

厚生労働科学研究費補助金  
(小児疾患臨床研究：小児疾患臨床研究分野)

ABC トランスポーター多型とメソトレキセート投与後の副作用の発症  
分担研究者 熊谷昌明 (国立成育医療センター血液腫瘍科 医員)

**研究要旨** メソトレキセート (methotrexate:以下 MTX) は急性リンパ性白血病 (acute lymphoblastic leukemia: 以下 ALL) やリンパ腫など小児リンパ系腫瘍の治療に用いられる葉酸拮抗剤である。MTX による毒性の標的臓器は口内炎・嘔吐などの消化器から、皮膚、中枢神経、肝、腎、および造血器 (骨髄) まで多様である。各症例における毒性発症の予測は困難である。MTX の細胞外への汲み出しに ABCC4 が関与していること、またガン細胞の MTX に対する耐性獲得に、ABCG2 が関与することから、本研究では小児 ALL あるいはリンパ芽球性リンパ腫症例において、ABC トランスポーター ABCC4、ABCC と相同性の高 ABCC5、ABCG2 の各遺伝子内の SNP と大量 MTX 療法に伴う毒性発症の関連を後方視的に解析した。1992 年から 2003 年の間に慶應義塾大学病院で治療が行われた ALL、またはリンパ芽球性リンパ腫例で、他の細胞障害性薬剤の全身投与による併用なく大量 MTX (3g/m<sup>2</sup>) の投与が行われた症例を研究対象とし、毒性を National Cancer Institute Common Toxicity Criteria によりスコア化した。因子の統計解析には generalized estimating equations 法 (以下 GEE 法) を用いた。15 例における 43 回の MTX 投与を解析対象とした。ABCC4、ABCC5、ABCG2 遺伝子内の比較的頻度の高い多型における特定のアレル数と NCI スコアに基づく副作用の発症について前者を説明変数、後者を目的変数として解析した。ABCC5 内の複数の SNP について特定のアレル数の増加と NCI-CTC Grade 2 以上の嘔吐発症の増加に有意な関連を認めた (ABCC5 rs9858774(G/A) については、A アレルは G アレルに対して 9.7 倍、95%信頼限界 1.85-50.6、p 値=0.006)。ABCC5 多型が毒性発症に関する個体差に寄与している可能性が示唆された。

**研究協力者**

森 鉄也 慶應義塾大学医学部小児科 専任講師  
島崎紀子 慶應義塾大学医学部小児科 助手  
鮫島葉月 慶應義塾大学医学部小児科 研究員

**A. 研究目的**

メソトレキセート (methotrexate:以下 MTX) は急性リンパ性白血病 (acute lymphoblastic leukemia: 以下 ALL) やリンパ腫など小児リンパ系腫瘍の治療において key drug として使用されている薬剤であり、葉酸に対する拮抗作用により

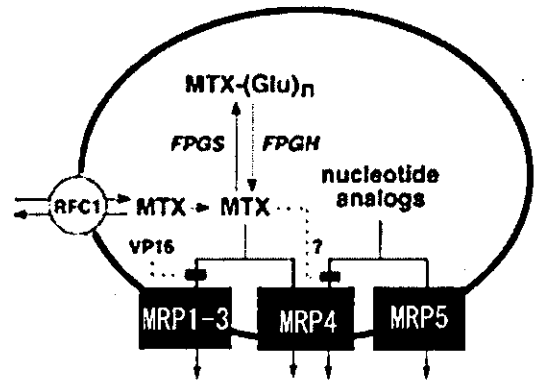
その効果を発揮する<sup>(1)</sup>。大量 MTX 療法はロイコボリン救済 (calciumfolinate rescue: 以下 CFR) と併用して小児 ALL に対する中枢神経浸潤予防療法として広く用いられているが、一方で時に深刻な毒性を伴う。MTX による毒性の標的臓器は口内炎・嘔吐などの消化器から、皮膚、中枢神経、肝、腎、および造血器 (骨髄) まで多様である。毒性発症の危険因子のひとつとして MTX の体内薬物動態 (血中濃度, area under the curve: AUC など) が報告されている<sup>(2,3)</sup>。しかし一方で、一部の症例における毒性発症の予測は困難であり、患者間の個体差が毒性発症に関与している可能性

が示されている(4,5)。

右に細胞内における MTX の取り込みと汲み出しの機構を図示する。MTX の細胞内への取り込みには主に RFC1 が関与する。昨年度の研究により、RFC1 多型と MTX 投与後の嘔吐の発症について関連を見いだした。MTX は ABCC4(左図の MRP4)により細胞外に汲み出される。ABCC1、ABCC2、ABCC3 も副次的に汲み出しに関わる可能性が示唆されている。また、ABCC4 (左図の MRP4) と ABCC5 (右図の MRP5) は核酸誘導体の汲み出しにかかわる。

メソトレキセート耐性がん細胞において、ABCC4 や ABCC5 の発現増多や機能獲得性変異が認められている (Chen, et al 2002)。同様に ABCG2 もメソトレキセート耐性がん細胞において、発現増多や機能獲得性変異が認められている。

ABCC4、ABCC5、ABCG2 の多型が MTX 関連毒性発症の個体差に関与するとすれば、これらの分子の多型解析は「患者個人に最適な MTX 投与方法」の確立に貢献すると考えられる。我々は、小児 ALL あるいはリンパ芽球性リンパ腫症例において、ABCC4、ABCC5、ABCG2 多型と大量 MTX 療法に伴う毒性発症の関連を後方視的に解析した。現在のところ各遺伝子について、機能の変化を伴う多型 (例えば非同義アミノ酸置換等) は報告されていない。そこで、国際 SNPs データベースを利用して、各遺伝子の近傍の SNP を同定し、各 SNP と副作用発症の関係について検討した。



## B. 研究方法

### ・患者および治療

1992年から2003年の間に慶應義塾大学病院で治療が行われた ALL、またはリンパ芽球性リンパ腫例で、他の細胞障害性薬剤の全身投与による併用なく大量 MTX (3g/m<sup>2</sup>) の投与が行われた症例を研究対象とした。化学療法には東京小児がん研究グループ (Tokyo Children's Cancer Study Group: TCCSG) による TCCSG L92-13, L95-14, L99-15, NHL-T9604 のいずれかのプロトコールがインフォームドコンセントを得た後に用いられた<sup>(12)</sup>。すべてのプロトコールの Standard Risk 群、および L92-13, L99-15, NHL-T9604 プロトコールの High Risk 群において他の細胞障害性薬剤の全身投与の併用なく大量 MTX (3g/m<sup>2</sup>) の投与が行われた。いずれのプロトコールにおいても寛解導入療法、および早期強化療法後に、各症例に対し 2 回または 3 回の MTX (3g/m<sup>2</sup>) の投与が髄腔内投与療法とともに行われた。MTX の投与方法は、初回は 12 時間、2 回目以降は 24 時間の持続点滴静注で、MTX 投与開始 30 時間後から 6 時間毎に 6 回のロイコボリン救済 (15mg/m<sup>2</sup>) が併用された。MTX 血中濃度遷延例ではプロトコールの指示に従いロイコボリン救済が増量された。患者情報および臨床経過は後方視的に収集した。

