

「ヒト組織の有効利用は医薬品の安全性確保にいかに関与するか」

—ヒト肝臓1グラムの重み—

HAB協議会 副会長 佐藤哲男

これまで多くの医薬品が人類の福祉に貢献してきたことは歴史が示している通りである。しかし、近年の医薬品の急増により、一部の医薬品による重篤な副作用が世の中の人々に多くの不安を与えていることも事実である。一般に、化学物質としての医薬品がもつ有効性はその有害性と平行して動くものであり、有害性を減弱することに努力を払うと有効性までも失う事が多い。つまり、医薬品は生体異物である限り軽度の有害性までも全く除去することは困難である。医薬品が人々にもたらす利益は有害性と有効性との差し引きの上で正当に評価されるべきであり、これらの何れの側面のみを強調しても誤った結論を招きかねない。現行の新薬開発過程から考えるならば、十分に安全性を配慮したとしても、開発途上において市販後に出現するであろう副作用のすべてまで予測することは極めて困難である。その理由の一つとして種差の問題がある。非臨床試験の成績はその次の段階である臨床第1相試験（健常人に被験薬を投与してヒトでの安全性を知る試験）を含

むすべての臨床試験を企画、遂行するのに不可欠であることは言うまでもない。しかし、動物試験から得られた成績と臨床試験における結果が大きく異なることも過去の多くの事例からみて明かである。つまり、医薬品の基礎研究や開発において、動物とヒトとの間には図り知れない大きな溝がある。このような種差の問題は新薬の基礎研究において常に付きまとうことであり、これを解決するために過去20～30年間にわたり多くの科学的手法が研究された。しかし残念ながら、それらの大部分は種差の問題を十分に解決したとは言い難く、動物実験の成績からヒトでの結果を予測し、ヒトへ外挿することは極めて困難と言わざるを得ない。そこで残された唯一の解決法は直接ヒト組織を有効に活用することだけである。事実、わが国を除く最近の国際的動向としては、新薬開発の途上で、あるいは、広く医薬の基礎研究においてヒト材料を利用することが一般化している。現在、米国の監督官庁では新薬開発においてはむしろヒト試料の使用を推奨しているくらいであ

目次

「ヒト組織の有効利用は医薬品の安全性確保にいかに関与するか」

—ヒト肝臓1グラムの重み—

副会長 佐藤哲男 1

第2回学術年会総括篇

I. 臨床医学におけるヒト臓器の利用

放射線医学総合研究所 大藤正雄 3

II. 臨床薬理学的立場からみたヒト臓器有効利用について

昭和大学医学部 安原 一 4

III. 肝薬物代謝酵素活性の保存条件等による影響

昭和大学医学部 倉田知光 5

IV. 選択的セロトニン再取り込み阻害薬の代謝

に關与するヒトP450分子種

昭和大学薬学部 小林カオル・他 6

アンケート

I. ヒト組織の有効利用に関するアンケート 8

II. 質問と回答 8

第6回HAB協議会理事会議事録 10

お知らせ 12

I. 厚生科学研究班第1回業績発表会

II. 正会員数および賛助会員名簿

III. 第3回日本臓器保存生物医学会開催

◎ 賛助会員募集

啐啄のこと—編集後記に代えて—

会長 宍戸 亮 12

り、米国政府の監督の下に、ヒト組織を供給するためのネットワークが出来ている。それにより、動物試験の結果をひとに外挿するという綱渡り的な芸当をすることなく、患者が使用する新薬の安全性をヒトの試料で事前に十分にチェックすることが可能となっている。動物の肝臓100グラムを使う実験よりもヒト肝臓1グラムから得られる情報が医薬品の安全性を確保するのにどれだけ役に立つかは諸外国の例からみて明白なところである。その1グラムのデータが公表されることによって、新薬が市販された後何千人ものひとを副作用から救うことになるかもしれない。

一方、臨床において医薬品の副作用が目につく一つの理由としては、現場での薬の使用が個々の患者について必ずしも適正に行なわれていないことである。日本では同じ病名の患者はその投与量、投与間隔などについて個人レベルで特別な配慮なしに行われることが少なくない。勿論それで十分に目的を達する場合は問題ないが、薬によっては、個々の患者に合った条件で投与することが要求される場合もある。ヒト組織が入手可能になった場合、どのような有効利用法が考えられるだろうか。既述の様に、新薬の開発過程における安全性の予測に使用されることに加えて、患者から供与された組織試料の試験結果の一部は、その患者の治療に役立つ様に還元されなければならない。例えば、癌の化学療法に当たって、個々の患者にとって最適の制癌剤を選択する時、または、多剤併用による薬物の相互作用を事前に知りたい時などには、組織を提供された個々の患者の治療に多くの有益な情報を提供することが可能である。昨年9月に開催された「ヒト組織の有効利用に関するユトレヒト会議」の結論の中で、ヒト組織の利用については公開の場において十分に討論すべきであるとしている。この目的に沿って我が国における最初の学術団体として昨年発足したHAB協議会は、昨年、本年と2回にわたり学術年会を開催し、医学、薬学の面のみならず法律家を交えてヒト組織

の有効利用について活発な討論を展開した。その結果、総合的に判断して、今後我が国においても早急に具体的な作業に踏み切るべきであるとの結論に達した。これについては幸い行政機関の支援も得られ、厚生省から「薬物相互作用迅速把握法の開発に関する研究」の課題で平成7～8年度厚生科学研究費補助金が配分されることとなった。さらに、最近、米国国立保健研究所(National Institute of Health)の下部機関でヒト組織利用のネットワークのキーステーションとなっているNDRI(National Disease Research Interchange)から、HAB協議会へヒト組織の提供が可能である旨の連絡があり、HAB協議会では設備などを含めて国内における受け入れ体制を目下具体的に検討中である。国内への搬入については一定の条件下では特に問題がないことは既に関係各官庁において確認されている。また、組織の有効利用法については、その供給ルートなども含めてHAB協議会の評議員各位や賛助会員各社と十分に相談した上で決定したい。この様な急速な動きにより、我が国における新薬の安全性確保が一步大きく前進することが期待される。HAB協議会が意図しているヒト組織の有効使用は、量的には手術時に病理学的、生化学的検査に使用する程度の大きさがあれば十分であり、臓器移植の様なまるごとの臓器を使用することはその目的の違いから全く考えていない。勿論、組織の多少にかかわらず、この様な場合でも患者の同意が必要なことは言うまでもなく、また入手した試料の使用については細心の配慮が義務づけられなければならない。さらに、ヒト組織を有効利用することは、医薬品の安全性を予測することが可能になると共に、従来使用されてきた膨大な実験動物数の削減にもつながることとなる。総合的に考えて、ヒト組織を現代の医学、薬学の研究に応用する試みは、医薬品の安全性が叫ばれている昨今の医療の改善に大きく貢献するものと考えられる。

関係各位のご理解と今後のご支援を切にお願いする次第である。

第2回学術年会総括篇

第2回学術年会において御講演された演者にHAB協議会として総括篇の御寄稿を依頼したところ、以下の4氏の原稿が寄稿されました。

1. 臨床医学におけるヒト臓器の利用

放射線医学総合研究所
大藤正雄

「ヒト臓器の有効利用」については、どの様な目的で、どの様な手段により、また、どの様な成績をあげることが出来るのかなど明らかでない、果たして意義のある有効利用であるかどうか判断することは難しい。

その様な観点から、患者の病気を治す臨床医学の目的の下に、ヒト臓器が現在どの様に利用されているか述べることにする。

臨床医学におけるヒト臓器利用には二つの場合がみられる。一つは臓器を機能を営む器官として利用する臓器移植であり、他は臓器の部分組織として利用する形態学的ないしは生化学的診断である。両者とも病気の治療あるいは診断という一定の目的を持って臓器を利用するものであり、それぞれが一応の成果をあげている。しかし、この様なヒト臓器の利用は医学的に意義のある医療であっても、患者と医師の間の informed consent だけでなく、一定の手順と手続きによる社会的承認を得ることも必要である。

臓器移植には、肝、腎、心、肺、脾などの臓器器官全体としてそのまま患者に移植して病気の臓器と入れ替える場合と、角膜、皮膚、血管、骨、骨髄などのように臓器の部分を入れ替える場合がある。古くから利用されている輸血も、生きている血液細胞を生体に注入して機能を補う点では広い意味の臓器部分移植といえる。

同じ臓器移植であっても医学的に高い成功率があげられている腎、心、肝のような臓器もあるが、肺、脾などなお研究中の臓器もある。医学的にみても有用性だけでなく、社会的にもみても大きな差があり、単純にヒト臓器利用の有効性を判断することは難しい。医学的成功の鍵を握る脳死の社会的容認もまだ解決されていない。

臓器の部分移植は医学的に方法が確立され、脳死の問題とは関係なく、すでに医療として社会に定着

している。部分移植として臨床応用されている角膜や皮膚移植に加えて、最近では骨髄移植が治療成績も向上し社会的にも有用性が認識されてきた。その結果、骨髄バンク制度も整備され医療として一層発展する趨勢にある。この骨髄移植を例に取ってみても分かるように、移植が医療として受け入れられ社会的に有効利用であると認められるには、いくつかの過程がある。まず、医学的に高い成功率を上げることである。骨髄移植が1958年臨床医学に初めて応用されてから今日社会的に受け入れられるまでに長い経過があり、その間に大きな医学的進歩が必要であった。この様な医学的成果に対する社会的認識が高まり、同時にそれを医療として受け入れる社会経済的基盤が整ったことが背景にある。臓器の部分移植であっても社会的条件を無視しては、患者と医師の間の informed consent の意味が無いし、また社会的意義を論ずることもできない。

ヒト臓器の組織を利用した形態的・生化学的診断には肝、腎、脾、消化管、乳腺、甲状腺、筋肉、皮膚など、殆ど全身臓器が利用される。病気を効率的に確実に治療するには正確な診断が必要である。例えば、癌の早期診断、難治性疾患の病態診断には組織学的所見に基づく診断が不可欠である。しかし、臓器の組織を採取することに伴う患者の肉体的苦痛や臓器損傷が問題となる。結果として得られる利益がそれらの負担より大きく上回る必要がある条件であり、その様な条件下に患者と医師の間に informed consent が取り交わされている。最近では超音波、X線CTなどの画像や内視鏡を応用して開腹手術をせずに映像を観察しながら臓器の病変部組織を採取することが出来るようになった。確実な手技によって安全性も高まり、肉体的負担も少なく、以前と比べるとはるかに informed consent が得られやすくなっている。また、検査する内容も多岐にわたり、病変の組織学的診断にとどまらず、蛍光免疫抗体試験、抗癌剤の感受性試験、薬物感受性試験など、病気の原因を明らかにしたり、治療薬剤の選択を可能にするなど、臓器組織利用の臨床的有用性ははなはだ高い。臨床医学にとって「ヒト臓器の利用」は現在のところ必要な手段であり、高い有用性を持つものである。

ところで、研究、あるいは前臨床的段階において臨床医学と直接の結びつきを持たずとも、死後の臓

器あるいは手術によって摘出した臓器を医学的に利用することが、医学の進歩に大きく貢献してきた。しかし、医学の分野がどんどん広がり境界領域に及んでいる現在、どの領域まで「ヒト臓器の利用」を認めるかはあらためて検討し、合意を得ることが必要である。特に臨床医学以外の分野では臓器提供者の権限を尊重した上で、目的、手段、得られる結果を総合的に検討する必要がある。

臨床医学以外に「ヒト臓器の利用」を考える場合、臓器提供者、担当医、利用者、直接に利害関係を持たない第三者の合議によってその都度利用の可否を決定することになる。

II. 臨床薬理学的立場からみた ヒト臓器有効利用について

昭和大学医学部第二薬理学教室

安原 一

1. 医薬品開発の現状

1) 非臨床試験からヒトへの外挿

種差による代謝酵素の差異は、チトクロム P450 isozyme のレベルで検討され、動物とヒトとの相同性が論じられており、ラット、イヌに比べサルで相同性が高い。また、動物によって代謝反応の欠損が報告されている。ヒトと動物における薬物代謝様式も異なるものが多く、代謝経路、主代謝物が相違する。一般的に薬物代謝速度は小動物ほど速く、ヒトの場合は動物に比較して遅い。

2) 第 I 相試験での安全性の評価

上述したごとく、いろいろと問題を抱えた非臨床試験データに基づき、初めてヒトに薬物を適用する試験が第 I 相試験である。特に遺伝的多型性を示す薬物で、全代謝過程の中で、多型性を示すチトクロム P450 による代謝の占める割合が大きく、治療域が狭い薬物でそれらの情報が、第 I 相試験の実施までに得られないと、もし健常被験者がその代謝酵素の欠損者 (poor metabolizer: PM) である場合、安全性に問題を生ずる可能性がある。

3) 第 II、第 III 相試験での有効性と安全性評価

さらに患者での臨床試験においても、上記の状況では、安全性に問題を生ずる。さらに、もしプロドラッグから活性代謝物への変換に遺伝的多型性を示すチトクロム P450 が関与している場合、PM では有効性が得られない。

4) 薬物相互作用の予測

患者での第 II、第 III 相試験では薬物相互作用の問題がある。多くの患者は、多剤を併用しており、しかし現状では、事前に薬物相互作用の

可能性を予測することは難しい。しかし、ヒト肝ミクロソームを用いることにより、その予測性を高めることが期待される。

2. ヒト臓器有効利用

1) ヒト肝臓の有効利用

薬物代謝の主要な臓器として肝臓があげられる。諸外国ではすでに、移植肝、二次性肝癌患者からの切除肝等を用い、それから調整したミクロソームが薬物代謝酵素研究に応用されている。これにより、動物種差の問題が少なくなり、ヒトへの外挿が容易になる。ミクロソームのほか、精製酵素、あるいはヒトチトクロム P450 cDNA をヒト B-lymphoblastoid cell に導入したヒトチトクロム P450 発現系がある。これらを用いることにより、ヒトでの薬物代謝経路と、それに関与する酵素系をモデル薬物に対する阻害作用、抗体、あるいは選択的阻害剤の影響を見ることにより、推測が可能である。しかし、ある酵素系での代謝が何%位行われているかを知るためには、フェノタイプングした健常人を対象に体内動態の比較を行う必要がある。

2) ヒト肝臓以外の臓器の有効利用

薬物代謝は肝臓以外に、腸管、腎、肺等で行われる。初回通過効果を受ける薬物は腸管での代謝が注目されている。

3) 薬物代謝酵素

薬物代謝は、酸化、還元、加水分解を司る第 1 相代謝と、抱合反応を司る第 2 相代謝があり、それぞれに関与する酵素の存在が臓器により異なる。

4) チトクロム P450 アイソザイム

チトクロム P450 (CYP) アイソザイムは主要なものとして CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C9、CYO2D6、CYP2E1、CYP3A4 等が知られているが、このうち CYP3A が全 P450 の約 30%、2C は約 20%、1A2 は約 13%、2E1 は約 7%、2A6 は約 4%、2D6 は約 2%、2B6 は 1% 以下存在している。これらのうち、多くの医薬品の代謝に関与しているのは CYP2D6、CYP3A4、CYP2C である。さらに遺伝的多型性を示すものは CYP2D6 と CYP2C19 である。

3. in vitro と in vivo との相違

ヒト肝ミクロソームでの in vitro での代謝研究のみで、in vivo の代謝をすべて予測することは出来ない。前述したように、初回通過効果を受ける薬物の場合、肝のみでなく、腸管での代謝も大きく影響する。また、in vitro 反応系での酵素濃度、基質濃度の違いにより、反応する酵素が異なることが報告されている。

4. 社会的意義

1) 科学性と倫理性

上述したごとく、ヒト臓器を有効に利用することにより、ヒトでの薬物の特性を明かにすることは可能になる。しかしその材料となるヒトの臓器をどの様に入手するかとなると、日本の現状においていろいろの問題がある。一つは臓器移植にからむ脳死の問題が未解決である。一方、手術材料として転移肝癌患者からの切除肝（癌切除のための必然的に得られる正常と思われる部分）をどの様な手続きで利用可能であるか、当然患者からのインフォームド・コンセントは必須である。

2) 個人への還元

癌切除のための必然的に得られる切除肝を材料として、患者本人に還元できる情報は何か。それを考える必要がある。日本人にその代謝酵素欠損が多いCYP2C19の有無は個人への還元の一つになろう。さらにそれと関連する薬物相互作用をおこす薬物のリストアップも可能となる。それらをさけることにより、薬物有害反応を未然に防ぐことも可能となろう。薬物によっては、通常より少ない用量で治療が可能になるかもしれない。

3) 一般人への啓蒙と理解

このようにヒト臓器の有効利用により、個人に対して、また社会に対し、どの様な貢献になるかを十分啓蒙し、その上で、ヒト臓器をどの様な手順で得ることが可能か、インフォームド・コンセントをどの様に得るかを論議する必要性がある。

