

Esomeprazole および vonoprazan
による CYP2C19 阻害作用の比較検討

Comparative study of CYP2C19 inhibitory
effect by esomeprazole and vonoprazan

2019

舟越 亮寛

目次

論文リスト	2
略語表	3
序論	5
第一章	
健康成人における proguanil の体内動態に及ぼす esomeprazole および vonoprazan の影響	11
第二章	
ヒト肝ミクロソームにおける S-mephenytoin 4'-水酸化活性に及ぼす esomeprazole および vonoprazan の影響	30
第三章	
<i>In vitro</i> 代謝阻害試験によって得られた阻害パラメータを用いたモデル解析による臨床試験において認められた相互作用の検証	44
総括	50
謝辞	56
引用文献	58

論文リスト

- 1) Ryohkan Funakoshi, Yukana Tomoda, Toshiyuki Kudo, Kenichi Furihata, Hiroyuki Kusuhara, Kiyomi Ito, Effects of proton pump inhibitors, esomeprazole and vonoprazan, on the disposition of proguanil, a CYP2C19 substrate, in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.*, 85, 1454-1463 (2019).

略語表

本論文では、以下の略語を用いた。

AUC	Area under the blood concentration-time curve, 血中薬物濃度-時間曲線 下面積
BMI	Body mass index, 体格指数
CL/F	Apparent systemic clearance, みかけの全身クリアランス
CLr	Renal clearance, 腎クリアランス
Cmax	Maximum plasma concentration, 最高血漿中濃度
DDI	Drug-drug interaction, 薬物-薬物相互作用
EM	Extensive metabolizer, 高活性群
EPZ	Esomeprazole, エソメプラゾール
HBs	Hepatitis B surface, B型肝炎表面
HCV	Hepatitis C virus, C型肝炎ウイルス
HIV	Human immunodeficiency virus, ヒト免疫不全ウイルス
HLM	Human liver microsomes, ヒト肝ミクロソーム
Km	Michaelis constant, ミカエリス定数
MBI	Mechanism-based inhibition
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, ニコチンアミドアデニン ジヌクレオチドリン酸
OMP	Omeprazole, オメプラゾール
P450	Cytochrome P450, シトクロム P450
PPI	Proton pump inhibitor, プロトンポンプ阻害剤
S.D.	Standard deviation, 標準偏差
TDI	Time-dependent inhibition, 時間依存的阻害

Tmax	Time to reach Cmax, 最高血漿中濃度到達時間
Vd/F	Apparent distribution volume, 見かけの分布容積
VPZ	Vonoprazan, ボノプラザン

序論

臨床で用いられる多くの薬物の代謝過程において、薬物代謝酵素の1つである cytochrome P450 (P450) が重要な役割を担っていることが明らかとなっている¹⁾。P450 はヒトでは肝臓に多く存在するが、腸管粘膜などの他の組織にも存在し、37 個以上の分子種のスーパーファミリーから構成されている。その中で主要な分子種として CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4/5 があり、ヒトの肝臓における CYP 発現量の約 10% を CYP2C19 が占めている¹⁻³⁾。CYP2C19 基質には omeprazole (OMP) や diazepam、clopidogrel など、阻害薬には fluconazole や ticlopidine、OMP などがある³⁾。また、OMP の様々な代謝物も CYP2C19 阻害作用を有することが知られている⁴⁾。CYP2C19 には遺伝子多型があり、遺伝子型によって基質の薬物動態が変動することが知られている⁵⁾。薬物-薬物相互作用 (Drug-Drug Interaction, DDI) は、複数の薬物を併用した場合に薬効が減弱あるいは増強し、有害作用が起きることである⁶⁾。DDI は薬物動態学的相互作用と薬力学的相互作用の2つに分類され、薬物動態学的相互作用は、吸収、分布、代謝、排泄の過程における相互作用に基づく³⁾。

また、DDI は主に P450 を原因とするものが多く、代謝部位で起きた相互作用を代謝酵素別に分類すると 96% を占めている。2 種以上の薬物を同時投与することで P450 が阻害または誘導され、予期せぬ病態の悪化や有害事象を招く恐れがある。これらの望ましくない薬物相互作用を早期に発見・予測することが、薬物治療を行うにあたって非常に重要である^{7,8)}。

創薬の初期段階において、数多くの薬物候補化合物は *in vivo* での薬物動態試験を行う前に、*in vitro* 試験でのヒト肝ミクロソーム (HLM) や組み換え P450 酵

素を用いた研究が行われている。これによって、P450 が関与する候補化合物の薬物相互作用や体内動態の特性を予測することができる⁹⁾。

薬物代謝阻害は、可逆的阻害と時間依存的阻害 (TDI) に大別される³⁾。可逆的阻害は、阻害薬が存在している場合にのみ生じ、阻害薬濃度が低下すれば阻害作用は低下する²⁾。P450 を阻害する薬物相互作用の多くは可逆的であるが、阻害作用が経時的に増加し、必ずしも完全には可逆的でない場合、TDI がみられることがある³⁾。TDI の一つとして、mechanism-based inhibition (MBI) がある。MBI とは、薬物が代謝酵素により代謝されることにより、反応性の高い代謝物もしくは代謝中間体が生成し、代謝酵素の活性部位と共有結合することによって、酵素の不可逆的な失活を引き起こすことをいう¹⁰⁾。阻害薬が体内から消失しても、代謝物が不可逆的に酵素を阻害しているため、新たに酵素が生合成されるまでその阻害効果は持続する。可逆的阻害による DDI よりも、臨床上重篤な有害事象が生じる危険性が高い¹¹⁾。

MBI においては、酵素と阻害薬の代謝物が不可逆的に結合することで酵素を不活性化させることから、競合阻害の場合と異なり、酵素阻害の程度は阻害薬の濃度と阻害定数だけで決定されず、酵素と阻害薬の接触時間や酵素自身の生成・分解のターンオーバーにも依存する⁹⁾。MBI の *in vitro* 実験においては、酵素と阻害薬のプレインキュベーション時間依存的な代謝活性の減少がみられる。

胃潰瘍・十二指腸潰瘍・逆流性食道炎などの消化性潰瘍の治療やヘリコバクター・ピロリ除菌の補助に強力な胃酸分泌抑制作用を持つプロトンポンプ阻害薬 (PPI) が用いられている。本邦では、OMP、lansoprazole、rabeprazole、OMP の S 体である esomeprazole (EPZ) および vonoprazan (VPZ) の 5 成分の PPI が医療用医薬品として市販されている。EPZ マグネシウム三水和物は、日本で

はネキシウム®カプセル 10 mg、ネキシウム®カプセル 20 mg として販売されている¹²⁾ (Fig. 1)。

同じく PPI である VPZ フマル酸塩は、日本でタケキャブ®錠 10 mg、タケキャブ®錠 20 mg として販売されている¹³⁾ (Fig. 2)。

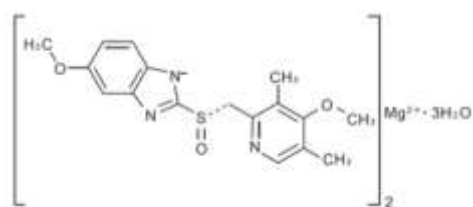


Fig. 1 エソメプラゾールマグネシウム三水和物
(Esomeprazole Magnesium Hydrate)

分子式: $C_{34}H_{36}N_6O_6S_2Mg \cdot 3H_2O$

分子量: 767.17

分子式: $C_{17}H_{19}N_3O_3S$; 分子量: 345.42 の 2 量体

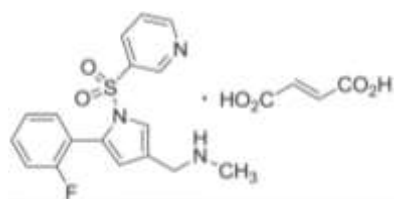


Fig. 2 ボノプラザンフマル酸塩
(Vonoprazan Fumarate)

分子式: $C_{17}H_{16}FN_3O_2S \cdot C_4H_4O_4$

分子量: 461.46

Fig. 3 に示すように、EPZ や lansoprazole などの従来の PPI は酸により活性体に変換され、 H^+ , K^+ -ATPase と不可逆的な共有結合（ジスルフィド結合）を形成することにより阻害活性を発揮し、胃酸分泌を抑制する¹²⁾。一方、VPZ は酸による活性化を必要とせず、イオン結合および水素結合によりカリウムイオン競合的に H^+ , K^+ -ATPase を阻害する、新しい機序の PPI である¹³⁾。EPZ などは酸による活性化が必要なため、作用発現や十分に H^+ , K^+ -ATPase 活性を抑制するまでに時間がかかり、反復服用が必要であるが、VPZ は直接 H^+ , K^+ -ATPase を阻害するため初回服用時から最大薬効に近い効果を発揮することができる¹⁴⁾。

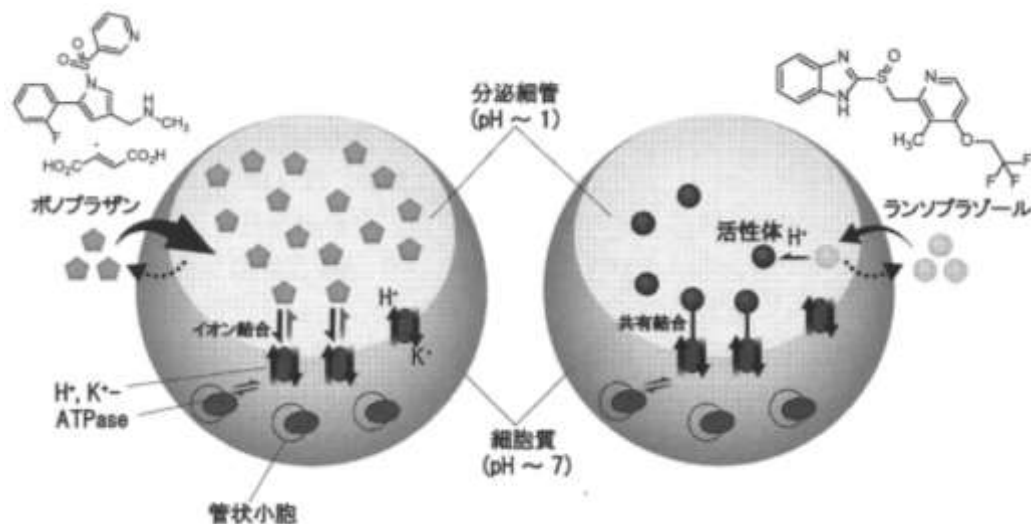


Fig. 3 VPZおよびランソプラゾールの作用機序¹⁴⁾

OMP は CYP2C19 を阻害することで、CYP2C19 で代謝活性化される clopidogrel の抗血栓作用を減弱させることが知られている¹⁵⁾。また OMP による CYP2C19 阻害は MBI であることが知られており、OMP 投与 12 時間後に clopidogrel を投与した際にも同様の相互作用が認められた¹⁵⁾。また、臨床疫学報告では OMP と clopidogrel を同時投与することで急性冠症候群の再入院のリスクが高まることが報告されている^{16,17)}。さらに、OMP の反復経口投与時に citalopram¹⁸⁾、escitalopram¹⁹⁾、proguanil²⁰⁾など CYP2C19 基質との DDI が報告されている。

OMP の *S* 体である EPZ は、*R*-OMP と比較して CYP2C19 に対する時間依存的阻害作用が強い^{21,22)}。EPZ は *in vitro* 試験において CYP2C19 に対する可逆阻害の IC₅₀ 値は 3.7 ± 0.5 μM²³⁾、15 ± 1 μM²¹⁾と報告されており、EPZ を NADPH 存在下で HLM とプレインキュベーション (30 min) することで IC₅₀ 値が低濃度にシフト (4.9 倍²³⁾、10 倍²¹⁾した。

現在、EPZ の添付文書の併用注意の欄に EPZ が diazepam や phenytoin、cilostazol、warfarin の CYP2C19 による代謝、排泄を遅延させるという記載が

ある他、ワシントン大学の Metabolism and Transport Drug Interaction Database (DIDB®) において、diazepam の血中薬物濃度-時間曲線下面積 (AUC) を 1.4 倍上昇させることが報告されている²⁴⁾が、VPZ については添付文書や DIDB®に CYP2C19 阻害による相互作用の記載はない。

【研究目的】

本研究では、EPZ および VPZ の CYP2C19 を介した薬物相互作用リスクを薬物動態学的な観点から検討する目的で、臨床研究および基礎研究として以下の検討を行った。

第一章では、医療法人社団慶幸会ピーワンクリニック (Tokyo, Japan) において健康成人を対象とした臨床薬物相互作用試験を実施した。CYP2C19 基質として抗マラリア薬である proguanil を選択し、EPZ および VPZ 併用時および非併用時の血漿中および尿中の proguanil および cycloguanil (主に CYP2C19 による代謝物) の濃度を経時的に測定した。

第二章では、HLM を用いた *in vitro* 代謝阻害試験を実施し、両 PPI の CYP2C19 に対する阻害パラメータを求めた。

第三章では、臨床試験において認められた相互作用が CYP2C19 阻害により定量的に説明できるか検討する目的で、*in vitro* 代謝阻害試験によって得られた阻害パラメータを用いてモデル解析を実施した。

第一章

健康成人における proguanil の体内動態に及ぼす EPZ および VPZ の影響

1. 緒言

タケキャブ[®]錠の申請資料概要には、HLM を用いた *in vitro* 試験において、30 μ M の VPZ 添加時に CYP2C19 活性が 64.3% に低下し、NADPH 存在下で HLM とプレインキュベーション (30 min) をした際の IC₅₀ 値は 13 μ M であったことから、VPZ による CYP2C19 阻害に時間依存性を認めたことが記載されている²⁵⁾。しかし、VPZ の臨床投与量 (20 mg) 反復経口投与時の最高血漿中濃度 (C_{max}) 23.32 ng/mL²⁵⁾、ヒト血漿タンパク結合率 86.5% (vonoprazan 100 ng/mL)²⁵⁾ より算出した遊離形濃度 (約 0.01 μ M) は上記 IC₅₀ 値よりはるかに低いと、臨床において VPZ が CYP2C19 の代謝活性を阻害する可能性は低いと考えられた。一方、EPZ または VPZ 併用時の clopidogrel による抗血小板作用への影響を検討評価した健康成人を対象とした臨床試験では、CYP2C19 遺伝子多型によらず、clopidogrel 75 mg および EPZ 20 mg を 1 日 1 回服用した群より clopidogrel 75 mg および VPZ 10 mg を 1 日 1 回服用した群の抗血小板作用の方が有意に劣った (% inhibition of platelet aggregation の中央値がそれぞれ 27%、14%、 $P < 0.001$)²⁶⁾。つまり、VPZ 10 mg による CYP2C19 阻害作用は EPZ 20 mg より強い可能性がある。しかしながら、この報告では clopidogrel およびその活性代謝物の体内動態は評価されておらず、当該相互作用が CYP2C19 阻害に基づくものか明らかになっていない^{27,28)}。臨床現場では EPZ 及び VPZ の医療用医薬品添付文書^{12,13)}には clopidogrel との相互作用情報は記載がないまま、併用投与されていることで脳梗塞再発等の潜在的なリスクが上昇し、患者への安全な薬物療法を提供できていない可能性がある。

そこで、本研究では、EPZ および VPZ の CYP2C19 を介した薬物相互作用リスクを薬物動態学的な観点から検討する目的で、健康成人を対象とした臨床薬物相互作用試験を実施した。CYP2C19 基質として健康成人に予防薬として使用される抗マラリア薬である proguanil を選択し、本邦で唯一市販されている proguanil 100 mg および atovaquone 250 mg 配合錠を使用した。

2. 方法

2.1. 試薬

EPZ カプセル (ネキシウム[®]カプセル 20mg) はアストラゼネカ株式会社 (Osaka, Japan) から購入した。VPZ 錠 (タケキャブ[®]錠 20mg) は武田薬品株式会社 (Tokyo, Japan) から購入した。proguanil 100mg および atovaquone 250mg 配合錠 (マラロン[®]配合錠) はグラクソ・スミスクライン株式会社 (Middlesex, UK) から購入した。proguanil、cycloguanil、EPZ、VPZ は和光純薬工業株式会社 (Osaka, Japan) から購入した。その他の試薬は市販の最高品質のものを購入した。

2.2. 患者背景

合計 7 例の日本人健康成人男性についてインフォームドコンセントを取得し、試験に組み入れた。いずれの被験者も既往歴、診察、臨床検査、バイタルサイン (座位血圧、脈拍数、腋窩体温)、12 誘導心電図、感染症検査及び尿中薬物検査の結果、治療を要する疾患はなかった。また、(1) atovaquone、proguanil、EPZ および VPZ に過敏症の既往歴がある者、(2) 医薬品またはセントジョーンズワートを含む健康食品、グレープフルーツ、オレンジ等柑橘類、リンゴを含む飲食物及び栄養補助食品を摂取している者または、試験期間中にそれらの摂取を禁止できない者、(3) 試験薬投与 30 日前から試験開始時まで喫煙、ニコチン摂取

した者または、試験期間中にそれらの摂取を禁止できない者、(4) 各期の入院日前日から試験開始時までアルコール・カフェイン含有物を摂取した者または、退院時までそれらの摂取を禁止できない者、(5) 試験薬投与 2 週間前から試験開始時まで試験薬以外の薬剤を使用した者または、試験終了時までそれら薬剤の使用を禁止できない者、(6) HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗原・抗体のいずれかが陽性である者は除外された。年齢は 37 (20–42) 歳、身長は 167.3 (163.2–182.9) cm、体重は 59.2 (51.3–76.7) kg、BMI は 21.2 (19.3–24.3) kg/m²であった (いずれも中央値 (最小値–最大値))。CYP2C19 の遺伝子型は、いずれも Extensive Metabolizer (EM) であった。研究期間中に早期中止はいなかった。

2.3. プロトコル

全 3 期の非盲検単一群試験を実施した。Control phase (1 期目) : マラロン[®]錠 (atovaquone 250 mg と proguanil 100 mg の合剤) 1 錠を経口投与した。Esomeprazole phase (2 期目) : ネキシウム[®]カプセル (EPZ 20 mg) 1 カプセルを 5 日間反復経口投与し、5 日目のみマラロン[®]錠 (atovaquone 250 mg と proguanil 100 mg の合剤) 1 錠を同時に経口投与した。Vonoprazan phase (3 期目) : タケキャブ[®]錠 (VPZ 20 mg) 1 錠を 5 日間反復経口投与し、5 日目のみマラロン[®]錠 (atovaquone 250 mg と proguanil 100 mg の合剤) 1 錠を同時に経口投与した。いずれの薬物も 250 mL の水とともに経口投与し、服薬確認を実施した。被験者はいずれの phase においても試験薬投与前日に入院し、control phase においては試験薬最終投与の 2 日後、esomeprazole phase および vonoprazan phase においては試験薬最終投与の 3 日後に退院した。CYP2C19 の消失半減期 (26 時間)²⁹⁾に基づいて、各 phase において前 phase の影響がないよう各 phase 間のウォッシュアウト期間は 7 日間とした。本試験における各薬物の投与量は、日本では標準投与量である (Fig. 4)。

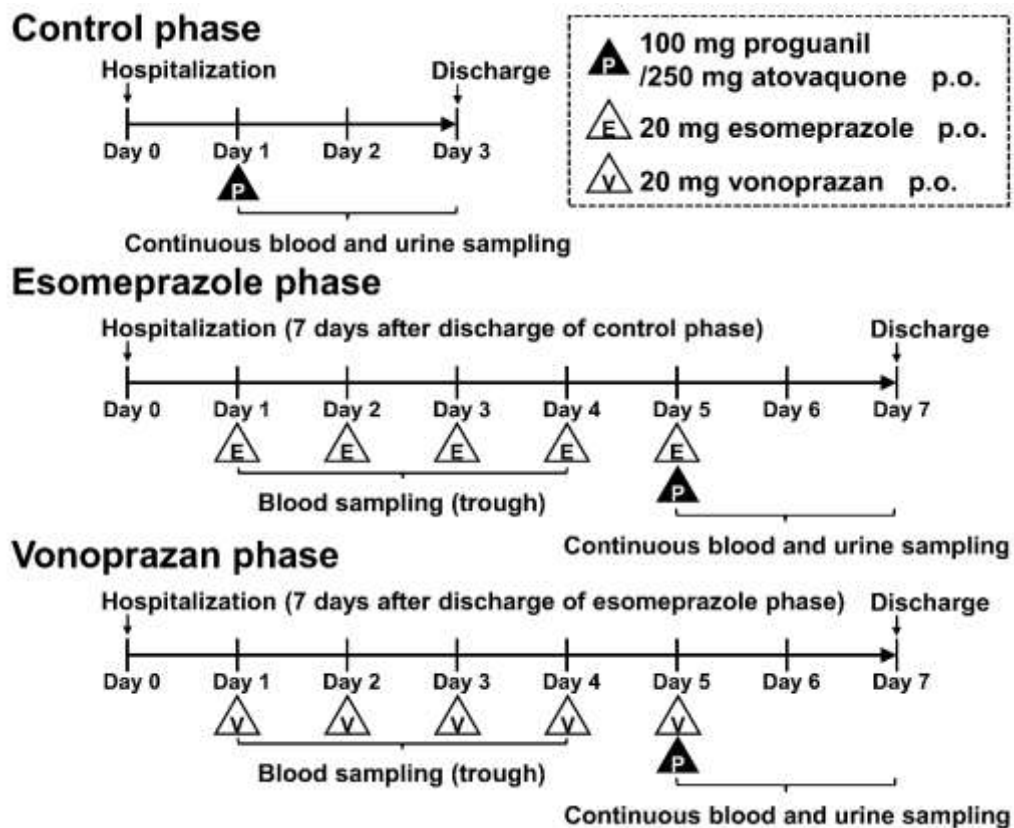


Fig. 4 臨床試験のプロトコル

本研究は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 29 年 2 月 28 日一部改正）およびヘルシンキ宣言（2013 年改訂）を遵守して実施した。

本研究は研究責任機関の医療法人鉄蕉会亀田総合病院臨床研究審査委員会（承認番号 17-066 号）、実施医療機関の医療法人社団慶幸会ピーワンクリニック倫理審査委員会（平成 29 年 8 月 29 日承認）、測定実施機関の東京大学大学院薬学系研究科・薬学部ヒトを対象とする研究倫理審査委員会（承認番号 29-08 号）の承認を得て実施した。

本研究は、大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録システムに登録した上で実施した（UMIN 000029539）。研究の質を確保するために、良好な臨床研究教育訓練（Trans Celerate, e-learning program）を修了したピーワンクリニックの

医師によって管理され、臨床研究コーディネーターによってモニタリングされた。

2.4. サンプルの回収保存

投与前および投与後 1、2、3、4、6、8、10、24 および 48 時間に血液サンプルを直接静脈穿刺 (抗凝固剤としてヘパリンナトリウムを使用) により採取した。血液サンプルを遠心分離して血漿を分離し、これを分析まで -70°C で保存した。尿サンプルは、投与後 0–8、8–24 および 24–48 時間に採取した。

2.5. LC-MS / MS による薬物濃度の定量

血漿あるいは Milli-Q 水で 1,000 倍希釈した尿検体と内部標準溶液 (proguanil- d_6 2.6 ng/mL; アセトニトリル溶液) を混合した。混合液を $20,000\times g$ で 10 分間遠心分離し、上清中の proguanil、cycloguanil、atovaquone、esomeprazole および vonoprazan を LC-MS / MS により定量した。Prominence UFLC (Shimadzu, Kyoto, Japan) に PC HILIC カラム ($3.0\ \mu\text{m}$, $2.0\times 150\ \text{mm}$; Shiseido, Tokyo, Japan) を装着し、移動相は A (20%アセトニトリル/80%精製水) : B (95%アセトニトリル/5%精製水) =30 : 70 (ともに 10 mM 酢酸アンモニウムおよび 0.1%ギ酸を含む) を使用した (流速 : $0.4\ \text{mL/分}$)。MS データは、エレクトロスプレーイオン化源を備えた QTRAP 5500 (AB SCIEX, Foster City, CA) を用いて取得した。

Table 1 LC-MS/MS のバリデーションパラメーター

Compounds	LLOQ (nM)	Calibration range (nM) (point number)	R ²
Proguanil	1	1 – 1000 (7)	0.9968
Cycloguanil	1	1 – 1000 (7)	0.9863
Esomeprazole	1	1 – 10000 (9)	0.9845
Vonoprazan	3	3 – 1000 (6)	0.9966
Atovaquone	0.1	0.1 – 1000 (9)	0.9901

2.6. 薬物動態解析

最大血漿中薬物濃度 (C_{max}) および最大血漿中濃度到達時間 (T_{max}) はデータから直接得た。0 時間から 48 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-48}) は台形法により計算した。0 時間から無限大時間までの AUC ($AUC_{0-\infty}$) は、 AUC_{0-48} と 48 時間から無限大時間までの AUC ($AUC_{48-\infty}$) の合計として算出した。 $AUC_{48-\infty}$ は、48 時間での薬物濃度を最終消失相の対数線形回帰の勾配で除することにより算出した。腎クリアランス (CL_r) は、48 時間収集した尿中の薬物の累積量を AUC_{0-48} で除算することによって算出した。見かけの全身クリアランス (CL/F) は、投与量を $AUC_{0-\infty}$ で除算することによって算出した。見かけの分布体積 (V_d/F) は、投与量を C_{max} で除算することによって算出した。Metabolic ratio は、cycloguanil の $AUC_{0-\infty}$ を proguanil の $AUC_{0-\infty}$ で除算することによって算出した。

2.7 統計解析

薬物動態パラメータについて、SPSS ソフトウェア version 24 (IBM Japan, Tokyo) を用い、Dunnett の *t* 検定により統計学的有意差検定を行い、危険率 5% 未満 ($p < 0.05$) の場合に有意な差があったとした。

3. 結果

3.1 有害事象

Control phase および EPZ phase においては、いずれの被験者にも有害事象は認められなかった。VPZ phase において、1 例のみ非重篤、中等度の便秘が認められたが、処置を要さず事後検査時には回復した。また、VPZ phase において認められた便秘と、本研究で服用した薬物との因果関係はないと判断された。

3.2 EPZ / VPZ 非併用時の proguanil および cycloguanil の薬物動態

Control phase 中の proguanil および cycloguanil の血漿中濃度推移を Fig. 5A に、proguanil および cycloguanil の累積尿中排泄量の推移を Fig. 6A に、薬物動態学的パラメータを Table 2 に示す。Cycloguanil は proguanil よりも T_{max} は 3.4 時間長く、 C_{max} および $AUC_{0-\infty}$ は proguanil と比較してそれぞれ 31.0% および 18.7% 低かった。両方の化合物は投与後 48 時間で血液からほぼ完全に消失した。ほぼ同量の proguanil と cycloguanil が 48 時間までに尿中に排泄された。

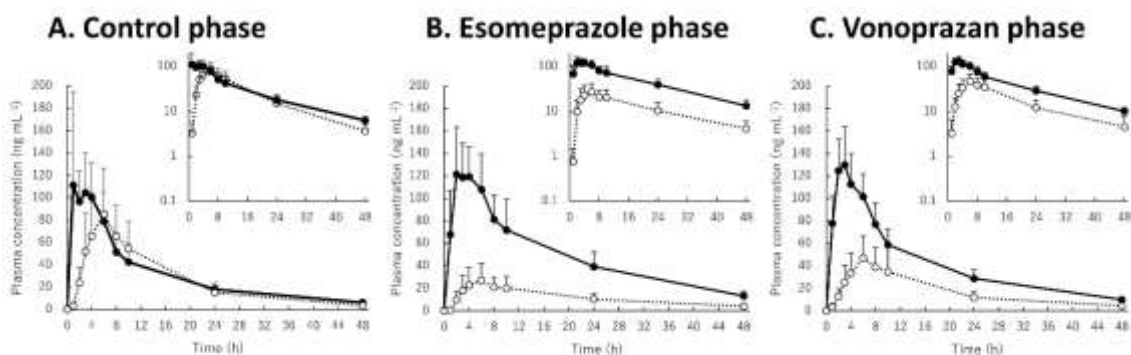


Fig. 5 各 phase における proguanil (●) および cycloguanil (○) の血漿中濃度推移 (n=7, mean+SD)。各図の inlet は、片対数プロットした推移を表す。

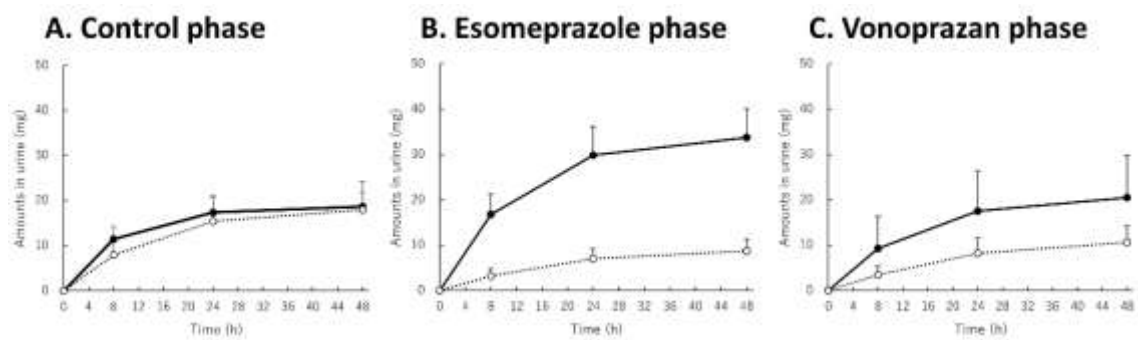


Fig. 6 各 phase における proguanil (●) および cycloguanil (○) の尿中排泄量推移 (n=7, mean+SD)。

Table 2 proguanil および cycloguanil の薬物動態パラメータ

	Control phase	Esomeprazole phase	Vonoprazan phase
Proguanil			
C_{\max} (ng mL ⁻¹)	128 ± 75	132 ± 34	133 ± 31
T_{\max} (h)	2.86 ± 1.77	2.86 ± 0.9	2.71 ± 0.49
AUC ₀₋₄₈ (ng h mL ⁻¹)	1481 ± 444	2351 ± 688*	1998 ± 415
AUC _{0-∞} (ng h mL ⁻¹)	1611 ± 459	2662 ± 762**	2221 ± 439
Relative change (vs control phase) ^a		1.67 (1.40 – 1.94)	1.42 (1.17 – 1.67)
CL/F (L h ⁻¹)	66.3 ± 17.2	40.3 ± 11.6**	46.7 ± 10.3*
V _d /F (L)	920 ± 285	796 ± 182	785 ± 181
Urinary excretion (mg) ^b	18.7 ± 3.1	33.8 ± 6.4**	20.5 ± 9.4
Relative change (vs control phase) ^a		1.83 (1.54 – 2.12)	1.07 (0.70 – 1.43)
CL _r (L h ⁻¹)	13.1 ± 2.4	7.2 ± 6.9	5.9 ± 6.9
Cycloguanil			
C_{\max} (ng mL ⁻¹)	87.5 ± 41	27.4 ± 15.3**	47.8 ± 20.3*
T_{\max} (h)	6.29 ± 0.76	5.71 ± 0.76	6.57 ± 1.51
AUC ₀₋₄₈ (ng h mL ⁻¹)	1245 ± 539	569 ± 281*	825 ± 400
AUC _{0-∞} (ng h mL ⁻¹)	1299 ± 549	677 ± 313*	916 ± 459
Relative change (vs control phase) ^a		0.522 (0.442 – 0.602)	0.716 (0.551 – 0.881)
Urinary excretion (mg) ^b	18 ± 6.3	8.7 ± 2.7**	10.6 ± 3.7*
Relative change (vs control phase) ^a		0.504 (0.367 – 0.641)	0.593 (0.484 – 0.702)
CL _r (L h ⁻¹)	15.8 ± 4.8	17.5 ± 6.5	14.3 ± 4.9
Metabolic ratio ^c	0.837 ± 0.373	0.261 ± 0.115***	0.41 ± 0.168**
Relative change (vs control phase) ^a		0.317 (0.256 – 0.379)	0.507 (0.409 – 0.605)
Apparent formation clearance (L h ⁻¹) ^d	12.6 ± 3.5	3.98 ± 1.73***	5.36 ± 1.72***
Relative change (vs control phase) ^a		0.324 (0.212 – 0.436)	0.433 (0.355 – 0.511)

(n=7, mean ± S.D.), *p < 0.05. **p < 0.01. ***p < 0.001 vs control.

a 95% 信頼区間, b 48 時間累積尿中排泄量, c AUC_{0-∞} of cycloguanil / AUC_{0-∞} of proguanil.

d cycloguanil の 48 時間累積尿中排泄量 / proguanil AUC₀₋₄₈.

3.3 proguanil および cycloguanil の薬物動態に対する EPZ の影響

EPZ 反復投与 4 回目までの血漿トラフ濃度および 5 回目投与後の血漿中濃度推移を Fig. 7A に示す。EPZ は投与後 24 時間で血液からほぼ完全に消失し、繰り返し投与で蓄積がなかった。EPZ 反復投与 5 回目における atovaquone / proguanil 配合錠の同時投与後 (EPZ phase) の proguanil および cycloguanil の血漿中濃度推移を Fig. 5B に、累積尿中排泄量の推移を Fig. 6B に、薬物動態学的パラメータを Table 2 に示す。EPZ 投与は、proguanil の $AUC_{0-\infty}$ を有意に増加させ (1.67 倍)、cycloguanil の $AUC_{0-\infty}$ を有意に減少させた (0.522 倍) (Fig. 8A,B)。対応して、48 時間までの累積尿中排泄量において、それぞれ有意な増加 (1.83 倍) および有意な減少 (0.504 倍) が認められた。Metabolic ratio (cycloguanil の $AUC_{0-\infty}$ / proguanil の $AUC_{0-\infty}$) および見かけの生成クリアランス (cycloguanil の累積尿中排泄量 / proguanil の AUC_{0-48}) は、control phase と比べ EPZ phase で有意に低かった (それぞれ 0.317 倍および 0.324 倍) (Fig. 8C,D)。EPZ phase では control phase と比較し、proguanil と cycloguanil の CLr に有意な相違は認められなかったが、proguanil の CLr は control phase よりも低かった。

3.4 proguanil および cycloguanil の薬物動態に対する VPZ の影響

VPZ 反復投与 4 回目までの血漿トラフ濃度および 5 回目の投与後の血漿中濃度推移を Fig. 7B に示す。VPZ は反復投与で蓄積を示さず、反復経口投与の 3 日目に定常状態に達するという既報と一致していた¹³⁾。

VPZ 反復投与 (VPZ phase) 5 回目における atovaquone / proguanil 配合錠の同時投与後の proguanil および cycloguanil の血漿中濃度推移を Fig. 5C に、累積尿中排泄量の推移を Fig. 6C に示す。VPZ 投与は、proguanil の $AUC_{0-\infty}$ を増加させ (1.42 倍)、cycloguanil の $AUC_{0-\infty}$ を減少させた (0.716 倍) が、それらの差は有意

ではなかった (Fig. 8A,B)。48 時間までの proguanil の累積尿中排泄量は control phase とほぼ同等 (1.07 倍) であったが、cycloguanil の累積尿中排泄量は有意に低かった (0.593 倍)。Metabolic ratio (cycloguanil の $AUC_{0-\infty}$ / proguanil の $AUC_{0-\infty}$) および見かけの生成クリアランス (cycloguanil の累積尿中排泄量 / proguanil の AUC_{0-48}) は、control phase と比べ VPZ phase で有意に低かった (それぞれ 0.507 倍および 0.433 倍) (Fig. 8C,D)。VPZ phase では control phase と比較して proguanil と cycloguanil の CLr に有意な変化はなかったが、proguanil の CLr は control phase よりも低かった。

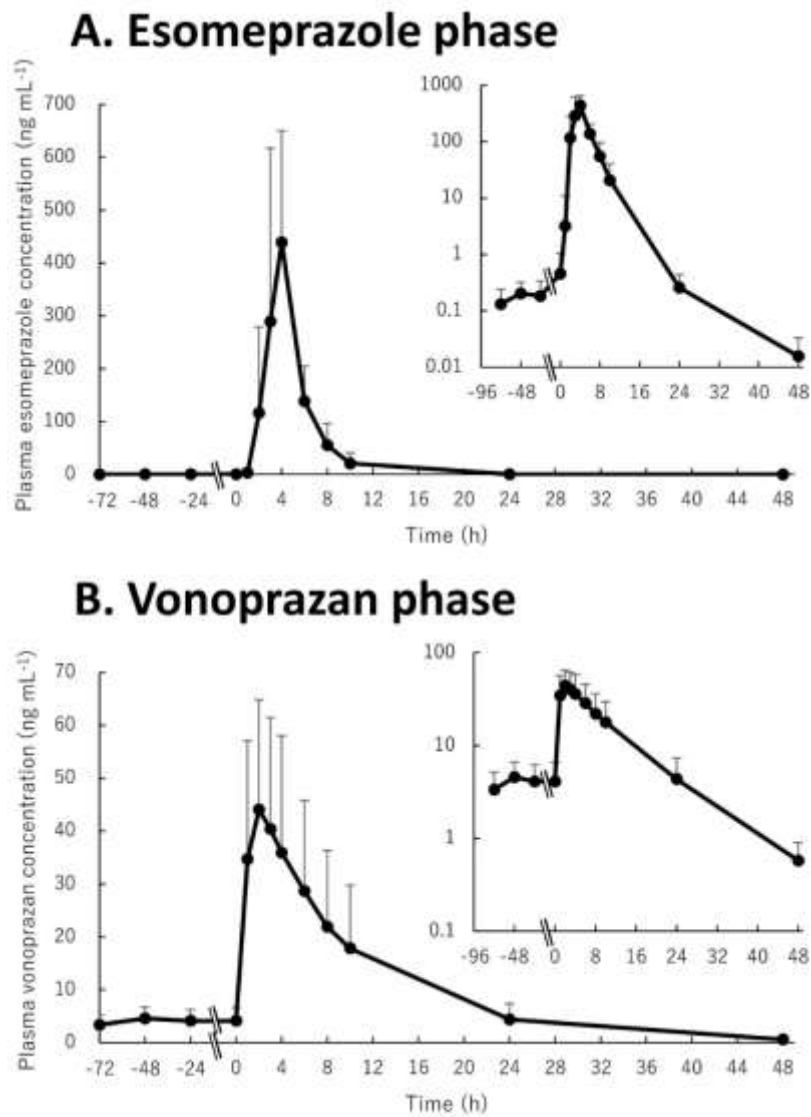


Fig. 7 各 phase における阻害薬反復投与 4 回目までの血漿トラフ濃度および 5 回目の投与後の血漿中濃度推移 (n=7, mean+SD)。

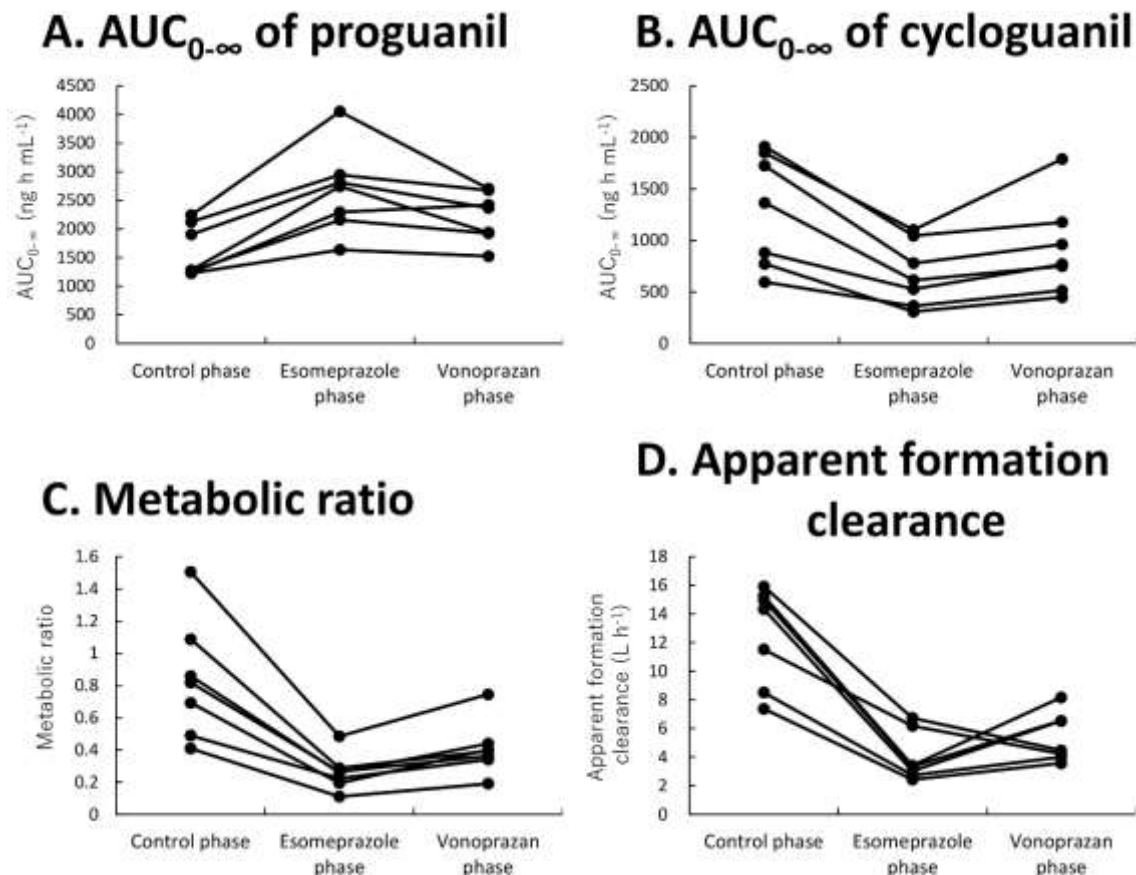


Fig. 8 各 phase における proguanil の AUC_{0-∞} (A), cycloguanil の AUC_{0-∞} (B), metabolic ratio (cycloguanil の AUC_{0-∞} / proguanil の AUC_{0-∞}) (C) と見かけの生成クリアランス (cycloguanil の累積尿中排泄量 / proguanil の AUC₀₋₄₈) (D) (n=7)。

4. 考察

本研究において、EPZ または VPZ の同時投与は、健康成人において、CYP2C19 基質として使用した proguanil の薬物動態を変化させることが確認された。

EPZ は OMP の S-異性体であり、CYP2C19 を介した DDI のリスクと関連があることが知られている³⁰⁾。Control phase と比較して EPZ phase では、metabolic ratio (cycloguanil の AUC_{0-∞} / proguanil の AUC_{0-∞}) および見かけの生成クリアランス (cycloguanil の累積尿中排泄量/proguanil の AUC₀₋₄₈) が有意に低く、proguanil の尿中排泄の有意な増加および cycloguanil の尿中排泄の有意な減少も認められた (Table 2)。これらの結果は、EPZ が proguanil から cycloguanil への代

謝を阻害することを示唆している。ラセミ体 OMP の反復経口投与 (40 mg/day、7 日間) は、proguanil AUC の 1.49 倍の増加および cycloguanil AUC の 0.53 倍の減少をもたらすことが報告されている³¹⁾。本研究において、5 日間連続して 20 mg の EPZ を経口投与すると、proguanil の AUC_{0-∞} が 1.67 倍増加し、cycloguanil の AUC_{0-∞} が 0.522 倍減少した (Table 2)。EPZ による CYP2C19 阻害効果は、OMP による阻害よりも強い (最大酵素不活性化速度定数【 k_{inact} 】と最大の 2 分の 1 の不活性化を引き起こす濃度【 K_I 】の比は 2.1 倍高い) ことが報告されている²³⁾。したがって、本試験で観察された EPZ phase における proguanil および cycloguanil の AUC の変化は、OMP 40 mg /日の投与に関する既報の結果²³⁾と矛盾しないと考えられる。

EPZ phase よりも弱い、VPZ phase においても metabolic ratio (cycloguanil の AUC_{0-∞} / proguanil の AUC_{0-∞}) は、control phase よりも低かった (EPZ phase : 0.317 倍、VPZ phase : 0.507 倍)。同様に EPZ phase よりも弱い、VPZ 投与により proguanil の累積尿中排泄量は増加し (EPZ phase : 1.83 倍、VPZ phase : 1.07 倍、cycloguanil の尿中排泄量の累積量は減少した (EPZ phase : 0.504 倍、VPZ phase : 0.593 倍)。したがって、VPZ も proguanil から cycloguanil への代謝を阻害することが示唆された (Table 2)。

VPZ phase における cycloguanil の AUC_{0-∞} は control phase よりも低い傾向があったが、その差は統計的に有意ではなく、これは個人間変動が大きいことに起因すると思われる (Table 2、Fig. 8)。Cycloguanil の AUC_{0-∞} と CL_r との間には有意な負の相関 ($p < 0.01$) があり (Fig. 9)、cycloguanil の腎排泄における個人間変動がその AUC_{0-∞} における個人間変動の一因であることが示唆される。

