

第4回 次世代を担う若手のための レギュラトリーサイエンスフォーラム

要旨集

日時	2018 年 9 月 15 日 (土)
会場	帝京平成大学 薬学部 (東京都中野区中野 4-21-2)
主催	日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会
実行委員長	国立医薬品食品衛生研究所・薬理部 諫田泰成

第4回 次世代を担う若手のための レギュラトリーサイエンスフォーラム

日時 2018年9月15日（土）

会場 帝京平成大学 薬学部
（東京都中野区中野 4-21-2）

主催 日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会

実行委員長 国立医薬品食品衛生研究所・薬理部 諫田泰成

〒210-9501 神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-26
国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 RS 次世代フォーラム事務局
E-Mail: re-wakate@nihs.go.jp Tel: 044-270-6640

目次

ご挨拶	1
第4回 次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム のご案内.....	2
参加者へのご案内	3
プログラム	4
特別講演.....	6
ポスター演題一覧.....	8
ポスター要旨.....	12

ご挨拶



第4回次世代を担う若手のための

レギュラトリーサイエンスフォーラム

実行委員長 諫田 泰成（国立衛研・薬理）

この度、第4回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラムを2018年9月15日（土）に帝京平成大学薬学部にて開催させていただきます。

本フォーラムは、日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会が毎年、次世代を担う若手を対象にレギュラトリーサイエンス研究の裾野を広げるために開催しており、今回で4回目を迎えました。近年、レギュラトリーサイエンス研究は医薬品、化学物質、食品など多岐の領域にわたって発展しており、その重要性がますます高まっております。そこで、特別講演として、厚生労働省の森 和彦 大臣官房審議官（医薬担当）に「医療イノベーションを支えるレギュラトリーサイエンス」についてご講演いただく予定です。さらに、一般のポスター演題は大学の若手研究者・学生を中心に広く受け付け、エントリーされたものの中から優秀発表賞を選出いたします。様々な領域から多数の演題を登録していただき、大変にありがたく思っております。

本フォーラムの開催にあたりましては、各方面から多大なるご支援ならびにご協力をいただきました。おかげさまで、本フォーラムを開催することができ、この場を借りて厚く御礼申し上げます。参加される皆様にとりまして、本フォーラムが有意義になりますよう心より願っております。

日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会
第 4 回 次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム
のご案内

日時：2018 年 9 月 15 日(土)11:00～17:00

場所：帝京平成大学薬学部 6 階(東京都中野区中野 4-21-2)
(第 62 回日本薬学会関東支部大会と同時開催)
(ポスター受付は 1 階で行ってください)

参加費：無料

(同時開催の「第 62 回日本薬学会関東支部大会」に参加する場合は、関東支部大会への参加費が必要となりますが、レギュラトリーサイエンスフォーラムのみの参加は無料です。)

主催：日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会

フォーラムの趣旨：

製薬業界、規制当局、臨床現場においては、レギュラトリーサイエンスの研究者同士が議論をする機会が多いですが、大学におけるレギュラトリーサイエンスに係る研究室は、現時点では限られており、また歴史も浅いことから、学生、大学院生、若手研究者が、自らの研究成果を発表する機会はありません。そこで、学生、大学院生、若手研究者が研究機関横断的に連携する機会を与えると同時に、レギュラトリーサイエンスに関する研究成果を討論することで、研究に対するモチベーションを上げることを目的として、次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラムを開催いたします。

参加者へのご案内

ポスター発表について

応募資格：

レギュラトリーサイエンス及び関連分野の基礎研究から応用研究を対象にしたフォーラムです。次世代を担う気概にあふれた学部生、大学院生、若手研究者(年齢制限はありません)のポスター発表を募集します。

優秀発表賞：

全演題の中から優れた発表者に対して優秀発表賞(5件以内)を授与

ポスターの掲示に関して：

1. 会場

帝京平成大学薬学部 6 階(講義室 618 前)

2. 発表に関して

- 1) 発表者は、1 階にて受付をすませた後、9:30～11:00 に会場に備え付けのピンを用いてポスターを掲示して下さい。ポスターボードの大きさは、縦 160 cm、横 110 cm、ボード左上にポスター番号が示されています。発表題目、所属、氏名(発表者に○印をつける)と発表内容を掲示して下さい。ポスターの掲示時間は 11:00～17:00 です。
- 2) 説示時間は 15:00～16:00 です。発表者はリボン(事務局で準備致します)を見える位置に装着して、ボードの前に立ち、発表内容を説明できるようにご準備下さい。
- 3) 16:00 から 17:00 の間にポスターの撤去を完了して下さい。17:00 を過ぎても残っているポスターについては、事務局にて撤去、処分しますので、ご了承ください。

プログラム

特別講演

講義室 617

13:30～14:30

森 和彦先生(厚生労働省 大臣官房審議官(医薬担当))

「医療イノベーションを支えるレギュトリーサイエンスについて」

ポスター発表

講義室 618 前

9:30～ ポスター掲示開始

11:00～17:00 ポスター掲示

15:00～16:00 ポスター説示

16:30～17:00 閉会式・優秀発表賞表彰式(講義室 617 にて行います)

16:00～17:00 ポスター撤去

特別講演

13:30～14:30

森 和彦 先生(厚生労働省 大臣官房審議官(医薬担当))

「医療イノベーションを支えるレギュラトリーサイエンスについて」

メモ

ポスター演題一覧

1★. 臨床用量・無毒性量とヒトと動物における曝露量の関係からみた医薬品の量的安全性プロファイル評価	
○林舞衣子 ¹ 、金子真之 ¹ 、成川衛 ¹ (¹ 北里大院薬)	12
2★. 平成 30 年食品衛生法改正における指定成分制度について	
○齋藤充生 ^{1,2} 、林譲 ¹ 、矢島毅彦 ¹ (¹ ヘルスヴィジランス研究会、 ² 日本医薬情報センター)	12
3★. 食品中に含まれる各種セレン化合物の生体利用における腸内細菌叢の関与	
○高橋一聡 ¹ 、鈴木紀行 ¹ 、小椋康光 ¹ (¹ 千葉大院薬)	13
4★. FcγRIIIa/FcγRIIIb 共発現レポーター細胞株を用いた抗体医薬品による免疫細胞活性化評価	
○青山道彦 ¹ 、多田稔 ¹ 、石井明子 ¹ (¹ 国衛研・生物薬品部)	13
5. ヒト iPS 細胞のミトコンドリア機能に基づく発達神経毒性の評価	
○山田茂 ^{1,2} 、山崎大樹 ¹ 、諫田泰成 ¹ (¹ 国衛研・薬理、 ² 日本薬理評価機構)	14
6. 条件付き早期承認制度について	
○岩井葉子 ¹ (¹ アストラゼネカ株式会社 薬事統括部)	14
7. マウス NMDA 誘発網膜神経節細胞傷害作製時に使用する麻酔薬に関する研究	
○坂本謙司 ¹ 、石原陽平 ¹ 、浅野大樹 ¹ 、森田茜 ¹ 、森麻美 ¹ 、中原努 ¹ (¹ 北里大薬)	15
8. メチル水銀によるミクログリアでの TNF-α 発現誘導機構	
○外山喬士 ¹ 、星尚志 ¹ 、永沼章 ¹ 、黄基旭 ¹ (東北大院薬 ¹)	15
9★. 神経細胞とミクログリアの相互作用を介したメチル水銀による神経傷害	
○星尚志 ¹ 、外山喬士 ¹ 、永沼章 ¹ 、黄基旭 ¹ (東北大院薬 ¹)	16
10★. ブラジル産グリーンプロポリスの皮膚感作における安全性評価	
○白石絵里奈 ¹ 、井戸章子 ¹ 、永瀬久光 ^{1,2} 、中西剛 ¹ (¹ 岐阜薬大、 ² 岐阜医療科学大)	16
11★. 危険ドラッグ MAM-2201 はシナプス前終末の CB1 受容体を介して神経伝達を抑制する	
○入江智彦 ¹ (¹ 国衛研・薬理)	17
12★. 医療情報データベースを用いたデノスマブによる低カルシウム血症に対する行政施策の影響評価	
○竹山麻由 ¹ 、今任拓也 ² 、佐井君江 ² 、堀雄史 ³ 、木村通男 ³ 、川上純一 ³ 、平松達雄 ⁴ 、大江和彦 ⁴ 、片岡洋子 ⁵ 、横井英人 ⁵ 、野尻千夏 ⁶ 、中島直樹 ⁶ 、平澤典保 ¹ 、斎藤嘉朗 ^{1,2} (¹ 東北大院薬、 ² 国衛研、 ³ 浜松医大、 ⁴ 東大病院、 ⁵ 香川大病院、 ⁶ 九大病院)	17
13★. 大規模副作用データベースを用いた DPP-4 阻害薬による胆道系障害に関する研究	
○武藤樹也 ¹ 、頭金正博 ¹ (¹ 名市大院薬)	18
14★. 臨床試験データを用いた DPP-4 阻害薬と SGLT2 阻害薬における有効性の民族差に関する研究	
○早瀬稔起 ¹ 、伊藤友香 ¹ 、小林牧由 ¹ 、安部賀央里 ¹ 、頭金正博 ¹ (¹ 名市大院薬)	18
15★. JADER を用いた Deep Learning による医薬品の重症皮膚副作用の予測	
○大矢和幸 ¹ 、安部賀央里 ¹ 、頭金正博 ¹ (¹ 名市大院薬)	19
16★. CLC Genomics Workbench を用いた HLA タイピング法と他のタイピングソフトとの比較	
○中嶋琢人 ¹ 、亀位涼 ¹ 、坂部彩 ¹ 、岡本秀人 ¹ 、長部誠 ¹ 、頭金正博 ¹ (¹ 名市大院薬)	19
17★. レギュラトリーサイエンスセンター設立とその活動	
○野嶋和久 ¹ 、宇山佳明 ¹ 、加藤祐一 ¹ 、佐藤大作 ¹ 、武田康久 ¹ 、矢守隆夫 ¹ 、新井洋由 ¹ (¹ PMDA)	20

18★. iPS 細胞と iPS 由来神経前駆細胞を用いた発達神経毒性を有する農薬の毒性評価 ○花鳥賊広人 ¹ 、橋山怜奈 ¹ 、鎌田祥太郎 ¹ 、石井功 ¹ (¹ 昭和薬科大・衛生化学)	20
19★. ハーボニー配合錠偽造医薬品流通事案から考える日本の医薬品流通の課題と解決策 ○佐藤広大 ¹ 、鈴木浩史 ¹ 、岡田章 ¹ 、豊島聰 ^{1,2} 、永井尚美 ¹ (¹ 武蔵野大薬、 ² 日本薬剤師研修セ)	21
20. Central nervous system(CNS)創薬のレギュラトリーサイエンス～血液脳関門制御技術の開発～ ○橋敬祐 ¹ 、近藤昌夫 ¹ (¹ 阪大院薬)	21
21. 乳癌幹細胞の翻訳制御をもとにしたドラッグリポジショニングに向けた取り組み ○平田尚也 ^{1,2} 、山田茂 ^{1,2} 、諫田泰成 ¹ (¹ 国衛研・薬理、 ² 日本薬理評価機構)	22
22★. 2-ヒドロキシベンゾイミダゾール骨格を有する既存薬の P2X7 受容体に対する阻害効果 ○吉田一貴 ¹ 、宮本美希 ¹ 、伊藤政明 ¹ 、松岡功 ¹ (¹ 高崎健康福祉大学薬学部)	22
23★. SGLT2 阻害薬 6 剤の 83 臨床試験のメタアナリシス:臨床試験早期に評価された尿糖排泄量は患者の HbA1c 変化を良好に予測していた ○石川彩夏 ¹ 、吉岡英樹 ¹ 、佐藤洋美 ¹ 、樋坂章博 ¹ (¹ 千葉大院薬)	23
24★. 中枢性プリン代謝変化を標的とした新規がん悪液質治療薬開発 ○宇津美秋 ¹ 、野中美希 ¹ 、宮野加奈子 ¹ 、佐藤洋美 ² 、呉林なごみ ³ 、村山尚 ³ 、櫻井隆 ³ 、樋坂章博 ² 、上園保仁 ¹ (¹ 国立がんセ、 ² 千葉大薬、 ³ 順天堂大医)	23
25★. GABA トランスポーター阻害薬の鎮痛作用メカニズムと副作用予測に関する研究 ○尾山実砂 ¹ 、渡辺俊 ¹ 、岩井孝志 ¹ 、田辺光男 ¹ (¹ 北里大薬・薬理)	24
26★. トランスポーター介在性薬物相互作用リスク評価への内在性バイオマーカーの適用 ○森大輝 ¹ 、石田博雄 ² 、水野忠快 ¹ 、藤田健一 ³ 、楠本壮二郎 ² 、前田和哉 ¹ 、佐々木康綱 ^{2,3} 、楠原洋之 ¹ (¹ 東大院薬、 ² 昭和大医、 ³ 昭和大腫瘍分子生物学研)	24
27★. DCEBIO による骨格筋分化促進作用と肥大作用 井石雄三 ¹ 、大野雄康 ¹ 、田中翔子 ¹ 、○桑原泰斗 ² 、黒川洵子 ² 、村川雅広 ¹ 、下村健寿 ¹ 、坂本多穂 ^{1,2} (¹ 福島県医大医、 ² 静岡県大薬)	25
28★. 幼若マウス心臓の形態・機能における性差について 児玉昌美 ¹ 、○橋口丈晃 ² 、坂本多穂 ² 、中井雄治 ³ 、山口賢彦 ² 、黒川洵子 ² (¹ 東京大・定量研、 ² 静岡県大薬・生体情報、 ³ 弘前大・地域研)	25
29★. 動きベクトル解析を用いたヒト iPS 細胞由来心筋細胞の力学的機能に対する薬剤作用解析 鈴木結衣 ¹ 、○中川桃夏 ¹ 、佐野優介 ¹ 、山口賢彦 ¹ 、坂本多穂 ¹ 、黒川洵子 ¹ (¹ 静岡県大薬・生体情報)	26
30★. hERG チャネルに対する合成エストロゲンの作用 田村文弥 ¹ 、○杉本真太郎 ² 、家田真樹 ³ 、坂本多穂 ² 、黒川洵子 ² (¹ 慶應大学医、 ² 静岡県大薬、 ³ 筑波大医)	26
31★. 脂肪幹細胞において高発現する G タンパク質共役型受容体の脂肪分化に対する作用解析 ○高橋茉那 ¹ 、山口賢彦 ¹ 、黒川洵子 ¹ (¹ 静岡県大薬・生体情報)	27
32★. Nuclear receptor 4a family を介した脂肪幹細胞の未分化性維持機構の解析 伊藤謙汰 ¹ 、○西山麗紗 ¹ 、山口賢彦 ¹ 、黒川洵子 ¹ (¹ 静岡県大薬・生体情報)	27
33★. 工業用化学物質による職業性胆管がんリスクに関する研究 ○豊田優 ¹ 、高田龍平 ¹ 、鈴木洋史 ¹ (¹ 東大病院・薬剤部)	28
34★. 化学構造情報に基づく非心原性肺水腫を誘発する薬物の予測	

○辰広唯菜 ¹ 、加賀谷肇 ² 、植沢芳広 ¹ (¹ 明治薬大 医療分子解析、 ² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)	28
35★. 化学構造に基づく悪心・嘔吐を誘発する薬物の予測	
○朝戸統乃 ¹ 、加賀谷肇 ² 、植沢芳広 ¹ (¹ 明治薬大 医療分子解析、 ² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)	29
36. 化粧品中の防腐剤ブチルカルバミン酸ヨウ化プロピニルの定量法開発	
○藤巻日出夫 ¹ 、秋山卓美 ² 、五十嵐良明 ² (¹ 民生科学協会、 ² 国衛研)	29
37★. 医薬品副作用データベースを用いた薬物性肝障害誘発薬物の投与量の解析	
○今田勇輝 ¹ 、加賀谷肇 ² 、植沢芳広 ¹ (¹ 明治薬大・医療分子解析、 ² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)	30
38★. 化学構造に基づく傾眠を誘発する薬物の予測	
○塩田彩乃 ¹ 、加賀谷肇 ² 、植沢芳広 ¹ (¹ 明治薬科大学 医療分子解析学研究室、 ² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)	30
39. 化学物質の神経毒性評価指標に関する研究	
○梅田香苗 ¹ 、杉山千尋 ¹ 、石田慶士 ¹ 、津山由美 ¹ 、太田茂 ^{1,2} 、古武弥一郎 ¹ (¹ 広島大院医歯薬保、 ² 和歌山医大)	31
40★. モデルベースメタ解析法を用いた抗 HIV 療法キードラッグの有効性比較	
○太田亮作 ¹ 、石井宏武 ¹ 、津田真弘 ¹ 、樋口ゆり子 ¹ 、山下富義 ¹ (¹ 京大院薬)	31
41★. 化学構造に基づく呼吸抑制誘発薬物の特徴解析	
○内田誠規 ¹ 、加賀谷肇 ² 、植沢芳広 ¹ (¹ 明治薬大・医療分子解析、 ² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)	32
42★. 医薬品副作用データベースに基づく薬剤性便秘および類似疾患の分類評価	
○小津吉泰 ¹ 、加賀谷肇 ² 、植沢芳広 ¹ (¹ 明治薬大・医療分子解析、 ² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)	32
43★. 化学構造情報に基づくせん妄を誘発する薬物の予測	
○瀬田優香 ¹ 、加賀谷肇 ² 、植沢芳広 ¹ (¹ 明治薬大 医療分子解析学研究室、 ² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)	33
44★. 機械学習を用いた iPS 由来心筋細胞の品質管理	
○折田健 ¹ 、澤田光平 ² 、池谷裕二 ¹ (¹ 東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室、 ² 東京大学大学院薬学系研究科ヒト細胞創薬学寄付講座)	33
45★. 抗ヒスタミン薬メキタジンがイソフルラン麻酔モルモットの心室再分極相に与える影響	
○木村謙吾 ¹ 、得居岬 ³ 、永澤悦伸 ¹ 、有山智博 ³ 、小林加寿子 ^{1,2} 、曹新 ¹ 、相本恵美 ¹ 、石井敏浩 ³ 、高原章 ¹ (¹ 東邦大薬・薬物治療学、 ² 東邦大医セ大橋病院薬、 ³ 東邦大薬・実践医療薬学)	34
46★. 異なる動物種の洞房結節自動能における各種膜電流成分の関与	
○五十嵐友希 ¹ 、實方健人 ¹ 、濱口正悟 ¹ 、行方衣由紀 ¹ 、田中光 ¹ (¹ 東邦大薬・薬物学教室)	34
47★. Angiotensin II 受容体作動薬及び拮抗薬がモルモット肺静脈心筋自発活動に与える影響	
○石渡恒平 ¹ 、田中悠介 ¹ 、濱口正悟 ¹ 、行方衣由紀 ¹ 、田中光 ¹ (¹ 東邦大薬・薬物学教室)	35
48★. 抗悪性腫瘍剤の第 3 相試験の成功確率に関する研究	
○赤木克行 ¹ 、小野俊介 ¹ (¹ 東京大学大学院薬学系研究科 医薬品評価科学教室)	35
49★. 米国・欧州・日本・中国への新薬承認申請のタイミングと企業戦略の関係に関する研究	

