

## 1. 医薬品開発を駆動する21世紀の薬物動態研究者

東京大学大学院薬学系研究科製剤設計学 教授 杉山雄一

近年、医薬品開発過程が大きく変化しようとしている。Combinatorial chemistry、high throughput screening (HTS) 手法の必要性が唱えられ、実践されはじめている。薬理活性のみならず、薬物動態特性の high throughput screening の必要性が認識されている。

これは、これまで *in vitro* の薬効の強さ (例えば受容体、酵素などに対する結合親和性) のみを指標に医薬品の開発をすすめていった場合、それらの薬物動態特性の悪さ (バイオアベイラビリティの低さ、薬物相互作用の受けやすさ、個人差の大きさ、病態の程度による変動の大きさなど) のために開発が中止になることが続出したという反省の上にたった当然の帰結といえよう。これまでの長い医薬品開発の歴史の中で、今ほど、薬物動態、薬物代謝部門に属する企業研究者の力量の間われる時代はない。これまでの、厚生省申請用データをとるための部門から、より良い医薬品を創製するための駆動エンジン部門であるという認識が医薬産業全体に定着するかどうかは、この部門に属する研究者の今後5年間の積極性と使命感に基づいた実力アップができるかどうかにか依存する。開発の早い段階で薬物動態特性の至適化を推進するためには、ヒト組織、オルガネラ (ミクロソームなど) のみならず、ヒト型酵素、トランスポーターの発現系の使用が必要となろう。動態HTSの最も期待される特性は、消化管吸収率、肝初回通過代謝排泄率の推定、消失半減期の推定であろう。ヒト型酵素、トランスポーターの全ての発現系の使用が可能でない現状を考えると、ヒト組織、オルガネラの使用は必須である。現在、外国からの輸入によるヒト肝ミクロソームの使用は可能になってきているが、ヒト肝細胞の使用にはまだまだ限界がある。その意味でHAB協議会の活動によせる期待は大きい。開発の初期段階において、主代謝酵素の不

明な場合にヒトミクロソームを用いて肝クリアランスのHTSを行うことには危険性が伴う。このような観点から、一部外国企業においてはヒト肝細胞を用いてHTSを行っているところもあり、今後、ヒト肝細胞の利用性が増加すれば、肝臓クリアランスのHTS系として最も期待される。また、ヒト酵素誘導の有無を調べるためにヒト肝細胞の使用は必須となる。ヒト組織を用いて得られる代謝パラメータ ( $K_m$ ,  $V_{max}$ ) は、HTSのみならず、臨床試験においても威力を発揮するものと考えている。すなわち、Dose-escalationの段階で、動物実験、*in vitro* 薬効、毒性試験などに基づいてDose-escalationのターゲットとなる血中濃度、あるいはAUCが推定されている場合を考えてみよう。非線形クリアランスを示す薬剤の場合、投与量と血中濃度 (AUC) が比例しないため、注意深くDose-escalationすることが必要とされる。この時に、*in vitro* の代謝パラメータ ( $K_m$ ,  $V_{max}$ ) が求まっており、さらに初回投与量時のpharmacokineticが測定されておれば、数学モデルに基づいてかなりの精度で各Dose-escalationにおける血中濃度推移、AUCの予測が可能となる。

もう一度強調したい。これからの医薬品開発において企業の動態研究者に要求されることは、これまでのような型にはまった技術、方法論の取得ではない。動態学、代謝学の実力をつけることにより、ケースバイケースに応用可能なしなやかな研究者である。開発の各過程でのdecision makingにおいて、動態特性と薬効、副作用の関連について、science-based, evidence-basedな意見を述べて開発過程を駆動できる研究者である。5年後には、企業における動態研究者の位置付けが大きく変化していることに期待すること大である。

## 目次

- |   |   |
|---|---|
| 1. 医薬品開発を駆動する21世紀の薬物動態研究者<br>杉山 雄一 (東京大学大学院・薬) …………… 1                  | 2) 立石 智則ほか (聖マリアンナ医科大学・薬理) …… 4                               |
| 2. ヒト試料の使用におけるインフォームド・コンセント<br>1) 法律家の立場から<br>三輪 亮寿 (三輪亮寿法律事務所) …………… 2 | 3) 奥平 和穂ほか (東京理科大学・薬) …… 6                                    |
| 2) 臨床医の立場から<br>草野 満夫 (昭和大学・医) …………… 3                                   | 4) 野村 明生 (東北薬科大学・第一薬剤) …… 7                                   |
| 3. HAB協議会の協力研究者報告<br>1) 倉田 知光 (昭和大学・医) …………… 4                          | 4. 「薬物相互作用データベースプロジェクト」—その後の進捗状況—<br>佐藤 哲男 (霊長類機能研究所) …………… 8 |
|   | 5. 第6回HAB協議会学術年会のご案内 …………… 9                                  |
|   | 6. お知らせ …………… 9   |
|   | 7. 編集後記 …………… 10  |

## 2. ヒト試料の使用におけるインフォームド・コンセント

### 1) 法律家の立場から

三輪 亮寿

三輪亮寿法律事務所 所長 弁護士・薬学博士

#### ICを重視する最近の法律環境

医薬分野における最近の裁判および立法の動向に目を向けると、インフォームド・コンセント(IC)重視の傾向がはっきりと読み取れる。更に詳しく見ると、そこには、ICの「拡大」と「深化」という二方向を観察することができる。

もともと、ICは手術の際に求められたものであるが、最近の判例は、投薬や検査の分野にもICを拡大して適用し、また法改正も含めて立法面では、平成8年のGCP法制化におけるICの文書化(GCPC50条)や同9年の医療法改正におけるICの明文化(医療法1条の4)などの形で拡大している。これらのIC拡大の一環をなすものとして、ヒト試料使用の際のICを位置づけることができるであろう。

なお、ICはもともと、「説明と同意」と訳されているように、同意権の問題であった(例えば、乳がん手術をするか否かの同意)。しかし、最近では更に進んで選択権が問題にされるようになった(例えば、乳がんの手術に同意した上で、一定の適応のある場合、乳房全摘か温存かの選択)。これは同意権から選択権へとICが深化したことにかかわるものといえるであろう。ヒト試料使用のICに対する英国の考え方

英国の臓器提供に関する非営利団体ナフィールド委員会の勧告(1995年4月)は、第1項で倫理的に問題ないヒト試料使用についても、摘出時に患者から同意を取るべきであると、同8項では摘出組織の法律関係を明らかにすべきであるとしている。

英国においても、ヒト試料使用という新しい問題に直面し、これを倫理的・法律的に確立することによって、学問ないし医療の進歩に寄与しようとしているわけである。

最近の国際化傾向ないしグローバル化の動向を云々するまでもなく、このナフィールド委員会の考え方は、そのまま日本にも当てはまるであろう。本件ICは倫理的な要請か法的な要請か

ヒト試料の処分に関しては、これまで極めて曖昧な形のまま今日に至っている。手術により摘出された組織の処分について、患者は必ずしも明白な意思表示をすることはなかった。そのため、黙示的に放棄があったことにしたり、黙示的に患者から病院に対して贈与の意思表示があったことにして、病院側で自由に処理をするような実情であった。しかしこれからは、正に時代の要請として、事柄をはっきりとさせる必要がある。

そのような観点からするならば、単に倫理的な問題として捉えるよりは、明確に法的問題として確立するほうが望ましい。そこで、摘出されたヒト試料は、はっきりと患者の所有権に帰属することを確認した上で、その処分について、黙示の意思表示ではなく、明示の意思表示ができるように医療側から患者に対して十分な説明を施すべきである。

そして、患者がその際に条件を付けたときは、病院による処分は、その範囲内に限られるべきである。ヒト試料使用のための摘出行為の適法性

ヒト試料使用のための摘出行為は、治療としての手術の場合であろうと、純粹に第三者に対する提供の場合であろうと、医療行為としての適法要件を充たすならば、実施は可能である。ただし、当該患者のための標本とか診断のための摘出ではないので、研究用とか移植用である旨を十分に説明して同意をとる必要がある。つまり、一般の診療の場合以上の手厚いICが要求される。

またその際、いわゆる「取り過ぎ」の不安を払拭するに足る制度的な保障があることが望ましく(IRBの承認や英国における主治医の手術立合いなど)、また、患者プライバシー保護のための対応も確実になされていなければならない。

ヒト試料使用とGLP・GCPの関係

創薬ないし新薬開発という見地からヒト試料使用を考えると、この倫理的にも法律的にも新しい課題に的確に対処して行くには、現行のGLP・GCPを念頭に置くことが最も実践的である。

GLPの規定によれば、試験系としてはヒト試料は含まず、試験内容も毒性試験のみであって一般薬理や相互作用等は含まない。一方、GCP5条は、臨床試験の開始前に毒性試験と必要な試験の終了していることを要求するのみである。つまり、ヒト試料使用による毒性試験性も薬理等の試験も、GCP5条で要求される試験には含まれない扱いとなっている。そこで、これを同条で要求される試験に準じて扱うことにより、治験概要書の中に盛り込むことが可能になる(同8条)。そうなれば、IRBの審査にかかることになり(同32条)、更に治験責任医師がそれに精通することにより(同42条)、文書によるICとして(同50条、51条)、ヒト試料を使用する際のICが的確に行なわれることになる(摘出時のICとは別に)。そして、そのような実績を積むことにより、将来的にヒト試料使用が正規にGLP・GCPの中に織り込まれることになりうる。

## 2) 臨床医の立場から

草野 満夫

昭和大学医学部第二外科 一般・消化器外科 教授

ヒト組織を用いた研究開発の在り方に関してのこれまでの経緯、現況、問題点については、昨年の第5回HAB協議会学術年会、さらにはNEWSLETTER, Vol.5, No.1で会長の宍戸先生、副会長の佐藤先生はじめ各分野の先生方が詳細に報告されている。専門委員会の最終報告書を踏まえて具体的な検討段階に入っているが、今回、実際にヒト組織の提供を患者にお願いする立場から、実施にあたっての課題の一つである「ヒト手術組織の摘出に当たっては、提供者が理解できるように十分な説明を行った上で文書による同意を得る必要がある」、この問題について外科医の立場から現況を報告したい。

外科手術などで摘出された臓器は術後の病理検索のため一部は用いられるが、不要となった組織は破棄焼却される。臨床で摘出組織を用いるのは主に病変組織であり、癌遺伝子の検索あるいは細胞培養を行い、抗ガン剤の感受性テストなどに用いられ、正常組織はそのコントロールとして採取される。これらの検索成果は将来患者に還元されるが、現状では臨床研究の意味合いが強い。このような検索に当たって、これまでは不要となった組織を使用することに大きな問題はないであろうとの考えで、特に患者に対しての説明と同意(IC)なしで使用してきた経緯がある。この様に臨床分野の組織利用の主体はあくまでも癌などの病変組織で、病理検索の延長線上にあり、正常組織の利用する本研究とは本質的な相違がある。従って組織を摘出する外科系医師が曖昧な形でこの問題に対応すべきでなく、外科医自身がまず、その研究の目的、必要性、倫理的な側面を十分に把握、認識しなければならない。