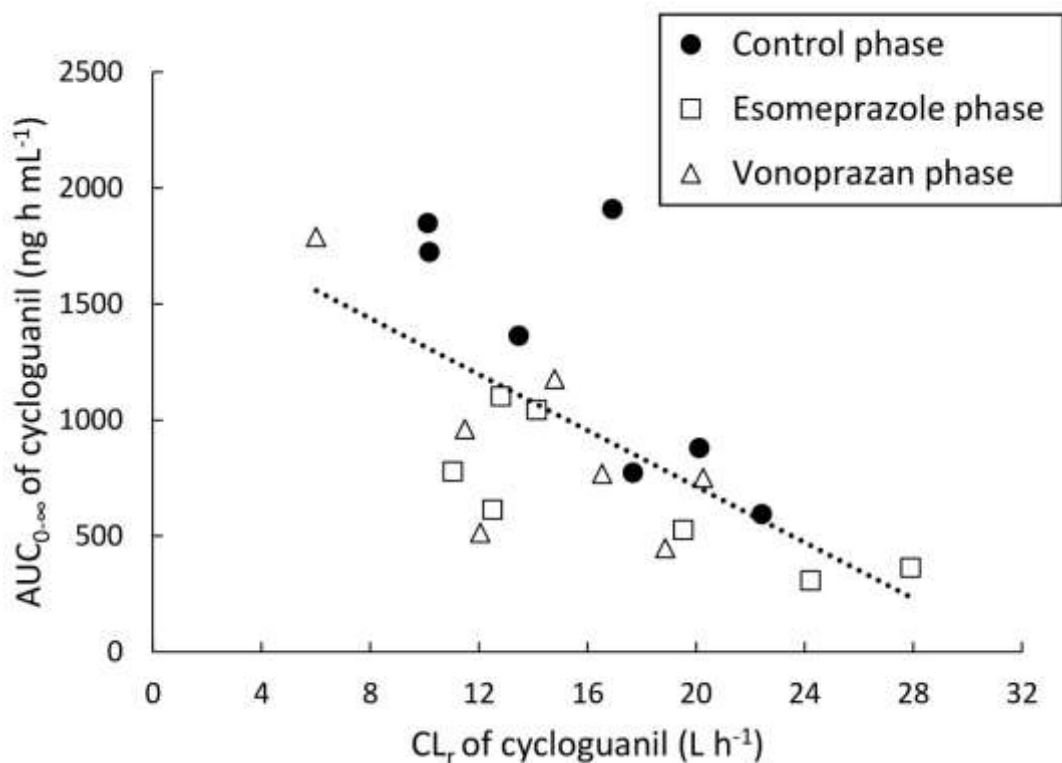


Fig. 9 Cycloguanil の AUC_{0-∞} と CL_r の関係

記号は個々の被験者の値を表す (● : control phase、□ : EPZ phase、△ : VPZ phase、各 n=7)。点線は線形最小二乗回帰直線を表す (n=21)。

HLM を用いた *in vitro* 試験では、VPZ による *S*-mephenytoin の 4'-水酸化阻害作用は弱く²⁵⁾、clopidogrel からその活性代謝物 H4 への変換にはほとんど影響がないことが報告されている²⁷⁾。しかしながら、本研究の結果から、VPZ が *in vivo* での CYP2C19 代謝に対して有意な阻害効果を有することが示唆され、既報²⁶⁾における VPZ 併用による clopidogrel の効果の減弱は CYP2C19 阻害に基づく可能性が明らかとなった。臨床試験において併用により DDI が起きないことが保証されるまで、VPZ と CYP2C19 基質の併用には注意を払うべきである。

HLM を用いた *in vitro* 試験で、VPZ は CYP3A4 および CYP2B6 に対して TDI を示したことが報告されている²⁵⁾。CYP3A4 は、proguanil からの cycloguanil の生成に部分的に関与しているが²⁰⁾、Sakurai らは clarithromycin と VPZ の臨床相

相互作用試験に基づいて、VPZ による CYP3A4 を介した DDI の可能性を除外している³²⁾。

前臨床データに基づくと、VPZ と proguanil の間の薬物動態学的 DDI は説明できない。可能性の一つは、VPZ の代謝産物の寄与である。VPZ は、CYP、UDP-グルクロニルトランスフェラーゼおよびスルホニルトランスフェラーゼによってさまざまな代謝産物に代謝され³³⁾、EPZ の場合と同様に CYP2C19 を阻害する可能性がある。あるいは、HLM を用いた *in vitro* 試験における CYP2C19 阻害の効力について基質依存性が報告されている^{23,34)}ため、VPZ による阻害作用が基質に依存する可能性がある。さらに、proguanil と cycloguanil はどちらも有機カチオントランスポーター (OCT) 1 (肝臓への取り込みに関与するトランスポーター) および腎排泄に関与するトランスポーター (OCT2 と multidrug and toxic compound extrusion (MATE) 1 / MATE2-K) の基質であることが示されている³⁵⁾。肝取り込みは肝代謝の最初のステップであるため、proguanil の肝取り込みを阻害すると、cycloguanil 生成が減少する可能性がある。最近、Matthaei らは輸送活性の低下を示す OCT1 対立遺伝子がより低い cycloguanil - proguanil 比と関連していることを報告した³⁶⁾。すなわち、DDI の機序として VPZ による OCT1 阻害の可能性が考えられる。しかしながら、OCT1 発現細胞を用いた取り込み予備検討試験において、VPZ は 1 μ M (345 ng/mL) まで阻害効果を示さず、本 DDI は VPZ による OCT1 阻害に基づくものではないことが示唆された。

Cycloguanil の CL_r に対して VPZ の影響が認められなかったことから、VPZ による OCT2 および MATE1 / MATE2-K の阻害の可能性は否定される。別の可能性として、EPZ と sonidegib の相互作用において示唆されている³⁷⁾ように、EPZ と VPZ が胃内 pH の上昇を介して proguanil の吸収に影響を与えた可能性も考えら

れる。VPZ と proguanil の間の相互作用のメカニズムを解明するために、さらなる研究が必要である。

Proguanil 単独の製剤は日本では市販されていないため、本研究では atovaquone 250 mg との配合製剤を使用した。Atovaquone は CYP2C19 または CYP3A4 によってほとんど代謝されず³⁸⁾、CYP2C19 を阻害しないことが報告されている³⁹⁾。一方、atovaquone は CYP3A4 を阻害する (IC_{50} : 4.70 μ M)³⁹⁾が、250 mg 投与後の非結合形の C_{max} ($C_{max}^{39)$ と血漿中非結合形分率⁴⁰⁾から 0.037 μ M 以下と算出される) は上記の IC_{50} 値よりはるかに低いので、atovaquone が *in vivo* で CYP3A4 を阻害する可能性は低いと考えられる。実際、健康成人に atovaquone 1000 mg と proguanil 400 mg を単独または併用して投与した場合に、atovaquone、proguanil および cycloguanil の AUC の違いは 10%以内であったことが報告されている⁴¹⁾。Control phase における proguanil および cycloguanil の血漿中濃度推移は、proguanil 単独経口投与で報告された推移³¹⁾と同様な推移であり、atovaquone が本研究における proguanil の薬物動態に影響を及ぼした可能性は低いと考えられる。EPZ の血漿中濃度 (EPZ phase) も既報¹²⁾と同じ傾向であったため、atovaquone と proguanil は EPZ の薬物動態に影響を及ぼさなかったことが示唆される (Fig. 7A)。一方、VPZ (CYP3A4 によって代謝される) の血漿中濃度は既報^{25,42)}よりも高く、atovaquone の AUC は control phase よりも VPZ phase の方が 1.90 倍高かった (Fig. 10、Table 3)。この機序は不明であるが、control phase および EPZ phase における atovaquone 濃度は既報^{39,40)}と同程度であり、VPZ phase でも CYP3A4 を阻害する濃度には達していなかった。VPZ の 5 回目投与 (atovaquone / proguanil 併用)24 時間後の血漿中濃度は、1 回目から 4 回目の投与後のトラフ濃度と同程度であり (Fig. 7B)、本研究で atovaquone が VPZ の代謝を阻害した可能性は低いと考えられる。

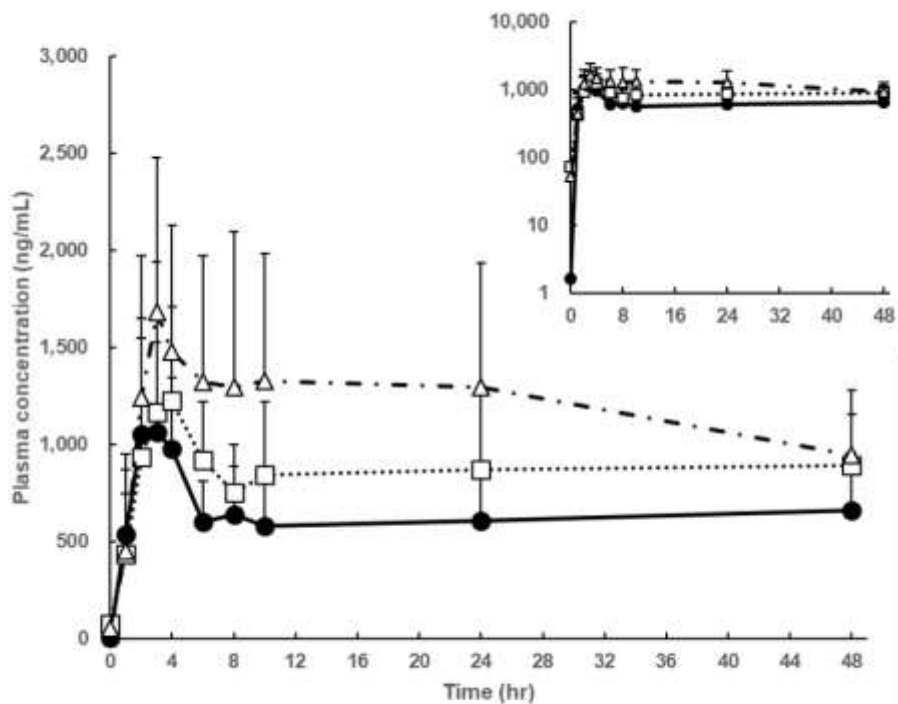


Fig. 10 健康成人における atovaquone の血漿中濃度推移

●実線: control phase における 100 mg proguanil/250 mg atovaquone 単回経口投与, □点線: EPZ phase における EPZ の 5 回目投与と 100 mg proguanil/250 mg atovaquone 単回経口同時投与, △破線: VPZ phase における VPZ の 5 回目投与と 100 mg proguanil/250 mg atovaquone 単回経口同時投与. (n=7, mean+S.D.).

Table 3 atovaquone の薬物動態パラメータ

	Control phase	Esomeprazole phase	Vonoprazan phase
C_{max} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1.24 \pm 0.50	1.42 \pm 0.69	1.82 \pm 0.81
T_{max} (h)	2.86 \pm 0.90	2.86 \pm 0.90	2.86 \pm 0.90
AUC_{0-48} ($\mu\text{g h mL}^{-1}$)	30.6 \pm 11.7	41.8 \pm 15.0	57.5 \pm 25.8*

(n=7, mean \pm S.D.). *p<0.05 vs control

本研究には2つの限界点がある。最初に、本研究は1群3期として実施された。しかしながら、7日の休薬期間を置くことで、CYP2C19に対するEPZの阻害効果は完全に回復することが生理学的薬物速度論モデルを用いたシミュレーションにより示され、VPZ phaseにおいて前期の影響がないことが示唆された。第2に、control phaseの入院日数(4日)は、EPZ phaseおよびVPZ phaseの入院日数(それぞれ8日)よりも短く、これはproguanilとcycloguanilの体内動態に見られる差異の一因となった可能性がある。しかしながら、Fig. 5Bに示すように、少なくともproguanilおよびcycloguanilは、EPZ phaseの開始時点(最初のproguanil投与の9日後)には完全に消失していた。

結論として、本研究の結果は、臨床用量のEPZとVPZが両方ともCYP2C19を潜在的に阻害し、薬物動態学的相互作用をもたらす可能性があることを示唆している。clopidogrel、citalopramおよびproguanilなど⁵⁾のCYP2C19基質と組み合わせたこれらの薬物の使用には注意が必要である。

第二章

HLM における *S*-mephenytoin 4'-水酸化活性に及ぼす EPZ および VPZ の影響

1. 緒言

第 1 章において、臨床用量の EPZ と VPZ が両者とも CYP2C19 を潜在的に阻害し、薬物動態学的相互作用をもたらす可能性があることが示された。

EPZ および VPZ による CYP2C19 阻害に時間依存性を認めたことが報告されている^{21-23,25)}。VPZ による CYP2C19 阻害作用を EPZ と直接比較した *in vitro* 試験の報告はなく、いずれも時間依存的阻害については詳細に検討されていないことから、本章では、CYP2C19 による *S*-mephenytoin の 4'-水酸化活性に対する EPZ と VPZ の阻害作用を比較する目的で、HLM を用いて検討を行った。

S-mephenytoin の 4'-水酸化反応は、*in vitro* 試験における CYP2C19 活性のプロローブ反応として、アメリカ食品医薬品局の DDI ドラフトガイダンス⁴³⁾や厚生労働省の「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」³⁾などで推奨されている (Fig. 11)。

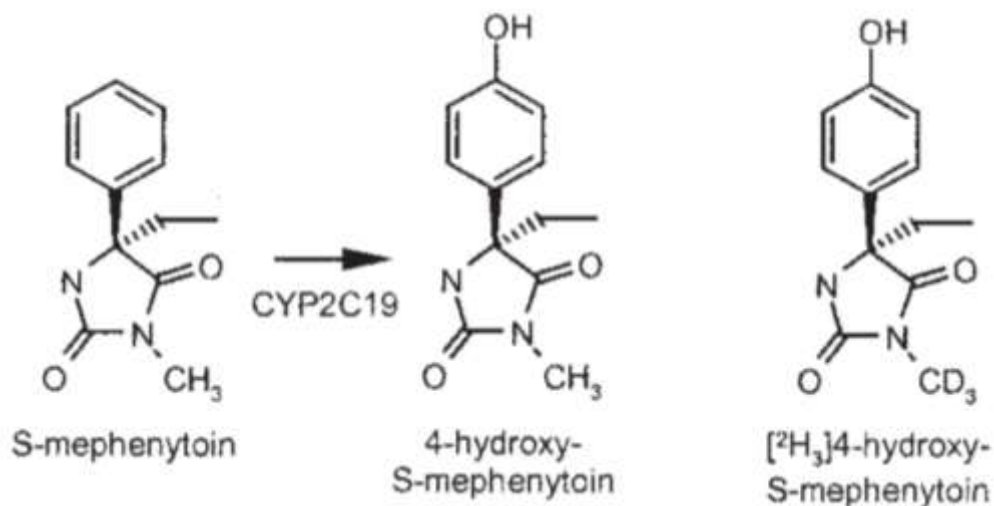


Fig. 11 *S*-mephenytoin および *S*-mephenytoin 水酸化により生成する 4-hydroxy-*S*-mephenytoin (別名: 4'-hydroxymephenytoin)、4'-hydroxymephenytoin の放射性同位体である [³H]₃4-hydroxy-*S*-mephenytoin (別名: 4'-hydroxymephenytoin-d₃) の構造式⁴⁴⁾

