

地域数の少ない薬物動態試験で、どのような性能を持つかに関しても、未だ十分に検討されていないと考えられた。

そこで本研究では、多地域薬物動態試験において血中濃度 AUC の一貫性として量的かつ包括的な指標を新たに提案し、モンテカルロシミュレーションを通して質的な包括的な方法の性能と提案指標の性能を比較しながら評価することを目的とした。

B. 研究方法：

地域 i ($i=1, \dots, K$) における血中濃度 AUC の対数の算術平均を \bar{x}_i と表し、平均 μ_i 、分散 σ^2/n の正規分布に従うと仮定する。

Cochran の Q 統計量

近年の多地域臨床研究では、各地域の平均が全て一致しているという帰無仮説

$H_0: \mu_1 = \dots = \mu_K = \mu$ に対し、帰無仮説が成り立たないという対立仮説をとった効果の一貫性に関する検定問題に対して、Cochran の Q 統計量が用いられることがある。これは検定統計量

$$Q = \sum_{i=1}^K w_i (\bar{x}_i - \bar{x}_w)^2$$

が漸近的に自由度 $K-1$ のカイ二乗分布に従うことから p 値を算出して結論を導く方法である。ただし、重み w_i は \bar{x}_i の標本分散 σ^2/n の逆数であり、 \bar{x}_w は重みを w_i とした \bar{x}_i の加重平均 $\sum_{i=1}^K w_i \bar{x}_i / \sum_{i=1}^K w_i$ である。各地域の平均 \bar{x}_i から 1 つの要約検定統計量 Q を算出し、一貫性の有無を二者択一で判断するため、質的な包括的な方法に分類することができる。

提案法

本研究では量的な方法と同様に地域のすべての可能な組合せに対して平均値の差を算出したうえで、包括的な 1 つの要約統計量を算出するために平均値の差の最大値に着目する。平均値の差の最大値の分布が、事前に定めた同等領域に入る確率を算出し、同等領域に含まれる確率が十分に大きい時には一貫性あり、十分に小さい時には一貫性なしと定量的に評価する方法を提案する。実際に差の最大値の分布において、同等領域 $(-L, L)$ に含まれる確率は

$$\begin{aligned} & \Pr(\max |T_{ij}| \leq L) \\ &= \int_0^\infty \sum_{i=1}^K \int_{-\infty}^\infty \prod_{j \neq i} \left\{ \Phi_j(y_i + \sqrt{2}Lx) \right. \\ & \quad \left. - \Phi_j(y_i - \sqrt{2}Lx) \right\} d\Phi_i(y_i) dF_\nu(x) \end{aligned}$$

から算出される。ただし、 $\Phi_i(\square)$ は標準正規分布の累積分布関数、 $F_\nu(\square)$ は確率変数 $\sqrt{\chi_\nu^2/\nu}$ の累積分布関数を表している。

この同等確率に含まれる確率を用いて実際に用いる際には、同等領域 $(-L, L)$ を事前に定める必要がある。また、同等領域に含まれる確率が幾つ以上であるならば一貫性あり、幾つ以下であるならば不均一といった判断を下すためのカットオフ値を設定する必要がある。Meta 解析では Cochran の Q 統計量の p 値が 0.10 以下の場合に高度異質、0.10 超から 0.25 以下の場合には中度異質、0.25 超から 0.5 以下の場合には低度異質、0.5 超で均一といった判断を行うことがある。そこで本研究ではこの判断に従い、Cochran の Q 統計量の p 値が 0.1 以下、すなわち異質と判断する割合が 80% 以上となるときに、提案法の同等確率がカットオフ値以下になる割合も 80% 以上になる同等領域およびカットオフ値を求める。同様にして中度異質、低度異質のカットオフ値を求める。

モンテカルロシミュレーションを通して提案方法の検出力を Cochran の Q 統計量と比較する。

C. 研究結果：

本研究では厚生労働科学研究川合班に習い東アジア 3 地域と欧米 1 地域、計 4 地域の状況を想定した。東アジア諸国の薬物動態はほぼ同じであるが、欧米での薬物動態が異なる状況を考え、同等領域の下限 (横軸) を $\log(0.80)$ (20%) から $\log(0.50)$ (50%) まで変化させながら検出力が 80% 以上になる同等確率のカットオフ値 (縦軸) を図 1 に示した。薬物動態 AUC の対数の平均と分散の組合せを 3 通り想定 (赤, 青, 緑) し、高度異質の閾値を実線、中度異質の閾値を点線、低度異質の閾値を破線で示した。

同等領域を広く設定すると、いずれのカットオフ値も 1 に近づき、同等領域の下限が $\log(0.65)$ (35%) 以上では高度、中度、軽度の区別をつけることが難しい。確率が小さい時には高度異質、確率が大きい時には均一といった判断を下すためには、同等領域の下限を $\log(0.75)$ (25%) に設定し、カットオフ値を 0.25, 0.60, 0.75 と判断することが最も直感的にふさわしいと考えられた。

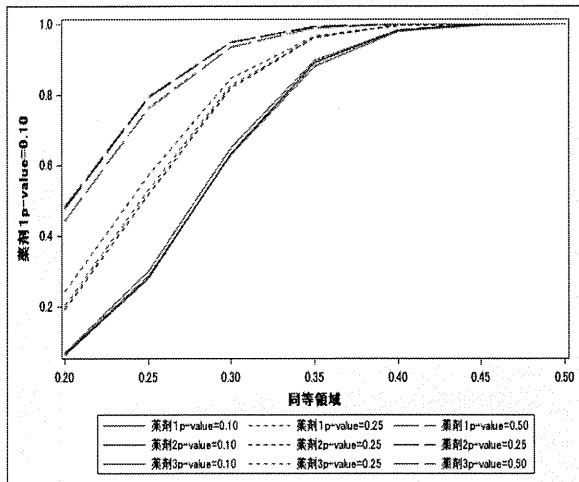


図1：提案方法の同等領域とカットオフ値

同等領域を $\log(0.75) \sim \log(1.33)$ と設定し、カットオフ値を 0.25, 0.60, 0.75 と設定した提案方法の検出力をモンテカルロシミュレーションを通して評価するために、4 地域のうち 1 地域のエフェクトサイズを変化させながら Cochran の Q 統計量と比較した結果を図 2 に示した。

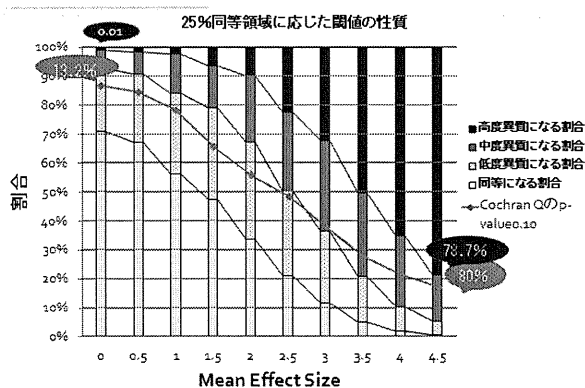


図2：提案方法と Q 統計量の検出力曲線

薬物動態 AUC の対数の母平均が全地域で等しいという帰無仮説の下で、Cochran の Q 統計量の第 1 種の過誤の確率は 13.2% であり、名義的な有意水準 10% より若干増加傾向がうかがわれた。Cochran の Q 統計量は漸近的にカイ二乗分布に従うのであって、4 地域といった少ない数では十分に検定統計量が近似されていない可能性が示唆されたと考えられた。一方、提案法において高度に異質と誤判断した割合は 1% と極めて少なく、良好な結果が得られた。提案法における中度以上の異質性との判断に着目すると、帰無仮説の近傍では Cochran の Q 統計量より検出力が低く、エフェクトサイズが増加するに連れて Cochran の Q 統計量より検出力が高くなる傾向が示唆された。2 つの地域の薬物動態 AUC が同じで、残りの 2 つの地域がそれらから外れる状況を想定すると、

若干異質性を示す可能性が増えるものの、最大値の分布を考えているため大きな結果の変動はうかがわれなかった。

地域数を 4 から 3 もしくは 5 へ変更したとしても同等領域として $\log(0.75)$ から $\log(1.33)$ が妥当であると考えられた。しかし 3 群の場合のカットオフ値は 0.45, 0.70, 0.85, 5 群は 0.20, 0.40, 0.70 が直感的にふさわしいと考えられた。

D. 考察

限られたシミュレーション条件ではあるが、提案方法は Cochran の Q 統計量と比較して優れた方法であると考えられた。しかし、提案法の同等領域およびカットオフ値に対する数学的正当性を見いだすことができず、地域の数によってカットオフ値が異なるといった煩雑さもある。今後は量的な包括的な指標として、地域数に依存しない Higgins の I^2 統計量のような統計量を考案する必要があると考えられた。また、生物学的同等性試験の評価方法を直接に拡張した量的な方法、そして一貫性を積極的に示すことができる方法について考えていく必要があると考えられた。

E. 健康危険情報：

該当項目なし

F. 研究発表：

1. 張鳴雨, 高橋史朗, 竹内正弘, 東アジア国際共同試験における各国薬物動態同等性評価基準の研究, Statistical Experiment and Its Related Topics 研究会, 2012 年 3 月 6 日 (京都)

G. 知的財産権の出願・登録状況：

該当項目なし

H. 添付資料

該当項目なし

薬物代謝酵素の発現調節に関わる因子の遺伝子多型と民族間差

研究分担者 山添 康 東北大学 教授

研究要旨：

主要な薬物代謝酵素である CYP3A4 の酵素活性や発現量には大きな個人差が存在する。CYP2C19 や CYP2D6 などのいくつかの分子種では、遺伝子多型が酵素活性の個人差の主要な原因であるのに対して、CYP3A4 の個人差は CYP3A4 遺伝子の多型では説明できないことが知られている。CYP3A4 遺伝子の発現は、異物や生体内物質に応答する様々な転写因子によって複雑に制御されている。本年度は、CYP3A4 遺伝子の基本転写や異物応答性発現に関与する 3 つの核内受容体、HNF4 α (NR2A1)、PXR (NR1I2) および CAR (NR1I3) について、遺伝子多型とその民族（人種）間差について、文献調査を行なった。

A. 研究目的：

薬物の体内動態を規定する主要な因子である薬物代謝酵素の活性には、大きな個人差が認められる。CYP2C19 や CYP2D6、UGT1A1 など一部の薬物代謝酵素では、遺伝子多型と酵素活性の減弱あるいは酵素発現量の低下などとの関係性が示され、遺伝子多型が個人差や人種差の原因となっていることが分かっている。一方で、医薬品代謝に最も重要とされる CYP3A4 については、CYP3A4 遺伝子の多型では酵素活性の個人差や人種間差を説明することができず、他の因子の関与が考えられる。

CYP3A4 の発現量は様々な薬物曝露により亢進するが、これには異物応答性の核内受容体 PXR および CAR が中心的な役割を果たしている。また、栄養・生理状態の変化も CYP3A4 発現レベルに影響を与えることが知られており、当研究室では、細胞内コレステロールレベルが CYP3A4 発現量の決定因子の 1 つであり、これには核内受容体 LXR α やステロイド応答性の転写因子 SREBP-2 が関与する可能性を見出している。

本年度は、CYP3A4 遺伝子の肝発現の基本転写因子である HNF4 α 、薬物応答性の発現に関わる PXR および CAR について、それらの遺伝子多型と人種差について調査を行なった。

B. 研究方法：

核内受容体 PXR (gene symbol: NR1I2)、CAR (gene symbol: NR1I3) および HNF4 α (gene symbol: NR2A1) について、過去に報告されている遺伝子多型に関する情報を、NCBI の dbSNP データベースならびに文献情報 (PubMed) を用いて調査した。また、各アレルの発現頻度の人種間差

を同データベース情報から抽出した。

(倫理面での配慮)
該当せず

C. 研究結果：

PXR/NR1I2

Zhang ら (Pharmacogenetics, 11, 555, 2001) は、PXR 遺伝子の全コード領域、5' -および 3' -非翻訳領域 (UTR)、600 bp のプロモーター領域、イントロンの両端 50 bp について、全シーケンス解析を行ない、出現頻度の高い変異を複数同定している。また、いくつかの変異は、rifampicin による CYP3A4 酵素誘導や腸管での MDR1 (ABCB1) mRNA レベルとの関連性があることを報告している。しかし、出現頻度に関しては、白人とアフリカアメリカ人についてのみしか解析されておらず、アジア人についての情報は示されていない。

dbSNP では、頻度情報のある多型は、プロモーター領域で 11 個、5' UTR-で 15 個、コード領域で 36 個、3' -UTR で 18 個、イントロン両端で 253 個 掲 載 さ れ て い る (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?chooseRs=het&locusId=8856&mrna=Nm_003889.3&ctg=NT_005612.16&prot=NP_003880.3&orien=forward&refresh=refresh:2012年4月25日現在)。いくつかの多型については、HapMap プロジェクトのデータから、白人、漢中国人および日本人のデータが得られた。白人と中国人、白人と日本人の間には、各変異の出現頻度に大きな差が認められたのに対して、中国人と日本人間では、差は小さかった。これらの多型のうち、CYP3A4 の活性や発現量との関連が報告され

ている多型は9つ存在し、これらについても日本人と中国人間で、顕著ではないが差が認められる。

CAR/RN1I3

PXR に比べると遺伝子多型に関する研究は少なく、体系的に SNP の同定を試みた報告はなかった。唯一、Lamba らのレビューで、CAR の遺伝子多型に関する情報が整理されている (Curr Drug Metab, 6, 369, 2005)。

dbSNP には、頻度情報のある多型として、プロモーター領域で 12 個、5' UTR で 1 個、コード領域で 30 個、3' -UTR で 3 個、イントロンで 64 個掲載されている (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?chooseRs=het&locusId=9970&mrna=NM_001077482.2&ctg=NT_004487.19&prot=NP_001070950.1&orien=forward&refresh=refresh:2012年4月25日現在)。CAR 遺伝子の多型の影響に関する報告はほとんどなく、上記多型についても、CAR の転写能ならびに薬物代謝酵素活性との関連は不明である。

CAR に関しては、SNP の他に多数のスプライス変異体が存在することが報告されている (Lamba, Pharmacogenomics, 9, 71, 2008)。このうち比較的発現量の多い CAR3 は、リガンド応答性の転写活性が弱いことが報告されている (Jinno, Mol Pharmacol, 65, 469, 2004)。これらの変異体の発現量の個人差や人種差についても解析する必要があると考えられるが、これまでにそのような報告はない。

HNF4 α /NR2A1

dbSNP には、頻度情報のある多型として、プロモーター領域で 15 個、5' -UTR で 1 個、コード領域で 39 個、3' -UTR で 14 個、イントロンで 203 個掲載されている (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?chooseRs=het&locusId=3172&mrna=NM_000457.3&ctg=NT_011362.10&prot=NP_000448.3&orien=forward&refresh=refresh:2012年4月25日現在)。HNF4 α は MODY1 (Maturity-Onset Diabetes of the Young 1) でもあることから、

これら SNP の生理的意義についての研究のほとんどは、糖尿病を含む脂質異常症との関連についてである。

Hor らは、HNF4 α の 2 つの cSNP (rs1800961 と Met49Val : 後者は dbSNP に情報なし) について、docetaxel と doxorubicin の PK-PD との関連をアジア人 (中国人、マレー人、インド人) で解析し報告している (Pharmacogenomics J, 8, 139, 2008)。その報告では、docetaxel 誘発性の骨髄抑制では中国人とマレー人の間、インド人とマレー人の間に、doxorubicin 誘発性の骨髄抑制では中国人とマレー人の間、中国人とインド人の間に、出現頻度の有意な差が認められている。これら 3 人種における両 SNP の出現頻度についての解析では、Met49Val では P=0.051 となり有意ではないが人種間差が認められている。一方、rs1800961 については P=0.355 と有意な差は認められなかった。Hor らは、PXR および CAR の遺伝子多型との関連も解析しているが、やはり顕著な影響は認められておらず、docetaxel や doxorubicin の PK-PD には大きな個人差や人種間差が認められるが、その差は HNF4 α 、PXR および CAR の遺伝子多型では説明できないと結論づけている。なお、Met49Val の HNF4 α 機能に関する報告はなく、この変異の意義は不明である。

D. 健康危険情報 :

なし

E. 研究発表 :

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況 :

なし

G. 添付資料

なし

厚生労働科学研究費補助金
(地球規模保健課題推進研究事業)

研究分担報告書

薬物動態データを用いた民族差が生じる要因に関する研究

研究分担者：渡邊 裕司 (浜松医科大学医学部臨床薬理学 教授)
研究協力者：山田 静雄 (静岡県立大学薬学部薬学科薬物動態学分野 教授)
三坂 眞元 (福島県立医科大学医学部薬理学講座 助教)

研究要旨：薬物応答性に個体間差、民族差が存在し、その機序として薬物代謝酵素、薬物トランスポーター、薬物受容体や関連シグナル経路あるいは HLA の遺伝子多型などの内的要因が深く関わり、さらに、食事や文化などの外的要因も関与することが知られている。平成 21-22 年度「日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究」では、既存データから薬物血中濃度に民族差が存在すると推測されたモキシフロキサシン、シンバスタチン、メロキシカムにおいて、プロトコル、試験体制、検体測定、飲食物など外的変動要因を可能な限り統一した場合には、血中濃度の民族差は認められないことが明らかにされた。本研究では、民族差の外的要因の役割を明らかにするため、日本人とイタリア人で緑茶カテキンがシンバスタチンの血中濃度に与える影響について検討した。イタリア人のシンバスタチンおよびシンバスタチン酸の血中濃度は緑茶飲用によって変化しなかったが、日本人では緑茶飲用によって、活性代謝物であるシンバスタチン酸の血中濃度が有意に上昇した。緑茶が薬物血中濃度を変化させ、その応答性に民族差が存在することが示唆された。

A. 研究目的

薬物応答性に個体間差、民族差が存在し、その機序として薬物代謝酵素、薬物トランスポーター、薬物受容体や関連シグナル経路あるいは HLA の遺伝子多型などの内的要因が深く関わり、さらに、食事や文化などの外的要因も関与することが知られている。臨床試験における民族差とは、このような医薬品の応答性に関する民族差ばかり

でなく、医療環境、医薬品のリスク／ベネフィット評価の国民性や規制当局の判断基準、臨床試験の実施法などの相違までも含んだ広い概念で捉えられている。これまでも存在していた臨床試験の民族差が、最近にわかに注目されるのは、国内で実施される国際共同治験の割合が年々増加し、海外と同一プロトコルで臨床試験を実施する機会が増大したことによる。このような背

景で、アジア人種間で真に民族差が存在するのか、存在したならばそれはどのような要因に由来するのかを明らかにすることは、今後アジア地域で国際共同臨床試験を実施していく上でも非常に重要である。

平成 21-22 年度「日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究」では、既存データから民族差が存在すると推測されたモキシフロキサシン、メロキシカム、シンバスタチン、モキシフロキサシンの血中濃度に、アジア人種間のみならず欧米人との間にも有意差は認められないことが明らかにされた。上記研究結果は、真の民族差を検討するためには、プロトコール、試験体制、検体測定、飲食物など外的変動要因を可能な限り統一することの重要性を強く示唆している。一方、日常における薬物応答は飲食物の嗜好など外的要因により修飾され、これが広い意味での薬物応答の民族差の構成要素となりうるがその実態は明らかではない。本研究では、民族差の外的要因の役割を明らかにするため、日本人とイタリア人で緑茶カテキンがシンバスタチンの血中濃度に与える影響について検討した。

B. 研究方法

文書同意が得られた日本人およびイタリア人の健常男性それぞれ 12 名が試験に参加した。試験はランダム化クロスオーバー法を用い、被験者は、緑茶またはミネラルウォーターをそれぞれ 14 日間交差して飲用した。日本人の緑茶摂取量は 1 日 700ml、カテキン換算量として 640mg/日、イタリア人の緑茶摂取量は 1 日 600ml、カテキン換算量として 350mg/日であった。被験者には、

緑茶またはミネラルウォーターの飲用期間最終日にシンバスタチン（日本人 10mg、イタリア人 20mg）を単回投与し、投与前、投与後 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0 時間のシンバスタチンおよびシンバスタチン酸の血中濃度を LC/MS/MS により測定した。

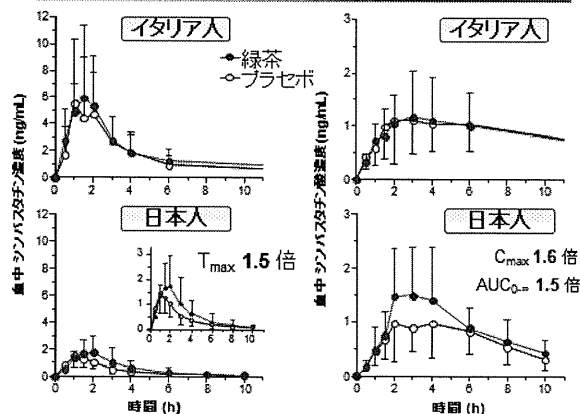
(倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言に基づき、また「臨床研究の倫理指針」、「ゲノム薬理学を適用する臨床研究と審査に関するガイドライン」に則り実施した。すべての被験者から文書による同意を取得した。

C. 研究結果

緑茶飲用により、イタリア人の血中シンバスタチン濃度は変化を認めなかったが、日本人では最高血中濃度到達時間が 1.5 倍に有意に増加した（図 1）。

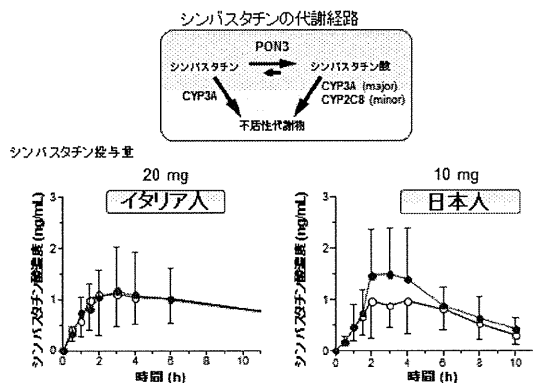
図1: 緑茶がシンバスタチンの体内動態に与える影響



さらに活性代謝物であるシンバスタチン酸は、最高血中濃度が 1.6 倍、AUC は 1.5 倍に有意に上昇した（図 2）。一方、イタリア人はシンバスタチン投与量が日本人の 2

倍であり、シンバスタチン濃度は日本人より高値であったが、シンバスタチン酸濃度には大きな差を認めなかった。緑茶という外的要因が薬物血中濃度を変化させ、その影響に民族差が存在することが示唆された。

図2:シンバスタチン酸の血中濃度における人種差



D. 考察

シンバスタチン血中濃度における緑茶の影響は日本人で顕著だった。この原因については、薬物代謝酵素のみならず、薬物トランスポーターへの影響も含めて現在検討中である。予備的段階であるが、緑茶飲用がシンバスタチン以外の薬物血中濃度にも大きな影響を与えることを確認しており、日本人での薬物応答の民族差を考慮する場合、緑茶飲用は無視できない外的因子と考えられる。薬物応答性の差は、薬物血中濃度の変化に由来する場合以外に、標的部位での薬物感受性の相違も大きな要因となる。本研究では、現在血中濃度とともにHMG-CoA還元酵素阻害活性の民族差について解析を試みている。

E. 結論

外的要因のばらつきを排除することで真の薬物応答の民族差を検証することが可能

となる。一方、リアルワールドの広い意味での薬物応答の民族差には、食事や飲料などの外的要因が関与しており、日本人での臨床試験では、緑茶飲用は無視できない外的因子と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

平成 23 年度 厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業）
研究分担報告書

東アジア民族のデータを用いる新薬開発戦略の構築

研究分担者 宇山佳明

((独) 医薬品医療機器総合機構 レギュラトリーサイエンス推進部研究課長)

研究要旨：

わが国での国際共同治験の実施は、年々増加傾向にあるが、その多くは医薬品開発の後期（第Ⅲ相）で実施されている場合が多く、組入れられている日本人症例数も多くはない。一方で、東アジア地域における国際共同治験は、より早期の探索的な段階で実施されている割合が多く、組入れられている日本人症例数も比較的多いため、一つの開発戦略として有用であることが示唆された。しかしながら、東アジア地域で実施する国際共同治験であっても、民族的要因に関する検討は、承認審査において重要な確認事項となっており、国際共同治験を実施する前に十分な検討が必要と考えられる。日本人と他の東アジア民族との間では、代謝酵素における遺伝子多型の頻度や遺伝的プロファイルが類似しているとの報告もあり、今後、東アジア地域におけるデータを集積していくことが、より適切な評価を可能にするものと考えられる。また、近年増加しているバイオマーカー等に基づく、個別化医療の普及のためにも、日本人におけるエビデンス収集を促進し、適切な情報を添付文書に記載していくことが重要であり、こういった観点からも東アジア地域における臨床開発をより促進する必要があると考えられる。

このような検討を積み重ねることによって、東アジア地域を含む臨床開発の効率化と質の向上が期待され、最終的には、本邦の承認申請に東アジア地域で実施された国際共同治験の結果をさらに利用しやすくなるものと考えられる。

A. 研究目的：

1990年に設立されたICH (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)での成果として、医薬品規制に関する国際的整合化が着実に進んでいるが、それとともに医薬品開発の国際化も近年進展してきている。1998年に合意されたICH E5ガイドライン（外国臨床データを受け入れる際に考慮すべき民族的要因についての指針）の施行以降、日本での承認申請において、海外臨床データを利用するケースが増加しており、近年では、国際共同治験のデータが承認申請時の資料に含まれているケースも増加する傾向にある。また、最近では日中韓における規制当局間の連携が進みつつあり、これら東アジア地域で実施された臨床試験データの適切な利用も検討課題となっている。

このような状況において、日本人におけるベネフィット/リスクを適切に評価するためには、外国人データの収集方法や評価方法の最適化が重要と考えられる。

そこで、本研究では、医薬品の国際共同開発の現状を把握するとともに、海外データ、特に東ア

ジア地域で実施された臨床試験データを適切に評価するための留意点等を検討することを目的とした。

B. 研究方法：

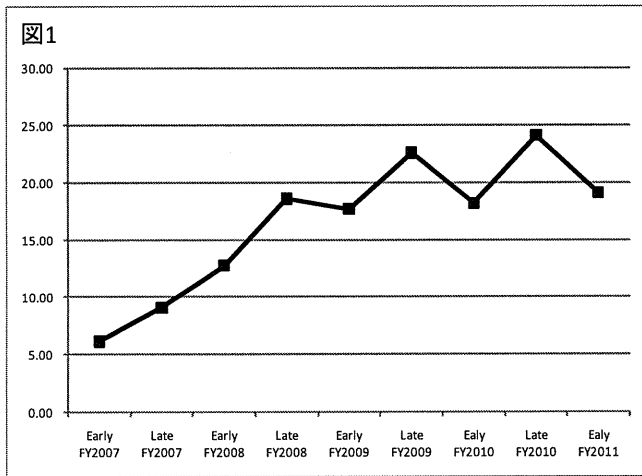
本邦における医薬品承認審査情報や治験データ等に基づき、現状の把握と課題を抽出し、今後の方策について考察を加えた。

（倫理面での配慮）

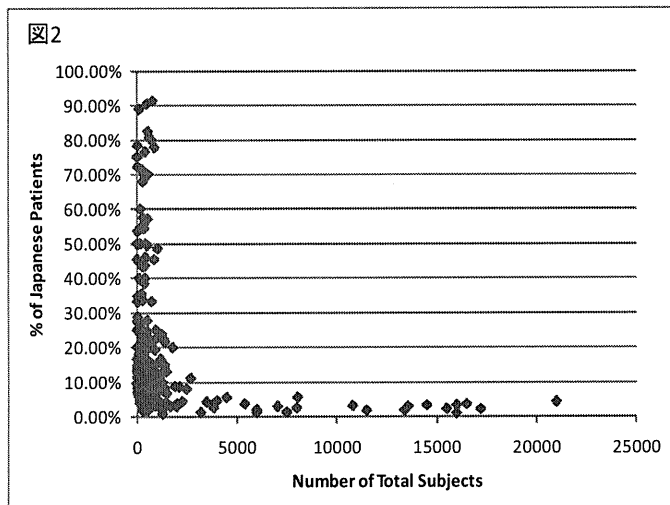
本研究は、直接ヒトを対象としたり、ヒトのサンプルを用いる研究ではなく、個人情報等を取り扱うものではない。

C. 研究結果：

日本で実施されている治験で、国際共同治験の割合は、2007年に「国際共同治験に関する基本的考え方について」（通知）が公表されて以降、年々増加しており、2010年度後半（10月～3月）から2011年度前半（4月～9月）では、全治験の20-25%程度が国際共同治験として実施されていた（図1）。



これら国際共同治験の実施地域は、日米欧の他、他の東アジア地域、南米、オーストラリア、南アフリカ等であり、1つの国際共同治験に多数の地域が参加して実施されている場合が多かったが、日本を含む東アジア地域のみで実施されている治験もあった。また、治験の開発相については、多くの国際共同治験が、第Ⅲ相試験として実施されているものであったが、東アジア地域のみで実施されている場合には、第Ⅱ相試験の割合がそれ以外の場合に比べて多かった（東アジア地域：約39%、それ以外：約23%）。国際共同治験の対象疾患は、癌、循環器系疾患、中枢神経疾患が上位を占めていたが、東アジア地域のみで実施されている治験では、それ以外の場合に比べて、中枢神経疾患の割合が高かった。国際共同治験に組み入れられている日本人症例数は、個々の試験で約1-90%と大きく異なっていたが、東アジア地域のみで実施されている場合には、日本人症例が全症例の約50%程度組み入れられている場合が多く、それ以外の場合に比べ多かった。全体としては、目標としている全組入れ症例数が大きくなるにつれ、日本人症例数の割合は減少する傾向にあり、全組入れ症例数が5,000例を超えるような場合には、日本人症例数の割合は5%以下の場合が多か



った（図2）。

これまでに、アジア地域で実施された国際共同治験を主な臨床試験として承認された医薬品は、以下のようなものがある（表1）。

表1

一般名	効能・効果	承認年月	国際共同治験の実施地域
酒石酸トルテロジン	過活動膀胱における尿意切迫感、頻尿及び切迫性尿失禁	2006年4月	日本・韓国のみ
インスリン グルリジン (遺伝子組換え)	インスリン療法が適応となる糖尿病	2009年4月	日本・韓国のみ
ペラミビル水和物	A型又はB型インフルエンザウイルス感染症	2010年1月	日本・韓国・台湾のみ
ラニナミビルオクタン酸エステル水和物	A型又はB型インフルエンザウイルス感染症の治療	2010年9月	日本・韓国・台湾・香港のみ
エンドキサバントシル酸塩水和物	下記の下肢整形外科手術施行患者における静脈血栓塞栓症の発症抑制 膝関節全置換術、股関節全置換術、股関節骨折手術	2011年4月	日本・台湾のみ
インダカテロールメイン酸塩	慢性閉塞性肺疾患(慢性気管支炎、肺気腫)の気道閉塞性障害に基づく諸症状の緩解	2011年7月	日本・韓国・台湾・インド・香港・シンガポールのみ

これらは、いずれも承認された医薬品であるため、国際共同治験の結果において、日本人集団と全集団との間で著しい差異は認められていない。しかしながら、承認審査報告書等での記載から、承認審査での論点は以下のようなものであった。

- 東アジアを国際共同治験の主な治験実施地域とする場合であっても、民族的要因の考察は重要である。
- CYP の遺伝子多型頻度が民族間で異なる場合には、薬物動態の評価に注意が必要である。
- 日本人症例が全症例の50%以上である場合には、日本人での有効性評価において、大きな問題は生じていない。
- インフルエンザを対象とする場合には、日本と韓国あるいは台湾でウイルスタイプが異なっている場合がある（H1N1 vs H3N2）
- 有害事象の報告方法等の差異が、発現率の差異を生じている場合がある。

また、民族的要因が添付文書での記載や情報提供の内容に及ぼす影響を検討するため、米国FDAが添付文書上に記載されているバイオマーカーとして公表しているものについて、日本での添付文書上での記載と比較したところ、対象となった54の医薬品での添付文書のうち61%で記載している内容や注意喚起レベルが異なっていた。違いが認められたバイオマーカーの多くは、民族間で発現頻度等に差異があることが知られているバイオマーカー（CYP2D6, CYP2C19, HLA-B*1502など）で、安全性に関する注意喚起に関連するものが多かった。逆に抗がん剤等の分子標的薬で有効性に関するバイオマーカーについては、違いが認められない場合が多かった。これらの差異を生

む要因には、遺伝子多型頻度の民族差や日本人における臨床データの充実度が関与していると考えられた。

D. 考察

日本での国際共同治験の実施は増加しているが、多くの場合は第Ⅲ相試験等の医薬品開発後期における実施で、組入れられている日本人症例数も少ない。一方で、日本を含む東アジア地域で実施されている国際共同治験には、日本人症例数をより多く組み入れることが可能な場合が多く、また、より早期の探索的な段階で実施されている割合が多い。したがって、東アジア地域における国際共同治験の実施が、一つの開発戦略として有用であることが示された。実際に東アジア地域で実施された国際共同治験を主な臨床試験成績として承認された医薬品も近年増加していることから、今後、東アジア地域における国際共同治験の実施がさらに増加し、定着していくものと考えられる。しかしながら、東アジア地域で実施する国際共同治験であっても、欧米等と実施する国際共同治験の場合と同様に、民族的要因に関する検討は、承認審査において重要な確認事項であり、国際共同治験を実施する前に十分な検討が必要と考えられる。日本人と他の東アジア民族との間では、代謝酵素における遺伝子多型の頻度や遺伝的プロファイルが類似しているとの報告もあり、今後、東アジア地域におけるデータを集積していくことが、より適切な評価を可能にするものと考えられる。また、近年増加しているバイオマーカー等に基づく個別化医療の普及のためにも、日本人におけるエビデンス収集を促進し、適切な情報を添付文書に記載していくことが重要であり、こういった観点からも東アジア地域における臨床開発をより促進する必要があると考えられる。

このような検討を積み重ねることによって、東アジア地域を含む臨床開発の効率化と質の向上が期待され、最終的には、本邦の承認申請に東アジア地域で実施された国際共同治験の結果をさらに利用しやすくなるものと考えられる。

E. 健康危険情報：

該当なし

F. 研究発表：

論文発表

1. Otsubo Y, Asahina Y, Noguchi A, Sato Y, Ando Y, Uyama Y, Similarities and Differences between US and Japan as to pharmacogenomic biomarker information in drug labels, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 27: 142-149, 2012

学会発表

1. 宇山佳明, 医薬品審査における重要な民族差と民族差を考慮した医薬品開発戦略, 東京大学大学院薬学研究科医薬品評価科学講座第10回Intensive Course, 招待講演, 東京 (2011.5.25)
2. Uyama Y, What is the best strategy of drug development to provide an innovative drug to patients?-an importance of regulatory contribution-, 11th KITASATO-HARVARD Symposium, Invited Lecture, Tokyo (2011.9.28)
3. Uyama Y, East-Asian Contributions to Global Drug Developments for Providing a Better Drug to Patients, 2011 APEC Multi-regional Clinical Trial Tokyo Workshop highlighting Korea, China and Japan tripartite symposium, Tokyo (2011.11.1)
4. Uyama Y, Implementation of pharmacogenomics and its regulatory applications, Human genomics meeting 2012, Invited Lecture, Sydney, Australia (2012.3.13)

G. 知的財産権の出願・登録状況：

該当なし

平成 23 年度 厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業）
研究分担報告書

薬物動態における民族差が生じる要因に関する研究

研究分担者 斎藤 嘉朗 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 部長
研究協力者 黒瀬 光一 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 室長
研究協力者 杉山 永見子 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 研究員

研究要旨：

民族差要因として重要な機能変化を有する 12 遺伝子の 20 多型・ハプロタイプを対象に、主として東アジア（日中韓）におけるアレル頻度を調査し、ヨーロッパにおける地域差と比較した。薬物代謝酵素・トランスポーター分子の遺伝子多型等に関しては、日中韓における民族差はヨーロッパ同様に小さいことが示唆された。一方、薬疹発症に関連する HLA 分子のハプロタイプについては、民族差の存在が、特に日中間で示唆された。また反応性代謝物の生成に関する *in vitro* 民族差評価系の構築を開始した。

A. 研究目的：

ドラッグラグの解消のため、本邦を含めた各国同時開発・承認に向けた国際共同治験の推進が重要とされており、さらに近年は、日本人と民族的に類似しているとされる東アジア共同治験の事例が増加している。しかし、その推進において問題となり得る民族差が、東アジアの中で、薬物動態および薬力学（有効性・安全性）において存在するか否かは、十分評価されていない。

ICH E5 ガイドラインによれば、民族差は内因性要因と外因性要因に分類されるが、内因性要因として重要な因子に、ゲノム上の塩基置換や挿入・欠失等の遺伝子多型がある。本研究は、主として東アジア（日中韓）における主要薬物動態・薬力学関連遺伝子の、十分評価の定まった機能変化をもたらす多型に関し、そのアレル頻度を比較して、民族差の有無を明らかにすることを目的とした。

また薬物代謝酵素による反応性代謝物の生成は、酸化ストレスの増大・蛋白質への結合に基づく機能変化による細胞障害、また新規抗原の創生によるアレルギー性副作用の発現につながる可能性が指摘されている。しかし、このような観点から民族差を解析した報告はない。そこで副作用発現につながる薬物動態学的な民族差の要因解明のため、ヒト肝由来試料を用いた *in vitro* 評価系の構築を開始した。

B. 研究方法：

(1) 主要薬物動態・薬力学関連遺伝子の機能多型におけるアレル頻度の民族差解析

報告者らの研究成果を含め、主として文献調査により下記の機能変化をもたらす遺伝子多型・ハ

プロタイプに関して、主として東アジア各国におけるアレル頻度の比較を行った。

1. *CYP2C9*
*2 : 430C>T, Arg144Cys (活性低下)
*3 : 1075A>C, Ile359Leu (活性低下)
2. *CYP2C19*
*2 : 681G>A, splicing defect (活性消失)
*3 : 636G>A, Trp212X (活性消失)
*17: -806C>T (活性上昇)
3. *CYP2D6*
*4 : 1846G>A, splicing defect (活性消失)
*5 : gene deletion (活性消失)
*10: 100C>T, Pro34Ser 他 (活性低下)
4. *CYP3A5*
*3: 6986A>G, splicing defect (活性消失)
5. *UGT1A1*
*6: 211G>A, Gly71Arg (活性低下)
*28 : A(TA)₆TAA>A(TA)₇TAA (活性低下)
6. *NAT2*
*5: 341T>C, Ile114Thr (481C>T) (活性低下)
*6: 590G>A, Arg197Gln (活性低下)
*7: 857G>A, Gly286Glu (活性低下)
7. *ABCG2* 421C>A, Gln141Lys (活性低下)
8. *GSTM1/GSTT1* null genotypes (活性消失)
9. *SLCO1B1* 521T>C, Val174Ala (活性低下)
10. *HLA-A*31:01*
11. *HLA-B*58:01*

同一民族で複数報ある場合には合算してアレル頻度を算出したが、同一国内でも、民族が明らかに異なる場合（例：中国におけるウイグル族や内モンゴル族）は別々に集計を行った。アレル頻度 0.1 以上の遺伝子多型については 0.1 以上の差

を、0.1未満の場合は0.05以上の差に注目した。また比較対照として、白人に関するヨーロッパにおける地域(東・西・南・北)差も併せて解析した。なお、地域の分類は、国連における分類法(<http://unstats.un.org/unsd/methods/m49/m49regin.htm>)に従った。

(2) 反応性代謝物の生成に関する *in vitro* 民族差評価系の構築

対象とするモデル薬物は、薬疹や肝障害が副作用として報告されているフェニトインとした。¹⁴Cで標識したフェニトインは日本アイソトープ協会(東京)から購入した。白人由来の肝細胞のS9画分およびマイクロソーム画分(各々150人分をプールした画分)、肝細胞(個別人由来)、並びにNADPH generating systemは、日本BD Gentest社(東京)より購入した。

本年度はS9およびマイクロソーム画分を主として用い、アッセイ系構築を試みた。即ち、0.2 mM フェニトイン(462.5 KBq)、NADPH generating systemを含むリン酸緩衝液(pH 7.4)を37°Cで5分加温後、S9(1 mg)およびマイクロソーム画分(1 mg)を加え、攪拌後、37°Cで60分間インキュベートした。氷冷後、100,000 x gで60分間(4°C)遠心し、その上清と沈殿から各々蛋白抽出し、SDS-PAGEを行った。さらにPVDF膜に転写後、Phosphoscreenへの10日間の露光を行った。

(倫理面での配慮)

本研究のうち、論文調査によるアレル頻度解析に関しては、該当しない。また、*in vitro* 評価系に関しては、市販の白人由来肝臓のS9画分およびマイクロソーム画分、並びに初代培養肝細胞を用いたが、インフォームドコンセントを取得して採取された正当な試料であることを機関倫理審査委員会で認定されているものであり、倫理審査委員会の新たな承認は不要であった。

C. 研究結果:

(1) 主要薬物動態・薬力学関連遺伝子の機能多型におけるアレル頻度の民族差

1. CYP2C9

経口糖尿病薬(スルホニルウレア剤)、非ステロイド性抗炎症剤、ワルファリン、フェニトイン等の代謝に関与する重要なシトクロムP450酵素である。

*2(活性低下)に関しては、東アジアにおけるアレル頻度は非常に低く、特に日本人と韓国人では、検出されなかった。*3(活性低下)頻度に関しては、日本人で0.029、韓国人で

0.036、中国人(漢民族)で0.037と、設定した基準値以上の民族差は認められなかった。なお、ヨーロッパにおける地域差は、南(*2: 0.143, *3: 0.086)と北(*2: 0.112, *3: 0.064)の差が最大であり、設定した基準値以下であった。

2. CYP2C19 (図1)

プロトンポンプ阻害剤や抗血小板薬クロピドグレル等の代謝に関与している。

*2(活性消失)のアレル頻度に関しては、日本人で0.293、韓国人で0.275、中国人(漢民族)で0.292と、基準値以上の民族差は認められなかった。なお、ヨーロッパにおける地域差は、北(0.161)と東(0.122)の差が最大であった。*3(活性消失)についても、日本人で0.124、韓国人で0.088、中国人(漢民族)で0.042と、大きな差は認められなかった。ヨーロッパにおいては、非常に頻度が低く比較困難であった。*17(活性上昇)の頻度に関しては、日本人で0.011、韓国人で0.012、中国人(漢民族)で0.010と、民族差は認められなかった。一方、ヨーロッパにおける地域差は、東(0.272)と北(0.190)の差が最大であった。

3. CYP2D6

肝臓におけるP450発現比率としては低い分子種であるが、抗不整脈薬、精神病薬、抗うつ薬、抗ヒスタミン薬等の多くの種類の医薬品代謝に関与する重要な分子種である。

共に活性消失をもたらす*4と*5に関しては、それぞれアレル頻度が日本人で0.003と0.058、韓国人で0.004と0.060、中国人(漢民族)で0.002と0.060であり、設定した基準値(アレル頻度0.1未満の場合は0.05)以上の民族差は認められなかった。一方、活性低下をもたらす*10では、アレル頻度が日本人で0.379、韓国人で0.455、中国人(漢民族)で0.526であり、日本人と中国人(漢民族)間で0.147と、基準値とした0.1以上の頻度差が認められた。CYP2D6酵素に代謝が大きく依存している医薬品では、民族差が認められる可能性がある。しかし、より影響の大きな活性消失をもたらす*4と*5を合算した頻度は、日本人で0.061、韓国人で0.064、中国人(漢民族)で0.062と同様であり、活性低下をもたらす*10の頻度差の、CYP2D6活性の民族差に与える影響は小さい可能性が考えられた。一方、ヨーロッパでは、*4に関し、北(0.236)と南(0.160)間で0.076のアレル頻度差が見られたが、0.1以下であった。*5と*10に関しては、頻度が低く、また地域差は認められなかった。

4. CYP3A5

CYP3A5はCYP3A4同様、カルシウムチャネル

ル阻害剤、ベンゾジアゼピン、免疫抑制剤タクロリムス等の非常に多くの医薬品を代謝する。

活性のほぼ消失をもたらす*3のアレル頻度は、日本人で0.762、韓国人で0.759、中国人(漢民族)で0.737であり、基準値以上の民族差は認められなかった。ヨーロッパに関しても、北で0.922、西で0.931、南で0.923、東で0.932と、地域差は認められなかった。

5. *UGT1A1*

グルクロン酸転移酵素の一種であり、第2相代謝反応の重要な分子である。*UGT1A1*は抗がん剤イリノテカンの活性代謝物SN-38、トロンボポエチン受容体作動薬エルトロンボパグ、閉経後骨粗鬆症治療薬バゼドキシフェン等を代謝する。

*6(活性低下)は東アジアから東南アジアに特有の遺伝子多型である。アレル頻度は、日本人で0.155、韓国人で0.220、中国人で0.205と、最大頻度差0.065で基準値として設定した0.1以下であり、ほぼ同様であった。また*28(活性低下)に関しても、日本人で0.110、韓国人で0.115、中国人で0.127と、ほぼ同様で、民族間差は0.1以下であった。ヨーロッパにおいても、*28に関し、北で0.318、西で0.340、南で0.330、東で0.344と、4地域間で基準値以上の差は認められなかった。*6に関しては頻度が非常に低く、比較困難であった。

6. *NAT2*

イソニアジドやサルファ剤など、アリルアミンやヒドラジン構造を有する医薬品の代謝に関与する。

いずれも活性低下をもたらすハプロタイプである*5、*6、*7の頻度は、それぞれ日本人では0.014、0.205、0.088、韓国人では0.015、0.206、0.119、中国人(漢民族)では0.043、0.227、0.130であり、いずれの頻度差も設定した基準値以下であった。一方、ヨーロッパ4地域における頻度は、*5に関し0.425(東)~0.498(北)、*6に関し0.264(北)~0.295(東)、*7に関し0.013(西、南)~0.026(東)と、いずれも頻度差は基準値以下であった。

7. *ABCG2*

ATP駆動型トランスポーターの1種であり、肝臓(胆管側)、小腸、大腸、胎盤等に発現し、臓器からの基質医薬品(メトトレキサート、イマチニブ、SN-38等の抗がん剤、スルファサラジンおよびグリベンクラミド等)の

排泄に関与する。

421C>A(Gln141Lys)多型は、細胞膜発現の低下に基づく活性低下をもたらすことが知られている。日本人におけるアレル頻度は0.313であり、韓国人0.284、および0.315と同様で、設定した基準値以上の民族差は見られなかった。一方、ヨーロッパにおける4地域の頻度も、0.062(南)~0.107(西)と同様であった。

8. *GSTM1/GSTT1 null genotypes*

グルタチオンS-転移酵素であり、求電子分子等の酸化ストレス関連分子を解毒化する役割を担っている。種々の医薬品による薬毒性肝障害発症との関連が報告されている。

共に遺伝子の全欠損により活性の消失をもたらす遺伝子型である。それぞれ*GSTM1*、*GSTT1*のNull genotypeの頻度は、日本人で0.501と0.496、韓国人で0.527と0.509、中国人(漢民族)で0.535と0.443であり、いずれも頻度差は0.1以下で民族差は認められなかった。ヨーロッパに関しても、最大の頻度差は、*GSTM1*に関し南(0.509)と北(0.533)の0.024、*GSTT1*に関し北(0.165)と南(0.195)の0.030であり、地域差は見られなかった。

9. *SLCO1B1*

スタチン類を肝臓内に取り込むトランスポーターである。シンバスタチンにおいて、筋傷害発症との関連が報告されている。

521T>C(Val174Ala)多型は、細胞膜発現の低下に基づく輸送活性低下をもたらすことが報告されている。アレル頻度は、日本人で0.139、韓国人で0.136、中国人(漢民族)で0.127と、ほぼ同様で頻度差は0.1以下であった。一方、ヨーロッパにおいても、北地域で0.202、西地域で0.154、南地域で0.193と、基準値以上の差は認められなかった。

10. *HLA-A*31:01*

ヒト白血球抗原のうち、クラスI型に属するHLA-A分子のハプロタイプである。抗てんかん薬カルバマゼピンによる薬疹発症との相関が、日本人、韓国人、白人、漢民族で報告されている。

本ハプロタイプの日本人におけるアレル頻度は0.087、韓国人では0.050、中国人(漢民族)では0.022であり、日本人と中国人の間には、0.065と差は小さいものの設定した基準値(アレル頻度0.1未満の場合は0.05)以上であり、約4倍の頻度差が見られた。従って、日本人と中国人間で、*HLA-A*31:01*に基因する薬疹の頻度に差が見られる可能性が考えられるが、中国人では特に重症である

スティーブンス・ジョンソン症候群および中毒性表皮壊死症の発症に関連する *HLA-B*15:02* の頻度が高いことが知られている。日本人と中国人における重症薬疹（または薬疹）の頻度は、きちんと報告されていないため、現時点でのさらなる考察は難しい。一方、ヨーロッパにおけるハプロタイプ頻度は、0.022（北）～0.032（南）と、4地域でほぼ同様であった。

11. *HLA-B*58:01* (図2)

クラス I 型ヒト白血球抗原の一種である *HLA-B* 分子のハプロタイプである。高尿酸血症薬アロプリノールによる重症薬疹（スティーブンス・ジョンソン症候群、中毒性表皮壊死症、薬剤性過敏症症候群）発症との関連が報告されている。

日本人におけるハプロタイプ頻度は、0.004 と非常に低い。韓国人 (0.061) および中国人（漢民族、0.074）における頻度は、日本人に比して、それぞれ 0.057、0.070 高く、設定した基準値（アレル頻度 0.1 未満の場合は 0.05）以上であり、比にしてそれぞれ 15.3 倍、18.5 倍である。従って、本ハプロタイプ頻度には民族差が存在することが示唆された。一方、ヨーロッパ 4 地域におけるハプロタイプ頻度は、0.005（北、南）～0.012（東）と非常に類似していた。

以上の結果、調査対象とした 12 遺伝子の 20 多型等において、ヨーロッパの 4 地域に関しては、全ての多型等で地域差は基準値として設定した値以下であった。一方、日中韓の東アジア 3 民族では、*CYP2D6*10* のアレル頻度が日中間で基準値以上の差を示したが、差は 0.147 であり、また *CYP2D6* の他の機能消失多型（*4, *5）に民族差は見られなかったことから、*CYP2D6* 活性の民族差に与える影響は小さい可能性が考えられた。しかし、2 種の *HLA* ハプロタイプに関しては、設定した基準値以上の頻度差が日中間の 3 民族間で認められた。

従って、薬物代謝酵素・トランスポーター分子の遺伝子多型・ハプロタイプに関しては、日中韓における民族差はヨーロッパ同様、小さいことが示唆された。一方、薬疹発症に関連する *HLA* 分子のハプロタイプについては、民族差の存在が、特に日中間で示唆された。今後は、バイオ医薬品関連の遺伝子を含め、対象を増やして、さらなる調査・解析を行う予定である。

(2) 反応性代謝物の生成に関する *in vitro* 民族差評価系の構築

S9 (1 mg) およびマイクロソーム画分 (1 mg) を用いた条件では、沈殿画分および上清画分共に、オートラジオグラフィにおいて、¹⁴C-フェニトインが結合したと推定される蛋白質のバンドは認められなかった。このため、2 回目の実験では、S9 およびマイクロソームの量をそれぞれ 2mg に増やした条件で行ったが、同様にバンドは認められなかった。

サイトゾルにはグルタチオン等の反応性代謝物除去関連因子が含まれているため、次年度はマイクロソーム画分のみ、およびヒト初代培養肝細胞を用いて同様の実験を行う予定である。

D. 健康危険情報：

該当無し

E. 研究発表：

論文発表

1. Sai K, Saito Y.: Ethnic differences in the metabolism, toxicology and efficacy of three anticancer drugs. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 7: 967-988 (2011).
2. Sudo C, Azuma Y, Maekawa K, Kaniwa N, Sai K, Saito Y.: Current movements of four serious adverse events induced by medicinal drugs based on spontaneous reports in Japan. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku.*, 129: 111-117 (2011).
3. Kurose K, Sugiyama E, Saito Y.: Population differences in major functional polymorphisms of pharmacokinetics/pharmacodynamics-related genes in Eastern Asians and Europeans: implications in the clinical trials for novel drug development. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 27: 9-54 (2012).

学会発表

1. 黒瀬光一、杉山永見子、斎藤嘉朗：アジアおよびヨーロッパにおける薬物応答関連遺伝子の機能多型に関する民族差比較。日本薬学会第 132 年会 (2012. 3、札幌)

F. 知的財産権の出願・登録状況：

該当無し

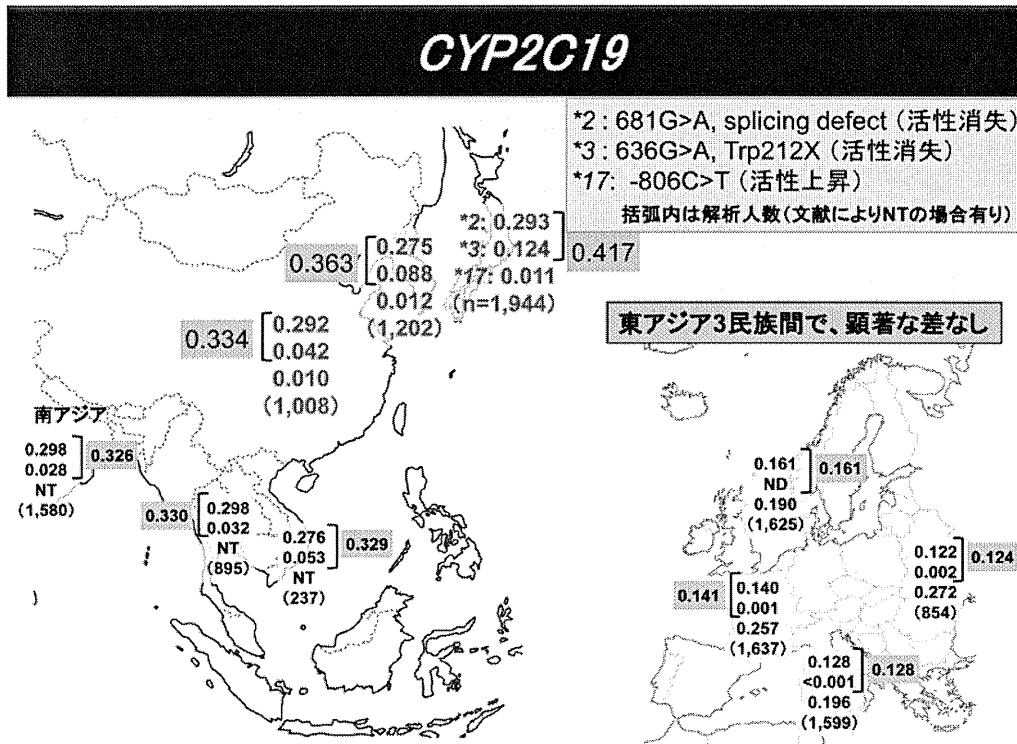


図1 アジアおよびヨーロッパにおける CYP2C19*2, *3, *17のアレル頻度分布

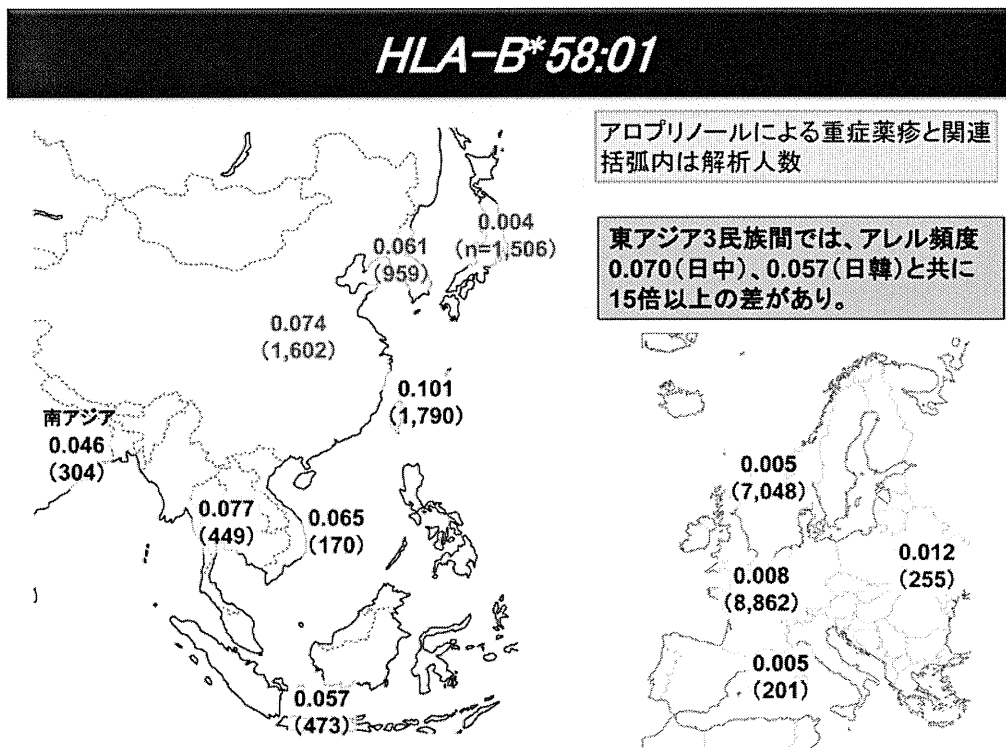


図2 アジアおよびヨーロッパにおける HLA-B*58:01 のハプロタイプ頻度分布

母集団薬物動態解析による東アジア民族間における民族的要因の解明

研究分担者 松本 宜明 日本大学 教授

研究要旨：新薬の開発における薬物動態の変動要因解明として、遺伝的な内因的要因に加え環境などの外因的要因からも影響を調べる必要がある。これまで東アジア諸民族間での医薬品の有効性及び安全性に関する民族差について科学的な検証が行われた。そこで本研究では、平成 21 年度～22 年度に実施された日中韓および白人を対象とした臨床薬物動態試験のデータを用いて、民族的要因について母集団薬物動態解析により明確化することを目的とした。シンバスタチン、モキシフロキサシン及びメロキシカムについて、同一の試験計画に基づいて、日本人、韓国人及び中国人の健康成人男子における臨床試験が行われた。対照として、米国在住の白人に対して同様な試験計画による試験が行われた。これらの試験データを用いて母集団薬物動態解析法により多面的に民族差について調べた。初めに薬物動態の基本モデルの決定を行った。シンバスタチンの基本モデルは、シンバスタチン及びオープンアシッド体を各々 1 つのコンパートメントとし、各コンパートメントから排泄し、シンバスタチン及びオープンアシッド体のコンパートメントは相互に連結するモデルとなった。モキシフロキサシンの基本モデルは、吸収モデルとしてはラグタイム有りの一次吸収モデル、未変化体、代謝物である M1 及び M2 のコンパートメントモデルとしては、それぞれ尿中排泄を考慮した経口 2-コンパートメントモデル、経口 2-コンパートメントモデル及び経口 1-コンパートメントモデルとなった。メロキシカムの基本モデルは、経口 1-コンパートメントモデルとなった。さらに、これら構築した各々の基本の薬物動態モデルを基に、母集団薬物動態解析により薬物動態学的観点における民族的要因の有無について共変量の探索により評価する予定である。

A. 研究目的

新薬の開発期間が長期化するわが国では、国内治験の遅れを解消する有効な手段として、民族的な背景を考慮しながら東アジア地域において効率的な国際共同治験を行う治験システムが考えられる。また、医薬品の有効性及び安全性を保証するためには、民族的な差を明らかにする必要がある。さらに、医薬品の有効性及び安全性を担保するための資料として薬物動態の変動要因解析は必須である。そこで、薬物動態の変動要因として、遺伝的な内因的要因に加え環境などの外因的要因からも影響を受けることから、東アジア諸民族での医薬品の有効性及び安全性に関する民族差についてのさらなる科学的な検証を行う必要がある。平成 21 年度～22 年度に、日中韓および白人を対象とした臨床薬物動態試験を実施され、民族間での薬物動態の特徴を明らかにされた。本研究ではこれらの臨床薬物動態試験の結果から、薬物動態学的観点における民族的要因を母集団薬物動態解析により明確化することを目的とした。臨床薬物動態試験では、市販されているシンバスタチン、モキシフロキサシン及びメロキシカムを用いて、同一の試験計画に基づいて、日本人、韓国人及び中国人の健康成人男子における臨床試験を実施し、薬物動態の民族差を検討する。対

照として、米国在住の白人に対して同様な試験計画による試験を実施し、薬物動態を検討する。これまでにモデルに依存しない方法で民族間における薬物動態が検討されていることから、今回は母集団薬物動態解析法を用いて、薬物動態に影響を与える因子（共変量）の 1 つとして民族差を取り扱い、多面的に民族差について検討する。

B. 研究方法

シンバスタチン：日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究：健康成人男性を対象としたシンバスタチンの薬物動態学的臨床試験（UMIN000003644）によって得られたデータを対象とした。日本人、韓国人、中国人及び白人、各民族 40 名、合計 160 名の健康成人男性を対象とし、シンバスタチン 20 mg を非盲検下で単回投与した後の血漿中薬物濃度を測定した。採血時間はシンバスタチン投与前、投与後 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、8、12 及び 24 時間後とし、シンバスタチン及び 4 種類の代謝物を測定した。

薬物動態モデルの基礎検討には薬物動態解析プログラム Phoenix WinNonlin および SAAM II を用いた。母集団薬物動態解析には非線形混合効果のプログラム NONMEM 7.2.0 (First order conditional estimate with interaction (FOCE-I) 法)

を用いて計算を実施した。最初にモデル構築可能な代謝物の選定を行った。各測定物のモデルは最も簡易なモデルである 1-コンパートメントモデルを用いた。薬物動態パラメータの個体間変動は対数正規分布を仮定した。残差変動は等比誤差モデルを仮定した。

モキシフロキサシン：日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究：健康成人男性を対象としたモキシフロキサシンの薬物動態学的臨床試験 (UMIN00002968) によって得られデータを対象とした。日本人、韓国人、中国人及び白人でそれぞれ 20、19、20 及び 20 例、計 79 例の健康成人男性であった。モキシフロキサシン 400 mg を単回投与後の未変化体及び代謝物である M1 並びに M2 における血漿及び尿のデータを対象とした。採血時間はモキシフロキサシン投与前、投与後 0.5、1、1.5、2、3、4、6、12、24、36、及び 48 時間、採尿については投与前、投与後 0-6、6-12、12-24 及び 24-48 時間に採取した。

薬物動態モデルの基礎検討には薬物動態解析プログラム Phoenix WinNonlin および SAAM II を用いた。母集団薬物動態解析には非線形混合効果のプログラム NONMEM 7.2.0 (FOCE-I 法) を用いて計算を実施した。基本モデルとして、未変化体、M1 及び M2 に対して、尿中排泄を加味した経口 1-コンパートメント及び 2-コンパートメントモデルを検討した。また、薬剤の吸収モデルとしてはラグタイム有りの一次吸収モデル及び transit model を検討した。薬物動態パラメータの個体間変動は対数正規分布を仮定した。残差変動は比例誤差モデル、加法誤差モデルおよび混合誤差モデルを検討した。

メロキシカム：日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究：健康成人男性を対象としたメロキシカムの薬物動態学的臨床試験 (UMIN00004173) によって得られたデータを対象とした。日本人、韓国人、中国人及び白人、それぞれ 30、29、30、30 名、合計 119 名の健康成人男性を対象とし、メロキシカム 7.5 mg を非盲検下で単回投与した後の血漿中薬物濃度を測定した。採血はメロキシカム投与前、投与後 1、2、3、4、5、6、8、12、24、36、48、60、および 72 時間後に行った。

薬物動態モデルの基礎検討には薬物動態解析プログラム Phoenix WinNonlin および SAAM II を用いた。母集団薬物動態解析には非線形混合効果のプログラム NONMEM 7.2.0 (FOCE-I 法) を用いて計算を実施した。基本モデルとして、経口 1-コンパートメントモデルおよび経口 2-コンパートメントモデルを検討した。薬物動態パラメータ

の個体間変動は対数正規分布を仮定した。残差変動は等比誤差モデル、等差誤差モデルおよび混合誤差モデルを検討した。

モデル評価：NONMEM により算出される目的関数値、パラメータ推定値の 95%信頼区間及び血漿中濃度データの予測値 (母集団平均パラメータ推定値より算出した母集団予測値及び被験者ごとの経験ベイズ推定パラメータ推定値より算出した個別予測値) と実測値のプロット、投与後時間および母集団予測値に対する重み付き残差のプロット等の視覚的評価に基づき総合的に判断した。なお NONMEM 7.2.0 による計算結果の検証を株式会社ベルシステム 24 に委託した。

(倫理面での配慮)

本研究で解析するデータの研究計画は大学病院医療情報ネットワーク (University Hospital Medical Information Network, UMIN) に登録されている。本研究の解析は、厚生労働省の「臨床研究に関する倫理指針」に則って行われ、母集団薬物動態解析については倫理審査委員会 (日本大学薬学部臨床研究に関する倫理審査委員会及び国立医薬品食品衛生研究所研究倫理審査委員会) で審査され承認を受けた。

C. 研究結果

シンバスタチン：測定した 4 種類の代謝物のうち、3 種類の代謝物の多くの測定点は定量下限値未満のため、モデル構築には至らなかった。血漿中シンバスタチン濃度データ数は 1650 点、血漿中シンバスタチンオープンアシッド体濃度データ数は 1645 点であった。シンバスタチン及び代謝物の 1 つであるオープンアシッド体のデータについては、モデルが正常に収束した。モデル評価の結果、シンバスタチン及びオープンアシッド体を各々 1 つのコンパートメントとし、各コンパートメントから排泄し、シンバスタチン及びオープンアシッド体のコンパートメントに相互に連結するモデルが基本モデルとして構築できた。

モキシフロキサシン：解析に使用した未変化体、M1 及び M2 の血漿中濃度データ数はそれぞれ計 869、764 及び 869 点、未変化体並びに 2 つの代謝物 (M1 及び M2) の尿中濃度データ数はいずれも計 315 点であった。初回通過効果での M1 及び M2 の生成はバイオアベイラビリティで表した。また、未変化体から M1 及び M2 への代謝機構もモデルに表現した。尿中排泄を考慮した経口 2-コンパートメントモデルに対し、全ての薬物動態パラメータに個体間変動を仮定した場合は、薬物動態パラメータの算出のための繰り返し計算は正常に収束しなかったが、吸収速度定数、クリ

アランス、中心コンパートメント分布容積にのみ個体間変動を仮定した場合は、薬物動態パラメータの算出が正常に収束した。また、尿中排泄を考慮した経口 1-コンパートメントモデルに対し、吸収速度定数、クリアランス、分布容積に個体間変動を仮定した解析では、薬物動態パラメータの算出は正常に収束した。モデル評価の結果、吸収モデルとしてはラグタイム有りの一次吸収モデルが、未変化体、M1 及び M2 のコンパートメントモデルとしては、それぞれ尿中排泄を考慮した経口 2-コンパートメントモデル、経口 2-コンパートメントモデル及び経口 1-コンパートメントモデルが基本モデルとして構築できた。

メロキシカム：解析に使用した血漿中濃度データ数は 1547 点であった。全ての薬物動態パラメータに個体間変動を仮定した経口 2-コンパートメントモデルは、薬物動態パラメータの算出は正常に収束しなかった。吸収速度定数、クリアランス、中心コンパートメント分布容積に個体間変動を仮定した経口 2-コンパートメントモデルによる解析は、薬物動態パラメータの算出が正常に収束した。吸収速度定数、クリアランス、分布容積に個体間変動を仮定した経口 1-コンパートメントモデルによる解析は、薬物動態パラメータの算出が正常に収束した。モデル評価の結果、経口 1-コンパートメントモデルは経口 2-コンパートメントモデルに比べ最適なモデルであり、経口 1-コンパートメントモデルが基本モデルとして構築できた。

D. 考察

モキシフロキサシン、シンバスタチン及びメロキシカムは、東アジア民族間での薬物動態において種々の形の民族差が報告されている。一方、これまでの民族差が生じる可能性のある要因を可能な限り一定の範囲にした統一試験計画を用いた臨床薬物動態試験によって、これらの薬物動態における民族差は著しく減少することが、平成 21 年度～22 年度の「日中韓大臣声明に基づく医薬品の民族差に関する国際共同臨床研究」（研究代表者 川合眞一）により示されている。この報告ではモデルに依存しない方法を用い民族間における薬物動態が検討されている。そこで本研究では様々な要因を特定することができる母集団薬物動態解析を用いて検討を行った。初めに、基本モデルについて様々な計算プログラムにより検討した。モデル候補を複数立て、さらに母集団薬物動態解析によって各々の基本の薬物動態モデルが構築できた。この基本モデルを基に、民族的要因を詳細に調べることが可能になったと考える。

シンバスタチン及びモキシフロキサシンにつ

いては、構築された基本モデルを用い、さらに共変量探索により民族差の有無を評価する。メロキシカムについては基本モデルに腸肝循環の検討が考えられるため、さらなる基本モデルの検討を実施し、共変量探索により民族差の有無を評価する。

各々の薬剤における共変量探索による民族差の有無の検討方法は以下のように考えられる。個体間変動を仮定した薬物動態パラメータの民族差の有無の検出として、以下に示す式

$$PK_i = PK_{jp} \times \theta_{RACE} \times e^{\eta}$$

に従い、日本人の薬物動態パラメータを基準とし、中国人、韓国人、白人の薬物動態パラメータと日本人の薬物動態パラメータの比を算出する。

ただし、 PK_i は個人の薬物動態パラメータ、 PK_{jp} は日本人の母集団薬物動態パラメータの平均値、 θ_{RACE} は中国人、韓国人及び白人の母集団薬物動態パラメータと日本人の母集団薬物動態パラメータのそれぞれの比、 η は平均値ゼロ、分散 ω^2 の正規分布に従う個体間変動を示す。

共変量の検出は、個体間変動を加味した薬物動態パラメータに対して、薬物代謝・動態に関連する遺伝子多型情報（シンバスタチン、CYP3A4/5 及び SLCO1B1; モキシフロキサシン、UGT1A1; メロキシカム、CYP2C9）および記録されている臨床検査値（Total Protein、Albumin、Creatinine、Uric Acid、AST、ALT、 γ -GTP、Total Bilirubin、Direct Bilirubin、ALP、LDH 等）、年齢、体重、喫煙歴、日常的なアルコール摂取の有無等を共変量としてモデルに組み込む。連続量は次式

$$PK_i = PK_{pop} \times (COV/COV_{median})^{\theta} \times e^{\eta}$$

または

$$PK_i = PK_{pop} \times (1 + \theta \times (COV - COV_{median})) \times e^{\eta}$$

カテゴリカルデータは次式

$$PK_i = PK_{pop} \times \theta_{CATEGORY} \times e^{\eta}$$

に従いモデルに組み込む。ただし、 PK_i は個人の薬物動態パラメータ、 PK_{pop} は薬物動態パラメータの母集団平均値、 COV は共変量候補データ、 COV_{median} は共変量候補データの中央値、 θ は連続変数の共変量の効果、 $\theta_{CATEGORY}$ はカテゴリカルデータの共変量の効果を示す。

最終モデルの決定として、検出された民族差および共変量探索の工程により検出された共変量候補すべてをモデルに組み込んだモデルを full model とし、共変量候補または民族差を 1 つ除いたモデルを reduced model とする。Reduced model と共変量候補または民族差を除く前のモデルを比較することにより、影響が大きい共変量候補を選択し、最終モデルを決定する。最終モデルにおいて、日本人との比として算出した中国人、韓国人、白人の薬物動態パラメータの民族差が、

どの共変量によって説明されるか考察する必要があると考える。

以上、同一の試験計画に基づく臨床薬物動態試験を母集団薬物動態解析により薬物動態に影響を与える因子を調べ、その1つとして民族差について検討することは、新規医薬品開発に有用な情報を与えると考える。これらの検討は今後の医薬品開発の効率化につながり、開発期間短縮及び諸外国との国際共同治験推進に貢献するものと考ええる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

- (1). 佐藤尚子、青山隆彦、上野高浩、福田昇、藤田朋恵、鈴木立紀、池田康彦、熊谷雄治、松本宜明「脂質異常症治療薬のバイオマーカーである血中メバロン酸濃度推移の概日リズムモデリング」(医療薬学フォーラム 2011 第19回クリニカルファーマシーシンポジウム；7月9日、旭川市民文化会館、旭川)
- (2). 青山隆彦、平田清貴、林宏行、松本宜明「フルコナゾールおよびミダゾラム母集団薬物動態解析における prediction-corrected visual predictive check の実施例」(第27回 Population Pharmacokinetics 研究会；10月14日、昭和大学上條講堂、東京都)
- (3). Aoyama T, Hirata K, Hayashi H and Matsumoto Y, 「Fluconazole dosing regimen in critically ill patients: population pharmacokinetic analysis and Monte Carlo simulation」(International Symposium on Past, Present and Future of Molecular Pharmacokinetics Integration of Basic Science, Drug Development and Regulation；January 16, Hitotsubashi Hall, Tokyo)

G. 知的財産権の出願・登録状況：

なし

H. 添付資料

- (1). Aoyama T, Hirata K, Hirata R, Yamazaki H, Yamamoto Y, Hayashi H and Matsumoto Y, Population pharmacokinetics of fluconazole after administration of fosfluconazole and fluconazole in critically ill patients. J Clin Pharm Ther (2011)
doi:10.1111/j.1365-2710.2011.01297.x
[Epub ahead of print]

- (2). 石田潔正、小鍛冶由佳、黒川恵美、高田祥世、田中宏昌、青山隆彦、松本宜明. 母集団薬物動態解析における診断プロットを用いたモデル診断の診断者の個人差に関する調査. TDM 研究 29(1) 14-20. (2012)

核内レセプター標的医薬の薬効・副作用の民族差・人種差に関わる分子基盤解明

研究分担者 田中廣壽 東京大学医科学研究所准教授

研究要旨：

近年、核内レセプターの分子生物学的研究基盤を背景にその作用を選択的に制御する創薬が活発に展開されている。本研究は、核内レセプターの中でも臨床薬理学的に重要なグルココルチコイドレセプターGR と PXR に焦点をあて、それらの周辺分子の同定、エピジェネティック制御機構の解明、を通じて、これらのリガンドとなる薬剤の薬効と副作用の民族差、人種差を解明する分子基盤を確立することを目的とする。

Flag-GR を用いた解析から、核内タンパク HEXIM1 が GR にリガンド非依存性に結合し、その際、non-coding RNA である 7SK RNA を含む複合体と含まない複合体が存在することがわかった。HEXIM1 による GR 抑制機構として、HEXIM1 発現アデノウイルスを用いた検討などから、直接のタンパク-タンパク相互作用であることを確認した。現在、7SK RNA の関与について検討中である。

一方、個体レベルにおける HEXIM1 の役割を明らかにすべく、臓器特異的 HEXIM1 トランスジェニックマウス作出を試みた。現在、心筋特異的に発現するマウスの作成に成功し、その機能を解析中である。また、骨格筋における GR 機能解析の過程で、栄養センサーmTOR が GR 機能を抑制することを見いだした。現在、その分子機構を解明すべく、GR-mTOR 相互作用に介在する分子を探索中である。Flag-PXR を用いた解析から、既知の分子以外にも多数の PXR 結合タンパク候補を単離しており、現在その同定を試みている。今後、GR、PXR による遺伝子発現制御のエピジェネティック制御機構をさらに明確にすることによって、これらのレセプターを標的とする医薬の薬効・副作用の民族差・人種差に関わる分子基盤を解明しようとする。

A. 研究目的：

核内レセプターはリガンド依存性転写因子として多彩な生理的役割を果たしている。近年、核内レセプターの分子生物学的研究基盤を背景にその作用を選択的に制御する創薬が活発に展開されている。エストロゲンレセプターやアンドロゲンレセプターを標的とした新規化合物はすでに臨床に使用されているとともに、他の核内レセプターを標的とした化合物の開発も進展している。ここで、グルココルチコイドレセプターGR は内分泌ホルモンであるグルココルチコイドのみならず薬剤として投与される合成グルココルチコイドのレセプターとして機能する。代表的抗炎症薬であるグルココルチコイドの作用と副作用の分離は半世紀以上に渡る難題であったが、その作用分離型薬剤のプロトタイプも数多く開発されており、いくつかは臨床試験が実施されている。従来、グルココルチコイドに対する応答性の人種差、民族差のメカニズムは GR の遺伝子多型、SNIPs に関する研究から解析されてきたが、いまだにその分子基盤は脆弱であり、臨床薬理学的応用可能な成果に乏しいのが現状である。近年、GR を含む核内レセプターによる遺伝子発現制御は組織あるいは遺伝子選択的なエピジェネティッ

ク制御を受ける実態が明らかとなり、GR と標的 DNA を含むその周辺分子の解析からグルココルチコイド応答性の理解が進展しているが、かかる研究をグルココルチコイド応答性の民族差や人種差に結びつけた研究も乏しい。したがって、作用分離型 GR 作動薬の臨床試験を見据えた GR とその周辺分子の研究は急務である。一方、pregnane X receptor (PXR) は胆汁酸などの内因性生理活性物質や薬剤をリガンドとし、それらの吸収・分配・代謝・排泄を担う臓器である肝臓と小腸に高発現している特異な核内レセプターである。その代表的標的遺伝子には、CYP3A4、CYP7 α などがある。これまで、PXR の遺伝子多型、SNIPs と薬物の有効性、副作用の民族差、人種差に関して臨床薬理学的重要性から多くの研究がなされてきた。しかし、PXR のエピジェネティック制御機構には不明な点が多く、その周辺分子の解析も立ち後れている。そこで、われわれは、核内レセプターの中でも臨床薬理学的に重要なこれらの二つの分子に焦点をあて、転写共役因子を含むそれらの周辺分子の同定、エピジェネティック制御機構の解明、を通じて、これらのリガンドとなる薬剤の薬効と副作用の民族差、人種差を解明する分子基盤を確立することを目的とする。