

臓器移植における免疫抑制薬の適正使用を
目指したファーマコメトリクス研究

2022

糸原 光太郎

目次

緒言	1
第 I 章 生体肝移植時のタクロリムス薬物動態に与える肝再生と <i>CYP3A5</i> 遺伝子多型の影響 ...	5
方法	7
結果	
第一節 生体肝移植患者のタクロリムスの PBPK モデル構築	13
第二節 構築した PBPK モデルの検証	17
第三節 肝臓の再生と <i>CYP3A5</i> 遺伝子多型がタクロリムス薬物動態に与える影響	19
考察	21
第 II 章 腎移植患者におけるタクロリムス PBPK モデルの構築と肝移植患者への外挿	24
方法	25
結果	
第一節 腎移植患者におけるタクロリムスの PBPK モデル構築	33
第二節 感度分析	39
第三節 腎移植患者から肝移植患者へのタクロリムス PBPK モデルの外挿	40
第四節 腎および肝移植患者における <i>CYP3A5</i> 遺伝子型の影響	41
考察	43
第 III 章 肝移植患者におけるエベロリムス PPK 解析とタクロリムス薬物動態との比較	46
方法	48
結果	
第一節 成人肝移植患者におけるエベロリムスの PPK モデル構築	52
第二節 モンテカルロシミュレーション	58
第三節 エベロリムスとタクロリムスの薬物動態の比較	59
第四節 小児への外挿	60
考察	62

結論	65
論文目録	66
謝辞	67
引用文献	68

緒言

免疫抑制薬は臓器移植成績に直結する拒絶反応の抑制のために重要なキードラッグである。免疫抑制薬の血中濃度が低値の場合には十分な免疫抑制効果が得られない一方で、血中濃度が高値の場合には腎障害や易感染性などの副作用が生じるリスクが高まることから、十分な血中濃度のコントロールが必要不可欠である。しかしながら、現在臓器移植時に使用されているタクロリムスやエベロリムスはその薬物動態の個体間・個体内変動が大きいいため、適切な血中濃度を維持するには、薬物血中濃度モニタリング（TDM）に基づく投与量の調節が必須となる [1-5]。したがって、これら免疫抑制薬の精密な投与量設計と最適治療につなげるため、血中濃度測定データを用いた薬物動態解析が重要になる。

近年、数理モデルとコンピュータサイエンスを用いて個別化投与設計に活用する手法としてファーマコメトリクスが発展している。すなわち、個々の患者の薬物動態を予測する手法として、目的とする患者集団の血中濃度データを非線形混合効果モデルによって解析する母集団薬物動態（Population pharmacokinetics; PPK）解析と得られた母集団パラメータを事前情報とするベイズ推定が従来から活用されている。PPK解析は非線形混合効果モデルを用いて、特定の母集団における薬物動態パラメータの平均値及び、個体間・個体内変動値を推定する手法である。この手法は、観察された臨床データを使用してモデルを構築することから、トップダウンアプローチと呼ばれる。PPK解析は、多数の患者から得られた血中濃度測定値を個人として区別しながら集団として解析するため個人毎の測定点が少ない場合でも解析が可能である。また、統計的な手法を用いて薬物動態の変動因子を探索し、その影響の程度を評価できるという点はその利点として挙げられる [6-10]。実臨床では一人の患者から多くの採血を行うことは困難であるため、ルーチンで得られるTDMデータを利用でき、統計的に意味のある変動因子に基づき個人の薬物動態の予測に用いるこ

とができるPPK解析は個別化投与設計に有用であり、臨床現場で広く用いられている。一方で欠点として、解析結果が解析に用いるデータやモデル作成法の影響を受け易いという点が挙げられる。

その対極となるボトムアップアプローチとして、生理学的薬物動態 (Physiologically Based pharmacokinetic; PBPK) モデル解析がある。PBPKモデル解析は、各臓器をコンパートメントとして血流で繋ぎ、仮想的な身体を表現したモデルであり、患者集団の身体的特徴や血流速度、薬物代謝酵素の発現量等の生体情報と、薬物固有の物理学的パラメータや、*in vitro*で測定された薬物代謝速度パラメータ等に基づいて生体内での薬物血中濃度の予測を行う。PBPKモデルの利点として、肝機能や腎機能などの生理学的変化や薬物間相互作用が薬物血中濃度に与える影響を実測値がない場合でもシミュレーションによって評価できる点が挙げられる [11,12]。しかしながら、*in vitro* 実験から得られたパラメータを用いてヒトでの予測を行った場合に臨床データとの対応が十分でなく、適切なスケーリングをしなければうまく予測できないケースが多いと言う課題がある。トップダウンアプローチ及びボトムアップアプローチはどちらも薬物動態予測に有効な方法論であるが、これら2つのアプローチを組み合わせ、いわゆるミドルアウトアプローチを用いることで、両解析法の欠点を補完しながら、より詳細なモデル化が可能である [13,14]。

そこで本研究では、「臓器移植における免疫抑制薬の適正使用を目指したファーマコメトリクス研究」と題して、肝移植や腎移植患者といったスペシャルポピュレーションにおける免疫抑制薬の薬物動態をPBPKモデルおよびPPKモデルを用いて解析し、その結果を基に精密化投与設計への展開を試みた。

第I章および第II章ではカルシニューリン阻害薬であるタクロリムスを対象とした。臓器移植後の拒絶反応を抑制するためには複数の免疫抑制薬を併用するが、タクロリムスはその中心となる。タクロリムスは速やかに消化管から吸収されるが、小腸及び肝臓で初回通過効果を受ける [2]。タクロリムスの主たる代謝酵素はシトクロム P450 (CYP) 3A4 および CYP3A5 であり、未変化体としての腎排泄はわずかであ

る [2]。CYP3A5 は遺伝子多型を示し、野生型の *CYP3A5*1* と変異型の *CYP3A5*3* アレルが存在する [15]。野生型の *CYP3A5*1* アレルを 1 つでも有する患者は、機能型の CYP3A5 タンパク質を発現する。一方で *CYP3A5*3/*3* を有する患者は、機能のある CYP3A5 タンパク質をほとんど発現していない [15]。さらに、タクロリムスは P 糖蛋白 (P-gp) の基質となり、P-gp により能動的に腸管内腔へ逆輸送されるため、このトランスポーター発現はタクロリムスのバイオアベイラビリティに影響を与える [16]。

タクロリムス薬物動態については PPK 解析を用いた多くの報告がなされているが [17-23]、従来の PPK 解析では経口クリアランスに対する肝臓と小腸の *CYP3A5* 遺伝子多型の寄与を精度良く分離評価することが難しい。また、タクロリムスのクリアランス (CL) は肝移植患者で他の固形臓器移植患者と比べて低値を示すとされているが [24]、PPK 解析では特定の患者集団を対象とした解析が行われることから、異なる患者背景を持った集団の薬物動態パラメータとの直接的な比較が困難であり、どのような生理的因子が薬物動態の相違を生み出しているかについては不明である。上述のように、タクロリムスの薬物動態に影響を与える種々の因子について報告があるものの、未だ定量的な解析は十分行われているとは言えず、臨床での投与設計には、改善の余地がある。そこで、従来の PPK 解析と比較して、生理的変動の影響をより詳細に検討することができる PBPK モデルを用いたミドルアウトアプローチによる解析を行った。

第Ⅲ章ではエベロリムスを対象とした PPK 解析を行った。エベロリムスは哺乳類ラパマイシン標的タンパク質 (mTOR) 阻害薬として腎・心移植における免疫抑制薬として使用されており、2018 年 2 月に肝移植における免疫抑制薬としての適応が追加された [25,26]。肝移植においては、エベロリムスと減量したタクロリムスを併用することで、タクロリムス単剤投与と同等の免疫抑制効果が期待され、かつタクロリムス曝露に伴う腎機能の悪化を軽減できるという報告がなされている [27-30]。エベロリムスはタクロリムスと同様に主に *CYP3A4* 及び *CYP3A5* により代謝される [5]。これまでに、腎移植患者を対象としたエベロリムスの PPK 解析の報告はなされているものの [31,32]、肝移植患者を対象とした薬物動態の報告はない。実臨床においても、エベロリムスの添付文書に記載されている用量で開始した場合にトラフ

血中濃度が有効域である 3-8 ng/mL を外れる症例が散見され、より適切な投与方法を構築することは治療の最適化における緊要課題である。

以上の背景のもと、ファーマコメトリクスを駆使し、タクロリムス及びエベロリムスの薬物動態変動因子の影響を定量的に評価することにより、より精密な投与方法構築を行うことを本研究の目的とした。

これらの研究成果について以下に論述する。

第 I 章

生体肝移植時のタクロリムス薬物動態に与える肝再生 と *CYP3A5* 遺伝子多型の影響

タクロリムスは臓器移植において中心となる免疫抑制薬である。タクロリムスは狭い治療域と大きな個体間・個体内変動を有しており、拒絶反応や副作用を抑制するために TDM が必須となる [1-4]。タクロリムスの主たる代謝酵素は *CYP3A4* および *CYP3A5* であり、肝臓での代謝や小腸における初回通過効果に関わっている。さらに、*CYP3A5* は遺伝子多型を示すことが知られている。

肝移植は、末期肝疾患患者における治療選択肢の一つである。日本では、移植臓器不足のため、肝移植の主流は生体肝移植となっている。生体肝移植では、レシピエントの体重を基準としてドナーから肝臓の約 30~60% が摘出され、レシピエントに移植される [33]。肝臓は再生能力が高く、移植後数週~数か月でほぼ適切な大きさに再生するといわれている [34-37]。過去の報告では、生体肝移植を実施した患者においてタクロリムスのクリアランス (CL) は肝臓の再生に伴って術後日数 (POD) とともに増加すると報告されている [17-19]。また、肝移植患者で特徴的な点として、肝臓と小腸の *CYP3A5* 遺伝子型は、それぞれドナーとレシピエントに由来するという点が挙げられる。タクロリムスは代謝消失型の薬物であるため、POD および移植されたドナーの肝臓とレシピエントの小腸における *CYP3A5* 遺伝子型はそれぞれ独立して生体肝移植患者におけるタクロリムスの薬物動態に影響を与えると推察される。PPK 解析では経口クリアランスに対する肝臓と小腸の *CYP3A5* 遺伝子型の寄与を評価する際にモデル選択の影響を受けるため、過去の報告においては、小児と成人で影響の受け方が違うなど [17,20]、これらの影響について十分に定量的な評価が行われているとは言えない。

以上の背景のもと本章では、生体肝移植患者の適切な初期タクロリムス投与量を算出するために、文献情報を用いて PBPK モデルを作成し、臨床データでパラメー

タの最適化を行うというミドルアウトアプローチを用いて、生体肝移植患者における肝臓の再生及び肝臓・小腸の *CYP3A5* 遺伝子型がタクロリムス薬物動態に与える影響を定量的に評価した。また、構築したモデルに基づき、*CYP3A5* 遺伝子型に応じた推奨投与量の推定を行った。

方法

1) 臨床データ

2013年12月から2016年1月の間に京都大学医学部附属病院にてタクロリムスを静脈内投与で導入され、その後経口投与に切り替えた成人生体肝移植患者計26人のデータを用いてPBPKモデルを構築した。タクロリムスの採血は主に、静脈内投与の期間中は朝および夕に、経口投与期間中は朝のトラフポイントに通常のTDM業務の一環として実施された。また、検証用データとして、Uesugiらによる報告で用いた2004年7月から2011年6月の間に京都大学医学部附属病院で生体肝移植後にタクロリムス療法を受けた成人患者計272人のデータを使用した[38]。Table1-1に本研究で使用した生体肝移植患者の背景を示す。

タクロリムスの血中濃度は、2004年7月から2009年3月までの間は微粒子酵素結合免疫アッセイ(IMx; Abbott, Tokyo Japan)を、2009年4月以降は化学発光酵素免疫アッセイ(ARCHITECT; Abbott, Tokyo Japan)を使用して測定した。なお、これら2つの方法で得られる血中濃度測定値の同等性は、当院で検証されている[39]。

本研究はヘルシンキ宣言に則り実施され、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会の承認のもと行なった(No.R0545-1)。

Table 1-1 Characteristics of living-donor liver transplant patients receiving tacrolimus therapy

Characteristics	Model building data (n=26)	Verification data* (n=272)
Age, mean (SD), years	53.5 (11.6)	52.2 (10.6)
BW, mean (SD), kg	66.6 (12.8)	60.1 (12.3)
GW, mean (SD), g	577 (184)	No data
GRWR, mean (SD), %	0.871 (0.233)	No data
Hematocrit, mean (SD), %	25.5(1.7)	No data
Donor <i>CYP3A5</i> (*3/*3)/(1/*3)/(1/1)	14 / 11 / 1	166 / 92 / 14
Recipient <i>CYP3A5</i> (*3/*3)/(1/*3)/(1/1)	15 / 9 / 2	171 / 88 / 13

Each value shows the number or mean (\pm SD).

BW: body weight; GW: graft liver weight; GRWR: graft-to-recipient body weight ratio

* The patients in the verification data were 20 years old or greater, and were included in the previous report by Uesugi M. et al. *Pharmacogenet Genomics*. 2014; 24(7): 356-66.

2) 生体肝移植患者のタクロリムスの PBPK モデル構築

タクロリムスの PBPK モデリングのワークフローを Figure 1-1 に示す。

基準となるタクロリムスの PBPK モデルの構築には Simcyp version 17 (Certara, Sheffield, UK) を使用した。モデル構築に使用した薬物パラメータおよび生体パラメータを Table 1-2 に示す [40-44]。

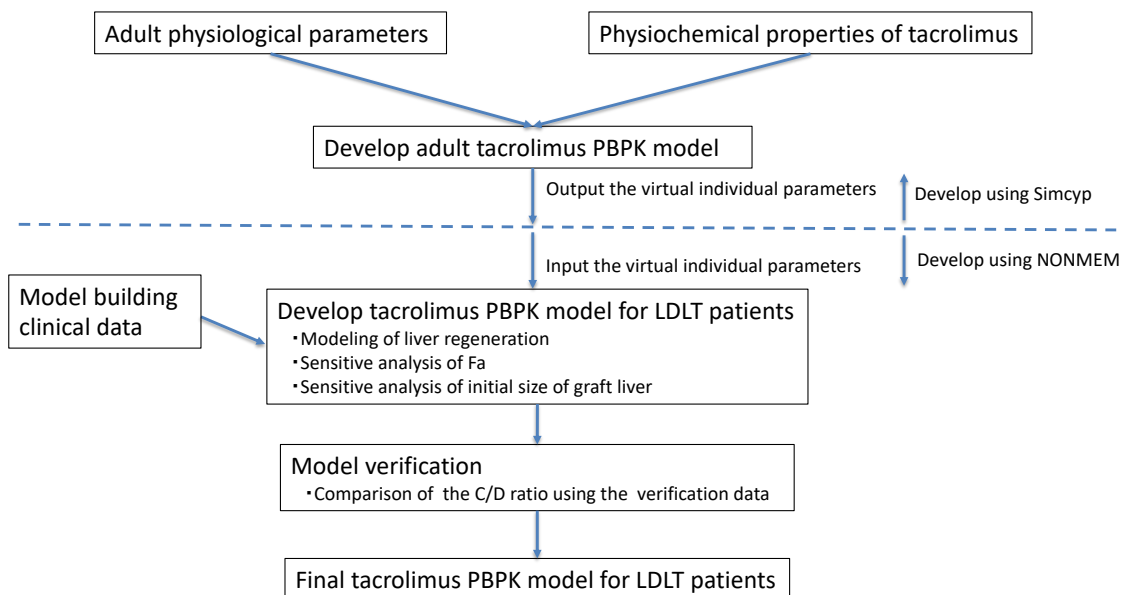


Figure 1-1 Physiologically based pharmacokinetic modeling workflow used in this study

Table 1-2 Summary of the parameter values for tacrolimus simulation

Parameter	Mean or Fixed	Reference
Population parameter		
Population	Japanese	
Hematocrit (%)	25.5	Our clinical data
Abundance of CYP3A4 in the liver (pmol/mg)	93	[44] measured
Abundance of CYP3A5 in the liver (pmol/mg)	17	[44] measured
Physiochemical and blood binding		
MW (g/mol)	804.02	Predicted by ChemAxon
LogP _{ow}	3.26	[40] measured
BP ratio	35	[40] measured
fu	0.013	[40] measured
Absorption		
Absorption Model	First order	
P _{eff} ($\times 10^{-4}$ cm/s)	2.54	[41] measured
fu _{gut}	1	Default fixed
Q _{gut} (L/h)	11.4	Predicted by Simcyp
Distribution		
Distribution model	Minimal PBPK	
V _b (L/kg)	1.29	Our clinical data
LogP _{oww}	2.28	Predicted by Simcyp
Hematocrit reference value (%)	45	Default
Elimination		
13- <i>O</i> -desmethylation		
CYP3A4		
V _{max} (pmol/min/pmol)	8	[42] measured
K _m (μ M)	0.21	[42] measured
ISEF	0.24	Default
CYP3A5		
V _{max} (pmol/min/pmol)	17	[42] measured
K _m (μ M)	0.21	[42] measured
ISEF	0.24	Default
12-hydroxylation		
CYP3A4		
V _{max} (pmol/min/pmol)	0.6	[42] measured
K _m (μ M)	0.29	[42] measured
ISEF	0.24	Default
CYP3A5		
V _{max} (pmol/min/pmol)	1.4	[42] measured
K _m (μ M)	0.35	[42] measured
ISEF	0.24	Default
CL _R (L/h)	0	[43] fixed

MW: Molecular weight, LogP_{ow}: Log of the octanol-water partition coefficient, BP ratio: Blood/plasma concentration ratio, fu: Fraction of drug unbound, P_{eff}: Effective permeability, fu_{gut}: Fraction of drug unbound in the gut, Q_{gut}: Flow rate for overall delivery of drug to the gut, V_b: volume of distribution in blood, LogP_{oww}: Log of the olive oil-water partition coefficient, V_{max}: Maximum metabolic rate, K_m: Michaelis constant, ISEF: inter-system extrapolation factor

タクロリムスの薬物動態パラメータは全血濃度に基づいて記述した。体重や心拍出量などの生体パラメータは、Simcypに内蔵されているデフォルトの日本人の生体データを使用した。ヘマトクリット値についてのみ本研究で用いた臨床データに基づいて25.5%と設定した。さらに、肝臓におけるCYP3A4およびCYP3A5の平均酵素量は文献値に基づいて、Simcypのデフォルト値からそれぞれ93、17 pmol/mg protein、これらの変動係数(CV)はそれぞれ81、185%に変更を行った[44]。また、血液中の分布容積は、モデル構築データを用いた母集団解析の結果(未公表データ)に基づいて1.29 L/kgと設定し、その個体間変動はSimcypのデフォルト値である30%を使用した。また、腸管での薬物の非結合分率は、感度分析の結果に基づいて、1に固定した。

3) 肝臓再生モデルの構築

Simcypシミュレーターでは時間依存的なパラメータ変化を直接モデリングできないため、Simcypから出力したパラメータを非線形混合効果モデル(NONMEM)プログラム version 7.2 (ICON, Elicott City, MD)に入力することによりSimcypで算出されるタクロリムスの血中濃度をNONMEM上で再現できることを確認したのちに肝再生のモデルの検討を行なった (Figure 1-1)。

生体肝移植後の肝再生については、移植された肝臓が1週間以内に2倍になるという報告[36]や、移植肝は1か月でレシピエントの標準肝臓サイズに再生するという報告がある[37]。しかし、これらの文献では肝臓サイズの測定頻度に違いがあり、正確な肝再生プロファイルは不明である。そこで本研究では、肝再生モデルとして、下記のEq.1~4を設定し、血中濃度のシミュレーションを行い、臨床データとの比較を行うことで、臨床データを最も正確に再現できるモデルを検討した。

$$LW = \left(GR + \frac{1 - GR}{1 + \frac{1}{POD}} \right) * LWstd(g) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\begin{cases} LW = \left(GR + \frac{1 - GR}{7} * POD \right) * LWstd(0 \leq POD \leq 7) \text{ (g)} & \text{(Eq. 2)} \\ LW = LWstd(POD > 7) \end{cases}$$

$$\begin{cases} LW = \left(GR + \frac{1 - GR}{14} * POD \right) * LWstd(0 \leq POD \leq 14) \text{ (g)} & \text{(Eq. 3)} \\ LW = LWstd(POD > 14) \end{cases}$$

$$\begin{cases} LW = \left(GR + \frac{1 - GR}{30} * POD \right) * LWstd(0 \leq POD \leq 30) \text{ (g)} & \text{(Eq. 4)} \\ LW = LWstd(POD > 30) \end{cases}$$

ここで、LW は肝臓重量、LWstd は Simcyp によって生成された各患者のレシピエント標準肝臓重量、GR はレシピエント標準肝臓重量に対する移植片の比率を表す。なお、シミュレーションの際、GR は全モデルで 60% と仮定した。シミュレーションにおける投与量は、標準レジメンとして 2013 年に京都大学医学部附属病院で最初に作成されたプロトコルに準拠した。つまり、タクロリムスは持続静脈内投与で投与開始され、その投与速度は 1.25 $\mu\text{g/h/kg}$ (0-12 h) から 0.83 $\mu\text{g/h/kg}$ (12-72 h) に減量し、移植 3 日後より 0.04 mg/kg/day の経口投与に切り替えを行った場合の血中濃度推移を算出した。なお、実測濃度は、NONMEM を用いてモデル構築データと同じ観測期間で収集した小児肝移植患者データを含んだデータセットにより構築された PPK モデル（未発表データ）を使用した事後ベイズ推定によりこの標準レジメンに正規化した。

肝臓と小腸の *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせは次の 4 通りである：移植肝臓と小腸が共に *CYP3A5*1* アレルを少なくとも 1 つ有する (L*1/I*1)、移植肝臓は *CYP3A5*1* アレルを少なくとも 1 つ有し、小腸は *CYP3A5*3/*3* (L*1/I*3)、移植肝臓は *CYP3A5*3/*3* および小腸は *CYP3A5*1* アレルを少なくとも 1 つ有する (L*3/I*1)、移植肝臓と小腸が共に *CYP3A5*3/*3* (L*3/I*3)。Simcyp および NONMEM を用いて、肝臓と小腸の *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせごとに 100 人の仮想日本人患者の標準レジメンにおける血中濃度プロファイルを作成し、実測値との比較を行った。モデルの精度指標として実測値との二乗誤差 (squared error; SQE) と二乗平均平方根誤差 (root mean

squared error; RMSE) を以下の式を用いて計算した [45]。

$$\text{SQE} = (\text{MED} - \text{IOBS}_i)^2 \quad (\text{Eq. 5})$$

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\text{SQE})} \quad (\text{Eq. 6})$$

ここで、MED は PBPK モデルによってシミュレートされた血中濃度の中央値であり、IOBS_i は投与レジメンに対して正規化された観測濃度を表し、N は血液サンプルの数を表す。

肝臓再生モデルの選択後、Fa 値を 0.8、0.6、および 0.4 に変化させた際の影響を検討し、より適切なモデルを探索した。また、選択した最適なモデルを使用して、移植肝臓サイズの初期値の影響を検討した。

統計解析は各モデルの SQE 間で一元配置分散分析を行い、P<0.05 を有意差ありとした。また、モデル間で RMSE の絶対値を比較し、RMSE 値が最も小さいモデルを最適モデルとして選択した。

4) シミュレーション

モデル構築ステップと同様に、CYP3A5 遺伝子型の組み合わせごとに 100 人の仮想日本人患者のタクロリムス濃度データを作成し、肝臓の再生と CYP3A5 遺伝子型の影響を評価した。まず、各 CYP3A5 遺伝子型の組み合わせについて、標準レジメンにおける生体肝移植直後のタクロリムスの血中濃度と生体肝移植後 1 か月間のトラフ血中濃度/投与量 (C/D) 比をシミュレーションにより算出し、実測値との比較を行った。次に、最終モデルを使用して、各 CYP3A5 遺伝子型の組み合わせについて生体肝移植後 1 か月間のタクロリムスの CL、バイオアベイラビリティ (F)、および CL/F の推移を計算した。また、タクロリムスの血中濃度が静脈内投与の 12 時間後に 15 ng/mL に達する負荷投与量、その後 15 ng/mL の血中濃度を維持するために必要な維持用量、および POD 3 におけるトラフ濃度を 10 ng/mL に維持する経口投与量を算出した。

結果

第一節 生体肝移植患者のタクロリムスの PBPK モデル構築

タクロリムスの血中濃度に対する肝臓再生の影響について、各モデル (Eq.1-4) によりシミュレートした血中濃度推移を Figure 1-2 に示す。各モデルで計算した SQE 値の中央値はそれぞれ 12.8 (90%信頼区間 : 0.164 - 185)、15.4 (90%信頼区間 : 0.136 - 240)、37.7 (90%信頼区間 : 0.741 - 343)、66.1 (90%信頼区間 : 0.853 - 393) であり、Eq.1 を使用した SQE 値は有意に小さかった ($P < 0.001$)。一方で、Eq.1 を使用した場合においても、すべての *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせで予測値は正規化された実測濃度と比較してわずかに高値となった。

次に、タクロリムスの予測血中濃度に対する F_a の影響を調べた結果を Figure 1-3 に示す。 F_a 値 0.8、0.6、および 0.4 を使用した SQE 値の中央値はそれぞれ 13.9 (90%信頼区間 : 0.0524 - 174)、14.7 (90%信頼区間 : 0.221 - 142)、および 16.5 (90%信頼区間 : 0.0607 - 177) であり、各グループ間に統計的な有意差はなかった。0.8、0.6、および 0.4 の F_a 値を使用した RMSE 値は、それぞれ 5.84 (90%信頼区間 : 5.16 - 6.46)、5.69 (90%信頼区間 : 5.08 - 6.35)、および 6.03 (90%信頼区間 : 5.34 - 6.73) であり、最小の RMSE 値が得られた 0.6 を F_a 値として選択した。また、最終モデルにおいて、移植肝臓のサイズ初期値はタクロリムスの血中濃度に大きな影響を与えなかった (Figure 1-4)。

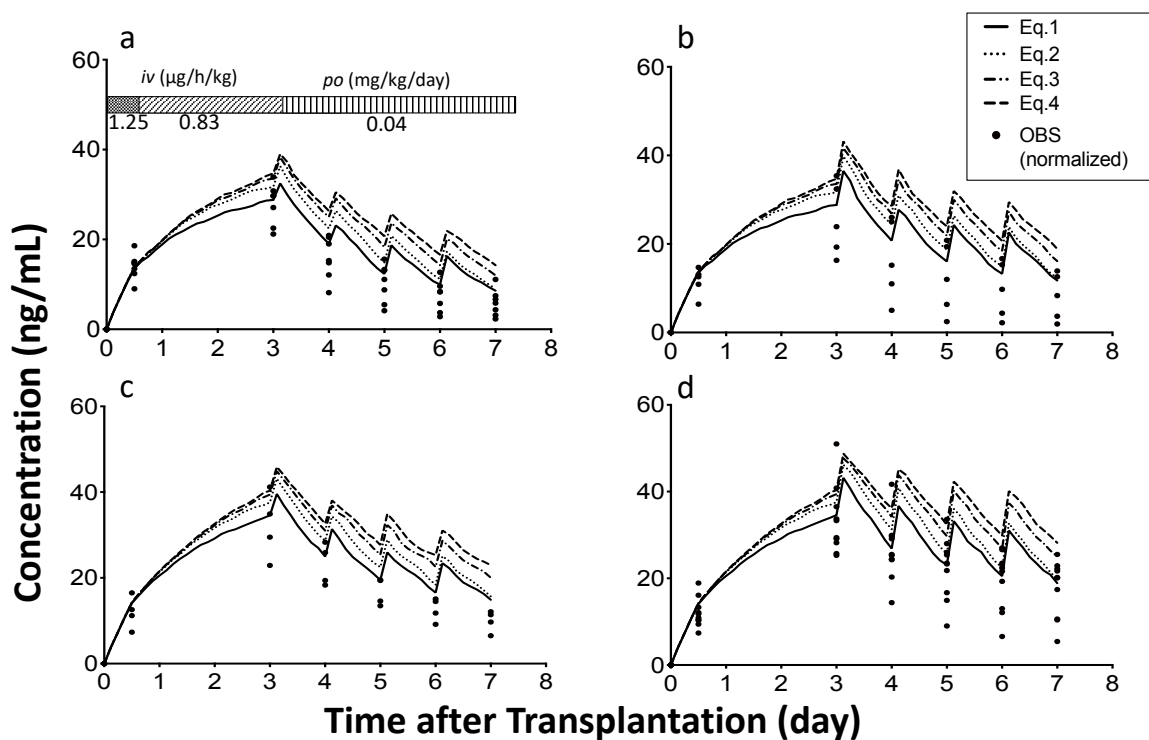


Figure 1-2 Effect of liver regeneration rate on the blood concentration of tacrolimus immediately after living-donor liver transplantation. (a) *CYP3A5**1 allele in both graft liver and small intestine (L^*1/I^*1), (b) *CYP3A5**1 allele in graft liver and *CYP3A5**3/*3 in small intestine (L^*1/I^*3), (c) *CYP3A5**3/*3 in graft liver and *CYP3A5**1 allele in small intestine (L^*3/I^*1), (d) *CYP3A5**3/*3 in both graft liver and small intestine (L^*3/I^*3). Each closed circle shows the observed concentration normalized by the dosing regimen (OBS). The number of patients with L^*1/I^*1 , L^*1/I^*3 , L^*3/I^*1 and L^*3/I^*3 were 7, 5, 4, and 10, respectively.

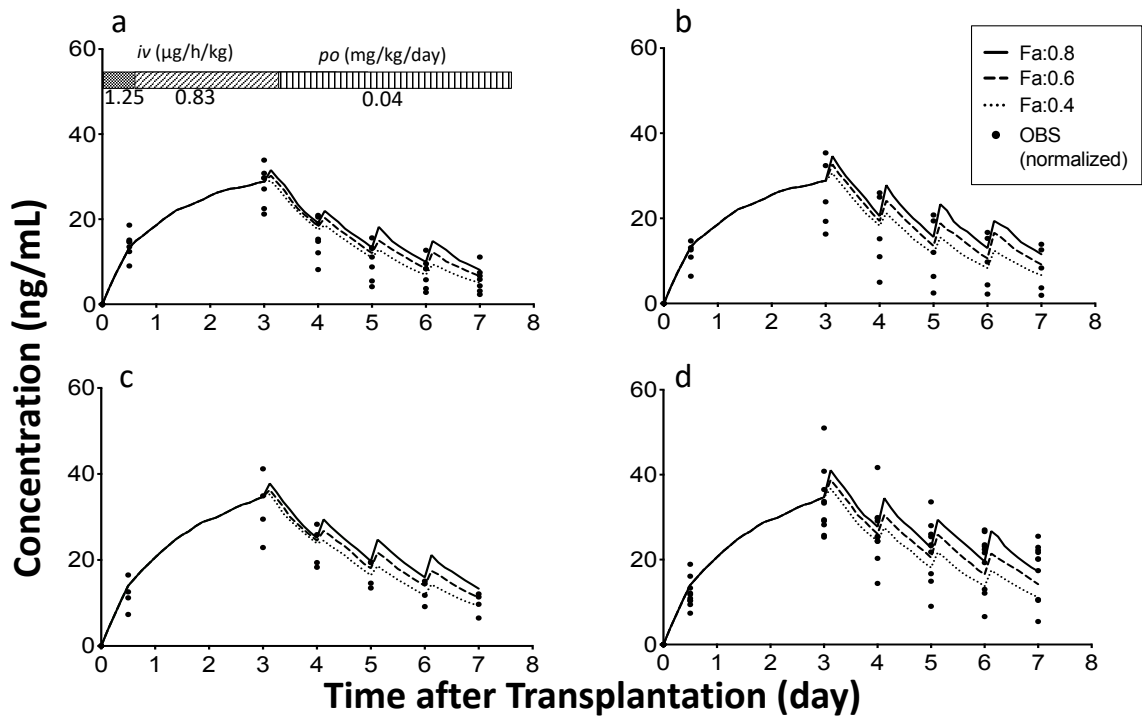


Figure 1-3 Effect of a fraction of dose absorbed (F_a) on the blood concentration of tacrolimus immediately after living-donor liver transplantation (a) *CYP3A5**1 allele in both graft liver and small intestine (L^*1/I^*1), (b) *CYP3A5**1 allele in graft liver and *CYP3A5**3/*3 in small intestine (L^*1/I^*3), (c) *CYP3A5**3/*3 in graft liver and *CYP3A5**1 allele in small intestine (L^*3/I^*1), (d) *CYP3A5**3/*3 in both graft liver and small intestine (L^*3/I^*3). Each closed circle shows the observed concentration normalized by the dosing regimen (OBS). The number of patients with L^*1/I^*1 , L^*1/I^*3 , L^*3/I^*1 and L^*3/I^*3 were 7, 5, 4, and 10, respectively.

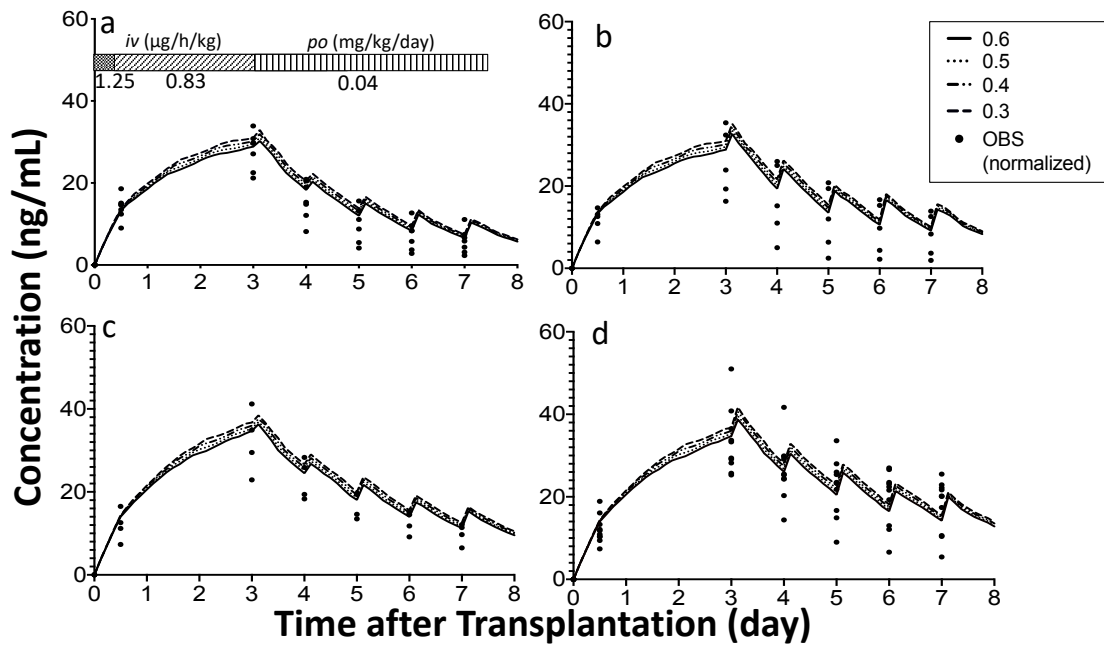


Figure 1-4 Effect of initial size of graft liver on the predicted blood concentration of tacrolimus immediately after living-donor liver transplantation. (a) *CYP3A5**1 allele in both graft liver and small intestine (L*1/I*1), (b) *CYP3A5**1 allele in graft liver and *CYP3A5**3/*3 in small intestine (L*1/I*3), (c) *CYP3A5**3/*3 in graft liver and *CYP3A5**1 allele in small intestine (L*3/I*1), (d) *CYP3A5**3/*3 in both graft liver and small intestine (L*3/I*3). Each closed circle shows the observed concentration normalized by the dosing regimen (OBS). The number of patient with L*1/I*1, L*1/I*3, L*3/I*1 and L*3/I*3 were 7, 5, 4, and 10 respectively.

第二節 PBPK モデルの妥当性評価

最終モデルを用いて、標準レジメンにおける生体肝移植直後の血中濃度推移の予測値を実測値と比較したところ、正規化された実測血中濃度の約 95%は全ての *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせにおいて予測血中濃度の平均値±1SD に収まっていた (Figure 1-5)。さらに、検証データにおける実測のタクロリムス C/D 比は、各 *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせにおける予測値の 90%予測範囲に概ね収まっていた (Figure 1-6)。

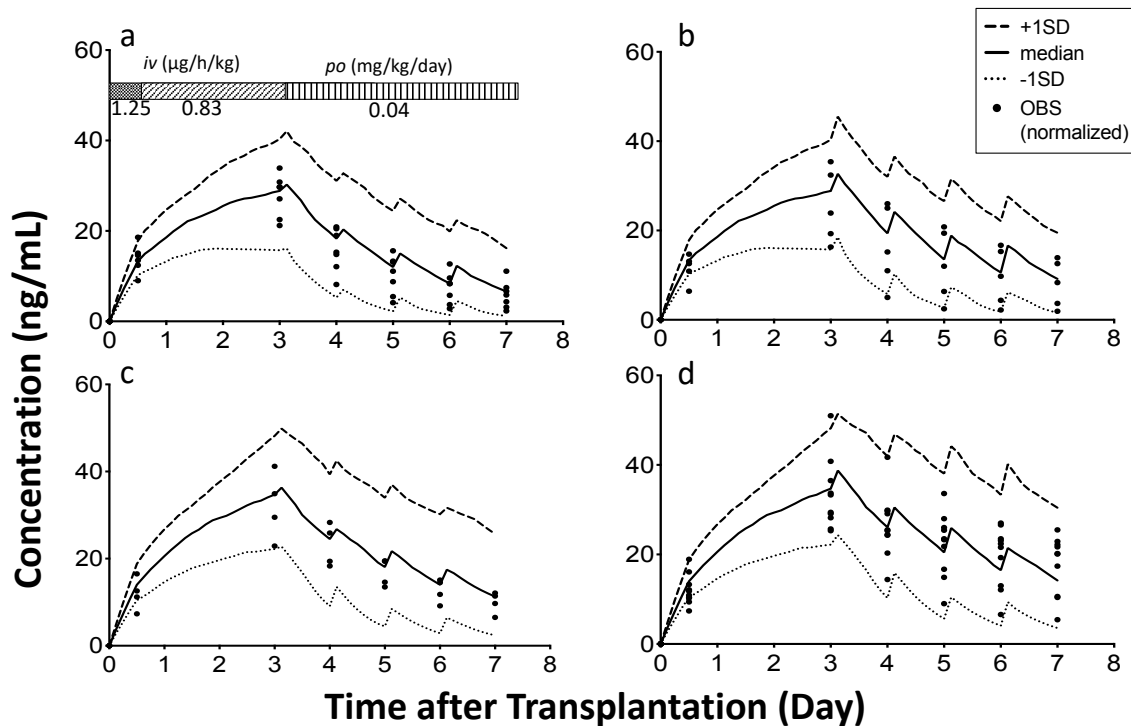


Figure 1-5 Effect of *CYP3A5* genotypes on the blood concentration of tacrolimus immediately after living-donor liver transplantation. (a) *CYP3A5**1 allele in both graft liver and small intestine (L*1/I*1), (b) *CYP3A5**1 allele in graft liver and *CYP3A5**3/*3 in small intestine (L*1/I*3), (c) *CYP3A5**3/*3 in graft liver and *CYP3A5**1 allele in small intestine (L*3/I*1), (d) *CYP3A5**3/*3 in both graft liver and small intestine (L*3/I*3). Each closed circle shows the observed concentration normalized by the dosing regimen (OBS). The number of patients with L*1/I*1, L*1/I*3, L*3/I*1 and L*3/I*3 were 7, 5, 4, and 10, respectively.

