

臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための 基盤研究

所 属 大阪大学大学院薬学研究科
研究者 東 純一

研究要旨

本研究の目的は、薬効ゲノム情報に基づく臨床薬理学的な治療上のエビデンスを創出するための指針となる成果を提供することおよびそれら臨床研究を支える基盤を整備することである。今回、臨床的な表現型として肝障害を取り上げ、そのモデル薬物として、結核治療薬イソニアジド、解熱鎮痛薬アセトアミノフェン、および肺高血圧症治療薬ボセンタンの3薬物を対象薬とした。肝障害に関する疫学調査の結果に基づき、最適なPGx(Pharmacogenomics)試験(効果と遺伝子多型:SNPs)およびTGx(Toxicogenomics)試験(安全性とSNPs)の実施にむけた諸問題を取り上げる。また、その解決法を検討し、試験デザインに適切に盛り込む。本プロジェクト内で行われる試験においては、臨床試験に参加した被験者を対象とし遺伝子解析を行い、肝機能変化と候補分子の遺伝的多型との関連を解析する。

平成16年度は、各モデル薬剤に関して1)臨床試験フィールドの環境整備、2)肝機能異常は発現患者の抽出およびパイロット試験、3)遺伝的背景因子に関する候補遺伝子多型の判定法確立をそれぞれ実施した。

イソニアジド(INH)とリファンピシン(RFP)を含む短期化学治療を行う肺結核患者を対象にNAT2遺伝子解析を伴う前向き比較試験のプロトコルを吟味し、その適正化を行った。すなわち、投与量の妥当性を検討するため、健常人におけるINHの漸増試験およびRAタイプ患者における忍容性試験を行った。これらの成績を勘案し、遺伝子型に基づく薬物投与試験のプロトコルの確定に至った。多施設共同臨床研究を一括管理してコーディネートするため、患者エントリー、遺伝子判定結果の返却および試験の進捗管理を行うための専用通信回線によるネットワークシステムを構築した。

また予備検討として、これまでに得られた肝機能異常発現患者に対して、副作用に関連する分子の遺伝子解析を行った。国際的な標準結核療法の確立に向けたグローバル臨床研究をドイツおよびインドの研究者と開始した。

アセトアミノフェンについては、府立母子医療センターおよび国立病院機構での予備調査を行った。

新たな経口肺高血圧症治療薬ボセンタンはETAおよびETB両受容体の拮抗薬であり、一定の頻度で肝障害の発現が観察されており、発売開始に併せて疫学調査を国立病院機構を中心とし、浜松医科大学を含む11施設の症例を対象に開始することとしている。疫学調査に先立ち治験被験者を対象とし、遺伝子解析用の検体および、肝機能検査値を含む血液生化学的データの収集を開始した。

本年度は、それぞれの薬剤について臨床研究実施に向けてのフィールドの整備とプロトコルの検討を行った。また、遺伝子解析についても、その基礎的準備を終えた。これら遺伝子解析を伴う臨床研究を実施するまでのプロセスに関しても、十分に議論を重ね、今後の方向性を検討できた。

分担研究者

- (1) 国立病院機構刀根山病院 横田 総一郎
- (2) 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 坂谷 光則
- (3) 浜松医科大学 大橋 京一
- (4) 東京慈恵会医科大学 景山 茂
- (5) 薬効ゲノム情報株式会社 岩田 宙造

A. 研究目的

本研究の目的は、遺伝子情報に基づく臨床薬理的な治療上のエビデンスを創出するための指針となる成果を提供すること、およびそれら臨床研究を支える基盤を整備することである。具体的には、正確で均一な臨床データ収集のための方法論の提案および実践のための基礎データの構築、臨床研究ネットワークの構築、臨床データの管理とその取扱に関する提案、遺伝子の保管とその運用システムの構築、臨床応用可能なデータベースの整備などである。さらには、臨床応用に直結する薬物治療指針の策定である。

B. 研究方法

本プロジェクトの全体構想は、日本臨床薬理学会でワーキンググループを発足させ、これを拠点として基盤技術を整備し、産学官の連携による医薬品適正使用の推進を図ることである。そこで、臨床的な表現型として肝障害を取り上げ、そのモデル薬物として、結核治療薬イソニアジド、解熱鎮痛薬アセトアミノフェン、および肺高血圧症治療薬ボセンタンの3薬物を対象薬とした。肝障害に関する疫学調査の結果に基づき、最適な PGx (Pharmacogenomics) 試験 (効果と遺伝子多型: SNPs) および TGx (Toxicogenomics) 試験 (安全性と SNPs) の実施にむけた諸問題を取り上げる。また、その解決法を検討し、試験デザインに適切に盛り込む。

研究は2種の方法論に分けられる。

- レトロスペクティブな探索的臨床研究
イソニアジド
アセトアミノフェン
ボセンタン

- プロスペクティブな検証的臨床研究
イソニアジド
(ボセンタン)

いずれの試験においても、臨床試験に参加した被験者を対象とし、遺伝子解析を行い、候補分子の遺伝的多型と肝機能変化の関連を解析する。すなわち、被験者に対し、本研究による遺伝子解析の説明を行い、遺伝子解析に関わる文書同意を取得する。文書同意が得られた被験者より、採血を行い、冷凍保存した試料を大阪大学および浜松医科大学で遺伝子解析を行う。その後、臨床試験時の肝機能の変化と候補分子の遺伝子多型との関連を解析する。

(倫理面への配慮)

本研究は「ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則」の精神に基づき、被験者の人権および福祉を守り、かつ文部科学省・厚生労働省の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する指針」、「臨床研究に関する指針」等のガイドラインを遵守して実施する。また臨床試験については、GCPの理念に準拠し、試験の科学的な質と信頼性および安全性の確保に努める。研究計画については、施設内または然るべき機関に所属する倫理委員会において研究計画の承認を受けるものとする。

研究への参加ボランティアに対しては、インフォームド・コンセントを書面で行う。遺伝子解析を伴う研究については、また、小児を対象とする場合には、親権者など試料等提供者の利益を最もよく代弁できると考えられる人を代諾者とし、小児本人に対しても可能な限りインフォームド・アセントを行う。

薬剤反応性遺伝子多型の解析を計画しているが、疾患の発症感受性を規定する遺伝子の同定に至る可能性は否定できない。本プロジェクト内で行われるすべての研究は遺伝子情報を伴うため、試料等の取り扱いや個人情報保護には細心の注意を払い厳重に管理する。

本プロジェクトで得られた結果や情報を公表する場合には、被験者や試料提供者の個人情報保護のための措置を十分に講じ、個人

を特定出来ないような方法で行う。また、試料提供者が遺伝情報の開示を希望した場合、遺伝子判定結果の通知を試料提供機関の研究責任者や主治医が行うなど、第三者に情報が漏洩しないように配慮する。なお、試料提供者の募集の時点から個人の情報は、臨床研究参加の如何にかかわらず、プライバシーに関わるものであることに留意する。本研究に関与する者は刑法および薬事法に則り個人のプライバシーの保護に関する取り扱いに十分配慮するものとする。研究結果の刊行に際しては結果の正確さを保ち、否定的な結果も含めて公表するものとする。

大阪大学では、本研究における個人情報保護のために、大阪大学の個人情報識別管理者が個人情報を連結可能匿名化し研究遂行者に提供する。従来は個人情報を管理するコンピューターは他の一切のコンピューターと切り離し、研究機関内外のネットワークと接続しないようにしていた。しかし、薬理ゲノム情報に基づく臨床試験を行う上で医療施設との迅速な相互連絡と個人情報管理が必要不可欠であるため、結核治療に関わる臨床研究に、新たに構築したインターネットを利用した臨床試験管理システムを用いる。本システムの概要は研究結果の欄に記載した。なお、今回構築したシステムは、平成16年12月28日に全部改正されたヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針の内容に合致するものである。

また、結核治療における無作為化比較試験においては、被験者が対照群（従来の治療法）と試験群（新しい治療法）のいずれに割り付けられても不利益を被ることがないように配慮し、試験期間中の被験者の安全性確保に努める。具体的には、頻回の定期検査や血中濃度測定を実施することにより、全被験者に対して有害事象の早期発見と各人の血中濃度を考慮した適切な処置が可能となる。これは被験者の利益につながるものである。

C. 研究結果

平成16年度は、各モデル薬剤に関して以下を実施した。

- 1) 臨床試験フィールドの環境整備
- 2) 肝機能異常発現患者の抽出およびパイ

ロット試験

- 3) 遺伝的背景因子に関する候補遺伝子多型の判定法確立

① イソニアジド (INH) による肝障害:

イソニアジド (INH) とリファンピシン (RFP) を含む短期化学治療を行う肺結核患者を対象に NAT2 遺伝子解析を伴う前向き比較試験のプロトコールを吟味し、その適正化を行った。NAT2 遺伝子型が RA タイプの人では INH の増量が必要となるため、投与量の妥当性を検討する目的で健常人における INH の漸増試験を実施した。また、RA タイプ患者において増量時の安全性について肝障害を指標に忍容性試験を行った。これらの成績を勘案し、遺伝子型に基づく薬物投与試験のプロトコールを確定した。また、多施設共同臨床研究を大阪大学で一括管理してコーディネートするため、患者エントリー、遺伝子判定結果の返却および試験の進捗管理を行うための専用通信回線を設置し、ネットワークシステムを構築した。(詳しくは「● 臨床試験のエントリーシステムの構築」の項参照)。本研究について、それぞれの医療機関および大阪大学における倫理委員会において承認を得た。

一方、前向き臨床試験に先立ち、これまでに国立病院機構刀根山病院より得られた肝機能異常発現患者に対して、副作用に関連する分子の遺伝子解析を行った。解析対象遺伝子は、NAT2 の他に GSTM1、GSTT1、CYP2E1 等とし、その解析法を確立した。少数例の結果であるが、一部の遺伝子多型においてリスク因子になる可能性を示唆した。さらに、炎症や酸化ストレスに係わる遺伝子を候補に追加し、候補 SNPs の選定を行った。

● 海外研究機関の協力: 提案する治療法が民族差を超えた国際的な標準結核療法と成りうることを実証するため、NAT2 遺伝子多型に基づく結核の個別化適正治療法の確立に向けたグローバル臨床試験を実施する。本研究計画については、ドイツ・ケルン大学の

Fuhr 教授らと相互の試験プロトコルを交換し、その詳細について検討を行った。また、世界最大の結核発症国であるインドの Rana 教授（医学研究所 PGIMER）からの研究協力要請に応じ研究指導を行っている。我国で実施するプロトコルに準拠しインドにおいて肝障害が発現した結核患者の遺伝子解析を大阪大学で開始した。

● 臨床試験のエントリーシステムの構築：

前述のように、従来は個人情報管理するコンピューターは原則としてネットワークと接続しないようにしていた。しかし、NAT2 遺伝子解析を伴う前向き比較試験を効率的に遂行するため、医療施設との迅速な相互連絡と個人情報管理が必要不可欠であることから、インターネットを利用した被験者のエントリーシステムを構築した。本システムでは、MPLS (Multi-Protocol Label Switching) 技術の使用により、セキュリティを確保した仮想専用通信網 IP-VPN (Internet Protocol-Virtual Private Network) および OCHIS (Organization for Community Healthcare Information network System) を用い、インターネット上に強固なセキュリティシステムを構築し、データサーバーを設置した。各施設では専用のコンピューター端末を用い、IC カード他複数コードによるアクセスの認証を行う。さらに、病院側で任意に入力する患者識別 ID をシステム内で自動的に臨床試験用 ID に変換し、病院外の端末では臨床試験用 ID のみを表示する。これらの手法により、病院外での個人の特定化は不可能となる。

全てのデータはサーバーに保存し、各施設の端末ではこの閲覧のみを可能とする。これにより、各端末が不正なソフトウェアにハッキングを受けた際も、個人情報は保護されることになる。

② アセトアミノフェン中毒および肝障害：

府立母子医療センターおよび国立病院機構での予備調査を行った。本試験に関しても

大阪大学のヒトゲノム倫理委員会の承認を得た。イソニアジド肝障害の研究と解析対象遺伝子が結果的に酷似しているが、特にアセトアミノフェンとの関連性より UGT1A1、UGT1A6、SULT1A1 を追加し解析法を確立した。

③ ボセンタンによる肝障害：

ボセンタンは ETA および ETB 両受容体の拮抗薬であり、2001 年 11 月に新たな経口肺高血圧症治療薬として FDA より認可され、本邦でも承認申請中である。一定の頻度で肝障害の発現が観察されており、遺伝子情報に基づく、その原因解明が適正投与に繋がると考えられる。本邦で発売開始に併せて疫学調査を開始することとしている。この検討は、日本で肺疾患の拠点である国立病院機構を中心とし、浜松医科大学を含む 11 施設の症例を対象とする。疫学調査に先立ち治験被験者を対象とし、遺伝子解析用の検体および、肝機能検査値を含む血液生化学的データの収集を開始した。

また、遺伝子多型解析の対象項目としては、肝薬物代謝酵素群に加え、トランスポーター MRP2、BSEP、MDR3 について primer を設計し、SSCP での SNPs の screening のための条件設定作業はほぼ終了し、準備を整えた。

有害事象発症と遺伝子多型の関連は広く認識されているが、臨床の場で、遺伝子情報を活用し、有害事象発生を実際に回避し得たという報告は極めて少ない。その理由として、1) 投与対象となる集団が大きく、遺伝子多型のチェックを行う事が実際上困難である事、2) prospective な検討を行うには有害事象発生の頻度が低く、解析を行う為の n 数が極めて膨大となる事、等が考えられる。この点で、ボセンタンは、肺高血圧症という稀少疾患の治療薬であるため投与対象が限定されており、早期に有害事象発生の把握が可能である事など、「有害事象回避を目的とし遺伝子情報を活用」するための貴重な臨床事例となりうる。

D. 考察

臨床研究では、実際に起こった有害事象の

原因を追究するレトロスペクティブな研究とその原因を事前に回避することにより有害事象の出現が抑えられるかを検討するプロスペクティブな研究がある。

今回、結核治療におけるイソニアジドの肝障害回避に向けたプロスペクティブな臨床研究を考案し、その実施に向けて作業を進めたが、計画進行に遅れが生じた。すなわち、治療前に各個人の遺伝子型を判定し、遺伝子型に応じて投与法を決定する臨床試験を行うためには、様々な準備を要した。1) 遺伝子を取り扱う事に対する配慮、2) 遺伝子判定の精度、3) 遺伝子判定から投薬開始までに許容される時間、4) 各施設の標準療法の差異、5) 投与量の増量および減量に対する根拠、6) 多施設での被験者のエントリーと取り扱いの標準化、7) 試験協力者の確保などである。

副作用発症を回避するために投与量を変更する時、すなわち増量または減量する場合、当該遺伝子型ごとに変更した投与量が体内での最適治療量を得るのに適切かどうか、投与前に予測する必要がある。これには当該疾患患者のデータであることが望ましい。また、遺伝子型判定を臨床試験内で実施する場合、仮同意、候補者登録、遺伝子型判定、本同意、割付、試験開始の手順で行うが、試験薬投与開始までに許容される時間と遺伝子型判定に要する時間的かつ技術的問題は、個々の薬剤について検討する必要性が示唆された。基本的には短時間であるべきである。

これらの問題点を解決し、プロトコールの確定に至ったことは、極めて意義深いものと断言できる。今後、ファーマコゲノミクス臨床試験の実施、および遺伝子型に基づく投与指針の策定に際して、一つの方向性を示す重要な研究である。

一方、肺高血圧症におけるボセンタンの有害に関する研究では、市販後の副作用調査の一貫として、調査研究に遺伝子多型因子の解析を加えようとしている点で、先駆的であり、「有害事象回避を目的とし遺伝子情報を活用」するための貴重な臨床事例となりうる。

すなわち、オーファンな肺高血圧症という疾患の治療薬であるため投与対象が限定されている事、有害事象の発生率が高く解析に必要なn数が少なく済む事、市販後の早期に有害事象発生の把握が可能である事など

の解析上の利点を有しており、その成果は、有害事象発生の抑止につなげるための有益な情報となる。

E. 結論

薬剤毎に副作用に対する対応が異なると予想されるが、基本的にはレトロスペクティブな調査研究に始まり、対象者を限定した臨床研究、さらに、より有効な治療法の策定のため、遺伝子型に基づくプロスペクティブな検証的臨床試験を行い、良質なエビデンスを構築することが望まれる。今回、それぞれの薬剤において検討を重ねた結果、良質な臨床研究の成果を得るためには、遺伝子解析を伴う臨床研究の方法論の吟味とそれを実施できる環境の整備が必要であるとの結論を得た。今後は、臨床試験の実施を通じてファーマコゲノミクス臨床試験の方法論の検証を行う。

F. 研究発表

1. 論文発表

R. Kubota, M. Ohno, M. Yasunaga, S. Yokota, R. Maekura, J. Azuma. Tentative treatments for tuberculosis based on N-acetyltransferase gene polymorphism. Jpn J Therapeutic Drug Monitoring (in press)

2. 学会発表

第25回日本臨床薬理学会年会, 2004年9月17日~18日(静岡)

Rapid Acetylator に対するイソニアジド増量試験

窪田竜二, 大野雅子, 古塚深雪, 中山哲, 田邊智子, 蓮沼智子, 飯島肇, 山田宏美, 武部雅人, 東純一

第25回日本臨床薬理学会年会, 2004年9月17日~18日(静岡)

血清ビリルビン値に影響を及ぼすUGT1A1遺伝子多型の臨床的意義

田邊智子, 大野雅子, 松本京子, 安永実沙, 窪田竜二, 蓮沼智子, 飯島肇, 有沢紀子, 高附真樹子, 武部雅人, 熊谷雄治, 東純一

8th World Congress on Clinical Pharmacology and Therapeutics 2004, 2004

年8月1日～6日 (Brisbane, Australia)
Population pharmacokinetics and
pharmacogenetics trial of isoniazid
Ohno M, Kubota R, Yokota S, Azuma J

第21回日本TDM学会学術大会, 2004年6月5
日～6日 (大阪)
結核治療の適正化に向けたイソニアジドの
TDMに対する提言
窪田竜二, 大野雅子, 横田総一郎, 前倉亮治,

山本裕子, 古塚深雪, 田邊智子, 東 純一

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