

氏 名	石 崎 純 子
生 年 月 日	
本 籍	富 山 県
学 位 の 種 類	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 183 号
学 位 授 与 の 日 付	平 成 11 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	論 文 博 士 (学 位 規 則 第 4 条 第 2 項)
学 位 授 与 の 題 目	塩 基 性 薬 物 の 脂 溶 性 に 基 づ く 細 胞 内 分 布 機 構 に 関 す る 研 究
論 文 審 査 委 員	( 主 査 ) 大 熊 勝 治 ( 副 査 ) 市 村 藤 雄, 辻 彰, 宮 本 謙 一, 横 川 弘 一

## 学 位 論 文 要 旨

**Abstract** This paper established a physiological pharmacokinetic model of basic drugs on the basis of their lipophilicity, and their pharmacokinetic parameters were predicted in humans *from the regression equations* between their lipophilicity and pharmacokinetic parameters in rabbits.

Application of their  $pK_a$ ,  $P_{oct}$  and  $f_p$  values enabled us to predict disposition kinetics of unknown basic drugs in man.

This paper also described the studies on the mechanism of subcellular distribution of lipophilic weak bases. Although the tissue distribution of basic drugs appeared to decrease with time simply in parallel with their plasma concentration, their subcellular distribution in various tissues exhibited a variety of patterns. Basic drugs were distributed widely in various tissues, but were concentrated in lung granule fraction, where the accumulation was dependent on drug lipophilicity and lysosomal uptake. As the plasma concentration of drugs decreased after maximum level, the contribution of lysosomes to the subcellular distribution increased. The uptake of basic drugs into lysosomes depended both on the intralysosomal pH and on the drug lipophilicity. As the lipophilicity of the basic drugs increased, they accumulated more than the values predicted from the pH partition theory and raised the intralysosomal pH more potently, probably owing to their binding with lysosomal membranes with or without additional intralysosomal aggregation. These phenomena should be considered as a basis of drug interaction in clinical treatments.

医薬品の適正使用を推進し、より効果的かつ安全性の高い薬物療法を実践するため様々な分野での研究が行われているが、臨床で直接患者の治療にかかわる機会のある病院薬剤師に求められるものは、薬物動態学および薬力学に基づいた、それぞれの薬物の吸収、分布、代謝、排泄や、効果および副作用発現にかかわる作用部位での薬物濃度推移の把握と、これらの情報に基づく投与計画の立案である。しかし実際の臨床現場では、患者の病態や併用薬物によって動態解析が複雑になっていること、更に、分布動態の解明された薬物や迅速な血中濃度測定可能な薬物が限られていることより、個々の薬物について薬物動態を予測し投与計画を立案するには至っていない。一方、薬物の物理化学的特徴よりその薬物の細胞内レベルを含めた分布機構が明らかになれば、体内動態に関する情報の不十分な薬物についてもその予測が可能となり臨床での応用範囲の広がることが期待される。そこで本研究では、医薬品として使用されることの多い中枢神経系作用薬や循環器系作用薬等の塩基性薬物について、第1に、その脂溶性に基づいたヒトでの生理学的薬物速度論モデルを構築した。第2に、血漿中濃度や組織濃度と薬効発現部位である受容体近傍での分布動態を比較検討した。第3に、塩基性薬物の細胞内分布機構について検討した。

## 1. 脂溶性に基づく動態予測

塩基性薬物の組織分布がその脂溶性に依存していることより、脂溶性に基づく薬物体内動態の予測を試みた。動物実験で得られた薬物速度論的パラメータと薬物固有のパラメータであるオクタノール-水分配係数 ( $P_{Oct}$ ) との関係式を組み込んだ生理学的薬物速度論モデルを構築した。このモデルに各種塩基性薬物のヒトでの血漿中非結合型分率 ( $f_p$ ) と  $P_{Oct}$  を適用することにより、薬物動態に関する情報の少ない医薬品についても常用量投与時の動態予測が可能となった。更に、このモデルの適用により、病態時や薬物相互作用により各種パラメータが変動する場合でもその体内動態の変動が予測可能となり、今後の臨床への応用が期待される。

## 2. 受容体近傍の薬物動態

ムスカリン性アセチルコリン受容体 (m-Ach-R) を遮断する中枢性抗コリン剤が、受容

体レベルではどのような分布動態を示すのかを明らかにするため、m-Ach-Rの代表的なリガンドである quinuclidinyl benzylate (QNB) を用いて、低投与量（受容体レベル）とその10000倍の高投与量（臨床レベル）での分布動態を比較した。臨床レベルの投与量では組織分布は線形の動態を示したが、受容体レベルの低投与量では強力な結合を反映する非線形の動態を示し、二つのレベルで分布動態が異なることがわかった。更に、これらの異なる二つの動態を同時にシミュレートできる生理学的薬物速度論モデルを構築することができた。このモデルの適用は、リガンドの開発や中枢神経系での受容体を介した薬理効果と血漿中濃度との経時的関係を推測する際に有用性が高いと考えられる。

### 3. 細胞内分布とその要因

脳、心および肺を細胞分画し、細胞レベルでの塩基性薬物の分布動態を検討した。QNBの低投与量でみられた強力な結合は、シナプス膜だけではなく他のオルガネラにも存在する高親和性結合部位への強力なタンパク結合に依存することが示唆された。一方、塩基性薬物は他の組織に比較して肺に特に高い親和性を有するが、その要因として顆粒画分（P<sub>2</sub>画分）が関与していることがわかった。P<sub>2</sub>画分には少なくとも二つの親和性部位が確認され、薬物の脂溶性に依存する部位とNH<sub>4</sub>Clで阻害される部位すなわち酸性コンパートメント（リソソーム（Lys））とにより構成されていることがわかった。7種類の塩基性薬物のP<sub>2</sub>画分への全取り込み量と、それぞれのP<sub>oct</sub>値との間に相関性は認められたが、全取り込み量からLysの寄与を差し引くことにより、より高い相関性が得られた。このことから、塩基性薬物の肺への分布は薬物の脂溶性とLysへの取り込みの二つの要因が関与していることが明らかになった。

### 4. *In vivo*におけるリソソームの寄与

*In vivo*でのbiperiden (BP) およびtrihexyphenidyl (TP) の分布に対するLys阻害剤NH<sub>4</sub>Clの影響を検討した。NH<sub>4</sub>Clにより定常状態における組織-血漿中薬物濃度比（K<sub>p</sub>）はコントロールに比較して有意に低下した。これらの低下率は、肺では70%、心、腎、脳では50%、腸では40%、筋、脂肪では20%と各組織で異なった。更に、肺を細胞分画した結果、Lysの標識酵素である酸性フォスファターゼの高い画分ほどNH<sub>4</sub>Clによる親

和性の低下が大きいことがわかった。従って、Lysが塩基性薬物の組織分布を決定する要因の1つであることが明らかになった。

塩基性薬物の肝臓での細胞内分布におけるLysの寄与について検討した。Lysの容積は肝細胞中でわずか1%にすぎないが、塩基性薬物のLysへの分布率は静脈内投与10分後では10%であった。更に、血漿中濃度推移の減衰に伴い、組織分布に対するLysの寄与が大きくなることが示唆された。

## 5. リソソームへの分布・濃縮機構

Imipramine (IMP) を用いてLysとミトコンドリア (Mit) への結合様式を比較した結果、塩基性薬物の結合部位はMitでは単一の結合部位で構成されているのに対し、Lysでは high-affinity/low-capacity と low-affinity/high-capacity の少なくとも2つの結合部位によって構成されていることが明らかになった。更に、high-affinity/low-capacity の結合部位は  $\text{NH}_4\text{Cl}$  や chlorpromazine により消失すること、また種々の塩基性薬物やLys内pHを上昇させる nigericin によりIMPのLysへの取り込みが阻害される結果を得た。このことから、塩基性薬物の併用によりLysを介した相互作用が誘発される可能性が示唆された。