我々はすでに第二薬理学教室の安原教授を中心にヒト肝組織を用いた研究に着手している。提供患者は原発性あるいは転移性肝癌で、組織は非癌部肝組織である。まず、学内の倫理委員会に申請したが、研究目的、概要等以外に医学倫理的配慮が重視され、提供者のプライバシーの保護、ICを得る方法、医学研究などの対象となる者に生じる不利益、危険性に対する配慮、医学上の貢献の予測などの項目についてが審査の対象となり、一昨年審査をパスした。本研究目的のための臓器摘出は無論のこと、摘出肝の傷害をより少なくするための操作も回避しなければならないことは当然である。これに基づき同意書を

作成、現在手術前に行う患者および家族への術前ムンテラ(手術方法、危険性、予後等の説明)後、組織利用について説明し、同意を文書にて得ている。これまで拒否された、あるいはトラブルとなったケースはないが、患者サイドの真意を知る必要があらう。患者は手術が安全に行われ、完治し、一日も早く退院して社会生活に戻る、このことしか念頭にない。手術前の患者の説明は“肝臓癌です。場合によっては著しく進行していたり、腹膜転移もある。その場合はきわめて予後は不良です。肝臓の手術は血が出やすく、また術後に肝傷害が出現することがあります。”等、患者そして家族に対して厳しい話を余儀なくされる。その後で、“実は手術で摘出した肝の一部を研究に”と切り出すのが、よほど冷静か、理解のある患者、家族以外、口には出さずとも本心よりの同意とはなり得ないのが事実であろう。それだけでなくとも大学病院など大病院では患者は研究マテリアルになるのではとの危惧を抱いている。本研究を遂行する上で、ICを得ることが大前提となるが、説明する外科主治医の立場も複雑である。このバリアーを乗り越えるには日頃の患者への接触を密にし、より強固な信頼関係をつくる、そして近い将来、ヒト組織を用いた研究成果が臨床に還元されるよう努力する以外にないであろう。

### 3. HAB協議会の協力研究者報告

#### 1) 倉田知光

昭和大学医学部第二薬理学教室

#### ヒト肝ミクロソーム画分酵素によるニトラゼパム代謝

ニトラゼパムは、臨床的に古くから使用されているベンゾジアゼピン誘導体であり、睡眠導入剤として広範に用いられている。ニトラゼパム代謝は、これまでの報告によると、主にニトロ基の還元およびそれに続くアセチル化が主要代謝経路の一つとされているが、その他の代謝物を含めた、その代謝についての詳細に関するヒト肝臓でのデータは極めて少ない。我々は、今回、HAB協議会より提供されたヒト肝臓を用い、特にミクロソーム画分を酵素源とした時のニトラゼパム代謝に関して検討した。

ヒト肝臓は、常法に従いミクロソーム画分懸濁液を調製し冷凍保存したものを実験に使用した。ニトラゼパム代謝は、調製したミクロソーム酵素源と共にNADPH存在下インキュベートし、生成するニトラゼパムアミノ化体および水酸化体と推定された2種の代謝物を対象に行った。また、この反応に関与するcytochrome P450分子種を明かにする目的で、Phenacetin (CYP1A), Mephenytoin (CYP2C19), Debrisoquine, NN-dimethylnitroso amine (CYP2E1), Ketoconazole (CYP3A4)を用い阻害実験を行った。さらに、ヒトリンパ芽球様細胞発現各種CYP分子種を用いて、それぞれの代謝物生成に関与すると考えられるCYP分子種の推定を行った。各代謝物の測定は、HPLC/UV法にて行った。

ヒト肝ミクロソーム画分懸濁液を酵素源としたNADPH依存的代謝反応では、今回の検討により少なくとも2種類の代謝物が生成することが明らかとなった。その代謝物は、合成標品とのHPLCピークでの評価により、アミノ化体および水酸化体であること

が示された。アミノ化体生成に関しては、Eadie-Hofsteeプロットによる少なくとも2種類以上の酵素がその反応に関与していることが示された。また、それぞれのKm値の算出を行ったところ、それぞれ5-10 $\mu$ Mおよび200-500 $\mu$ Mであった。高親和性、低親和性両酵素のcytochrome P450分子種を明かにする目的で、代表的な各種CYP分子種の基質、阻害剤を用い検討した。その結果、高基質濃度(200 $\mu$ M)ではCYP1AおよびCYP2E1が、低基質濃度(10 $\mu$ M)においてはCYP3A4およびCYP2D6が関与している可能性が示された。また、水酸化体と考えられる代謝物について同様の検討を試みた結果、Eadie-Hofsteeプロットは1相性を示し、この代謝物生成には1種類の酵素のみの関与が示された。また、この反応は、代表的なCYP3A4阻害剤であるKetoconazoleにより著明な阻害が示された。