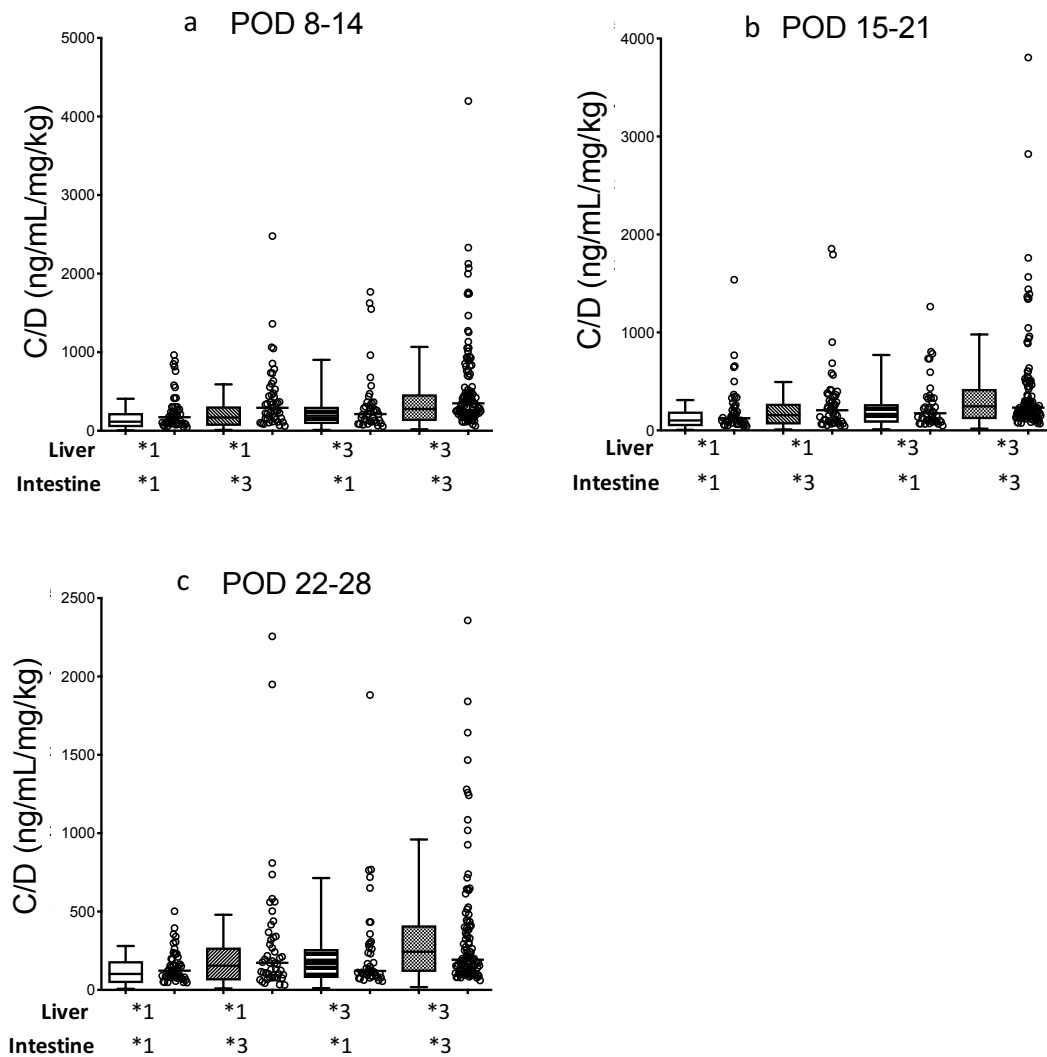


Figure 1-6 Comparison of the PBPk-simulated and observed concentration of verification data divided by the dose (C/D) ratios of tacrolimus in each *CYP3A5* genotype combination of graft liver and small intestine for postoperative days 8-14 (a), 15-21 (b), and 22-28 (c) after living-donor liver transplantation. Each box plot represents the interquartile range and 90% confidence interval of the predicted C/D ratio. Each open circle shows the observed C/D ratio, and each bar shows the median value. The number of patients with *CYP3A5**1 allele in both graft liver and small intestine, *CYP3A5**1 allele in graft liver and *CYP3A5**3/*3 in small intestine, *CYP3A5**3/*3 in graft liver and *CYP3A5**1 allele in small intestine and *CYP3A5**3/*3 in both graft liver and small intestine were 54, 51, 46 and 118, respectively.

第三節 肝臓の再生と *CYP3A5* 遺伝子多型がタクロリムス薬物動態に与える影響

最終モデルを使用したシミュレーション結果を Figure 1-7 に示す。タクロリムスの CL は生体肝移植の直後に増加し、その後、移植肝臓に *CYP3A5**1 アレル (L*1) を有する患者で 1.59 および *CYP3A5**3/*3 (L*3) の患者で 1.19 L/h に達することが示された。F は小腸に *CYP3A5**1 アレル (I*1) を持っている患者で 0.090、*CYP3A5**3/*3 (I*3) の患者で 0.131 であった。また、F の内訳 ($F = F_a \times F_g \times F_h$) は、以下の通りである。F_a は、すべての *CYP3A5* 遺伝子型の組み合わせに対して 0.6 で固定した。L*1 と L*3 の患者の F_h は、それぞれ 0.979 と 0.985 であった。また、I*1 と I*3 の患者の F_g はそれぞれ 0.153 と 0.227 であった。CL/F は、生体肝移植の直後に増加し、その後、L*1/I*1、L*1/I*3、L*3/I*1、L*3/I*3 の患者でそれぞれ 17.0、11.3、11.8、および 7.9 L/h であった。最終モデルに基づいて計算された推奨用量を Table 1-3 に示す。

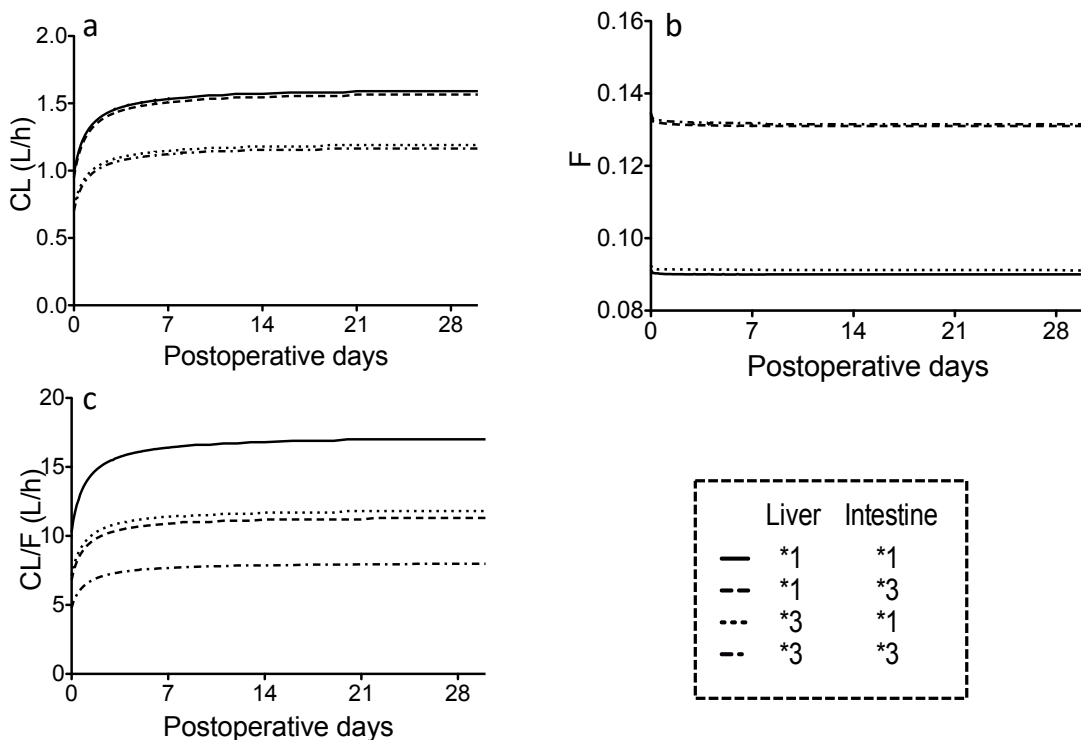


Figure 1-7 PBPK-simulated median clearance (CL), bioavailability (F), and apparent clearance (CL/F) of tacrolimus during 28 days after living-donor liver transplantation for each *CYP3A5* genotype combination of graft liver and small intestine.

Table 1-3 Recommend dosage in each *CYP3A5* genotype combination

	Intravenous infusion			
	L*1/I*1	L*1/I*3	L*3/I*1	*3/I*3
Loading dose, µg/h/kg	1.41	1.41	1.31	1.31
Maintenance dose, µg/h/kg (at POD 0.5)	0.309	0.309	0.230	0.230
	Oral administration dosing			
	L*1/I*1	L*1/I*3	L*3/I*1	L*3/I*3
Oral dose, mg/day/kg (or times increase compared to maintenance intravenous dose) (at POD 3)	0.0662 (8.93)	0.0446 (6.01)	0.0468 (8.47)	0.0306 (5.54)

The loading dose was calculated to bring 15 ng/mL after 12 h after intravenous infusion. The maintenance dose was calculated to maintain the blood concentration of 15 ng/mL 12 h after the transplantation. The oral dose was calculated compared to the intravenous maintenance dose to maintain trough concentration at 10 ng/mL at POD 3.

L*1/I*1, L*1/I*3, L*3/I*1, and L*3/I*3 represent *CYP3A5**1 allele in both graft liver and small intestine, *CYP3A5**1 allele in graft liver and *CYP3A5**3/*3 in small intestine, *CYP3A5**3/*3 in graft liver and *CYP3A5**1 allele in small intestine, and *CYP3A5**3/*3 in both graft liver and small intestine

考察

PBPK モデルによるシミュレーションにより、タクロリムスの CL は、L*3 の患者と比べ L*1 の患者で約 35%高いことを明らかとした。また、I*3 の患者と比べ I*1 の患者で F は約 30%低かったのに対し、L*1 の患者と L*3 の患者では F にほとんど差が見られなかった (Figure 1-6)。したがって、タクロリムスの初回通過代謝は主に肝臓ではなく小腸で起こっており、移植片のサイズや肝臓の再生は、生体肝移植患者のタクロリムスの F にほとんど影響を与えないことが示唆された。これらの結果、タクロリムスの CL/F は、L*1/I*1 の患者と比べ L*1/I*3 の患者では約 34%、L*3/I*1 の患者では約 30%低いという結果となり、肝臓と腸の CYP3A5 遺伝子型の影響をほぼ同じ割合で受けることを明らかとした。

タクロリムスの蛋白結合率は高く、移植後の血清アルブミンの変動が薬物動態に影響を与えると推察される。また、タクロリムスは赤血球に移行することから、臨床では全血濃度が測定され、ヘマトクリットの影響を受けることが知られている。本研究では、全血濃度データを解析に使用しており、移植後の低アルブミン患者にはアルブミン製剤投与による補正等が行われることから、血清アルブミンの変動が移植直後のタクロリムス薬物動態に与える影響はある程度抑えられていると考えられる。そこで、本章では移植直後のタクロリムスの薬物動態への影響が顕著と考えられる肝臓の再生に着目してモデリングを行った。PBPK モデルによるシミュレーションで算出された L*1 および L*3 の患者の平均 CL は、POD 0 で 0.975 および 0.729 L/h であり、POD 30 にはそれぞれ 1.59 および 1.19 L/h に増加した (Figure 1-6a)。Fukatsu らにより報告された肝移植患者における PPK モデルでは、タクロリムスの CL は POD に従って直線的に増加し、POD 0 および 30 での CL の母集団平均推定値はそれぞれ 0.737 および 1.14 L/h であった [17]。本研究で算出された CL とほぼ一致する値であるが、肝機能は生体肝移植後のより早期に回復する可能性があることが示唆された。

本章では、PBPK モデルで算出した I*1 と I*3 の患者の平均 F はそれぞれ 0.090 と 0.131 であった。過去に報告されたタクロリムスの F は 0.0677-0.2815 と幅があり [46-

48]、本研究で得られた値はこの範囲内であるため妥当と考えられる。また、Fa を 0.6 に変更することで、モデルは観測された濃度を最もよく再現することに成功した。ただし、本モデル解析では、Fa と Fg を正確に分離できていない。健康成人では、タクロリムスの Fh と Fa×Fg の値はそれぞれ 96% と 14% と報告されている [49]。PBPK モデルでシミュレートされた L*1 および L*3 患者の平均 Fh は、それぞれ 0.967 および 0.976 であり、文献値と一致している [49,50]。作成した PBPK モデルには P-gp の排出機能を組み込んでいないため、Fa を 0.6 とすることでモデル予測が良くなったのは、P-gp による Fa×Fg の減少を反映した結果と考えられる。また、タクロリムスは Biopharmaceutics Classification System (BCS) クラス II に分類されており [51]、薬物の溶解度が低く膜透過性が高いため、その吸収は胆汁の影響を受ける可能性がある。生体肝移植後の患者ではドレナージにより胆汁が体外に排泄されるため、胆汁が存在しないことや術後の安静臥床の継続により腸の動きが低下することなど、生体肝移植後のさまざまな要因によりタクロリムスの Fa が低下する可能性があると考えられる。

検証用臨床データを使用した C/D 比は、個人間のばらつきが大きく、POD 22-28 における L*1/I*1、L*1/I*、L*3/I*1、および L*3/I*3 の患者の CV 値は 66、139、127、および 113% であった (Figure 1-5)。一方で、PBPK モデルで算出された POD 22-28 の C/D 比の CV 値は、L*1/I*1、L*1/I*3、L*3/I*1、L*3/I*3 の患者でそれぞれ 75、77、101、および 94% であった。これらの結果は、検証データの C/D 比から得られた CV 値が、PBPK モデルシミュレーションより算出した C/D 比の CV 値よりもわずかに大きいことを示している。この傾向は、POD 8-14 および POD 15-21 の期間にも認められた。ヘマトクリット値はタクロリムス CL の共変量として報告されているが [52]、シミュレーションではヘマトクリット値は固定しており、これが、PBPK シミュレーションと比較して実測の C/D 比の個人間変動が大きくなる要因の 1 つと考えられる。

L*1 の患者と L*3 の患者における推奨負荷投与量は、それぞれ 1.41 と 1.31 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ と計算され、大幅な相違はなかった (Table 1-3)。これは、負荷投与速度がタクロリムス CL よりもはるかに速く、移植後 12 時間の血中濃度はタクロリムスの CL ではなく Vd に依存するためと考えられる。一方、維持量投与は CL に依存するため、肝臓の再生や CYP3A5 遺伝子型に応じて、時間の経過に伴って経口投与量を変更する必要がある。

以上本章では、PBPK モデルと臨床データを利用した解析により、タクロリムスの薬物動態に対する肝臓再生と肝臓および小腸の *CYP3A5* 遺伝子型の影響を定量的に評価することに成功した。肝機能は移植直後に回復する可能性が示唆され、肝再生による投与量調整は、生体肝移植後 7 日間のみ必要となることを明らかにした。また、CL は肝臓の *CYP3A5* 遺伝子型の影響を受け、F は小腸の *CYP3A5* 遺伝子型の影響を受けることが示された。これらの結果から、タクロリムスの初期投与量を、生体肝移植のレシピエントとドナーの *CYP3A5* 遺伝子型に基づいて推定することに成功した。これらの情報は移植後のタクロリムスの適正使用のために有用な情報となると考えられる。

第II章

腎移植患者におけるタクロリムス PBPK モデルの構築 と肝移植患者への外挿

肝移植患者のタクロリムスのCLは腎移植患者の全身クリアランスよりも低いと報告されている [24]。実臨床においても肝移植患者では有効血中濃度を維持するために必要な投与量が少量で良いケースもしばしば見られる。しかしながら、どのような生理的な要因がこの違いを引き起こしているかについて詳細に検討された報告はない。従来の PPK 解析では、特定の臓器移植患者集団を対象にした解析が行われているため、異なる種類の臓器移植患者間でタクロリムスの薬物動態を直接比較することは困難である。移植臓器の違いが薬物動態に影響を与える生理的な要因を評価することは薬物動態変動の予測につながり、より適切な投与設計につながる可能性がある。

第I章では、肝移植患者のタクロリムスの PBPK モデルを作成し、良好な予測性を示した。しかし、吸収相におけるタクロリムス血中濃度データが不十分であったため、F の推定に関与する有効透過性 (P_{eff}) およびトランスポーターの機能を評価できなかった。タクロリムスのFは小さく、ばらつきが大きいため [2]、吸収相での薬物動態の解析は重要となる。しかし、これまでのところ、PBPK モデルを使用してタクロリムスの吸収プロセスを評価した報告はない。

本章では、タクロリムス経口投与後の経時的採血データ及び文献で入手可能なデータを使用して、吸収相をより詳細に考慮した腎移植患者におけるタクロリムスの PBPK モデルを構築した。また、腎移植患者のデータを用いて構築した PBPK モデルを使用して、生体データをさまざまなレベルの肝機能障害集団に変更し、シミュレーションを行うことで、肝移植患者で報告された臨床データとの比較を行い、肝移植患者と腎移植患者間の薬物動態の比較及び、モデルの外挿可能性について検討を行い、移植臓器の違いがタクロリムス薬物動態に与える影響を検討した。

方法

1) 臨床データ

2018年7月から2019年9月の間に、京都大学医学部附属病院でタクロリムスの経時的採血を行った日本人腎移植患者18人を対象としてタクロリムスのPBPKモデル構築を行った。採血はタクロリムスの朝投与直前および投与後1、2、3、4時間後の計5点行った。タクロリムス血中濃度は、化学発光酵素イムノアッセイシステム (ARCHITECT; Abbott, Tokyo Japan) を使用して測定した。また、肝移植患者への外挿には、過去に報告された生体肝移植後3週間のタクロリムスの経時的採血データ [53] を使用した。Table 2-1 に、この研究の対象となった腎および肝移植患者の患者データを示す。なお、本研究はヘルシンキ宣言に則り実施され、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会の承認のもと行なった (No.R0545-1)。

Table 2-1 Demographic characteristics of the study population

Characteristics	Renal transplant patients (n=18)	Liver transplant patients* (n=13)
Male/Female, n	10 / 8	7/6
Age, years	51.2 (\pm 9.7)	58.0 (\pm 6.0)
BW, kg	56.8 (\pm 11.3)	63.5 (\pm 10.1)
Hematocrit, %	38.3 (\pm 4.7)	No data
eGFR, mL/min/1.73m ²	55.2 (\pm 20.8)	No data

Each value shows the number or mean (\pm SD).

BW: body weight, eGFR: estimated glomerular filtration rate

* Yano I, et al. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012; 68(3): 259-66.

2) 腎移植患者のタクロリムス PBPK モデルの構築

本章におけるタクロリムス PBPK モデリングのワークフローを Figure 2-1 に示す。タクロリムスの PBPK モデルの構築には Simcyp version 17 を使用した。タクロリムスの PBPK モデルの構築に使用した生体パラメータおよび薬物パラメータ値を Table 2-2 [40,42-44,54] に示す。

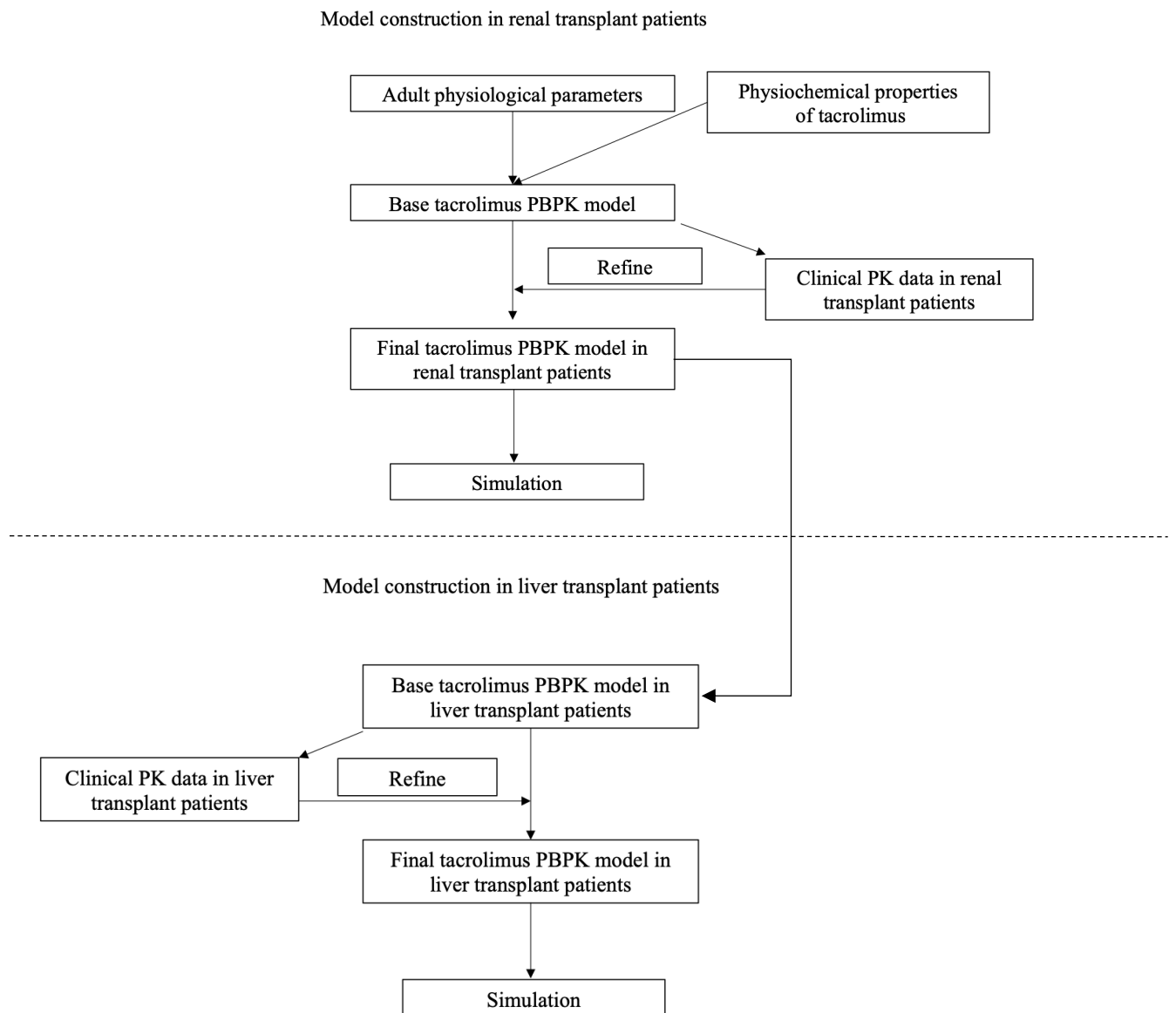


Figure 2-1 Workflow for development of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model in this study.

