

II.分担報告書-3

分担研究者 山崎 浩史
昭和薬科大学・薬学部・教授

分担研究報告書

催奇形性物質に係る雄性生殖を介した新規発生毒性評価法の開発
— 薬物動態の解析 —

研究分担者 山崎 浩史
昭和薬科大学・薬学部・教授

研究要旨

サリドマイド被害の重篤性に鑑み、より安全側に立脚して服用中の避妊を男性にも求めている。本来、エビデンスに基づいた安全性確保を担保すべきであるが、そのために必要な催奇形性物質に係る雄性生殖を介した新規発生毒性評価法が確立していない。

本研究では薬物動態や薬物応答性の種差を考慮しつつ、サリドマイドをモデル物質とした催奇形性誘発懸念物質の体内動態を基盤とする医薬品毒性評価法の確立に向けて、ヒトへの外挿可能性を踏まえた毒性試験プロトコールを作成するために重要な基盤情報収集を行うことを目的とした。

分担研究として、令和2年度に構築したウサギにサリドマイドを経口投与した後の血中濃度推移を再現する薬物動態モデルを用いて、令和4年度実施した雌性ウサギを用いた経口投与試験から得られた母動物血中濃度とモデル出力結果値とを比較した結果、両者はほぼ一致した。比較的低い投与量では、性差および投与量に関係なく、サリドマイドは生体内へ移行、代謝していることが示唆された。

A. 研究目的

本研究では薬物動態や薬物応答性の種差を考慮しつつ、サリドマイドをモデル物質とした催奇形性誘発懸念物質の体内動態を基盤とする医薬品毒性評価法の確立に向けて、ヒトへの外挿可能性を踏まえた毒性試験プロトコールを作成するために重要な基盤情報収集を行うことを目的とする。

サリドマイドは、その芳香環が酸化されるヒト不均衡性代謝物5-水酸化体に変換され、さらなる活性化反応を受ける経路に代謝される一方、主要な解毒反応と考えられるげっ歯類型の脂肪環5'-水酸化体で代謝される。分担研究として、令和2年度に雄性ウサギにサリドマイドを経口投与した後の血中濃度推移を再現する薬物動態モデルを構築した。今年度は雌性ウサギの経口投与後の実測血中濃度推移を、本雄性モデルでの経口投与後出力と比較し、サリドマイド体内動態の可視化を試みた。

B. 研究方法

令和2年度に実施した雄性ウサギにサリドマイドを経口投与後の血漿中濃度時間推移の結果から、消化管、肝、全身循環および腎からなる生理学的薬物動態モデルの重要パラメータである吸収速度定数、分布容積および肝固有代謝消失速度定数をそれぞれ決定し、サリドマイドの雄性ウサギ体内動態を再現する生理学的薬物動態モデルを構築した。

令和4年度は毒性発現量である250 mg/kg/日及び1/10量の25 mg/kg/日およびその半量である12.5 mg/kg/日のサリドマイドを妊娠雌ウサギに経口投与し、母動物および子宮内の産物(胎盤、卵黄囊膜、胎児)へのサリドマイドおよび2種の酸化体(5-水酸化体サリドマイドおよび5'-水酸化体サリドマイド)の移行を液体クロマトグラフ-質量分析計により測定した。

経口投与は妊娠1日から妊娠13日とした。初回投与日

(妊娠1日)および最終投与日(妊娠13日)に経時的に母動物から採血し、経口投与により得られた母動物血漿中濃度と、同様にサリドマイドを経口投与し雄性ウサギ用に構築した生理学的薬物動態モデルとの出力結果と比較し、経口投与による生体内血中濃度推移を比較した。

経口投与試験の実験方法および結果は、分担研究-1(稜形担当)を参照。

(倫理面への配慮)

科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、所属の研究機関が定める動物実験に関する規定、指針を遵守した。

C. 研究結果および考察

雄性ウサギ用に構築した生理学的薬物動態モデルを用い、妊娠ウサギへの経口投与試験の投与量である12.5、25および250 mg/kg 用量にてウサギに仮想経口投与したモデル出力結果値と、妊娠ウサギに同用量を経口投与した際の実測値を比較した。

その結果、12.5および25 mg/kg/日 群では投与1日(妊娠1日)と投与13日(妊娠13日)のウサギ血漿中サリドマイド、5-水酸化体サリドマイドおよび5'-水酸化体サリドマイド濃度の実測血中濃度(表5~表11)は仮想出力値とほぼ一致した(図1)。

サリドマイド 250 mg/kg/日群では、25 mg/kg/日群と血中濃度-時間推移がやや異なり、初回投与後24時間値は比較的高濃度値で推移した。一方、反復投与13日(妊娠13日)の24時間後は、明らかな消失に伴う低血中濃度値を示したことから、薬物動態学的に平易な取扱いが難しい結果となった(図1)。