さらに、ヒトリンパ芽球様細胞発現各種CYP分子種を用いての両代謝物生成に関与するCYP分子種の推定に関する検討より、アミノ化体生成に関しては低基質濃度(10 $\mu$ M)においてCYP2D6およびCYP3A4の関与が示され、一方、水酸化体生成に関してはCYP3A4のみの関与が示された。これらの結果より、ニトラゼパムの主代謝経路の一つであるニトロ基の還元反応には、これまでに報告されているニトロレダクターゼ等の酵素以外にもCYP酵素系で行われることが明らかとなった。また、臨床的な血中濃度を考慮した場合、寄与の程度が現段階では明かではないが、CYP3A4および2D6が関与する可能性も示された。

#### 2) 立石智則、渡辺実、小林真一

聖マリアンナ医科大学薬理学教室

HAB協議会からお分けいただいた白人の正常肝組織は15検体となる。またこの3年間に本学外科学教室の肝癌手術症例から文書同意のもと切除病巣周囲の正常肝組織部分を得た。両者の肝組織を用い昨年我々が行った検討を紹介する。

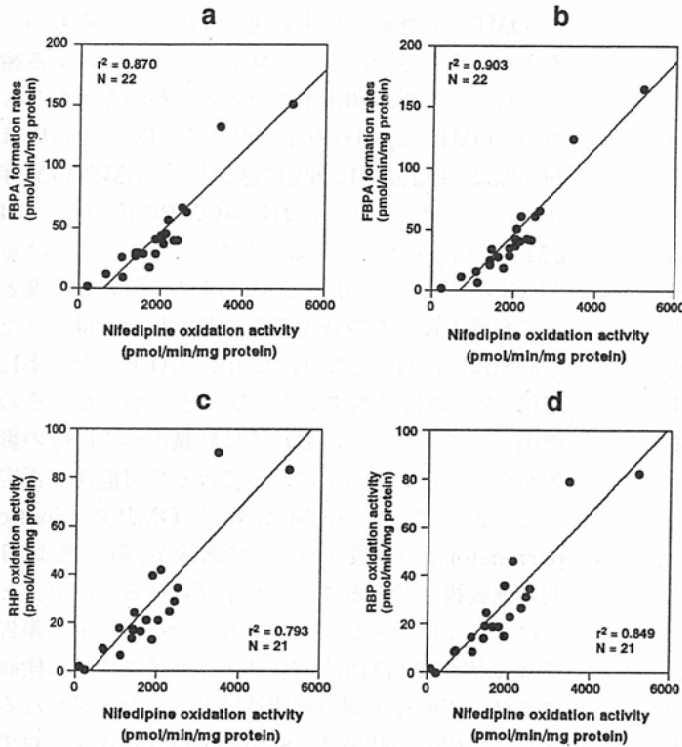
##### 1. haloperidolとbromperidolの代謝酵素の検討

haloperidolとbromperidolはbutyrophenone系抗精神病薬であり精神分裂病など治療に用いられている。構造は塩素と臭素が異なるだけで他の部分は共通である。これまで還元型haloperidolからhaloperidolへの酸化にはCYP2D6が関与するとい

われており、またhaloperidolの代謝をつかさどる酵素は同定されていなかった。そこでhaloperidolから代謝産物であるFBPA (fluorobenzoylpropionic acid)を生成する酵素の同定を試みた。また還元型haloperidolを酸化する酵素がCYP2D6であるか検討した。同様にbromperidolの代謝酵素と還元型bromperidolの酸化酵素を同定した。図-a, bにFBPA生成率とnifedipine oxidation活性との相関、図-c, dに還元型からのhaloperidolやbromperidolの生成率とnifedipine oxidation活性との相関を示す。これらからわかるようにいずれもCYP3Aの関与

が大であった。CYP2D6活性の指標としての dextromethorphan O-deethylation活性との間には有意の相関は認めなかった。さらに市販の再合成系ミクロソームを用いた検討ではCYP3A4ミクロソームのみに代謝物の生成を認めた。これらの結果は昨年の臨床薬理学会および今年の薬理学会総会にて発

表予定である。残念ながらここ1,2年の間に haloperidol及び還元型haloperidol の酸化にCYP2D6ではなくCYP3Aの関与を示唆する報告が相次ぎ後塵を拝する結果となったが、現在論文作成中である。



Correlation between nifedipine oxidation activity and FBPA formation rates from haloperidol (a) or bromperidol (b), and correlation between nifedipine oxidation activity and RHP oxidation activity (c) or RBP oxidation activity (d).

2. CYP3A5とCYP3A7の発現頻度の白人・日本人での比較

生体内CYP3A活性を示すnifedipine薬物動態には人種差がある。インド人のnifedipineクリアランスは白人と比較して小さいことが知られている。ところでCYP3A分子種には3A4, 3A5, 3A7の3種があり3A7は胎児に特異的であると考えられてきた。しかしSchuetzらは成人肝の半数に3A7mRNAを認めたとしている。また白人肝ではCYP3A5発現に多型性がありおよそ20%に存在するが日本人での発現頻度・発現量は不明である。この3A分子種発現が生体内CYP3A活性に影響を与えているのかもしれない。そこで感度のより良好なECL法を用い白人・日本人肝臓中CYP3A5, 3A7の発現頻度を比較した。CYP3A4と3A5は泳動時間を長くすることにより分離が可能であった。最近では抗CYP3A5ペプチド抗体も市販されている。抗CYP3A7抗体は北海道大学

鎌滝先生よりいただいた。白人と日本人の平均を表に示す。CYP3A5は白人肝15例中6例に、日本人肝15例中5例に認めた。CYP3A5の発現量は個人差が大きいもののCYP3A4のおよそ半量であり人種差はなかった。CYP3A7は発現量は極めて少なかったものの白人では10例に日本人では14例に認めその発現量は日本人で有意に大きかった。これは両群での基礎疾患の違いによるものかもしれない。すなわち肝癌組織にCYP3A7を認めたという報告があり、今回の日本人症例の多くが原発性肝癌であったため日本人検体のCYP3A7発現量が大きくなった可能性がある。更にECL法は感度が良好な反面、非特異的なバンドが出現しやすい傾向もありRNAレベルでの再検が必要かもしれない。この結果は昨年の薬物動態学会にて発表し、近くBiochemical Pharmacologyに短報として掲載される。

表 白人・日本人肝組織のnifedipine oxidation活性、各CYP3A分子種発現量。平均(SD), n=15

	活性1	CYP3A4	CYP3A5	CYP3A7 <sup>2</sup>
白人	1710(1310)	48.7(43.1)	29.7(20.2)	3.7(4.2)
日本人	1970(410)	53.2(17.8)	23.7(3.6)	11.2(8.0)

1 nifedipine oxidation活性 (pmol/min/mg protein)

2 CYP3A7は推定量

## 3) 奥平和穂、岩本兼一

東京理科大学薬学部

代謝酵素への薬物の阻害作用の指標として阻害定数Ki値が用いられている。この値は、*in vitro*、*in vivo*で一致するはずであり、*in vitro*実験から求めたKi値を使用した臨床での相互作用の予測が行われている。しかし、omeprazole (OMP) の diazepam (DZ) に対する代謝阻害に関しては、両系のKi値が一致しないため予測に成功していない。ラットにおいてはKi値が一致しているとの報告があるが<sup>1)</sup>、非結合型濃度を考慮した場合、両者には大きな乖離がある。また、ヒト組織を用いた*in vitro*代謝実験で報告されたKi値<sup>2)</sup>を使用した場合、血中濃度の変化を説明することは困難である。一方、DZの代謝に関与するCYP2C19の基質であるS-mephenytoinに対するKi値を使用した場合、かなり実測値に接近するが、やはり相互作用を過小評価している<sup>3)</sup>。

本研究では、ヒトの正確な予測法の確立を目指し、ラット、ヒトの*in vitro*系を用いて検討を行った。まず、阻害形式等についてラットにおける検討を行った。DZ代謝を検討する際、ラット遊離肝細胞と、OMPをpreincubationすることで、OMP代謝物の阻害への関与、及び、酵素を不可逆的に失活させる Mechanism-based inhibitionの可能性について検討した。これらが関与すれば、preincubationにより阻害効果は増大するが、DZの消失速度に有意差は見られなかった。次に、肝ミクロソームから得られたKi値が*in vivo*に反映されない理由として、肝細胞内への阻害剤の濃縮を検討した。遊離肝細胞とミクロソームにおけるKi値が異なることが報告されているが<sup>1)</sup>、より低濃度での検討の結果、両系の阻害効果には明確な差が見られず、肝細胞内への濃縮の寄与も少ないことが示唆された。*in vitro*と*in vivo*でKi値が一致しなかった次の理由として、報告で用いられている基質濃度に問題点があることが考えられた。従来の報告では、*in vitro*系でKi値の算出を行った際のDZ濃度が、血漿中非結合型薬物濃度に比べ著しく高いため、競合阻害の場合、この条件ではKi値を過小評価する可能性がある。そこで、肝ミクロソームを用いてDZのKm値より低い基質濃度を用いて、DZの代謝による消失速度に対するKi値を算出した。得られたKi値は $2.35 \pm 1.00 \mu\text{M}$ となり、タンパク結合率で補正した*in vivo*のKi値 $4.10 \mu\text{M}$ と良い対応が得られた。

ヒトにおける検討は、発現系及び肝ミクロソームを用いて行った。ヒトにおけるDZ代謝には、低基質濃度ではCYP2C19が、高濃度ではCYP3A4が関与している。2C19、3A4両発現系で検討を行った結果、2C19では、OMP  $10 \mu\text{M}$ で44.5%に減少したのに対し、3A4では阻害効果が現れなかった。 $100 \mu\text{M}$ では、

両者で阻害効果が現れた(28.1, 37.9%)。この違いは、OMPの各酵素に対する親和性の差によるものと考えられる。さらに、ヒト肝ミクロソームによる検討を行った結果、個体差のため各試料の差はあるものの、OMP  $5 \mu\text{M}$ 存在下において、DZ代謝速度は29.0%に、 $10 \mu\text{M}$ で12.6%に減少した。OMP  $5 \mu\text{M}$ 存在下のデータよりヒトにおけるOMPのKi値は、 $1.4 \mu\text{M}$ と算出された。この結果を用いて、ヒトにおけるAUCの上昇率を予測した。このとき、阻害剤濃度として肝臓中最大非結合型濃度を想定した。得られた予測値は、1.05倍となり、臨床でのAUCの上昇率1.26倍<sup>4)</sup>を正確に予測することはできなかった。その理由として、ラットにおいては肝臓中への濃縮の影響がなかったが、ヒトにおいてはその可能性が否定できないこと、今回用いたOMPのkinetic parameterは単回投与のものであるが、報告例は7日間の連続投与であること、が挙げられる。以上、ヒトにおいては予測が不十分であったが、従来の報告ではKi値が $100 \mu\text{M}$ 前後であり<sup>2)</sup>、今回の我々の検討により、正確な予測の可能性に近づいたと思われる。また、本研究の結果は、S-mephenytoin代謝に対するKi値( $2.0 \mu\text{M}$ )を使用した報告<sup>3)</sup>とほぼ一致し、その結果を実証したものである。