III. 肝薬物代謝酵素活性の 保存条件等による影響

昭和大学医学部第二薬理学教室

倉田知光

我が国におけるヒト臓器での代謝研究は、その供給機関が存在しないため、各研究機関が独自に入手し、目的の酵素源を調整し即座にあるいは保存して使用している。献身的な善意により得られた貴重な試料を有効に使用するためには、その調整および保存方法は酵素源の活性および含量保持には極めて重要な因子である。しかし、その保存方法は、経験的に設定された“十分と考えられる方法”で行われてきており確固たるデータに基づいた根拠は殆ど無い。

本稿では、これまでに報告されている実験動物およびヒトでのデータ、さらに若干ではあるが当研究室で得られた肝ミクロソーム画分での知見を基に、

現段階までに明らかにされている“肝薬物代謝酵素活性に対する保存等の影響”に関して述べる。

1. 組織の入手方法による影響

一般に、我が国におけるヒト組織の入手方法は、外科手術時の治療上必要と考えられる切除部位での正常な組織あるいは剖検試料からである。外科手術時の試料に関しては比較的酵素活性および含量の変化は少ないと考えられるが、剖検試料においては、死後の時間および死亡前後の体温等によりその活性および含量の変化は著明に起こる。死後4時間で既に総Cytochrome P450 (P450) 含量は約20%にまで低下するという報告もある。また、ウサギを用いた死後の経時変化に関する検討では、ヒトと比較してその活性低下の速度は緩やかであり、種により酵素の安定性に差があることも示唆されている。

2. 試料の保存形態による影響

通常、得られた臓器あるいは組織は、細胞、スライス、ホモジネート、ミクロソーム懸濁液の様な形態で保存される事が多い。総P450含量に対する影響は、 -80°C で組織を小片にして保存した場合、ホモジネートの形で保存した場合およびミクロソーム懸濁液の形で保存した場合では1年程度の保存期間では有意な低下は認められないことが示されている。しかし、種々基質の代謝活性に関しては、変化しないもの、活性低下を示すものあるいは活性の上昇が認められるもの等があり、各分子種により保存による活性変動に対する抵抗性の差異が考えられる。

3. 試料の調製用緩衝液等の影響

P450の安定化剤としてグリセリンおよびEDTAの添加が有効であることはすでに明かにされている。現在ではこのグリセリンの添加はP450の保存に際しては絶対的に不可欠な因子の一つである。我々が試みた検討に於ても -80°C での保存1週間でP450含量に変動は認められなかったものの、各種基質を用いた活性に関する検討ではグリセリン添加時に比べアミノピリンの脱メチル化活性の約20%の低下およびエリスロマイシンの脱メチル化活性の約40%の低下が認められた。また、凍結を伴わない 0°C での長時間放置においても、活性低下は著明に起こり、3日間で約50%、7日間ではほぼ完全な活性の消失が示されている。このようにグリセリンの非添加条件での凍結保存は薬物代謝酵素活性低下防止の観点からも行うべきではない。

4. 凍結保存期間の酵素活性による影響

一般に、実験動物を用いた *in vitro* 系での薬

物代謝研究においては、その酵素材料の供給は、必要時に必要だけ入手することが可能である。しかし、ヒト材料の場合には、需要に即応した供給がなされることは現時点の我が国においては困難である。そのため、短期、長期を問わず保存が不可欠になってくる。これまでの数多くのヒト肝を用いた研究報告では、そのほとんどが肝切除時に液体窒素等により凍結し使用まで -80°C で保存、あるいは摘出後直ちにマイクロソーム懸濁液を調製し同様に保存する方法が取られている。しかし、その前後での酵素活性および含量に関する検討を行った上で研究を行ったという例は極めて少ない。特定の酵素に関して定性的に検討する研究では、その酵素の存在の有無が重要であるためさほど大きな問題とはならないが、複数の酵素が関与した条件で定量的に薬物代謝能を評価しようとした場合には、個々の酵素活性および含量比等は極めて重要な因子となる。特に、数週間あるいは数か月といった期間保存を行った酵素材料を用いる場合には、個々の酵素活性の変動を把握しておくことはその薬物の代謝を正しく捕えるには重要な要素となる。

我々が行った検討では、マイクロソーム懸濁液の形では、少なくとも4か月程度の凍結保存では総P450含量および各種基質代謝活性はほぼ調製時の値を維持していることが示された。

5. おわりに

以上のように、肝薬物代謝酵素の保存に対する安定性に関する情報は残念ながら現段階では必ずしも十分とは言えない。数少ない報告の中に、ヒトの薬物代謝酵素は動物のそれと比較して更に不安定である事が示唆されていることから、これまで行われてきた保存方法以上に影響の少ない方法の開発に期待したい。

IV. 選択的セロトニン再取り込み阻害薬の代謝に関与するヒトP450分子種

¹⁾昭和大学薬学部臨床薬学教室、

²⁾国立国際医療センター研究所臨床薬理部、

³⁾第一化学薬品(株)東海研、

⁴⁾国立国際医療センター外科

小林カオル¹⁾、山元俊憲¹⁾、千葉 寛²⁾、
島田典招³⁾、谷 昌尚⁴⁾、石崎高志²⁾、黒岩幸雄¹⁾

【目的】 選択的セロトニン再取り込み阻害薬(Selective Serotonin reuptake inhibitors: SSRIs)は、中枢神経系シナプス前部へのセロトニン再取り込みを選択的に阻害する。このため、従来の三環系抗うつ薬に見られる抗コリン性副作用や循環

器系副作用の少ない新規抗うつ薬として欧米で広く使用されている。最近、S-メフェニトイン(S-MP) 4'位水酸化酵素(CYP2C19)活性をほとんど有さないpoor metabolizer (PM)では正常な代謝活性を有するextensive metabolizer (EM)に比較しシタロプラムのAUCが高く、ヒトの主要代謝経路である脱メチル化クリアランスが低下していることが報告された¹⁾。しかし、その詳細については明らかでなく、他のSSRIsの代謝におけるCYP2C19の関与も不明である。そこで、本研究ではSSRIsの代謝に関与するヒトP450分子種を明らかにするため、ヒト肝マイクロソームおよび組換えヒトP450発現系を用い以下の検討を行った。

【方法】 ヒト肝マイクロソームは、国立国際医療センター外科において施行された転移肝癌患者の一部切除手術により得られた組織標本の病理検査に供されない正常部分より常法に従い調製して得た²⁾。得られたマイクロソームはR-およびS-MPの4'位水酸化活性を測定し、そのR/S比が0.7以上のものをS-MPのPMより得たマイクロソームとし、0.7以下のものをEMより得たマイクロソームとした²⁾。組換えヒトP450発現系(Gentest社)はCYP1A2、2A6、2B6、2C9、2C19、2D6、2E1、3A4をそれぞれヒトBリンパ芽球様細胞に発現させたものを用いた。MPの4'位水酸化体およびシタロプラムの脱メチル体はHPLC-UV法により定量した。

【結果および考察】 ヒト肝マイクロソームにおけるS-MP 4'位水酸化活性は4種のSSRIs(シタロプラム、パロキセチン、フルオキセチン、セルトラリン)の添加によりいずれも濃度依存的に阻害された。その阻害様式はいずれも競合的であり、阻害定数(Ki)はそれぞれ 87.3 ± 32.0 、 7.5 ± 5.1 、 5.2 ± 3.2 、 $2.0 \pm 0.6 \mu\text{M}$ であった³⁾。この結果より、今回検討したいずれのSSRIsの代謝にもCYP2C19が関与する可能性が強く示唆された。そこで、in vivoでCYP2C19の関与が示唆されているシタロプラムに関し、in vitroでの代謝におけるCYP2C19の関与について検討した。

組換えヒトP450発現系を用いた検討から、シタロプラムの脱メチル化はCYP2C19発現系により触媒されることが示された($K_m = 68.05 \mu\text{M}$ 、 $V_{max} = 1.71 \text{ pmol/pmolP450/min}$)。また、CYP3A4発現系においてもシタロプラムの脱メチル化活性が認められた。そのEadie-Hofstee plotは二相性の曲線を示したため、kinetic parameterは2-componentの関与を仮定し非線形最小二乗法により解析した($K_{m1} = 10.2 \mu\text{M}$ 、 $V_{max1} = 0.234 \text{ pmol/prolP450/min}$ 、 $K_{m2} = 291.2 \mu\text{M}$ 、 $V_{max2} = 2.000 \text{ pmol/pmolP450/min}$)。一方、ヒト肝マイクロソームにおいてはシタロプラムの脱メチル化に関する

Eadie-Hofstee plotがPM (n = 2) とEM (n = 3)で差は認められず、いずれも二相性の曲線を示した。この結果より、CYP2C19はシタロプラムの脱メチル化を触媒するものの、ヒト肝ミクロゾームでの代謝における関与は小さいと考えられた。

次に、S-MP、ketoconazole、17 α -ethinyl-estradiolによる影響をPMとEMのミクロゾームで比較した。PMのミクロゾームにおけるシタロプラムの脱メチル化活性はCYP3Aの阻害剤であるketoconazoleおよび17 α -ethinylestradiolの添加により強く阻害されたが(84.7 \pm 1.2、77.5 \pm 1.8%)、S-MPの添加では全く阻害されなかった。EMのミクロゾームにおいては、ketoconazoleおよび17 α -ethinylestradiolの添加により強く阻害されたもののPMのミクロゾームに比較し阻害率は若干低い傾向を示した(73.3 \pm 8.6、74.3 \pm 3.2%)。また、S-MPの添加によっても弱いながら阻害された(17.9 \pm 16.4%)。このことより、PMのミクロゾームにおけるシタロプラムの脱メチル化にはCYP3Aが主要に関与し、EMのミクロゾームにおいてはCYP3Aに加えCYP2C19もわずかに関与している可能性が示された。

そこで、CYP2C19発現系で得られた活性から、ヒト肝ミクロゾームにおけるシタロプラムの脱メチル化にCYP2C19が関与する割合を予測することを試みた。まず、異なる基質においてもヒト肝ミクロゾームと発現系の活性比が一定であることを示すため、CYP2C19により触媒されるS-MPとR-メフオバルピタールの4'位水酸化活性を比較した。CYP2C19発現系(n = 2)およびヒト肝ミクロゾーム(n = 10)におけるS-MPとR-メフオバルピタールの4'位水酸化活性は高い相関(r = 0.984)を示した。この事より、CYP2C19により触媒される反応については、S-MPの4'位水酸化活性に関するヒト肝

ミクロゾームと発現系の活性比が他の基質においても一定であることが示唆された。そこで、EMのミクロゾームにおいてCYP2C19が触媒するシタロプラムの脱メチル化活性を予測し、CYP2C19が関与する割合を求めたところ、S-MPの添加により得られたシタロプラムの脱メチル化活性の阻害率とほぼ一致した値(17.1%)となった。

以上より、今回検討した4種のSSRIsはCYP2C19の基質となる可能性が示唆された。このうち、シタロプラムの脱メチル化にはCYP2C19とCYP3A4の関与することが示された。さらに、S-MPをモデル薬物としヒト肝ミクロゾームとCYP2C19発現系における活性化を用いることにより、ヒト肝ミクロゾームでのシタロプラムの脱メチル化においてCYP2C19が関与する割合を予測し得る可能性が示唆された。

引用文献

- 1) Sindrup SH, Brøsen K, Hansen MGJ, *et al.* Pharmacokinetics of citalopram in relation to the sparteine and the mephenytoin oxidation polymorphism. *Ther Drug Monit* 1993; 15: 11-17.
- 2) Chiba K, Kobayashi K, Tani M, *et al.* The kinetic characterization of S-mephenytoin 4-hydroxylase (P450IIC_{MP}) activity in human liver samples obtained as surgical waste from Japanese patients. *Drug Metab Dispos* 1993; 21: 747-749.
- 3) Kobayashi K, Yamamoto T, Chiba K, *et al.* The effects of selective serotonin reuptake inhibitors and their metabolites on S-mephenytoin 4'-hydroxylase activity in human liver microsomes. *Br J Clin Pharmacol* (in press).

