本日のセミナー

「創薬課題に光を当てる放射性同位体標識体を用いた動態評価 ～課題解決事例の紹介 part 1～」

演者：Axcelead Drug Discovery Partners株式会社

非臨床開発 主任研究員

小亀 暁史

無断転載禁止

創薬課題に光を当てる放射性同位体標識体を用いた動態評価
～課題解決事例の紹介 part 1～

Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社

非臨床開発　薬物動態評価

2021.11.25

Axcelead BroadCasting

主任研究員

小亀 暁史

Akifumi.kogame@axcelead.com

非臨床薬物動態試験の意義

薬物動態試験

Absorption （吸収）
Distribution （分布）
Metabolism （代謝）
Excretion （排泄）

薬理・毒性試験の計画や結果の妥当性確認

- ✓ 動物種・病態モデル選択
- ✓ 投与計画の設定
- ✓ *In vitro*結果の評価

臨床試験に有効な情報を提供

- ✓ ヒト薬物動態の予測
- ✓ 動物試験結果のヒトへの外挿
- ✓ 相互作用予測

医薬品の開発・申請において極めて重要な試験

無断転載禁止

新薬承認申請（NDA）に必要な非臨床動態試験（例）

- **吸収**
  - ✓ 血漿中未変化体濃度（線形性、BA）
  - ◯ 血漿中放射能濃度（吸収率）
  - ◯ 門脈吸収
  - ◯ リンパ吸収
  - ◯ Caco-2細胞透過性
- **分布**
  - ◯ 組織分布（メラニン親和性含む）
  - ◯ 組織中の代謝物組成分析
  - ◯ 全身オートラジオグラフィー
  - ◯ 蛋白結合
  - ◯ 血球移行
  - ◯ 胎盤移行性
- **代謝**
  - ◯ 代謝物の構造解析
  - ◯ 血漿中の代謝物組成分析
  - ◯ 排泄物中の代謝物組成分析
  - ◯ *In vitro*代謝試験
  - ✓ CYP分子種同定
  - ✓ CYP阻害・誘導
- **排泄**
  - ◯ 尿糞排泄
  - ◯ 胆汁排泄
  - ◯ 乳汁排泄
- **薬物動態学的薬物相互作用**
  - ◯ 蛋白結合に及ぼす併用薬物の影響
  - ✓ 他剤の蛋白結合に及ぼす影響
  - ◯ OATP1B1及びOATP1B3による取り込み
  - ✓ 取り込みトランスポーターへの阻害作用

◯は標識体を用いた試験

開発戦略や課題によって実施する時期や試験メニューは異なる。

✓ 効率的かつ最適な試験メニュー、スケジュールをコーディネート
✓ 薬効や毒性の課題を薬物動態の観点からサポート

無断転載禁止

本日の事例紹介

様々な開発課題を薬物動態面から解決してきた経験

事例①（本日）
クリニカルフォールド解除

事例②（12/7，12：00～12：30）
薬物動態の種差の解明

無断転載禁止

化合物Xの開発背景

＜毒性試験＞

臨床第二相試験中に実施したイヌ反復投与毒性試験においてイヌ特有の肝毒性が認められた。

イヌ:　黄疸および異物肉芽腫を伴う肝障害が認められた。

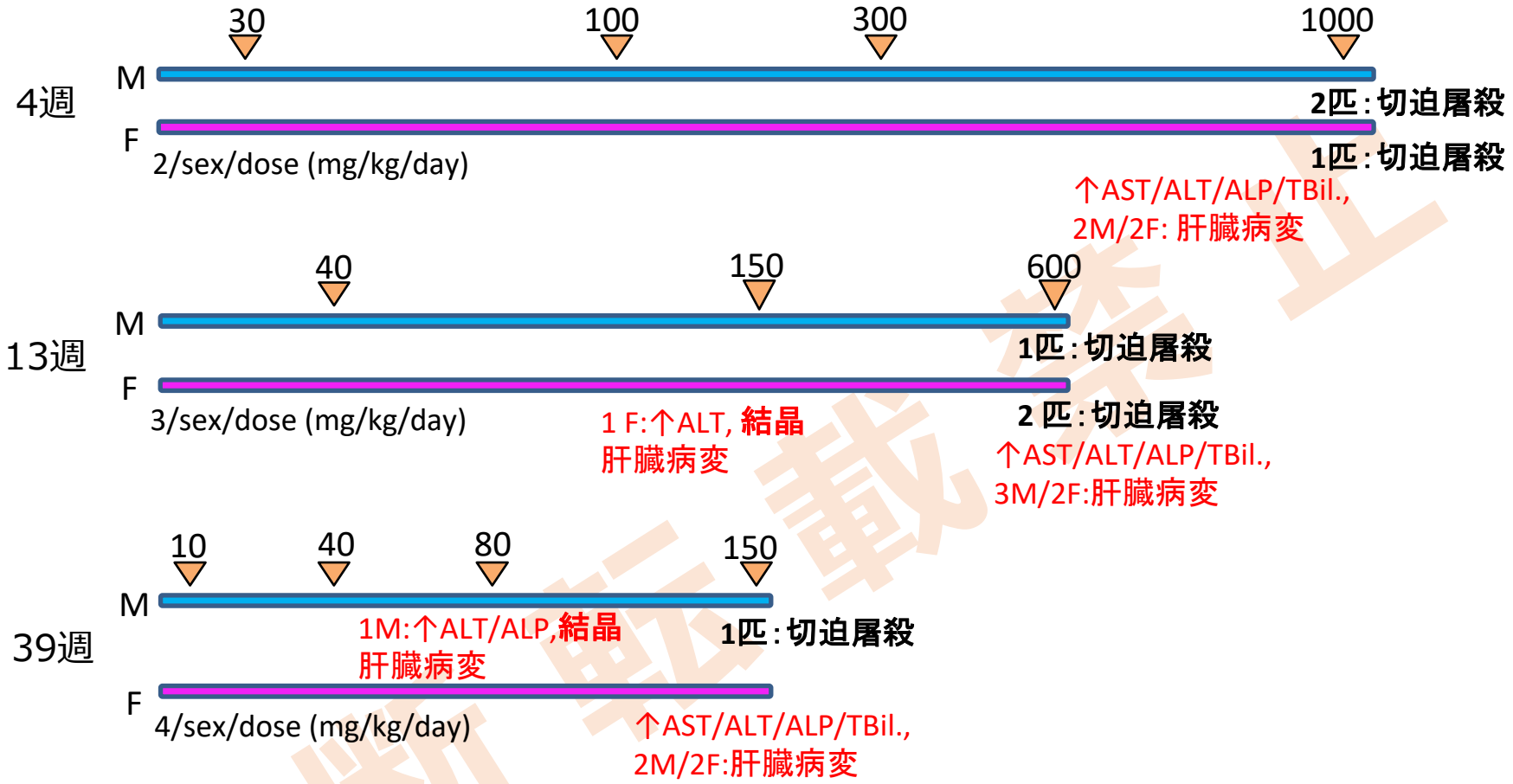
ラット: 肝臓に病理学的な異常は認められなかった。

＜開発の中断＞

FDAとの協議において、イヌ肝毒性の原因解明およびヒトでの安全性に関する懸念の払拭が第三相試験開始の条件となった。

無断転載禁止

イヌ反復投与毒性試験

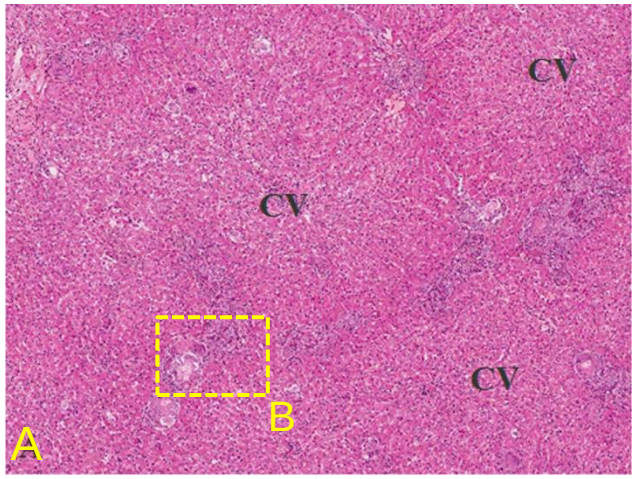


- ✓ イヌの肝毒性は用量かつ時間依存的。
- ✓ 血漿中の未変化体濃度は初回から連投後まで変化なし。

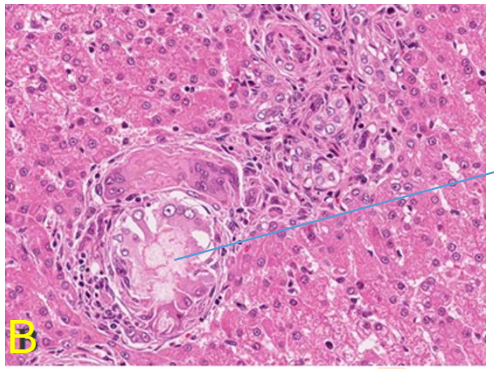
無断転載禁止

化合物Xのイヌ肝毒性

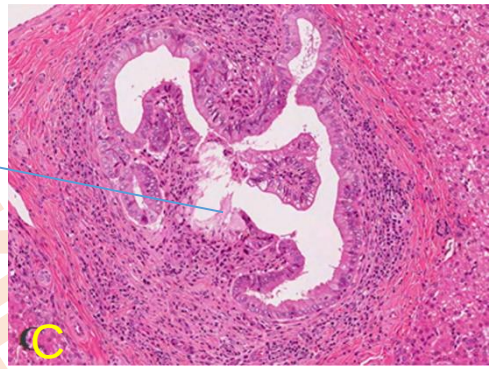
39週毒性試験のイヌ肝臓病理標本 (150 mg/kg/日、111日目に切迫屠殺)



CV:中心静脈



結晶



結晶形成を伴う門脈/門脈周囲肉芽腫性炎症
A：門脈部位
B：門脈の結晶性封入体を伴う異物肉芽腫および細胞浸潤
C：胆管内の結晶性封入体

- ✓ 胆管内に結晶が形成され、その後、肉芽腫性炎症を引き起こしたと考えられた。
- ✓ イメージング質量分析の結果、結晶の成分は化合物Xおよびそのグルクロン酸抱合体（化合物X-G）であると示唆され、これらの胆管内での析出が直接的な肝毒性の原因と考えられた。

- ✓ 薬物動態の観点から肝毒性の種差や発症メカニズムを明らかにする。

無断転載禁

イヌおよびラットにおける化合物Xの薬物動態 (1/2)

化合物Xの血漿中PKパラメータ

Species	Route	Dose (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	半減期 (hr)	分布容積 (L/kg)	CL (L/hr/kg)	AUC (μg·hr/mL)	BA (%)
イヌ	Oral	1	3.3	2.0	7.5	-	-	29.5	92.4
	IV	0.5	-	-	5.9	0.2	0.03	15.8	-
ラット	Oral	3	5.8	1.0	4.1	-	-	65.0	76.0
	IV	1	-	-	4.7	0.2	0.03	28.5	-

- ✓ 化合物Xの血漿中PKパラメータに種差なし。
- ✓ 血漿タンパク質への結合率はいずれも高い (>99%)。

無断転

イヌおよびラットにおける化合物Xの薬物動態 (2/2)

Metabolic Fate ([^{14}C]化合物X、1 mg/kg)

	% of dose				
	イヌ		ラット		
	尿 (0-24h)	糞 (0-72h)	尿 (0-24h)	糞 (0-24h)	胆汁 (0-24h)
総放射能	0.1	97	0.2	84	93
化合物X	LOQ	72	LOQ	48	7
M-I	LOQ	1	LOQ	3	LOQ
化合物X-G	LOQ	1	LOQ	2	46
その他	0.1	23	0.2	31	40

- ✓ 主排泄経路は胆汁排泄を介した糞排泄
- ✓ 主代謝経路はグルクロン酸抱合
- ✓ **薬物動態に明らかな種差は見られなかった。**

イヌ肝毒性の発症メカニズムおよび種差の検討

事前情報

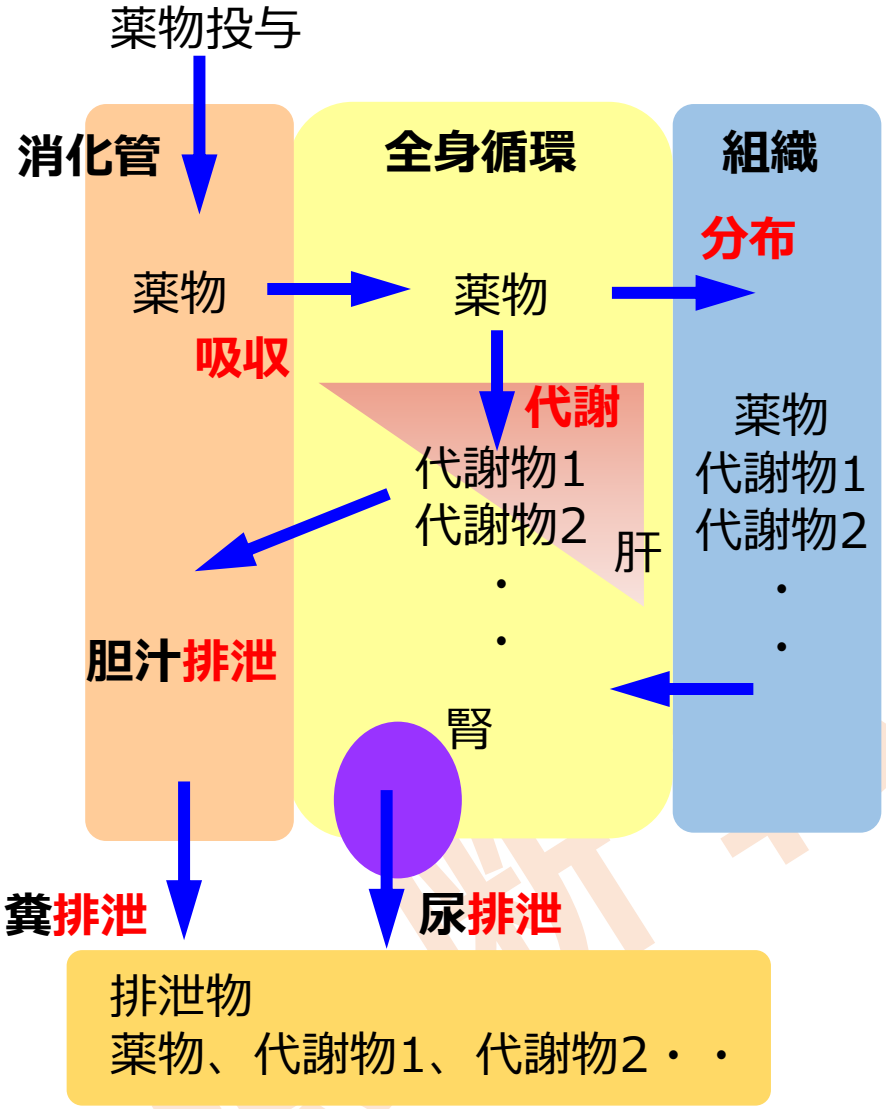
- 薬効用量における**薬物動態の種差は無く**、**グルクロン酸抱合**を受け、胆汁排泄を介して消失する。
  - なぜイヌにだけ析出や肝毒性が見られたのか？

- TKにおいて連投後の化合物Xの濃度に蓄積は見られなかった
  - 血漿中の未変化体濃度では毒性発症の説明ができない。

標識体の化合物Xを使って毒性用量におけるイヌとラットの動態をより詳細に確認。

無断転載禁止

標識体を利用した動態試験の利点



被験物質の吸収～排泄までの全ての過程を網羅的に把握することが可能！

無断転載禁止

イヌ肝毒性の発症メカニズムおよび種差の検討

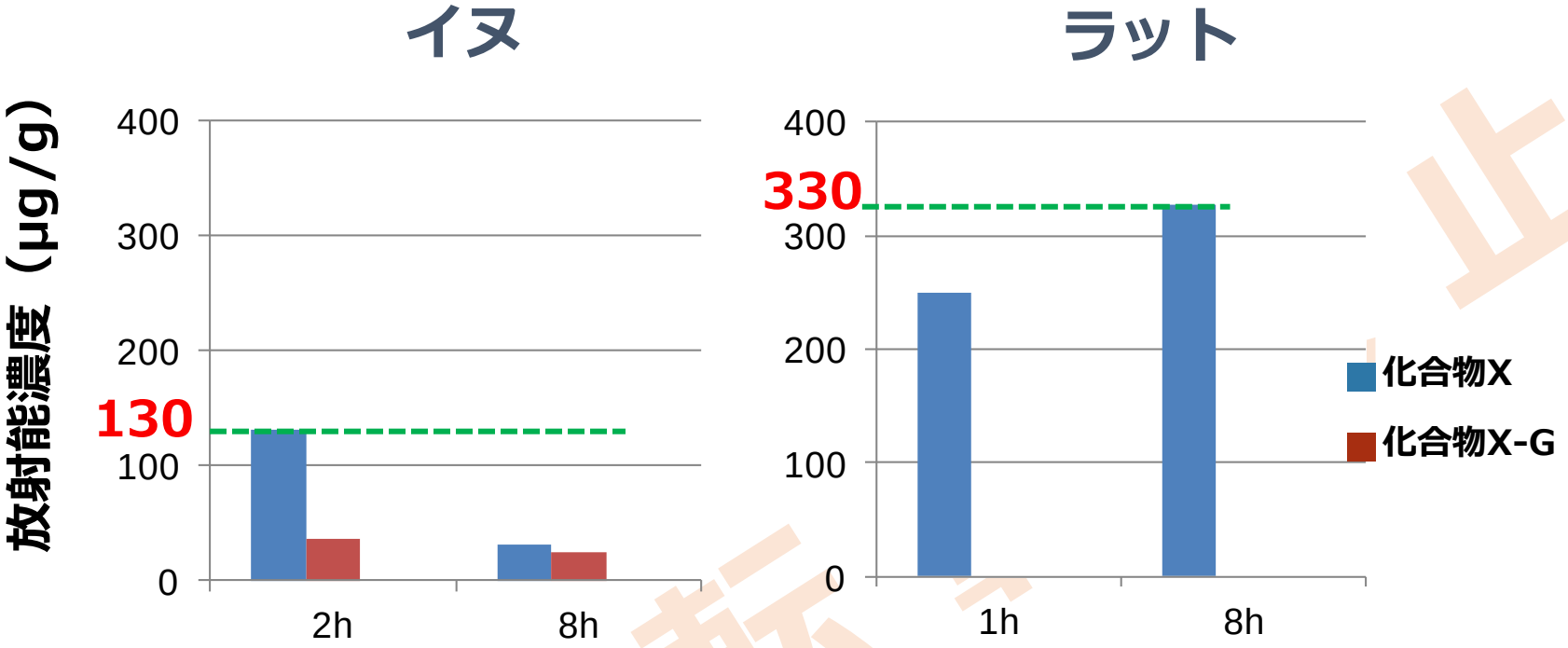
検討項目

- [^{14}C]化合物Xを使った毒性用量（200 mg/kg）におけるイヌとラットのADME試験
  - ✓**肝臓中代謝物組成分析試験**
    - イヌとラットの肝臓中代謝物濃度の比較
    - イヌ特異的な代謝物が肝毒性に寄与していないか？
  - ✓**胆汁排泄および代謝物組成分析試験**
    - 胆汁排泄と結晶形成の関係を確認

- トランスポーター（Bsep/BSEP阻害）

無断転載禁止

肝臓中代謝物濃度（[^{14}C]化合物X経口、200 mg/kg）

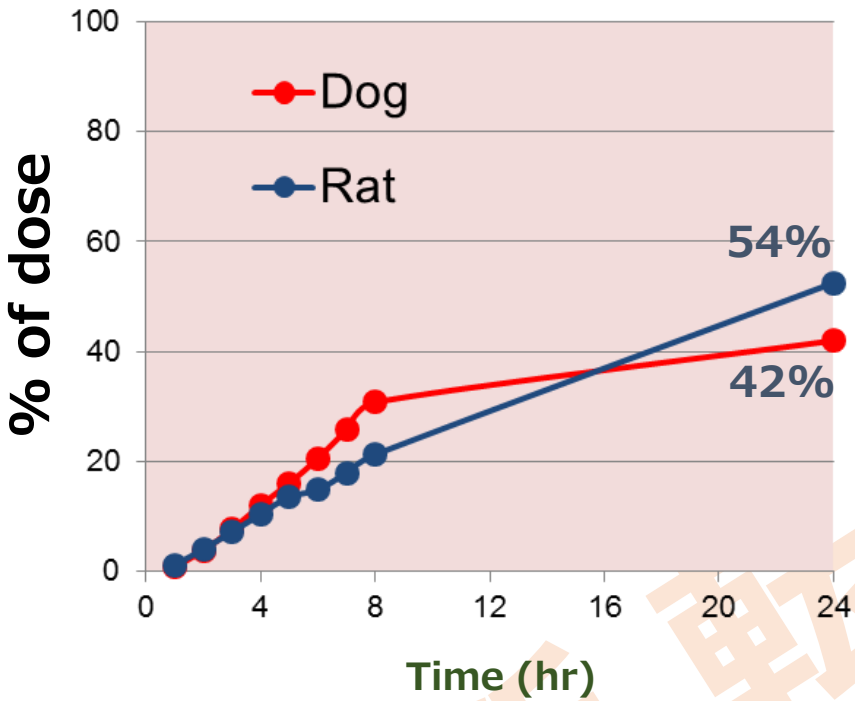


✓いずれも化合物Xが主要な成分。
✓イヌ特異的代謝物は認められなかった。
✓肝臓中の放射能は完全に抽出された。
✓化合物Xの肝臓中濃度はラットの方が高かった。

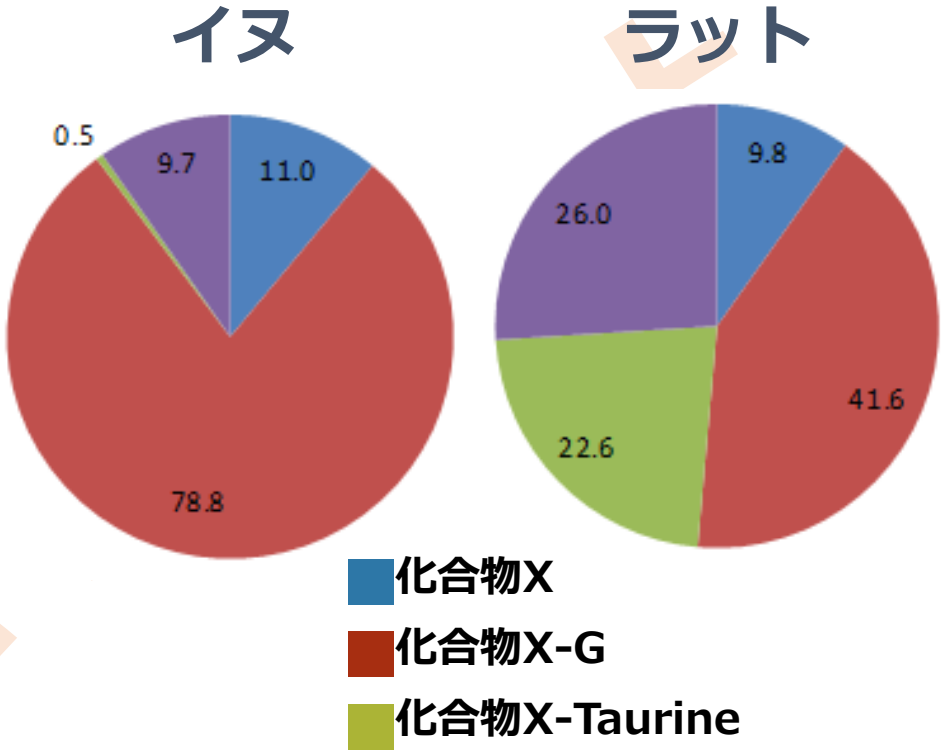
無断転載禁止

胆汁排泄（[^{14}C]化合物X, 200 mg/kg）

放射能の累積胆汁排泄率



胆汁中代謝物組成



無断転

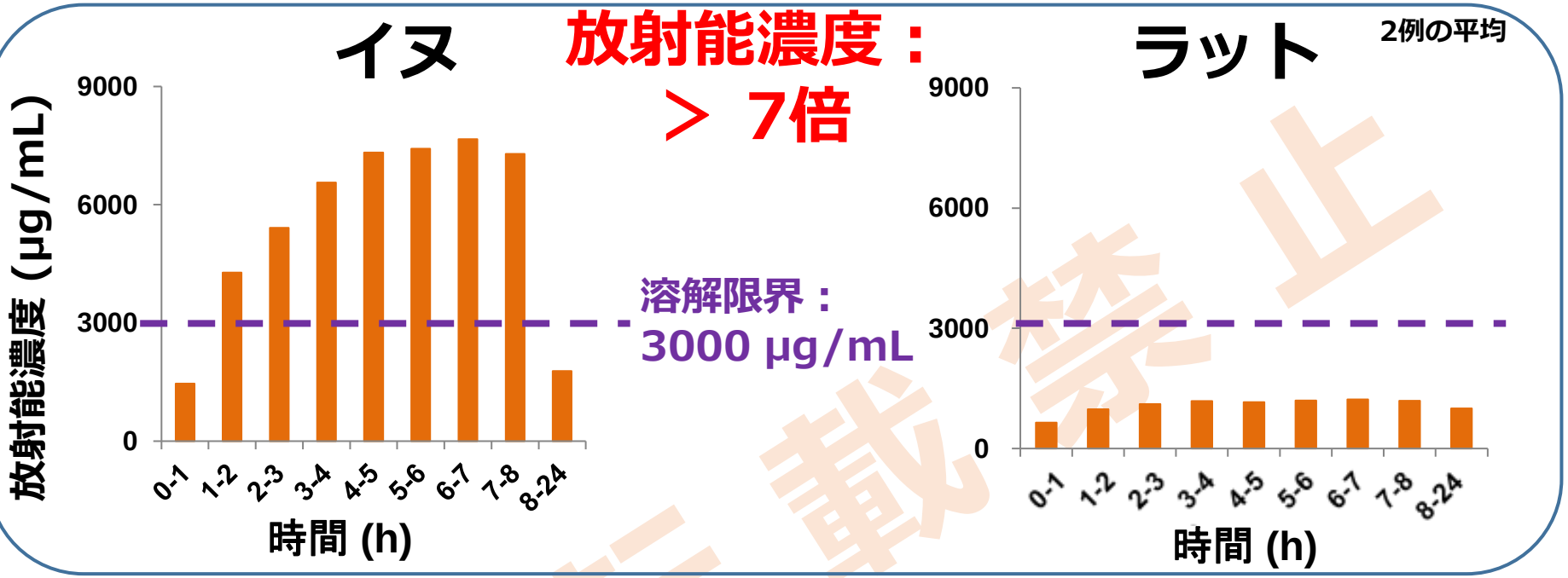
- ✓胆汁中への放射能の排泄率は同程度。
- ✓胆汁中は化合物X-Gが主要成分。
- ✓代謝物組成に明らかな種差は無し。

なぜイヌだけ胆管内に析出が見られたのか？

- ✓毒性の発症やその種差に関わる薬物動態学的な要因や種差は認められなかった。
  - 化合物Xの動態に種差は認められなかった。
  - 化合物Xが肝細胞に対して直接的な毒性有する可能性は低い。
  - イヌ特異的な代謝物は無し。

無断転載禁止

胆汁中排泄の比較（[^{14}C]化合物X, 200 mg/kg）



イヌでは胆汁中で化合物Xおよびそのグルクロン酸抱合体が高濃度になり析出

投与量に対する胆汁中排泄率は同程度

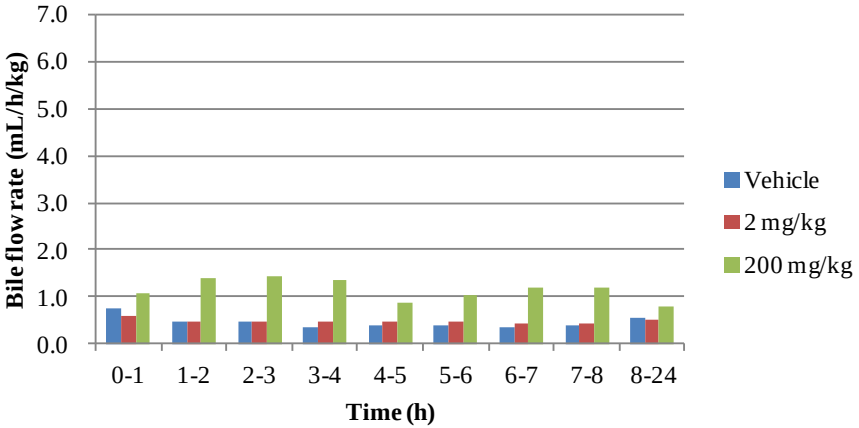
イヌ		ラット
42%	≒	54%

投与後，24時間までの排泄率

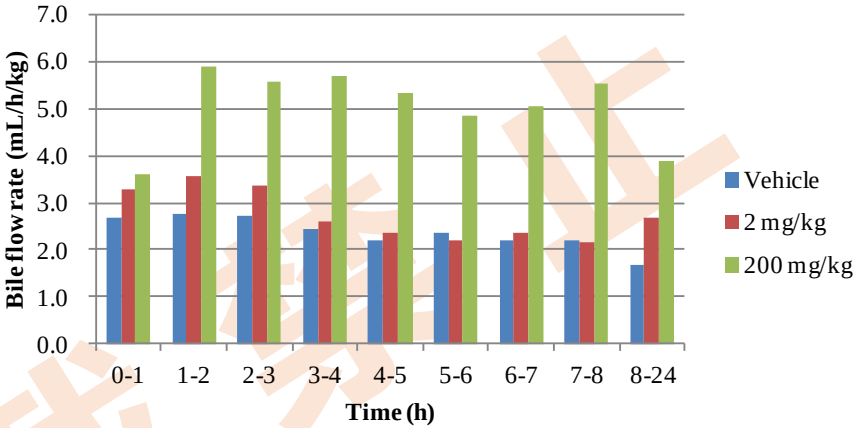
無断転載禁止

胆汁流量の比較

イヌ



ラット



➢ （体重補正した）胆汁流量はイヌの方が少ない。

✓ ラットに比べてイヌの胆汁流量の少なさが、イヌ胆汁中化合物Xおよび化合物X-Gの濃度がラットよりも高くなった原因であると考えられた。

無断転載禁止

胆汁排泄トランスポーターへの阻害

	IC_{50} (μmol/L)/ (μg/mL)			
	Mrp2/MRP2		Bsep/BSEP	
	化合物X	化合物X-G	化合物X	化合物X-G
Rat	NC	**2.9** 1.5	**20.6** 10.8	**82.5** 43.3
Dog	NC	**5.1** 2.7	**16.1** 8.5	**18.2** 9.6
Human	NC	**9.0** 4.7	**14.3** 7.5	**41.6** 21.8

NC：実施せず

トランスポーターの阻害活性に種差は見られなかった。

無断転

小括

イヌ特異的な肝毒性発症に繋がる可能性のある要因

種差:あり？　なし？

- Yes ☐　No ☑ ➢ 肝臓および胆汁中代謝物組成
- Yes ☑　No ☐ ➢ 胆汁中の化合物Xおよび代謝物濃度
- Yes ☐　No ☑ ➢ 胆汁中溶解度
- Yes ☐　No ☑ ➢ 胆汁排泄トランスポーター阻害

ラットに比べてイヌの胆汁流量の少なさが、イヌ胆汁中での化合物Xおよび化合物X-Gの高濃度およびそれらの析出の原因となり、イヌ特異的な肝毒性の発症に繋がった。

ヒトは？

無断転載禁止

ヒト胆汁中濃度予測

$$\text{胆汁中化合物Xの濃度} = \frac{\text{CL} \times \text{胆汁排泄率} \times \text{血漿中}C_{max}}{\text{胆汁流量}}$$

※胆汁排泄率はヒト=イヌと仮定（13.8%）

ヒト胆汁中における予測最高濃度（50 mg）

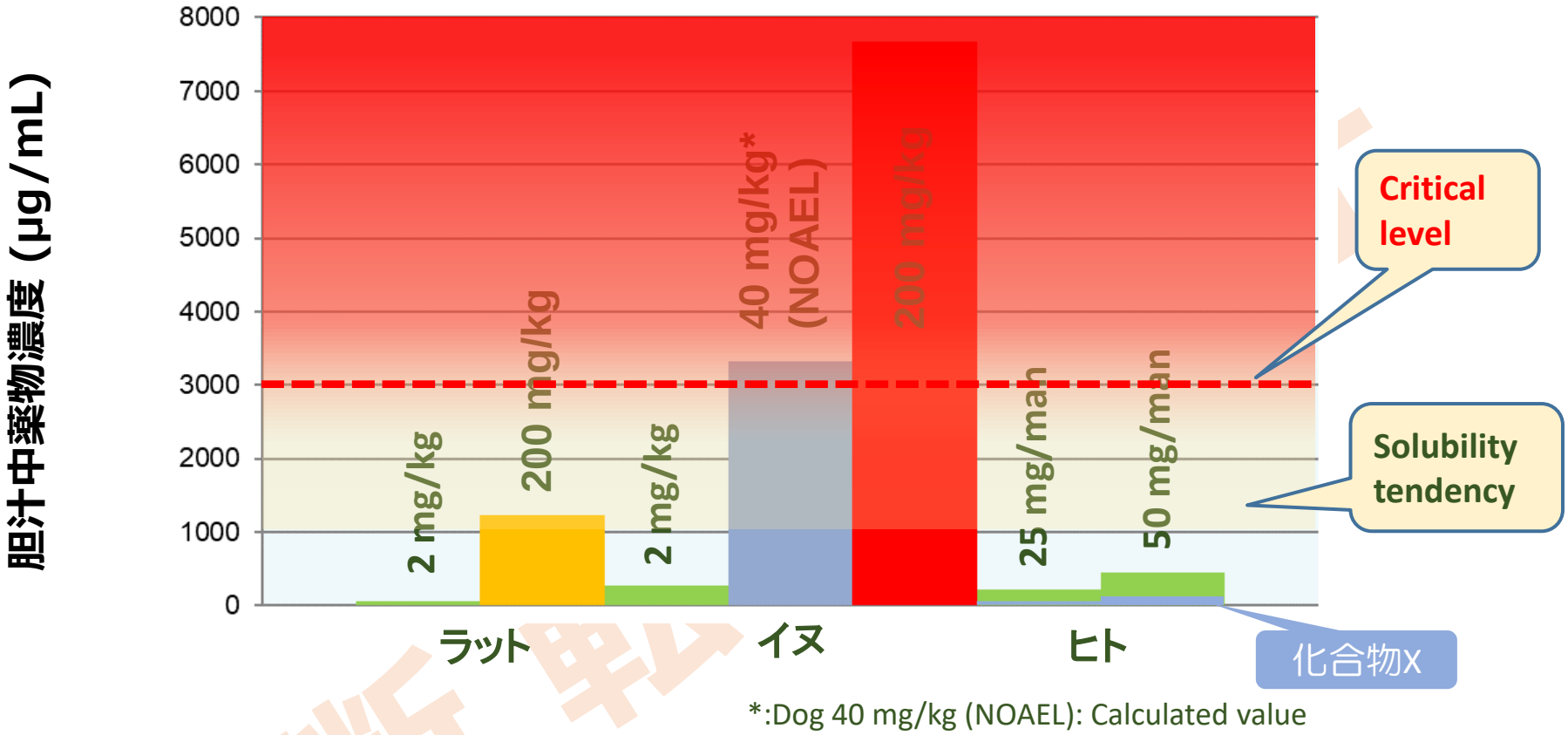
化合物X: 44.5 μg/mL
化合物X-G: x1.3～7.2 = 58～320 μg/mL

合計: 約 103～365 μg/mL

- ✓ ヒト胆汁中における化合物Xおよび化合物X-Gの溶解限度
  1 mg/mL （ワーストシナリオ）
- ✓ 臨床用量における化合物Xの胆汁中濃度は溶解限度の1/20以下。
- ✓ 化合物X-Gの濃度と合わせても溶解限度を超えない。

無断転載禁止

胆汁中化合物Xおよび代謝物濃度の比較



*:Dog 40 mg/kg (NOAEL): Calculated value

✓ **臨床用量でのヒト胆汁中の化合物X関連物質濃度は、イヌのNOAEL（39週）における胆汁中濃度よりもかなり低いと予測された。**

無断転

結論

1. イヌ肝毒性の発症はイヌの胆汁流量が少ないために胆汁中化合物Xとそのグルクロン酸抱合体が高濃度となり、胆管内で結晶化することが主な原因であると考えられた。

2. 胆汁中の結晶形成のみが肝毒性の原因である場合、十分な安全マージンが確保されると考えられた。

3. したがって、イヌと同様の肝毒性が臨床用量で発症する可能性は低いと考えられた。

FDAに結果と仮説を提出し、第三相試験開始が認められた。

無断転載禁止

弊社の非臨床薬物動態試験サービス

✓ 効率的な試験の実施や結果の解釈、試験結果から導かれる次への展開などの開発戦略はノウハウに大きく依存します。

✓ **開発ステージでの非臨床薬物動態を包括的にサポートします**

- 薬物動態に関する開発戦略の立案
- 申請パッケージのサポート
- 薬効・毒性課題の動態面からのサポート
- 当局対応・CTD作成
- 代謝物の構造解析
- M&S、ヒトPK予測
- 薬物相互作用への対応
- In vivo, vitro の試験系や分析系の構築

薬物動態に関するお悩み・問題は
Axcelead DDPへご相談下さい！

無断転載禁止

ご清聴ありがとうございました。

無断転載禁止

サービスについてのお問い合せ
contact@axcelead.com