ラット肝より調製した高純度のLysを用いて、塩基性薬物の分布・濃縮機構を検討した。その結果、IMPのLysへの取り込みは温度非依存的であるが、エネルギー依存性が認められた。しかし、そのエネルギーはキャリアではなくLys内pHを酸性に維持する液胞型ATPaseの駆動のために消費されることがわかった。更に、この取り込みはLys内外のpH勾配だけでなく薬物の脂溶性とそれに伴うLys内の構成成分との結合によることが示唆された。また、脂溶性の高い薬物ほどLys内で結合し、 $\text{H}^+$ 濃度比以上に濃縮するので、薬物間相互作用を誘発する可能性の高いことを示唆する結果を得た。

## 結 論

著者は、この研究で脂溶性に基づく塩基性薬物の体内分布動態およびLysへの濃縮機構を明らかにした。塩基性薬物の体内分布、更にその細胞内分布が脂溶性に依存することより、臨床にも適用可能な脂溶性に基づく生理学的薬物速度論モデルを構築することができた。一方、塩基性薬物は細胞内の酸性コンパートメントであるLysに特に高い親

和性を示し、その取り込み量はpHに依存しており脂溶性とは異なる機構が考えられた。しかし詳細な検討の結果、pHに依存して取り込まれた後、脂溶性の高い薬物ほどLys内の構成成分と結合することによってH<sup>+</sup>濃度比以上に濃縮されることが明らかになり、塩基性薬物の細胞内オルガネラを含めた体内分布には脂溶性の寄与が大きいこと、更に、脂溶性の高い薬物ほどLysを介した薬物間相互作用を誘発する可能性が高いことを示唆した。本研究による脂溶性に基づいた生理学的薬物速度論モデルの構築や細胞内分布機構の解明は、薬物の有効利用や副作用回避を考える上で有益な情報を提供し、適正な薬物療法の実践に貢献すると考えられる。

## 学位論文審査結果の要旨

当該論文に関し、12月3日の口頭発表における質疑応答の結果を踏まえて、同日の審査委員会において慎重審議を行った結果、次のとおり判定した。

医薬品を適正に使用するためには、作用発現にかかわる薬物の体内濃度推移の把握とそれに基づく投与計画の立案が必須であるが、迅速な血中濃度測定可能な薬物や分布動態の解明された薬物は限られており、あらゆる薬物についてその体内動態を予測し投与計画を立案するには至っていない。本研究は、塩基性薬物について、薬物の物理化学的特徴に基づいて、臨床にも適用可能な生理学的薬物速度論モデルの構築を試みたものである。その結果、中枢神経系作用薬や循環器系作用薬等の塩基性薬物について、動物実験で得られた薬物速度論的パラメータに、薬物固有の物理化学的パラメータであるオクタノール-水分配係数 (Poct) を組み込むことにより、その生理学的薬物速度論モデルを構築することができ、ヒトでの体内分布動態の予測が可能であることを示した。また、塩基性薬物の細胞内分布は、脂溶性に依存する部位と、酸性コンパートメント (リソソーム(Lys)等) とから構成されており、Lysが塩基性薬物の組織分布を決定する要因の1つであることを示すと共に、その取り込みが、Lys内外のpH勾配だけでなく薬物の脂溶性に依存しており、Lys膜への吸着等を介した平衡移動により塩基がLysに濃縮される可能性を示唆した。そして脂溶性の高い薬物ほど薬物間相互作用を誘発する可能性の高いことを示す結果を得た。

以上、本研究による、脂溶性に基づいた生理学的薬物速度論モデルの構築と細胞内分布機構の解明は、薬物動態に関する情報の少ない医薬品についてもその体内動態予測を可能とするものであり、薬物の有効利用や副作用回避を考える上で有益な情報を提供し、適正な薬物療法の実践に貢献する業績である。よって、その内容は博士(薬学)論文に値すると判定する。