2. 方法

2.1 試薬

S-mephenytoin、(+/-) -4-hydroxymephenytoin-d₃ は Toronto Research Chemicals. (Toronto, Canada) から購入した。(+/-) -4-hydroxymephenytoin は Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Texas, USA) から購入した。EPZ マグネシウム三水和物は LKT Laboratories, Inc. (Minnesota, USA) から購入した。TAK-438 (VPZ フマル酸塩) は Chemscene LLC. (New Jersey, USA) から購入した。HLM 150-Donor Pool、NADPH 生成系 A 液 (26.1 mM NADP⁺、66 mM グルコース 6 リン酸、66 mM MgCl₂)、NADPH 生成系 B 液 (40 U/mL グルコース 6 リン酸デヒドロゲナーゼ) は Corning® Gentest™. (Tokyo, Japan) から購入した。メタノール、アセトニトリルは和光純薬工業株式会社 (Osaka, Japan) から購入した。その他の試薬は市販の最高品質の物を使用した。

2.2 線形性試験

S-mephenytoin 代謝線形性試験²¹⁾ (Fig. 12)

HLM 最終濃度 0.125、0.25、0.5 mg/mL、インキュベーション時間を 10、20、30 分に設定し、*S*-mephenytoin の代謝試験を行った。

HLM (20 mg/mL)、リン酸緩衝液 (50 mM; pH 7.4) および *S*-mephenytoin (4 mM, メタノール溶液) を混合することで反応前溶液を調製し、1.5 mL チューブに分注した (n=3)。この分注した反応前溶液と NADPH 生成系をそれぞれヒートブロック (THERMO BLOCK ND-S01, 株式会社 日伸理化, Tokyo, Japan) を用いて 37°C、5 分間プレインキュベーションした後、反応前溶液に NADPH 生成系を添加し (反応総液量: 200 μL、最終濃度; HLM: 0.125、0.25、0.5 mg/mL、*S*-mephenytoin: 40 μM、メタノール: 1%)、反応を開始した。37°C で 10、20、30 分間インキュベ

ーションした後、氷冷した反応停止液 (100 nM 4'-hydroxymephenytoin-d₃ アセトニトリル溶液) 200 μL を加え、ボルテックスミキサーを用いて 20 秒間混合することで反応を停止させた。その後、4°C、12,000×g で 10 分間遠心分離 (centrifuge 5427 R, Eppendorf, Hamburg, Germany) した後、上清を別のチューブに移し、濃縮遠心機 (centrifugal concentrator CC-105, 株式会社トミー精工, Tokyo, Japan) により 6–18 時間乾固させた。残渣に移動相 (精製水 : メタノール = 9 : 1) を加え、ソニケーション (ULTRASONIC CLEANER W-211, 本多電子株式会社, Aichi, Japan) およびボルテックスミキサーによる混合をそれぞれ 30 秒ずつ 3 セット行うことで再溶解した。この溶液 10 μL を LC-MS/MS に注入し、4'-hydroxymephenytoin および内部標準物質のピーク面積を測定した。



Fig. 12 線形性試験の手順

<LC-MS/MSによる測定条件>

- ◆ 装置: LCMS-8040 (株式会社島津製作所、Kyoto、Japan)
- ◆ Ion mode: ESI positive
- ◆ カラム: TSKgel ODS- 100 V, 5 μ m, 2.0 mm \times 5.0 cm (東ソー株式会社、Tokyo、Japan)
- ◆ 移動相: A 液: 精製水 (0.2%ギ酸)
B 液: メタノール (0.2%ギ酸)
- ◆ グラディエント条件: Table 4
- ◆ 流速: 0.25 mL/min
- ◆ 注入量: 10 μ L
- ◆ カラム温度: 40 $^{\circ}$ C
- ◆ 測定イオン: Table 5

Table 4 グラディエント条件

Min	0	1	5	7	11
%B	10	10	95	95	10

Table 5 測定イオン

測定イオン	MS (m/z)	MS/MS (m/z)	保持時間 (min)
4'-hydroxymephenytoin	234.90	150.10	4.619
4'-hydroxymephenytoin-d ₃	237.90	150.00	4.611

2.3 可逆的阻害試験 (Fig. 13)

HLM (20 mg/mL)、リン酸緩衝液、*S*-mephenytoin (40 mM, メタノール溶液)、および阻害薬 (EPZ または VPZ; 0–20 mM, メタノール溶液) を混合することで反応前溶液を調製し、1.5 mL チューブに分注した (n=3)。この分注した反応前溶液と NADPH 生成系をそれぞれヒートブロックを用いて 37 $^{\circ}$ C、5 分間プレインキ

キュベーションした後、反応前溶液に NADPH 生成系を添加し (反応総液量: 200 μL 、最終濃度; HLM: 0.1 mg/mL、S-mephenytoin: 40 μM 、EPZ または VPZ: 0、1、3、10、30、100 μM 、メタノール: 1%)、反応を開始した。37°C で 30 分間インキュベーションした後、氷冷した反応停止液 200 μL を加え、ボルテックスミキサーを用いて 20 秒間混合することで反応を停止させた。以降の操作は 2.2. 線形性試験の方法に従い、4'-hydroxymephenytoin の定量を行った。



Fig. 13 可逆的阻害試験の手順

2.4 時間依存的阻害試験 (Fig. 14)

HLM (20 mg/mL)、リン酸緩衝液および阻害薬 (EPZ または VPZ: 0-10 mM, メタノール溶液) を混合することで MBI 反応前溶液を調製し、1.5 mL チュー

ブに分注した (n=2)。この分注した MBI 反応前溶液と NADPH 生成系をそれぞれヒートブロックを用いて 37°C、5 分間プレインキュベーションした後、MBI 反応前溶液に NADPH 生成系を添加して反応を開始した (MBI 反応溶液総液量: 100 μ L、プレインキュベーション時の最終濃度; HLM: 1 mg/mL、EPZ または VPZ: 0、5、10、30、100 μ M、メタノール: 1%)。37°C でプレインキュベーション (EPZ 添加時: 0、5、10、15 分間; VPZ 添加時: 0、10、20、30 分間) した後、*S*-mephenytoin (40 mM, メタノール溶液)、リン酸緩衝液および NADPH 生成系の混合溶液の入ったチューブ 2 本に 30 μ L ずつ MBI 反応溶液を添加 (総液量: 300 μ L、最終濃度; HLM: 0.1 mg/mL、*S*-mephenytoin: 40 μ M) し、10 分間インキュベーションを行った。その後、氷冷した反応停止液 300 μ L を加え、ボルテックスミキサーを用いて 20 秒間混合することで反応を停止させた。以降の操作は 2.2. 線形性試験の方法に従い、4'-hydroxymephenytoin の定量を行った。

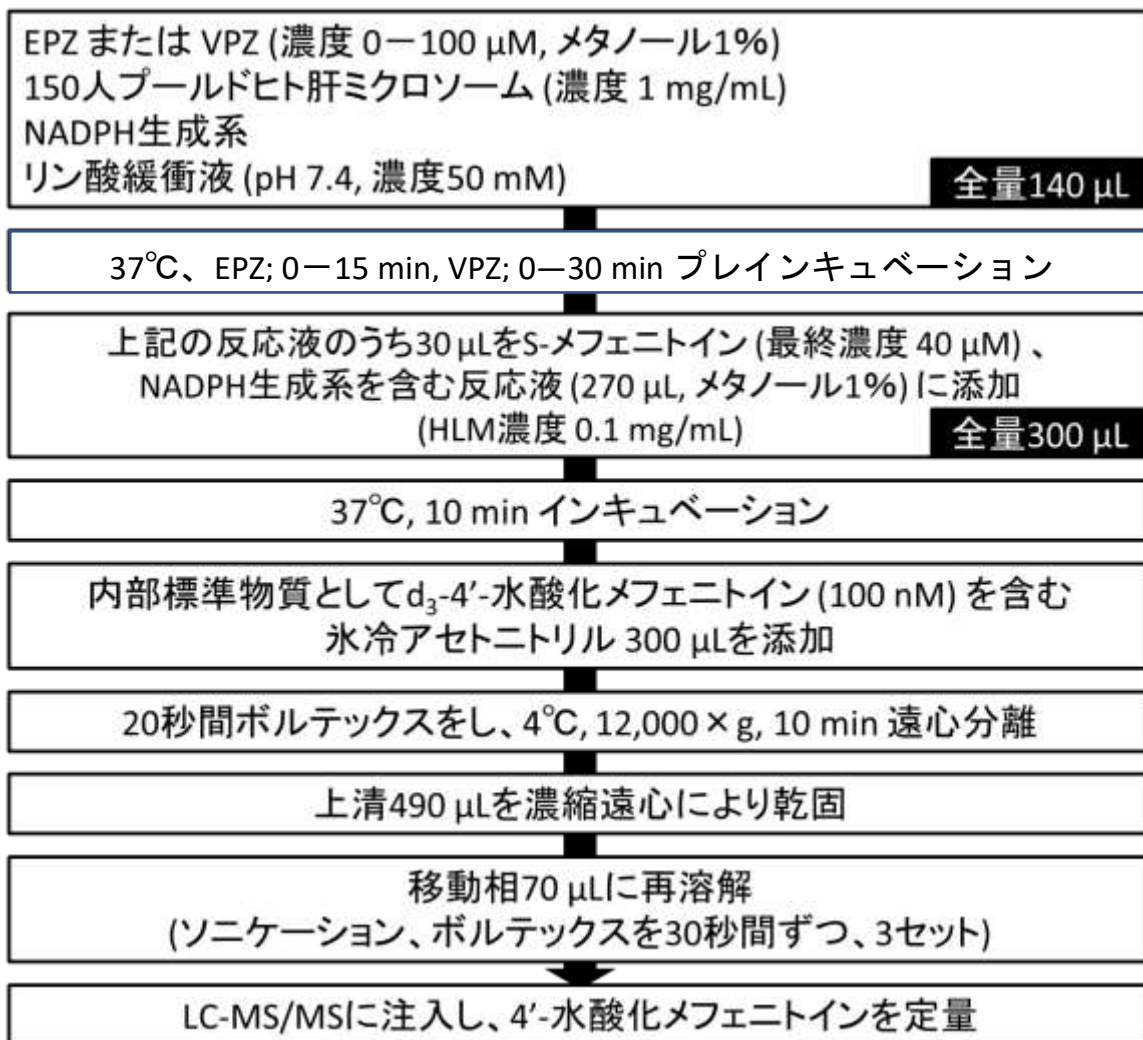


Fig.14 時間依存的阻害試験の手順

2.5 データ解析

2.5.1 代謝速度の算出

4'-hydroxymephenytoin の検量線から求めた濃度 (nM) を HLM 濃度 (0.1 mg/mL) および代謝反応時間 (可逆的阻害試験: 30 min、時間依存的阻害試験: 10 min) で除することにより代謝速度 (pmol/min/mg protein) を求めた。

また、上記の方法で求めた代謝速度 (pmol/min/mg protein) を control (阻害薬 0 μM、プレインキュベーション 0 min) の代謝速度 (pmol/min/mg protein) で除することにより代謝速度 (% of control) を求めた。

2.5.2 IC₅₀ 値の算出

非線形最小二乗法プログラム MULTI⁴⁶⁾ を用いて式 1 に阻害薬濃度 (EPZ または VPZ) と S-mephenytoin 代謝速度を fitting することにより、IC₅₀ 値を算出した (Damping Gauss-Newton 法、重み=0)。

式 1

$$\text{代謝速度} = 100 \times \left\{ A - \left(\frac{B \times [I]}{IC_{50} + [I]} \right) \right\}$$

(% of control)

1-(A-B) = 最大阻害値 [I] = 阻害薬濃度

2.5.3 時間依存的阻害パラメータの算出

時間依存的阻害試験の結果から、横軸にプレインキュベーション時間、縦軸に代謝速度 (% of control) の常用対数を取り、プロットした直線の傾きを k_{obs} とする。MULTI を用いて式 2 に阻害薬濃度 (EPZ または VPZ) と k_{obs} を fitting することにより、最大酵素不活性化速度定数 (k_{inact}) および最大不活性化速度の 50% の速度をもたらす濃度 (K_i) を算出した (Damping Gauss-Newton 法、重み=0)。

式 2

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_{\text{inact}} \times [I]}{K_i + [I]}$$

k_{obs} : 酵素の不活性化速度定数

3. 結果

3.1 線形性試験

S-mephenytoin 代謝線形性試験

HLM 濃度を 0.125、0.25、0.5 mg/mL、インキュベーション時間を 0、10、20、30 分に設定して代謝試験を行った。各条件における 4'-hydroxymephenytoin (代謝物) 生成量を Fig. 15 に示す。

いずれの条件においてもインキュベーション時間あるいは HLM 濃度と代謝物生成量の関係はほぼ原点を通る直線だったことから、S-mephenytoin の代謝は HLM 濃度 0–0.5 mg/mL およびインキュベーション時間 0–30 min の範囲で線形であることが確認された。

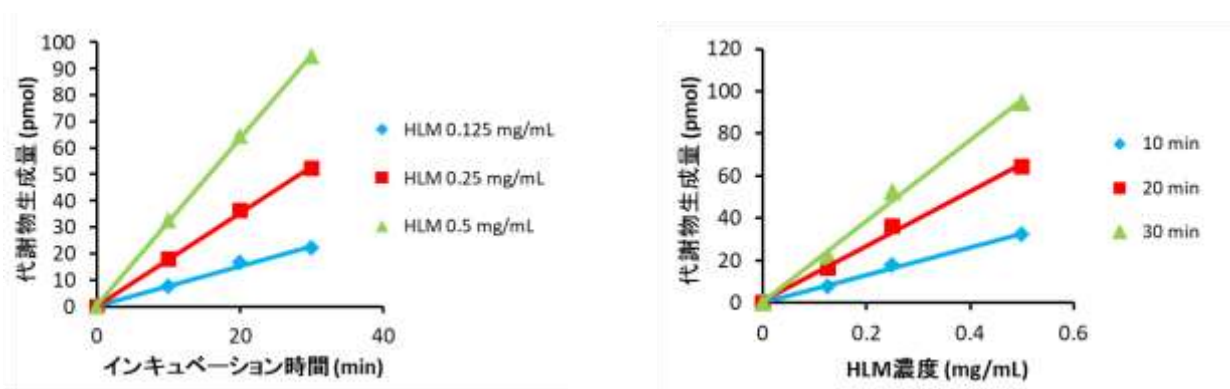


Fig. 15 HLM 濃度およびインキュベーション時間と代謝物生成量の関係 (S-mephenytoin 濃度 40 μ M, n=3, mean \pm SD)

3.2 可逆的阻害試験

S-mephenytoin を基質とした可逆的阻害試験の結果を Fig. 16 に示す。Control の代謝速度は 28.7 ± 0.5 pmol/min/mg protein であった。

EPZ、VPZ 両薬物添加群ともに添加濃度依存的に *S*-mephenytoin の代謝速度は低下した。同濃度で比較をすると、EPZ の方が VPZ より代謝速度を大きく低下させた。MULTI を用いて EPZ の IC_{50} 値を求めた結果、 3.45 ± 0.13 μ M となった。

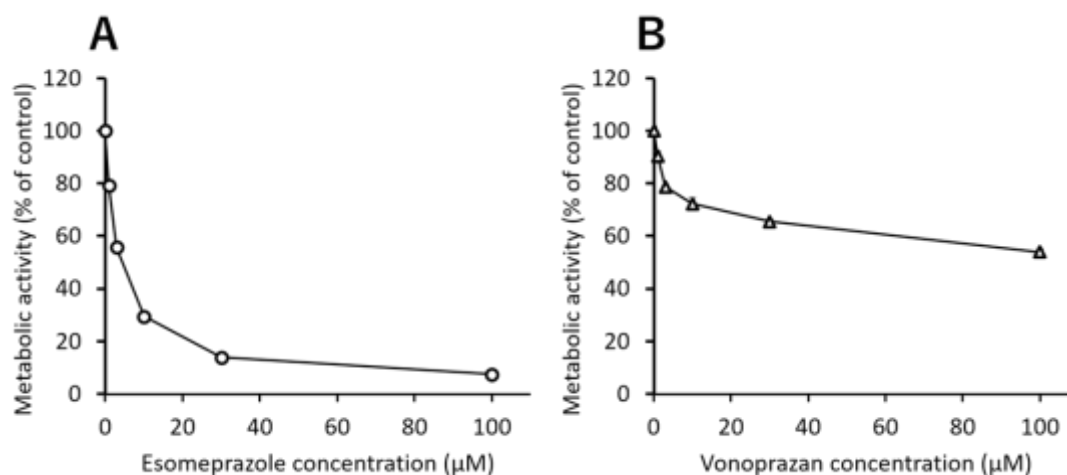


Fig. 16 *S*-mephenytoin $4'$ -水酸化反応に対する EPZ および VPZ の可逆的阻害効果 (n=3, mean \pm SD)

A: EPZ 非存在下における *S*-mephenytoin 代謝速度を 100%とした場合の各濃度の EPZ 存在下における *S*-mephenytoin 代謝速度 (% of control) を示す。曲線は式 1 に基づく fitting ラインである。

B: VPZ 非存在下における *S*-mephenytoin 代謝速度を 100%とした場合の各濃度の VPZ 存在下における *S*-mephenytoin 代謝速度 (% of control) を示す。

3.3 時間依存的阻害試験

パラメータの算出のために、EPZ についてはプレインキュベーション時間を最大 15 分、VPZ についてはプレインキュベーション時間を最大 30 分とした。

EPZ 濃度を 5 点 (0、5、10、30、100 μ M)、プレインキュベーション時間を 4 点 (0、5、10、15 min) に振った条件で行った時間依存的阻害試験の結果を Fig.17、18 に示す。Control (EPZ 濃度 0 μ M、プレインキュベーション時間 0 min) の代

謝速度は 23.2 ± 2.2 pmol/min/mg protein であった。

VPZ 濃度を 5 点 (0, 5, 10, 30, 100 μ M)、プレインキュベーション時間を 4 点 (0, 10, 20, 30 min) に振った条件で行った代謝依存的阻害試験の結果を Fig.17、18 に示す。Control (VPZ 濃度 0 μ M, プレインキュベーション時間 0 min) の代謝速度は 39.6 ± 3.3 pmol/min/mg protein であった。

EPZ、VPZ 共に濃度依存的、プレインキュベーション時間依存的に阻害効果が増強した。

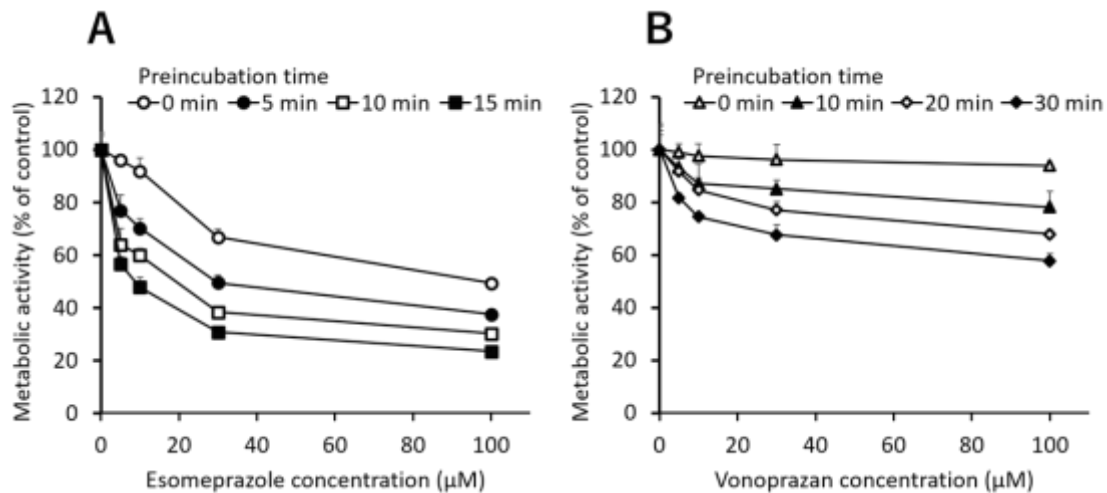


Fig. 17 S-mephenytoin $^{4'}$ -水酸化反応における EPZ および VPZ の時間依存的阻害効果
A: 各濃度の EPZ 存在下における S-mephenytoin 代謝速度 (% of control) をプレインキュベーション時間ごとに示す。(n=4, mean \pm SD)。
B: 各濃度の VPZ 存在下における S-mephenytoin 代謝速度 (% of control) をプレインキュベーション時間ごとに示す (n=3, mean \pm SD)。

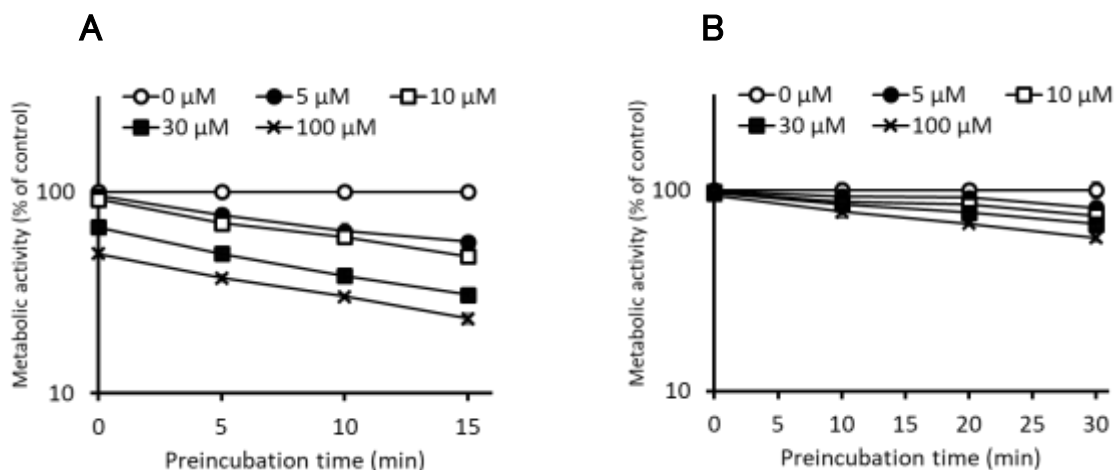


Fig. 18 S-mephenytoin 4'-水酸化反応における EPZ および VPZ の時間依存的阻害効果 (片側対数)

A: プレインキュベーション時間における代謝速度 (% of control) を EPZ 濃度ごとに示す (n=4, mean±SD)。

B: プレインキュベーション時間における代謝速度 (% of control) を VPZ 濃度ごとに示す (n=3, mean±SD)。

EPZ による時間依存的阻害試験において、Fig. 18A のプレインキュベーション時間 0–15 min の直線の傾きを k_{obs} とし、式 2 により k_{inact} および K_I を見積もると、 $k_{inact}=3.06\pm 0.12 \text{ hr}^{-1}$ 、 $K_I=2.42\pm 0.56 \text{ }\mu\text{M}$ (fitted value±S.D.) と算出された (Fig. 19A)。VPZ による Fig. 18B のプレインキュベーション時間 0–30 min の直線の傾きを k_{obs} とし、式 2 により k_{inact} および K_I を見積もると、 $k_{inact}=1.00\pm 0.07 \text{ hr}^{-1}$ 、 $K_I=9.96\pm 2.05 \text{ }\mu\text{M}$ (fitted value±S.D.) と算出された (Fig. 19B)。

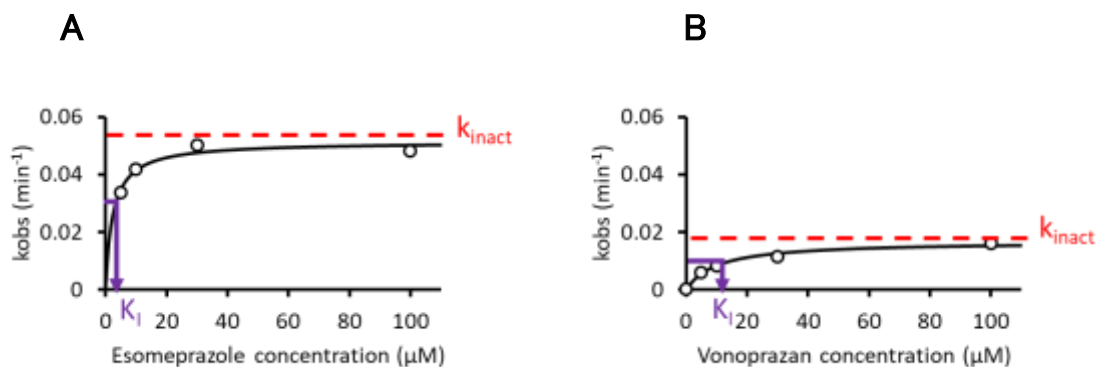


Fig. 19 EPZ および VPZ による時間依存的阻害パラメータの算出

4. 考察

EPZ や VPZ は CYP2C19 を阻害することが報告されているが、両者を同時に比較した *in vitro* 試験はなく、いずれも時間依存的阻害については詳細に報告されていない。そこで本研究では、CYP2C19 による *S*-mephenytoin の 4'-水酸化に及ぼす EPZ と VPZ の可逆的阻害および時間依存的阻害の影響を HLM を用いて比較検討を行った。

HLM における *S*-mephenytoin 4'-水酸化反応の K_m 値として、 $30.3 \mu\text{M}^{43)}$ および $57.2 \pm 2.2 \mu\text{M}^{45)}$ との報告がある。本研究では 4'-hydroxymephenytoin の定量限界を考慮し、*S*-mephenytoin 濃度を $40 \mu\text{M}$ に設定した。

EPZ および VPZ はともに濃度依存的に *S*-mephenytoin 4'-水酸化活性を低下させ (Fig.17)、EPZ の IC_{50} 値は $3.45 \pm 0.13 \mu\text{M}$ と見積もられた。これらの阻害作用は、NADPH 存在下で HLM とのプレインキュベーション (37°C 、 $0-30 \text{ min}$) により時間依存的に増強し、EPZ および VPZ の最大酵素不活性化速度定数 (k_{inact}) はそれぞれ $3.06 \pm 0.12 \text{ hr}^{-1}$ および $1.00 \pm 0.07 \text{ hr}^{-1}$ 、最大不活性化速度の 50% の速度をもたらす濃度 (K_I) はそれぞれ $2.42 \pm 0.56 \mu\text{M}$ および $9.96 \pm 2.05 \mu\text{M}$ と見積もられた。

Zvyaga らの報告²³⁾において、EPZ 濃度 $2 \text{ nM}-40 \mu\text{M}$ 存在下で HLM を用いて *S*-mephenytoin 4'-水酸化活性を測定した結果、可逆的阻害による IC_{50} 値は $3.70 \pm 0.50 \mu\text{M}$ 、時間依存的阻害 (プレインキュベーション 30 min) による IC_{50} 値は $0.76 \pm 0.05 \mu\text{M}$ であった。また、Ogilvie らの報告²¹⁾において、EPZ 濃度 $0.1-100 \mu\text{M}$ の範囲で同様の検討を行った結果、可逆的阻害による IC_{50} 値は $15 \pm 1 \mu\text{M}$ 、時間依存的阻害 (プレインキュベーション 30 min) による IC_{50} 値は $1.5 \pm 0.1 \mu\text{M}$ であった。一方、武田薬品工業株式会社の報告²⁵⁾においては VPZ 濃度 $1, 3, 10, 30 \mu\text{M}$ の範囲で同様に *S*-mephenytoin 4'-水酸化活性を測定した結果、可逆的

阻害および時間依存的阻害 (プレートインキュベーション 30 min) の IC_{50} 値はそれぞれ 30 μ M 以上および 13 μ M であった。S-mephenytoin 濃度や HLM 濃度、インキュベーション時間に違いはあるものの、本研究で得られた阻害パラメータと報告値の間に大きな乖離は認められなかった。

第三章

In vitro 代謝阻害試験によって得られた阻害パラメータを用いたモデル解析による臨床試験において認められた相互作用の検証

1. 緒言

第一章において、臨床用量の EPZ または VPZ の同時投与は、健康成人において、CYP2C19 基質として使用した proguanil の薬物動態を変化させることが確認された。すなわち EPZ と VPZ が両方とも CYP2C19 を潜在的に阻害し、薬物動態学的相互作用をもたらす可能性があることが示された。

第二章において、CYP2C19 による *S*-mephenytoin の 4'-水酸化に及ぼす EPZ と VPZ の可逆的阻害および時間依存的阻害の影響を HLM を用いて比較検討を行った。EPZ、VPZ 共に濃度依存的、プレインキュベーション時間依存的に阻害効果が増強した。

そこで第三章では、第一章の臨床試験において認められた相互作用が CYP2C19 阻害により定量的に説明できるか検討する目的で、第二章の *in vitro* 代謝阻害試験によって得られた阻害パラメータを用いてモデル解析を実施した。

2. 方法

厚生労働省の「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」では、臨床相互作用試験を実施する必要性の有無を判断するために、メカニズムに基づく静的薬物速度論 (MSPK) モデルを用いて被験薬が阻害薬あるいは誘導薬となる可能性を評価し (式 3)、AUC 変化率が 0.8–1.25 の範囲外であった場合には、臨床薬物相互作用試験が必要とされている³⁾。

式 3

$$\text{AUC上昇率} = \left\{ \frac{1}{[A_h \times B_h \times C_h] \times f_m + (1 - f_m)} \right\} \times \left\{ \frac{1}{[A_g \times B_g \times C_g] \times (1 - F_g) + F_g} \right\}$$

時間依存的阻害	$A_h = \frac{k_{deg, h}}{k_{deg, h} + \frac{[I]_h \times k_{inact}}{[I]_h + K_i}}$	$A_g = \frac{k_{deg, g}}{k_{deg, g} + \frac{[I]_g \times k_{inact}}{[I]_g + K_i}}$
誘導	$B_h = 1 + \frac{d \times E_{max} \times [I]_h}{[I]_h + EC_{50}}$	$B_g = 1 + \frac{d \times E_{max} \times [I]_g}{[I]_g + EC_{50}}$
可逆的阻害	$C_h = \frac{1}{1 + \frac{[I]_h}{K_i}}$	$C_g = \frac{1}{1 + \frac{[I]_g}{K_i}}$

h: 肝臓 g: 消化管 k_{deg} : 酵素の分解速度定数

k_{inact} : 最大酵素不活性化速度定数

K_i : 酵素と阻害薬の見かけの解離定数

d: 換算係数 E_{max} : 最大誘導作用

EC_{50} : 最大効果の 50% の効果をもたらす濃度

K_i : 阻害定数

f_m : 阻害 (誘導) を受ける P450 を介した基質の代謝固有クリアランスの、肝臓全ての代謝固有クリアランスに対する割合

F_g : 薬物が消化管上皮細胞に吸収後、門脈血に到達する割合

CYP2C19 での肝代謝のみによって体内から消失する薬物を想定し、EPZ あるいは VPZ の併用によって CYP2C19 が阻害されることによる薬物の AUC 上昇率を式 4 または式 5 より推定した。

式 4 (可逆的阻害のみを考慮した場合; 式 2 において f_m 、 A_h 、 B_h 、 F_g を 1 と仮定)

$$\text{AUC上昇率} = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

式 5 (可逆的阻害および時間依存的阻害を考慮した場合; 式 2 において f_m 、 B_h 、 F_g を 1 と仮定)

$$\text{AUC上昇率} = \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \times \frac{k_{\text{deg}} + \frac{[I] \times k_{\text{inact}}}{[I] + K_i}}{k_{\text{deg}}}$$

k_{deg} = CYP2C19 の分解速度定数 (0.02665 hr⁻¹ 47)

[I] に代入する阻害薬濃度として、肝臓入口における非結合形濃度の最大値 ($[I]_{u, \text{inlet}, \text{max}}$) および最高血漿中非結合形濃度 ($[I]_{u, \text{max}}$) を用いた。

$[I]_{u, \text{inlet}, \text{max}}$ は阻害薬併用による相互作用予測の偽陰性を避けるための阻害薬濃度として使用され、式 6 を用いて推定した⁴⁸⁾。式 6 に代入する数値は表 3 の通りとした。

式 6

$$[I]_{u, \text{inlet}, \text{max}} = fu \times \left\{ [I]_{\text{max}} + \left(\frac{\text{Dose} \times ka \times Fa}{Q} \right) \right\}$$

fu: 血漿中非結合形分率

[I]_{max}: 最高血漿中濃度

Dose: 投与量

ka: 吸収速度定数

Fa: 消化管吸収率

Q: 肝血流速度 (1.5 L/min)

Table 6 式 6 への代入値

	EPZ	VPZ
[I] _{max} ^{※1}	2.56 μM ¹²⁾ (884 μg/L)	54.3 nM ¹³⁾ (32.3 μg/L)
Dose	20 mg/日 ¹²⁾	20 mg/日 ¹³⁾
ka ^{※2}	0.014 min ⁻¹	0.011 min ⁻¹
Fa ^{※3}	1	1
血漿タンパク結合率	97% ¹²⁾	85.2% ¹³⁾

※1 EPZ: 1日1回20 mgを5日間反復投与

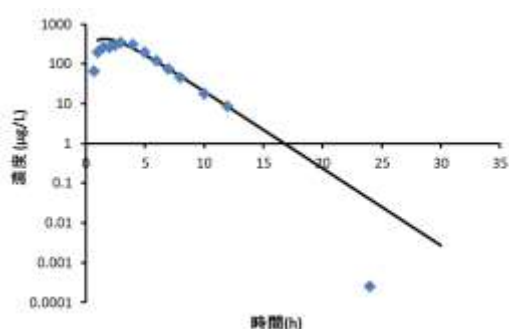
VPZ: 1日1回20 mgを7日間反復投与

※2 各々20 mgを単回経口投与後の血漿中濃度推移^{12, 13)}を1-コンパートメントモデルに当てはめることにより求めた。(Fig. 20)

※3 仮定

EPZ:

$$C = 1823.97 \times (e^{-0.45t} - e^{-0.86t})$$



VPZ:

$$C = 45.04 \times (e^{-0.21t} - e^{-0.64t})$$

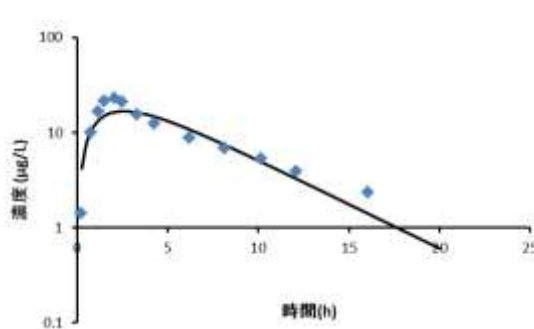


Fig. 20 1-コンパートメントモデルの式およびグラフ

3. 結果

式 6 より EPZ、VPZ の $[I]_{u, \text{inlet}, \text{max}}$ は、それぞれ $0.0841 \mu\text{M}$ 、 $0.0545 \mu\text{M}$ と算出された。EPZ および VPZ の $[I]_{u, \text{max}}$ は、それぞれ $[I]_{\text{max}}$ に f_u を乗じることにより、 $0.0768 \mu\text{M}$ 、 8.04 nM と算出された。

可逆的阻害試験において、基質濃度はミカエリス定数 (K_m) 付近の $40 \mu\text{M}^{21)}$ で行っているため、競合阻害を仮定すると Michaelis-Menten 式より K_i は IC_{50} の $1/2$ 程度と考えられる。

EPZ の可逆阻害における IC_{50} 値は $3.45 \mu\text{M}$ であるので K_i を $1.73 \mu\text{M}$ とすると、可逆阻害のみによる AUC 上昇率 (式 4) は $[I]_{u, \text{max}}$ を用いた場合 1.04 倍、 $[I]_{u, \text{inlet}, \text{max}}$ を用いた場合 1.05 倍と推定された。

EPZ の TDI を考慮した CYP2C19 による肝代謝のみで消失する薬物の AUC 上昇率を式 5 により求めたところ、 $[I]_{u, \text{max}}$ ($0.0768 \mu\text{M}$) を用いた場合は 4.56 倍、 $[I]_{u, \text{inlet}, \text{max}}$ ($0.0841 \mu\text{M}$) を用いた場合は 4.88 倍と推定された。

VPZ の TDI を考慮した CYP2C19 による肝代謝のみで消失する薬物の AUC 上昇率を式 5 により求めたところ、 $[I]_{u, \text{max}}$ ($0.00911 \mu\text{M}$) を用いた場合は 1.03 倍、 $[I]_{u, \text{inlet}, \text{max}}$ ($0.0664 \mu\text{M}$) を用いた場合は 1.25 倍と推定された。

4. 考察

本研究の結果から、EPZ を併用することで、CYP2C19 による肝代謝のみで消失する薬物の AUC が最大で 5 倍程度上昇することが見積もられた。実際に、臨床試験で diazepam と EPZ を併用すると、EPZ が CYP2C19 を阻害することで diazepam の代謝を遅延させるため、diazepam の AUC が 1.4 倍程度上昇することが報告されている²⁴⁾。以上より、EPZ と CYP2C19 基質を併用する際には注意が必要である。

VPZ については、CYP2C19 による肝代謝のみで消失する薬物の AUC が最大で 1.25 倍程度上昇させることが見積もられた。すなわち、第 1 章で述べた臨床試験で認められた proguanil と EPZ との相互作用は CYP2C19 阻害により説明可能であるが、VPZ との相互作用は VPZ による CYP2C19 阻害のみでは説明できないことが示唆された。

OMP には CYP2C19 を時間依存的に阻害する代謝物が存在する⁴⁾ので、鏡像異性体の 1 つである EPZ も代謝物による時間依存的阻害が起きる可能性がある。また、臨床試験において、EPZ (20 mg) 併用時より VPZ (10 mg) 併用時の方が clopidogrel の抗血小板作用を減弱させており²⁶⁾、EPZ より VPZ の方が CYP2C19 を強く阻害したと考えられることから、VPZ においても代謝物が CYP2C19 を阻害する可能性があると考えられる。

総括

胃潰瘍・十二指腸潰瘍・逆流性食道炎、ヘリコバクターピロリ除菌の治療には、強力な胃酸分泌抑制作用をもつ PPI が用いられている。本邦では、OMP、lansoprazole、rabeprazole、OMP の S 体である EPZ および VPZ の 5 成分の PPI が医療用医薬品として市販されている。In vitro 試験において、OMP のラセミ体および S 体 EPZ はいずれも臨床濃度で CYP2C19 を阻害することが報告されている。VPZ も CYP2C19 を阻害するが、その阻害作用は弱く、常用量経口投与時の血中濃度を考慮すると、臨床において VPZ が CYP2C19 の代謝活性を阻害する可能性は低いと考えられた。一方、健康成人において、EPZ および VPZ をそれぞれ併用することにより、CYP2C19 により代謝活性化される clopidogrel の抗血小板作用が減弱することが報告された。この報告では clopidogrel およびその活性代謝物の体内動態は評価されておらず、当該相互作用が CYP2C19 阻害に基づくものか明らかになっていない^{27,28)}。臨床現場では EPZ 及び VPZ の医療用医薬品添付文書^{12,13)}には clopidogrel との相互作用情報は記載がないまま、併用投与されていることで潜在的な脳梗塞再発等のリスクが上昇し、患者への安全な薬物療法を提供できていない可能性がある。

そこで、本研究では、EPZ および VPZ の CYP2C19 を介した薬物相互作用リスクを薬物動態学的な観点から検討する目的で、健康成人を対象とした臨床薬

物相互作用試験を実施した。CYP2C19 基質として抗マラリア薬である proguanil を選択し、EPZ および VPZ 併用時並びに非併用時において、proguanil の血漿および尿中濃度と CYP2C19 による主代謝物である cycloguanil の血漿及び尿中濃度を経時的に測定した。また、HLM を用いた *in vitro* 代謝阻害試験を実施し、両 PPI の CYP2C19 に対する阻害パラメータを求め、臨床試験において認められた相互作用が CYP2C19 阻害により定量的に説明できるか検討した。

1. 健康成人における proguanil の体内動態に及ぼす EPZ および VPZ の影響

臨床研究実施医療機関に CYP2C19 extensive metabolizer として登録され、インフォームドコンセントが得られた 7 人の健康な成人男性ボランティアを対象とした。年齢は 37 (20–42) 歳 (中央値 (最小値–最大値)) であった。以下の 3 期の投与スケジュールで非盲検単一群試験を実施した。Control phase : atovaquone 250 mg と proguanil 100 mg の合剤 1 錠を経口投与した。EPZ phase : EPZ 20 mg 1 カプセルを 5 日間反復経口投与し、5 日目のみ atovaquone 250 mg と proguanil 100 mg の合剤 1 錠を同時に経口投与した。VPZ phase : VPZ 20 mg 1 錠を 5 日間反復経口投与し、5 日目のみ atovaquone 250 mg と proguanil 100 mg の合剤 1 錠を同時に経口投与した。各 phase の proguanil 投与後に血漿および尿をそれぞれ 48 時間後まで経時的に採取し、proguanil および cycloguanil の濃度を LC-MS/MS に

より測定した。EPZ phase においては control phase と比べ、proguanil および cycloguanil の AUC がそれぞれ有意に上昇 (1.67 倍) および有意に低下 (0.522 倍) し、それらの AUC 比 (cycloguanil/proguanil) は有意に低下 (0.317 倍) した。VPZ phase においては control phase と EPZ phase においては control phase と比べ、proguanil および cycloguanil の血中濃度時間曲線下面積 (AUC) がそれぞれ有意に上昇 (1.67 倍) および有意に低下 (0.522 倍) し、それらの AUC 比 (cycloguanil /proguanil) は有意に低下 (0.317 倍) した。VPZ phase においては control phase と比べ、proguanil および cycloguanil の AUC が有意差はないもののそれぞれ 1.42 倍に上昇および 0.716 倍に低下し、それらの AUC 比 (cycloguanil / proguanil) は有意に低下 (0.507 倍) した。EPZ phase および VPZ phase における proguanil および cycloguanil の腎クリアランスには、いずれも control phase との有意な差は認められなかった。すなわち、EPZ および VPZ 併用による proguanil の AUC 上昇および cycloguanil の AUC 低下は、腎排泄の変動ではなく CYP2C19 代謝の阻害に基づくと考えられる。したがって、EPZ および VPZ は、臨床用量でいずれも CYP2C19 阻害に基づく薬物動態学的な相互作用を生じる可能性が示唆された。

2. HLM における *S*-mephenytoin 4'-水酸化活性に及ぼす EPZ および VPZ の影響

CYP2C19 プローブ反応である *S*-mephenytoin 4'-水酸化反応に対する EPZ お

よび VPZ の阻害作用について、HLM を用いた *in vitro* 試験により検討した。可逆的阻害試験は HLM (濃度 0.1 mg/mL) を用いて、リン酸緩衝液 (pH 7.4、濃度 50 mM) 条件下、EPZ あるいは VPZ (0–100 μ M) 存在下で *S*-mephenytoin (40 μ M) の代謝試験を行い、LC-MS/MS により 4'-hydroxymephenytoin の定量を行った。EPZ および VPZ はともに濃度依存的に *S*-mephenytoin 4'-水酸化活性を低下させ、EPZ の 50% 阻害濃度 (IC₅₀) は 3.45±0.13 μ M と見積もられた。これらの阻害作用は、NADPH 存在下で HLM (濃度 1 mg/mL) とのプレインキュベーション (37°C、0–30 min) により時間依存的に増強し、EPZ および VPZ の最大酵素不活性化速度定数 (k_{inact}) はそれぞれ 3.06±0.12 hr⁻¹ および 1.00±0.07 hr⁻¹、最大不活性化速度の 50% の速度をもたらす濃度 (K_I) はそれぞれ 2.42±0.56 μ M および 9.96±2.05 μ M と見積もられた。得られた阻害パラメータに基づき、CYP2C19 代謝のみで消失する薬物の AUC 上昇率を算出した結果、EPZ の併用では最大 5 倍程度の上昇が推定されたのに対し、VPZ の併用ではほとんど上昇しない結果となった。すなわち、第 1 章で述べた臨床試験で認められた proguanil と EPZ との相互作用は CYP2C19 阻害により説明可能であるが、VPZ との相互作用は VPZ による CYP2C19 阻害のみでは説明できないことが示唆された。

本研究の臨床試験において、EPZ および VPZ の両者が常用量で proguanil の代

謝を阻害したことから、両 PPI と CYP2C19 基質との併用には注意が必要であることが示唆された。安全な薬物治療が行えるように、本研究の結果が速やかに医療現場で注意喚起されることが期待される。

