

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 18 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590156

研究課題名(和文) 難治性てんかん患者における薬物動態と薬効の母集団解析に基づく個別化処方設計支援

研究課題名(英文) Population pharmacokinetics and pharmacodynamics and individualized therapy in patients with refractory epilepsy

研究代表者

矢野 育子 (YANO IKUKO)

京都大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号：50273446

研究成果の概要(和文)：チトクローム P450 (CYP) 2C19 遺伝子多型と併用抗てんかん薬が、クロバザム及び活性代謝物の薬物動態に与える影響について定量的評価を行った。CYP2C19 遺伝子多型を有する患者では、活性代謝物の濃度が遺伝子多型を有さない患者に比べて 3.8 倍上昇することから、CYP2C19 遺伝子多型診断が低用量クロバザム治療における患者の選択に有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We quantitatively evaluated the effects of CYP2C19 genotype and co-administered antiepileptics on clobazam and N-desmethyloclobazam pharmacokinetics. The high N-desmethyloclobazam concentration in CYP2C19 poor metabolizers suggested a higher possibility of response to low-dose clobazam, and genotyping of CYP2C19 might be useful in individualized therapy with this drug.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：オーダーメイド医療、臨床薬物動態学

## 1. 研究開始当初の背景

てんかん薬物治療においては、毎月 5,000 人以上が新たにてんかんを発症し、その約 1/3 が多剤併用によっても発作のコントロールが難しい難治症例とされる。日本では 1990 年のゾニサミド以降新薬の開発が長らくなかったが、漸く 2000 年にクロバザム、2006 年にガバペンチン、続いて 2007 年にトピラマートが発売され、これら新規抗てんかん剤

の難治症例への貢献が期待される。しかし、クロバザムやガバペンチン、トピラマートでは、従来の抗てんかん剤で必須であった薬物血中濃度モニタリングに基づく投与設計が行われておらず、また併用抗てんかん薬間で薬物動態学的相互作用も起こることから、至適処方設計に難渋しているのが現状である。

クロバザムは薬物代謝酵素チトクローム P-450 (CYP3A4)により活性代謝物である N-

デスメチルクロバザムに代謝され、N-デスメチルクロバザムはさらに CYP2C19 により不活化される。N-デスメチルクロバザム血中濃度と CYP2C19 遺伝子多型の関連が示唆されており、CYP2C19\*1/\*2 遺伝子型のでんかん患者が異常に高い N-デスメチルクロバザム血中濃度を示し重篤な眠気を伴ったとの臨床報告がある。一方、有効血中濃度域に関する報告はほとんどないものの、成人の難治性てんかん患者に対する低用量クロバザム投与の有効性が、N-デスメチルクロバザムの血中濃度と関連することが報告されている。また研究代表者らは、成人難治性てんかん患者について後方視的検討を行った結果、N-デスメチルクロバザム/クロバザム血中濃度比は大きな個体間変動を示し、その比が 3 グループに分類される傾向があること、またこの血中濃度比と治療効果に関連があることを報告している。

一方、抗てんかん剤の耐性に関係する薬物トランスポータとして血液脳関門に発現する P-糖蛋白質(ABCB1/MDR1)の関与が有力視されているが、てんかん発作や抗てんかん薬自身が P-糖蛋白質を誘導することも報告されており、ABCB1 遺伝子多型と治療抵抗性の関係については一致した結果は得られていない。その他、脳に発現する薬物排出トランスポータとして MRP2(ABCC2)や BCRP(ABCG2)の関与も想定されるが、これらトランスポータが新規抗てんかん薬の脳局所動態や薬効発現に与える影響についても未だ明らかとはなっていない。

## 2. 研究の目的

従来薬との併用療法が適応となるクロバザム及びその活性代謝物 N-デスメチルクロバザム、ガバペンチン、トピラマート、ラモトリギン、レベチラセタム等を対象に、新規抗てんかん薬同時測定系を構築し、各薬物における血中濃度測定の意義について評価する。また、各薬物の体内動態並びに薬効・副作用について薬物動態関連遺伝子や薬物間相互作用の影響を考慮した母集団解析を行い、難治性てんかん患者に対する個別化薬剤選択指針の開発を行うことを最終目標とする。

## 3. 研究の方法

(1) クロバザムの薬物動態と薬効の母集団解析: クロバザムが投与された難治性てんかん患者を対象に、CYP2C19 及び CYP3A5 の遺伝子多型解析を行い、患者臨床検査値や併用抗てんかん剤の寄与も含め効果・副作用の関係について母集団解析を行い、治療域の設定と個体間変動因子の抽出を行う。

(2) 抗てんかん薬血中濃度 LC-MS/MS 同時

測定法の開発: ガバペンチン、トピラマート等の新薬においては血中濃度測定の意義が明確ではないため、全自動測定器用キットの開発はない。そこで、従来薬に加えてガバペンチン、トピラマート、ラモトリギン、レベチラセタム等の同時測定を可能とする臨床応用可能な高感度の LC-MS/MS 測定系を新たに構築し、臨床検体の解析を行う。

(3) 薬物トランスポータ発現系を用いた輸送実験と実験動物を用いた脳内移行の検討: 脳内濃度を規定する薬物トランスポータとして P-糖タンパク質 (ABCB1/MDR1)、MRP2(ABCC2)、BCRP(ABCG2) に焦点をあてる。MDR1 については、既に確立されたヒト MDR1 を発現する LLC-GA5-COL150 細胞とコントロール細胞として LLC-PK1 を用いた輸送実験を行う。MRP2、BCRP については新たに発現細胞の構築を行い、種々抗てんかん剤の輸送実験を行う。さらに、*mdr1a/1b(-/-)*マウスあるいは正常ラットに P-糖タンパク質や BCRP、MRP2 の特異的阻害剤や他の抗てんかん剤を併用することによって、*in vivo* 脳内移行に及ぼすこれらトランスポータの定量的寄与について明らかにする。

## 4. 研究成果

(1) クロバザムの薬物動態と薬効の母集団解析: 2006年1月から2011年5月までに京都大学医学部附属病院神経内科で診療を受けた、クロバザム服用中の入院及び外来患者 50 名を対象に、クロバザム治療開始後 1-12 ヶ月における血中濃度測定値総 152 点と臨床情報を収集した。さらに、患者から同意を得た後、末梢血から DNA を抽出し、CYP2C19 及び CYP3A5 遺伝子診断を行った。非線形混合効果モデルプログラム NONMEM を用いた母集団解析の結果、クロバザム血中濃度はカルバマゼピン、フェニトインあるいはフェノバルビタールといった酵素誘導剤の併用によって 40%に減少した。また、N-デスメチルクロバザムの血中濃度は、ゾニサミドの併用で 1.9 倍に上昇し、CYP2C19 poor metabolizer の患者では 3.8 倍に上昇した。一方、CYP3A5 遺伝子多型の影響は認められなかった。従って、クロバザム/活性代謝物の血中濃度比は、併用薬物及び CYP2C19 遺伝子型の影響を強く受け、CYP2C19 extensive metabolizer で、酵素誘導剤及びゾニサミドを併用しない患者での 4.4 (90%信頼区間: 0-10.5) から、CYP2C19 poor metabolizer で、酵素誘導剤及びゾニサミドを併用する患者での 78.9(42.0-195)まで個人差が大きいことが予測された。活性代謝物の薬理活性がクロバザムの 40 %程度と考えると、活性代謝物が薬効で重要な役割を果たすことから、CYP2C19 poor metabolizer では低

用量クロバザム治療への反応性が高く、特にアジア人種においては CYP2C19 poor metabolizer の頻度が高いため、CYP2C19 遺伝子多型診断がクロバザムの個別化治療において有用であることが強く示唆された。

