

平成 21 年 4 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590539
 研究課題名（和文） 人間ドック受診者とてんかん患者 1 万例を対象とした副作用発現に関する多角的研究
 研究課題名（英文） Epidemiologic and pharmacogenetic study of adverse drug reactions in 10,000 subjects of participants in a health screening program or patients with epilepsy
 研究代表者
 中川 和子 (NAKAGAWA KAZUKO)
 熊本大学・大学院医学薬学研究部・教授
 研究者番号：20284747

研究成果の概要：1)人間ドック受診者の副作用調査から、女性は男性に比べて副作用の発現頻度が 2.5 倍高いことを明らかにした。2)抗てんかん薬の効果や副作用に係る遺伝要因を明らかにして、「遺伝情報に基づくてんかんの個別化治療法の開発（代表：弘前大学 兼子 直教授）」を展開中である。3)熊本大学育薬フロンティアセンター（H20 年設置）と熊本県下 700 の薬局を結ぶ副作用調査網を構築中であり、今後、本システムを用いた独自の副作用調査を展開する。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
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：境界医学・応用薬理学

キーワード：医薬品副作用、薬学、臨床、薬理遺伝学

1. 研究開始当初の背景

(1)副作用による年間死亡者数は、米国で 4-10 万人、英国で 1 万人と推定され、大きな社会問題であるにもかかわらず、日本における副作用発生の実態は不明である。さらに、副作用発現の性差については世界的にも注目されていないが明確なデータが無い。

(2)我が国には約 80 万人のてんかん患者が存在する。抗てんかん薬は、治療域が狭く、患者の 1/3 は薬物治療に治療抵抗性であり、酵素誘導や抑制による相互作用や長期投与による副作用が多いことから、個別化治療が最も望まれる疾患のひとつである。

2. 研究の目的

日本人の副作用予防のためには、日本における医薬品の副作用調査が不可欠である。本研究の目的は、詳細な臨床情報が明らかな人間ドック受診者と臨床症例について、遺伝要因と個体・環境要因を多角的に検討することである。

本研究により、多くの基礎研究成果の蓄積にも関わらず、未だほとんど臨床応用に至っていない個別化医療の実現に向けて、突破口を開きたいと考えた。

3. 研究の方法

本研究は、熊本大学大学院医学薬学研究部

等倫理委員会と研究協力施設の倫理委員会の承認を得た方法によって実施した。

(1) 人間ドック受診者を対象とした研究

日本赤十字社熊本健康管理センターの人間ドック受診者 4,335 名に、薬物およびサプリメントの服用経験と有害反応既往に関する問診表を送付した。有害反応既往有りと回答した者には受診当日に詳細な聞き取り調査を行い、起因物質と症状に因果関係が認められるものを抽出した。得られた情報から、薬物およびサプリメントの服用頻度と有害反応既往頻度（既往例全体、重症例、用量依存性有害反応既往例、再発例）を算出し、男女で比較した。また、有害反応を発現臓器別、起因物質別に分類し、厚生労働省の分類基準をもとに重篤度を判定するとともに、起因物質の把握状況を調査した。

さらに、強い副作用を示した症例では、原因薬物の主代謝酵素の遺伝的多型を検討した。

(2) てんかん患者を対象とした研究

国立病院機構熊本再春荘病院で抗てんかん薬治療を受けた患者 446 例を対象として、臨床背景、治療歴、薬物血中濃度、効果・副作用発現などをデータベース化した。一方で、血液または頬粘膜細胞より抽出した DNA を用いて、抗てんかん薬の薬物動態や薬力学に係る薬物代謝酵素やトランスポーター、イオンチャネルの遺伝子判定を行った。それらの結果（遺伝子型、年齢、体重、性別、併用薬、薬理効果や副作用）を共変量とした分散分析及び多変量解析プログラムにより解析した。さらに、上記の情報を組み込んだクリアランス(CL)予測式を母集団薬物動態解析: non-linear mixed effect model (NONMEM 法) より用いて算出した。副作用については、近年特に問題になっている抗てんかん薬治療に伴うメタボリックシンドローム(MS)と酸化ストレスに関する分子種の遺伝的多型を検討し、新たな視点からの副作用予防や治療の可能性について検討した。