アンケート

I. ヒト組織の有効利用に関するアンケート

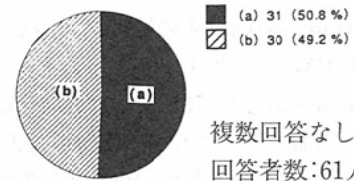
昨年9月にユトレヘト(オランダ)において欧州、米国、日本からの招待者により「新薬開発のための薬物代謝研究におけるヒト生肝臓使用」に関するクローズドのワークショップが開催されました。その後、具体的に活動を展開するために2つのワーキンググループが結成されました。その中の1つでは、組織の入手、保存条件、搬送条件などを検討することとなり、HAB協議会副会長の佐藤哲男先生(千葉

大学薬学部教授)が日本からのCo-Chairmanとして指名されました。このワーキンググループでは、今後、ヒト組織を使用する場合にその実用化に耐え得る最良の条件を決定することを目的としており、本年9月頃までに米国、欧州、日本の現状を把握し、平成8年9月を目標として具体的な検討をすることとなりました。そこで、本年8月~9月にヒト組織の有効利用に関するアンケートを行いましたので、その質問と回答の一部を紹介いたします。

II. 質問と回答

1. あなたはヒト組織を研究の目的で使用したことはありますか。

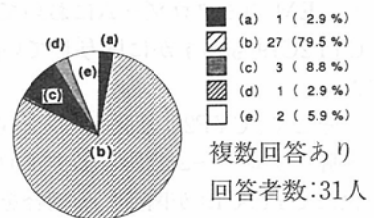
- (a) あります (b) ありません



2. 1. で(a)にマルをしたひとは、実験に用いたヒト試料について回答して下さい。

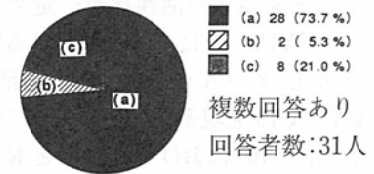
1) 実験の目的

- (a) 移植 (b) 代謝研究 (c) 薬理研究 (d) 安全性研究 (e) その他



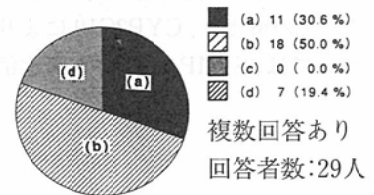
2) 組織の種類

- (a) 肝臓 (b) 腎臓 (c) その他



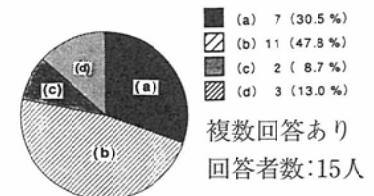
3) 使用した試料は次の何れですか。

- (a) 手術材料 (b) 死体試料 (c) 肝生検材料 (d) その他



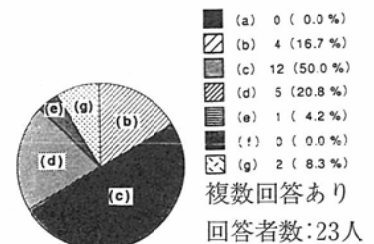
4) (b)の場合、死因は何ですか。

- (a) 交通事故 (b) 病死 (c) 自殺 (d) 不明



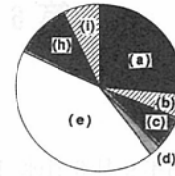
5) 使用した試料の大きさ

- (a) 0.01g未満 (b) 0.01~1g (c) 1~10g (d) 10~50g
(e) 50~100g (f) 100~500g (g) 500g以上



6) 使用した試料の形状

- (a) 組織塊 (b) スライス (c) 単離細胞 (d) 培養単離細胞
(e) ミクロソーム (f) ミトコンドリア (g) 核 (h) 上清 (i) その他



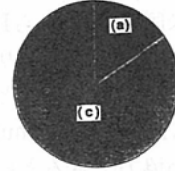
(a) 12 (26.7%)
(b) 2 (4.4%)
(c) 3 (6.7%)
(d) 1 (2.2%)
(e) 19 (42.2%)
(f) 0 (0.0%)
(g) 0 (0.0%)
(h) 5 (11.1%)
(i) 3 (6.7%)

複数回答あり
回答者数:29人

7) 保存液の種類と保存温度

(1) 使用した保存液

- (a) UW液 (b) Euro-Collins液 (c) その他

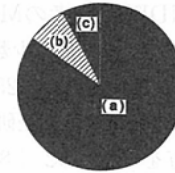


(a) 2 (15.4%)
(b) 0 (0.0%)
(c) 11 (84.6%)

複数回答あり
回答者数:12人

(2) 保存温度

- (a) 凍結 (-80°C) (b) 冷凍 (-20°C) (c) 0~4°C
(d) 常温 (e) 再解凍

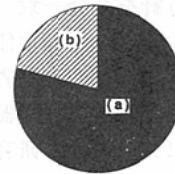


(a) 22 (84.6%)
(b) 2 (7.7%)
(c) 2 (7.7%)
(d) 0 (0.0%)
(e) 0 (0.0%)

複数回答あり
回答者数:24人

8) 凍結組織の解凍法

- (a) 自然解凍 (b) 急速解凍

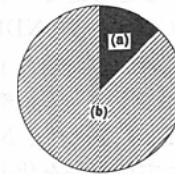


(a) 19 (79.2%)
(b) 5 (20.8%)

複数回答あり
回答者数:23人

9) 光学または電子顕微鏡を用いての細胞学的観察の有無

- (a) あり (1. 光学顕微鏡, 2. 電子顕微鏡) (b) なし

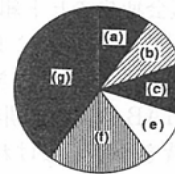


(a) 3 (12.5%)
(1) 2 (8.3%)
(2) 1 (4.2%)
(b) 21 (87.5%)

複数回答なし
回答者数:24人

10) Viability をチェックするために次の何れの方法を使用しましたか。

- (a) LDH (b) GOT (c) GPT (d) アンモニア
(e) エトキシマリンのグルクロン酸抱合能
(f) トリパンブルー染色 (g) その他



(a) 1 (10.0%)
(b) 1 (10.0%)
(c) 1 (10.0%)
(d) 0 (0.0%)
(e) 1 (10.0%)
(f) 2 (20.0%)
(g) 4 (40.0%)

複数回答あり
回答者数:7人

3. 今後解決すべき問題点として、提供ヒト組織についてどのような情報が必要であると考えられますか。

「病歴 (HIV、肝炎など)、嗜好歴 (タバコ、アルコールなど)、性別、年齢、死因、保存状況に関する情報」という意見が多かった。

4. その他の意見

「日本でもヒト試料の供給システムが確立することを強く望んでいる。」という意見が多かった。

ご協力有難うございました。

第6回HAB協議会理事会議事録(抜粋)

1. 日時：1995年9月6日(水) 16:00～20:00
2. 場所：学会センタービル地下1階会議室
3. 議事：議長のもとで下記の議案が審議され、承認された。

議案1：米国 NDRI からHAB 協議会への研究用ヒト臓器組織の供与と受け入れ体制について

資料に基づき宍戸会長より NDRI との交渉経緯について報告、説明があり、理事会としての承認を要請した。経緯の概略は以下のとおりである。

- ① NDRI Dr. Schultz より、日本でのヒト組織利用に関するシステム作りのために試料の提供を含め協力できるという申し出があった(6月13日付)。これに対して宍戸会長より、日本での手続き上の問題を解決したうえで協力の申し出をお受けしたい旨を返答した(7月6日付)。
- ② NDRI設立者のMs. Ducat より、ヒト組織の研究利用に関する日本のシステムができるまでの間(3～5年)、少数の臓器を提供する用意があり、日本のシステム作りにも協力できるとの申し出があった(7月25日付)。
- ③ 宍戸会長を主任研究員として「臓器の保存法と評価法に関する研究」の題目でNDRIへ臓器の供給方を申し出た(8月14日付)。

宍戸会長の報告に対して、これまでの交渉経緯について出席者全員が承認し、今後 NDRI と共同研究を進めていく方針を全会一致で決議した。本議案に関連した主な議論は以下のとおりである。

- ① 佐藤副会長が主任研究者として申請した厚生科学研究費が採択された。これは HAB 協議会の活動に対する厚生省の間接的支援であると考えられる。
- ② (安原理事) 臓器がアメリカから日本に入る場合、法律的な面で問題はないか。
(宍戸会長) 研究材料という証明がされれば問題はない。移植とは切り離す必要がある。また、手続きとしては厚生省の検疫が必要であり、(社)予防衛生協会によりウイルスチェックなどができると考えている。
- ③ (重松理事) NDRI は「動物実験にかわる有効な研究技術の開発」を目的としているので、HAB 協議会の活動と主旨がよく一致している。今後協力し合って活動を進めるべきである。
- ④ NDRI からの組織の供給を時限(原則として2年)で受け入れる体制をとる。

議案2：HAB 協議会と NDRI との間の研究に関する協定締結について

10月初旬に宍戸会長を代表として NDRI を訪問し、HAB 協議会と NDRI との間に協定を結ぶことになった。なお、NDRI側との協議の内容については宍戸会長に全権を委任することとなった。

議案3：ヒト臓器組織を受け入れるための HAB 協議会独自の施設の設置について

HAB 協議会独自のヒト組織受け入れ施設について次の議論がなされた。

- ① NDRI の情報によれば、日本でもコンピュータシステムも含めた独自の施設を新設し、情報とヒト試料を管理できるシステムを持つ必要がある。
- ② HAB 協議会是非営利団体ではあるが、赤字にならないように運営費を算出し、施設費および人件費を捻出しなければならない。

議案4：倫理委員会 (IRB) の設立および同委員会内規の作成について

宍戸会長より、NDRI への Application を提出するにあたり、HAB 協議会として倫理委員会を組織する必要性が生じたので、当面、暫定的な委員会を組織した旨の報告があり、委員および規則について資料が示された。これについて議論の結果、以下のとおり暫定倫理委員会の設立が承認された。

- ① 倫理委員会は、本年度評議員会において正式に設立が承認されるが(会則15条による)、それまでの間は暫定倫理委員会として責務をはたす。
- ② 暫定倫理委員会は、各研究機関の倫理委員会で承認を受けて HAB 協議会に提出されたヒト組織利用に関わる研究計画書について審査し、ヒト試料提供の可否について判断を行う。
- ③ 第1回暫定倫理委員会を9月末に開催する。

議案5：平成7年度厚生科学研究費補助金(薬物療法有用性向上推進研究事業) 研究「薬物相互作用迅速把握法の開発に関する研究」への参加協力について

「厚生省の厚生科学研究費」(主任研究者、佐藤副会長)について資料に基づき説明があり、分担研究者としてHAB協議会から宍戸会長が参加している旨の報告があった。これは厚生省がHAB協議会の活動を支援している一つの姿勢と考えられる。

議案6：組織保存および評価法に関するアンケート活動(国内外)の支援

昨年のユトレヒト会議に参加した佐藤副会長より資料に基づきその会議について説明があり、HAB協議会として活動を支援することを全会一致で決議した。主な説明は以下のとおりである。

- ① ユトレヒト会議で組織の保存に関するワーキンググループが組織され、佐藤副会長が日本からCo-chairmanとして参加する。
- ② 日本国内向けおよび外国向けに「ヒト組織の有効利用」に関するアンケートを作成し、国内では製薬会社、大学を対象に約100箇所へ発送し、現在回収中であり、後日その結果を報告する。

議案7：日本臓器保存生物医学会(1996年、総会)との合同シンポジウムの開催とテーマについて

佐藤副会長、重松理事より日本臓器保存生物医学会からの申し入れの内容が説明され、来年度も、両会の各年会においてそれぞれジョイントシンポジウムを企画することが全会一致で決議された。主な内容は以下のとおりである。

- ① 今年度のHAB協議会側の発表はsubcellularレベルの内容が多かったので、viabilityのみならず、生理的代謝(糖代謝、タンパク代謝など)の概括的な内容についての発表が依頼されている。
- ② 日本臓器保存生物医学会総会は平成8年5月23、24日、長井記念ホールで開催される予定。HAB協議会年会は今年度と同様の時期に企画したい。
- ③ 10月に佐藤副会長が保存学会の来年度会長岡希太郎教授(東京薬大)と会い、具体的な内容について打合せすることとなった。

以上

(文責：HAB協議会事務局)

お知らせ

I. 厚生科学研究班第1回研究業績発表会

日時：平成8年2月6日、午前9時30分～(予定)

場所：富士写真フイルム(株)本社ホール

II. 正会員数および賛助会員名簿

正会員数は80名で、賛助会員名簿は以下のとおりです(平成7年9月現在)。

賛助会員(50音順)

1	アマシャム株式会社
2	エーザイ株式会社
3	株式会社大塚製薬工場
4	小野薬品工業株式会社
5	鐘紡株式会社
6	協和醗酵工業株式会社
7	三共株式会社
8	参天製薬株式会社
9	サンド薬品株式会社
10	株式会社三和化学研究所
11	塩野義製薬株式会社
12	住友製薬株式会社
13	株式会社生体科学研究所
14	大正製薬株式会社
15	大鵬薬品工業株式会社
16	武田薬品工業株式会社
17	田辺製薬株式会社
18	第一製薬株式会社
19	中外製薬株式会社
20	日産化学工業株式会社
21	日本チバガイギー株式会社
22	日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社
23	根本特殊化学株式会社
24	バイエル薬品株式会社
25	萬有製薬株式会社
26	藤沢薬品工業株式会社
27	富士写真フイルム株式会社
28	明治製薬株式会社
29	持田製薬株式会社
30	山之内製薬株式会社

III. 第3回日本臓器保存生物医学会総会のお知らせ

平成8年5月23、24日、長井記念ホール(渋谷)において第3回日本臓器保存生物医学会総会が開催されます。なお、HAB協議会とのジョイントシンポジウムも予定されています。

◎賛助会員募集

年会費：一口 50,000円

問合せ先：HAB協議会事務局

さいたく

啐啄のことー編集後記に代えてー

HAB協議会も第2年目に入り、前報(Vol. 1, No. 2)に予報されたように、去る6月1、2日には、第2回学術年會が開催された。その主題は「医学薬学領域におけるヒト組織の有効利用」であり、この学術集會を通じて、我が国におけるヒト組織の有効利用の現状とその問題点について各方面の専門家による幅広い討議をお願いした。又本会には、米国 National Disease Research Interchange (NDRI) の Schultz 博士をお招きして、米国におけるヒト組織利用のネットワークシステムについて、その歴史から現状に至る詳細なる特別講演をお願いした。その結果、これらの討議を通じてヒト組織の有効利用についての我が国の現状やその問題点は極めて明確になって来た。そこで当協議会としては、これらの事実をふまえてようやく新しい第一歩をふみ出す時が来たということが出来る。その第一歩として、先ず学術年會終了後程なくして、米国 NDRI 当局より HAB 協議会に対し当面一定の条件下で米国よりヒト臓器を提供出来る可能性を示唆する連絡が当協議会会長の元に寄せられた。その意味は、NDRI は米国に於てヒト臓器をきびしい管理の下に真に必要な医学薬学研究に提供出来る公的機関であり、この連絡は、NDRI が我が国の現状を理解して、しばらくは我が HAB 協議会に対して日本におけるこの方面の進歩発展のために一部臓器を提供出来ることを呈されたものである。

一方、我が厚生省行政当局もこれと相前後して初めて平成7年度厚生科学研究費補助金による「薬物相互作用迅速把握法の開発研究(主任研究者 佐藤哲男)」を承認すると共に、これらの研究に於て当面 HAB 協議会による米国より移入されたヒト臓器を用いることについて行政側の理解を示した。

中国には「啐啄」という古い言葉がある。その言葉は、鳥が卵を抱いて雛を孵化させる時、内から卵殻を破って外界に出ようとする雛の啐く時と、これを助けて母鳥が外からその殻を啄む時が丁度うまく一致して初めて正常な孵化が行われるという意味である。

上述の HAB 協議会の新しい研究の発展と進歩は正に「啐啄」の時を迎えている。会員諸兄姉の一致した御協力と御努力を切望してやまない。

会長 穴戸 亮 記

NEWSLETTER, Vol.2, NO.1

1995年9月30日

発行

編集

印刷・発行

HAB協議会

HAB協議会事務局

〒113 東京都文京区

弥生2-4-16

学会センタービル2階

TEL/FAX (03) 3815-1909

編集責任者

穴戸 亮