

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（薬学）	氏名	吉田 光佐
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ① 2 項該当		
論文題目			
生理学的薬物速度論に基づいた種間スケーリングによるヒト薬物動態予測手法の構築			
論文審査担当者			
主査	教授	内田 康雄	印
審査委員	教授	松尾 裕彰	
審査委員	准教授	猪川 和朗	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>創薬において、クリアランス (CL) や分布容積等のヒト薬物動態パラメーターを正確に予測することは重要である。最も汎用されている CL 予測手法は、ヒト肝細胞代謝試験結果に基づいた <i>in vitro</i> から <i>in vivo</i> への外挿法 (<i>In vitro-in vivo</i> extrapolation; IVIVE) である。しかしながら、代謝安定性を改善した低い固有クリアランスを持つ化合物 (低 <math>CL_{int}</math> 化合物) においては、酵素活性を維持可能なインキュベーション時間内に代謝反応を定量的に捉えることができず、本結果に基づいた正確な CL 予測は困難である。そこで、株式会社フェニックスバイオより生産されている重度免疫不全肝障害マウスにヒト肝細胞を移植したヒト肝キメラマウス (PXB マウス) に着目した。本マウスは、肝細胞の 80%以上がヒト肝細胞に置換されており、ヒト CL を予測する有用な動物モデルと報告されている。しかしながら、低 <math>CL_{int}</math> 化合物に IVIVE を適用できない深刻な問題に対して、PXB マウスを用いることで問題解決が可能であるかは実証されていないことから、低 <math>CL_{int}</math> 化合物の CL 予測における PXB マウスの有用性を検証した。また、ヒト肝細胞の代謝試験結果を retrospective に解析した研究報告によると、<math>CL_{int}</math> が高い化合物の方が、<i>in vivo</i> <math>CL_{int}</math> を過小予測する傾向が報告されている。PXB マウスを用いた CL 予測において、同様の傾向が認められるのであれば、低 <math>CL_{int}</math> 化合物に PXB マウスのアプローチを適用することの妥当性が高まることから、<math>CL_{int}</math> の高低が予測精度にどのように影響するかを検証した。PXB マウスを用いた予測手法として、主に single-species allometric scaling が報告されているが、これは体重と指数を用いた経験的で単純な方程式であり、生理学的意義を持ち合わせていない。そこで、生理学的薬物速度論 (Physiologically-based pharmacokinetics; PBPK) に基づき、血流速度や組織容積などの生理学的情報を用いて薬物の体内動態を数学的に記述し、より理論的にヒトに外挿 (種間スケーリング) する手法を用いて CL 予測精度の向上を検討した。</p> <p>ヒトに静脈内投与後の臨床データに基づいて総 CL が低い化合物、あるいは <i>in vitro</i> <math>CL_{int}</math> が論文報告されている化合物の中から、比較的低い <math>CL_{int}</math> である市販化合物を選抜した。PXB マウスを用いた CL 予測として論文が複数報告されており、その結果の再現性を確認するために論文で使用されたいくつかの化合物を選択した。さらに、<math>CL_{int}</math> の高低が予測精度にどのように影響するかを検証するため、凍結ヒト肝細胞を用いた代謝試験の社内データに基づき、中程度の <math>CL_{int}</math> である化合物をいくつか選択した。一方で、論文報告値を含むこれらの <i>in vitro</i> システムの結果は、試験条件や肝細胞のロット等の影響を受け、試験間誤差が大きいと想定されることから、同一の条件下で代謝試験を行い、改めて <math>CL_{int}</math> の高低を検証した。選択された 16 の市販化合物の多くは、薬物代謝酵素の典型的基質であり、CYP あるいは非 CYP 等の複数の酵素によって代謝を受ける化合物や単一の酵素によって代謝を受ける化合物等、幅広い特徴の化合物であった。また、酸性化合物はアルブミン</p>			