4. 研究成果

(1) 人間ドック受診者を対象とした研究

回答率は 63.5% (男性 1,624 名、女性 1,126 名、平均年齢 51.8 ± 10.0 歳) であった。

有害反応既往者は 233 名 (回答者の 8.4%) で、男性 (5.6%) に比べて女性の頻度 (12.6%) が高く (P<0.001) 重症例の頻度 (0.8%) も男性 (0.5%) より女性 (1.2%) が高かった (P<0.001)。有害反応の内訳は医療用医薬品で 204 例 (4.7% vs. 11.3%, P<0.001) over the counter (OTC) 医薬品で 34 例 (0.9% vs. 1.7%)、サプリメントで 4 例 (0.1% vs. 0.2%) であり、全て女性の頻度が高かった。有害反応既往者中の用量依存性有害反応既往者の

割合は 24.5% (15.4% vs. 30.3%, P= 0.012) で、女性に多かった。医療用医薬品の服用頻度 (40.0% vs. 42.5%) に性差はなかったが、OTC 医薬品 (11.1% vs. 15.8%) とサプリメント (21.2% vs. 39.9%) の服用頻度は女性で有意に高かった。発現臓器は皮膚粘膜症状 (66 件 vs. 100 件) が最も多く、起因物質は鎮痛・解熱薬が 58 件で多かった。また、既往者中 40.3% (29.7% vs. 47.2%, P= 0.03) が再発し、21.0% (9.9% vs. 28.2%, P= 0.002) に複数の起因物質を認めた。再発頻度 (40.3%) は、既往頻度 (8.4%) の 4.8 倍であり、既往者中 50.2% が起因物質を 1 剤も知らなかった。

我々は 2003 年にも人間ドック受診者を対象とした調査を行い、有害反応が女性で起こりやすいこと、抗ヒスタミン薬による眠気が女性で高頻度にかつ強く表れることを示した。今回は、その経験をもとに調査方法を改善して、異なる対象者においても、女性では有害反応既往頻度が高く、重症有害反応や再発も起こしやすいことを再確認した。さらに、抗ヒスタミン薬による精神神経症状や NSAIDs による胃腸症状等の用量依存性有害反応も女性に多く認めた。これらの有害反応には、代謝酵素の活性や薬効への感受性の性差が関連している可能性はあるものの、女性の体格が男性に比べて小さいために、血中濃度が高くなるのが危険因子の 1 つと考えられた。抗ヒスタミン薬や NSAIDs は OTC 医薬品としても広く服用されており、その有害反応における性差は重要な課題である。また、有害反応既往者は再発する危険が高いにも関わらず、患者本人に対する情報提供すら不十分であった。薬剤師は有害反応の情報管理と患者教育を徹底し、さらに性別に応じて薬剤の変更や減量を促すなど、性差を考慮した有害反応の防止に積極的に努める必要がある。

(学会発表 4、論文作成中)

抗ヒスタミン薬による眠気が強かった 2 例から、cytochrome P450 (CYP)2D6 の新たなハプロタイプを同定した。(業績 1)

(2) てんかん患者を対象とした研究

クロバザム (CLB) 治療における CYP2C19 遺伝子多型の影響: CLB は、CYP3A によって活性代謝物の N-デスメチル体 (N-CLB) に変換され、その後 CYP2C19 で不活化される。この CYP2C19 は日本人の約 20% で遺伝的に欠損しており、欠損者 (PM) では N-CLB の血中濃度と血中濃度/投与量比 (C/D 比) が上昇し (図 1a)、CLB 治療の有効性が高く、CLB を中止した患者の割合が低かった (図 1b)。(業績 2) 一方、PM では体重増加を高頻度に認めることを明らかにした。(学会発表 2、論文作成中)

図 1a

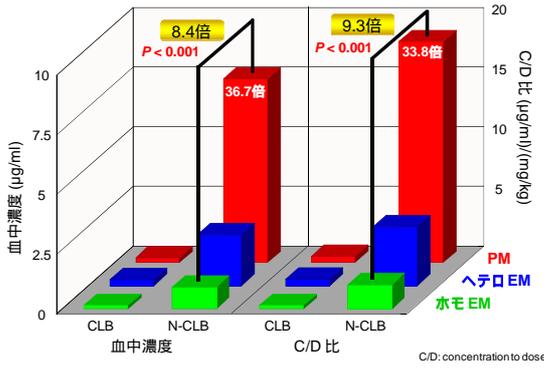
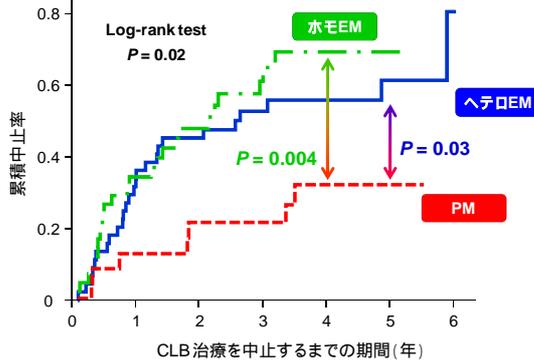


