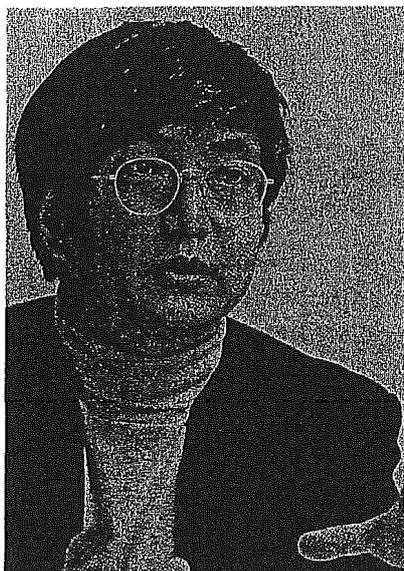


探針

Probe



ますい・とおる氏

1981年東京大学理学系研究科博士課程修了。財団法人癌研究会癌研究所、米国立癌研究所、京都大学医学部助手を経て、95年4月より現職。人体由来の研究資源の研究開発利用を可能にする社会基盤の研究が専門。

最先端のバイオ技術利用に 今こそ社会基盤整備が必要

増井徹 ● 国立医薬品食品衛生研究所 JCRB細胞バンク・主任研究官

ゲノム情報など最先端のバイオ技術を医療現場で実際に利用するためには、研究の成果を受け入れることができる社会的な環境を整えることが必須となる。そのためのコストを払う時代が来ていると思う。

まず、社会に最先端のバイオ技術が入って来ることに対する「健全な危機感」がないことが大きな問題。一般の方々には医学・生物学研究の上澄みである知識に関心を持つが、あくまで、「へー」と感心するだけの“ゲノムトリビア”としてとらえることが多い。実際に最先端の技術が持つリス

クとベネフィットは身近なものとして感じられていないと思われる。

一つには、欧米で散々議論され、日本でも意識されかけたゲノム情報と医療情報は、どこがどのように違うのかという問題を脇にどけて、「ゲノム情報は特別ですから」という議論をしてきたツケである。人の表現型情報としての病歴の利用、さらにその基盤となる医療と研究の連携の問題、病気の分類学の議論などが非常に手薄になっているのである。

この現状には、研究者側にも責任がある。厚生労働省、経済産業省、

文部科学省によって「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」が作られたことで、研究者は安心してしまった。そして、それまで行われていた、ゲノム研究を支え育てる社会基盤についての指摘も、議論も、指針策定後、わが国では消えてしまった。国際的（UNESCO、英、米、豪など）には、ゲノム研究とその応用への議論と基礎研究が高まりをみせているのである。

欧米では、国家戦略としての先端バイオ技術推進策として、規制の枠組みの整備を進めている。もちろん市民の理解も大きな目標である。そこで、日常診療や研究目的で患者や市民に接する医療専門家や研究者のコアコンピタンス（中核となる能力）の育成を重視し、対策とその立案のための基礎研究を進めている。

簡単でないロードマップ作り そろそろ冷静な対策を

先端バイオ技術が我々をどこへ連れて行くのか、確実な予測はない。簡単にロードマップを描き、すぐに実用化できるように宣伝するのは得策ではない。科学研究は分からないから実施するのであって、失敗はつきものであるという姿勢を社会が受け入れることが必須である。ゲノム研究が「人という生物」の理解のために寄与するという考えには、多くの人が賛意を表するであろう。しかし、それ以上を言い始めると、混濁が起きてしまう。社会的リスクが、夢と現実の落差から生じるとすると、そろそろ熱を冷ます対策を組織的に取る時期に来ている。そのことを国内外の動きから強く感じる。（談）

7. 英国バイオバンクプロジェクト

増井 徹, 高田容子

英国バイオバンク計画の検討がはじまってから5年が過ぎた。その間に、本稿で示すように、科学研究に関するプロトコルの検討を重ね、最近第3版の意見公募が行われ、重点がタンパク質に移ったことを印象づけた。それと並行して、倫理的、法的、社会的問題への対処も行っている。計画の慎重さは1990年代の社会問題で培われたリスクマネジメント感覚によると考えている。英国はバイオバンクを社会的実験として捉え、国際戦略と位置づけている。ゲノム情報の利用できる社会をめざす、英国の実験を注意深く観察し、学ぶべきものは学ぶことが重要である。

はじめに

英国バイオバンクといわれる活動は、「人の生物学としての医学（医学・生物学）」を支える公的な研究資源の整備をめざす英国の取り組みである。45歳から69歳の英国国民50万人からインフォームド・コンセントにより病歴と、生活習慣など環境情報と、人体試料（血液、尿：ゲノムとタンパク試料として）を収集し、30年間その集団（コホート）を追跡しようとするものである。英国の平均寿命を考えるとほぼ死ぬまで追跡することとなるという。バイオバンクについては、私のもものを含め、これまでも発表がある、参照されることを勧める^{1)~8)}。

英国では、ゲノム解析も含むこの壮大な追跡研究を行うために、長期的に社会から信用されるシステムづくりに最も神経を使っている。と同時に、科学性に関する議論が長期にわたってなされている。本稿は、その科学的計画作成の過程の概要を示すことと、英国全体のゲノム情報国家戦略の中での新しいBottom Up政策について紹介する。というのは、科学的な検討とその変遷からみえてくることは、将来のゲノム情報利用社会の不確実さである。と同時に、この不確実な研究の行方と、それを活かす医療のあり方について社会を準備するためには、広範な受け止め体制の準備が必要である。このような大規模な戦略を英国がとっているのは、打ち出した弾の着弾点が、政策の守備範囲を超えていると、研究成果を活かすことが難しくなると考えられるからである。さらに研究の成果が企業活動を通じて、医療の場で活かされるようになるためには、多様なそして重層する問題がある。このことを視野に入れた英国の取り組みの一側面として、英国のバイオバンクを捉えることが重要である。

【キーワード&略語】

英国バイオバンク, Genetics Knowledge Parks,
公的な研究資源, 科学研究プロトコール, 社会
実験

GKPs : genetics knowledge parks

HGC : human genetics commission

(人類遺伝学委員会)

MRC : medical research council

UK biobank project

Tohru Masui/Yoko Takada : JCRB Cell Bank, Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Sciences (国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部JCRB細胞バンク)

表1 英国バイオバンク年譜

1999年 5月	「英国集団医学・生物学試料収集」に関するワークショップ開催
6月	MRC (Medical Research Council: 医学研究評議会) とウエルカム財団は「英国集団医学・生物学試料収集」の計画立案を予算化
● 9月	死亡小児臓器の無断保存が大きな社会問題となる
11月	MRCは「ヒト組織と試料の研究利用に関する暫定指針」を公表
◎ 12月	HGC (人類遺伝学委員会) の発足
2000～02年	市民, 医療関係者, 専門家, 製薬業界関係者のヒト資料の研究利用に関する意識調査と小グループによる検討会を多数実施
2001年 4月	MRC「ヒト組織と試料の研究利用に関する指針」を公表
8月	「英国集団医学・生物学試料収集のためのプロトコール案」を公表
2001年10月	「英国バイオバンク, 遺伝子と環境と健康に関する研究」背景説明文書の公表
2002年 2月	「英国バイオバンクのためのプロトコール案」を公表
4月	MRC, ウエルカム財団, 保健省による全面的計画実施準備宣言
◎ 4月	GKPs (Genetics Knowledge Parks) の設立
2003年 2月	暫定助言グループをウイリアム・ロレンス博士以下9名で設立。「倫理とガバナンスの枠組」について検討を開始
● 3月	英国議会下院, 科学技術委員会による医学研究評議会の事業監査報告書の中で, 英国バイオバンク計画についての批判を展開する
3月	オックスフォード大学のラドクリフ病院の研究開発責任者, 疫学者ジョン・ニュートン教授がCEOに就任
4月	英国議会の科学委員会に英国バイオバンクのCEOとしてニュートン氏出席
5月	マンチェスター大学が統括調整センターとして, さらに6カ所の地域協力センターが選出された
7月	オックスフォード大学のジョン・ベル教授以下22名が科学委員会委員として科学面でのプロトコールの検討に着手
9月	「倫理とガバナンスの枠組, 第1版」をコメントのために公表
2003年11月～12月	英国バイオバンクが保証有限会社として設立され, 慈善事業に登録
2004年 1月	第1回取締役会 (Board of Directors) 会長アラン・ラングマン卿以下8名
5月	倫理とガバナンス委員会の委員選定委員会, ジョン・ポーキーンホン牧師以下5名により設立
5月	「倫理とガバナンスの枠組, 第1版に対するコメントの報告書」を公表
7月	「試料の取扱いと保存に関する小検討委員会のプロトコールと勧告, 第1版」を公表し意見公募. ポール・エリオット教授以下9名
8月	ブリストル大学のアリストイル・キャンベル教授が倫理とガバナンス委員会の委員長に選出される さらに「参加者の募集」, 「質問項目」, 「収集した情報の利用」, 「情報のセキュリティ」に関する報告書が科学委員会から発表される予定
2005年 9月	本格的事業開始の予定

注: ●は英国バイオバンクに関して直接的に, 批判的影響を与えた事柄
◎は英国バイオバンクを支える主な活動のはじまり

■ 社会的信用の問題

1980～'90年代に英国の医療現場は荒廃し, 現在改革が進行している⁹⁾. 英国では医療機関が保有する医療情報を電子化し, 匿名化して積極的にリスク管理や品質管理のために公開する計画が進められている¹⁰⁾. このしくみの一部はバイオバンクへと医療情報を提供する際に利用される可能性があるという. また, バイオバンク計画の鍵を握る病気にまつわる情報を集めるためには, 医療現場と研究基盤整備計画の連携が必須であり, また, 医療の標準化, 特に診断システムの標準化がキーとなることも, 医療改革の方向性と軌を一にする.

'90年代の英国は公的機関や研究者, 医療者の信用失墜を経験している. BSEや遺伝子改変作物の問題である. 政府, 公的機関には, 社会的信用のためにコストを払う意識が高い. そのために, バイオバンクの計画は2001年4月(表1)の段階まで, めだたないように行われていた. というのは, 準備の整わない段階で, 社会の期待が過熱することを関係者は恐れていたのだ. この姿勢は, 先のBSEと遺伝子改変作物問題から生まれたリスクマネジメント意識として, インタビューした多くのバイオバンク関係者が共有していた.

バイオバンク計画の社会へのインパクトを考えてみよう. この活動に直接関係する範囲50万人は対象年齢の4%弱である. そして, 地域の偏りがないように

選別された家庭医を軸にして、その家庭医に登録^{*}している人たちを対象に計画参加の勧誘を行うという。そのため地域的には例えば5人に1人、あるいはそれ以上というような参加者のネットワークができることになる。

このようなネットワークが地域社会にでき、かつ、直接は加わらない、けれど黙っていない市民が回りにいる。この計画を実施することは、衆人環視の中の社会実験であるという、バイオバンク計画担当者の姿勢を理解することができる。社会実験だから、失敗する可能性もある。だから、慎重に準備しているのだ。参加者の募集や長期の継続的関係の維持を通じて、バイオバンクの活動自体が、ゲノム情報を活かすことのできる社会の創生に寄与するという構想である。

2 英国バイオバンクの歴史

表1に年譜を示した。1998年末あるいは'99年のはじめから、既存のゲノム疫学研究、疫学研究の実態を見直し、それを補完する新たな大規模な公的研究基盤の整備として計画がはじまっている。そして、'99年6月の準備計画の予算化、2002年4月の正式計画実施準備宣言を経て2005年9月の本格実施をめざして準備が進んでいる。

英国での研究費の支給システムの全般についてはよくわからないのだが、英国バイオバンクの予算約90億円は¹¹⁾、2002年4月の時点でその支出が約束されており、バイオバンクCEOのニュートン氏にインタビューしたところ、自分たちの計画が確定され、準備が整った段階で要求することができるという。

英国バイオバンクのHP (<http://www.ukbiobank.ac.uk/>)での定義は、「英国バイオバンクは、病気の予防、診断、治療と社会に行き渡る健康の増進のための多様な研究を支援する大規模な研究資源の整備をめざすものである。この事業は、多くのボランティアの健康状態を長期間(20~30年)にわたり追跡調査し、環境と生活習慣に関する情報を収集し、これらの

情報を、ボランティアの病歴と生物試料(血液と尿)と関連させる。生物試料は保存され、将来の生物学的解析、あるいはゲノム解析に利用することができる。これらの収集された情報と試料は、バイオバンクの目的にかなう、倫理面と科学面での審査によって承認を受けた研究にのみ用いられる。提供者の情報と試料に対する守秘義務を尊重するために、厳密な安全措置を継続的に持続する。匿名化した情報のみが研究に利用される。英国バイオバンクは、この研究資源の存在する間、提供者、研究に利用する人々、そして社会と積極的な相互関係を追及する」である。英国バイオバンクは、あくまでも公的な、すなわち研究者として一定の質をもつと認められた人(qualified researcher)は誰であれ、一定の審査を経て利用できる公共研究資源として計画されている。この意味するところは、ゲノム情報が人類で99.9%共有され、小集団ではさらに高いレベルで共有され、そしてそれに絡む利害関係を解決するために、Public Ownershipを打ち出しているのである。このようなバイオバンクについての考え方の起源は明らかではない。ただ、英国がヒトゲノム研究、人類遺伝学の進展がもたらすものについて意識する中で、同時進行的に起きた、BSEや遺伝子組換え作物などの不祥事の経験を通じ、ゲノム情報時代の利益の公正な共有を考えるためには、公的な所有体制(Public Ownership)という考え方しかないという結論に達したと考えられる。

最後にこの資源共有システムが科学にもつ意味について簡単にふれる。

3 英国バイオバンクの科学的側面

英国バイオバンクの研究プロトコールに関しては、過去3回報告書が出ている。表2にその目次を掲げる。この検討の芯となるのは、2002年2月に公表された文書であることがわかる。ここで扱われている項目の一部が、2004年7月に公表された収集生物試料の取り扱いへと発展している。全体の研究計画に関しては、2004年12月現在科学委員会(図1)で検討中の「参加者の募集」、「質問項目」、「収集した情報の利用」、「情報のセキュリティ」の報告書で扱われるという。また、倫理的配慮や対社会という側面は現在委員の選考の最終段階に入っている倫理とガバナンス委員会が担当する(図1)。

※ 家庭医への登録

英国の医療は国営であり、国立保健サービス(NHS)より提供される。そこで、英国人は疾患のあるなしにかかわらず、まず地域で開業している家庭医に登録しなければならない。そこでこのシステムによって健常人のリクルートができるのである。

表2 英国バイオバンクの研究計画プロトコルの検討過程

<p>Report of the UK Population Biomedical Collection Protocol Development Workshop 2001年10月 http://www.ukbiobank.ac.uk/documents/protocol-workshop.pdf</p>	<p>Protocol for the UK Biobank 2002年2月 http://www.ukbiobank.ac.uk/documents/draft-protocol.pdf</p>	<p>Sample Handling and Storage Subgroup Protocol and Recommendations 2004年7月 http://www.ukbiobank.ac.uk/Sample%20Storage%20report/Sample%20Handling%20and%20Storage%20Subgroup%20report%20for%20comment.pdf</p>
<p>導入部 実務的,技術的問題—ワークショップの報告 血液試料:収集,抽出,保存,解析 コホートの選択と募集 情報技術:データの収集とデータベース 食物摂取の数値化について 倫理:承諾とフィードバック</p> <p>ベースラインデータの収集と結果の評価 ワークショップの報告 心臓血管 糖尿病/代謝異常疾患 呼吸器病/感染症 精神病/神経疾患 癌 筋肉と骨の病気</p> <p>全般の議論にかかわる問題点</p>	<p>1.要約 背景 目的 方法 期待される成果と知識への貢献</p> <p>2.研究計画の記載 目的 提案の性質と用語定義 理由づけ ねらいと目的 研究仮説の例 研究デザイン 参加者の年齢と収集の規模 ベースラインの測定と生物試料</p> <p>背景 先行研究 血液試料を用いた他の大規模研究 国を対象とした生物試料の収集 コホートと他のタイプの研究</p> <p>研究計画 提案された研究計画の構造 参加者の募集 コホートの構成 要求される標本数の確保 家庭医の選任に関して 年齢と性別 民族性 ベースライン測定 質問票 承諾 聞き取り 身体測定 食事に関するさらなるデータ</p> <p>血液試料 要請 収集 処理と長期保存 解析 データ管理,品質管理と安全措置 回帰希釈のための参加者のための部分集団への再調査 分子,タンパク質,代謝物の測定を取り入れた研究 ファーマコジェネティクス</p> <p>追跡手順 国民医療サービス(NHS)の中央登録による追跡 家庭医とNHSの他の情報を用いた追跡 参加者への質問回答を通じた追跡と情報の更新 診断の評価 追跡での喪失を最小にするために</p> <p>データ管理 参加者の募集 データ入力 守秘性の高い情報の取扱いと保存 組織</p> <p>統計的解析手法 遺伝子型と環境暴露の協働解析 サンプル数と解析力 コホート内でのイベントの期待値 解析力に関する議論</p> <p>研究要員の教育訓練 予備的研究 コホートにおける他の研究 ものの流れと時間管理</p> <p>3.研究器材と社会基盤の将来の開発 4.期待される成果と知識への貢献 研究と富に関する意味 5.倫理的考慮事項 インフォームド・コンセント 守秘 リスクとベネフィットの勘案 リスク ベネフィット 追加的倫理についての配慮事項 参加者へのフィードバック 商業的な活動に参加すること</p> <p>6.他の研究計画とのリンク 7.研究成果の普及 8.表11枚 9.図6枚 10.付録 11.参考文献</p>	<p>1.要約 勧告の要旨</p> <p>2.収集のデザインを決めることによる対応 試料の質と将来の利用価値 技術的開発 処理過程の開発 経費</p> <p>3.英国バイオバンクのプロトコル勧告案 英国バイオバンクの組織 勧告 科学的妥当性 処理過程の記載とその意味 試料と処理過程の質の一貫性 経費 自前の処理過程 全体の処理手順 地域協働センターにおける一次処理 勧告 科学的妥当性 結論 処理過程の記載とその意味 血液と尿試料の収集 処理センターへの一夜の中の輸送 勧告 科学的妥当性 処理過程の記載とその意味 尿 DNA抽出のために紙に全血を吸収させて保存 血球像解析,生化学的,免疫学的解析 処理過程の自動化 品質の確認と管理の手順</p> <p>試料の保管と分配 勧告 科学的妥当性 全体像 処理過程の記載とその意味 液体試料 マイナス80度の試料に関する 大規模保管取り出しの自動化 大規模液体窒素保存施設 乾燥試料 試料の追跡管理と在庫管理 参加者の部分集団での試料再採取 勧告 科学的妥当性 処理過程の記載とその意味</p> <p>4.予備研究 勧告 科学的妥当性 処理過程の記載とその意味</p> <p>5.図23枚 6.参考文献 7.付録6篇</p>