Clopidogrel の医療用医薬品添付文書に「薬物代謝酵素 (CYP2C19) を阻害する薬剤」として OMP のみ注意喚起として併用注意に記載されている。しかしながら EPZ は既報を含めて OMP 同様に特定された DDI リスクを有する薬物であるにもかかわらず併用注意に記載されていないため早急に注意喚起していくべきである。

一方で、VPZ は既報を含めて特定には至らないものの潜在的な DDI リスクを有する薬物としてリスク管理計画に掲載し、基礎と臨床どちらにおいても監視、検討評価していくべきである。

開発段階での DDI リスク評価については、「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」において、*in vitro* 試験、モデル解析を行い、DDI リスクが高い場合にヒトを対象とした *in vivo* 試験を行うよう推奨され、検討手順が標準化されている。一方で市販後段階では、本研究結果のように開発段階では明らかにされなかった潜在化された DDI リスクを有する薬物や特定された DDI リスクを有する薬物が報告された時、いち早く臨床現場へ注意喚起を可能とする体制が整備される必要がある。

しかしながら臨床現場では前述のガイドライン等のような行政指針はない。さらに臨床現場では、代謝経路も明らかになっていない医薬品が存在し使用されている。そのため市販後においても臨床現場で報告された DDI リスクの可能性についての症例報告を検証するためにヒトを対象とした *in vivo* 試験を行ない、さらに *in vitro* 試験、モデル解析を行い検討評価を行うことで臨床現場で活用可能な情報源として提供できるのではないかと考える。

本研究は市販後における DDI リスクを有する薬物の検討評価するための信頼性の高い科学的評価手法としても一般応用可能であり、まだ検出されていない DDI リスクが本研究手法を活用されることで明らかになることが期待される。

謝辞

本研究に際し大変貴重な機会を与えて頂き、終始懇切なる御指導、御教示および御鞭撻を賜りました武蔵野大学薬学部 薬物動態学研究室 伊藤清美 教授に深く感謝致しますと共に、慎んで御礼申し上げます。

本研究にあたり、直接多分の御指導、御助言および御協力を賜りました同研究室講師 工藤敏之 博士に深く感謝致しますと共に、心より御礼申し上げます。

本論文の作成にあたり、御指導、御教示いただきました武蔵野大学薬学部永井尚美 教授ならびに山下直美 教授に深く感謝致しますと共に、心より御礼申し上げます。

本研究にあたり、多分の御指導と御協力を賜りました東京大学大学院薬学研究科 分子薬物動態学教室 楠原洋之 教授に深く感謝致しますと共に、心より御礼申し上げます。

本研究にあたり、多分の御指導と御協力を賜りましたピーワンクリニック 降旗謙一 院長に心より御礼申し上げます。

本研究にあたり、種々の御協力、御配慮を賜りました亀田総合病院 亀田信介 院長、亀田隆明 理事長に心より御礼申し上げます。

本研究にあたり、種々の御協力、御助言を賜りました武蔵野大学薬学部薬物動態学研究室 吉原早映 氏、中林 勇 氏に深く感謝致し、心より御礼申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、種々の御協力、御助言を賜りました武蔵野大学薬学部 薬物動態学研究室の皆様へ深く感謝致します。

この学位取得までの過程において、大変身勝手に我が儘を通していたにもかかわらず、子および家庭を育て、サポートしてくれた妻 恵美子に深く感謝し御礼申し上げます。さらに本論文が、迦真、胤貴の今後道標の一助になればと思います。

最後になりましたが、日ごろから励まし、お世話になりました方々に心より深く感謝致します。

引用文献

- 1) Chiba K. Identification of Human Cytochrome P450 Isoforms Involved in the Metabolism of Therapeutic Agents: Significance in Clinical Pharmacology and Drug Development. *Pharmacokinetics*. 1995; 10: 391-402.
- 2) Hickman D, Wang J, Wang Y, Unadkat DJ. Evaluation of the selectivity of in vitro probes and suitability of organic solvents for the measurement of human cytochrome P450 monooxygenase activities. *Drug Metab Dispos*. 1998; 26: 207-215.
- 3) 厚生労働省: 医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan. 2018. <https://www.pmda.go.jp/files/000225191.pdf> (last accessed 14 September 2018).
- 4) Shirasaka Y, Sager JE, Lutz JD, Davis C, Isoherranen, N. Inhibition of CYP2C19 and CYP3A4 by omeprazole metabolites and their contribution to drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos*. 2013;41:1414-1424.
- 5) Hirota T, Eguchi S, Ieiri I. Impact of genetic polymorphisms in CYP2C9 and CYP2C19 on the pharmacokinetics of clinically used drugs. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2013;28:28-37.
- 6) 薬学用語解説. 日本薬学会. <https://www.pharm.or.jp/dictionary/wiki.cgi> (last accessed 14 June 2018).
- 7) 千葉寛: チトクローム P450 を介した薬物相互作用: ファルマシア, 1995;31:9:992-996.
- 8) Wienkers LC and Heath TG. Heath. Predicting in vivo drug interactions from in vitro drug discovery data. *Nature review Drug discovery*. 2005; 4: 825-833.
- 9) 杉山雄一, 楠原洋之: 分子薬物動態学, 南山堂, 2008: pp. 2-10.
- 10) Grimm SW, Einolf HJ, Hall SD, He K, Lim HK, Ling KJ, et al. The Conduct of in Vitro Studies to Address Time-Dependent Inhibition of Drug-Metabolizing Enzymes: A Perspective of the Pharmaceutical Research and Manufacturers of America. *Drug Metab Dispos*. 2009; 37: 1355-70.
- 11) 日本薬剤学会: 薬剤学実験法必携マニュアル Pharmaceutical Scientist のために II 生物薬剤学, 南江堂, 2014: pp. 163-174
- 12) AstraZeneca K.K. O, Japan: Packaging Information for esomeprazole magnesium hydrate (Nexium Capsules 10 mg and 20 mg) ver. 1, (in Japanese). Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan. 2016. http://www.pmda.go.jp/go/pdf/670227_2329029M1027_1_13.pdf (last accessed 4 October 2019).

- 13) Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. Osaka J: Packaging Information for vonoprazan fumarate (Takecab Tablets 10 mg and 20 mg) ver. 6, (in Japanese). Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan. 2016. http://www.pmda.go.jp/go/pdf/400256_2329030F1020_1_07.pdf (last accessed 4 October 2019).
- 14) 松川純, 稲富信博, 大竹一嘉. 新規カリウムイオン競合型アシッドブロッカー ボノプラザンフマル酸塩 (タケキャブ®錠 10 mg および 20 mg) の薬理学的特性および臨床効果、日薬理誌, 2015; 146: 275-282.
- 15) Angiolillo DJ, Gibson CM, Cheng S, Ollier C, Nicolas O, Bergougnan L, et al. Differential Effects of Omeprazole and Pantoprazole on the Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Clopidogrel in Healthy Subjects: Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Comparison Studies. *Drug Metab Dispos.* 2011; 89: 65-74.
- 16) Lin CF, Shen LJ, Wu FL, Bai CH, Gau CS. Cardiovascular outcomes associated with concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors in patients with acute coronary syndrome in Taiwan. *Br J Clin Pharmacol.* 2012;74:824-834.
- 17) Harvey A, Modak A, Déry U, Roy M, Rinfret S, Bertrand OF, et al. Changes in CYP2C19 enzyme activity evaluated by the [13C]-pantoprazole breath test after co-administration of clopidogrel and proton pump inhibitors following percutaneous coronary intervention and correlation to platelet reactivity. *J. Breath Res.* 2016;10:017104.
- 18) Rocha A, Coelho EB, Sampaio SA, Lanchote VL. Omeprazole preferentially inhibits the metabolism of (+)-(S)-citalopram in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 2010;70:43-51.
- 19) Mochida Pharmaceutical Co. Ltd.: Packaging Information for Escitalopram Oxalate (Lexapro Tablets 10 mg) ver. 1, (in Japanese). Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan. 2016. http://www.pmda.go.jp/go/pdf/790005_1179054F1022_1_15.pdf (last accessed 4 October 2019).
- 20) Collier JK, Somogyi AA. & Bochner F. Comparison of (S)-mephenytoin and proguanil oxidation in vitro: contribution of several CYP isoforms. *Br J Clin Pharmacol.* 1999;48:158-167.
- 21) Ogilvie BW, Yerino P, Kazmi F, Buckley DB, Rostami-Hodjegan A, Paris BL, et al. The proton pump inhibitor, omeprazole, but not lansoprazole or pantoprazole, is a metabolism-dependent inhibitor of CYP2C19: implications for coadministration with clopidogrel. *Drug Metab. Dispos.* 2011;39: 2020-2033.

- 22) Abelö A, Andersson TB, Antonsson M, Naudot AK, Skånberg I, Weidolf L. Stereoselective metabolism of omeprazole by human cytochrome P450 enzymes. *Drug Metab Dispos.* 2000;28:966-972.
- 23) Zvyaga T, Chang SY, Chen C, Yang Z, Vuppugalla R, Hurley J, et al. Evaluation of six proton pump inhibitors as inhibitors of various human cytochromes P450: focus on cytochrome P450 2C19. *Drug Metab. Dispos.* 2012;40:1698–1711.
- 24) Drewelow B, Schaffler K, Reitmeir P, Bethke TD. Effects of multiple-dose esomeprazole and pantoprazole on diazepam pharmacokinetic profile and pharmacodynamic effects on cognitive and psychomotor function in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung.* 2010; 60: 483-91.
- 25) Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. Osaka J: Drug approval review for vonoprazan fumarate (in English). The Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan. 2014. <http://www.pmda.go.jp:/000211075.pdf> (last accessed 14 June 2018).
- 26) Kagami T, Yamade M, Suzuki T, Uotani T, Hamaya Y, Iwaizumi M, et al. Comparative study of effects of vonoprazan and esomeprazole on anti-platelet function of clopidogrel or prasugrel in relation to CYP2C19 genotype. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;103:906-913.
- 27) Nishihara M, Czerniak R. CYP mediated drug–drug interaction is not a major determinant of attenuation of antiplatelet function of clopidogrel by vonoprazan. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;104:31-32.
- 28) Kagami T, Furuta T. Response to “CYP mediated drug–drug interaction is not a major determinant of attenuation of antiplatelet function of clopidogrel by vonoprazan”. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;104:33-34.
- 29) Yang J, Liao M, Shou M, Jamei M, Yeo KR, Tucker GT, et al. Cytochrome p450 turnover: regulation of synthesis and degradation, methods for determining rates, and implications for the prediction of drug interactions. *Curr Drug Metab.* 2008;9:384-394.
- 30) Blume H, Donath F, Warnke A, Schug BS. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors. *Drug Saf.* 2006;29:769-784.
- 31) Funck-Brentano C, Becquemont L, Leneveu A, Roux A, Jaillon P, Beaune P. Inhibition by omeprazole of proguanil metabolism: mechanism of the interaction in vitro and prediction of in vivo results from the in vitro experiments. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997;280:730-738.
- 32) Sakurai Y, Shiino M, Okamoto H, Nishimura A, Nakamura K, Hasegawa S. Pharmacokinetics and safety of triple therapy with vonoprazan, amoxicillin,

- and clarithromycin or metronidazole: a phase 1, open-label, randomized, crossover study. *Adv. Ther.* 2016;33:1519-1535 .
- 33) Yamasaki H, Kawaguchi N, Nonaka M, Takahashi J, Morohashi A, Hirabayashi H, et al. In vitro metabolism of TAK-438, vonoprazan fumarate, a novel potassium-competitive acid blocker. *Xenobiotica.* 2017;47:1027-1034.
 - 34) Foti RS, Wahlstrom JL. CYP2C19 inhibition: the impact of substrate probe selection on in vitro inhibition profiles. *Drug Metab Dispos.* 2018;36:523-528.
 - 35) van der Velden M, Bilos A, van den Heuvel JJMW, Rijpma SR, Hurkmans EGE, Sauerwein RW, et al. Proguanil and cycloguanil are organic cation transporter and multidrug and toxin extrusion substrates. *Malar J.* 2017;16:422.
 - 36) Matthaei J, Seitz T, Jensen O, Tann A, Prukop T, Tadjerpisheh S, et al. OCT1 Deficiency Affects Hepatocellular Concentrations and Pharmacokinetics of Cycloguanil, the Active Metabolite of the Antimalarial Drug Proguanil. *Clin Pharmacol Ther.* 2018; doi: 10.1002/cpt.1128.
 - 37) Jocelyn Z, Michelle Q, Kelli G, Hildegard B, Franck P, Henry C, et al. Effect of esomeprazole, a proton pump inhibitor on the pharmacokinetics of sonidegib in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 2016;82:1022-1029.
 - 38) Rolan PE, Mercer AJ, Tate E, Benjamin I, Posner J. Disposition of atovaquone in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1319-1321.
 - 39) Thapar MM, Ashton M, Lindegårdh N, Bergqvist Y, Nivelius S, Johansson I, et al. Time-dependent pharmacokinetics and drug metabolism of atovaquone plus proguanil (Malarone) when taken as chemoprophylaxis. *Eur J Clin Pharmacol.* 2002;58:19-27.
 - 40) Glaxo Smith Kline K.K., Japan: Interview form for Atovaquone/Proguanil Hydrochloride (Malarone Combination tablets) ver. 6, (in Japanese). Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan. 2016. http://www.pmda.go.jp/go/interview/1/340278_6419101F1020_1_007_1F.pdf (last accessed 14 June 2018).
 - 41) Gillotin C, Mamet JP, Veronese L. Lack of a pharmacokinetic interaction between atovaquone and proguanil. *Eur J Clin Pharmacol.* 1999;55:311-315.
 - 42) Jenkins H, Sakurai Y, Nishimura A, Okamoto H, Hibberd M, Jenkins R, et al. Randomised clinical trial: safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of repeated doses of TAK-438 (vonoprazan), a novel potassium-competitive acid blocker, in healthy male subjects. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41:636-648.
 - 43) U.S. Food and Drug Administration. Drug Interaction Studies Study Design, Data

- Analysis, and Implications for Dosing and Labeling. 2006.
- 44) Walsky RL, Obach RS., Validated assays for human cytochrome P450 activities. *Drug Metab Dispos.* 2004; 32: 647-60.
 - 45) Brown HS, Griffin M, Houston JB. Evaluation of Cryopreserved Human Hepatocytes as an Alternative in Vitro System to Microsomes for the Prediction of Metabolic Clearance. *Drug Metab Dispos.* 2007; 35: 293-301.
 - 46) Yamaoka K, Tanigawara Y, Nakagawa T, Uno T. A pharmacokinetic analysis program (multi) for microcomputer. *J Pharmacobiodyn.* 1981; 4: 879-885.
 - 47) Renwick AB, Watts PS, Edwards RJ, Barton PT, Guyonnet I, Price RJ, et al. Differential maintenance of cytochrome P450 enzymes in cultured precision-cut human liver slices. *Drug Metab Dispos.* 2000; 28: 1202-1209.
 - 48) Sugiyama Y, Iwatsubo T. Alteration of Pharmacokinetic Features Caused by Drug Interactions. *Pharmacokinetics.* 1996; 11: 286-293.