図 1b



NONMEM 法による母集団薬物動態の検討：NONMEM 法は 1 人 1 回の薬物血中濃度結果でも解析が可能であり、患者の生理的要因、病態的要因等を考慮した母集団平均パラメータ、個体間変動、残差誤差を同時に解析できるだけでなく、下記の式のごとく遺伝子型の影響を他の要因とともに定量的に推定できる点が、臨床に即した投与設計に役立つ。

$$CL = \theta_1^{(併用薬の有無)} \times \theta_2^{(病態)} \times \theta_3^{(性別)} \times \theta_4^{(遺伝子型)} \times \theta_5^{(体重)}$$

本法を用いてゾニサミド(ZNS)のCLが、患者のCYP2C19の欠損遺伝子変異の数に伴って低下する(ヘテロ変異型：16%，PM：30%)ことを明らかにした。(業績 5)

また、バルプロ酸(VPA)のCLには薬物代謝酵素の遺伝的多型は影響しなかったものの、CLと肝逸脱酵素上昇(脂肪肝)の有意な正の相関を明らかにした。(業績 9) さらに、フェノバルビタールCLにCYP2C9遺伝子型が影響することを初めて報告した。(業績 19)

標的分子の遺伝的多型と治療抵抗性の検討：カルバマゼピン(CBZ)の薬理作用の標的分子であるNaチャンネルサブユニットをコードするSCNA1のIVS5-91 G>A遺伝子多型と抗てんかん薬の治療効果との関係を検討し、AA遺伝子型がCBZ治療抵抗性に影響することを示唆した。(業績 6)

抗てんかん薬誘発性脂肪肝(MS)の薬理遺

伝学的検討：CBZは、CYP3Aによって活性代謝物のエポキシド体(CBZ-E)に変換され、グルタチオン転移酵素(GST)とmEHによって不活化されるが、遺伝的にGSTM1とGSTT1を両方欠損する者で、有意な肝逸脱酵素の上昇を認めた。(業績 18)

また、VPAでも同様の結果を得た。(業績 7) 本成果は、人間ドックを対象とした研究に発展し、GSTの遺伝的多型が薬剤性肝障害のみならず、アルコール性肝障害や、MSに伴う各種病態にも広く関係することを明らかにする契機となった。(業績 13-15, 21, 22)

トランスポーターの遺伝的多型と治療抵抗性に関する検討：過去に、ABCB1と治療抵抗性の関係を報告したが、ABCC2遺伝子多型は治療抵抗性に影響しなかった。(業績 8)

(3) 副作用に関するその他の研究

副作用発現におけるフリーラジカル・酸化ストレスの影響：副作用には活性代謝物を含むフリーラジカルや、それらの生成に伴う酸化ストレスが関与することが以前から知られており、(2)の研究結果もそれを裏付けるものであった。そこで我々は、展開研究として、ニューキノロン系抗菌薬の副作用発現メカニズムをフリーラジカル生成の観点から検討し(学会発表 9、論文作成中)、逆に、パーフェンドンの治療効果にその抗酸化作用が影響することを示唆した。(業績 11) さらに、副作用発現やMSの指標となりうる新規バイオマーカーを開発した。(業績 10)

ボランティアによる漢方薬の安全性試験：漢方薬の相互作用に関する安全性試験も行った(業績 21、学会発表 6、論文作成中)

(4) 研究の現状と今後の展開

人間ドック受診者を対象とした研究
今後さらに調査・研究方法を改善し、対象者を増やして、副作用や生活習慣病の薬理遺伝学的研究と、薬の安全使用に関する市民教育を推進する。

てんかん患者を対象とした研究

H20年度から、全国規模の「遺伝情報に基づくてんかんの個別化治療法の開発(代表：弘前大学 兼子 直教授)」に参画して、薬物代謝酵素の遺伝的多型に基づいた至適投与設計の研究を進展させている。本研究の意義は、日本人のための個別化治療には日本人のデータベースが必要であること、臨床応用可能な遺伝子診断チップや抗てんかん薬の至適投与量決定システムの開発には、多施設共同研究による1,000例以上の症例の詳細な臨床情報やゲノムが必要であること、これらのデータベース化により基礎研究結果の迅速な