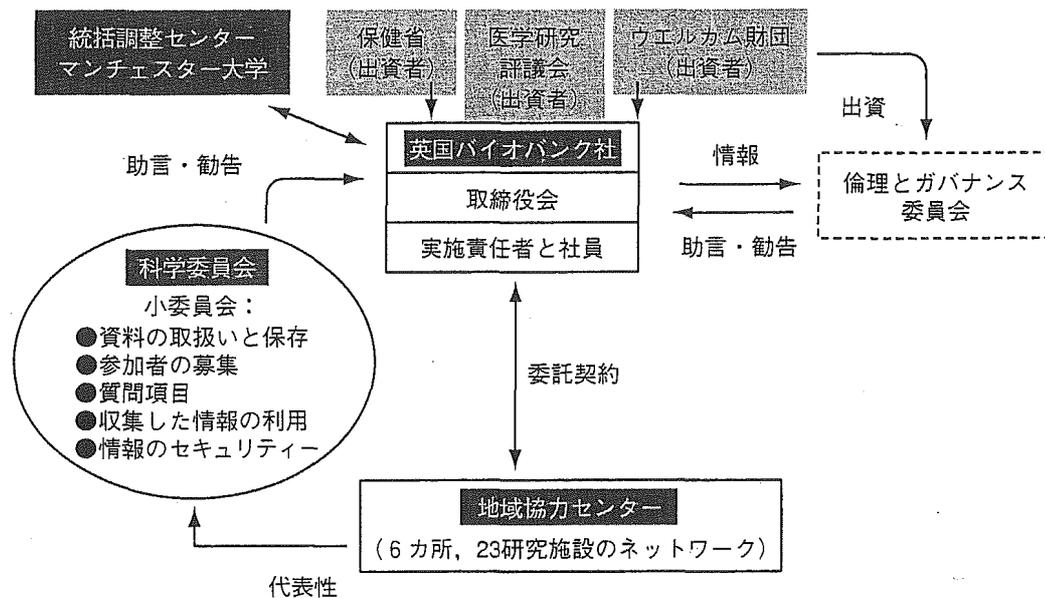


図1 英国バイオバンク組織

英国バイオバンクは、保健省、MRC、ウエルカム財団を出資者として運営される。取締役会が全体の責任をもち、日々の業務の責任は実施責任者（CEO）が負う。試料収集の実務は地域協力センターが行い、統括調整センターが中心的役割を果たす。内部の科学委員会は6つの小委員会をもち、本文中に示した多くの問題についてのプロトコールを作成する。英国バイオバンクの「人由来試料と情報」の長期のオープンエンドの利用を可能にするために、倫理とガバナンス委員会がバイオバンクの活動を監督し、取締役会に助言・勧告する

収集生物試料の取り扱いについての報告書は '04年7月に公表され、1カ月のパブリックコメントに付された。今後、改訂版が公表される。他の科学委員会からの報告書、さらには倫理とガバナンスの枠組みについても、広く意見を受け、それに対応した改訂が行われるという。

最初のプロトコールは39ページであり、2番目に公表されたものは47ページである。その時点までは、タンパク質に関する記載は少なかった。ところが、最新の報告書では、全体91ページの後半3分の2は、タンパク質試料に関する問題を扱っている。

プロテオーム研究において、健康な人が年を経る過程に罹る過程を追いながら、その個人の健康なときのサンプルを対照として疾患特異的な生体マーカーの研究ができる体制が必要である。ゲノム情報を基礎として環境因子の影響の下に発症する生活習慣病の研究において、健康人の長期追跡体制を、生物学試料の収集保存とリンクして行うことの重要性が、前面に押し出されている。このあたり、ゲノム情報だけでは難しい問題への意欲的な取り組みがみられ、興味深い。

誌面の関係で多くのことを語るができない。しかし、バイオバンクを公的な資金90億円（こんなも

ので済むとは、誰も考えていないようであるが) によって行うために、科学性を確保する努力が行われている様子は、「公的な共有体制」を必要とする大規模ゲノム研究の性質を端的に現している。

英国バイオバンクを上と下から支えるゲノム政策

先に述べた1990年代のBSEと遺伝子改変作物の騒動を通じて、公的な機関、政府や学者研究者が信用を失った。この経験を通じて、英国では '98年から '99年にかけてバイオテクノロジーの助言・勧告と規制の枠組みに関する見直しが行われた¹²⁾。その結果生まれたのが人類遺伝学委員会（HGC：human genetics commission）である。この '99年の勧告へ至る様子を図2に示す。HGCの勧告を受けるのは、政府と担当大臣であるが、そのほかに13機関に影響が及ぶ。助言・勧告と規制の機能を分け、規制機関を細分化することによって、社会的信用を保持する機能が保たれているという。このHGCを中心にした体制が、英国バイオバンク事業計画に対しても、間接的に勧告機能をもつ。

次に、2002年に設立されたGKPs（genetics knowledge parks）について紹介する。人の健康に関する、

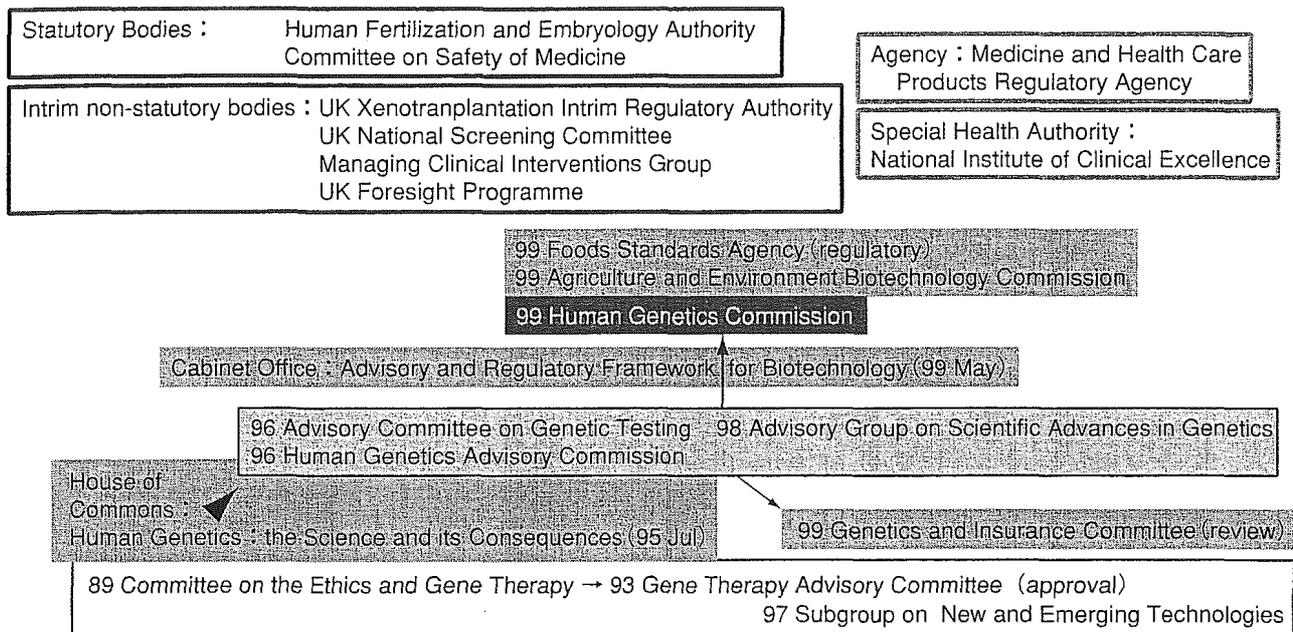


図2 バイオ技術に関する助言・勧告と規制の枠組み

英国は1990年代の遺伝子改変作物の問題を期に、科学研究政策に対する助言・勧告と評価体制の見直しを行い、'99年5月に報告書を公表した。その結果'99年12月にHGC (Human Genetics Commission) が設立された。そのときにAdvisory Committee on Genetic Testing, Advisory Group on Scientific Advances in Genetics, Human Genetics Advisory Commissionを吸収した。HGCは図の上部に示す8の助言・勧告機関と規制機関の活動を阻害することなく、協働して働くことが求められている。また、同じゲノム問題の領域には、Genetics and Insurance CommitteeとGene Therapy Advisory Committee, および後者の下部機関であるSubgroup on New and Emerging Technologiesが存在し、HGCと密な連携を取ることが期待されている (文献12より作成)

ゲノム研究を中心とした医学・生物学研究について国際的に通じる研究や社会活動を支援し、発信するCOEとして構想された。この活動は、ゲノム分野だけではなく、バイオテクノロジー全体を含む研究とその実用化の活動と、その受け皿の整備を社会的実験として位置づけていると考えられる。事業は保健省と通産省との共同事業として、支援基金30億円の5年計画である。スタッフは地域の大学などの人材が参加し、この計画によって新規で雇われる人は少ない。基金は、建物や人件費ではなく、主に活動資金に利用されている。保健省はさらにパートナーとして私企業の参画を広く求めることによって、資金と人材を結集しGKPsの活性化を図っている。

事業内容は、以下のような研究自体、その成果の意味、それらと社会の関係に関するあらゆる側面を検討することが含まれる。その中には、英国内の問題として、NHS (国立保健サービス) においてゲノム研究成果を医療に活かすための問題、英国企業の国際戦略におけるゲノム研究の問題なども含まれる。そのほかに、

- ・研究開発活動
 - ・教育・訓練と公衆の参画
 - ・成果活用プログラム
 - ・監視のための基盤整備
- が行われている。

保健省は公募して4カ所をGKPsに選定する予定であった。しかし、申請された事業計画の質が高いという理由で、イングランド内で5カ所とウェールズに設置されることとなった。それらは、ニューキャッスル、マンチェスターを中心とする西北部地域、オックスフォード、ケンブリッジ、ロンドン、そしてカーディフである (図3)。

実際にそれぞれの地を訪問すると、地域でのそれまでの研究・活動の成果を活かす形で個々のGKPが設計されていることが理解される。それぞれの地域がその利点を最大限に活かす研究計画を策定しているのだ。このような体制は、重要な問題について異なった視点からの検討を行うことができ、かつ補い合うネットワークを構築する可能性を生んでいる。重要な点は、ゲ

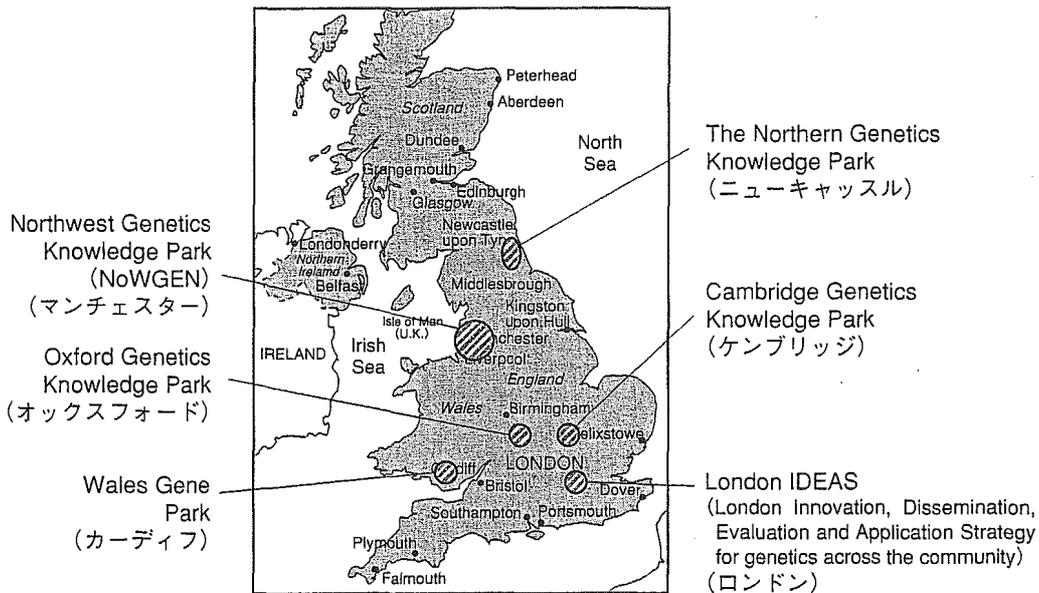


図3 英国の Genetics Knowledge Parks

ノム研究, バイオテクノロジーという将来像の不確定な領域の広大な実験場を, 英国内に設けたことにあると考えている. 5年後の評価で, これらの多様な活動の中から, 芽の出たものを育てていくのだろう.

HGCとGKPsというTop downとBottom upの活動が, 公的な研究資源バンクである英国バイオバンクを支えていると考える.

おわりに

科学を支えている大きな柱の1つは検証可能性である. それは, 同じ材料を用いて, 同じ方法を用いて, 同じ結果を得るという「実験の再現」を基本とする.

科学論文が, 材料と方法, 結果, そして議論と考察という章立てになっているのは, 同じ実験結果からでも異なった考察によって, 異なった結論へ至る可能性をもっているからだ. そのことは, 論文読みの最初に習うことである. 後半の議論と考察を支えるのは, 前半の道具立てである. 同じと思っている材料が同じなのかという問題も大きい.

そういう目で, 一流国際学術誌の投稿規程を整理してみると, 材料の共有に関する考えかたが明確に示されている(高田&増井, 未発表). 雑誌の性質によって多少異なるが, 「その実験で用いた材料の提供を求められた場合には, それに応ずること」を受理の条件として示している. もちろん, 現実はその簡単な話

ではなく, 材料を得ることは難しい. 英国バイオバンクの切り開いてきた人体由来の情報と試料の共有という夢は, 人の生物学としての医学の夢でもあるのだ.

英国バイオバンクも, そしてHGCも, PKGsもすべて英国の国際戦略において位置づけられている. ゲノム研究も先端医療の研究も, 医療の場からはじまり, 医療の場へ帰る. 研究が社会との相互作用ではじまり, 社会へ戻ることは, さらに大枠の構造である. 英国において製薬企業の活性化策と並列で論じられる, これらの壮大な道具立てについて, 英国の実験を注意深く見守り, 学ぶべきものは学ぶことが重要であると考えている.

この分野の検討に加わり, 多くの方々のご教示を賜ったことに感謝する. また, このような活動を支援して下さいいる林真部長, 水澤博室長, 細胞バンク(JCRB)の同僚に心から感謝する. 本研究は, 厚生労働省研究費・ヒトゲノム再生医療研究・宇都木伸班, およびHS創薬等総合研究事業・林真班, 文部科学省・科学技術振興調整費・野口和彦班によって助成されている.

文献

- 1) 増井 徹: SRL宝函, 28: 161-166, 2004
- 2) 増井 徹, 水澤 博: ヒューマンサイエンス, March 2004: 16-20, 2004
- 3) 増井 徹: バイオサイエンスとインダストリー, 62: 468-471, 2004

- 4) 増井 徹：SRL宝函，27：170-176, 2003
- 5) 増井 徹：世界11月号：199-208, 2003
- 6) 増井 徹：ジュリスト，1247：29-36, 2003
- 7) 増井 徹，高田容子：薬学雑誌，123：107-119, 2003
- 8) 織井優佳：朝日総研レポート，168：2-15, 2004
- 9) 『医療費抑制の時代を超えて—イギリスの医療・福祉改革』(近藤克則／著)，医学書院，2004
- 10) Information Policy Unit, Dept. of Health：Building the Information Core, 2001
- 11) House of Commons, Science and Technology Committee：The Work Review of the Medical Research Council, 2003
- 12) The Human Genetics Commission：The UK Regulatory and Advisory Framework for Human Genetics, 2000年5月．<http://www.hgc.gov.uk/raframework.pdf>

<著者プロフィール>

増井 徹：人由来の情報とモノの研究利用について，戦略的視点から調査研究をはじめ10年になる．その間に日本では多くの研究指針が策定された．この過程で，科学研究のもつ評価を拒否する本性は，「評価可能性」へと押し込められた．しかし，科学の歴史が示すように，評価され，研究費が潤沢な領域から新しいものが出てくる可能性は少ない．社会基盤の整備を通じて，人を対象とした科学研究が「野生」を失わないようにすることが重要であると考えられる．英国での動きはこのことを突きつけてくる．

高田容子：この研究領域に入ってから3年になる．獣医の立場としては実験動物の問題も気になるところだ．しかし，急を要する人の問題ですらこの状態だと，いつになったら動物の問題へ移れるのかは疑わしい．今回，科学研究の検証に欠かすことのできない研究資源の共有体制を，国際誌の投稿規程から整理してみた．情報とモノの共有による研究体制が，科学の本質に属することに改めて気がつかされた．

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Life Sciences 76 (2004) 281–292

Life Sciences

www.elsevier.com/locate/lifescie

Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between simvastatin and diltiazem in patients with hypercholesterolemia and hypertension

Hiroshi Watanabe^{a,*}, Kazuhiro Kosuge^a, Shinichiro Nishio^a, Hiroshi Yamada^a, Shinya Uchida^a, Hiroshi Satoh^b, Hideharu Hayashi^b, Takashi Ishizaki^c, Kyoichi Ohashi^a

^aDepartment of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Hamamatsu University School of Medicine, 1-20-1 Handayama, Hamamatsu 431-3192, Japan

^bDepartment of Internal Medicine III, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu 431-3192, Japan

^cDepartment of Pharmacology and Therapeutics, Graduate School of Clinical Pharmacy, Kumamoto University, Kumamoto 860-8555, Japan

Received 30 April 2004; accepted 14 June 2004

Abstract

Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between simvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitor, and diltiazem, a calcium antagonist, were investigated in 7 male and 4 female patients with hypercholesterolemia and hypertension. The patients were given, for one in a three consecutive 4-week periods, oral simvastatin (5 mg/day), oral simvastatin (5 mg/day) combined with diltiazem (90 mg/day), and then oral diltiazem (90 mg/day), respectively. The area under the plasma concentration versus time curve up to 6 hours post-dose (AUC_{0-6h}) and maximum plasma concentrations (C_{max}) of the drugs, serum lipid profiles, blood pressures and liver functions were assessed on the last day of each of the three 4-week periods. After the combined treatment period, C_{max} of HMG-CoA reductase inhibitor was elevated from 7.8 ± 2.6 ng/ml to 15.4 ± 7.9 ng/ml ($P < 0.01$) and AUC_{0-6h} from 21.7 ± 4.9 ng·hr/ml to 43.3 ± 23.4 ng·hr/ml ($P < 0.01$), while C_{max} of diltiazem was decreased from 74.2 ± 36.4 ng/ml to 58.6 ± 18.9 ng/ml ($P < 0.05$) and its AUC_{0-6h} from 365 ± 153 ng·hr/ml to 287 ± 113 ng·hr/ml ($P < 0.01$). Compared to simvastatin monotherapy, combined treatment further reduced LDL-cholesterol levels by 9%, from 129 ± 16 mg/dl to 119 ± 17 mg/dl ($P < 0.05$). No adverse events were observed throughout the study. These apparent pharmacokinetic interactions, namely the increase of HMG-CoA reductase inhibitor concentration by diltiazem

* Corresponding author. Tel.: +81 53 435 2385; fax: +81 53 435 2384.
E-mail address: hwat@hama-med.ac.jp (H. Watanabe).

and the decrease of diltiazem concentration by simvastatin, enhance the cholesterol-lowering effects of simvastatin during combined treatment.

© 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: HMG-CoA reductase inhibitor; Simvastatin; Diltiazem; Pharmacokinetic interaction; Pharmacodynamic interaction

Introduction

Control of hypercholesterolemia is of prime importance for the primary and secondary prevention of coronary artery disease (CAD) (Gould et al., 1995; Tonkin, 1995; Shepherd, 1998). Currently, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors are the first-line therapy for patients with elevated serum low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol (Gotto, 1998; Wood, 2001). Among the HMG Co-A reductase inhibitors, simvastatin is widely used and has been shown to reduce morbidity and mortality from CAD (The Scandinavian Simvastatin Survival Study, 1994). Simvastatin is an inactive lactone pro-drug that is hydrolysed by esterases to simvastatin acid, the active competitive inhibitor of HMG-CoA reductase (Vickers et al., 1990, 1990; Prueksaritanont et al., 1997). Since HMG-CoA reductase is responsible for the conversion of HMG-CoA to mevalonic acid, the rate-limiting step in the hepatic cholesterol biosynthesis, the inhibition of HMG-CoA reductase lowers serum cholesterol levels (Goldstein and Brown, 1990). Although cytochrome P450 (CYP) is not involved in the conversion of simvastatin to simvastatin acid, the oxidative metabolism of simvastatin to the metabolites, 3,5'-dihydrodiol, 3'-hydroxy and 6'-exomethylene, is mainly mediated by CYP3A4 (Vickers et al., 1990, 1990; Prueksaritanont et al., 1997). In a crossover study in healthy volunteers (Neuvonen et al., 1998), the areas under the plasma concentration versus time curves (AUCs) of simvastatin and simvastatin acid after a single oral dose of simvastatin were increased 10-fold and 19-fold, respectively, following 4 days of treatment with 200 mg/day itraconazole, an agent that has been shown to increase the plasma concentrations and half-lives of many drugs metabolized by CYP3A4 by inhibiting the enzyme (Kivistö et al., 1997; Wang et al., 1999).

Hypercholesterolemia is often accompanied by hypertension, an associated risk factor for CAD (Gould et al., 1995; Gotto, 1998; Wood, 2001). The calcium antagonist diltiazem is effective for the management of hypertension, supraventricular arrhythmias and angina pectoris (Chaffman and Brogden, 1985; Hansson et al., 2000; Nakagawa and Ishizaki, 2000), and is often prescribed in association with lipid-lowering agents like simvastatin (The Scandinavian Simvastatin Survival Study, 1994; Gotto, 1998; Wood, 2001). Diltiazem is extensively metabolized in the liver, primarily by deacetylation and demethylation by CYP3A4 into a host metabolite, N-desmethyl-diltiazem, which, together with diltiazem, in turn selectively inhibits CYP3A4, but not CYP1A2, CYP2C9, or CYP2E1 (Sutton et al., 1997; Jones et al., 1999). Accordingly, pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions may theoretically happen upon co-administration of diltiazem and a drug metabolized by CYP3A4 like simvastatin.

Indeed, combined treatment of diltiazem and simvastatin has been shown to cause a 5-fold increase in the AUC of simvastatin (Mousa et al., 2000). Lovastatin, which is pharmacokinetically similar to simvastatin, also interacts with diltiazem (Azie et al., 1998). A recent retrospective analysis shows that patients who had taken both simvastatin and diltiazem needed lower doses of simvastatin to achieve

the recommended reduction in serum cholesterol (Yeo et al., 1999), suggesting a pharmacokinetically-driven pharmacodynamic interaction between the two drugs. However, steady state bi-directional pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between simvastatin and diltiazem has not been prospectively evaluated. In this study we prospectively studied the pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between simvastatin and diltiazem in patients with hypercholesterolemia and hypertension.

Methods

Subjects

Enrolled were 7 male and 4 female patients (age: 62.0 ± 7.5 years; body weight: 62.6 ± 5.4 kg, mean \pm S.D.) with hypercholesterolemia and hypertension who had taken simvastatin (5 mg/day) and the angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril (5 mg/day) for more than 3 months and had reached the plateau control (Table 1). Inclusion criteria were: age of at least 18 years, basal total cholesterol or LDL-cholesterol levels greater than 220 mg/dl or 140 mg/dl, respectively, and systolic blood pressure (BP) or diastolic BP levels greater than 140 mmHg or 90 mmHg, respectively, without medication. Before the start of any lipid-lowering and antihypertensive therapy, basal total cholesterol levels were 249 ± 28 mg/dl; LDL-cholesterol, 166 ± 23 mg/dl; systolic BP, 151 ± 29 mm Hg; and diastolic BP, 88 ± 11 mm Hg. The subjects had no history of hepatic or renal disease. At the end of the pre-trial phase with simvastatin (5 mg/day) and enalapril (5 mg/day) for more than 3 months, the average total cholesterol level was 207 ± 23 mg/dl; LDL-cholesterol, 129 ± 15 mg/dl; systolic BP, 142 ± 22 mm Hg; and diastolic BP, 84 ± 12 mm Hg.

Table 1
Patient demographics and basic medical data (mean \pm S.D.)

Age (y)	62.0 ± 7.5
Sex (M/F)	7/4
Body weight (kg)	62.6 ± 5.4
Serum creatinine (mg/dl)	0.72 ± 0.19
AST (IU/l)	21.4 ± 3.8
ALT (IU/l)	20.0 ± 9.3
Creatine kinase (IU/l)	109 ± 48
Total cholesterol (mg/dl)	249 ± 28
LDL-cholesterol (mg/dl)	166 ± 23
HDL-cholesterol (mg/dl)	50 ± 10
Triglyceride (mg/dl)	168 ± 82
Systolic BP (mmHg)	151 ± 29
Diastolic BP (mmHg)	88 ± 11
Heart rate (beats/min)	72 ± 10

AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein; BP, blood pressure.

Study design

This was a three-phase fixed-order design study: (1) administration of oral simvastatin (5 mg/day) for 4 weeks, (2) co-administration of oral diltiazem (30 mg three times a day) and simvastatin (5 mg/day) for 4 weeks, and (3) administration of oral diltiazem (90 mg/day) alone for another 4 weeks. The AUC up to 6 hours post-dose (AUC_{0-6h}) and C_{max} of the drugs, serum lipid profiles and liver function were evaluated, as specified below. No drug other than simvastatin and/or diltiazem was taken during the study period. Patients who developed symptoms due to withdrawal of lipid-lowering medication or whose systolic BP or diastolic BP respectively exceeded 180 mmHg or 110 mmHg following discontinuation of antihypertensive therapy were withdrawn from the study and appropriate therapy re-established. The study protocol, consent forms, and volunteer information documents were approved by Hamamatsu University School of Medicine Independent Review Board. All subjects provided written informed consent before participating in the trial.

Blood sampling

Blood samples were obtained on the last day of each of the three 4-week periods. After an overnight fast, a pre-dosing venous blood sample was taken, and then simvastatin (5 mg) and/or diltiazem (30 mg) was/were given. All patients drank a glass of water after swallowing the tablets. Blood samples were then taken 2, 3, 4 and 6 hours later. Standardized breakfast and lunch were served 2 and 4 hours after drug intake. Plasma was separated within 30 minutes and stored at -70°C until analysis.

Blood pressure measurement

On the last day of each trial periods, systolic BP and diastolic BP were measured twice each using an automatic electronic sphygmomanometer (BP-103i II, Nippon Colin, Komaki, Japan) at the sitting position before and 2, 3, 4 and 6 hours after the administration of the drug(s).

Determination of diltiazem concentration

Diltiazem concentrations were measured by an HPLC assay with an ultraviolet detection, as described by Abernethy et al. (1985). Diltiazem was resolved from the internal standard desipramine with a mobile phase of 0.06 mol/l acetate buffer/acetonitrile/methanol (58:37:5) that contained 5 mmol/l heptane sulfonic acid and glacial acetic acid to adjust pH to 6.4. A reversed-phase C_{18} Bondapak column (30 cm \times 3.9 mm, Waters Chromatography, Milford, MA) was eluted at 1.8 ml/min and detection was performed by ultraviolet absorbance at 254 nm. The calibration range was 5–300 ng/ml. The intra-day and inter-day coefficients of variation were less than 9%.

Determination of simvastatin HMG-CoA reductase inhibitor concentrations

HMG-CoA reductase inhibitor concentrations were determined as previously described (Arnadottir et al., 1993). An equal volume of methanol was added to the plasma samples and the mixtures were vortexed thoroughly, kept on ice for 10 minutes and centrifuged. Fifty microliters of the supernatants were dried in an evaporator (SpeedVac, Savant Instr. Farmingdale, NY). The reaction mixture (96 μ l) was added

directly to the dried residues to make a final volume of 100 μ l containing 0.1 M KPO₄ (pH 7.4), 10 mM 1, 4-dithiothreitol (DTT), 0.2 mM NADH⁺ (made fresh daily), 5 mM glucose-6-phosphate, 1.4 U/ml glucose-6-phosphate dehydrogenase and 1 mg/ml bovine serum albumin. The reaction mixture was incubated for 5 minutes at 37 °C and soluble rat liver HMG-CoA reductase was added to 2 μ l buffer A: 0.04 M KPO₄ (pH 7.4), 0.05 M KCl, 0.1 M sucrose, 0.03 M ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and 0.01 M DTT (added immediately before use). The mixture was incubated at 37 °C for 5 minutes in the presence of the inhibitor-containing plasma sample. The reaction was then started with 2 μ l of 1.25 mg/ml HMG-CoA containing 17.5 μ Ci/ml glutaryl-3-[¹⁴C]-HMG-CoA. After an additional 6-minute incubation at 37 °C, 20 μ l of 5 N HCl was added to lactonize the mevalonic acid formed. After 15 minutes, 3.5 ml of a 1:1 suspension of BioRad AG 1 \times 8 resin (200–400 mesh) was added and the tubes (13 \times 100) were thoroughly vortexed. [¹⁴C]-mevalonolactone was filtered from the resin suspension through polystyrene filters (pore size 70 μ m, EverGreen, Los Angeles, CA) into scintillation vials containing 15 ml of Aquasol-2 (New England Nuclear, Newton, MA) and counted on a scintillation counter. Percent inhibition was converted to the inhibitor concentration using a standard curve constructed by extracting from the control plasma containing known amounts of L-654, 969, the free acid form of simvastatin. The results were expressed as nanograms of inhibitor per milliliter of plasma. The intra-day and inter-day coefficients of variation for the HMG-CoA reductase activity assay were less than 6%.

Statistical analysis

Data were analyzed by 2-way ANOVA, a paired Student's *t* test, or Wilcoxon signed-rank test where appropriate. Differences with *P* values < 0.05 were considered statistically significant. All values are given as means \pm S.D.

Results

Pharmacokinetic interactions between simvastatin and diltiazem

HMG-CoA reductase inhibitor concentrations after simvastatin administration with or without diltiazem are shown in Fig. 1A. HMG-CoA reductase inhibitor values for C_{max}, time to C_{max} (T_{max}) and AUC_{0–6h} after simvastatin administration without diltiazem were 7.8 \pm 2.6 ng/ml, 2.3 \pm 0.5 h and 21.7 \pm 4.9 ng \cdot h/ml, respectively. Co-administration of diltiazem with simvastatin increased C_{max} and AUC_{0–6h} of HMG-CoA reductase inhibitor concentrations to 15.4 \pm 7.9 ng/ml (*P* < 0.01) and 43.3 \pm 23.4 ng \cdot h/ml (*P* < 0.01), respectively (Fig. 1B), but did not affect T_{max} of HMG-CoA reductase inhibitor (2.3 \pm 0.5 h). There was a considerable inter-individual variability in the effect of diltiazem on the levels of HMG-CoA reductase inhibitor (Fig. 1B): the AUC_{0–6h} of HMG-CoA reductase inhibitor concentration was increased by 422% in a patient and 7% in another.

Diltiazem concentrations after diltiazem administration with and without simvastatin are shown in Fig. 2A. After the last oral intake of diltiazem without simvastatin, C_{max}, T_{max} and AUC_{0–6h} of diltiazem were 74.2 \pm 36.4 ng/ml, 3.4 \pm 1.2 h and 365 \pm 153 ng \cdot h/ml, respectively. In contrast to the effects of the combined treatment on the pharmacokinetics of HMG-CoA reductase inhibitor concentrations, co-administration of simvastatin with diltiazem decreased C_{max} and AUC_{0–6h} of diltiazem to 58.6 \pm 18.9 ng/ml (*P* < 0.05) and 287 \pm 113 ng \cdot h/ml (*P* < 0.01), respectively, while the

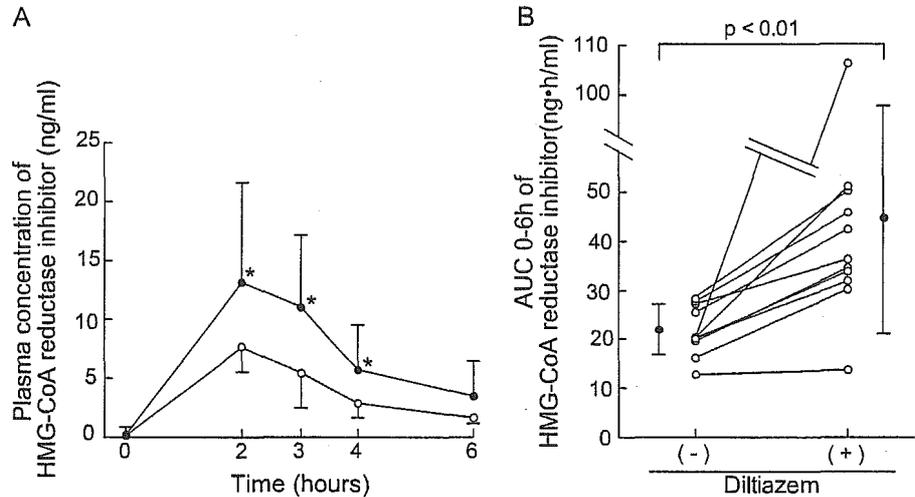


Fig. 1. Effect of diltiazem on plasma concentration and AUC_{0-6h} of HMG-CoA reductase inhibitor. (A) Plasma concentrations of HMG-CoA reductase inhibitor observed on the last day of 4 weeks of treatment with simvastatin (5mg/day) (open circles) or combined treatment with simvastatin (5mg/day) and diltiazem (90mg/day) (closed circles). Error bars represent S.D. *Significant difference from simvastatin monotherapy ($P < 0.05$). (B) Individual AUC_{0-6h} values for HMG-CoA reductase inhibitor (open circles) with (right) and without diltiazem (left) in the 11 patients. Closed circles with the bars indicate means \pm S.D.

T_{max} of diltiazem was not affected (3.1 ± 0.9 h) by simvastatin. Plasma diltiazem AUC_{0-6h} values were decreased by simvastatin in 9 of the 11 patients (Fig. 2B).

Pharmacodynamic interactions between simvastatin and diltiazem

Following 4 weeks of simvastatin monotherapy, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, and triglyceride levels were 206 ± 26 mg/dl, 129 ± 16 mg/dl, 50 ± 10 mg/dl, and 135 ± 73 mg/dl,

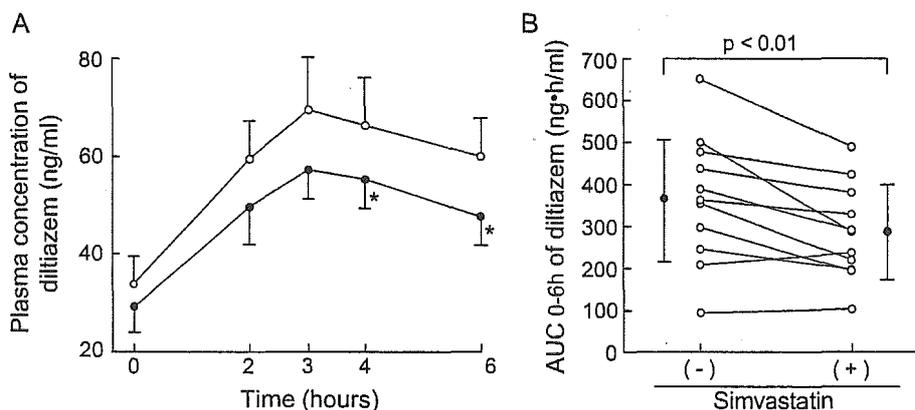


Fig. 2. Effect of simvastatin on plasma concentration and AUC_{0-6h} of diltiazem. (A) Plasma concentrations of diltiazem observed on the last day of 4 weeks of treatment with diltiazem (open circles) or combined treatment with simvastatin and diltiazem (closed circles). *Significant difference from diltiazem monotherapy ($P < 0.05$). (B) Individual AUC_{0-6h} values of diltiazem (open circles) with (right) and without simvastatin (left). Closed circles with the bars indicate means \pm S.D.

respectively (Fig. 3A). These values were not different with those at the end of pretrial phase with simvastatin (5 mg/day) and enalapril (5 mg/day) (total cholesterol, 207 ± 23 mg/dl; LDL-cholesterol, 129 ± 15 mg/dl; HDL-cholesterol, 50 ± 10 mg/dl; triglyceride, 137 ± 68 mg/dl), suggesting that the treatment with simvastatin reached the plateau control during the pretrial phase. Co-administration of diltiazem and simvastatin further reduced the mean total and LDL-cholesterol levels to 196 ± 32 mg/dl ($P < 0.05$) (Fig. 3B) and 119 ± 17 mg/dl ($P < 0.05$), respectively, but did not influence HDL-cholesterol and triglyceride levels, which were 49 ± 11 mg/dl and 140 ± 72 mg/dl, respectively. On the other hand, after simvastatin was withdrawn during the last 4 weeks of diltiazem monotherapy, total cholesterol and LDL-cholesterol levels increased to 245 ± 33 mg/dl and 163 ± 21 mg/dl ($P < 0.01$), respectively, while HDL-cholesterol and triglyceride levels were not affected (51 ± 12 mg/dl and 157 ± 77 mg/dl, respectively).

After 4 weeks of simvastatin monotherapy, baseline systolic and diastolic BP increased from 142 ± 22 mm Hg to 152 ± 28 mm Hg ($P < 0.05$) and from 84 ± 12 mm Hg to 89 ± 10 mm Hg ($P < 0.05$), respectively, compared to baseline BP during the pre-trial phase with simvastatin and enalapril. Simvastatin did not exert any BP-lowering effect. Diltiazem decreased systolic BP from 146 ± 26 mm Hg to 124 ± 9 mm Hg and diastolic BP from 84 ± 11 mm Hg to 75 ± 6 mm Hg at 2 hours post-dose. This effect was not influenced by the combined treatment with simvastatin (baseline systolic BP, 138 ± 18 mm Hg; baseline diastolic BP, 83 ± 13 mm Hg; systolic BP at 2 hours post-dose, 129 ± 19 ; diastolic BP at 2 hours post-dose, 76 ± 12 mm Hg) (Fig. 4).

Serum aspartate aminotransferase (AST; normal range, 11–30 IU/l), alanine aminotransferase (ALT; normal range, 5–42 IU/l), lactate dehydrogenase (LDH; normal range, 115–208 IU/l) and creatine kinase (CK; normal range, 55–204 IU/l) levels appeared to increase, albeit without statistical significance, during the combined therapy period compared with those observed during the simvastatin monotherapy

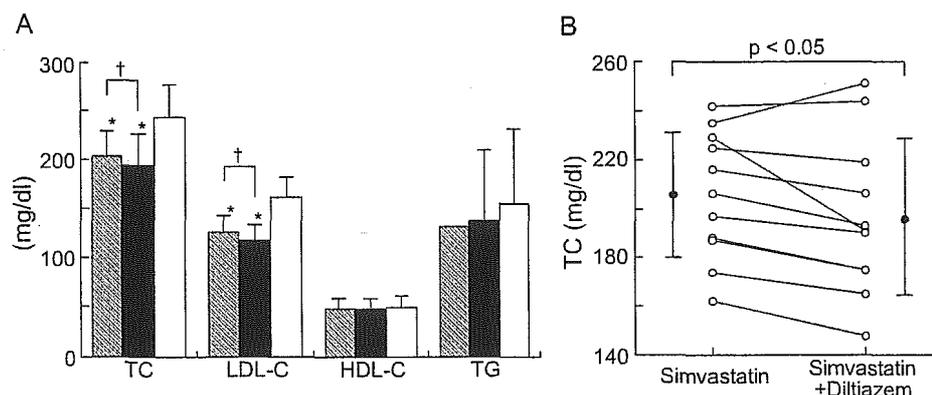


Fig. 3. Lipid profiles during simvastatin monotherapy, combined therapy with diltiazem and simvastatin, and diltiazem monotherapy. (A) Lipid profiles after 4 weeks of simvastatin monotherapy (5mg/day, hatched columns), combined treatment with simvastatin (5mg/day) and diltiazem (90mg/day) (closed columns) or diltiazem monotherapy (90mg/day, open columns). TC, total cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol and TG, triglyceride. * Significant difference from diltiazem monotherapy ($P < 0.05$). †Significant difference between simvastatin monotherapy and combined treatment with simvastatin and diltiazem ($P < 0.05$). (B) Total cholesterol levels in the 11 patients observed after 4 weeks of treatment with simvastatin (90mg/day) (left) or combined treatment with simvastatin (5mg/day) and diltiazem (90mg/day) (right). Closed circles with the bars indicate means \pm S.D.

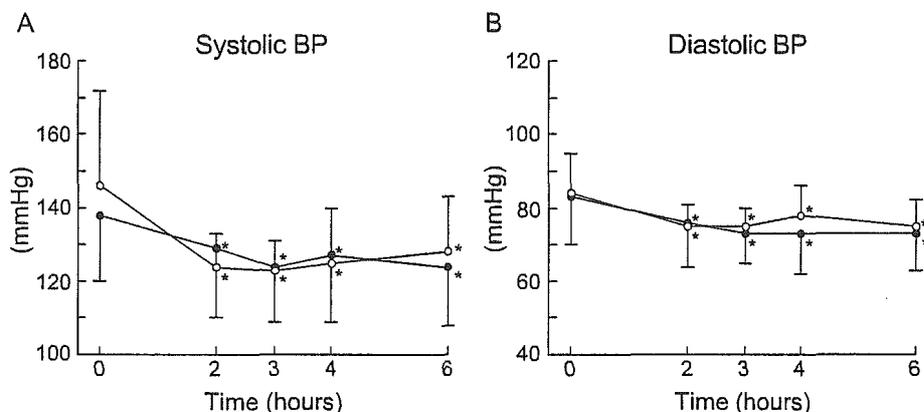


Fig. 4. Blood pressures during combined therapy with diltiazem and simvastatin, and diltiazem monotherapy. Systolic (A) and diastolic (B) BP before and 2, 3, 4 and 6 hours after an oral 30 mg dose of diltiazem with (closed circles) or without (open circles) simvastatin following 4 weeks of treatment with diltiazem alone (90mg/day) (open circles) or combined treatment with simvastatin (5mg/day) and diltiazem (90mg/day) (closed circles). * Significant difference from BP at 0 h ($P < 0.05$). Data are expressed as means \pm S.D.

period: AST, 23.4 ± 4.3 IU/l vs. 21.3 ± 5.1 IU/l, ALT, 22.1 ± 5.6 IU/l vs. 18.9 ± 5.6 IU/l, LDH, 196 ± 42 IU/l vs. 187 ± 32 IU/l, and CK 142 ± 111 IU/l vs. 107 ± 45 IU/l, respectively.

Discussion

Simvastatin and diltiazem are often prescribed together for the treatment of hypercholesterolemia in patients with hypertension and/or angina pectoris (Gould et al., 1995; Gotto, 1998; Wood, 2001). In the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) (1994), which demonstrated a reduction in nonfatal myocardial infarction, cardiovascular death, and total mortality by simvastatin treatment in patients with angina pectoris or previous myocardial infarction, more than 30% of the study population were treated with calcium antagonists including diltiazem. The efficacy and safety profiles of simvastatin and diltiazem are widely accepted (Chaffnan and Brogden, 1985; The Scandinavian Simvastatin Survival Study, 1994; Hansson et al., 2000). The effect of diltiazem on the pharmacokinetics of simvastatin has been previously described, such that the C_{max} and AUC of simvastatin after a single 20 mg oral dose of simvastatin increased by 3.6-fold and 5-fold, respectively, after 2 weeks of treatment with 120 mg diltiazem twice a day (Mousa et al., 2000). However, bi-directional pharmacokinetic interactions and the potential pharmacodynamic impact have not been prospectively studied.

Our prospective study demonstrates that long-term and low-dose co-administration of diltiazem and simvastatin results in two-fold increase of C_{max} and AUC of HMG-CoA reductase inhibitor, which is accompanied by enhanced cholesterol-lowering effect of simvastatin in patients with hypercholesterolemia and hypertension. Interestingly, in contrast to the effect on the pharmacokinetics of simvastatin, the co-administration of simvastatin with diltiazem decreased the C_{max} and AUC of diltiazem without affecting its BP-lowering effects.

These results are consistent with a retrospective study demonstrating that simvastatin caused a 33.3% cholesterol reduction in patients using diltiazem compared with 24.7% in those not using diltiazem (Yeo

et al., 1999). It has also been reported that doubling the dose of simvastatin further reduces serum cholesterol by an average of 5% (Roberts, 1997). This is compatible with our finding that a two-fold increase in the C_{max} and AUC of HMG-CoA reductase inhibitor by co-administration of diltiazem with simvastatin was accompanied by a further 5% reduction in total cholesterol level. The results of our study suggest that patients who require both simvastatin and diltiazem may need a lower dose of simvastatin than when simvastatin is prescribed alone to achieve the desired reduction in total and LDL-cholesterol levels.

The mechanism underlying the decrease in the AUC of diltiazem by the combined therapy with simvastatin remains unknown. Diltiazem is extensively metabolized in the liver into its host metabolites, primarily by deacetylation and demethylation by CYP3A4 *in vitro* and *in vivo* (Chaffman and Brogden, 1985; Pichard et al., 1990; Sutton et al., 1997; Jones et al., 1999; Nakagawa and Ishizaki, 2000; Yeo and Yeo, 2001; Kosuge et al., 2001), and probably in part by CYP2C8/9 (Sutton et al., 1997). In addition, diltiazem has been shown to increase the metabolic ratio of debrisoquine (Sakai et al., 1991), suggesting a possible interference with CYP2D6 (Molden et al., 2002). It is possible that the relevant enzyme activity to metabolize diltiazem or its metabolite(s) might be induced by themselves. Alternatively, simvastatin and/or its metabolite(s) might enhance the activity of enzyme(s) involved in the metabolism of diltiazem after the long term coadministration. Although the C_{max} and AUC of diltiazem were decreased by simvastatin, blood pressure-lowering effect of diltiazem was not influenced by simvastatin. Heart rate of the patients during combined treatment with simvastatin did not differ from that during the diltiazem monotherapy period: 70 ± 10 beats/min vs. 68 ± 7 beats/min, respectively. It is likely that the pharmacokinetic interaction such as the 21% reduction in both the C_{max} and AUC of diltiazem was not sufficient to alter pharmacodynamic response. However, we cannot exclude the possibility that the power was not enough to detect the pharmacodynamic differences. Further investigation is required to clarify the pharmacodynamic impact on blood pressure and the mechanism responsible for the changes in the pharmacokinetic behavior of diltiazem by the combined treatment with simvastatin.

The combined therapy increased the AUC of HMG-CoA reductase inhibitor by as much as 422% in one patient and as little as 7% in another, suggesting a considerable inter-individual variability in the effect of diltiazem on the levels of HMG-CoA reductase inhibitor (Fig. 1B). However, this pharmacokinetic variation did not account for the differences in the pharmacodynamic responses to simvastatin (correlation coefficient: $r = 0.106$, not significant) (Fig. 5A). On the other hand, there was a significant correlation between the AUC of diltiazem and the AUC of HMG-CoA reductase inhibitor ($r = 0.73$, $P < 0.05$) (Fig. 5B). For example, one patient showing the lowest value of the AUC of diltiazem showed the lowest value for the AUC of HMG-CoA reductase inhibitor, suggesting that this patient might be an individual with a high CYP3A4 activity. These findings taken together strongly suggest that simvastatin and diltiazem could be metabolized, at least in part, through a common or shared pathway.

Simvastatin is generally well tolerated and causes few subjective side-effects during chronic treatment, however, rhabdomyolysis is a rare side effect of this HMG-CoA reductase inhibitor that appears to be dose-related. The doses of simvastatin (5 mg/day) and diltiazem (90 mg/day) used in this study are lower than those recommended in Western countries, because these doses are common and approved in the Japanese formulary and have been shown to be sufficient to treat Japanese patients at the clinical practice (Matsuzaki et al., 2002). It is noteworthy that the pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions take place even at the lower doses. Furthermore, the levels of AST, ALT, LDH and CK appeared to increase during the combined therapy with simvastatin and diltiazem compared to the

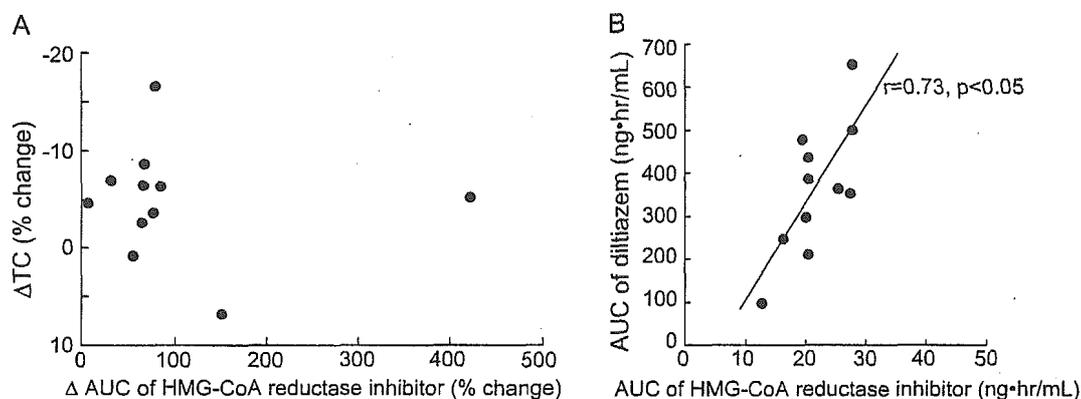


Fig. 5. (A) Percent changes in plasma concentration of HMG-CoA reductase inhibitor versus plasma total cholesterol (TC) concentration after the combined treatment with simvastatin and diltiazem in the 11 patients. Correlation coefficient was 0.106 (not significant). (B) Relationship between the AUCs of HMG-CoA reductase inhibitor and diltiazem in the 11 patients during monotherapy ($r = 0.73$, $P < 0.05$).

simvastatin mono-therapy. The findings strongly suggest that careful monitoring should be carried out for patients under combined treatment with simvastatin and diltiazem at higher doses to avoid any increase in risk of serious adverse effects.

Conclusion

This study is the first to show the bi-directional pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between diltiazem and simvastatin after long-term treatment with both drugs. Combined treatment with diltiazem and simvastatin increases the C_{max} and AUC of HMG-CoA reductase inhibitor and further reduces total and LDL-cholesterol levels. On the other hand, the combination decreases the C_{max} and AUC of diltiazem without affecting its blood pressure-lowering effect. These interactions should therefore be taken into consideration, and pharmacokinetic and pharmacodynamic monitoring may be necessary when these drugs are used concomitantly.

Acknowledgments

The authors are grateful to Dr. Quang-Kim Tran (University of Missouri-Kansas City) for his helpful insights and to H. Kobayashi for technical assistance.

References

- Abernethy, D.R., Schwartz, J.B., Todd, E.L., 1985. Diltiazem and desacetyldiltiazem analysis in human plasma using high-performance liquid chromatography: Improved sensitivity without derivation. *Journal of Chromatography* 342, 216–220.
- Arnadottir, M., Eriksson, L.O., Thysell, H., Karkas, J.D., 1993. Plasma concentration profiles of simvastatin 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase inhibitory activity in kidney transplant recipients with and without ciclosporin. *Nephron* 65, 410–413.

- Azie, N.E., Brater, D.C., Becker, P.A., Jones, D.R., Hall, S.D., 1998. The interaction of diltiazem with lovastatin and pravastatin. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 64, 369–377.
- Chaffman, M., Brogden, R.N., 1985. Diltiazem. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 29, 387–454.
- Goldstein, J.L., Brown, M.S., 1990. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 343, 425–430.
- Gotto Jr., A.M., 1998. Risk factor modification: rationale for management of dyslipidemia. *American Journal of Medicine* 104, 6S–8S.
- Gould, K.L., Casscells, S.W., Buja, L.M., Goff, D.C., 1995. Non-invasive management of coronary artery disease. Report of a meeting at the University of Texas Medical School at Houston. *Lancet* 346, 750–753.
- Hansson, L., Hedner, T., Lund-Johansen, P., Kjeldsen, S.E., Lindholm, L.H., Syvertsen, J.O., Lanke, J., de Faire, U., Dahlof, B., Karlberg, B.E., 2000. Randomised trial of effects of calcium antagonists compared with diuretics and beta-blockers on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Nordic Diltiazem (NORDIL) study. *Lancet* 356, 359–365.
- Jones, D.R., Gorski, J.C., Hamman, M.A., Mayhew, B.S., Rider, S., Hall, S.D., 1999. Diltiazem inhibition of cytochrome P-450 3A activity is due to metabolite intermediate complex formation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 290, 1116–1125.
- Kivistö, K.T., Lamberg, T.S., Kantola, T., Neuvonen, P.J., 1997. Plasma buspirone concentrations are greatly increased by erythromycin and itraconazole. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 62, 348–354.
- Kosuge, K., Jun, Y., Watanabe, H., Kimura, M., Nishimoto, M., Ishizaki, T., Ohashi, K., 2001. Effects of CYP3A4 inhibition by diltiazem on pharmacokinetics and dynamics of diazepam in relation to CYP2C19 genotype status. *Drug Metabolism and Disposition* 29, 1284–1289.
- Matsuzaki, M., Kita, T., Mabuchi, H., Matsuzawa, Y., Nakaya, N., Oikawa, S., Saito, Y., Sasaki, J., Shimamoto, K., Itakura, H., 2002. Large scale cohort study of the relationship between serum cholesterol concentration and coronary events with low-dose simvastatin therapy in Japanese patients with hypercholesterolemia. *Circulation Journal* 66, 1087–1095.
- Molden, E., Johansen, P.W., Bøe, G.H., Bergan, S., Christensen, H., Rugstad, H.E., Rootwelt, H., Reubsæet, L., Lehne, G., 2002. Pharmacokinetics of diltiazem and its metabolites in relation to CYP2D6 genotype. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 72, 333–342.
- Mousa, O., Brater, D.C., Sunblad, K.J., Hall, S.D., 2000. The interaction of diltiazem with simvastatin. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 67, 267–274.
- Nakagawa, K., Ishizaki, T., 2000. Therapeutic relevance of pharmacogenetic factors in cardiovascular medicine. *Pharmacology and Therapeutics* 86, 1–28.
- Neuvonen, P.J., Kantola, T., Kivistö, K.T., 1998. Simvastatin but not pravastatin is very susceptible to interaction with the CYP3A4 inhibitor itraconazole. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 63, 332–341.
- Pichard, L., Gillet, G., Fabre, I., Dalet-Beluche, I., Bonfils, C., Thenot, J.P., Maurel, P., 1990. Identification of the rabbit and human cytochromes P-450III_A as the major enzymes involved in the N-demethylation of diltiazem. *Drug Metabolism and Disposition* 18, 711–719.
- Prueksaritanont, T., Gorham, L.M., Ma, B., Liu, L., Yu, X., Zhao, J.J., Slaughter, D.E., Arison, B.H., Vyas, K.P., 1997. In vitro metabolism of simvastatin in humans: identification of metabolizing enzymes and effect of the drug on hepatic P450s. *Drug Metabolism and Disposition* 25, 1191–1199.
- Roberts, W.C., 1997. The rule of 5 and the rule of 7 in lipidlowering by statin drugs. *American Journal of Cardiology* 80, 106–107.
- Sakai, H., Kobayashi, S., Hamada, K., Iida, S., Akita, H., Tanaka, E., Uchida, E., Yasuhara, H., 1991. The effects of diltiazem on hepatic drug metabolizing enzymes in man using antipyrine, trimethadione and debrisoquine as model substrates. *British Journal of Clinical Pharmacology* 31, 353–355.
- Shepherd, J., 1998. Preventing coronary artery disease in the West of Scotland: implications for primary prevention. *American Journal of Cardiology* 82, 57T–59T.
- Sutton, D., Butler, A.M., Nadin, L., Murray, M., 1997. Role of CYP3A4 in human hepatic diltiazem N-demethylation: inhibition of CYP3A4 activity by oxidized diltiazem metabolites. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 282, 294–300.
- The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S), 1994. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary artery disease. *Lancet* 344, 1383–1389.
- Tonkin, A.M., 1995. Management of the Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) study after the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *American Journal of Cardiology* 76, 107C–112C.