Table 2-2 Summary of parameter values in tacrolimus simulation

Parameter	Mean or Fixed	Reference
Population parameter		
Population	Japanese	
Abundance of CYP3A4 in the liver (pmol/mg protein)	112	Simcyp Default
Abundance of CYP3A5 in the liver (pmol/mg protein)	20.5	[44]
Abundance of CYP3A4 in the small intestine (pmol/whole gut)	54.2	Simcyp Default
Abundance of CYP3A5 in the small intestine (pmol/whole gut)	7.97	[54]
Physiochemical and blood binding		
MW (g/mol)	804.02	Predicted by ChemAxon
LogP _{ow}	3.26	[40] measured
BP ratio	35	[40] measured
Fu	0.013	[40] measured
Absorption		
Absorption model	CAT Model	
P _{eff} (x 10 ⁻⁴ cm/s)	0.65	Optimized
Distribution		
Distribution model	Minimal PBPK	
V _{ss} (L/kg)	20.2	our clinical data
V _{sac} (L/kg)	11.8	Optimized
k _{in} (/h)	0.37	Optimized
k _{out} (/h)	0.06	Optimized
Elimination		
13- <i>O</i> -desmethylation		
CYP3A4		
V _{max} (pmol/min/pmol enzyme)	8	[42] measured
K _m (μM)	0.21	[42] measured
ISEF	0.24	Simcyp Default
CYP3A5		
V _{max} (pmol/min/pmol enzyme)	17	[42] measured
K _m (μM)	0.21	[42] measured
ISEF	0.24	Simcyp Default
12-hydroxylation		
CYP3A4		
V _{max} (pmol/min/pmol enzyme)	0.6	[42] measured
K _m (μM)	0.29	[42] measured
ISEF	0.24	Simcyp Default
CYP3A5		
V _{max} (pmol/min/pmol enzyme)	1.4	[42] measured
K _m (μM)	0.35	[42] measured
ISEF	0.24	Simcyp Default
CL _R (L/h)	0	[43] fixed

MW: molecular weight, LogP_{ow}: log of the octanol-water partition coefficient, BP ratio: blood/plasma concentration ratio, CAT Model: compartmental absorption and transit model fu: fraction of drug unbound, P_{eff}: effective permeability, V_{sac}: volume of single adjusting compartment, k_{in}: input rate constant, k_{out}: output rate constant, V_{max}: maximum metabolic rate, K_m: Michaelis constant, ISEF: inter-system extrapolation factor, CL_R: renal clearance

分布モデルおよび吸収モデルとしては Minimal PBPK モデルおよび Compartmental absorption and transit (CAT) モデルをそれぞれ選択した [55]。

腎移植患者におけるタクロリムスの薬物動態に関わる生体パラメータは健康成人と同様であると仮定し、Simcyp に内蔵されたデフォルトの日本人の生体パラメータに基づいて計算を行なったが、肝臓と小腸の CYP3A5 の平均酵素量については、Simcyp に内蔵されている日本人における肝臓・小腸の CYP3A4 のデフォルトの酵素量に、それぞれ白人における CYP3A4 と CYP3A5 の酵素量の比率 [44,54] を乗じることでデフォルト値の 82.3 pmol/mg protein 及び 20.5 pmol/whole gut から 20.5 pmol/mg protein 及び 7.97 pmol/whole gut に変更した。また、第 I 章で作成したモデルに基づいて、定常状態の分布容積は 20.2 L/kg に設定した。

まず、 P_{eff} について感度分析を行い、用量補正 AUC_{0-12h} 値の幾何平均の絶対パーセント予測誤差 (%PE) が最小になったときに、 P_{eff} の値が最適であると判断した。

$$\%PE = \frac{\text{Predicted} - \text{Observed}}{\text{Observed}} \times 100(\%)$$

なお、用量補正 AUC_{0-12h} の実測値は、タクロリムス投与 12 時間後の血中濃度はトラフ濃度と同じであると仮定して線形台形法を使用して計算した。

次に、Single adjusting compartment (SAC) をモデルに組み込んだ [56]。SAC の分布容積 (V_{sac})、流入速度定数 (k_{in})、および流出速度定数 (k_{out}) は感度分析を実行し、 AUC_{0-12h} 、最大血中濃度 (C_{max})、トラフ血中濃度 (C_{min})、および最高血中濃度到達時間 (T_{max}) の %PE の絶対値が最小となる値を最適値と判断した。

構築した PBPK モデルによる予測精度は、各薬物動態パラメータの %PE が $\pm 50\%$ 以内の場合に妥当であると判断した [57]。なお、薬物動態パラメータの予測値は年齢及び男女比を実測値と一致させた 100 人の仮想患者を Simcyp で作成し、タクロリムス 1 mg を 12 時間ごとに 60 日間投与したと仮定したシミュレーション結果より算出した。

作成モデルの検証として、腎移植患者における最終 PBPK モデルを使用して、タクロリムスの PK パラメータを CYP3A5 遺伝子型ごとに算出し、文献値における腎移植後初期および維持期の PK パラメータと比較した [58]。さらに、タクロリムスの静脈内および経口投与の時間濃度プロファイルをシミュレーションし、

WebPlotDigitizer4.4 (<https://automeris.io/WebPlotDigitizer>) を使用して文献より抽出したデータと視覚的に比較した [59]。なお、いずれのシミュレーションも、年齢、性別、男女比率、投与量については文献と一致するように設定したが、移植後の初期のヘマトクリット値はデータが不足していたため、文献値の値を代用した [58]。シミュレーションごとに計 100 人の仮想患者を生成し、PK パラメータおよび血中濃度推移の算出を行った。

3) 腎移植患者におけるタクロリムスモデルの感度分析

感度分析は、投与量、ヘマトクリット、アルブミン、および肝臓と小腸における CYP3A4 及び CYP3A5 の酵素量に焦点を当て実施した。シミュレーションは、代表的な仮想患者にタクロリムスを 1 日 2 回、60 日間経口投与した際のトラフ血中濃度への影響を調査した。この際、感度分析の対象ではないパラメータについては下記の中央値で固定した（用量 = 0.08 mg/kg/day、ヘマトクリット = 40%、アルブミン = 5.0 g/dL、肝臓の CYP3A4 酵素量 = 112 pmol/mg protein、肝臓 CYP3A5 酵素量 = 20.5 pmol/mg protein、小腸 CYP3A4 酵素量 = 54.2 pmol/whole gut、小腸 CYP3A5 酵素量 = 7.97 pmol/ whole gut）。

4) 腎移植患者から肝移植患者への PBPK モデルの外挿

当院で報告された肝移植の 3 週間後のタクロリムス時間濃度データを肝移植患者の実測データとして使用した [53]。まず、腎移植患者で構築したタクロリムスの PBPK モデルをそのまま利用して、肝移植患者の各薬物動態パラメータを正確に予測できるかどうかを検証した。肝移植患者では、肝臓と小腸の CYP3A5 遺伝子型は、それぞれドナーとレシピエントに由来するため、肝移植患者の薬物動態パラメータの幾何平均を推定するシミュレーションの際、Simcyp に内蔵されている日本人集団において、CYP3A5 *1 アレルを少なくとも 1 つ有する患者および CYP3A5 *3/*3 を持つ患者の頻度はそれぞれ 42% および 58% であることを基にして、CYP3A5 遺伝子型の頻度を移植肝臓と小腸が共に CYP3A5 *1 アレルを少なくとも 1 つ持つケース (L*1/I*1) を 18%、移植肝臓が CYP3A5 *1 アレルを少なくとも 1 つ持ち、小腸が CYP3A5 *3/*3 のケース (L*1/I*3) を 24%、移植肝臓が CYP3A5 *3/*3 で小腸が CYP3A5

*1 アレルを少なくとも1つ持つケース (L*3/I*1) を 24%、移植肝臓と小腸が共に CYP3A5 *3/*3 のケース (L*3/I*3) を 34%とした。シミュレーションごとに年齢および男女比が実測データと一致する計 100 人の仮想患者を生成して PK パラメータの算出を行った。なお、このシミュレーションではヘマトクリット値やアルブミンについては、Table 2-3 に示されている健康日本人の生体パラメータのデフォルト値を使用した。各薬物動態パラメータ (用量補正 AUC_{0-12h}、C_{max}、T_{max}、または C_{min}) の % PE は、観測値と予測値の幾何平均を使用して計算した。

また、タクロリムスを対象とした過去のメタアナリシスでは、肝移植患者のタクロリムスの全身クリアランスが腎移植患者のそれよりも低いことが報告されている [50]。そこで、肝移植患者における肝機能は腎移植患者と比較して低下していると仮定し、生体パラメータを健康日本人から肝機能障害患者に変更することにより、モデルの外挿可能性を調査した。Simcyp では、Child-Pugh クラス A、B、および C (CP-A、CP-B、および CP-C) の患者の生体パラメータ値が内蔵されているが、そのデータは白人の母集団に基づいているため、健康白人における各パラメータと CP-A、CP-B、および CP-C 白人集団の各パラメータの比率を計算し、各比率を対応する健康日本人の生体パラメータに乗じることで、日本の CP-A、CP-B、および CP-C の生体パラメータを決定した。作成した生体パラメータを Table 2-3 に示す。最後に、CP-A 患者のタクロリムスの PBPK モデルに基づいて、P_{eff}の値を変更することにより、各薬物動態パラメータの予測性をさらに改善できるかどうかを検討した。

Table 2-3 Summary of altered physiological parameters in the Child-Pugh A, B, and C (CP-A, CP-B, and CP-C) population compared to the healthy population

Parameters	Healthy Japanese	Ratio to Caucasian adult population ^a			CP-A Japanese	CP-B Japanese	CP-C Japanese
		CP-A /Healthy	CP-B /Healthy	CP-C /Healthy			
Liver							
Average liver volume (L)	1.65	0.890	0.716	0.710	1.47	1.18	1.17
Enzyme abundance (mean, pmol/mg protein)							
CYP3A4 ^b	112.2	0.788	0.409	0.226	88.5	45.9	25.4
CYP3A5 *1/*1 or *1/*3 ^b	20.5	0.796	0.408	0.233	16.3	8.4	4.8
Tissue composition							
Tissue volume fold scalar							
Adipose	1.00	0.800	0.670	0.600	0.800	0.670	0.600
Liver	1.00	0.890	0.710	0.610	0.890	0.710	0.610
Spleen	1.00	1.80	2.60	2.90	1.80	2.60	2.90
Plasma	1.00	1.21	1.46	1.79	1.21	1.46	1.79
RBC	1.00	1.21	1.46	1.79	1.21	1.46	1.79
Blood composition							
Hematocrit mean (male/female) (%)	43.0 / 38.0	0.894 / 0.894	0.803 / 0.803	0.779 / 0.779	38.5 / 34.0	34.5 / 30.5	33.5 / 29.6
Hematocrit CV (male/female) (%)	6.50 / 7.10	2.31 / 2.11	2.77 / 2.54	2.77 / 2.54	15.0 / 15.0	18.0 / 18.0	18.0 / 18.0
AGP (male/female) (g/L)	0.720 / 0.560	0.776 / 0.775	0.674 / 0.675	0.576 / 0.588	0.558 / 0.434	0.490 / 0.380	0.410 / 0.330
AGP CV (male/female) (%)	15.3 / 16.1	3.40 / 3.92	3.20 / 3.69	3.33 / 3.85	52.0 / 63.2	49.0 / 59.4	51.0 / 61.9
HSA Co (male/female) (g/L)	50.3 / 49.4	0.920	0.758	0.590	46.3 / 45.4	38.2 / 37.5	29.7 / 29.1
HSA CV (%)	10.0	1.60	1.95	2.00	16.0	19.5	20.0
Tissue flow rate (% cardiac output)							
Brain	12.0	0.967	0.933	0.883	11.6	11.2	10.6
Kidney (male/female)	19.0 / 17.0	0.879 / 0.882	0.653 / 0.653	0.484 / 0.482	16.7 / 15.0	12.4 / 11.1	9.20 / 8.20
Liver (arterial)	6.5	1.41	1.63	1.92	9.15	10.6	12.5
Liver (portal) (male/female)	19.0 / 21.5	0.910 / 0.911	0.635 / 0.634	0.554 / 0.553	17.3 / 19.6	12.1 / 13.6	10.5 / 11.9
Muscle (male/female)	17.0 / 12.0	1.17 / 1.17	1.28 / 1.28	1.01 / 1.00	19.8 / 14.0	21.8 / 15.3	17.2 / 12.0

^aParameter values obtained from the built-in Simcyp Simulator model

^bPhysiological parameters used in this study

CV: coefficient of variation, RBC: red blood cell, AGP: alpha 1 acid glycoprotein, HSA: human serum albumin

6) 腎移植および肝移植患者における *CYP3A5* 遺伝子型の影響

腎移植患者におけるタクロリムスの最終PBPKモデルを使用して、健康成人とCP-A日本人集団の生体データを使用することで、それぞれ腎移植患者と肝移植患者のトラフ血中濃度/用量 (C_{min}/D) 比を *CYP3A5* 遺伝子型ごとに計算した。シミュレーションは、*CYP3A5* 遺伝子型ごとに独立して、男女の比率を 50 : 50、年齢を 20-70 歳、投与量を 1 mg 1 日 2 回 60 日間投与と設定した 100 人の仮想患者を作成して実行した。次に、*CYP3A5* 遺伝子型ごとに移植後 1 か月の目標濃度であるタクロリムストラフ濃度を 10 ng/mL に維持するのに必要な経口投与量を腎移植および肝臓移植患者について計算した。

結果

第一節 腎移植患者におけるタクロリムスの PBPK モデル構築

腎移植患者で観察された用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、 C_{min} 、および T_{max} 値の幾何平均を Table2-4 に示す。最初のモデル構築ステップでは、文献値より P_{eff} を 5.95×10^{-4} cm/s に設定したが [40]、このモデルでは、P-gp の寄与は考慮されていない。この値をシミュレーションに使用した場合、各薬物動態パラメータの %PE は非常に高値を示した (Table2-4)。文献情報からは P-gp を介したタクロリムス輸送の *in vitro* 動態データを取得できなかったため、 P_{eff} を変更することで排出トランスポーター効果の検討を行った。 P_{eff} の感度分析の結果、 $P_{eff} = 0.65 \times 10^{-4}$ cm/s の際、観測値と予測値の AUC_{0-12h} 値の幾何平均の差が最小となった。次に、 V_{sac} 、 k_{in} 、および k_{out} の最適化を行い、予測値を実測値の時間濃度プロファイルに適合させた。3つの代表的な V_{sac} 値における用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、 C_{min} 及び T_{max} 、 k_{in} 、 k_{out} の3次元プロットを Figure 2-2 に示す。用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、 C_{min} 、および T_{max} の絶対 %PE 値が最小となる値として、 $V_{sac} = 11.8$ L/kg、 $k_{in} = 0.37$ h⁻¹、および $k_{out} = 0.06$ h⁻¹ を最適値とした。

腎移植患者の基本モデルおよびパラメータ最適化を行った最終モデルにより算出された用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、 C_{min} 、および T_{max} の幾何平均値と %PE 値は Table2-4 に示す。用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、 C_{min} 、の PE、および T_{max} 値は、最終モデルで %PE が ±10% 以内であった。

最終モデルによって予測されたタクロリムスの時間濃度プロファイルと腎移植患者の実測値を Figure 2-3a に示す。実測濃度は、予測された濃度の 90% 予測区間内に入っており、中央値の周りに分布していた。

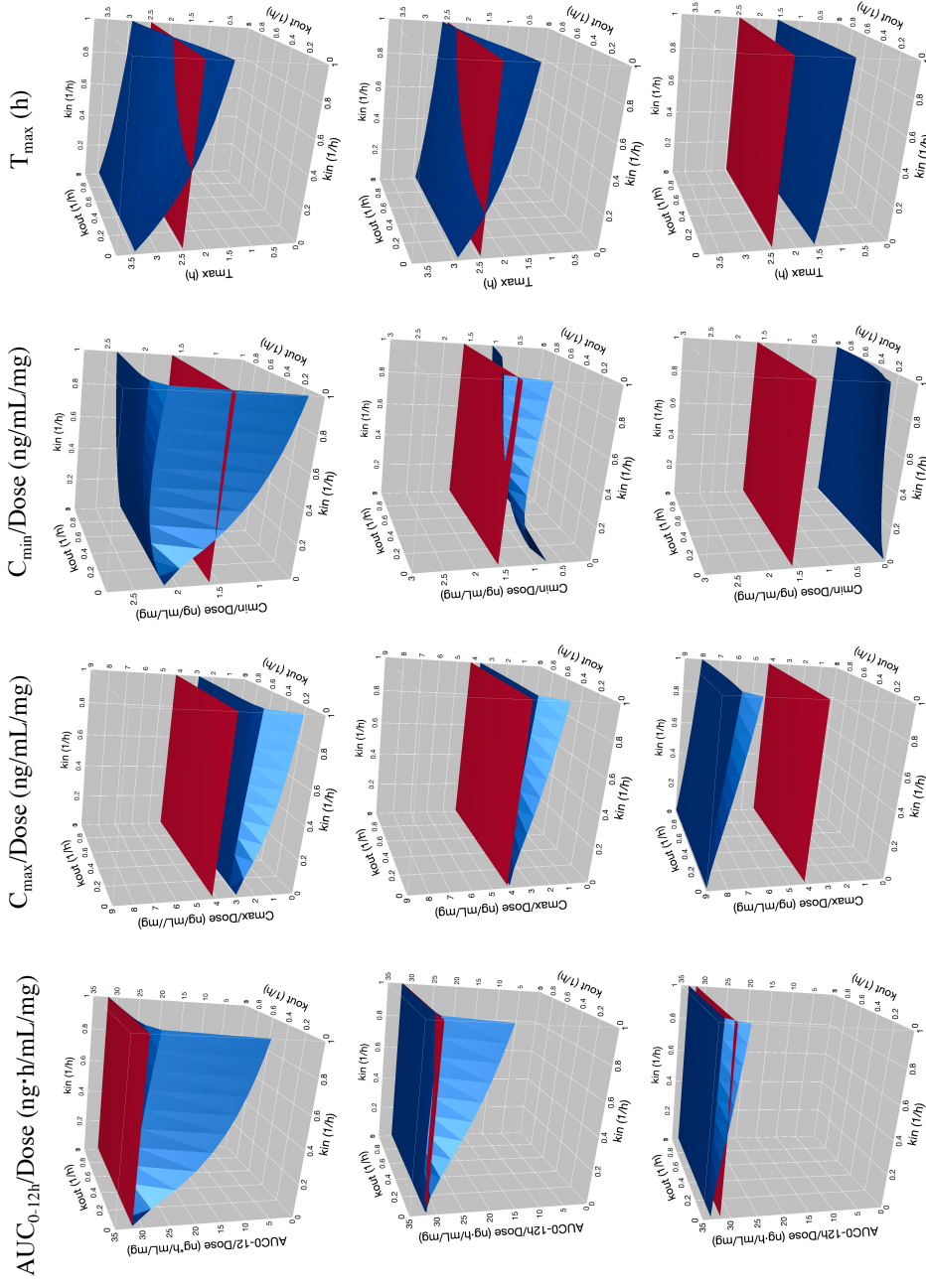
Table 2-4 Observed and predicted pharmacokinetic parameters of tacrolimus

Parameters	Observed (n=18)		Base model ($P_{\text{eff}}=5.95 \times 10^{-4}$)		Final model ($P_{\text{eff}}=0.65 \times 10^{-4}$)		
	GM	GSD	GM	%PE	GM	%PE	
Renal transplantation							
AUC _{0-12h} /dose, ng·h/mL/mg	31.8	1.48	153	381	31.9	0.224	
C _{max} /dose, ng/mL/mg	4.23	1.49	14.9	253	3.95	-6.47	
C _{min} /dose, ng/mL/mg	1.63	1.65	11.0	576	1.52	-6.53	
T _{max} , h	2.48	1.55	1.48	-40.5	2.31	-6.77	
Liver transplantation							
	Observed* (n=13)		Renal transplant model with Healthy Japanese		Renal transplant model with CP-A Japanese	Renal transplant model with CP-B Japanese	Renal transplant model with CP-C Japanese
	GM	GSD	GM	%PE	GM	%PE	GM
AUC _{0-12h} /dose, ng·h/mL/mg	40.9	2.56	32.9	-19.5	38.8	-5.04	97.7
C _{max} /dose, ng/mL/mg	4.59	2.56	4.03	-12.4	4.53	-1.56	9.83
C _{min} /dose, ng/mL/mg	2.86	2.57	1.56	-45.1	2.00	-29.7	6.39
T _{max} , h	2.55	1.54	2.33	-8.80	2.37	-6.89	2.54

P_{eff} : effective permeability, GM: geometric mean, GSD: geometric standard deviation, %PE: percentage prediction error, AUC_{0-12h}: area under the concentration-time curve from 0 to 12 h, C_{max}: maximum blood concentration, C_{min}: trough blood concentration, T_{max}: time to maximum blood concentration

The predicted values were the results of each simulation performed using 100 subjects

*Yano I et al. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012; 68(3): 259-66.