臨床応用が可能であること等である。

個別化医療をリードする育薬フロンティアセンター研究拠点形成
熊本大学薬学部附属育薬フロンティアセンター設置(H20年)と、上記の研究成果より、H20-24年の熊本大学の研究拠点形成リーダーに選出された。本研究拠点は、生活習慣病の発症からイベント発生までの病態を、一貫して検討する臨床基礎薬学 臨床医学の共同研究組織からなり、科学的根拠に基づいた薬物治療と個別化疾病予防を実現する。本情報発信拠点の形成により、産学連携研究の活性化や教育効果の向上を図ると共に、熊本県下700の薬局を結び副作用調査網を構築中であり、今後、本システムを用いた独自の副作用調査を展開する。

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23件)

1. Matsunaga M. (他11名、6番目) Two novel CYP2D6*10 haplotypes as possible causes of a poor metabolic phenotype in Japanese. *Drug Metab Dispos* 34, 699-701, 2009. 査読有り
2. Pahwa P. (他3名、2番目) Effects of polymorphic variations in tumor necrosis factor alpha and occupational exposure to grain dust on longitudinal decline in pulmonary function. *J Agromedicine* 14, 215-21, 2009. 査読有り
3. Umemoto Y. (他4名、5番目) Identification of paraoxonase-1 in induced sputum from healthy volunteers. *Free Rad Biol Med* 46, 699, 2009. 査読有り
4. Seo T. (他6名、7番目) Impact of CYP2C19 polymorphisms on the efficacy of clobazam therapy. *Pharmacogenomics* 9, 527-537, 2008. 査読有り
5. Okada Y. (他6名、7番目) Population estimation of the effects of cytochrome P450 2C19 and 3A5 polymorphisms on zonisamide clearance. *Ther Drug Monit* 30, 540-543, 2008. 査読有り
6. Abe T. (他5名、6番目) Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. *Br J Clin Pharmacol* 66, 304-307, 2008. 査読有り
7. Fukushima Y. (他5名、6番目) Glutathione-S-transferase (GST) M1 null genotype and combined GSTM1 and GSTT1 null genotypes are risk factors for elevated serum -glutamyltransferase in valproic acid-treated patients. *Clin Chim Acta* 389, 98-102, 2008. 査読有り
8. Seo T. (他5名、6番目) ABCC2 haplotype is not associated with drug-resistant epilepsy. *J Pharm Pharmacol* 60, 631-635, 2008. 査読有り
9. Goto S. (他8名、9番目) Potential relationships between transaminase abnormality and valproic acid clearance or serum carnitine concentrations in Japanese epileptic patients. *J Pharm Pharmacol* 60, 267-272, 2008. 査読有り
10. Karakawa T. (他10名、9番目) Applicability of new spin trap agent, 2-diphenylphosphinoyl-2-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole N-Oxide, in biological system. *Biochem Biophys Res Commun* 370, 93-97, 2008. 査読有り
11. Mitani Y. (他10名、9番目) Superoxide scavenging activity of pirfenidone-iron complex. *Biochem Biophys Res Commun* 372, 19-23, 2008. 査読有り
12. Nakagawa T. (他5名、6番目) A preliminary investigation of the association between haptoglobin polymorphism, serum ferritin concentration and fatty liver disease. *Clinica Chimica Acta* 398, 34-38, 2008. 査読あり
13. Hori M. (他6名、7番目) Association between combinations of glutathione-S-transferase M1, T1, and P1 genotypes and non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 29, 164-168, 2008. 査読有り
14. Oniki K. (他6名、7番目) Glutathione S-transferase A1 polymorphism as a risk factor for smoking-related type 2 diabetes in Japanese. *Toxicol Lett* 178, 143-145, 2008. 査読有り
15. Oniki K. (他6名、7番目) Association between glutathione S-transferase A1, M1 and T1 polymorphisms and hypertension. *Pharmacogenet Genomics* 18, 275-277, 2008. 査読有り
16. Seo T. (他8名、9番目) Association between cytochrome P450 3A5 polymorphism and the lung function in Saskatchewan grain workers. *Pharmacogenet Genomics* 18, 487-493,

2008. 査読有り
17. Seo T. (他 6 名、7 番目) Interactive effect of paraoxonase-1 Q192R polymorphism and smoking history on the lung function decline in grain workers. *Ann Epidemiol* 18, 330-334, 2008. 査読有り
 18. Ueda K. (他 6 名、7 番目) Combined glutathione-S-transferase M1 and T1 null genotypes as a risk factor for carbamazepine-induced mild hepatotoxicity. *Pharmacogenomics* 8, 435-442, 2007. 査読有り
 19. Goto S. (他 6 名、7 番目) Population estimation of the effects of cytochrome P450 2C9 and 2C19 polymorphisms on phenobarbital clearance in Japanese. *Ther Drug Monit* 29, 118-121, 2007. 査読有り
 20. Nakao M. (他 7 名、8 番目) The effect of Shoseiryuto, a traditional Japanese medicine, on cytochrome P450s, N-acetyltransferase 2 and xanthine oxidase in extensive or intermediate metabolizers of CYP2D6. *Eur J Clin Pharmacol* 63, 345-353, 2007. 査読有り
 21. Horii M. (他 6 名、7 番目) Combined glutathione-S-transferase T1 and M1 positive genotypes afford protection against type 2 diabetes in Japanese. *Pharmacogenomics* 8, 1307-1314, 2007. 査読有り
 22. Oniki K. (他 5 名、6 番目) Glutathione-S-transferase (GST) M1 null genotype and combined GSTM1 and GSTT1 null genotypes as a risk factor for alcoholic mild liver dysfunction. *Clin Pharm Ther* 81, 634-635, 2007. 査読有り
 23. Seo T. (他 7 名、8 番目) Association between paraoxonase-1 Q192R polymorphism and lung function among Saskatchewan grain handlers. *Pharmacogenomics* 8, 901-908, 2007. 査読有り

〔学会発表〕(計 36 件)

1. 中川和子. 個別化医療をリードする育薬フロンティアセンター研究拠点形成、第 2 回薬学研究フォーラム in 東京、2008 年 12 月 15-16 日、東京都
2. 安部智英. 抗てんかん薬服用による体重増加に及ぼす Cytochrome P450 2C19 遺伝子型の影響、第 29 回日本臨床薬理学会年会、2008 年 12 月 4-6 日、東京都
3. Irie T. Leading Project for

- Personalized Medicine at the Center for Clinical Pharmaceutical Sciences (CCPS), 6th Kumamoto University Forum, 2008 年 11 月 5-6 日, Surabaya Indonesia
4. 高石千聖. 薬物有害反応危険因子としての性差の検討、第 23 回日本薬物動態学会年会、2008 年 10 月 30 日-11 月 1 日、熊本市
 5. 出口真理子. 抗てんかん薬による肝障害におけるミトコンドリア SOD 遺伝子多型の影響、第 23 回日本薬物動態学会年会、2008 年 10 月 30 日-11 月 1 日、熊本市
 6. 藤村洋平. 桂枝茯苓丸が薬物代謝酵素 (cytochrome P450 1A2, 2D6, 3A, N-acetyltransferase, xanthineoxidase) に及ぼす影響、第 23 回日本薬物動態学会年会、2008 年 10 月 30 日-11 月 1 日、熊本市
 7. 吉田秀一. 難治てんかんにおける MDR1・MRP2 遺伝子多型解析、第 42 回日本てんかん学会、2008 年 10 月 18-19 日、東京都
 8. Kaneko S. Development of Individualized Medicine for Epilepsy Based on Genetic Polymorphisms, 7th Asian & Oceanian Epilepsy Congress, 2008 年 5 月 15-18 日, Xiamen China
 9. 村本洋介. ニューキノロン系抗菌薬の副作用発現におけるフリーラジカルの影響、第 28 回日本臨床薬理学会年会、2007 年 11 月 28 日-12 月 1 日、宇都宮市

〔その他〕

研究室のホームページ

<http://www.pharm.kumamoto-u.ac.jp/Labs/tiryougaku/index.html>

育薬フロンティアセンターの紹介

<http://www.pharm.kumamoto-u.ac.jp/details/index.php?id=416>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 和子 (NAKAGAWA KAZUKO)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・教授

研究者番号：20284747

(2) 研究分担者

堀 雅晴 (HORI MASAHARU) (H19 年 4 月 ~ H19 年 12 月)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・助教

研究者番号：30433014

(3) 連携研究者

佐藤 圭創 (SATO KEIZO) (H20 年 4 月 ~ H21 年 3 月)

(H20 年 1 月 ~ H20 年 3 月は研究分担者)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・准教授

研究者番号：00315293