

論 文

## 2-コンパートメントモデルと見かけの酵素阻害活性を仮定した薬物間相互作用の予測法の有用性についての検討

伊 賀 勝 美

同志社女子大学  
薬学部・医療薬学科  
特別任用教授

## Investigation into the Usefulness of 2-Compartment, Model-Assisted, Static Overall Inhibition Activity-Based Drug-Drug Interaction Prediction Methods

Katsumi Iga

Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences Department of Pharmaceutics,  
Doshisha Women's College of Liberal Arts,  
Special Appointment Professor

## 要旨

ラメルテオンとフルボキサミンとの併用により生じた異常に大きな相互作用については、規制当局が推奨するいかなる方法を用いても、予測が困難であった（過小予測となる）。その主な原因として、Well-stirredモデルを仮定したこれまでの方法によれば、ラメルテオンのような肝アベイラビリティ ( $F_h$ ) が小さな薬物 (Victim) においては、相互作用により生じる  $F_h$  の増分を無視してしまうことによるものであることが示された。Tube法がそれを回避する最良の手段であることが示された。

相互作用の予測に際しては、これまでに生理学的モデル (PBPKモデル) を基本にした方法 (多くの *In vitro* 試験から得られる特性を *In vivo* へと bottom up していく方法) が推奨されてきたが、その結果、予測はますます複雑化し、むつかしいものになってきており、世界の製薬研究者の悩みの種となっているが、本研究により提案された方法 (2-コンパートメント  $A_{i, overall}$  法: 2-Comp  $A_{i, overall}$  法) は非常に単純なもので、着目する相互作用とその他の薬物の相互作用との間でのデータの橋渡しを可能とする応用度の高いものであることが、CYP1A2 および CYP3A4 が関与する相互作用のシミュレーションを通じて示された。

本研究により提案された 2-Comp  $A_{i, overall}$  法は今後のこの分野の研究を飛躍的に発展させるものと期待される。

## はじめに

過去に本邦で起きたソルブジンと 5-FU の併用による悲惨な相互作用<sup>1)</sup>が契機となり、現在においては、規制当局の適切な指導の下で、世界のどの製薬会社においても、いずれの新薬候補化合物に関しても、創薬および臨床開発の段階から、相互作用に関する試験を実施し (*In vitro* 代謝試験や臨床での相互作用試験)、その化合物が臨床使用される段階においては、いかなる薬物間相互作用に対しても万全を期すように努めている。

しかし *In vitro* 試験から予想される相互作用のすべてに、臨床試験を実施することは不可能であり、大抵の場合は *In vitro* データと少ない臨床試験データから、薬物動態学的手法を駆使して、それを予測していく方策がとられ、規制当局もそれを推奨している。

しかし相互作用の確実な予測法については、いまなお多くの課題 (表 1) を残し、2012 年に出された FDA のガイダンス<sup>2)</sup>に照らしても、まだ完成には至っていないというのが実状である。

しかしながら、著者らが長年に亘り続けてきた薬物間相互作用の予測法に関する研究により、<sup>3-6)</sup> それらの課題の大部分が解決されて、現存する相互作用のデータベースを活用することにより、最終的には、少ないデータから、着目する開発候補化合物の相互作用 (未知) を予測する方法を

表1 相互作用の予測における課題

(i)	相互作用による Victim の初回通過効果の減少
(ii)	阻害剤の濃度のダイナミック変化
(iii)	複数のCYP 分子種が関与する代謝
(iv)	消化管での初回通過効果
(v)	阻害活性を示す阻害剤の代謝物
(vi)	時間依存的な代謝阻害
(vii)	<i>In vitro-In vivo</i> 間での $K_i$ 値の食い違い
(viii)	酵素とトランスポーターの両者が関与する相互作用

見出すことができた。そこでその経緯と、その方法の有用性について、多角的に検証を行った結果について報告する。

## 背景

### 研究の発端

著者は武田薬品において臨床薬物動態解析を担当していたときに（2002年ごろ）武田薬品が開発したラメルテオン（RAM：睡眠導入剤、メラトニン作動薬、代謝にはCYP1A2が大きく関与し、部分的にはCYP2C19も関与する、2006年に米国で発売）とフルボキサミン（FLV：CYP1A2およびCYP2C19の強力な阻害剤）の併用により、世に例をみない異常に大きな相互作用が引き起こされる現象に遭遇した（著者自身もこの薬物の臨床での相互作用試験に関わる：RAMの血中濃度のAUCが約130倍に上昇：AUCR = 130）。<sup>7)</sup>

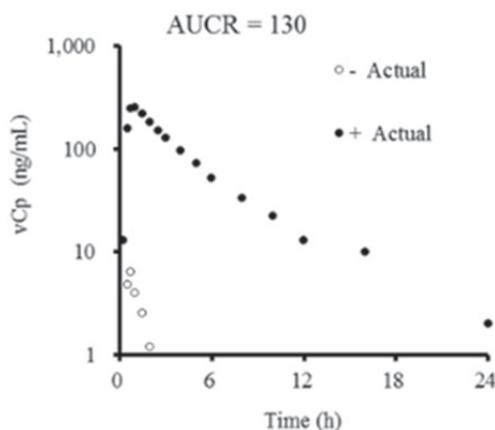


図1 RAM (Victim) とFLV (Perpetrator) の併用によるRAMの血中濃度の異様な上昇

註：Victim: 相互作用を受ける側の薬物；perpetrator: 相互作用を引き起こす側の薬物（Victimの代謝を阻害することにより相互作用を引き起こす場合には、代謝阻害剤に相当）

しかしその相互作用の大きさについては、当時のいかなる方法をもってしても予測をすることは困難であった。例えば肝抽出機構の一つWell-stirred (Ws) モデルを基本にしたStatic法（阻害剤の濃度は常に一定と見なし解析する方法）、<sup>8)</sup>あるいは阻害剤の濃度の時間変化を生理学的モデル(PBPKモデル)に組み込んだDynamic法を用いても、<sup>9)</sup>AUCRの予測値は高々2、3程度のものであった。すなわちその相互作用の機構については我々が見出すまでは全く不明のまま、とりあえずは両者の併用は禁忌として、臨床使用が許可され、現在に至っている。

### 相互作用により生じるVictimの初回通過効果の変化(減少)

著者は本学に移ってからは、その原因の解明を第1のテーマに掲げて研究を積み重ねてきたが、比較的早い段階においてAUCRがWsモデルを仮定した方法により過小に見積られることに気が付き大学紀要<sup>10)</sup>および年報<sup>11)</sup>において発表してきた（なお過小見積り原因としては他にも複数のものが挙げられる）。

一般的に酵素阻害の強さ ( $A_{i, overall}$ ) は、阻害剤を作用させたときの代謝クリアランス [ $CL_{int}(+)$ ] に対する対照群のクリアランス ( $CL_{int}$ ) の比で示され、さらにそれは、阻害剤の酵素近傍における遊離形濃度 ( $I_u$ ) を、遊離形を基本にしたみかけの阻害定数 ( $K_{iu, overall}$ ) で除した値に1を加えたものとして表すことができる。

$$A_{i, overall} = \frac{CL_{int}}{CL_{int}(+)} = 1 + \frac{I_u}{K_{iu, overall}} \quad (1)$$

なお酵素阻害活性については  $A_i$  と表し、複数の酵素に対する阻害を含めた場合の見かけの阻害活性を  $A_{i, overall}$  とし表される。

一方でWsモデルを基本にした薬物速度論においては、肝消失型の薬物の経口クリアランスは血中遊離形分率と代謝クリアランスの積 ( $f_{ub} \times CL_{int}$ ) で示され、

$$CL_{oral} = \frac{D_{oral}}{AUC_{oral}} = f_{ub} \times CL_{int} \quad (2)$$

相互作用により生じたVictimのAUCの上昇倍率(AUCR)は  $A_{i, overall1}$  に等しくなる関係が導き出される。

$$AUCR = \frac{AUC_{oral}(+)}{AUC_{oral}} = \frac{CL_{int}}{CL_{int}(+)} = A_{i, overall} \quad (3)$$

しかし、Victimの  $F_h$  が小さくなるにつれ、それに依存してAUCRは変化し、上記の関係は成り立たなくなる（特



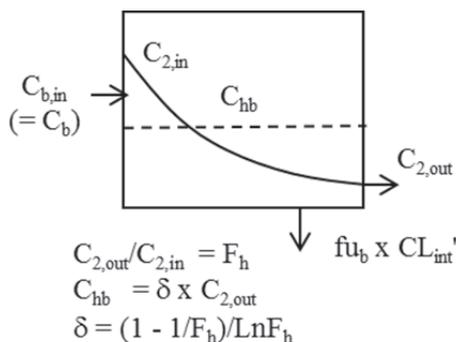


図3 Tube モデルを仮定した肝臓における血中薬物濃度の模式図

$$vF_h = \frac{vA_{e,oral} \times vCL_{oral} + Q_h}{vCL_{oral} + Q_h} = \exp\left[-\frac{vf_{ub} \times vCL_{int}}{Q_h}\right] \quad (9)$$

$$vF_h(+)= \exp\left\{-\frac{vf_{ub} \times vCL_{int}}{Q_h \times A_{i,overall}}\right\} = \exp\left\{-\frac{\text{Ln}(vF_h)}{A_{i,overall}}\right\} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} AUCR &= \left(\frac{vF_h(+)}{vF_h}\right) \times \left(\frac{1-vF_h}{1-vF_h(+)}\right) = \left(\frac{1}{vF_h} - 1\right) \times [vF_h(+)-1]^{-1} \\ &= \left(\frac{1}{vF_h} - 1\right) \times \left[\exp\left\{-\frac{\text{Ln}(vF_h)}{A_{i,overall}}\right\} - 1\right]^{-1} \end{aligned} \quad (11)$$

ついては何も付けずに表す。

ところで血中濃度の計算には必須の $CL_{tot}$ および $CL_{tot}(+)$ の値は $F_a = 1$ を仮定した場合、肝消失型の薬物では経口クリアランスより求めることができる。

$$CL_{tot} = F_h \cdot CL_{oral} \quad (12)$$

$$CL_{tot}(+) = F_h(+)\cdot CL_{oral}(+) = F_h(+)\cdot \frac{CL_{oral}}{AUCR} \quad (13)$$

### $A_{i,overall}$ の決まり方 (2つの方法)

前述したように $A_{i,overall}$ の値はAUCR、 $vF_h$ のおよび $vA_{e,oral}$  (Victimの経口投与後の未変化体尿中排泄率)の値を知ることにより、式14を用いて算出することができる。

$$\begin{aligned} \frac{1}{A_{i,overall}} &= \frac{1}{\text{Ln}(vF_h)} \times \left[ \text{Ln}\{AUCR \times (1 - vA_{e,oral} \times vF_h)\} - \right. \\ &\quad \left. - \text{Ln}\left\{(1 - vA_{e,oral}) \times AUCR - 1 + \frac{1}{vF_h}\right\} \right] \end{aligned} \quad (14)$$

さらに $A_{i,overall}$ 値はAUCRとは別に、阻害剤の各分子種に対する阻害活性 ( $pA_{i,CYP}$ ) とVictimの代謝クリアランスに対する各種CYP分子種の貢献度 ( $vf_{m,CYP}$ ) によっても式15を使って算出することができる。

$$\begin{aligned} \frac{1}{A_{i,overall}} &= \frac{vf_{m,CYP1A2}}{pA_{i,CYP1A2}} + \frac{vf_{m,CYP2C19}}{pA_{i,CYP2C19}} + \frac{vf_{m,CYP3A4}}{pA_{i,CYP3A4}} \\ &\quad + vf_{m,nonCYP} \end{aligned} \quad (15)$$

$$vf_{m,CYP1A2} + vf_{m,CYP2C19} + vf_{m,CYP3A4} + vf_{m,nonCYP} = 1$$

なおまた $pA_{i,CYP}$ は阻害剤の濃度を各種CYP分子種に対する阻害活性で除した値に1を加えたものとして求めることができる (式1と同様の扱い)。

$$pA_{i,CYP} = 1 + \frac{I_u}{pK_{i,u,CYP}} \quad (16)$$

### 相互作用に対するシミュレーション法

以上の説明からも分かるようにシミュレーションの方法としては $I_u$ 値が時間とともに変化することを考慮に入れたDynamic法 ( $SM_d$ ) と $I_u$ 値として平均的な値 (定数) を用いるStatic法が考えられ、またStatic法においては $A_{i,overall}$ 値をAUCRから求める方法 ( $SM_1$ ) と $pA_{i,CYP}$ と $vf_{m,CYP}$ から求める方法 ( $SM_2$ ) が考えられる。

### 既存の相互作用に関するデータベースから $pA_{i,CYP}$ および $vf_{m,CYP}$ を逐次決定していく方法

前述した複数のCYP分子種が関与する代謝に対する代謝阻害の概念を基本にすると、相互作用の予測に必要な $pA_{i,CYP}$ や $vf_{m,CYP}$ を既存の相互作用のデータベースを利用して、段階的に求めていくことができる (図4)。例えばステップ1において、 $vF_h$ が0.84の薬物AがCYP2C19で特異的に代謝されるとして、またその薬物がCYP2C19のPMに投与された場合のAUCRの値が5.0であれば $A_{i,overall}$ の値は式14から4.5と計算され、また式15から $vf_{m,CYP2C19(A)}$ の値が0.78と算出することができる ( $A_{i,CYP2C19(PM)} = \infty$ )。次のステップ (ステップ2) として、薬物AがCYP2C19に対する特異的な阻害効果を示す薬物X (阻害剤X) と併用投与して得られるAUCRの値 (3.5) から $A_{i,overall}$ 値が3.2と求められる場合に、その阻害剤Xの $pA_{i,CYP2C19(X)}$ の値は式15から8.8と算出することができる。さらに $vF_h$ が0.8の薬物BがCYP2C19で特異的に代謝されるとして、その薬物が薬物Xと併用投与した場合のAUCR

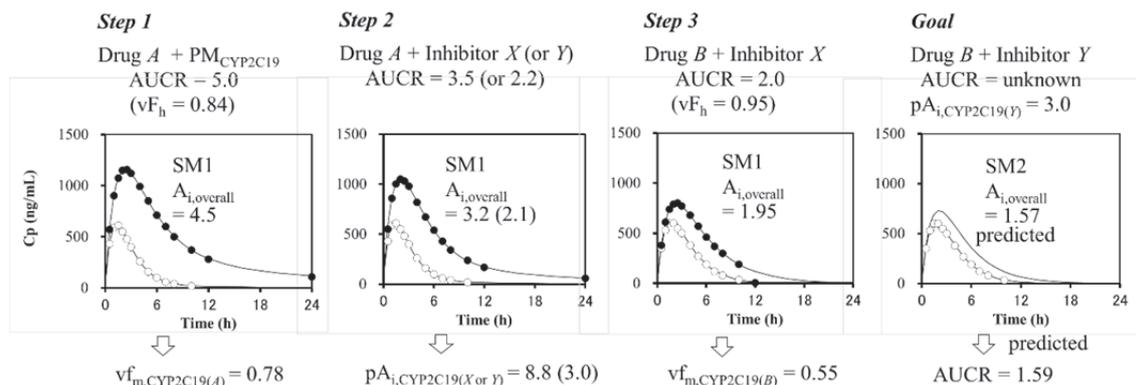


図4 逐次法による $pA_{i,CYP}$ および $vF_{m,CYP}$ の決定と未知の相互作用を予測する方法

の値 (2.0) から $A_{i,overall}$ 値が1.95と求められる場合に、その薬物Bの $f_{m,CYP2C19}$ の値は0.55と算出することができる (ステップ3)。また阻害剤Yの $pA_{i,CYP2C19}$  (=3.0) が阻害剤Xと同様の方法 (ステップ2) で求められているとしたときに、薬物Bと阻害剤Yを併用した場合の $A_{i,overall}$  (B+Y)とAUCR (B+Y)の値は、それぞれ1.57および1.59と算出することができて、SM2法により、最終目的 (Goal) とする血中濃度の上昇を予測することができる。

#### 解析に用いた相互作用に関する文献データ

文献で報告されているRAMを初めとする各種CYP1A2およびCYP2C19基質 [ランソプラゾール (LAN)；オメプラゾール (OME)；S-メフェニトイン (MEP)；テオフィリン (THE)；カフェイン (CAF)；タシメルテオン (TAS)；タクリン (TAC)；チザニジン (TIZ)；メラトニン (MEL)] とFLVの相互作用 (表2)、さらにはミダゾラム (MDZ) をはじめとする各種CYP3A4 [トリアゾラム (TRZ)；リドカイン (LID)；ゾピクロン (ZOP)；キニジン (QUN)；アルプラゾラム (ALP)] とアゾール

系抗菌薬を初めとするCYP3A4の強力な阻害剤 [ケトコナゾール (KTCZ)；イトラコナゾール (ITCZ)；フルコナゾール (FLCZ)；クラリスロマイシン (CLM)；エリスロマイシン (ERT)] との併用により生じた相互作用のデータを相互作用の予測法の検討に用いた。

#### 結果および考察

##### RAMとFLVの併用における相互作用のシミュレーション

2-Comp Dynamic解析法は、阻害剤の血中濃度が時々刻々変化して、それにつれてVictimの肝クリアランスも変化して起きるDynamic DDIのシミュレーションに適用できるものとして、検討を進めた結果、図5に示されるように、FLVの併用により生じたRAMの血中濃度の時間変化をうまく再現できることが分かった。

なおこのDynamic法の特徴は、方法において述べたように文献情報として入手可能な動態パラメータ [分布特性 ( $V_0$ ,  $V_{dss}$ ,  $K_d$ )、経口クリアランス ( $CL_{oral}$ )、吸収速度定数 ( $K_a$ )、消化管粘膜での代謝を回避して吸収された割

表2 各種CYP1A2およびCYP2C19基質とFLVの併用における相互作用の報告例

Victim		フルボキサミン (FLV)	AUCR	$vF_h$
ランソプラゾール (LAN)	40 mg	25 mg BID	3.8	0.92
オメプラゾール (OME)	40 mg	25 mg BID	5.6	0.7
S-メフェニトイン (MEP)	100 mg	87.5 mg QD	9.9	0.31
テオフィリン (THE)	257 mg	100 mg QD	3.3	0.94
カフェイン (CAF)	250 mg	50 mg BID	13.7	0.93
タシメルテオン (TAS)	5 mg	50 mg QD	6.5	0.57
タクリン (TAC)	40 mg	100 mg QD	8.3	0.13
チザニジン (TIZ)	4 mg	50 mg BID	32.6	0.14
メラトニン (MEL)	5 mg	50 mg single	22.7	0.06
ラメルテオン (RAM)	16 mg	100 mg BID	128	0.03

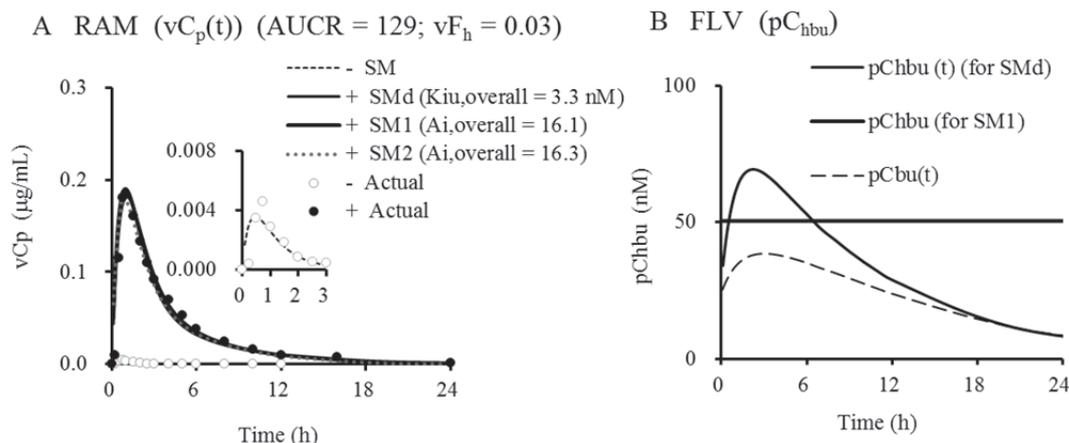


図5 RAMとFLVの併用における相互作用のシミュレーション (Dynamic法とStatic法の比較)

パネルA: FLVと併用した際のRAMの血中濃度の上昇のシミュレーション  
 パネルB: FLVの肝臓中の血中遊離形濃度の時間推移のシミュレーション

合 ( $F_a \times F_g$ )]を入力し、まずは相互作用の比較対照としてのVictim単独投与後の血中濃度推移を十分にfittingさせ、次いで阻害剤の血中濃度についても同様のfittingを行い、別途報告している方法<sup>3)</sup>を用いて $I_u(t)$ を計算し、最終的には単一のパラメータである $In vivo$   $K_{iu,overall}$ 値を微調節することにより [ $A_{i,overall}(t) = 1 + I_u(t)/In vivo K_{iu,overall}$ ]、Victimの血中濃度の上昇をシミュレーションするところにあつた(図5におけるSM<sub>d</sub>に対応する)。ただし方法において述べたようにこの $I_u(t)$ あるいは $A_{i,overall}(t)$ の代わりに、平均値( $I_u$ および $A_{i,overall}$ )を用いることでも(Static法)、血中濃度のシミュレーションには大きな違いがないことが確認された(図5におけるSM<sub>1</sub>およびSM<sub>2</sub>に対応する)。最終的にはStatic法であるSM<sub>1</sub>とSM<sub>2</sub>がより簡便でかつ有用性の高い方法として提案された。

#### 各種CYP1A2およびCYP2C19基質とFLVとの併用における相互作用のシミュレーション

6種類のCYP1A2基質(MEL、TIZ、TAC、TAS、CAFおよびTHE)および2種類のCYP2C19基質(MEPおよびOME)とFLVとの併用における相互作用についてSM<sub>d</sub>、SM<sub>1</sub>およびSM<sub>2</sub>を基本としたシミュレーションの結果を図6に示す。いずれの方法においても実際の相互作用をうまくシミュレーションできることが確認された。

#### AUCRはVictimのF<sub>h</sub>の大小によって決まる原理(Tubeモデル)に基づく解析

相互作用の予測に際しWs法はAUCRを過小に見積る傾向にあり、それを解決する方法としてTube法が最適であ

ることが確認された(AUCRと $A_{i,overall}$ および $F_h$ の関係は式14で示される)。そこで以下にその原理に基づき行った解析について説明する。まずFLVとの併用で比較的大きな相互作用を引き起こす薬(Victim)はRAM以外にも多数報告されていて、<sup>4)</sup>CYP1A2およびCYP2C19の両者の基質[これら二つの分子種の寄与率を合わせると8割を超える薬物]に着目すると、メラトニン(MEL)、チザニジン(TIZ)、カフェイン(CAF)等が挙げられる。

RAMを含め、それらのAUCRと $F_h$ を“対”にして示すと、(128, 0.032)、(22.7, 0.06)、(32.6, 0.14)および(8.0, 0.94)となる(ただしFLVの投与量はTIZとCAFでは100 mg QD、RAMではその2倍、MELではその半分となる相違がある)。これらの数値を比較することからもAUCRはVictimの $F_h$ が小さいほど大きくなるのが容易に想像された。

そこで、これらの対となる4組のデータをAUCRに関する理論式(式14)に代入し、FLVの投与量(100 mg QD)における $A_{i,overall}$ を見積もってみると、ほぼ類似した値(10前後の値)が得られ、これらの相互作用の違いは、主には $F_h$ の違いによるものであることが確認された。

さらにこれらの違いをより明確にするものとして、 $F_h(+)/F_h$ (Wsモデルではこの比は1で、併用時の $F_h$ は非併用時と変わらないことになる)に着目すると、RAMではその値は約20( $F_h$ の0.032から0.65への変化に相当)となり、Ws法においては、相互作用により増加するはずの $F_h$ を無視し、結果的には相互作用を過小に評価してしまう欠点を有していることが明確になった。

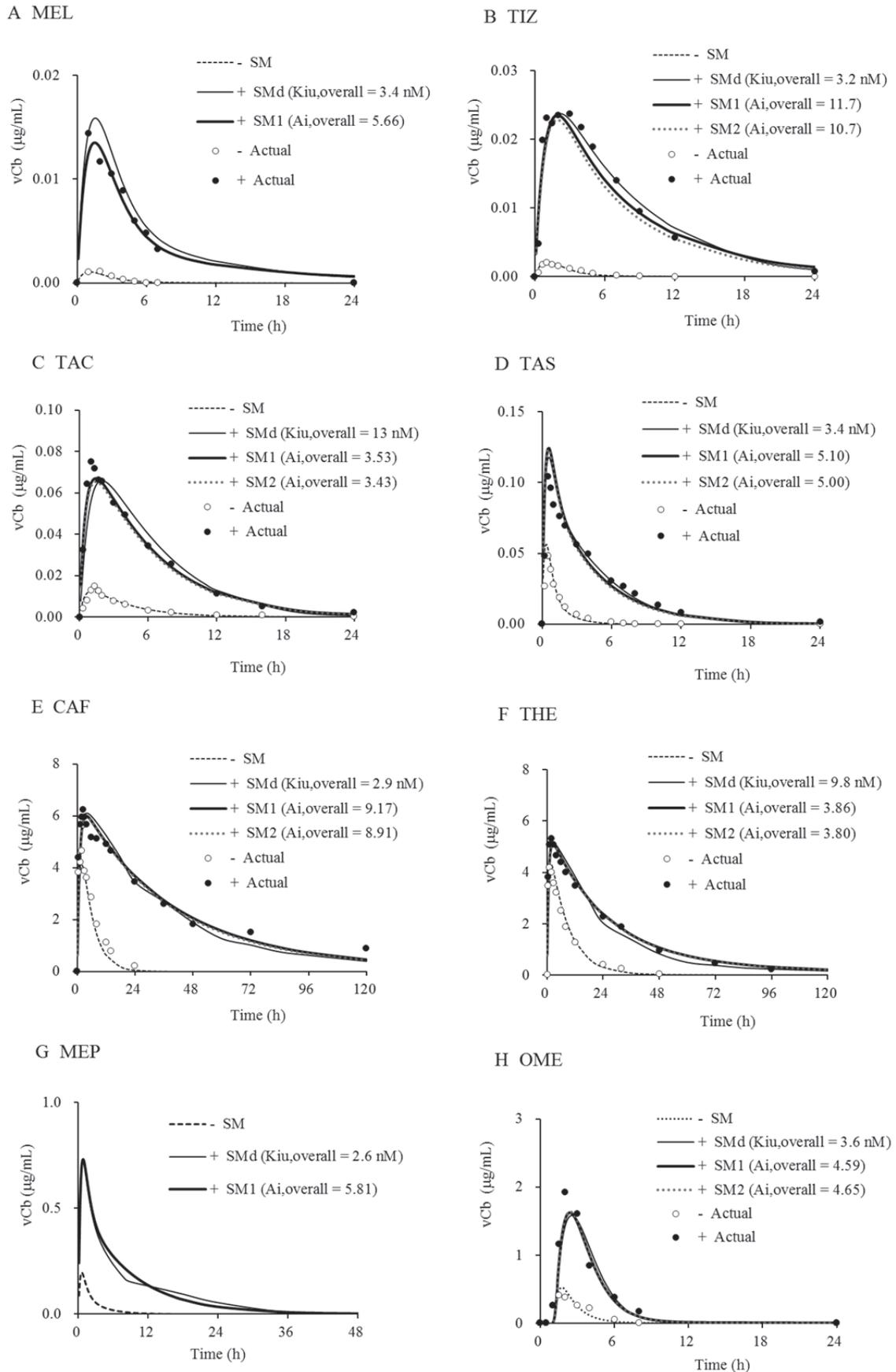


図6 各種CYP1A2およびCYP2C19基質とFLVとの併用における相互作用のシミュレーション

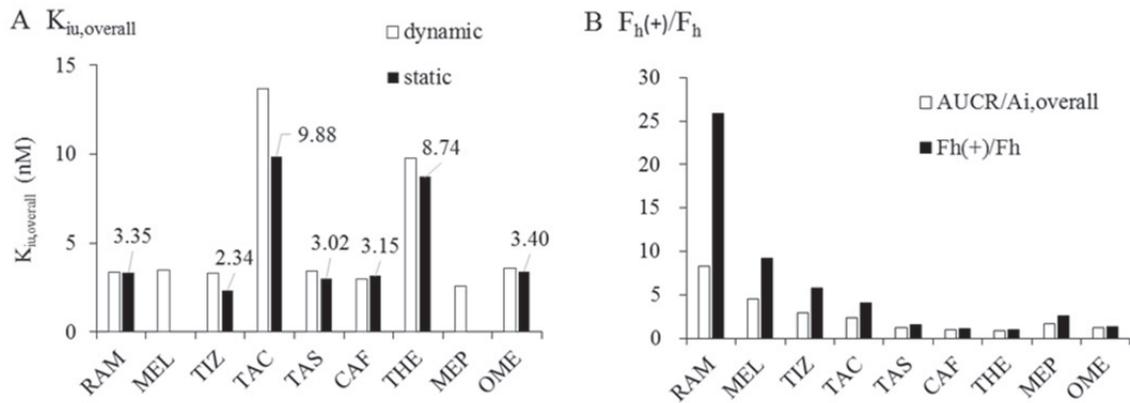


図7 各種CYP1A2およびCYP2C19基質とFLVとの併用で見られた相互作用の比較解析  
[ $K_{i,u,overall}$  および  $F_h(+)/F_h$  の比較]

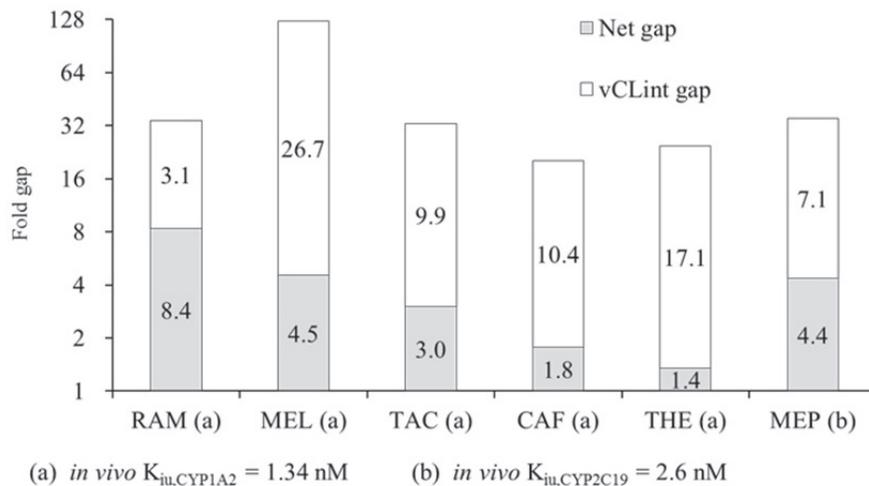


図8 *In vitro* および*In vivo*クリアランス間で見られるギャップによる $K_{i,u}$ 値の過大見積もりの可能性についての解析

#### AUCRを過小に見積もる別の要因 (*In vitro* $K_{i,u,overall}$ 値に含まれる誤差)

*In vivo*  $K_{i,u,overall}$ 値は二つの方法(すなわちDynamic法とStatic法)から見積もることができる。すなわちDynamic法では、実際の相互作用におけるVictimの血中濃度の変動を最もfitする条件でシミュレーションすることにより*In vivo*  $K_{i,u,overall}$ 値が見積られる。一方Static法では、式14においてAUCRの値とVictimの $F_h$ から $A_{i,overall}$ 値を見積り、さらに、我々が見出した方法に基づいて(上述)、阻害剤の血中濃度のAUCから肝細胞内の遊離形濃度の平均値( $I_u$ )を見積り、そこから式16に基づき*In vivo*  $K_{i,u,overall}$ 値が見積られる。しかしこうして得られる2つの $K_{i,u,overall}$ 値間ではそれほど大きな差は見られなかった。しかし、これらの値を*In vitro*試験で得られている $K_{i,u,overall}$ 値と比較すると数十倍以上の差が見られた。す

なわち*In vitro*の方が数十倍大きな値(阻害活性の過小見積)を示すことがわかった。*In vitro*と*In vivo*の間で見られるこのようなギャップについては、<sup>12, 13)</sup>以前より多くの研究者によって指摘されてきたところのものである。

#### *In vitro* 阻害活性が過小に見積もられる原因の解明

それではどのような原因で*In vitro*  $K_{i,u,overall}$ 値が*In vivo*値に比べ数十倍も大きくなるのかについては、我々が解明するまでは全く不明であった。しかし種々の角度から、そのギャップの原因を調べたところ、*In vitro*試験で使われるヒト肝ミクロソーム(HLM)には、精製過程で生じるHLMの酸化分解産物(長鎖ポリ不飽和脂肪酸)が含まれていて(それを完全に除去することは不可能)、それが酵素活性を低下させていること、<sup>14)</sup>すなわちそれらの分解物が酵素阻害的に作用して、Victimの正味の代謝クリア

ランスのみならず阻害剤の阻害活性を過小に評価してしまうことがその後の我々の解析（図8）により明らかとなった。さらに $K_{i,u,overall}$  値の過小評価の割合を定量的に評価する方法（ $\lambda_{HLM}$ 法）を見出すことができた。

### 複数のCYP分子種が関与する相互作用の予測法

ファイザー社のObachらは<sup>15)</sup>武田薬品がFDAに提出した申請データ（公開）に掲載されたRAMとFLVの併用により生じた異常に大きな相互作用に着目し、彼ら独自で各種の*In vitro*試験を実施し、*In vitro*からこの相互作用を予測する試みを報告している。しかし彼の予測はあくまでも $W_s$ 法によるものであったため、予測には失敗しているが、相互作用の予測における重要な原理を導いる。

すなわちRAMとFLVの併用で起きた相互作用は、Victimの代謝において三つのCYP分子種（CYP1A2、CYP2C19およびCYP3A4）が関与し（例えば、CYP1A2の関与の割合は $f_{m,CYP1A2}$ で表される）、阻害剤がそれぞれのCYP分子種に対し、異なる強度で阻害的に働き（例えばCYP1A2に対する阻害活性は $A_{i,CYP1A2}$ で表される）引き起こされる“複合”阻害による相互作用と位置付けて、その大きさを示す式15に類似の式を導いる。なお彼らの報告によれば、消化管での初回通過効果などがなければ、その相互作用の大きさが、AUCRに等しい（ $W_s$ モデル）と報告しているが、我々の論文に従えば、それは $A_{i,overall}$ に相当し、正式には式15のように示される。

この式は任意の阻害剤とVictimを併用することにより生じる未知の相互作用を既知の相互作用から予測するための

表3 FLVの $pA_{i,CYP}$ 値

Daily Dose	$pA_{i,CYP1A2}$	$pA_{i,CYP2C19}$	$pA_{i,CYP2D6}$	$pA_{i,CYP3A4}$
n x pD				
2 x 25 mg	9.5	6	1	1.3
1 x 100 mg	18	10	1	1.6
2 x 100 mg	35	20	1	2.3

重要な式となる。そこで、さらにRAMおよびそれ以外のVictimとFLVの相互作用の事例（18事例）を使ってFLVの $A_{i,CYP}$ あるいはVictimの $f_{m,CYP}$ を次節に示す方法で段階的に見積もっていくと表3および図9に示す結果となり、さらにそれを基にして、未知の相互作用の予測を可能にすることが確認された。

### FLVの併用で引き起こされる相互作用の予測（ $A_{i,overall}$ 法）

以下にFLV（100 mg QD）の $A_{i,CYP}$ 値を段階的に見積もっていった過程と結果について示す。まず最初に、CYP2C19単独で代謝されるMEP（ $f_{m,CYP2C19}=1$ ）とFLVとの併用の相互作用から、 $A_{i,CYP2C19}$ 値（10）を見積もり、そうして得られた $A_{i,CYP2C19}$ 値を使って、次にCYP2C19とCYP3A4の両者により代謝されるOME（ $f_{m,CYP2C19}/f_{m,CYP3A4}=0.92/0.08$ ；CYP2C19のPMのPKから推定）とFLVとの併用の相互作用から、 $A_{i,CYP3A4}$ 値（1.6）を見積もり、さらにCYP1A2単独で代謝されるCAF（ $f_{m,CYP1A2}=0.94$ ）とFLVとの併用の相互作用から $A_{i,CYP1A2}$ の値（20）を見積れることが確認された。

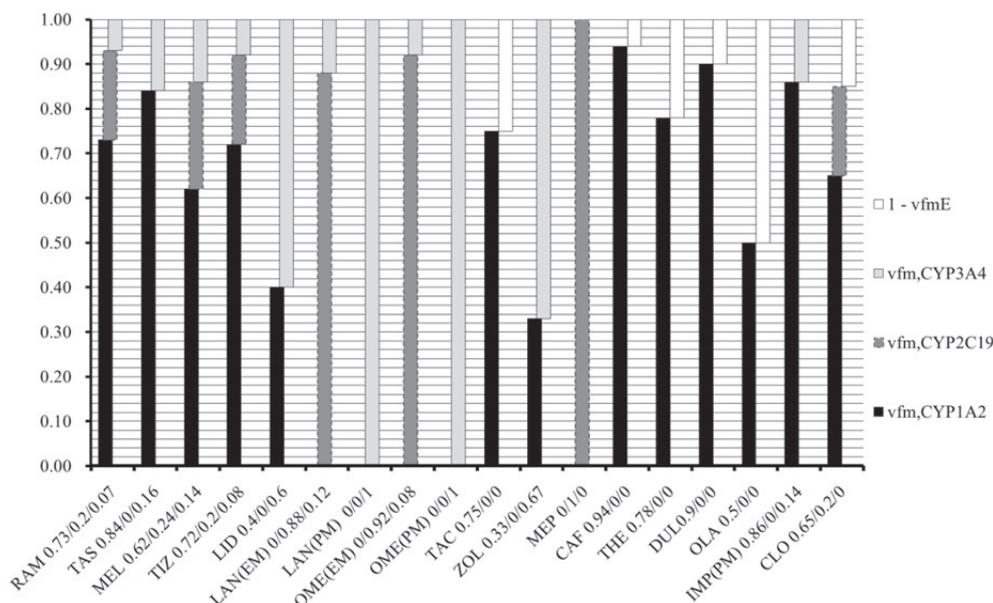


図9 各種のCYP1A2あるいはCYP2C19基質の $v_{f_m,CYP}$ 値

次にRAMの $f_{m,CYP}$ 値について、Obachらの*In vitro* 試験からは $f_{m,CYP1A2}/f_{m,CYP2C19}/f_{m,CYP3A4} = 0.49/0.42/0.083$ となることが推定されていたが、上記の $A_{i,CYP}$ の値およびRAMとKTCZ (CYP3A4の強力な阻害剤) あるいはFLCZ (CYP2C19の強力な阻害剤) との相互作用のデータを合わせ考えて、血中濃度の上昇が最もfitする値として $f_{m,CYP1A2}/f_{m,CYP2C19}/f_{m,CYP3A4} = 0.73/0.2/0.07$ を見積もることができた (なおObachらの値に比べCYP2C19の寄与率が半減し、その分CYP1A2の寄与率が増える)。またその他のVictimとFLVとの併用による相互作用についても、上記の $A_{i,CYP}$ 値と $f_{m,CYP}$ に関する報告値を使って予測し、実際と一致する結果を見出すことができた。

すなわち、FLVとの併用による相互作用については、Victimの $f_{m,CYP}$ がわかればいかなるも相互作用も精度よく予測できることが確認された。

### CYP3A4が関与する相互作用の予測

以上はFLVが阻害剤として働くCYP1A2とCYP2C19が関与する相互作用の予測に関するものであったが、さらにCYP3A4の阻害により引き起こされる相互作用の予測の可能性についても検証を行った。すなわちCYP3A4の代表的な基質であるMDZやTRZに対して、CYP3A4の代表的な阻害剤あるKTCZやITCZ、さらにはERTなど (12種類) と併用した際に引起される相互作用についても、同様の方法 ( $A_{i,overall}$ 法) でシミュレーションが可能であるか否か

について検討を行った。

### MDZおよびTRZをCYP3A4のprobe とする相互作用の予測

CYP3A4により代謝される薬物においては、経口投与後に、肝での初回通過効果のみならず小腸粘膜に発現しているCYP3A4により初回通過効果を受け、バイオアベイラビリティが低下する問題が指摘される。しかしそれが相互作用の予測にどのように影響するかについては、これまでに多数の報告がなされているが、<sup>16)</sup>あまりにもモデル (PBPKモデル) が複雑 (入力データが多い) 過ぎるため、簡単にその影響を予測できるものにはなっていない。そこで我々は、できるかぎり簡単にその影響を予測し、CYP3A4が関与する多くの相互作用の正確な予測につながる方法について、主にCYP3A4の代表的probeであるMDZ ( $f_{m,CYP3A4} / f_{m,nonCYP} = 0.85/0.15$ ) とTRZ ( $f_{m,CYP3A4} = 1.0$ ) に着目して、検討を行った。

CYP3A4が関与する相互作用については、MDZやTRZが二つ投与経路 (静脈内および経口投与) でprobeとして使われ、<sup>17)</sup>各種阻害剤のCYP3A4に対する阻害効果を評価する臨床試験が多数報告されている。

そこで我々は、それらのデータに着目して、Victimの経口投与および静脈内投与の違いにより生じる相互作用の大きさの違いをシミュレーション (二つの異なる投与経路での同時当てはめ) し、MDZおよびTRZの $F_g$ を見積もったところ、それぞれの値は0.5および0.7となり、またほとん

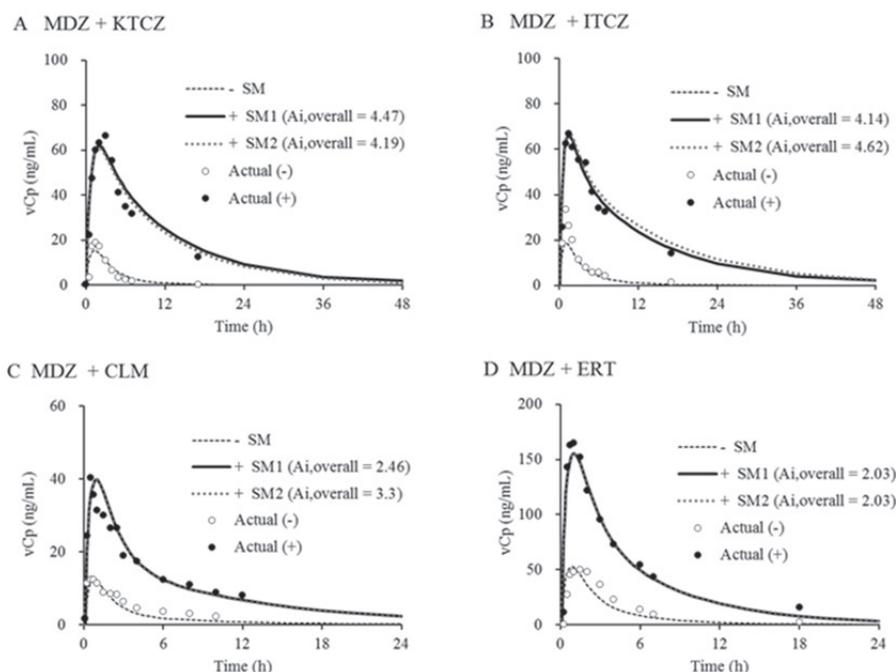


図10 CYP3A4の代表的基質であるMDZとCYP3A4の阻害剤の併用で見られる相互作用のシミュレーション

表4 各種CYP3A4阻害剤の $pA_{i,CYP3A4}$ 値

Perpetrator	Daily Dose n x pDff	$A_{i,CYP3A4}$	CYP3A4 inhibition	MBI
ITCZ	1 x 200 mg	11.2	91.1	No
KTCZ	1 x 400 mg	9.60	89.6	No
FLCZ	1 x 200 mg	2.52	60.3	No
CLM	2 x 500 mg	2.64	62.1	Yes
ERT	3 x 500 mg	2.48	59.7	Yes

どのCYP3A4阻害剤においては併用時に $F_g$ は1となる結果 [ $F_g(+)=1$ ]を導くことができた。

したがって、これらの薬物をprobeとするいかなる相互作用についても、上記の $F_g$ および $F_g(+)$ 値を仮定すれば、 $A_{i,overall}$ 法を用いて解析（シミュレーションおよび予測）が可能となり（図10）、結果的には、それぞれの相互作用における阻害剤（12種類）の $A_{i,CYP3A4}$ を正確に見積もることができることがわかった。

#### その他のCYP3A4の基質でみられた相互作用の予測

さらに消化管での初回通過効果が無視できると予想された5種類のCYP3A4基質[Victim: LID ( $f_{m,CYP3A4}=0.5$ )、ZOP ( $f_{m,CYP3A4}=0.5$ )、TAS ( $f_{m,CYP3A4}=0.3$ )、QUN ( $f_{m,CYP3A4}=1.0$ )、ALP ( $f_{m,CYP3A4}=1.0$ )]とそれらのCYP3A4阻害剤との併用により生じる相互作用についても、予め別の相互作用の解析から見積もられた $f_{m,CYP3A4}$ 値と対応する阻害剤の $A_{i,CYP3A4}$ を使って、それらのVictimと阻害剤の組み合わせにより相互作用を予測できるか否かについて調べてみた。

まずこれらの化合物の $F_g$ についてCYP3A4で代謝される薬物（Victim）は多数挙げられるが、一般的には $F_g$ は薬物が消化管粘膜を透過する際の透過クリアランス ( $CL_{perm}$ ) に対する消化管粘膜でのCYP3A4による代謝クリアランス ( $CL_{g,int,CYP3A4}$ ) の比で決まると考えられる。したがってその観点に立って、 $F_g$ を見積もることは理論的に可能と思われる。しかし $F_g$ が小さい薬物においては ( $F_g < 0.5$ )、同時に $P_{gp}$ の基質 ( $CL_{perm}$ 値の低下) でもあることが多く、吸収率 ( $F_a$ ) の低下を考慮すると、それを正確に見積もることは至難の業と思われる（将来の研究課題）。

しかし薬物が $P_{gp}$ の基質ではない薬物については、 $CL_{perm}$ 値はTRZの $CL_{perm}$ 値に近似でき、また $CL_{g,int,CYP3A4}$ の値はCYP3A4に依存した肝クリアランスの値に比例すると考え、TRZの $F_g$ との相対比較により、

その薬物の $F_g$ 値を大まかに推定することができる。したがって、そのようにして得られた $F_g$ の値が十分に大きい場合（すなわち1に近い場合）、かなりの正確さをもって、消化管での初回通過効果は無視できると考え、 $F_g=1$ の判定基準に用いた。すなわち上述の5種類のCYP3A4の基質についてはいずれも $F_g=1$ と判定することができた。

その結果、MDZやTRZ以外のCYP3A4基質で $F_g=1$ と推定された複数の薬物（QUN、ALP、ZOPなど）の相互作用についても、図11に示されるように、MDZやTRZの相互作用から見積もられた阻害剤の $A_{i,CYP3A4}$ 値から正確に予測できることがわかった。

#### 相互作用の予測における代謝物のCYP阻害あるいは阻害剤のCYP阻害様式の影響

CYPの阻害剤の中には代謝物も親化合物に勝るとも劣らないほどの強力な代謝阻害活性を有するものが少なからず報告されている（ITCZ<sup>18</sup>）；フロキセチン；ゲムフィブロジルなど）。特にITCZ（100 mg QD）に関しては、投与後の代謝物を含めた競合阻害に基づく代謝阻害活性の時間変化 [ $A_{i,overall}(t)$ ] についてのシミュレーション結果が報告されている。その報告によると $A_{i,overall}$ のトラフ値は約4となり、投与1時間後に第1のピーク（約10）さらに6時間後に第2のピーク（約5）になるダイナミックな変化が見られる。

しかしMDZとITCZ（100 mg QD）の併用による相互作用を2種類の方法（DynamicおよびStatic法）によりシミュレーションし、両法間で比較した結果、大きな差はないことがわかった。すなわち、図12に示されるように $A_{i,overall}(t)$ の変化については、 $A_{i,overall}(t)$ を平均化して得られる値 ( $A_{i,overall1}$ ) を用いてシミュレーションを行っても阻害剤併用時のVictimの血中濃度時間推移には差が見られないことが確認された。

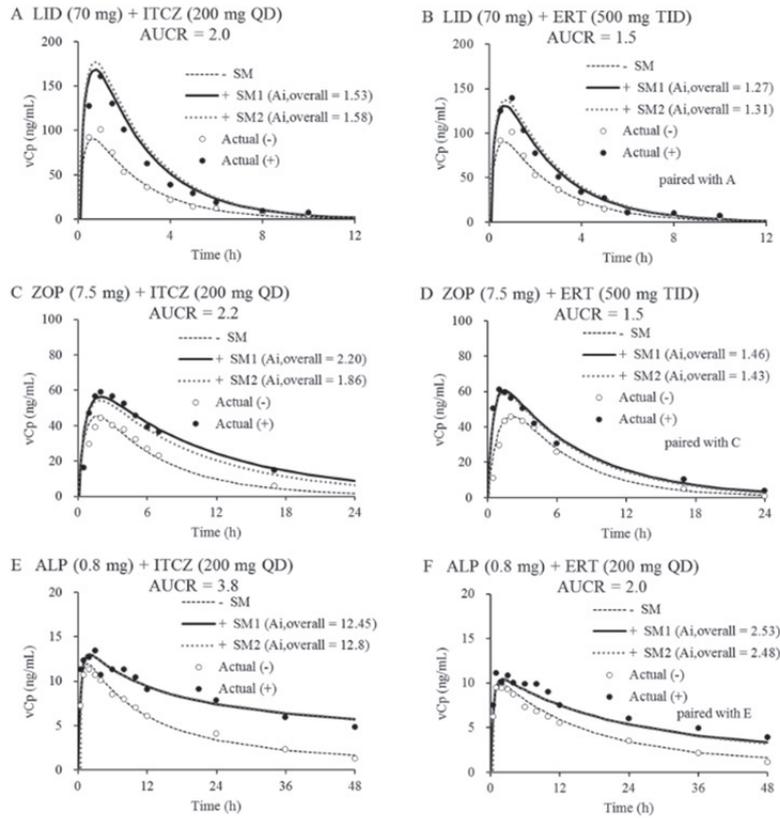


図11 各種のCYP3A4の基質とITCZあるいはERTの併用でみられた相互作用の予測

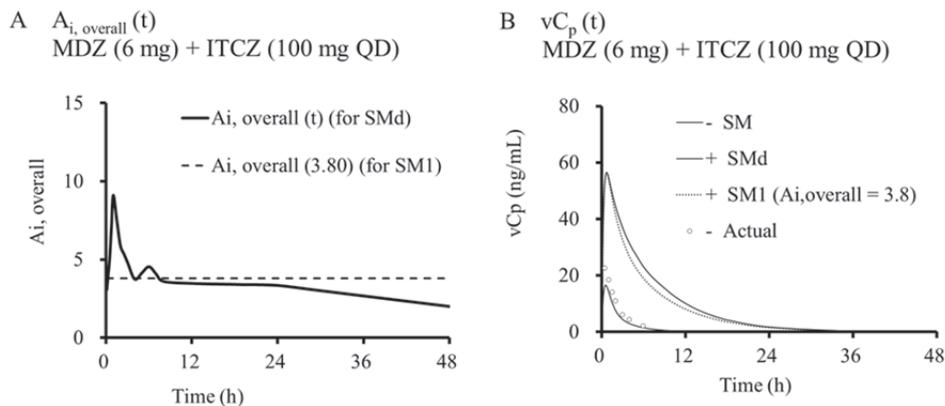


図12 ITCZの代謝物の代謝阻害活性を考慮した時間依存的 $A_{i, overall}$  ( $A_{i, overall}(t)$ )<sup>18)</sup> (パネルA) と予測されるITCZ併用時のMDZの血中濃度の上昇 (パネルB)

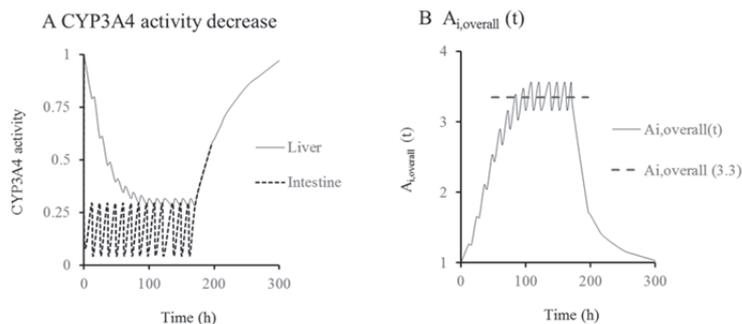


図13 CLMの反復投与におけるMBIによる肝および消化管でのCYP3A4活性の低下の時間推移 (パネルA) および $A_{i, overall}$ の時間推移 (パネルB)

また非競合的で時間依存的な阻害活性 (mechanism-based inhibition: MBI) を示す阻害剤についても複数のもの (代表的なものとしてCLMが挙げられる) が報告されている。またさらにCLMについては、反復投与後の肝および小腸でのCYP3A4の活性変化に関するシミュレーション結果が報告されている。<sup>19)</sup>そこで、その変化に対応した $A_{i,overall}$ の時間変化についてシミュレーションしてみると図13に示すように、定常状態下では、トラフ値に対するピークとトラフの振幅がわずか1/5程度となる値を示し、Dynamic効果が無視できる結果が示された。すなわち、いずれの阻害剤についても、その程度の $A_{i,overall}(t)$ についての変動は相互作用の予測にはほとんど影響しないこと、すなわち $A_{i,overall}$ を規定することにより、相互作用を予測できることが確認された。

### $A_{e,oral}$ を考慮した相互作用の予測

これまで述べてきたことから、肝消失型100%の薬物 (Victim) を前提にした相互作用の予測についての説明であったが、薬物によれば、少量であっても未変化のまま尿中に排泄されるものもあり、そのような場合、相互作用の受け方にどのような違いが生じるかについても検証を行った。

例えばキニジン ( $f_{m,CYP3A4} = 1$ ;  $A_{e,oral} = 0.35$ ) とITCZ ( $A_{i,CYP3A4} = 12.8$ ) を併用した際に見られる相互作用 ( $AUCR = 2.5$ ) について、シミュレーションを行ってみると、キニジンの肝での代謝はITCZにより強く阻害を受け、肝代謝で100%消失のであればAUCR値が13となるところが、その1/5程度に低下してしまうことが、 $A_{e,oral}$ を考慮したシミュレーションにより理論的に示された。

### まとめ

RAMとFLVとの併用により生じた異常に大きな相互作用については、規制当局が推奨するいかなる方法 (PBPKを駆使したDynamic法) を用いても、予測が困難であった (過小予測となる)。その主な原因として、 $W_s$ モデルを仮定したこれまでの方法では、RAMのような $F_h$ が小さな薬物 (Victim) においては、相互作用により生じる $F_h$ の増分を無視してしまうことによるものであることが示された。Tube法がそれを回避する最良の手段であることが示された。

相互作用の予測に際しては、これまでにPBPKモデルを基本にした方法 (多くの*In vitro*試験から得られる特性を

*In vivo*へとbottom upしていく方法) が推奨されてきたが、その結果、予測はますます複雑化し、むつかしいものになってきており、世界の製薬研究者の悩みの種となっているが、本研究により提案された方法 (2-Comp  $A_{i,overall}$ 法) は非常にsimpleなもので、着目する相互作用とその他の薬物の相互作用との間でのデータの橋渡しを可能とする応用度の高いものであることが、様々な相互作用 (主にCYP1A2 およびCYP3A4が関与する相互作用) のシミュレーションを通じて示された。

本研究により提案された2-Comp  $A_{i,overall}$ 法は今後のこの分野の研究を飛躍的に発展させるものと期待される。

### 謝辞

著者は薬剤学分野のそれまでの功績と本論文で取り扱った薬物間相互作用に関連した研究における成果により、本年9月11日に日本薬物動態学会からJSSX fellowの称号を授与されました。推薦頂いた林正弘先生 (高崎健康福祉大学教授・薬学部長) ならびに大野泰雄先生 (元国立医薬品食品衛生試験所・所長) に深謝いたします。

### 引用文献

- 1) Okuda H, Nishiyama T, Ogura K, Nagayama S, Ikeda K, Yamaguchi S, Nakamura Y, Kawaguchi K, Watabe T. Lethal drug interactions of sorivudine, a new antiviral drug, with oral 5-fluorouracil prodrugs. *Drug Metab Dispos.*, 25, 270-273 (1997).
- 2) Guidance for industry drug interaction studies — study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations February 2012 Clinical Pharmacology [druginfo@fda.hhs.gov](mailto:druginfo@fda.hhs.gov)  
<http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>
- 3) Iga K. Use of three-compartment physiologically based pharmacokinetic modeling to predict hepatic blood levels of fluvoxamine relevant for drug-drug interactions. *J Pharm Sci.*, **104**, 1478-1491 (2015).
- 4) Iga K. Simulation of metabolic drug-drug interactions perpetrated by fluvoxamine using hybridized two-compartment hepatic drug-pool-based tube modeling and estimation of in vivo inhibition constants. *J Pharm Sci.*, **104**, 3565-3577 (2015).

- 5) Iga K. Dynamic and static simulations of fluvoxamine-perpetrated drug-drug interactions using multiple cytochrome P450 inhibition modeling, and determination of perpetrator-specific CYP isoform inhibition constants and fractional CYP isoform contributions to victim clearance. *J Pharm Sci.*, **105**, 1307-1317 (2016).
- 6) Iga K, Kiriyama A. Simulations of cytochrome P450 3A4-mediated drug-drug interactions by simple two-compartment model-assisted static method. *J Pharm Sci.*, **106**, 1426-1438 (2017).
- 7) Sateia MJ, Kirby-Long P, Taylor JL. Efficacy and clinical safety of ramelteon: an evidence-based review. *Sleep Med Rev.*, **12**, 319-332 (2008).
- 8) Yao C, Levy RH 2002. Inhibition-based metabolic drug-drug interactions: predictions from in vitro data. *J Pharm Sci.*, **91**, 1923-1935 (2002).
- 9) Ito K, Sugiyama Y. Use of clearance concepts and modeling techniques in the prediction of metabolic drug-drug interactions. *Trends Pharmacol Sci.* **31**, 351-355 (2010).
- 10) Iga K, Kiriyama A, Honbo A. A multi-sinusoidal compartment model as an alternative to the dispersion model for hepatic extraction kinetic analysis. *同志社女子大学学術研究年報* **57**, 105-113 (2006).
- 11) Iga K. Dependency of drug-drug interaction on hepatic extraction ratio of the victim drug. *同志社女子大学学術研究年報* **62**, 93-105 (2011).
- 12) Yao C, Kunze KL, Trager WF, Kharasch ED, Levy RH. Comparison of in vitro and in vivo inhibition potencies of fluvoxamine toward CYP2C19. *Drug Metab Dispos.*, **31**, 565-571 (2003).
- 13) Greenblatt DJ, Venkatakrishnan K, Harmatz JS, Parent SJ, von Moltke LL. Sources of variability in ketoconazole inhibition of human cytochrome P450 3A in vitro. *Xenobiotica.*, **40**, 713-720 (2010).
- 14) Yao HT, Chang YW, Lan SJ, Chen CT, Hsu JT, Yeh TK. The inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on human CYP enzymes. *Life Sci.*, **79**, 2432-2440 (2006).
- 15) Obach RS, Ryder TF. Metabolism of ramelteon in human liver microsomes and correlation with the effect of fluvoxamine on ramelteon pharmacokinetics. *Drug Metab Dispos.*, **38**, 1381-1391 (2010).
- 16) Gertz M, Harrison A, Houston JB, Galetin A. Prediction of human intestinal first-pass metabolism of 25 CYP3A substrates from in vitro clearance and permeability data. *Drug Metab Dispos.*, **38**, 1147-1158 (2010).
- 17) Tsunoda SM, Velez RL, von Moltke LL, Greenblatt DJ. Differentiation of intestinal and hepatic cytochrome P450 3A activity with use of midazolam as an in vivo probe: effect of ketoconazole. *Clin Pharmacol Ther.*, **66**, 461-471 (1999).
- 18) Templeton IE, Thummel KE, Kharasch ED, Kunze KL, Hoffer C, Nelson WL, Isoherranen N. Contribution of itraconazole metabolites to inhibition of CYP3A4 in vivo. *Clin Pharmacol Ther.*, **83**, 77-85 (2008).
- 19) Quinney SK, Zhang X, Lucksiri A, Gorski JC, Li L, Hall SD. Physiologically based pharmacokinetic model of mechanism-based inhibition of CYP3A by clarithromycin. *Drug Metab Dispos.*, **38**, 241-248 (2010).