1) Zomordi K et al., Pharm. Res., 12, 1642 (1995)

2) Zomordi K et al., Br. J. Clin. Pharmacol., 42, 157 (1996)

3) Ito et al., Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 38, 461 (1998)

4) Ishizaki T et al., Clin. Pharmacol. Ther., 58, 155 (1995)

## 4) 野村明生

東北薬科大学第一薬剤

ヒト肝ミクロソームによるヒスタミンH<sub>1</sub>受容体拮抗薬・  
クロルフェラミンのN-脱メチル化反応の立体選択性

はじめに

ヒスタミンH<sub>1</sub>受容体拮抗薬であるマレイン酸クロルフェラニン(Chp)は強力な抗ヒスタミン作用を有し、抗アレルギー薬等に汎用されている。また、Chpはその構造内に不斉炭素を一つ有し、S-(+)-Chp及びR-(-)-Chpが光学異性体として存在する。Chpのラット及びヒトにおける主要代謝経路はN-脱メチル化反応である<sup>1)</sup>。代謝生成物としてはモノデスメチルクロルフェニラミン(DMChp)と、それが更にN-脱メチル化されたジデスメチルクロルフェニラミン(DDMChp)が確認されている。

## 1. ラット肝ミクロソームにおけるRS-(±)-ChpのN-脱メチル化反応

ラット肝ミクロソームにおけるRS-(±)-ChpのN-脱メチル化反応はラットの週令や性の違いで様相が異なる。特に、8週令雄性ラット肝ミクロソームを用いたChpのN-脱メチル化反応には立体選択性が認められ、S-(+)-ChpのDMChpの生成速度及び固有クリアランスがR-(-)-Chpのそれと比較して約2倍大きい<sup>2)</sup>。また、このN-脱メチル化反応は肝ミクロソーム中のチトクロームP450(CYP)により触媒され、CYP2C11が立体選択的にChpのN-脱メチル化反応を触媒すること、更に、キラル識別はないがCYP2B1とCYP3A2によってもChpはN-脱メチル化されることが判明している<sup>3)</sup>。

## 2. ヒト肝ミクロソームにおけるRS-(±)-ChpのN-脱メチル化反応

ヒト肝臓試料は、米国NDRI(National Disease Research Interchange)から提供された男性Hispanicのドナー3名と男性Caucasianのドナー8名及び女性Caucasianのドナー3名、計14名(平均年齢;43歳)の凍結保存ヒト肝臓を用いた。これらヒト肝試料からのミクロソーム分画によるChpのN-脱メチル化活性をEadie-Hofstee plotにて解析したところ、Chpの各エナンチオマーのDMChp生成反応はいずれも速度論的に二相であった(high-affinity=K<sub>m1</sub>; S-(+)-Chp: 23.02±6.4, R-(-)-Chp: 20.04±9.9, V<sub>max1</sub>; S-(+)-Chp: 2.90±0.7, R-(-)-Chp: 1.63±0.4, low-affinity=K<sub>m2</sub>; S-(+)-Chp: 209.59±83.5, R-(-)-Chp: 160.15±33.5, V<sub>max2</sub>; S-(+)-Chp: 0.15±0.1, R-(-)-Chp: 0.05±0.1)。また、このDMChp生成には有意な立体選択性は認められなかった。

## 3. ヒト肝ミクロソームにおけるChpのN-脱メチル化活性と薬物代謝酵素活性との相関性

基質濃度5μMのChpのN-脱メチル化活性値と総P450含量との間では有意な相関が認められ、特にS-(+)-ChpのN-脱メチル化活性とは高い相関性が得られた(r=0.761(P<0.005))。

また、各CYPアイソフォームの薬物代謝活性とChpのN-脱メチル化活性との相関性では、S-(+)-ChpのN-脱メチル化活性とCYP2D6、CYP3A4及びCYP4A1活性との間に有意な相関性が認められた(r=0.761, r=0.606, r=0.747(P<0.05))。一方、R-(-)-ChpのN-脱メチル化活性はCYP2C19及びCYP3A4活性と有意に相関性した(r=0.630, r=0.642, (P<0.05))。

おわりに

ヒト肝ミクロソームによるChpのN-脱メチル化活性はラット肝ミクロソームによるそれとを比較すると、その活性値は低く、立体選択性も認められなかった。また、そのN-脱メチル化活性にはエナンチオマーによってN-脱メチル化反応に関与するCYPアイソフォームが異なることが判明した。このようにラットとヒトとで、Chp代謝に差異が示されたことから、Chpの体内動態は動物種差があることが証明された。

また、医薬品代謝に関与するヒトCYPアイソフォームは現在までに数種が挙げられており、中でもCYP2D6は遺伝的差異がある。本報におけるヒト肝ミクロソームでのS-(+)-ChpのN-脱メチル化活性とCYP2D6活性との間で高い相関性が得られたことから、Chpの薬効や副作用の発現には人種による個体差が生じることが示唆された。

謝辞

本報において、肝臓を御提供いただきました米国NDRI(National Disease Research Interchange)に心から感謝いたします。

引用文献

- 1) Kasuya F. et al., XENOBIOTICA, 21, 97-109(1991)
- 2) 野村明生ら、薬誌、115, 633-640(1995)
- 3) Nomura A. et al., J. Pharm. Pharmacol., 49, 257-262(1997)

## 4. 「薬物相互作用データベースプロジェクト」

### —その後の進捗状況—

佐藤 哲男

霊長類機能研究所

HAB協議会が製薬企業と共同で発足した表記プロジェクトについて、1998年8月に製薬企業および兼業会社100社に趣意書と計画書を送付し32社からご賛同を得た。しかし、その後、本プロジェクトへの参加条件を満たさないなどの理由で、最終的に29社でスタートすることとなった。本プロジェクトを開始するに当たっての最終的な打ち合わせの幹事会を1998年10月9日に開催し、具体的な進め方について意見交換を行った。

#### 1. 幹事会での主な審議事項

- 1) 製薬協の相澤一雅氏(明治製菓)から、製薬協の「医薬品評価検討委員会基礎研究部会第4分科会」で現在作業が進行しているところの「薬物相互作用データベースプロジェクト」についてのご説明があった。同分科会では、自社、他社製品を問わず、ある薬物を文献から任意に抽出し、薬物動態や安全性についての文献上の情報をまとめて一つのデータベース化を進めている。したがって、本プロジェクトの具体的な進め方とは基本的に異なっているが、将来はこれらを合体することにより、個々の薬物に関する情報が増えて関係者にとっては大きなメリットとなることが期待される。
  - 2) 本プロジェクトで使用するプロトコルについて、作成者の一人である岡崎治氏(第一製薬)から具体的な作業手順について詳細な説明があった。
  - 3) 佐藤哲男(霊長類機能研)より、本プロジェクトの運営に関してその手続き等について説明があった。参加を希望する企業は、HAB協議会との間で秘密保持契約を取り交わし、さらに、所定の経費(参加費 10万円、肝ミクロソーム代(1品目について200mg、32万円))を負担して頂くこととなった。
  - 4) 各企業に配布したアンケートに関する質問を事務局においてQ & Aにまとめ、それらについて簡単な説明を加えたものを各幹事会社に配布した。
  - 5) これまで本プロジェクトに積極的にご参加頂いてきた協発酵工業(株)に、新たに幹事会社としてご協力頂くこととなった。
  - 6) 次回幹事会は3月中旬に開催予定。
- #### 2. 薬物相互作用データベースプロジェクト説明会の開催

上記理事会の終了後に、同会場において本プロジェクトへの参加企業および参加予定企業を含めて約47社(60名)が参加し、最初に佐藤哲男が挨拶をした後、今回のプロジェクトを進めるに当たって、計画の経緯および目的について大塚峯三氏(田辺製薬)から詳細な説明なされた。その後、参加者、特に実験担当者からプロトコルに関する具体的な質問が出され、約2時間にわたって質疑応答が行われた。

#### 3. 参加企業によるデータ提出予定

本プロジェクトの試験の開始時期が各社の事情により若干異なっていることから、参加企業29社からのデータの提出は3月下旬から5月下旬まで幅があるが、最初の中間報告会は4月初旬を予定している。なお、本年中に上市品が出た場合、4-5社が新たに参加を希望している。

本プロジェクトに関するお問合せ先  
HAB 協議会事務局 獅山喜美子  
TEL/FAX : 03-3815-1909



## 5. 第6回HAB協議会学術年会のご案内

日時：1999年5月19日(木)、20日(金)

会場：日本大学会館 (JR市ヶ谷駅 徒歩5分)

主催：HAB協議会

協賛：日本薬学会、日本薬物動態学会、日本臨床薬理学会、日本トキシコロジー学会、日本薬理学会(順不同)

学術年会長：林 正弘(東京理科大学・薬学部)

主題：ヒト組織の有効活用における現状と将来

1) 特別講演：「ヒト組織を用いた研究開発の在り方に関する専門委員会」の経緯についてのご講演を予定。

黒川 清(東海大学・医学部)

2) 招待講演-1：医薬品開発のためのヒト肝細胞サンドイッチ培養法の応用(仮題) Dr. Dr. Armin Kern (PH-PDP Metabolism and Isotope Chemistry, Bayer AG)

3) 招待講演-2：手術切除ヒト平滑筋組織を用いた薬理学研究とその問題点  
上川 雄一郎(独協医科大学・薬理学)

4) 招待講演-3：医療の現場でのインフォームド・コンセントについて(仮題)  
草野 満夫(昭和大学・医学部)

5) 厚生科学審議会の答申：ヒト組織を用いた研究開発の在り方に関する専門委員会-厚生大臣への答申をめぐって-  
佐藤 哲男(霊長類機能研究所)

6) セミナー：ヒト組織以外の実験系の研究開発への応用

(1)人工肝臓によるヒト肝代謝機能の研究

永森 静志(東京慈恵会医科大学・第一内科学)

(2)培養ヒト細胞の機能

難波 正義、井上 祐介(岡山大学・分子細胞生物学研究施設)

7) 薬物相互作用ワーキンググループの進捗状況  
池田 敏彦(三共株式会社・分析代謝研究所)

8) 一般講演：ヒト組織を用いた研究に関する演題参加申込

(1) 学術年会参加費

一般正会員：8,000円  
(当日 15,000円)

賛助会員(一口あたり)：8,000円  
(当日 15,000円)

非会員：14,000円  
(当日 15,000円)

大学関係・学生：6,000円  
(当日 10,000円)

※事前参加申込期限は4月25日(必着)入金分までです。

(2) ミキサー参加費

一般：7,000円

大学関係・学生：5,000円

問合せ先：HAB協議会事務局(巻末参照)

## 6. お知らせ

### 1. HAB協議会流動研究員の募集

HAB協議会は、ヒト試料を医薬品の基礎研究へ有効利用するための非営利団体として、産学官の医学、薬学、獣医学の研究者の有志により1994年に設立されました。1996年5月より、附属の霊長類機能研究所を新設し、広く門戸を開放する目的で、下記の要領により外部からの流動研究員を受け入れております。

1) 研究内容：米国NDRI(National Disease Research Interchange)と本協議会の国際協定に基づいて輸送されてくるヒト試料を医薬品の非臨床試験に係わる基礎研究に有効利用する。

2) 資格：国内の企業、大学、その他の研究機関に勤務する研究者で、申請に際し

て所属長の許可を得ている者。

3) 手続き：所定の書類により申請し、本協議会会長の許可を得る。

4) 費用：審査料と研究に要する実費のみ。

5) 研究場所：原則として本協議会附属の霊長類機能研究所内において行う。

問合せ先：HAB協議会事務局(巻末参照)

### 2. 「会員の頁」に掲載する原稿募集

賛助会員および正会員の皆様からの原稿を募集致します。研究所や研究の紹介など、特に内容は問いません。多数のご応募をお待ち申し上げます。

### 3. 正会員および賛助会員

正会員数は88名です。賛助会員は表のとおりで、

新しく味の素株式会社、科研製薬株式会社、帝国臓器製薬株式会社、日本化薬株式会社、日本ロシュ株式会社、ローヌ・プーランローラー株式会社の6社が加わりました。

◎正会員・賛助会員募集

正会員：入会金 10,000円  
年会費 8,000円

賛助会員：年会費 一口 50,000円

問合わせ先：HAB協議会事務局(巻末参照)

賛助会員名簿表(50音順)

	社名
1	旭化成工業株式会社
2	味の素株式会社
3	エーザイ株式会社
4	エスエス製薬株式会社
5	大塚製薬株式会社 徳島研究所
6	株式会社大塚製薬工場
7	小野薬品工業株式会社
8	科研製薬株式会社
9	鐘紡株式会社
10	キッセイ薬品工業株式会社
11	杏林製薬株式会社
12	協和発酵工業株式会社
13	キリンビール株式会社
14	三共株式会社
15	参天製薬株式会社
16	株式会社三和化学研究所
17	シュERING・プラウ株式会社
18	塩野義製薬株式会社
19	株式会社ジャパンエナジー
20	株式会社新日本科学
21	住友製薬株式会社
22	株式会社生体科学研究所
23	第一製薬株式会社
24	大正製薬株式会社
25	大日本製薬株式会社
26	大鵬薬品工業株式会社
27	武田薬品工業株式会社
28	田辺製薬株式会社
29	中外製薬株式会社
30	株式会社ツムラ
31	帝国臓器製薬株式会社
32	トーアエイヨー株式会社
33	東京田辺製薬株式会社
34	東レ株式会社
35	鳥居薬品株式会社
36	日産化学工業株式会社
37	日本化薬株式会社
38	日本グラクソ株式会社
39	日本ケミファ株式会社
40	日本新薬株式会社
41	日本チャールス・リバー株式会社
42	日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社
43	日本ロシュ株式会社
44	根本特殊化学株式会社
45	ノバルティス ファーマ株式会社
46	バイエル薬品株式会社
47	萬有製薬株式会社
48	ファイザー製薬株式会社
49	藤沢薬品工業株式会社
50	富士写真フィルム株式会社
51	富士レビオ株式会社
52	ヘキストマリオンセル株式会社
53	三井製薬工業株式会社
54	三菱化学株式会社 横浜研究所
55	明治製薬株式会社
56	持田製薬株式会社

57	山之内製薬株式会社
58	吉富製薬株式会社
59	ライオン株式会社
60	ローヌ・プーランローラー株式会社

(1999年2月1日現在)

## 7. 編集後記

1998年から1999年にかけて、わが国の医薬品開発にとっては画期的な展開が見られた。厚生大臣の諮問「手術等で摘出されたヒト組織を用いた研究開発の在り方」に対する答申は、医薬品の開発における国際的調和を考えると誠にタイムリーである。FDAでは1986年から薬物動態ガイドラインにヒト由来試料を用いたデータの提出をrecommend(強制ではない)してきたことを考えると、わが国の対応が若干の及び腰であったことは否めない。しかし、わが国の国民性やヒト組織に対する情緒的、感情的応答に配慮した行政側の考え方も納得出来る部分がある。厚生大臣の諮問を受けてからの行政の対応は誠に速く、中でも、諮問について僅か5回の会議を経て異例の速さで効率的な審議を行い、この難問についての確な最終報告書を作成した専門委員会(委員長、東海大学医学部長 黒川 清教授)各位のご見識には心より敬意を表する次第である。問題はこれから如何にして実現に移すかである。そのためには官民一体になって幾つかの高いハードルを越さねばならない。臓器移植の問題とは全く異なる視点で社会的コンセンサスを得ることが必要であり、また、臨床医の積極的な協力無しには一歩も前進しない。21世紀を目前にして、関係者の英知を結集して、わが国における「手術組織の有効利用に関するネットワーク」を一日も早くスタートさせたいものである。

(佐藤 哲男 記)

### Newsletter, Vol.5, No.2

1999年3月15日

発行  
編集

印刷・発行

HAB協議会

HAB協議会事務局

〒113-0032

東京都文京区弥生2-4-16

学会センタービル

TEL/FAX (03) 3815-1909

穴戸 亮

編集責任者