

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06780

研究課題名(和文) 小児発達の個体差を考慮した症例追跡に基づく薬物動態解析と長期投与の適正化支援

研究課題名(英文) A longitudinal study on the pharmacokinetics considering individual differences of developmental change and optimization of long-term drug administration

研究代表者

田口 雅登 (Taguchi, Masato)

富山大学・学術研究部薬学・和漢系・教授

研究者番号：20324056

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：小児は成人よりも薬物動態の変動が大きいため、薬物投与の個別最適化は最も必要な課題の一つである。我々は小児薬物療法の個別化を推進するため、新生児から小児期における薬物動態変化に関する長期情報を得るとともに、共変量とその裏づけとなる基礎実験を実施した。具体的には、1) 肺血管拡張薬タダラフィルの体内動態に及ぼす低蛋白血症の影響、2) 抗凝固薬ワルファリンの薬効に及ぼす小児の発達変動と心不全の影響を定量化した。また、3) 集中治療管理下にある患者ではシルデナフィルの吸収速度が体内動態変動の一因となる事、4) 新生児患者におけるカフェインの体内動態(消失)に肝代謝の寄与はほとんどない事を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで申請者は、少数採血デザインとデータ解析法を考案し、小児・新生児における臨床薬物動態研究に取り組んできた。また申請者は、小児患者の長期追跡において発達がワルファリンの抗凝固作用の共変量であることを明らかにした。本研究では、時期を異にする少数採血データを補間・解析する手法を採用し、同一症例の内的変動を考慮したデータ解析が小児期における薬物動態変化を精密に定量化する鍵になる事を明らかにした。このことは、小児集団の臨床研究計画において課題とされてきた被検者数の確保を緩和することに繋がるため、小児をはじめとする特殊患者集団における今後の研究推進に繋がる成果と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Because children have greater variability in pharmacokinetics than adults, individualized optimization of drug treatment in children is one of the most important issues. We conducted neonatal to pediatric studies to advance individualized pharmacotherapy in children and determined covariates and its evidence based on experimental approaches. Specifically, we demonstrated that 1) the disposition and/or response to tadalafil in patients with hypoalbuminemia was altered by the change in protein binding of the drug, 2) developmental change and heart failure can alter the anticoagulant effect of warfarin, 3) drug absorption rate is at least partly responsible for the pharmacokinetic variability of sildenafil in the ICU patients, and 4) the hepatic metabolism is not a major determinant of pharmacokinetics of caffeine in neonatal patients.

研究分野：医療薬学

キーワード：小児 薬物体内動態 長期データ解析 タダラフィル ワルファリン シルデナフィル カフェイン

1. 研究開始当初の背景

標準的薬物動態試験では、モーメント解析やコンパートメントモデル解析によって、一人ひとりの被験者(数名から十数名)から多様な動態パラメータを得るため、短期間に多数回の経時採血が必要となる。また、薬物動態に及ぼす成長や加齢、腎機能、肝機能、あるいは薬物併用の影響を評価するためには、小児、高齢者、腎疾患患者、肝疾患患者や薬物併用患者でも多数回の採血デザインで臨床試験を行い、薬物動態パラメータを対照群(成人健常者)と比較する必要があるため、倫理的・経済的な問題点が多い。一方、母集団薬物動態(PPK)パラメータを事前情報とするベジアン解析の手法は、多数回の採血を必要としない薬物動態解析法として治療薬物モニタリング(TDM)等に汎用される。しかし、PPKパラメータを得るために20~30名程度の患者データの集積が必要である事に加え、非線形混合効果モデル(NONMEM)を用いた精密なモデル構築と解析結果に対する客観的評価にあたっては熟練した専門技能が必須である等の難点もある。

そこで申請者は、簡易動態パラメータ推定法として、薬物連投時の血中濃度のピーク値(C_{peak})とトラフ値(C_{trough})から薬物血中濃度曲線下面積(AUC)と経口クリアランス(CL/F)を導出する解析法を考案し、この方法の臨床薬物動態評価における有用性をコンピュータシミュレーションによって検証した(*Biol. Pharm. Bull.*, **30**(11), 2159-62, 2007)。具体的には、被験者が投与量D、投与間隔で繰り返し薬物を服用する事を想定し、種々の吸収速度定数 k_a 、見かけの分布容積V/F、およびCL/Fの真値を仮定し、1-コンパートメントモデルで導いた C_{peak} と C_{trough} からD/AUC_{approx}に基づき近似CL/F(CL/F_{approx})を求め、真のCL/Fと比較した。その結果、薬物の消失半減期が投与間隔に比べ極端に短い場合を除き、 $CL/F_{approx} \times x$ は真のCL/Fとほぼ等しいことが明らかとなった。さらに、消失半減期の短い薬物に対しては、 C_{peak} と C_{trough} から概算した消失速度定数()を用いてAUC_{exp}を算出すれば、近似精度が高いCL/F(CL/F_{exp})が得られることも分かった(*Drug Metab. Pharmacokin.*, **23**(2), 128-33, 2008)。従って2点採血によって何れかのCL/F値(CL/F_{approx} または CL/F_{exp})を算出すれば、半減期の長短にかかわらず簡単に個々の患者のCL/FとAUCを推定する事が可能と考えられた。

申請者はこれらの知見に基づき、2008年頃から小児循環器患者を対象とする薬物動態解析を行い、ボセンタン(*Drug Metab. Pharmacokin.*, **26**(2), 280-7, 2011)、タダラフィル(*Ther. Drug Monit.*, **36**(5), 576-83, 2014)、フレカイニド(*Biopharm. Drug Dispos.* **35**(3), 145-53, 2014)について体重あたりのCL/F値とV/F値が成人値よりも大きい事、さらに低年齢の小児ほど動態パラメータの個体間変動が大きい事を見出した。しかしこのアプローチでは、長期服薬に伴う小児患者個々の体内動態変動の定量的予測を行う場合、本質的には「個体内変動」である小児期の成長(発達)の影響を「個体間変動」と分離評価できないという学術的課題が残された。申請者は、こうした少数採血デザインとデータ解析における問題解決の一策として、小児・新生児を対象とする長期追跡型臨床試験の企画・実施を行い、新たな薬物動態試験デザインとしての学術的価値を提唱する必要があると考えた。

2. 研究の目的

小児を対象とした臨床薬物動態試験を企画・実施する際、速度論的解析に耐え得るよう一人の患者から数多くの血中濃度データを得ようとすれば倫理的障壁となる。このため、一般に成人データを小児に外挿する試みがなされるが、適用が困難な場合も少なくない。一方、本研究では症例追跡による長期データの補間・収集に基づき小児発達を個体内変動として解析することによって、被検薬物の体内動態変動因子(共変量)の検出力改善と小児発達の数理モデルの評価を行う事を目的とした。具体的なアプローチとして、抗凝固薬ワルファリンを服用中の小児データを取扱い、薬効変動を来す共変量について探索的な解析を行った。

先天性心疾患を有する小児の一部には心臓外科手術後の遠隔期において低蛋白血症をきたす症例(蛋白漏出性胃腸症)がある。一般に薬物の結合キャリアーはアルブミン、 α_1 酸性糖蛋白質、免疫グロブリン、リポ蛋白と予想されるが、蛋白結合特性は薬物毎に異なる上、低蛋白時には薬物間相互作用も起こり易い。そこで申請者は、in vitroの蛋白結合実験による基礎実験から、低蛋白血症時の血漿中非結合型分率の変動とその臨床における実態を明らかにする。また、新生児無呼吸症候群治療薬であるカフェインを服用中の新生児を対象とした臨床薬物動態試験を企画・実施し、新生児期におこる腎機能の発達の変動が体内動態に及ぼす影響について追加検討を行うこととした。さらに申請者は、5型ホスホジエステラーゼ阻害剤であるタダラフィル、シルデナフィルの小児における臨床薬物動態特性の評価を行うとともに、個体間変動機構(仮説)の裏付けとなる基礎的知見を得る目的で、ヒト血清を用いたin vitro試験や実験動物(ラット)を用いた薬物動態研究を実施した。