### ・毒性の評価

MTX 投与開始から次の細胞障害性薬剤の全身

投与までの期間（プロトコールの指示）に生じた毒性を「MTX による毒性」と評価した。身体理学所見、血液・尿検査、必要に応じ放射線検査を用いて評価を行った。血清中の MTX 濃度は MTX 投与開始後 48 時間、72 時間値（必要に応じて以降も）を測定した。毒性の評価は

National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (以下 NCI-CTC) version 2.0

(<http://ctep.cancer.gov/reporting/ctc.html> で入手可能) に基づいた。

#### ・遺伝子多型解析

本研究における遺伝子多型解析は慶應義塾大学医学部倫理審査委員会の審査・承認を得たものである。患者あるいは代諾者からの同意取得後、解析を行った。全血ないし腫瘍細胞からゲノム DNA を抽出し、以下のプライマーを用いて、PCR 増幅を行い、直接シーケンシング法および熱変性高速液体クロマトグラフィー法によりジェノタイプングを行った。

解析の各条件は以下の通りである。

#### PCR Primer

ABCC5 内の多型

rs562

Foword -TTCCACAAGGTGTTTCAGCAA

Reverse -TGTGTGGTTTGGTGTGTTCC

rs9858774

Foword -CTAGAAGCCCCATTTCACA

Reverse -gcctggcTCTTCCCATAAAT

rs939336

Foword -CTGGCCTAAAATGGCTGAAA

Reverse -AACAGGTAAGTGGCCTGCTG

rs939337

Foword -ACAGGACATCATCAAAACCATT

Reverse -TTGCAAATGCACTTCTCACTC

rs4148571

Foword -CACATTCATAGACACCTCTGGTATG

Reverse -GAACAACCTGGTTGAATCCTCAG

rs9876143

Foword -CACCACCACACCTCACTAATTT

Reverse

-ACAGGGAATATAAAGCCAATTAAGC

ABCG2 内の多型

exon2 G34A

Foword -tcaacttactattgcttttctgtctg

Reverse

-GTAGAAAGCCACTCTTCAGTTTTACT

exon5 C421A

Foword -ttatgtctcattaaaatgctatttgc

Reverse

-CTTTATCCAGACCTAACTCTTgAATG

ABCC4 内の多型

rs1750190

Foword -GGATTATTTACTCCTCCAATCCTAC

Reverse

-GGAGTAGAAATACCAAGATAGCAGA

rs1189457

Foword -GGTATGAGGACAGAGACTGCTATT

Reverse

-TGTGACTAAACATGAGACTCTGGAT

rs899494

Foword

-CTTACCTCAGTGATGAGAACAACCTT

Reverse -TCGTTTCTGTACTGTGTTCTTACTG

#### PCR condition

Buffer Parameters

Template DNA: 50 ng Genomic DNA

Polymerase: 0.5 U Platinum Taq Polymerase  
High Fidelity, Invitrogen

PCRBuffer: Invitrogen attached buffer

Reaction Vol.: 20.0 ul

Primer 1 conc.: 0.5 uM (dried up in each vial)

Primer 2 conc.: 0.5 uM (dried up in each vial)

MgSO4 conc.: 2mM

dNTPs conc.: 0.2 mM

Other Reagents: None

### Cycle program

#### Initial Denaturation

Denaturation: 95 C, 5:00 mins

#### TouchDown Cycles

Denaturation: 95 C, 0:30 mins

TD Anneal Start: 63 C, 0:30 mins

Decrement: 0.5 C

Extension: 68 C, 0:30 mins

Cycles: 10

#### Cycling Conditions

Denaturation: 95 C, 0:30 mins

Anneal: 58 C, 0:30 mins

Extension: 68 C, 0:30 mins

Cycles: 30

Final Extension: 68 C, 10:00 mins

#### ・統計

各患者における複数回の MTX 投与それぞれについて毒性発症の有無を評価し、すべての MTX 投与に対する毒性発症について解析を行った。同一患者における複数の投与に対する副作用発症の有無を全て評価するため、複数回の試行に対するロジスティック解析の拡張法である generalized estimating equations 法 (以下 GEE 法) を用いた<sup>(13)</sup>。具体的な方法については、平成 15 年度の総括報告書を参照のこと。ABCC5 内の多型 (rs562, rs9858774, rs939336, rs939337), ABCG2 における多型 (exon2 G34A, exon5 C421A)、ABCC4 内の多型 (rs1750190, rs1189457, rs899494) の特定のアレルのアレル数を説明変数、各種毒性の発症ないし CFR の増量の有無を目的変数として解析した。統計処理には SAS program software を使用した。p 値<0.05 を有意と判定した。

### C.実験結果

#### ・対象患者

1992 年から 2003 年の間に 21 例の対象疾患に対して他の細胞障害性薬剤の全身投与による併用なく大量 MTX (3g/m<sup>2</sup>) の投与が行われた。このうち 15 例における 43 回の MTX 投与を解析対象とした。遺伝子多型解析に不同意、プロトコール違反などの理由により 5 例は解析対象から除外した。残る 1 例は初回の MTX 投与後に血液透析を要する腎不全を生じ以後の予定された MTX 投与が行われなかったため多型解析対象から除外した。対象患者情報を表 1 に示す。すべての症例は生存中で寛解を維持していた。年齢の中央値は 6 歳 (1-14 歳)、性別は男 6 例、女 9 例であった。43 回の MTX 投与のうち 10 回の投与で CFR の増量が行われた。

#### ・MTX 関連毒性の種類と頻度

2 例に重大な毒性を認めた。1 例は初回 MTX 投与後に血液透析を要する腎不全を生じた (上記; 多型解析対象からは除外)。他の 1 例は MTX 投与に関連する白質脳症による運動麻痺を生じた。白質脳症は 3 回の MTX 投与後の MRI で確認された。その他の観察された毒性の頻度を表 2 左列に示す。頻度の高い毒性は嘔吐、口内炎、肝逸脱酵素値の上昇 (以下、肝機能障害)、血球減少であった。最も高い頻度で観察された毒性は NCI-CTC Grade3 以上の血球減少であり、13/15 例 (87%)、22/43 投与 (51%) の頻度であった。非血液毒性では NCI-CTC Grade2 以上の肝機能障害が最も高い頻度であった (7/15 例: 47%、15/43 投与: 33%)。

