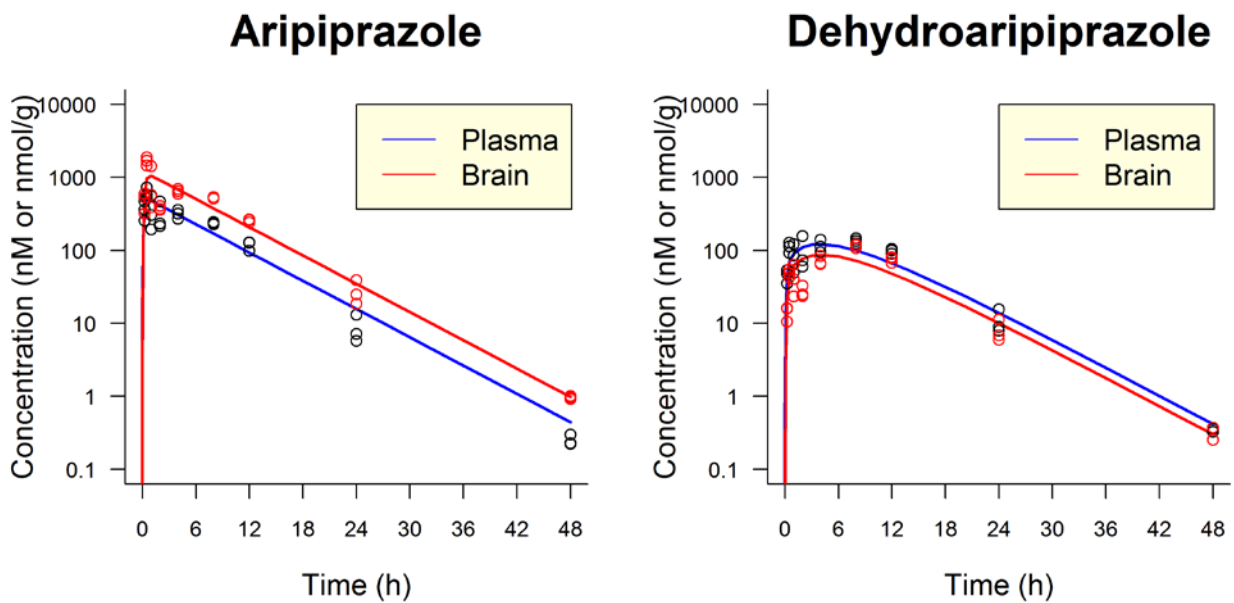


Fig. III-3. Predicted and observed time-profiles of aripiprazole and dehydroaripiprazole in plasma and brain after a single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) to normal mice.

次に、吸収率 (F_a) 及び脳からの薬物トランスポーターによる排出を記述する見かけの能動輸送クリアランス (CL_{active}) 値をそれぞれ 1 及び 0 mL/h/kg とした以外は全て正常マウスと共通のパラメータ値を用いて、P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにおけるアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの血漿及び脳内濃度推移のシミュレーションを実施した (**Fig. III-4**)。両化合物のモデルによる血漿及び脳内濃度推定値は、実測値を良好に再現した。これらの結果から、構築した簡易生理学的薬物動態モデルにより、肝臓の各代謝過程のみならず、消化管及び脳に発現する薬物トランスポーターの寄与も含めてアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの体内動態を記述可能であると考えられた。

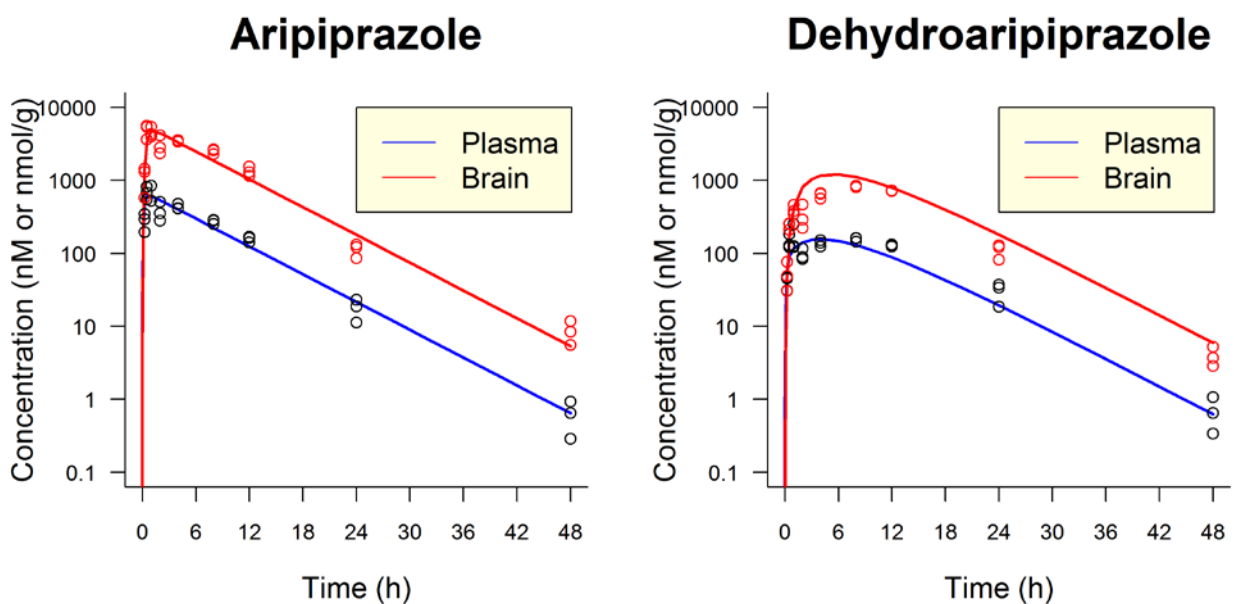


Fig. III-4. Predicted and observed time-profiles of aripiprazole and dehydroaripiprazole in plasma and brain after a single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) to Mdr1a/1b/Bcrp knockout mice.

III-3-iv) ヒトにおけるアリピプラゾール及び活性代謝物の血漿中及び脳内濃度シミュレーション

健康成人にアリピプラゾールを 15 mg 単回経口投与したときの血漿中アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾール濃度推移に関し、マウスと共通の簡易生理学的薬物動態モデルで記述可能か否かを確認した。モデルからのアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの血漿中及び脳内濃度推定値、及び両化合物の血漿中濃度の実測値との比較結果を **Fig. III-5** に示す。モデルからの血漿中濃度推定値は、両化合物とも実測値を良好に再現した。本結果から、マウス同様、ヒトにおいても構築したモデルで、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの体内動態を良好に記述できると考えられた。

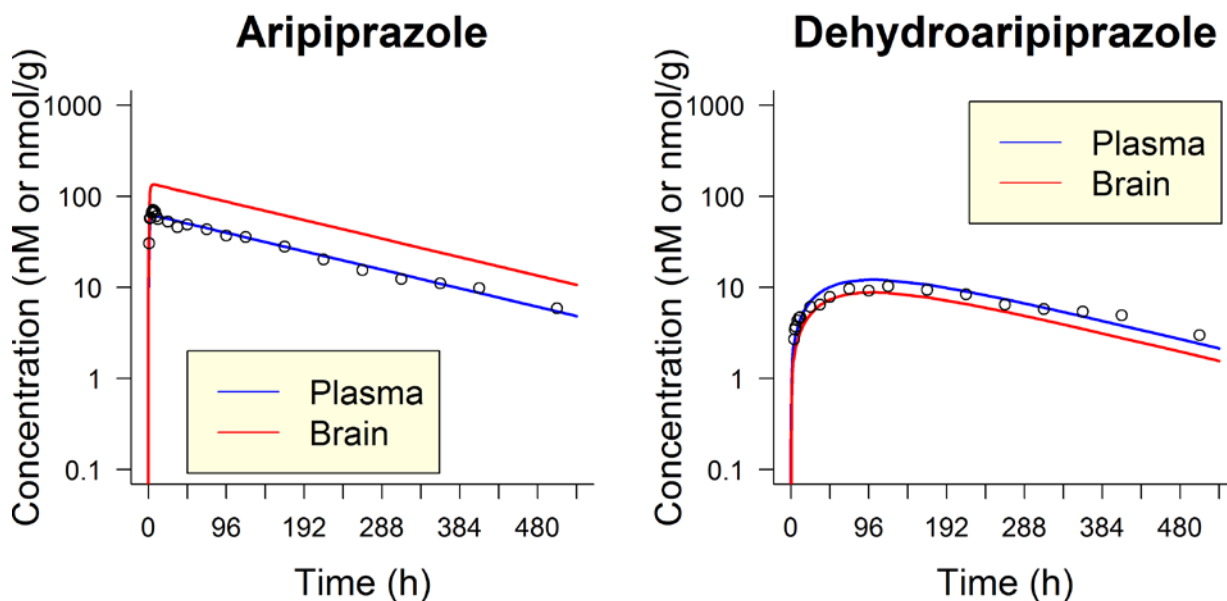


Fig. III-5. Predicted and observed time-profiles of aripiprazole and dehydroaripiprazole in plasma and brain after a single oral administration of aripiprazole (15 mg/man) to healthy volunteers.

次に、本モデルを用い、P-糖蛋白の機能が欠損している患者において肝臓代謝阻害が生じた場合の血漿中及び脳内濃度推移をシミュレーションした。統合失調症患者に対し、投与開始から3日目までは12 mg/man、4日目より13日目までは24 mg/man、14日目以降は12 mg/manと、本剤を増減しながら1日1回反復投与した場合を想定し、通常状態（併用薬の影響なしの場合）、併用薬によるアリピプラゾールの肝のP450代謝阻害が生じている場合、更に遺伝多型等でP-糖蛋白の機能が低下している患者において肝のP450代謝阻害が生じている場合について、アリピプラゾールの血漿中濃度及び脳内濃度推移をシミュレーションした結果を**Fig. III-6**示す。なお、本アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの肝臓での各代謝クリアランス (CL_{int}) が、CYP3A4及びCYP2D6阻害剤との併用等により、通常の状態の1/5に低下していた場合、アリピプラゾールの血漿中濃度は、通常状態と比較し、投与4日目の投与前（初回投与後72時間）までは大きな違いはみとめられなかったものの、投与4日目の24 mgへの用量増加以降、差は増大し、投与28日目の投与後24時間において、通常状態の約3倍まで上昇していた。また、脳内濃度についても、血

漿中濃度と同程度の上昇を示した。一方、P-糖蛋白機能が低下している（ CL_{active} 値が通常時の 1/5 に低下している）患者で併用薬による代謝阻害が生じている（ CL_{int} 値が通常時の 1/5 に低下している）場合、血漿中濃度としては、P-糖蛋白機能が正常な患者と変わらないものの、脳内濃度は更に上昇し、投与 28 日目の投与後 24 時間（投与 29 日目の投与前）において、通常状態の約 7 倍まで上昇していた。

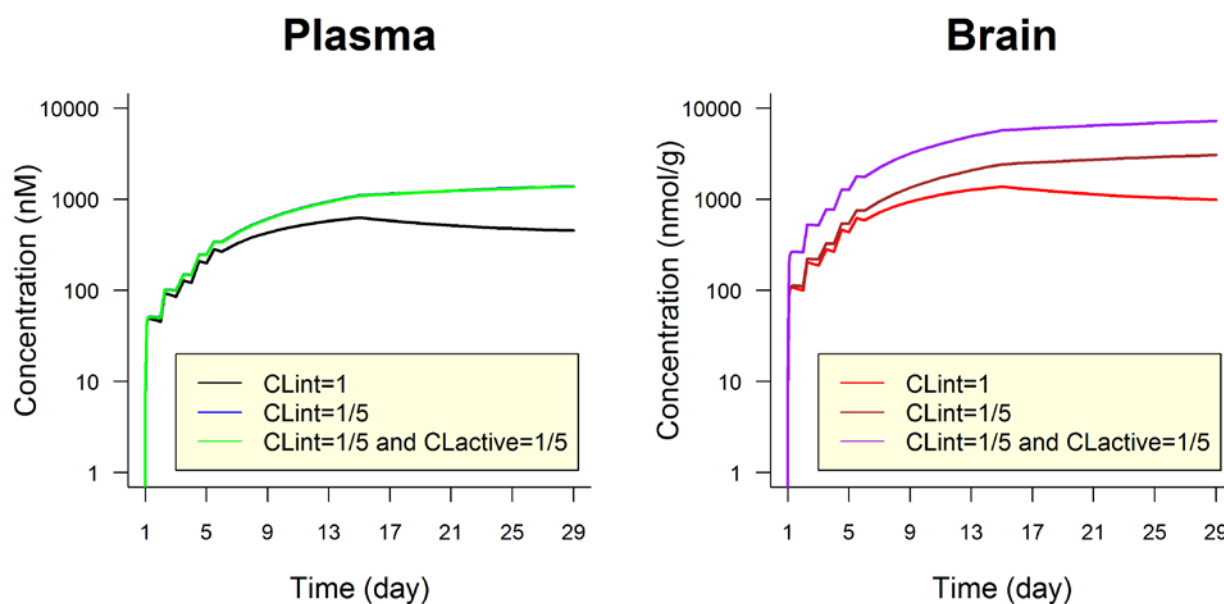


Fig. III-6. Simulated time-profiles of aripiprazole in plasma and brain after repeated oral administration (q.d.) of aripiprazole to schizophrenic patients.