(2) 抗てんかん剤血中濃度 LC-MS/MS 同時測定法の開発：超高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析装置 (UPLC-MS/MS) を用い、新規薬物を含む 21 種の抗てんかん薬について一斉測定法を構築した。各薬物の保持時間は 0.5～6.0 分で、1 検体の分析に 10 分を要した。21 種の全化合物について良好なピーク形状と感度を確認し、臨床使用濃度域で良好な直線性を得た ( $r^2 > 0.99$ )。また、日内変動は 6%未満、日間変動は 10%未満であった。ラモトリギン服用中の患者における血中濃度と投与量の比について検討したところ、グルクロン酸転移酵素 (UGT) 誘導剤併用群では非併用群に比し約 1/3 の値を示すが、誘導剤の中でも特にフェニトイン、フェノバルビタル併用患者では、カルバマゼピン併用患者と比べて低値を示すため、薬物血中濃度モニタリングを行うことがラモトリギンの用量調節に有用であることが示唆された。今後、ラモトリギンについて症例数を増やした検討を行うことで、薬物血中濃度を用いた投与設計の有用性について明確にすることができると考える。また、その他の新規抗てんかん薬についてもファーマコキネティクスとファーマコダイナミクスに関する検討を行うことで、薬物血中濃度測定の意義について明らかにできると考える。

(3) 薬物トランスポータ発現系を用いた輸送実験と実験動物を用いた脳内移行の検討：抗てんかん薬の脳内移行を規定する薬物トランスポータとして P-糖タンパク質 (ABCB1/MDR1) 及び BCRP (ABCG2) に着目した。 *mdr1a/1b* (-/-) マウス及び *mdr1a/1b/bcrp* (-/-) マウスに、12 種の抗てんかん薬を静脈内投与し、投与後 1 時間までの経時的採血と最終時点での脳内濃度を UPLC-MS/MS 同時測定法を用いて定量した。その結果、フェニトイン、トピラマート、タイアガビンの場合には P-糖タンパク質が、フェノバルビタル、ゾニサミド、レベチラセタム、クロナザパム、ガバペンチン、タイアガビンの場合には BCRP が、これらの薬物の脳内移行を少なくとも一部制御していることが明らかとなった。従って、これら薬物トランスポータの発現変動が抗てんかん薬の薬効や耐性発現に寄与していると考えられるため、薬物トランスポータ情報に基づく抗てんかん薬の使い分けや阻害剤の併用が、難治性てんかんに対する薬物治療戦略として有用であることが示唆された。

## 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 8 件)

- ① Shibata M, Hashi S, Nakanishi H, Masuda S, Katsura T, Yano I, Detection of 22 antiepileptic drugs by ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry applicable to routine therapeutic drug monitoring, Biomed Chromatogr, in press (2012), 査読有, DOI: 10.1002/bmc.2726
- ② Ishiguro H, Takashima S, Yoshimura K, Yano, I, Yamamoto T, Niimi M, Yamashiro H, Ueno T, Takeuchi M, Sugie T, Yanagihara K, Toi M, Fukushima M, Degree of freezing does not affect efficacy of frozen gloves for prevention of docetaxel-induced nail toxicity in breast cancer patients, Supportive Care in Cancer, in press, (2012), 査読有, DOI: 10.1007/s00520-011-1308-4
- ③ Yano I, Masuda S, Egawa H, Sugimoto Y, Fukudo M, Yoshida Y, Hashi S, Yoshizawa A, Ogura Y, Ogawa K, Mori A, Kaido T, Uemoto S, Inui K, Significance of trough monitoring for tacrolimus blood concentration and calcineurin activity in adult patients undergoing primary living-donor liver transplantation, Eur J Clin Pharmacol, 68(3), 259-266 (2012), 査読有, DOI: 10.1007/s00228-011-1129-x
- ④ Toyama K, Yonezawa A, Tsuda M, Masuda S, Yano I, Terada T, Osawa R, Katsura T, Hosokawa M, Fujimoto S, Inagaki N, Inui K, Heterozygous variants of multidrug and toxin extrusions (MATE1 and MATE2-K) have little influence on the disposition of metformin in diabetic patients, Pharmacogenet. Genomics, 20(2), 135-138 (2010), 査読有, DOI: 10.1097/FPC.0b013e328335639f
- ⑤ Fukudo M, Yano I, Katsura T, Ito N, Yamamoto S, Kamoto T, Ogawa O, Inui K, A transient increase of calcineurin phosphatase activity in living-donor kidney transplant recipients with acute rejection, Drug Metab. Pharmacokinet., 25(5), 411-417 (2010), 査読有, <http://mol.medicalonline.jp/library/>

[archive/search?jo=colmetab&ye=2010&vo=25&nu=5&st=411](http://archive/search?jo=colmetab&ye=2010&vo=25&nu=5&st=411)

