

「論文要旨」

クッシング症候群治療薬メチラポンの代謝動態に関する研究

村田 秀之

ケトン基を有する薬物であるメチラポン (Metyrapone : MP) は、クッシング症候群の治療薬として使用されており、その臨床投与経路は経口投与である。実験動物において、MP はそのケトン基が還元的に代謝されたメチラポール (MPOL ; 活性代謝物)、ピリジン環部分が酸化的に代謝された *N*-oxide 体 [メチラポン *N*-oxide I および II (MP NOI および MP NOII)], さらに MPOL *N*-oxide I および II (MPOL NOI および MPOL NOII) などに代謝されることが知られている。しかしながら、実験動物における MP およびその代謝物の血漿中薬物動態に関する報告は経口投与以外では少なく、経口投与の報告は認められていない。また、MP はクッシング症候群の薬物療法において経口投与剤として適用されているにもかかわらず、ヒトに経口投与したときの薬物動態は十分に解明されていない。本研究では、MP の体内動態を研究する上で必要な MP および 5 種類の代謝物の同時定量法を確立後、実験動物としてラットに MP を経口投与したときの体内動態を検討した。また、MP の酸化的還元的代謝の主要な代謝部位および代謝酵素、ならびに MP の主要な代謝に影響を及ぼす内的因子および代謝過程における薬物相互作用について検討した。さらに、ヒト肝の細胞画分における MP 代謝についても検討し、ラットと比較考察した。

1) MP およびその 5 種類の代謝物の HPLC-UV による同時定量法の確立

MP およびその 5 種類の代謝物の同時定量は、high performance liquid chromatography-ultraviolet detection (HPLC-UV) 法により確立した。すなわち、C₁₈ の分析カラム、ならびに移動相として水およびメタノール混合のグラジエント条件を適用することにより、内標準物質を含むすべての測定対象物質は 42 分までに検出された。また、検討したすべての生体試料 (Wistar 雄ラットの血漿、尿および各実験動物の組織の細胞画分ならびにヒト肝の細胞画分) 由来のピークは、MP、5 種類の代謝物および内標準物質のピークと重ならず、すべての生体試料を同一の測定条件で確立した。さらに、本測定法では各測定対象物質の検量線 (1.13~90.0 ng/mL) に良好な相関が得られ ($r^2 = 0.999$)、かつ高感度分析 (定量下限 : 1.13 ng/mL) を可能とした。

2) Wistar 雄ラットにおける MP およびその代謝物の薬物動態

Wistar 雄ラットに MP を 50 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、MP は消化管から速やかに吸収された後、血漿中から速やかに消失した。各代謝物の血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) を比較すると、主代謝物は還元的代謝物 MPOL であり、その AUC は未変化体 MP の約 4 倍高かった。MPOL は活性代謝物であることから、MPOL も薬効に寄与するものと推察された。酸化的代謝物 MP NOII および酸化的還元的代謝物 MPOL NOII もまた、MPOL と同様に血漿中で速やかに上昇し、これらの AUC は

MPOL よりも低く、MP と同程度であった。

経口投与後 24 時間までの尿中排泄物を調べたところ、MPOL NOII, MP NOII, MPOL NOI および MPOL の順で検出された。この結果は、SD 雄ラット (MP の腹腔内投与) で報告されている尿中代謝物の種類およびそれらの排泄量と異なる結果であった。一方、MP は尿中にほとんど検出されなかったことから、経口投与後の血漿中 MP の速やかな消失は、組織内での MP の速やかな代謝によるものと示唆された。

血漿中および尿中に認められた MP 代謝物の種類およびそれらの量的関係から代謝経路を推定すると、MPOL NOI および MPOL NOII はそれぞれ MP NOI および MP NOII の還元的代謝による生成ではなく、ともに MPOL の酸化的代謝による生成であることが推察された。

3) MP の各組織における *in vitro* 代謝

Wistar 雄ラットにおける MP の酸化的還元的代謝を比活性 (nmol/min/mg protein) で比較すると、肝ミクロソーム画分 (Ms) における MP 還元酵素活性 (MPOL 生成活性) が最も高く、次いで精巣 Ms で高かった。また、本酵素活性はミトコンドリア画分 (Mit) では肝臓および精巣で、サイトゾール画分 (Cyt) では副腎で最も高かった。各細胞画分 (Ms, Mit および Cyt) における MP 還元酵素活性を有意差検定したところ、Ms では肝臓は脳よりも、Mit では精巣は脳よりも、Cyt では副腎は腎臓よりも有意に高かった。本酵素活性および組織重量を考慮すると、MPOL の主要な生成組織は肝臓であることが示唆された。また、MP 還元酵素活性は肝臓に次いで精巣も高かったことから、精巣もまた経口投与後の血漿中での MPOL の速やかな上昇および最大の AUC に寄与しているものと推察された。一方、MP の還元的代謝の次に高かった MP NOII への酸化的代謝も含めて、MPOL 以外の MP 代謝物への酸化的還元的代謝活性はすべての組織で非常に低く、主要な生成組織を明らかにすることはできなかった。

