

プレスリリース

血液脳関門における薬物排出ポンプを考慮した 薬物の脳移行性予測システムの開発 － 認知症治療薬などの開発スピードの向上へ －

【概要】

2021年2月24日

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 AI健康・医薬研究センターの水口賢司センター長、並びにバイオインフォマティクスプロジェクトの渡邊怜子プロジェクト研究員の研究グループは、血液脳関門 (BBB) ※¹における P-糖タンパク質 (P-gp) ※²の化合物輸送能を考慮した、薬物の脳移行性が予測可能な新たなモデルの開発に成功しました。さらに、このモデルに基づき構築したシステムを、誰もが利用できるアプリケーションとして、Web上に公開しました (<https://adme.nibiohn.go.jp/brain-penetration>)。

薬物の脳移行性を予測するインシリコ予測モデルの開発は、薬物動態に影響を与える様々な因子を考慮する必要があることや、BBBの仕組みが複雑であることから、難しい課題とされてきました。今回開発したモデルは、血液脳関門において薬物の脳移行性に大きく影響するトランスポーター※³である P-gp の化合物輸送能を考慮していることから、既存の方法と比べて高精度な予測が可能となりました。

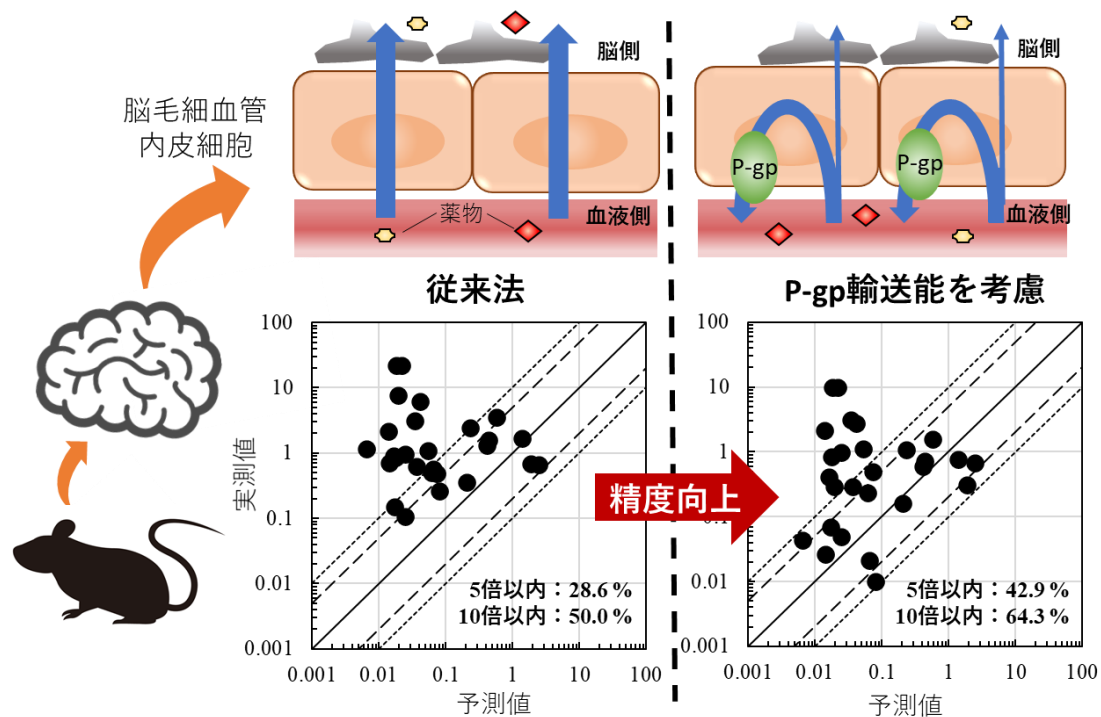
今後、本手法を中枢神経作用薬 (認知症やパーキンソン病、統合失調症などを対象とする薬) の創薬初期段階における化合物の絞り込みや最適化に利用することで、医薬品開発の効率化への貢献が期待されます。

また、この脳移行性予測システムは、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 創薬支援推進事業「創薬支援インフォマティクスシステム構築」において構築された薬物動態※⁴予測の統合解析プラットフォームである DruMAP (Drug Metabolism and pharmacokinetics Analysis Platform) に組み込まれ、複数の薬物動態パラメータ※⁵と共に統合的な解析が可能となります。今後、2021年2月より販売開始予定である富士通株式会社の AI 創薬基盤「SCIQUICK (サイクイック)」への搭載も検討してまいります。

