

令和 6 年 4 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15333

研究課題名（和文）CYP3A4活性予測尿中バイオマーカーを利用した薬物投与設計法の開発

研究課題名（英文）Development of Drug Administration Design Method Utilizing Urinary Biomarkers for Predicting CYP3A4 Activity

研究代表者

公文代 将希（Kumondai, Masaki）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：30908778

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：患者個々の医薬品投与時点におけるCYP3A4酵素活性を予測するため、尿中におけるCYP3A4活性予測バイオマーカーの有用性を精査した。はじめに、尿中内因性バイオマーカーのLC-MS/MSによる一斉定量系を構築した。レンパチニブやタクロリムスを服用する患者における血中薬物濃度と尿中バイオマーカー濃度やCYP3A遺伝子多型の関連を解析したところ、血中薬物濃度とCYP3A遺伝子多型の関連は認められた一方、本研究における尿中バイオマーカーの予測精度は不十分であり、更なる解析が必要となることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の医療における薬物療法は、同一疾患を有する患者に対して治療ガイドラインに基づいた医薬品の選択が行われる標準治療が一般的であり、個別化薬物療法の臨床現場における実践例は限定的である。しかし、医薬品による治療効果や副作用発現には著しい個人差が存在するため、患者個々に最適な医薬品を最適な投与量で用いる個別化薬物療法の実践が重要である。本研究は非侵襲的な方法による投与量最適化を目指しており、患者個々における治療効果の最大化や副作用発現リスクの軽減などの治療管理に極めて重要となり、本成果は今後の更なる臨床研究に有益な知見となる。

研究成果の概要（英文）：We examined the utility of urinary biomarkers for predicting CYP3A4 enzyme activity at the individual patient level during drug administration. Initially, we constructed a simultaneous quantification system for endogenous biomarkers in urine using LC-MS/MS. Analysis of the relationship between blood drug concentrations, urinary biomarker concentrations, and CYP3A genetic polymorphisms in patients taking lenvatinib or tacrolimus revealed associations between blood drug concentrations and CYP3A genetic polymorphisms. However, the predictive accuracy of urinary biomarkers in this study was found to be insufficient, indicating the need for further analysis.

研究分野：医療薬学

キーワード：CYP3A バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在の医療において個別化薬物療法の1つとして Therapeutic drug monitoring (TDM) が実践されている。TDM では特定の医薬品を投与した患者における血中薬物濃度に基づいた投与設計がなされるが、頻回な採血や実際に患者に医薬品を投与しなければ投与量設計が行えないなどの患者への負担が問題となる。そこで、非侵襲的な方法による医薬品投与前の投与量決定ができれば、TDM を補完しうる、より高度な医療の展開が期待される。

遺伝子多型による薬物代謝酵素やトランスポーターなどの薬物動態制御に関わるタンパク質の構造変化やタンパク質の発現量の違いが、薬効や副作用発現の個人差の一因となることが明らかとなっている。CYP は臨床で汎用されている医薬品の90%以上の代謝反応を触媒するため、CYP 遺伝子多型による薬物動態の個人差が注目されている (Hiratsuka M et al., *Front. Genet.*, 2021)。特に CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 および CYP3A4 はその寄与率が大きく、それらの酵素活性の個人差を加味した薬物療法の実践は、治療効果の向上や副作用発現の回避の観点から重要となる。

実際に様々な医薬品の血中薬物濃度と各 CYP 遺伝子多型の関連が多数報告されており、治療効果に影響を及ぼすことが明らかとなっている (Milosavljevic F et al., *JAMA Psychiatry*, 2020、Birdwell KA et al., *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2015 など)。ゲノム薬理学分野の科学者集団で構成されている Clinical Pharmacogenomics Implementation Consortium (<http://cpicpgx.org>) は、CYP2C19 遺伝子多型に基づいたクロピドグレル投与量設計や CYP2D6 遺伝子多型に基づいたタモキシフェン投与量設計のガイドラインを示している。しかし、CYP3A4 活性は発現量の誘導、酵素活性の阻害や、病態や併存疾患によって変動するため、遺伝子多型情報のみでは薬物療法の個別最適化は難しく、患者の尿中のバイオマーカーにより CYP3A4 活性を推定し、投与量の調節や薬剤の選択を行うことが重要となるため、CYP3A4 活性予測バイオマーカーの有用性の精査および臨床応用に向けたエビデンスの創出が重要となる。

2. 研究の目的

本研究では、CYP3A4 活性予測バイオマーカーの有用性評価を目的とし、LC-MS/MS による尿中内因性 CYP3A4 活性予測バイオマーカー候補化合物の一斉定量系の構築および血中薬物濃度・尿中バイオマーカー濃度・遺伝子多型情報を統合した解析を行った。