Wistar ラット肝 Ms における MP 還元酵素活性の生後発達パターンを検討したところ、雌雄ともに 2 週齢で最も高く、それ以降低下したが、4 週齢 (ヒトでは思春期にあたる) 以降で雄の方が雌よりも高い維持により性差が認められ、このパターンは新生児型に属すると推察された。また、この思春期に去勢した雄ラットの 8 週齢における本酵素活性は、正常雄ラットに比べて有意に低下した。したがって、本酵素活性はテストステロン依存性の可能性が考えられた。一方、この生後発達パターンは、他のケトン薬物であるアセトヘキサミド (AH) の還元酵素活性の報告 (思春期型) と明らかに異なっており、両薬物を代謝する酵素は異なることが示唆された。そこで、Wistar 雄ラット肝 Ms から部分精製した MP 還元酵素の基質特異性を検討したところ、AH は還元されなかったことから、両薬物を代謝する酵素は異なることが示された。

ラットを含む 5 種類の実験動物の肝または腎の Ms および Cyt における MP 還元酵素活性の性差について調べた結果、マウス (肝 Ms および腎 Cyt) でのみ雌の方が雄よりも高かった。このように、マウスの肝および腎における MP 還元酵素活性の性差が他の実験動物と異なったことは、薬物動態の種差の観点から興味深い。

4) MP の *in vitro* および *in vivo* 代謝過程における薬物相互作用

各種酵素阻害剤感受性の観点から、Wistar 雄ラット肝 Ms における MPOL への還元的代謝に関与する主要な酵素は、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 (11 β -HSD1) であることが示唆された。肝 Mit もまた、MPOL への還元的代謝に 11 β -HSD1 が主に関与することが示唆された。一方、Wistar 雄ラット肝 Ms における MP NOII への酸化的代謝に関与する主要な酵素は、チトクローム P450 (CYP) であることが示唆された。

医薬品として用いられている Glycyrrhetic acid (GA) は強力な 11 β -HSD1 阻害剤として知られている。そこで、薬物動態学的薬物相互作用に着目し、ラットでの主要代謝組織（肝および精巣）における MP 還元酵素活性に対する GA の影響を調べた。その結果、GA は肝臓および精巣の Ms または Mit における MP 還元酵素活性を濃度依存的に強く阻害した (IC₅₀ : 10⁻⁷M オーダー)。これらのことから、MP と GA との併用により、MP およびその代謝物の体内動態が変動する可能性が考えられた。予期したとおり、Wistar 雄ラットへの GA 併用により、MPOL および MPOL NOII の最高血漿中濃度 (C_{max}) および 0 時間から 6 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{6h}) は MP 単独投与群に比べて減少したが、MP および MP NOII では逆に増加した。MP NOII の C_{max} および AUC_{6h} の増加は、GA による 11 β -HSD1 への代謝阻害により CYP への代謝が亢進したことが考えられた。また、これらの GA 併用投与時における MPOL、MPOL NOII および MP NOII の血漿中濃度推移の結果は、1) 項で推定した MP の代謝経路を支持するものであった。

ラットとの種差を検討するために、ヒト肝臓の細胞画分における MP の酸化的還元的代謝活性を検討した結果、Wistar 雄ラットと同様に MPOL への還元的代謝活性および MP NOII への酸化的代謝活性が高いことが明らかとなった。また、これらの MP 代謝活性および推定代謝経路から、ヒト *in vivo* では Wistar 雄ラットと同様に MPOL NOII も生成されることが推察された。さらに、酵素阻害剤感受性の観点から、MPOL および MP NOII はそれぞれ主に 11 β -HSD1 および CYP によって代謝されることが示唆された。これらのことから、ヒト肝における MP の酸化的還元的代謝の様相は、Wistar 雄ラットと類似していることが示唆された。

以上のように、Wistar 雄ラットに MP を単回経口投与したとき、血漿中 MP の速やかな消失は MP の速やかな代謝が示唆された。主代謝物は MP の還元的代謝物 MPOL であり、MPOL への還元的代謝の主要組織は肝臓であること、およびその主要な代謝酵素は 11 β -HSD1 であることが示唆された。また、MP NOII への酸化的代謝には主に CYP の関与が示唆された。ヒト肝における MP の酸化的還元的代謝の様相（生成される代謝物および主要な代謝酵素）は Wistar 雄ラットと類似していることが示唆されたため、Wistar 雄ラットで得られた MP 代謝動態データはヒトでの MP の薬物動態予測に有用と考えられた。