同一の投与レジメで、アリピプラゾールを統合失調症患者 1 日 1 回反復投与したときのデヒドロアリピプラゾールの血漿中及び脳内濃度シミュレーションを実施した結果を **Fig. III-7** に示す。併用薬による代謝阻害のみが生じている患者において、血漿中デヒドロアリピプラゾール濃度は緩やかに上昇しながら、投与 20 日目まで通常時と比較し低い濃度で推移した後更に上昇し、投与 28 日目で通常時よりも若干高い値（約 2 倍）を示した。またアリピプラゾールと同様、脳内濃度推移も血漿中濃度と同様の推移を示した。一方、P-糖蛋白機能が低下している患者で併用薬による代謝阻害が生じている場合、血漿中濃度としては、P-糖蛋白機能が正常な患者と変わらないものの、脳内濃度は投与後 4 日目以降より通常時に比べ高い値を示しながら推移し、投与 28 日目の投与後 24 時間（投与 29 日目の投与

前)において、通常状態の約8倍に上昇していた。

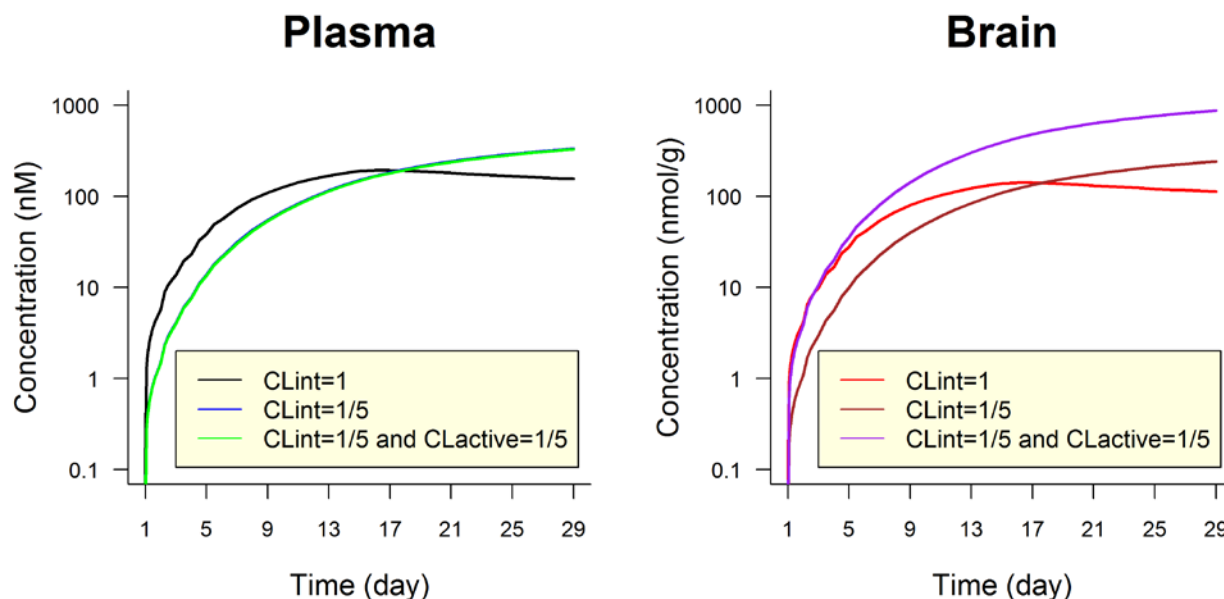


Fig. III-7. Simulated time-profiles of dehydroaripiprazole in plasma and brain after repeated oral administration (q.d.) of aripiprazole to schizophrenic patients.

以上の結果から、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの体内動態に関し、肝臓での P450 代謝阻害と P-糖蛋白の機能不全が同時に起こっている場合において、肝臓の代謝阻害で想定される血漿中濃度推移の上昇率以上に脳内濃度が上昇する可能性が示唆された。

第4節 考察

本章では、第1章及び第2章における検討結果を踏まえ、アリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの薬物トランスポーターを介した相互作用可能性について、総合的な評価を行った。

アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールに関し、P-糖蛋白或いは BCRP に対する $[I]_{1, free}/IC_{50}$ 値を算出した結果、いずれも 0.01 未満であり、International Transporter Consortium (ITC) により提唱された肝臓、腎臓及び脳における相互作用可能性の基準値 (>

0.1) より大幅に小さい値であった。ITC の基準は、薬物の組織中濃度と血漿中濃度が平衡に達している状況下において、各組織の非結合型濃度が血漿中非結合型濃度と等しく、各トランスポーターの機能への影響を規定するのは非結合型濃度であるとの考え方 (“free drug hypothesis”の考え方) に基づいていると考えられる。一方、米国食品医薬品局 (FDA) は、同様の相互作用の可能性の基準として、 $[I]_{1, \text{free}}/IC_{50}$ ではなく血漿中総濃度としての最大値 ($[I]_{1, \text{total}}$) と IC_{50} 値の比 ($[I]_{1, \text{total}}/IC_{50}$) の使用を提唱している (FDA Guidance for Industry, 2012)。これは、相互作用薬 (併用薬の動態に影響を及ぼす薬剤) の各組織における非結合型濃度が、通常の “free drug hypothesis” に従わず、薬物トランスポーターによる能動的取込み等により血漿中非結合型濃度よりも高くなる場合も想定しての基準と考えられる。しかしながら、アリピプラゾールについては、マウス及びラットにおける定常状態下での $K_{p, \text{uu, brain}}$ (非結合型濃度基準での脳/血漿中濃度比) がそれぞれ 0.19 及び 0.25 であるとの報告が成されている (Bundgaard et al., 2012)。これは物性が類似しているデヒドロアリピプラゾールにおいても同様と推察され、また本研究で得られた知見、即ちアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの脳移行が能動的汲み出しによって制御されていることとも合致している。従って、脳に発現している P-糖蛋白或いは BCRP を介してアリピプラゾールが他剤と相互作用を引き起こす可能性は、ITC の基準で考えても過大評価していると推察される。循環血から阻害薬が各組織に移行し、薬物トランスポーターを介した他剤との相互作用を引き起こすという意味においては、肝臓或いは腎臓における相互作用可能性についても、脳と同様と考えられることから、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールが、肝臓、腎臓及び脳に発現している P-糖蛋白及び BCRP を介してこれらの基質となる薬剤と直接相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。