#### ・ABCC5, ABCC2, ABCG2 多型と毒性の関連

ABCC5, ABCC2, ABCG2 多型と毒性発症の関連を GEE 法で解析した。下記の多型について各リスクアレルのアレル数の増加と NCI-CTC Grade 2 以上の嘔吐発症に有意な関連を認めた。ABCC5 rs9858774(G/A)については、A アレルは G アレルに対して 9.7 倍 (95%信頼限界 1.85-50.6、p 値=0.006)

ABCC5 rs939336(G/A)については G アレルは A アレルに対して 5.71 倍 (95%信頼限界 1.09-30.0, p 値=0.03)

ABCC5 rs939337(C/G)については C アレルのものは G アレルを有するのに対して 5.71 倍 (95%信頼限界 1.09-30.0, p 値=0.03) であった。

同様に ABCC4 座位および ABCG2 座位内の SNPs について同様に解析したが、いずれの副作用発症についても有意な関連を認めなかった。

#### D. 考察

大量 MTX 療法は、今日の小児 ALL、およびリンパ腫治療において重要な役割を担っているが、予測できない毒性発症により治療スケジュールの遅延、薬剤の減量を余儀なくされることも稀ではない。さらに、これらの治療スケジュールの遅延、薬剤の減量は、治療成績に悪影響をもたらす可能性が推測される。したがって毒性発症に関与する因子の検索は、「患者個人に最適な治療」の確立を目指す上で重要な課題と考えられる。

昨年度の研究により、RFC1 多型と A アレル数の増加と NCI-CTC Grade 2 以上の嘔吐発症の減少に有意な関連を示し (Odds Ratio=0.319, P=0.034)、RFC1 多型による個体差が毒性発症に寄与した可能性が示唆された。今年度の研究では、さらに別の遺伝子、ABCC5 多型と嘔吐発症の関連について示した。

ABCC5 は brain capillary endothelial cells (BCEC) forming the blood-brain barrier (BBB) で一様に発現していることが報告されている。脳脊髄液への移行ないし汲み出しにおいて、ABCC5 多型が、嘔吐の発症をに影響を与える可能性が示唆された。

今回検討した多型は、いずれもタンパクの機能に

直接的な影響をあたえることが示されていない多型である。ABCC5 遺伝子のほぼ全領域にわたり、嘔吐発症との関連が示されたことから、ABCC5 座位の特定のハプロタイプが、嘔吐の発症と関連している可能性があり、プロモーター領域を含めて、各ハプロタイプの機能解析を進める必要がある。

MTX 投与による各臓器における毒性発症の詳細な機序は明らかでない。それぞれの毒性発症が MTX 自体の標的臓器への直接作用であるのか、間接的な作用が主体であるのかも明確ではない。副作用発症の予測のためには MTX の血中濃度ばかりでなく、ABCC5 多型など、CNS 等の体内の各コンパートメントにおける薬物動態を規定する遺伝子の多型を考慮する必要性が示唆された。

「患者個人に最適な MTX 投与法」の確立のためには、同一条件の多数例を対象としたリスク因子の解析のみならず、各臓器における毒性発症の機序の解明も重要な課題と考えられる。

#### E. 結論

小児 ALL あるいはリンパ芽球性リンパ腫症例において、葉酸輸送蛋白 Reduced folate carrier 1 80G/A 多型と大量 MTX 療法に伴う毒性発症の関連を 15 例における 43 回の MTX 投与を対象として後方視的に解析した。A アレル数の増加と NCI-CTC Grade 2 以上の嘔吐発症の減少に有意な関連を認めた (Odds Ratio=0.319, P=0.034)。RFC1 多型による個体差が毒性発症に寄与した可能性が示唆される。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなにもなし。

#### G. 研究発表

本研究課題に関する発表はない。

## H. 参照文献

A functional study on polymorphism of the ATP-binding cassette transporter ABCG2: critical role of arginine-482 in methotrexate transport.

Mitomo H, Kato R, Ito A, Kasamatsu S, Ikegami Y, Kii I, Kudo A, Kobatake E, Sumino Y, Ishikawa T. *Biochem J.* 2003 Aug 1;373(Pt 3):767-74.

Analysis of methotrexate and folate transport by multidrug resistance protein 4 (ABCC4): MRP4 is a component of the methotrexate efflux system.

Chen ZS, Lee K, Walther S, Raftogianis RB, Kuwano M, Zeng H, Kruh GD. *Cancer Res.* 2002 Jun 1;62(11):3144-50.

The MRP4/ABCC4 gene encodes a novel apical organic anion transporter in human kidney proximal tubules: putative efflux pump for urinary cAMP and cGMP.

van Aubel RA, Smeets PH, Peters JG, Bindels RJ, Russel FG. *J Am Soc Nephrol.* 2002 Mar;13(3):595-603.

Catalog of 605 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) among 13 genes encoding human ATP-binding cassette transporters: ABCA4, ABCA7, ABCA8, ABCD1, ABCD3, ABCD4, ABCE1, ABCF1, ABCG1, ABCG2, ABCG4, ABCG5, and ABCG8.

Iida A, Saito S, Sekine A, Mishima C, Kitamura Y, Kondo K, Harigae S, Osawa S, Nakamura Y. *J Hum Genet.* 2002;47(6):285-310.

Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase

genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis.

Kumagai K, Hiyama K, Oyama T, Maeda H, Kohno N. *Int J Mol Med.* 2003 May;11(5):593-600.

Pharmacogenetics of disease-modifying anti-rheumatic drugs.

Tanaka E, Taniguchi A, Urano W, Yamanaka H, Kamatani N. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2004 Apr;18(2):233-47.

The International HapMap Project.

The International HapMap Consortium. *Nature* 426,789-796(2003)

Integrating ethics and science in the International HapMap Project.

The International HapMap Consortium. *Nature Reviews Genetics* 5, 467-475 (2004)

Bayesian haplotype inference for multiple linked single-nucleotide polymorphisms. Niu, T., Qin, Z.S., Xu, X., and Liu, J.S. (2002) *Am J Hum Genet.* 2002 Jan;70(1):157-69

厚生労働科学研究費補助金  
(小児疾患臨床研究：小児疾患臨床研究分野)

高インスリン血症性低血糖症患者を対象としたジアゾキシドの薬物動態試験  
分担研究者 長谷川奉延 (慶應義塾大学医学部小児科 助教授)

**研究要旨** 高インスリン血症性低血糖症の治療薬であるジアゾキシドの用法・用量を適正に設定するためには、血中薬物濃度を測定し薬物動態を検討することが必要である。本研究では、昨年 HPLC によるジアゾキシド血中濃度測定法を確立した。本年は、1. ジアゾキシドの有効性と安全性を評価するために、多施設共同研究「高インスリン血症性低血糖症を対象としたジアゾキシドの有効性・安全性評価試験」を立ち上げた。2. 血中濃度測定施設である当院において HPLC によるジアゾキシド血中濃度測定法を再検証し、測定方法の信頼性を確認した。3. ジアゾキシド投与中患者において血中濃度測定を行い、薬物動態の検討を開始した。平成 17 年 3 月現在までに、のべ 8 検体の血中濃度測定を行った。測定値はすべて測定濃度範囲内であった。今後対象数を増やし、母集団薬物動態解析 (PPK) により薬物動態を解析すること、および有効性・副作用との関連を解析 (PK/PD) し、ジアゾキシドの適正な使用法を明らかにすることが課題である。

**研究協力者**

佐藤玲子 慶應義塾大学医学部薬剤部 助手  
木津りか 慶應義塾大学医学部小児科 医師

性評価試験」を立ち上げる。2. HPLC によるジアゾキシド血中濃度測定法を再検証する。3. ジアゾキシド投与中患者において血中濃度測定及び臨床検査を行い、薬物動態を検討する。

**A. 研究目的**

ジアゾキシドは膵臓のβ細胞からのインスリンの分泌を抑制することにより血糖の上昇を促す薬剤で、高インスリン血症性低血糖症の第一選択薬である<sup>1)3)</sup>。欧米をはじめ世界 36 カ国で承認され使用されている。しかし、日本では未だ未承認薬剤であり、20 年以上にわたり個人輸入の形式で使用されている。患者の多くは新生児と乳幼児であり、低血糖による後遺症は重篤で、適正使用は急務である。ジアゾキシドは、現在まで血中濃度測定が行われず、投与量と血中濃度の関係、さらに血中濃度と有効性・副作用との関係が明らかになっていない。そこで、本研究の目的は以下の 3 点である。1. ジアゾキシドの有効性と安全性を評価するために、多施設共同研究「高インスリン血症性低血糖症を対象としたジアゾキシドの有効性・安全

**B. 研究方法**

① データの収集

多施設共同研究「高インスリン血症性低血糖症を対象としたジアゾキシドの有効性・安全性評価試験」を立案し、ジアゾキシドの治療経験のある 85 施設の主治医に対し実施計画書、同意説明文書および調査書等を送付した。実施計画書、同意説明文書の概要は以下のとおりである。1. 多施設共同研究に関して患者及び/または保護者の同意を得る。2. 調査書を用いて、診断名、ジアゾキシド投与量、体重・身長・血圧、血液検査結果、ジアゾキシド最終内服時刻および採血時刻、服用状況等を確認する。3. ジアゾキシドの血中濃度測定用の血清を回収する。

② 血中濃度測定方法

ジアゾキシドの血中濃度は高速液体クロマトグ

ラフィー (HPLC) を用いて測定した<sup>4)</sup>。

血清試料 100  $\mu$ l に 0.33mol/L 過塩素酸溶液、水メタノール混液 (1:1)、内標準物質溶液 (IS 溶液) であるフェナセチンを加え混合し、蛋白を沈殿させる前処置を行ったのち、遠心分離後上澄を HPLC で測定した。

HPLC の測定条件：移動相 A 液：1ml/L 酢酸含有 0.01mol/L1-ペンタンスルホン酸ナトリウム溶液 / B 液：メタノールを 25 分かけてグラジエントさせて溶出した。

#### 機器条件

カラム：Inertsil ODS3 (5  $\mu$ m) 4.6 $\times$ 150mm

検出器：UV270nm

注入量：20  $\mu$ l

濃度計算方法 得られた検量線試料のクロマトグラムから、IS に対する STD (標準物質) のピーク面積比を求め、検量線濃度とピーク面積比との関係から、直線回帰 (Weight=1/X<sup>2</sup>) させ、回帰式及び相関係数 (r) を求めた。また、STD 添加試料のクロマトグラムから IS に対する各成分のピーク面積比を得られた回帰式に代入し、測定濃度を求めた。測定濃度範囲は 0.5-200  $\mu$ g/ml 内部とした。

### C. 研究結果

#### ① データの収集

多施設共同研究「高インスリン血症性低血糖症を対象としたジアゾキシドの有効性・安全性評価試験」は慶應義塾大学病院臨床治験審査委員会 (IRB) で 2004 年 7 月 29 日に承認され、2004 年 8 月から 3 年間の予定で調査を開始した。平成 17 年 3 月現在までに 3 施設 5 名の患者が登録された。(表 1)

男女比=4:1、年齢 11 ヶ月から 9 歳 9 ヶ月、発症は日齢 1 から 3 歳 2 ヶ月、現在の内服になってからの期間は 24 日間から 6 年 6 ヶ月であった。

#### ② HPLC によるジアゾキシドの血中濃度測定法

#### の再検証

HPLC によるジアゾキシドの血中濃度測定法を、測定施設である当院で再検証した。確認項目である、特異性<sup>4)</sup> (表 2)、検量線の濃度範囲と直線性<sup>4)</sup> (表 3-①及び②)、同時再現性<sup>4)</sup> (表 4)、回収率<sup>4)</sup> (表 5)、分析中の 48 時間安定性<sup>4)</sup> の測定結果 (表 6) は、すべて許容範囲内であった。以上のように当院でのヒト血清中ジアゾキシドの HPLC による濃度測定は信頼できることを確認した。

#### ③ ジアゾキシドの血中濃度測定結果

現在までに 5 名の患者が登録され、のべ 8 検体の血中濃度測定を行った。(表 7)

### D. 考察

今回測定したジアゾキシドの血中濃度は 5.60 ~ 43.85 ( $\mu$ g/ml) であり、すべて測定濃度範囲内 (0.5-200 [ $\mu$ g/ml]) であり、濃度範囲設定は妥当と考えた。また、これらの測定値は、1974 年 Pruitt ら<sup>5)</sup> の報告結果と相違しなかった。Pruitt らの報告では、3 人の小児のジアゾキシドの血中濃度は維持量内服で 15-50  $\mu$ g/ml であった。

また、case2 で、最終内服から採血時刻までの時間をほぼ統一して 3 回血中濃度を測定したところ、ほぼ同じ値を得た (表 8)。ジアゾキシドの薬物動態<sup>8)</sup> は十分に解明されていないため、ほぼ同じ血中濃度であった結果を 2 通りに解釈可能である。第 1 は“長期投与中の患者において血中濃度の日内変動はない”可能性、第 2 は“長期投与中の患者においても血中濃度の日内変動は存在する”可能性である。ジアゾキシドの半減期は 28 $\pm$ 8.3 時間<sup>5) 9) 10)</sup> であることは第 1 の可能性を示唆する。しかし上記 2 つの可能性を鑑別するために、対象数を増やすこと、および最終内服から採血時刻までの時間をばらつかせて検討すべきである。最終的には母集団薬物動態解析 (PPK) により薬物動態を解析し、適切な投与回数や用量を検討したい。



さらに、ジアゾキシドの血中濃度と血糖値、IRI、GA または HbA1c との関係及び、副作用との関連を解析 (PK/PD) し、ジアゾキシドの適正な使用法を明らかにしたい。なお、1974 年 Pruitt ら<sup>5)</sup>はジアゾキシド中毒量 (30mg/kg/day) 内服時の血中濃度を 120  $\mu$ g/ml と報告した。小児のジアゾキシドの副作用の多くは多毛、少数は水分貯留である<sup>6)</sup>。田中ら<sup>6)</sup>は治療を中止する副作用はなかったと報告した。一方 Silvani ら<sup>7)</sup>は、日齢 43 の高インスリン血症性低血糖症の乳児にジアゾキシド (17mg/kg/day) を開始したところ、数日で肝腫大、著明な水分貯留と全身性の浮腫、心不全、呼吸不全、肺高血圧を生じ、投与後 12 日にジアゾキシドの投与を中止した、と報告した。ジアゾキシドの投与量は一般に 3~15mg/kg/day<sup>8)</sup>と個人差・年齢差を認める。今後は投与量・血中濃度と副作用の関係を解析し、副作用の軽減と予防を目指している。

#### E. 結論

HPLCによる血清中ジアゾキシド濃度測定法は信頼できることを確認した。多施設共同研究を立ち上げ、実際にジアゾキシド血中濃度測定を開始した。今後の課題は、対象数を増やした上でPPK及びPK/PD解析を行い、ジアゾキシドの適正な使用法を明らかにすることである。

#### F. 健康危険情報

該当する内容は無い。

#### G. 研究発表

本研究課題に関する発表はない。

#### H. 参考資料

1) Nelson textbook of pediatrics 17th ed, Saunders, 2004

- 2) Pediatric endocrinology: physiology pathophysiology and clinical aspects 2nd ed, Williams & Wilkins, 1993
- 3) Current Therapy in Endocrinology & Metabolism 5th edition Mosby 1994
- 4) 効果的医療技術の確立推進事業 平成15年度 研究報告書 2004年4月, 28-41
- 5) Pruitt AW et al., Disposition of diazoxide in children. Clin. Pharmacol. Ther. 1974; 14: 73-82
- 6) 田中敏章他,高インスリン血症性低血糖症に対する Diazoxide の有効性と安全性. 日児誌.2003;107:29-34
- 7) P. Silvani et al., A case of severe diazoxide toxicity Pediatric Anesthesia. 2004;14: 607-609
- 8) Drug information for the health care professional USP-DI 19th Ed, 1999
- 9) Pruitt AW et al., Metabolism of diazoxide in man and experimental animals. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1974; 188:248-256
- 10) Ogilvie RI. Diazoxide disposition and effect on vascular resistance and compliance in dogs. Hypertension. 1981; 3: 225-32.

表 1 患者背景

case	sex	age	発症年齢	現在の投与量の内服期間
1	male	9:09	3:02	6:06
2	male	5:08	0:06	2:05
3	female	5:08	0:08	0:07
4	male	0:11	day3	24days
5	male	4:08	day1	0:07

(year:month)

表 2 ジアゾキシド及び IS 溶出位置に検出されたピーク面積と STD 0.5 のジアゾキシドあるいは IS ピークに対するレスポンス面積比

ジアゾキシド			IS			
測定試料 (略号)	溶出位置の 夾雑 ピーク面積	LOQ (STD0.5)の ジアゾキシド ピーク面積	LOQ に対する レスポンス (ピーク) 面積比	溶出位置の 夾雑 ピーク面積	LOQ (STD0.5)の IS ピーク面積	LOQ に対する レスポンス (ピーク) 面積比
SP1	0	6873	0.0	0	445827	0.0
SP2	0		0.0	0		0.0
SP3	0		0.0	0		0.0
SP4	0		0.0	0		0.0
SP5	0		0.0	0		0.0
SP6	0		0.0	0		0.0

判定基準：LOQ（定量下限）に対するレスポンス面積比 20%  
以下

表3 検量線の濃度範囲と直線性(血清0.5~200 $\mu$ g/ml)

①検量線の回帰式と相関係数

回帰式	相関係数 ( $r^2$ )	相関係数 (r)
$Y=0.02094995X-0.005337552$	0.992118	0.996
$Y=0.02141302X-0.004820784$	0.991064	0.996

判定基準：相関係数： $r \geq 0.990$

②検量線の各濃度ポイントでの真度

(RE 値)

測定試料 (略号)	調製濃度 [ $\mu$ g/ml]	ジアゾキシド area	IS area	測定濃度 [ $\mu$ g/ml]	相対誤差 (RE) [%]
STD 0.5	0.51	7131	452888	0.50	-2.4
STD 2.5	2.55	27725	444846	2.72	6.8
STD 5	5.09	55703	443878	5.74	12.6
STD 25	25.46	221830	445858	23.49	-7.7
STD 50	50.93	490830	462005	50.46	-0.9
STD 200	203.70	1755884	448365	186.68	-8.4
STD 0.5	0.51	6873	445827	0.49	-2.8
STD 2.5	2.55	28435	443828	2.77	8.7
STD 5	5.09	56931	443302	5.77	13.4
STD 25	25.46	224471	443814	23.39	-8.1
STD 50	50.93	458786	444558	47.97	-5.8
STD 200	203.70	1786508	431804	192.99	-5.3

表 4 同時再現性測定結果

測定試料 (略号)	調製濃度 [ $\mu\text{g/ml}$ ]	測定濃度 [ $\mu\text{g/ml}$ ]	測定濃度 平均値 [ $\mu\text{g/ml}$ ]	相対誤 差 (RE) [%]	標準偏差 (SD) [ $\mu\text{g/ml}$ ]	変動係数 (CV) [%]
AP0.5-1	0.51	0.52	0.51	0.0	0.01	2.0
AP0.5-2		0.53				
AP0.5-3		0.50				
AP0.5-4		0.50				
AP0.5-5		0.50				
AP25-1	25.46	23.48	23.95	5.9	0.30	1.3
AP25-2		23.93				
AP25-3		24.06				
AP25-4		23.99				
AP25-5		24.29				
AP200-1	203.70	189.89	190.34	6.6	1.32	0.7
AP200-2		189.68				
AP200-3		191.51				
AP200-4		188.74				
AP200-5		191.89				

真度：|RE 値| ≤ 15% (LOQ では 20%)

精度：CV 値 ≤ 15% (LOQ では 20%)

