

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460210

研究課題名(和文) ミコフェノール酸の薬物動態と薬効の速度論的解析と個別化投与設計

研究課題名(英文) Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Mycophenolic Acid and Individualized Therapy

研究代表者

矢野 育子 (Yano, Ikuko)

京都大学・薬学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50273446

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：無アルブミン血症ラットを用いて検討した結果、非結合型ミコフェノール酸(MPA)血中濃度が免疫抑制効果の指標となることが示された。また、シミュレーションの結果、同一血中濃度を目標にした場合に、MPAの非結合型分率の増加に応じて、非結合型濃度は直線的に増加するが、薬理活性のマーカーであるIMPDH活性の減少は非線形的であることが明らかとなった。

さらに、造血幹細胞移植患者から得られたMPA血中濃度及びIMPDH活性を用いて、速度論的解析を行った結果、腎機能障害時には蓄積した代謝物が腸肝循環する結果、MPA血中濃度が上昇することが明らかとなったが、IMPDHへの影響は限定的であることが示された。

研究成果の概要(英文)：The experimental data obtained from Nagase analbuminemic rats showed that the free mycophenolic acid (MPA) concentration was suitable for the biomarker of immunosuppressive effect of MPA. Simulations based on the obtained pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters showed that the pharmacological marker IMPDH activity decreased non-linearly according to the increase in free fraction of MPA, although the area under the concentration-time curve of free MPA increased linearly. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analyses using clinical data obtained from hematopoietic stem cell transplant patients showed that the decreased renal failure increased the MPA concentration by the increased enterohepatic circulation of the accumulated metabolite, but scarcely affected the pharmacological effects.

In conclusion, since the pharmacodynamics of MPA was non-linear, the increased MPA concentration has a limited effect on the pharmacological effects of MPA.

研究分野：医療薬学

キーワード：免疫抑制薬 母集団解析 M & S 造血幹細胞移植 ミコフェノール酸 IMPDH

1. 研究開始当初の背景

ミコフェノール酸はプロドラッグであるミコフェノール酸モフェチル(MMF)の活性体であり、*de novo* プリン生合成経路の律速酵素であるイノシンモノホスフェイト脱水素酵素(IMPDH)を特異的に阻害することで、免疫抑制効果を示す。体内に入ったMPAは肝臓で抱合反応を受け、大部分はフェノール性水酸基グルクロン酸抱合体(MPAG)に、また一部はアシルグルクロン酸抱合体(AcMPAG)に変換される。MPAGは薬理的に不活性であるが、AcMPAGは薬理活性を有し、MPAの薬効及び副作用との関連が示唆されているものの、詳細は不明である。また、これらグルクロン酸抱合体は腸肝循環を受け、シクロスポリン等のMRP2(multidrug resistance-associated protein 2)阻害剤の併用下ではMPAの血中濃度が低下することが知られている。さらに、MPAは血清蛋白結合率が高いため、蛋白非結合型分率の変化に伴う薬物動態に加えて、薬効の変動が考えられる。

これらの薬物動態プロファイルから、海外を中心に、MPA血中濃度モニタリングの必要性が指摘されていたが、日本でも2012年4月の診療報酬改定によって特定薬剤治療管理料の対象となった。しかし、MPAの血中濃度モニタリングについては、AUC(area under the curve)モニタリングの必要性や、代謝物や非結合型MPA(freeMPA)濃度測定の意義等未だ明らかでない点が多く、MPAの個別化投与設計法が確立されているとはいえない状況である。さらに、腎移植領域においてはMPAの血中濃度モニタリングに加えて、薬効のターゲットであるIMPDH活性を測定し、臨床アウトカムとの関連解析が試みられているが、その科学的エビデンスは十分とは言えない。

造血幹細胞移植は造血器悪性疾患に対する根治的な治療法であり、移植後はドナー細胞が移植患者の細胞を非自己として攻撃するGVHD(graft versus host disease)と、移植患者によるドナー細胞の拒絶によって起きる生着不全の予防を目的に免疫抑制剤の投与が必須となる。臓器移植領域におけるMPAの有効性を受け、近年、造血幹細胞移植後の免疫抑制療法としてメトトレキサートに代えてMPAをカルシニューリン阻害薬と併用するケースが増加している。しかしながら、造血幹細胞移植患者では血清アルブミン値が低下する場合も多く、MPAの薬物動態プロファイルは腎移植等の臓器移植患者と異なることも予想されるが、MPAの薬物動態変動因子及び至適血中濃度に関する情報は明らかにされていない。

2. 研究の目的

京都大学医学部附属病院では現在、造血幹細胞移植患者を対象にTDM用全自動測定器を用いたMPA血中濃度モニタリングを行っているが、MPAの薬物動態には大きな個体間

及び個体内変動が示され、好中球の生着抑制や急性GVHDの発症とMPA血中濃度との関連は明確にはなっていない。そこで本研究では、造血幹細胞移植患者を対象に、MPA及びその代謝物及び非結合型薬物血中濃度、アジア人で発現頻度が高い薬物動態及び薬効関連の遺伝子多型及び、IMPDH活性を網羅的に測定し、ポピュレーション薬物動態-薬効(PK-PD)解析の手法を行いた変動因子の抽出を行うとともに、これらパラメータと臨床アウトカムとの関連解析を行い、造血幹細胞移植患者における個別化投与設計法の確立を目的とする。

3. 研究の方法

(1) LC-MS/MSを用いたMPAとその代謝物及びIMPDH測定系の構築

MPA、MPAG、AcMPAG及びfreeMPAのLC-MS/MS同時測定系を構築し、測定感度と精度に関するバリデーションを行う。また、末梢血からFicoll-Hypaque法によって末梢血単核球(PBMC)を分離し、基質と補酵素を加えてインキュベートした後、キサントシンモノリン酸(XMP)とアデノシンモノリン酸(AMP)濃度を測定し、IMPDH活性測定系を新たに構築する。

(2) 低アルブミン血症モデルにおけるMPAのPK-PD解析

低アルブミン血症モデルである無アルブミン血症ラット(NAR)及び対照としてSDラットを用いて、MPA静脈内投与後のMPA、MPAG、AcMPAG、freeMPA血中濃度、及びIMPDH活性を測定し、モデル&シミュレーションの手法を用い、蛋白結合率が、MPAの薬物動態と薬効に及ぼす影響を定量的に評価する。

(3) 造血幹細胞移植患者におけるPK-PD解析

京都大学医学部附属病院血液腫瘍内科入院中の造血幹細胞移植患者を対象に、MMF経口投与開始1及び3週後に、服用後0, 1, 2, 4, 8時間に経時的な採血を行い、血清中のMPA、MPAG、AcMPAG、freeMPAの血漿中濃度と同時に、IMPDH活性を測定する。患者臨床検査値に加えて、MPAの薬物動態及び薬効関連の遺伝子多型が、MPAのPK-PDに与える影響についてポピュレーション/ファーマコゲノミクス解析を行う。また、急性GVHD発症等の臨床アウトカムとPK、PDパラメータとの関連解析を行う。

4. 研究成果

(1) LC-MS/MSを用いたMPAとその代謝物及びIMPDH測定系の構築

臨床使用濃度のMPA及びMPAG、AcMPAGについて、FDAのガイドラインに対応した良好な直線性と日内・日間再現性(精度及び確度)が得られた。臨床検体を用いて検討したところ、LC-MS/MS法による

MPA 血中濃度は、2種の TDM 用全自動測定器を用いた値と良好な対応を示したが、MPAG や AcMPAG 濃度の個体間変動は大きかった。また、IMPDH 活性の評価にあたっては、メタルフリーのカラムを用いることで、XMP を感度良く測定することに成功した。基質及び補酵素とのインキュベーション時間に対して XMP 生成量は直線的に増加する一方、AMP 濃度は一定値を示し、AMP による細胞数補正を用いた IMPDH 活性の評価が適正であることが示された。以上、造血幹細胞移植患者から得られる少量の PBMC を用いた測定にも対応可能な高感度の LC-MS/MS 測定系を構築した。

(2) 低アルブミン血症モデルにおける MPA の PK-PD 解析

MPA 血漿中濃度は、2-コンパートメントモデルに当てはめ、MPA は 1 次消失し、MPAG が生成されると仮定した。また、IMPDH 活性は遊離型濃度に基づくシグモイド Emax モデルを仮定した。遊離型分率は対照ラット及び NAR で、MPA について 2% と 25% であった。NONMEM 法による PK-PD 同時当てはめの結果、IMPDH 活性の阻害に対する遊離型 MPA 濃度の IC50 は 168 ng/mL で、NAR と対照ラットで同一の値を示した。一方、遊離型濃度に基づく PK パラメータにおいても、正常ラットと NAR で異なっていたことから、NAR においては血漿蛋白結合率の変化に加えて、組織移行性や薬物代謝に対照ラットと比べて相違があることが示唆された。さらに得られた PK-PD モデルを用いてシミュレーションを行ったところ、蛋白結合率は AUC に直線的に影響を与える一方、IMPDH 活性への影響は非線形的であることが示された。以上の結果から、低アルブミン血症を呈した患者における血中 MPA 濃度に基づく投与設計は、MPA の過剰曝露を引き起こす可能性があるものの、IMPDH を介した薬効への影響は限定的であることが示唆された。

(3) 造血幹細胞移植患者における PK-PD 解析

造血幹細胞移植患者 33 名から得られた MPA 及び代謝物の血漿中濃度と末梢血単核球中 IMPDH 活性を用いて、モデル解析を行った。血漿中 MPA 濃度は 1 次吸収 1-コンパートメントモデルを用い、1 次消失で MPAG 及び AcMPAG に代謝されると仮定した。血漿中 MPAG 及び AcMPAG 濃度は 1 次消失 1-コンパートメントモデルで近似し、MPAG の一部は腸肝循環を受けるとした。MPAG と AcMPAG の AUC の比から、MPA から MPAG への変換率は約 99% で、残りは AcMPAG に代謝されると仮定し、MPA、MPAG、AcMPAG 血漿中濃度を用いた NONMEM 法による PK 同時当てはめを行った。その後、逐次法で Emax モデルを用いたポピュレーション PD パラメータを算出した。その結果、MPAG の約 30% が腸肝循環を受けることが示され、腎

機能障害時には、代謝物のみならず、MPA 血中濃度が上昇するものの、IMPDH 活性への影響は限定的であることがシミュレーションにより明らかになった。一方、UGT2B7 802C>T 及び MRP2 -24C>T 遺伝子多型と PK パラメータとの関連は明らかではなかった。

さらに、収集したデータを元にロジスティック回帰分析を行った結果、grade2 以上の GVHD 発症にはドナー レシピエント間における ABO 主不適合が大きく関係することが示唆された。今後、目標症例数に達した後、MPA の PK-PD パラメータと臨床アウトカムの関連について検討する予定である。

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 Yoshimura K., Yano I., Kawanishi M., Nakagawa S., Yonezawa A., Matsubara K. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolic acid in Nagase analbuminemic rats: Evaluation of protein binding effects using the modeling and simulation approach. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 30(6): 441-448 (2015), 査読有
DOI: 10.1016/j.dmpk.2015.10.004
- ② Kawanishi M., Yano I., Yoshimura K., Yamamoto T., Hashi S., Masuda S., Kondo T., Takaori-Kondo A., Matsubara K. Sensitive and validated LC-MS/MS methods to evaluate mycophenolic acid pharmacokinetics and pharmacodynamics in hematopoietic stem cell transplant patients. *Biomed. Chromatogr.*, 29(9): 1309-1316 (2015), 査読有
DOI: 10.1002/bmc.3423
- ③ Arai Y., Kondo T., Kitano T., Hishizawa M., Yamashita K., Kadowaki N., Yamamoto T., Yano I., Matsubara K., Takaori-Kondo A.: Monitoring mycophenolate mofetil is necessary for the effective prophylaxis of acute graft versus host disease after cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 50(2): 312-314 (2015), 査読有
DOI: 10.1038/bmt.2014.258

[学会発表](計 6 件)

- ① 吉村和晃、矢野育子、川西美咲、山本 崇、兼吉真千子、米澤 淳、近藤忠一、高折晃史、松原和夫. 造血幹細胞移植患者におけるミコフェノール酸の母集団 PK-PD 解析. 第 36 回日本臨床薬理学会学術総会、2015 年 12 月 9-11 日、京王プラザホテル(東京都)
- ② 矢野育子. 臨床現場での個別化投与設計に

活かすファーマコメトリクス 第 36 回日本臨床薬理学会学術総会、2015 年 12 月 9-11 日、京王プラザホテル（東京都）

- ③ 矢野育子 .免疫抑制剤の PK-PD 解析と個別化投与設計 .医療薬学フォーラム 2015/第 23 回クリニカルファーマシーシンポジウム、2015 年 7 月 4-5 日、名古屋国際会議場（愛知県）
- ④ Yoshimura K., Yano I., Kawanishi M., Matsubara K. Effect of protein binding on pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolic acid using a population-modeling approach. The 29th JSSX/19th NA ISSX Joint Meeting, 2014 年 10 月 19-23 日, San Francisco (USA)
- ⑤ 吉村和晃、矢野育子、川西美咲、松原和夫 .無アルブミン血症ラットにおけるミコフェノール酸の薬物動態と薬効 .医療薬学フォーラム 2014/第 22 回クリニカルファーマシーシンポジウム、2014 年 6 月 28-29 日、ビッグサイト TFT ホール（東京都）
- ⑥ 川西美咲、吉村和晃、山本崇、端幸代、増田智先、松原和夫、矢野育子 . LC-MS/MS を用いたミコフェノール酸血中濃度及び薬効モニタリング法の構築 . 医療薬学フォーラム 2013/第 21 回クリニカルファーマシーシンポジウム、2013 年 7 月 20-21 日、石川県立音楽堂（石川県）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

矢野 育子 (YANO, Ikuko)

京都大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号 : 5 0 2 7 3 4 4 6

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし