

## 医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と 応用

所 属 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部  
研究者 頭金 正博

研究要旨 特殊な背景因子をもつ被験者での臨床薬物動態試験から、背景因子と薬物動態における個人差との関係を検討した。また、薬物代謝酵素の遺伝子多型に関する文献情報を網羅的に調べたところ、多数の多型情報が公表されていたが薬物動態との関連を明示する情報は限られていた。

### 分担研究者

1. ノバルティスファーマ（株） 川合 良成
2. 国立がんセンター中央病院 山本 昇
3. ファイザー製薬（株） 関口 金雄

### A. 研究目的

ヒトでの薬物代謝活性やトランスポーター活性は遺伝的背景のみならず食生活等の環境因子や病態等の影響により変動することから、医薬品等の薬物動態には人種差や個人差が生じる。一方、薬物動態が医薬品の安全性に大きな影響を与える場合があることから、医薬品を適正に使用するためには、個別の患者での薬物動態に影響を与える因子を正確に評価することが必要になる。また新薬の開発段階で行われる臨床薬物動態試験においては、その精度を高めるために被験者の薬物動態に関連した遺伝的因子や環境因子等の被験者背景を明らかにすることが、今後は求められるものと考えられる。そこで、本研究課題においては、糖尿病患者やがん患者等の特定の患者集団や複数の民族での薬物動態特性と背景因子との関係を調べることを目的とし、今年度は予備的な検討を行った。また、ヒト薬物動態の個人差における薬物代謝関連酵素遺伝子での一塩基置換による多型(SNPs)の関与を明らかにすることを目的として、今年度は種々のデータベースで異なった表記方法が

とられている SNPs の位置情報の統一化と SNPs に関連した薬物動態パラメーターについての文献を網羅的に収集した。

### B. 研究方法

#### (1) 糖尿病患者でのグリメピリドの薬物動態パラメーターに対する CYP2C9 遺伝子型の影響

グリメピリドの臨床薬物動態試験に参加した被験者の選抜は CYP2C9 の遺伝子型の他に、肝機能および腎機能が正常で、CYP2C9 の代謝基質となる併用薬を服用していない等を考慮した。被験者には午前7時から午前9時まで間に 100 mL 以上の水とともにグリメピリド 1 mg を服用してもらい、服用前および服用後 45 分、2 時間、4 時間、6 時間、8 時間、10 時間の時点で、末梢血を 3mL 採血し血漿グリメピリド濃度を測定した。各時点での血漿中濃度から WinNonlin Ver 4.01 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA) 解析ソフトを用いて薬物動態パラメーターを算出した。

#### (2) ゲフィチニブとドセタキセルの併用時における薬物動態

臨床病期 IIIB, IV 期または術後再発が確認され、20~74 歳、PS 0, 1, 十分な主要臓器機能を有し、本試験の参加に文書同意が得られた非小細胞肺癌患者を対象として、ドセタキセル、イレッサの併用投与を実施した。1 コース目は day 1 にドセタキセルを投与し、day 2

からイレッサを投与する。2 コース目は day 1 に両薬剤の投与を行う。各コースは原則 3 週間として、2 コース以上の治療を試みる。薬剤投与量レベルは、レベル 1 : ドセタキセル 45 mg/m<sup>2</sup>, イレッサ 250 mg/day, レベル 2 : ドセタキセル 60 mg/m<sup>2</sup>, イレッサ 250 mg/day の 2 用量とした。1, 2 コース目ともにドセタキセル, ゲフィチニブの薬物動態を検討するため、経時的に各々 10, 7 ポイントの薬物血中濃度採血を実施した。予定症例数は 9 例 (レベル 1 : 3 例, レベル 2 : 6 例) とした。

### (3) ヒト薬物動態の個体間変動に関する文献調査

MEDLINE を中心に公的及び商用文献データベースを用いて薬物代謝関連酵素、薬物動態、一塩基多型、薬物動態パラメーターなどのキーワードを種々に組み合わせ文献検索を行った。ヒットした文献をすでに成書等で引用されている文献と比較することで、検索の精度を確認した。また、得られた文献情報を①薬物代謝関連酵素の SNPs に関する文献、②薬物動態に関する包括的な文献、③薬物動態パラメーターについて検討した文献の 3 種類に分けてそれぞれをデータベース化し、これに基づき実際の文献を収集した。さらに、多くの薬物の代謝に関わっているにもかかわらず、SNPs とその表現型の関連がほとんど明らかになっていない CYP3A4 について着目し、現時点で入手可能な情報の整理を試みた。まず、CYP3A4 遺伝子の SNPs 位置情報の統一化を目指してデータベースの構築を試みた。具体的には homo sapiens を中心にデータベース化を行っている調査団体より報告されている CYP3A4 の SNPs の情報収集を行い、遺伝子上の塩基置換位置情報を統一化し、重複した情報の整理を行った。また塩基置換に伴う酵素活性や薬物動態パラメーターの変動に関する情報についても調査を行った。

(倫理面での配慮)

本研究における臨床研究はすべて各研究者が所属する研究機関に設置されている研究倫理委員会によって実施の許可を得ている。実際の実験実施にあたっては被験者に十分な実験内容に関する説明をした後、被験者から文書による自発的な同意を得た。

## C. 研究成果

### (1) 糖尿病患者でのグリメピリドの薬物動態パラメーターに対する CYP2C9 遺伝子型の影響

抗糖尿病薬グリメピリドによる低血糖の発症メカニズムの解明と予防を目的として、薬物代謝酵素の遺伝子多型がグリメピリドの薬物動態に与える影響について検討した。グリメピリドは主に CYP2C9 によって代謝不活性化されることが知られていることから、2 型糖尿病と診断されグリメピリドの処方を受けている患者のうち、文書による本研究への参加意思を表明した 1 4 0 名の CYP2C9 遺伝子型について TaqManPCR 法を用いて解析した。その結果、2 名の CYP2C9\*1/\*3 遺伝子型を有する患者を見いだした。CYP2C9\*2 遺伝子型は日本人を含む東洋人ではこれまでに見いだされていないことから、残りの 1 3 8 名の遺伝子型は CYP2C9\*1/\*1 であると推定される。CYP2C9\*1/\*3 型被験者 (男性 1 名、女性 1 名) および CYP2C9\*1/\*1 型被験者 (男性 2 名、女性 2 名) を薬物動態試験の対象患者として選択し、単回投与後の血漿中グリメピリド濃度を図 1 に示した。測定した血漿中濃度から薬物動態モデルに依存しない解析方法と one-compartment モデルを使用した解析方法を用いて薬物動態学的パラメーターを算出した。その結果、表 1 に示すようにいずれの解析方法を用いた場合でも、CYP2C9\*1/\*3 型被験者の AUC は CYP2C9\*1/\*1 型被験者の 2 ~ 3 倍程度に増加しており、クリアランスは半分程度にまで減少していた。以上の結果より、CYP2C9\*1/\*3 型被験者においてはグリメピリドの消失速度が低下し、体内で長時間にわたって高い血中濃度が維持されていることがわかった。次にグリコヘモグロビン (HbA1c) 値を血糖コントロールの指標としてグリメピリドの薬効を評価した。すなわちグリメピリドが処方される前と投与中の 6 ヶ月間の平均 HbA1c 値を CYP2C9\*3 をヘテロ体で有する患者 (CYP2C9\*1/\*3) と用量や服用条件が類似している野生型 (CYP2C9\*1/\*1) の患者で比較検討した (図 2)。その結果、CYP2C9\*1/\*3 患者における投与前 HbA1c

は 10.7%、投与後平均 HbA1c は 5.8% で 4.9% の低下がみられた。一方、*CYP2C9\*1/\*1* 遺伝子型を有する患者での投与前後の HbA1c 値の変動は平均すると 1.8% であり、*CYP2C9\*1/\*3* 患者においてはグリメピリドの血糖低下作用が *CYP2C9\*1/\*1* 患者より強く発現していることがわかった。

## (2) 肺がん患者でのゲフィチニブとドセタキセルの併用時における薬物動態

本試験は 2004 年 5 月 27 日より症例登録開始となったが、2005 年 2 月末現在、レベル 1 に 1 例の登録が行われているのみで、研究の進捗が大幅に遅れている。従って、現時点では本試験の結論は得られていない状況であるが、1 例目については、毒性は十分に許容範囲で、PR に相当する腫瘍縮小効果が得られている。

## (3) ヒト薬物動態の個体間変動に関する文献調査

薬物代謝関連酵素遺伝子の SNPs と薬物動態パラメーターに関する文献の検索を行う前に CYP 各分子種単独、または CYP 各分子種と薬物動態パラメーターに関する文献の件数を調査した。表 2 に示すように単独の検索にて最も多くの文献が抽出できた CYP 分子種は CYP1A1 の 4159 件であるのに対して、薬物動態パラメーターを条件に追加した場合には、CYP3A4 が 1098 件と最多であった。この他、遺伝子多型と薬物動態及びその臨床的意義について比較的知られている CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 などについては薬物動態パラメーターに関する検索件数が比較的多く得られている。CYP 全体では 12007 件が検出され、薬物動態パラメーターを加えた場合でも 3270 件が検出されていた。

続いて、薬物動態に影響を及ぼす分子として CYP ファミリーに加えて、第 2 相代謝酵素、トランスポーターファミリーを対象分子として (OR 検索)、SNPs、薬物動態または薬物動態パラメーター (AUC、Cmax、Tmax) の条件で検索を行った。分子名 (OR 検索)、SNPs、薬物動態の条件では 619 件の文献情報が検出され (検索条件が薬物動態パラメーターの場合の重複分は除く)、薬物動態の代わりに、薬物動態パラメーターを検索条件とした場合は 148 件と 4 分の 1 以

下となった。これらのことから、薬物動態関連酵素遺伝子の SNPs と薬物動態の関連付けについての研究報告も不十分であるが、実際の薬物動態の表現型を検証するための薬物動態パラメーターについてはさらに十分な研究がされていないことが明らかとなった。

また、CYP3A4 は多くの薬物の代謝酵素であることが知られているにもかかわらず、その一塩基置換と酵素活性と関連はほとんど明らかにされていないと言われている。そこでまず、*CYP3A4* の SNPs に関するデータを収集している 4 種類のデータベース (National Center for Biotechnology Information : NCBI、The SNP Consortium LTD : TSC、A database of Japanese Single Nucleotide Polymorphism : JSNP、National Institute of Health Sciences : NIHS) に掲載されている SNPs の位置情報の統一化を行い相互のデータベースでの SNPs の重複等をチェックした。さらに *CYP3A4* の SNPs に関する文献情報を抽出し *CYP3A4* に関する遺伝子多型と薬物動態との関連付けを試みた。現時点で公表されている *CYP3A4* の SNPs は 131 個あり、そのうち 15 個が exon 内であり、アミノ酸置換を伴っている。今回得られた文献情報中 *CYP3A4* の SNPs と薬物動態パラメーターの検索条件によるものは 21 件のみであった。これらを詳細に検討していくと、10 件が他の分子と同時に検討されているが、*CYP3A4* が main factor ではなかった。また、9 件が代謝活性に影響はなかったという報告であり、*CYP3A4* についてはデータに基づいた SNPs と代謝活性、薬物動態への影響については未だコンセンサスは得られていないと考えられた。

## D. 考察

薬物代謝酵素の遺伝子型や病態等の背景因子が薬物動態に与える影響を調べるための臨床薬物動態試験を実施した。また、一部の研究については実施するための準備をおこなった。まず、薬物代謝酵素の遺伝子多型が抗糖尿病薬グリメピリドの代謝および薬理作用の発現に与える影響について調べるため

臨床薬物動態試験を行った。その結果、*CYP2C9\*3* 遺伝子型を保有する患者では、グリメピリドの代謝活性の低下と血糖降下作用の増強が認められた。従って、グリメピリドの投与による低血糖を未然に防いで安全に使用するためには、*CYP2C9* 遺伝子の多型解析はきわめて有用であることが明らかになった。

また、進行・再発非小細胞肺癌を対象としてゲフィチニブとドセタキセルの併用を行い、両薬剤併用による最大耐量、推奨用量、安全性、薬物動態、薬剤間相互作用、有効性、*CYP3A4* 活性の変化などを検討する併用第 I 相試験を実施中である。ゲフィチニブは非小細胞肺癌に対して適応承認された最初の分子標的薬剤であり、一部の症例においては劇的な腫瘍縮小効果が認められる。しかしながら、ゲフィチニブのみで肺癌を治癒せしめることは不可能で、より効果の高い治療開発が必要であることは言うまでもない。今回、われわれはゲフィチニブとの併用薬剤において、非臨床データ、欧米での臨床試験結果、毒性プロファイルなどからドセタキセルを選択した。両薬剤併用による治療効果向上を目指し、研究を進めているものの症例登録ペースは遅々としている。これは、最近発表されたゲフィチニブの治療効果と *EGFR* 遺伝子変異の関係についての報告が大きく影響している。すなわち、ゲフィチニブを対象薬剤とする臨床試験において、肺癌細胞中の *EGFR* 遺伝子変異検索の必要性の議論が高まりつつある。とはいえ、*EGFR* 遺伝子変異のみがゲフィチニブの効果を規定しているという最終的な結論が得られたわけではなく、ゲフィチニブのみで完全寛解 (CR) に至ることもまれである。今後、患者選択基準を再考しつつ、症例登録を進めていく。

現在、多くの独立したグループにおいて、薬物代謝関連酵素に関する SNPs のデータが加速度的に蓄積している。しかしながら、これらの集積された SNPs 情報をどのように新薬開発やより安全でより効果が期待できるテーラーメイドへ応用していくかという点については明確な指針が示されていないのが現状である。これは多くの SNPs データベースが bioinformatics の専門家により作成、維持されてお

り、他の周辺領域の研究者にとって非常に扱いにくいものとなっていることも原因の一つとして考えられる。そこで、本研究においてはすでに発表されている SNPs と薬物動態パラメーターを文献情報より関連付けて、データベースを作成し、将来的には薬物動態のモデルシュミレーションに資することを最終目的とした。その過程において、bioinformatics の分野が提供する情報は貴重なものも少なくなく、薬物代謝研究との統合を図ることは重要であると考えられた。しかし、多くの薬物代謝の過程に参与しているとされる *CYP3A4* についてはすでに多数の SNPs が明らかにされているのにも関わらず、その薬物動態学的な意義付けがほとんどできておらず、存在するデータも極めて乏しいのが現状であることがわかった。

#### E. 結論

1. 薬物動態の個人差に影響をあたえる因子を解析する上で特殊な背景因子をもった被験者集団を用いる臨床薬物動態試験が有用であると考えられた。
2. 多くの薬物動態に関する文献情報は得られているが、SNPs と関連付けた場合は約 800 件程度に過ぎなかった。薬物動態パラメーターを含むものに絞れば、さらに少なく、150 件程度しかなかった。

#### F. 研究発表

1. Kurose K, Tohkin M, Hasegawa R. Transcription factor NF2d9 (LBP-1a) interacts with the positive regulatory element for the xenobiotic responsive element. *Biochim Biophys Acta*. 2005 1727: 141-144.

#### G. 知的所有権の取得状況

無し

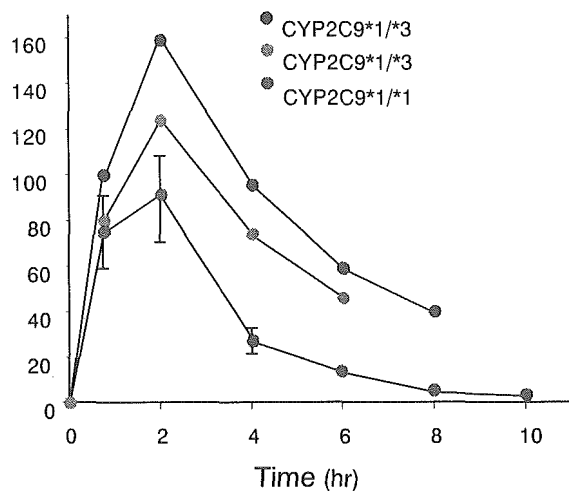


図1 グリメピリド服用患者での血中濃度の時間推移

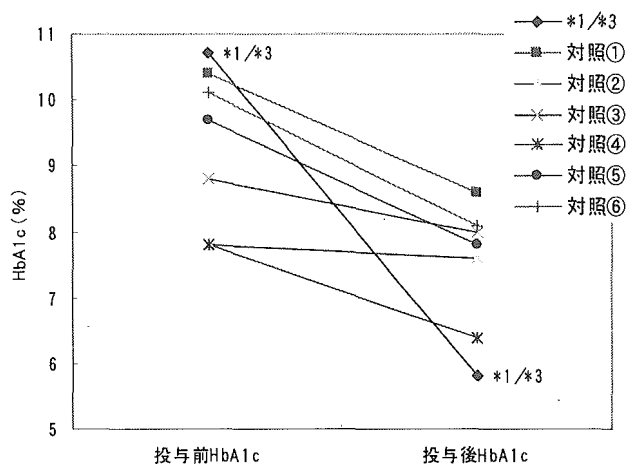


図2 グリメピリド単剤投与患者のHbA1c 低下

表1 CYP2C9\*1/\*1 あるいは CYP2C9\*1/\*3 遺伝型を保有するグリメピリド服用患者での薬物動態パラメーター

Parameters	CYP2C9*1/*1	CYP2C9*1/*3	
	n=4	Case #1 (female)	Case #2 (male)
Pharmacokinetic model-independent analysis			
AUC(ng.hr/mL)	292.0 ± 101.8*	654.6	870.9
Cmax (ng/mL)	89.5 ± 37.8	123.8	159.2
Mean residence time (hr)	3.03 ± 0.11*	4.92	5.23
Total clearance (L/hr)	3.78 ± 1.44*	1.52	1.18
Distribution volume (L)	9.23 ± 3.43	6.89	5.95
Pharmacokinetic model-dependent analysis**			
AUC(ng.hr/mL)	298.1 ± 94.4*	601.6	830.4
Cmax (ng/mL)	89.0 ± 36.2	116.5	147.1
Total clearance (L/hr)	3.65 ± 1.28*	1.66	1.2
Distribution volume (L)	4.68 ± 1.86	3.14	3.65

表2 MEDLINE 上の CYP 各分子種毎のヒット件数

( ) 内は薬物動態パラメーター(AUC、Cmax、Tmax)を含むヒット件数

CYP1A1	4159(617)
CYP1A2	2393(753)
CYP1B1	538(49)
CYP2A6	482(127)
CYP2A13	27(5)
CYP2B6	367(103)
CYP2C8	366(107)
CYP2C9	1136(424)
CYP2C19	1068(437)
CYP2D6	2484(905)
CYP2E1	2526(566)
CYP2J2	40(7)
CYP2R1	6(1)
CYP2S1	10(2)
CYP3A4	2357(1098)
CYP3A5	287(88)
CYP3A7	119(27)
CYP3A43	13(1)
CYP4B1	69(15)
CYP5A1	2(0)
CYP8A1	5(0)
CYP21A2	25(1)