よって、2 mg/kg での経口投与のサリドマイドの初発代謝物を含む体内動態は、25 mg/kgまで用量に比例関係(線形)があることが明らかになった。しかし、250 mg/kgは代謝が飽和して消失が遅延すると考えら

れた。なお、ウサギに対して高用量サリドマイドの初回投与後に薬物血中消失が緩徐となる傾向は再現性があり、雄経口投与実験の250 および500 mg/kg/日群においても認められている（令和2年度実施）。

D. 結論

令和2年度に構築した、サリドマイドの雄性ウサギ体内動態を再現する生理学的薬物動態モデルを用いて、妊娠ウサギへの経口投与後の母動物血中実測値濃度とモデル出力値を比較した結果、両者はほぼ一致した。比較的低い投与量では、性差および投与量に関係なく、サリドマイドは生体内へ移行、代謝していることが示唆された。

E. 健康危険情報

総括研究報告書参照

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ogiya D, Murayama N, Kamiya Y, Saito R, Shiraiwa S, Suzuki R, Machida S, Tazume K, Ando K, Yamazaki H. Low cerebrospinal fluid-to-plasma ratios of orally administered lenalidomide mediated by its low cell membrane permeability in patients with hematologic malignancies. *Ann Hematol*, 101, 2013–2019, 2022.
- 2) Adachi K, Shimizu M, Yamazaki H. Updated in silico Prediction methods for fractions absorbed and key input parameters of 355 disparate chemicals for physiologically based pharmacokinetic models for time-dependent plasma concentrations after virtual oral doses in humans. *Biol Pharm Bull*, 45, 1812-1817, 2022.
- 3) Yamazaki, H., and Shimizu, M. Species specificity and selection of models for drug oxidations mediated by polymorphic human enzymes. *Drug Metab Dispos.*, 51, 123-129, 2023.
- 4) Uehara S, Murayama N, Higuchi Y, Shimizu M, Suemizu H, Guengerich FP, Yamazaki H. In vivo and in vitro induction of cytochrome P450 3A4 by thalidomide in humanized-liver mice and experimental human hepatocyte HepaSH cells. *Chem Res Toxicol*, 37, 671-674, 2024.

2. 学会発表

- 1) 山崎 浩史 第49回日本毒性学会シンポジウム「サリドマイドのヒト型酸化的代謝物のウサギでの生成: 奇形のないラットとの比較」2022年6月、札幌
- 2) 山崎 浩史 日本動物実験代替法学会第35回大会シンポジウム「データ駆動型生理学的薬物動態モデルを用いる化学物質の体内濃度予測」2022年11月、静岡
- 3) Yamazaki, H., 7th Asia Pacific Regional International Society of Study of Xenobiotics (ISSX) meeting, “Species Specificity and Selection of Animal Models for Drug Oxygenations Mediated by Polymorphic Human Enzymes,” 2023年1月, Bangalore, India.
- 4) 長谷川 拓郎、白方 渉太、高島 宏昌、山崎 浩史、栗形 麻樹子、北嶋 聡: LC-MS/MSを用いたウサギ血漿、精液および子宮内容物中のサリドマイドとその代謝物の同時測定法のバリデーション 第50回日本毒性学会学術年会 (横浜) 2023年6月
- 5) 山崎 浩史: 特別講演 II 「薬物代謝研究の進歩と展

- 望」第30 回HAB研究機構学術年会 (東京) 2023年5月
- 6) 山崎 浩史: 「医薬品における雄性生殖を介した発生毒性リスクの考え方」モデル動物体内動態情報から考えるサリドマイド類のヒト精漿への移行 第50回日本毒性学会学術年会シンポジウム (横浜) 2023年6月
 - 7) Yamazaki, H., Species and individual differences of drug oxygenations mediated by polymorphic human cytochrome P450 enzymes, The 10th International Congress of Asian Society of Toxicology (Taipei, Taiwan) 2023年7月
 - 8) Yamazaki, H., Model Selection for Drug Oxygenations Mediated by Polymorphic Human Enzymes 2023 international joint meeting of the 23rd International Conference on Cytochrome P450 and the 38th Annual Meeting of the Japanese Society for the Study of Xenobiotics (Shizuoka, Japan) 2023年 9月
 - 9) Makiko Kuwagata, Hiromasa Takashima, Ryo Haneda, Kanako Tanaka, Takuro Hasegawa, Hiroshi Yamazaki, Satoshi Kitajima: Possible teratogenic effects mediated by seminal plasma exposed to thalidomide in rabbits Eurotox Congress 2023 (Ljubjana, Slovenia) 2023年9月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし