

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590661

研究課題名(和文)医薬品に対する応答性の民族差を生じさせる要因は何か? : 東アジア国際共同研究

研究課題名(英文)What factors affect the ethnicity in drug response?: East Asian collaborative study

## 研究代表者

小手川 勤 (Kotegawa, Tsutomu)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：20264343

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):近年注目されている薬物トランスポーターに着目して日中韓で共同研究を行い、薬物の体内動態に及ぼす遺伝的要因だけでなく、食習慣に起因する外的要因の民族差への関与を明らかにすることを目的とした。遺伝子多型に比較すると、はるかに大きな食品・飲料の影響を認めた。内的要因としての遺伝子多型では説明できない薬物動態の民族差も明らかになった。外的要因の民族差への影響について、一層の研究が必要であると考えられた。

研究成果の概要(英文):The aim of this study is to elucidate the effect of the genetic variations (intrinsic factor) of drug transporters, and the effect of food/drink (extrinsic factor) on drug disposition and response in Japanese, Korean and Chinese population. The results showed a marked effect of food/drink as compared to genetic variations. In addition, ethnic differences, which are difficult to be explained by genetic variations, were found. Further studies regarding extrinsic factors in relation to drug disposition and response are necessary.

研究分野：臨床薬理学

キーワード：医薬品応答性 東アジア 民族差 遺伝子多型 外的要因

1. 研究開始当初の背景

近年、グローバル臨床試験(国際共同臨床試験)が注目されているが、特に、発展著しいアジアの位置づけは年々大きくなってきている。これは、日本を含めた東アジア地域を一つの地域とすることで、効率的にグローバル試験が実施できる可能性があるからである。しかし、アジア諸民族での医薬品の応答性に関する民族差についての科学的な検証は、十分なされているとは言えない。

医薬品への応答性の民族差に影響する要因は、内的要因(遺伝的要因、体格など)と外的要因(食習慣、医療習慣など)に分けることができる。この中で、内的要因、特に遺伝的要因については、チトクロームP450(CYP)や薬物トランスポーターなどを中心に多くの研究が行われつつある。しかし、外的要因について着目した研究は少ない。実際、世界的に広く用いられているHMG-CoA還元酵素阻害薬(スタチン系薬物)において、同じアジア人の中でも、遺伝的要因だけでは説明できない薬物動態の差があること示されている。

グレープフルーツで良く知られているように、外的要因として食品の影響は大きい。近年、アップルやオレンジも著しい影響があることが示され、申請者の研究でも、アップルジュースが抗ヒスタミン薬の血中薬物濃度を著しく低下させることが明らかになった。さらに、アップルなどの果実、茶、野菜に多く含まれるケルセチン、ヘスペリジンなどのフラボノイドがこのような相互作用の原因成分であることも明らかにされている。フラボノイドの摂取量は民族により大きな差があり、ケルセチン等のフラボノール摂取量は日本人で多く、その差は日米で約5~6倍、日韓で2~3倍の差がある。

今後、グローバル臨床試験を適切に行う上で、民族差の要因をあらかじめ十分に検討することは必須であり、そのためにも遺伝的要因に加えて外的要因を明確にする研究が求められる。

2. 研究の目的

本研究では、近年注目されている薬物トランスポーターに着目して日中韓で共同研究を行い、薬物の体内動態に及ぼす遺伝的要因だけでなく、食習慣に起因する外的要因の民族差への関与を明らかにすることを目的として以下の研究を行った。

研究1 薬物動態に影響するフルーツジュース含有成分の研究

研究2 アセプトロールの薬物動態および薬効に及ぼすOATP2B1のc.1457C>T遺伝子多型とアップルジュースの影響: 健常人を対象としたオープンラベル、単回投与、ランダム化、クロスオーバー試験

研究3 セフチゾキシムの薬物動態に及ぼすMRP4の遺伝子多型 rs3765534 G>Aの影響: 健常人を対象とした多施設共同、オープンラベル、単回投与試験(研究の背景、目的は添付の研究計画書を参照)

研究4 フェキソフェナジンの体内動態に及ぼすアップルジュースの投与タイミングの影響: 健常人を対象としたオープンラベル、ランダム化試験(研究の背景、目的は添付の研究計画書を参照)

3. 研究の方法

研究1

測定物質:

- 1) Quercetin
- 2) Quercetin 配糖体
- 3) Quercetin-3-glucoside
- 4) Quercetin-3-rhamnoside
- 5) Quercetin-3-D-galactoside

測定方法: 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)条件は以下の通り。

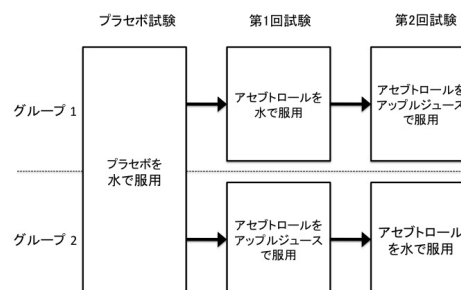
- 1) ポンプ: TOSOH DP-8020
- 2) カラム: Phenomenex LUNA 5U C18(2) 100A  
(粒径5µm 内径4.6mm x 長さ250mm)
- 3) カラム温度: 35
- 4) 移動相: グラジエント法  
A液) 酢酸: 2mM 酢酸ナトリウム buffer(pH2.55) = 6 : 94  
B液) 100%アセトニトリル
- 5) 流速: 1.0 ml/min
- 6) 検出器: UV 検出器(Agilent VWD G4290B) 波長 360nm

対象としたアップルジュースのブランド:

- 1) 「Welch's」アップル100(カルピス)
- 2) Dole®アップル100%(雪印メグミルク)
- 3) ミニッツメイド 朝の健康果実® レッド&グリーンアップル100%(明治)
- 4) トロピカーナ フルーツxフルーツアップル(キリンビバレッジ)
- 5) サンキスト®100%アップル(森永乳業)
- 6) パヤリース ホテルブラックファーストアップル100(アサヒ飲料)
- 7) アップルジュース(ヤクルト)

研究2

試験デザイン: オープンラベル、ランダム化、クロスオーバー比較試験



被験者：日本、韓国ともに、それぞれ8名の健常成人被験者(内訳は以下の通り)とする。なお、NAT2 に関しては全員 NAT2 \*4/ \*4 とする。

OATP2B1 遺伝子型	被験者数	
	韓国	日本
1457CC (*1/*1)	4	4
1457TT (*3/*3)	4	4

試験薬：

アセプトロール 200mg を含有するカプセル：  
アセタノール®カプセル 200(サノフィ・アベンティス株式会社)

プラセボ：

日本薬局方カプセル 2号(直径と長さがアセタノールカプセルとほぼ同じ)に乳糖を充填したもの

試験で用いる飲料：

アップルジュース：Welch's 社製 100%アップルジュース(同一ロット)

水：DANONE 社製ミネラルウォーター Volvic®

試験薬投与：

プラセボあるいはアセプトロールを含有する1カプセルを300mLの水あるいはアップルジュースとともに投与する。投与0.5および1時間後に、それぞれ150mLずつ水あるいはアップルジュースを追加投与する(合計600mL)。

評価項目：

薬物動態：血漿中および尿中アセプトロールと代謝物(diacetrolol)濃度から以下のパラメーターを算出

- ・最高血漿中濃度(Cmax)
- ・最高血漿中濃度到達時間(tmax)
- ・測定可能濃度までの血漿中薬物濃度-時間曲線下面積(AUClast)
- ・投与後無限大時間までの血漿中薬物濃度-時間曲線下面積(AUC)
- ・消失半減期(t1/2)
- ・分布容量(Vd/F)
- ・クリアランス(CL/F)
- ・腎クリアランス(CLren)

薬力学評価：血圧、脈拍数

### 研究3

試験デザイン：オープンラベル、単回投与試験

被験者：

中国(北京協和大学病院)、韓国(ソウル国立大学病院)、日本(大分大学医学部附属病院総合臨床研究センター、九州大学先端医療イノベーションセンター)における被験者は、以下の通りとする。

遺伝子型	被験者数		
	中国	韓国	日本
rs3765534 G/G	6	6	6
rs3765534 G/A	4	4	4
rs3765534 A/A	1~2	1~2	2~4

遺伝子型	日本における被験者数	
	大分大学	九州大学
rs3765534 G/G	4	2
rs3765534 G/A	3	1
rs3765534 A/A	1~2	1~2

試験薬：

注射用セフチゾキシムナトリウム(製造：韓国 Chong Kun Dang Pharmaceutical Corp.)

試験薬投与：

セフチゾキシムナトリウム 0.5g を一定速度で30分間かけて静脈内投与

評価項目：

血清および尿中セフチゾキシム濃度から以下のパラメーターを算出

- ・最高血清中濃度(Cmax)
- ・最高血清中濃度到達時間(tmax)
- ・測定可能濃度までの血清中薬物濃度-時間曲線下面積(AUClast)
- ・投与後無限大時間までの血清中薬物濃度-時間曲線下面積(AUC)
- ・消失半減期(t1/2)
- ・分布容量(Vd)
- ・全身クリアランス(CLtot)
- ・腎クリアランス(CLren)

### 研究4

試験デザイン：

無作為割り付け、オープンラベル、ラテン方格デザイン。健常人ボランティアを下記の、あるいはの4群のいずれかに無作為に割り付ける。各試験の間の休薬期間は1週間以上とする。

群	試験1	試験2	試験3	試験4
A	B	D	C	
B	C	A	D	
C	D	B	A	
D	A	C	B	

条件 A~D は以下の通り

A: 水のみでフェキソフェナジンを投与

B: アップルジュースと同時にフェキソフェナジンを投与

C: アップルジュース投与 1 時間後にフェキソフェナジンを投与

D: アップルジュース投与 3 時間後にフェキソフェナジンを投与

	08:00	10:00	11:00
薬剤投与			
条件 A	水	水	水
条件 B	水	水	AJ
条件 C	水	AJ	水
条件 D	AJ	水	水

\* 水あるいはアップルジュース(AJ)の負荷量はそれぞれ 300mL (合計 900mL)

試験薬:

塩酸フェキソフェナジン 60mg を含有する薬剤: アレグラ® (サノフィ株式会社)

試験薬の投与方法:

割付けに従って、水あるいはアップルジュース 300mL とともに塩酸フェキソフェナジン 60mg を含有する錠剤を 1 錠投与する。

評価項目:

血漿中フェキソフェナジン濃度から以下のパラメーターを算出

- ・最高血漿中濃度 (Cmax)
- ・最高血漿中濃度到達時間 (tmax)
- ・測定可能濃度までの血漿中薬物濃度-時間曲線下面積 (AUClast)
- ・投与後無限大時間までの血漿中薬物濃度-時間曲線下面積 (AUC)
- ・消失半減期 (t1/2)
- ・みかけの分布容量 (Vd/F)
- ・みかけの全身クリアランス (CL/F)

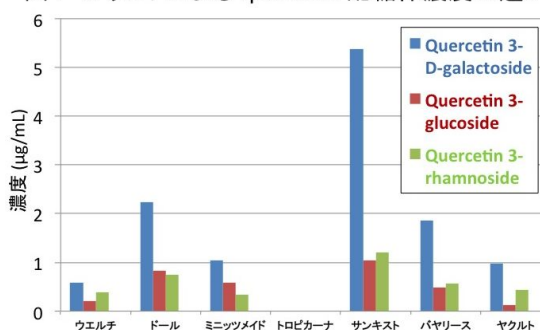
#### 4. 研究成果

##### 研究 1 の結果

アップルジュース中に含有される quercetin およびその配糖体の濃度を HPLC にて測定した。検量線は良好な直線性を示した。本測定法の精度については、quercetin 配糖体 0.1µg/ml を 5 回測定した際の変動係数 (CV, %) が FDA 基準の定量下限値 (LOQ) 20% 以下であった。

今回測定した 7 種類の apple juice のうち、2 種類で aglycone のピークが検出できたが定量限界以下 (0.1µg/ml) であった。3 種類の配糖体は、ほとんどのアップルジュースで検出・定量できた。Quercetin の aglycone や配糖体の濃度は、アップルジュースのブランドによって大きく異なっていた (図 1)。

図 1 ブランドによる quercetin 配糖体濃度の違い



##### 研究 2 の結果

アップルジュースは、acebutolol およびその代謝物 diacetolol の最高血漿中濃度 (Cmax)、血漿中薬物濃度-時間曲線下面積 (AUC) および尿中排泄量 (Ae) を有意に低下させた (図 2)。またアップルジュースは acebutolol と diacetolol の代謝比 (Metabolic ratio: diacetolol AUC / acebutolol AUC) を有意に低下させた。この metabolic ratio は、日本人に比べて韓国人の方が有意に低かった (図 3)。

OATP2B1 の遺伝子多型は acebutolol および diacetolol の薬物動態に有意の影響を与えなかった。

アップルジュース飲用時は、acebutolol による心拍数の低下が有意に減弱していた (図 4)。

図 2 Acebutolol およびその代謝物 diacetolol の血漿中濃度-時間曲線下面積: アップルジュースの影響

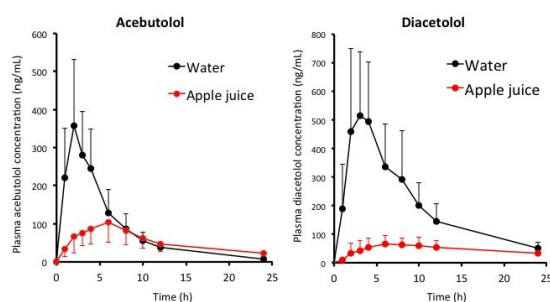


図 3 Acebutolol およびその代謝物 diacetolol の metabolic ratio: アップルジュースの影響と民族差

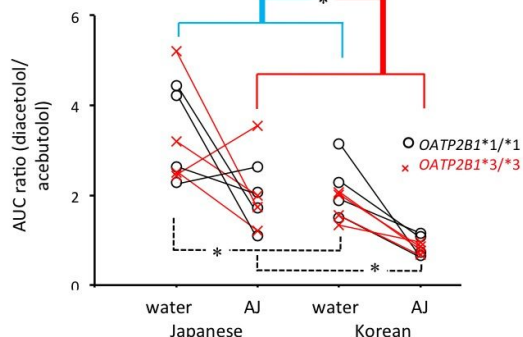
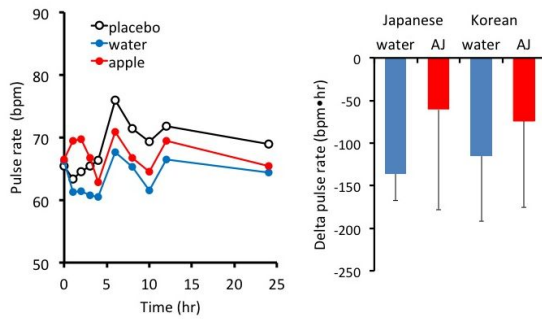


図4 Acebutololによる脈拍の変化に及ぼすアップルジュースの影響



### 研究3の結果

Ceftizoxime 静脈内投与後の AUC は、日本人、中国人に比較して、韓国人において有意に低下していた(表1)。しかし、MRP4 の遺伝子型による有意の差は認めなかった。

表1 Ceftizoximeの薬物動態値：日本人、韓国人、中国人の比較

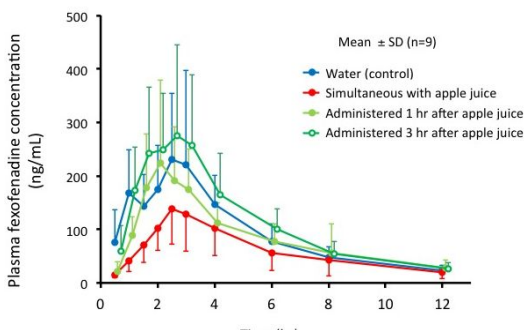
	Japanese (N=14)	Korean (N=11)	Chinese (N=10)	ANOVA P-value	t-test P-value [Wilcoxon rank-sum test (Japanese and Korean)]
AUCINF_obs (hr*ug/mL)	64.18 ± 10.76	50.89 ± 5.71	61.76 ± 9.41	0.003	0.0007
AUClast (hr*ug/mL)	63.50 ± 10.70	50.45 ± 5.59	61.31 ± 9.29	0.003	0.0008
Cl_obs (L/hr)	7.98 ± 1.26	9.96 ± 1.37	8.28 ± 1.35	0.002	0.0013
Cmax (ug/mL)	38.36 ± 7.77	28.40 ± 4.09	39.60 ± 6.95	0.001	0.0005
T1/2 (hr)	2.06 ± 0.24	1.88 ± 0.18	1.85 ± 0.22	0.043	0.0365
Kc (1/hr)	0.34 ± 0.04	0.37 ± 0.03	0.38 ± 0.05	0.043	0.0326
MRTINF_obs (hr)	1.97 ± 0.21	1.95 ± 0.21	1.83 ± 0.21	0.246	0.8486
MRTlast (hr)	1.83 ± 0.16	1.84 ± 0.17	1.74 ± 0.18	0.32	0.8226
Tmax (hr)	0.5 (0.5-0.5)	0.50 (0.25-0.5)	0.50 (0.5-0.5)	-	[0.0178]
Vss_obs (L)	15.74 ± 3.16	19.32 ± 2.25	15.08 ± 2.58	0.002	0.0031
Vz_obs (L)	23.90 ± 5.57	26.85 ± 3.60	22.02 ± 3.64	0.059	0.1221

mean ± SD or median (min-max)

### 研究4の結果

Fexofenadine の血漿中濃度時間曲線下面積は、アップルジュースとの同時併用により有意に低下した。しかし、アップルジュース飲用後1時間および3時間に fexofenadine を投与した場合は有意の変化を認めなかった(図5)。

図5 Fexofenadineの血漿中濃度一時間曲線：アップルジュースの影響



### 結果のまとめと考察

研究1では、アップルジュース製品間で、薬物動態に影響する成分の含有量が大きく異なることが示された。民族差に及ぼす外的要因としての食品・飲料の影響を研究する際

は、標準化あるいは統一化された食品・飲料を用いる必要があることが示され、研究2と4は、これを反映した研究計画のもとに実施された。

研究2で用いた acebutolol の薬物動態を規定する要因として、OATP2B1 と N-acetyltransferase 2 (NAT2) が挙げられる。この研究では、NAT2 wild type の被験者を選定して、OATP2B1 の遺伝子多型の影響を検討したが有意の影響は認めなかった。民族差については、韓国人では metabolic ratio が有意に低かった。一方、アップルジュースによって著明な血漿中薬物濃度の低下を認めた。この研究により、遺伝子多型では説明できない薬物動態の民族差があることが示された。また、外的要因としての食品・飲料の影響の大きさも明らかとなった。

研究3では、ceftizoxime 静脈内投与後の薬物動態を日本人、韓国人、中国人で比較し、その薬物動態に有意な民族差を認めた。一方、MRP4 の遺伝子多型については、有意な影響は認めなかった。MRP4 以外の薬物動態規定因子についても検討が必要であるが、遺伝的に近いと考えられるアジア民族の間にも薬物動態の民族差が存在することが、この研究でも明らかとなった。

研究4では、外的要因としての食品・飲料の摂取方法の影響を検討した。アップルジュースは fexofenadine の血漿中濃度を著明に低下させるが、その影響は投与タイミングを変えることによって最小化できることが示された。この結果は、今後の臨床試験の方法論、さらには臨床場面における薬物投与設計に寄与できると考えられた。

以上の研究成果をまとめると、今回検討した薬物においては、遺伝子多型に比較すると、はるかに大きな食品・飲料の影響が認められた。内的要因としての遺伝子多型では説明できない薬物動態の民族差も明らかになり、外的要因の民族差への影響について、一層の研究が必要であると考えられた。

### 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0件)

〔学会発表〕(計1件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
特になし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

小手川 勤 (Kotegawa, Tsutomu)  
大分大学・医学部・准教授  
研究者番号：20264343

##### (2) 研究分担者

( )  
研究者番号：

##### (3) 連携研究者

大橋京一 (Ohashi, Kyoichi)  
大分大学副学長  
研究者番号：20137714

今井 浩光 (Imai, Hiromitsu)  
大分大学・医学部・准教授  
研究者番号：30398250

堤 喜美子 (Tsutsumi, Kimiko)  
大分大学・医学部・助教  
研究者番号：20244171

大山 哲司 (Ohyama, Tetsuji)  
大分大学・医学部・助教  
研究者番号：60574085