

コモンマーモセット及びヒト化肝臓 TK-NOG マウスを用いた臨床薬物動態予測

Prediction of Clinical Pharmacokinetics Using Common Marmoset and Hu-liver TK-NOG Chimeric Mice

令和5年度 論文博士申請者 松本 涉吾 (Matsumoto, Shogo)

創薬においてヒトにおける薬物動態 (PK) パラメータの予測は、開発化合物の選定、毒性試験における用量設定ならびに第 I 相臨床試験計画の立案に大きく貢献する。中でも、クリアランス (CL) 及び分布容積 (Vd) は生体における薬物曝露量を規定する重要な因子であるため、予測の意義は大きい。

ヒト PK パラメータの予測手法の一つとしては、動物実験により得られた PK パラメータと体重との両対数線形関係 (いわゆるアロメトリー則) からヒト PK パラメータを外挿する手法が挙げられる。現在のところ、アロメトリー手法を用いた CL 及び Vd の予測精度は、ラット、イヌ及びサルの3種を用いた手法の予測精度が最も高く、単独の動物種を用いたアロメトリー手法である Single-species scaling (SSS) 手法の場合は、サルを用いた場合に比較的高い予測精度を達成できるとされている。しかしながら、開発化合物選定前の化合物最適化の段階では、ラット、イヌ及びサルすべての動物種を用いた評価を実施することは化合物合成やスループット性の課題がある。また、近年サルは非常に入手が難しい動物種となっており、新たな動物種を用いた予測手法が期待されている。

そこで本研究では、薬物動態研究への活用が期待されているコモンマーモセット及びヒト化肝臓キメラマウスを用いて、単独動物種によるヒト PK パラメータの予測を試みるとともに、これら動物種が化合物最適化段階におい

て有用な動物種であるかを検討した。

第一章 コモンマーモセットによるヒト PK パラメータ予測および毒性試験動物種としての有用性¹⁾

コモンマーモセットは医薬品の有効性や安全性試験に利用される小型の霊長類であるが、薬物動態研究における使用例は限られている。本章では、高血圧治療薬バルサルタンの毒性試験においてコモンマーモセットが利用されていることに着目し、コモンマーモセットが開発化合物の選定ならびに毒性試験に活用可能であるかを検討した。

はじめに、バルサルタンを含む4種類のサルタン系化合物について、ヒトにおけるCLおよびVdを予測した。すなわち、これら4種類の化合物をコモンマーモセットに単回静脈内投与後、得られた血中濃度推移より計算されたPKパラメータを元に、SSS法によりヒトCL及びVdを予測した。その結果、本法による予測精度は総じて高く、全ての化合物でCL及びVdの予測誤差が2倍以内であることが示された。

毒性試験は、ヒトと同じ主要代謝物が一定量曝露される動物種を用いて実施することが望ましい。そこで、次の検討として、複数の動物種の肝細胞におけるバルサルタンの代謝物生成を評価した。その結果、コモンマーモセットのみがヒトと同様に主要代謝物として4位水酸化バルサルタンを生成することが明らかになった (Fig. 1)。さらに、コモンマーモセットにバルサルタン (30 mg/kg) を単回経口投与したところ、4位水酸化バルサルタンの最高血中濃度は約 350 ng/mL であった。この値は、バルサルタンの臨床投与量 (80~160 mg) をヒトに経口投与した際の4位水酸化バルサルタンの血中濃度上限値 (380 ng/mL) と同程度であったことから、バルサルタンの申請資料にて報告されている毒性試験での最大無影響量 (60 mg/kg) によって、ヒトにおける4位水酸化バルサルタンの曝露を担保できると考えられた。

以上より、コモンマーモセットは、バルサルタンを含むサルタン系化合物のヒト PK パラメータを高い精度で予測できることから、化合物最適化に有用な動物種である可能性が示された。また、バルサルタンについてはコモンマーモセットがヒトと同じ主要代謝物を生成し、かつ経口投与後にヒトと同じ主要代謝物の一定量の曝露が認められることから、コモンマーモセットは少なくともバルサルタンの毒性試験に有用な動物であったことが検証された。

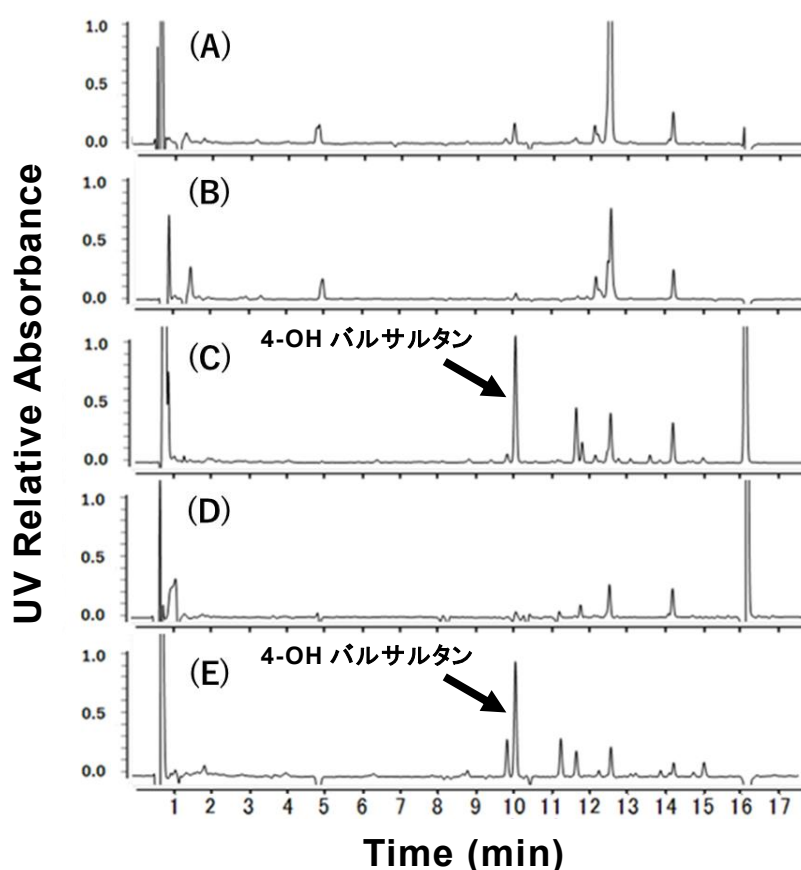


Fig. 1. ラット (A)、イヌ (B)、マーモセット (C)、サル (D) 及びヒト (E) 肝細胞を用いてバルサルタンを代謝させた試料の UV クロマトグラム

第二章 ヒト化肝臓 TK-NOG マウスを用いた新規 PBS 法によるヒト CL 予測²⁾

ヒト化肝臓キメラマウスとは免疫不全マウスに肝障害を誘発させた後、ヒト肝細胞を移植し、生着させたモデルマウスである。ヒト化肝臓キメラマウ

スを用いた SSS 法によるヒト CL 予測については、良好な予測精度を示す幾つかの報告がある。しかし、ヒト化肝臓キメラマウスの作製過程においてマウス肝細胞を完全に除去することは困難であり、残存したマウス肝細胞内の酵素による薬物代謝活性がヒト CL の予測精度を低下させることが課題とされている。そこで本研究ではこの課題を克服するため、補正 Physiologically Based Scaling (PBS) 法の開発を試みた。

はじめに、ヒト化肝臓キメラマウスの一種であるヒト化肝臓 TK-NOG マウス及び対照動物である野生型マウス (ICR 系統) に、ヒトにおいて主に肝代謝により消失することが報告されている 24 種の化合物を静脈内投与し、血中濃度データより得られた PK パラメータを用いて、SSS 法によるヒト肝クリアランス (CL_h) 予測を行った。その結果、ヒト化肝臓 TK-NOG マウスから得られた予測値が実測値の 2 倍以内の誤差に収まる割合は 54.2%であり、Absolute average fold error (AAFE) は 2.0 と良好であった (Fig. 2)。しかし、アンチピリンとプロベネシドについては予測値が実測値を大きく上回った。この原因として、アンチピリン及びプロベネシドの *in vitro* 代謝活性がヒトと比較してマウス肝細胞で非常に高かったことから、ヒト化肝臓 TK-NOG マウスに残存するマウス肝細胞における代謝が CL_h 予測精度を低下させた可能性が示唆された。

そこで、マウス肝細胞とヒト肝細胞との *in vitro* 代謝活性比とヒト肝置換率 (Replacement Index, RI) を利用する補正 PBS 法を検討した。まず、ヒト化肝臓 TK-NOG マウスを用いた検討により得られた CL_h を Well-stirred モデルにより肝重量単位の肝固有クリアランス (CL_{h,int}) に変換した。得られた CL_{h,int} にはマウス由来の肝細胞による代謝も含まれているため、上述の *in vitro* 代謝活性比及び RI で補正することによりヒト肝置換を達成した成分のみの CL_{h,int} を推定した。得られた CL_{h,int} を CL_h に逆変換した結果、CL_h の

予測値が実測値の 2 倍以内の誤差に収まる割合は 58.3%であり、AAFE は 1.8 であった。また、アンチピリン及びプロベネシドの予測値は、SSS 法では実測値の 3.2 及び 4.5 倍と高かったのに対し、補正 PBS 法ではそれぞれ 2.1 及び 1.2 倍にまで改善した (Fig. 2)。

以上より、補正 PBS 法はこれまで課題とされてきた残存マウス肝細胞による代謝の影響を克服し得る画期的な手法であることが示された。

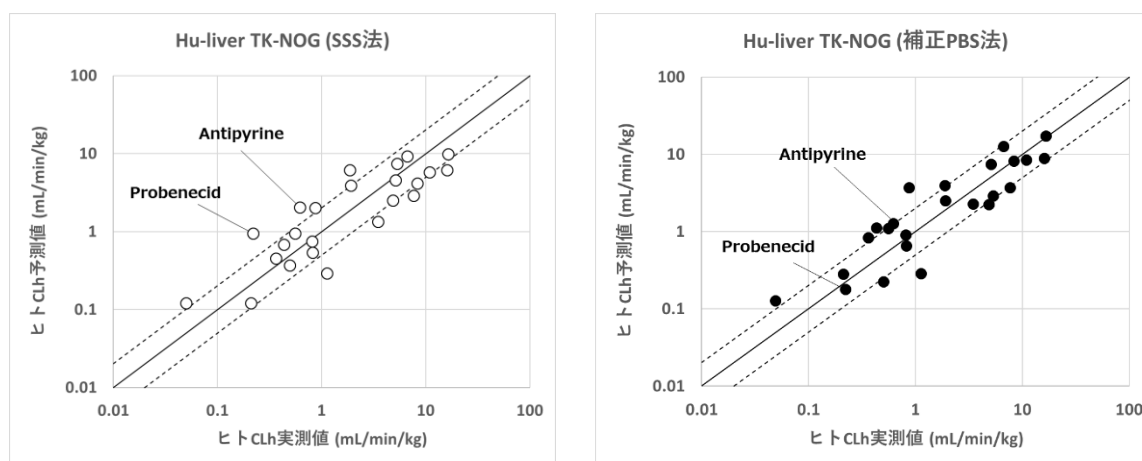


Fig. 2. ヒト化肝臓 TK-NOG マウスを用いた SSS 法 (左図) または補正 PBS 法 (右図) によるヒト CLh 予測結果 (破線は二倍誤差)

第三章 コモンマーモセットおよびヒト化肝臓 TK-NOG マウスと汎用動物種とのヒト PK パラメータ予測精度の比較

コモンマーモセット及びヒト化肝臓 TK-NOG マウスの有用性をさらに検討するため、ヒト PK パラメータの予測精度についてコモンマーモセットを用いた SSS 法、ヒト化肝臓キメラマウスを用いた補正 PBS 法および汎用動物種を用いた SSS 法を比較した。すなわち、第二章にて用いた 24 化合物をラット、イヌ及びコモンマーモセットに単回静脈内投与し、得られた PK パラメータよりヒト CLh 及び Vd を予測した (コモンマーモセットの値は既報値³⁾を用いた)。その結果、CLh 予測精度について、AAFE はラット、イヌ、ヒト化肝臓 TK-NOG マウス及びコモンマーモセットでそれぞれ 3.4、2.7、1.8 及び 2.1 であった。また、Vd 予測精度についてはそれぞれ 2.2、1.8、1.6 及

び 1.7 であった。これらの結果より、ラットやイヌと比較して、コモンマーモセット及びヒト化肝臓 TK-NOG マウスで、ヒト CL の予測精度が高いことが明らかになった。一方、ヒト Vd 予測精度はラットではやや低いものの、その他の動物種ではいずれも比較的良好であった。コモンマーモセット（体重約 300 g）及びヒト化肝臓 TK-NOG マウス（約 30 g）は、イヌ（約 10 kg）やサル（約 5 kg）と比較して体重が 10 倍~100 倍以上小さいため、薬物動態試験や毒性試験に必要とする化合物量が少量で良いことに加え、単独動物種を用いた場合でも高い予測精度を有することから、化合物最適化段階において非常に有用であることが示唆された。

総括

本研究では、コモンマーモセット及びヒト化肝臓 TK-NOG マウスを用いた単独動物種によるヒト PK 予測手法が、汎用実験動物種と同等以上の予測精度であることを明らかにした。また、これら動物種はヒトにおける代謝物推定にも期待できることが示された。本研究の成果は、創薬における化合物最適化を促進するとともに、毒性試験や第 I 相臨床試験計画立案に有用な情報を提供することにより、医薬品開発の効率化に貢献するものと考えられる。

《 参考文献 》

- 1) Matsumoto S., Uehara S., Kamimura H., Cho N., Ikeda H., Maeda S., Kagiya K., Miyata A., Suemizu H., Fukasawa K., *Xenobiotica*, **52**, 613–624 (2022).
- 2) Matsumoto S., Kamimura H., Nishiwaki M., Cho N., Kato K., Yamamoto T., *Xenobiotica*, **51**, 983–994 (2021).
- 3) Matsumoto S., Uehara S., Kamimura H., Ikeda H., Maeda S., Hattori M., Nishiwaki M., Kato K., Yamazaki H., *Xenobiotica*, **51**, 479-493 (2021).