

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18972

研究課題名(和文) 仮想臨床試験による抗がん剤の薬効・副作用の影響因子の網羅的な特定

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of influencing factor of effect/adverse effect for anti-cancer drug using virtual clinical study

研究代表者

年本 広太 (Toshimoto, Kota)

国立研究開発法人理化学研究所・イノベーション推進センター・特別研究員

研究者番号：70740504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：抗がん剤における薬効および副作用に影響を与える因子(遺伝的多型など)は、臨床試験間で異なる報告がなされている。本研究ではコンピュータ上での仮想臨床試験を行うことによって、最も大きな影響を与える因子が何であるかの検証を目的とした。仮想臨床試験に必要な抗がん剤の数理モデルは複雑であるため、従来のパラメータ推定法をそのまま適用することは困難である。新規パラメータ推定アルゴリズムを導入することにより、薬物血漿中濃度推移を再現できる数理モデルを構築することに成功した。また仮想臨床試験の結果から、各遺伝子多型が薬効および副作用と有意に関連するという結果が得られる確率を定量的に推定することに成功した。

研究成果の概要(英文)：Various factors such as genetic polymorphism, which leading pharmacological and toxicological effects of anti-cancer drugs, are reported among clinical studies. The aim of this research is to predict what factor is the most effective using computational virtual clinical study (VCS). Mathematical models are required to perform VCS. Because the mathematical models of anti-cancer drugs are complicated, the conventional parameter estimation method could not be applied. To overcome this problem, a new parameter optimization algorithm were newly introduced. The mathematical models which can be reproduced clinical observed plasma concentration-time profiles of drug were successfully obtained. By performing VCS, we could quantitatively predict how many times the statistical significance for each genetic polymorphism.

研究分野：薬物動態学

キーワード：薬物動態学 モデリング&シミュレーション 遺伝子多型 仮想臨床試験

1. 研究開始当初の背景

抗がん剤による治療における临床上重大な問題として、異なる患者に同じ抗がん剤を同じ量投与しても特定の患者において期待した薬効が得られない、副作用が発生してしまうことが挙げられる。これは患者間の遺伝的多型、人種差および個体間変動に由来して薬物の代謝酵素やトランスポーターの活性が変動することが主要な原因であると考えられている。しかしながら、抗がん剤のような複数の酵素およびトランスポーターが関与する複雑な代謝・排泄経路を有する薬物において、その薬効・副作用と強く関連する影響因子(特定の遺伝的多型や生理学・生化学的パラメータ)を臨床試験のみからすべて特定することは困難である。例えば抗がん剤であるイリノテカン、代謝酵素 UGT1A1 の遺伝子多型によって副作用である好中球減少や遅延性の下痢が発生する確率が有意に高くなることで多くの臨床試験で報告されているが、それ以外の影響因子については文献によって異なる報告がなされている。また乳がんの治療薬であるタモキシフェンは、臨床試験において代謝酵素である CYP2D6 の遺伝的多型によって薬効が低下することが報告されているが、CYP2D6 の遺伝的多型と薬効との間に関連性はないと結論付ける報告も存在する。このように、異なる臨床試験によって異なる影響因子が報告される原因として、薬物の代謝経路が複雑であるため複数の影響因子が相互に影響を与える、臨床試験の被験者数が少ないことが考えられる。

一方で薬物の体内動態を定量的に予測する手法として、生理・解剖学的パラメータと薬物固有の生化学的パラメータを直接用いることで、血中および各組織内濃度の時間推移の予測が可能となる生理学薬物速度論(PBPK)モデルが注目を集めており、実際に近年の新薬の添付文書には一部の薬物相互作用試験を実施せずに、PBPKモデルによるシミュレーション結果が記載されている事例も存在する。さらに、PBPKモデルの各パラメータに、遺伝的多型や多型によらない人種差固有の変動、個人間変動による代謝・輸送活性のばらつきやそれらの頻度分布等の情報を組み込み、大量の仮想患者をコンピュータ上で発生させることによる仮想臨床試験の実現が期待されている。仮想臨床試験では、各仮想患者の遺伝的多型の情報や各種パラメータ値が既知であることから、薬効や副作用の発生と有意に関係がある影響因子の特定が大量のシミュレーション結果に基づいて算出できると期待される。

2. 研究の目的

抗がん剤の効果および副作用の個人間変動予測として、抗がん剤における薬効の低下および副作用をもたらす影響因子(遺伝的多型、個体間変動など)をコンピュータ上での大規模仮想臨床試験によって網羅的に特定

することを目的とする。仮想臨床試験にはPBPKモデルが必要だが、現在用いられるPBPKモデルのパラメータ推定法は初期値依存性等の問題点を有する。本申請研究では、新規パラメータ推定アルゴリズムを導入することにより適切なPBPKモデルを構築し、遺伝的多型や個体間変動をPBPKモデルに組み込むことで仮想臨床試験を実装する。

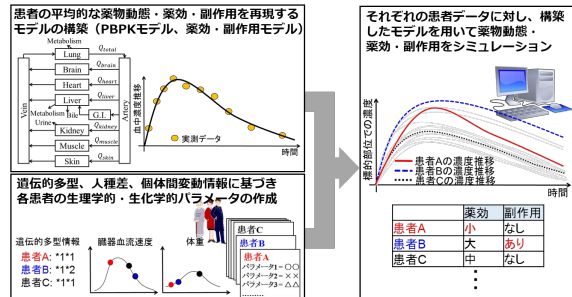


図1 仮想臨床試験の概念図

3. 研究の方法

・新規パラメータ推定アルゴリズムを用い、複数な体内動態を有する薬物のPBPKモデル構築法の確立

臨床試験で得られている血中濃度推移を良好に再現できるPBPKモデルの各パラメータ値の網羅的な推定を行う。パラメータ推定において、肝臓体積等の文献報告値が存在する生理学的パラメータや精度良い実験値が参照できるパラメータについてはそれらの値を用いる。パラメータ推定アルゴリズムには、前述のクラスターニュートン法や遺伝的アルゴリズムを基軸としたハイブリッドパラメータ推定法を用いる。肝細胞への取り込みクリアランスおよび代謝固有クリアランス等については、in vitro試験によりその値がある程度の精度で得られることが可能であることから、実際にin vitro試験を実施しパラメータ推定によって得られた値との間に大きな乖離が無いことを確認することにより、実態に即したPBPKモデルの構築を実施する。この解析においては、PBPKモデルのパラメータ値を特定の1つに決定するのではなく、臨床試験の濃度推移を良好に再現できるパラメータ値をすべて候補として今後の解析に使用する。また、薬効と副作用のメカニズムは薬物ごと異なることから、各薬物において適切な薬効モデルおよび毒性モデルが必要である。例えば前述したイリノテカンの場合、主たる副作用として好中球減少と遅延性の下痢が挙げられる。好中球減少に関しては、好中球絶対数(ANC)が測定されている臨床試験がいくつか存在し、ANCと有意に相関のあるパラメータの推定や回帰分析を行った文献を参考にしモデルを構築する。遅延性の下痢に関しては、モデル解析を実施した文献が存在しないためPBPKモデルから計算される消化管細胞内の暴露量(AUC)に基づきモデルを構築する。

・仮想臨床試験を用いた既存の臨床試験結果

の再現性検証および大規模仮想臨床試験による効果および副作用の影響因子の網羅的な特定

上記の研究で得られた PBPK モデルパラメータは、患者の平均的な濃度推移を再現することはできるが、遺伝的多型や個体間変動による濃度推移の変動やそれに伴う薬効・副作用発生確率の変動を再現できるとは限らない。そこで過去の臨床試験で実施された遺伝的多型による薬物濃度推移の変動および薬効・副作用の発生の結果を、得られたモデルを用いて再現できるかを検証する。遺伝的多型による酵素およびトランスポーターの活性の変化量、PBPK モデルに存在する生理学的・生化学的パラメータの個体間変動(分散)は、*in vitro* または *in vivo* 試験による文献報告値を参照する。これらの値を用いてモンテカルロシミュレーションを行うことにより仮想患者を作成する。文献で報告された臨床試験と同じ条件(被験者数、人種、遺伝的多型の頻度等)で仮想被験者を発生させ、それを用いた仮想臨床試験を数百回単位で実施することにより、仮想臨床試験が臨床試験結果を再現できた確率を計算できる。得られた確率に基づいて、統計的手法を用いることでその影響因子が効果・副作用発生に有意に影響を与えるかの検定を行う。

4. 研究成果

抗がん剤のような複雑な体内動態を有する薬物の PBPK モデルのパラメータ推定を実施するために、新規パラメータ推定アルゴリズムクラスターニュートン法を用いたパラメータ推定を実施した。イリノテカンおよび主要な4つの代謝物について、推定すべき未知パラメータは46個存在したが、クラスターニュートン法によって臨床試験で得られている血中濃度推移を良好に再現できる46個のパラメータを複数の組み合わせで取得することに成功した。同様の解析をタモキシフェンに対しても適用した結果、タモキシフェンおよび活性代謝物エンドキシフェンを含む4つの代謝物の濃度推移を再現できるパラメータの候補を複数取得することに成功した。以上のことから、クラスターニュートン法を用いることで代謝物を含むような複雑な PBPK モデルにおいてもパラメータ推定が比較的容易に実施可能であることを示すことができた。

構築した PBPK モデルを用いて、まずイリノテカンに関して各遺伝子多型による活性代謝物 SN-38 の血漿中濃度の変動および副作用である好中球減少と下痢に関する関連性について、報告されている臨床試験結果をどの程度再現できるかを検証した。クラスターニュートン法では血中濃度推移を再現できるパラメータの候補が複数取得できるため、本研究ではより良く血中濃度推移が再現できた(実測値との残差平方和が小さい)30組のパラメータを用いることにした。30組のパ

ラメータをそれぞれ平均値として設定し、既存の報告されている各パラメータの個人間変動および遺伝子多型による変動を組み込むことで仮想患者を発生させた。本研究では、Teft WA et al., Br J Cancer., 112, 857-65 (2015) で報告されている臨床試験デザインを再現する仮想臨床試験を実施した。そのため、発生させた仮想患者数は、臨床試験と同数の127人とし、好中球減少および下痢の発生者数も同数とした。好中球減少は SN-38 の血漿中非結合型 AUC が大きくシミュレーションされた仮想患者が、下痢は SN-38 の消化管内非結合型 AUC が大きくシミュレーションされた仮想患者がそれぞれ発生するとした。着目する遺伝子多型として、本研究では UGT1A1 *28, SLCO1B1 c.521T>C, SLCO1B1 c.388A>G, ABCG2 c.421C>A, ABCB1 c.3435C>T, ABCC2 c.-24C>T の6つの遺伝子多型に着目し、それぞれの遺伝子多型における酵素およびトランスポーターの活性変動率とそのばらつきの情報を組み込んだ。この仮想臨床試験を、異なる127人の仮想被験者を用いて100回ずつ、30組のパラメータをそれぞれ平均値として実施し、各遺伝子多型による活性代謝物 SN-38 の血漿中濃度の変動および副作用である好中球減少と下痢に関する関連性が何度統計的に示唆されるかを計算した。その結果、どのパラメータを平均値として使用するかで多少の変動はあるものの、どのパラメータを平均値として用いても、以下の結果を得ることに成功した。まず、UGT1A1 *28 の遺伝子多型と血漿中 SN-38 の濃度および好中球減少との関連性を示唆する結果が、他のどの遺伝多型よりも高頻度で得られた。その頻度は、ほとんどの場合において80%以上であった。それ以外では SLCO1B1 c.521T>C の遺伝子多型と血漿中 SN-38 の濃度および好中球減少との関連性を示唆する結果が比較的高頻度で(訳20%~40%)得られることができたが、他の遺伝子多型と血漿中 SN-38 の濃度および好中球減少との関連性はほとんど示唆されなかった。一方で下痢に関しては Biliary index とよばれる指標 ($AUC_{(irinotecan)} \times AUC_{(SN-38)} / AUC_{(SN-38 \text{ glucuronide})}$) が良いバイオマーカーになると言われており、実際に biliary index は、他のどの遺伝子多型よりも下痢との関連性が高頻度で示唆される結果を得た。

また、タモキシフェンに対しても仮想臨床試験を実施した。タモキシフェンは、CYP2D6 の遺伝子多型を有する患者において薬効が低下することが知られている。現在 CYP2D6 の遺伝子多型を有する患者を通常投与量(20 mg/day)と増量(40 mg/day)した2つの群に分け投与を行い、その効果の差を検証する臨床試験(Tamoxifen Response by CYP2D6 Genotype-based Treatment-1 [TARGET-1] Study)が行われ、その結果が2018年内に公開予定である。そこで、公開前に同様の試験デザインによる仮想臨床試験を実施するこ

とにより、TARGET-1 Studyの結果を事前に予測する試みを行った。TARGET-1 Studyでは処方6か月後におけるProgression Free Survival (PFS)を効果の指標としており、活性代謝物エンドキシフェン濃度と効果との関連性を記述するモデルの構築が別途必要である。本研究では、タモキシフェンの標的であるエストロゲン受容体を有するがん細胞の割合と、血漿中エンドキシフェン濃度の2つの指標を用いて、効果の有無の確率を算出することにした。確率値は、臨床試験で報告されている、CYP2D6の遺伝子多型別にわかれていない欧米人を対象とした6か月後のPFS値が再現できるよるチューニングを行い算出した。その結果、通常投与量群と増量群との間での薬効の有意差は、およそ40-50%の確率でしかみられないという結果が得られた。これは、各群において活性代謝物の濃度の個人間変動が大きいことが原因と考えられた。

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6件)

1. Nakamura T, Toshimoto K, Lee W, Imamura CK, Tanigawara Y, Sugiyama Y. Application of PBPK modeling and virtual clinical study approaches to predict the outcomes of CYP2D6 genotype-guided dosing of tamoxifen. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 査読有. in press
2. Sato M, Toshimoto K, Tomaru A, Yoshikado T, Tanaka Y, Hisaka A, Lee W, Sugiyama Y. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Bosentan Identifies the Saturable Hepatic Uptake As a Major Contributor to Its Nonlinear Pharmacokinetics. *Drug Metab Dispos*. 査読有. 46. 2018. 740-748
DOI: 10.1124/dmd.117.078972
3. Futatsugi A, Toshimoto K, Yoshikado T, Sugiyama Y, Kato Y. Evaluation of Alteration in Hepatic and Intestinal BCRP Function In Vivo from ABCG2 c.421C>A Polymorphism Based on PBPK Analysis of Rosuvastatin. *Drug Metab Dispos*. 査読有. 46. 2018. 749-757
DOI: 10.1124/dmd.117.078816
4. Sugiyama Y, Maeda K, Toshimoto K. Is Ethnic Variability in the Exposure to Rosuvastatin Explained Only by Genetic Polymorphisms in OATP1B1 and BCRP or Should the Contribution of Intrinsic Ethnic Differences in OATP1B1 Be Considered? *J Pharm Sci*. 査読有. 106. 2017. 2227-2230
DOI: 10.1016/j.xphs.2017.04.074
5. Toshimoto K, Tomoda Y, Chiba K, Sugiyama Y. Analysis of the Change in the Blood Concentration-Time Profile Caused

by Complex Drug-Drug Interactions in the Liver Considering the Enterohepatic Circulation: Examining Whether the Inhibition Constants for Uptake, Metabolism, and Biliary Excretion Can be Recovered by the Analyses Using Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling. *J Pharm Sci*. 査読有. 106. 2017. 2727-2738

DOI: 10.1016/j.xphs.2017.04.057

6. Toshimoto K, Tomaru A, Hosokawa M, Sugiyama Y. Virtual Clinical Studies to Examine the Probability Distribution of the AUC at Target Tissues Using Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling: Application to Analyses of the Effect of Genetic Polymorphism of Enzymes and Transporters on Irinotecan Induced Side Effects. *Pharm Res*. 査読有. 34. 2017. 1584-1600
DOI: 10.1007/s11095-017-2153-z

[学会発表](計7件)

1. Nakamura T, Toshimoto K, Imamura CK, Tanigawara Y, Sugiyama Y. Prospective prediction of the clinical efficacy of tamoxifen: application of a virtual clinical study. 日本薬物動態学会 第32回年会. 2017年
2. Toshimoto K, Sugiyama Y. Application of virtual clinical studies using physiologically-based pharmacokinetic modeling to analyses of the association of side effects of CPT-11 with genetic polymorphism of enzymes and transporters. 6th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2017. 2017
3. 年本 広太, 友田 有加菜, 千葉 康司, 杉山 雄一. PBPKモデルを用いたパラメータ最適化で得られた薬物阻害定数の妥当性検証. 日本薬剤学会第32年会. 2017年
4. 年本 広太. Virtual Clinical Studyを用いた効率的な医薬品開発の提案. 第24回HAB研究機構 学術年会(招待講演). 2017年
5. Matsumoto T, Toshimoto K, Chiba K, Sugiyama Y. Prediction of inter-individual differences in pharmacokinetics and drug interactions of pravastatin using physiologically based pharmacokinetics model with Monte Carlo simulation. 日本薬物動態学会 第31回年会. 2016年
6. Nishiyama K, Toshimoto K, Ishiguro N, Sugiyama Y. The novel physiologically based pharmacokinetics (PBPK) model to investigate transporter-mediated disposition and clearance of metformin in humans. 日本薬物動態学会 第31回年会. 2016年
7. Toshimoto K, Tomoda Y, Chiba K,

Sugiyama Y. Are inhibition constants (K_i) correctly estimated using only the blood concentration time profile of substrate drugs with and without co-administration of inhibitor drugs? 日本薬物動態学会 第31回年会. 2016年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

年本 広太 (TOSHIMOTO Kota)

国立研究開発法人理化学研究所・イノベーション推進センター・特別研究員

研究者番号：70740504