真度 (RE) % = (測定濃度 - 調製濃度) / 調製濃度 × 100

CV 値 (%) = 測定濃度の標準偏差 / 測定濃度の平均値 × 100

表5 回収率測定結果

ジアゾキシド									
分析日	基準値			前処理値		回収率			
	測定試料 (略号)	面積値	面積 平均値	測定試料 (略号)	面積値	回収率 [%]	回収率 平均値 [%]	回収率 標準偏差 (SD)	回収率 変動係数 (CV) [%]
50308	RC0.5-1	9582	10375	AP0.5-1	7414	71.5	70.7	1.3	1.8
	RC0.5-2	1198		AP0.5-2	7413	71.5			
	RC0.5-3	9645		AP0.5-3	7179	69.2			
	RC200-1	2095005	2087679	AP200-1	1759506	84.3	84.5	0.7	0.9
	RC200-2	2047056		AP200-2	1751605	83.9			
	RC200-3	2120977		AP200-3	1781666	85.3			

IS									
分析日	基準値			前処理値		回収率			
	測定試料 (略号)	面積値	面積 平均値	測定試料 (略号)	面積値	回収率 [%]	回収率 平均値 [%]	回収率 標準偏差 (SD)	回収率 変動係数 (CV) [%]
50308	RC0.5-1	486102	484591	AP0.5-1	454053	93.7	92.3	1.3	1.4
	RC0.5-2	488845		AP0.5-2	452792	93.4			
	RC0.5-3	479625		AP0.5-3	452723	93.4			
	RC200-1	475628		AP200-1	441704	91.1			
	RC200-2	493497		AP200-2	440196	90.8			
	RC200-3	483851		AP200-3	443487	91.5			

判定基準：回収率変動係数 CV ≤ 20%

回収率 (%) = 標準添加試料の測定結果 / 回収率 Reference 試料の測定結果の平均値 × 100

CV 値 (%) = 回収率の標準偏差 / 回収率の平均値 × 100

表 6 分析中の 24 及び 48 時間安定性測定結果

分析日	測定試料 (略号)	ジアゾキシド ピーク 面積値	IS ピーク 面積値	ピーク 面積値比	ピーク 面積比 平均値	標準偏差 (SD)	変動係数 (CV) [%]	残存率 [%]
50308	AP0. 5-1	7414	454053	0. 0163	0. 0162	0. 0003	1. 8	-
	AP0. 5-2	7413	452792	0. 0164				
	AP0. 5-3	7179	452723	0. 0159				
50310	AP0. 5-6	6889	456726	0. 0151	0. 0162	0. 0010	6. 1	99. 9
	AP0. 5-7	7394	450801	0. 0164				
	AP0. 5-8	7713	453183	0. 0170				
50308	AP200-1	1759506	441704	3. 9835	3. 9933	0. 0210	0. 5	-
	AP200-2	1751605	440196	3. 9791				
	AP200-3	1781666	443487	4. 0174				
50310	AP200-6	1802587	442966	4. 0694	4. 1060	0. 0431	1. 0	102. 8
	AP200-7	1819451	444298	4. 0951				
	AP200-8	1854121	446406	4. 1534				

判定基準：残存率 $\geq$ 80%

残存率 (%) = 保存後の Peak area ratio の平均値 / 保存前の Peak area ratio の平均値  $\times$  100

表7 ジアゾキシド血中濃度

case	age	血中濃度	投与量	1日投与回数	採血までの時間	
1	9:09	5.60	4.17	1	17:50	5:08
21.95	6.71		4	03:17		
	5:09	20.50	6.67	4	03:10	
	5:10	20.76	6.45	4	02:45	
3	5:08	43.85	6.28	3	00:15	
	5:10	33.67	5.87	3	05:00	
4	0:11	34.46	8.86	3	01:14	
5	4:08	39.88	4.61	2	07:00	
(year:month)		( $\mu\text{g/ml}$ )	( $\text{mg/kg/day}$ )		(hr:min)	

表8 case2 のジアゾキシドの血中濃度

	血中濃度	採血までの時間
第1回目	21.95	03:17
第2回目	20.50	03:10
第3回目	20.76	02:45
	( $\mu\text{g/ml}$ )	(hr:min)

厚生労働科学研究費補助金  
(小児疾患臨床研究：小児疾患臨床研究分野)

未承認薬の有効性・安全性を検討するための試験計画に関する研究  
—ジアゾキシドの臨床研究を例として—

分担研究者 谷川原祐介 (慶應義塾大学医学部教授・薬剤部長)

**研究要旨** ジアゾキシドは、わが国では未承認でありながら、乳児期における高インスリン血性低血糖症の第一選択薬であるため、長年にわたり使用されてきた。そこで本研究では、未承認薬であるジアゾキシドの有効性・安全性を評価するための臨床試験計画を立案し、医師主導治験への可能性を検討した。まず、未承認薬の試験計画として科学的、倫理的に妥当であるかどうか確認しながら、実施計画書、同意説明文書、症例報告書、試験薬概要書を作成した。試験の対象となる患者のほとんどが、すでに長期間当該薬剤を服用している実態があったため、それまでの使用方法を大きく逸脱することのないよう配慮した。また、試験に参加する患者に対しては公正な情報の開示を重視した。薬物動態を検討するための血中濃度測定では、分析法のバリデーションを行い、収集されるデータの信頼性を確保できた。本研究により立案した臨床試験は、未承認薬の医師主導治験へ可能性を広げていく上で有用なステップと考えられる。

**研究協力者**

佐藤玲子 慶應義塾大学医学部薬剤部 助手  
木津りか 慶應義塾大学医学部小児科 医師

**A. 研究目的**

平成 14 年 7 月に薬事法が改正され、製薬企業に加えて、医師が主体となって治験を実施することが可能となった。これがいわゆる「医師主導の治験」である。この「医師主導の治験」の適用により、未承認薬の使用や適応外使用を余儀なくされている医師にとっては、当該薬剤の臨床研究を治験として実施する可能性が広がった。

ジアゾキシドは、わが国では未承認でありながら、乳児期における高インスリン血性低血糖症の第一選択薬であるため、長年にわたり使用されてきた。そこで本研究では、未承認薬であるジアゾキシドの有効性・安全性を評価するための臨床試験計画を立て、その臨床試験を治験として実施する上で考慮すべき事柄について検討した。

**B. 研究方法**

臨床研究を計画するにあたり、以下の文書を作成した。

- ・ 実施計画書
- ・ 症例報告書
- ・ 同意説明文書
- ・ 試験薬概要書

実施計画書および同意説明文書は、東京大学医学部附属病院治験審査委員会・臨床試験部が Web で公開している手引<sup>1)</sup>を参考にして作成した。また、症例報告書の作成にあたっては、ジアゾキシドの有効性評価および安全性評価を適切に行うための観察項目、検査項目およびその実施間隔について検討した。さらに薬剤の有効性並びに安全性を評価するためには、薬物動態情報が必須であると考え、血中濃度測定のためのサンプリングポイントについて検討し、症例報告書に追記した。試験薬概要書として、米国の添付文書をシェリング・プラウより入手し日本語訳を行って添付した。



さらに、治験を行う際には血中濃度測定を行う施設における測定法のバリデーション<sup>2)</sup>が必要であるため、合わせて行った。

## C. 研究結果

### 1. 実施計画書の作成

実施計画書は、以下の項目で構成した。

- ① 試験の背景
- ② 試験の目的
- ③ 試験に参加する主な施設と共同研究者
- ④ 試験薬の概要
- ⑤ 対象患者
- ⑥ 被験者に説明し、同意を得る方法
- ⑦ 試験の方法
- ⑧ 調査を行う事項等
- ⑨ 解析を行う項目及び方法
- ⑩ 中止基準
- ⑪ プライバシーの配慮
- ⑫ 有害事象発生時の取り扱い
- ⑬ 患者の費用負担

「試験の背景」では、本試験を計画するに至った経緯と解決しようとする問題点として、まずジアゾキシドは、高インスリン血症性低血糖症の治療薬として欧米で承認されているが、我が国では適応外医薬品とすら呼べない医薬品、つまり医薬品として国内には存在しない（何の適応もない）薬剤であり、医師の裁量で、海外からの個人輸入に頼って 20 年以上にわたって使用されてきた実態と、現在までに血中濃度測定が行われたこともなく、投与量と血中濃度の関係、さらに血中濃度と有効性・安全性との関係が明らかとなっていない問題点について説明した。本臨床試験の目的として、現在ジアゾキシドを投与されている、あるいはこれから投与を開始する患者を対象として血中濃度測定を行い、血中濃度と有効性・安全性との関係を解析することとした。さらに、対象疾患と治療法について文献での調査結果<sup>3)④)</sup>を参考

に記載し、試験薬の説明として、国内でのジアゾキシドの使用実態の報告<sup>7)</sup>をもとに、実際に使用する場合の用法用量や、有効率および副作用発現率を項目ごとに記載した。

「試験薬の概要」は、米国の添付文書をもとに記載し、「対象患者の中の除外基準」は米国添付文書で禁忌の適用となる患者とした。ただし、試験の除外対象にはならないが、血糖上昇効果のある他の薬剤を使用している患者は有効性評価から除外した。

「調査を行う事項等」は、一般的な患者背景データに加え、血液学的検査として、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、好中球数、血小板数、生化学的検査として、GOT(AST)、GTP(ALT)、尿酸、尿素窒素、クレアチニン、電解質 (Na, Cl, K) を測定することとした。これらは試験の安全性を確認するために行うものである。さらに尿検査として、尿中ケトン体、蛋白、糖、潜血も試験の安全性を確認するために行うこととした。また、有効性を確認するための検査として、ヘモグロビン A1c (HbA1c)、グリコアルブミン (GA)、血糖値、インスリン (IRI) を調査項目に挙げた。

血中濃度測定は、対象が外来患者で、しかも乳幼児であることが多いため、できるだけ侵襲や負担が少ない方が良く考え、外来診察時に各種血液検査のために採取した残りの血清を用いて行うこととした。しかし、得られた血中濃度データの有用性を高めるため、外来診察日の前日夜と当日の朝（外来診察時間が午後の場合は、当日朝と昼）の服用時間をできるだけ正確に「試験薬の服用チェックシート」（添付資料 1）に記録してもらい、外来診察日に持参するようご協力いただくようにした。

また、本薬剤は半減期が約 28 時間と長いにも関わらず一日 3 回投与が標準的な用法であるため、定常状態では最高血中濃度とトラフ値の差が小

さく、ほぼ一定の濃度を保っていると考えられる。この情報に基づきシミュレーションを行った結果、一人あたり3点血中濃度が測定できれば母集団薬物動態解析が行えるものと考えられた。そこで、試験期間中に一人3点血中濃度データを収集することとし、さらに、一人1、2点の場合も解析には含めるものとした。

本薬剤の臨床試験は、すでに長期間服用している患者に試験に参加していただくという特殊性を有するため、試験中止が即投与中止にはつながらない。そこで「中止基準」では、投与の中止基準である「担当医が無効と判断した場合や、継続に支障をきたす有害事象が発生した場合等、担当医が試験の継続が困難と判断した場合、または、患者さんまたは患者さんの親権者（または実質的保護者）から申し出があった場合、試験を中止する」という点に加え、「ジアゾキシドが有効であり、なおかつ服用を継続しがたい有害事象がない場合、担当医の判断により試験中止後も服用を続けることができる」ことを明記した。

## 2. 同意説明文書の作成

本試験では、対象となる患者が新生児、乳児、幼児、および小児であるため、同意説明文書は患者の親権者（または実質的保護者）に渡し、文書および口頭による十分な説明を行って同意を文書で得ることとした。また、患者が9歳以上の場合は患者本人の同意も口頭で得るものとした。

同意説明文書で説明する項目は、「省令GCPにより規定されている被験者に説明すべき事項<sup>8)</sup>」に沿って作成した。やさしい表現で記載するよう留意し、公正な情報の開示を心がけた。観察・検査項目とその時期について記載したスケジュール表は、実施計画書と同意説明文書に全く同じ表を掲載した。その他の記載項目についても実施計画書と同意説明文書が同じであるか十分検証し、倫理的な問題がないことを確認した。

## 3. 症例報告書の作成

症例報告書（添付資料2参照）を作成する際に留意したことは、患者のプライバシーへの配慮から、氏名やイニシャルは記載せず、被験者識別コードで管理するよう作成したことである。また、臨床試験は多施設で行われるため、収集したい情報をすべて網羅し、直接閲覧を要しない症例報告書を作成することが重要と考えた。たとえば、投与量の欄は一つではなく、用量変更に対応できるよう記載欄を数行設けて、その用量における投与期間も合わせて記載できるようにした。また、血液学的検査や生化学的検査を行った際には必ず身長、体重も計測し記録するものとした。新生児、乳児の患者では、これらの情報は常に推移するものと考えられる。さらに血清サンプルを採取した場合は採血時間と同時に、当該採血の直前3回分の服薬時間を記載していただくものとした。この情報は、血中濃度データをもとに母集団薬物動態試験を行う際にとっても有用なデータとなる。

有害事象の項目としてあらかじめ設けた項目は、多毛、肝障害、嘔気、乳房肥大、むくみ、高血糖であり、その他の項目も記載できるようにした。さらに、有効性評価のため、血糖値、HbA1c、GA、IRIの検査日時と検査値の記載欄ならびにグルコースの静脈注射が必要となった際には、その投与期間と投与量の記載欄を設けた。