- ⑥ Fukudo M, Yano I, Shinsako K, Katsura T, Takada Y, Uemoto S, Inui K, Prospective evaluation of the Bayesian method for individualizing tacrolimus dose early after living-donor liver transplantation, *J Clin Pharmacol*, 49(7), 789-797 (2009), 査読有, DOI: 10.1002/jps.21731
- ⑦ Yano Y, Kodawara T, Hongo H, Yano I, Kishi Y, Takahashi J, Inui K, Population analysis of myelosuppression profiles using routine clinical data after combination cancer chemotherapy, *J Pharm Sci*, 98(11), 4402-4412 (2009), 査読有, DOI: 10.1002/jps.21731
- ⑧ Yokomasu A, Yano I, Sato E, Masuda S, Katsura T, Inui K, Effect of itraconazole on the pharmacokinetics of everolimus administered by different routes in rats, *Biopharm Drug Disp*, 30(9), 517-523 (2009), 査読有, DOI: 10.1002/bdd.687

[学会発表] (計 8 件)

- ① 柴田茉衣、端 幸代、増田智先、桂 敏也、池田昭夫、松本理器、高橋良輔、矢野育子. 難治性てんかん患者のクロバザム治療における CYP2C19 遺伝子多型の寄与. 第 32 回日本臨床薬理学会年会、2011 年 12 月 1 日、アクトシティ浜松 (静岡県)
- ② 中西晴香、柴田茉衣、桂 敏也、矢野育子、抗てんかん薬の脳移行に及ぼす薬物排出トランスポータの影響、第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会、神戸学院大学 (兵庫県)、2011 年 10 月 22 日
- ③ Yano I, Masuda S, Egawa H, Sugimoto M, Fukudo M, Yoshida Y, Yasuda Y, Kaido T, Uemoto S, Inui K. Significance of trough monitoring of tacrolimus blood concentration and calcineurin activity in living-donor liver transplant patients. 12th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology, 2011 年 10 月 5 日, Stuttgart, (Germany)
- ④ 端 幸代、矢野育子、増田智先、柴田茉衣、中西晴香、桂 敏也、松本理器、池田昭夫、高橋良輔. 新規抗てんかん薬ラモトリギンの血中濃度測定と相互作用に関する検討. 第 28 回日本 TDM 学会・学術大会、2011 年 6 月 18 日、広島国際会議場 (広島県)

- ⑤ 柴田茉衣、矢野育子、安田幸代、増田智先、桂 敏也. UPLC/MS/MS 法を用いた抗てんかん薬一斉測定法の構築. 第 31 回日本臨床薬理学会、国立京都国際会館 (京都府)、2010 年 12 月 1 日
- ⑥ Yano I, Shibata M, Yasuda S, Yokomasu A, Hosohata K, Masuda S, Ikeda A, Takahashi R, Inui K. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of clobazam and its active metabolite in Japanese adults with refractory epilepsy. WORLDPHARMA 2010, 2010 年 7 月 22 日, Copenhagen, (Danmark)
- ⑦ 柴田茉衣、矢野育子、安田幸代、横増 晃、細畑圭子、増田智先、池田昭夫、高橋良輔、乾 賢一. 抗てんかん薬クロバザム及び活性代謝物 N-デスマチルクロバザム体内動態の母集団解析とファーマコゲノミクス. 第 30 回日本臨床薬理学会、パシフィコ横浜 (神奈川県)、2009 年 12 月 3 日
- ⑧ 安田幸代、矢野育子、細畑圭子、増田智先、池田昭夫、高橋良輔、乾 賢一. 成人難治性てんかん患者における低用量クロバザムの体内動態と臨床効果に与える CYP2C19 および CYP3A5 遺伝子多型の影響. 第 26 回日本 TDM 学会・学術大会、朱鷺メッセ (新潟県)、2009 年 6 月 14 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

矢野 育子 (YANO IKUKO)  
京都大学・大学院薬学研究科・准教授  
研究者番号：50273446

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

福土 将秀 (FUKUDO MASAHIDE)  
京都大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号：60437233

### (4) 研究協力者

池田 昭夫 (IKEDA AKIO)  
京都大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：90212761

増田 智先 (MASUDA SATOHIRO)  
京都大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号：90303825