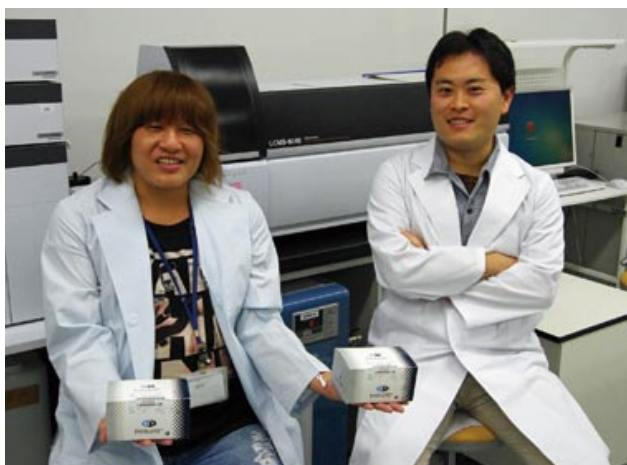


『薬物動態・薬物間相互作用の 定量的予測技術確立へ』

— 臨床試験の血漿サンプル分析に親水性ポリマーベース
固相抽出プレート「EVOLUTE EXPRESS」を活用 —

独立行政法人理化学研究所 社会知創成事業 イノベーション推進センター 杉山特別研究室（杉山雄一特別招聘研究員 主宰）に、薬物動態・薬物間相互作用の定量的予測法の確立を目指した臨床試験のサンプル分析のため、バイオタージの親水性ポリマーベース固相抽出プレート「EVOLUTE EXPRESS」をご採用いただきました。この臨床試験の名称は、『アトルバスタチンのOATP2B1阻害効果を利用した小腸に発現するトランスポーター機能解明と相互作用機序解明に関する検討』で、「EVOLUTE EXPRESS」を使用することにより、カセットドーズ／セミマイクロドーズ試験の血漿サンプルの前処理を、効率的かつ低コストで行うことができました。今回は、杉山特別研究室の研究員である吉門崇さんと常本和伸さんにご研究の内容を含めてお話をうかがいました。



— まず、杉山特別研究室についてご紹介ください。

吉門さん：東京大学大学院薬学系研究科の杉山雄一教授が退官されて理化学研究所に移られる際に私も一緒にさせていただきました。もともと分子薬物動態学を基にしている研究室です。

服用後の体内の薬物濃度の変化を調べるのが薬物動態学（ファーマコキネティクス）ですが、われわれのところでは、その薬がターゲットの働きを弱める拮抗薬になるのか、それを強める作動薬として働くのかといったメカニズムにまで踏み込んだ薬力学（ファーマコダイナミクス）まで含めた研究を行い、最終的には患者さんのためによく効く副作用のない薬を生み出すことを目標としています。

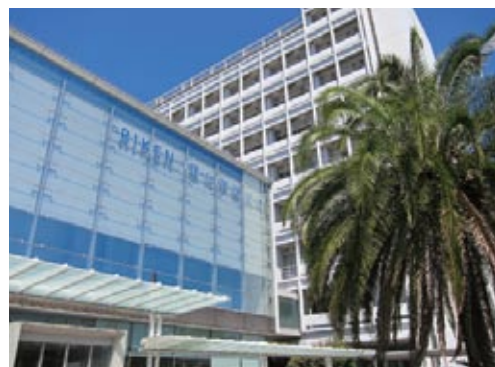
また、薬の開発には多くのプロセスを経なければなりません。特に臨床試験はとても費用がかかるため、事前に適切な手順を組む必要があります。

そのためには、薬物動態・薬効・副作用を定量的に予測するシステムを構築することがとても重要になります。そのシステムを構築することが研究のテーマです。

— コンピューターシミュレーションでそれを行うわけですね。

吉門さん：はい。薬の効果には個人差もありますし、また薬を併用することで相互作用を引き起こし、薬の効果が減少したり副作用が増大したりします。そこで、生理学的薬物速度論（PBPK）モデルと呼ばれる数理モデルを用いてそれらの挙動を予測します。これを用いることで基本的にどんな薬でもパラメーターを入力すれば、それがどのような薬物動態を示すかを定量的に予測することができます。

ただ、その予測結果と、実際にヒトにおける臨床試験の薬物動態データとが合うかどうかを検証しなければなりません。その検証の際に健常者を集めて臨床試験を実施したのですが、その分析の前処理に今回採用したのがEVOLUTE EXPRESS CXだというわけです。



定量感度の確保が重要！ 回収率の良いEVOLUTE EXPRESSを採用

吉門さん：これは、カセットドーズとセミマイクロドーズを組み合わせた臨床試験です。このメリットは複数の薬物を同時に投与する(カセットドーズ)ので試験自体のコストを低く抑えられることと、低濃度の投与(セミマイクロドーズ)ですむために被験者の安全性が高いということです。

実は、マイクロドーズはNEDO プロジェクトの中で杉山先生が確立された手法でして、『マイクロドーズ臨床試験を活用した革新的創薬支援技術の開発／事業化』として経済産業大臣賞を昨年受賞しています。

今回の試験では医療目的で投与する場合に比べて100分の1から10分の1程度の濃度になりますので、分析には定量感度が非常に重要です。また、カセットドーズですので同時に数種類の薬物を分析しなければなりません。複数かつ微量の目的物質の定量感度を確保するには、前処理がとても重要になります。

今回は、アトルバスタチンとグレープフルーツジュースの2種類を消化管トランスポーター OATP2B1 阻害薬とし、セリプロロールやスマトリプタンなど5種類を被相互作用薬として組み合わせて試験しています。

その5種類のうちの、カチオン性で物性の似ているセリプロロールとスマトリプタンを対象にした分析の前処理でEVOLUTE EXPRESS CXを使用しています。

— どのような経緯で採用されたのでしょうか。

吉門さん：臨床サンプルの血漿はあまりきれいなものではありませんので、測定装置への負担なども考慮して前処理をする必要がありました。

最初は他社製の固相抽出カラムを使っていましたが、カチオン性に特異的なものではなく、かつコストも高かったのです。そんな時にEVOLUTE EXPRESSを紹介され、シリーズの中で何種類か比較してみて、一番回収率が良かったのがCXタイプでした。前処理のあとは、島津製作所さんのLC-MS/MS (LCMS-8040, LCMS-8080) で分析しました。



理化学研究所 社会知創成事業 イノベーション推進センター
杉山特別研究室 吉門 崇さん



理化学研究所 社会知創成事業 イノベーション推進センター
杉山特別研究室 常本 和伸さん

コストは3分の2になった



島津製作所 LC-MS/MS (LCMS-8040)

— では、実際にEVOLUTE EXPRESS CXを使ってみた感想はいかがですか。

常本さん：感度が良くなりましたし、ステップも難しくないのが簡単に使えるのが利点です。今回は、詳しいプロトコルも用意していただけたので、その通りにやればいいので助かりました。

吉門さん：われわれは定量だけを行っているわけではないので、いかに効率よく作業できるかが重要です。今回の臨床試験では1200くらいのサンプルを処理しなくてはならなかったもので、迅速性や再現性はもちろんのこと、手間とコストが気になるところでした。実際にコストは3分の2くらいになりましたね。

アプリケーション面のサポートはありがたい

— とくに問題などはございませんか。

常本さん：とくにありませんね。満足しています。

吉門さん：新しい化合物を対象にする時に、また相談に乗っていただけたら嬉しいです。われわれの場合、毎回の臨床試験で測定対象の薬物が変わりますので、バイオタージさんのアプリケーション面のサポートはありがたいです。

— 臨床試験によって前処理の方法が変わってくるわけですね。

吉門さん：そうですね。対象に合わせて使い分けることになります。今取り組んでいる新しい臨床試験では、EVOLUTE EXPRESS CXではなく、ISOLUTE PLD+（除タンパク&リン脂質除去プレート）を採用しています。

常本さん：タンパク質とリン脂質が厄介な問題なのです。とくに、リン脂質は血漿中に非常に多く含まれており、LC/MSの感度低下の原因となるイオン化抑制（イオンサプレッション）を引き起こすので、どうしても取り除かなければなりません。

吉門さん：我々の行う試験では、定量感度を確保するために血漿を数百マイクロリットル使うこともありますから、どうしてもリン脂質や余計なタンパク質が入ってきてしまいます。ですから前処理が重要です。セミマイクロドーズ、マイクロドーズならではの事情ですね。



親水性ポリマーベース固相抽出カラム&プレート
EVOLUTE EXPRESS

今後の臨床試験ではISOLUTE PLD+やSLE+も検討



— 最後に、今後のご予定などもお聞かせください。

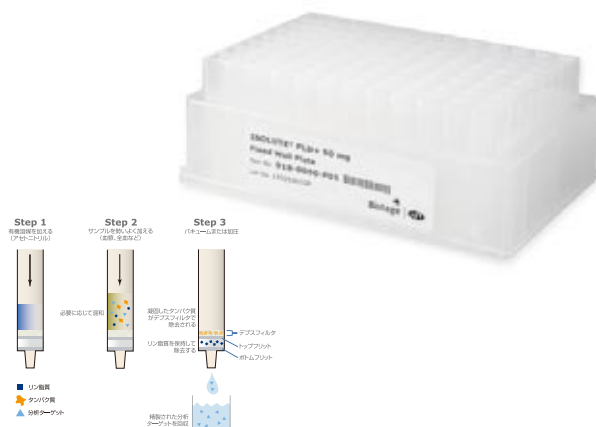
吉門さん：先ほどお話したISOLUTE PLD+の使用を予定している臨床試験では、ヒトにおける薬物代謝酵素とトランスポーターの寄与率(どの程度影響をあたえているか)を明らかにすることを目的に取り組んでいます。薬によってはその両方が薬物動態に関係する場合があります、どのくらい寄与しているかを把握しておかないと正確な予測ができません。

その定量化にはブローブと呼ばれるわれわれが得意としている技術を用いています。例えば、薬物代謝酵素CYP3A4に対しては、ミダゾラムという薬物がブローブ（CYP3A4に特異的な基質になる）として働きます。同時にミダゾラムの薬物動態を追うことで薬物代謝酵素CYP3A4の寄与率がどれくらいになるかを定量的に知ることができるのです。

さらに、その次に計画しているのが、薬物間相互作用のより高精度な予測を目的にした臨床試験です。

ある薬なのですが、薬物代謝酵素やトランスポーターを阻害することにより他の薬の血中濃度を上昇させることで、副作用を起こすことが副作用データベースなどから推測されています。

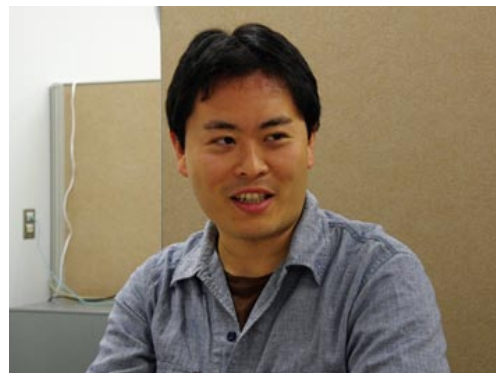
今後新しい薬と併用したときにどのくらい副作用の恐れがあるのかを判断するためには、もう少し定量的に解析しないといけません。そのためのデータを取ろうということです。



除タンパク&リン脂質除去プレートISOLUTE PLD+と抽出メカニズム

この臨床試験でも、被相互作用薬と一緒にプローブを入れておきます。そうすることにより、薬物代謝酵素やトランスポーターのプローブがどれくらい相互作用を受けたかで、被相互作用薬の複雑な薬物動態を定量的に予測することができます。この試験については、ISOLUTE SLE+ (生体サンプル前処理用珪藻土)も候補に入れて、分析法を具体的に検討中です。

— 何でもご相談いただけたらうれしいです。これからもよろしくお願いします。今日は長時間ありがとうございました。



導入製品

親水性ポリマーベース固相抽出カラム&プレート EVOLUTE EXPRESS

http://www.biotage.co.jp/evolute_express

EVOLUTE EXPRESSは、確実に信頼できる固相抽出を実現するために開発された、親水性ポリマー固相です。従来品に比べてサンプルフローをさらに向上させており、多くの場合固相抽出におけるコンディショニングと平衡化のステップが不要です。サンプルを直接ウェルにロードし、洗浄した後に溶出するだけでサンプル前処理が完了します。

特に生体サンプルのハイスループット処理に理想的で、ウェル間のフローのばらつきが極めて小さく、血漿、血清、および尿サンプルを速い流速で処理することができます。また、ウェルの詰まりが起こりにくく、分析ターゲットを高回収率で再現性良く抽出できます。



導入機関データ

独立行政法人理化学研究所

<http://www.riken.jp/>

日本で唯一の自然科学の総合研究所として、物理学、工学、化学、生物学、医科学などに及ぶ広い分野で研究を進める機関です。1917年に財団法人として創設されたのち、戦後の株式会社「科学研究所」、特殊法人時代を経て、2003年10月に文部科学省所轄の独立行政法人理化学研究所として再発足されました。研究成果を社会に普及させるため、大学や企業との連携による共同研究、受託研究等を実施しているほか、知的財産等の産業界への技術移転を積極的に進めておられます。



設立：1917年

予算：834億2,800万円（平成26年度）

人員：約3,500名