

氏名(生年月日) 小 出 博 義 (1989年11月15日)

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 博 第171号

学位授与の日付 2018年3月17日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 有機アニオン輸送ポリペプチド 1B1 の輸送機能に及ぼす経口分子標的抗がん薬の影響とその評価に関する研究

論文審査委員 (主査) 教授 西口 工 司

(副査) 教授 栄田 敏 之

(副査) 教授 矢野 義 孝

論文内容の要旨

序章

薬物代謝の主要臓器である肝臓には種々の薬物トランスポーターが発現しており、それらトランスポーターは、様々な内因性あるいは外因性物質の輸送に関与している。なかでも有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1B1 は、肝細胞類洞側膜に発現しており、HMG-CoA 還元酵素阻害薬、アンギオテンシン II 受容体拮抗薬、抗がん薬など幅広い薬物の肝取り込みに関与している。OATP1B1 を介した薬物相互作用は、セリバスタチンとシクロスポリンの併用事例に示されるように、重篤な有害事象を生じる場合もあることから十分な注意が必要である。経口分子標的抗がん薬 (分子標的薬) は、長期投与される場合が多いため、基礎疾患あるいは合併症の治療薬との薬物相互作用が生じやすいことが危惧される。分子標的薬が OATP1B1 輸送活性に及ぼす影響は、*in vitro* 実験間で必ずしも一致した見解を得られておらず、また、広範な基質認識性を有する OATP1B1 の輸送特性については不明な点も多いことから、薬物相互作用の予測や把握を複雑にしている。

そこで本研究では、広範な基質認識性を有する OATP1B1 の輸送活性に及ぼす分子標的薬の影響を明らかにする目的で、複数の基質を用いて比較検討した。

第1章 OATP1B1 を介した基質の取り込みに及ぼす分子標的抗がん薬の影響

本章では、OATP1B1 を介した5種類の基質の輸送活性に及ぼす12種類の分子標的薬の影響について比較検討した。OATP1B1 を介した基質の細胞内取り込み速度は、ヒト胎児腎細胞に OATP1B1 を安定発現させた細胞を用いて評価した。OATP1B1 の基質として、フルオレセイン (FL)、2',7'-ジクロロフルオレセイン (DCF)、アトルバスタチン (ATR)、イリノテカン活性代謝物である SN-38 及びバルサルタン (VAL) を選択した。また、分子標的薬は、アフアチニブ、カボザンチニブ、セジラニブ、セリチニブ、レンバチニブ、ネラチニブ、ニロチニブ、ニンテダニブ、パゾパニブ、レゴラフェニブ、ソラフェニブ及びチバンチニブを選択し、終濃度 30 μM で検討を行った。7種類の分子標的薬は、5種類の基質の OATP1B1 を介した輸送にほとんど影響しなかった。一方で、ニロチニブは FL 以外の基質の輸送を中程度阻害し、レンバチニブは5種類全ての基質の輸送を強力に阻害した。また興味深いことに、アフアチニブは、DCF、ATR 及び VAL の輸送に影響しなかったのに対して、FL 及び SN-38 の輸送を促進させた。同様に、セリチニブは、FL、DCF、ATR 及び SN-38 の輸送を阻害したのに対し

て、VALの輸送を促進させた。さらに、ニンテダニブは、DCF、ATR及びSN-38の輸送にほとんど影響しなかったのに対して、FL及びVALの輸送を促進させた。これらの結果は、アフアチニブ、セリチニブ及びニンテダニブが他の分子標的薬とは異なり、OATP1B1輸送活性に対して基質依存的な影響を有することを示している。以上のことから、分子標的薬によるOATP1B1を介した薬物相互作用が疑われる場合には、実臨床で薬物相互作用が疑われたOATP1B1基質薬物を用いた評価も必要であると考えられた。

第2章 OATP1B1による基質輸送に及ぼすレンバチニブの影響

本章では、OATP1B1輸送活性に対して強力な阻害作用を示したレンバチニブについて詳細に検討を行った。レンバチニブは5種類全ての基質のOATP1B1を介した輸送を濃度依存的かつ強力に阻害し、基質輸送に対する50%阻害濃度(IC₅₀)は1.86–3.21 µMであった。また、レンバチニブは全ての基質のミカエリス定数(K_m値)を増大させた。一方、OATP1B1発現細胞におけるレンバチニブの取り込み速度は非発現細胞よりも有意に高値であったことから、レンバチニブがOATP1B1の基質となることが明らかになった。レンバチニブのK_m値は2.77 µMであり、競合阻害を仮定して算出した阻害定数(K_i値: 1.49–3.21 µM)とほぼ同等であったことから、レンバチニブがOATP1B1の基質となることで、他のOATP1B1基質の輸送活性を強力に阻害することが明らかになった。