○劉丹妮 ¹ 、小野俊介 ¹ (¹ 東京大学薬学系研究科 医薬品評価科学講座)	36
50★. 高齢者への薬剤投与に関する医薬品添付文書記載内容の分析	
○岩渕康太 ¹ 、小野俊介 ¹ (¹ 東京大学大学院薬学系研究科 医薬品評価科学講座)	36
51★. 複数臨床試験に由来する大規模個人データの統合解析方法の研究: 非線形混合効果モデル、マルコフ連鎖モンテカルロ法、機械学習のシミュレーションによる比較	
○吉岡英樹 ¹ 、佐藤洋美 ¹ 、樋坂章博 ¹ (¹ 千葉大院薬)	37
52. ヒト肝キメラマウス由来肝細胞を用いた長期培養に向けた基礎検討	
○黒田幸恵 ¹ 、堀内新一郎 ¹ 、金秀良 ¹ 、藤居瑠彌 ¹ 、諫田泰成 ¹ 、末水洋志 ² 、石田誠一 ¹ (¹ 国衛研 薬理部、 ² 実中研)	37
53★. 微小粒子胎仔期曝露は慢性的にセロトニン神経活性化を介して不安様行動を惹起する	
○横田理 ^{1,2} 、佐藤央 ² 、武田健 ^{2,3} (¹ 国衛研、 ² 東理大薬、 ³ 山口理大薬)	38
54★. 腎有機カチオントランスポーターOCT2 の機能プローブとしての N1-methyladenosine の有用性の検討	
○三宅健之 ¹ 、水野忠快 ¹ 、木村美由紀 ² 、松木俊二 ² 、入江伸 ² 、家入一郎 ³ 、前田和哉 ¹ 、楠原洋之 ¹ (¹ 東大院・薬、 ² 医療法人相生会 福岡みらい病院 臨床研究センター、 ³ 九大院・薬)	38
55★. 腎有機アニオントランスポーターOAT1, OAT3 の機能バイオマーカー候補としての内因性基質探索	
○近藤祐輔 ¹ 、楠原洋之 ¹ (¹ 東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室)	39
56. ヒト皮膚角化細胞株 HaCaT での Nrf2 活性化を指標とした皮膚感作性評価: 異物代謝酵素の関与	
○隅田健太 ¹ 、関根一貴 ¹ 、遠藤治 ¹ 、関本征史 ¹ (¹ 麻布大・生命環境)	39
57★. キナゾリン化合物 AK-01 の抗変異原活性	
○清水英喜 ¹ 、樋口友里 ¹ 、橋本知子 ² 、松野研司 ² 、遠藤治 ¹ 、関本征史 ¹ (¹ 麻布大・生命環境、 ² 工学院・先進工)	40
58★. AhR 活性化を制御する細胞内シグナル分子の網羅的探索	
○富田俊維 ¹ 、遠藤治 ¹ 、出川雅邦 ² 、関本征史 ¹ (¹ 麻布大・生命環境、 ² 静岡県大・薬)	40
59★. Bhas 42 細胞由来レポーター細胞株の作成とその有用性評価	
○並木萌香 ^{1,2} 、水沼佳奈 ^{1,2} 、田邊正耀 ² 、関本征史 ² (¹ 麻布大院・環境保健、 ² 麻布大・生命環境)	41
60. ケール抽出物の抗変異原活性: Ames 試験による検討	
○水沼佳奈 ^{1,2} 、小西良子 ^{1,2} 、関本征史 ² 、遠藤治 ² (^{1,2} 麻布大院・環境保健、 ² 麻布大・生命環境)	41
61. ラット反復投与毒性試験における毒性所見の統計学的手法を利用した関連性解析	
橘内陽子 ¹ 、竹下潤一 ² 、渡邊美智子 ¹ 、佐々木崇光 ¹ 、保坂卓臣 ¹ 、志津怜太 ¹ 、○吉成浩一 ¹ (¹ 静岡県大薬、 ² 産総研安全科学)	42
62★. 慢性疾患の長期進行過程を推定する新規アルゴリズム SReFT を利用したアルツハイマー病の病態進行解析と臨床試験シミュレーション	
○徳田慶太 ¹ 、石田崇朗 ¹ 、樋坂章博 ² 、本間雅 ¹ 、岩坪威 ³ 、森豊隆志 ⁴ 、鈴木洋史 ¹ (¹ 東大病院薬剤部、 ² 千葉大院薬、 ³ 東大病院探索開発推進室、 ⁴ 東大病院臨床研究ガバナンス部)	42

(★優秀発表賞の応募演題)

ポスター発表要旨

1. 臨床用量・無毒性量とヒトと動物における曝露量の関係からみた医薬品の量的安全性プロファイル評価

○林舞衣子¹、金子真之¹、成川衛¹ (¹ 北里大院薬)

【目的】医薬品開発において、トキシコキネティクスを含めた非臨床での毒性試験成績の評価は、薬物による全身的曝露の状況を明らかにし、毒性試験結果と臨床での血中濃度を考慮したヒトでの安全性評価に有用である。本研究では、臨床用量と無毒性量の関係に加え曝露量も考慮し、医薬品の量的安全性プロファイルの評価した。

【方法】2010 年～2016 年承認の新有効成分のうち、糖尿病薬 14 剤、C 型肝炎薬 7 剤及び抗悪性腫瘍薬 40 剤を対象とし、それらの審査報告書・承認申請資料から、臨床用量、反復投与毒性試験における無毒性量、並びにそれぞれに対応する Cmax、AUC(曝露量)を抽出した。無毒性量/臨床用量(投与量比)に加え、無毒性量での曝露量/臨床用量での曝露量(曝露比)を算出し、(I)無毒性量>臨床用量及び無毒性量での曝露量>臨床用量での曝露量、(II)無毒性量>臨床用量及び無毒性量での曝露量<臨床用量での曝露量、(III)無毒性量<臨床用量及び無毒性量での曝露量<臨床用量での曝露量、(IV)無毒性量<臨床用量及び無毒性量での曝露量>臨床用量での曝露量の 4 つに分類し、薬効群ごとに散布図にして量的安全性プロファイルの評価した。

【結果】糖尿病薬 14 剤は、(I) 12、(II) 1、(III) 1、C 型肝炎薬 7 剤は、(I) 4、(II) 2、(III) 1、抗悪性腫瘍薬 40 剤は、(I) 12、(II) 8、(III) 19、(IV) 1 に分類された。抗悪性腫瘍薬を作用機序別に見ると、キナーゼ阻害が(I) 2、(II) 5、(III) 9、(IV) 1、モノクローナル抗体が(I) 6、(III) 3、細胞毒性が(II) 2、(III) 3、ホルモン系が(I) 3、(II) 1 であった。

【考察・結論】(II)、(III) 及び (IV) のような投与量比及び/又は曝露比が 1 以下の量的安全性プロファイルを示す薬物では、臨床用量が無毒性量を超える、あるいは臨床用量での曝露量が無毒性量での曝露量を超えることになる。特に(III)に分類された薬剤は、臨床用量と曝露量がいずれも非臨床よりも上回るため最も注意を要し、慎重に投与する必要がある。また、臨床用量に近い用量で発現した毒性については、必要に応じて添付文書での情報提供と市販後の安全性情報の収集を行っていく必要がある。

2. 平成 30 年食品衛生法改正における指定成分制度について

○齋藤充生^{1,2}、林譲¹、矢島毅彦¹ (¹ヘルスヴィジランス研究会、²日本医薬情報センター)

【目的】女性ホルモン様作用を有するプエラリア・ミリフィカによる健康被害事例などを受け、平成 30 年 6 月 13 日に改正食品衛生法が公布され、食品衛生上の危害の発生を防止する見地から特別の注意を必要とする成分(指定成分)に関する規制が創設された。本研究では、指定成分制度について、従来の規制との比較、今後の課題についての検討を行った。

【方法】改正法案及び関連資料は官報及び厚生労働省 website より入手した。

【結果】改正食品衛生法 8 条に指定成分の規定が設けられ、指定成分の指定は薬事食品審議会の意見を聴いて行うこと、指定に際しパブリックコメント(改正 64 条)、食品安全委員会の意見聴取(改正食品安全基本法 24 条)が定められた。指定成分を取り扱う営業者の責務として人の健康に被害を生じ、または生じさせる恐れがある場合には都道府県知事等への届出を定め、都道府県知事には当該届出の厚生労働大臣への報告を定めている。一方、医師、歯科医師、薬剤師その他の関係者には健康被害の把握及び都道府県知事等への協力が努力義務として定められた。国会審議における附帯決議では、健康食品に関し、製造段階における危害発生防止対策、一般に対する正しい知識の普及啓発、広告表示の在り方及び医療機関での健康食品の使用の有無の確認方策の検討等が求められた。

【考察】平成 14 年の「健康食品・無承認無許可医薬品健康被害防止対策要領」では、食中毒として取り扱われ、現行法 58 条において食中毒を検知した医師に対し、直ちに保健所長へ届け出ることを義務付けているが、改正 8 条では医薬関係者への届出義務は設けていない。また、食品表示法に基づき、特定保健用食品、機能性表示食品における健康被害情報は、消費者庁へ届け出ることとされているが、指定成分がこれらに該当する場合の届出先も不明確である。従来、健康被害発生に際し、注意喚起では不十分な場合、販売の禁止(暫定禁止を含む)、医薬品成分としての指定など、流通禁止措置をとっていたが、指定成分制度は流通を認めつつ情報収集を行う新たな規制方策であり、今後の動向を注視したい。

3. 食品に含まれる各種セレン化合物の生体利用における腸内細菌叢の関与

○高橋一聡¹、鈴木紀行¹、小椋康光¹ (¹千葉大院薬)

【目的】セレン(Se)は生体必須微量元素であり、ヒトにおいては 25 種類のタンパク質に要求されている。ヒトはセレンを主に食事を通して健康の維持に必要な量を摂取しているが、特定の栄養条件下でしばしば見られるセレン欠乏症の治療ではセレン補充療法が施行されている。セレンは類金属元素であり、栄養学的な価値は化学形態に依存するとされている。そのためヒトでのセレンの栄養素としての利用を考える場合、それぞれの化学形態ごとの代謝経路を理解し、適切なセレンの化学形態の選択を行うことが食品や医薬品としてセレンを扱う上で重要である。本研究では代謝経路の中でもこれまでにセレンへの関与が評価されてこなかった腸内細菌叢を新たな代謝要因として想定し、その影響を評価することを目的とした。

【方法】ラットの糞便から採取した腸内細菌を嫌気性条件下で分離培養を行い、ヒトが摂取する 7 つのセレン化合物を曝露し、培養後に現れるセレン代謝物を分析した。代謝物分析には、HPLC と誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)を接続させた LC-ICP-MS にて行った。また抗生物質を投与した腸内細菌叢減弱ラットを用い、各セレン化合物の腸内細菌叢減弱時での栄養学的利用能の変化を観察した。

【結果・考察】培養腸内細菌はセレン酸、セレンシアン酸及びメチルセレンシステインをセレンメチオニンへと代謝変換していることが観察された。通常モデルラットにおいて各セレン化合物は、トリメチルセレンニウムを除き同等に利用されたが、腸内細菌叢減弱ラットでは、各化学形態で利用能に違いがみられた。以上から、腸内細菌叢は摂取したセレンの化学形態を特定の化学形態へと変換しており、生体は腸内細菌叢による代謝後のセレンを利用していることが考えられた。この点を踏まえると、多様な食物由来の多様な形態のセレン化合物であっても腸内細菌叢によって栄養素として均一に利用できるものと考えられた。腸内細菌叢はセレンの代謝要因として機能していることが示されたため、今後、食品や医薬品としてセレン化合物を評価する際には腸内細菌叢の関与を考慮していく必要性が示された。

4. FcγRIIa/FcγRIIb 共発現レポーター細胞株を用いた抗体医薬品による免疫細胞活性化評価

○青山道彦¹、多田稔¹、石井明子¹ (¹国衛研・生物薬品部)

【目的】抗体 Fc 領域に結合する Fcγ 受容体(FcγR)は、抗体医薬品の薬理作用の発揮や有害作用の発現に関わる免疫細胞の活性化に関与している。これまでに我々は種々のヒト FcγR を発現するレポーター細胞株を構築し、抗体医薬品の薬理・免疫作用評価系としての有用性を明らかにしてきた。ヒト白血球の大部分を占める好中球においては FcγRIIa と FcγRIIb の二つの FcγR が発現している。近年、FcγRIIb の遺伝子多型と抗体医薬品の有害作用発現との関連が報告されているものの、FcγRIIb は細胞内ドメインを持たず、そのシグナル伝達系が明らかとなっていないことなどから、ヒト好中球活性化における両受容体の役割については未解明な点が多い。本研究では、抗体医薬品によるヒト好中球活性化を評価可能なアッセイ系の構築を目的として、ヒト FcγRIIa 及び FcγRIIb を共発現するレポーター細胞株を構築し、抗体刺激時の両受容体を介した細胞活性化について検討した。

【方法】カルシウムシグナル応答性のレポーター遺伝子を発現する Jurkat 細胞に、ヒト FcγRIIa 及び FcγRIIb をそれぞれ単独もしくは共発現させたレポーター細胞株を構築し、FcγR 活性化能の異なる改変型抗体でこれらのレポーター細胞を刺激した際の活性を測定した。

【結果・考察】FcγRIIb 単独発現細胞では抗体刺激によるレポーター活性の上昇が認められるものの、その活性は他の FcγR 発現細胞に比べて顕著に弱かった。FcγRIIa/FcγRIIb 共発現細胞は FcγRIIb 単独発現細胞に比べて強い活性化を示し、その活性化は野生型抗体に比べて FcγRIIb 結合能を増強した改変型抗体で有意に増加した。一方、FcγRIIa 結合能を減弱させた改変型抗体で刺激した際には FcγRIIa/FcγRIIb 共発現細胞の活性化は顕著に減弱した。以上の結果から、FcγRIIa/FcγRIIb 共発現細胞において FcγRIIa が抗体刺激時の活性化に主要な役割を果たすこと、FcγRIIb はこれに対して協調的な役割を担うことが示唆された。我々の樹立した FcγRIIa/FcγRIIb 共発現レポーター細胞株は、抗体医薬品による FcγRIIa 及び FcγRIIb を介したヒト好中球活性化を予測・評価する有用なツールとなることが期待される。

5. ヒト iPS 細胞のミトコンドリア機能に基づく発達神経毒性の評価

○山田茂^{1,2}、山崎大樹¹、諫田泰成¹（¹国衛研・薬理、²日本薬理評価機構）

医薬品や化学物質の発達期における神経毒性は、妊娠ラットに被験物質を投与して生まれてきた仔ラットの機能観察試験や行動、反射、驚愕反応、病理組織などを実施する *in vivo* の試験法が用いられる。しかしながら、動物を用いた試験法はコストや種差、スループット性などの問題があることから、新たな *in vitro* 毒性評価系が期待されており、OECD においても議論が開始された。

そこで我々は、ヒト iPS 細胞の神経分化能により化学物質の発達神経毒性の評価ができるのか検討を行った。ヒト iPS 細胞は京大樹立株である 253G1 株を使用し、SMAD 阻害剤により神経系に分化誘導を行った。分化能は Pax6 などの神経分化マーカーの発現により評価した。国際コンソーシアム HESI NeuTox と評価すべき化合物リストを共有し、陽性対照物質として有機スズ化合物やクロルピリフォス、陰性対照物質としてソルビトールなどの化合物を用いた。

化学物質の暴露によりヒト iPS 細胞の神経分化が顕著に抑制されることを見出した。分化抑制に加えて細胞内 ATP 量も減少したことから、ミトコンドリアに対する影響を調べた。化学物質の暴露によりミトコンドリアの融合に重要な Mfn タンパク質の発現が減少し、分裂形態のミトコンドリアを有する細胞数の増加が認められた。Mfn ノックダウンにより神経分化が抑制されたことから、Mfn を介した神経分化機構が示唆された。一方、ソルビトールなどの陰性対照物質は神経分化や ATP に特に影響を与えなかった。さらに、ヒト iPS 細胞における神経分化能をもとに、他の化学物質の神経毒性評価を検証した。銀ナノ粒子により、ヒト iPS 細胞の神経分化および ATP 産生の抑制が認められた。

以上の結果より、ヒト iPS 細胞の神経分化能は、医薬品や化学物質の発達神経毒性評価の評価に有用であることが示唆された。今後、評価物質の数を増やすとともに、動物やヒトとのデータを比較検討することにより、評価法の再現性や信頼性などを検証する予定である。

6. 条件付き早期承認制度について

○岩井葉子¹（¹アストラゼネカ株式会社 薬事統括部）

【目的】

平成 29 年 10 月 20 日に、厚生労働省から「医薬品条件付き早期承認制度」が公表されたことを鑑み、条件付き早期承認制度について、日本及び米国の薬事制度の違い、承認及び指定事例を調査する。また日本及び米国の薬事制度及び承認・指定事例の比較により、日本の条件付き承認制度に対する期待を検討する。

【方法】

日本及び米国の薬事規制当局（厚生労働省、医薬品医療機器総合機構及び US Food and Drug Administration Home page）のホームページに掲載された情報に基づいて、日本の条件付き早期承認制度及び米国の Accelerated approval に関する薬事制度の比較検討を行った。また、日本及び米国の指定及び承認品目の事例を分析した。

【結果】

2013 年～2017 年の期間に米国で Accelerated approval 制度によって承認された品目を検討したところ、約半数が日本では未承認であった。また日本で承認済の品目であっても日本及び米国の製造販売申請及び承認の時期に相違が認められ、同一品目であっても日本及び米国での承認状況に差がある現況が明らかになった。これらのデータから、日本の条件付き早期承認制度の実装に向けた期待について、考察を行う。

7. マウス NMDA 誘発網膜神経節細胞傷害作製時に使用する麻酔薬に関する研究

○坂本謙司¹、石原陽平¹、浅野大樹¹、森田茜¹、森麻美¹、中原努¹ (¹ 北里大薬)

【目的】*N*-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 誘発網膜神経傷害モデルは、実験的緑内障モデルとして神経保護薬のスクリーニングに広く用いられている。本モデルを用いた実験を行う際には動物を麻酔する必要がある。近年では、動物福祉の観点から、使用できる麻酔薬は限定されている。本研究では、イソフルラン吸入麻酔、ケタミン・キシラジン混合液による麻酔、および α_2 アドレナリン受容体作動薬であるメドミジン・GABA_A 受容体作動薬であるミダゾラム・オピオイド κ 受容体作動薬であるブトルファノールを混合した三種混合麻酔薬が、NMDA 誘発網膜神経節細胞傷害に与える影響を検討した。

【方法】全ての実験には 7~8 週齢の ICR 系雄性マウスを用いた。ケタミン (90 mg/kg)・キシラジン (10 mg/kg) 混合麻酔薬、または三種混合麻酔薬 (メドミジン (0.6 mg/kg)、ミダゾラム (8 mg/kg)、ブトルファノール (10 mg/kg)) を腹腔内投与することにより、あるいはイソフルランを吸入 (導入期: 4 % 維持期: 3 %) することによりマウスを麻酔した後、NMDA (40 nmol/eye) を硝子体内投与した。7 日後に網膜伸展標本を作製し、Alexa Fluor 488 標識抗 NeuN 抗体により網膜神経節細胞を染色することにより、残存した網膜神経節細胞数を検討した。

【結果】三種混合麻酔を使用した場合、ケタミン・キシラジン麻酔やイソフルラン麻酔を使用した場合と比較して、NMDA により誘発される網膜神経節細胞傷害が有意に減弱した。イソフルラン麻酔を使用した場合も、ケタミン・キシラジン麻酔を使用した場合と比較すると、NMDA により誘発される網膜神経節細胞傷害が若干減弱する傾向を示した。

【考察】メドミジンを光学分割した化合物であるデクスメドミジンは、神経保護効果を示すとの報告があることから、三種混合麻酔薬の神経保護作用にはメドミジンが関与している可能性がある。ケタミンは NMDA 型グルタミン酸受容体遮断作用をもつが、既報通り、今回の投与量においては NMDA により誘発される網膜神経節細胞傷害に影響を与えなかった。三種混合麻酔薬の神経保護作用に薬物間の相乗作用が寄与しているか、また詳しい作用機序に関しては、今後のさらなる検討が必要である。

8. メチル水銀によるミクログリアでの TNF- α 発現誘導機構

○外山喬士¹、星尚志¹、永沼章¹、黄基旭¹ (¹ 東北大院薬)

【目的】

メチル水銀は環境中に普遍的に存在する神経傷害の原因物質であるが、その毒性発現機構はほとんど不明である。我々は、炎症性サイトカインの一種である TNF- α がメチル水銀を投与したマウスの脳内で特異的に発現誘導され、中枢神経傷害を引き起こす可能性を見出している。そこで本研究では、マウス脳内でのメチル水銀による TNF- α 発現誘導に関わる分子機構の解明を目指した。

【結果・考察】

メチル水銀 (25 mg/kg) を単回皮下投与し 7 日後に摘出したマウスの脳組織を用いて in situ hybridization を行ったところ、脳全体で TNF- α を発現している細胞が観察された。マウス脳内での TNF- α の発現誘導にはアストロサイトおよびミクログリアが関与する可能性が考えられる。そこで、アストロサイトで発現する GFAP またはミクログリアで発現する Iba1 に対する抗体を用いて免疫染色を行った。その結果、TNF- α 発現細胞は GFAP 陽性細胞とは重ならず、Iba1 抗体染色像と重なっていた。以上のことから、マウス脳内でのメチル水銀による TNF- α の発現誘導には主にミクログリアが関与していると考えられる。次に、初代ミクログリアおよびマウスミクログリア細胞株である BV2 細胞をメチル水銀で処理したところ、マウス脳内と同様にメチル水銀による TNF- α の発現誘導が認められた。また、この発現誘導は転写阻害剤の前処理によってほとんど認められなくなったことから、何らかの転写因子が本誘導に関与していることが示唆された。ミクログリアにおける TNF- α の発現誘導には NF- κ B や AP-1 が関与することが知られており、これらの転写因子はメチル水銀処理によっていずれも活性化されていた。しかし、AP-1 のサブユニットである c-Jun の発現を抑制させてもメチル水銀による TNF- α の発現誘導は依然と認められた。一方、この発現誘導は NF- κ B のサブユニットである RelA の発現抑制によって一部抑制された。以上のことから、メチル水銀はマウス脳内のミクログリアにおいて NF- κ B を活性化させることで TNF- α 発現を誘導している可能性が示唆された。

9. 神経細胞とミクログリアの相互作用を介したメチル水銀による神経傷害

○星尚志¹、外山喬士¹、永沼章¹、黄基旭¹ (¹ 東北大院薬)

【目的】

メチル水銀は中枢神経障害を惹起する環境汚染物質である。我々は、メチル水銀を投与したマウスの脳内で、ミクログリアから炎症性サイトカインの一種である TNF- α が発現誘導されることを見出した。これには休止型のミクログリアがメチル水銀によって傷害性ミクログリアへと活性化した可能性が考えられる。しかし、メチル水銀による傷害性ミクログリアへの活性化と神経細胞死との関係は不明である。そこで本研究では、ミクログリアの活性化を評価可能なマウス大脳スライス培養系により、メチル水銀による脳神経障害への傷害性ミクログリアの関与を調べた。

【結果および考察】

通常ミクログリアは形態が突起を伸ばした休止状態であり、刺激によって丸く肥大化した傷害性ミクログリアへと変化する。そこで、7 日齢のマウスから作製した大脳スライスをさらに 4 日間培養した後にミクログリア特異的に発現する Iba1 の免疫染色を行った。その結果、突起を伸ばして成熟した休止状態のミクログリアが認められ、本スライスをリポポリサッカライド (LPS) で処理したところ、様々なミクログリア表面抗原の発現 (CD11b、CD16、CD32 および CD86) が増加し、また、丸く肥大化した傷害性ミクログリアも多く観察された。このことは、今回構築した大脳スライス培養系においてミクログリアが正常に傷害性ミクログリアへと活性化していることを示している。

次に、大脳スライスをメチル水銀で処理したところ、LPS と同様に丸く肥大化した傷害性ミクログリアが多く観察され、これらのマーカーとなる表面抗原の発現も増加していた。同条件下で、神経細胞マーカーである NeuN に対する抗体を用いて免疫染色を行ったところ、メチル水銀処理によって大脳中の神経細胞が減少していた。また、傷害性ミクログリアへの活性化を阻害するミノサイクリンで前処理したところ、メチル水銀による傷害性ミクログリアの出現が抑制されるとともに神経細胞の減少が抑制された。以上のことから、メチル水銀は休止状態のミクログリアを傷害性ミクログリアへと活性化させることによって脳神経傷害を誘発していると考えられる。

10. ブラジル産グリーンプロポリスの皮膚感作における安全性評価

○白石絵里奈¹、井戸章子¹、永瀬久光^{1,2}、中西剛¹ (¹ 岐阜薬大、² 岐阜医療科学大)

【目的】プロポリスはミツバチが植物から作る膠状の物質であり、産地により成分が異なるものの、様々な薬理効果が報告されている。また香粧品等の皮膚に塗布する用途にも用いられるが、ヨーロッパタイプのプロポリスでは皮膚刺激性が報告されており、原因物質としてカフェ酸 (CA) 類等が同定されている。一方で、国内で最も使用されているブラジル産グリーンプロポリス (BGP) は、CA 類を含まないが、その皮膚感作性については未だ検討されていない。そこで本研究では、BGP の皮膚適用における安全使用に向けて、OECD テストガイドライン (TG) 収載の試験法を用いて BGP の皮膚感作性を評価した。

【方法】被験物質として BGP のエタノール抽出物を用いた。in vitro 試験である human Cell Line Activation Test (h-CLAT) は TG 442E に準じて行った。ヒト単球性白血病由来株化細胞 (THP-1 細胞) に BGP を細胞生存率 75 %前後の濃度で添加し、24 h 後に細胞表面抗原 (CD54 及び CD86 分子) の発現を FACS で測定した。in vivo 試験である Local Lymph Node Assay (LLNA) は、BALB/c マウス (雌性 8 週齢) を実験動物に用い、TG 429 に準じて行った。被験物質を 0.94、1.88、3.75、7.50、15.0 w/v % の濃度でマウスの耳介に 3 日間連続塗布後、³H-チミジンを尾静脈注射により投与し、所属リンパ節における ³H-チミジン取り込み量を指標に評価した。

【結果・考察】h-CLAT の結果、BGP は THP-1 細胞の CD54 及び CD86 を発現上昇させる傾向を示したものの陽性判定基準を満たさず、この試験での BGP の感作性は陰性と判定された。一方で確定試験である LLNA においては、高用量群で塗布部での炎症が肉眼的に観察されると共に、所属リンパ節における ³H-チミジン取り込み量の用量依存的な増加が認められた。さらに、感作性の判断基準である「刺激指数が 3 となる用量」は 1.85 w/v % と算出され、BGP は中等度感作性物質に分類された。

【結論】本検討により BGP は中等度感作性物質と判定されるとともに、皮膚的における安全使用に向けた基準値を定めることができた。また、h-CLAT では評価できない物質が存在することも示唆された。

11. 危険ドラッグ MAM-2201 はシナプス前終末の CB1 受容体を介して神経伝達を抑制する

○入江智彦¹ (¹ 国衛研・薬理)

Endocannabinoid signaling enables neurons to inhibit synaptic transmission retrogradely via presynaptic cannabinoid receptor type 1 (CB1R), which is expressed widely in the mammalian brain. The endocannabinoid signaling has been extensively investigated in the cerebellum, which has well-characterized circuits and plays important roles in motor functions. Therefore, the cerebellum is considered to be the ideal neuronal circuit to study the pharmacological effects of cannabinoid-related compounds on the brain. In the cerebellum, Purkinje cells (PCs) are principal neurons, and receive two glutamatergic excitatory inputs: climbing fiber (CF) and parallel fiber (PF). PCs also receive GABAergic inhibitory inputs from molecular layer interneurons. Synthetic cannabinoid receptor agonists inhibit these three types of synapses by activation of presynaptic CB1R. Recently, MAM-2201 is a newly emerged synthetic cannabinoid as an abused drug. MAM-2201 causes a psychotic state and serious health damage in human, implying MAM-2201 has potent psychoactivity and intoxication. Nevertheless, pharmacological effects of MAM-2201 on the brain have not been elucidated yet.

In this study, the effects of MAM-2201 on synaptic transmission onto PCs were investigated using acute cerebellar slice preparations of mice. Whole-cell patch-clamp recordings revealed that MAM-2201 showed stronger inhibition on PF-PC synapses via CB1R activation than JWH-018, a widely abused synthetic cannabinoid. MAM-2201 also suppressed presynaptically GABAergic transmission from the interneurons concentration-dependently. Furthermore, MAM-2201-induced presynaptic suppression of CF-PC synapses led to reduction of activity of CF-evoked complex spikes and dendritic Ca^{2+} transient. These results suggest that abuse of MAM-2201 inhibits transmitter release in various regions of the brain, and that the inhibition causes adverse effects including motor dysfunction.

12. 医療情報データベースを用いたデノスマブによる低カルシウム血症に対する行政施策の影響評価

○竹山麻由¹、今任拓也²、佐井君江²、堀雄史³、木村通男³、川上純一³、平松達雄⁴、大江和彦⁴、片岡洋子⁵、横井英人⁵、野尻千夏⁶、中島直樹⁶、平澤典保¹、斎藤嘉朗^{1,2} (¹ 東北大院薬、² 国衛研、³ 浜松医大、⁴ 東大病院、⁵ 香川大病院、⁶ 九大病院)

【目的】医薬品の安全対策の推進には、講じられた行政施策の効果を的確に評価し、その後の対策に反映することが重要である。抗 RANKL モノクローナル抗体であるデノスマブ(商品名:ランマーク)は、骨病変の新機序治療薬として、日本では2012年4月に認可されたが、販売直後より重篤な低Ca血症の発症が問題となり、販売5ヶ月後の2012年9月には安全性速報が発出された。そこで、本研究では、デノスマブの低Ca血症に対する安全性速報の医療現場における影響を、同効薬のゾレドロン酸を比較対照として評価することを目的とした。

【方法】2012年4月から2014年9月の浜松医大、東大、香川大、九大の医療情報データベースを利用し、デノスマブ及びゾレドロン酸の新規処方者を対象に、評価指標としてCa製剤同時処方割合、血清Ca検査実施割合及び低Ca血症発症割合を解析し、施策前(Pre:2012年4月-9月)に対する施策後1年間(Post1:2012年10月-2013年9月)及び施策後1-2年間(Post2:2013年10月-2014年9月)のオッズ比を薬剤間で比較した。また、Difference In Difference(DID)法を用いて、比較対象薬(ゾレドロン酸)との差を考慮した実質的な施策影響の評価も行った。

【結果】行政施策前(Pre)に対する施策後(Post1 及び Post2)のオッズ比を、薬剤別で比較した結果、ゾレドロン酸においては何れの指標にも有意な変化は見られなかった。一方、デノスマブ処方者においては、Ca製剤同時処方割合が施策後に増大し、Post2で有意に増加していた。また、DID法を用いて、ゾレドロン酸を比較対照として、施策による影響を検討したところ、Ca製剤同時処方割合はPost1より増大傾向にあり、Post2にかけて有意な増大が認められた。

【考察】本研究の結果から、デノスマブ新規処方者において、Ca製剤同時処方割合が、施策後に有意に増加していることが明らかとなり、このことから、低Ca血症予防のための施策が、医療現場に反映していたことが示唆された。

13. 大規模副作用データベースを用いた DPP-4 阻害薬による胆道系障害に関する研究

○武藤樹也¹、頭金正博¹ (¹ 名市大院薬)

【目的】Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬は現在日本において主要な糖尿病治療薬の一つであり、多くの有効性・安全性に関する研究が行われている。本研究では(独)医薬品医療機器総合機構が構築している医薬品副作用データベース(JADER)を用いて DPP-4 阻害薬と他の作用機序を有する糖尿病治療薬との相対的な安全性を、実臨床から得られたデータより明らかにする事を目的とした。

【方法】2004 年第 1 四半期から 2017 年第 4 四半期までに JADER に登録された糖尿病治療薬による有害事象報告のデータを基に、抽出された症例を DPP-4 阻害薬投与群と非投与群に分割し、更に、注目する有害事象発症の有無により 2×2 分割表を作成し、Reporting Odds Ratio (ROR) を計算した。さらに、交絡因子となる患者背景因子を考慮する為にロジスティック回帰分析を行うことで Adjusted ROR を算出した。

【結果・考察】まず、JADER を用いて DPP-4 阻害薬による有害事象を網羅的に調査したところ、心血管系イベント・胆道系障害・悪性腫瘍の 3 領域の副作用が、他の糖尿病治療薬と比較し DPP-4 阻害薬に特徴的な副作用であることがわかった。そこで、本研究では胆道系障害に関する詳細な解析を行なった。その結果、DPP-4 阻害薬の感染性胆道障害に対する ROR は、他の糖尿病治療薬と比べて有意に高く、併用薬の影響等を調整した Adjusted ROR を指標とした際にも同様の結果が得られた。以上の市販後の使用成績に基づく解析結果から、実臨床での DPP-4 阻害薬の服用患者における感染性胆道系障害の発症リスクは他の糖尿病治療薬よりも高いことが示唆された。DPP-4 阻害薬により腸閉塞や炎症性腸疾患が発生する事があり、このような腸管機能の低下が胆道系障害を引き起こす等のメカニズムが考えられる。

【結論】実臨床において他の糖尿病治療薬の服用と比較したとき DPP-4 阻害薬による胆道系障害リスクの上昇が示唆された。DPP-4 阻害薬を使用する際には、胆道系障害リスクも考慮する必要がある。

14. 臨床試験データを用いた DPP-4 阻害薬と SGLT2 阻害薬における有効性の民族差に関する研究

○早瀬稔起¹、伊藤友香¹、小林牧由¹、安部賀央里¹、頭金正博¹ (¹ 名市大院薬)

【目的】これまでに我々は、2 型糖尿病治療薬であるジペプチジルペプチダーゼ 4 (DPP-4) 阻害薬のシステマティックレビューにより、同じ DPP-4 阻害率が得られた際のヘモグロビン A1c (HbA1c) 低下効果は、海外試験よりも国内試験で有意に大きいことを明らかにした。DPP-4 阻害薬の作用機序はインスリン分泌促進であることから、2 型糖尿病治療薬の作用点における病態の違い(日本人はインスリン分泌不足であるのに対し、欧米人はインスリン抵抗性増大)が有効性の民族差として現れる可能性が考えられた。そこで本研究は、作用機序の異なる 2 剤(DPP-4 阻害薬と Na⁺/グルコース共輸送担体 2 (SGLT2) 阻害薬)に着目し、有効性の民族差の有無に関する知見を得ることを目的とした。

【方法】医薬品医療機器総合機構が公表している申請資料概要および文献データベースから臨床試験データを抽出した。抽出条件は、2 型糖尿病患者を対象としたプラセボ対照無作為化試験のうち、DPP-4 阻害薬または SGLT2 阻害薬を 12 週以上投与後、同一時点で HbA1c 値および空腹時血糖値 (FPG) が測定された試験とした。HbA1c 変化量と FPG 変化量の関係を一般線形回帰直線により解析した。

【結果・考察】DPP-4 阻害薬では、非日本人を対象にした海外 73 試験と日本人を対象にした国内 25 試験が該当し、SGLT2 阻害薬では海外 44 試験と国内 19 試験が該当した。単剤試験に限定して HbA1c 変化量と FPG 変化量をプロットしたところ、DPP-4 阻害薬では国内試験は海外試験に比べて FPG 低下に対する HbA1c 低下が有意に大きかった(p<0.05)。一方、SGLT2 阻害薬では国内外で違いはみられなかった。これらの結果は、インスリン分泌を介する DPP-4 阻害薬では、食後血糖への効果が大きく、インスリン分泌能の低い日本人の病態が薬剤応答性に寄与する一方、インスリン分泌を介さない SGLT2 阻害薬では、2 型糖尿病の病態の違いを受けにくいことを示唆していると考えられた。

【結論】DPP-4 阻害薬の有効性に民族差が示唆されたが、SGLT2 阻害薬では認められなかった。2 型糖尿病治療薬の作用点における病態の違いが有効性の違いとして現れる可能性が示唆された。

15. JADER を用いた Deep Learning による医薬品の重症皮膚副作用の予測

○大矢和幸¹、安部賀央里¹、頭金正博¹ (¹ 名市大院薬)

【背景・目的】

スティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS) や中毒性表皮壊死症 (TEN) は重篤な特異体質性副作用として知られている。発症頻度の低さや、発症機序が不明であることなどから、医薬品開発の段階において副作用との関連性を予測することは困難である。一方で、市販後の副作用データベースを用いることで、医薬品と様々な副作用の関連性を把握することが可能である。そこで我々は、SJS/TEN などの重症皮膚副作用に注目して副作用データベースを利用し、医薬品の構造情報から機械学習法の一つである Deep Learning (DL) による *in silico* 副作用予測モデルを構築することを目的とした。

【方法】

医薬品医療機器総合機構 (PMDA) が運用している医薬品副作用データベース (JADER) の 2004 年第一四半期から 2017 年第二四半期までに登録された有害事象報告データを用いた。対象副作用としては、MedDRA ver20.1 の標準検索式 (SMQ) の重症皮膚副作用 (SCAR) のうち、狭義検索用語に含まれるものを対象とした。Proportional Reporting Ratios (PRR) 法と報告件数を用いて SCAR 陽性・陰性の医薬品を定義し抽出した。抽出された医薬品の構造情報については分子記述子計算を行い、得られた記述子を変数として DL によって副作用予測モデルを構築した。副作用予測モデルの評価は予測精度等の指標を用いた。

【結果・考察】

JADER から SCAR 陽性 181 化合物、陰性 169 化合物を抽出した。陽性の化合物においては、抗菌薬が約 3 割を占め、うち β ラクタム系が最多であった。構造情報のみを変数とした DL による予測モデルでは、約 70% の予測精度が得られた。今回の研究では JADER を活用し、機械学習法による副作用予測モデルを構築することができた。このような医薬品の副作用データベースを用いた副作用予測手法は、医薬品開発段階における候補化合物のスクリーニングの効率化に寄与できると考えられる。

16. CLC Genomics Workbench を用いた HLA タイピング法と他のタイピングソフトとの比較

○中嶋琢人¹、亀位涼¹、坂部彩¹、岡本秀人¹、長部誠¹、頭金正博¹ (¹ 名市大院薬)

【目的】特定の HLA (ヒト白血球抗原) 型が、ある種の自己免疫疾患の発症や、医薬品による特異体質性副作用の発症と強く関連することが分かっており、個人の特性に基づいた個別化医療には、より完全な HLA 型に関する情報が重要である。そこで、NGS を用いた HLA 型の解析法が開発され、NGS のデータセットから正確かつ効率的に HLA タイピングを行うことができる様々なタイピングソフトが確立されている。本研究室においても現在までに NGS を用いた HLA タイピング法の確立に成功している。そこで、本研究では NGS データを用いて我々が確立した CLC Genomics Workbench (CLC) による HLA タイピング法と他のタイピングソフトとの比較を行い、CLC を用いたタイピング法の有用性について検討した。

【方法】本研究室で日本人 25 名の全血由来 DNA から 5 種類の HLA 領域 (HLA-A, -B, -C, -DQB1, -DRB1) を PCR 法により増幅し、次世代シーケンサー Miseq (Illumina 社) によって得たデータを用いて、本研究室で確立した CLC を用いたタイピング法と既存の PHLAT, HLAscan, Optitype, Polysolver の 4 つのタイピングソフトで決定された HLA 型を比較した。

【結果および考察】それぞれのタイピングソフトで得られた結果について、エキソン部分の変異に関わる HLA アレル第 3 区画 (6 桁目) までの算出率を比較したところ、5 種類全ての HLA 領域において CLC が最も高いという結果になった。また、各ソフトが決定した第 2 区画 (4 桁目) までと第 3 区画 (6 桁目) までのお互いの結果の一致率についても比較したところ、それぞれのタイピング法において class I では 60% から 90% 程度の一致率を示したが、class II (HLA-DQB1, -DRB1) の一致率が低く、結果となったアレルにばらつきが生じた。しかし、CLC は 5 種類全ての HLA 領域において他のソフトよりも一致率が高いという結果になった。以上の結果から本研究室で確立された CLC を用いた HLA タイピング法は他の 4 つのタイピングソフトと比較して、NGS データ解析での有用性が示された。

17. レギュラトリーサイエンスセンター設立とその活動

○野嶋和久¹、宇山佳明¹、加藤祐一¹、佐藤大作¹、武田康久¹、矢守隆夫¹、新井洋由¹（¹PMDA）

独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA: Pharmaceuticals and Medical Devices Agency）では、医薬品、医療機器、再生医療等製品等の品質、有効性及び安全性に関する助言・審査（承認審査）、市販後の安全性情報の収集、分析、情報提供（安全対策）、医薬品等による健康被害に対する救済（健康被害救済）の3つを、主な業務としている。この医薬品等の承認前から製造販売後までの一貫した業務による「セーフティ・トライアングル」を通じて医療水準の向上に貢献することを目的としている。

PMDA は、本年4月にレギュラトリーサイエンス（RS）センターを設立し、リアルワールドデータ、電子申請データによる承認審査と市販後調査・安全対策の強化及びアカデミア等外部機関との連携による RS の推進に関わる PMDA の活動を一元化した。

ビッグデータ時代に対応するため、RS センターでは、CDISC 標準に基づき集積された治験データを活用するとともに、リアルワールドデータである患者レジストリあるいは MID-NET[®]、ナショナルレセプト等の電子診療情報等の活用を通じて、医薬品の承認審査および安全対策の質の向上に取り組むこととしている。こうした活動の基盤は、科学的知見に基づくものでなければならず、日々進化する科学技術に対応するため、アカデミアとの連携や国際的な動向への配慮が求められている。RS センターでは、科学委員会、包括的連携協定等を推進することで、アカデミア等と連携し、レギュラトリーサイエンス（RS）に精通した人材育成を行うとともに、RS 研究を推進し積極的な情報発信にも努めている。また、国際的な規制対応について議論を行う ICMRA 活動におけるホライズンズキャンニングを通じて、国内外の最先端科学技術の情報を積極的に収集すること、革新的技術に国際的整合化も踏まえながら迅速に対応するため、世界各国の規制当局との連携強化を図ることなども行っている。

RS センターでの活動が審査・安全対策の質の向上に貢献し、革新的医薬品等の開発に資するガイドライン等の発信につながるよう取組んでいきたい。

18. iPS 細胞と iPS 由来神経前駆細胞を用いた発達神経毒性を有する農薬の毒性評価

○花鳥賊広人¹、橋山怜奈¹、鎌田祥太郎¹、石井功¹（¹昭和薬科大・衛生化学）

【目的】

農薬の開発段階では、培養細胞や実験動物を用いて、その安全性（毒性）が評価される。医薬品と異なり臨床試験のステップがないため、ヒトへの毒性はそれらの試験結果から予測されるものに過ぎない。細胞毒性試験では、（用いる細胞種に規定はなく）主に哺乳類のがん細胞や形質転換細胞が使用されるが、正常細胞と代謝が大きく異なるこれらの細胞よりも、正常細胞により近いヒト iPS 細胞を用いるほうが、より意味のある薬効・毒性評価ができると期待される。本研究では、サル腎臓由来 Cos-7 細胞（SV40 T 抗原により形質転換）、ヒト肝がん由来 HepG2 細胞、iPS 細胞、そして iPS 細胞より分化させた神経前駆細胞（NPC）に対する発達神経毒性を有する各種農薬の毒性を比較した。

【方法】

Feeder-free に馴化させた iPS 細胞（253G1 株: Oct3/4、Sox2、Klf4 の3因子導入）は、TeSR-E8 培地中 Matrigel hESC-qualified Matrix コート Dish 上で、iPS 細胞を分化させ作成した NPC は、NMM 培地中 Poly-L-ornithine/laminin コート Dish 上で培養した。Cos-7 細胞と HepG2 細胞は、10%FBS 添加 DMEM 培地中で培養した。96 穴プレートに各細胞を播種して 24 時間後に各種農薬を添加し、その 48 時間後に MTS（ミトコンドリア還元能）assay と ATP（luciferase 発光）assay を用いて、細胞生存率を測定した。

【結果と考察】

未分化 iPS 細胞と NPC は、Cos-7 細胞や HepG2 細胞よりも、多くの農薬に対して高い感受性を示した。そして、一部の農薬については両 assay の IC₅₀ 値に解離が見られた。以上の結果により、農薬のヒトに対する毒性評価には、（がん細胞や形質転換細胞よりも）iPS 細胞や NPC の利用が有効と考えられること、また、評価方法の違いにより異なる評価結果が得られる可能性があり、機序の異なる 2 種以上の assay の併用が有効であることが示された。

19. ハーボニー配合錠偽造医薬品流通事案から考える日本の医薬品流通の課題と解決策

○佐藤広大¹、鈴木浩史¹、岡田章¹、豊島聡^{1,2}、永井尚美¹（¹武蔵野大薬、²日本薬剤師研修セ）

【目的】平成 29 年 1 月に国内でハーボニー配合錠偽造医薬品が発見された。本研究では、偽造医薬品流通後に行政及び職能団体が問題解決に向けて行った対応を調査した。また、医薬品流通に係る国内外の規制文書等の比較や「薬剤師行動規範」の規定事項に基づき、日本の医薬品流通の問題点を明らかにするとともに再発防止のための改善策を考察した。

【方法】厚生労働省発出の通知、業界紙、関連ホームページ等の情報を基に、偽造医薬品流通が発覚した後の行政、業界及び職能団体の動向を時系列にまとめた。国内の規制文書、海外の多くの国で医薬品流通規則として適用されている PIC/S GDP と日本医薬品卸売行連合会の自主基準である JGSP を比較し、今般の事案に照らして日本の医薬品流通規則の問題点を考察した。

【結果】偽造医薬品流通発覚後の行政対応として、健康被害拡大防止等の対応は迅速に行われていたが、偽造医薬品の流通記録に不備があり流通ルートの特定制に時間を要した。PIC/S GDP と JGSP 及び国内関連文書の規定事項を比較した結果、医薬品流通に係る国内文書では PIC/S GDP で規定されている「文書化」、「適格性評価」をはじめとした多数の項目が規定されていなかった。また、「薬剤師行動規範」における最善努力義務との観点から偽造医薬品流通の過程に関与した薬剤師の対応の問題点を整理した。

【考察】偽造医薬品の流通ルート解明に必要となる流通記録に不備があったのは、JGSP に「文書化」に関する項目の規定がないこと、卸売販売業者等の資格を持たない個人に偽造医薬品の持ち込みが可能であったのは、JGSP に「適格性評価」の規定がないことが要因と考えられる。検討中の日本版 GDP ガイドライン素案ではこれらの点が反映され、国際標準と同様の医薬品規制文書になると考えられる。近年、医療現場を取り巻く環境の変化等により、薬剤師は利益を計上する能力が強く求められていると考えられる。薬剤師は「薬剤師行動規範」に従い、「患者の利益を最優先」という理念を再認識し、医療人として社会に貢献・奉仕していくという強い決意によって、医薬品の適正流通に貢献する必要がある。

20. Central nervous system(CNS)創薬のレギュラトリーサイエンス～血液脳関門制御技術の開発～

○橘敬祐¹、近藤昌夫¹（¹阪大院薬）

【目的】高齢化の進展に伴い、中枢神経系(CNS)疾患の患者数は増加の一途を辿っており、メガファーマをはじめ CNS 薬開発に鎬を削っている。iPS 創薬の進展により、病態解析、医薬品スクリーニング系等が進み創薬シーズの開発は進んでいるものの、血液脳関門(BBB)の分子基盤の解析遅延と一部相俟って未だ脳内における薬物動態制御技術等の開発が立ち遅れており、依然として CNS 疾患に対する薬剤貢献度は低いままである。そこで本研究では、脳内薬物動態制御系を開発することで、CNS 創薬のレギュラトリーサイエンス(RS)研究の基盤整備を試みた。

【方法】BBB で隣接する血管内皮細胞の間隙をシールしている claudin-5 (CLDN-5)、脳部位特異的な発現が認められている lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR)に着目し、BBB 制御技術の開発を試みた。これまでの当グループの CLDN 創薬基盤を基に DNA 免疫法を改良し、CLDN-5 抗体を作製した。また、ウェルシュ菌イオタ毒素の受容体が LSR であることから、ウェルシュ菌イオタ毒素の受容体結合ドメインを用いて LSR binder を作製した。CLDN-5 抗体、LSR binder の BBB 制御活性は各種 CLDN-5 発現細胞、LSR 発現細胞を使用した。

【結果】発現細胞を用いて結合性を解析したところ、CLDN-5 抗体は CLDN-5 発現細胞に特異的に結合していた。LSR binder は LSR に加え、ILDR-2 に対しても結合していた。また、CLDN-5 発現細胞、LSR 発現細胞、ILDR2 発現細胞の単層膜培養系に CLDN-5 抗体、LSR binder をそれぞれ添加したところ、いずれもバリア機能を低下させた。In vitro BBB 評価系で CLDN-5 抗体および LSR binder は BBB 透過性を亢進し、LSR binder はマウスを用いた解析でも BBB 透過促進作用が観察された。

【考察】以上、これまでに、CLDN-5 および LSR を標的とした BBB 制御技術の開発に成功した。今後は、これらの制御技術の脳内薬物動態制御活性を詳らかにするとともに、脳内薬物送達技術の有効性・安全性評価におけるポイントの抽出を試みる予定である。

21. 乳癌幹細胞の翻訳制御をもとにしたドラッグリポジショニングに向けた取り組み

○平田尚也^{1,2}、山田茂^{1,2}、諫田泰成¹（¹国衛研・薬理、²日本薬理評価機構）

近年、疾患における薬効が確認されヒトでの安全性が確認されている既存薬から別の疾患に有効な薬効を見つけ出して転用するドラッグリポジショニングが注目されている。ドラッグリポジショニングの利点は、薬効や安全性評価、動態などの試験を省略でき、開発期間の短縮やコスト低減が期待される。

乳癌を含む多くの癌は癌幹細胞を起源に形成されるが、癌幹細胞は高い腫瘍形成能を有し、既存の抗癌剤に対する薬剤抵抗性が高いため、癌の再発に関与している。従って、癌の根治には癌幹細胞に対する薬剤の開発が重要であるが、いい治療薬が見つかっていない。そこで、癌幹細胞の翻訳制御機構をもとに、ドラッグリポジショニングの検討を行った。

我々は癌幹細胞で特異的に翻訳が亢進している遺伝子をスクリーニングするために、リボソームに結合している mRNA を次世代シーケンスにより網羅的に解析するリボソームプロファイリング法を行った。癌幹細胞は、乳癌細胞株 MCF-7 を用いて、癌幹細胞の機能的マーカーであるアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) 活性の高い細胞を単離した。ALDH 陽性細胞で翻訳が亢進している遺伝子の中に、生理活性脂質スフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) を産生するスフィンゴシンキナーゼを見いだした。S1P は S1P 受容体を介して情報を伝達することから、S1P 受容体に作用する免疫抑制剤フィンゴリモドに着目し、乳癌幹細胞の増殖に対する影響を解析した。その結果、フィンゴリモド処理によってルミナル型乳癌細胞株 MCF-7 およびトリプルネガティブ型乳癌細胞株 MDA-MB-231 の全体の細胞数が減少し、特に ALDH 陽性細胞数の顕著な減少が認められた。次に、低接着ディッシュを用いてマンモスフィアの形成能を解析したところ、フィンゴリモドにより阻害された。さらに、フィンゴリモドによって幹細胞マーカーである Oct3/4 などの発現の減少が認められたことから、幹細胞経路の阻害によると考えられた。

以上の結果から、フィンゴリモドは乳癌に対する新たな治療薬となる可能性が示唆された。今後、動物や臨床検体の解析を進める予定である。

22. 2-ヒドロキシベンゾイミダゾール骨格を有する既存薬の P2X7 受容体に対する阻害効果

○吉田一貴¹、宮本美希¹、伊藤政明¹、松岡功¹（¹高崎健康福祉大学薬学部）

細胞外 ATP をリガンドとする P2X7 受容体は、様々な炎症を伴う疾患やがん細胞の浸潤・増殖への関与が報告されており新規治療薬の標的として注目されている。しかし、P2X7 受容体を標的とした医薬品は未だ存在しない。我々は既存薬から新規薬効を見つけ出し適応拡大を行うドラッグ・リポジショニング (DR) の観点から P2X7 受容体阻害作用を有する既存薬がないか検討してきた。これまでに、抗アレルギー薬であるオキサトミドが P2X7 受容体阻害作用を有していることを見出した。すなわち、オキサトミドは *in vitro* において P2X7 受容体刺激による細胞内 Ca^{2+} 濃度や細胞膜電流の変化、ポアの形成、サイトカインの産生を抑制し、*in vivo* において B16 細胞を用いた担癌モデルマウスの腫瘍増殖を抑制した。この阻害作用はヒト P2X7 受容体において最も強く、ラット P2X7 受容体に対しては無効であった。

本研究では、オキサトミドと類似した構造を持つ既存薬に P2X7 受容体阻害作用を持つものがないか検討を行った。オキサトミドは 2-ヒドロキシベンゾイミダゾールにプロピルピペラジンを介してジフェニルメチル基が結合した構造を有する。これと類似した構造を有する既存薬としてドンペリドン、ドロペリドール、ピモジド及びフェキソフェナジンを選び、これらの薬物の P2X7 受容体阻害作用をヒトヒエローマ細胞株 RPMI8226 を用いて検討した。ATP による P2X7 受容体を介する細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇に対してドンペリドン、ドロペリドール、ピモジドには阻害作用が認められ、作用強度はドロペリドール > ドンペリドン > ピモジドであった。しかし、ドロペリドールもオキサトミドの阻害作用には及ばなかった。これらの薬物は 2-ヒドロキシベンゾイミダゾール骨格に直接、もしくはアルキル基を介してピペラジンもしくはピペリジンが結合する構造が共通している。一方、ヒドロキシ-ジフェニルにピペリジンが結合した構造を有するフェキソフェナジンは P2X7 受容体阻害作用を示さなかった。以上の結果から、P2X7 受容体阻害作用には 2-ヒドロキシベンゾイミダゾールにピペリジンもしくはピペラジンが結合した構造が重要であると考えられ、オキサトミドの構造展開により、更に強力な P2X7 阻害作用を持つ化合物が得られる可能性があると考えられた。

23. SGLT2 阻害薬 6 剤の 83 臨床試験のメタアナリシス:臨床試験早期に評価された尿糖排泄量は患者の HbA1c 変化を良好に予測していた

○石川彩夏¹、吉岡英樹¹、佐藤洋美¹、樋坂章博¹ (¹ 千葉大院薬)

【目的】

臨床試験早期、特に第 I 相試験で薬効を適切に予測できれば、開発継続の判断を明確に行い、また以降の臨床試験デザインを合理化することで、医薬品開発の成功確率を改善し、そのコストを画期的に低下させることができる。そこで本研究では、2 型糖尿病治療薬である SGLT2 阻害薬の第 I 相試験で評価されていた尿糖排泄量から、効果の予測および用量最適化が可能であったかをレトロスペクティブに解析した。すなわち、国内で臨床適用されている SGLT2 阻害薬 6 剤について、尿糖排泄量と HbA1c 変化量の関係についてモデル基盤のメタアナリシス(MBMA)により解析した。

【方法】

国内で承認されている SGLT2 阻害薬 6 剤について、PMDA より公開されている申請資料から第 I 相単回投与時の健常人の一日尿糖排泄量のデータを手し、投与量依存性を評価した。このとき 6 薬剤をまとめて評価するために投与量の標準化をおこなった。また PubMed を利用して第 II 相以降の 2 型糖尿病患者を対象とした臨床試験情報を収集した。その中から計 83 試験を対象として、標準化した投与量とベースラインからの HbA1c 変化量の関係について Emax モデルを用いて MBMA をおこなった。解析には NONMEM (v7.3.0) を用いた。

【結果・考察】

SGLT2 阻害薬 6 剤全てについて、薬剤の種類によらず一貫して投与量の増加に伴い尿糖排泄量の増加が認められ、現在の臨床用量ではいずれの薬剤も一日尿糖排泄量が 50~60g であった。また、83 試験を対象とした MBMA では 6 剤全てについて投与量依存的な HbA1c の低下が同様に示された。以上から、第 I 相試験で尿糖排泄量を測定することで、理論的には HbA1c 変化量の定量的な予測が可能であり、以降の臨床試験における確度の高い用量選択に寄与し得ることが示された。

24. 中枢性プリン代謝変化を標的とした新規がん悪液質治療薬開発

○宇津美秋¹、野中美希¹、宮野加奈子¹、佐藤洋美²、呉林なごみ³、村山尚³、櫻井隆³、樋坂章博²、上園保仁¹
(¹ 国立がんセ、² 千葉大薬、³ 順天堂大医)

【目的】・・・がん悪液質は、進行性がん患者の約 80%に認められ、食欲不振、体重減少、筋肉量・脂肪量低下等を特徴とする全身性代謝異常症候群である。がん悪液質はがん患者の QOL を著しく損なうことから治療法の確立が喫緊の課題であるが、一方で適切な悪液質動物モデルが少ないために、がん悪液質の発症・進展メカニズムの解明は十分行われておらず、未だ有効な治療法は開発されていない。そこで本研究では、我々が確立したヒトと同様の悪液質症状を呈する動物モデルを用い(Terawaki K. et al., 2014)、食欲を調節する上で中心的な役割を果たしていると考えられる脳の代謝変化を網羅的に解析することで、新規治療標的となり得る脳内代謝経路を探索した。

【方法】・・・BALB/c-nu/nu マウス(8 週齢、♂)の皮下にヒト胃がん細胞株 85As2 を移植することでがん悪液質モデルマウスを作製し、経時的に体重、腫瘍径、摂餌量、飲水量を測定した。85As2 移植後 2、6 週目に各臓器(脳、心臓、肺、骨格筋、および精巣周囲脂肪)を採取し重量を測定した。脳については、水溶性代謝物を抽出した後、キャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析計を用いて約 90 種類の代謝物の量的変化を分析した。

【結果】・・・85As2 移植後 2 週目より体重が減少し始め、摂餌量・飲水量の低下や骨格筋量・脂肪量の減少のような悪液質症状を呈することを確認した。そこで 85As2 移植後 2 週目の脳内代謝物量を定量したところ、プリンヌクレオチド(ATP や GTP など)は減少し、一方その分解代謝物であるイノシン、ヒポキサンチン、尿酸は増加した。また、ヒポキサンチンから尿酸への代謝に関与するキサンチンオキシダーゼの活性は 85As2 移植後 2 週目のマウスの脳で増加する傾向を認めた。そこでキサンチンオキシダーゼ阻害薬であるフェブキソスタットを、85As2 移植後 2 週目から 6 週目の 4 週間飲水投与することで悪液質症状が改善するか検討したので、本結果も併せて報告する。

25. GABAトランスポーター阻害薬の鎮痛作用メカニズムと副作用予測に関する研究

○尾山実砂¹、渡辺俊¹、岩井孝志¹、田辺光男¹ (¹北里大薬・薬理)

【目的】慢性疼痛の治療戦略の上で、痛みシグナルを末梢から上位中枢へと中継する脊髄後角内において興奮優位となった興奮と抑制のバランスを正常化させることは重要である。細胞外の GABA を増加させる GABA トランスポーター (GAT) 阻害薬は、神経障害性疼痛モデル動物での鎮痛作用が報告されているが、筋弛緩作用など運動機能に与える作用との分離は不明である。本研究では、GAT サブタイプの GAT3 に注目し、成熟マウス脊髄スライス標本を用いて疼痛シグナル伝達に関わる一次求心性神経線維由来の興奮性シナプス伝達に及ぼす GAT3 阻害薬の影響を調べることでシナプスレベルの鎮痛作用メカニズムを明らかにすると共に、神経障害性疼痛モデル動物を用いて機械的アロディニアと運動量に与える GAT3 阻害薬の作用を検討した。

【方法】5-7 週齢 ddY 系雄性マウスの脊髄を麻酔下に取り出した後、後根を付けた横断スライス標本を作製し、吸引電極で後根を電気刺激して A 線維性あるいは C 線維性の興奮性シナプス後電流 (eEPSCs) を誘発した。GAT3 阻害薬 SNAP-5114 (50 μ M) は灌流適用した。神経障害性疼痛モデルは、5 週齢 ddy 系雄性マウスを麻酔下にて坐骨神経を 1/2~1/3 一部結紮して作製し、1 週間後に von Frey 試験により機械的アロディニアの発症を確認後、SNAP-5114 (50, 75, 100 μ g) を脊髄髄腔内に投与し、von Frey フィラメントに対する逃避閾値の測定、あるいは行動量の測定を行った。

【結果と考察】SNAP-5114 は、A 線維誘発性および C 線維誘発性の eEPSCs を共に抑制した。また、脊髄髄腔内投与した SNAP-5114 は、機械アロディニアを緩解した。一方、機械アロディニア緩解作用の弱い 50 μ g と強い 75 μ g の SNAP-5114 は、運動量に対して、それぞれ抑制傾向と強く有意な抑制作用を示した。すなわち、疼痛伝達に関わる神経線維由来の興奮性シナプス伝達抑制作用は、GAT3 阻害が鎮痛作用を有することを明確に現しているが、行動実験で得られた結果は、鎮痛作用と運動抑制作用の分離が困難であることを示している。

26. トランスポーター介在性薬物相互作用リスク評価への内在性バイオマーカーの適用

○森大輝¹、石田博雄²、水野忠快¹、藤田健一³、楠本壮二郎²、前田和哉¹、佐々木康綱^{2,3}、楠原洋之¹

(¹ 東大院薬、² 昭和大医、³ 昭和大腫瘍分子生物学研)

【目的】薬物間相互作用の回避のため日米 EU の規制当局は新薬候補化合物のトランスポーター阻害能を、プローブ薬を用いた臨床試験で評価することを推奨している。近年、内因性基質に注目することで、臨床開発早期に開発化合物の薬物相互作用リスクを見極めることに大きな関心が寄せられている。本研究では、肝特異的に発現し種々薬物の肝取り込みに寄与する Organic anion transporting polypeptide (OATP) 1B1 および OATP1B3 (OATP1B1/1B3) に注目し、抗がん剤パクリタキセルによる OATP1B1/1B3 介在性薬物相互作用リスクの評価を行った。

【方法】OATP1B1/1B3 過剰発現 HEK293 細胞を用いた取り込み試験を行った。パクリタキセル投与治療 (200 mg/m²、3 時間点滴静注) を受ける非小細胞肺癌患者を対象とした臨床試験を実施した。パクリタキセルの投与前日 (day 0) と投与直前および投与後 7 時間まで (day 1) にそれぞれ 5 点血液を採取し、パクリタキセルとその代謝物、内因性基質の血漿中濃度を LC-MS/MS (Qtrap5500) を用いて定量した。

【結果・考察】In vitro 試験の結果、パクリタキセルは OATP1B1/1B3 を阻害し OATP1B1 に対する阻害には時間依存性が認められた。臨床試験には非小細胞肺癌患者 10 名 (男性 9 人、女性 1 人、年齢 48~75 歳) をエンrolledした。パクリタキセルの投与後 coproporphyrin I (CP-I)、glycochenodeoxycholate-3-sulfate (GCDCA-S)、その他の胆汁酸硫酸抱合体の血漿中濃度が増加し、2 時間以降減少に転じた。day 0 と day 1 の AUC_{0-7hr} の比は CP-I、GCDCA-S でそれぞれ 3.40、3.58 であった。GCDCA-S の前駆体である GCDCA の血漿中濃度も増加を示したが、その程度は GCDCA-S と比較し小さかった (AUC_{0-7hr} 比 1.91)。

【結論】パクリタキセルは OATP1B1/1B3 阻害能を有し、臨床投与量で OATP1B 介在性薬物相互作用を生じ得る。CP-I、GCDCA-S 等の内因性基質は生体内での OATP1B 阻害を前向きに検出できるツールとして有用であることが示唆される。

27. DCEBIO による骨格筋分化促進作用と肥大作用

井石雄三¹、大野雄康¹、田中翔子¹、○桑原泰斗²、黒川洵子²、村川雅広¹、下村健寿¹、坂本多穂^{1,2} (¹ 福島県医大医、² 静岡県大薬)

【目的】骨格筋萎縮は QOL を著しく低下させるが、有効な治療薬は開発されていない。筋分化肥大促進薬を動物実験でスクリーニングするには多大なコストと手間が必要となる。本研究では、筋分化能を有した細胞株を利用して筋萎縮治療薬が見出せるか検討した。

【方法】K_{Ca} チャネル開口薬 DCEBIO と各阻害薬の存在下で C2C12 細胞を培養し、筋分化と筋肥大の度合いを観察した。筋分化はメイグリュンワルド・ギムザ染色した筋幹細胞中の核の割合をもとに算出した分化度を指標とした。筋肥大は筋管の直径と筋管核数を指標とした。膜電位の測定はパッチクランプ法により行った。細胞内 Ca²⁺ 濃度は Fura2 を用いて測定した。mRNA 発現量は定量的 RT-PCR 法で解析した。タンパク質発現量はウェスタンブロット法で解析した。

【結果・考察】DCEBIO により細胞膜電位の過分極が起こり、細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇し、筋分化が促進された。加えて、K_{Ca} チャネル阻害薬 (apamin, TRAM-34) により筋分化は抑制された。よって、DCEBIO の筋分化促進作用は K_{Ca} チャネル開口作用によるものと考えられる。また、DCEBIO による筋直径の増大も確認された。K_{Ca} チャネル阻害薬 (apamin, TRAM-34) は筋肥大を抑制しなかった。mTOR 阻害薬 Rapamycin により筋肥大が抑制された。加えて、DCEBIO が S6K をリン酸化させるが Akt はリン酸化させないことも確認された。よって、DCEBIO は K_{Ca} チャネル開口を介することなく mTOR/S6K 経路を活性化し、筋肥大をもたらしていると考えられる。筋肥大・筋萎縮因子の遺伝子発現に対する DCEBIO の影響を見るために IGF-1, IGF-1 受容体, atrogen-1, MuRF1, リソソーム酵素 Cathepsin L, サイトカイン myostatin の mRNA 発現量を調べたが、いずれも有意な変化は見られなかった。DCEBIO は CaM 結合蛋白を活性化するという報告があり、何らかの CaM 結合蛋白が mTOR を活性化し筋肥大をもたらしている可能性が考えられる。C2C12 細胞による解析法は、筋に対する多くの薬物効果を迅速に確認するという点で優れている。今後、DCEBIO の人体への適応をめざして有効性と安全性を検証する。

28. 幼若マウス心臓の形態・機能における性差について

児玉昌美¹、○橋口丈晃²、坂本多穂²、中井雄治³、山口賢彦²、黒川洵子² (¹ 東京大・定量研、² 静岡県大薬・生体情報、³ 弘前大・地域研)

【目的】

心血管病には明らかな性差が認められる。微小血管狭心症は、女性患者の割合が男性に比べて有意に高いが、病態発症のメカニズムは未だ不明で、確立した治療法もない。冠血管については、エストロゲンの保護的作用が周知だが、微小血管狭心症には閉経後、加齢が進むにつれて悪化するという特徴があり、加齢変化における性差の関与も疑われる。従来の成体・加齢の動物・細胞レベルにおける性差研究では加齢因子と性差因子を切り分けることが困難と考え、発生と老化の両過程には一部共通する制御機構があることを利用して、冠血管の形成段階に遡り新規機構の探索を行った。

【方法】

胎生冠血管の観察には、定圧インク微小注入血管造影法を用いた。胎生 17.5 日の雌雄マウスの左冠動脈の血管径を起始部から、心尖に向かって複数個所で計測し、各計測点における血管径を散布図にプロットし、近似線を求めた。遺伝子発現は、マイクロアレイ法により網羅的解析を行った。

【結果】

胎生 17.5 日では心室長に性差はなく、長い群と短い群に分けることができた。心室長が長い群でのみ、雌の血管径が雄より有意に細いという性差が認められた。血管弛緩薬 (SNP) の投与により雄の血管径は影響を受けなかったが、雌では著明に弛緩し雄よりも太くなった。遺伝子発現網羅解析により、発現性差は 59 遺伝子に見られた。

【考察】

胎生後期マウスの冠血管には、すでに形態的な性差と機能的な性差が存在することが示された。本結果が疾患発症・薬効および毒性に関連するかについて、今後、遺伝子発現解析を進める。

29. 動きベクトル解析を用いたヒト iPS 細胞由来心筋細胞の力学的機能に対する薬剤作用解析

鈴木結衣¹、○中川桃夏¹、佐野優介¹、山口賢彦¹、坂本多穂¹、黒川洵子¹ (¹ 静岡県大薬・生体情報)

【目的】

薬剤による致死性の心室性不整脈および心機能低下は深刻な有害事象である。非臨床安全性試験において、成熟ヒト心筋細胞を用いるのは困難であり、非心臓系細胞が用いられている。現在、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の心毒性評価への応用が検討されている。心房、心室筋細胞への薬剤反応の違いが指摘されているにもかかわらず、特異的な分化誘導法は確立されていない。

そこで本研究では、この分化誘導後において、心房、心室筋細胞を識別して薬剤評価を行うことを目的に、動きベクトル法を用いて、拍動心筋細胞の収縮特性を解析した。

【方法】

マウス心臓から急性単離した心筋細胞、またはヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (iCell-CM, CDI, FUJI FILM) を 35 mm ディッシュにまき、マウス心筋細胞は、1 Hz の電気刺激により拍動させた。動画解析は、拍動心筋細胞に対し、SI8000 Sony セル動作画像システム (Sony Corporation) を用いて行った。その後、iCell-CM は、MLC2a 抗体と MLC2v 抗体を用いた免疫染色により心筋型を識別した。

【結果および考察】

マウス心室筋細胞において、イソプロテレノール (100 nM) は、変形距離だけではなく収縮-弛緩速度を増加させ、収縮-弛緩時間を減少させた。ベラパミル (100 nM) は、変形距離と収縮-弛緩速度を減少させた。両薬剤は、収縮速度より弛緩速度に対し、より効果的であった。一方で、心房筋細胞においては、上記薬剤の反応はともに検出されなかったことから、動きベクトル法により心筋型 (心房もしくは心室) を識別することに成功した。iCell-CM においても、マウスと同様の機能解析を行い、心筋型の識別に成功した。ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いて心筋型を識別した薬剤評価法としての開発が期待される。

30. hERG チャネルに対する合成エストロゲンの作用

田村文弥¹、○杉本真太郎²、家田真樹³、坂本多穂²、黒川洵子² (¹ 慶應大学医、² 静岡県大薬、³ 筑波大医)

【目的】

心電図 QT 間隔延長を伴う薬剤誘発性の不整脈は薬物クラスによらず発症するため予測が難しく、QT 延長毒性として、医薬品開発における安全性試験の対象となっている。

この QT 延長毒性には性差があり、我々は性ホルモンが関与する分子機構を報告してきた。一部のエストロゲン類が関わる機構として、エストロゲンが有する芳香環が hERG チャネルの薬物結合部位に相互作用し、選択的 hERG 阻害剤 E-4031 の反応を増大することを見出した。現在、乳癌治療薬や経口避妊薬など多くのエストロゲン製剤が医薬品として使用されていることから、安全性管理の上で問題になることが危惧されるものの QT 延長毒性との関連は不明である。

そこで、今回、経口避妊薬として多く用いられている合成エストロゲンであるエチニルエストラジオールに注目し、hERG チャネルに対する相互作用の有無を検討した。

【方法】

hERG チャネルを安定発現させたヒト胎児腎由来 (HEK293) 細胞を、ステロイドを除去した条件で培養し、マニュアルパッチクランプ法によって、室温にて hERG 電流を測定した。エストロゲン類および E-4031 は細胞外から投与した。

【結果・考察】

脱分極刺激 (20 mV, 0.1 Hz) で活性化した hERG 電流に対し、エチニルエストラジオールの作用は見られなかった。一方、E-4031 による hERG 電流阻害に対しては、エチニルエストラジオールは減弱する作用を示した。以上より、エチニルエストラジオールは、E-4031 による QT 延長作用を減弱することが示唆された。本研究は、合成エストロゲン類と hERG 阻害剤との相互作用について、我々が知る限り、初めて明らかにしたものである。

31. 脂肪幹細胞において高発現する G タンパク質共役型受容体の脂肪分化に対する作用解析

○高橋茉那¹、山口賢彦¹、黒川洵子¹ (¹ 静岡県大薬・生体情報)

【目的】脂肪組織に存在する間葉系幹細胞(脂肪幹細胞)は増殖し脂肪細胞へと分化することで肥満の進行に寄与している。したがって脂肪幹細胞の細胞周期・脂肪分化を調節するメカニズムの解明は肥満の予防等に役立つと考えられるが、その具体的な分子機構はほとんど明らかにされていない。そこで本研究室では脂肪幹細胞の増殖・脂肪分化を調節する遺伝子を明らかにする目的で、網羅的遺伝子発現解析により脂肪幹細胞に高発現している遺伝子群を同定した。本研究では脂肪幹細胞において高発現していた遺伝子群の中でも多彩な生理作用をもつ G タンパク質共役型受容体(GPCR)に着目し、それら受容体の脂肪分化に対する作用を検討した。

【方法】脂肪幹細胞に高発現していた GPCR の中からリガンド非依存的に活性化することが知られている Gpr3 をクローニングし、Gpr3 発現 3T3-L1 細胞を作製した。作製した細胞を用いて、Gpr3 の脂肪分化に対する作用を Western blot 法および Oil Red O 法にて定量した。

【結果】Gpr3 はGsを介して 細胞内 cAMP 濃度を増加させる GPCR である。脂肪分化に汎用される培地にも細胞内 cAMP 濃度を増加させるイソブチルメチルキサンチン(IBMX)が含まれることから、まず IBMX の非存在下で Gpr3 の脂肪分化能を検討した。その結果、Gpr3 発現 3T3-L1 細胞において脂肪分化促進因子である PPAR γ の発現が上昇し、脂肪滴の形成も促進された。次に IBMX の存在下で脂肪分化能を検討したところ、Gpr3 発現 3T3-L1 細胞において PPAR γ の発現が低下し、脂肪滴の形成も抑制された。

【考察】本研究において脂肪幹細胞には様々な GPCR が高発現しており、その中でも Gpr3 は IBMX の有無に応じて脂肪分化を調節することが示唆された。今後、脂肪幹細胞における Gpr3 の生理的役割を詳細に明らかにしていくことで、脂肪幹細胞の脂肪分化を調節する分子機構の一端が理解されると期待される。

32. Nuclear receptor 4a family を介した脂肪幹細胞の未分化性維持機構の解析

伊藤謙汰¹、○西山麗紗¹、山口賢彦¹、黒川洵子¹ (¹ 静岡県大薬・生体情報)

【目的】肥満の進行により脂肪組織が肥大化すると、様々な生活習慣病に罹りやすいことが知られている。脂肪組織の肥大化は、脂肪組織の間葉系幹細胞で脂肪細胞へと分化する“脂肪幹細胞”が増殖かつ分化し、成熟脂肪細胞の数が増加することが一因である。しかし脂肪分化の ON/OFF を決定づける分子機構はほとんど理解されていない。当研究室では脂肪幹細胞において高発現している遺伝子群を同定した。そこで、本研究では同定した遺伝子群の中でも 1 から 3 までで構成される全てのファミリー分子が高発現していた Nuclear receptor 4a1/2/3(Nr4a family)に着目し、その解析および、脂肪幹細胞の分化調節機構の解明を目的とした。

【方法・結果】脂肪分化に対する Nr4a family の機能を解析するため、Nr4a1/2/3 をそれぞれ安定発現させた脂肪前駆細胞を作製した。脂肪分化促進のマスター制御因子である C/EBP α と PPAR γ の発現を WB 法にて定量した。その結果、いずれの Nr4a を発現させた場合においても、C/EBP α と PPAR γ の発現が低下した。さらに、Oil red O 染色を行い脂肪滴の形成を観察したところ、Nr4a family を発現させた細胞では脂肪滴の形成が抑制されていた。従って Nr4a family は、C/EBP α および PPAR γ の発現抑制を介して脂肪分化を抑制することが示唆された。次に Nr4a family による C/EBP α および PPAR γ の発現抑制機構を検討した。そして JASPAR を用いて C/EBP α および PPAR γ プロモーターに対する Nr4a family の結合部位を探索したところ、複数の結合候補配列が得られた。そこで、得られた候補配列の 1 つについて ChIP assay 法により解析した結果、Nr4a family の結合を示すシグナルが増加していたため、Nr4a family が CEBP α 、PPAR γ の転写調節を行っていることが示唆された。

【考察】Nr4a family が C/EBP α 、PPAR γ の転写抑制により脂肪幹細胞の未分化性維持に寄与していることが示唆された。今後 Nr4a family を欠損、阻害させたときの脂肪分化に対する影響を調べ、生体内における Nr4a1/2/3 の作用についても Nr4a KO マウスを作成し、解明を進める予定である。

33. 工業用化学物質による職業性胆管がんリスクに関する研究

○豊田優¹、高田龍平¹、鈴木洋史¹ (¹ 東大病院・薬剤部)

【目的】2012 年、塩素系有機洗浄剤を大量に使用してきた印刷工場の従業員が若年であるにも関わらず、高頻度に胆管がんを発症していることが報告された。疫学調査の結果、洗浄剤の主成分であったハロゲン化炭化水素、なかでも 1,2-ジクロロプロパン (1,2-DCP) への長期間・高濃度ばく露が当該職業性胆管がんの発症原因であると強く疑われているが、その裏付けとなる作用機序については未解明であった。この職業がん問題では、全身ではなく胆管のみでの発がんが報告されていたことから、1,2-DCP に由来して胆汁排泄される物質が胆管がんリスクに関与しているとの考えのもと、研究を進めた。

【方法・結果】胆汁排泄される関連代謝物を探索するために、1,2-DCP を投与した実験動物の胆汁を回収し、非投与群を対照とする非ターゲットメタボローム差異解析を行った。その結果、1,2-DCP に起因し、胆汁排泄される有力な発がん性候補物質として、当該物質のグルタチオン抱合体ならびにその関連代謝物を見出すことに成功した。その中には、1,2-DCP 中の 2 つの塩素のうちの 1 つが残った、塩素含有グルタチオン抱合 DCP が含まれていた。胆管側膜輸送体である Abcc2 (Mrp2) の機能欠損ラットを用いた *in vivo* 検討・ABCC2 発現膜ベシクルを用いた輸送実験の結果、グルタチオン抱合 DCP は ABCC2 依存的に胆汁排泄されていることが見出された。さらに、マウス肝細胞が正常ヒト肝細胞に置換された PXB マウスを用いた実験においても、同様の代謝物が胆汁排泄されていることが明らかとなった。

【考察】本研究は、塩素系有機溶剤に対する大量ばく露と職業性胆管がんの発症とを結びつける新たな知見である。胆管がんの発がん機序が解明されたわけではないものの、生体外異物に対する生体防御の一翼を担うはずの胆汁排泄が、胆管がん発症の観点からは危険因子ともなりうる可能性が示唆された。また本研究戦略は、大量ばく露が想定される化学物質の有害性評価にも応用可能であると考えられる。

<参考文献> Toyoda Y, Takada T, Suzuki H. *Sci. Rep.* 6:24586, 2016.

Toyoda Y, Takada T, Suzuki H. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017:9736836, 2017.

34. 化学構造情報に基づく非心原性肺水腫を誘発する薬物の予測

○辰広唯菜¹、加賀谷肇²、植沢芳広¹ (¹ 明治薬大 医療分子解析、² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)

【目的】

肺水腫は多様な薬剤によって誘発される重要な副作用のひとつである。肺水腫は肺胞周囲の毛細血管から血漿が肺胞内に滲出した状態であり、重症化すると呼吸不全に陥ることもある疾患である。その発症機序は、主に左心不全による心原性肺水腫と、これ以外の非心原性肺水腫に大別される。薬剤性肺水腫は非心原性の場合が多く、オピオイド鎮痛薬の副作用として生じる肺水腫は非心原性とされている。本研究では、PMDA が公開している医薬品副作用データベース (JADER) を用い、非心原性肺水腫を惹起する医薬品の特徴を解析するとともに、薬物の化学構造的特徴を用いた非心原性肺水腫誘発薬識別モデルの構築を試みた。

【方法】

JADER に基づき各医薬品の投与の有無と薬剤性肺水腫発症の有無に関するクロス集計表を作成した。医薬品ごとにオッズ比を算定するとともに、正確検定において有意な医薬品を心原性および非心原性に分類した。次に、非心原性肺水腫を惹起し得る医薬品の化学的特徴を探索する目的で、データセットに薬物化学構造情報を付与するとともに、化学的特徴量を算出した。化学的特徴量と非心原性肺水腫に関する Wilcoxon 検定を網羅的に検討するとともに、決定木を構築することによって化学的特徴量の寄与を評価した。

【結果・考察】

血漿増量剤、抗がん剤等が薬剤性肺水腫の重要な原因薬物であることが判明した。これらの構造的特徴として、部分電荷、酸素原子の数、表面粒子等の化学的特徴量が本有害事象の誘発に強く関与していた。さらに、非心原性肺水腫誘発薬物に関する予測性能の高い決定木モデルの構築に成功した。本知見は、臨床上での有害事象発症の対策や創薬における候補化合物の選択の一助となることが期待される。

35. 化学構造に基づく悪心・嘔吐を誘発する薬物の予測

○朝戸統乃¹、加賀谷肇²、植沢芳広¹ (¹ 明治薬大 医療分子解析、² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)

【目的】

悪心・嘔吐は化学療法をはじめとする多くの薬物療法において頻発し、患者QOLに強く影響する副作用である。高度な悪心・嘔吐はしばしば食欲不振や脱水、低栄養、電解質異常などを引き起こすことがある。悪心・嘔吐の発症機序は薬物によって異なり、種々の伝達経路に対する制吐薬・嘔吐予防薬が開発されてきた。一方、悪心・嘔吐を誘発する薬物に関する構造的特徴の検討例は限られている。そこで悪心・嘔吐誘発薬物を対象とした構造的特徴の検討、および新規物質に対する悪心・嘔吐薬予測モデルの構築を目的としたデータベース解析を行った。