一方、P-糖蛋白或いは BCRP に対するアリピプラゾールの $[I]_2/IC_{50}$ 値は、いずれも ITC 提唱の相互作用可能性の基準値 (10) より高い値であった。更に、Tachibana らにより提唱された DIN 値を基準とした比較においても、アリピプラゾールの DIN 値は、P-糖蛋白を介した相互作用可能性の基準 (27.9 L) を上回る値であった。これらの基準は、いずれもアリピプラゾールが小腸管腔内で完全に溶解している状況を仮定して設定されているが、一方

アリピプラゾールは、Biopharmaceutical Classification System (BCS ; Amidon et al., 1995) による分類では Class 2 (低溶解性で高膜透過性) に分類され (Lentz et al., 2007), 小腸管腔の生理学的 pH 範囲 (5.5~8.0) での溶解性は高くないと考えられることから, 上記条件が成立する状況が臨床上生じ得るかについては疑問も残る. 実際に, 難溶性化合物であるエトラビルン (抗 HIV ウィルス薬) での事例に基づき, $[I]_2 / IC_{50}$ を基準とした場合に相互作用可能性を過大評価する恐れがあることを指摘する報告もある (Agarwal et al., 2012). 一方, 難溶性で Class 2 に分類されるカルベジロール (高血圧・狭心症治療薬) は, P-糖蛋白阻害作用を有し, 併用時に基質であるジゴキシンの暴露を上昇させることが明らかとなっているが, そのときの $[I]_{1, total} / IC_{50}$ 及び $[I]_2 / IC_{50}$ 値はそれぞれ 0.032 及び 15 であることから, 主として小腸での P-糖蛋白阻害作用に起因した相互作用であると推察される (Fenner et al., 2009). 以上を総合的に考えると, アリピプラゾールが小腸に発現している P-糖蛋白あるいは BCRP を阻害することにより, これらの基質となる薬剤の体内動態に影響を及ぼす可能性は否定できないと考えられた.

アリピプラゾールの被相互作用薬としての相互作用可能性について, 各種の P-糖蛋白阻害剤と P-糖蛋白基質であるジゴキシンの相互作用結果と上述の各基準値 ($[I]_{1, free} / IC_{50}$ 及び $[I]_2 / IC_{50}$) を基に評価した. いずれの阻害剤についても, $[I]_{1, free} / IC_{50}$ は 0.1 より小さいを示す一方, $[I]_2 / IC_{50}$ は基準値 (10) を上回り, 特にジゴキシンの動態に実際に影響を及ぼした薬剤については 100 を超える値を示したことから, これら阻害剤が小腸における P-糖蛋白を介してジゴキシンの相互作用を引き起こしたと推察された. 一方, アリピプラゾールのヒトにおける F_a の推定値は 0.9 であったことから, 消化管における P-糖蛋白や BCRP が併用薬により完全に阻害された場合においても, アリピプラゾールの F_a に与える影響は無視しうる程度と考えられる. 以上より, アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの体内動態が, P-糖蛋白或いは BCRP 阻害剤により影響を受ける可能性は低いと推察された.

更に, P-糖蛋白の機能不全及び P450 代謝阻害が同時に生じた場合等, より複雑な状況下でのアリピプラゾールの被相互作用薬としての影響の受け方を明らかにするべく, 肝臓で

の各代謝過程及び脳からの薬物トランスポーターによる能動的汲み出し過程を含めた簡易的な生理学的薬物動態モデルを本研究にて新規に構築した。正常マウスにおける血漿中及び脳内濃度推移の実測値へのフィッティングにより得られた各パラメータを用いたシミュレーション結果から、本モデルにより、正常マウスだけでなく P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスの血漿及び脳内の両化合物濃度推移を良好に再現可能であることが確認された。また健康成人での血漿中濃度を用いた解析により、マウスと共通のモデルで両化合物の血漿中濃度推移を記述可能であることが確認されたことから、構築したモデルにより、P450 代謝及び P-糖蛋白両方の機能変化を反映した体内動態解析が可能となった。本モデルを用い、肝臓の P450 代謝及び P-糖蛋白のいずれも正常に機能している場合、併用薬によるアリピプラゾールの肝代謝阻害が生じている場合、更に遺伝多型等で脳の P-糖蛋白機能不全が生じている患者で併用薬による肝臓での代謝阻害が生じている場合も含めて、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの血漿中濃度及び脳内濃度推移をシミュレーションした結果、P450 代謝阻害と P-糖蛋白の機能不全が同時に起こっている場合、血漿中濃度の上昇率で想定される以上に脳内濃度が上昇する可能性が示唆された。

通常、臨床において薬物の効果及び安全性の判断基準としては血漿中濃度が用いられるが、本シミュレーション結果は、非定型抗精神病薬の標的部位である脳内濃度が、血漿中濃度のモニターだけでは捉えきれない変化を生じている可能性を示唆しており、非常に重要な知見であると考えられる。また患者の脳内濃度は、通常実測することはほぼ困難であり、PET 等の手法での測定においても、薬物の未変化体及び活性代謝物を分別して評価できないという問題がある。この意味でも、未変化体及び活性代謝物の標的臓器中濃度を分離評価した本シミュレーション結果の意義は大きい。本研究で確立された手法、即ち *in vitro* での肝代謝酵素や各種薬物トランスポーターに関する実験結果、*in silico* での計算値、また各薬物トランスポーターの遺伝子欠損動物を用いた動態試験結果を統合し、構築した生理学的薬物動態モデルで解析及びシミュレーションを実施することで、アリピプラゾールのみならず、他の非定型抗精神病薬や各種精神疾患を標的とした新薬候補化合物のヒト脳内濃度推移を、肝臓の代謝及び薬物トランスポーターの機能変化の種々状況を考慮して予測

することが可能と示唆された。しかしながら，本研究で構築した薬物動態モデルにおいては，未変化体及び代謝物の薬物トランスポーターによる輸送が互いに影響を及ぼすことが無いと仮定しているものの実際には競合し合う（共通の基質結合部位で輸送される）可能性もある等，まだ考慮が必要な点もある。今回構築した動態モデルをプロトタイプとし，上述の可能性等，想定されうるメカニズムの詳細検討を行い，必要に応じてその情報を組み込んだモデルの微修正を行うことにより，更に予測精度が向上すると考えられる。

第5節 まとめ

アリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾールの薬物トランスポーターを介した相互作用可能性について，総合的且つ定量的な評価を行った。

アリピプラゾールは，P-糖蛋白或いは BCRP の基質化合物の動態に影響を及ぼす可能性があると考えられた。一方，アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの体内動態が，P-糖蛋白或いは BCRP 阻害剤により影響を受ける可能性は低いと考えられた。

アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの血漿中及び脳内濃度推移を，肝臓での代謝過程及び脳内からの能動的汲みだし過程を含む簡易生理学的薬物動態モデルで良好に記述できた。本モデルにより，薬物代謝酵素阻害及びP-糖蛋白機能障害が組み合わさった場合等，臨床での治療上直面し得る様々な状況下での血漿中及び脳内濃度シミュレーションが可能となった。

総括

近年、統合失調症や双極性障害等の各種精神疾患における非定型抗精神病薬の使用が増加している。非定型抗精神病薬は、ドパミン D_2 受容体遮断作用以外に、 $5-HT_{2A}$ 受容体等へも親和性を有することから、従来型の定型抗精神病薬と比較し、 D_2 受容体遮断による陽性症状（妄想，異常な興奮等）のみならず陰性症状（意欲減退，自閉等）へも有効性を示し，且つ錐体外路症状等の副作用を生じにくいと考えられている。非定型抗精神病薬の薬物間相互作用の可能性については，主として薬物代謝酵素 cytochrome P450 (P450) への影響の観点から評価がなされているものの，消化管吸収や，脳を含む各種組織への薬物移行の制御因子である薬物トランスポーターを介した相互作用に関して，定量的に評価した報告例は少ない。非定型抗精神病薬も含めた精神疾患治療薬は他剤との併用で使用される例も多いため，薬物間相互作用の可能性の有無を，薬物代謝のみならず，薬物トランスポーターへの影響を含めて評価することは，非定型抗精神病薬の適正使用推進に大きく寄与すると考えられる。

アリピプラゾールは， D_2 受容体，また $5-HT_{1A}$ 及び $5-HT_{2A}$ 受容体に高い親和性を有する非定型抗精神病薬である。本薬剤は，特に脳内のドパミン作動性神経伝達の活動状態に応じて，作動薬或いは遮断薬としての作用を取り得ることから，より少ない副作用で効果を発現する画期的な非定型抗精神病薬として，その使用が急速に広まっている。本研究では，アリピプラゾールに関し，相互作用薬として他剤の薬物動態に影響を及ぼす可能性，また被相互作用薬として他剤併用時にその薬物動態が影響を受ける可能性について，主として薬物トランスポーターとの相互作用の観点から定量的な考察を行った上で，薬物代謝及び脳への薬物移行の観点含めて総合的に評価することを目的とした。

第 I 章では，薬物排出トランスポーターである P-糖蛋白の輸送活性に対するアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの影響について他の非定型抗精神病薬と比較検討し，更に BCRP 及び MRP4 の各輸送活性に対する影響について評価した。P-糖蛋白活性に対する影響をヒト P-糖蛋白発現 MDCKII 細胞を用いて評価した結果，アリピプラゾール及び活

性代謝物デヒドロアリピプラゾールは濃度依存的な阻害作用を示し、その IC_{50} 値はそれぞれ 1.2 及び 1.3 μM であった。同一の評価系で他の 4 種の非定型抗精神病薬の阻害作用を検討した結果、いずれも両化合物と比較し弱い作用か、或いは顕著な阻害作用を示さなかった。また、BCRP 及び MRP4 の各活性に対するアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの影響を、これらトランスポーターの発現膜ベシクルを用いて評価した結果、BCRP に対しては濃度依存的な阻害作用を示した (IC_{50} 値 : 3.5 及び 0.52 μM)。一方、MRP4 に対しては殆ど阻害作用を示さなかった。以上の結果から、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールは、他の非定型抗精神病薬と比較し、強い P-糖蛋白阻害作用を有すると考えられた。また、両化合物が BCRP に対しても、P-糖蛋白とほぼ同等の阻害作用を有することが明らかとなった。

第 II 章では、正常マウス、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにアリピプラゾールを 2 mg/kg で単回経口投与したときの血漿中及び脳内のアリピプラゾール並びにデヒドロアリピプラゾール濃度について、各マウス間で比較した。正常マウスにアリピプラゾールを投与したとき、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールのいずれも、脳内濃度は血漿中濃度とほぼ並行な推移を示した。また、BCRP 欠損マウス及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスに単回経口投与したとき、血漿中の両化合物濃度は、正常マウスと大きく異なる推移を示した。一方、脳内の両化合物濃度は、BCRP 欠損マウスで正常マウスとほぼ同様の推移を示したが、BCRP 欠損マウスにおいて、正常マウスより高濃度で推移した。以上の結果から、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの血漿中濃度は、P-糖蛋白及び BCRP の機能不全によってあまり大きな影響を受けないことが明らかとなった。一方、脳内濃度については、P-糖蛋白の機能不全により影響を受けるものの、BCRP の機能不全によっては、殆ど影響を受けないと推察された。

第 III 章では、アリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールについて、最高血漿中非結合型濃度 ($[I]_{1,free}$) 及び消化管腔内濃度 ($[I]_2$) と IC_{50} との比較に基づき、薬物間相互作用可能性を評価した。その結果、両化合物が、肝臓、腎臓、脳に発現している P-糖蛋白及び BCRP に対し、これらの基質となる薬剤と直接相互作用を起こす可能性は低いものの、

小腸管腔側の P-糖蛋白及び BCRP の阻害により，アリピプラゾールが他剤の薬物動態に影響を及ぼす可能性が示唆された．一方，小腸での P-糖蛋白阻害を考慮しても，併用薬がアリピプラゾール及びデヒドロアリピプラゾールの動態に影響を及ぼす可能性は低いと推察された．

