

論文の内容の要旨

論文題目 非標識体化合物を用いたマイクロドース試験
によるヒト薬物動態評価法に関する研究

氏名 山根 尚恵

マイクロドース試験（MD 試験）は、ヒトにおいて薬理作用を発現すると推定される投与量の 1/100 を超えない用量又は 100 μg のいずれか少ない用量と定義される極微量の薬物を単回投与する臨床試験である。MD 試験の実施により、通常の臨床試験よりも前にヒト薬物動態に関する情報を得ることができるため、臨床開発における成功確率を向上させ、医薬品開発にかかる費用と時間を大幅に削減するものと期待されている。欧米では、放射性標識体化合物投与の MD 試験を実施し、加速器質量分析法（AMS）を用いて被験物質の薬物動態（PK）プロファイルを取得することが行われていたが、我が国において、MD 試験実施の報告例はなかった。そこで、製薬企業に対してアンケート調査を実施した結果、日本で MD 試験を行うにあたっては、非標識体化合物投与の試験であれば、試験実施のハードルは低く、試験において液体クロマトグラフ-タンデム質量分析法（LC-MS/MS）を用いた未変化体の PK データ取得ができることを実証する必要があると考えられた。また、開発戦略に MD 試験を導入することにより増大する開発費用が成功確率の向上に見合うかどうかについての定量的なデータがないことが問題となっていることがわかった。

よって、本研究では、医薬品開発における MD 試験の有用性を高めることを目的として、LC-MS/MS の特長を最大限に活用することで、MD 試験における簡便・迅速な薬物濃度測定法を開発し、臨床試験から得られる情報量を高めることを検討した。また、MD 試験導入の有益さを、客観的指標を用いて示すために、MD 試験導入による費用効果分析を実施した。

1. 非標識体化合物投与の MD 試験の実施

【1-1. ヒト血漿添加調製試料を用いた LC-MS/MS の MD 試験への適用可能性の検討】

ヒト血漿に薬物を添加した調製試料を用い、LC-MS/MS が MD 試験での適用に耐えうる感度を有するのか検討した。薬物は、選択基準を設け、2006 年度世界売上げ上位医薬品 47 品目から、31 品目を用いた。検討方法は、化合物の物性毎に分類した試料前処理法を構築し、化合物毎に測定条件を最適化後、分析法をバリデートすることにより定量下限値を決定した。結果、31 化合物の定量下限値は 0.08~50 pg/mL の範囲であり、LC-MS/MS でも定量下限値は pg/mL オーダーであることがわかった。この取得した定量下限値が、MD 試験で解析に十分な薬物動態データを取得するための感度に到達しているかを検証するために、MD 試験時に想定される C_{max} 値（臨床投与量投与時と MD 投与時における PK プロファイルの線形性を仮定し、臨床投与時の C_{max} 値から比例計算により算出）に対する定量下限値の比を算出した。生物学的同等性試験のガイダンスによると、PK データ解析の際には最低限 C_{max} 値の 3 半減期以下の濃度まで測定することが推奨されているが、検討した 31 化合物の内、30 化合物について、各化合物の MD 試験時に想定される C_{max} 値の $1/2^3$ （3 半減期）よりも低い濃度まで測定が可能であることがわかった。以上のことから、LC-MS/MS は非標識体化合物投与の MD 試験における薬物動態データ取得に十分適用可能な感度を有していると考えられた。

【1-2. 非標識体化合物投与の MD 試験の実施】

健常人を対象として、非標識体フェキソフェナジンを MD (100 μ g) 投与時と治療量 (60 mg) 投与時の血中濃度の時間推移を比較した。LC-MS/MS でも実試料中の薬物濃度測定が可能であることを証明した。投与量で規格化した MD 時の血漿中濃度は、治療量投与時と比較して高い傾向が認められた。その原因として、治療量投与時は錠剤、MD 投与時は溶液であったため、製剤の違いによる吸収の差が考えられた。60 mg で規格化したマイクロドース後の PK プロファイルは、治療量投与時のそれと類似していた。本結果は、MD 時のデータから治療量投与時の薬物動態が予測可能であることを示した一例である。結果、MD 試験における測定法に LC-MS/MS を用いても、未変化体の PK プロファイルは十分に取得でき、非標識体化合物投与の MD 試験の有用性が実証できた。