【方法】

PMDAが公開している大規模医薬品副作用データベース(JADER)に報告されている全薬物を対象として、悪心・嘔吐と医薬品の関係に対するFisherの正確検定を行い、オッズ比およびP値を算出した。さらに、結果の可視化を目的として縦軸を対数オッズ比、横軸を $-\log(P\text{値})$ としたvolcano plotを作成した。次に、JADERに報告されている低分子医薬品に構造的・物理化学的特徴量からなる化学構造情報データを付与し、解析用データテーブルを作成した。説明変数を化学構造から得られた特徴量、目的変数を悪心・嘔吐誘発の有無として解析を行うとともに、決定木を用いた悪心・嘔吐誘発薬物の予測モデルを構築した。

【結果・考察】

Volcano plotより抗がん剤、およびブプレノルフィン、オキシコドンなどのオピオイドが有意に悪心・嘔吐を惹起しやすいことが判明した。一方、薬物分子のファンデルワールス表面積が大きい薬物や水素結合を形成し得る薬物が悪心・嘔吐を誘発しやすいことが分かった。さらに、本副作用の予測に関する高度な決定木モデルの構築に成功した。以上の知見は化学構造からの副作用予測に寄与することから、新薬開発や緩和医療における悪心・嘔吐対策への応用が期待できる。

36. 化粧品中の防腐剤ブチルカルバミン酸ヨウ化プロピニルの定量法開発

○藤巻日出夫¹、秋山卓美²、五十嵐良明² (¹ 民生科学協会、² 国衛研)

【目的】化粧品に配合される防腐剤は、化粧品基準別表 3 に掲げる物でなければならない、化粧品の種類により最大配合量が定められている。そうした成分の試験法は化粧品基準に定められていないが、一部成分については衛生試験法注解に収載されている。ブチルカルバミン酸ヨウ化プロピニル(3-iodo-2-propynyl butylcarbamate, IPBC)は化粧品基準への追加が平成 18 年と新しく、最大配合量が 100g 中 0.02g と比較的少なく制限されている防腐剤である。化粧品に義務付けられた全成分表示により IPBC の幅広い製品への使用が確認されているが、その化粧品中濃度を分析した論文報告は少ない。そこで化粧品中 IPBC の定量法の開発を目的に、抽出条件及び GC/MS 条件について検討した。

【方法】化粧品を水と混合した後に有機溶媒で抽出し、減圧乾固後にヘキサンに溶解した。フロリジルカートリッジに通し、20%エタノール含有ヘキサンで溶出させ、Polyethylene glycol(PEG)200 及び PEG300 を添加したものを試験溶液とした。5%フェニル 95%ジメチルアリーレンシロキサンを液相とするカラムを装着した GC/MS に PEG200 及び PEG300 を添加した IPBC 溶液を繰り返し注入し、EI ポジティブモードでの $m/z165$ のフラグメントピークの面積が安定した後に、試験溶液を注入して定量した。

【結果と考察】化粧品と抽出溶媒(酢酸エチル、ヘキサン、*tert*-ブチルメチルエーテルなど)の組合せによってはエマルジョンが形成されたため、化粧品ごとに溶媒を選択する必要があった。抽出液はヘキサンに溶媒交換を行った後にフロリジルカートリッジで精製することにより、定量の際に妨害となる他の化粧品成分のピークを大幅に軽減できた。IPBC はガラスインサート等の GC の活性点に吸着されやすく、マトリックスにより吸着が抑制される試験溶液では定量値が見かけ上大きくなることが判明した。そこで、PEG を添加した標準溶液を前もって繰り返し注入し、吸着を抑制することによって、このマトリックス効果を軽減することができた。最大配合量相当の IPBC を添加したクリーム、乳液、コンディショナー及びシャンプーについて添加回収試験を行ったところ、真度は 73–84%であった。

37. 医薬品副作用データベースを用いた薬物性肝障害誘発薬物の投与量の解析

○今田勇輝¹、加賀谷肇²、植沢芳広¹ (¹ 明治薬大・医療分子解析、² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)

【目的】

薬物性肝障害(DILI)は NSAIDs や抗がん剤など緩和ケア領域において重要な薬物を含む多様な化学物質により誘発されることが知られている。その発症機序は多様であると考えられているが、主に肝細胞障害型と胆汁うっ滞型に分類される。近年、細胞内共有結合に起因する DILI が薬物の投与量に依存するとの報告がなされた。しかし、この知見における薬物および副作用に関する情報は限られている。そこで、本研究では大規模副作用データベースを用いて DILI と投与量の関係を発症機序毎に解析した。

【方法】

ICH 国際医薬用語集 (MedDRA) と MedDRA 標準検索式 (SMQ) を用いて副作用語を統制することにより、肝細胞に関連する副作用語を「肝細胞障害型」、胆汁うっ滞や黄疸などに関連する副作用を「胆汁うっ滞型」と分類した。医薬品医療機器総合機構 (PMDA) が公表している大規模副作用データベースである JADER に報告されている薬物の報告オッズ比 (ROR) を算出し、DILI の発現リスクを評価した。肝細胞障害型および胆汁うっ滞型 DILI 誘発薬物群と各機序における非誘発薬物群間の投与量の相違を Wilcoxon/Kruskal-Wallis の順位と検定により検討した。

【結果・考察】

肝細胞障害型 DILI 誘発薬物群の投与量は非誘発群と比較して有意に大きいことが示された。一方、胆汁うっ滞型 DILI 誘発薬物群と同カテゴリーの非誘発群の投与量には有意差を認めなかった。本研究における発症機序分類に基づく DILI 誘発薬物の投与量に関する知見は、臨床上の投与量評価に対する参考になるとともに、本副作用の複雑な発症機序の解明の一助になるものと考えられる。

38. 化学構造に基づく傾眠を誘発する薬物の予測

○塩田彩乃¹、加賀谷肇²、植沢芳広¹ (¹ 明治薬科大学 医療分子解析学研究室、² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)

【目的】傾眠は最も多く報告されている医薬品の副作用の一つである。大規模医薬品副作用データベース (JADER) には、傾眠を誘発する被疑薬が多数掲載されている。緩和医療における傾眠の多くはオピオイドが原因だと考えられており、鎮痛用量に対して投与量が過剰なときに発症するとされている。しかしながら、新規医薬品等の JADER における報告件数が限られている医薬品では、データベースを用いた評価は不正確であると考えられる。そこで、多様な医薬品の評価を目的として、薬物の化学構造情報に基づく傾眠誘発識別モデルの構築を試みた。

【方法】JADER に報告されている全医薬品より抗体製剤、漢方薬等を除外した。各低分子薬物に対して、傾眠誘発に関するオッズ比とフィッシャーの正確検定による P 値を算出し、副作用発現傾向の可視を目的として両統計量の散布図を描画した。さらに、化学構造から各医薬品に関する構造的・物理化学的特徴量を算出し、傾眠の誘発に関連する特徴量を特定した。次に、決定木を用いて予測モデルを構築し、5 分割交差検証法により予測精度を検証した。

【結果・考察】統計量の散布図より、傾眠誘発に影響があるとされているオピオイド、さらには、オピオイド等と併用する鎮痛補助薬である抗てんかん薬、抗うつ薬、神経性疼痛治療薬が傾眠を多く発現していることが示された。化学構造的特徴量の解析より、傾眠の誘発には分子の柔軟性や極性表面積等が有意に関与していることが分かった。以上の結果は、薬物分子の物理化学的性状が本副作用の発現予測に有用である可能性を示唆している。実際、化学構造的特徴量を用いた決定木モデルは、5 分割交差検証において良好な ROC 曲線下面積を与えた。以上の知見は創薬における候補化合物の選択や臨床における傾眠の副作用対策への応用が期待できる。

39. 化学物質の神経毒性評価指標に関する研究

○梅田香苗¹、杉山千尋¹、石田慶士¹、津山由美¹、太田茂^{1,2}、古武弥一郎¹ (¹広島大院医歯薬保、²和歌山医大)

【目的】

この世の中に存在する化学物質の毒性を評価するためには、大量の実験動物の犠牲と莫大なコストおよび時間が必要であり、十分に毒性評価されているとはいえない。この問題を少しでも解消するためには、動物実験に資する前段階として、特定の評価指標を用いたスクリーニング系の開発が有用である。我々は有機スズの神経毒性解明を試みる過程で、AMPA 型グルタミン酸受容体サブユニット GluR2 タンパク質の発現減少が神経毒性に先立って起こることを見出した。そこで本研究では、GluR2 減少が神経毒性評価指標として利用できるのではないかと考え、評価指標の有用性について検討を行った。

【方法】

パーキンエルマー社の AlphaLISA[®]の原理を応用し、GluR2 タンパク質簡便評価系を構築した。GluR2 を十分に発現する大脳皮質初代培養神経細胞に、農薬など約 50 種類の化学物質を 1 μM、10 μM で曝露し、本簡便評価系を用いて GluR2 減少物質を探索した。また、GluR2 減少物質のうち、パーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) についてはラットに投与した際の GluR2 減少と神経影響についても調べた。

【結果・考察】

カルボフラン、フェンバレーレートなど一部の農薬は GluR2 発現を減少させることが、簡便評価系により明らかとなった。これらの化学物質による GluR2 発現減少は、ウェスタンブロットによっても確認された。また、PFOS は *in vivo* においても低濃度で GluR2 を減少させ、神経細胞を脆弱化することが示された。以上の結果より、GluR2 減少は神経毒性物質を抽出するスクリーニングの際の評価指標として有用であることが示唆される。

40. モデルベースメタ解析法を用いた抗 HIV 療法キードラッグの有効性比較

○太田亮作¹、石井宏武¹、津田真弘¹、樋口ゆり子¹、山下富義¹ (¹京大院薬)

【目的】抗 HIV 療法では、核酸系逆転写阻害剤 2 剤をバックボーンとしさらにキードラッグ 1 剤を加えた多剤併用療法が標準的に採用される。初回治療におけるレジメンの選択が予後に大きな影響を与えるとされる中で、現在、エファビレンツとドルテグラビルがキードラッグとして世界的に推奨されている。Rutherford らはメタ解析によりドルテグラビルが優れることを示しているが (PLoS ONE, 11: 1-14, 2016)、2 例の臨床試験をカバーした小規模の解析に過ぎず十分な結論とはいえない。そこで本研究では、時間発展を考慮した数理モデルを用いることで投与量や観察期間等が異なるデータを統合、解析できるモデルベースメタ解析法に着目し、両レジメンの有効性を比較検討した。

【方法】Pubmed, CENTRAL, Clinicaltrials.gov の各データベースから、ドルテグラビルおよびエファビレンツをキードラッグとした臨床試験の情報を収集した。総被験者数に対して血漿中ウイルス量が 50copies/ml 以下となった患者の割合を治療効果 (E) と定義し、その治療効果 (E) が逐次一次反応に従って経時的に上昇 (k_e) し、減衰 (k_d) する時間発展モデルを仮定した上で、非線形混合効果モデルによる解析を行った。さらに、各速度論パラメーターに対する共変量の候補として治療開始前のウイルスのコピー数、CD4 陽性 T 細胞のカウント数を選択し、相関性を評価した。

$$E = \hat{E} + \sqrt{\hat{E}(1-\hat{E})/N}, \quad \hat{E} = E_{\max} \cdot (1 - e^{-k_e(t-t_{\text{lag}})}) \cdot e^{-k_d(t-t_{\text{lag}})}, \quad k_e = \hat{k}_e \cdot e^{\eta_{k_e}}, \quad k_d = \hat{k}_d \cdot e^{\eta_{k_d}}$$

【結果・考察】抗 HIV 療法における治療効果の時間発展は逐次一次反応モデルでうまく近似できた。ドルテグラビルをキードラッグとするレジメンでは、エファビレンツの場合と比較して、 k_e が約 4 倍、 k_d は約 0.5 倍となった。すなわち、ドルテグラビルのレジメンのほうが治療効果が速やかに発現し、長期に持続することが示された。また、レジメンによらず、 k_e の対数値と治療開始前の CD4 陽性 T 細胞のカウント数との間に正の相関があり、治療前の CD4 のカウント数が少ない重篤な患者ほど、治療効果の発現が遅れる傾向があることを示唆された。

41. 化学構造に基づく呼吸抑制誘発薬物の特徴解析

○内田誠規¹、加賀谷肇²、植沢芳広¹ (¹ 明治薬大・医療分子解析、² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)

【目的】

呼吸抑制は、モルヒネ、オキシコドン、フェンタニルなどの強オピオイドを含む多くの薬物処方例で報告される、重篤な結果を招く可能性の高い有害事象である。強オピオイドは、二酸化炭素に対する呼吸中枢の反応低下を介して呼吸回数を減少させる。呼吸抑制を惹起する可能性のある他剤との併用は本副作用を重篤化する可能性が考えられる。そこで、本研究では医薬品医療機器総合機構(PMDA)により公開されている大規模医薬品副作用データベース JADER を解析することにより、呼吸抑制を誘発する薬物に関連する化学構造上の特徴を調査することによって、呼吸抑制誘発リスクの高い薬物を識別するための予測モデル構築の可能性を吟味した。

【方法】

JADER を用いて医薬品情報テーブル、副作用情報テーブル、症例一覧情報テーブルを関連付けた統合データセットを作成するとともに、低分子医薬品に対して化学構造情報を付与した新規データセットを構築した。このデータセットを用いて呼吸抑制と各掲載医薬品の報告オッズ比(ROR)を網羅的に算定した。さらに、医薬品の分子構造に基づいて構造的・物理化学的特徴量を計算し、Wilcoxon/Kruskal-Wallis の順位と検定を用いて呼吸抑制との関連を検討することによって、有意な化学構造的特徴量を抽出・評価した。

【結果・考察】

脂溶性、分子サイズ、部分電荷、分子極性等に関連する物理化学的特徴量が呼吸抑制の誘発と最も有意に関連していた。この結果は、呼吸抑制が原因薬物の分子構造によって説明できる可能性を示唆している。すなわち、臨床および創薬の現場における注意喚起に有用な、化学構造に基づく呼吸抑制誘発薬物の識別モデルが構築し得るものと考えられる。

42. 医薬品副作用データベースに基づく薬剤性便秘および類似疾患の分類評価

○小津吉泰¹、加賀谷肇²、植沢芳広¹ (¹ 明治薬大・医療分子解析、² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)

【目的】便秘は種々の薬物療法において高い頻度で発現する。薬剤性便秘の発症機序は多様で有り、様々な要因が複雑に関連していると考えられる。医薬品副作用データベースには便秘類似疾患が多くの副作用名で登録されているが、副作用名毎の主要な発現機序の分類に関する知見は限られている。そこで、PMDA が公開している本邦の大規模副作用データベース JADER を用い、各便秘関連疾患の類似性を、発現医薬品の類似性に基づいて統計学的に検討した。

【方法】ICH 国際医薬用語集(MedDRA)、MedDRA 標準検索式(SMQ)、および JADER における副作用報告件数を用い、便秘に関連した副作用を調査した。各副作用および医薬品投与の有無から 2×2 の分割表を作成し、対数オッズ比を算出するとともに、副作用間におけるオッズ比の相関を調査した。さらに、各疾患の対数オッズ比を用いて階層型クラスター分析を行った。

【結果】便秘発症に対する医薬品のオッズ比を基準としたとき、最も高い相関を示す疾患は亜イレウスであった。クラスター分類において便秘と同様の発症傾向を示す副作用は腸閉塞、腸炎、麻痺性イレウス、および嚥下障害であった。特に、麻痺性イレウスおよび嚥下障害は便秘クラスター内において便秘に最も良く類似した疾患として分類された。

【考察】各疾患における医薬品のオッズ比を用いて分類したクラスターを解析することにより、種々便秘類似疾患における副作用名間の相関性を定量的に評価した。その結果、便秘と強い相関を有する副作用として麻痺性イレウスとともに、便秘とは副作用発現部位の異なる嚥下障害が抽出された。このような知見の積み重ねは、複雑なために解析が困難であるとされる薬物の有害性発現機序の解明の一助になると考えられる。

43. 化学構造情報に基づくせん妄を誘発する薬物の予測

○瀬田優香¹、加賀谷肇²、植沢芳広¹ (¹ 明治薬大 医療分子解析学研究室、² 医薬品適正使用・乱用防止推進会議)

【緒言】せん妄は緩和医療の現場等において頻発する身体因性の意識変容状態である。患者の予後と密接に関係しており、また、患者とのコミュニケーションが困難になるなど、せん妄は終末期における重要な有害事象である。Lipowski のせん妄発症因子分類において、ベンゾジアゼピン系薬剤、オピオイド等多くの薬剤がせん妄の直接因子として分類されている。しかし、せん妄の発生には複数の因子が複雑に関連しており、薬剤誘発性せん妄の発症機序に関する詳細は未だ解明されていない。そこで、せん妄の発症機序を解明するとともに薬剤毎のリスク評価を目的として、薬物の大規模副作用データベースの解析を試みた。さらに、化学構造情報によるせん妄発症薬の予測を目指して機械学習法を用いた数学モデルを構築した。

【方法】PMDA が公開している医薬品副作用データベース JADER を用いてせん妄発症の有無と各被疑薬に対するクロス集計表を作成し、オッズ比と Fisher の正確検定の P 値から高度にせん妄誘発に関与する薬剤を特定した。一方、PubChem 等から薬物の化学構造情報を取得し、構造的物理化学的特徴量を算出した。副作用情報と構造情報を統合した後、ランダムフォレストおよびアンサンブル人工ニューラルネットワークを用いてせん妄誘発薬識別モデルを構築した。

【結果・考察】ゾルピデム、ベンゾジアゼピン系薬剤、オピオイド等が有意にせん妄を惹起する医薬品として検出された。これらはせん妄の誘発が報告されている薬剤のカテゴリーと良く一致する。一方、化学構造を用いたせん妄誘発薬の識別実験において、外部検証時の ROC 曲線下面積が 85%以上の高度な予測モデルの構築に成功した。本モデルを使用することによって、薬物の化学構造のみからせん妄の誘発を予測することが可能になることから、創薬時のシード化合物の選択や新薬に対する注意喚起等への応用が期待される。

44. 機械学習を用いた iPS 由来心筋細胞の品質管理

○折田健¹、澤田光平²、池谷裕二¹ (¹ 東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室、² 東京大学大学院薬学系研究科ヒト細胞創薬学寄付講座)

【背景・目的】

近年は iPS 由来心筋細胞を用いた薬物の心毒性の評価系の開発が盛んに行われている。評価系の再現性のために心筋細胞の品質の均一性は重要だが、心筋細胞のロットの違いや実験手技のばらつきによる品質の不均一性が問題となる。本研究の目的は静止画像に対して機械学習手法を用いることで、心筋細胞の品質管理の自動化手法を開発することである。また、この手法を薬物添加により生じる心毒性の検出への応用可能性を検討した。

【手法】

Cellular Dynamics International より購入した iPS 由来心筋細胞を 2D シート状に培養し、培養開始から 5 - 7 日後に薬物を添加した。添加前、添加 1-3 日後に明視野下で静止画像を撮影した (1280 * 1080 ピクセル)。人の目で確認することで、薬物添加前、添加後の画像についてそれぞれ細胞密度が均一かどうか、細胞がはがれているかどうかを判定した。各画像について輝度のベースラインを補正した後、Uniform Manifold Approximation and Projection によって特徴抽出を行った。特徴量を Support Vector Machine (SVM) に学習させ、薬物添加前、添加後の画像についてそれぞれ細胞密度が均一かどうか、細胞がはがれているかどうかを判定させた。人の目による判定を基準とした SVM による判定の精度の評価について、Accuracy を用いて評価した。

【結果・結論】

細胞密度が均一かどうか、細胞がはがれているかどうかを SVM に判定させたとき、Accuracy はそれぞれ約 91%、約 96%だった。SVM によって細胞の均一性や細胞のはがれを精度よく行える可能性が示された。また、深層学習手法を用いて上記二点を判別させたときの結果についても発表予定である。

45. 抗ヒスタミン薬メキタジンがイソフルラン麻酔モルモットの心室再分極相に与える影響

○木村謙吾¹、得居岬³、永澤悦伸¹、有山智博³、小林加寿子^{1,2}、曹新¹、相本恵美¹、石井敏浩³、高原章¹ (¹東邦大薬・薬物治療学、²東邦大医セ大橋病院薬、³東邦大薬・実践医療薬学)

【目的】抗ヒスタミン薬メキタジンを服用した患者で、スピラマイシンとの併用時に致死性不整脈であるトルサード・ド・ポワントを発症したとの症例報告がなされたが、本薬との因果関係は不明である。メキタジンの心筋再分極相に対する作用の有無を明らかにするため、イソフルラン麻酔モルモットを用いて検討した。比較薬として、同じフェノチアジン誘導体であるプロメタジンとアルキルアミン誘導体であるクロルフェニラミンを用いた。

