

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月 31日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790149

研究課題名（和文） ピーク・トラフ2点採血デザインによる小児を対象とした
臨床薬物動態試験研究課題名（英文） Clinical pharmacokinetic trials in pediatric patients based on
a peak-and-trough sampling design

研究代表者

田口 雅登（TAGUCHI MASATO）

富山大学・大学院医学薬学研究部（薬学）・准教授

研究者番号：20324056

研究成果の概要（和文）：

最近申請者は、薬剤を繰り返し服用中の患者に対して2点のみの採血を行い、血中濃度のピーク値（ C_{peak} ）とトラフ値（ C_{trough} ）を解析する事によって、薬物血中濃度曲線下面積（AUC）を簡便に推定する方法を考案した。ピーク・トラフ2点採血デザインはAUC推定値から薬剤投与設計時に必須な個人の経口クリアランス（CL/F）に関する情報が得られる上、採血に伴う身体的苦痛や時間的拘束が比較的小さいため、患者からの研究協力が得やすいなどの利点がある。本研究では、肺血管拡張薬であるボセンタンについて実際の小児患者を対象とする連投薬物動態試験を企画・実施し、2点採血デザインの有用性を確認した。

研究成果の概要（英文）：

The area under the concentration-time curve (AUC) and/or oral clearance (CL/F) of drugs is a key pharmacokinetic parameter to evaluate drug exposure in patients. In the present study, we conducted a clinical trial to evaluate the pharmacokinetics of bosentan in Japanese pediatric patients. Plasma samples were taken twice at two time points corresponding to the peak concentration (C_{peak}) and trough concentration (C_{trough}) following repetitive oral drug administration to the patients. A large interindividual variability was observed in plasma concentrations of bosentan, and the weight-normalized values of CL/F were correlated negatively with age. We confirmed that the peak-and-trough sampling design is promising for the clinical repeated-dose pharmacokinetic trial for drugs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：医療薬剤学

1. 研究開始当初の背景

医薬品を適正に使用するにあたっては、臨

床薬物動態特性と個体間変動機構を明らかにし、患者個々に投与設計を行うことが必要

である。一方、薬物個別投与設計を遂行する上で不可欠であるにも拘わらず最も企画と実施が困難なものの一つは、実際に薬を服用している患者を対象とした臨床薬物動態試験である。すなわち、若年健常者と種々の疾患を有する小児や中高年患者では薬物動態が異なる可能性があるため、実際に薬剤を服用している患者を対象として薬物動態試験を行う事が望まれる。しかし、一人の患者から速度論的解析に耐えるほど数多くの血中薬物濃度データを得ることは多くの場合困難であることに加え、市販後に一施設で行う臨床薬物動態試験では、対象患者が多くても数十人に限られる。このような場合、従来の速度論的解析法は適用が難しく、臨床試験の成否の目処を立てることが困難であった。

2. 研究の目的

最近申請者は、薬剤を繰り返し服用中の個々の患者に対して2点のみの採血を行い、血中濃度のピーク値 (C_{peak}) とトラフ値 (C_{trough}) を解析する事によって、薬物血中濃度曲線下面積 (AUC) と経口クリアランス (CL/F) を簡便に推定する方法を考案し、2点採血デザインによる AUC 推定法の精度・有用性に関するコンピュータシミュレーションを実施した。本研究では、実際の小児患者を対象として、肺血管拡張薬であるボセンタンの連投薬物動態試験を実施し、2点採血デザインの有用性を再検証するとともに、得られた薬物動態変動機構に関する情報をいち早く医療現場に提供する事を目指した。また、ワルファリンの抗凝固作用に及ぼすボセンタンの影響についても解析を追加した。さらに、臨床薬物動態試験と並行して、循環器官用薬剤を中心とする薬物体内動態変動機構に関する解析を行った。

3. 研究の方法

主に以下の(1)～(3)の研究を行った。

(1) 小児患者集団におけるボセンタンの体内動態変動機構解析：ボセンタンは肝臓のチトクロム P450 (CYP) 2C9 や CYP3A4 で代謝を受ける薬物であるが、代謝酵素に加え肝取り込みトランスポータが体内動態変動機構の実体であることが示唆されている。すなわち、ラットにおけるボセンタンの肝取り込み機構 (トランスポータの関与) に関する予備的な検討において、胆汁酸の併用時にボセンタンの肝取り込みが顕著に低下する (血中濃度が大きく上昇する) 現象が観察された。本研究では、小児患者集団におけるボセンタンの体内動態変動性を明らかにするとともに、薬物代謝酵素やトランスポータの遺伝的多型が薬物動態に及ぼす影響を評価する目的で、小児肺高血圧患者におけるボセンタンの体内動態解析を行った。

(2) 小児患者におけるワルファリンの抗凝固作用変動因子に関する研究：抗凝固薬ワルファリンは、小児科領域では主として先天性心疾患の術前・術後の血液凝固管理のために汎用されるが、至適な治療効果が得られる投与量には大きな個体差がある。近年、成人患者を対象とした臨床研究において、肝薬物代謝酵素の CYP2C9 に加え、ビタミン K エポキシド還元酵素複合体 1 (VKORC1) の遺伝子多型がワルファリンの抗凝固作用に影響を与えると報告された。日本人における CYP2C9*3 遺伝子の発現頻度は 2.1% と低いのに対して、VKORC1 1173C>T の発現頻度は 89.1% と極めて高いことが報告されている。そこで本研究では、小児患者のワルファリン維持投与量と薬効の関係に及ぼす VKORC1 遺伝子多型の影響を定量的に評価することを試みた。

(3) カルベジロールの立体選択的代謝に及ぼすアミオダロンの影響： β 遮断薬カルベジロールは主に肝代謝によって消失し、その代謝にはシトクロム P450 による酸化と、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼによるグルクロン酸抱合反応が関与する。近年、アミオダロン併用時に β 遮断活性のある S 体の血中濃度が上昇し、R 体の血中濃度が変化しないことが報告された。そこで、本研究では、カルベジロールの酸化及びグルクロン酸抱合に及ぼすアミオダロンの影響を明らかにする目的で、肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝実験を行った。

4. 研究成果

(1) 小児患者集団におけるボセンタンの体内動態変動機構解析：研究協力への同意が得られた 46 症例の肺高血圧患者からピーク・トラフ 2 点採血データを得た。ボセンタンの平均投与量は 2.34 ± 0.80 mg/kg/day であり、ピーク時の血漿中薬物濃度にはおよそ 50 倍の個人差が観察された。データ解析の結果、CL/F の平均値は 0.46 L/hr/kg であった。CL/F 値に及ぼす薬物併用や薬物動態関連分子

(CYP および OATP) の遺伝子変異の影響は認められなかったものの、小児集団では年齢がボセンタンの体内動態の影響因子の一つである事が明らかとなった。先天性心疾患を有する小児に対してボセンタンが投与される機会は比較的高く、本研究の知見はボセンタンの適正使用を図る上で重要な知見であると考えられた。

(2) 小児患者におけるワルファリンの抗凝固作用変動因子に関する研究：富山大学病院にて加療中で、かつワルファリン服用中の日本人小児患者 48 名 (0.42-19.25 歳) を対象とした。個々の患者の体重で補正したワルファリンの投与量とプロトロンビン時間

(PT-INR) との関係に及ぼす VKORC1 の遺伝子多型、年齢、および薬物併用の影響について

て回帰分析を行った。VKORC1の1173CTまたは1173CC遺伝子を有する患者(n=10)と比較して、1173TT遺伝子を有する患者(n=38)では、ワルファリンの投与量が28%低いにもかかわらずPT-INRは有意に高かった。また、回帰分析を行いワルファリン投与量とPT-INRの関係を定量化したところ、VKORC1の1173CTまたは1173CC遺伝子を有する患者におけるワルファリンの作用は、1173TT遺伝子を有する患者の52.3%であると算出された。さらに、対象とした小児患者ではワルファリンの作用が1年につき10.5%上昇すると算出されたが、併用薬物(ベラプロスト、ボセンタン、スルファメトキサゾール・トリメトプリム、およびアスピリン)による有意な影響は認められなかった。一方、VKORC1 1173TT遺伝子を保有する患者群においてCYP2C9*1/*3遺伝子の保有患者が1名含まれており、CYP2C9*1/*1遺伝子の保有患者と比べてPT-INRが高い傾向にあった。

(3) カルベジロールの立体選択的代謝に及ぼすアミオダロンの影響：市販のヒト肝ミクロソームとラセミ体カルベジロールの反応液に2mMのNADPHまたはUDPGAを添加し、S体とR体の酸化活性とグルクロン酸抱合活性をそれぞれ分離評価した。カルベジロールの代謝は反応前後の薬物濃度の差で評価し、アミオダロン添加の有無による活性変動を定量化した。その結果、ヒト肝ミクロソームにおけるカルベジロールの酸化及びグルクロン酸抱合反応はどちらもS体選択的であった。アミオダロンまたはその主要代謝物(デスエチルアミオダロン)を反応液に添加したところ、R体及びS体の酸化活性がどちらも低下したのに対し、グルクロン酸抱合活性はR体のみが上昇した。アミオダロン併用時には、S体は酸化的代謝の阻害による血中濃度の上昇が観察されるが、R体は酸化反応の阻害とグルクロン酸抱合反応の亢進が起こるために、見かけ上血中濃度の変化は起こらないものと推定された。アミオダロンによるR体のグルクロン酸抱合反応の亢進は、ラセミ体カルベジロールが低濃度(0.1 μ M)、かつアミオダロンが高濃度(50 μ M)の時に認められ、ラット肝ミクロソームにおいても同様の傾向が観察された。以上のことから、カルベジロールとアミオダロンの相互作用のメカニズムには肝臓におけるグルクロン酸抱合反応の変化が少なくとも一部関与すると考えられた。

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9件)

① Fukao M., Ishida K., Sakamoto T.,

Taguchi M., Matsukura H., Miyawaki T., and Hashimoto Y. : Effect of genetic polymorphisms of SLC28A1, ABCG2, and ABCC4 on bioavailability of mizoribine in healthy Japanese males. Drug Metab. Pharmacokinet., 26: 538-543, 2011. 査読有

② Horie A., Sakata J., Nishimura M., Ishida K., Taguchi M., and Hashimoto Y. : Mechanisms for membrane transport of metformin in human intestinal epithelial Caco-2 cells. Biopharm Drug Dispos., 32: 253-260, 2011. 査読有

③ Taguchi M., Ichida F., Hirono K., Miyawaki T., Yoshimura N., Nakamura T., Akita C., Nakayama T., Saji T., Kato Y., Horiuchi I., and Hashimoto Y. : Pharmacokinetics of bosentan in routinely treated Japanese pediatric patients with pulmonary arterial hypertension. Drug Metab Pharmacokinet., 26: 280-287, 2011. 査読有

④ Kato Y., Ichida F., Saito K., Watanabe K., Hirono K., Miyawaki T., Yoshimura N., Horiuchi I., Taguchi M., and Hashimoto Y. : Effect of the VKORC1 genotype on warfarin dose requirements in Japanese pediatric patients. Drug Metab. Pharmacokinet., 26: 295-299, 2011. 査読有

⑤ Ishida K., Takaai M., Yotsutani A., Yokota A., Sakamoto T., Taguchi M., Matsukura H., Miyawaki T., Hashimoto Y. : Mechanisms responsible for the different uptakes of mizoribine and ribavirin in human epithelial LS180 cells. Jpn. J. Pharm. Health Care Sci., 36: 900-905, 2010. 査読有

⑥ Hirono K., Yoshimura N., Taguchi M., Watanabe K., Nakamura T., Ichida F., Miyawaki T. : Bosentan induces clinical and hemodynamic improvement in candidates for right-sided heart bypass surgery. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 140: 346-351, 2010. 査読有

⑦ Masago M., Takaai M., Sakata J., Horie A., Ito T., Ishida K., Taguchi M., Hashimoto Y. : Membrane transport mechanisms of quinidine and procainamide in renal LLC-PK1 and intestinal LS180 cells. Biol. Pharm. Bull., 33: 1407-1412, 2010. 査読有

⑧ Horiuchi I., Kato Y., Nakamura A., Ishida K., Taguchi M., Hashimoto Y. : Inhibitory and stimulative effects of amiodarone on metabolism of carvedilol in human liver microsomes. Biol. Pharm. Bull., 33: 717-720, 2010. 査読有

⑨Takaai M., Sakata J., Ishida K., Taguchi M., Hashimoto Y.: Mechanisms for transport of methotrexate across apical and basolateral membranes in human intestinal epithelial Caco-2 cells. Jpn. J. Pharm. Health Care Sci., 36: 63-71, 2010. 査読有

〔学会発表〕(計11件)

①深尾美紀, 渡邊ひとみ, 石田和也, 田口雅登, 橋本征也, 松倉裕喜, 宮脇利男: 健康成人のミゾリビンの消化管吸収に対する遺伝と食塩摂取の影響. 日本薬学会北陸支部第123回例会, 2011, 11, 27, 金沢.

②横田篤, 森川真圭, 石田和也, 田口雅登, 橋本征也: 培養ヒト腸上皮細胞を用いたミゾリビンの消化管吸収機構解析. 日本薬学会北陸支部第123回例会, 2011, 11, 27, 金沢.

③ Fukao M., Ishida K., Taguchi M., Matsukura H., Miyawaki T., and Hashimoto Y.: Effect of genetic polymorphisms of nucleoside and efflux transporters on bioavailability of mizoribine. 日本薬物動態学会第26年会, 2011, 11, 16-18, 広島.

④田口雅登, 市田露子, 齋藤和由, 渡邊一洋, 芳村直樹, 橋本征也: 日本人小児患者のワルファリン投与量に及ぼす VKORC1 遺伝子多型の影響. 第12回 Pharmaco-Hematology シンポジウム, 2011, 6, 17, 富山.

⑤堀江明日佳, 西邑麻希, 石田和也, 坂田淳平, 田口雅登, 橋本征也: 培養ヒト腸上皮 Caco-2 細胞におけるメトホルミンの膜輸送機構. 日本薬剤学会第26年会, 2011, 5, 29-31, 東京.

⑥ Ishida K., Fukao M., Watanabe H., Taguchi M., Matsukura H., Miyawaki T., and Hashimoto Y.: Effect of Genetic Polymorphisms of SLC28A1, ABCG2, and ABCC4 on Bioavailability of Mizoribine in Healthy Japanese Males. 2011 American Association of Pharmaceutical Scientists Annual Meeting, 2010, 11, 23-27, Washington, D.C.

⑦ Horiuchi I., Kato Y., Nakamura A., Ishida K., Taguchi M., Hashimoto Y.: Inhibitory and stimulative effects of amiodarone on stereoselective metabolism of carvedilol in human and rat liver microsomes. 日本薬物動態学会第25回年会, 2010, 10, 7-9, 大宮.

⑧ Taguchi M., Ichida F., Hirono K., Yoshimura N., Nakamura T., Akita C., Nakayama T., Saji T., Kato Y., Horiuchi I., Hashimoto Y.: The pharmacokinetics of bosentan in routinely treated Japanese pediatric patients with pulmonary arterial hypertension. 第46回日本小児循環器学会学術集会, 2010, 7, 7-10, 千葉.

⑨Taguchi M., Ibuki K., Saito K., Watanabe K., Hirono K., Kato Y., Horiuchi I., Ichida F., Hashimoto Y.: Effect of age and VKORC1 genotype on warfarin dose requirements in Japanese pediatric patients. The 3rd Congress of Asia-Pacific Pediatric Cardiac Society 2010, 7, 6-8, Chiba.

⑩石田和也, 真砂美希, 坂田淳平, 鷹合麻里, 堀江明日佳, 伊藤俊和, 田口雅登, 橋本征也: 腸上皮 LS180 細胞を用いたプロカインアミドの膜輸送特性解析. 日本薬剤学会第25年会, 2010, 5, 12-14, 徳島.

⑪真砂美希, 坂田淳平, 西條早紀, 鷹合麻里, 堀江明日佳, 伊藤俊和, 石田和也, 田口雅登, 橋本征也: 腎上皮 LLC-PK₁ および腸上皮 LS180 細胞におけるプロカインアミドの膜輸送機構解析. 日本薬学会第130年会, 2010, 3, 28-30, 岡山.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田口 雅登 (TAGUCHI MASATO)
富山大学・大学院医学薬学研究部(薬学)・
准教授
研究者番号: 20324056

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし