

《若手研究者紹介》



薬物の消化管吸収機構とバイオアベイラビリティの種差の興味深さ

西 村 友 宏 Tomohiro Nishimura

共立薬科大学薬剤学講座

1. はじめに

博士後期課程を修了し、教員に成り立ての筆者が若手研究者紹介の依頼を受ける事ができ、大変感激している。まだ知識、経験ともに大変未熟ではあるが、学問としての薬剤学との出会いから大学院において従事してきた研究内容について紹介させて頂きたい。

2. 辻先生との出会い

金沢大学の薬学部に入學した筆者は漠然と薬を創る仕事が将来したいなどと考えながら薬学のカリキュラムをこなし、日々の学生生活を過ごしていた。有機化学、生化学、分子生物学、薬理学、どれも興味はあったがいまひとつ理解が進まず困っていた。それは生命現象や化学反応があるときに、なぜそのような現象が起きるのかが当時、学部学生であった筆者には理解できないからであった。しかしながら、辻先生が講義されている薬剤学の授業を受け、考え方が変わった。それまである現象や反応は“起こる”あるいは“起こらない”の2択しかなかった筆者の頭のなかに、“速度”の概念ができた。極めて遅く反応が起こることは“起こらない”にほぼ等しく、また反応が起こるかどうかは遷移状態から反

応が進むのか戻るのかの速度で決まると知った。また体内動態や化学反応が数式で表されることから、実に明快な学問であると思えた。今から考えると稚拙であるが、当時の筆者は目が覚めるような思いで授業に聞き入った。当初は厳しくて怖かった辻先生の授業であったが、その裏に学生への思いやりと類い稀なる柔軟な思考を持った先生であることに気づき、迷わず辻先生の研究室への進学を志すようになった。

3. 新規ループ利尿薬の消化管吸収機構

経口で投与される薬物は服用後、消化管より吸収され、全身に分布し、主に肝臓での代謝や腎臓での排泄によって消失する。近年、このような薬物の体内動態のうち吸収、分布、排泄の各過程で薬物トランスポーターが寄与し、薬物の組織移行を制御していることが示されつつある(図1)。しかし、多数の医薬品のうちトランスポーターが体内動態に影響していることを示された例はまだ少なく、依然としてほとんどの医薬品の体内動態機構は未解明である。多種多様な医薬品および医薬品候補化合物のヒトでの体内動態機構が非臨床試験から予測できるようになるためには、多くの薬物の体内動態機構をヒトおよび実験動物において明らかにする必要がある。経口投与可能な医薬品の開発のために消化管吸収機構の解明は重要であり、筆者は薬物の消化管吸収機構に興味を持っており、特にSLC (Solute Carrier) ファミリーに属する取り込みトランスポーターに認識されることが良好な消化管吸収を得られる要因ではないかと考え注目している。

筆者紹介：2003年3月金沢大学薬学部卒業。2007年3月金沢大学大学院自然科学研究科博士後期課程修了。博士(薬学)。2007年4月より現職。学部生の頃より薬物動態学に興味を持ち、大学院では辻彰教授に師事した。2005～07年、日本学術振興会特別研究員(DC1)。日本薬剤学会第22年会大学院学生主催シンポジウムSNPEE2007組織委員長。趣味：ツーリング。

