

令和元年6月21日現在

機関番号：34315

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15528

研究課題名(和文) 直接トロンビン阻害薬による個別化薬物療法を指向した薬効・副作用の変動要因の解明

研究課題名(英文) Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of oral direct thrombin inhibitor for individualized pharmacotherapy

研究代表者

上島 智 (Ueshima, Satoshi)

立命館大学・薬学部・助教

研究者番号：70734771

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、直接トロンビン阻害薬ダビガトランの体内動態や薬効の発現に及ぼす患者の臨床検査値や薬物輸送タンパク(トランスポーター)や薬物代謝酵素など薬物動態関連遺伝子の変異の影響について検討した。ダビガトランの血中トラフ濃度は、患者の腎機能によって変動したが、検討した薬物動態関連遺伝子多型によって変動しなかった。また、トロンビン阻害活性値はダビガトランの血中トラフ濃度と良好な正比例の関係が認められたが、トロンビン阻害活性値は患者の臨床検査値や薬物動態関連遺伝子多型によって変動しなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、心原性脳塞栓症の予防目的で、直接作用型経口抗凝固薬(DOACs)が使用されている。DOACsによる出血は高頻度で認められるが、DOACsの薬効を反映する明確な指標がないことが問題になっている。本研究では、直接トロンビン阻害薬ダビガトランの適正使用の実践に必要な情報を収集することを目指し、ダビガトランの血液中濃度や薬効の発現に及ぼす患者背景の影響について検討した。その結果、ダビガトランの血液中濃度の個人差は患者の腎機能で説明可能であった。また、ダビガトランの薬効の強さはダビガトランの血液中濃度の高さに関係するが、ダビガトランの効果の強さと患者背景の間に明確な関係は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：Dabigatran, an oral direct inhibitor of thrombin, is used to prevent stroke or systemic embolism in patients. This study aimed to evaluate the influences of characteristics of patients and genetic polymorphisms in drug transporter and enzyme on pharmacokinetics and pharmacodynamics of dabigatran. The pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis using non-linear mixed effect modeling (NONMEM) program showed that renal function was an intrinsic factor affecting trough concentration of dabigatran, although no genetic polymorphisms in drug transporter and enzyme affect its concentration. This analysis also showed that the anti-thrombin activity of dabigatran was linearly correlated with trough concentration of dabigatran, although characteristics of patients and genetic polymorphisms in drug transporter and enzyme did not affect the anti-thrombin activity of dabigatran.

研究分野：医療薬剤学

キーワード：直接トロンビン阻害薬 薬理ゲノム解析 個別化投与設計 母集団解析

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

現在、脳卒中は日本人の死亡原因の第4位であり、脳梗塞に起因する死亡率は脳卒中の約60%を占める。これまで、非弁膜性心房細動患者に対する心原性脳塞栓症の予防目的でワルファリンを用いた抗血栓療法が汎用されてきた。しかし、ワルファリンの薬効・副作用の発現に個体差が大きいこと、また多くの薬物やビタミンKを豊富に含む食物と临床上問題となる相互作用を示すことが報告されている。従って、ワルファリンを内服する患者においては、治療効果に影響を及ぼす薬物の併用や食物の摂取を制限しつつ、血液凝固機能を定期的に確認する必要がある。近年上市された直接トロンビン阻害薬ダビガトラン、活性型血液凝固第X因子（第Xa因子）阻害薬リバーロキサバンなどの直接作用型経口抗凝固薬（DOACs）はワルファリンと同等以上の安全性や有効性を示すこと、またDOACsでは食品や薬物との相互作用がワルファリンよりも少ないことが報告されている。DOACsは腎臓から排泄される割合が比較的高いため、通常、患者個々の腎機能に基づく投与量調節が必要である。しかし、DOACsを添付文書に記載されている用法用量に準じて投与しても、重大な副作用である出血症状を高い頻度で呈することが報告されているにもかかわらず、薬効や出血症状を反映する指標が未だ確立されていないことが問題になっている。従って、DOACsの薬効や出血症状を反映するバイオマーカーを探索し、これに基づくDOACsの厳密な投与設計法の確立が切望されている。

近年、薬物トランスポーターや薬物代謝酵素の発現・機能に影響を及ぼす遺伝子多型が、薬物体内動態や薬効・副作用の個体差を生じる一因として注目されている。DOACsの血中濃度の変動が薬効や出血症状に深く関係することが報告されていることから、これらの薬物動態関連遺伝子がDOACsの体内動態や薬効・出血症状を規定する因子になる可能性が考えられる。しかし、DOACsの体内動態に影響を及ぼす遺伝子多型については未だ不明な点が多く、DOACsの薬効を反映する明確な指標がないのが現状である。

2. 研究の目的

上述の背景を踏まえて、研究代表者は本研究では、直接トロンビン阻害薬ダビガトランと血液凝固第Xa因子阻害薬リバーロキサバンの体内動態や薬効の発現に及ぼす変動要因を比較検討し、ダビガトランの有効かつ安全な個別化抗血栓療法の実践に向けた基盤構築を目的とした。

3. 研究の方法

(1) ダビガトランおよびリバーロキサバンの臨床薬物動態/薬力学/薬理ゲノム解析 (PK/PD/PGx 解析)

滋賀医科大学医学部附属病院循環器内科を受診したダビガトランまたはリバーロキサバン内服患者のうち、文書にて同意を取得した成人患者を研究対象とした。対象患者から血中トラフ濃度を採血し、ダビガトランやリバーロキサバンの血中濃度については高速液体クロマトグラフ高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析法により定量した。トロンビン阻害活性については、患者の血漿にトロンビンとその特異的基質を添加後、トロンビン特異的基質から生成するp-ニトロアニリン量を指標とした。また、第Xa因子阻害活性については、患者の血漿に第Xa因子とその特異的基質を添加後、第Xa因子特異的基質から生成するp-ニトロアニリン量を指標とした。さらに、採血した血液検体からゲノムDNAを抽出し、TaqMan™ Genotyping Assaysにより薬物トランスポーターや代謝酵素の遺伝子多型を解析した。遺伝子解析する薬物トランスポーターや代謝酵素は、これまでに日本人において種々の薬物体内動態に影響を与えることが報告されている排出トランスポーターであるP-糖タンパク質（P-gp; ABCB1）や乳癌耐性タンパク質（BCRP; ABCG2）薬物代謝酵素であるチトクロムP450（CYP）3A5を対象とした。

ダビガトランやリバーロキサバンの体内動態や、血中薬物濃度とトロンビン阻害活性または第Xa因子阻害活性の関係については、非線形混合効果モデル（NONMEM）法を用いて解析した。NONMEM法により、薬物の体内動態や薬効を説明する速度論的パラメータの母集団平均値とその分散（個体間変動）、血中薬物濃度や薬効の測定誤差を含めた分散（個体内変動）を推定した。続いて、得られたパラメータに解析対象患者の臨床検査値や併用薬の有無、薬物トランスポーターや代謝酵素の遺伝子多型の影響を考慮したモデルを用いて解析することで、血中薬物濃度や薬効の変動要因を明らかにした。

(2) ヒト肝由来ミクロソームを用いたダビガトランの代謝実験

複数のドナーでプールされた市販の肝臓由来ミクロソーム（HLM）や個別別HLMを用いて、ダビガトランのグルクロン酸抱合反応特性を比較検討した。

4. 研究成果

(1) ダビガトランおよびリバーロキサバンの臨床薬物動態/薬力学/薬理ゲノム解析 (PK/PD/PGx 解析)

ダビガトラン内服患者9名から得られた血中トラフ濃度とトロンビン阻害活性値を用いて、PK/PD/PGx解析を実施した。ダビガトランの血中トラフ濃度/投与量の比（C/D比）は、糸球体濾過量の推定値が上昇するに伴って低下したが、検討した薬物動態関連遺伝子多型に影響しないことが明らかになった。また、ダビガトランの血中トラフ濃度はトロンビン阻害活性値と

良好な正比例の関係が認められたが、いずれの臨床検査値や薬物動態関連遺伝子多型もトロンビン阻害活性値に影響を及ぼさなかった。

リバーロキサバン内服患者 37 名から得られた血中トラフ濃度と第 Xa 因子阻害活性値を用いて、PK/PD/PGx 解析を実施した。リバーロキサバンの C/D 比は、血清クレアチニン濃度が上昇するに伴って低下する一方で、*ABCB1* 3436CT または 3436TT を保有する患者では上昇することが明らかになった。また、リバーロキサバンの血中トラフ濃度は第 Xa 因子阻害活性値と良好な正比例の関係が認められたが、いずれの臨床検査値や薬物動態関連遺伝子多型も第 Xa 因子阻害活性値に影響を及ぼさなかった。

ダビガトランおよびリバーロキサバンの PK/PD/PGx 解析結果から、薬効は血中薬物濃度から推定可能であること、体内動態の変動要因は薬物ごとに異なることが推察された。

(2) ヒト肝由来ミクロソームを用いたダビガトランの代謝実験

複数のドナーでプールされた HLM におけるダビガトランの消失反応は一次速度に従うと仮定し、ダビガトランの肝固有クリアランス (CL_{int}) を算出し、得られた CL_{int} 値と、ヒト肝臓におけるミクロソームタンパク量やヒト肝重量の文献値を用いて、ダビガトランの肝クリアランス (CL_H) を算出した。その結果、ダビガトランの CL_H 値は全身クリアランスの約 20% になると推定され、ダビガトランの体内動態に対する肝代謝の寄与を無視できない可能性が示唆された。次に、個別別 HLM を用いて、ダビガトランの CL_{int} 値と各種 UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) の活性値の関係を解析した。その結果、ダビガトランの CL_{int} 値は UGT2B15 の活性値と良好に相関したことから、ダビガトランの体内動態は UGT2B15 の活性値に依存する可能性が示唆された。日本人において、UGT2B15 の活性の低下に関与する遺伝子多型のアレル頻度が高いことが報告されていることを考え合わせると、UGT2B15 の遺伝子多型がダビガトランの体内動態を反映する指標になる可能性が示唆された。

研究代表者はこれらの研究成果の一部を関連学会で発表済みであり、現在、研究成果を論文として取り纏め、海外の学術雑誌へ投稿準備中である。

以上、少数例の検討であるが、研究代表者は患者の腎機能がダビガトランの体内動態の変動要因になり得ること、ダビガトランの薬効は血中トラフ濃度で説明可能であることを明らかにした。また、研究代表者は、患者の腎機能や薬物動態関連遺伝子多型がリバーロキサバンの体内動態の変動要因になり得ること、リバーロキサバンの薬効は血中トラフ濃度で説明可能であることを明らかにした。現在、研究代表者はダビガトランやリバーロキサバン内服患者を対象とした臨床薬理学的研究を継続している。今後、さらなる症例の集積により、科学的根拠に基づく直接トロンビン阻害薬や第 Xa 因子阻害薬の個別化抗血栓療法を確立するための有用な情報を提供可能と考える。

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 3 件)

1. S Ueshima, D Hira, Y Kimura, R Fujii, C Tomitsuka, T Yamane, Y Tabuchi, T Ozawa, H Itoh, S Ohno, M Horie, T Terada and T Katsura. Population pharmacokinetics and pharmacogenomics of apixaban in Japanese adult patients with atrial fibrillation. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 84, 1301-1312 (2018). (査読有). DOI:10.1111/bcp.13561.
2. S Ueshima, D Hira, R Fujii, Y Kimura, C Tomitsuka, T Yamane, Y Tabuchi, T Ozawa, H Itoh, M Horie, T Terada and T Katsura. Impact of *ABCB1*, *ABCG2*, and *CYP3A5* polymorphisms on plasma trough concentrations of apixaban in Japanese patients with atrial fibrillation. *Pharmacogenetics and Genomics*. 27, 329-336 (2017). (査読有). DOI:10.1097/FPC.000000000000294.
3. 谷川原祐介、千堂年昭、今村知世、河崎陽一、末丸克矢、村木優一、矢野育子、伊藤聡子、上島 智、田中亮裕、林 雅彦、小林勝弘. 抗てんかん薬 TDM 標準化ガイドライン (STATEMENT) 2017 Version 1.0. *TDM 研究*. 34, 67-95 (2017). (査読有). URL:<http://mol.medicalonline.jp/library/journal/download?GoodsID=c15tdmke/2017/003402/004&name=0067-0095j&UserID=133.19.169.1>.

[学会発表] (計 16 件)

1. S Ueshima, D Hira, T Yamane, K Kuwata, Y Tabuchi, T Ozawa, H Itoh, M Horie, T Terada and T Katsura. Association of genetic polymorphisms in drug transporters and enzymes with plasma concentrations of rivaroxaban in Japanese patients with atrial fibrillation. 2018 International Meeting on 22nd MDO and 33rd JSSX, 2018.

2. 爲本雄太、上島 智、宮川幸典、目片茉柚、桂 敏也. 生理学的薬物速度論に基づくエンタカポンの体内動態解析. 第2回 フレッシュャーズ・カンファランス、2018年.
3. 芝口 彩、上島 智、平田華鈴、平野尋大、桂 敏也. アミオダロンの代謝に及ぼす血液凝固第Xa因子阻害薬の影響. 第2回 フレッシュャーズ・カンファランス、2018年.
4. 桑田健司、上島 智、平 大樹、山根拓也、田淵陽平、伊藤英樹、小澤友哉、堀江 稔、寺田智祐、桂 敏也. リバーロキサバンの血中濃度と臨床検査値及び薬物動態関連遺伝子多型の相関解析. 第2回フレッシュャーズ・カンファランス、2018年.
5. S Ueshima, D Hira, C Tomitsuka, M Nomura, Y Kimura, T Yamane, Y Tabuchi, T Ozawa, H Itoh, S Ohno, M Horie, T Terada and T Katsura. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of apixaban in Japanese patients with atrial fibrillation. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018), 2018.
6. 桑田健司、上島 智、平 大樹、山根拓也、芝口 彩、田淵陽平、伊藤英樹、小澤友哉、堀江 稔、寺田智祐、桂 敏也. リバーロキサバンの血中トラフ濃度に及ぼす薬物動態関連遺伝子多型の影響. 医療薬学フォーラム 2018/第26回クリニカルファーマシーシンポジウム、2018年.
7. 爲本雄太、上島 智、宮川幸典、目片茉柚、桂 敏也. ヒト組織におけるグルクロン酸抱合反応を考慮したエンタカポンの生理学的薬物速度論解析. 日本薬剤学会第33年会、2018年.
8. 上島 智. DOACsの薬物動態/ゲノム薬理学的解析. Pharmacy seminar、2018年.
9. S Ueshima, D Hira, R Fujii, Y Kimura, C Tomitsuka, T Yamane, Y Tabuchi, T Ozawa, H Itoh, S Ohno, M Horie, T Terada and T Katsura. Population pharmacokinetics and pharmacogenomics of apixaban in Japanese patients. 2017 AAPS (the American Association of Pharmaceutical Scientists) Annual Meeting and Exposition, 2017.
10. 上島 智、平 大樹、冨塚知歩、野村実希、木村悠馬、山根拓也、田淵陽平、伊藤英樹、大野聖子、小澤友哉、堀江 稔、寺田智祐、桂 敏也. 心房細動患者におけるアピキサバンの母集団薬物動態/薬力学的解析. 第27回 日本医療薬学会年會、2017年.
11. 上島 智、平 大樹、藤井 亮、木村悠馬、冨塚知歩、山根拓也、大野聖子、伊藤英樹、小澤友哉、堀江 稔、寺田智祐、桂 敏也. アピキサバン服用患者における出血症状及び血中薬物濃度と薬物動態関連遺伝子多型の相関解析. 第2回 黒潮カンファレンス、2017年.
12. S Ueshima, D Hira, R Fujii, Y Kimura, C Tomitsuka, T Yamane, Y Tabuchi, T Ozawa, H Itoh, S Ohno, M Horie, T Terada and T Katsura. Population pharmacokinetics of apixaban in Japanese patients with atrial fibrillation. 第11回 次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム、2017年.
13. 山根拓也、上島 智、平 大樹、木村悠馬、藤井 亮、冨塚知歩、田淵陽平、伊藤英樹、大野聖子、小澤友哉、堀江 稔、寺田智祐、桂 敏也. 心房細動患者におけるアピキサバンの母集団薬物動態解析. 医療薬学フォーラム 2017/第25回クリニカルファーマシーシンポジウム、2017年.
14. 原本真紀、小早川さやか、米丸英里、上島 智、桂 敏也. HK-2細胞における薬物トランスポーターの発現に対するDNAメチル化の寄与. 第1回 フレッシュャーズ・カンファランス、2017年.
15. 越智由紀子、緒方彰子、安藤夏未、上島 智、桂 敏也. 腎有機カチオントランスポーターを介したメトホルミン輸送に及ぼす造影剤の影響. 第1回 フレッシュャーズ・カンファランス、2017年.
16. 元永 彩、上島 智、目片茉柚、加藤諭紀、桂 敏也. アピキサバンの代謝反応におけるCYP3A5の寄与に関する基礎的検討. 第1回 フレッシュャーズ・カンファランス、2017年.

〔図書〕（計 1 件）

1. 日本 TDM 学会 編. 抗てんかん薬 TDM 標準化ガイドライン 2018. 128 ページ、2018 年. 金原出版.

6. 研究組織

(1) 研究協力者

研究協力者氏名：桂 敏也

ローマ字氏名：(KATSURA Toshiya)

研究協力者氏名：寺田 智祐

ローマ字氏名：(TERADA Tomohiro)

研究協力者氏名：堀江 稔

ローマ字氏名：(HORIE Minoru)

研究協力者氏名：平 大樹

ローマ字氏名：(HIRA Daiki)