なお、本研究は国立研究開発法人日本医療研究開発機構 創薬支援推進事業「創薬支援インフォマティクスシステム構築」(19nk0101101h0005, 多階層データの統合モデリングによる薬物動態予測システムの構築) の支援を受けて進められ、その成果は米国科学雑誌「Journal of Medicinal Chemistry」(2021年2月23日付の電子版) に掲載されました。

【本研究のポイント】

- ▶ 薬物の脳移行性を予測する *in silico* モデルは予測精度の向上が求められている中で、薬物の中枢移行を制限する最も重要な排出トランスポーターである P-糖タンパク質(P-gp)輸送能を考慮した脳移行性予測手法を、ラットを用いて検証しました。
- ▶ 検証した予測手法に基づき、化合物の構造情報のみを用いる複数の機械学習モデルを組み合わせることで、既存の予測方法と比較してより高精度に脳移行性が予測可能なことを示しました。
- ▶ このモデルに基づき構築した脳移行性予測システムを、誰もが利用可能なアプリケーションとして、Web 上で公開しました (<https://adme.nibiohn.go.jp/brain-penetration>)。



P-gp輸送能を考慮することで、
薬物の中枢移行性 ($K_{p,uu,brain}$) の予測精度が高まった

【用語解説】

※1 血液脳関門 (Blood-brain barrier, BBB)

血液と脳組織との物質移動を制限する仕組み。脳毛細血管内皮細胞は細胞間が密着結合しており、細胞間隙を介した物質の移動は困難であり、薬物の脂溶性に依存した経細胞輸送と、脳に必要な物質や不要な物質は、BBB に存在する取込型および排出型トランスポーター (膜輸送体) によって輸送される。

※2 P-糖タンパク質 (P-glycoprotein, P-gp)

脳毛細血管内皮細胞に発現するトランスポーターであり、内皮細胞内に入った毒物・薬物を血中へ汲み出すことにより脳内への侵入を防いでいる。

※3 トランスポーター

生体内において、細胞膜を介して物質を輸送するタンパク質の総称。脳毛細血管に発現する多く

のトランスポーターによって、脳に必要な栄養素（グルコース、アミノ酸、ヌクレオチドなど）は選択的に血液脳関門を透過する。

※4 薬物動態

薬物が体内に投与されてから排泄されるまでの過程のこと。体内に投与された薬物は、吸収され体内組織に分布し、酵素により代謝されることで別の化合物へと変換され、最終的に排泄されることによって体内から消失する。

※5 薬物動態パラメータ

薬物動態を考慮する上で必要なパラメータ。吸収率 (F_a)、生物学的利用率(BA)、分布容積 (V_d)、血漿タンパク及び脳ホモジネート結合率 ($f_{u,plasma}$, $f_{u,brain}$)、クリアランス (CL)、脳-血漿中薬物濃度比 ($K_{p,brain}$) および脳-血漿中非結合型薬物濃度比 ($K_{p,uu,brain}$) などがある。

【研究概要】

1. 研究の背景

近年、容易に発見できる創薬ターゲットの開発は既に網羅されており、創薬の難易度は上昇していると言われていています。それに伴い医薬品研究開発の期間と費用は年々増大し、創薬の成功確率が低下する中で、創薬を効率的に進めるための技術的革新が求められています。創薬における薬物動態パラメータの予測モデルの利用はその1つで、創薬の初期段階での薬物動態予測を可能とし、創薬期間を大幅に短縮すると同時に成功確率を改善する効果が期待されています。また、認知症やパーキンソン病などの中枢神経の疾患は、根本的な治療薬が開発されておらず、医療ニーズの高い領域であることが知られています。