さらに，P-糖蛋白の機能不全及び肝臓の P450 代謝阻害が同時に生じた場合等，より複雑なケースにおける本剤の被相互作用薬としての影響の受け方を明らかにするべく，ヒトに経口投与したときの脳内濃度推移を予測するための手法について検討した．脳からの能動的汲みだし過程及び肝臓での代謝過程を含む簡易的な生理学的薬物動態モデルを構築しシミュレーションした結果，正常及び P-糖蛋白/BCRP 欠損マウスにおける血漿中及び脳内のアリピプラゾールならびにデヒドロアリピプラゾールの濃度推移を良好に再現できた．本モデルを用い，P-糖蛋白の機能が欠損している患者において P450 代謝阻害が生じた場合の血漿中及び脳内濃度推移をシミュレーションした結果，血漿中濃度の上昇率で想定される以上に脳内濃度が上昇する可能性が示唆された．

以上，本研究によって，非定型抗精神病薬アリピプラゾールの薬物間相互作用の可能性が明確となるとともに，肝臓での代謝及び脳からの薬物トランスポーターによる能動的排出の各過程で体内動態が制御される既存並びに新規の抗精神病薬に関し，臨床での種々状況に応じた適切な投与設計を支援する統合的かつ定量的な薬物間相互作用の評価基盤を確立した．

本論文内容の誌上発表

本論文の内容は以下の原著論文に発表した。

Nagasaka Y, Oda K, Iwatsubo T, Kawamura A, and Usui T. (2012) Effects of aripiprazole and its active metabolite dehydroaripiprazole on the activities of drug efflux transporters expressed both in the intestine and at the blood-brain barrier. *Biopharm Drug Dispos.* **33**: 304-315.

Nagasaka Y, Sano T, Oda K, Kawamura A, and Usui T. (2014) Impact of genetic deficiencies of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein on pharmacokinetics of aripiprazole and dehydroaripiprazole. *Xenobiotica* **44**: 926-932.

謝辞

本論文は筆者がアステラス製薬株式会社代謝研究所及び創薬推進研究所において、非定型抗精神病薬の薬物動態学的相互作用に関する基盤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 渡邊泰男先生に謹んで深謝の意を表します。本論文の副査として、ご審査賜りました昭和薬科大学 衛生化学研究室教授 小椋康光先生および同大学 総合感染免疫学研究室教授 石戸聡先生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 山崎浩史先生には、論文作成にあたってご指導をいただくとともに、成果発表の機会を与えていただきました。謹んで深謝の意を表します。

昭和薬科大学 薬物動態学研究室講師 村山典恵先生には、論文作成にあたって有益なご助言とご支援をいただき、ここに深謝の意を表します。昭和薬科大学 薬物動態学研究室助教 清水万紀子先生並びに同研究室の皆様には、種々のご便宜をお計らい頂き、ここに感謝の意を表します。

本研究の遂行にあたり、終始ご指導及びご支援をいただいたアステラス製薬株式会社 代謝研究所 碓井孝志所長、並びに創薬推進研究所 寺村俊夫所長に厚く御礼申し上げます。

各種マウスを用いた動物実験の計画と実施に多大なるご尽力をいただいた積水メディカル株式会社 佐野友一氏に厚く御礼申し上げます。

アステラス製薬株式会社 代謝研究所 河村章生氏、岩坪隆史氏、宮下愛次氏、同 創薬推進研究所 田端健司氏には、研究遂行にあたって日頃より有益なご討論とご助言をいただき、心から御礼申し上げます。また、実験及び論文作成に際し多くの暖かいご協力、ご援助をいただきましたアステラス製薬株式会社 代謝研究所 藤田選子氏、織田和生氏及び田草川伸氏に感謝申し上げます。更に、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 代謝研究所並びに創薬推進研究所の諸氏に厚く御礼申し上げます。

最後に、私の研究に理解を示し、常に応援してくれた妻の勝美及び息子の友樹に深く感謝します。

参考文献

- Abla N, Chinn LW, Nakamura T, Liu L, Huang CC, Johns SJ, Kawamoto M, Stryke D, Taylor TR, Ferrin TE, Giacomini KM, and Kroetz DL (2008) The human multidrug resistance protein 4 (MRP4, ABCC4): functional analysis of a highly polymorphic gene. *J Pharmacol Exp Ther.* **325**: 859-868
- Agarwal S, Arya V, and Zhang L. (2012) Review of P-gp inhibition data in recently approved new drug applications: utility of the proposed $[I_1]/IC_{50}$ and $[I_2]/IC_{50}$ criteria in the P-gp decision tree. *J Clin Pharmacol.* **53**: 228-233
- Aweeka F, Jayesekara D, Horton M, Swan S, Lambrecht L, Wilner KD, Sherwood J, Anziano RJ, Smolarek TA, and Turncliff RZ (2000) The pharmacokinetics of ziprasidone in subjects with normal and impaired renal function. *Br J Clin Pharmacol.* **49(Suppl.1)**: 27S-33S.
- Boom S, Talluri K, Janssens L, Remmerie B, De Meulder M, Rossenu S, van Osselaer N, Eerdeken M, and Cleton A (2009) Single- and multiple-dose pharmacokinetics and dose proportionality of the psychotropic agent paliperidone extended release. *J Clin Pharmacol.* **49**: 1318-1330.
- Bristol-Myers Squibb Company and Otsuka America Pharmaceutical Inc. AbilifyTM (aripiprazole) tablets prescribing information [online]. Available from URL: <http://www.abilify.com>
- Broccatelli F, Carosati E, Neri A, Frosini M, Goracci L, Oprea TI, and Cruciani G. (2011) A novel approach for predicting P-glycoprotein (ABCB1) inhibition using molecular interaction fields. *J Med Chem.* **54**: 1740-1751.
- Bundgaard C, Jensen CJ, and Garmer M. (2012) Species comparison of in vivo P-glycoprotein-mediated brain efflux using *mdr1a*-deficient rats and mice. *Drug Metab Dispos.* **40**: 461-466. Choo EF, Leake B, Wandel C, Imamura H, Wood AJ, Wilkinson GR, and Kim RB. Pharmacological inhibition of P-glycoprotein transport enhances the distribution of HIV-1 protease inhibitors into brain and testes. *Drug Metab. Dispos.* 2000; **28**: 655-660.
- Burris KD, Molski TF, Xu C, Ryan E, Tottori K, Kikuchi T, Yocca FD, Molinoff PB. (2002) Aripiprazole, a novel antipsychotic, is a high-affinity partial agonist at human dopamine D₂ receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* **302**: 381-389.
- Callaghan JT, Bergstrom RF, Ptak LR, and Beasley CM. (1999) Olanzapine. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. *Clin Pharmacokinet.* **37**: 177-193.
- Choo EF, Leake B, Wandel C, Imamura H, Wood AJ, Wilkinson GR, and Kim RB. (2000) Pharmacological inhibition of P-glycoprotein transport enhances the distribution of HIV-1 protease inhibitors into brain and testes. *Drug Metab. Dispos.* **28**: 655-660.
- Citrome L, Macher JP, Salazar DE, Mallikaarjun S, and Boulton DW. (2007) Pharmacokinetics of aripiprazole and concomitant carbamazepine. *J Clin Psychopharmacol.* **27**: 279-283.

- Di L, Umland JP, Chang G, Huang Y, Lin Z, Scott DO, Troutman MD, Liston TE. (2011) Species independence in brain tissue binding using brain homogenates. *Drug Metab Dispos.* **39**: 1270-1277.
- El Ela AA, Härtter S, Schmitt U, Hiemke C, Spahn-Langguth H, and Langguth P. (2004) Identification of P-glycoprotein substrates and inhibitors among psychoactive compounds--implications for pharmacokinetics of selected substrates. *J Pharm Pharmacol.* **56**: 967-975.
- Eyal S, Hsiao P, and Unadkat JD. (2009) Drug interactions at the blood-brain barrier: fact or fantasy? *Pharmacol Ther.* **123**: 80-104.
- Feng B, Mills JB, Davidson RE, Mireles RJ, Janiszewski JS, Troutman MD, and de Morais SM. (2008) In vitro P-glycoprotein assays to predict the in vivo interactions of P-glycoprotein with drugs in the central nervous system. *Drug Metab Dispos.* **36**: 268-275.
- Gao J, Murase O, Schowen RL, Aubé J, and Borchardt RT. (2001) A functional assay for quantitation of the apparent affinities of ligands of P-glycoprotein in Caco-2 cells. *Pharm Res.* **18**: 171-176.
- Gupta A, Zhang Y, Unadkat JD, and Mao Q. (2004) HIV protease inhibitors are inhibitors but not substrates of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *J Pharmacol Exp Ther.* **310**: 334-341.
- Hallifax D, Houston JB. (2006) Binding of drugs to hepatic microsomes: comment and assessment of current prediction methodology with recommendation for improvement. *Drug Metab Dispos.* **34**: 724-726; author reply 727.
- Han JY, Lim HS, Yoo YK, Shin ES, Park YH, Lee SY, Lee JE, Lee DH, Kim HT, and Lee JS. (2007) Associations of ABCB1, ABCC2, and ABCG2 polymorphisms with irinotecan-pharmacokinetics and clinical outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer* **110**: 650-658
- 花野 学 編集, 伊賀 立二, 澤田康文, 杉山雄一 (1985) 各種動物の生理学的パラメータ値. 医薬品開発のためのファーマコキネティクス実験法, ソフトサイエンス社 東京 433-436.
- Heykants J, Huang ML, Mannens G, Meuldermans W, Snoeck E, Van Beijsterveldt L, Van Peer A, and Woestenborghs R. (1994) The pharmacokinetics of risperidone in humans: a summary. *J Clin Psychiatry.* **55(suppl)**: 13-17.
- Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, Johne A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, and Brinkmann U. (2000) Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **97**: 3473-3478.

- Kendler KS, Gallagher TJ, Abelson JM, Kessler RC. (1996) Lifetime prevalence, demographic risk factors, and diagnostic validity of nonaffective psychosis as assessed in a US community sample. The National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry*. **53**: 1022-1031.
- Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, Taylor A, Xie HG, McKinsey J, Zhou S, Lan LB, Schuetz JD, Schuetz EG, and Wilkinson GR. (2001) Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther*. **70**: 189-199.
- Kirschbaum KM, Uhr M, Holthoewer D, Namendorf C, Pietrzik C, Hiemke C, and Schmitt U. (2010) Pharmacokinetics of acute and sub-chronic aripiprazole in P-glycoprotein deficient mice. *Neuropharmacology*. **59**: 474-479.
- Kodaira H, Kusuhara H, Ushiki J, Fuse E, Sugiyama Y. (2010) Kinetic analysis of the cooperation of P-glycoprotein (P-gp/Abcb1) and breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in limiting the brain and testis penetration of erlotinib, flavopiridol, and mitoxantrone. *J Pharmacol Exp Ther*. **333**: 788-796.
- Leggas M, Adachi M, Scheffer GL, Sun D, Wielinga P, Du G, Mercer KE, Zhuang Y, Panetta JC, Johnston B, Scheper RJ, Stewart CF, and Schuetz JD. (2004) Mrp4 confers resistance to topotecan and protects the brain from chemotherapy. *Mol Cell Biol*. **24**: 7612-7621
- Lentz KA, Quitko M, Morgan DG, Grace JE Jr, Gleason C, and Marathe PH. (2007) Development and validation of a preclinical food effect model. *J Pharm Sci*. **96**: 459-472.
- Lublin H, Eberhard J, and Levander S. (2005) Current therapy issues and unmet clinical needs in the treatment of schizophrenia: a review of the new generation antipsychotics. *Int Clin Psychopharmacol*. **20**: 183-198.
- Maliepaard M, van Gastelen MA, Tohgo A, Hausheer FH, van Waardenburg RC, de Jong LA, Pluim D, Beijnen JH, Schellens JH. (2001) Circumvention of breast cancer resistance protein (BCRP)-mediated resistance to camptothecins in vitro using non-substrate drugs or the BCRP inhibitor GF120918. *Clin Cancer Res*. **7**: 935-41.
- Meltzer HY, Li Z, Kaneda Y, Ichikawa J. (2003) Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. **27**:1159-1172.
- Merikangas KR, Lamers F. (2012) The 'true' prevalence of bipolar II disorder. *Curr Opin Psychiatry*. **25**: 19-23
- Ose A, Ito M, Kusuhara H, Yamatsugu K, Kanai M, Shibasaki M, Hosokawa M, Schuetz JD, and Sugiyama Y. (2009) Limited brain distribution of [3R,4R,5S]-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy)-1-cyclohexene-1-carboxylate phosphate (Ro 64-0802), a pharmacologically active form of oseltamivir, by active efflux across the blood-brain barrier mediated by organic anion transporter 3 (Oat3/Slc22a8) and multidrug resistance-associated protein 4 (Mrp4/Abcc4).

Drug Metab Dispos. **37**: 315-321.

