

経口投与薬物の腸管初回通過効果をどのように評価するか？

:望まれるポスト Well-Stirred (WS) モデル

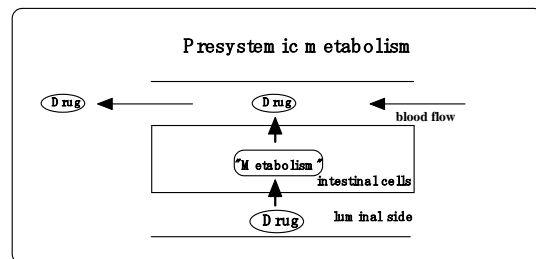
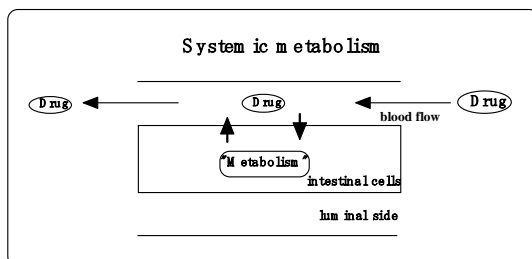
東京薬科大学 水間 俊

1 はじめに

経口投与薬物の腸管初回通過効果をどのように評価をしたらよいのか。これまでの報告を見ると、腸管代謝の in vitro データから in vivo の予測性、相関性に関する研究がある。私を知る限りでは、1981年に in vitro と in vivo における腸管初回通過効果に関する最初の研究が、Klippert ら¹⁾により報告されている。しかしながら、その後の状況は、肝臓における代謝研究と比較すると極めて寂しいものであった。1990年代に入り、cyclosporin A の腸管吸収に端を発した酸化代謝酵素 CYP と血液脳関門で重要性が指摘された排出輸送担体 p-glycoprotein²⁾ の吸収抑制因子としての評価の観点から、近年その重要性は高まってきた。さて、このような状況を見つめたとき、腸管初回通過効果の予測、評価に関する方法は未だに確立されていないと言わざるを得ない。演者も腸管吸収の研究を行ってきたが、吸収過程は膜透過過程と代謝過程が統合されたプロセスである³⁾と常に認識し、速度論解析を行ってきた。本フォーラムでは腸管代謝と吸収に関する報告の紹介を通して、これまでの認識と問題点を指摘し、創造的な場にできればと思う。

2 プレシステムック腸管代謝 (presystemic intestinal metabolism) とシステムック腸管代謝 (systemic intestinal metabolism) ⁴⁾

まずはじめに、腸管代謝について考える場合この2つの相違を認識することが重要である。腸管を除いた全ての臓器においてその代謝は、presystemic であろうと systemic であろうと同じモデル式で表現される。その理由は、両者ともに、薬物が血液により運ばれ、臓器を通る経路が同じであるためである。しかしながら、経口投与された薬物の腸管代謝については、下図のように薬物の通過経過に両者の決定的な違いがある。この相違点については、これまでに認識されてきたとは思えない。この相違点を意識し、これまでの報告例を考察すると自ずと本要旨の副題のような問題点も浮かんでくると思う。



3 Well Stirred model (WS model) による初回通過効果の評価

成功例：In vitro データから in vivo の予測、評価が成功した phenacetin の場合¹⁾

前に触れたように、経口投与された薬物の腸管代謝に関する in vivo と in vitro との速度論的關係を初めて報告した例が、phenacetin の O-deethylation 代謝についての検討である。

In vivoにおける腸管抽出率 (Eg) の算出

ラットに十二指腸内 (経口) 投与および門脈内投与をそれぞれ行い、得られた血中濃度曲線下面積 (AUC)、AUCpo および AUCpv、から Eq. 1 により腸管抽出率 (Eg) を算出 (0.53) した。

$$Eg = 1 - (AUC_{po} / AUC_{pv}) \quad \text{Eq. 1.}$$

In vitro データによる腸管抽出率 (Eg)

無処置および 3-methylcholanthrene (3-MC) で酵素誘導をかけたラット腸管から microsome fraction を得、phenacetin-O-deethylation に関する代謝反応パラメータ Km, Vmax を算出した。Km 値はそれぞれ 56.7、37.6 μ M、Vmax は 0.254、2.704nmol/min/g intestine が得られた。これらの酵素反応パラメータから、32g small intestine/kg rat として Eq. 3 により、intrinsic clearance (CLint)をそれぞれ、0.143、2.30 ml/min/kg body weight と算出し、Eq. 2 により腸管初回通過における抽出比 (Eg) を算出した。

$$Eg = CL_{int} f_u / (Q + CL_{int} f_u) \quad \text{Eq. 2} \quad CL_{int} = V_{max} / K_m \quad \text{Eq. 3}$$

ここで、Q は血流速度 (mucosal blood flow rate) であり、fu は薬物の血中非結合率であるが、この報告では 1 としている。3-MC 処置の microsome を用いて得られた酵素反応パラメータおよび血流速度 (2.5 to 5.0 ml/min/kg body weight) から算出された Eg は、0.31-0.53 であった。この値は、in vivo の Eg と対応しており、in vitro データから腸管初回通過効果の評価する良い方法であることが示された。しかしながら、ここで注意すべきことは、3-MC で誘導をかけ、活性が上昇した microsome を用いたときの in vitro のデータが、in vivo の値と良く合うようになったことである。すなわち、無処置の microsome を用いた場合には算出値は低く、この式は in vivo の値を過小評価することを意味している。また、Eg 値は、代謝活性以外の唯一の因子である血流速度 (Q) によって決定してしまうことであり、Eg に対して血流の影響がそれほど大きいのか疑問である。

失敗例 1 : fenoterol の場合

前述の成功例を報告した Noordhoek らのグループは、fenoterol についても phenacetin の場合と同様の速度論解析方法にて検討を行なった。In vivo における Eg は 0.93 であり⁵⁾、in vitro に関しては⁶⁾、腸管上皮単離細胞を用いて、Vmax および Km がそれぞれ、228pmol/min/mg、0.62mM と得られた。細胞の収率および viability を考慮し (1500mg intestinal cell protein/kg rat)、血流速度 5 ml/min/kg rat から CLint が 0.55ml/min/kg rat、そして Eg

値は 0.10 であった。これらの値から、in vivo と in vitro との間には明らかな差があり、WS モデルでは説明が不可能な例といえる。

失敗例 2 : Morphine, Naloxone and Buprenorphine の場合

Mistry & Houston は⁷⁾、上記 3 種の薬物のグルクロン酸抱合代謝について、microsome を用いた in vitro 実験から、in vivo の予測性を検討した。彼等は、比較対象の値として CLint を用いているが、それらの値を用いて新たに抽出率 Eg を算出してみると (Q は 4 ml/min/kg body weight)、morphine、naloxone、buprenorphine の in vivo の値はそれぞれ、0.33、0.57、0.48 であり、それに対して microsome を用いた in vitro の Eg はそれぞれ、0.0379、0.0676 and 0.0645 である。Buprenorphine の in vivo の Eg については Brewster ら⁸⁾ も報告しており、その値は 0.8 である。したがって、どの薬物についても両者に 1 オーダーの大きな開きは確かにあり、その開きは根本的な問題のように思われる。ここで参考になる点は、得られる絶対値には大きな開きがあるものの、化合物間における値の順位 (rank order) は in vivo と in vitro で対応することである。当然のようにも思えるが。

4 WS モデルとは異なるモデル式による初回通過効果の評価 (その 1)

1-Naphthol の場合

Mistry & Houston は⁹⁾、in vivo における 1-naphthol の Eg 値 0.457 を得た。一方、Noordhoek らのグループ⁶⁾ は、microsome を用いて in vitro における CLint を算出しているが、in vivo との対応性についての考察は行っていない。そこで、血流速度 (5 ml/min/kg body weight) を用いて CLint から Eg を算出してみると 0.96 が得られ、in vivo と in vitro の Eg には倍の差が認められた。さらに、同じ Noordhoek らのグループ¹⁰⁾ は腸管、血管同時還流実験法によって検討し、Eg は管腔側還流速度に依存し 0.38 から 0.58 と幅があるが、Mistry & Houston による in vivo の値と良く対応していた。しかしながら、Eg の算出には次式を用いているものの、その理論的な説明はなされていない。

$$Eg = CL_{NG} / (CL_{abs} + CL_{NG}) \quad \text{Eq. 4.}$$

ここで、吸収クリアランス (CLabs) は血管側に出現した 1-naphthol の速度を管腔側還流薬液の管腔に入る濃度、CL_{NG} は血管側および管腔側に出現した 1-naphthol glucuronide の速度を管腔側還流薬液の 1-naphthol の濃度で除した値である。注目したい点は、理論的な裏付けは無いものの、血流速度の項が無い Eq. 4 により算出された値が、in vivo の値に対応したことである。

Hexamethylmelamine の場合

Noordhoek らのグループ¹¹⁾ は hexamethylmelamine の N-demethylation について Eq. 1 により in vivo の Eg を算出し、0.71 を得た。また同グループ¹²⁾ は、in vitro 実験法として 2

種の方法によって検討した。1つは、microsome および単離上皮細胞を用いて、酵素反応パラメータと血流速度 (2.5 ml/min/kg) から Eq. 2 にて算出し、Eg 値として 0.57、0.58 をそれぞれ得た。他方、反転腸管を用い、Eq. 5 により、Eg 値 0.75-0.90 を得た。

$$Eg = CL_{met} / (CL_{met} + CL_{tra}) \quad \text{Eq. 5.}$$

ここで、CL_{met} は代謝クリアランス、CL_{tra} は管腔側から血管側へ出現した薬物の輸送クリアランスである。興味深いことに、WS モデルに基づいた Eq. 2 を用いた方法よりも、Eq. 4 と同等の Eq. 5 を用いた方法によって得た Eg が、in vivo により良く対応していたことである。しかしながら、残念なことにこのモデル式に関して、彼らは単に血流速度を輸送クリアランスに置き換えた“別の方法”としているだけで、理論的裏付けはない。

5 WS model とは異なるモデルによる初回通過効果の評価 (その2、代謝阻害モデルによる吸収クリアランスと腸管初回通過効果の評価)

我々は、ペプチダーゼ^{13、14)}、グルクロン酸抱合代謝¹⁵⁾ による代謝分解と吸収との関係の解析のために、吸収過程に膜透過過程を組み込んだ Metabolic inhibition model を構築し、解析した。例をあげると、反転腸管法を用いた leucine enkephalin の誘導体の吸収クリアランス値が、peptidase inhibitor 存在下において上昇した。このことは、阻害薬が単に管腔側におけるペプチドの代謝分解を抑制したのでは無く、腸管膜透過過程における代謝分解を阻害したことを示している。そこで、腸管吸収過程が薬物の膜輸送と代謝から成るという以下のモデル式を立て、腸管代謝と吸収性の逆相関の関係を明らかにした。

$$CL_{abs} = CL_{mi-s} \times CL_{i-s} / (CL_{i-m} + CL_{i-s} + CL_{met,int}) = CL_{ovt} / (1 + RC_{met} Ra) \quad \text{Eq. 6.}$$

$$\text{ここで、} CL_{ovt} = CL_{mi-s} \times CL_{i-s} / (CL_{i-m} + CL_{i-s}) \quad \text{Eq. 7.}$$

$$RC_{met} = CL_{met,int} / (CL_{i-m} + CL_{i-s}) \quad \text{Eq. 8.}$$

Ra は代謝酵素阻害薬存在下における酵素の残存活性で、阻害薬が存在しない場合には 1 である。CL_{ovt} は overall 輸送クリアランス、RC_{met} は膜透過に対する代謝活性の比である。(詳細は TMF モデル図参照)。よって、腸管初回通過効果による腸管アベイラビリティ (Fg) は、
$$Fg = (CL_{i-m} + CL_{i-s}) / (CL_{i-m} + CL_{i-s} + CL_{met,int}) \quad \text{Eq. 9.}$$

6 WS model とは異なるモデルによる初回通過効果の評価 (その3)

Wacher ら¹⁶⁾ Benet のグループは、腸管初回通過効果 Eg を次式で表している。

$$Eg = k_{mg} / (k_{abs} + k_{mg}) \quad \text{Eq. 10.}$$

ここで、k_{mg} と k_{abs} はそれぞれ腸管における代謝による消失に関する速度定数、門脈内に出現する薬物の吸収速度定数である。ここで、注目したいことは、吸収速度定数 K_{abs} の定義であり、これは細胞内の薬物に対する速度定数である。吸収というのであれば、管腔側の薬物

に対して定義すべきではないだろうか。また、Ito ら¹⁷⁾ Sugiyama のグループは、吸収クリアランス (CLabs) を Benet らと同じ細胞内から血管側への過程として定義し理論的アプローチを行ない、細胞内における薬物の拡散過程の重要性を指摘している。拡散過程も考慮する詳細なモデルが実際の薬物治療において必要かどうかは、今後の成果が期待される。

7 ヒト肝 microsome 代謝活性データを用いた腸管初回通過効果の予測

Thummel ら¹⁸⁾ は、ヒト肝 microsome を用いて得られた CYP3A4 基質の代謝活性を、ヒト腸管の代謝活性予測へと展開している。そのときの scaling は 106 pmol CYP3A/mg liver microsomal protein および小腸における CYP3A の総量を 71 nmol CYP3A として行っている。腸管初回通過効果による抽出比 (Eg) の算出は、WS モデルに基づいた前述の式を用い、血流値 mucosal villous blood flow は 248ml/min とし、血漿タンパク結合に関しては腸管初回通過効果に与える影響が不明という理由で考慮はしていない。その結果算出された Eg は、midazolam および nifedipine がそれぞれ 38-54、36-52% であった。一方、in vivo の Eg については、バイオアベイラビリティに関する文献値¹⁹⁾ から肝臓と腸管の両者が寄与した抽出率を算出し、それぞれ 70%、50% という値を得た。これらの値から、midazolam および nifedipine は腸管による初回通過効果の高い薬物であると指摘している。

8 TMF model (transport, metabolism and blood flow model) による考察⁴⁾

以上紹介したモデル式をまとめると、Eg の算出式は、代謝活性に対して血流速度の因子を加える場合と膜透過過程の因子を加える場合の 2 つの方法がある。しかしながら、腸管の生理解剖学的知識に基づくと、血流速度および膜透過過程の両者が必要ではないだろうか。現在、項目 5 のモデル式を発展させた、次のモデル式が適切ではないかと考えている。

$$CL_{\text{abs}} = \frac{CL_{\text{m-i}} \times f_{\text{muc}} \times CL_{\text{i-s}}}{CL_{\text{i-m}} \times (1 + CL_{\text{s-i}} \times f_{\text{ser}}/Q) + CL_{\text{i-s}} + CL_{\text{met,int}} \times (1 + CL_{\text{s-i}} \times f_{\text{ser}}/Q)} \quad \text{Eq. 11.}$$

$$F_{\text{g}} = \frac{CL_{\text{i-m}} \times (1 + CL_{\text{i-s}}/Q) + CL_{\text{i-s}}}{CL_{\text{i-m}} \times (1 + CL_{\text{s-i}} \times f_{\text{ser}}/Q) + CL_{\text{i-s}} + CL_{\text{met,int}} \times (1 + CL_{\text{s-i}} \times f_{\text{ser}}/Q)} \quad \text{Eq. 12.}$$

また、ある条件下を考えると、例えば $CL_{\text{s-i}} \times f_{\text{ser}} \ll Q$ のとき、Eqs. 11, 12 は

$$CL_{\text{abs}} = CL_{\text{m-i}} \times f_{\text{muc}} \times CL_{\text{i-s}} / (CL_{\text{i-m}} + CL_{\text{i-s}} + CL_{\text{met,int}}) \quad \text{Eq. 13.}$$

$$F_{\text{g}} = CL_{\text{i-m}} + CL_{\text{i-s}} / (CL_{\text{i-m}} + CL_{\text{i-s}} + CL_{\text{met,int}}) \quad \text{Eq. 14.}$$

この式はすでに報告したモデル式¹³⁾と同一である。

また、 $CL_{\text{s-i}} \times f_{\text{ser}} \ll Q$, $CL_{\text{m-i}} = CL_{\text{i-m}} = CL_{\text{m}}$, $CL_{\text{s-i}} = CL_{\text{i-s}} = CL_{\text{s}}$, $CL_{\text{m}} \ll CL_{\text{s}}$ のときには、

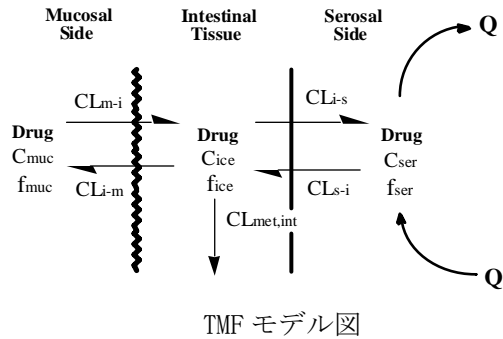
$$CL_{\text{abs}} = CL_{\text{m}} \times f_{\text{muc}} \times CL_{\text{s}} / (CL_{\text{s}} + CL_{\text{met,int}}) \quad \text{Eq. 15.}$$

$$F_{\text{g}} = CL_{\text{s}} / (CL_{\text{s}} + CL_{\text{met,int}}) \quad \text{Eq. 16.}$$

$$E_g = CL_{met,int} / (CL_s + CL_{met,int}) \quad \text{Eq. 17.}$$

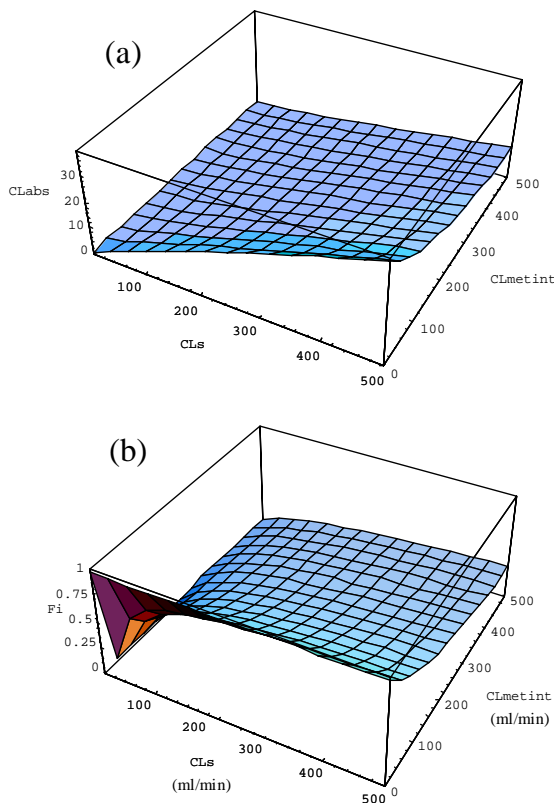
この式は of Wachter ら¹⁶⁾ の Eq. 10 と同一であり、Eq. 10 は上記条件下の吸収を説明する式であると思われる。また、Eqs. 11, 12 を用いて simulation を行なうと、吸収クリアランス (CL_{bas})、腸管アペイラビリティ (F_g) がグラフ (a)、(b) のように得られ、膜透過性と代謝性による影響が把握できる。このモデルの適用性は、今後の課題である。

以上結論として、このように、WS モデルだけではデータの説明は不十分であると思われる。腸管初回通過効果の評価の検討には、まだまだ興味深い課題が残されている。



References

1. Klippert, P. et al., *Biochem. Pharmacol.*, 31: 2545-2548 (1982).
2. Tsuji, A. et al., *J. Life Sci.*, 51: 1427-1437 (1992).
3. Mizuma, T. et al., *Xenob. Metab. Dispos.*, 15 (Suppl.): S100-S101 (2000).
4. Mizuma, T.: *Drug Metab. Pharmacokin.* 17: 496-506 (2002).
5. Koster, A. et al., *J.: Drug Metab. Dispos.*, 13: 464- 470 (1985).
6. Koster, A. Sj. Et al., *J.: Drug Metab. Dispos.*, 13: 232-238 (1985).
7. Mistry, M. and Houston, B.: *Drug Metab. Dispos.*, 15: 710-717 (1987).
8. Brewster, D. et al., *J. Pharm. Pharmacol.*, 33: 500-506 (1981).
9. Mistry, M. and Houston, J. B.: Quantitation of extrahepatic metabolism. *Drug. Metab. Dispos.*, 13: 740-745 (1985).
10. De Vries, M. H. et al., *J.: Naunyn-Shmiedeberg Arch Pharmacol.*, 340: 583-587 (1989).
11. Klippert, P. J. et al., *Cancer Res.*, 43: 3160-3164 (1983).
12. Borm, P. J. A. et al., *J. Pharm. Pharmacol.*, 37: 629-636 (1985).
13. Mizuma, T. et al., *J. Pharm. Sci.*, 85: 854-857 (1996).
14. Mizuma, T. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1335: 111-119 (1997).
15. Mizuma, T. and Awazu, S.: *Biochim. Biophys. Acta*, 1425: 398-404 (1998).
16. Wachter, V. J. et al.,



TMF モデルによる吸収クリアランス (a) と腸管アペイラビリティ (b)