

201439005A

厚生労働科学研究委託費

循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業

コルヒチンの抗動脈硬化薬としての適応拡大を目的とした橋渡し
研究に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 植田 真一郎

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業による委託業務として、国立大学法人琉球大学が実施した平成26年度「コルヒチンの抗動脈硬化薬としての適応拡大を目的とした橋渡し研究」の成果を取りまとめたものです。

目 次

| | |
|---|-----|
| I. 委託業務成果報告（総括） 「コルヒチンの抗動脈硬化薬としての適応拡大を目的とした橋渡し研究」に関する研究 植田真一郎 | 1 |
| II. 委託業務成果報告（業務項目） | |
| 1. 「健常人におけるコルヒチンの血中および白血球の薬物動態試験」に関する研究 植田真一郎、松下明子 | 9 |
| (資料1) 研究計画書・同意説明文書・同意書 健常人における血中および白血球中のコルヒチンの薬物動態 | |
| (資料2) 研究計画書・同意説明文書・同意書 健常人における血中および白血球中のコルヒチンの薬物動態 | 2 |
| (資料3) 研究計画書・同意説明文書・同意書 健常人における血中および白血球中のコルヒチンの薬物動態 | 3 |
| 2. 健常人における遊離脂肪酸負荷による白血球活性化を指標とした血中および白血球の薬物動態/薬力学試験に関する研究 熊谷雄治、前田実花、植田真一郎、松下明子 | 63 |
| (資料4) 臨床試験実施計画書・説明文書・同意文書 コルヒチン0.5mg 1日1回7日間反復投与時の健康成人男子における血漿中・白血球内コルヒチン濃度、白血球活性化抑制効果の探索的検討 | |
| 3. コルヒチンと血管内皮機能に関する探索的臨床研究 東幸仁、富山博史、植田真一郎 | 147 |
| (資料5) 研究計画書・同意説明文書 冠動脈疾患患者における低用量コルヒチンの複数回投与が血管内皮機能に及ぼす影響の検討 | |
| III. 学会等発表実績 | 183 |

厚生労働科学研究委託費（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業）
委託業務成果報告（総括）

コルヒチンの抗動脈硬化薬としての適応拡大を目的とした橋渡し研究

業務主任者 植田真一郎 琉球大学大学院医学研究科 教授

研究要旨 本研究の目的は抗炎症薬コルヒチンの抗動脈硬化薬としての開発であり、アウトカムとしての心血管イベントで有効性、安全性を評価する臨床試験に向けての橋渡し研究である。本年度は血中および白血球中コルヒチンの測定と健常者での薬物動態試験の実施、探索的な薬物動態／薬力学試験および血管内皮機能を指標とした試験の研究計画の作成、対象となる患者での白血球活性化の評価を実施した。

研究分担者

松下明子 琉球大学大学院医学研究科 助教

熊谷雄治 北里大学病院臨床試験センター
センター長

安隆則 獨協医科大学日光医療センター教授

東幸仁 広島大学 原爆放射線医科学研究所 教授

富山博史 東京医科大学 循環器内科 教授

門上俊明 済生会二日市病院 循環器科医
長

安藤真一 済生会二日市病院 顧問

百村伸一 自治医大さいたま医療センター
教授

中村秀文 国立成育研究センター 室長

いられているコルヒチンの、糖尿病合併冠動脈疾患患者における心血管イベント抑制薬としての開発にむけた橋渡し研究である。

研究の背景と必要性

糖尿病合併冠動脈疾患の予後は悪く、われわれのコホート研究では3.5年間で死亡、脳卒中、心筋梗塞が15%に発生した。しかし血圧や脂質、血糖の積極的な管理は予後に影響せず、従来と異なる介入が必要である（厚生労働省科研費 H24循環器等（生習）一般013）。慢性炎症は動脈硬化の「主犯」とみなされながら効果的な介入が同定されていない。

コルヒチンはtubelinに結合し微小管形成を妨げる。白血球に集積し、動脈硬化進展に関与するとされる接着、脱顆粒、サイトカイン生成などを抑制する。またコレステロール結晶や遊離脂肪酸によるNLRP3インフ

A. 研究目的

本研究の目的は、痛風患者に古くから用

ラマソーム複合体形成など自然免疫機構活性化の、炎症を介した動脈硬化進展への関与が示唆されているが、ここにも微小管形成は関与し、コルヒチンが抑制する (Nat Immunol 2013)。これまでの観察研究 (J Rheumatol 2012) や小規模の臨床試験 (JACC 2013) ではコルヒチンによる心筋梗塞リスクの低下が報告されており、抗動脈硬化薬として適応拡大を目指した医師主導型臨床試験を実施する十分な科学的根拠がある。痛風患者で古くから使用されており、ある程度の安全性は確認されている。

アウトカム評価のためランダム化比較試験 (RCT) の前に、橋渡し研究として抗動脈硬化薬としての用量を設定する薬物動態試験、白血球活性化マーカーを用いた薬物動態/薬力学試験を実施する。その上で白血球活性化を抑制する用量での動脈硬化の機能的マーカーである血管内皮機能 (FMD) の改善を二重盲検 RCT で評価する。コルヒチンは白血球では血中とは異なる薬物動態を示し、半減期も長いいため低用量で有効性が得られる可能性がある。

独創的な点と特色

本研究はコルヒチンの抗炎症作用が動脈硬化の進展に関連が強いことに着目し、ドラッグリポジショニングによる心血管イベント発症抑制に向けた橋渡し研究である。最終的には真のアウトカムを評価する二重盲検ランダム化比較試験実施による適応拡大を目的としている。薬事相談をうけつつICH-GCPを遵守し、適切なモニタリング、監査、

有害事象報告など被験者の保護と信頼性の確保に務める。

痛風での用量を用いず、白血球における PK/PD 試験により改めて用量設定を行うことや、中央測定による厳密な FMD 測定を実施し、十分な検出力を有する二重盲検 RCT を実施することも本研究の特色である。

B. 研究方法

本研究はコルヒチンの適応拡大を目的とした治験であり、薬事相談を薬物動態試験の段階から開始し、研究分担者、医薬品医療機器総合機構審査官経験者や生物統計学者と共に研究計画を作成、実施する。モニタリングや監査を実施する。研究①は琉球大学臨床薬理学研究室、②は北里大学臨床研究センターで実施される。②は多くの実績がある Academic Phase I 施設でありこれまでに多くの早期臨床試験が実施されている。⑤は東京医大および広島大学で実施し、③は獨協医科大学日光医療センター、④は済生会二日市病院を中心に実施する。⑥、⑦は平成27年度に実施する。①、②、⑤については分担 (業務) 報告書に詳細を記載する。

① 健常人におけるコルヒチンの血中および白血球の薬物動態試験 (松下、植田)

対象者 20歳以上の健常男性

デザイン クロスオーバー法

プロトコル 琉球大学臨床薬理学講座の血管機能実験室および北里大学東病院臨

床研究センターで実施する。コルヒチン0.5mg（高田製薬）および0.25mgを健常男性6名にクロスオーバー法で単回投与あるいは複数回（1週間）投与し、白血球および血中の薬物動態を測定する。

コルヒチン濃度測定 血中および白血球コルヒチン濃度はLC/MS-MS法(LC :Agilent 1290 LC, MS:Agilent 6460 LC-MS, Agilent Technologies, Tokyo, Japan)で琉球大学薬剤部において測定する。

② 健常人における遊離脂肪酸負荷による白血球活性化を指標とした血中および白血球の薬物動態／薬力学試験（1年目および2年目）（熊谷、松下、植田、研究協力者前田）

対象者 20歳以上の8名の健常男性

デザイン 施設、非盲検試験、シングルアーム

プロトコル 8名の被験者は、試験期にはコルヒチン0.5mgを1日1回朝に7日間投与する。試験薬投与開始前、試験薬投与7日目の投与直後、2時間後、24時間後、26時間後、48時間後、50時間後に白血球機能の評価（接着能、マイクロチャネルの通過時間、血中のサイトカイン、ミエロペロキシダーゼ濃度など）及び血中及び白血球内コルヒチン濃度の測定を行う。なお、2時間後、26時間後及び50時間後の白血球機能は、脂肪乳剤（90mL/hr.、使用製剤：イントラリピッド®輸液20%）及びヘパリン（0.3U/kg/min、使用製剤：ノボ・ヘパリン注®）を負荷投与（2時間点滴静注）し、白

血球を活性化、血管内皮細胞の障害を惹起したのちに実施する。（Hypertension 2010）

PK/PD 解析 白血球活性化評価時の採血で白血球および血中のコルヒチン濃度を測定し、活性化抑制と血中、白血球濃度の関連を解析する。

③ 糖尿病合併冠動脈疾患患者を対象とした白血球活性化の測定

目的 本研究の臨床的妥当性を裏付けるために開発の対象となる患者における白血球活性化が亢進していることを確認する。

対象 2型糖尿病合併冠動脈疾患患者 100名

方法 採血後30分以内にマイクロチャネルフローアナライザー(BWA-MCFAN Ak-III)を用いて全血通過時の白血球の接着、変形、通過時間により評価する。白血球通過時のイメージをコンピュータープログラムに取り込み、接着白血球のカウントを行う。他の危険因子の測定も行う。

④ 臨床試験対象者としての糖尿病合併冠動脈疾患患者の登録

目的 医師主導治験実施予定の分担研究施設において、開始後の患者登録を迅速にすすめるために対象患者の使用薬剤や危険因子管理状況、患者背景などを含めたデータベースを作成する。

対象 2型糖尿病を合併し、冠動脈造影で冠動脈疾患と診断された患者

方法 冠動脈造影の記録から連続登録を行い、危険因子、投薬内容、心血管イベント等を記録する。

⑤ 冠動脈疾患患者における低用量コ
ルヒチンの複数回投与が血管内皮
機能に及ぼす影響の検討（東、富山、
植田）

目的 アウトカム（心血管イベント）を評
価する医師主導型治験(phase III)に向けて、
バイオマーカーを用いたpre phase IIIに
相当する研究が必要であるが、本研究では
複数回投与（一週間）が血管内皮機能を改
善させるかどうか予備的に検討する。本研
究で得られた効果をもとに次の段階として
薬事相談を行い、血管内皮機能を主要評価
項目とした二重盲検ランダム化比較試験を
デザインする。

対象 コルヒチンが禁忌ではない 30 名の
臨床的に安定した冠動脈疾患患者

デザイン プラセボ対照二重盲検クロスオ
ーバー試験

症例数設定 絶対値でFMDが1%改善す
ると仮定すると検出力80%、有意水準5%で
30名の被験者が必要である。（Donald et al
JACC 2008;51:1959-64）

プロトコル コルヒチン0.5mg（高田製薬）
またはプラセボ（プラセボ用カプセルを両
者に使用）をそれぞれ1週間投与する。順序
はランダム化する。最低2週間の間隔を空
ける。主要評価項目はFMDで測定した血管内
皮機能で割り付け治療を知らされていない
技師が測定し、東京医大で中央解析を行う。
コルヒチンおよびプラセボ投与終了後に測
定する（計2回）。

⑥ 薬事相談

上記の①、②、⑤終了後に実施予定

⑦ プロジェクトマネジメント

来年度実施予定

（倫理面への配慮）

本研究はコルヒチンの適応拡大を目的とし
た医師主導臨床試験として実施されるため、
ヘルシンキ宣言(2013改訂)、「臨床研究に
関する倫理指針」（平成16年度厚生労働省
告示第459号、平成20年改訂）、平成27年度
からは統合された新たな倫理指針およびIC
H-GCPを遵守する。

本研究の内容は倫理審査委員会で十分に審
議の上、承認された後に実施する。本研究
に関する背景、目的については十分な説明
を口頭および文書にて行い、文書による同
意を得る。本研究の協力については、個人
の自由な意志のもとに行われる。協力の拒
否は自由であり、その場合でもいかなる不
利益を今後の治療には生じない。参加協力
が得られた患者については、患者プライバ
シー保護を図るため、識別コードの活用等
により情報を匿名化したうえで行なう。

安全性に関しては古くから使用されている
薬剤であり、研究①、②では低用量短期間
の投与にとどまるため日常臨床を超えた危
険性は少ないと考えられる。北里大学臨床
研究センターは多くの早期臨床試験を実施
しており、有害事象も院内の医療スタッフが
速やかに対応可能である。研究⑤は痛風
患者での承認用量より低用量であるが、や
や長期なので研究①、②で発生した有害事
象には留意して行う。ICH-GCP を遵守した

有害事象の報告を実施する。臨床試験の保険に加入し、試験との因果関係が否定できない健康被害（1級、2級）に対しては補償を行う。

本研究では、独立データモニタリング安全性委員会が設置される。委員会は定期的に進捗状況、イベント発生、安全性などについてモニタリングを行い、場合によっては試験中止を勧告できる。施設の倫理委員会へも試験の進捗状況、安全性に関する報告が定期的になされる。有害事象は定期的に施設の倫理委員会、施設長、および独立データモニタリング安全性委員会に、事務局やCRCを介して報告される。重篤な有害事象は厚生労働省、上記の委員会に逐次報告され、試験継続の是非を審議される。またデータ収集システムや安全性確保体制につき外部監査を受ける。

C. 結果および進捗状況

① 健常人におけるコルヒチンの血中および白血球の薬物動態試験

LCMS/MSでのコルヒチン血中および白血球中濃度測定について遮光下での採血、抽出および測定の設定、intra-およびinter assayなど測定法のvalidationを実施した。倫理審査委員会での承認後、臨床研究のための保険に加入し、健康被害に備えた。健常者ボランティアを募集し、6名の健常者を対象に薬物動態試験を実施中である。単回投与試験に加えて複数回投与後一週間後まで血中および白血球中のコルヒチン濃度を測定するプロトコルを加えた。単回投