に結合しやすく、塩基性化合物は  $\alpha$ 1-酸性糖蛋白に結合しやすいことから、物理化学的性質の観点においても幅広く選択した。

複数動物種を用いた allometric scaling に基づくアプローチと比較して、PXB マウスを用いたアプローチは、全体として高い予測精度を示した。また、 $CL_{int}$  の高低が  $CL$  の予測精度にどのように影響するかを検証した結果、中-高  $CL_{int}$  化合物と比較して、低  $CL_{int}$  化合物において非常に高い予測精度を示すことが明らかとなった。このことから、PXB マウスは、低  $CL_{int}$  化合物の予測に特に有用であることが示された。創薬ポートフォリオにおいて、低  $CL_{int}$  化合物が増加している昨今、IVIVE が低  $CL_{int}$  化合物に適用できないことは創薬における深刻な問題であったが、PXB マウスを用いることによりその問題解決が可能であることを示した。また、論文報告値の再現性も得られ、少なくともヒト肝細胞置換率が 85%以上の PXB マウスを用いることで、再現性良くデータが得られることを示した。

PXB-PBS のアプローチを新たに検証した結果、PXB-SSS の予測精度を上回ることがはなかったが、PXB-SSS の予測値とほぼ一致することが明らかになった。このことから、PXB-SSS で用いた単純なアロメトリー式に、生理学的意義を与えることができた。つまり、肝細胞あたりの  $CL_{int}$ 、 $f_{u,p}$  及び  $R_b$  がヒトと PXB マウスの間で同等であるからこそ、PXB-SSS の高い予測精度を実現していると考えられた。このように生理学的理解を深めることで、PXB マウスからヒトに種間スケールリングを行う妥当性を高めることができた。

ヒトの血漿中濃度推移を予測するためには、 $CL$  に加え、分布容積を正確に予測することが重要である。そこで、血漿中濃度推移をより正確に予測するために、多相性の消失を示すことが可能な生理学的モデリング&シミュレーションのソフトウェアである Simcyp simulator (Certara) に着目した。本手法は、ラット、イヌ及びサル薬物動態データに基づき、Simcyp simulator を用いてヒトの分布容積を予測する手法が報告されているが、これらの報告は高膜透過性の特徴を持つ化合物の検証結果であり、低膜透過性や双性イオン等のより広範な特徴を持つ化合物における予測精度は検証されていない。また、Simcyp simulator には、組織-血漿間分配係数を計算する 3 種類のアルゴリズム (Method 1, Method 2 及び Method 3) が搭載されているが、Method 3 の有用性は未検証である。さらに、このアプローチは、ラット、イヌ及びサルの 3 動物種全てのデータを活用しているが、動物種毎における予測精度は未検証である。そこで、組織分布を考慮したヒト血漿中濃度推移予測の精度向上を目的に、低膜透過性や双性イオン等のより広範な特徴を持つ検証化合物を用いて Method 3 の有用性や動物種毎における予測精度を評価し、Simcyp simulator を用いた新規予測手法の開発及び制限事項を探索した。

中性化合物においては、いずれのアプローチでも高い予測精度を示し、酸性化合物においては、サルによる Method 3 のアプローチが最も高い予測精度であることを示した。このことから、創薬において 3 動物種すべての薬物動態データを取得する必要はない可能性が示唆された。塩基性化合物においては、3 動物種のデータを同時に解析する cross-species parameter estimation (CSPE) ツールを用いて、OFV が最も小さい best-fit method を選択するアプローチが、最も高い予測精度を示した。塩基性化合物は、酸性リン脂質への分配、リソソームトラッピング及び膜電位差による膜透過促進等の細胞動態を示す可能性があることから、動物の PBPK モデル構築から知見を得て、最適な組織-血漿間分配係数のアルゴリズムを選択することが、このような複雑な動態を示す化合物の予測に効果的であることが示された。このように、化合物の物性に基づいて適切に動物種を選択できる可能性を見出したことから、より効率的かつ動物実験の replacement を推進した創薬の実現に期待できる。

以上の結果より、創薬において PXB マウスや Simcyp simulator のアプローチを適切に活用することで、ヒトの血漿中濃度推移の高精度な予測が可能となり、臨床開発に向けた質の高い化合物の選抜及び臨床試験の安全且つ円滑な取り進めを実現することができる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が博士（薬学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。