

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19790133
 研究課題名（和文） 抗ヒスタミン薬による鎮静作用の個人差の解析
 研究課題名（英文） Analysis of the individual difference in the sedation with the antihistamine
 研究代表者
 神山 紀子 (KOHYAMA NORIKO)
 昭和大学薬学部臨床薬学教室・助教
 研究者番号：00315102

研究成果の概要（和文）：抗ヒスタミン薬による眠気などの鎮静作用発現を高感度、客観的かつ定量的に評価する方法を確立でき、血中濃度との関連性を検討することができた。鎮静作用の客観的評価としては、断続的眼球運動最大速度（SPV: degree/sec）を用いた。(1)健康成人男性6名の参加により、*d*-クロルフェニラミンマレイン酸塩の用量反応性試験を行ったところ、SPVの低下の程度と血中濃度との間に相関性が認められた。(2) *d*-クロルフェニラミンマレイン酸塩とエバスタチンを試験薬剤とし、健康成人10名により行った。エバスタチン服用後の主観的評価は服用前に比べ変化が見られなかったが、SPVは服用前に比べ低下した。自覚されない鎮静作用をSPVの低下として検出できたと考えられる。また、エバスタチンではSPVの低下の程度と血中濃度との間に相関性が認められなかった。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the sedative effect of histamine H1 receptor antagonists (H1-antagonists) by eye movement analysis. Trial 1; A randomized, double-blind, three-way crossover study was performed in six healthy male volunteers. Subjects took *d*-chlorpheniramine 1, 2, or 4 mg in each period. Trial 2; A randomized, double-blind, two-way crossover study was performed in ten healthy volunteers. Subjects took 2 mg *d*-chlorpheniramine or 10 mg ebastine. The sedative effects of H1-antagonists were assessed by visual analogue scale (VAS) and saccadic peak velocity (SPV) obtained from eye movement analysis. Plasma concentrations of chlorpheniramine and carebastine were analyzed using HPLC. The values of SPV were correlated with VAS “alertness scores”. Maximal effects on SPV were correlated with the area under the concentration-time curve of chlorpheniramine. Therefore, we suggest that SPV is a quantitative marker of the sedative effects of H1-antagonists. In trial 2, both *d*-chlorpheniramine and ebastine reduced SPV significantly compared with before administration, although the H1-antagonists had a little effect on VAS. Thus, the eye movement analysis may be a useful tool for evaluation the unconscious sedative effects of H1-antagonists.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,200,000	0	1,200,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	600,000	3,800,000

研究分野：生物薬剤学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：臨床薬理学、薬物動態学、眼球運動解析、抗ヒスタミン薬、薬剤反応性、トランスポーター

1. 研究開始当初の背景

(1)ヒスタミンH1受容体遮断薬(抗ヒスタミン薬)は、末梢のヒスタミンH1受容体阻害作用に基づき、種々のアレルギー疾患に繁用されているが、一方で中枢のH1受容体阻害によると考えられる鎮静作用も有している。ヒスタミンH1受容体に対する特異性が高く、持続的な拮抗作用を発揮し、眠気を来す事も少ない第二世代抗ヒスタミン薬が開発されたが、臨床開発中、あるいは、市販後調査に基づくデータとして、各第二世代抗ヒスタミン薬の添付文書上には2-10%の眠気の発現が示されている。また、日本薬剤師会 Drug Event Monitoring 事業で実施された薬局を介した患者への聞き取り調査により、第二世代抗ヒスタミン薬であるエバスタチン、塩酸フェキソフェナジン、塩酸セチリジン、ロラタジンを処方されている患者のうち、9-20%に眠気発現があったことが示されている (Hayashi et al., YAKUGAKU ZASSHI, 125:555-565, 2005)。実際、申請者も、所属する大学薬学部の学生および教員 654 名に対するアンケート調査を行ったところ、回収率 77%が得られ、そのうちのべ 72 名がエバスタチン、塩酸フェキソフェナジンなどの第二世代抗ヒスタミン薬服用中に眠気の発現の経験があったとの回答であった (判治ら、日本臨床薬理学会年会発表、2005年12月)。これらのことから、個人によって、あるいは状況によっては、第二世代の抗ヒスタミン薬により鎮静作用つまり眠気が生じる可能性が考えられる。

(2)第二世代抗ヒスタミン薬に鎮静作用が小さい理由として、その低い中枢移行性が挙げられており、これには、薬のもつ低い脂溶性に加え、トランスポーターの関与が考えられる。例えば、エバスタチンの活性代謝物であるカレバスタチンの中枢移行制御には、血液脳関門の実体である脳毛細血管内皮細胞に発現しているP-糖タンパク質が関与していることが、P-糖タンパク質遺伝子 *mdr1a* ノックアウトマウスを用いて示されている (Tamai et al., J Drug Target, 8:383-393, 2000)。更に、P-糖タンパク質をはじめとするATP依存的に細胞外へ排出輸送するATP-binding cassette (ABC) トラ

ンスポーターのみならず、solute carrier (SLC) トランスポーターなど、脳毛細血管内皮細胞に発現しているトランスポーターに関する知見が集積しつつある。このようなことから、申請者は、「血液脳関門における存在するトランスポーターの働きが何らかの原因で変化している場合、薬物の中枢移行が増加し、その結果、鎮静作用が発現する。」という仮説をたて、変化の因子としてトランスポーター遺伝子の多型の影響を検討することとした。つまり、抗ヒスタミン薬による鎮静作用の発現の個人差の要因としては、

- ①血中濃度：消化管吸収、代謝、排泄過程に関わる遺伝子の多型、発現・機能変動因子
 - ②血液脳関門透過性：トランスポーター遺伝子の多型、発現・機能変動因子
 - ③受容体の感受性：ヒスタミン H1 受容体遺伝子の多型、発現・感受性影響因子
- が考えられるが、本研究では特に②のトランスポーター遺伝子の多型に着目するものである。

本仮説の検証を行うには、具体的には以下の項目を検討する必要がある。

- [1]ヒトにおける抗ヒスタミン薬の鎮静作用に対する感受性の評価法の確立
- [2]抗ヒスタミン薬の中枢移行制御に関わるトランスポーター候補を *in vitro* 実験により明らかにする。
- [3]抗ヒスタミン薬の鎮静作用に対する個人差の存在を明らかにする。
- [4]遺伝子型による層別化服薬試験
- [5]鎮静作用が現れるヒトとそうでないヒトの遺伝子背景の比較

(3)抗ヒスタミン薬の鎮静作用のヒトにおける評価は、眠気などの主観的評価、タイピングテストや実車運転試験、タキストコ

ープなど様々な認知機能障害指標、脳波、positron emission tomography (PET) を用いた脳内ヒスタミン H1 受容体占拠率などの客観的評価を用いるのが国際的な考えとなっている (Holgate et al., Clin Exp Allergy, 33:1305-1324, 2003)。これらの方法を用い、第一世代抗ヒスタミン薬に比べ、第二世代抗ヒスタミン薬の鎮静作用は小さいことが示されてきた。しかし、第二世代抗ヒスタミン薬の鎮静作用の個人差を検討した研究は皆無である。この研究を行うためには、鋭敏な検出感度、定量性、再現性を備えた客観的な鎮静作用指標が必要である。PET や脳波計は客観的な評価法ではあるが、大規模な施設や判定者の熟練が要求される。