## 4. 試験薬概要書の作成

入手した添付文書は、高インシュリン血症に起因する低血糖症を適応症としたカプセル剤および懸濁剤（Proglidem<sup>®</sup>）の米国添付文書（Schering-plough）であった。この資料により、薬効、薬理効果はもちろんであるが、ジアゾキシドの有害事象および薬物相互作用について十分な情報を得ることができた（添付資料3）。わが国における使用実態ではほとんど頻度のない副作用でも、添付文書に記載されている、薬理学上予期される臨

床上の危険性は開示されるべきである。

#### 5. 血中濃度測定法のバリデーション

血中濃度測定を行う施設において次の項目についてバリデーションを行った。

- ・ 特異性（検体 6 個体）
- ・ 検量線の濃度範囲と直線性（0.5・200 $\mu$ g/ml）
- ・ 同時再現性
- ・ 回収率
- ・ 分析中の 48 時間安定性

すべての項目について真度 $\pm$ 15%を達成するためには、 $x^2$ で検量線の重み付けをする必要があった。真度は以下の式により算出し、測定精度を確認した。

真度（%）

$$= (\text{測定濃度} - \text{調製濃度}) \times 100 / \text{調製濃度}$$

#### D. 考察

ジアゾキシドの実施計画書を作成するにあたり考慮すべき重要な点は、試験の対象となる患者のほとんどがすでに長期間当該薬剤を服用している実態がある点であった。従って、新たな臨床試験を行うとしても、現在までの使用方法を逸脱してはならないし、小児疾患ということもあり外来通院の負担を大きくするものであってはならないと考えた。

平成 11 年 2 月 1 日に発出された「適応外使用に係る医療用医薬品の取り扱いについて」（適応外使用通知:研第 4 号、医薬審第 104 号）により、医療上必要で、かつ有効性・安全性が医学薬学上公知の事実があり、評価可能と判断された場合、小児医薬品でも一部医薬品については、治験を行うことなく承認が行われることが可能となった。そのため当初は、国際的に信頼できる学術雑誌に掲載される科学的根拠となり得る論文となる試験成績をあげるか、公的な研究事業の委託研究等により実施されるなど、その実施に係る倫理性、

科学性および信頼性が確認し得る臨床試験の試験成績がある場合には、承認申請を行えるものと考えた。しかしこの通知が適用となる薬剤は、すでに国内で承認された医薬品が適応外で使用されている場合のみであり、ジアゾキシドのような未承認薬は対象とならない。

ジアゾキシドを未承認のまま使用を継続する場合、医師の立場からは、必要で確かな情報が不足した状態でありながら自己責任の下で使用しなければならず、患者の立場からは、適正な治療を受けられるまでに時間を要する、すなわち投与の開始、あるいは適正な投与量の決定までに時間を要してしまうという問題点がある。従ってこの問題を解決するためには、やはり医師主導治験を行って承認申請をするのが望ましい。

この臨床試験を治験として実施し、承認申請するには、いくつかのハードルがある。

まず、非臨床試験のデータが不足している点である。ここは製薬会社の協力が必須であろう。

次に、エンドポイントを明確にする必要がある。ジアゾキシドの場合であれば、「知能の発育不全の予防」にするのか、あるいは「血糖コントロールの保持」で良いのかという点である。さらにエンドポイントの評価に長期間を要する場合はサロゲートエンドポイントを設けて、(真の)エンドポイントとサロゲートエンドポイントとの関係を示す必要があるであろう。

初期用量設定のための試験デザインも難しい問題である。ほとんどの被験者が長期にわたり投与されていれば、血中濃度は定常状態であるし、患者の病状は安定している場合が多いと思われる。従って、用量の妥当性の評価は維持用量においてのみ可能ということになる。一方、初めて投与される新生児に単回投与時のような多数回採血の血中濃度測定は行えないであろうし、用量反応性を示すのも難しい。現在、初めてジアゾキシドを投与される場合は、グルコースの投与を行いながら徐々にジアゾキシドを投与していき、血糖

値をモニターしながら用量を調節している。そこで一つの提案としては、プロトロンビン時間測定やトロンボテストなどを治療初期に頻回行って投与量や投与回数のコントロールをしていくワーファリンのような用量設定の仕方が考えられる。ジアゾキシドの投与量をコントロールするためのグルコース投与量の指標や血糖値の指標を共に示すようなデザインにすれば、倫理的にも問題がなく、可能性が広がるものと考えられる。

薬物動態情報を得るための試験を行うには、綿密な試験計画、適切な採血プロトコールと正確な記録、合理的な解析手法に加え、信頼できる分析法を用いることが必要である。特にジアゾキシドの場合は未承認薬であり、製薬会社を含め国内には血中濃度測定を行える施設が存在しなかった。そこで、本臨床試験の計画と並行してジアゾキシドの定量法の確立と血中濃度測定法のバリデーションが必須であった。信頼できるデータを得るためには分析法の妥当性は科学的に検証されなければならない。生体試料の分析であることを常に念頭に置き、試料の安定性や抽出の安定性、操作ごとのばらつきの大きさなどを検証する目的で、バリデーションを行った。その結果良好な結果が得られ、信頼できる血中濃度データを収集できるものと考えられる。

## E. 結論

ジアゾキシドの有効性・安全性を検討するための臨床試験計画を立案した。本臨床試験は、未承認薬の医師主導治験へ可能性を広げていく上で有用なステップと考えられる。

## F. 健康危険情報

該当する内容はない。

## G. 研究発表

本研究課題に関する発表はない。

## H. 参考資料

- 1) <http://www.h.u-tokyo.ac.jp/gcp/doctors/jishurinshou.htm>
- 2) 網川延孝, 中島彩子, 安田勉ほか. ICH ガイドラインをふまえた分析法バリデーションの実施と具体的な統計手法. 技術情報協会. 2001
- 3) 児玉浩子. 低血糖症. 白木和夫・前川喜平総編集. 小児科学, 医学書院, 1997 ; 353-358
- 4) Nelson textbook of pediatrics 17th ed, Saunders, 2004
- 5) Pediatric endocrinology: physiology pathophysiology and clinical aspects 2nd ed, Williams & Wilkins, 1993
- 6) Drug information for the health care professional USP-DI 19th Ed, 1999
- 7) 田中敏章, 藤枝憲二, 横谷進, 他. 高インスリン血性低血糖症に対する diazoxide の有効性と安全性. 日児誌, 2003 ; 107 : 29-34
- 8) 中野重行, 安原 一, 中野真帆, 他 (日本臨床薬理学会) 編集. 日本臨床薬理学会認定 CRC のための研修ガイドライン準拠 CRC テキストブック. 医学書院. 2002