【1-3. MD 試験を利用したヒト代謝物の早期探索】

ヒト代謝物が複数生成されることが予めわかっているニカルジピンを用い、非標識体化合物投与の MD 試験により、代謝物の PK データ取得が可能であるかを検討した。ヒト肝ミクロソームを用いて生成した代謝物についてイオントラップ型フーリエ変換質量分析装置 (LIT-FTICRMS) を用いて精密質量を測定し、LIT-MS により、 MS^2 及び MS^3 測定を行い、代謝物のフラグメンテーション情報を収集した。代謝物測定には、LC-MS/MS を用い、未変化体は標準物質を用いて定量した。in vitro 代謝試験により得られた代謝物 M1~M9 の測定精密質量から分子式と代謝反応の種類を導き出し、未変化体のフラグメントパターンと代謝物の MS^2 及び MS^3 プロダクトイオンを基に、代謝物の構造式及び代謝経路を推定した。LC-MS/MS を用いた 9 つの代謝物測定の結果、MD 後の血漿中代謝物を一斉に測定することにより、ヒト in vivo における 6 つの代謝物の PK プロファイル取得に成功した。

通常の MD 試験では、標準物質がある未変化体の血中濃度のみの取得にとどまるところが、*in vitro* 代謝試験で予め代謝物の構造推定を行っておくことで、試験で得られる PK の情報を増すことに貢献した。

【1-4. カセット MD 試験】

本研究では、阻害薬を併用した非標識体化合物投与のカセット MD 試験において、LC-MS/MS を用いて複数物質の PK 情報を一括取得することを目的とし、アトルバスタチン(ATR)のヒト *in vivo* における肝消失の律速段階を明らかにした。試験デザインは、OATPs、CYP3A4 両方の基質である ATR と共に、OATPs プローブのプラバスタチン、CYP3A4 プローブのミダゾラムをカセットマイクロドースし、それに、OATPs 阻害薬リファンピシン、あるいは CYP3A4 阻害薬イトラコナゾールを併用させた。測定の結果、ATR 及びそのラクトン体、ならびにそれぞれの 2-OH 体、そしてミダゾラムの 5 物質について同時に試料処理し、かつ同時測定が可能であった。プラバスタチンとその代謝物は、異性体の関係にあり、また、水溶性物質のため ATR と物性が異なることから同時に処理・測定は不可能であったが、いずれの化合物の測定においても、一般的な試料処理である固相抽出を採用することができ、MD 条件下でも、簡易で迅速に複数化合物の同時測定が可能であった。よって、LC-MS/MS によりカセット投与した未変化体及び代謝物の PK データの一括取得が可能であり、阻害剤投与時の ATR の動態変動を検出することができた。

本研究により、カセット MD 試験による PK データの一括取得のために、LC-MS/MS は十分実用的な性能を有していることが実証できた。そして、開発薬にプローブ薬物やプローブ阻害薬を併用したカセット MD 試験において、開発薬の PK の変動を検討することで、開発薬のクリアランスがどの分子の機能によって決定づけられているのかをヒト *in vivo* で直接明らかにすることができた。

以上、LC-MS/MS を用いた MD 試験の有用性を実証するとともに、「未変化体及び代謝物も含めた動態解析」や「カセット投与による同一被験者での化合物間の体内動態特性の比較」といった新たな MD 試験の活用法が提案できた。

【2.MD 試験導入による費用効果分析】

本研究は、従来の医薬品開発プロセスに MD 試験を導入したときの費用対効果（承認品目数）を評価することを目的とした。評価にあたり、従来型戦略と MD 導入型戦略（MD-LC-MS/MS、MD-AMS、MD-PET）のモデルを構築し、開発費用と移行確率を入力した。なお、MD 導入型戦略における移行確率は、非臨床毒性試験からフェーズ 3 試験に至る 3 つのフェーズ間において、従来型戦略よりも改善されるとした。そして、MD 試験導入時の費用対効果を推定するために、100 個の候補化合物が 4 つの戦略下で開発される 9 つのシナリオを想定したコホート分析を実施し、各シナリオにおいて開発費用と承認品目数を推計した。次に、従来型戦略と比較して、MD 導入型戦略によって承認品目数を 1 品目増加させるためにかかる費用、すなわち増分費用効果比（ICER）を算出した。従来型開発では、1 品目承認あたり 244 億円かかることから、MD 導入の ICER が 244 億円より低ければ、費用対効果に優れると設定した。

結果、100 個全ての候補化合物が、3 つの MD 導入型戦略それぞれに選択されるシナリ

オI～III、及びMD導入型戦略が部分的に導入されるシナリオIV～IXのいずれにおいても、ICERが120～140億円と、従来型開発で1品目承認のための費用244億円より低く、MD導入型戦略は、従来型と比べて費用対効果に優れていることが分かった。以上、医薬品開発にMD試験を導入することは構築したモデル条件下、費用対効果に優れると言える。

【結論】

本研究により、MD試験におけるLC-MS/MSの技術的な有用性を実証し、それに伴い新たな創薬研究における非標識体化合物を投与するMD試験の活用法を提案した。また、MD試験導入は、費用対効果に優れており、臨床開発の成功確率向上に寄与しうると考えられた。本研究の成果は、国内外における非標識体化合物投与のMD試験を用いた創薬研究に活用され、MD試験で得られる情報を広げ、医薬品開発の成功確率向上に貢献するものと期待している。