【方法】Hartley 系モルモットをイソフルランで麻酔し、体表面心電図を測定した。右外頸静脈から右心室に単相性活動電位 (MAP) 記録/電気刺激兼用電極カテーテルを挿入し、右心室の MAP 波形を記録した。各薬物を薬効相当量、10 倍量および 100 倍量でそれぞれ 10 分間かけて静脈内持続投与し、心電図指標ならびに MAP 持続時間 (MAP₉₀) の変化を経時的に観察した。

【結果】メキタジンは薬効相当量の 100 倍量より心拍数低下 (-8 bpm) ならびに MAP₉₀ 延長 (+21 ms) を示した (n=6)。プロメタジンは薬効相当量の 100 倍量より MAP₉₀ 延長 (+21 ms) を示した (n=7)。このうち 2 例に心臓内伝導異常が認められた。クロルフェニラミンは 10 倍量より MAP₉₀ 延長 (+15 ms) を示し、100 倍量ではさらに延長 (+35 ms) を認めた (n=7)。

【考察】すべての薬物は薬効相当量で心室再分極相に影響を与えなかった。一方、クロルフェニラミンは 10 倍量、メキタジンとプロメタジンは 100 倍量より再分極時間を延長させた。この結果は、摘出心筋標本を用いたメキタジンとクロルフェニラミンの心室再分極時間延長作用の強さを反映していた。メキタジンはプロメタジンと異なり伝導異常を認めなかったことから、メキタジンは Na⁺ または Ca²⁺ チャネル阻害作用を有さないことが明らかとなった。【結論】メキタジンの再分極時間延長作用は薬効相当量の 100 倍量で認められたが、クロルフェニラミンと比べてその影響は小さいと考えられる。プロメタジンで観察されたような心臓内伝導異常に関するリスクは低く、メキタジンは抗ヒスタミン薬の中でより安全な薬物と考えられる。

46. 異なる動物種の洞房結節自動能における各種膜電流成分の関与

○五十嵐友希¹、實方健人¹、濱口正悟¹、行方衣由紀¹、田中光¹ (¹東邦大薬・薬物学教室)

【背景・目的】一般的に、体の小さな動物の心臓ほど早く拍動することが知られている。このように拍動頻度に差があるということは、心臓の興奮や収縮の仕組みにも大きな違いがあるはずである。心臓拍動の源は、洞房結節の活動電位発生のきっかけとなる緩徐脱分極相の形成であり、その勾配が心拍数に影響を与えている。近年、この勾配を維持する仕組みとして、細胞内 Ca²⁺ を介した自動能の調節機構が注目されている。そこで、本研究では心拍数の異なる動物間における細胞内 Ca²⁺ の緩徐脱分極相への関与の違いを検討した。また、再分極電流である K⁺ 電流の関与についても検討した。

【方法】Hartley 系モルモット、ddY 系マウス (4 週齢) から摘出した右心房にガラス微小電極法を適用し、活動電位を取得した。

【結果】Ca²⁺ キレート剤である BAPTA-AM、ryanodine 受容体刺激薬である Ryanodine、Ca²⁺ 依存性 Cl⁻ チャネル阻害薬である Niflumic acid の処置により、マウス、モルモットともに緩徐脱分極相の勾配 (slope) が低下した。Na⁺/Ca²⁺ 交換機構 (NCX) 阻害薬である SEA0400 の処置では、マウスでのみ slope が低下した。

【考察】マウス、モルモットともに細胞内 Ca²⁺ は slope の形成に関与しており、筋小胞体上の ryanodine 受容体が、その供給源として働いている。また、Ca²⁺ 依存性 Cl⁻ チャネルも、2 動物種ともに slope の形成に関与していると考えられる。しかし、細胞内 Ca²⁺ を電位へと変換する NCX の働きには 2 種間で違いが確認出来た。マウスでは、NCX の forward mode を介した内向き電流が slope の形成に関与しているのに対し、モルモットでは NCX が slope の形成には関与していない可能性が示唆された。以上のことから、体の小さな動物は、大きい動物と比較して、より多くの仕組みを駆使することで、高い心拍数を維持していると考えられる。このように心臓拍動の機序を解明することで、医薬品の安全性や有効性の予測・評価の確立の一助になると考えている。

47. Angiotensin II 受容体作動薬及び拮抗薬がモルモット肺静脈心筋自発活動に与える影響

○石渡恒平¹、田中悠介¹、濱口正悟¹、行方衣由紀¹、田中光¹ (¹ 東邦大薬・薬物学教室)

【背景・目的】肺静脈は肺から心臓に血液を運ぶ血管であるが、左心房から連続的に心筋層が存在しており、肺静脈心筋は電氣的興奮を起こしやすく心房細動の主要な発現原因となることが知られている。Noradrenaline や Angiotensin II といった生理活性物質が影響を示し、Noradrenalin は本研究室で既に検討されている。今回は Angiotensin II に着目した。Angiotensin II は Renin-Angiotensin 系の活性ペプチドであり慢性的な発現の増加は心負荷を増大させる心筋リモデリングを促進することで心房細動の発現に寄与する。Angiotensin II の肺静脈心筋に対する急性作用には不明な点が多い。そこで、本研究では Angiotensin II の肺静脈心筋で起きる電氣的興奮に対する急性作用と発生機序を明らかにすることを目的とした。

【方法】Hartley 系モルモットから摘出した肺静脈標本にガラス微小電極法を適用し、活動電位を取得した。

【結果】摘出肺静脈では電氣的興奮が自動的な拍動(自発活動)として顕在化している(30.5%)。電氣的興奮を有さない標本において Angiotensin II は電氣的興奮を誘発した。Angiotensin II は AT₁ 受容体を介して肺静脈心筋の電氣的興奮の発生頻度を増大させた。AT₁ 受容体選択的阻害薬 Losartan は Angiotensin II 処置を行わない場合でも肺静脈心筋の電氣的興奮を抑制した。また、自発活動は Na/Ca²⁺ 交換機構(NCX)阻害薬である SEA0400 及び ryanodine により高確率で停止し、IP₃ 受容体拮抗薬である xestospongincC により発生頻度が低下した。

【考察】Angiotensin II は肺静脈心筋の電氣的興奮は AT₁ 受容体を介して電氣的興奮が促進され AT₂ 受容体を介して電氣的興奮を抑制することが示唆された。また、肺静脈における電氣的興奮の発生には筋小胞体からの Ca²⁺ 放出及び NCX での Ca²⁺ と Na⁺ の交換による起電性変化が関与すると考えられる。以上のことから、心房細動に対する治療薬の開発にあたり肺静脈で起こる電氣的興奮に着目することで、有効性・安全をより確保することが可能であると考えられる。

48. 抗悪性腫瘍剤の第3相試験の成功確率に関する研究

○赤木克行¹、小野俊介¹ (¹ 東京大学大学院薬学系研究科 医薬品評価科学教室)

【目的】

新薬の研究開発費用の増加に対する開発品目の承認取得割合の変化が注目されている。先行研究では、抗悪性腫瘍剤の第3相から申請への移行確率は40.1%であり、他の疾患の薬剤の63.7%に比べ著しく低い。本研究では抗悪性腫瘍剤の第3相試験に着目し、試験薬の特徴、開発者の属性、疾患の属性などと試験の結果(有意な結論が得られたか)の関係を分析した。

【方法】

ClinicalTrials.gov から以下の条件で分析対象試験を抽出した: Indication が Cancer、study type が interventional、recruitment status が completed、Phase が 3、study start が 01/01/2001~12/31/2014。その後、悪性腫瘍を indication としていないもの(抗悪性腫瘍剤の副作用を抑える目的のものなど)、biosimilar の試験、診断薬/イメージング用薬、医療機器を除いた。試験の成功の定義として、Primary Outcome Measure の結果を参照し、試験薬群の結果が対照群のそれに有意に優る場合を成功とみなした。試験の成功・失敗を目的変数としたロジスティック回帰分析を行った。

【結果】

併用試験、first-in-class の薬剤、適応拡大の試験の場合に成功確率が低いこと、second-line の薬剤に対し first-line またはアジュバント療法の試験の成功確率が低いこと、メラノーマ、慢性白血病試験の成功確率が高いことがわかった。

【結論】

疾患領域、試験の目的(治療の位置づけ)により試験成績が異なることがわかった。企業の開発経験、開発戦略など、一定の「介入」が可能な要素の影響の有無を引き続き検討する必要がある。

49. 米国・欧州・日本・中国への新薬承認申請のタイミングと企業戦略の関係に関する研究

○劉丹妮¹、小野俊介¹（¹ 東京大学薬学系研究科 医薬品評価科学講座）

【目的】

近年の新医薬品は世界各地の患者資源等を同時に活用し開発されることが多いが、目標とする国・地域の市場への参入時期（申請・承認・発売時期）には明らかな差がある。参入時期は企業の合理的なグローバル戦略の現れと考えられる。これまで日本と欧米のいわゆるドラッグラグが研究対象となることが多かったが、医薬品市場が急速に拡大した中国への参入時期について分析した研究は少ない。本研究は米・欧・日・中での申請時期の差とそれに関係する要因を明らかにすることを目的とした。

【方法】

2000 年から 2017 年に承認された新有効成分医薬品の承認申請データを米・欧・日・中の規制当局公式サイトから収集した。回帰分析等により企業の申請戦略と申請時期に影響する要因の関係を探索した。

【結果】

米・欧・日・中で共通の承認を得た新有効成分医薬品の最初の申請国・地域は、米国が最も多く、欧州がそれに次いだ。日本と中国の二か国に着目した場合、どちらの国で先に申請されるかには大きな差がなかった。米国申請時点を基準とした申請ラグについては、米国でオーファンドラグとして申請した薬剤において日本と中国の申請ラグが短縮する傾向があった。

【結論】

米・欧・日・中の申請のタイミングには企業の特性、品目の属性、各国の政策が影響する。一部の新薬については中国の申請が日本に優先している。今後、臨床データパッケージの構成等の分析を行い、企業のグローバルな申請戦略を形作るどの要素が申請地域・国の選択順序と関係するのかをさらに明らかにする必要がある。

50. 高齢者への薬剤投与に関する医薬品添付文書記載内容の分析

○岩渕康太¹、小野俊介¹（¹ 東京大学大学院薬学系研究科 医薬品評価科学講座）

【目的】

医療用医薬品の添付文書に記載されている効能・効果や用法・用量は成人患者を対象とした標準的なものであり、生理機能が低下している高齢患者ではリスクを伴う場合がある。近年の研究では臨床試験における高齢被験者の比率が実際の患者群に比べて小さいことが明らかになっており、高齢患者に関するエビデンス不足の可能性が指摘される。本研究では、添付文書の高齢者への投与に関する記載内容を分析し、その特徴及び問題点、実際の医薬品の使用との関係を解明することを目的とした。

【方法】

日本で販売されている精神神経用剤について、日本医薬品集データベース（じほう、2017 年 1 月版）を用いて添付文書の記載内容を調査し、高齢者への投与に関する記載の特徴を分析した。また、第 2 回 NDB オープンデータを用いて 2015 年 4 月から 2016 年 3 月における医薬品の年齢別処方数量を調査し、添付文書の記載内容と高齢患者への使用実績の連関を分析した。

【結果】

精神神経用剤では、高齢者の投与について具体的な投与量が記載されている薬効成分は少数であることが明らかになった。具体的な投与量が添付文書に記載されている品目では、処方数量における高齢者の割合が高くなる傾向にあった。

【結論】

高齢者への投与に関する添付文書の記載と現実の薬剤選択・使用様態の間にいくつかの関係を見出すことができた。今後、こうした関係がどのような構造（メカニズム）を介して生まれているのかを、診療ガイドライン、臨床試験の成績の調査等に基づく分析から明らかにする必要がある。

51. 複数臨床試験に由来する大規模個人データの統合解析方法の研究：非線形混合効果モデル、マルコフ連鎖モンテカルロ法、機械学習のシミュレーションによる比較

○吉岡英樹¹、佐藤洋美¹、樋坂章博¹ (¹千葉大院薬)

【目的】現在、数千の臨床試験の患者レベルの匿名データが ClinicalStudyDataRequest.com などを通じて既に利用可能である。また新薬承認のための電子試験データ提出の義務化も開始された。将来的に多数の研究を包括的に統合し、疾患や治療の推移を解析する新しい方法論が必要である。本研究では、現在注目されている機械学習と比較して、非線形混合効果モデル (NONMEM) やマルコフ連鎖モンテカルロ法 (MCMC) などの従来手法が、大規模データの解析でどのように機能するかシミュレーションにより検証した。

【方法】仮想薬物の治療効果に関する個人データを、個体間変動 (IIV) と試験間変動 (ISV)、さらに数種類の共変量を有する二重指数関数に従って合成した。合成データを NONMEM、MCMC、機械学習 (Random Forest, RF) の 3 手法で解析し、共変量同定の観点から結果を比較した。

【結果】NONMEM や MCMC など従来法では、変動要因の階層構造や共変量の依存関係を解析者自身がモデル化するため、結果として IIV と ISV は良好に分離され、すべての共変量は極めて高い有意水準で同定された。特に MCMC では、NONMEM における Stepwise 法とは対照的に、数百の共変量候補の同時解析が可能であった。一方、RF による機械学習では、誤差の階層構造をモデル化したり共変量の候補を事前に絞り込んだりすることなく、データを良好に説明するモデルが構築され、さらに全ての共変量は重要度の高い特徴量として同定された。しかし、扱いやすさとは対照的にその内部構造は非常に複雑であり、NONMEM や MCMC のように、共変量の存在やその変化が治療効果にどの程度の影響を与えるかについて定量的に評価することは困難であった。【展望】本解析では、モデル依存型の従来アプローチとモデル非依存型の機械学習について、利点と欠点の両側面を検討した。今後、蓄積する臨床試験データを最大限に活用していくためには、仮説検証や予測など従来手法における理論的かつ定量的な側面を、大規模データに対応可能な機械学習モデルに融合させるような新規の取り組みが必要と考えられる。

52. ヒト肝キメラマウス由来肝細胞を用いた長期培養に向けた基礎検討

○黒田幸恵¹、堀内新一郎¹、金秀良¹、藤居瑠彌¹、諫田泰成¹、末水洋志²、石田誠一¹ (¹国衛研 薬理部、²実中研)

医薬品や化学物質のヒトへの影響を予測する *in vitro* 毒性試験では、肝臓に存在する代謝酵素を介した動態予測の精度向上とともに長期暴露による有害事象予測が可能な評価系が希求されている。ヒト化肝臓を有するヒト肝キメラマウスは重度免疫不全肝障害マウスにヒト肝細胞を移植することによって構築されており、薬物代謝、薬物輸送、薬理学的作用および毒性学的作用がヒトにおけるものと類似していることが知られている。また、ヒト肝キメラマウスから調製された肝細胞はヒトアルブミン、ヒトシクロクロム P450 酵素 (CYP) およびヒトトランスポータータンパク質を発現し、CYP 遺伝子の mRNA 発現レベルにおいてヒト肝細胞と相関を示した (Uehara et al. *Xenobiotica*. 2018;3:1-34. [Epub ahead of print])。さらに、ヒト肝キメラマウス PXB-cells (フェニックスバイオ、広島) では、CYP 活性が長期間維持されることが明らかになっている (Watari et al. *J Toxicol Sci*. 2018;43:521-529.)。このように、ヒト肝キメラマウス由来肝細胞はヒト型の代謝活性を評価する *in vitro* 毒性試験に用いる細胞資源として有力である。

本研究では、長期培養検討のために実中研で調製されたヒト肝キメラマウス由来肝細胞を 2 種類の播種密度 (1.25×10^5 cells/cm² および 2×10^5 cells/cm²) で播種し、4 日間および 11 日間培養した。CYP およびトランスポーターの遺伝子発現について、これまで得られているヒト凍結肝細胞 (cryo-hep) の結果と比較することで培養条件を検討した。細胞の播種密度を 2×10^5 cells/cm² にすることで、CYP とトランスポーターの遺伝子発現量は 4 日目と比較して 11 日目に上昇または維持されていた。CYP に関しては cryo-hep 接着培養 3 日目または 5 日目と同等のレベルで遺伝子発現量を維持することが明らかになった。しかしながら、細胞の培養形態においては 11 日目で部分的な細胞の剥離が見られた。現在、より長期培養に適した培養方法の検討をすすめており、検討結果について報告する予定である。

53. 微小粒子胎仔期曝露は慢性的にセロトニン神経活性化を介して不安様行動を惹起する

○横田理^{1,2}、佐藤央²、武田健^{2,3} (¹国衛研、²東理大薬、³山口理大薬)

【目的】我々はこれまでに、大気中の粒子状物質の元となるディーゼル排気微粒子 (DEP) を胎仔期に曝露させると、仔マウスの脳内モノアミン神経伝達が攪乱されることを報告してきた。特に、セロトニン神経の伝達異常による不安情動系への影響が懸念された。本研究では、胎仔期 DEP 曝露が仔の不安様行動に及ぼす影響、ならびに、セロトニン神経系の活性化に着目して行動影響の引き金となる毒性メカニズムを検討することを目的とした。

【方法】妊娠 ICR 系マウスに対して DEP を、皮下投与により曝露 (DEP 1 mg / kg body weight) した。オープンフィールド試験により、雄性出生仔の自発運動量を、高架式十字迷路試験 (EPM) により、不安様行動を評価した。行動試験直後、脳を氷冷下で扁桃核、視床下部室傍核、縫線核を分画し、各試料中の Serotonin 量及びその代謝物量を HPLC 法により定量した。また、免疫組織化学染色により Serotonin と Δ FosB タンパク質の発現を解析した。

【結果】自発運動量は、両群とも有意な変化は認められなかった。一方、EPM において、DEP 曝露群は対照群と比べて、Open arm への侵入回数及び滞在時間の有意な減少が認められた。また、DEP 曝露群の視床下部室傍核及び背側縫線核における Serotonin 量及びその代謝物量は有意な亢進を認めた。さらに、DEP 曝露マウス背側縫線核 Serotonin ニューロンでの Δ FosB タンパク質の発現亢進が観察された。

【考察】行動解析により、胎仔期 DEP 曝露が仔の不安様行動を惹起した可能性を示唆した。実際に、DEP 曝露群の脳内セロトニン量の変化は、不安様行動で認められるその変化と類似の兆候を示した。特に、DEP 曝露群の背側縫線核 Serotonin ニューロンにおける Δ FosB 発現割合が有意に増加していたことから、Serotonin ニューロン起始核の慢性的な活性化が不安様行動惹起に関与することが推察された (Yokota et al., J Toxicol Sci. 2016;41(5):583-93)。

54. 腎有機カチオントランスポーター-OCT2 の機能プローブとしての *N*1-methyladenosine の有用性の検討

○三宅健之¹、水野忠快¹、木村美由紀²、松木俊二²、入江伸²、家入一郎³、前田和哉¹、楠原洋之¹ (¹東大院・薬、²医療法人相生会 福岡みらい病院 臨床研究センター、³九大院・薬)

【目的・方法】トランスポーターの機能変動により、薬物応答性および副作用の発現リスクは変動し得る。その主因である薬物間相互作用の発生リスクは、トランスポーターが生体内で輸送している内在性代謝物を機能プローブとして利用することで、プローブ薬物を投与することなく予測できる可能性がある。最近、血漿中濃度が OCT2 の遺伝子多型と相関することが明らかとなった *N*1-methyladenosine (m^1A) とよばれる修飾核酸 (Yee SW et al., 2016) について、OCT2 機能プローブとしての有用性を検討すべく、健常人 15 名より血液・尿検体を収集し、血漿中濃度の個人間・日内変動や、腎クリアランスに対する尿細管分泌の寄与を評価した。また、腎薬物トランスポーターの安定発現細胞を用いた取り込み試験、ならびにマウス in vivo 静脈内投与試験を行い、 m^1A の尿細管分泌における OCT2 の寄与を検証した。

【結果・考察】健常人において、 m^1A の血漿中濃度の日内変動は小さかった。また m^1A の腎クリアランスは若年者・高齢者ともにクレアチニンクリアランスの 2 倍程度であり、 m^1A の腎排泄における尿細管分泌の寄与が示唆された。OCT2 安定発現細胞を用いた取り込み試験から、OCT2 が m^1A を基質とすることが明らかとなった。野生型マウスにおいて、 m^1A の全身クリアランスの 8 割程度を腎クリアランスが占めており、その値は Oct1/2 ダブルノックアウト (dKO) マウスにおいて顕著に低かった ($p < 0.01$)。またそれに伴い、 m^1A の血漿中濃度は Oct1/2 dKO マウスにおいて顕著に上昇した。Oct1/2 dKO マウスにおける m^1A の腎クリアランスの値は糸球体濾過速度よりもやや高かったことから、 m^1A の尿細管分泌には Oct1/2 を介した取り込み以外の経路が存在すると考えられた。実際、OCT2 と協働して有機カチオンの細胞外への排出を担う MATE2-K は m^1A を基質とした。

【結論】 m^1A の腎排泄における尿細管分泌の寄与、およびその尿細管分泌における OCT2 の寄与が確かめられ、ヒト OCT2 の機能依存的に m^1A の血漿中濃度が変動する可能性が支持された。

55. 腎有機アニオントランスポーターOAT1, OAT3 の機能バイオマーカー候補としての内因性基質探索

○近藤祐輔¹、楠原洋之¹ (¹ 東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室)

【目的】トランスポーター介在性薬物相互作用により、被相互作用薬による有害事象の発現リスクは変動し得る。近年、トランスポーターが生体内で輸送している一部の内因性代謝物を代替プローブとして利用し、より早期にヒト *in vivo* で薬物相互作用リスクを評価することで、実際の薬物相互作用予測の精緻化をはかれるものと期待されている。腎近位尿細管上皮細胞の基底膜側には有機アニオントランスポーターOAT1, OAT3 が発現し、細胞内への基質の取り込みを担っている。これまで内因性のバイオマーカーとして、OAT1 には taurine、OAT3 には 6 β -hydroxycortisol と GCDCA-S を見出している (Imamura Y et al, 2014; Tsuruya Y et al 2016)。一方で、最近、カンクイザルを用いた試験により、pyridoxic acid と homovanillic acid が OAT1, OAT3 の新規内因性基質として同定された (Hong S et al, 2017)。また、ピリミジン塩基生合成中間体 orotic acid は OAT2 の基質といわれているが、OAT1 の安定発現細胞で取り込みが見られるというデータがある (Anzai N et al, 2008)。これらの化合物が、ヒトにおける OAT1, OAT3 機能バイオマーカーとしての有用性を検討することを目的として、以下の実験を行った。【方法】健康成人男性 (6 名) を対象とした OAT1, OAT3 阻害剤 probenecid (750, 1500 mg, po) の *in vivo* 投与試験で採取された血液と尿検体を用いて、LC-MS/MS を用いて上記化合物の血漿中濃度および尿中排泄量を測定した。【結果】Probenecid は homovanillic acid および orotic acid の血漿中濃度下面積、腎クリアランスに影響を与えなかった。Control, probenecid 750, 1500 mg 投与の検体において、pyridoxic acid の血漿中濃度下面積はそれぞれ 102 ± 28 , $191 \pm 36^*$, $212 \pm 74^*$ (pmol $\times$ h/mL, mean $\pm$ SD, * $p < 0.01$)、腎クリアランスはそれぞれ 214 ± 85 , $87 \pm 18^*$, $74 \pm 9^*$ (mL/min, mean $\pm$ SD, * $p < 0.01$) であり、Control に比べ Probenecid 750, 1500 mg 投与の検体において血漿中濃度下面積はそれぞれ 1.87, 2.08 倍に上昇、腎クリアランスはそれぞれ 0.408, 0.347 倍に減少し用量依存的な変化が見られた。【結論】サルに加えて、ヒトにおいて pyridoxic acid が OAT1/3 の内因性バイオマーカーとして、薬物相互作用研究に利用できることが示された。

56. ヒト皮膚角化細胞株 HaCaT での Nrf2 活性化を指標とした皮膚感作性評価: 異物代謝酵素の関与

○隅田健太¹、関根一貴¹、遠藤治¹、関本征史¹ (¹ 麻布大・生命環境)

【目的】皮膚感作性の *in vitro* 試験系として、h-CLAT 試験法、DPRA 法や SH 試験法、転写因子 Nrf2 の活性化を指標としたレポーターアッセイ法が開発されている。これらは何れも優れた方法であるが、試験方法間では結果が異なる可能性も指摘されている。シトクロム P450 酵素などの異物代謝酵素は、肝臓だけでなく皮膚や免疫細胞に発現していることが知られ、この発現している酵素の相違が、化学物質の代謝活性化や皮膚感作性の発現に関わる可能性が考えられる。本研究では、化学物質の皮膚感作性発現における異物代謝酵素の関与を明らかにするために、ヒト皮膚角化細胞株 HaCaT での Nrf2 の活性化をモニタリングできる Nrf2-Luc Assay を確立し、細胞内異物代謝酵素の阻害の影響を評価した。

【方法】ヒト皮膚ケラチノサイト由来 HaCaT 細胞に、Nrf2 結合配列を含んだレポータープラスミド (pGL4.37, Promega) をリポフェクション法により導入し、安定発現させた Nrf2 活性化のモニタリング細胞株 HaCaT-pGL4.37 を樹立した。この細胞を 24 時間前培養した後、硫酸ニッケル (Ni)、2,4 ジニトロクロロベンゼン (DNCB)、7,12-ジメチルベンゾアントラセン (DMBA)、ベンゾピレン (BaP)、シナミルアルコール (CNA) オイゲノール (EUG)、イソオイゲノール (IE)、4-アリルアニソール (4-AA) を 6 および 24 時間処理した。また、必要に応じて非特異的 P450 酵素阻害剤である SKF-525A を添加した。処理後の細胞における Nrf2 の活性化をルシフェラーゼ活性を指標として評価した。

【結果および考察】試験したいずれの化合物によっても Nrf2 の活性化が観察された。このうち、Ni、DNCB、DMBA、4-AA では、処理時間による活性の差は見られなかった。一方、BaP、CNA、EUG、IE では、6 時間処理群よりも 24 時間処理群において活性化が強く見られた。さらに、BaP による Nrf2 活性化は SKF-525A の存在下、有意に抑制された。これらの結果から、少なくともある種の皮膚感作性物質は、HaCaT 細胞内に発現している異物代謝酵素で代謝活性化を受け、その作用が増強されることが示された。現在、他の皮膚感作性物質についても、細胞内異物代謝酵素阻害の影響を検討している。

57. キナゾリン化合物 AK-01 の抗変異原活性

○清水英喜¹、樋口友里¹、橋本知子²、松野研司²、遠藤治¹、関本征史¹ (¹麻布大・生命環境、²工学院・先進工)

【目的】環境中には様々ながん・変異原性物質が存在しており、それに対する化学予防が重要である。我々は、抗変異原活性を持つ化合物を開発することを目指し、研究を進めている。本研究では PDGF 阻害剤として松野らが開発した KN1022 (N-(4-ニトロフェニル)-4-(6,7-ジメトキシキナゾリン-4-イル)ピペラジン-1-カルボアミド) の類縁体 AK-01 (*J. Med. Chem.* 2002, **45**, 3057) が抗変異原性を持つことに着目し、その抗変異プロファイルを Ames 試験により探索した。

【方法】S9 mix の添加を必要としない直接変異原として、1-ニトロピレン (1-NP)、2-ニトロフルオレン (2-NF)、4-ニトロキノリン 1-オキシド (4-NQO)、およびフリルフラマイド (AF-2) を用いた。S9 mix の添加を必要とする間接変異原として、アフラトキシン B₁ (AFB₁)、3-メトキシ-4-アミノアゾベンゼン (3-MeO-AAB)、1,4-ジメチル-5*H*-ピリド [4,3-*b*]インドール-3-アミン (Trp-P-1) を用いた。AK-01 は使用時に DMSO に溶解した。変異原性試験はサルモネラ菌 TA98 株および TA100 株を用い、S9 mix 添加/無添加条件下で変異原と AK-01 (試験管内濃度 28.5 μM ~ 2.85 mM) を混和したのち、プレインインキュベーション法により行った。

【結果・考察】AF-2 を除いた 5 化合物について、それらの変異原性は 2.85 mM の AK-01 存在下で有意に抑制された。特に、4-NQO の TA100 株に対する変異原性は 28.5 μM の AK-01 存在下から、1-NP の TA98 株に対する変異原性は 285 μM の AK-01 存在下から、それぞれ濃度依存的に低下した。なお、最大濃度における AK-01 の抗変異原性は 1-NP に対して最も強く見られ、その抑制率は約 80% にまで達した。同様に、AFB₁ や 3-MeO-AAB あるいは Trp-P-1 による変異原性も 2.85 mM の AK-01 存在下で約 50% まで抑制された。以上の結果から、AK-01 は直接・間接変異原のいずれに対して抗変異作用を示すことが明らかとなった。現在、AK-01 の抗変異作用と構造/薬理活性との関連性について検討を進めている。

58. AhR 活性化を制御する細胞内シグナル分子の網羅的探索

○富田俊維¹、遠藤治¹、出川雅邦²、関本征史¹ (¹麻布大・生命環境、²静岡県大・薬)

【目的】芳香族炭化水素受容体 (Aryl hydrocarbon Receptor : AhR) は、芳香族炭化水素類やダイオキシン類をリガンドとする受容体型核内転写因子であり、さまざまな化学物質による毒性発現に関与していることが知られている。一方、Omeprazole や Thiabendazole (TBZ) など、非リガンド型の AhR 活性化剤 (間接的 AhR 活性化剤) も見いだされており、これら間接的な AhR 活性化には細胞内シグナルの活性化が重要であることも指摘されている。しかし、リガンド/非リガンドによる AhR 活性化と細胞内シグナル分子との相互作用については明確になっていない部分が多い。そこで本研究では、AhR 活性化を制御する細胞内シグナル分子を網羅的に探索した。

【方法】細胞内シグナル分子阻害剤は、文部科学省新学術領域研究・先端モデル動物支援プラットフォーム・分子プロファイリング支援活動班から供与を受けた SCADS inhibitor kit III (計 95 化合物) を用いた。本研究室で樹立したヒト肝がん由来 AhR レポーター細胞株 HepG2 XL-24 細胞に対し、各阻害剤を 1 μM で 30 分処理した後、リガンド型 AhR 活性化剤として 3-Methylcholanthrene (MC) を 1 μM、非リガンド型 AhR 活性化剤として TBZ を 10 μM となるようにそれぞれ添加し、24 時間処理した。処理後、ルシフェラーゼ活性を測定することで、AhR の活性化を評価した。

【結果および考察】MC および TBZ による AhR 活性化はいずれも、AKT Inhibitor IV、CDK1/2 Inhibitor III、CDK2/9 Inhibitor、IGF-1R inhibitor (AG1024)、IKK-2 Inhibitor VI、JAK Inhibitor I および Hsp90 inhibitor (Radicicol) の前処理により抑制がみられた。一方、CDK4 Inhibitor の前処理では著しい活性の上昇がみられた。AKT や JAK はどちらも IGF-1R の下流に存在することから、IGFR-AKT/JAK 経路がリガンド/非リガンドによる AhR 活性化に関与している可能性が考えられた。一方、CDK 阻害剤は、そのタイプにより活性の増強/抑制が異なることから、AhR 活性化は細胞周期に依存して異なる制御を受けている可能性が示唆された。

59. Bhas 42 細胞由来レポーター細胞株の作成とその有用性評価

○並木萌香^{1,2}、水沼佳奈^{1,2}、田邊正耀²、関本征史² (¹麻布大院・環境保健、²麻布大・生命環境)

【目的】Bhas42 細胞形質転換試験は、培養条件を変えることで発がんイニシエーター/発がんプロモーターをいずれも検出可能な試験として確立された。本研究では、Bhas42 細胞での発がんイニシエーション過程をより詳細かつ簡便に解析するために、遺伝毒性(p53 および Nrf2 活性化)や異物代謝酵素誘導(AhR 活性化)の検出用レポータープラスミドを安定導入した細胞を作成した。さらに、これらレポーター細胞を用いて、Bhas 42 細胞形質転換試験のプレスクリーニングへの応用の可能性を探った。

【方法】Bhas42 細胞に対して、p53、Nrf2 および AhR の応答配列を含んだルシフェラーゼレポータープラスミドをリポフェクション法により導入した。さらに、ハイグロマイシン含有培地で培養することにより遺伝子導入細胞を選択し、Bhas 42 由来のレポーター細胞を 3 種類作成した。これら細胞株に対し、直接変異原(AF-2、1-NP、MNNG)あるいは間接変異原(2-AA、BaP、3-MC、IQ)を処理した。6、24、48、72 時間ごとに細胞を回収し、ルシフェラーゼ活性の誘導を調べた。

【結果考察】p53 の活性化は AF-2 を除く 6 化合物で、また、Nrf2 の活性化は IQ を除く 6 化合物で、それぞれ 24 時間以降に認められた。これまでに、MCF-7 や HepG2 細胞において、p53 や Nrf2 の活性化を指標として遺伝毒性を評価できることが示されており、Bhas42 細胞でも p53 と Nrf2 の活性化を指標として遺伝毒性物質(変異原)のスクリーニングが可能となることが期待される。また、AhR の活性化は AF-2 および MNNG を除く 5 化合物に認められたことから、異物代謝酵素の誘導と発がんイニシエーションの関連性の解析にも有用と考えられた。今後は、他の遺伝毒性物質や、他の遺伝毒性試験で陰性と判定されている化学物質を用いた試験を行い、これらレポーター細胞の有用性について評価したい。

【化合物略称】AF-2: フリルフラマイド、1-NP: 1-ニトロピレン、MNNG: 1-メチル-3-ニトロ-1-ニトロソグアニジン、2-AA: 2-アミノアントラセン、3-MC: 3-メチルコランスレン、BaP: ベンゾ[a]ピレン、IQ: 2-アミノ-3-メチルイミダゾ[4,5-f]キノリン

60. ケール抽出物の抗変異原活性: Ames 試験による検討

○水沼佳奈^{1,2}、小西良子^{1,2}、関本征史²、遠藤治² (^{1,2}麻布大院・環境保健、²麻布大・生命環境)

【目的】植物成分の中には環境中のがん・変異原性物質に対して抑制効果を示す物質があることが知られている。特にアブラナ科葉物野菜には、疫学研究からもがん抑制効果が明らかとなっており、その抽出物に変異原性抑制効果が期待されている。演者らは、これまでに葉物野菜類の抽出物の抗変異原活性について検討し、アブラナ科野菜であるケールの抽出物に強い抗変異原活性を見出している。本研究では、様々な変異原物質に対するケール抽出物の抗変異原活性を Ames 試験により検討した。

【方法】市販されているケール粉末飲料を 80%エタノールで超音波抽出し、抽出物を被験試料とした。Ames 試験は *S.typhimurium* TA98 および TA100 を用い、代謝活性化酵素系 S9 mix 添加、無添加両条件下でブレインキューベーション法により行った。変異原物質として、芳香族ニトロ化合物(1-nitropyrene、1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrene および 2-nitrofluorene)、アルキル化剤(1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine(MNNG))、多環芳香族炭化水素(3-methylchoranthrene および benzo[a]pyrene)およびヘテロサイクリックアミン(PhIP、Trp-P-1 および IQ)を用いて、ケール抽出物共存下/非共存下での復帰変異コロニー数を指標として抗変異原活性を評価した。

【結果および考察】ケール抽出物は、Ames 試験において、菌株や S9 mix 添加の有無に関係なく、上記の変異原物質いずれに対しても抗変異原活性を示した。特に、アルキル化剤である MNNG に対して、0.125 mg/plate から 50%以上の抑制、0.5 mg/plate では 93%の抑制という強い抗変異原活性を示した。先行研究から、試験したアブラナ科葉物野菜の中でケールは最も強い抗変異原活性を持つことを確認しており、ケール抽出物の成分が単独または複合的に、様々な変異原物質に対して抗変異原活性を示していることが考えられた。現在、哺乳類培養細胞(Bhas 42 細胞)を用いて、ケール抽出物の変異原物質に対するイニシエーション作用に対する抑制効果について検討すると共に、その抗変異原活性のメカニズムを検討している。

61. ラット反復投与毒性試験における毒性所見の統計学的手法を利用した関連性解析

橋内陽子¹、竹下潤一²、渡邊美智子¹、佐々木崇光¹、保坂卓臣¹、志津怜太¹、○吉成浩一¹ (¹ 静岡県大薬、² 産総研安全科学)

【目的】医薬品をはじめとする化学物質の安全性評価のため、非臨床段階で様々な動物実験が行われる。中でも、一般毒性試験の一つである反復投与毒性試験は、長期間の連続投与による全身毒性を評価する試験であり、毒性学的に重要な試験である。一方で、反復投与毒性試験において認められる多くの所見のうち、毒性発現機序が明確になっているものは少ない。そこで本研究では、既存の毒性試験結果情報と統計学的手法を利用し、各毒性所見を誘発する化学物質の一致性に着目して毒性所見間の関連性を解析することで、毒性の発現機序解明に有益な情報を得ることを目的とした。

【方法】製品評価技術基盤機構で公開されている有害性評価支援システム統合プラットフォーム(HESS)から、主に化審法既存点検物質を中心とする233種類の化学物質の28日間ラット反復投与毒性試験データを抽出した。認められた所見のうち、肝臓関連の66所見、腎臓関連の23所見、血液生化学・血液学関連の48所見の計137所見を解析対象とした。各所見間の陽性化学物質の一致率を示すJaccard係数を計算して所見間の距離とし、階層的クラスタリング(Ward法、JMP Pro13を使用)を実施した。同一クラスターに含まれた所見間の関連性はカイ二乗検定により調べた。

【結果及び考察】解析対象とした137所見のうち、106所見が233被験物質のいずれかで認められ、この106所見を階層的クラスタリングにより13グループに分類した。その結果、既知の情報から毒性学的な関連性が高いと考えられる所見だけでなく、関連性が低いと考えられる複数の所見が同一グループに分類された。例えば、「腎硝子滴沈着」、「小葉中心性肝細胞肥大」及び「肝絶対重量増加」、或いは「血中ALT活性増加」及び「血中グルコース減少」が同一グループに分類され、カイ二乗検定の結果、これら所見間に有意な関連性($P < 0.05$)が認められた。以上の結果から、本研究で用いた手法は、反復投与毒性試験で認められる毒性所見の毒性学的意義や発現機序の解明に有用と考えられた。

62. 慢性疾患の長期進行過程を推定する新規アルゴリズム SReFT を利用したアルツハイマー病の病態進行解析と臨床試験シミュレーション

○徳田慶太¹、石田崇朗¹、樋坂章博²、本間雅¹、岩坪威³、森豊隆志⁴、鈴木洋史¹ (¹ 東大病院薬剤部、² 千葉大院薬、³ 東大病院探索開発推進室、⁴ 東大病院臨床研究ガバナンス部)

アルツハイマー病(AD)では、初期にアミロイドβの沈着が始まり、続いてタウの蓄積、さらに病態末期では脳の萎縮、認知機能の低下が起きるというように、様々な病態が長期の進行に伴って現れる。このように様々な病態を持つ慢性疾患においては、薬剤の薬効が病態ステージに依存すると考えられるため、各患者の病態ステージの特定が治療や薬剤開発において重要になるはずである。正確な病態ステージの推定のためには、病態進行の母集団分布をデータから定量的に把握することが望ましい。近年では数百から数千人分の臨床検査値を集めたデータベースが整備されてきている。しかし、病態が長期にわたる疾患では、同一の被験者において病態初期から末期までの観察記録をすることは難しく、現実的には数年にとどまる。実際、ADではデータベースのAlzheimer's Disease Neuroimaging Initiative(ADNI)がよく知られているが、個々の患者の観察時間は数年にとどまる。また、各患者において観察開始時のどのくらい前に病態発症があったのかは普通わからない。我々は、非線形混合効果モデルを拡張し新規のアルゴリズム Statistical Restoration of Fragmented Time-course(SReFT)を開発し、このようなデータを多数の患者のつなぎあわせることによって長期の病態進行像を推定することを可能にした。SReFTを用いてADNIのデータを解析することにより、ADの各バイオマーカー変化の様子、その進行速度の性別や遺伝子型による違いなどを定量的に求めることができた。さらに、SReFTは特定の患者の病態発症からの経過時間を推定することが可能であるため、これを用いて、特定の病態ステージの患者を臨床試験でリクルートすることが可能になると考えられる。ADNIの解析によって得られた病態進行の母集団分布を用いて臨床試験のシミュレーションを行い、薬効を検出するために必要な被験者数が薬効の病態ステージ依存性などのパラメータにどのように依存するか調べたのでこれを報告する。

第4回 次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム 要旨集

発行元：RS 次世代フォーラム事務局
国立医薬品食品衛生研究所 薬理部
〒210-9501 神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-26
E-Mail:re-wakate@nihs.go.jp Tel:044-270-6640