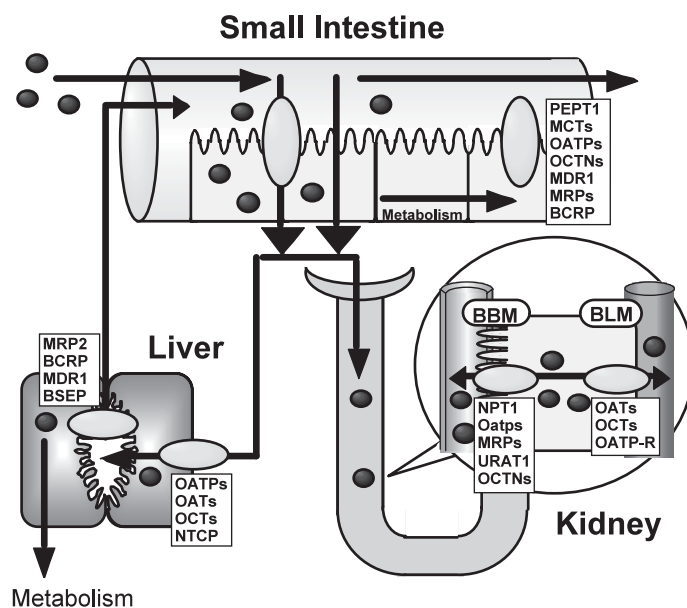


図1 薬物の体内動態に影響を及ぼすトランスポーター群

博士前期課程の研究テーマとして消化管吸収におけるトランスポーターの重要性を検討するために、生理的な pH において主にイオン型として存在し、経口投与時において消化管吸収が良好である薬物として新規ループ利尿薬 M17055 を研究対象に選択した。M17055 は分子内に硫酸基を持ち、 pK_a が 2.4 であることから生理的 pH においては大部分がアニオンとして存在すると考えられるが、健常人ボランティアによる臨床試験では M17055 のバイオアベイラビリティ (BA) は比較的良好で約 42 ~ 60% 程度であった。他のループ利尿薬がカルボキシル基を持ち pK_a が 4 前後であるのに対し、M17055 は硫酸基であるため、その pK_a は 2 程度低くなっている。したがって、M17055 の分子形分率は他のループ利尿薬と比較しても極端に低いと考えられる。pH 分配仮説に従うとアニオン性の薬物は細胞膜を透過できず、また細胞内は細胞外と比べて -60 mV 程度の電位があるのでアニオンの細胞内への侵入は不利である。また、細胞間隙経路による吸収の可能性もあるが、間隙が負に帯電しているためにアニオン性薬物の吸収に対する寄与は少ないと考えられる。したがって、やはりトランスポーターによって吸収、少なくとも消化管腔中から上皮細胞へ取り込み輸送されている可能性が高いと考えられた。

ヒトの消化管吸収を *in vitro* で解明するために、ヒト大腸がん由来で広く消化管吸収のモデル細胞として用いられている Caco-2 細胞を用いたところ、

M17055 の Caco-2 細胞への取込み輸送にはトランスポーターが関与することが示唆され、その分子の実体として OATP2B1 (SLC21A9, SLCO2B1) が関与すると考えられた¹⁾。これはループ利尿薬の消化管吸収においてトランスポーターが取り込み輸送に関与していることを示した発見であった。OATP ファミリーは多くのホモログが存在し、近年 SLCO として再分類された。甲状腺ホルモンやステロイドホルモンを多数認識する他、生体外異物の体内動態にも関わることからその生理的意義の解釈は難しいが、特に肝臓における有機アニオン性薬物の取り込み輸送に寄与することが知られており、今後さらに薬物動態に重要なトランスポーターとして位置づけられていくであろう。

筆者は時期を同じくして M17055 の腎排泄には OAT1 (SLC22A6) が一部関与していることも示した²⁾。このように一つの薬物であっても、投与後、各臓器において発現する様々なトランスポーターの認識を受け体内動態は制御されている。体内動態特性のよい薬物を開発する為には、それぞれの臓器に発現するトランスポーターにバランスよく認識されることで吸収、排泄が速やか、すなわち入りやすく、溜まりにくい薬物が開発できると期待される。また、臓器への取り込み活性の高いトランスポーターの認識性に合わせることで、薬効発現部位に特異的に薬物を集中させることも可能であろう。今後、薬物の体内動態を最適化する為には、各臓器において

寄与の大きいトランスポーターの分子種をさらに明らかにしていくことが必要である。またトランスポーターの発現と輸送活性の種差を分子レベルで明らかにすることにより、新規薬剤の開発にはどの動物種がヒトに近いと考えられるかの指標となるであろう。

4. カニクイザルの体内動態特性

博士前期課程を修了する頃までに新規のループ利尿薬の消化管吸収および腎排泄におけるトランスポーターの関与を研究してきた筆者は、博士後期課程に進学する際に新たなテーマに挑戦することにした。そこで筆者は創薬の現場で問題となっている薬物動態の種差に注目した。経口投与後のBAは薬効の発現に重要であるが、小腸や肝臓での薬物の膜透過および代謝の実態が明らかになりつつある現在においてもなお、ヒトにおけるBAを予測することは容易ではない。特にヒトにおけるBAの予測を困難にしているのがサルにおける経口投与時の薬物動態特性であった。サルは非ヒト霊長類であり、以前より製薬企業においてもヒトに近い薬物動態特性を示すと期待され、非臨床試験で用いられてきた。その遺伝的類似性からサルはヒトに近い動態特性を示すと考えられてきたが、一部の薬物においてはBAがヒトと比べて極めて低くなることが報告されていた。

ChiouとBuehlerらは43の医薬品に関して、その薬物動態特性をヒトとサルで比較した³⁾。そのうち13の医薬品の肝(腎外)クリアランス(CL_h)がサルとヒトとで比べられており、肝クリアランスが比較的大きい、すなわちBAに影響を及ぼしうると考えられる範囲内ではサルがヒトよりも約2倍大きい値を示している。この文献の考察とはやや異なることになるが、これらの肝クリアランスの違いがサルとヒトとのBAの種差につながるのかを筆者は考察した。BAは消化管と肝臓でのアベイラビリティの積で得られ、肝アベイラビリティを算出するためには肝クリアランスに加え、血液/血漿中濃度比と肝血流量の情報が必要である。これらの医薬品の血液/血漿中濃度比の情報が入手できなかったため、肝クリアランスと肝血流を比較することはできなかったが、サルの肝血流は約40 mL/min/kgであり、ヒトと比べると2倍程度高いことから、血液/

血漿中濃度比を1と仮定するとこれらの医薬品の肝アベイラビリティはサルとヒトとでほぼ差がないと考えられた。すなわちサルとヒトとのBAの種差は消化管におけるアベイラビリティの差であると筆者らは仮説を立てた。そこで薬物の消化管吸収に重要な影響を与える因子がサルとヒトとで異なっている可能性を検証することにした。一般に消化管吸収性に大きく影響するのは薬物の溶解性と膜透過性とされるが、溶解性は主に薬物の物理化学的性質に依存すると考えられるため、広義での膜透過性を左右し、種差の原因となる可能性が高い薬物代謝酵素とトランスポーターに着目した。

近年では、CYP3AおよびP-gpが小腸上皮細胞において機能的に共役しており、CYP3Aで代謝された薬物をP-gpで排出するといった効率の良い解毒機構として働いていると提唱されている。薬物代謝酵素および薬物トランスポーターとして最も重要であると考えられる分子として、それぞれCYP3AおよびP-gpを想定し、モデル薬物を用いた体内動態試験を*in vivo*および*in vitro*で行うことにより、これらの分子の消化管吸収への関与とその種差を明らかにすることを研究の目的とした。本稿では特に薬物代謝酵素CYP3Aの消化管初回通過に対する影響に焦点を当て、これまでの成果を述べさせて頂く。

MidazolamはCYP3Aの基質であり、P-gpの基質でないことから、CYP3Aのモデル薬物として用いることで主に消化管吸収過程における代謝活性の種差を検討することにした。MidazolamのヒトにおけるBAは約33%であり、消化管と肝臓のアベイラビリティはともに60%程度と見積もられている⁴⁾。Midazolamのサル、イヌおよびラットにおける体内動態特性を調べたところ、BAはそれぞれ2.1%、15.1%、1.1%であり、イヌは比較的ヒトに近い特性を示した一方、サルとラットは極めて低く、midazolamのBAには種差が大きいことが認められた。

このようなBAの種差の原因を明らかにするため、サルおよびラット小腸を用い、薬物透過試験および代謝試験を行った。サル小腸ではmidazolamの膜透過クリアランスが低く、代謝クリアランスが高かったのに対し、ラット小腸では膜透過クリアランスは高く、代謝クリアランスは低かった(図2)。すなわち、サルでは小腸に取り込まれたmidazolam

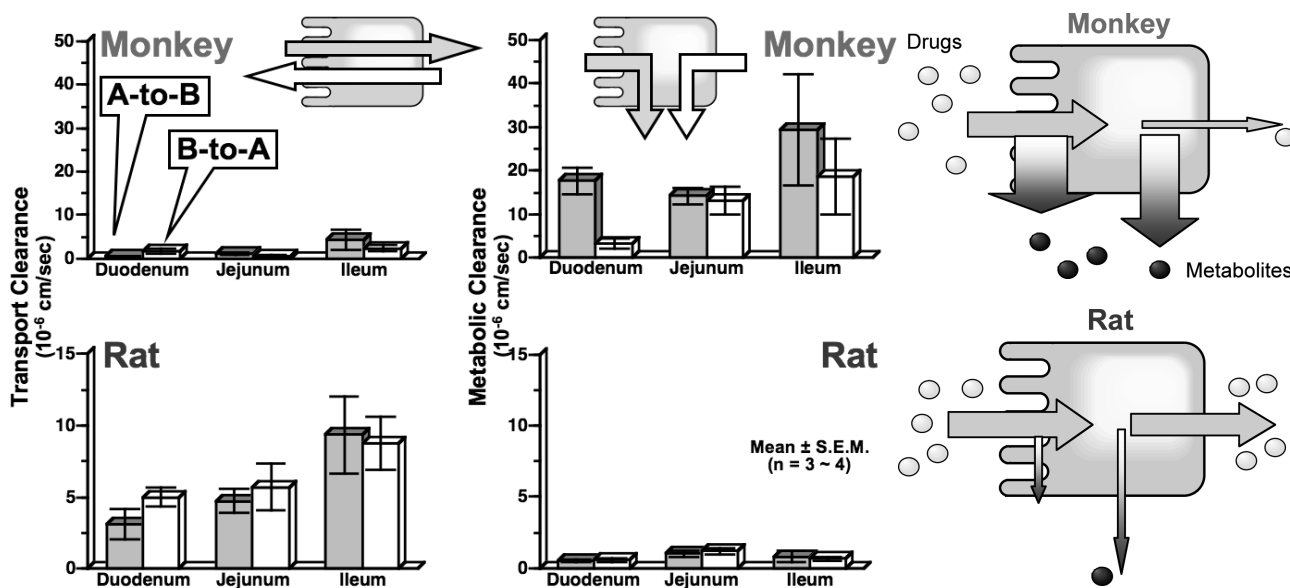


図2 サルおよびラット小腸における midazolam の膜透過および代謝クリアランス

は大部分が代謝され血液中への移行は少ないと考えられ、ラットでは代謝の影響は小さく速やかに吸収されると考えられた。したがって、サルにおいて midazolam の BA が極めて低い原因は小腸における代謝の影響が大きいことが示された。また、細胞内の代謝活性は薬物が透過する方向に依存性を示し、basal 側から取り込まれた場合より、apical 側より取り込まれた場合に効率よく代謝されるメカニズムが存在する可能性が示唆された⁵⁾。

以上のように、本研究によってサル小腸において薬物の吸収性が低下している原因の一部が示された。今後の創薬段階におけるサルを用いた消化管吸収の評価は、ヒトの BA はサルの BA 以上になる確率が高いため、ヒト BA 予測の最低値の指標とするか、サルの BA が極めて低い場合には消化管の CYP3A を阻害した条件化でサルの BA を算出するほうがヒト BA と近くなると考えられる。

5. おわりに

博士課程を修了し研究者としての一步を踏み出した今、世界で活躍する研究者を目標とし、いつでも少し背伸びをして毎日を過ごしたいと思う。薬物の体内動態に関与する因子としてのトランスポーター研究をさらに発展させ、トランスポーターの機能調節によって薬物動態を制御することを今後の目標と

している。今ここに自分がいることは辻先生を始め、学生時代に出会った多くの先生方のお陰であり大変感謝している。また、共同研究をさせて頂いた持田製薬株式会社および武田薬品工業株式会社の諸氏に、大学院において興味深い研究ができたことを深く感謝する。

引用文献

- 1) T. Nishimura, Y. Kubo, Y. Kato, Y. Sai, T. Ogihara, A. Tsuji, Characterization of the uptake mechanism of a novel loop diuretic, M17055, in Caco-2 cells: Involvement of organic anion transporting polypeptide (OATP)-B, *Pharm. Res.*, **24**, 90-98 (2007).
- 2) T. Nishimura, Y. Kato, Y. Sai, T. Ogihara, A. Tsuji, Characterization of renal excretion mechanism for a novel diuretic, M17055, in rats, *J. Pharm. Sci.*, **93**, 2558-2566 (2004).
- 3) W.L. Chiou, P.W. Buehler, Comparison of oral absorption and bioavailability of drugs between monkey and human, *Pharm. Res.*, **19**, 868-874 (2002).
- 4) K.E. Thummel, D. O'Shea, M.F. Paine, D.D. Shen, K.L. Kunze, J.D. Perkins, G.R. Wilkinson, Oral first-pass elimination of midazolam involves both gastrointestinal and hepatic CYP3A-mediated metabolism, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **59**, 491-502 (1996).
- 5) T. Nishimura, N. Amano, Y. Kubo, M. Ono, Y. Kato, H. Fujita, Y. Kimura, A. Tsuji, Asymmetric intestinal first-pass metabolism causes minimal oral bioavailability of midazolam in cynomolgus monkey, *Drug Metab. Dispos.*, **35**, 1275-1284 (2007).