

201303020A

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 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川 合 眞 一

平成 26 (2014) 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 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川 合 眞 一

平成 26 (2014) 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	8
-------	---

竹内 正弘	13
-------	----

吉成 浩一	19
-------	----

渡邊 裕司	26
-------	----

宇山 佳明	29
-------	----

齋藤 嘉朗	33
-------	----

松本 宜明	40
-------	----

田中 廣壽	44
-------	----

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

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 25 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：

わが国における新薬開発期間の長期化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日本を含む東アジア地域を一つの地域として効率的に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、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。平成 19～20 年度には文献調査により薬物動態学的観点から民族差に関する包括的な検討を行った。また、平成 21～22 年度には日中韓米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た。しかし、民族差を知るためには薬物動態のみならず、医薬品の応答性、すなわち薬力学的観点から検討する必要がある。そのため、平成 23-25 年度の本研究では、医薬品の国際共同開発及び臨床データ共有において、薬物動態および薬力学的観点から特に東アジアでの民族的要因を明確化することを目的とした。以下、平成 25 年度の研究成果概要を示した。

【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 年度の日中韓米における薬物動態試験について母集団薬物動態解析を行った。メロシキカムの解析では、クリアランスに対する *CYP2C9* 遺伝子多型などの影響が認められた。これらを既存報告論文と比較し、さらに PK/PD 解析により薬効の予測を行った。シンバスタチンの解析では、オープンアシッド体の分布容積に対する年齢の影響が認められた。モキシフロキサシンの未変化体については、若干の民族差の影響が示唆された。（松本）

薬物動態関連の 6 遺伝子 12 多型について、東アジア諸民族と日本人との多型頻度差を調査した。特に *CYP2A6*4* は、2 倍以上の頻度差が日中間で認められた。また、フェニトインの蛋白質アダクト形成に関与する *CYP2C19* の活性消失型多型は、副作用発現の人種差の一因となっている可能性が考えられた。（斎藤）

コレステロール摂取量が低下すると肝 *CYP3A4* 発現レベルが低下する。その機序として、コレステロールホメオスタシス調節因子である *SREBP-2* の活性化が示唆された。（吉成）また、*CYP3A4* の発現調節に関連する pregnane X receptor のコファクターとして、*PKM2* を同定した。（田中）

【薬力学における民族差が生じる要因に関する研究】

ワルファリンの維持量の民族差を検討した。その結果、3 地域の日平均処方量は、日本と韓国がほぼ同量であり、米国はその約 2 倍であった。ワルファリンの標的分子であるビタミン K エポキシド還元酵素複合体 1 (*VKORC1*) の遺伝子多型のうち、投与量に影響するハプロタイプ頻度には民族差があると報告されていることから、処方量の違いには、*VKORC1* のハプロタイプ頻度の差が影響していると考えられた。（頭金・川合）

関節リウマチ治療薬に対する薬物反応性は国によって異なることがある。手術時に得られた関節リウマチ患者の滑膜組織から DNA を抽出し、外来微生物の潜在感染を検討した。今年度は EB ウイルス感染を検討したが、対照の変形性関節症とは感染率に有意差がなかった。また、*HLA-DRB1* 遺伝子との関連性も認めなかった。（川合）

緑茶とその成分であるエピガロカテキンガレートは、薬物トランスポーター *OATP1A2* を特異的に阻害した。緑茶は β 遮断薬ナドロールのみならず他の *OATP1A2* の基質となる薬物の吸収を阻害することから、薬物応答の民族差の外的要因となる可能性がある。（渡邊）

民族差の存在が示唆される国際共同試験において、地域間の治療効果の一貫性を評価する方法として経験ベイズ法がある。今回、モンテカルロシミュレーションによって提案法の性能評価を行った結果、従来法よりも有用な場合があることが示唆された（竹内）。また、国際共同治験を主たる臨床成績として承認された医薬品数が近年増加し、国際共同治験の実施が開発ラグを有意に短縮していることが確認された（宇山）。

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

吉成浩一・東北大学大学院薬学研究科・准教授

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・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情報を得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、基礎的・臨床的な観点から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、医療での実使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。さらに、各分担研究者が薬力学に影響のあるさまざまな要因について、個別に検討した。

(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。

メロシキカムの解析では、クリアランスに対するCYP2C9遺伝子多型、分布容積に対するLBMの影響が認められた。これらを既存報告論文と比較し、さらにPK/PD解析により薬効の予測を行った。*3/*3の変異は大きく薬効に影響した。シンバスタチンの解析では、オープンアシッド体の分布容積に対する年齢の影響が認められた。モキシフロキサシンの未変化体については、腎クリアランスに対するGFRと韓国人、分布容積に対するLBMと韓国人の影響が認められた。代謝物2種についてはBSA、UGT1A1遺伝子多型並びに白人及び韓国人の影響が認められた。(松本)

2) 民族差要因として重要な機能変化を有する薬物動態関連の6遺伝子12多型について、東アジア諸民族と日本人との多型頻度差を文献調査した。特にCYP2A6*4は、2倍以上の頻度差が日中間で認められたことから、注意すべきと考えられた。またフェニトインの蛋白質アダクト形成に関与するCYP2C19の活性消失型多型は、形成を低下させることが示唆され、副作用発現の人種差の一因となっている可能性が考えられた。(斎藤)

3) コレステロール摂取量が低下すると肝CYP3A4発現レベルが低下する。その機序として、コレステロールホメオスタシス調節因子であるSREBP-2の活性化が示唆された。(吉成)

4) CYP3A4の発現調節に関連するpregnane X receptorのコファクターとして、PKM2を同定した。近年、PKM2は悪性腫瘍における代謝を介した腫瘍増殖促進因子として注目されている。株化ヒト癌細胞を用いた検討から、免疫沈降、免疫蛍光染色により、両者は核内で共局在することが示された。PXRはPKM2の下流の遺伝子発現と癌細胞の増殖に多彩な影響を与えた。すなわち、われわれの結果

はPXRによる薬物などの代謝と腫瘍の関連を示唆し、腫瘍発生の民族差や新たな抗悪性腫瘍薬開発に新たな方向性を与えるものである。(田中)

【薬力学における民族差が生じる要因に関する研究】

1) ワルファリンの維持量において民族差が認められるか検討するため、日本、米国、韓国での一日あたりの処方量を比較した。その結果、3地域の日平均処方量は、日本と韓国がほぼ同量であり、米国はその約2倍であった。ワルファリンの標的分子であるビタミンKエポキシド還元酵素複合体1 (VKORC1) の遺伝子多型のうち、投与量に影響するハプロタイプ頻度には民族差があると報告されていることから、処方量の違いには、VKORC1のハプロタイプ頻度の差が影響していると考えられた。(頭金・川合)

2) 関節リウマチ治療薬に対する薬物反応性は国によって異なることがある。手術時に得られた関節リウマチ患者の滑膜組織からDNAを抽出し、外来微生物の潜在感染を検討した。今年度はEBウイルス感染を検討したが、対照の変形性関節症とは感染率に有意差がなかった。また、HLA-DRB1遺伝子も検討したが、EBウイルス感染との間に有意な関連性を認めなかった。他の外来微生物および民族差については今後検討の予定である。(川合)

3) 薬物応答性の民族差を生じる要因として、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外的要因として緑茶の影響を検討することが重要である。本研究では、緑茶が降圧薬として用いられるβ遮断薬ナドロールの薬物動態および薬効へ及ぼす影響を検討した。2週間の緑茶(高カテキン含有緑茶700mL/日)飲用は、ナドロールの腎クリアランスを変化させることなく、ナドロールのC_{max}およびAUCをとともに約85%低下させた。また、緑茶飲用によりナドロールの血圧低下作用および心拍数低

下作用は著明に減弱した。さらに薬物トランスポーターであるOATP1A2とOATP2B1を発現するHEK293細胞を用いた実験より、ナドロールがOATP1A2の基質となり、緑茶はOATP1A2阻害活性を有することが明らかとなった。これらの結果は、緑茶がOATP1A2依存的なナドロールの腸管吸収を阻害することにより、ナドロールの血中移行を低下させ、薬効を減弱させる可能性があることを示している。本研究により、緑茶は薬物トランスポーターを介して医薬品の応答性を変化させ、薬物応答の民族差を生じる外的要因となることが強く示唆された。(渡邊)

4) 治療効果の民族差の存在が示唆される国際共同試験において、地域間の治療効果の一貫性を評価することは重要である。地域間で一貫した治療効果を有する場合には、他の地域の情報を利用して推定を行う経験ベイズ法が有用である。我々は経験ベイズ法の利用妥当性を評価することによって一貫性を評価する方法を提案した。モンテカルロシミュレーションによって提案法の性能評価を行った結果、従来法よりも有用な場合があることが示唆された。(竹内)

5) 前年度に引き続き国際共同治験の実施例を精査するとともに、医薬品の開発戦略がドラッグ・ラグに与える影響を検討した。その結果、国際共同治験を主たる臨床成績として承認された医薬品数が近年増加していた。また、国際共同治験の実施が、開発ラグ(承認申請時期における海外との差)を有意に短縮していることが確認された。さらに、日本での臨床試験を早期に開始すること、シーズを日本で発見し国内で開発を進めることなども開発ラグの短縮には重要と考えられた。(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ことを目指したい。

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

関節リウマチ滑膜組織におけるウイルス由来遺伝子の発現と疾患感受性遺伝子 HLA-DRB1 多型の検討

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 高松 諒 東邦大学医学部整形外科学講座
研究協力者 楠 夏子 東邦大学医学部内科学講座膠原病学分野

研究要旨：

背景と目的：関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) は疾患感受性遺伝子と環境因子との相互作用により発症する多因子疾患とされる。疾患感受性遺伝子には、HLA-DRB1 遺伝子が知られており、とくに DRB1*0405 と DRB1*0101 は RA との関連が強く示唆されている。一方、環境因子としては Epstein-Barr virus (EBV) などのいくつかの外来微生物の関与が長年指摘されてきた。今回、我々は手術時に得られた日本人 RA 患者の滑膜組織から抽出したゲノム DNA を用いて HLA-DRB1 遺伝子のアリルと EBV の潜伏感染遺伝子 EBNA-1 の一部の配列を同定し、RA における遺伝要因と環境要因の関連性を明らかにすることを目的とした。

対象：東邦大学医療センター大森病院整形外科で施行された人工関節膝関節置換術時に採取し、連結不可能匿名化して凍結保存していた滑膜組織 (RA: 155 例、OA: 157 例) を使用した。

方法：滑膜組織からゲノム DNA を抽出し、これを鋳型に nested polymerase chain reaction (nested PCR) で EBNA-1 の一部を増幅した。得られた PCR 産物をアガロース電気泳動し、目的の遺伝子領域のバンドを確認した。その後、バンド部分から精製した PCR 産物の遺伝子配列をダイレクトシーケンスにて解析した。また、抽出したゲノム DNA から、reverse sequence specific oligonucleotide (rSSO) 法にて HLA-DRB1 遺伝子のアリルを解析した。

結果：RA 患者と OA 患者の滑膜組織における EBNA-1 遺伝子の検出率に有意差は認められなかった。また、EBNA-1 遺伝子の発現および遺伝子型と HLA-DRB1 遺伝子型に関連性は認められなかった。

結語：今回の検討では、日本人 RA 患者においては EBV 潜在感染の関与を確認することはできなかった。また、HLA-DRB1 遺伝子型との関連性も認められなかったが、今後、東アジアなどの多民族での検討が必要と思われた。

A. 研究目的：

関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) は多発性の関節炎と疼痛を主症状とする進行性の自己免疫性疾患と定義されている。

その病因は不明で、現在のところ、疾患感受性遺伝子と環境因子との相互作用により発症する多因子疾患とされている。RA は世界のあらゆる人種・民族に発症する疾患だが、病因が不明であることから民族間で遺伝要因と環境要因が異なる可能性もあり、薬物反応性に影響することも考えられる。

RA の疾患感受性遺伝子には、HLA-DRB1 遺伝子が知られており、とくに DRB1*0101 と DRB1*0405 が日本人を含む多くの民族で RA との関連が示唆されている。一方、環境因子としてはウイルスなどの微生物感染が考えられており、中でも Epstein-Barr virus (EBV) は、長年主に血清学的な検討によりその関与が指摘されてきた。

今回、我々は手術時に得られた日本人 RA の滑膜組織から抽出したゲノム DNA を用いて

HLA-DRB1 遺伝子の一部と EBV 遺伝子の一部を同定し、RA における遺伝要因と環境要因の関連性を明らかにすることを目的とした。

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 (23-4) および (25-3) を得て実施した。

B. 研究方法：

(1) 使用検体

東邦大学医療センター大森病院整形外科で施行した人工関節置換術時の余剰組織を連結不可能匿名化し、凍結保存した滑膜組織 RA: 155 例、変形性関節症 (OA) : 157 例を使用した。

(2) EBNA-1 の遺伝子解析

滑膜組織から QIAGEN 社 QIAamp DNA Mini Kit を使用してゲノム DNA を抽出した。これを鋳型に潜伏感染遺伝子 EBNA-1 に特異的なプライマーと QIAGEN 社 HotStarTaq DNA Polymerase を使用して、nested polymerase chain reaction

(nested PCR)を行った。プライマーは 1st に 5' -AGATGGTGAGCCTGACGTG-3' と 5' -GCATCCTTCAAAACCTCAGC -3' を、2nd に 5' -CCCGCAGATGACCCAGGAGA-3' と 5' -GGGTCCAGGGGCCATTCCAAA-3' をそれぞれ使用した。反応は 1st、2nd とともに、95°C、15 分の初期変性の後、94°C、45 秒の変性、60°C、45 秒のアニーリング、68°C、45 秒の伸張反応を 35 サイクル、68°C、7 分の最終伸張反応で行った。

得られた PCR 産物をアガロース電気泳動し、目的のバンドを確認した。QIAGEN 社 QIAquick Gel Extraction Kit を使用して、バンド部分から精製した PCR 産物の遺伝子配列を解析した。

(3) HLA-DRB1 遺伝子の解析

抽出したゲノム DNA から reverse sequence specific oligonucleotide (rSSO) 法にて HLA-DRB1 遺伝子のアレルを解析した。

C. 研究結果：

(1) EBNA-1 の陽性率

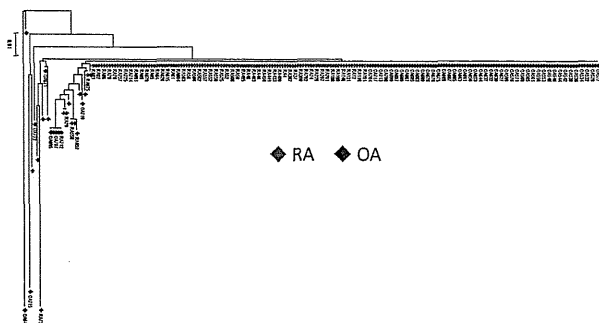
EBNA-1 は、RA155 例中 119 例 (76.8%)、OA157 例中 112 例 (71.3%) に陽性を認めた。RA 群、OA 群に統計学的有意差は認められなかった。

(2) EBNA-1 の遺伝子解析結果

各検体から得られた EBNA-1 の遺伝子配列を基に遺伝子系統樹を作成した (図 1)。特定のクラスターに RA が偏って分布するなどの疾患特異性は認められなかった。

(図 1)

EBNA-1 の遺伝子系統樹



(3) HLA-DRB1 遺伝子の陽性率 (%)

本研究で得られた HLA-DRB1 遺伝子の内、RA との関連性が示唆されている各アレルの陽性率は図 2 の如くであった。

(図 2)

HLA-DRB1 遺伝子の陽性率 (%)

DRB1	本研究	国内報告 ¹⁾	
	RA	RA	HC
*0401	6.5	4.6	2.3
*0404	1.3	1.1	1.5
*0405	46.5	47.0	24.5
*0410	5.8	6.2	1.9
*0101	15.5	14.1	9.8
*1001	4.5	2.2	0.8
*1402	0	0.2	0

1) Shibue T, Tsuchiya N, Komata T, et al: Arthritis Rheum. 43:753-757, 2000
HC, healthy control

(4) EBNA-1 と HLA-DRB1*0405, *0101 の関連

DRB1*0405 の陽性群と陰性群における EBNA-1 の陽性率に統計学的有意差は認められなかった。DRB1*0101 でも同様の検証を行ったが統計学的有意差は認められなかった (図 3)。

また、DRB1*0405、DRB1*0101 のいずれか、または両方を有する群といずれも有さない群で検証を行ったが統計学的有意差は認められなかった (図 4)。

(図 3)

Fisher's exact test
P=0.8495

		HLA-DRB1*0405	
		陽性	陰性
EBNA-1	陽性	56 (75.7%)	63 (77.8%)
	陰性	18 (24.3%)	18 (22.2%)

Fisher's exact test
P=0.1112

		HLA-DRB1*0101	
		陽性	陰性
EBNA-1	陽性	15 (62.5%)	104 (79.4%)
	陰性	9 (37.5%)	27 (20.6%)

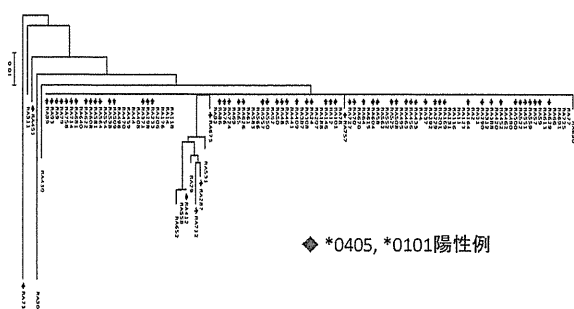
(図 4)

Fisher's exact test P=0.0816		HLA-DRB1 *0405 or/and *0101	
		陽性	陰性
EBNA-1	陽性	65 (71.4%)	54 (84.4%)
	陰性	26 (28.6%)	10 (15.6%)

(5) EBNA-1 陽性の RA における HLA-DRB1*0405, *0101 の分布

RA より得られた EBNA-1 の遺伝子系統樹を作成し、HLA-DRB1*0405, *0101 の分布を検証した (図 5)。しかし、特定のクラスターに DRB1*0405, *0101 の分布するなどの特異性は認められなかった。

(図 5)



D. 考察・結論

本研究結果からは、日本人 RA においては環境因子の 1 つと疑われる EBNA-1 と遺伝因子の 1 つとされる HLA-DRB1*0405, *0101 に関連性は認められなかった。今後、他の人種・民族に範囲を広げて検証していく方針である。

E. 健康危険情報：

該当無し

F. 研究発表：

国内発表

高松 諒, 蓮沼智子, 楠 夏子, 鹿野孝太郎, 窪田綾子, 宮崎芳安, 中村卓司, 高橋 寛, 川

合眞一. 関節リウマチ滑膜組織におけるウイルス由来遺伝子の発現と疾患感受性遺伝子 HLA-DRB1 多型の検討. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2014 年 4 月 24 日-26 日, 東京.

学術論文

1. Nakano M, Iijima H, Takada K, Uchida N, **Kawai S**, Kagiya T, Kumagai Y. The role of the Japanese society of clinical pharmacology and therapeutics in the transition of clinical studies in Japan. *JMAJ*. 2013 Mar-Apr;56(2):115-117.
2. 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*. 2013 Jul-Aug;31(4):589-595.
3. 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*. 2013 Nov;23(6):1045-1052. (doi:10.1007/s10165-012-0817-4)
4. Takeuchi T, **Kawai S**, Yamamoto K, Harigai M, Ishida K, Miyasaka N. Post-marketing surveillance of the safety and effectiveness of tacrolimus in 3,267 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. 2014 Jan;24(1):8-16. (doi:10.3109/14397595.2013.854074)
5. Hirayama A, Tanahashi N, Daida H, Ishiguro N, Chachin M, Sugioka T, **Kawai S**, on behalf of all ACCEPT study investigators in Japan. Assessing the cardiovascular risk between celecoxib and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis: a 3-year nationwide comparative observational study in Japan (ACCEPT). *Circ J*. 2014 Jan;78(1):194-205. (doi:10.1253/circj.CJ-12-1573)

著書

1. **Kusunoki N**, Kojima F, **Kawai S**. Effects of adipokines on prostaglandin E₂ production by rheumatoid synovial fibroblasts. In: O'Keefe JM (Ed) *Arachidonic Acid: Sources, Biosynthesis and Health Effects.*, pp 165-183, Nova Science Publishers, Inc., New York, 2014. [ISBN: 978-1-63117-619-7] [ISBN: 978-1-63117-620-3 (eBook)]

G. 知的財産権の出願・登録状況：

該当無し

日米韓での実診療における抗凝固薬処方量の比較

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：

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。そこで、日本、韓国および米国での実診療における抗凝固薬（ワルファリンとダビガトラン）の処方量を調査し、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した。また、米国 FDA の構築した副作用の自発報告データベースを用いて、抗凝固薬による出血性副作用の発生頻度をアジアと非アジア諸国間で比較した。その結果、ワルファリンの一日あたりの処方量の平均値を日米韓で比較したところ、同じアジア地域である日本と韓国では差がみられず、米国においては約 2 倍量となった。また、米国内における民族間の処方量の比較においてもアジア系民族が最も低用量であり、VKORC1 のハプロタイプ頻度が影響していると考えられた。一方、トロンビン阻害薬であるダビガトランでは、日米韓の処方量に大きな差は見られなかった。また、アジア諸国と非アジア諸国でのダビガトラン対ワルファリンの全副作用報告数に占める出血性副作用報告数割合の比(ROR)を算出し、アジア諸国と非アジア諸国を比較したところ、ワルファリンと比較したときのダビガトランの出血性副作用の報告数割合はアジア諸国の方が有意に低い結果が得られた。以上の結果から、大規模医療データベースを用いることによって、実診療における抗凝固薬の有効性と副作用の民族差を検出することが可能であることが示された。

