

審査の結果の要旨

氏名 山根 尚恵

医薬品開発費用は年々増加しているにも関わらず、最終的に承認に至るまでの成功確率はむしろ低下している。臨床開発における候補化合物の開発中止理由として、毒性や薬効、薬物動態/バイオアベイラビリティがあげられている。さらに、毒性や薬効が開発中止理由であっても、毒性や薬効発現に関連した臓器への薬物移行など、薬物動態的要因であることも考えられる。臨床以降の開発フェーズにおいて、成功確率を高めるためには、早期にヒトにおいて優れた薬物動態特性を示す化合物を選別することが不可欠である。そのための新しい医薬品開発ツールとして、マイクロドーズ試験（MD試験）が提唱された。MD試験は、1回の投与量が、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投与する臨床試験（反復投与の場合の投与回数は5回以下）であり、早期にヒト薬物動態に関する情報を得ることで、臨床フェーズにおける成功確率を向上させるものと期待されている。

欧米では、測定感度の観点から、放射性標識化合物投与のMD試験を実施し、加速器質量分析法（AMS）を用いて生体試料中の被験物質を定量し、薬物動態プロファイルを取得することが行われていた。我が国において、MD試験実施の報告例はなかった。申請者である山根が製薬企業に対して実施したMD試験実施に関するアンケート調査では、放射性標識された化合物を用いる点を、MD試験実施のハードルとしてあげる回答がもっとも多かった。非標識体化合物投与の試験であれば、MD試験実施のハードルは低くなるものの、研究開始当初、MD臨床試験での生体試料中の薬物量を測定するには、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析法（LC-MS/MS）の定量感度は十分ではないと信じられており、非標識体化合物を用いたMD試験の実現に対して否定的な考えが主流であった。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点も指摘されていた。そこで申請者は、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、MD試験の普及を目指すことを企図して、本研究を実施した。本論文は4章から構成されており、第1章では、本研究を実施することになった背景及び本研究の目的が述べられている。第2章では、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。第3章では、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。第4章において、研究を総括し、医薬品開発に、本研究が与える影響について考察されている。

以下に研究の概略を示す。

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

LC-MS/MSがMD試験での適用に耐えうる感度を有するのかを検討するため、ヒト血漿に薬物を添加した調製試料が用いられた。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品目が選択された。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が決定された。その結果、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オーダーであった。MD試験時に想定される C_{max} 値(臨床投与量投与時とMD投与時における薬物動態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から、取得された定量下限値が、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が検証された。生物学的同等性試験のガイダンスによると、薬物動態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。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った。以上の結果より、LC-MS/MSが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ことを示した。

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、非標識体フェキソフェナジンをMD(100 µg)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することで、LC-MS/MSでも実試料中の薬物濃度測定が可能であることが実証された。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であり、MD投与時は溶液であったため、異なる投与剤型による吸収率の違いによるものと考察されている。投与量で規格化した血漿中濃度の時間推移曲線は、治療量投与時のそれと類似していたことから、剤形を統一すればフェキソフェナジンの薬物動態プロファイルは線形であったものと期待される。しかし、申請者が用いたLC-MS/MSシステムはMD試験における生体試料中の薬物量測定法として十分な感度を有し、かつ、未変化体の血漿中濃度-時間プロファイルを十分に取得できることを示した点は、非標識体を用いたMD試験の実現性を議論する上で意義のあるものである。

1-3. MD試験を利用したヒト代謝物の早期探索

医薬品開発において代謝物を測定することの重要性は、大きく2点ある。薬効の観点からは、特にプロドラッグ体に該当するが、薬理活性を有する代謝物の生成評価とその薬物動態評価に有用である。もう一つは、安全性の観点から、有害事象に関連し得る代謝物の生成、あるいは代謝酵素・トランスポーターの機能を阻害し、基質薬物と薬物相互作用を生じる代謝物の生成がある場合に、代謝物測定が必要となる。従来の医薬品開発であると臨床試験に進まない限り、候補薬物のヒトに特有な代謝物は発見できず、代謝物が発見された場合は、臨床試験開始後に代謝物の毒性試験を実施することになり、開発が遅れる原因となる。実際のところ、医薬品開発における未知代謝物の高感度定量分析には、AMSが用いられているが、 ^{14}C 標識体を投与する必要がある。そこで、申請者は、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(非標識体)のMD試験により、以下の手順で、代謝物の検索及び代謝物の薬物動態データ取得が可能であることを検討した。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 MS² 及び MS³ 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 つの代謝物の薬物動態プロファイル取得に成功している。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、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、試験で得られる薬物動態の情報が増すことを示している。なお、AMS で測定する場合、代謝物の有無をクロマトグラム上で検出し、代謝物の濃度測定が可能であるが、化合物の構造情報が取得できないことから、どのような代謝物であるのか推定することはできない。この点も、従来法に比べて、LC-MS/MS を用いた MD 試験の優位性を示すものである。

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薬物動態情報を一括取得することを目的とし、アトルバスタチンのヒト in vivo における肝消失の律速段階を、MD 試験により明らかにした。OATPs、CYP3A4 両方の基質であるアトルバスタチンと共に、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投与し、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した。アトルバスタチンおよびそのラクトン体、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、水溶性物質のためアトルバスタチン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。アトルバスタチンの AUC は、プラバスタチンと同様にリファンピシン投与により増加するものの、イトラコナゾールによる影響は受けなかったことから、主排泄臓器である肝臓における消失は、取り込み過程が律速段階と考えられた。本試験により、LC-MS/MS によりカセット投与した未変化体及び代謝物の薬物動態データの一括取得が可能であることが実証された。複数の候補薬物の中から、適当な動態特性を示す薬物を選別するほか、代謝酵素・トランスポーターなど複数のプローブ薬物とのカセット MD 試験において、開発薬のクリアランス機構に関する知見を得ることが可能である。

以上より、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された。

【2.MD 試験導入による費用効果分析】

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）が評価された。申請者は、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。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。

その結果、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示された。よって、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ことが明らかにされた。

以上のように、申請者は、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。本研究がなされるまで、MD 試験で使われるような低濃度域において LC-MS/MS が使用可能であることが実証されておらず、なおかつ実例がないことが MD 試験導入の大きな障壁ともなっていた。AMS は、普及が不十分であるという限界があり、現段階では実質的な選択肢が LC-MS/MS に絞られる中で、LC-MS/MS でも MD に耐えうる感度を持っていることを実証し、結果として企業の意思決定に資するデータを提供できたことは、評価に値する。実際に、LC-MS/MS を利用することで、代謝物の同定やカセット投与での創薬スクリーニングの開発も実現しており、創薬に間違いなく貢献するものである。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である。以上の理由により、博士 (薬学) の学位を授与するに値するものと認めた。