薬物の脳移行性を予測する *in silico* 予測モデルの開発は、複数の薬物動態パラメータを考慮する必要があることと、血液脳関門 (Blood-brain barrier, BBB) と呼ばれる血液と脳組織との物質移動を制限する仕組みが非常に複雑であることが原因で、依然として難しい課題とされてきました。一般的には、薬物の脳移行性を評価するための薬物動態パラメータとして、脳-血漿中薬物濃度比 ($K_{p,brain}$) および脳-血漿中非結合型薬物濃度比 ($K_{p,uu,brain}$) が用いられています。特に薬効、毒性を示す非結合型の濃度の見積もりは重要ですが、 $K_{p,brain}$ の計算式は既に提唱されているものの、主に化合物の物理化学性質のみを考慮したモデルです。 $K_{p,uu,brain}$ を推定するためには、 $K_{p,brain}$ に加えて脳ホモジネート結合率 ($f_{u,brain}$) や血漿タンパク結合率 ($f_{u,p}$) などの複数の薬物動態パラメータが必要となります。さらに、 $K_{p,uu,brain}$ はトランスポーターにより影響を受けることが知られており、特に BBB における主な排泄トランスポーターである P-糖タンパク質 (P-gp) は BBB を構成する脳毛細血管内皮細胞 (BCEC) の血液側細胞膜に発現し、脳組織と血液との間の物質の膜透過性を厳密に制限していることが明らかにされています。従って、 $K_{p,uu,brain}$ を推定するためには複数の薬物動態パラメータ及びトランスポーターによる薬物の輸送活性を考慮しなければなりません。

これまでの研究では *in vitro* 実験で得られた知見を *in vivo* における $K_{p,brain}$ に外挿して推測することの難しさが示されてきましたが、近年、東北大学・寺崎哲也教授らのグループにより、プロテオミクス技術を用いて *in vitro* と *in vivo* のトランスポータータンパク質発現量を決定する手法と、それらのタンパク質発現量を用いて補正することで *in vivo* におけるトランスポーター機能を推定する方法が提唱されました。これによりマウス及びヒトの BCEC における P-gp 機能を再構築するための方法が実証され、*in vitro/in vivo*、ヒト/動物間での BBB 輸送の機能的な違いが明らかになってきました。しかし、ある化合物に対する BBB の P-gp 機能を化合物構造のみから予測し、その予測値を用いて $K_{p,brain}$ を再構成可能か否かについては、これまでに検証されておりません。

2. 研究成果

➤ P-gp 輸送能、 $f_{u,brain}$ 、 $f_{u,p}$ のインシリコ予測モデルの構築

P-gp 輸送能 (P-gp NER)、 $f_{u,brain}$ 、 $f_{u,p}$ の予測モデルを公共データ及び In-house データを用いて構築し、既存の予測モデルと同等以上の予測精度があることを示しました。P-gp NER については線形回帰による直接的な数値の予測が困難であったため、化合物情報から P-gp NER が「高」「中」「低」の3段階のうちどれに相当するかを予測する3分類モデルを構築しました。

➤ *in vitro* P-gp NER から *in vivo* P-gp NER への変換

実験値を基に *in vitro* P-gp NER を 3 段階に分類し、各分類における P-gp NER の代表値を求め、P-gp NER として代用することとしました。さらに、寺崎教授らの先行研究により提唱された手法を用いて、*in vitro* P-gp NER の代表値を BBB の P-gp NER の代表値へと変換しました。

➤ P-gp Knockout (KO)ラットを用いた補正法の検証 ($K_{p,brain}$)

次に、P-gp Knockout (KO)ラット及び Wild type (WT)ラットを用いて、P-gp NER による補正を用いた脳移行性の予測手法を検証しました。また、上述の変換により得られた BBB の P-gp NER の代表値を代用して P-gp KO ラットの $K_{p,brain}$ 値の補正を行った結果、WT ラットの $K_{p,brain}$ 値の 5 倍以内に入る確率が 52.2%から 76.1%に向上しました(図 1 AB)。また、最初に構築した P-gp NER 予測モデルの予測結果を用いて補正した場合においても、WT ラットの $K_{p,brain}$ 値の 5 倍以内に入る確率は 69.6%まで向上することが示されました (図 1 C)。