第3章 分子標的抗がん薬存在下でのOATP1B1基質輸送の速度論的解析

本章では、第1章においてOATP1B1輸送活性に対する影響が基質により異なることを明らかにしたアフアチニブ、セリチニブ及びニンテダニブについて、詳細に検討を行った。アフアチニブは、SN-38のOATP1B1を介した輸送を濃度依存的に促進し(最大促進効果[E_{max}]=0.46倍増大、E_{max}の50%の効果をもたらす濃度[EC₅₀]=0.61 µM)、ニンテダニブは、FL(E_{max}=2.20倍増大、EC₅₀=2.11 µM)及びVAL(E_{max}=0.32倍増大、EC₅₀=1.72 µM)の輸送を濃度依存的に促進した。セリチニブは、DCF(IC₅₀=20.4 µM)及びSN-38(IC₅₀=18.0 µM)の輸送を濃度依存的に阻害した一方で、VALの輸送を濃度依存的に促進した(E_{max}=0.77倍増大、EC₅₀=0.96 µM)。この結果は、アフアチニブ及びセリチニブが臨床用量内で達し得る濃度でそれぞれSN-38及びVALのOATP1B1を介した輸送を促進することを示しており、これらの服用がSN-38やVALの血中濃度を低下させる可能性を示唆している。また、取り込み促進される基質が、アフアチニブではFL及びSN-38、セリチニブではVAL、ニンテダニブではFL及びVALであるなど、促進または阻害を受ける基質の組み合わせが分子標的薬間で一致していないことから、複数の基質結合部位が存在するという仮説のみではこれら分子標的薬による多様な影響を説明することは難しい。FLの最大取り込み速度(V_{max}値)は、アフアチニブ及びニンテダニブにより増大した一方、DCFのV_{max}値は、アフアチニブ、セリチニブ及びニンテダニブにより低下し、VALのV_{max}値はセリチニブにより低下した。また、DCFのK_m値は、セリチニブにより増大した一方、FLのK_m値はニンテダニブにより低下し、VALのK_m値はセリチニブにより低下した。以上のことから、アフアチニブ、セリチニブ及びニンテダニブは、OATP1B1の基質に対する親和性および基質のトランスポーターを制御することでOATP1B1輸送活性に対して多様な影響を及ぼすものと考えられる。

総括

本研究により、レンバチニブがOATP1B1の基質となることでOATP1B1輸送活性を強力に阻害することを明らかにした。一方で、アフアチニブ、セリチニブ及びニンテダニブがOATP1B1輸送活性に対して基質ごとに異なる多様な影響を有することを示し、一部の分子標的薬ではOATP1B1を介する薬物相互作用の評価が単一の基質のみでは不適切である可能性を明らかにした。以上の知見は、

OATP1B1 を介した薬物相互作用について、*in vitro* 試験系を用いて評価する上で有益な基礎的情報を提供するものと考えられる。

審査の結果の要旨

薬物代謝の主要臓器である肝臓には種々の薬物トランスポーターが発現しており、それらトランスポーターは、様々な内因性あるいは外因性物質の輸送に関与している。なかでも肝細胞類洞側膜に発現している有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1B1 は、幅広い薬物の肝臓への取り込みに関与しており、OATP1B1 を介した薬物相互作用には十分な注意が必要であるといわれている。一方で、経口分子標的抗がん薬 (分子標的薬) による OATP1B1 を介した薬物相互作用が危惧されているものの、OATP1B1 輸送活性に及ぼす分子標的薬の影響には必ずしも一致した見解が得られておらず、薬物相互作用の予測や把握を複雑にしている。そこで本研究では、広範な基質認識性を有する OATP1B1 の輸送活性に及ぼす分子標的薬の影響を明らかにする目的で、複数の基質を用いて比較検討した。

第1章では、OATP1B1 を介した基質の取り込みに及ぼす分子標的抗がん薬の影響を明らかにすることを目的として、5種類の基質の輸送活性に及ぼす12種類の分子標的薬の影響について OATP1B1 を安定発現させた細胞を用いることにより検討した。その結果、7種類の分子標的薬が5種類の基質の OATP1B1 を介した輸送にほとんど影響しないこと、レンバチニブは5種類全ての基質の輸送を強力に阻害すること、さらにアフアチニブ、セリチニブ及びニンテダニブは OATP1B1 輸送活性に対して基質依存的に影響することを見出した。第2章では、OATP1B1 による基質輸送に及ぼすレンバチニブの影響をさらに詳細に検討した結果、レンバチニブが OATP1B1 の基質になることで、他の OATP1B1 基質の輸送活性を強力に阻害することを明確にした。第3章では、OATP1B1 輸送活性に対する分子標的薬による基質依存的影響の原因を明らかにする目的で、アフアチニブ、セリチニブ及びニンテダニブ存在下での OATP1B1 基質輸送を速度論的に解析した。その結果、これら分子標的薬が OATP1B1 の基質に対する親和性および基質のトランスロケーションを制御することで OATP1B1 輸送機能に対して多様な影響を及ぼし、その影響は実臨床においても生じ得る可能性が考えられた。

本研究から得られた成果は、OATP1B1 を介した薬物相互作用におよぼす分子標的抗がん薬の影響を *in vitro* において評価する上で、有益な基礎的知見になるものと考えられる。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士 (薬学) の学位論文としての価値を有するものと判断する。