与試験は予定通り進行し、平成26年度中終了した。複数回投与かつ最終投与後一週間までの採血は遅くとも平成27年度初頭（5月）には終了予定である。

② 健常人における遊離脂肪酸負荷による白血球活性化を指標とした血中および白血球の薬物動態/薬力学試験

本研究については研究打ち合せにおいて当初計画していたプラセボ、低用量コルヒチン(0.25mg/day)常用量(0.5mg/day)を比較する3wayクロスオーバーではなく、探索的に常用量1週間投与の前後での白血球活性化抑制とコルヒチン血中濃度を測定するプロトコルとした。平成26年度末の北里大学IRBで承認され今年度から開始予定である。

③ 糖尿病合併冠動脈疾患患者を対象とした白血球活性化の測定

現在分担研究者の施設で糖尿病合併冠動脈疾患患者を対象に白血球機能を測定中である。この研究は来年も継続して実施する。

④ 臨床試験対象者としての糖尿病合併冠動脈疾患患者の登録

医師主導治験実施予定の分担研究施設において、開始後の患者登録を迅速にすすめるために対象患者の使用薬剤や危険因子管理状況、患者背景などを含めたデータベースを作成している。これは平成27年度も分担研究施設で継続する。

⑤ コルヒチンと血管内皮機能に関する探索的臨床研究

FMDを評価項目とした2重盲検並行群間ラ

ンダム化比較試験を実施予定であるが、実現可能性や中央測定システムのチェックなどを目的とした少人数のクロスオーバーデザインによるパイロット試験を分担研究者施設で実施する。現在プロトコルは完成し分担施設の倫理審査委員会で承認され、臨床研究保険の締結の後開始予定である。これは来年度9月までに終了予定である。

⑥ 薬事相談

薬物動態試験、薬物動態／薬力学試験、血管内皮機能を指標とした探索的臨床研究の結果をもって平成27年度に実施する予定である。

⑦ プロジェクトマネジメント

薬物動態試験、薬物動態／薬力学試験、血管内皮機能を指標とした探索的臨床研究の結果をもって平成27年度に実施する予定である。

D. 考察

① 健康人におけるコルヒチンの血中および白血球の薬物動態試験

LCMS/MSでのコルヒチン血中および白血球中濃度は測定可能であるが、単回投与、特に0.25mgでは予想したよりも低値であり、採血、抽出および測定の設定を改めて行う必要があった。

② 健康人における遊離脂肪酸負荷による白血球活性化を指標とした血中および白血球の薬物動態／薬力学試験

当初計画した2用量でのプラセボ対照3wayクロスオーバーデザインによる薬物動態／薬力学試験の前に確実な用量での探索的な

非盲検試験を実施する。この結果に基づいてプラセボ対照3wayクロスオーバー試験をデザインする予定である。

③ 糖尿病合併冠動脈疾患患者を対象とした白血球活性化の測定

本研究ではまず健康者を対象として人為的な遊離脂肪酸上昇による白血球活性化を指標としてコルヒチンによる抑制を評価する。しかしあくまで対象はハイリスク冠動脈疾患患者であり、対象患者での白血球機能を測定することによって健康者での試験結果の解釈、以後の試験の用量用法について検討が可能となる。

④ 臨床試験対象者としての糖尿病合併冠動脈疾患患者の登録

あらかじめ患者を登録し、データベースを作成することで臨床試験での患者登録は迅速に行うことができる。いわゆるRCT on registryを実施する。

E. 結論

慢性炎症は動脈硬化の主犯とされながら予後を改善できる介入、薬剤は開発されていなかった。本研究はコルヒチンの白血球での薬物動態、薬物動態／薬力学試験、血管内皮機能を指標とした試験を足がかりに、抗動脈硬化薬としての開発に資する橋渡し研究である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G. 1. 論文発表

なし

G. 2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究委託費（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目 健康人におけるコルヒチンの血中および白血球の薬物動態試験）

コルヒチンの抗動脈硬化薬としての適応拡大を目的とした橋渡し研究

担当責任者 植田真一郎 琉球大学大学院医学研究科 教授、松下明子 琉球大学大学院
医学研究科 助教

研究要旨 本研究の目的は抗炎症薬コルヒチンの血中および白血球中の薬物動態を明らかにすることである。健康人にコルヒチン 0.5mg/dl の単回投与および複数回投与を行い、血中および白血球のコルヒチン濃度を測定した。

A. 研究目的

本研究の目的は、痛風患者に古くから用いられているコルヒチンの、糖尿病合併冠動脈疾患患者における心血管イベント抑制薬としての開発にむけた橋渡し研究である。医師主導型治験に向けて、用量用法の設定が必要であり、健康人における PHASE I の実施を今回の目的とする。

糖尿病合併冠動脈疾患の予後は悪く、われわれのコホート研究では 3.5 年間で死亡、脳卒中、心筋梗塞が 15%に発生した。しかし血圧や脂質、血糖の積極的な管理は予後に影響せず、従来と異なる介入が必要である（厚生労働省科研費 H24 循環器等（生習）一般 013）。慢性炎症は動脈硬化の「主犯」とみなされながら効果的な介入が同定されていない。

コルヒチンは tubelin に結合し微小管の形成を妨げる。白血球に集積し、接着、脱顆粒、サイトカイン生成を抑制する。これらは動脈硬化進展に関与し、コルヒチンによ

る抑制が進展抑制に働く可能性がある。またコレステロール結晶や遊離脂肪酸による NLRP3 インフラマソーム複合体形成など、炎症を介した動脈硬化進展において自然免疫機構活性化の関与が示唆されている。ここにも微小管形成は関与し、コルヒチンが抑制する（Nat Immunology 2013）。これまでの観察研究（J Rheumatol 2012）や小規模の臨床試験（JACC 2013）ではコルヒチンによる心筋梗塞リスクの低下が報告されており、抗動脈硬化薬として適応拡大を目的とした医師主導型臨床試験を実施する十分な科学的根拠がある。アウトカム評価のためランダム化比較試験の前に、橋渡し研究として抗動脈硬化薬としての用量を設定する薬物動態試験を実施する。

B. 研究方法

B.1. 対象

20 歳以上 40 歳以下の健康男性 6 名を対象とする。

健常者は大学内の広告などで募集するが医学部の学生は対象としない。応募した被験者候補について通常の診察、血液尿検査（末梢血カウント、血清蛋白、血清クレアチニン、血清ナトリウム、カリウム、肝機能、血清尿酸）、心電図検査などを行い、異常が認められた場合は対象としない。またなんらかの疾患で薬剤を継続的に服用している場合も除外する。

B. 2. 1. 研究プロトコル 1 コルヒチン0. 25mgおよび0. 5mg単回投与後の薬物動態（24時間まで）

研究への参加候補者は同意説明文書および口頭で研究内容の説明を受け、同意が得られた場合、事前に臨床薬理学研究室において問診、診察、血液尿検査、心電図検査を受ける。これらの検査、問診で異常が認められない場合、被験者として研究に参加する。

研究は4日間にわたって行われる。研究日1, 2と3, 4の間には少なくとも1週間の間隔(washout period)を設ける。

コルヒチン0. 5mg（高田製薬）および0. 25mg（分割線で分割）を健常男性6名にクロスオーバー法で単回投与し、白血球および血中の薬物動態を測定する（Chappey 0, et al. CPT 1993）。これまでの成績から採血は投与前、投与後1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、24時間後とする。これらの採血ポイントは薬物動態の詳細なパラメータを算出するには少ない。しかしそれらにはすでに多くの研究が存在し、本研究の

目的は白血球活性化抑制を検討する実験のために血中と白血球濃度の不一致および両者のC_{max}、T_{max}を大まかに求めることにあるので、被験者の負担を減じる意味もあり、このようなプロトコルとした。静脈に留置したカテーテルから一回25ml EDTA管（2時間後は5ml）に採血する。採血後3000 rpm、10分、4℃で遠心分離し測定まで-18℃で保存する。血球成分を多核球、単核球に分離し、測定まで-18℃で保存する。また採血ポイントにおいて血圧、脈拍を自動血圧計で測定する。

（研究スケジュール）

研究日1

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T₀)のあとコルヒチン0. 5mgまたは0. 25mgを服用

服用後1時間(T₁)、2時間(T₂)、4時間(T₄)、8時間(T₈)、12時間(T₁₂)後採血 昼食供与

研究日2（翌日）

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T₂₄)

最短一週間の間隔

研究日3

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T₀)のあとコルヒチン0. 5mgまたは0. 25mgを服用

服用後 1 時間 (T1)、2 時間 (T2)、4 時間 (T4)、
8 時間 (T8)、12 時間 (T12) 後採血 昼食供
与

研究日 4 (翌日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管
機能検査室において30分安静

9:00 採血 (T24)

B. 2. 2. 研究プロトコル2 コルヒチン0.5mg 単回投与後の血中および白血球中薬物動 態 (96時間まで)

研究は 5 日間にわたって行われる。

コルヒチン0.5mg (高田製薬) を健常男性6
名に単回投与し、白血球および血中の薬物
動態を測定する (Chappey 0, et al. CPT
1993)。採血は投与前、投与後 1 時間、24 時
間、48時間、96時間後とする。本研究の目的
は白血球活性化抑制を検討する実験のため
に白血球濃度のピークを大まかに求めるこ
とにあるので、被験者の負担を減じる意味
もあり、このようなプロトコルとした。一
回35ml EDTA 管に採血する。採血後3000 rpm、
10 分、4°Cで遠心分離し測定まで-18°Cで保
存する。血球成分を多核球、単核球に分離
し、測定まで-18°Cで保存する。また採血ポ
イントにおいて血圧、脈拍を自動血圧計で
測定する。

(研究のスケジュール)

研究日 1

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管
機能検査室において30分安静

9:00 採血 (T0) のあとコルヒチン0.5mg
を服用し服用後 1 時間後採血 (T1)

研究日 2 (翌日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管
機能検査室において30分安静

9:00 採血 (T24)

研究日 3 (翌々日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管
機能検査室において30分安静

9:00 採血 (T48)

研究日 4 (研究日 3 の翌々日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管
機能検査室において30分安静

9:00 採血 (T96)

研究日 5 (研究日 1 の 7 日後)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管
機能検査室において30分安静

9:00 採血 (T168)

B. 2. 3. 研究プロトコル3 コルヒチン複数 回投与後の血中および白血球中薬物動態

研究は 6 日間にわたって行われる。

コルヒチン0.5mg (高田製薬) を健常男性6
名に7日間投与し、白血球および血中の薬物
動態を測定する (Chappey 0, et al. CPT
1993)。服用開始前 1 週間から終了後までコ
ルヒチン以外のあらゆる薬剤の服用を禁ず
る。また服用中はグレープフルーツジュ
ース摂取を禁ずる。採血は投与前、最終投与
前、投与後 1 時間、24 時間、48時間、96時
間、168時間後とする。これらの採血ポイン
トは薬物動態の詳細なパラメーターを算出

するには少ない。しかしそれらにはすでに多くの研究が存在し、本研究の目的は白血球活性化抑制を検討する実験のために血中と白血球濃度の不一致および両者のCmax、Tmaxを大まかに求めることにあるので、被験者の負担を減じる意味もあり、このようなプロトコルとした。静脈に留置したカテーテルから一回30ml EDTA管に採血する。採血後3000 rpm、10分、4℃で遠心分離し測定まで-18℃で保存する。血球成分を多核球、単核球に分離し、測定まで-18℃で保存する。また採血ポイントにおいて血圧、脈拍を自動血圧計で測定する。

(研究のスケジュール)

研究日1

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T0)のあとコルヒチン0.5mgまたは0.25mgを服用 その後1日1回5日間服用

研究日2(6日後)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T0F)のあと最終のコルヒチン0.5mgを服用

10:00採血(T1F)

研究日3(研究日2の翌日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T24F)

研究日4(研究日3の翌日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T48)

研究日5(研究日4の翌々日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T96F)

研究日6(研究日2の7日後)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T168F)

B.3. コルヒチン濃度測定 血中および白血球コルヒチン濃度はLC/MS-MS法(LC:Agilent 1290 LC, MS:Agilent 6460 LC-MS, Agilent Technologies, Tokyo, Japan)で琉球大学薬剤部において測定する。

(倫理面への配慮)

研究等の対象となる個人の人権擁護

個人の情報および結果は、他の目的には使用しない。また、本研究に関する背景、目的については十分な説明を口頭および文書にて行い、文書による同意を得る。本研究の協力については、個人の自由な意志のもとに行われる。協力の拒否は自由であり、その場合でもいかなる不利益を今後の治療には生じない。参加協力が得られた患者については、患者プライバシー保護を図るため、識別コードの活用等により情報を匿名化したうえで行なう。ヘルシンキ宣言ブラジル改訂版(2013)「臨床研究に関する倫理指針」(平成16年度厚生労働省告示第459号、平成20年改訂)を遵守する。

研究等の対象となる者に理解を求め同意を得る方法

本研究の目的、方法について文書と口頭で説明する。参加は自由意志であること、人権擁護について説明する。生年月日などの個人を特定できうる情報の登録は匿名化して行ない、プライバシー保護についても十分に説明する。その上で文書による同意を得る。

研究等によって生ずる個人への不利益及び危険性並びに医学上の貢献の予測

ローマ帝国時代からイヌサフランが痛風に用いられていたが、1820年には有効成分としてコルヒチンが単離され、薬剤として痛風や他の炎症性疾患に現代でも使用されている。本研究で用いる用量は成人に痛風発作予防目的として使用されている細小用量であり、しかも単回投与であることから毒性が発現する可能性は極めて低い。なんらかの毒性が出現した際は医学部附属病院にて十分な診療を行う。また臨床試験を対象とした保険に加入する。

社会への貢献

糖尿病合併冠動脈疾患の予後は悪く、われわれのコホート研究では3.5年間で死亡、脳卒中、心筋梗塞が15%に発生した。しかし血圧や脂質、血糖の積極的な管理は予後に影響せず、従来と異なる介入が必要である。これまで動脈硬化の「主犯」が炎症で

あることはさまざまな基礎実験、一部はスタチンの臨床試験により強く示唆されてきたが、実際に炎症の抑制が心血管イベントを抑制することは証明されていない。またCOX-2阻害薬や他のNSAIDsはむしろ心筋梗塞のリスクを増大させる可能性がある。本研究をもとに医師主導型治験を実施し、コルヒチンが独自の抗炎症作用で心血管イベントを抑制することが証明できれば、今後の動脈硬化研究のみならず生活習慣病治療、心血管イベント予防にとって大きな進歩となる。

C. 結果および進捗状況

現在プロトコル1,2が終了し、3を開始する。

D. 考察

研究実施中

E. 結論

研究実施中

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G.1. 論文発表

なし

G.2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

(添付資料 研究計画書・同意説明文書・同意書 健常者における白血球中のコルヒチンの薬物動態 1, 2, 3)

研究計画書

健常者における血中および白血球中のコルヒチンの薬物動態 1

琉球大学大学院医学研究科 臨床薬理学
植田真一郎

Ver. 1.0 7th JULY 2014

Ver. 1.1 10th JULY 2014

Ver. 1.2 28th AUGUST 2014

Ver. 1.3 16th SEPTEMBER 2014

1. 研究の背景と目的

本研究の目的は、痛風患者に古くから用いられているコルヒチンの、糖尿病合併冠動脈疾患患者における心血管イベント抑制薬としての開発にむけた橋渡し研究である。医師主導型治験に向けて、用量用法の設定が必要であり、健常者における PHASE I の実施を今回の目的とする。

糖尿病合併冠動脈疾患の予後は悪く、われわれのコホート研究では 3.5 年間で死亡、脳卒中、心筋梗塞が 15%に発生した。しかし血圧や脂質、血糖の積極的な管理は予後に影響せず、従来と異なる介入が必要である（厚生労働省科研費 H24 循環器等（生習）一般 013）。慢性炎症は動脈硬化の「主犯」とみなされながら効果的な介入が同定されていない。

コルヒチンは tubelin に結合し微小管の形成を妨げる。白血球に集積し、接着、脱顆粒、サイトカイン生成を抑制する。これらは動脈硬化進展に関与し、コルヒチンによる抑制が進展抑制に働く可能性がある。またコレステロール結晶や遊離脂肪酸による NLRP3 インフラマソーム複合体形成など、炎症を介した動脈硬化進展において自然免疫機構活性化の関与が示唆されている。ここにも微小管形成は関与し、コルヒチンが抑制する（Nat Immunology 2013）。これまでの観察研究（J Rheumatol 2012）や小規模の臨床試験（JACC 2013）ではコルヒチンによる心筋梗塞リスクの低下が報告されており、抗動脈硬化薬として適応拡大を目的とした医師主導型臨床試験を実施する十分な科学的根拠がある。

アウトカム評価のためランダム化比較試験の前に、橋渡し研究として抗動脈硬化薬としての用量を設定する薬物動態試験を実施する。

2. 研究の対象者

20 歳以上 40 歳以下の健常男性 6 名を対象とする。

健常者は大学内の広告などで募集するが医学部の学生は対象としない。応募した被験者候補について通常の診察、血液尿検査（末梢血カウント、血清蛋白、血清クレアチニン、血清ナトリウム、カリウム、肝機能、血清尿酸）、心電図検査などを行い、異常が認められた場合は対象としない。またなんらかの疾患で薬剤を継続的に服用している場合も除外する。

3. 研究の方法

3.1. 研究プロトコル

研究への参加候補者は同意説明文書および口頭で研究内容の説明を受け、同意が得られた場合、事前に臨床薬理学研究室において問診、診察、血液尿検査、心電図検査を受ける。これらの検査、問診で異常が認められない場合、被験者として研究に参加する。

研究は4日間にわたって行われる。研究日1,2と3,4の間には少なくとも1週間の間隔(washout period)を設ける。

コルヒチン0.5mg(高田製薬)および0.25mg(分割線で分割)を健常男性6名にクロスオーバー法で単回投与し、白血球および血中の薬物動態を測定する

(Chappey 0, et al. CPT 1993)。これまでの成績から採血は投与前、投与後1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、24時間後とする。これらの採血ポイントは薬物動態の詳細なパラメーターを算出するには少ない。しかしそれらにはすでに多くの研究が存在し、本研究の目的は白血球活性化抑制を検討する実験のために血中と白血球濃度の不一致および両者のCmax、Tmaxを大まかに求めることにあるので、被験者の負担を減じる意味もあり、このようなプロトコルとした。静脈に留置したカテーテルから一回25ml EDTA管(2時間後は5ml)に採血する。採血後3000 rpm、10分、4℃で遠心分離し測定まで-18℃で保存する。血球成分を多核球、単核球に分離し、測定まで-18℃で保存する。また採血ポイントにおいて血圧、脈拍を自動血圧計で測定する。

3.2. 研究のスケジュール

研究日1

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T0)のあとコルヒチン0.5mgまたは0.25mgを服用

服用後1時間(T1)、2時間(T2)、4時間(T4)、8時間(T8)、12時間(T12)後採血 昼食供与

研究日2(翌日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T24)

最短一週間の間隔

研究日3

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T0)のあとコルヒチン0.5mgまたは0.25mgを服用

服用後1時間(T1)、2時間(T2)、4時間(T4)、8時間(T8)、12時間(T12)後採血 昼食供与

研究日4(翌日)

8:30 来院し、臨床薬理学講座臨床血管機能検査室において30分安静

9:00 採血(T24)

3.3. コルヒチン濃度測定

血中および白血球コルヒチン濃度はLC/MS-MS法(LC:Agilent 1290

LC,MS:Agilent 6460 LC-MS, Agilent Technologies, Tokyo, Japan)で薬剤部の機器を用いて測定する。

3.4. 研究期間

2014年10月1日から2015年3月31日まで

4. コルヒチン薬剤概要

コルヒチン添付文書を資料として添付

5. 被験者の保護について

コルヒチンは200年前から痛風に用いられており、その安全性はよく認識されている。本研究では承認された最低用量および最低用量の半量の単回投与であり、副作用が生じる可能性は極めて低いと言える。また採血量はコルヒチン薬物動態のために180mlを1週間以上の間隔をあけて2回、研究日前後の検査で12ml、計372mlであり、ほぼ献血と同等で健常人では問題がないと考えられる。前後で血液検査を行い問題のないことを確認する。

5.1. 被験者に健康被害が生じた場合の診療と補償

健康被害が生じた場合は琉球大学医学部附属病院で診療をしていただく。
健康被害の1級および2級が生じた場合の補償費用に関しては現在臨床試験に関する保険の見積もりを申請中である。

5.2. 重篤な有害事象

重篤な有害事象が生じた場合は直ちに病院長および安全管理対策委員会、製薬会社に届ける。本研究における重篤な有害事象とは、投与量にかかわらず、医薬品が投与された際に生じたあらゆる好ましくない医療上のできごと（有害事象）のうち、以下のものとする。

- 1) 死亡に至るもの
- 2) 生命を脅かすもの、
- 3) 治療のため入院又は入院／加療機関の延長が必要なもの、
- 4) 永続的又は重大な障害／機能不能に陥るもの、
- 5) 先天異常を来すもの。

5.3. 投与前後の検査の実施

問診、診察、検査（血液、尿、腎機能、肝機能等）を研究に先立ち実施し、問題がないことを確認する。研究終了後は同じ血液尿検査を繰り返し、問題が生じていないことを確認する。

5.4. 被験者保護のためのモニタリングについて

研究開始前および研究日1,2終了後に主として被験者保護の観点からモニタリング受け、訂正可能な指摘は訂正する。プロトコルの変更を要する場合は変更後倫理審査委員会の承認を受ける。

6. 結果の信頼性について

本研究は後適応拡大を目的とした医師主導型治験を実施するための薬物動態試験であり、本研究の結果に基づいてPK/PD試験を計画する予定である。今後の薬事相談等に備え、出来る限りモニタリングと監査を実施する。モニタリングは主として研究全体のシステムについて開始前に実施し、問題点を訂正する。さらに研究開始後、被験者に不都合が生じていないかチェックする。

内部監査として倫理委員会に結果（保存された必須文書や実験ノート、血中濃度の生データ）を提出し、監査を受ける。実験ノートには研究日の状況、採血、検体の処理、血中濃度測定の方法と結果について記載する。