A. 研究目的：

経口抗凝固薬のワルファリンは、古くから世界中で使用されてきた薬剤であるが、その至適用量には大きな個体差があることが知られている。この理由として、年齢や体重、飲食物などの患者背景と、ワルファリンの薬物代謝酵素である CYP2C9 及び標的分子であるビタミン K エポキシド還元酵素複合体 1 (VKORC1) の遺伝子多型の存在が影響しており、その遺伝子多型の頻度には民族差が認められることが明らかにされている。一方、非弁膜症性心房細動 (AF) 患者における脳卒中/全身性塞栓症の発症抑制を適応症として 2011 年に承認されたダビガトラン (プラザキサ) は、トロンビン活性を選択的に直接阻害する抗凝固薬であるが、代謝に CYP が関与しないため薬物相互作用が少なく、ビタミン K を含む納豆などの食事制限も不要であるとされているが、腎排泄率が約 80% と高いため腎機能障害には注意が必要となる。また、治療域が広いと固定用量で使用可能であるとされている。

そこで、本研究ではワルファリンとダビガトランが実際の治療に用いられている維持量において民族差が認められるか検討するため、日本、米国、韓国でのワルファリンおよびダビガトランの一日あたりの処方量を比較した。また、米国 FDA の構築した副作用の自発報告データベース

(FAERS)を用いて、ワルファリンとダビガトランによる出血性副作用の発生頻度に民族差が見られないか検討を行った。

B. 研究方法：

【処方量調査】

日米韓において医薬品の処方量調査を行っている IMS ジャパンの調査データを用いた。ワルファリンあるいはダビガトラン投与中患者の再診時に処方された 1 日あたりの処方量を男女別、年齢階層別に集計し、3 カ国で集計した。また米国内での白人、黒人、アジア系民族、ヒスパニック系民族間での処方量を比較した。

【副作用の発生頻度調査】

2004 年第 1 四半期から 2012 年第 4 四半期までの米国 FAERS に登録された副作用情報を用い、各症例をダビガトランの有無、ワルファリンの有無、その他の医薬品、出血性副作用の有無で分けて、2×2 の分割表に集計した。これをアジア諸国と非アジア諸国に分類して、ワルファリン、ダビガトランおよび、ダビガトラン対ワルファリンの全副作用報告数に占める出血性副作用報告数割合の比(ROR)を算出した。解析には SAS9.3 を用いた。

(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：

【処方量調査】

抗凝固薬として古くより用いられているワルファリンは、ビタミンK依存性血液凝固因子の生合成抑制によって抗凝固作用を発揮するが、処方量は、定期的な血液凝固検査によって決定される。そこで、ワルファリンの有効性における民族差を検討するため、一日当たりの平均処方量を日米韓の処方箋記録を用いて比較した。まず、40歳～64歳と、65歳以上での2つの年代別グループでの平均処方量を比較すると、いずれの地域においても65歳以上のグループが低用量となっていた。また、各年代別グループについて3地域の一日常平均処方量を比較した結果、いずれの年代別グループにおいても日本と韓国がほぼ同量であり、米国はその約2倍の処方量であった(図1)。一方、米国内で白人、黒人、アジア系民族、ヒスパニック系民族での一日平均処方量を比較したところ、アジア系民族が最も低用量を示した(図2)。これまでにワルファリンの作用部位であるVKORC1の遺伝子多型のうち、ワルファリン投与量に影響するハプロタイプを有する割合には民族差があると報告されており、このハプロタイプの頻度は、欧米人、アフリカ人、アジア人でそれぞれ0.37、0.14、0.89と報告されている。今回の調査で明らかになった3地域での一日平均処方量の差および米国内での民族の違いによる処方量の差には、これらのハプロタイプ頻度の差が影響していると考えられた。

一方、ダビガトランはトロンビン活性を選択的に直接阻害することによって抗凝固作用を示すが、ビタミンKを含む納豆などの食事制限も不要で、また、治療域が広い固定用量で使用可能である。そこで、ダビガトランについてもワルファリンと同様に一日当たりの平均処方量を日米韓の処方箋記録を用いて比較した。その結果、米国内での平均処方量が、日韓と比較して10～15%程度多かったが、ワルファリンの様な大きな差は見られなかった(図3)。ダビガトランは、腎排泄率が約80%と高いため腎機能障害による影響を受けやすいため、腎機能の低下した患者での処方量を減らすように添付文書等で指示がなされて

いるが、日本・韓国がクレアチニン・クリアランスと処方量による減量をより厳しく設定しているため、米国内での平均処方量が、日韓と比較して多い理由と考えられた。

【副作用の発生頻度調査】

ワルファリンによる出血性副作用の報告頻度(ROR)を、アジア諸国、非アジア諸国で分類して算出した。その結果、アジア諸国でのRORは、2.45で、非アジア諸国でのRORは2.73と、地域間で大きな差は見られなかった。また、ダビガトランの副作用報告が存在する2010年第4四半期以降のデータを用いダビガトランについてもRORを算出したところ、アジア諸国では6.71、非アジア諸国では9.38となっており、アジア諸国での報告頻度が低かった。以上をまとめると、ワルファリンは米国での処方量が日本や韓国の2倍程度となっていたが(図1)、出血性副作用の報告頻度としては、地域差がないと考えられた。一方、ダビガトランは、各地域での処方量に差がないものの(図3)、副作用の報告頻度は、アジア諸国で低いことを示していた。以上の結果は、アジア系と非アジア系人種で、ワルファリンやダビガトランによる出血性副作用の発症に関する感受性に差があることを示唆している。次に、ワルファリンによる出血性副作用感受性の民族差を標準化した上で、ダビガトランによる出血性副作用の報告頻度を各国間で比較するため、ダビガトランによる出血性副作用の報告頻度とワルファリンによる出血性副作用の報告頻度を比較した指標(ROR')を用いてダビガトランによる出血性副作用に関する民族差を検討したところ、ダビガトランによる出血性副作用の報告頻度にアジア諸国と非アジア諸国との間で有意な差が見られた(有意水準 $\alpha=0.05$)(図4)。この結果は、ダビガトランとワルファリンを比較するために行われた第3相臨床試験であるRE-LY試験での、被験者をアジア系民族、非アジア系民族に分けて有効性や安全性を解析したサブグループ解析から得られた「アジア系民族ではダビガトランの方がワルファリンより出血性副作用の頻度が少ない一方で、非アジア系民族ではダビガトランとワルファリンで出血性副作用の頻度に大きな差はない」というHoriらの結論(Hori M, *et al.* Stroke 2013 Jul;44(7):1891-6)を支持していた。また、ダビガトランのRORについては、いずれも1を上回っていた。これはダビガトランの方が出血性副作用に関する報告数の割合がワルファリンより高いことを示しているが、日本では2011年第3四半期に、米国では2011年第4四半期にダビガトランの安全性に関する情報が発出された影響と考

えられた。

以上のように、ワルファリンとダビガトランの処方量と出血性副作用の報告頻度を比較すると、ダビガトランによる出血性副作用の感受性は、アジア系で低いことが示唆された。

D. 健康危険情報：

該当無し。

E. 研究発表：

学会発表

1. 小川喜寛、河合加奈、頭金正博 副作用自発報告データベース(AERS)からみたアジア諸国と非アジア諸国におけるダビガトランとワルファリンの出血性副作用の比較 第34回日本臨床薬理学会学術総会 (2013.12) (東京)
2. 伊東真紀、山田健人、藤原由希子、萩原宏美、川合眞一、頭金正博 日米韓におけるワルファリンの処方量の比較 第34回日本臨床薬理学会学術総会 (2013.12) (東京)
3. 頭金正博 日中韓米のPK試験からみた民族差シンポジウム16： 東アジア圏での薬物動態の民族差を考える 34回日本臨床薬理学会学術総会 (2013.12) (東京)

原著論文

1. An algorithm for the identification of heparin-induced thrombocytopenia using a medical information database. Hanatani T, Sai K, **Tohkin M**, Segawa K, Kimura M, Hori K, Kawakami J, Saito Y. *J Clin Pharm Ther.* 2013 Oct;38(5):423-8.
2. Development of a detection algorithm for statin-induced myopathy using electronic medical records. Sai K, Hanatani T, Azuma Y, Segawa K, **Tohkin M**, Omatsu H, Makimoto H, Hirai M, Saito Y. *J Clin Pharm Ther.* 2013 Jun;38(3):230-5.

F. 知的財産権の出願・登録状況：

該当無し。

G. 添付資料

該当無し。

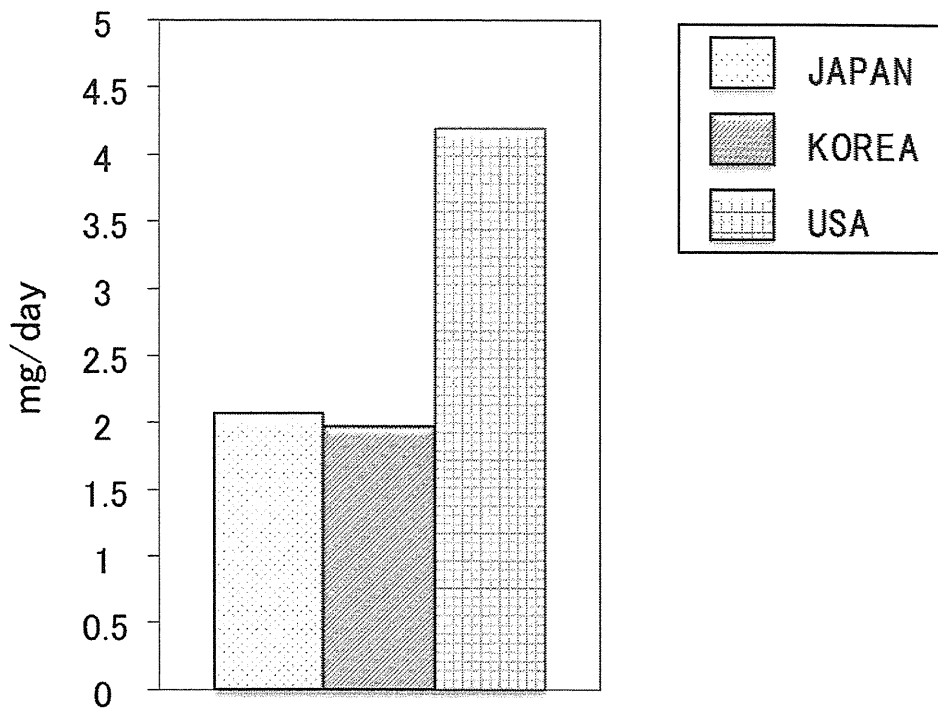


図1 日本人、韓国人、米国人におけるワルファリンの1日平均投与量

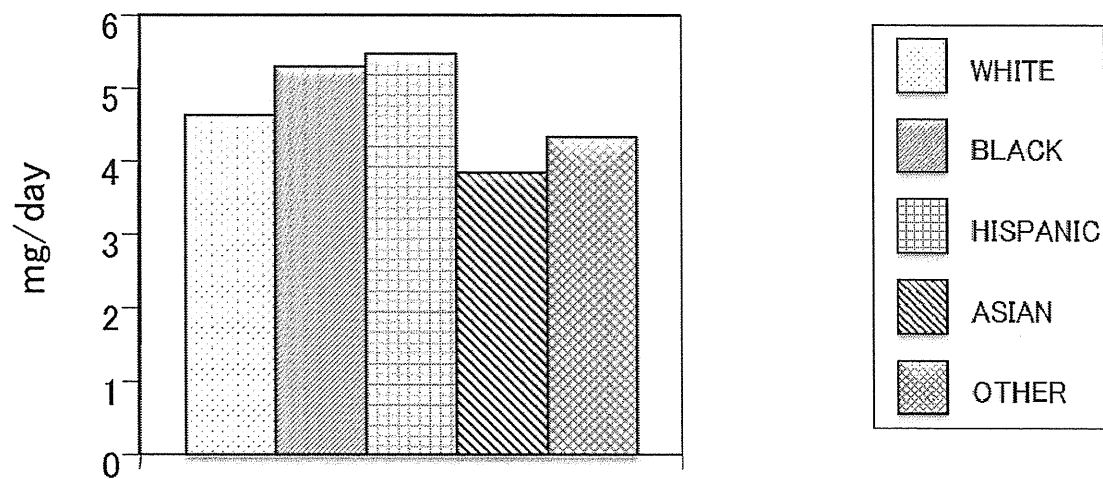


図2 米国内での白人、黒人、ヒスパニック、アジア系、その他の民族でのワルファリンの1日平均投与量

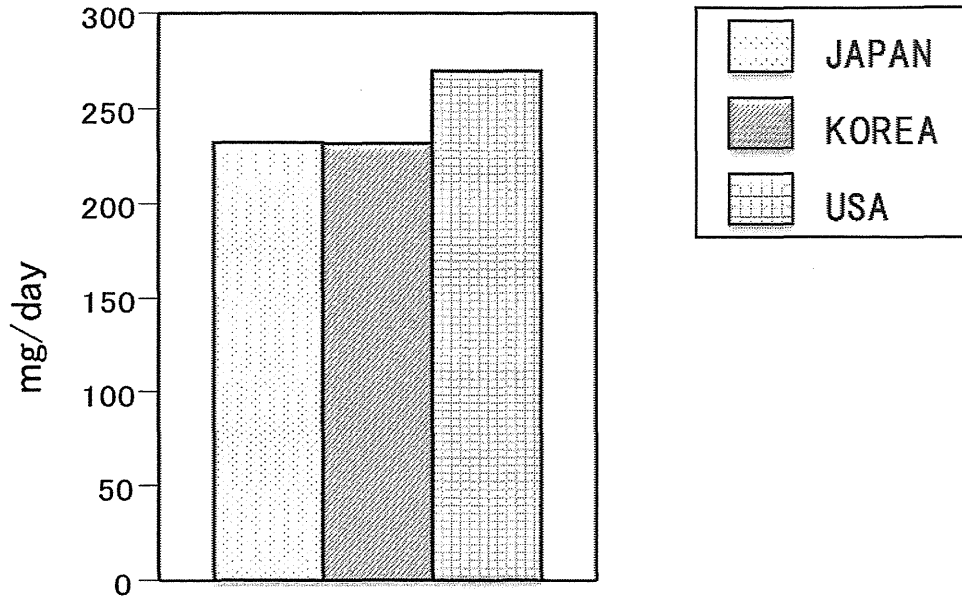


図3 日本人、韓国人、米国人におけるダビガトランの1日平均投与量

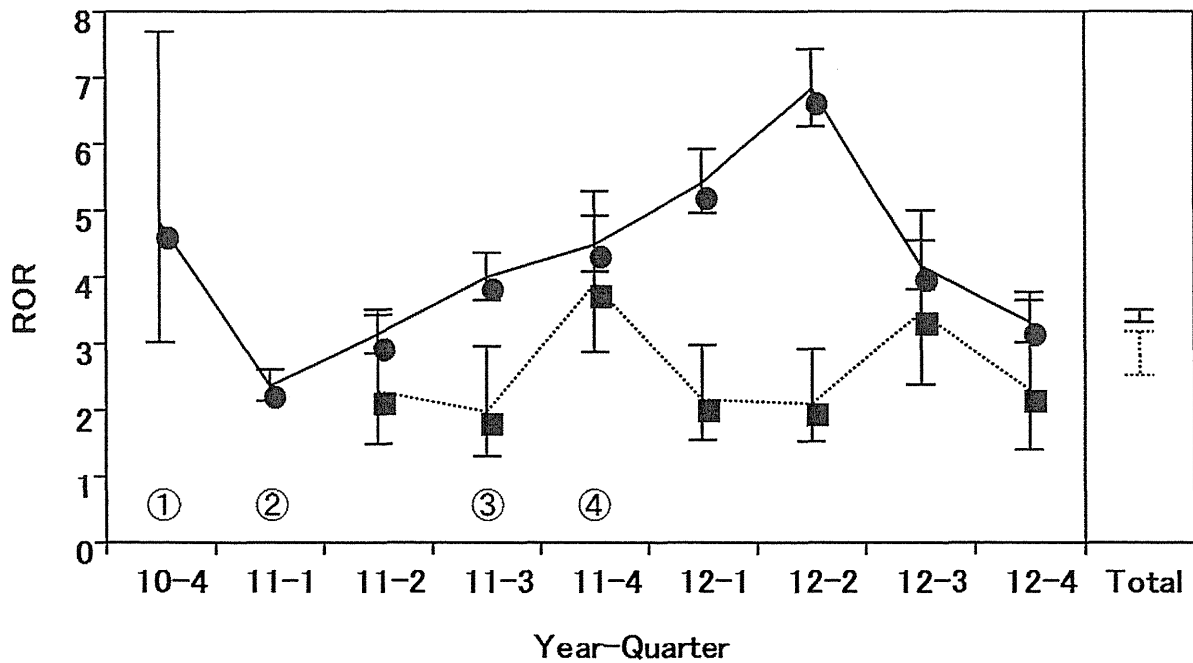


図4 ワルファリンとダビガトランの出血性副作用の報告頻度の民族間での比較

ダビガトランによる出血性副作用の報告頻度とワルファリンによる出血性副作用の報告頻度の相対的な比較値を民族間で比較した指標の経時的な変化。実線は非アジア系民族、点線はアジア系民族での値。
 ① 2010年10月：FDAでダビガトランが承認された。
 ② 2011年3月：日本でダビガトランの販売が開始された。
 ③ 2011年8月：日本でブルーレターが発出された。
 ④ 2011年11月：FDAで安全性情報が発出された。
 Totalは全期間を通じた値を示す。

民族差と統計学的手法

研究分担者 竹内 正弘 北里大学薬学部 教授
研究協力者 高橋 史朗 北里大学薬学部 講師
研究協力者 吉田 顕臣 北里大学薬学部 研究員

研究要旨：

治療効果の民族差の存在が示唆される国際共同試験において、地域間の治療効果の一貫性を評価することは重要である。地域間で一貫した治療効果を有する場合には、他の地域の情報を利用して推定を行う経験ベイズ法が有用である。我々は経験ベイズ法の利用妥当性を評価することによって一貫性を評価する方法を提案した。モンテカルロシミュレーションによって提案法の性能評価を行った結果、従来法よりも有用な場合があることが示唆された。

A. 研究目的：

近年医薬品開発の国際化に伴い、多国籍、多地域で臨床試験を実施する機会が増加している。こういった国際共同試験において、地域間あるいは国間で一貫した治療効果が得られているか評価し、参加した地域あるいは国で被験薬を使用できるか判断することは重要である。

一貫した治療効果が得られない原因としては、遺伝子多型や人種といった内因性要因および医療設備や社会環境などの外因性要因がある。これらの要因によって生じる地域間の治療効果の違いを可能な限り小さくするため、国際共同試験は同一のプロトコールで実施されている。このように同一プロトコールによる実施で既知の要因を管理したとしても、未知の要因によって生じる地域間の治療効果の違いまでは管理することができない。

未知の要因が存在するかどうかを評価するために統計学的手法が提案された。2007年に厚生労働省は「国際共同試験に関する基本的考え方について」のQ&Aにおいて、興味のある地域の治療効果とそれ以外の地域の治療効果の一貫性を評価する2つの方法を例示した。1つ目の方法（厚労省法1）は興味のある地域の治療効果の点推定値を D_1 、全地域における治療効果の点推定値を D_{all} とすると、 $D_1/D_{all} > \pi$ (π は 0.5 以上の定数) となる場合に治療効果の一貫性があると判断する。2つ目の方法（厚労省法2）は、地域 ($k=1, \dots, K$) の治療効果の点推定値を D_1, D_2, \dots, D_K とすると、全ての k において $D_k > 0$ または $D_k < 0$ となった場合に治療効果の一貫性があると判断する。これらの手法で一貫性評価を行う試験がこれまでに

数多く実施されてきた。しかしながら、これらの方法では治療効果の一貫性をその点推定値のみで評価しており、点推定値の精度は考慮されていない。

2010年 Hungら(Pharm.stat.2010;9:173-178)は治療効果の点推定値の精度が一貫性評価に与える影響を調べるために、全地域において対照群と被験薬群で有意な差が検出される状況で、治療効果が反転する確率を理論的に計算した。これによると厚労省法2で4地域の一貫性評価を行った際に、判断を誤る確率が約50%となることが指摘された。点推定値の精度は各地域の症例数にも依存しており、症例数の少ない地域が増加することによって、一貫性評価を誤る確率がさらに高くなると考えられる。

そこで我々は、情報量の少ないつまり症例数の少ない地域の推定精度を補う手法として経験ベイズ法に注目した。経験ベイズ法を用いることで一貫性があると判断しやすくなるが、これはあくまで経験ベイズ法の仮定が妥当である場合に限られる。経験ベイズ法の仮定が妥当でない場合には、一貫性を過大評価してしまう。経験ベイズ法の仮定が妥当であるか評価する指標が Efron(JASA 1996;91:538-550)によって提案された。本研究では、Efronの方法を発展させ、治療効果の一貫性を評価する新たな手法を提案する。提案法の性能を評価するために、1. 提案法、2. 厚労省法1、3. 厚労省法2、4. 経験ベイズ法に基づく他の手法をモンテカルロシミュレーションを通して比較することを目的とした。

本研究で提案する手法は前年度の報告書で説明したのと同じである。そのため本報告書では提案法の概要のみ記載する。また、前年度の研究と