$V_{sac}=1 \times 10^{-5}$ (L/kg)

$V_{sac}=11.8$ (L/kg)
(Optimized)

$V_{sac}=20.0$ (L/kg)

Figure 2-2 Sensitivity analysis for the dose-normalized area under the concentration-time curve from 0 to 12 h (AUC_{0-12h}), the maximum blood concentration (C_{max}), the trough blood concentration (C_{min}), and the time to maximum blood concentration (T_{max}) vs input rate constant (k_{in}) and output rate constant (k_{out}) for the representative V_{sac} value ($V_{sac}=1 \times 10^{-5}$, 11.8, and 20.0 L/kg). The blue and red layers represent simulated and observed values,

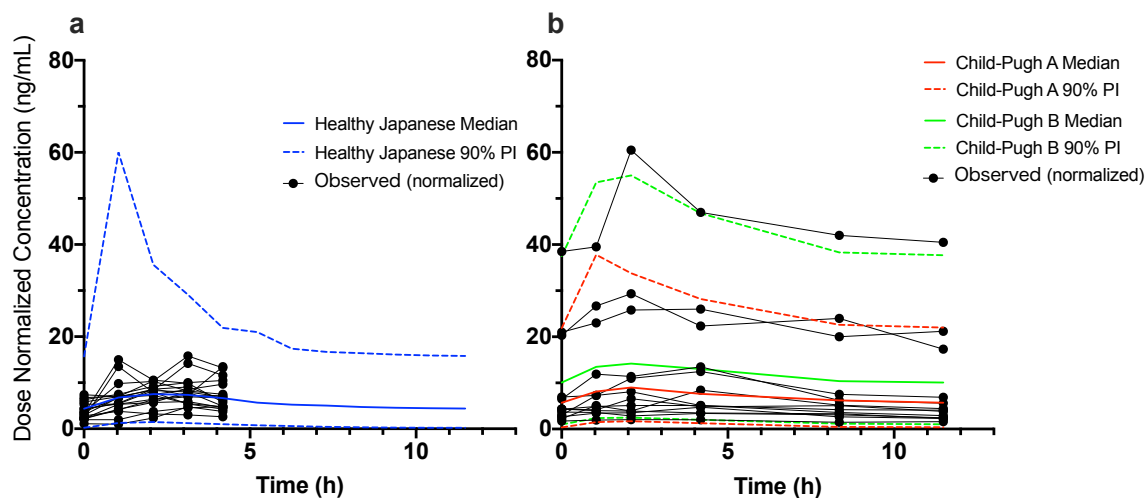


Figure 2-3 The physiologically based pharmacokinetic model-predicted *versus* observed time concentration profiles corrected for a dosage of 1 mg of tacrolimus in renal transplant patients (n=18; a) and liver transplant patients (n=13; b). The closed circles represent dose-normalized observed concentrations. The solid and broken lines represent the median, and 90% prediction interval of predicted concentrations, respectively. The predicted concentrations were the results of each simulation performed using 100 subjects. The blue, red, and green lines represent the concentration profile predicted by the renal transplant model using the demographics of the healthy, Child-Pugh A (CP-A) and Child-Pugh B (CP-B) Japanese populations, respectively.

次に作成したモデルの検証を行った。維持時および移植後の初期段階における *CYP3A5* 遺伝子型ごとの AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、および C_{min} の実測値および予測薬物動態値の比較を Table 2-5 に示す [58]。すべての%PE 値は±50%以内であった。

静脈内投与と経口投与の報告された観察値と予測された時間濃度プロファイルの比較を Figure 2-4 に示す [59]。観測値は予測された時間濃度プロファイルの90%予測区間内に概ね収まった。

Table 2-5 Comparison between predicted and observed pharmacokinetic parameters of tacrolimus in each *CYP3A5* genotype

Stage	Parameters CYP3A5 Genotype	AUC_{0-12h}/dose (ng·h/mL/mg/kg)			C_{max}/dose (ng/mL/mg/kg)			C_{min}/dose (ng/mL/mg/kg)		
		Obs'	Pred	%PE	Obs'	Pred	%PE	Obs'	Pred	%PE
Maintenance	*1/*1 or *1/*3	0.907	0.728	-19.7	0.124	0.095	-23.6	0.054	0.032	-41.2
Stage	*3/*3	1.30	1.40	7.84	0.145	0.171	18.2	0.066	0.068	2.61
Early	*1/*1 or *1/*3	0.584	0.584	-0.067	0.070	0.076	8.83	0.038	0.026	-32.1
Stage	*3/*3	0.928	1.19	28.7	0.107	0.146	36.0	0.059	0.058	-1.24

Obs: Observed value, Pred: Predicted value, %PE: percentage prediction error, AUC_{0-12h} : area under the concentration-time curve from 0 to 12 h, C_{max} : maximum blood concentration, C_{min} : trough blood concentration

The predicted values were the results of each simulation performed using 100 subjects

* Satoh et al. *Br J Clin Pharmacol.* 2008; 66(2): 207-14.

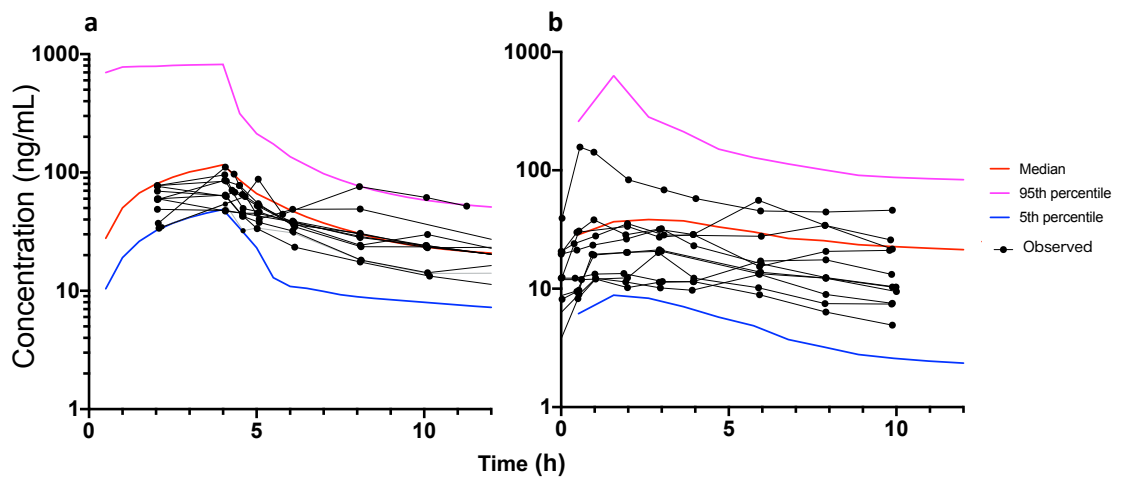


Figure 2-4 Comparison of observed and PBPK model-simulated time-concentration profile of tacrolimus after intravenous (a: 0.075 mg/kg, 4 h infusion) and oral (b: 0.15mg/kg twice a day (at day 8)) administration in Japanese renal transplant patients. The closed circle and black lines represent observed data from the clinical study: Japanese FK 506 Study Group. *Transpl Int.* 1992; 5(Suppl 1): S524-8. The red, blue, and purple lines represent the median, 5th, and 95th percentiles of predicted concentrations, respectively. The predicted concentrations were the results of each simulation performed using 100 subjects.

第二節 感度分析

タクロリムスの C_{\min} に対する用量の影響を Figure 2-5 に示す。タクロリムスの C_{\min} は、臨床的に使用される 0.05 - 0.2 mg/kg/day の範囲でほぼ直線的に増加した。また、タクロリムスの C_{\min} は、ヘマトクリット値及びアルブミンに対しては線形的変化を示したが、酵素量に対しては非線形的変化を示す結果となった (Figure 2-5)。

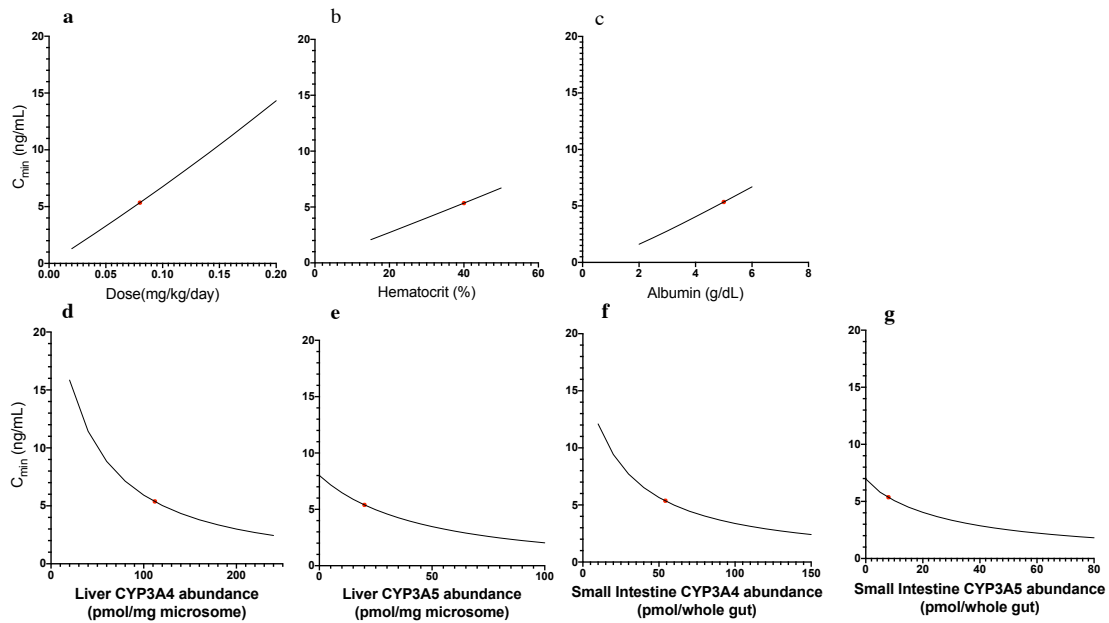


Figure 2-5 Sensitivity analysis of the dose of tacrolimus (a), hematocrit (b), albumin (c), abundances of CYP3A4 and CYP3A5 in the liver and small intestine (d-g) for the trough concentration (C_{\min}). Each red circle shows the value in a representative virtual subject used in this simulation.

第三節 腎移植患者から肝移植患者へのタクロリムス PBPK モデルの外挿

肝移植患者で観察された用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、 C_{min} 、および T_{max} 実測値の幾何平均を Table 2-4 に示す [53]。初めに、肝移植患者と腎移植患者のタクロリムス薬物動態を比較した。まず、腎移植患者におけるタクロリムスの最終的な PBPK モデルを使用して、肝臓と小腸の *CYP3A5* 遺伝子型の割合を肝移植患者にて想定される割合に設定することにより、薬物動態パラメータを予測した。予測されたパラメータを移植後 3 週間の肝移植患者について報告されたパラメータと比較すると [53]、すべての薬物動態パラメータの %PE 値は $\pm 50\%$ 以内ではあったが、 C_{min} は大きく負に偏るという結果となった。

次に、生体パラメータを変更することにより、タクロリムスの薬物動態の予測性を改善できるかどうかを検討した。CP-A、CP-B、および CP-C の日本人集団の生体パラメータを使用して予測された用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、 C_{min} 、および T_{max} の幾何平均値と %PE についても Table 2-4 に示す。用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、および C_{min} の %PE 値は、CP-A 日本人集団の生体パラメータを使用することで全てのパラメータで予測性が改善した。一方で、CP-B および CP-C の日本人集団の生体パラメータを使用した場合、用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、および C_{min} の %PE 値は 50% を超えるという結果となった。以上の結果から、CP-A の生体パラメータが肝移植患者のタクロリムスの薬物動態を最もよく表すことができると判断した。

腎移植 PBPK モデルの生体パラメータを CP-A および CP-B 日本人集団に変更して予測したタクロリムスの血中濃度プロファイルを図 2-3b に示す。CP-A 日本人集団を用いた場合、日本人肝移植患者で観察された血中濃度は、1 人の患者を除いて予測値の 90% 予測区間内に入っていた。

次に、 P_{eff} を変更することで CP-A の生体パラメータを用いたタクロリムスの PBPK モデルの予測性を改善できるかを検討した結果、 P_{eff} を $0.65 \times 10^4 \text{ cm/s}$ とした場合に用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、 C_{min} 、および T_{max} の絶対 %PE は最小となった。

第四節 腎および肝移植患者における *CYP3A5* 遺伝子型の影響

腎移植患者の最終 PBPK モデルを使用してシミュレートされた各 *CYP3A5* 遺伝子型におけるタクロリムスの C_{\min}/D 比を Figure 2-6a に示す。*CYP3A5* *1 アレルを少なくとも一つ有する患者および *CYP3A5* *3/*3 患者の C_{\min}/D 比の中央値は、それぞれ 1.33 (90%予測区間 : 0.0807-4.03) および 2.43 (90%予測区間 : 0.128-10.5) ng/mL/mg と予測された。腎移植患者の最終的な PBPK モデルに基づいて、*CYP3A5* *1 アレルを少なくとも一つ有する患者および *CYP3A5* *3/*3 患者の血中濃度を 10 ng/mL に維持するための推奨タクロリムス投与量は、それぞれ 0.133 および 0.0682 mg/kg/day と計算された。

最終 PBPK モデルの生体パラメータを CP-A 患者に変更して *CYP3A5* 遺伝子型ごとに計算された C_{\min}/D 比を Figure 2-6b に示す。 C_{\min}/D 比の中央値は、L*1/I*1 の患者に対して 1.68 (90%予測区間 : 0.125-5.75) ng/mL/mg、L*1/I*3 の患者の場合 2.10 (90%予測区間 : 0.178-7.82) ng/mL/mg、L*3/I*1 の患者の場合 2.63 (90%予測区間 : 0.144-8.44) ng/mL/mg、L*3/I*3 の患者の場合 3.35 (90%予測区間 : 0.175-12.6) ng/mL/mg と算出された。また同じモデルを用いて算出した血中濃度を 10 ng/mL に維持するための推奨タクロリムス投与量は、L*1/I*1 の患者で 0.103 mg/kg/day、L*1/I*3 の患者では 0.0867 mg/kg/day、L*3/I*1 の患者では 0.0675 mg/kg/day、L*3/I*3 の患者では 0.0550 mg/kg/day と計算された。

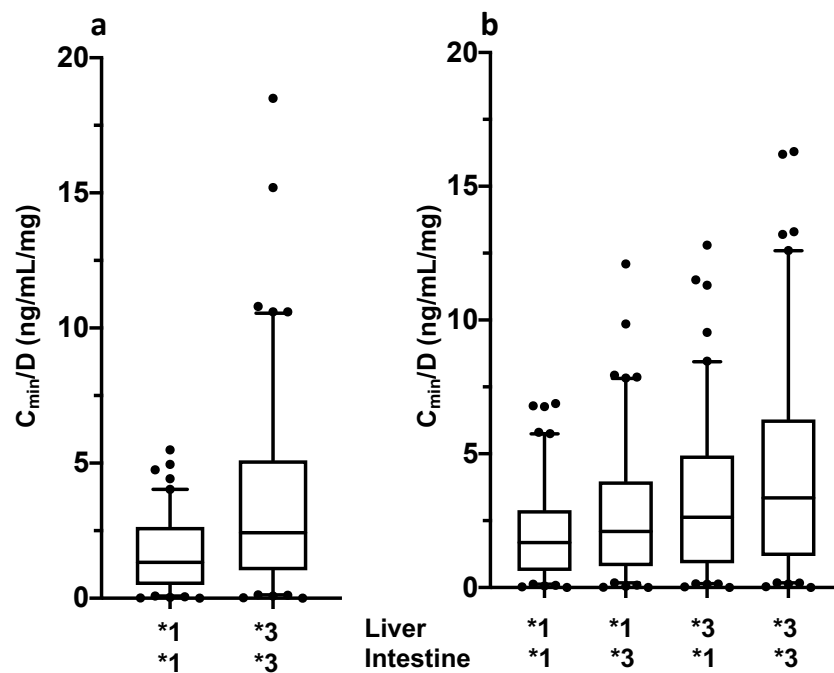


Figure 2-6 Simulated trough blood concentration/dose (C_{\min}/D) ratio of tacrolimus in renal (a) and liver (b) transplant patients in each *cytochrome P450 3A5* (*CYP3A5*) genotype, respectively. Each box plot represents an interquartile range with a 90% prediction interval. The closed circles represent the data outside the 5th to 95th percentiles. Each simulation was performed using 100 subjects, a female patient proportion of 50%, and an age range of 20-70 years. *1; *CYP3A5* *1/*1 or *1/*3, *3; *CYP3A5* *3/*3

考察

P_{eff} を 5.95×10^{-4} から 0.65×10^{-4} cm/s に変更することで、タクロリムスの薬物動態の予測性が改善した (Table 2-4, Figure 2-3a)。最初に使用した値 (5.95×10^{-4}) は受動拡散を予測した文献値であり、この数値がもともと高く算出されていた可能性はあるが、タクロリムスは P-gp の基質であることから、 P_{eff} を小さくすることにより、吸収部位での P-gp による排出過程を考慮することができた結果、予測性が改善したと考える。タクロリムスは溶解度が低く、膜透過性が高い BCS クラス II の薬剤として分類されているため、その Fa は 85% 以上であると考えられる [51,60]。本研究では、平均 Fa 値は、腎移植患者の最終的なタクロリムス PBPK モデルによって 61% と計算された。したがって P-gp は、タクロリムスの見かけの Fa に 20~40% 寄与すると考えられる。

感度分析の結果は、タクロリムスの血中濃度が臨床的に使用される範囲でほぼ直線的に増加することを示している。Figure 2-5 にも示すように、ヘマトクリット値とアルブミン値はタクロリムスの血中濃度に影響することが知られているため、タクロリムスの投与量を調整する際にはこれらの因子を考慮する必要がある。

腎移植における *CYP3A5* 遺伝子型の影響を評価したシミュレーションでは、*CYP3A5* *1 アレルを有する腎移植患者のタクロリムス血中濃度を 10 ng/mL に維持するための推奨投与量は、*CYP3A5* *3/*3 の患者の約 1.8 倍であることが示された (Figure 2-6a)。

また、血中濃度の個体間変動については、腎移植患者におけるタクロリムス C_{min}/D 比の四分位範囲 (QD) を比較すると、*CYP3A5* *1 アレルを有する患者 (QD : 1.06) よりも *CYP3A5* *3/*3 の患者 (QD : 2.00) の方が大きかった。また、肝移植患者における C_{min}/D 比と比較すると、L*1/I*1 の患者 (QD : 1.12)、L*3/I*3 の患者 (QD : 2.46) 共に腎移植患者よりもばらつきは大きい傾向にあった。これは、

Figure 2-5 に示すように、CYP3A4 または CYP3A5 の酵素量が減少するにつれて、タクロリムスのトラフ濃度が非線形に増加するためであると考えられる。遺伝子型に基づく初期投与設計に関する情報は有用ではあるが、特に CYP3A5 *3/*3 の患者では、タクロリムスの薬物動態の個体間および個体内変動が大きいいため、個々の維持量は TDM 測定に基づいて調整する必要があると考えられる。

用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、および C_{min} の %PE 値は、日本人 CP-A 患者の生体パラメータを使用した場合に最も小さくなり (Table 2-4)、実測濃度は 1 人を除いて予測値の 90% 予測区間内に収まった (Figure 2-3b)。また、日本人 CP-B 患者の生体パラメータを使用した 95 パーセンタイル予測値は、上記で外れていた非常に高い実測濃度に近づいたが (Figure 2-3b)、用量補正 AUC_{0-12h} 、 C_{max} 、および C_{min} の %PE 値は 50% 以上であった (Table 2-4)。これらの結果は、ほとんどの肝移植患者が移植後 3 週間で軽度に障害された肝機能を示すが、一部は中等度以上の肝機能障害を示すことを示唆している。

本章で対象とした肝移植患者においては、実測のヘマトクリット値とアルブミン値に関する情報を得ることができなかった。以前の報告では、生体肝移植の 4 週間後の患者では、肝臓の体積は正常な肝臓の体積の約 88% に回復し、アルブミン値は約 32 g/L であったことが示されている [37]。さらに、中国人肝移植患者における報告では、肝移植後約 3 週間のアルブミンとヘマトクリット値はそれぞれ約 37 g/L と 31% と報告されている [21-23, 61]。今回使用した CP-A 患者の生体パラメータでは、肝臓のサイズは通常の肝臓のサイズの 0.89 倍、アルブミンとヘマトクリット値の中央値はそれぞれ 40.8 g/dL と 37.0% であった。CP-A 患者のヘマトクリット値とアルブミン値は、文献の肝移植患者よりもわずかに高かったものの、肝臓のサイズはほぼ同じレベルであった。したがって、肝移植患者の CP-A 集団の生体パラメータを使用することは適切であると考えられる。一方で、 P_{eff} は肝移植患者における検討において、 0.65×10^{-4} cm/s とした時に最適となり、これは元の腎移植モデルでの最適値と同じ値であった。これらの結果を考慮すると、肝移植患者では、移植後 3 週間で肝臓

のサイズはほぼ回復しているものの、肝機能は腎移植患者よりもわずかに低下している一方で、肝移植患者の吸収過程は腎移植患者のそれと大きな差異がない可能性がある。

以上、本章では入手可能な文献情報と観察された臨床データを使用して、吸収相を考慮した腎移植患者におけるタクロリムスの PBPK モデルの構築に成功した。また、構築されたタクロリムス PBPK モデルは、肝機能をわずかに低下させることにより、移植後 3 週目の肝移植患者の薬物動態を予測することができることを示した。これらの情報は、腎移植及び肝移植患者における *CYP3A5* 遺伝子型に応じたタクロリムスの適切な投与設計に役立つとともに、肝移植患者では術後 3 週目であっても肝機能がやや低下しているという情報は、肝移植患者に用いられるその他の肝代謝型薬剤の適正使用を行う上での基礎的情報になると考える。

第Ⅲ章

肝移植患者におけるエベロリムスPPK解析と タクロリムス薬物動態との比較

エベロリムスはmTORを阻害するラパマイシン誘導体である[25]。エベロリムスは、2018年2月に日本において肝移植後の拒絶反応抑制への適応が追加され、肝移植後4週目以降に使用することが可能となった。肝移植レシピエントは慢性腎不全に陥るリスクが高いことが知られており[62]、そのリスク因子の一つはタクロリムスのようなカルシニューリン阻害薬の曝露である。すなわち、肝移植レシピエントは移植後、カルシニューリン阻害剤を長期間服用するため、高い血中濃度が持続することに伴う副作用として腎障害を発現しやすい。一方、肝移植1か月目以降にタクロリムスの曝露量を減少させつつエベロリムスを導入することで、免疫抑制効果を維持しながら、腎機能の悪化を軽減できることが報告されている[27-30]。しかし、エベロリムスはその大きな個体内・個体間変動と狭い治療域からTDMが必要な薬剤である[5]。これまでに腎移植患者を対象としたエベロリムスのPPK解析の報告はなされているが[31,32]、肝移植患者を対象とした報告はない。

また、日本人の腎移植患者において、タクロリムスとエベロリムスの用量補正AUC (AUC/D) は相関するとの報告がある[63]。肝移植患者では移植直後から使用されるタクロリムス治療に追加してエベロリムスは処方されることが多いため、事前のタクロリムスTDMデータがエベロリムスの用量設定に役立つ可能性が考えられるが、肝移植患者において各薬剤のPKパラメータ間の関連についての報告はないのが現状である。さらに、エベロリムスは小児肝移植患者にも使用可能ではあるが、小児における薬物動態に関する報告はほとんどない。

そこで本章では、成人肝移植患者におけるエベロリムスのPPK解析に基づき、エベロリムスの薬物動態に影響を与える因子の探索を行なうとともに、モンテカルロシミュレーションを用いて適切な初期投与量に関する検討を行った。さらに、作成

したモデルに基づき、ベイズ推定により算出された患者個別のCLとタクロリムスの投与量/血中濃度 (D/C) 比の関係を確認するとともに、成人で作成したPPKモデルの小児患者への外挿可能性を検討した。

方法

1) 臨床データ

2018年3月から2020年12月に京都大学医学部附属病院にて新規にエベロリムスの投与が開始された日本人肝移植患者を対象とした。対象のうち、血漿交換を受けている患者及び他院でフォローアップされており投与量の情報を正確に収集できない患者は除外した。また、トフィソパムを併用した患者1人において、著明な血中濃度の上昇が確認されたため、本研究対象からは除外した。患者の血中濃度データ、免疫抑制薬の投与量、臨床検査値、併用薬については電子カルテよりレトロスペクティブに収集し、収集したデータは成人 (>16歳) および小児 (≤16歳) の2群に分割した。また、成人の eGFR については下記の日本人における推算式を使用して算出した [64]。

$$eGFR = 194 \times Scr^{-1.094} \times Age^{-0.287} (\times 0.739 \text{ (if female)})$$

ここで、Scrは血清クレアチニン値を示す。また、小児の eGFR は下記の日本人小児における推算式を用いて算出した [65,66]。

$$\begin{cases} \text{refCr} = -1.259HT^5 + 7.815HT^4 - 18.57HT^3 + 21.39HT^2 - 11.71HT + 2.628 \text{ (male)} \\ \text{refCr} = -4.536HT^5 + 27.16HT^4 - 63.47HT^3 + 72.43HT^2 - 40.06HT + 8.778 \text{ (female)} \end{cases}$$

$$eGFR = \left(110.2 \times \left(\frac{\text{refCr}}{\text{Scr}} \right) + 2.93 \right) \times R \quad (\text{if Age} \leq 2 \text{ years})$$

$$R = 0.107 \times \ln(\text{Age(months)}) + 0.656$$

ここで、refCrはリファレンス Scr、HTは身長を示す。

電子カルテからは正確な内服時間および採血時間の情報を収集できなかったため、入院患者は7:00、外来患者は血中濃度の測定時点を採血タイミングとした。また、内服タイミングについては処方指示通り9:00/21:00の1日2回内服であると仮定し、外来患者で採血タイミングが9:00以降の場合は採血後に内服したと仮定した。エベロリムス全血中濃度は全自動電気化学発光免疫測定法 (Cobas;

Roche Diagnostics K. K., Tokyo Japan) により測定した。本研究はヘルシンキ宣言に則り実施され、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会の承認のもと行なった（承認番号 R0545-2）。

2) 母集団薬物動態モデルの構築

PPK 解析には NONMEM version 7.5.0 (ICON) を用い、first-order conditional estimation with interaction (FOCE-I) 法を用いて母集団薬物動態パラメータを推定した。構造モデルは 1-コンパートメントモデルを採用し、PK パラメータの個体間変動には指数誤差モデルを使用した。個体内変動は付加誤差、比例誤差および混合誤差モデルを検討し、ベイジアン情報基準 (BIC) が最も小さくなるものを最適なモデルとして選択した。本研究では吸収過程における血中濃度データは得られていないため、吸収速度定数 (k_a) は文献値より 6.07 h^{-1} に固定した [31]。体格の補正のため、見かけのクリアランス (CL/F) および見かけの分布容積 (V_d/F) にはそれぞれ体重の 0.75 乗、1 乗に比例するアロメトリー式を採用した [67]。

連続変数は、下記の式を用いてその影響を検討した。

$$\theta_{tv} = \theta_p \times (\text{COV}/\text{COV}_{\text{med}})^{\theta_{\text{cov}}}$$

ここで θ_{tv} は PK パラメータの典型値、 θ_p は推定されたパラメータの平均値、 θ_{cov} は共変量の影響の大きさ、COV は各患者における共変量の実測値、 COV_{med} はベースラインにおける共変量の中央値を示す。

また、カテゴリー変数は下記の式を用いてその影響を検討した。

$$\theta_{tv} = \theta_p \times \theta_{\text{cov}}^{\text{COV}}$$

ここで、COV は性別の検討の際は男性を 0、女性を 1 として、併用薬の有無についての検討の際は併用なしを 0、併用ありを 1 として設定した。

共変量探索では、まず、Forward inclusion ステップを行い、有意水準を $P < 0.05$ として有意な共変量を 1 つずつ組み込んだ中間モデルを得た後、Backward elimination ステップを行い、有意水準を $P < 0.01$ として有意でない共変量を 1 つずつ除外することで最終モデルとした [68]。さらにモデル選択の際にはパラメータ推定値の標準誤差および shrinkage についても考慮した。

3) モデル評価

最終モデルは goodness-of-fit plot および prediction-corrected visual predictive checks (pcVPC) を用いて評価した [69]。pcVPC では、オリジナルデータセットを用いて、1000 回のシミュレーションを行い、観測データの 2.5、50、97.5% 曲線を、シミュレーションデータの 2.5、50、97.5% およびその 95% 信頼区間に重ね合わせることで、視覚的に評価を行った。

さらに最終モデルのパラメータ推定値はブートストラップ法により評価した。ブートストラップでは最終モデル構築に使用した 87 人の患者データからランダムに 87 人の患者を復元抽出することで 500 通りのデータセットを作成し、NONMEM を用いて各データセットにおける PK パラメータを推定し、最終モデルにおける PK パラメータの推定値と比較した。

4) モンテカルロシミュレーション

最終モデルに基づいて体重、eGFR、性別およびフルコナゾールの併用がエベロリムスのトラフ血中濃度に与える影響を検討した。なお、最終モデルでは TDM に基づく投与量調節の影響を反映してエベロリムスの 1 日投与量と CL/F の間に相関 (TDM 効果) が生じているため、その影響を回避するためにシミュレーションでは 0.5 mg の 1 日 2 回投与におけるトラフ濃度を算出し、変動因子の影響を検討したシミュレーションでは、その変動因子以外は中央値で固定した。

5) エベロリムスの推定 CL/F とタクロリムスの D/C 比の比較

最終モデルに基づいた事後ベイズ推定によって個別の PK パラメータの推定を行った。エベロリムスの開始時点でタクロリムスを使用していた患者を対象とし、エベロリムス開始直前におけるタクロリムスの D/C 比を算出した。エベロリムスの推定 CL/F とタクロリムスの D/C 比の回帰直線を求め、決定係数 (R^2) を算出した。さらに、NONMEM を用いて再度共変量解析を行い、タクロリムスの D/C 比がエベロリムスの CL/F の共変量となるかについて検討を行った。

6) 小児へのモデルの外挿

最終モデルを利用し、小児での血中濃度予測を行い、実測値との比較を行った。OBSとPRED、OBS-PREDと年齢をプロットするとともに偏りと精度を評価するために、各人最初のサンプリングポイントにおける推定誤差 (prediction error ; PE)、平均推定誤差 (mean prediction error; MPE)、RMSEを下記の計算式で算出した [45]。

$$PE_i = OBS_i - PRED_i$$

$$MPE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N PE_i$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (PE_i)^2}$$

ここで、 PE_i 、 OBS_i および $PRED_i$ は i 番目の患者における PE、OBS、PRED を示し、 N は患者数を示す。

結果

第一節 成人肝移植患者におけるエベロリムスの PPK モデル構築

エベロリムス治療開始時点での患者背景をTable 3-1に示す。計100人の患者を対象とし、年齢に応じて成人 (>16歳) と小児 (≤16歳) に分割した。モデル構築には87人の成人患者から得られた937ポイントの血中濃度を使用し、小児への外挿には13人の小児患者から得られた373ポイントの血中濃度を使用した。併用薬剤のうち、エベロリムスの薬物動態に影響を与える可能性のある薬剤としてはシクロスポリン、フルコナゾール、プレドニゾロン、ニフェジピンが抽出され、観察期間中の併用患者数はそれぞれ5、21、40、6人であった。

ベースモデルの検討では、1-コンパートメントモデルがエベロリムスの血中濃度をよく再現した。個体間変動はCL/Fにのみ指数誤差モデルが組み込まれた。Vd/Fの個体間変動を計算したところ、shrinkageが49%と算出された。shrinkageは20-30%を超えると情報不足及び判断を誤らせる可能性が示唆されているため [70]、Vd/Fの個体間変動は除外することとした。残差変動については、付加誤差、比例誤差、混合誤差モデルを検討し、最もBICの低い混合誤差モデルをベースモデルとして選択した。共変量解析の結果、CL/Fの共変量としては、エベロリムス1日投与量 (TDD)、フルコナゾールの併用、eGFR、性別が抽出された。最終モデルを下記に示す。

$$CL/F \text{ (L/h)} = 6.89 \times \left(\frac{BW}{57}\right)^{0.75} \times \left(\frac{TDD}{1.0}\right)^{0.310} \times 0.823^{FLCZ} \times \left(\frac{eGFR}{55.2}\right)^{0.258} \times 1.23^{Female}$$

$$Vd/F \text{ (L)} = 312 \times \left(\frac{BW}{57}\right)$$

ここでBWは体重を示す。FLCZはフルコナゾールの併用時は1、非併用時は0、Femaleは女性で1、男性で0となる変数である。最終モデルのPPKパラメータの推定値、標準相対誤差、shrinkageをTable 3-2に示す。

Table 3-1 Patient characteristics at the first sampling point

Characteristics	Adult	Child
Male/Female, n	41/46	6/7
Age, years	60 (20–77)	6 (0.75–16)
Body weight, kg	57.0 (34.5–91.0)	16.9 (7.3–58.0)
Postoperative day, days	1865 (29–8092)	608 (19–5029)
Hematocrit, %	33.0 (18.8–51.4)	33.3 (22.5–47.2)
AST, U/L	26 (10–177)	45 (19–118)
ALT, U/L	23 (4–380)	66 (17–299)
Albumin, g/dL	3.8 (1.6–5.1)	3.8 (2.5–4.4)
eGFR, mL/min/1.73 m ²	55.2 (11.4–223.7)	129 (85.4–216)
Everolimus TDD, mg/day	1.0 (0.25–4.0)	0.5 (0.25–1.0)
Concomitant drug, n (%)		
Cyclosporine	5 (5.75)	1 (7.69)
Fluconazole	21 (24.1)	2 (15.4)
Prednisolone	40 (46.0)	11 (84.6)
Nifedipine	6 (6.90)	1 (7.69)

Values are presented as median (min-max) for continuous variables.

AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; eGFR, estimated glomerular filtration rate; TDD, total daily dose

Table 3-2 Population pharmacokinetic parameters of everolimus

Parameter	Final Model			Bootstrap results (N=500)	
	Estimate	RSE, %		Median	95% CI
$CL/F = \theta_1 \times (BW/57)^{0.75} \times (TDD/1.0)^{\theta_2} \times \theta_3^{FLCZ} \times (eGFR/55.2)^{\theta_4} \times \theta_5^{Female}$					
θ_1 (L/h)	6.89	4.63		6.89	6.23–7.65
θ_2 (TDM effect)	0.310	15.6		0.316	0.235–0.432
θ_3	0.823	5.13		0.820	0.722–0.903
θ_4	0.258	24.7		0.248	0.144–0.404
θ_5	1.23	6.24		1.23	1.10–1.39
$Vd/F = \theta_6 \times (BW/57)$					
θ_6 (L)	312	9.65		313	258–388
ka (1/h)	6.07 (Fixed)			6.07 (Fixed)	
Interindividual variability, CV%					
IIV for CL	Estimate	RSE, %	Shrinkage	Median	95% CI
	27.1	17.4	4.67	26.5	21.8–31.8
Residual variability,					
Proportional error, CV%	18.9	15.6	4.06	18.6	15.2–21.4
Additive error, ng/mL	0.495	40.7	4.06	0.499	0.281–0.684

BW, body weight; CI, confidence interval; CL/F, apparent clearance (L/h); CV, coefficient of variation; FLCZ, fluconazole; IIV, inter-individual variability; RSE, relative standard error; TDD, total daily dose (mg/day); Vd/F, apparent volume of distribution (L)

FLCZ is 1 when fluconazole is used concomitantly and 0 otherwise. Female is 1 for female patient and 0 for male patients.

ブートストラップは500回実行され、計算の成功率は100%であった。ブートストラップ法で算出されたPPKパラメータの中央値は最終モデルの推定値と同様の値を示し、最終モデルによるパラメータ推定値の頑健性が示された (Table 3-2)。最終モデルを用いたgoodness-of-fit plotをFigure 3-1に示す。OBSとPREDまたはIPREDのプロットには $y=x$ の直線に対して大きな偏りは認められず、CWRESとPRED、時間、最終投与後時間のプロットは0に対して均等に分布していた。また、pcVPCプロットをFigure 3-2に示す。

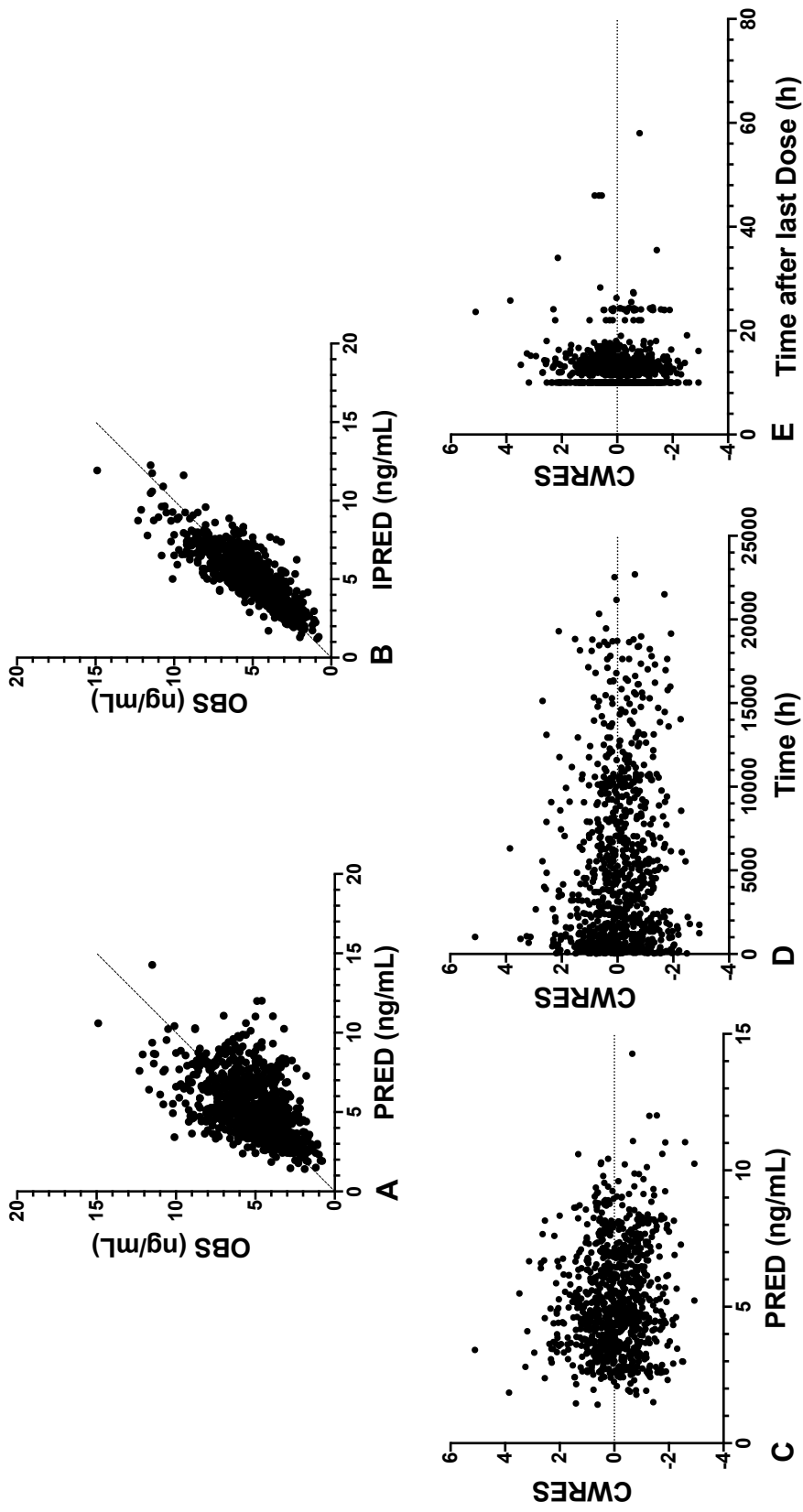


Figure 3-1 Goodness-of-fit plots for the final model.

The observed (OBS) vs PRED (A) and IPRED (B); Conditional weighted residuals (CWRES) vs PRED (C) and time (D) and time after last dosing (E); Each line

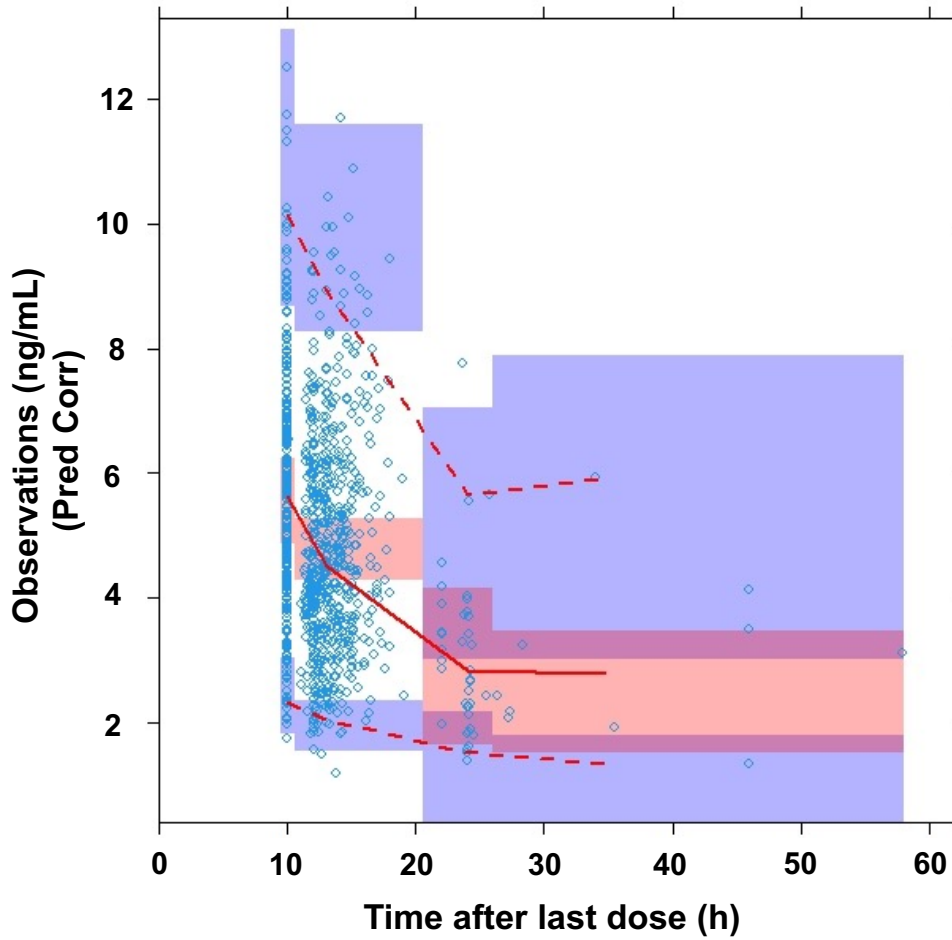


Figure 3-2 Prediction-corrected visual predictive checks (pcVPC) of everolimus observed data compared with 500-replication datasets obtained from the final model. Open circles represent the observed data. The solid and dotted lines denote the 50th and 2.5th or 97.5th percentiles of the observed data, respectively. The shaded areas denote the 95% confidence intervals of the 2.5th, 50th, and 97.5th percentiles of the simulated data.

第二節 モンテカルロシミュレーション

Figure 3-3 に様々な体重、eGFR、性別およびフルコナゾールの有無の背景を持つ仮想患者にエベロリムス 0.5 mg を 1 日 2 回投与した際のトラフ濃度の分布を示す。シミュレーションで得られた予測トラフ濃度の中央値は概ね有効血中濃度域である 3-8 ng/mL の範囲に入っていたが、男性で低体重の患者では有効域を超えており、女性で体重が大きくかつフルコナゾールを併用していないケースでは有効域を下回るといった結果となった。

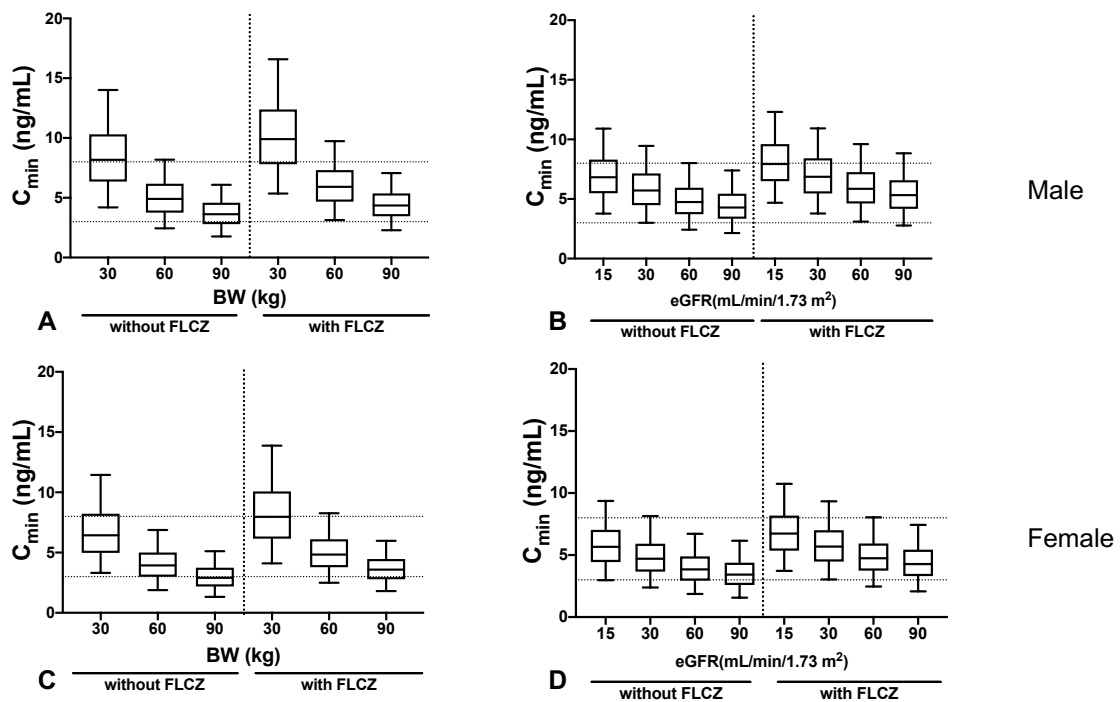


Figure 3-3 Simulation of trough concentration (C_{min}) of everolimus in the 5000-replication datasets in a typical patient receiving everolimus 0.5 mg twice daily classified by body weight (BW), eGFR, sex, and concomitant use of fluconazole (FLCZ). Each box plot represents the interquartile range and 90% prediction interval of the predicted trough concentration of everolimus.

第三節 エベロリムスとタクロリムスの薬物動態の比較

エベロリムス開始時点でタクロリムスを併用している症例は80人であった。Figure 3-4に最終モデルより事後ベイズ推定で得られた個別CL/Fの推定値とエベロリムス開始時点におけるタクロリムスD/C比との相関を示す。線形回帰の結果、R²値は0.330 (P<0.0001) と算出され、中等度の相関を示した。

さらにこのD/C比を共変量探索に加えた結果、タクロリムスのD/C比は有意な共変量として組み込まれ、改定された最終モデルは以下のとおりである。

$$CL/F \text{ (L/h)} = 7.04 \times \left(\frac{BW}{57}\right)^{0.75} \times \left(\frac{TDD}{1.0}\right)^{0.338} \times 0.803^{FLCZ} \times \left(\frac{eGFR}{55.2}\right)^{0.293} \times \left(\frac{D/C \text{ Tac}}{0.44}\right)^{0.230} \times 1.23^{Female}$$

$$Vd/F \text{ (L)} = 323 \times \left(\frac{BW}{57}\right)$$

タクロリムスのD/Cを共変量として組み込むことで、CL/Fの個体間変動は27.1%から23.4%に減少した。一方で、個体内変動の値は比例誤差が18.2%、付加誤差が0.510 ng/mLとほとんど変化はなかった。

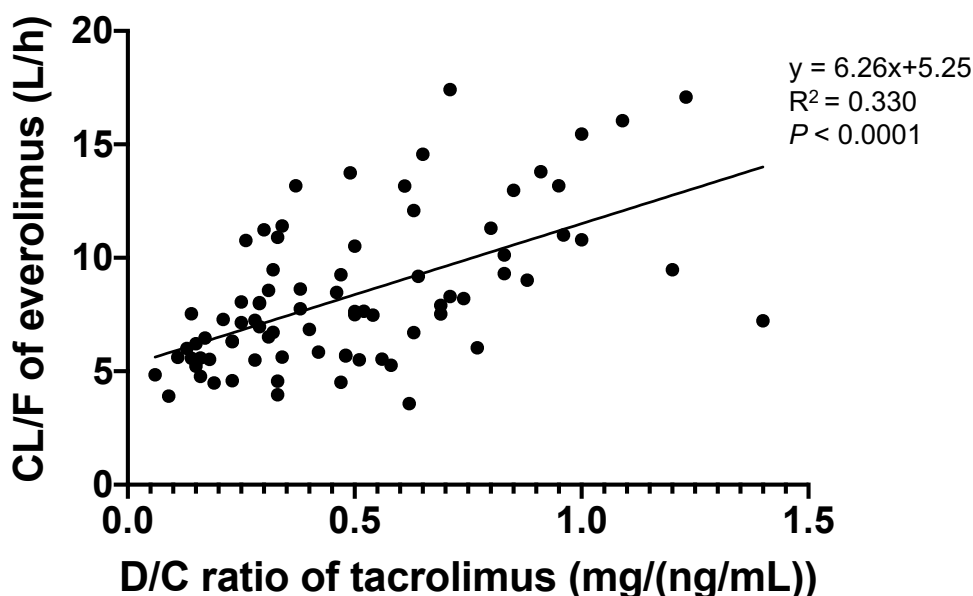


Figure 3-4 Correlation between the estimated individual apparent clearance (CL/F) of everolimus using the post-hoc Bayesian method using the final model and dose per trough concentration (D/C) ratio of tacrolimus in 80 patients.

第四節 小児への外挿

Figure 3-5には最終モデルを用いて13人の小児患者の血中濃度を予測した際の実測値 (OBS) と母集団予測値 (PRED)、OBS-PREDと年齢のプロットを示す。白丸で示す1人の患者でPREDとOBSの間に大きな乖離が見られた。この患者のエベロリムスの開始時の年齢は生後9か月で体重は7.7 kgであった。この患者ではOBS-PREDのプロットが特に2歳未満の時期に大きく負の方向に偏るといった結果となった (Figure 3-5b)。13人すべての患者を用いて計算したMPE及びRMSEは-0.918 (SD:2.44) 及び2.52 ng/mLであった。また、白丸で示す1患者のデータを除いた12人で計算したMPE及びRMSEは-0.333 (SD:1.28) 及び1.27 ng/mLであった。

また、大きく予測が外れた症例の詳細なエベロリムス投与量および血中濃度推移をFigure 3-6に示す。

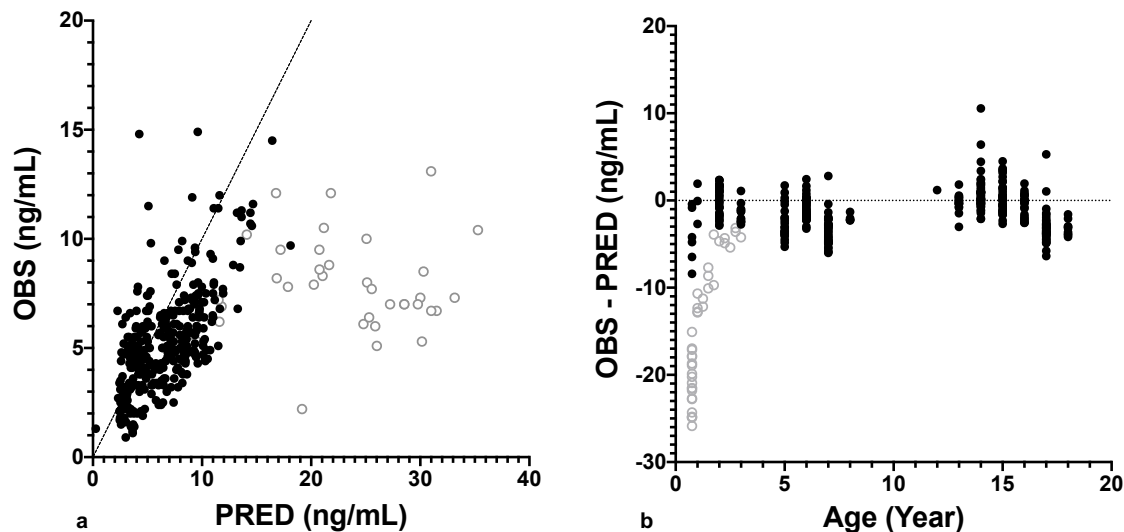


Figure 3-5 Goodness-of-fit plots for the pediatric patients using the final model.

The observed (OBS) *versus* PRED (a) and OBS minus PRED vs age (b); Each closed circle denotes the observed concentration in 12 patients. Each open circle denotes the observed concentration in the outlier patient.

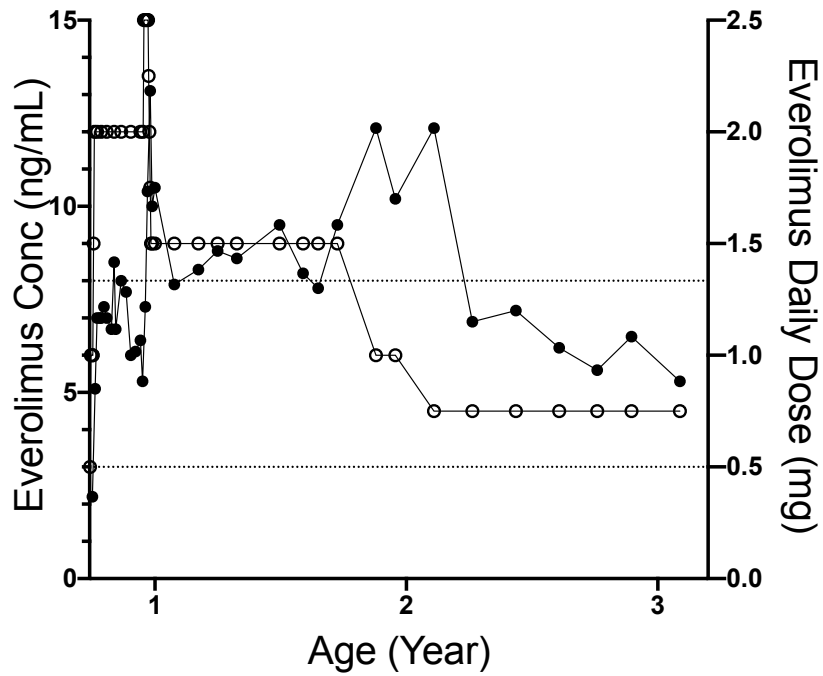


Figure 3-6 Everolimus concentration and dose profile in a pediatric patient whose observed concentrations were quite different to the estimated values. Closed circles denote the time-course data of everolimus concentrations. Open circles denote the time-course data of everolimus daily dose.

考察

本研究は、肝移植患者を対象としてエベロリムスのPPK解析を行った最初の報告である。PPK解析には日常診療で得られるTDMデータを使用し、eGFR、性別、フルコナゾールの併用の有無に加えてエベロリムスの1日投与量が共変量として抽出された。エベロリムスの1日投与量とフルコナゾールがエベロリムスのPKに影響を与えることはこれまでに報告されているが [32,71]、eGFRと性別の関与については本報告が初めてとなる。これまでに報告されている腎移植や心移植でのエベロリムスのPPK解析では体重40-131 kgの患者が対象となっており、その分布容積の推定値は110-646 Lであった [21,32,71]。本研究では体重34.5-91 kgの患者が含まれており、その分布容積は5.5 L/kgという結果となった。この値は過去の報告と大きな差はない。一方で腎や心移植患者において、CL/Fは併用薬の影響を除いた場合13.5-17.9 L/hと報告されており [32,72]、この値は今回推定された肝移植患者での推定CL/F (6.89 L/h) と比較して大きい。第II章でも示したように肝移植患者では他の臓器移植患者と比べてCL/Fがやや低値を示すことが示唆されており、この低いCL/Fの推定値は移植臓器の違いに起因すると考えられる。

エベロリムスは主にCYP3Aで代謝を受け、未変化体で尿中に排泄される割合は少ないとされているが [5]、本研究ではeGFRと正の相関があるという結果となった。エベロリムスと同様に主にCYP3Aで代謝を受け、腎排泄率の小さいタクロリムスにおいて、過去にCLと血清クレアチニンが負の相関を持つという報告がされている [19,47,73]。また、腎障害時に生じる尿毒症物質がCYP3Aの活性を低下させるという報告もある [74]。これらの知見から、エベロリムスのように主に肝代謝を受ける薬剤であっても、腎障害の程度に応じて代謝能が低下する可能性は考えられる。しかし、エベロリムスの添付文書上では腎機能低下時の用量調節についての記載はないため、腎障害の影響についてはさらなる検討が必要である。本研究では女性の方がCL/Fが1.23倍大きいと推定された。ヒト肝ミクロソームを用いて行われた実験では、女性のミクロソームの方が男性と比べてCYP3A4酵素量及び活性が1.2 - 2.0倍大きいことが報告されており [75-78]、本結果はこの報告と一致している。

さらに、エベロリムスの1日投与量がCL/Fの有意な因子として抽出された。本研究では日常診療として行われているエベロリムスのTDMデータを使用している。TDMでは測定結果をもとにトラフ血中濃度が有効濃度域に入るように投与量の調節がなされるため、相対的にCLが高い患者ではエベロリムスの1日投与量を多くするような調節が行われる。このTDMによる投与量調節の結果、TDMに起因するエベロリムスの1日投与量とCL/Fの間に相関（TDM効果）が生じているものと考えられる。Ahnらが提言するように、このTDM効果は精密なTDMの結果生じているものであり、エベロリムスCL/Fとエベロリムスの1日投与量が非線形の関係にあるわけではないことに注意が必要である [79]。

最終モデルを用いたシミュレーションの結果、0.5 mg を1日2回投与することで、検討したほとんどのケースで推定トラフ濃度の中央値を有効治療域に収めることができた。エベロリムスの添付文書では肝移植患者での初期投与量は1.0 mgを1日2回投与と記載されているが、本研究の結果からより少ない投与量で有効血中濃度に収まることを明らかとした。本結果は単一施設における結果であるため、正確な必要投与量の決定には、さらなる検討が必要である。また、エベロリムスがシクロスポリンと相互作用を起こすことはよく知られているが [72]、本研究ではその影響を検出することができなかった。これはシクロスポリンの併用症例が少なかったことが原因と考えられる。

推定されたエベロリムスのCL/FとタクロリムスのD/C比の関係をFigure3-4に示す。腎移植後1年の患者における過去の報告でタクロリムスとエベロリムスのAUC/Dの間にはCYP3A5*1 アレル保有者で $R^2=0.587$ 、CYP3A5*3/*3の患者で $R^2=0.396$ の相関関係が報告されている [63]。この報告について、WebPlotDigitizer ver 4.4

(<https://automeris.io/WebPlotDigitizer>) を用いてプロットを抽出し、遺伝子多型を考慮せず全例で回帰直線を描き決定係数を算出すると、 $R^2=0.285$ と本研究と同程度の相関関係が得られる。また、エベロリムス開始前および開始後のタクロリムスのD/C比は0.49 (SD:0.30) および0.51 (SD:0.32) mg/(ng/mL)であり、統計的な有意差はなく ($P=0.366$) エベロリムスはタクロリムスの薬物動態に影響しないと考えられる。さらに、共変量解析の結果、タクロリムスのD/C比はエベロリムスのCL/Fの有意な共変量として抽出された。以上のことから、エベロリムス導入時にタクロリムスを

併用している場合、事前情報としてタクロリムスのD/C比を考慮に入れることで、エベロリムスの初期投与量設計に役に立つ可能性がある。

最終モデルで小児患者の血中濃度を推定した結果、その推定精度は1症例を除いて、十分に高いことが示された (Figure 3-5)。この推定が外れている症例では2歳未満でOBS-PREDに大きな負の偏りが観測された。実際にこの症例では、血中濃度を有効濃度域に維持するために必要な投与量は開始時点では2.0 mg/dayであったが、その後成長に応じて1.5 mg/day、最終的には0.75 mg/dayまで低下した (Figure 3-6)。このことから、この患者ではCL/Fが1歳未満の段階では大きく、次第に低下していることがわかる。このようなCL/Fの推移を示す理由について詳細な機序は不明だが、幼児期におけるFの値が小さい可能性や、タクロリムスの研究で報告があるように小児肝移植患者では成人と比較して大きな肝臓が移植されるため移植直後の相対的なCLが大きいことなどが考えられる [80]。以上のことから、成人において構築した最終モデルは体重のアロメトリー式を採用しており、小児へと外挿することが概ね可能であるが、乳児期に関してはエベロリムスの薬物動態、主として吸収が異なる可能性があるため注意が必要である。

以上をまとめると、日常診療のTDMデータを使用して、肝移植患者におけるエベロリムスのPPK解析を行うことによって、eGFR、性別、フルコナゾールの併用の有無がエベロリムスのCL/Fに影響を与えることを明らかにした。さらにTDM効果を組み込むことによってモデルの適合度は改善した。また、エベロリムスの推定個別CL/FはタクロリムスのD/C比と中等度の相関があることを示した。したがって、事前情報としてのタクロリムスのD/C比はエベロリムスの初期投与設計に有用である可能性がある。また、作成したPPKモデルは概ね小児患者への外挿も可能であるが、乳児期の患者ではさらなる検討が必要である。

結論

以上、3章にわたり、著者は免疫抑制薬の薬物動態についてファーマコメトリクスを駆使した解析を行い、以下の結論を得た。

第I章では、生体肝移植患者を対象としたタクロリムスのPBPKモデルを作成し、肝クリアランスは移植後早期に回復すること及び、移植肝と小腸のCYP3A5遺伝子多型は共にタクロリムスの見かけのクリアランスに同程度の割合で影響を与えることを定量的に明らかとした。

第II章では、腎移植患者を対象としたタクロリムスの経時的採血データを使用し、吸収相を考慮したPBPKモデルを構築した。さらに、作成したモデルの生体データを軽度肝障害患者へと変更することにより、肝移植患者へのモデルの外挿が可能であることを見出した。

第III章では、成人肝移植患者を対象としたPPK解析に基づくモデリング&シミュレーションの結果、肝移植患者ではエベロリムスの添付文書記載の半量で治療域に達することや、乳児以外の小児患者へのモデルの適用性について実証することができた。また、エベロリムスとタクロリムスの薬物動態の相関性を明らかにした。

以上、申請者は、臓器移植患者における免疫抑制薬タクロリムス及びエベロリムスのTDMデータを用いたPBPK及びPPKモデル解析を行い、移植臓器の特徴に応じた薬物動態変動要因を明らかにし、個別化投与設計に関する有用な新知見を得た。免疫抑制薬に適用したファーマコメトリクス手法は、臨床データ収集に制限のあるスペシャルポピュレーションにおける薬物動態予測に有用な方法論であり、得られた成果は薬物療法の個別化・精密化に寄与するものである。

論文目録

本研究の内容は、以下の論文に発表した。

Itohara K, Yano I, Tsuzuki T, Uesugi M, Nakagawa S, Yonezawa A, Okajima H, Kaido T, Uemoto S, Matsubara K. A minimal physiologically-based pharmacokinetic model for tacrolimus in living-donor liver transplantation: Perspectives related to liver regeneration and the *cytochrome P450 3A5* (*CYP3A5*) genotype. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2019; 8(8): 587-595.

Itohara K, Yano I, Nakagawa S, Yonezawa A, Omura T, Imai S, Nakagawa T, Sawada A, Kobayashi T, Tochio A, Sakai K, Taura K, Ogawa O, Matsubara K. Extrapolation of physiologically based pharmacokinetic model for tacrolimus from renal to liver transplant patients. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2022; 42: 100423.

Itohara K, Yano I, Nakagawa S, Sugimoto M, Hirai M, Yonezawa A, Imai S, Nakagawa T, Hira D, Ito T, Hata K, Hatano E, Terada T, Matsubara K. Population pharmacokinetics of everolimus in adult liver transplant patients: Comparison to tacrolimus disposition and extrapolation to pediatrics. *Clin Transl Sci*. 2022; 15(11): 2652-2662

謝辞

終わりに臨み、本研究に際してご指導、ご鞭撻を賜りました京都大学医学部附属病院薬剤部 寺田 智祐 教授に衷心より深甚なる謝意を表します。また、研究全般にわたる多大な御支援、御指導、御鞭撻を賜りました神戸大学医学部附属病院薬剤部 矢野 育子 教授、和歌山県立医科大学薬学部 松原 和夫 教授に謹んで深謝いたします。

さらに、研究遂行にあたり種々の有益なご助言とご指導を戴きました京都大学大学院薬学研究科 米澤 淳 准教授、京都大学医学部附属病院薬剤部中川 貴之 准教授、今井 哲司 講師、中川 俊作 助教、平 大樹 助教並びに神戸大学医学部附属病院薬剤部 大村 友博 准教授に深く感謝いたします。

また、臨床検体並びに臨床情報の提供にご協力くださいました滋賀医科大学 上本 伸二 学長、聖路加国際病院 消化器・一般外科 海道 利実 部長、金沢医科大学 医学部 小児外科学 岡島 英明 教授、京都大学医学部附属病院 肝胆膵移植外科 波多野 悦朗 教授、秦 浩一郎 准教授、伊藤 孝司 講師、同 泌尿器科 小川 修 名誉教授、小林 恭 教授、澤田 篤郎 講師、同 腎臓内科 坂井 薫 助教、公益財団法人田附興風会 医学研究所 腫瘍研究部 田浦 康二郎 研究主幹、並びに日本赤十字社 和歌山医療センター 腎臓内科 栃尾 明 医師に感謝いたします。

そして、臨床データの収集および TDM 室での血中濃度測定をご担当くださいました京都大学医学部附属病院 薬剤部 杉本 充弘 主任、上杉 美和 薬剤師、都築 徹 薬剤師、平井 真智子 薬剤師をはじめ多くのご指導・ご助言を戴きました京都大学医学部附属病院薬剤部諸氏に心より感謝致します。

引用文献

1. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, *et al.* Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet.* 1995; 29(6): 404-430.
2. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2004; 43(10): 623-653.
3. Masuda S, Inui K. An up-date review on individualized dosage adjustment of calcineurin inhibitors in organ transplant patients. *Pharmacol Ther.* 2006; 112(1): 184-198.
4. Kahan BD, Keown P, Levy GA, Johnston A. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Ther.* 2002; 24(3): 330-350; discussion 329
5. Kirchner GI, Meier-Wiedenbach I, Manns MP. Clinical pharmacokinetics of everolimus. *Clin Pharmacokinet.* 2004; 43(2): 83-95.
6. Sheiner LB, Rosenberg B, Marathe VV. Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data. *J Pharmacokinet Biopharm.* 1977; 5(5): 445-479.
7. Grasela Jr. TH, Sheiner LB. Pharmacostatistical modeling for observational data. *J Pharmacokinet Biopharm.* 1991; 19(S3): S25-S36.
8. Mould DR, Upton RN. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development—Part 2: Introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2013; 2(4): e38.
9. FDA Guidance for Industry. Population Pharmacokinetics Guidance for Industry. July 2019 <https://www.fda.gov/media/128793/download>, [accessed 13 October 2022].
10. 母集団薬物動態/薬力学解析ガイドライン. 薬生薬審発 0515 第 1 号 令和元年 5 月 15 日 <https://www.pmda.go.jp/files/000229625.pdf>, (2022 年 10 月 13 日閲覧)
11. Huang SM, Rowland M. The role of physiologically based pharmacokinetic modeling in regulatory review. *Clin Pharmacol Ther.* 2012; 91(3): 542-549.

12. 生理学的薬物速度論モデルの解析報告書に関するガイドライン. 薬生薬審発 1221 第 1 号 令和 2 年 12 月 21 日
<https://www.mhlw.go.jp/hourei/doc/tsuchi/T201222I0040.pdf>, (2022 年 10 月 13 日閲覧)
13. Bruggeman FJ, Westerhoff HV. The nature of systems biology. *Trends Microbiol.* 2007; 15(1): 45-50.
14. Sager JE, Yu J, Ragueneau-Majlessi I, Isoherranen N. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation approaches: a systematic review of published models, applications, and model verification. *Drug Metab Dispos.* 2015; 43(11): 1823-1837.
15. Stataz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: part I. *Clin Pharmacokinet.* 2010; 49(3): 141-175.
16. Hebert MF. Contribution of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 1997; 27(2-3): 201-214.
17. Fukudo M, Yano I, Masuda S, et al. Population pharmacokinetic and pharmacogenomic analysis of tacrolimus in pediatric living-donor liver transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther.* 2006; 80(4): 331-345.
18. Antignac M, Hulot JS, Boleslawski E, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in full liver transplant patients: modelling of the post-operative clearance. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005; 61(5-6): 409-416.
19. Fukatsu S, Yano I, Igarashi T, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult recipients receiving living-donor liver transplantation. *Eur J Clin. Pharmacol.* 2001; 57(6-7): 479-484.
20. Fukudo M, Yano I, Yoshimura A, et al. Impact of MDR1 and CYP3A5 on the oral clearance of tacrolimus and tacrolimus-related renal dysfunction in adult living-donor liver transplant patients. *Pharmacogenet Genomics.* 2008; 18(5): 413-423.
21. Lu YX, Su QH, Wu KH, et al. A population pharmacokinetic study of tacrolimus in healthy Chinese volunteers and liver transplant patients. *Acta Pharmacol Sin.* 2015; 36(2): 281e8.

22. Shao J, Wang C, Fu P, Chen F, Zhang Y, Wei J. Impact of donor and recipient *CYP3A5**3 genotype on tacrolimus population pharmacokinetics in Chinese adult liver transplant recipients. *Ann Pharmacother*. 2020; 54(7): 652-661.
23. Chen B, Shi HQ, Liu XX, et al. Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of tacrolimus exposure in Chinese liver transplant patients. *J Clin Pharm Ther*. 2017; 42(6): 679-688.
24. Nanga TM, Doan TTP, Marquet P, Musuamba FT. Toward a robust tool for pharmacokinetic-based personalization of treatment with tacrolimus in solid organ transplantation: a model-based meta-analysis approach. *Br J Pharmacol*. 2019; 85(12): 2793-2823.
25. Meric-Bernstam F, Gonzalez-Angulo AM. Targeting the mTOR signaling network for cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2009; 27(13): 2278-2287.
26. ノバルティスファーマ：サーティカン®添付文書 (2019年7月改訂 (第1版))
27. Lee SG, Jeng LB, Saliba F, et al. Efficacy and safety of everolimus with reduced tacrolimus in liver transplant recipients: 24-month results from the pooled analysis of 2 randomized controlled trials. *Transplantation*. 2021; 105(7): 1564-1575.
28. Fischer L, Saliba F, Kaiser GM, et al. Three-year outcomes in de novo liver transplant patients receiving everolimus with reduced tacrolimus: follow-up results from a randomized, multicenter study. *Transplantation*. 2015; 99(7): 1455-1462.
29. Saliba F, De Simone P, Nevens F, et al. Renal function at two years in liver transplant patients receiving everolimus: results of a randomized, multicenter study. *Am J Transplant*. 2013; 13(7): 1734-1745.
30. De Simone P, Nevens F, De Carlis L, et al. Everolimus with reduced tacrolimus improves renal function in de novo liver transplant recipients: a randomized controlled trial. *Am J Transplant*. 2012; 12(11): 3008-3020.
31. Kovarik JM, Hsu CH, McMahon L, Berthier S, Rordorf C. Population pharmacokinetics of everolimus in de novo renal transplant patients: impact of ethnicity and comedication. *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 70(3): 247-254.

32. Moes DJ, Press RR, den Hartigh J, van der Straaten T, de Fijter JW, Guchelaar HJ. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of everolimus in renal transplant patients. *Clin Pharmacokinet.* 2012; 51(7): 467-480.
33. Haga J, Shimazu M, Wakabayashi G, et al. Liver regeneration in donors and adult recipients after living donor liver transplantation. *Liver Transpl.* 2008; 14(12): 1718-1724.
34. Yagi S, Iida T, Taniguchi K, et al. Impact of portal venous pressure on regeneration and graft damage after living-donor liver transplantation. *Liver Transpl.* 2005; 11(1): 68-75.
35. Iida T, Isaji S, Yagi S, et al. Assessment of liver graft function and regeneration by galactosyl-human serum albumin (99mTc-GSA) liver scintigraphy in adult living-donor liver transplantation. *Clin Transplant.* 2009; 23(2): 271-277.
36. Marcos A, Fisher RA, Ham JM, et al. Liver regeneration and function in donor and recipient after right lobe adult to adult living donor liver transplantation. *Transplantation.* 2000; 69(7): 1375-1379.
37. Akamatsu N, Sugawara Y, Tamura S, et al. Regeneration and function of hemiliver graft: right versus left. *Surgery.* 2006; 139(6): 765-772.
38. Uesugi M, Kikuchi M, Shinke H, et al. Impact of cytochrome P450 3A5 polymorphism in graft livers on the frequency of acute cellular rejection in living-donor liver transplantation. *Pharmacogenet Genomics.* 2014; 24(7): 356-366.
39. Hashi S, Masuda S, Kikuchi M, et al. Assessment of four methodologies (microparticle enzyme immunoassay, chemiluminescent enzyme immunoassay, affinity column-mediated immunoassay, and flow injection assay-tandem mass spectrometry) for measuring tacrolimus blood concentration in Japanese liver transplant recipients. *Transplant Proc.* 2014; 46(3): 758-760.
40. Gertz M, Houston JB, Galetin A. Physiologically based pharmacokinetic modeling of intestinal first-pass metabolism of CYP3A substrates with high intestinal extraction. *Drug Metab Dispos.* 2011; 39(9): 1633-1642.
41. Gertz M, Harrison A, Houston JB, Galetin A. Prediction of human intestinal first-pass metabolism of 25 CYP3A substrates from in vitro clearance and permeability data. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38(7): 1147-1158.

42. Dai Y, Hebert MF, Isoherranen N, et al. Effect of *CYP3A5* polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug Metab Dispos.* 2006; 34(5): 836-847.
43. Barter ZE, Perrett HF, Yeo KR, et al. Determination of a quantitative relationship between hepatic *CYP3A5**1/*3 and *CYP3A4* expression for use in the prediction of metabolic clearance in virtual populations. *Biopharm Drug Dispos.* 2010; 31(8-9): 516-532.
44. Achour B, Barber J, Rostami-Hodjegan A. Expression of hepatic drug-metabolizing cytochrome p450 enzymes and their intercorrelations: a meta-analysis. *Drug Metab Dispos.* 2014; 42(8): 1349-1356.
45. Sheiner LB, Beal SL. Some suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinet Biopharm.* 1981; 9(4): 503-512.
46. Fukudo M, Yano I, Fukatsu S, et al. Forecasting of blood tacrolimus concentrations based on the Bayesian method in adult patients receiving living-donor liver transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2003; 42(13): 1161-1178.
47. Jacobson P, Ng J, Ratanatharathorn V, Uberti J, Brundage RC. Factors affecting the pharmacokinetics of tacrolimus (FK506) in hematopoietic cell transplant (HCT) patients. *Bone Marrow Transplant.* 2001; 28(8): 753-758.
48. Antignac M, Barrou B, Farinotti R, Lechat P, Urien S. Population pharmacokinetics and bioavailability of tacrolimus in kidney transplant patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2007; 64(6): 750-757.
49. Floren LC, Bekersky I, Benet LZ, et al. Tacrolimus oral bioavailability doubles with coadministration of ketoconazole. *Clin Pharmacol Ther.* 1997; 62(1): 41-49.
50. Press RR, Ploeger BA, den Hartigh J, et al. Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimize early exposure in adult kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit.* 2009; 31(2): 187-197.
51. Custodio JM, Wu CY, Benet LZ. Predicting drug disposition, absorption/elimination/transporter interplay and the role of food on drug absorption. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008; 60(6): 717-733.

52. Størset E, Holford N, Midtvedt K, et al. Importance of hematocrit for a tacrolimus target concentration strategy. *Eur J Clin Pharmacol*. 2014; 70(1): 65-77.
53. Yano I, Masuda S, Egawa H, et al. Significance of trough monitoring for tacrolimus blood concentration and calcineurin activity in adult patients undergoing primary living-donor liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol*. 2012; 68(3): 259-266.
54. Guo Y, Lucksiri A, Dickinson GL, Vuppalandhi RK, Hilligoss JK, Hall SD. Quantitative prediction of CYP3A4- and CYP3A5-mediated drug interactions. *Clin Pharmacol Ther*. 2020; 107(1): 246-256.
55. Yu LX, Amidon GL. A compartmental absorption and transit model for estimating oral drug absorption. *Int J Pharm*. 1999; 186(2): 119-125.
56. Ando H, Izawa S, Hori W, Nakagawa I. Utility of a single adjusting compartment: a novel methodology for whole body physiologically-based pharmacokinetic modelling. *Theor Biol Med Model*. 2008; 5: 19.
57. Abduljalil K, Cain T, Humphries H, Rostami-Hodjegan A. Deciding on success criteria for predictability of pharmacokinetic parameters from in vitro studies: an analysis based on in vivo observations. *Drug Metab Dispos*. 2014; 42(9): 1478-1484.
58. Satoh S, Kagaya H, Saito M, et al. Lack of tacrolimus circadian pharmacokinetics and CYP3A5 pharmacogenetics in the early and maintenance stages in Japanese renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 2008; 66(2): 207-214.
59. Japanese FK 506 Study Group. Japanese study of kidney transplantation: 1. Results of early phase II study. *Transpl Int*. 1992; 5(Suppl 1): S524-548.
60. US FDA, CDER. Guidance for Industry. Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. 2017.
61. Zhu L, Yang J, Zhang Y, Jing Y, Zhang Y, Li G. Effects of CYP3A5 genotypes, ABCB1 C3435T and G2677T/A polymorphism on pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese adult liver transplant patients. *Xenobiotica*. 2015; 45(9): 840-846.
62. Ojo AO, Held PJ, Port FK, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med*. 2003; 349(10): 931-940.

63. Kagaya H, Niioka T, Saito M, et al. Prediction of tacrolimus exposure by CYP3A5 genotype and exposure of co-administered everolimus in Japanese renal transplant recipients. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(3): 882.
64. Matsuo S, Imai E, Horio M, et al. Revised equations for estimated GFR from serum creatinine in Japan. *Am J Kidney Dis*. 2009; 53(6): 982-992.
65. Uemura O, Nagai T, Ishikura K, et al. Creatinine-based equation to estimate the glomerular filtration rate in Japanese children and adolescents with chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*. 2014; 18(4): 626-633.
66. Gotoh Y, Uemura O, Fujita N, et al. Validation of the estimated glomerular filtration rate equation for Japanese children younger than 2 years. *Clin Exp Nephrol*. 2022; 26(3): 266-271.
67. Anderson BJ, Holford NH. Mechanism-based concepts of size and maturity in pharmacokinetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2008; 48: 303-332.
68. Mould DR, Upton RN. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2013; 2(4): e38.
69. Bergstrand M, Hooker AC, Wallin JE, Karlsson MO. Prediction-corrected visual predictive checks for diagnosing nonlinear mixed-effects models. *AAPS J*. 2011; 13(2): 143-151.
70. Savic RM, Karlsson MO. Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: problems and solutions. *AAPS J*. 2009; 11(3): 558-569.
71. Nakagita K, Wada K, Terada Y, et al. Effect of fluconazole on the pharmacokinetics of everolimus and tacrolimus in a heart transplant recipient: case report. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2018; 56(6): 270-276.
72. Lemaitre F, Beziau E, Goldwirth L, et al. Population pharmacokinetics of everolimus in cardiac recipients: comedications, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms. *Ther Drug Monit*. 2012; 34(6): 686-694.

73. Andrews LM, Hesselink DA, van Schaik RHN, et al. A population pharmacokinetic model to predict the individual starting dose of tacrolimus in adult renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 2019; 85(3): 601-615.
74. Nolin TD, Appiah K, Kendrick SA, Le P, McMonagle E, Himmelfarb J. Hemodialysis acutely improves hepatic CYP3A4 metabolic activity. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17(9): 2363-2367
75. Wolbold R, Klein K, Burk O, et al. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology*. 2003; 38(4): 978-988.
76. Hunt CM, Westerkam WR, Stave GM. Effect of age and gender on the activity of human hepatic CYP3A. *Biochem Pharmacol*. 1992; 44(2): 275-283.
77. Parkinson A, Mudra DR, Johnson C, Dwyer A, Carroll KM. The effects of gender, age, ethnicity, and liver cirrhosis on cytochrome P450 enzyme activity in human liver microsomes and inducibility in cultured human hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004; 199(3): 193-209.
78. Schirmer M, Rosenberger A, Klein K, et al. Sex-dependent genetic markers of CYP3A4 expression and activity in human liver microsomes. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(5): 443-453.
79. Ahn JE, Birnbaum AK, Brundage RC. Inherent correlation between dose and clearance in therapeutic drug monitoring settings: possible misinterpretation in population pharmacokinetic analyses. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2005; 32(5-6): 703-718.
80. Shoji K, Miyairi I, Inoue E, Fukuda A, Sakamoto S, Kasahara M. Graft-to-recipient weight ratio associated with tacrolimus metabolism following pediatric living donor liver transplantations. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2019; 24(2): 138-147

