

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460202

研究課題名(和文)薬物相互作用の迅速・網羅的検出を目的とした基礎及び臨床カクテル試験の確立と応用

研究課題名(英文) Development and validation of the cocktail study for the method in detection of drug-drug interactions

研究代表者

内田 信也 (UCHIDA, shinya)

静岡県立大学・薬学部・准教授

研究者番号：80372522

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：カクテル試験は、複数のシトクロムP450(CYP)基質薬を同時投与し、その薬物動態を検討することでCYP活性をin vivoで網羅的に評価する手法である。本研究では、カクテル試験が薬物相互作用検出法として妥当であるかを検証するために、健康成人を対象としたカクテル試験の相互作用の結果とCYP基質薬の単独投与試験ないし文献レビューによる結果とを比較した。その結果、カクテル試験はCYP基質薬単独投与時と同様に、併用薬によるAUC変動率を評価可能であることが示され、既存の薬物相互作用検出法に代わる効率的かつ網羅的な新たな手段となりつると考えられた。

研究成果の概要(英文)：A “cocktail” approach, which involves simultaneous administration of multiple cytochrome P450 (CYP)-specific probes, concurrently detects the activity of multiple CYP enzymes. We developed and validated the cocktail study by comparing the results of drug-drug interaction from a cocktail study with that from single probe studies. Changes of area under curves of probe drugs in the cocktail study were similar to those in the single-probe study, suggesting that cocktail approach can evaluate drug interactions. This approach is expected to serve as a convenient method for detecting potential drug-drug interactions.

研究分野：臨床薬物動態学

キーワード：カクテル試験 薬物相互作用 シトクロムP450

### 1. 研究開始当初の背景

薬物代謝酵素チトクローム P450 (CYP) を介する薬物相互作用は、臨床的に重要な相互作用の中でも主要な割合を占める。さらに近年になって、健康食品が一般市場で容易に手に入る時代となり、医薬品同士の相互作用のみならず、健康食品と医薬品を併用した場合の相互作用が看過できない問題となっている。今後、高齢化社会がさらに進み、多くの患者が多剤併用を行わなければならないこと、また多くの患者が健康食品の摂取を嗜好することを考慮すると、薬物相互作用の検出はさらに重要になると考えられる。

これまでに医薬品同士あるいは健康食品や食品と医薬品の相互作用に関する検討は、多くが *in vitro* あるいは実験動物を用いる基礎研究で行われている。しかしながら、それらの結果は必ずしもヒトにおける結果と一致しないことも多い。従って、薬物相互作用の検出はヒトを対象とする臨床試験において行われることが望ましい。我々はこれまでいくつかの相互作用について *in vivo* で実験動物あるいは健康人ボランティアを対象とする臨床試験を行い検討してきた。しかし多数ある薬物や健康食品の組み合わせを、すべて臨床試験において検討することは現実的ではない。そのため、ヒトの結果を反映し、かつ簡便な薬物相互作用検出スクリーニング系の開発が望まれる。

カクテル試験は、複数の CYP 分子種 (通常、CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4 の 5 種類) の基質薬を混合した「カクテル薬」を被検者に投与し、その薬物動態 (薬物およびその代謝物の血漿中濃度および尿中濃度) を検討することにより CYP 活性を *in vivo* で測定する手法である。これまでカクテル試験は、ヒトを対象にして行われ、薬物相互作用や CYP の活性の変動を明らかにする目的で用いられてきた。カクテル試験は 1 回の投与で複数の CYP 活性を測定出来る優れた方法である。我々は、これまでに LC-MS/MS を用いた 5 種のカクテル薬の同時定量法を確立し、さらにラットを用いたカクテル試験法を確立した。加えて、静岡県立大学と浜松医科大学との共同で、健康成人ボランティアを対象とするカクテル試験を行った。

このようにカクテル試験は、被験薬の複数の CYP 活性を *in vivo* で一度に評価できる試験法であり、本試験を用いることで薬物相互作用の効率的かつ網羅的な評価が行えることが期待される。しかしながら、CYP 誘導薬ないし阻害薬による CYP 活性変動の程度を、単独投与試験とカクテル試験で比較した報告はなく、カクテル試験が単独投与試験に代わり薬物相互作用を検出できるかは、未だ明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究では、カクテル試験の薬物相互作用検出法としての妥当性を検証することを目

的とし、CYP 誘導薬ないし阻害薬による薬物相互作用をカクテル試験および単独投与試験で検出し、その結果を比較した。

### 3. 研究の方法

#### (1) カクテル試験

健康成人男性 19 名 (年齢  $22.9 \pm 2.5$  歳、体重  $64.0 \pm 7.3$  kg) を対象に caffeine (100 mg, 1A2)、losartan (25 mg, 2C9)、omeprazole (20 mg, 2C19)、dextromethorphan (30 mg, 2D6) 及び midazolam (15  $\mu$ g/kg, 3A4) を基質薬としたカクテル試験を行った。CYP 誘導薬には rifampicin (RFP)、また CYP 阻害薬には cimetidine (CIM) ないし fluvoxamine (FLV) を併用し、コントロール期、RFP 期、CIM 期、FLV 期の計 4 期においてカクテル試験を行った。RFP 期には、RFP を試験前日まで 6 日間服用し、CIM 期、FLV 期には、CIM あるいは FLV を試験前日と当日に服用し、コントロール期と同様に試験を行った。カクテル薬投与後 8 時間まで経時的に採血を行い、血漿中薬物濃度を LC-MS/MS 法により測定した。なお以降の臨床研究は、浜松医科大学及び静岡県立大学の倫理委員会の承認を得て行った。

#### (2) 文献レビュー

PubMed から CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4 の単一の基質薬により、CYP 誘導薬である RFP ないし阻害薬である CIM または FLV との薬物相互作用を評価した文献を検索した。キーワードは、カクテル試験で用いた基質薬と誘導薬ないし阻害薬の組み合わせ 15 通りとし、解析対象の条件は、ヒトを対象としている、基質薬を単独で経口投与している、目的の薬物同士の相互作用を検出している、基質薬の血漿中濃度時間曲線下面積 (AUC) の記載があることとした。

#### (3) CYP 基質薬単独投与試験

文献レビューの結果、文献報告がない CYP 基質薬と誘導薬ないし阻害薬の組み合わせ (8 通り) の組み合わせにおいて、カクテル試験と同様のプロトコールで、各グループ 6 名の健康成人男性 24 名 (年齢  $23.4 \pm 3.2$  歳、体重  $65.2 \pm 8.1$  kg) を対象に、単独投与試験を実施した。

表 1 基質薬と誘導薬/阻害薬の組み合わせ

グループ	CYP	基質薬	RFP	CIM	FLV
A	1A2	Caf	○	-	○
B	2C9	Los	-	-	○
C	2C19	Ome	○	○	-
D	2D6	Dex	○	○	○

#### (4) AUC 変動率の算出

血漿中濃度推移から各基質薬の AUC を算出した。AUC 変動率は、誘導薬ないし阻害薬投与後の CYP 基質の AUC を、コントロール期の CYP 基質薬の AUC で除することにより算出した。

#### 4. 研究成果

##### (1)カクテル試験

コントロール期に対し、誘導薬ないし阻害薬投与後の AUC に変動が認められた。Caffeine の AUC は CIM 期、FLV 期及び RFP 期においてそれぞれ 1.32, 1.51 及び 0.88 倍、losartan の AUC はそれぞれ 0.97, 0.88 及び 0.58 倍、omeprazole の AUC はそれぞれ 1.43, 1.64 及び 0.14 倍、dextromethorphan の AUC はそれぞれ 1.98, 0.98 及び 0.49 倍、並びに midazolam の AUC はそれぞれ 1.41, 1.08 及び 0.05 倍、コントロール期に対し変動した。

##### (2)文献レビュー

CYP1A2、2C9、2C19、2D6、3A4 の単一の基質薬により、CYP 誘導薬である RFP ないし阻害薬である CIM または FLV との薬物相互作用を評価した文献を検索したところ、キーワード検索により、954 報が採択され、タイトルと要旨で絞り込み (80 報)、さらに参考文献より 4 報を追加し、最終的に 18 報の文献が得られた。このうち基質薬と誘導薬ないし阻害薬の組み合わせ 15 通りのうち、報告がある組み合わせは 7 通りであった。表 2 にそれぞれの組み合わせにおける AUC 変動率を記した。

表 2 文献報告における AUC 変動率

基質薬	誘導薬ないし阻害薬	採用文献数 (報)	AUC (ng・hr/mL)		AUC変動率	
			Control期	併用期		
Caffeine (1A2)	CIM	1	20964	36231	1.73	
Losartan (2C9)	RFP	1	349	225	0.64	
	CIM	1	791	931	1.18	
Omeprazole (2C19)	FLV	1	EM	1481	7911	5.34
			IM	4225	9567	2.26
			PM	11537	13940	0.93
Midazolam (3A4)	RFP	8	68.8	5.3	0.08	
	CIM	5	731.5	1045.3	1.42	
	FLV	1	203	283	1.39	

複数の文献を採用した場合、それぞれの AUC 変動率の平均値を用いた。  
EM: extensive metabolizers, IM: intermediate metabolizers, PM: poor metabolizers

##### (3) CYP 基質薬単独投与試験

単独投与試験における CYP 基質薬の AUC を図 1 に示した。Caffeine、losartan、omeprazole 及び dextromethorphan において阻害薬投与期 (CIM 期、FLV 期) では 1.06 ~ 2.51 倍、誘導薬投与期 (RFP 期) では 0.15 ~ 0.93 倍の AUC 変動が認められた。

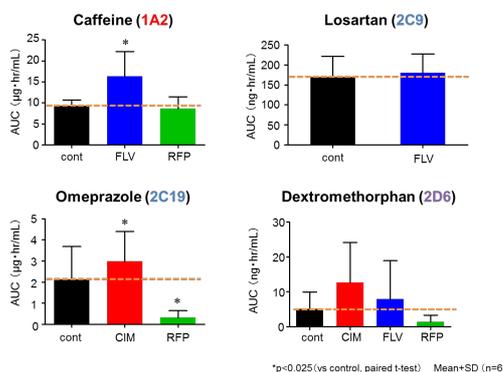


図 1 単独投与試験における CYP 基質薬の AUC

##### (4) カクテル試験と CYP 基質薬の単独投与試験の比較

文献報告ないし単独投与試験から得られた CYP 基質薬の単独投与時における AUC 変動率と、カクテル試験から得られた AUC 変動率について直線回帰を行ったところ、相関係数が 0.97 の有意な正の相関が得られた (図 2)。

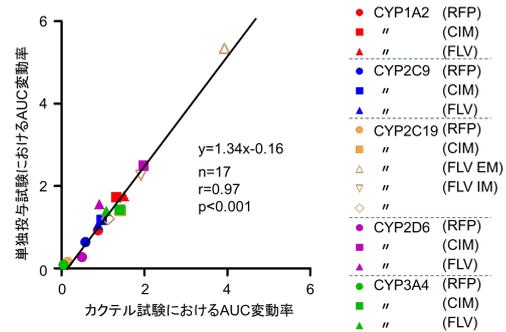


図 2 文献レビュー及び単独投与試験とカクテル試験の AUC 変動率の比較

CYP 基質薬と誘導薬及び阻害薬の組み合わせそれぞれにおいて、カクテル試験の CYP 基質薬の AUC 変動率と文献報告及び単独投与試験の CYP 基質薬の AUC 変動率の比 (AUC 変動率比) を算出し、CYP 基質薬の単独投与時とカクテル試験の AUC 変動率の相対的な差異を解析した。この場合、CYP 基質薬の単独投与時とカクテル試験の AUC 変動率が等しい場合、AUC 変動率比は 1 となる。解析の結果、ほとんどのプロットが 0.5~1.5 以内に、すべてのプロットが <1.9 の値を示した (図 3)。