3. 研究の方法

CYP3A4 活性を予測する尿中内因性バイオマーカー候補化合物 (6 β -ヒドロキシコルチゾールおよび1 β -ヒドロキシデオキシコルチコール酸) および前駆物質 (コルチゾールおよびデオキシコルチコール酸) それらの安定同位体を解析対象とした。MS パラメーターの最適化および分析カラムや移動相などの LC 条件を検討し、各化合物を精確に定量する分析系を見出した。次いで、健常人における尿中バイオマーカーの定量方法を検討した。尿中における各化合物は、抱合などの更なる代謝を受けていることが報告されていることから、酵素反応による脱抱合の条件を検討した。また固相抽出や濃縮などの前処理方法を検討し、より高感度に定量するための測定系を構築した。

レンパチニブ、タクロリムスあるいはベネトクラクスを服用している患者を対象として CYP3A 遺伝子多型解析を行い、血中薬物濃度および尿中バイオマーカー濃度を定量した。PCR 法とサンガーシークエンス法を組み合わせ、各患者の CYP3A4 および CYP3A5 遺伝子型を判定した。血中薬物濃度は実際に診療で実施されている免疫学的方法や既報の LC-MS/MS 測定系 (Saito A et al., *Ther Drug Monit.*, 2022) により定量した。レンパチニブ服用患者においては外来受診である場合に最高血中薬物濃度やトラフ値を推定することが重要となることから、患者の服用時間や採血時間を収集し、非線形混合効果モデルによる推定値を算出した。併せて、同日に採取した尿検体中の各バイオマーカー量を本研究で構築した方法 (Kumondai M et al., *Biol Pharm Bull.*, 2023) により定量した。それぞれの結果を統合した解析により、尿中内因性 CYP3A4 活性予測バイオマーカーの実臨床における有用性を検証した。

4. 研究成果

尿中内因性 CYP3A4 活性一斉測定系において、分析能の日内・日間変動試験および各解析対象化合物の安定性試験を実施した結果、アメリカ食品医薬品局が提唱する Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry (<https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf>) の基準を満たし、臨床現場で有用な系であることが示された (Kumondai M et al., *Biol Pharm Bull.*, 2023)。また、外来受診患者における血中薬物濃度予測性を検証した結果、血中薬物濃度のトラフ値の推定が可能であることが示され、TDM の対象医薬品の拡大につながることを期待される。また、研究協力者の薬物療法において CYP3A 活性変動の考慮が実臨床でも重要なることが明らかとなった (Kumondai M et al., *Tohoku J Exp Med.*, 2023、Otsuki A, Kumondai M et al., *Yakugaku Zasshi.*, in press)。一方、血中薬物濃度と尿中内因性バイオマーカーとの相関は、本研究においてほとんど認められず、尿中内因性 CYP3A4 活性予測バイオマーカーは遺伝子多型情報などよりも有用な指標となる可能性が小さいと考えられたが、今後の更なる臨床研究による検証が求められる。

本研究により TDM による治療管理やそれにおける CYP3A 活性変動のモニタリングが、患者の治療効果の最大化や副作用発現リスクの軽減につながることを示された。これまでに報告されている CYP3A4 活性予測バイオマーカーは臨床研究においてその有用性が示唆されていたが、実臨床における活用には、課題が残されていることが、明らかとなり、個別化医療の実践には TDM や CYP3A 遺伝子多型情報の活用などが有用となる可能性が見いだされた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kumondai Masaki, Maekawa Masamitsu, Hishinuma Eiji, Sato Yu, Sato Toshihiro, Kikuchi Masafumi, Hiratsuka Masahiro, Mano Nariyasu	4. 巻 46
2. 論文標題 Development of a Simultaneous Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Analytical Method for Urinary Endogenous Substrates and Metabolites for Predicting Cytochrome P450 3A4 Activity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 455 ~ 463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b22-00840	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kumondai Masaki, Kikuchi Masafumi, Mizuguchi Atsushi, Hayashi Nagomi, Ui Masahiro, Hirma Takashi, Okada Yoshinori, Sato Yu, Sato Toshihiro, Maekawa Masamitsu, Mano Nariyasu	4. 巻 -
2. 論文標題 Therapeutic Drug Monitoring of Blood Sirolimus and Tacrolimus Concentrations for Polypharmacy Management in a Lymphangiomyomatosis Patient Taking Two Cytochrome P450 3A Inhibitors	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.2023.J016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 公文代將希, 前川正充, 眞野成康
2. 発表標題 薬物代謝酵素活性の尿中内因性バイオマーカー測定法の構築と 血中薬物濃度との相関解析による有用性の検討
3. 学会等名 第62回日本臨床化学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 公文代將希, 前川正充, 菊地正史, 小川玲佳, 岩崎瑞生, 押切華映, 齋藤明博, 二宮匡史, 井上淳, 佐藤真実, 中島範昭, 眞野成康
2. 発表標題 尿中内因性CYP3A4活性バイオマーカーの一斉定量系構築と臨床応用
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会 / 第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------