大塚製薬株式会社 医薬情報センター (2013) 医薬品インタビューフォーム, エビリファイ錠 (3, 6, 12 mg), 口腔内崩壊錠 (3, 6, 12 及び 24 mg), 散剤 (1%), 液剤 (1%内用液) 改訂第15版

Ozvegy-Laczka C, Hegedus T, Várady G, Ujhelly O, Schuetz JD, Váradi A, Kéri G, Orfi L, Németh K, and Sarkadi B. (2004) High-affinity interaction of tyrosine kinase inhibitors with the ABCG2 multidrug transporter. *Mol Pharmacol.* **65**: 1485-1495.

Ozvegy C, Litman T, Szakács G, Nagy Z, Bates S, Váradi A, and Sarkadi B. (2001) Functional characterization of the human multidrug transporter, ABCG2, expressed in insect cells. *Biochem Biophys Res Commun.* **285**: 111-117.

Perälä J, Suvisaari J, Saarni SI, Kuoppasalmi K, Isometsä E, Pirkola S, Partonen T, Tuulio-Henriksson A, Hintikka J, Kieseppä T, Härkänen T, Koskinen S, Lönnqvist J. (2007) Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Arch Gen Psychiatry.* **64**: 19-28.

Polli JW, Olson KL, Chism JP, John-Williams LS, Yeager RL, Woodard SM, Otto V, Castellino S, Demby VE. (2009) An unexpected synergist role of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein on the central nervous system penetration of the tyrosine kinase inhibitor lapatinib (N-{3-chloro-4-[(3-fluorobenzyl)oxy]phenyl}-6-[5-({2-(methylsulfonyl)ethyl}amino)methyl]-2-furyl]-4-quinazolinamine; GW572016). *Drug Metab Dispos.* **37**: 439-42.

Polli JW, Wring SA, Humphreys JE, Huang L, Morgan JB, Webster LO, Serabjit-Singh CS. (2001) Rational use of in vitro P-glycoprotein assays in drug discovery. *J Pharmacol Exp Ther.* **299**: 620-628.

Poulin P, Theil FP. (2002) Prediction of pharmacokinetics prior to in vivo studies. 1. Mechanism-based prediction of volume of distribution. *J Pharm Sci.* **91**: 129-56.

Prakash C, Kamel A, Cui D, Whalen RD, Miceli JJ, and Tweedie D. (2000) Identification of the major human liver cytochrome P450 isoform(s) responsible for the formation of the primary metabolites of ziprasidone and prediction of possible drug interactions. *Br J Clin Pharmacol.* **49(Suppl 1)**: 35S-42S.

Prime-Chapman HM, Fearn RA, Cooper AE, Moore V, and Hirst BH. (2004) Differential multidrug resistance-associated protein 1 through 6 isoform expression and function in human intestinal epithelial Caco-2 cells. *J Pharmacol Exp Ther.* **311**: 476-484

Saeki T, Ueda K, Tanigawara Y, Hori R, Komano T. (1993) Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506. *J Biol Chem.* **268**: 6077-6080.

Saito S, Iida A, Sekine A, Miura Y, Ogawa C, Kawauchi S, Higuchi S, and Nakamura Y. (2002) Identification of 779 genetic variations in eight genes encoding members of the ATP-binding

- cassette, subfamily C (ABCC/MRP/CFTR). *J Hum Genet.* **47**: 147-171
- Sakaeda T, Nakamura T and Okumura K. (2002) MDR1 genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Biol Pharm Bull.* **25**: 1391-1400.
- Sparreboom A, Loos WJ, Burger H, Sissung TM, Verweij J, Figg WD, Nooter K, and Gelderblom H. (2005) Effect of ABCG2 genotype on the oral bioavailability of topotecan. *Cancer Biol Ther.* **4**: 650-658
- Sheehan JJ, Sliwa JK, Amatniek JC, Grinspan A, Canuso CM. (2010) Atypical antipsychotic metabolism and excretion. *Curr Drug Metab.* **11**: 516-525
- Tachibana T, Kato M, Watanabe T, Mitsui T, and Sugiyama Y. (2009) Method for predicting the risk of drug-drug interactions involving inhibition of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein. *Xenobiotica.* **39**: 430-443.
- Taub ME, Podila L, Ely D, Almeida I. (2005) Functional assessment of multiple P-glycoprotein (P-gp) probe substrates: influence of cell line and modulator concentration on P-gp activity. *Drug Metab Dispos.* **33**: 1679-87.
- The International Transporter Consortium. (2010) Membrane transporters in drug development. *Nature Reviews Drug Discovery* **9**: 215-236.
- Urichuk L, Prior TI, Dursun S, and Baker G. (2008) Metabolism of atypical antipsychotics: involvement of cytochrome p450 enzymes and relevance for drug-drug interactions. *Curr Drug Metab.* **9**: 410-418.
- US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). (2012) Guidance for Industry. Drug Interaction Studies - Study Design, Data Analysis, and Implications for Dosing and Labeling Recommendations *draft guidance*. US FDA website [online]
- Wang JS, Zhu HJ, Donovan JL, Yuan HJ, Markowitz JS, Geesey ME, and Devane CL. (2009) Aripiprazole brain concentration is altered in P-glycoprotein deficient mice. *Schizophr Res.* **110**: 90-94.
- Wang JS, Zhu HJ, Markowitz JS, Donovan JL, DeVane CL. (2006) Evaluation of antipsychotic drugs as inhibitors of multidrug resistance transporter P-glycoprotein. *Psychopharmacology (Berl).* **187**: 415-423.
- Wang JS, Zhu HJ, Markowitz JS, Donovan JL, Yuan HJ, and Devane CL. (2008) Antipsychotic drugs inhibit the function of breast cancer resistance protein. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* **103**: 336-341.
- Yamazaki H, Horiuchi K, Takano R, Nagano T, Shimizu M, Kitajima M, Murayama N, Shono F. (2010) Human blood concentrations of cotinine, a biomonitoring marker for tobacco smoke, extrapolated from nicotine metabolism in rats and humans and physiologically based

pharmacokinetic modeling. *Int J Environ Res Public Health*. **7**: 3406-21.

Zhang W, Yu BN, He YJ, Fan L, Li Q, Liu ZQ, Wang A, Liu YL, Tan ZR, Fen-Jiang, Huang YF, and Zhou HH. (2006) Role of BCRP 421C>A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males. *Clin Chim Acta* **373**: 650-658

Zhu HJ, Wang JS, Markowitz JS, Donovan JL, Gibson BB, and DeVane CL. (2007) Risperidone and paliperidone inhibit P-glycoprotein activity in vitro. *Neuropsychopharmacology*. **32**: 757-764.