

氏名	宮本 れい		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 9 1 号		
学位授与年月日	令和2年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	創薬の効率化を目指したヒトP-gp基質性評価改善に関する研究		
主査	筑波大学教授	理学博士	繁森 英幸
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	臼井 健郎
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	内海 真生
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山田 小須弥

論 文 の 要 旨

本論文で著者は、ATP binding cassette トランスポーターの一種である P-gp について、種々の薬物の基質性評価を行い、この結果を基に創薬の効率化に関する研究について論述している。P-gp はヒト体内において様々な組織に発現し、薬物の消化管での吸収、血中濃度の維持、組織分布、排泄経路等の薬物動態に関与し、その薬物の有効性、安全性に影響を与えるため、開発する薬物がヒト P-gp の基質か否かを早い段階で正確に見極めることはとても重要である。FDA や厚生労働省の規制当局から P-gp に関する薬物間相互作用に関するガイドラインが発行され、これらガイドラインではヒト P-gp が発現した細胞を用いた経細胞輸送評価の実施が推奨されており、この評価法は現段階では最も信頼性が高い評価法であることが複数報告されている。評価に用いる細胞としては MDCKII 細胞または LLC-PK1 細胞にヒト P-gp を強制発現させた細胞が一般的によく用いられているが、これら細胞にはそれぞれ内在性のトランスポーターが発現しており、特に MDCKII 細胞では内在性イヌ P-gp の発現が高く、ヒト P-gp 基質性評価に影響を与えることが複数報告されている。一方、LLC-PK1 細胞は内在性ブタ P-gp の発現量が低く、ヒト P-gp 基質性評価への影響は小さいことが報告されている。そこで著者は、より正確なヒト P-gp 基質性評価実施のためには LLC-PK1 細胞がより適した親株細胞と考え、LLC-PK1 細胞を親株として選択し、創薬の効率化を目指したヒト P-gp 基質性評価法の改善を行った。経細胞輸送評価は細胞を用いた煩雑な手順を含む評価法のため 12-well plate や 24-well plate を用いて実施されることが多かったがスループレットの低い評価法であったため、著者は創薬の成功確率向上のためにはより早期の薬物動態評価の実施が有効と考えた。

まず筆者は、ヒト P-gp 基質性評価実施のハイスループット化を目指し microplate washer を用いた効率的な 96-well plate におけるヒト P-gp 基質性評価法を構築した。様々な特性を持つ 9 化合物を用いて 24-well plate および 96-well plate におけるヒト P-gp 基質性評価を実施し比較した結果、各化合物の膜透過性および P-gp 基質性は同等の結果を示すことを見出した。また、P-gp 基質である verapamil および P-gp 非基質である caffeine の 10 試験による P-gp 基質性評価のばらつきを調べた結果、高い再現性を確認した。本評価法は microplate washer を用いたことにより実験時間の短縮が可能となり、plate のミニチュア化により試薬使用量も削減できたことから、効率的に高質かつ低コストで実施できる評価法を構築した。

一方で、P-gp と同様に規制当局のガイドラインで評価が推奨されているトランスポーターBCRP の発現について、LLC-PK1 細胞での発現に関する知見が無かったため、著者は LLC-PK1 細胞における内在性ブタ Bcrp の発現およびヒト P-gp 基質性評価への影響を調べた。その結果、qRT-PCR により LLC-PK1 細胞では内在性ブタ Bcrp の mRNA の発現が認められ、BCRP 基質および BCRP 選択的阻害剤を用いた経細胞輸送評価では、内在性ブタ Bcrp が機能していることを明らかにした。また P-gp および BCRP の両方の基質となる prazosin および fluvastatin のヒト P-gp 基質性評価を実施したところ、内在性ブタ Bcrp の影響によりヒト P-gp 基質性を過小評価することが示されたが、BCRP 選択的阻害剤添加により、これら化合物の正確なヒト P-gp 基質性評価が実施可能となることを示した。

審 査 の 要 旨

著者は、創薬段階におけるヒト P-gp 基質性評価のスループットを上昇させ、また LLC-PK1 細胞におけるブタ Bcrp 機能を明らかにすることで、より早期に正確にヒト P-gp 基質性判断ができることを見出した。これらヒト P-gp 基質性評価における量的および質的な改善は、創薬の効率化、開発候補品のヒト体内動態の予測精度向上につながり、更なる医薬品開発の成功確率向上へ貢献するものと考えられる。したがって、本研究成果は医薬品研究開発における創薬研究の発展に大いに寄与するものと思われる。

令和 2年 1月 21日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。