

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590182

研究課題名(和文)採血負荷の軽減を指向した小児薬物動態評価法の確立と循環器官用薬投与の最適化

研究課題名(英文)A simple method to evaluate pharmacokinetics in children with a reduced blood sampling and optimization of dosage of cardiovascular drugs.

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：我々はこれまでに、臨床薬物動態解析において一人あたり2回の採血デザインが有用であることを報告した。申請者が提唱する2回採血法は、従来法に比べて患者負荷が小さいため、こうした採血負荷の軽減とデータ解析法は、従来から企画・実施が困難とされる小児患者を対象とする臨床薬物動態研究への応用が期待される。今回我々は体内動態特性が異なる2種類の循環器官用薬(フレカイニドおよびタダラフィル)の臨床薬物動態試験を通じて、小児における薬物動態とその変動性を定量的に評価可能である事を示した。さらに、基礎研究によって薬物体内動態変動機構の裏付けとなる基礎的な知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：There is a limited number of reports documenting the pharmacokinetics of cardiovascular drugs in children. One of the reasons is that frequent blood sampling in children is physically and ethically very difficult. On the other hand, we previously reported that the peak-and-trough sampling design is useful for the clinical repeated-dose pharmacokinetic trials. In this study, we evaluate the pharmacokinetic variability of flecainide and tadalafil in Japanese pediatric patients by the application of the recently developed method. A large interindividual variability was observed in plasma concentrations of flecainide, and the estimated values of oral clearance (CL/F) correlated highly with those of apparent volume of distribution (V/F). The mean CL/F and V/F values of tadalafil were 0.149 L/hr/kg and 1.87 L/kg, respectively, which were higher than those reported in adults. These efforts could provide an important basis for the proper use of cardiovascular drugs in children.

研究分野：医療薬学

キーワード：小児 フレカイニド タダラフィル 薬物動態評価法 循環器官用薬 個別投与設計

1. 研究開始当初の背景

臨床薬物動態評価を行う際、モーメント解析やコンパートメントモデル解析のような標準的試験法では、動態パラメータを得るため数名から十数名の被験者において経時的多数回の採血が必要となる。従って、薬物動態に及ぼす成長や加齢、腎機能、肝機能、あるいは薬物併用の影響を評価する場合には、小児、高齢者、腎疾患患者、肝疾患患者や薬物併用患者でも多数回の採血デザインで臨床試験を行い、薬物動態パラメータを対照群（成人健常者）と比較する必要がある。こうした試験法は、倫理・経済的な問題点が多い。申請者は2002年頃から非線形混合効果モデル（NONMEM）を用いた母集団薬物動態（PPK）解析と PPK パラメータを事前情報としたベジアン解析の手法を取り入れ、一人当りの採血点が少なくても良い薬物動態の解析法を考案し、主として循環器官用薬物の体内動態変動機構評価を目的とする探索的臨床試験に適用してきた。さらに近年、薬物連投時の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、この方法の臨床薬物動態評価における有用性をコンピュータシミュレーションによって確認した。我々は、薬物療法の個別化を推進するためには、このような患者負担が少ない少数採血デザイン、およびデータ解析法を積極活用し、方法論の確立を図る必要があると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、これまでの研究成果を踏まえ、ピーク・トラフ2点採血デザインとデータ解析法を発展させることを目的とした。具体的には、 Na^+ チャネル阻害薬フレカイニド（抗不整脈薬）および5型ホスホジエステラーゼ阻害薬タダラフィル（肺血管拡張薬）に着目し、小児・新生児を対象とした中・小規模の臨床薬物動態試験を企画・実施した。一般に薬物の消失が成人よりも速やかで個体差が大きい小児集団においても2点採血デザインが実用可能であることを検証するとともに、血中濃度の実測値と予測値の差からパラメータ推定精度の評価も行った。また我々は、得られた医薬品情報を速やかに医療現場へ還元する一方、臨床薬物動態特性と個体間変動機構の裏付けとなる基礎的知見を得るため、各種培養細胞株やヒト肝ミクロソーム等を用いた基礎研究を実施した。

3. 研究の方法

主に以下の(1)～(3)の研究を行った。

(1)フレカイニドの体内動態変動機構解析：フレカイニドの代謝にはCYP2D6とCYP1A2が関与する。一方、日本人ではCYP2D6の活性低下を伴う遺伝子多型（CY2D6*10）が高頻度に検出される事に加え、小児期ではチトクロ

ームP450（CYP）1A2の活性が大きく変動する事が知られている。そこで我々は、治療のためにフレカイニドを服用中であった日本人小児患者16名を対象として、フレカイニドの経口クリアランス（CL/F）の変動性を定量的に評価する目的で2点採血デザインに基づく臨床薬物動態試験を行った。また、フレカイニドの小腸および腎尿細管における細胞膜輸送機構を明らかにするため、3種類の培養細胞株（LLC-PK₁, LLC-GA5-COL150, LS180）を用いた薬物輸送実験を行った。

(2)小児患者集団におけるタダラフィルの体内動態変動性評価：タダラフィルはシルデナフィルに比べて半減期が長く、PDE5選択性が高いとされるが、小児における体内動態・安全性に関する情報は少ない。一方最近、小児肺高血圧症例においてシルデナフィルの高用量長期投与群において生命予後が悪い事が報告された。そこで、小児患者におけるタダラフィルの体内動態の実態を明らかにし、至適投与方法確立のための基礎情報を得る目的で、病態が安定した小児患者23名（年齢 3.6 ± 4.5 歳）から同意を得て、2点採血デザインに基づく臨床薬物動態試験を行った。

(3)ヒトP450におけるタダラフィルの代謝速度論的評価：肝代謝酵素チトクロームP450（CYP）3Aによる脱メチレン代謝は、タダラフィルの推定主要消失経路であるが、この第一相反応に関与するP450分子種の詳細は不明である。また我々は、上記(2)の結果、小児肺高血圧症患者集団におけるタダラフィルの体内動態に大きな個体差がある事を見出した。そこで我々は、CYP3A4/5活性の個体差がタダラフィルの体内動態変動に関与する可能性を考え、脱メチレン代謝に対するCYP3A4/5の寄与を検討するとともに、その代謝特性評価を行った。

4. 研究成果

(1)フレカイニドの体内動態変動機構解析：研究協力への同意が得られた16症例の小児不整脈患者からピーク・トラフ2点採血データを得た。経口クリアランス（CL/F）、および見かけの分布容積（V/F）に大きな個体差が認められた。体重で補正したCL/F値には成長・発達の影響が認められたのに対し、V/F値の場合は系統的影響は認められなかった。さらに、各種培養細胞株を用いた検討の結果、フレカイニドの尿細管分泌にはP-糖蛋白質が、消化管吸収には未同定のH⁺/三級アミン対向輸送系が少なくとも一部関与する事が示唆された。これらの基礎的知見に基づく、肝代謝だけでなく、腎臓や小腸の薬物輸送担体の活性/発現変動が臨床におけるフレカイニドのクリアランス（CL）やバイオアベイラビリティ（F）の個体間変動に寄与する可能性が考えられた。

(2)小児患者集団におけるタダラフィルの体内動態変動性評価：23症例におけるタダラフ

イルの平均投与量は 0.97 ± 0.41 mg/kg/day であり、うち 16 症例がボセンタン併用患者であった。ピーク時における総濃度と遊離型濃度においてそれぞれ最大 9 倍、25 倍の個体差が観察された。CL/F の平均値は 0.14 ± 0.07 L/hr/kg と成人報告値よりも高い値であった。体内動態パラメータに及ぼす年齢、併用薬などの影響因子を特定するには至らなかったが、血漿蛋白結合率が体内動態の個体間変動に一部関与すると推察された。また、血漿中遊離型薬物濃度は、個体差が大きいものの全ての症例で in vitro における PDE5 阻害作用の IC_{50} 値 ($2 \sim 4$ nM) より高い事が明らかとなった。

(3) タダラフィルの代謝速度論的解析：市販のヒト P450 発現系ミクロソームを用いて Desmethylene tadalafil の生成活性を評価したところ、脱メチレン代謝反応には CYP3A4/5 の両方が関与する事が明らかとなった。より詳細には、CYP3A4 と CYP3A5 のどちらにおいても desmethylene tadalafil の生成が認められたが、CYP3A4 の Eadie-Hofstee プロットは明らかな二相性を示した。CYP3A4 と CYP3A5 発現系における $CL_{int}(V_{max}/K_m)$ 値は、sigmoidal model でそれぞれ 0.124 、 0.059 μ L/min/pmol P450 と算出され、CYP3A4 優位と考えられた。また、CYP3A によるタダラフィルの代謝反応は two binding sites model によって説明可能な負の協調性を示す事が明らかとなった。

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 7 件)

Takahiro R, Nakamura S, Kohno H, Yoshimura N, Nakamura T, Ozawa S, Hirono K, Ichida F, Taguchi M.: Contribution of CYP3A isoforms to dealkylation of PDE5 inhibitors: a comparison between sildenafil N-demethylation and tadalafil demethylation. Biol Pharm Bull, 38, 58-65(2015).

Kohno H, Ichida F, Hirono K, Ozawa S, Yoshimura N, Nakamura T, Akita C, Ishida K, Taguchi M.: Plasma concentrations of tadalafil in children with pulmonary arterial hypertension. Ther Drug Monit. 36, 576-83(2014).

Horie A, Ishida K, Shibata K, Taguchi M, Ozawa A, Hirono K, Ichida F, Hashimoto Y.: Pharmacokinetic variability of flecainide in younger Japanese patients and mechanisms for renal excretion and intestinal absorption. Biopharm Drug Dispos. 35, 145-53(2014).

Fukao M, Ishida K, Horie A, Taguchi M, Nozawa T, Inoue H, Hashimoto Y.: Variability of bioavailability and

intestinal absorption mechanisms of metoprolol. Drug Metab Pharmacokinet. 29, 162-7(2014).

Yamaura S, Fukao M, Ishida K, Taguchi M, Hashimoto Y.: Effect of chronic hypoxic hypoxia on oxidation and glucuronidation of carvedilol in rats. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 39, 53-9(2014).

Ishida K, Horie A, Nishimura M, Taguchi M, Fujii N, Nozawa T, Inoue H, Hashimoto Y.: Variability of bioavailability and intestinal absorption characteristics of bisoprolol. Drug Metab Pharmacokinet. 28, 491-6(2013).

Ishida K, Fukao M, Watanabe H, Taguchi M, Miyawaki T, Matsukura H, Uemura O, Zhang Z, Unadkat JD, Hashimoto Y. Effect of salt intake on bioavailability of mizoribine in healthy Japanese males. Drug Metab Pharmacokinet. 28, 75-80(2013).

〔学会発表〕(計 11 件)

中村早稀, 高広理佳子, 関本 真, 渡辺 直, 廣野恵一, 市田路子, 田口雅登. ヒト肝ミクロソームの CYP3A 活性に及ぼすタダラフィルとその代謝物の影響. 第 135 回日本薬学会年会, 2015, Mar 25-28; 神戸.

田口雅登, 蒲沼美里, 高広理佳子, 當山貴和子, 渡邊柚梨, 星野顕宏, 野村恵子, 金兼弘和, 足立雄一. 小児の同種造血幹細胞移植患者におけるタクロリムスの血中濃度モニタリングとバイオアベイラビリティの個体内変動. 第 31 回日本 TDM 学会・学術大会, 2014, May 31-Jun 1; 東京.

高広理佳子, 田口雅登, 中村早稀, 河野寛之, 石田和也, 秋田千里, 中村常之, 芳村直樹, 小澤綾佳, 廣野恵一, 市田路子. タダラフィルの脱メチレン代謝に関する P450 分子種 の速度論的解析. 第 134 回日本薬学会年会, 2014, Mar 27-30; 熊本.

田口雅登, 高広理佳子, 中村早稀, 河野寛之, 石田和也, 秋田千里, 中村常之, 芳村直樹, 小澤綾佳, 廣野恵一, 市田路子. タダラフィルの脱メチレン代謝に関する P450 分子種 の速度論的解析. 第 20 回日本小児肺循環研究会, 2014, Feb 1; 東京.

田口雅登, 河野寛之, 高広理佳子, 石田和也, 秋田千里, 中村常之, 芳村直樹, 小澤綾佳, 廣野恵一, 市田路子. 経口肺血管拡張薬タダラフィルの小児における体内動態. 第 23 回日本医療薬学会年会, 2013, Sep 21-22; 仙台.

河野寛之, 高広理佳子, 石田和也, 田口雅登, 秋田千里, 中村常之, 芳村直樹, 廣野恵一, 市田路子. 小児肺高血圧症患者におけるタダラフィルの体内動態解析. 医療薬学フォーラム 2013, 2013, Jul 20-21; 金沢.

堀江明日佳, 石田和也, 田口雅登, 橋本征也, 小澤綾佳, 廣野恵一, 市田路子. 培養上皮細胞を用いたフレカイニドの腎排泄・消化

管吸収機構 . 日本薬剂学会第 28 年会, 2013, May 23-25 ; 名古屋 .

堀江明日佳, 西邑麻希, 石田和也, 田口雅登, 橋本征也, 藤井望, 能澤孝, 井上博 . ビソプロロールの消化管吸収特性とバイオアベイラビリティ変動性評価 . 日本薬学会第 133 年会, 2013, Mar. 27-30 ; 横浜 .

Fukao M, Ishida K, Taguchi M, Nozawa T, Inoue H, Hashimoto Y. Variability of bioavailability and intestinal absorption mechanisms of metoprolol. 日本薬物動態学会第 28 回年会, 2013, Oct 9-11 ; 東京 .

Horie A, Ishida K, Shibata K, Taguchi M, Ozawa A, Hirono K, Ichida F, Hashimoto Y. Pharmacokinetic variability of flecainide in younger Japanese patients and mechanisms for renal excretion and intestinal absorption. 日本薬物動態学会第 28 回年会, 2013, Oct 9-11 ; 東京 .

Ishida K, Fukao M, Takabayashi M, Taguchi M, Itoh H, Hashimoto Y. Variability of bioavailability of mizoribine in healthy males and mechanisms of barrier function for intestinal absorption. 日本薬物動態学会第 28 回年会, 2013, Oct 9-11 ; 東京 .

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)
研究者番号 : 20324056

(2)研究分担者

市田 蒞子 (ICHIDA FUKIKO)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)
研究者番号 : 30223100

齋藤 和由 (SAITO KAZUYOSHI)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)
研究者番号 : 30566097

廣野 恵一 (HIRONO KEIICHI)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)
研究者番号 : 80456384

石田 和也 (ISHIDA KAZUYA)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (薬学)
研究者番号 : 90550509

(3)連携研究者

なし