

201203002A

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

医薬品の国際共同開発及び臨床データ共有の推進に向けた
東アジアにおける民族的要因に関する研究
(H23 - 地球規模 - 指定 - 001)

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川 合 眞 一

平成 25 (2013) 年 5 月

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

医薬品の国際共同開発及び臨床データ共有の推進に向けた
東アジアにおける民族的要因に関する研究
(H23 - 地球規模 - 指定 - 001)

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川 合 眞 一

平成 25 (2013) 年 5 月

目次

I. 研究組織

II. 総括研究報告

川合 眞一 1

III. 分担研究報告

川合 眞一 5

頭金 正博 9

竹内 正弘 20

吉成 浩一 25

渡邊 裕司 37

宇山 佳明 42

齋藤 嘉朗 45

松本 宜明 50

田中 廣壽 56

IV. 研究業績

I. 研究組織

研究代表者

所属

川 合 眞 一

東邦大学医学部医学科内科学講座膠原病学分野

分担研究者

所属

頭 金 正 博

名古屋市立大学大学院薬学研究科

竹 内 正 弘

北里大学薬学部臨床医学

吉 成 浩 一

東北大学大学院薬学研究科

渡 邊 裕 司

浜松医科大学臨床薬理学

宇 山 佳 明

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

齋 藤 嘉 朗

国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部

松 本 宜 明

日本大学薬学部臨床薬物動態学

田 中 廣 壽

東京大学医科学研究所抗体・ワクチンセンター免疫病態分野

Ⅱ. 総括研究報告

平成 24 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）
総括研究報告書

医薬品の国際共同開発および臨床データ共有の推進に向けた
東アジアにおける民族的要因に関する研究（H23-地球規模-指定-001）

研究代表者 川合 眞一 東邦大学 教授

研究要旨：

本研究班の目的は薬物動態や薬力学における民族差に関わる因子を明らかにし、我が国と東アジア諸国、さらには欧米各国を含めた国際共同治験が効率的に実施する基盤作りに貢献することである。本年度の研究によって、医薬品の薬物動態および薬力学における民族的要因および外的要因の一部が明らかにされた。

【薬物動態における民族差が生じる要因に関する研究】

平成 21-22 年度に厚生労働科学研究費により日中韓で行った臨床試験データの追加解析によって、メロキシカム、シンバスタチン及びモキシフロキサシンの母集団薬物動態解析を行った。薬物代謝酵素の遺伝子多型だけでは説明できない薬物代謝に関わる個別要因の一部を明らかにできた。CYP3A4 は転写レベルで核内レセプターPXR による発現調節を受ける。現在までに、PXR 過剰発現系構築、PXR 応答性レポーターアッセイを確立した。予備的実験から、肝細胞抽出液中に PXR に特異的に結合するタンパク質を複数分離した。食事性因子が肝薬物代謝酵素発現にコレステロール代謝物応答性転写因子の LXR α を介して CYP3A4 遺伝子のヒト肝細胞における基本的発現に寄与することを明らかにした。

【薬力学における民族差が生じる要因に関する研究】

東アジアの諸民族における医薬品応答性の民族差を検討することを目的として、日本と韓国、および米国の処方データを用いて実診療における患者あたりの 1 日処方量を 3 カ国間で比較した。モキシフロキサシンは 3 カ国間で大きな差は認められなかった。一方、スタチン系高脂血症薬のシンバスタチンについては、我が国の患者あたりの 1 日処方量（加重平均値）は韓国および米国の約 1/3 であり、メロキシカムは韓国および米国の約 2/3 であることがわかった。その原因については詳細に検討中である。

抗体医薬品との相互作用変化に関連する FCGR2A 多型では、日本人に比して中国人で頻度が高い傾向が認められた。また、ラパチニブによる肝障害発症に関連する HLA-DQA*0201 ハプロタイプについては、日本人に比して韓国人・中国人で頻度の高い傾向が認められた。

関節リウマチにおける標準的治療法であるメトトレキサート（MTX）低用量週 1-2 日パルス療法は、日中韓および欧米で承認用量が異なることが知られている。MTX 治療中の関節リウマチ患者の赤血球内濃度は投与量の違いに比べて比較的一定した濃度であり、欧米の報告と大きな違いはなかった。MTX の細胞内取り込みや代謝に関わる SLC19A1 およびガンマグルタミルヒドロキシラーゼの遺伝子多型の検討では、後者の多型が赤血球内濃度に影響を及ぼしていることが示唆され、さらに症例を増して検討している。

薬物応答性の民族差は習慣的に摂取する食物や飲料などの外的因子も関与することが知られている。カテキン高含有緑茶による β 遮断薬ナドロールの体内薬物動態および薬効への影響を検討した。その結果、2 週間の緑茶（カテキン 640mg/日）飲用によりナドロールの Cmax および AUC は、ともに約 75%低下し、ナドロールによる収縮期血圧低下作用はほとんど消失した。

国際共同試験では地域を併合した薬効に主たる興味があるが、民族的要因による薬効の違いに関しても詳細な吟味を必要とする。興味のある地域の薬効を評価するために、他の地域のデータを利用する経験ベイズ法は有用な手法であると考えられた。

国際共同治験を主な臨床試験として承認された医薬品の割合は、平成 24 年度（12 月時点）で全体の約 16% となっており、その割合は年々増加している。また、東アジア地域のみで実施された国際共同治験に基づき承認された医薬品もあった。今後、東アジア地域等での国際共同治験の実施は、さらに増加するものと思われ、国際共同治験特に東アジア地域での国際共同治験を実施する際の留意点等を検討し整理した。

分担研究者氏名・所属機関名・職名：

頭金正博・名古屋市立大学大学院薬学研究科医薬品安全性評価学分野・教授

竹内正弘・北里大学薬学部臨床医学・教授

山添 康・東北大学大学院薬学研究科・教授

渡邊裕司・浜松医科大学臨床薬理学・教授

宇山佳明・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

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

松本宜明・日本大学薬学部臨床薬物動態学・教授

田中廣壽・東京大学医科学研究所免疫病態分野・准教授

A. 研究目的：

わが国における新薬の開発期間が長期化する要因の一つとしてあげられている国内治験の遅れを解消する有効な手段として、遺伝的な背景が類似している東アジア地域を一つの地域として症例を登録し、効率的に日本人を含む東アジア諸民族を国際共同治験に組み込む治験システムが考えられる。しかし、医薬品の応答性は、環境などの外的要因にも影響を受けることから、東アジア諸民族での医薬品の応答性に関する民族差についての科学的な検証を行う必要がある。そこで、平成 19～20 年度に国立医薬品食品衛生研究所において、既存の臨床薬物動態研究のデータを用い、薬物動態学的観点から東アジアにおける民族差に関する包括的な検討を行った。また、平成 21 年度～22 年度には、この包括的な既存データを用いた調査から生じた研究課題について、日中韓およびコケージアン民族を対象とした臨床薬物動態試験を実施し、東アジア民族間での薬物動態における共通点および相違点を明らかにしてきた。そこで、これらの研究成果を基盤として、医薬品の国際共同開発及び臨床データ共有において考慮すべき東アジアにおける薬物動態学的観点からの民族的要因を明確化し、東アジアでの臨床研

究を行う際の指針としてまとめることを本研究の目的とした。また、医薬品の応答性における民族差は、薬物動態学的観点に加えて薬力学的観点から解析する必要があることから、薬力学的観点からの東アジア諸国での民族差が生じる要因についても明確化することも目的とした。

B. 研究方法：

【薬物動態における民族差が生じる要因に関する研究】

東アジア民族における薬物動態の特性を明らかにし、欧米系民族と東アジア民族との間で民族差がみられる要因、および東アジア内で民族差が生じる要因を各分担研究者が個別に検討した。

【薬力学における民族差が生じる要因に関する研究】

東アジア民族における薬力学上の民族差に関する研究については、日中韓および米で市販されている医薬品についての承認用量を比較した。また、医療での実用量データを民間の調査会社から入手した。それらを比較することによって、有効性や安全性に民族差がみられる可能性のある医薬品を選択した。さらに、選択された医薬品について定量的な薬力学的指標として利用可能なバイオマーカーを検討したうえで、それらを用いて、東アジア内およびコケージアンとの民族差について比較した。

(倫理面での配慮)

本研究は基礎研究と臨床研究で構成されている。臨床研究に関しては、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た。また、各実施施設においては施設内倫理委員会等で臨床研究計画は審査され、被験者からは十分な説明に基づいた同意を取得して行った。

C. 研究結果：

【薬物動態における民族差が生じる要因に関する

る研究】

1) メロシキカム、シンバスタチン及びモキシフロキサシンの母集団薬物動態解析を行った。メロシキサムの解析では、クリアランスの影響因子としてCYP2C9遺伝子多型および体重、分布容積の影響因子として血清アルブミンおよび体重が有意に認められた。シンバスタチンの解析では、顕著な影響因子としてオープンアシッド体のクリアランスに対す体重が認められ、遺伝子多型の影響は認められなかった。モキシフロキサシンは、血中濃度、代謝物濃度及び尿中濃度の時間推移について統合して解析を行っている。以上の、平成21-22年度に日中韓で行った臨床試験データの追加解析によって、薬物代謝酵素の遺伝子多型だけでは説明できない薬物代謝に関わる個別要因の一部を明らかにできた。(松本)

2) CYP3A4は転写レベルで核内レセプターPXRによる発現調節を受ける。CYP3A4による薬物代謝の民族差の原因として、CYP3A4の多型系解析の報告があるが、PXRあるいはその転写共役因子に関する研究は皆無に近い。現在までに、PXR過剰発現系構築、PXR応答性レポーターアッセイの確立を終え、PXRとの共免疫沈降法を樹立した。予備の実験から、肝細胞抽出液中にPXRに特異的に結合するタンパク質を複数分離した。今後、質量分析によってアミノ酸配列を決定し、タンパクの同定とその機能解析に進める。(田中)

3) 遺伝的要因では説明不可能な民族間差・個人差の原因を解明するために、食事性因子が肝薬物代謝酵素発現に及ぼす影響を解析し、コレステロール代謝物応答性転写因子のLXR α はヒトCYP1A1とCYP1A2を共通の転写調節領域を介して転写活性化すること、LXR α はCYP3A4遺伝子のヒト肝細胞における基本的発現に寄与すること、そしてPXRを介したCYP3A4誘導はLXR α の活性化に伴い著しく抑制されることを明らかにした。(吉成)

【薬力学における民族差が生じる要因に関する研究】

1) 東アジアの諸民族における医薬品応答性の民族差を検討することを目的として、日本と韓国、および米国の処方データを用いて実診療における患者あたりの1日処方量を3カ国間で比較した。具体的には、スタチン系高脂血症薬、キノロン系抗菌薬、非ステロイド系抗炎症薬を調査対象薬とし、対象疾患、年齢、性別等を揃えたうえで、3カ国間での初診時及び再診時での患者あたりの1日処方量(加重平均値)を処方データから算出した。その結果、キノロン系抗菌薬のモキシフロキサシンは、3カ国間で大きな差は認められなかった。一方、スタチン系高脂血症薬のシンバスタチンについては、リポ蛋白質代謝障害及びその他の高脂(質)血症(ICD10コードE78)の患者における初診時および再診時での我が国の患者あたりの1日処方量(加重平均値)は、いずれの場合も韓国および米国の約1/3であることがわかった。また、非ステロイド抗炎症薬であるメロシキサムについては、脊椎症(ICD10コードM47)の患者における初診時および再診時での我が国の患者あたりの1日処方量(加重平均値)は、いずれの場合も韓国および米国の約2/3であることがわかった。以上の結果から、日本と韓国の間においても、実診療での処方量に差がみられる例があることがわかった。今後は、民族差が生じやすい疾患や年齢等の患者要因を解析するとともに、我が国と米国において差があることが報告されている抗糖尿病薬や中枢神経薬に調査対象薬を広げて東アジア内での解析を行う予定である。(頭金・川合)

2) 薬力学的な民族差要因を探索するため、重要な機能変化や副作用との関連が報告されている5遺伝子の6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た。抗体医薬品との相互作用変化に関連するFCGR2A多型では、日本人に比して中国人で頻度が高い傾向が認められた。また、ラパチニブによ

る肝障害発症に関連するHLA-DQA*0201ハプロタイプについては、日本人に比して韓国人・中国人で頻度の高い傾向が認められた。(斎藤)

3) 関節リウマチにおける標準的治療法であるメトトレキサート (MTX) 低用量週1-2日パルス療法は、日中韓および欧米で承認用量が異なることが知られている。そこで、まずMTXの薬効に関連しているとされる細胞内 (赤血球内) MTX濃度の測定法を確立した。MTX治療中の関節リウマチ患者の赤血球内MTX濃度は、今回平均108nmol/Lであった。さらに、MTXの細胞内取り込みや代謝に関わる葉酸トランスポーターSLC19A1およびγ-グルタミルヒドロオキシラーゼ (GGH) の遺伝子多型について検討した。その結果、GGHの一部の遺伝子多型を有する患者では赤血球内MTX濃度が高い傾向が認められ、今後、薬効や副作用との関連を検討し、日中韓および欧米の承認用量の違いをもたらす要因について明らかにする。(川合)

4) 薬物応答性の民族差は、遺伝子多型などの内的因子と共に、習慣的に摂取する食物や飲料などの外的因子も関与することが知られている。特に日本人の場合は緑茶の影響を検討することが重要である。本年度は、カテキン高含有緑茶によるβ遮断薬ナドロールの体内薬物動態および薬効への影響を検討した。その結果、2週間の緑茶 (カテキン640mg/日) 飲用によりナドロールのCmaxおよびAUCは、ともに約75%低下し、ナドロールによる収縮期血圧低下作用はほとんど消失した。緑茶は医薬品の応答性における民族差の潜在的要因となることが示唆された。(渡邊)

5) 国際共同試験では地域を併合した薬効に主たる興味があるが、民族的要因による薬効の違いに関しても詳細な吟味を必要とする。興味のある地域の薬効を評価するために、他の地域のデータを利用する経験ベイズ法は有用な手法であると考えられた。特に事前分布の妥当性を検討する指標は、多地域における薬効の一貫性または一様性を評価する指標として有用な場合があることがモ

ンテカルロシミュレーションより示唆された。

(竹内)

6) 国際共同治験を主な臨床試験として承認された医薬品の割合は、平成24年度 (12月時点) で全体の約16%となっており、その割合は年々増加している。また、東アジア地域のみで実施された国際共同治験に基づき承認された医薬品もあった。今後、東アジア地域等での国際共同治験の実施は、さらに増加するものと思われ、国際共同治験特に東アジア地域での国際共同治験を実施する際の留意点等を検討し整理した。その結果については、平成24年9月5日付で「国際共同治験に関する基本的考え方 (参考事例)」として、厚生労働省から公表された。(宇山)

D. 考案：

本年度の研究によって、医薬品の薬物動態および薬力学における民族的要因および外的要因の一部が明らかにされた。詳細は各分担報告書を参照されたい。

E. 結論：

これらの研究により、東アジア諸民族間の医薬品の国際共同開発および臨床データの共有を円滑に進めるシステムの構築を目指したい。

F. 健康危険情報：

特になし。

G. 研究発表：

研究業績参照

H. 知的財産権の出願・登録状況：

特になし。

I. 添付資料

特になし

Ⅲ. 分担研究報告

平成 24 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

関節リウマチの低用量メトトレキサート間欠療法における赤血球内濃度と代謝酵素の遺伝子多型

研究代表者 川合 眞一 東邦大学医学部内科学講座膠原病学分野 教授
研究協力者 山本 竜大 東邦大学医学部内科学講座膠原病学分野

研究要旨：

メトトレキサートは、関節リウマチ治療のアンカードラッグであるが、欧米との承認用量に大きな差がある薬剤の 1 つである。MTX は細胞内でポリグルタメート化されて薬効を発揮するとされるが、その細胞内代謝酵素の活性には遺伝子多型の影響が知られている。そこで、我々は赤血球内 MTX 濃度を測定し、さらに MTX の治療効果・副作用の発現および民族差要因として重要な機能変化を有すると考えられる 2 種の細胞内代謝酵素の遺伝子多型につき検討した。MTX 赤血球内濃度は、従来の欧米での報告と比較すると、内服用量は 2-3 倍差があるにもかかわらず赤血球内濃度の差は、1.5 倍程度でこれには人種差も関連している可能性が考えられた。細胞内で MTX ポリグルタメートを MTX に転換させる酵素である γ グルタミルヒドラーゼの遺伝子多型の中で、遺伝子多型のいくつかでは赤血球内 MTX 濃度の増加と関連していた。また、今回の結果では日本人の 16T>C のマイナーアレル頻度は 0.85/0.15 であったのに対して、欧米の報告では 0.50/0.50 と差があり、わが国と欧米との赤血球内メトトレキサート濃度の違いに關与している可能性が示唆された。

A. 研究目的：

メトトレキサート (methotrexate: MTX) は、関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA) 治療の中心的治療薬として世界中で最も使用されている抗リウマチ薬である。近年生物学的製剤の登場により RA 治療は大きく変貌したが、MTX の併用が重視されており、その臨床的意義はいまだに高い。MTX は、米国では 1988 年、わが国では 1999 年に RA を適応症として認められたが、上限が 8mg/週と欧米と比較して極めて少なかった。その後、2011 年に 16 mg/週までの増量および第一選択薬としての使用が公知申請により承認された。しかし、欧米では 25-30mg/週が常用量上限となっており、依然としてわが国と海外との承認用量の差が大きな薬剤の 1 つである。

MTX 自体は不活性なプロドラッグであり、細胞内に取り込まれてポリグルタメート化されて薬効を発揮するが、その代謝酵素には遺伝子多型の存在が知られている。また、MTX の重篤な副作用として肝障害・骨髄抑制・間質性肺炎があるが、通常用量の投与でも症例によって重篤な副作用が生じ、継続投与困難例が存在する。さらに、少量投与で治療効果が得られる例もあれば、最大用量までの増量にも関わらず治療効果が得られない例もある。これらの治療効果の差および副作用の発現には代謝酵素活性が關与している可能性が考えられる。