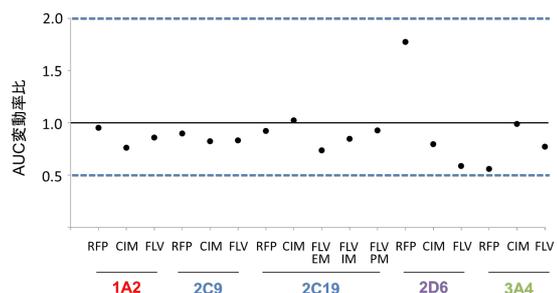


図 3 CYP 基質薬の単独投与時とカクテル試験の AUC 変動率の相対的な差異

##### (4) まとめ

本研究では、カクテル試験の薬物相互作用検出法としての妥当性を検証することを目的とし、カクテル試験と CYP 基質薬単独投与試験それぞれにおける、CYP 基質薬の誘導薬ないし阻害薬による AUC 変動率を比較した。その結果、カクテル試験と単独投与試験それぞれにおける AUC 変動率の間には直線性が認められた。さらに、また、カクテル試験と単独投与試験の AUC 変動率の比は 0.5 ~ 1.9 となり、この範囲でカクテル試験は薬物相互作用を評価可能であることが示唆された。

カクテル試験は CYP 基質薬単独投与時と同様に、併用薬による AUC 変動率を評価可能であり、既存の薬物相互作用検出法に代わる効率的かつ網羅的な新たな手段となりうると期待される。

#### 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 5 件)

内田信也: 代謝誘導の相互作用はどれくらい持続しますか? - DDI の基本とピットフォール! エキスパートが答える Q&A、薬局、67, pp.2483-2486 (2016) 査読なし

Shinya Uchida: Simultaneous evaluation of the activity of five cytochrome P450 enzymes by a cocktail study in healthy volunteers. Clin Pharmacol Biopharm, 4, pp.28 (2015) 査読なし

Shinya Uchida, Shimako Tanaka, Noriyuki Namiki: Simultaneous and comprehensive in vivo analysis of cytochrome P450 activity by using a cocktail approach in rats. Biopharm. Drug Dispos., 35, 228-236 (2014) 査読あり

Shimako Tanaka, Shinya Uchida, Naoki Inui, Kazuhiko Takeuchi, Hiroshi Watanabe, Noriyuki Namiki: Simultaneous LC-MS/MS analysis of the plasma concentrations of a cocktail of 5 cytochrome P450 substrate drugs and their metabolites. Biol. Pharm. Bull., 37(1), 18-25 (2014) 査読あり

田中紫茉莉、内田信也、乾直輝、渡邊裕司、並木徳之: カクテル試験を用いた薬物相互作用の網羅的解析法の確立と応用。PROGRESS IN DRUG DELIVERY SYSTEM, XXIII, 21-26 (2014) 査読なし

[学会発表](計 11 件)

野神優月、田中紫茉莉、内田信也、篠原美紀、三浦基靖、袴田晃央、小田切圭一、乾直輝、渡邊裕司、並木徳之: カクテル試験の薬物相互作用検出法としての妥当性の検証。日本薬学会第 137 年会、東北大学(宮城・仙台) 2017 年 3 月 25 日

Shinya Uchida: Simultaneous evaluation of the activity of five cytochrome P450 enzymes by a cocktail study in healthy volunteers. 3rd International Summit on Clinical Pharmacy 2015, Atlanta (USA), 2015 年 12 月 7 日

小田切圭一、袴田晃央、片山直紀、宮川幸子、乾直輝、田中紫茉莉、内田信也、並木徳之、渡邊裕司: CYP1A2, CYP2C9, 2C19, 2D6 および 3A の基質薬の血中濃度と、薬物による誘導・阻害の影響の関連性。第 36 回日本臨床薬理学会学術集会、京王プラザホテル(東京・東京) 2015 年 12 月 9 日

田中紫茉莉、浜咲理子、乾直輝、渡邊裕司、内田信也、並木徳之: カクテル試験における基質薬物の血漿中濃度と AUC との相関性。第 36 回日本臨床薬理学会学術集会、京王プラザホテル(東京・東京) 2015 年 12 月 11 日

篠原美紀、芝切若奈、内田信也、田中紫茉莉、袴田晃央、小田切圭一、乾直輝、渡邊裕司、並木徳之: カクテル試験での 1 ポイント採血における血漿中濃度及び尿中代謝比と AUC との関係。caffeine、losartan 及び omeprazole における検討。日本薬学会第 136 年会、パシフィコ横浜(神奈川・横浜) 2016 年 3 月 27 日

芝切若奈、篠原美紀、内田信也、田中紫茉莉、袴田晃央、小田切圭一、乾直輝、渡邊裕司、並木徳之: カクテル試験での 1 ポイント採血における血漿中濃度および尿中代謝比と AUC との関係。dextromethorphan および midazolam における検討。日本薬学会第 136 年会、パシフィコ横浜(神奈川・横浜) 2016 年 3 月 27 日

Shimako Tanaka, Shinya Uchida, Naoki Inui, Kazuhiko Takeuchi, Hiroshi Watanabe, Noriyuki Namiki: Simultaneous LC-MS/MS analysis of the plasma concentrations of a cocktail of 5 cytochrome P450 substrate drugs and their metabolites. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014, Melbourne (Australia), 2014 年 4 月 16 日

Shinya Uchida, Shimako Tanaka, Noriyuki Namiki: Simultaneous and comprehensive in vivo analysis of cytochrome P450 activity by using a cocktail approach in rats. 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2014, Melbourne (Australia), 2014 年 4 月 16 日

田中紫茉莉、内田信也、乾直輝、渡邊裕司、並木徳之: カクテル試験を用いた薬物相互作用の網羅的解析法の確立と応用。第 23 回 DDS カンファランス 2014、清水テルサ(静岡・静岡) 2014 年 9 月 5 日

内田信也、乾直輝、田中紫茉莉、小田切圭一、袴田晃央、渡邊裕司、並木徳之: LC-MS/MS を用いたカクテル試験による薬物相互作用の同時解析。第 35 回日本薬理学会学術総会、ひめぎんホール(愛媛・松山) 2014 年 12 月 5 日

乾直輝、内田信也、渡邊裕司: シトクロム P450 酵素誘導の経時的変化。第 35 回日本薬理学会学術総会、ひめぎんホール(愛媛・松山) 2014 年 12 月 5 日

[その他]

田中紫茉莉: 第 36 回日本臨床薬理学会学術集会 優秀演題賞。「カクテル試験における基質薬物の血漿中濃度と AUC との相関性」、2015 年 12 月 11 日

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

内田 信也 ( UCHIDA, Shinya )  
静岡県立大学・薬学部・准教授  
研究者番号：80372522

### (2)研究分担者

乾 直輝 ( INUI, Naoki )  
浜松医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：80402254

今井 浩光 ( IMAI, Hiromistu )  
大分大学・医学部・教授  
研究者番号：30398250

小田切 圭一 ( ODAGIRI, Keiichi )  
浜松医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：70529213

袴田 晃央 ( HAKAMATA, Akio )  
浜松医科大学・医学部・助教  
研究者番号：60788280

### (3)連携研究者

田中 紫茉子 ( TANAKA, Shimako )  
浜松医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：10559925

### (4)研究協力者

三浦 基靖 ( MIURA, Tomoyasu )  
笹野 知海 ( SASANO, Tomomi )  
小澤 美紀 ( OZAWA, Miki )  
篠原 美紀 ( SHINOHARA, Miki )  
野神 優月 ( NOGAMI, Yuzuki )