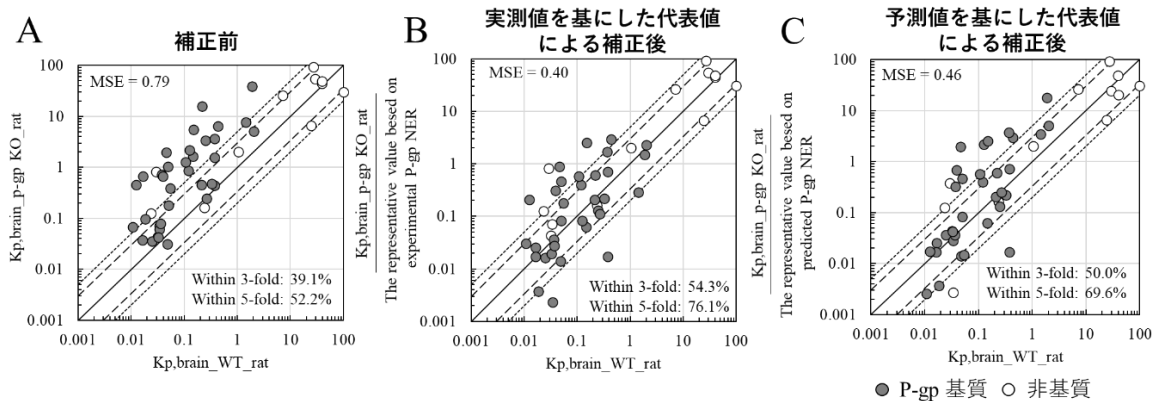


図 1. WT ラット及び P-gp KO ラットにおける $K_{p,brain}$ 値

➤ P-gp Knockout (KO)ラットを用いた補正法の検証 ($K_{p,uu,brain}$)

さらに、全て実測値を用いて補正・算出した P-gp KO ラットの $K_{p,uu,brain}$ 値と最初に構築した 3 つの予測モデルによる予測値を用いて補正・算出した P-gp KO ラットの $K_{p,uu,brain}$ 値については、WT ラットの $K_{p,uu,brain}$ 値の 10 倍以内に入る確率は 92.9%及び 73.8%でした (図 2 AB)。実測値を使用した場合は 9 割以上、予測値を使用したとしても 7 割以上の化合物において WT ラットの 10 倍以内の範囲で $K_{p,uu,brain}$ 値が導き出されていることから、P-gp NER の代表値を代用して $K_{p,uu,brain}$ 値を補正することが可能であることを P-gp KO ラットを用いることによって検証し、さらに P-gp NER, $f_{u,brain}$, $f_{u,p}$ を予測値に置き換え可能であることを示すことに成功しました。

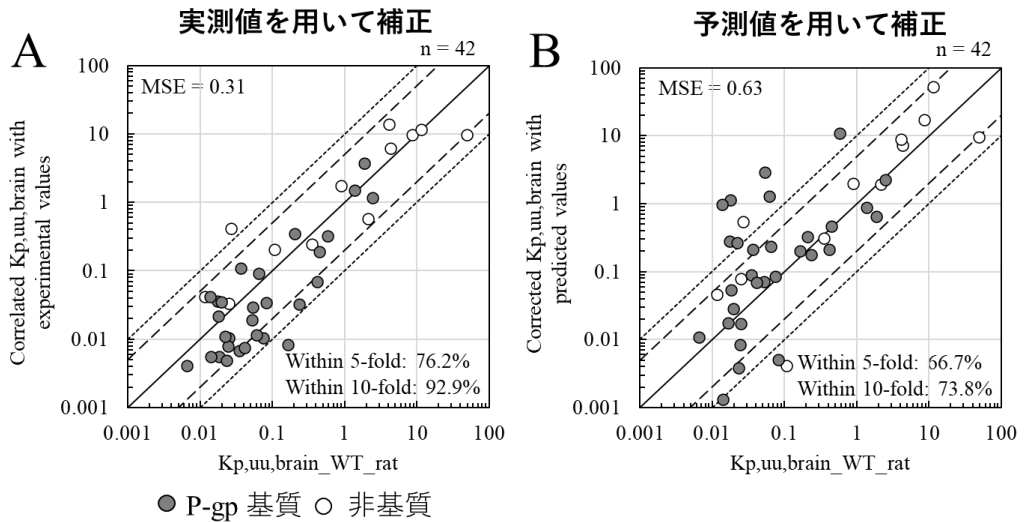


図2. WT ラット及びP-gp KO ラットにおける $K_{p,uu,brain}$ 値

➤ P-gp 輸送能を考慮した中枢移行予測モデルの精度評価

これまでに検証を行った P-gp NER を用いた補正法を創薬の場において実用化するためには、単純な測定値や構造情報のみを用いて予測可能であることが望ましく、検証に用いたような P-gp KO ラットの $K_{p,brain}$ を利用した補正は現実的ではありません。そこで、Rodgers らにより提案された微分リン脂質法を用いて $K_{p,brain}$ を計算し、P-gp KO ラットの $K_{p,brain}$ で検証した補正法を、Rodgers の式を用いて計算された $K_{p,brain}$ に適用しました。その結果、従来の方法で算出した $K_{p,uu,brain}$ 値よりも、予測値を用いて補正法を適応して求めた $K_{p,uu,brain}$ の方がより実測値に近いことが示されました (図3)。

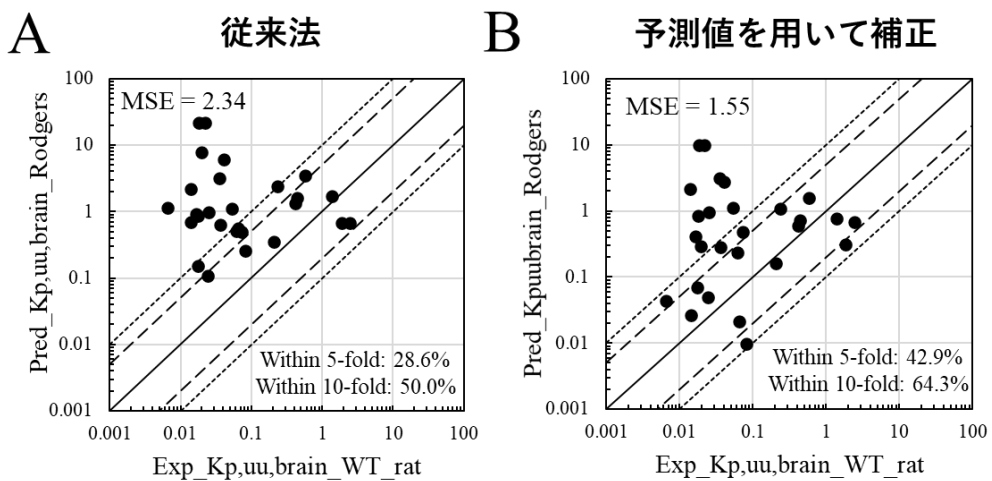


図3. Rodgers の式を用いて計算された $K_{p,brain}$ を基に求めた $K_{p,uu,brain}$ 値

この予測モデルに基づき構築した予測システムは、誰もが利用可能なアプリケーションとして、Web 上に公開されています (<https://adme.nibiohn.go.jp/brain-penetration>)。

3. 今後の展開

このシステムは国立研究開発法人日本医療研究開発機構 創薬支援推進事業「創薬支援インフォマティクスシステム構築」において構築された薬物動態予測の統合解析プラットフォームである DruMAP (Drug Metabolism and pharmacokinetics Analysis Platform) に組み込まれ、脳移行性以外の複数の薬物動態パラメータと共に統合的な解析が可能となります。これまで「創薬支援インフォマティクスシステム構築」において構築してきた溶解度や肝固有クリアランスなどの予測モデルは、2021年2月より富士通株式会社より販売開始予定の、ネットワークや他の機器に接続せずに単独で動作可能な AI 創薬基盤「SCIQUICK (サイクイック)」に搭載済みであり、今回公開を行った Web 上のシステムについても「SCIQUICK (サイクイック)」への搭載を検討してまいります。

また、本手法は P-gp の基質化合物に有効な予測法ですが、P-gp 以外にも数多くのトランスポーターへの応用が可能であり、それらを同様に考慮することにより、様々なトランスポーターの基質になる薬物の予測が可能になることが期待されます。さらに現在は倫理的な問題もあり、ヒトにおける検証データが不足していることから課題は存在しますが、ラットの *in vitro* パラメータから、ヒトの BBB におけるトランスポーター活性を推定することで、様々なトランスポーターの基質となる薬物のヒトの脳移行性を予測できる可能性があると考えています。

4. 発表雑誌

米国科学雑誌「Journal of Medicinal Chemistry」(2021年2月23日付の電子版)

タイトル：*Development of an in silico Prediction Model for P-glycoprotein Efflux Potential in Brain Capillary Endothelial Cells Towards the Prediction of Brain Penetration*

5. 問い合わせ先

<研究について>

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所

AI 健康・医薬研究センター

バイオインフォマティクスプロジェクト

水口賢司、渡邊怜子

TEL：072-639-7010 FAX：072-641-9881

E-Mail：kenji@nibiohn.go.jp

reiko-watanabe@nibiohn.go.jp

<広報担当>

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 戦略企画部

TEL：072-641-9832 FAX：072-641-9821

E-mail：kikaku@nibiohn.go.jp