

マイクロドーズ臨床試験を活用した 革新的創薬技術の開発

目次

- (1) 多数の臨床研究を包括するプロジェクトにおける倫理と被験者保護
栗原千絵子, 福島芳子, 伊藤久裕, 平田智子, 稲野彰洋, 杉山雄一
- (2) マイクロドーズ臨床試験と *in vitro* 試験に基づく, トランスポーターにおける
遺伝子多形・薬物間相互作用が関与する薬物動態変動の予測
杉山雄一, 前田和哉, 吉田健太, 高野順一, 渡邊貴夫, 家入一郎,
熊谷雄治, 楠原洋之
- (3) MDR1 基質のヒトにおける薬物動態非線形性の非臨床データによる予測
熊谷雄治, 山崎 晃, 池田康彦, 藤田朋恵, 亀井憲康, 前田和哉,
楠原洋之, 山下伸二, 小山泰永, 野沢耕平, 杉山雄一
- (4) 静注および経口カセット投与による経口吸収率の評価
山下伸二, 政岡祥江, 片岡 誠, 佐久間信至, 須崎友紀, 今井浩光,
小手川 勤, 森本卓哉, 大橋京一, 稲野彰洋, 杉山雄一
- (5) AMS と LC/MS/MS 融合法によるヒト代謝物の同定
戸塚善三郎, 野沢耕平, 濱邊好美, 生島一平, 杉山雄一, 池田敏彦
- (6) 炭素 14 標識化合物を用いたヒト PK, 代謝体解析
稲野彰洋, 野沢耕平, 池田敏彦, 杉山雄一

日本薬物動態学会第24回年会

日 時：2009年11月27日(金)・28日(土) 9時～18時
会 場：国立京都国際会館 アネックスホール
〒606-0001 京都市左京区宝ヶ池 TEL:075-705-1234

NEDO プロジェクトの成果発表：Drug discovery (一般演題 Oral Session)

日 時：2009年11月29日(日) 9時～11時
会 場：国立京都国際会館 Room A

マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬技術の開発 (1)

多数の臨床研究を包括するプロジェクトにおける倫理と被験者保護

栗原千絵子^{1, 2}, 福島芳子², 伊藤久裕¹, 平田智子¹, 稲野彰洋¹, 杉山雄一³

¹ 医薬品開発支援機構 NEDO 研究プロジェクト部門

² 放射線医学総合研究所

³ 東京大学大学院薬学系研究科

【目的】

「マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬技術の開発」プロジェクトにおいて多数の臨床研究を研究の質及び被験者保護を確保しつつ実施するためのマネジメント・システムを開発する。

【方法】

臨床研究マネジメント・チームを設置し、実際のマネジメントを行いつつ、議論のための会議を設け、文書作成業務を行うことを、研究プロジェクトの一部として位置づけた。

【結果及び考察】

多数の臨床研究をマネジメントするシステムとして、下記の要素が必要不可欠であった。

(1) 臨床研究実施施設及び研究用薬剤の製造施設を訪問しチェックする。(2) 被験者放射線防護のための複数

の活動体を組織する。(3) 被験者の安全性及びエラー・リカバリーのための系統的文献検索。(4) 系統的な文書管理及び標準業務手順書 (SOP) / ガイダンスの作成。(5) 倫理委員会申請支援。これらの手順のうちのいくつかは、日本における臨床開発のあり方の再設計のためのヒントを示唆するものであった。

【結論】

我々が開発した臨床研究マネジメント・システムは、マイクロドーズ臨床試験、分子イメージング臨床研究などの新しいタイプの臨床研究の実施にはとりわけ有用である。

【謝辞】

本研究及び後続する5つの研究は新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の委託によるものである。

●マイクロドーズ臨床試験

【定義: 厚労省 (08.06通知) → ICH-M3 (09.06三極合意)】

- ・総量 100µg 以下 & 薬効発現量/NOAEL の 1/100 以下
- ・総量 500µg 以下 1回につき 100µg 以下

【測定方法】

- ・AMS (加速器質量分析法)
- ・LC/MS/MS (液体クロマトグラフ質量分析計)
- ・PET (陽電子放射断層撮影法)

- ◆ NEDO MicroDose PJ 既承認薬で国内初の実施
- ◆ 2年半で20件以上の臨床研究を予定
- ◆ 臨床研究マネジメントチーム 倫理性・科学性を確保
⇒ マイクロドーズからの予測可能性を高める
「パッケージ・ツール」を開発

「マイクロドーズ臨床試験」とは、マイクロドーズとして定義されたとく微小用量を人体に投与し、臨床用量投与時の薬物動態や組織・臓器への分布を予測し、臨床開発を進める化合物を選定する臨床試験デザインである。EU、米国のガイダンスに続いて、2008年厚生労働省通知化、2009年 ICH で三極合意され、21世紀の医薬品開発戦略の鍵となる手法である。NEDO MicroDose PJ では、既承認医薬品を使って2年半で20件以上の臨床研究を実施。臨床研究マネジメントチームが倫理性・科学性を確保する。これによりマイクロドーズから臨床用量の予測可能性を高める「パッケージ・ツール」を開発することが、本プロジェクトの目的である。

マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬技術の開発 (2)

マイクロドーズ臨床試験と *in vitro* 試験に基づく、 トランスポーターにおける遺伝子多形・薬物間相互作用が 関与する薬物動態変動の予測

杉山雄一¹, 前田和哉¹, 吉田健太¹, 高野順一¹, 渡邊貴夫¹, 家入一郎², 熊谷雄治³, 楠原洋之¹

¹ 東京大学大学院薬学系研究科

² 九州大学大学院薬学研究院

³ 北里大学東病院 治験管理センター

【目的】

近年、様々な *in vitro* 系での実験や臨床試験により、トランスポーターの遺伝子多型や薬物間相互作用が研究され、薬物のクリアランス、解毒におけるトランスポーターの重要性が広く認知されるようになってきている。しかしながら、*in vitro* 系のデータに基づくモデリング & シミュレーションを行い、組織中や血漿中薬物濃度の時間推移を定量的に予測することに関しては、まだ十分な研究成果が蓄積されていない。そこで私たちは、数理モデルによる薬物動態の定量的予測の妥当性を、いくつかの化合物について検証した。

また、マイクロドーズ臨床試験が、治療投与量における薬物動態の予測において有用であることについても検討した。

【実験法】

モデル化合物としては、アトルバスタチン (CYP3A4 と OATPs の基質) とテルミサルタン (UGTs と OATP1B3 の基質) を選択した。当臨床試験では、アトルバスタチン・ミダゾラム (CYP3A4 のプローブ基質)・プラバスタチン (OATP1B1 のプローブ基質) の三者を、マイクロドーズ用量で健康成人に同時投与した。また、リファンピシム (OATPs の阻害剤) とイトラコナゾール (CYP3A4 の阻害剤) も臨床用量で投与し、阻害の影響を観察した。

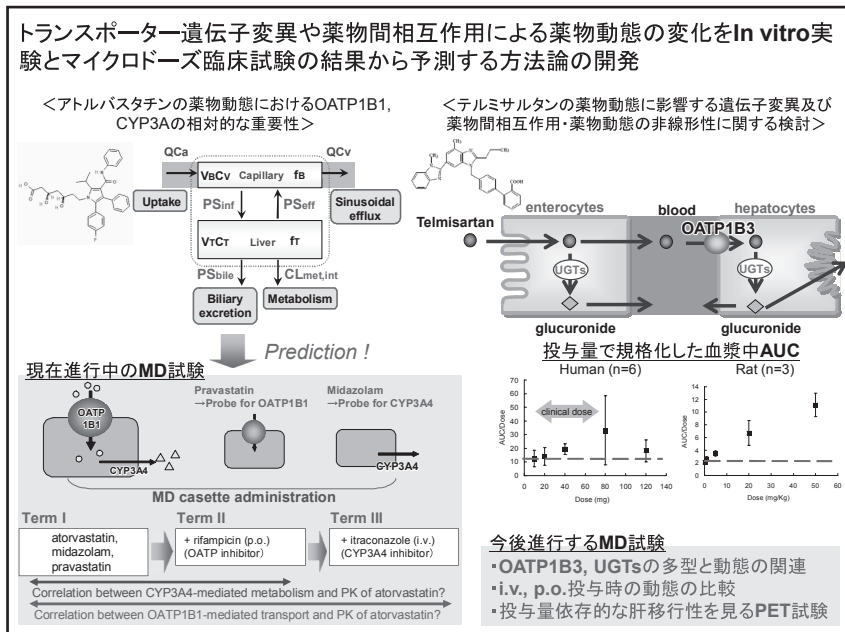
テルミサルタンについては、OATP1B3 の遺伝子多型がその薬物動態に与える影響も観察した。更に、PK モデリングに必要なパラメータを求める為、*in vitro* 試験 (輸送、代謝、結合) や動物を用いた *in vivo* 実験も行った。

【結果と考察】

ラットとヒトの遊離肝細胞を用いて、アトルバスタチンの飽和性輸送をそれぞれ確認することが出来た。また、四種のスタチンを用いて *in vivo* の肝固有クリアランスと遊離肝細胞への取り込みクリアランスを比較したところ、代謝固有クリアランスと比較した際に比べて精度良く *in vivo* 肝固有クリアランスを予測できたことから、これらのスタチンのクリアランスを決定する律速段階は OATPs による肝取り込み過程であることが示唆された。

テルミサルタンに関しては、ラットにおいて投与量を変えることにより非線形な薬物動態が観測され、更に十二指腸内投与後のクリアランスが UGT1s 欠損によって大幅に減少した。

これらのデータから、ラットにおいて観測された非線形性は主に小腸 UGTs の飽和によると考えられるが、テルミサルタンの薬物動態にはラットとヒトで種差があり、ヒトに直接的に補外することはできず、更なる検討が必要である。



本プロジェクトでは、薬物トランスポーターの遺伝子変異や薬物間相互作用による対象薬物の体内動態の変化を、*in vitro* 実験から得られた速度論パラメータとマイクロドーズ臨床試験の結果から予測するための方法論を、多くの事例に基づきながら実証することを目標としている。

左図では、代謝酵素とトランスポーターの両方が体内からの消失に関する薬物の例としてアトルバスタチンを取り上げ、OATPs (Organic anion transporting polypeptides), CYP3A の阻害剤との併用による薬物動態の変化、さらには、OATPs, CYP3A の選択的基質を同時にマイクロドーズでカセット投与することにより、それらの機能を同時評価し、クリアランスに対する両分子の寄与を明らかにする。

右図では、臨床投与量において非線形性を示すテルミサルタンの動態を制御する要因としての OATP1B3 や UGTs (UDP-glucuronosyl transferases) の寄与を明らかにするため、薬物動態に与える各分子の遺伝子多型の影響や投与量依存性を観察するマイクロドーズ試験を企画している。

マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬技術の開発 (3)

MDR1 基質のヒトにおける薬物動態非線形性の非臨床データによる予測

熊谷雄治¹, 山崎 晃¹, 池田康彦¹, 藤田朋恵¹, 亀井憲康², 前田和哉²,
楠原洋之², 山下伸二³, 小山泰永⁴, 野沢耕平⁴, 杉山雄一²

- ¹ 北里大学東病院 治験管理センター
- ² 東京大学大学院薬学系研究科
- ³ 摂南大学薬学部
- ⁴ 積水メディカル株式会社薬物動態研究所

【目的】

ヒトにおける薬物動態の非線形性が非臨床データにより予測可能かについて検討するため、臨床薬物動態試験を行った。試験薬物としてMDR1の基質であるキニジンとベラパミルを用いた。これらの薬物について、小腸におけるMDR1の機能の飽和が生じる用量を K_m 値からあらかじめ予測し、ヒトにおける実際の薬物動態が予測通りの非線形性を示すかについて検討するために、マイクロドーズから臨床量に至るまでの用量を投与し、薬物動態パラメータを比較した。

【方法】

両薬剤についてそれぞれ8名、計16名の健康成人男子を対象に4段階の用量漸増試験を行った。ベラパミルの用量は100 μ g, 3, 16, 80 mgとし、キニジンの用量は100 μ g, 1, 10, 100 mgとし、薬物動態を検討した。本試験は北里大学東病院治験審査委員会で承認を受けた後に行った。小腸における濃度を、薬物の投与量とTachibanaら (Xenobiotica, 39, 430-43 (2009)) の提唱