3. 研究の方法

以下の(1)~(4)の研究を行った。

(1)低蛋白血症時におけるタダラフィルの体内動態解析：肺血管拡張薬タダラフィルの血漿蛋白結合率は94%とされるが、蛋白漏出性胃腸症(PLE)患者における体内動態は不明である。そこで、入院患者の臨床検査後の残血清を分析する事によってPLE患者におけるタダラフィルの血清蛋白結合率の実態解明を試みた。また、アルブミン以外のキャリア蛋白質に関する基礎情報を得る目的でヒト血清由来タンパクを用いた *in vitro* 結合アッセイを行った。

(2)ワルファリンの抗凝固作用の共変量に関する解析：先天性心疾患の術後管理で不可欠な抗凝固薬ワルファリンの維持投与量(mg/kg/day)には大きな個体間変動および個体内変動が観察される。これまでに我々は、体重補正したワルファリン一日投与量(DD/WT)、ビタミンKエポキシド還元酵素複合体1(VKORC1)の遺伝子変異(1173 T>C)、および患児の年齢(Age)を共変量とするワルファリンの抗凝固作用(プロトロンビン時間国際標準比;PT-INR)推定モデルを報告した。一方、先天的に循環動態異常を合併した小児では、共変量に年齢を用いると患児個々の発達の影響を過大/過小評価する場合があることから、体重をアロメトリー式に基づく仮想的なbody size(SIZE)に置き換え、発達の影響に対してより頑健なモデルを得た。本研究では、小児発達や肝臓のCYP2C9の発現量を記述した既報の数値モデルの導入が抗凝固作用の推定モデルの改良に有効か否か、長期データの収集・解析によって評価した。少なくとも3年以上にわたりワルファリンを服用した小児循環器患者38名を対象とした。PT-INR値の急変動時は調査対象外とし、2週間以上同一用法・用量で維持された際のPT-INRを実測値として収集した。データ解析には、NONMEMプログラムを用いた。

(3)日本人小児ICU患者におけるシルデナフィルの体内動態変動機構：シルデナフィルはICUにおいて術後の肺高血圧症やNO吸入離脱の補助に使用される。しかし近年、ICUにてシルデナフィル投与中の新生児11症例を対象とした海外の臨床試験(1)において、シルデナフィルとその活性型代謝物であるN-デスメチルシルデナフィルを合算したAUC₀₋₂₄の値に約30倍の個体差が観察されたことが報告された。そこで、シルデナフィル(2.0 mg/kg)を初回経鼻経管投与した患児の動脈ラインから計8回の経時的採血を行い、シルデナフィルおよびN-デスメチルシルデナフィルを定量した。また、ラットを用いた動物実験では、SILの吸収部位である十二指腸への投与速度がバイオアベイラビリティに及ぼす影響を評価した。SILとDMSの濃度はLC-MS/MSによって測定した。

(4)早産・低出生体重児におけるカフェインの体内動態変動性評価：成人においてカフェインは肝臓のシトクロムP450(CYP)1A2によってパラキサンチン(PX)、テオフィリン(TP)、及びテオプロミン(TB)に代謝されるが、CYP1A2の発現がない新生児では未変化体の尿中排泄が主な消失経路と考えられている。一方、CYP1A2の発現量や腎機能は出生後から著しく変化するが、新生児期におけるCAFの体内動態はほとんど明らかにされていない。そこで、治療のためカフェインを6日以上連日投与中で、本研究への参加同意が得られた24名(日齢:34±18.2)を対象とした。全員から定常状態における採血を行うとともに、薬物動態パラメータを算出するために、うち10名は投与終了後の採血も行った。血漿は固層抽出処理を行い、LC/MS/MSでキサンチン誘導体の分離定量を行った。

4. 研究成果

(1)研究参加への同意を得た小児PLE患者2名の残血清を試料とし、限外濾過法によってTADのfuを算出した。症例1と2におけるfuとアルブミンとの間に軽度の相関(r=0.365)が観察された事、および*in vitro*におけるfuがアルブミン濃度依存的であった事から、PLE患者におけるTADの蛋白結合が少なくとも一部血清アルブミン値に依存することが確認できた。