しかしながら、従来、MTX の代謝にかかわる酵素の遺伝子多型と MTX 赤血球内濃度との関連

やさらにはこれらの成績と治療効果との関連の報告は十分ではなかった。また、治療効果および副作用発現を予測出来れば、初期投与量時の治療反応予測や他剤への変更による副作用発現回避が可能となる。

そこで本研究では、MTX を投与した RA 患者における細胞内 MTX 濃度および MTX 関連代謝酵素の遺伝子多型を解析し、細胞内 MTX 濃度との関連、さらに MTX 治療効果および副作用発現との関連を検討することを目的とした。

B. 研究方法：

対象患者

東邦大学医療センター大森病院膠原病科を受診した患者のうち、同じ用量の MTX 内服を少なくとも 3 か月以上継続していた者を対象とした。研究内容について十分に説明し、検体の研究的利用に文書にて同意した患者のみを対象とした。また、本研究の対象者は 20 歳以上の本人同意の可能な患者とした。電子カルテ上の診療情報より、MTX 内服歴・併用薬剤・疾患活動性などの情報を抽出した。対象患者より末梢血 7ml (赤血球内濃度測定用 6mL および MTX 細胞内代謝関連遺伝子検討用 1mL) を採取し、以下の検討に用いた。なお、本研究は東邦大学医学部遺伝子解析研究倫理委員会の承認を得て行った。(承認番号 24-2)

赤血球内 MTX 濃度の測定

EDTA - Na 添加採血管を用いて採取した血液 6ml を、2500rpm 4°Cで 10 分間遠心分離して上清の血漿と赤血球分画に分離した。赤血球分画 400 μ L と注射用水 600 μ L を混合し、-80°Cで冷凍保存した。測定時に本検体を解凍し、血漿 800 μ L を加えて攪拌し、遮光下にて 37°Cで 18hr インキュベーションした。70%過塩素酸（和光純薬製）200 μ L を加えて激しく攪拌した後に 10000rpm で 5 分間遠心した。MeOH 1ml+精製水 1ml で前処置した固相カラム(Oasis HLB 1cc/30ml, Waters. Co) に、遠心した上清 500 μ L をアプライした。5%MeOH 1ml および 20%MeOH 500 μ L にて固相カラムを洗浄した後に、100%MeOH 1ml で溶出した。溶出した検体を遠心エバポレーター (CVE-2000、東京理科器械製) で蒸発乾固し、血漿 100 μ L で再度溶解して、TDX アナライザー (Abbott Japan 製) を用いて蛍光偏光免疫測定法 (FPIA) で測定した。

MTX 細胞内代謝関連遺伝子の SNPs の測定

得られた末梢血サンプル 1ml から Maxwell 16 DNA Purification Kit (Promega 社製) を用いてゲノム DNA を採取した。採取したゲノム遺伝子は測定時まで -80°Cで保存した。

既にいくつかの酵素の遺伝子多型が他の施設で検討されているが、我々は MTX を細胞内に輸送する葉酸トランスポーターの遺伝子である *SLC19A1* と細胞内で MTX ポリグルタメートからグルタミン酸を分離する酵素である γ グルタミルヒドロキシラーゼ (*GGH*) に、特に注目した。今回実際に検討した遺伝子多型を以下に示す。

<i>SLC19A1</i>	80G>A	(rs1051266)
<i>GGH</i>	16T>C	(rs1800909)
	-401C>T	(rs3758149)
	452C>T	(rs11545078)
	-354G>T	(rs719235)
	14269G>A	(rs12681874)

TaqMan 法を用いてこれらの遺伝子多型を同定した。SNP 同定のためのプライマーペアは、Applied Biosystems 社製を用いた。DNA 2.7 μ L と Taqman Master Mix 8.5 μ L と 40 \times プライマー 0.43 μ L と DDW 5.37 μ L を加えて反応液を作成し、LihtCycler480 (ロシユ社製) を用いて 95°C 10 分、92°C15 秒+60°C 60 秒を 57 サイクル+50°C 5 分で RT-PCR を行い、解析ソフトを用いて解析した。

C. 研究結果：

(1) 赤血球内 MTX 濃度

当科外来通院中の RA 通院中患者のうちで、228 名を対象に検討を行った。平均年齢は 58.3 \pm 9.8 歳で、平均 MTX 内服量は 8.9 \pm 2.6 mg/週であった。前述の方法で測定した平均赤血球内 MTX 濃度は 108 \pm 12.4 nmol/L であった。

我々の成績から MTX 内服量と赤血球内濃度について図 1 に示す。赤血球内 MTX 濃度は、用量依存性に細胞内濃度の上昇を認めた。しかしながら、同じ用量の患者群でも赤血球内 MTX 濃度は個々の患者で大きく変動していた。また、赤血球濃度の増加は投与量の増加に見合った単純比例関係を認めなかった。

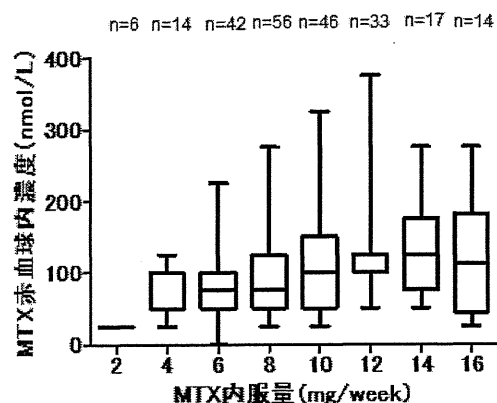


図1 MTX内服量と赤血球内濃度

次に、内服量の影響を補正する目的で、投与量 1mg あたりに換算した赤血球内濃度を計算した (図 2)。8mg~14mg/週の患者群では、MTX 1mg 投与あたり約 10 nmol/L の赤血球内濃度が得られていた。

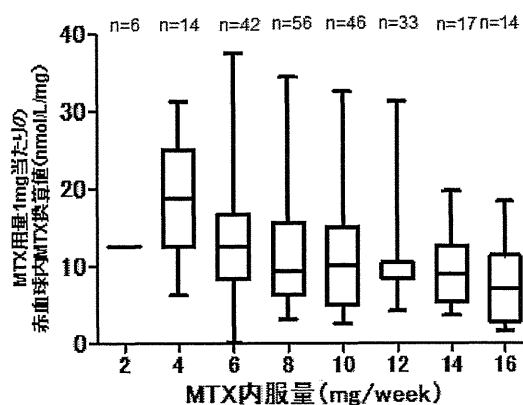


図2 MTX内服1mgあたりの赤血球内濃度

(2) 赤血球内 MTX 濃度と遺伝子多型の関連 *SLC19A1*

SLC19A1 80G>A の遺伝子多型のマイナーアレル頻度 (minor allele frequency: MAF) は、

0.613/0.387であった。また、MTX赤血球内濃度は、wild type、hetero、homoとの間に明らかな差を認めなかった。

と、MTX 6~14mg/週の患者群では、全体として

GGH (図3)

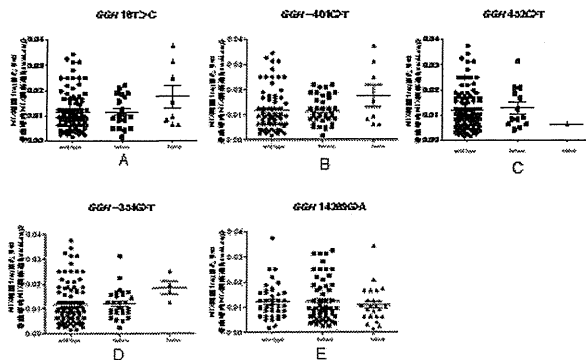


図3 SNPsとMTX内服1mgあたりの赤血球内MTX濃度

A) 16T>C (rs1800909)

今回の対象症例のMAFは、0.850/0.150であった。MTX赤血球内濃度はwild type、hetero、homoの間に有意差を認めなかったものの、homoでは濃度増加傾向を認めた。

B) -401C>T (rs3758149)

MAFは0.778/0.222であった。MTX赤血球内濃度はwild type、hetero、homoの間に有意差を認めなかったものの、homoでは濃度増加傾向であった。

C) 452C>T (rs11545078)

MAFは0.930/0.070であった。MTX赤血球内濃度はwild type、hetero、homoの間に有意差を認めなかった。

D) -354G>T (rs719235)

MAFは0.878/0.122であった。MTX赤血球内濃度はwild type、hetero、homoの間に有意差を認めなかったものの、homoでは濃度増加傾向であった。

E) 14269G>A (rs12681874)

MAFは0.563/0.437であった。MTX赤血球内濃度は、wild type、hetero、homoとの間に明らかな差を認めなかった。

D. 考察

従来の報告と我々の結果を表1にまとめた。MTX赤血球内濃度は、従来の欧米での報告と比較すると、内服用量は2-3倍差があるにもかかわらず赤血球内濃度の差は、1.5倍程度でこれには民族差も関連している可能性が考えられた。一方、当科の成績のみで内服量の補正を行う

表1 赤血球内MTX濃度の過去の報告と当科の成績

人種	対象(人)	平均年齢(歳)	MTX平均内服量(mg/week)	MTX濃度(nmol/L)	報告者
日本人	228	58.4	8.9(2-16)	102	当科
日本人	35	58.8	6.9(4-8)	97.3	Inoue
日本人	55	59	7.2(5-8)	110	Kato
白人(New Zealand)	122	60.5	17.5(10-25)	139	Stamp
白人(オランダ)	20	不明	20(15-25)	153	Meesters
詳細不明(USA)	70	不明	15(5-25)	117	Denieux
詳細不明(USA)	226	66	15(5-25)	102	Denieux

は投薬量に比例した赤血球内濃度が得られていることになり、赤血球内代謝よりは臨床上的の必要性などによって用量が規定されている可能性があると考えられた。しかし、何等かの理由で用量を増加させられなかった6mg以下の群では、1mg服用量あたりの赤血球濃度が高いことが分かった。これらの結果からも患者毎の赤血球内MTX代謝を検討する必要があると思われた。

遺伝子多型は、既知のSLC19A1 80G>AのMAFは0.613/0.387であり、民族間で差がなかった。また、GGH 16T>Cに関しては、今回の検討では欧州と比較して偏りを認めた(表2)。

表2 検討したGGH遺伝子におけるマイナーアレル頻度

SNPs	rs番号	MTX効果	Minor Allele Frequency				赤血球内MTX濃度の傾向
			白人	中国人	日本人	当科	
16T>C	rs1800909	↑*1	0.500/0.500	不明	不明	0.850/0.150	↑
-401C>T	rs3758149	↓*2	0.692/0.308	0.778/0.222	0.640/0.360	0.778/0.222	↑
452C>T	rs11545078	↑*2	0.925/0.075	0.911/0.089	0.856/0.144	0.930/0.070	↓
-354G>T	rs719235	↑*2	0.677/0.323	0.837/0.163	0.895/0.105	0.878/0.122	↑
14269G>A	rs12681874	↓*3	0.890/0.110	0.556/0.444	0.533/0.467	0.563/0.437	→

*1 van der Straeten RJ, et al. Pharmacogenomics. 8(2):141-50. 2007
 *2 Hayashi H, et al. J Clin Pharm Ther. 34(3):355-61. 2009
 *3 Owen SA, et al. Pharmacogenomics J. 2012
 **Drozdzik M, et al. Pharmacogenomics J. 7(4):404-407. 2007

今後、さらに症例数を集積して詳細を検討する予定であるが、今回の研究から、赤血球内MTX濃度は日本人では欧米人よりも高くなる可能性が示された。また、その原因の一部に、GGHの遺伝子多型の頻度の違いも関与する可能性が示唆された。現在、遺伝子多型と治療効果・副作用の出現の関連性について検討を行っているが、こうした検討により、患者の個別医療を推進するとともに、MTXの承認用量の民族差の原因をより明らかにしたいと考えている。

E. 健康危険情報：

該当無し

G. 知的財産権の出願・登録状況：

該当無し

F. 研究発表：

論文発表

1. Kaneko K, Kusunoki N, Hasunuma T, **Kawai S**. Changes of serum soluble receptor activator for nuclear factor κ B ligand after glucocorticoid therapy reflect regulation of its expression by osteoblasts. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Oct; 97(10):E1909-1917. (doi:10.1210/jc.2012-1971)
2. Kitahara K, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, **Kawai S**. Tacrolimus down-regulates chemokine expressions on rheumatoid synovial fibroblasts: screening by a DNA microarray. *Inflamm Res*. 2012 Dec; 61(12):1385-1394. (doi:10.1007/s00011-012-0541-8)
3. Imagawa T, Takei S, Umebayashi H, Yamaguchi K, Itoh Y, Kawai T, Iwata N, Murata T, Okafuji I, Miyoshi M, Onoe Y, Kawano Y, Kinjo N, Mori M, Mozaffarian N, Kupper H, Santra S, Patel G, **Kawai S**, Yokota S. Efficacy, pharmacokinetics, and safety of adalimumab in pediatric patients with juvenile idiopathic arthritis in Japan. *Clin Rheumatol*. 2012 Dec;31(12):1713-1721. (doi: 10.1007/s10067-012-2082-5)
4. Tanaka N, Kusunoki N, Kusunoki Y, Hasunuma T, **Kawai S**. Resistin is associated with inflammation process in systemic autoimmune diseases under glucocorticoid therapy: comparison with leptin and adiponectin. *Mod Rheumatol*. 2013 Jan; 23(1):8-18. (doi:10.1007/s10165-012-0623-z)
5. Kaburaki M, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, **Kawai S**, Endo H. Expression and function of chemerin in the synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis. *J Med Soc Toho*. 2013 Jan;60(1):3-14.
6. Tanaka Y, **Kawai S**, Takeuchi T, Yamamoto K, Miyasaka N. Prevention of joint destruction by tacrolimus in patients with early rheumatoid arthritis: a post hoc analysis of a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Mod Rheumatol*. (doi: 10.1007/s10165-012-0817-4)
7. Muraoka S, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, **Kawai S**. Leptin stimulates interleukin-6 production via janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 in rheumatoid synovial fibroblasts. *Clin Exp Rheumatol*. [Epub 2013 Apr 22] (PMID: 23622344)

平成 24 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

日米韓での実診療における抗凝固薬、降圧薬、抗糖尿病薬の処方量の比較

研究分担者 頭金 正博 名古屋市立大学大学院薬学研究科 教授

研究要旨：日本人を含む東アジア諸民族を対象にした国際共同治験を推進するためには、東アジア民族間での医薬品による応答性の民族差に関する研究が重要になるが、特に薬力学的な観点からの研究は少ない。一方、実診療における処方量は、各患者での有効性と安全性を最大限に発揮できるように最適化されていると考えられる。そこで、日本、韓国および米国での実診療における処方量を調査し、各国での個々の患者に最適化された処方量の平均値を比較することによって、有効性や安全性における民族差の有無について検討することを目的とした。今年度は、抗凝固薬（4 薬剤）、降圧薬（8 薬剤）、抗糖尿病薬（3 薬剤）を調査対象にした。抗凝固薬の中では、ワルファリンは、日韓で平均処方量に差は見られなかったが、米国とは 2 倍程度の差がみられた。その他の抗凝固薬については、3 カ国で差はみられなかった。降圧薬に関しては、アンジオテンシン受容体拮抗薬およびカルシウム拮抗薬のいずれも全般に日韓では差が少ないが、米国での平均処方量が高いものが多かった。作用機序の異なる抗糖尿病薬（3 剤）を対象に調査したところ、3 剤とも米国での平均処方量が高いものの、DPP-4 阻害剤のシタグリプチンは日韓においても差が認められた。以上の結果から、3 カ国での平均処方量は、各国での承認用量に影響を受けていると考えられる医薬品があったが、抗糖尿病薬を除いて、米国との間での平均処方量の違いに比べて、日韓では平均処方量の差はそれほど大きくないと考えられた。

A. 研究目的：

医薬品の有効性と安全性において民族差がみられる場合があることは広く認識されている。特にアジア系民族と欧米系民族の間での医薬品の応答性に関する研究は、薬物動態研究を中心に数多くなされてきた。一方、我が国における新薬開発期間が長期化することによって、諸外国で使用されている医薬品が我が国で使用できないいわゆる「ドラッグ・ラグ」が大きな社会問題となっている。これを解消する有効な手段として、遺伝的な背景が比較的類似している日本を含む東アジア地域を一つの地域として臨床開発を行い、効率的に日本人を含む東アジア諸民族を国際共同治験に組み込む新薬の開発戦略が考えられる。しかし、医薬品の有効性や安全性は、遺伝などの内的要因以外にも環境などの外的要因にも影響を受けることから、東アジア諸民族間に関しても医薬品の応答性に関する全般的な民族差についての科学的な検証を行う必要がある。しかし、特に薬力学的な観点から民族差を検討した研究は数少なく、東アジア民族間での医薬品の応答性に関する包括的な研究は十分でない。

医薬品の実診療における処方量は、基本的には各患者での有効性と安全性を最大限に発揮できるように最適化されている。そこで、本研究においては、同一の医薬品による同一疾患を対象にして日本、韓国および米国での実診療における処方量を調査し、各国での個々の患者に最適化された処方量の平均値

を比較することによって、有効性や安全性における民族差の有無について検討する基礎的資料を得ることを目的とした。

B. 研究方法：

処方データベース

日本、韓国および米国での実診療における使用量については、医薬品マーケットの調査会社であるIMSが構築している、日本、韓国、米国の処方データベースより条件に該当する処方データを購入手した。なお、我が国のデータベースは「日本医療統計」と称し、全国から、層別無作為に抽出した医師へのアンケートを元に、作成されている。ドクター母集団は168,500名で、半期ごとに計1,570名のサンプルドクターから、該当する調査日に発行した全ての処方箋に関する情報を収集している。また、韓国のデータベースは「Korea Medical Data Index」と称し、無作為に抽出された医師を対象とし、日本とほぼ同じ調査票を用いるアンケートを元データとしている。ドクター母集団は41,863名で、年間で計1,402名のサンプルドクターから、日本の場合同様に該当する調査日に発行した全ての処方箋に関する情報を収集している。米国のデータベースは「National Disease and Therapeutic Index (NDTI)」と称し、米国9エリア、28の診療科の開業医に対してアンケートを行い、

処方・疾病情報をサンプリングしたデータである。ドクター母集団は488,011名で、四半期ごとに計4,140名のサンプルドクターから、日本の場合同様に該当する調査日に発行した全ての処方箋に関する情報を収集している。アンケート内容は、他の2国より詳細で、保険タイプその他、以前に処方されていた医薬品情報についても記載されている。また、患者の人種に関する情報が記載されていることが大きな特徴である。

集計方法

平成 24 年度は、抗凝固薬（ワルファリン、アセチルサリチル酸、クロピドグレル、シロスタゾール）、降圧薬（ロサルタン、イベサルタン、バルサルタン、カンデサルタン、テルミサルタン、オメサルタン、ジルチアゼム、アムロジピン）、抗糖尿病薬（グリメピリド、ピオグリタゾン、シタグリブチン）を調査対象薬とした。薬剤毎に ICD-10 コードを指標にした同一疾患への処方量について、再診時での患者一人あたりの 1 日処方量（加重平均値）を求めた。投与を受けた患者の背景として、性別と年齢についてもデータを集計した。

（倫理面での配慮）

本研究は資料として既に連結不可能匿名化された公表済みの市販のデータベースのみを用いた調査研究であるので、疫学研究に関する倫理指針等の対象外であると判断した。また、本研究の実施研究者と本研究の調査した医薬品の製造販売会社との間には利害関係はない。

C. 研究結果：

（1）抗凝固薬

ICD-10（国際疾病分類第 10 版）での脳血管疾患（I60 – I69）を対象として使用されている抗凝固薬の処方量調査を行った（表 1）。日米韓で上市されている抗凝固薬を予備調査してところ、それぞれ作用機序の異なるワルファリン、アセチルサリチル酸、クロピドグレル、シロスタゾールがあることがわかった。ワルファリンはビタミン K に拮抗することによって抗凝固作用を示し、アセチルサリチル酸は、シクロオキシゲナーゼを抑制することによってトロンボキサンの生合成も抑制し、抗血小板作用を示す。また、クロピドグレルは ADP 受容体に拮抗作用を示すことによって抗血小板作用を示し、シロスタゾールは 3 型ホスホジエステラーゼに選択的に働くことで、cAMP によりプロテインキナーゼ A を活性化し、血小板の凝集を抑制する作用を示す。3 カ国での 4 剤の使

用実績は、いずれの薬剤も日本での使用実績が多かった（表 2）。また米国、韓国での使用実績は、日本より使用実績は少ないが、ワルファリンは比較的米国で多く使用されており、シロスタゾールは比較的韓国で多く使用されていた（表 2）。市場規模を考慮すると米国での抗凝固薬の使用量が少ないといえる。今回の調査では脳血管疾患に焦点を絞ったが、米国では心疾患への適用が多い可能性が考えられる。まず、再診時での 4 剤の処方量について、各国での性別毎、年齢階層毎で集計を行ったところ、性別、年齢階層の大きな影響は見られなかった（データは省略）。そこで、3 カ国での全体の平均処方量を比較したところ、米国でのワルファリンの平均処方量が日韓と比較して突出して多かった（表 2）。ワルファリンの処方量は日米では PT-INR 値によって患者毎に最適量を決定していることから（表 3）、ワルファリンの有効性あるいは安全性において、東アジア間では差がないが、アジア系と欧米系民族との間に差がある可能性が示唆された。その他の 3 剤に関しては 3 ヶ国間で平均処方量に大きな差はみられなかった（表 2）。

また、同様の条件で米国内での平均処方量を白人、黒人、ヒスパニック系、アジア系、その他の民族で分類して調査した（図 1）。シロスタゾールは米国内での処方箋件数が少なく、民族毎の階層化ができなかった。シロスタゾールを除く、3 剤については、ワルファリンの処方量を含めて（ワルファリンについてはアジア系での処方箋件数が少なく集計ができなかった）、米国内での大きな民族差はみられなかった。米国内でのアジア系民族でのワルファリンの平均処方量が調査できなかったため、3 カ国の平均処方量を比較した際の米国でのワルファリンの処方量が日韓と比較して 2 倍程度になっていた理由を明らかにすることはできなかったが、ワルファリンの代謝や薬理作用に関与する酵素群の遺伝子多型頻度の違いなどの内的要因と診断基準等の外的要因が関与している可能性が考えられる。

（2）降圧薬

日米韓の 3 カ国で上市されているカルシウム拮抗薬およびアンジオテンシン受容体阻害薬（ARB）を調査したところ、カルシウム拮抗薬では、ジルチアゼム、アムロジピン、ARB ではロサルタン、イベサルタン、バルサルタン、カンデサルタン、テルミサルタン、オメサルタンが市販されていることがわかった。そこで、ICD-10 分類での本態性高血圧症（I10）を対象にして処方されているこれらカルシウム拮抗薬 2 剤、ARB 6 剤の再診時での処方量を調査した。まず始めに、抗凝固

薬と同様に性別及び年齢で階層化し、処方量に性差あるいは年齢差が無いか確認した。その結果、性別および年齢によって処方量に大きな差はなかった（データは省略）。この結果から、これら 3 剤について、3 カ国での薬剤毎の全ての処方箋を対象として平均処方量を集計した。その結果、表 4 に示すように、いずれの ARB でもアメリカでの平均処方量が突出して高く、韓国の平均処方量は日本と同じレベルか、高い場合が多かった。カルシウム拮抗薬でも同様の傾向が見られた。この結果を各国での ARB とカルシウム拮抗薬の承認用量と比較したところ、図 2 に示すように、米国では ARB 及びカルシウム拮抗薬とも、平均処方量は承認用量の中心付近の値となっていた。一方、日本の平均処方量は ARB については、承認用量のうち、通常量の最大値に近い量が用いられており、カルシウム拮抗薬は通常量の中心付近の値となっていた。また、韓国での平均処方量は ARB およびカルシウム拮抗薬とも、承認用量の最低値に近い量が用いられていた。

同様の条件下での米国内での各民族での平均処方量を比較したところ、図 3 および図 4 に示すように、ARB およびカルシウム拮抗薬の処方量は各民族間で大きな差は認められなかった。以上の結果から、日本と米国での処方量の違いは、承認用量の違いが大きく影響していると考えられた。一方、韓国の承認用量は米国と類似している薬剤が多かったが、韓国は承認用量の最低値に近い処方量となっており、有効性あるいは安全性に米国との民族差があるため、処方量を調整している可能性が考えられた。

(3) 抗糖尿病薬

日米韓の 3 カ国で上市されている抗糖尿病薬を調査したところ、スルホニル尿素剤ではグリメピリド、チアゾリジン薬剤ではピオグリタゾン、DPP-4 阻害薬ではシタグリプチンが市販されていることがわかった。そこで、ICD-10 分類での糖尿病（E10 インスリン依存性糖尿病を除く）を対象にして処方されているこれら 3 種類の抗糖尿病薬の再診時での平均処方量を調査した。抗凝固薬および降圧薬と同様に性別及び年齢で階層化し、処方量に性差あるいは年齢差が無いか確認した。その結果、性別および年齢によって処方量に大きな差はなかった（データは省略）。この結果から、これら 3 剤について、3 カ国での薬剤毎の全ての処方箋を対象として平均処方量を集計した。その結果、表 5～7 に示すように、日米での処方量を比較すると、3 剤とも米国での平均処方量は日本の 2 倍程度になっていた。一方、韓国での平均処方量については、グリメピリドについ

ては、日米の間であり、ピオグリタゾンは 3 カ国で最も低い処方量となっており、シタグリプチンについては、3 カ国で最も高い平均処方量となっていた。

また、同様の条件下での米国内での各民族での平均処方量を比較したところ、図 5 に示すように、3 剤の処方量を各民族で比較しても大きな差は認められなかった。以上の結果から、日米韓での平均処方量の関係は、各国での承認用量（表 5～7）が影響している可能性が考えられた。また、日米での承認用量の設定には、それぞれの医薬品の代謝酵素等の遺伝子多型頻度も影響している可能性があるため、日米での平均処方量の差は内定要因が関与している可能性もある。

D. 健康危険情報：

該当なし。

E. 研究発表：

1. 萩原 宏美、山田 健人、菅谷 真紀、藤原由季子、頭金 正博、川合 眞一. 日米韓におけるスタチン類の処方量の比較 第 33 回日本臨床薬理学会学術総会 平成 24 年 12 月 2 日 沖縄
2. Masahiro Tohkin, Contribution of Pharmacokinetics Study to the Global Clinical Trials 「シンポジウム 3 薬物動態研究者による Translational Medicine」 日本薬物動態学会第 27 回年会 平成 24 年 11 月 21 日 東京

F. 知的財産権の出願・登録状況：

該当なし。

G. 添付資料

該当なし。

表 1 ICD-10 国際疾病分類第 10 版

脳血管疾患 (I 60 - I 69)

I 60	くも膜下出血
I 61	脳内出血
I 62	その他の非外傷性頭蓋内出血
I 63	脳梗塞
I 64	脳卒中, 脳出血又は脳梗塞と明示されないもの
I 65	脳実質外動脈の閉塞及び狭窄, 脳梗塞に至らなかったもの
I 66	脳動脈の閉塞及び狭窄, 脳梗塞に至らなかったもの
I 67	その他の脳血管疾患
I 68	他に分類される疾患における脳血管障害
I 69	脳血管疾患の続発・後遺症

表 2 日米韓での抗凝固薬の 1 日平均処方量 (再診時)

	JAPAN	KOREA	USA
Warfarin	2.06(n= 4,811,314)	1.96 (n= 40,178)	4.08 (n=109,991)
Acetylsalicylic acid	100.95 (n=31,048,467)	119.13 (n=473,040)	81.00 (n= 34,501)
Clopidogrel	70.95 (n=15,882,959)	75.43 (n=226,415)	76.32 (n=311,924)
Cilostazol	171.53 (n=14,233,019)	150.99 (n= 93,077)	141.97 (n= 9,916)

(単位 mg/day)

表 3 日米韓での 1 日あたりの承認用量

	JAPAN	KOREA	USA
Warfarin	INR により決定 (通常初回 1 ~ 5 mg)	初回 1日 2-5 mg 維持 1日 2-10 mg	INR により決定
Acetylsalicylic acid	81 ~ 100 mg		
Clopidogrel	75 mg	75 mg	75 mg
Cilostazol	200 mg	200 mg	100 mg (併用薬によ り 50mg)

(単位 mg/day)

表 4 日米韓での降圧薬の1日平均処方量（再診時）

ARB	Japan	Korea	USA
Valsartan	81.54	93.22	163.51
Losartan	46.96	58.25	75.38
Irbesartan	101.36	150.95	220.47
Candesartan	6.83	11.66	18.64
Telmisartan	40.36	48.97	57.54
Olmесartan	21.14	18.64	30.11

(単位 mg/day)

Ca拮抗薬	Japan	Korea	USA
Diltiazem	116.60	122.57	244.37
Amlodipine	5.08	5.09	7.50

(単位 mg/day)

表 5 日米韓でのグリメピリドの1日平均処方量（再診時）

Japan	Korea	USA
1.90 (n=44,663,384)	3.09 (n=2,622,750)	3.91 (n=1,059,576)

(単位 mg/day)

日米韓でのグリメピリドの承認用量

	Japan	Korea	USA
Maximum	6	(with insulin: 8mg)	8
Maintenance	1~4		
starting	0.5~1	1	1
strengths	0.5,1,3	1,2,3,4	1,2,4

(単位 mg/day)