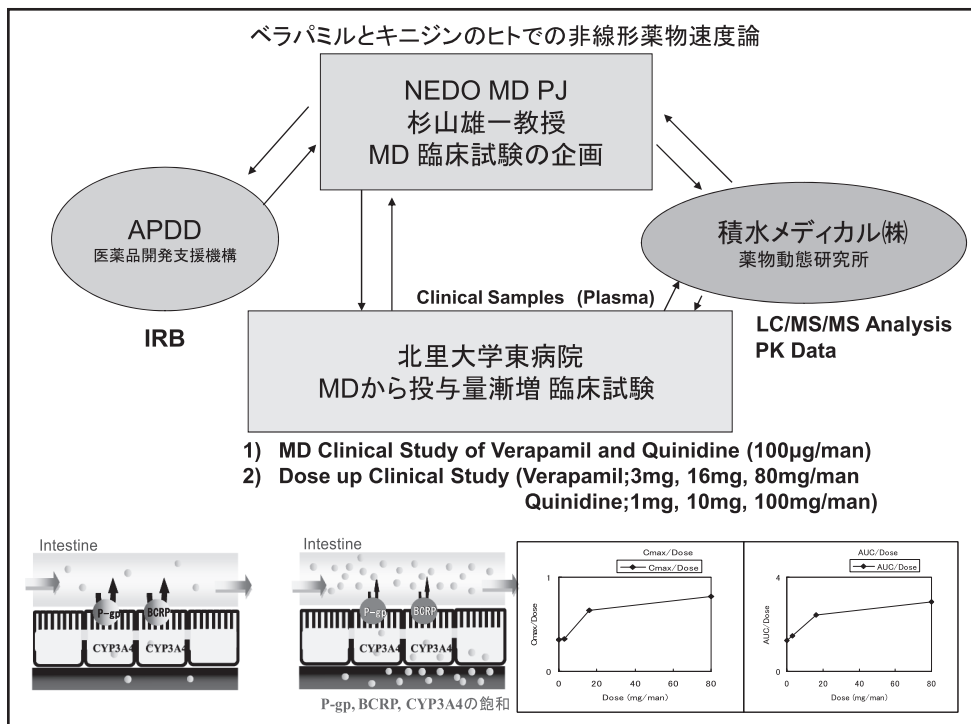
した小腸容量の下限值3Lから推定し、非線形性が生じる用量の予測に用いた。

【結果と考察】

投与量をマイクロドーズから臨床用量へ増加させると、バイオアベイラビリティの平均値はキニジンで0.197から0.504, ベラパミルで0.049から0.113へと増加方向への変化を示した。推定小腸濃度を用いた単純な数値モデルを使用し、試験で得られたデータからフィッティングしたみかけのMDR1の K_m 値は*in vitro*の K_m 値と良く一致した。小腸のCYP3A4の飽和も非線形性に影響があると考えられ、同様の予測が進行中である。

【結論】

ヒトにおける薬物動態の非線形性は非臨床データから予測可能である。薬物動態の非線形性の懸念がある場合でも、マイクロドーズ試験は有望な手法であると思われる。



キニジンとベラパミルについてそれぞれ8名、計16名の健康成人男子を対象にマイクロドーズから4段階の用量漸増臨床試験を行った。ヒトにおける薬物動態の非線形性は非臨床データから予測可能である。薬物動態の非線形性の懸念がある場合でも、マイクロドーズ試験は有望な手法であると思われる。

マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬技術の開発 (4)

静注および経口カセット投与による経口吸収率の評価

山下伸二¹, 政岡祥江¹, 片岡 誠¹, 佐久間信至¹, 須崎友紀², 今井浩光²,
小手川 勤², 森本卓哉², 大橋京一², 稲野彰洋³, 杉山雄一⁴

- ¹ 摂南大学薬学部
² 大分大学医学部付属病院
³ 医薬品開発支援機構
⁴ 東京大学大学院薬学系研究科

【目的】

マイクロドーズ (MD) 臨床試験を用いて経口剤開発の効率化を図るために、1) MD 臨床試験によって新規候補化合物の経口吸収性を評価するための合理的手法を開発するとともに、2) *in vitro* および MD 臨床試験の結果から臨床用量でのバイオアベイラビリティ (BA) を精度高く予測する方法論を確立する。

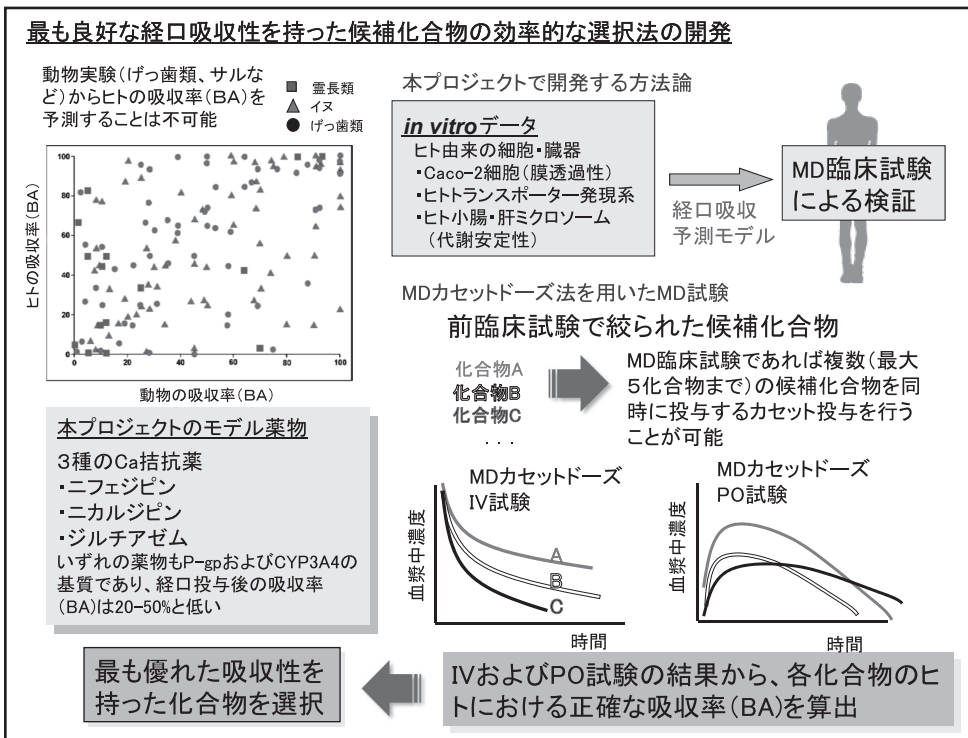
【方法】

本研究では、3種のCa拮抗薬 (ニフェジピン, ニカルジピン, ジルチアゼム) をモデル薬物として、3薬のカセット投与によるMD臨床試験を行った (経口および静注)。これら薬物は小腸、肝臓での初回通過代謝、およびP-gp等による汲み出し輸送を受けるため、前臨床での動物試験等からヒトにおけるBAを予測することが極めて困難と考えられる。この様な薬物に関して、ヒトにおいて最も優れた吸収性を示す薬物を選択する手法と

して、MDでのカセット投与試験の有用性について考察を加えた。

【結果・考察】

これまで、経口及び静注でのカセット投与を行った臨床試験例は報告されていないため、まず、カセット投与の手法に関する検討を行った。静注試験に関しては、投与前の薬物の混合による析出や分解等を防ぐため、三方活栓を用いて留置したチューブよりそれぞれの薬液を1-2分間隔で順次投与する手法を考案した。本手法の妥当性に関して *in vitro* での検討を行った結果、MDレベルの極めて濃度の低い薬液を調整した場合、薬物 (ニカルジピン) のチューブ等への吸着が問題となる可能性が示唆されたため、今回の試験ではそれぞれの薬液を個々の注射筒を用いて順次投与する手法を採用した。発表においては、実際のMD臨床試験の結果を含めて報告する。



本プロジェクトでは、MDカセット投与試験によって、最も優れた経口吸収性を持った医薬品候補化合物を効率的に選択する手法を構築する。試験には、代謝、トランスポーターの影響によって経口投与後のBAが低くなる3種のCa拮抗剤 (ニフェジピン, ニカルジピン, ジルチアゼム) を使い、それらをかセットで経口、およびIV投与してヒトにおけるBAを算出する。MDレベルで得られた結果から、最終的には臨床用量でのBAを正確に予測する方法論の確立を目指す。

マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬技術の開発 (5)

AMS と LC/MS/MS 融合法によるヒト代謝物の同定

戸塚善三郎¹, 野沢耕平¹, 濱邊好美², 生島一平³, 杉山雄一⁴, 池田敏彦⁴

- ¹ 積水メディカル株式会社薬物動態研究所
² 加速器分析研究所
³ 本所クリニック
⁴ 東京大学大学院薬学系研究科

【目的】

¹⁴C-アセトアミノフェンをヒトに単回経口マイクロドーズ MD (100 µg/200 nCi/body) したときの薬物速度論 PK, 代謝, 薬物相互作用を AMS と LC/MS/MS 融合法により測定評価する。

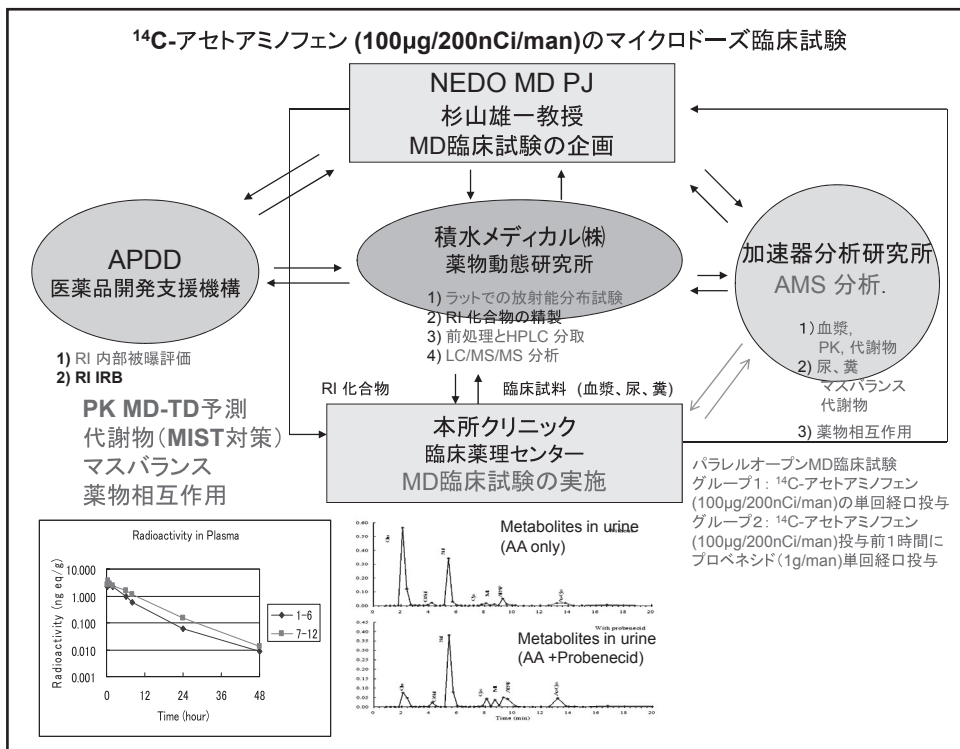
【方法】

MD 臨床試験の実施にあたって ¹⁴C-アセトアミノフェンの有色ラットにおける単回経口投与時の放射能分布と尿中代謝物の単離法を検討した。MD 臨床試験で, ¹⁴C-アセトアミノフェン単独群 (100 µg/200 nCi/body) とプロベネシド (投与前1時間に1g 経口投与) 併用群 (各群6名) で, 投与後, 血液は48時間まで, 尿・糞は168時間まで採取した。採取試料を前処理および HPLC 分取した。AMS で血漿, 尿, 糞ホモジネートならびに血

漿及び尿の HPLC フラクシオンの放射能濃度測定をした。代謝物の構造解析は高感度の LTQ Orbitrap と Qtrap 5500 の LC/MS/MS を用いて実施する。

【結果と考察】

¹⁴C-アセトアミノフェンの有色ラットにおける単回経口投与時の放射能分布からヒト経口投与後のヒト内部被曝実効線量は 4.09E-04 mSv/MBq (0.0151 µSv/µCi) であった。尿中代謝物の HPLC 保持時間 (min, 代謝物名) は (1.87, AA-Glu), (3.90, AA-3OSul), (4.91, AA-Sul), (7.66, AA-3Cys), (8.94, AA) and (13.81, AA-3MC) であった。第24回日本薬物動態学会で MD 臨床試験でのマスバランス, PK データ, 薬物相互作用, 代謝物の構造解析について報告する。



本 NEDO MD PJ は ¹⁴C-アセトアミノフェンをヒトに単回経口マイクロドーズ MD (100 µg/200 nCi/body) したときの薬物速度論 PK, 代謝, プロベネシドとの薬物相互作用を AMS と LC/MS/MS 融合法により測定評価する。

マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬技術の開発 (6)

炭素14 標識化合物を用いたヒト PK, 代謝体解析

稲野彰洋¹, 野沢耕平², 池田敏彦^{1, 3}, 杉山雄一³

¹ 医薬品開発支援機構 NEDO 研究プロジェクト部門

² 積水メディカル株式会社薬物動態研究所

³ 東京大学大学院薬学系研究科

【目的】

今回の研究の目的は①国内の臨床試験環境で炭素14化合物の製造から投与までの過程を検証すること, ②マイクロドーズ臨床試験でのPK解析手法を発展させること, である。

【方法】

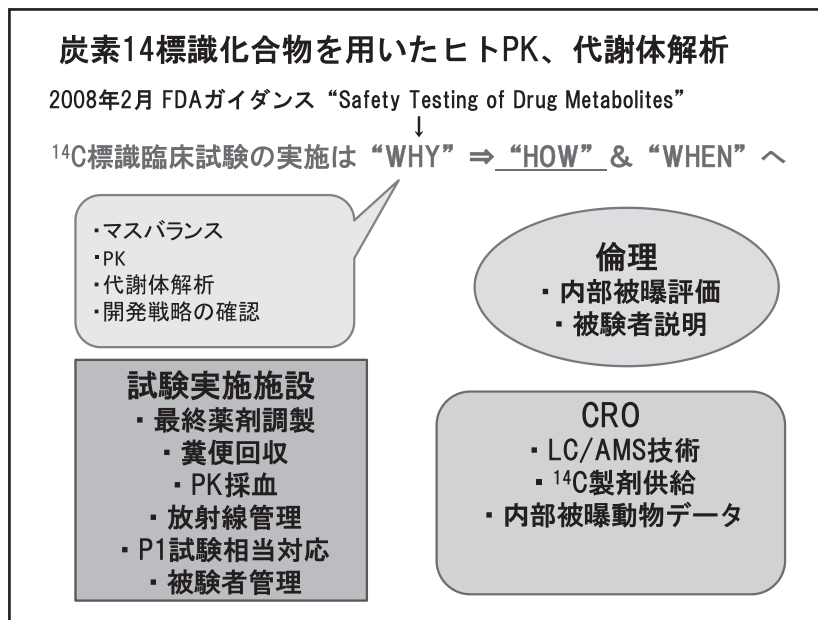
試験化合物としてアセトアミノフェンとトルブタミドを選択し, 別の臨床試験としてそれぞれの炭素14標識体を投与した。炭素14の検出には加速器質量分析計を用いた。試験期間中を通じて, すべての糞便, 尿は回収され, 投与48時間までに9点の血漿サンプルを採取した。

【結果】

2つのマイクロドーズ臨床試験では, 共に1人あたりの投与量が100 µg, 放射エネルギー7400 Bqとして経口単回投与を行った。放射線リスクは国際線フライトや健康診断時のX線写真のように, 一般的に許容される放射線リスクを大きく下回っている。炭素14化合物はGMP下で製造され, 最終投与剤形(溶液)調製は実施施設の薬局で手順確認がされている。実施施設で扱う放射能の総量及び濃度は, 国内法の規制対象下限値を下回っている。

【結論】

炭素14標識化合物を使ったマイクロドーズ臨床試験は, 国内の品質管理の行き届いた施設で実施することは可能である。



炭素14標識化合物を使用した臨床試験の必要性は, FDAガイダンスの公表もあり, 認知されつつある。問題はマスバランス, 代謝経路, 代謝体解析, PKを目的とした試験を, どのように実施するか?に移りつつある。国内で炭素14標識化合物を用いた臨床試験は十分な質的な担保のもと実施可能であり, 臨床開発戦略に組み入れることができる。今回はHOWについて議論をしたい。