眼球運動解析システムがオランダ・ライデン大学 Cohen らのグループにおいて開発され、抗ヒスタミン薬およびベンゾジアゼピン系薬剤をはじめ薬物の中樞神経に対する鎮静作用の評価に用いられてきた (Cohen et al., Eur J Clin Pharmacol 32:279-288, 1987; van Steveninck et al., Clin Pharmacol Ther 50:172-180, 1991; van Steveninck et al., J Psychopharmacol 13:10-17, 1999)。眼球運動を分類すると、連続して移動し続ける標的を網膜の中心に捉え続けようとする比較的ゆっくりとした速度をもつ追跡眼球運動、すばやく移動した標的を出来るだけ早く網膜に捉えるために瞬時に眼球を動かす断続的の眼球運動がある。眼球は角膜側が正に、網膜側が負に帯電しており、眼球運動を電位の変化として測定することができる。眼球の運動は6本の外眼筋により制御されているが、目を左右(水平方向)に動かす断続的の眼球運動は、動眼神経支配下の内直筋と外転神経支配下の外直筋の緊張・弛緩関係で可能である。このため、複雑な認知機能と腕や指の筋肉の動きを要する従来の認知機能障害指標に比べると関係する神経と筋肉は少なく、単純な系で考えることができる。このため、ベンゾジアゼピン系薬剤においては、他の方法に比べ検出感度が鋭敏であることが示されている (van Steveninck et al., Clin Pharmacol Ther 50:172-180, 1991)。

本方法を個人内の比較のみならず、個人間の比較が可能であることを評価する必要がある。そこで、この眼球運動解析法の定量性の評価(用量反応性試験によるバリデーション)を含めた本研究計画を立案した。

(4)抗ヒスタミン薬を輸送するトランスポーターとしては、P-糖タンパク質(MDR1)が示されており、エバスチンの活性代謝物であるカレバステチンについては、その他のトランス

ポーターが関与する可能性も考察されているが、その実体は明らかになっていない (Tamai et al., J Drug Target, 8:383-393, 2000)。そこで、培養細胞およびアフリカツメガエル卵母細胞を用いた強制発現系を用い、カレバステチンを輸送しうるトランスポーターの探索を行う。カレバステチンの定量は、HPLCにて行う。特に優先的に検討するトランスポーターは、血液脳関門に発現していることが示されている、ABCB1(MDR1)、ABCC1(MRP1)、ABCC2(MRP2)、ABCG2(BCRP)、SLC22A8(OAT3)、SLC21A3(OATP-A)とする。

2. 研究の目的

第二世代抗ヒスタミン薬の鎮静作用の個人差とトランスポーター遺伝子多型の関連性を明らかにすることを目的とし、ヒトにおける鎮静作用の客観的評価法として眼球運動解析法の定量性の評価、第二世代抗ヒスタミン薬の中樞移行性に関連する可能性のあるトランスポーターの *in vitro* 実験による探索、並びに、第二世代抗ヒスタミン薬服用時の眠気の評価、鎮静作用の個人差と遺伝子多型との関連性の検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、(1)抗ヒスタミン薬の鎮静作用を評価する方法として、眼球運動解析法の定量性を検証する。(2)エバスチンの活性代謝物であるカレバステチンの血液脳関門透過性制御に関わる可能性のあるトランスポーターを *in vitro* 実験により明らかにする。(1)と(2)で得られた成果を統合した臨床試験をデザインする。臨床試験の実施により、エバスチンの鎮静作用の個人差の存在を客観的指標により証明し、さらにその要因として遺伝子多型の関与を検討する。

4. 研究成果

(1)抗ヒスタミン薬の鎮静作用の客観的評価法として、眼球運動解析法の定量性の評価のため、*d*-マレイン酸クロルフェニラミンの用量反応性試験を行った。健康成人男性6名を対象に、無作為化、二重盲検下、休薬期間を6日以上とした、1, 2, 4 mgの3用量、3期クロスオーバーデザインにより行った。薬力学評価として、断続的の眼球運動最大速度(saccadic peak velocity; SPV)および Bond and Lader の visual analogue scales による Alertness score を用いた。薬物動態学的評価として、投与2, 3, 6時間後の血漿中クロルフェニラミン濃度を HPLC-UV 法により定量した。安全性評価として、自覚症状

の調査並びに医師の診察を行った。結果として、SPV と Alertness score との間、SPV および Alertness score それぞれの最大効果 (ΔE_{\max}) と用量との間、および、台形法により算出した血漿中濃度時間曲線下面積と SPV の ΔE_{\max} との間に有意な相関性が示された。以上より、SPV は抗ヒスタミン薬の鎮静作用を定量的に評価可能と考えられた。

(2) 眼球運動解析法を用い、第一世代抗ヒスタミン薬である d-クロルフェニラミンマレイン酸塩 2 mg と第二世代であるエバスチン 10 mg 服用後の鎮静作用を評価するクロスオーバー、二重盲検による臨床試験を 10 名の被験者により行った結果を、(1) で得られた結果をもとに再解析した。マレイン酸クロルフェニラミン服用時の断続的眼球運動最大速度 (Saccadic eye movement Peak Velocity: SPV) の有意な低下 (服用前と最大低下時の比較) は、10 人中 9 人でみられ、エバスチンでは 5 人にみられた。また、クロルフェニラミンマレイン酸塩服用時では最大血中濃度とその時点での SPV 低下との間に有意な相関関係が得られたが、エバスチンでは相関関係は示されなかった。これらの結果から、抗ヒスタミン薬の鎮静作用には個人差があること、第二世代の抗ヒスタミン薬の個人差は血中濃度の個人差では説明できないことが示唆された。

(3) 第二世代抗ヒスタミン薬を輸送するトランスポーターを明らかにすることを目的とした。アフリカツメガエル卵母細胞を用いた強制発現系における検討により、ヒト MCT1 (SLC16A1) およびヒト SLC22A3 (OATP-A) がカレバステチンを輸送し、SLC22A8 (OAT3) は輸送しないことが明らかとなった。また、ラット培養脳毛細血管内皮細胞を用いた検討では、カレバステチンの血液側から脳側への透過性が低い要因として、ABCB1 (MDR1) に加え、何らかの輸送機構が関与することが示唆された。その輸送機構は、阻害実験の結果より、ABCC4 (MRP4) および ABCG2 (BCRP) 以外であることが示唆された。

(4) 本研究期間内には、鎮静作用の個人差と遺伝子多型との関連性の検討を行う臨床試験は実施できなかった。今後、本研究で得られた成果をもとに、臨床試験の計画並びに実施を行いたいと考える。

(5) 抗ヒスタミン薬の鎮静作用自体は直接生命を脅かすような重篤な副作用ではないものの、眠気や認知機能の低下をもたらし、判断力・注意力の低下等による日常生活の作業効率の低下を引き起こす。特に注意すべき点は、眠気として自覚がない場合でも、判断

力・注意力の低下がおきている可能性である。状況によっては、事故など悲惨な結果をもたらす要因にもなりうる。鎮静作用に対する感受性の個人差の存在が証明され、さらにその個人差の因子が明らかになることは、社会的にも強いインパクトをもたらさだろう。

(6) 今回、眼球運動解析法の有用性についても示すことが出来た。つまり、d-クロルフェニラミンマレイン酸塩服用後の鎮静作用について用量反応性が示されたことから、従来から評価に使用されてきたベンゾジアゼピン系薬剤のみならず、鎮静をもたらす機構が異なる抗ヒスタミン薬の鎮静作用も評価可能であることが示された。薬の中枢作用の評価および個人差に係る研究分野において、有用な評価指標 (眼球運動解析) を提供するものである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 2 件)

① 神山紀子 他、眼球運動速度解析法を用いた抗ヒスタミン薬による鎮静作用の評価、第 83 回日本薬理学会年会、2010 年 3 月 16 日、大阪

② 岸芳子、神山紀子 他、眼球運動速度解析法を用いた抗ヒスタミン薬による鎮静作用の評価、第 128 回日本薬学会、2008 年 3 月 28 日、横浜

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神山 紀子 (KOHYAMA NORIKO)

昭和大学・薬学部・助教

研究者番号：00315102

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：