*in vitro*実験では、TADのfuに及ぼすアルブミンの濃度依存性と、正常およびPLEを模した2種類のALB濃度(5および2 g/dL)共存条件下のfuに及ぼす1-酸性糖タンパク質(AGP)、 α -グロブリン(GLB)およびリポタンパク質(LPP)の影響を評価した。5 g/dLおよび2 g/dLのアルブミンとTADの共存条件においてAGP(200 mg/dL)を添加した場合、fuはそれぞれ75%、87%減少した。同様にLPP(81.7 mg/dL)を添加した場合、fuはそれぞれ38%、51%減少した。GLBによるfuの有意な減少は観察されなかった。以上の結果から、AGPとLPPがTADのキャリア蛋白であると考えられ、低アルブミン状態では通常よりもこうしたキャリア蛋白の変動によってTADのfuが変動しやすいものと推察された。本研究成果はPLE時の薬物適正使用に関する基礎的知見を与えるものと考えられる。

(2)ワルファリン抗凝固作用の共変量に関する解析：年齢、体重の平均値はそれぞれ7.12歳、21.4 kgであった。平均追跡期間は4.74年であり、解析に用いたデータ数は1092ポイントであった。個々の患者のDD/SIZEとPT-INRの関係について回帰式を得た。すなわち、VKORC1が1173CTまたはCCジェノタイプである患者(n=8)の薬効は、1173TTジェノタイプである患者(n=30)の48.4%と算出された。ボセンタン併用時の抗凝固作用は、非併用時の87.5%に低下すると算出された。さらに、心不全患者では抗凝固作用が1.18倍に増強すると算出された。本研究の結果から、ワルファリンの抗凝固効果に及ぼす発達の影響がSIZEによって(既報の数値モデルよりも)良好に記述可能であること、および心不全が新たな共変量である事が示唆された。本成果は心疾患患児の長期管理においてワルファリン維持量を調節するための基礎的根拠に

ると考えられた。

(3) 本研究への参加同意が得られた患児 13 名(生後 12~1150 日)のうち 7 名では血中濃度が低く明確なピークが観察されなかったが、残りの 6 名ではシルデナフィルまたは N-デスメチルシルデナフィルの血漿中濃度にピークが観察されたが、それぞれ 17.8~101.0 ng/mL および 9.4~76.9 ng/mL の範囲で個体差が大きかった。本研究で観察された血漿中 SIL 濃度は海外報告に比べて 1/5 程度と低い値であった。また本研究では、13 名中 8 名がフェノバルビタール、7 名がミダゾラムを併用しており、併用薬の影響による消化管運動の低下が薬物吸収に影響した可能性が考えられた。そこでラットの十二指腸内に SIL(2.5 mg/body)を定速投与する in vivo 試験を行った。薬液を 10 分間で注入投与(4.5 mL/h)した場合に比べて 60 分間で注入投与(0.75 mL/h)したときの C_{max} およびバイオアベイラビリティはそれぞれ約 0.29 倍および 0.62 倍に減少した。以上のことから、日本人小児 ICU 患者におけるシルデナフィルの体内動態は個体間変動が極めて大きいことが明らかとなり、その体内動態変動メカニズムの少なくとも一部に薬物吸収速度の変化が一部関与することが明らかとなった。

(4) 定常状態の血漿サンプル 49 点中、18 サンプルが治療域(8-20 $\mu\text{g/ml}$)を超えたが、中毒域(>50 $\mu\text{g/ml}$)はなかった。カフェイン濃度/投与量(C/D)比は、日齢+在胎期間(修正日齢)の増加とともに減少する傾向が認められた。一方、少なくとも修正日齢 241 日以内では、代謝物(PX、TP、TB)の血中濃度は低く、肝代謝の寄与は殆どないと考えられた。カフェインの消失半減期($t_{1/2}$)は 112.6 ± 32.6 hr、見かけのクリアランス(CL/F)は 0.102 ± 0.029 mL/min/kg、見かけの分布容積(V/F)は 1.02 ± 0.28 L/kg と算出された。本研究で算出された CL/F の値は、想定される糸球体ろ過速度の値に比べて極めて小さかった。新生児における CAF の血漿タンパク結合率は 25%と低い事を考慮すると、カフェインは糸球体ろ過を受けた後、大部分が尿細管において再吸収されると推察された。本研究の早産児 24 例において、カフェインの血中濃度が治療域を超えたサンプルが 37%あった。早産・低出生体重児に対してカフェインをより安全に使用するためには在胎期間を考慮した投与計画、あるいは腎血流に影響を及ぼす薬剤併用への注意が重要と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yukino Oya, Daisuke Watahiki, Mitsuki Matsunaga, Keiichi Hirono, Fukiko Ichida, Masaya Aoki, Naoki Yoshimura, Masato Taguchi	4. 巻 43
2. 論文標題 The Pharmacokinetics of Sildenafil May Be Affected by Intestinal Absorption Rate in Children Admitted to the Intensive Care Unit	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biol Pharm Bull	6. 最初と最後の頁 1917-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b20-00614	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masato Taguchi, Yukako Kawasaki, Arisa Katsuma, Ayane Mito, Kentaro Tamura, Masami Makimoto, Taketoshi Yoshida	4. 巻 44
2. 論文標題 Pharmacokinetic Variability of Caffeine in Routinely Treated Preterm Infants: Preliminary Considerations on Developmental Changes of Systemic Clearance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biol Pharm Bull	6. 最初と最後の頁 69-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b20-00616	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takeuchi M, Kobayashi T, Biss T, Kamali F, Vear SI, Ho RH, Bajolle F, Lorient MA, Shaw K, Carleton BC, Hamberg AK, Wadelius M, Hirono K, Taguchi M, Wakamiya T, Yanagimachi M, Hirai K, Itoh K, Brandt LR, and Ito S.	4. 巻 20
2. 論文標題 CYP2C9, VKORC1, and CYP4F2 Polymorphisms and Pediatric Warfarin Maintenance Dose: A Systematic Review and Meta-Analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmacogenomics J	6. 最初と最後の頁 306-319
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41397-019-0117-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Shigetomi N, Kamiya K, Takamori T, Yoshimura N, Ozawa S, Hirono K, Ichida F, and Taguchi M.	4. 巻 42
2. 論文標題 Determination of the serum unbound fraction of tadalafil in children with protein-losing enteropathy and its specific binding to human serum proteins in vitro	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biol. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 110-115
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b18-00652	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamura R, Watanabe N, Nakamura S, Yoshimura N, Ozawa S, Hirono K, Ichida F, and Taguchi M.	4. 巻 75
2. 論文標題 Evaluation of the effects of ontogenetic or maturation functions and chronic heart failure on the model analysis for the dose-response relationship of warfarin in Japanese children	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Eur. J. Clin. Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 913-920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00228-019-02652-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田口 雅登, 廣野 恵一, 小澤 綾佳, 芳村 直樹, 市田 路子
2. 発表標題 蛋白漏出性胃腸症患者に伴うタグラフィルの血清蛋白結合率変動
3. 学会等名 第27回日本小児肺循環研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田口雅登、勝眞愛梨沙、川崎裕香子、足立雄一、吉田丈俊
2. 発表標題 早産・低出生体重児に対するカフェイン投与の安全性評価
3. 学会等名 第28回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村 理香, 渡辺 直, 中村 早稀, 芳村 直樹, 小澤 綾佳, 廣野 恵一, 市田 路子, 田口 雅登
2. 発表標題 小児ワルファリン療法における抗凝固作用の発達変動モデルと共変量に関する研究
3. 学会等名 第28回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 神谷健太, 重富七海, 高森 徹, 芳村直樹, 小澤綾佳, 廣野恵一, 市田蒔子, 田口雅登
2. 発表標題 蛋白漏出性胃腸症患者におけるタダラフィルの血清蛋白結合率と キャリア蛋白に関する研究
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	市田 蒔子 (Ichida Fukiko) (30223100)	国際医療福祉大学・臨床医学研究センター・特任教授 (32206)	
研究分担者	廣野 恵一 (Keiichi Hirono) (80456384)	富山大学・学術研究部医学系・講師 (13201)	
研究分担者	吉田 丈俊 (Taketoshi Yoshida) (90361948)	富山大学・学術研究部医学系・特命教授 (13201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------