

10. G. Lappin and R. C. Garner, *Anal. Bioanal. Chem.*, 378, 356-364, 2004.
11. P. Williams et al, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 71, 75-81, 2002.
12. G. Young, W. Ellis et al, *Xenobiotica*, 31, 619-632, 2000.
13. J. S. Fowler, N. D. Volkow et al, *J. Nucl. Med.*, 40, 1154-1163, 1999.
14. A. M. J. Paans and W. Vaalburg, *Curr. Pharm. Des.*, 6, 1583-1591, 2000.
15. M. Bergstrom, A. Grahnén and B. Langstrom, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 58, 357-366, 2003.

開発初期における RI 標識薬物を 用いたヒト薬物動態試験

—新規キサンチンオキシダーゼ阻害薬 [¹⁴C] Y-700マスバランス試験への AMS の応用—

山田一磨¹⁾, 居波昌樹¹⁾, 佐藤芳昭²⁾, 郡司忍²⁾,
濱邊好美³⁾, 松井隆雄³⁾

¹⁾三菱ウェルファーマ株式会社

²⁾第一化学薬品株式会社 薬物動態研究所

³⁾株式会社 加速器分析研究所

1) はじめに

近年、欧州では数種の新薬候補品の中から薬物動態学的により良い候補品を選択することを目的としたヒトマイクロドージング試験のガイドライン¹⁾が制定された。その分析手段として AMS (Accelerator Mass Spectrometry) や PET (Positron Emission Tomography) などの超高感度分析法の利用が推奨されている²⁾⁻⁴⁾。極微量の RI 標識薬物を用いたヒト単回 microdose 試験は、ヒトの薬物動態に関するデータが医薬品開発の初期段階で入手できる画期的な提案である。薬物動態には種差が存在し、ラット、イヌの成績がヒトと一致することはまれである。ヒト単回 microdose 試験にはメリット、デメリットが存在するが、ヒト組織を用いた *in vitro* 試験との融合により、望ましい候補化合物を選択することは可能であろう。いずれにしても研究開発の

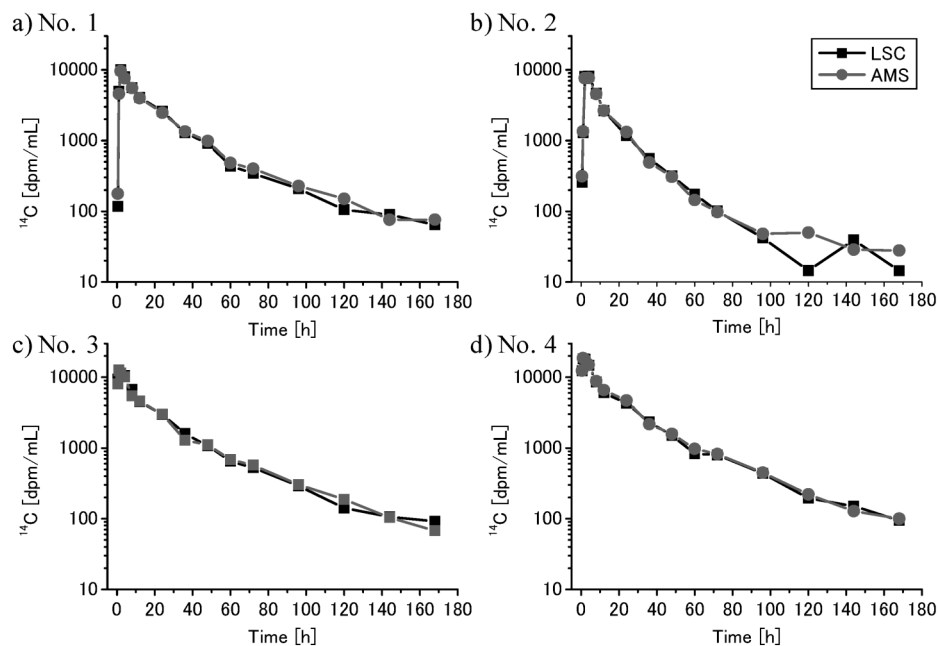


Fig. 1. Plasma concentration-time profiles of total radioactivity measured by AMS or LSC in 4 male healthy volunteers after a single oral administration of [¹⁴C]-Y-700 at a dose of 20 mg.

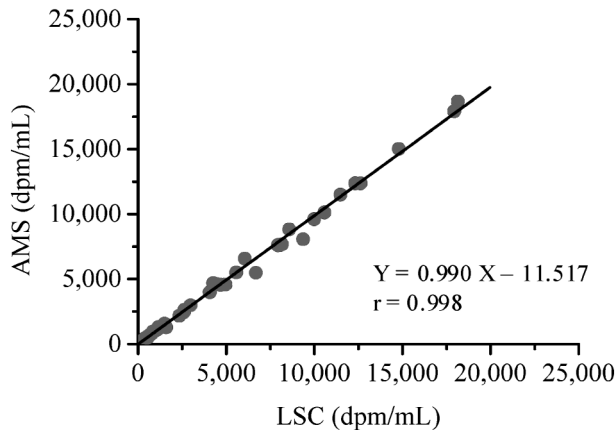


Fig. 2. Relationship of plasma total radioactivity between AMS and LSC measurement

より早い段階でヒト体内動態データを得ることは、薬物動態の種差に起因する医薬品候補化合物の開発中止のリスクを回避することができるとともに、R&Dのスピードアップ、コストダウンにも繋がる。

ヒト単回 microdose 試験における分析法の一つとして上述の如く AMS が推奨されているが、その分析法の応用例については十分な報告数とはいえない。今回、非腎排泄型の新規キサンチンオキシダーゼ阻害薬として開発中の Y-700⁵⁾ のヒトマスバランス試験⁶⁾ で採取した血漿、尿、糞試料を 100~10,000 倍希釈した後 AMS で測定した。AMS 分析で得られた測定値と既存の LSC 分析の測定値を比較することにより、AMS 法の有用性について検証した。

2) 試験方法

¹⁴C 標識 Y-700 (約 3 MBq, 85 μCi) を健康成人男性に 20 mg 単回経口投与した。血漿、尿および糞を投与後 168 時間まで経時的に採取した。各生体試料中 ¹⁴C 量を LSC 法と AMS 法で測定した。

AMS 法は LSC 法と比較して 1,000 倍以上の感度を備えているため、当該試料を 100~10,000 倍に超純水または当該のブランク試料で希釈した。また、所定の時間における血漿、尿および糞中の代謝物プロファイルを検査するため、放射能量で約 0.3 Bq (約 20 dpm) の試料を HPLC に注入して、各画分を採取した。全ての測定試料はグラファイト化した後、AMS 測定に供した。

3) 結果および考察

3-1) 血漿中濃度

血漿試料を 100~1,000 倍希釈した後、試料中 ¹⁴C 量を AMS 測定した。得られた血漿中放射能濃度時間推移 (n=4) と別途測定した LSC の結果を Fig. 1 に示した。バックグ

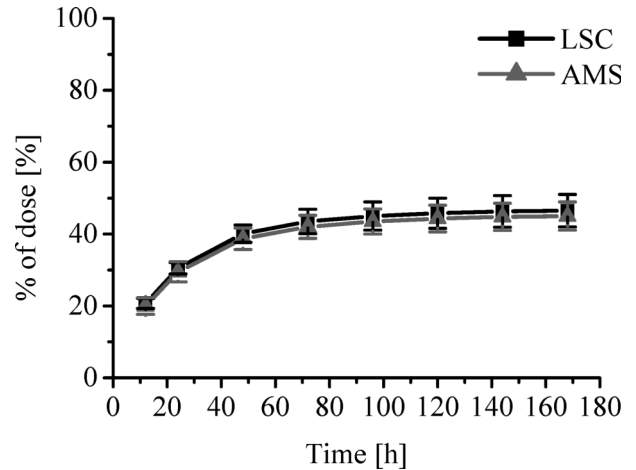


Fig. 3. Cumulative excretions of total radioactivity in urine measured by AMS or LSC in healthy male volunteers after a single oral administration of [¹⁴C]-Y-700 at a dose of 20 mg

Each point represents mean and bars indicate S.D. (n=4)

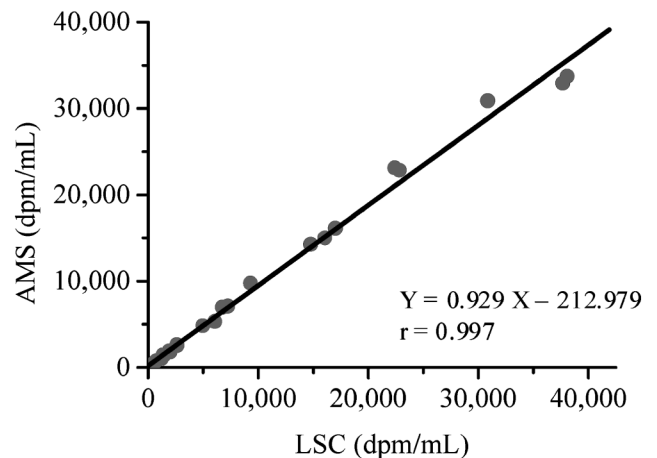


Fig. 4. Relationship of urine total radioactivity between AMS and LSC measurement

ラウンドとして、各被験者から採取した pre-dose 試料中の天然 ¹⁴C 量を用いた。被験者 No. 2 において、120 時間以降の血漿中 ¹⁴C 量の時間変化に差を認めた。この差は、LSC 法で得られた値がその定量限界付近かそれ以下であるために生じたと考えられる。

血漿試料における定量限界値は 1.3 dpm/mL であった。今回測定した血漿中 ¹⁴C 量の実測値は定量限界値を大きく上回っており、十分な測定感度を有していると判断した。AMS 法と LSC 法との間に高い相関性を認め (傾き 0.99, r = 0.998), AMS 法は極めて微量の血漿中 ¹⁴C 量を精度良く定量できた (Fig. 2)。

3-2) 尿中排泄率

尿試料を 100~4,000 倍希釈した後、試料中 ¹⁴C 量を AMS

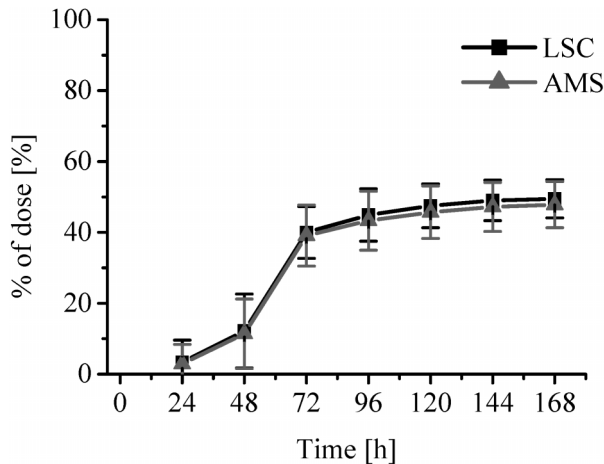


Fig. 5. Cumulative excretions of total radioactivity in feces measured by AMS or LSC in healthy male volunteers after a single oral administration of [¹⁴C]-Y-700 at a dose of 20 mg

Each point represents mean and bars indicate S.D. (n=4)

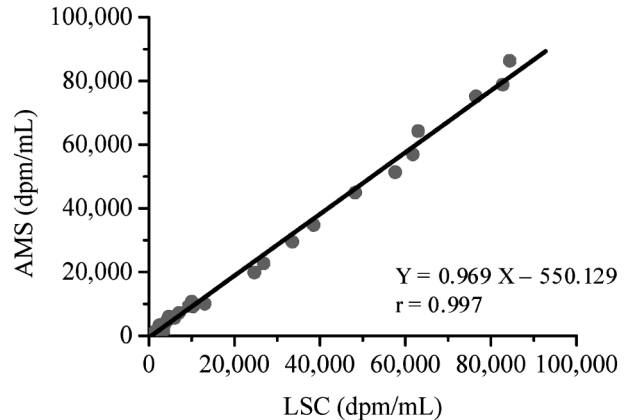


Fig. 6. Relationship of fecal total radioactivity between AMS and LSC measurement.

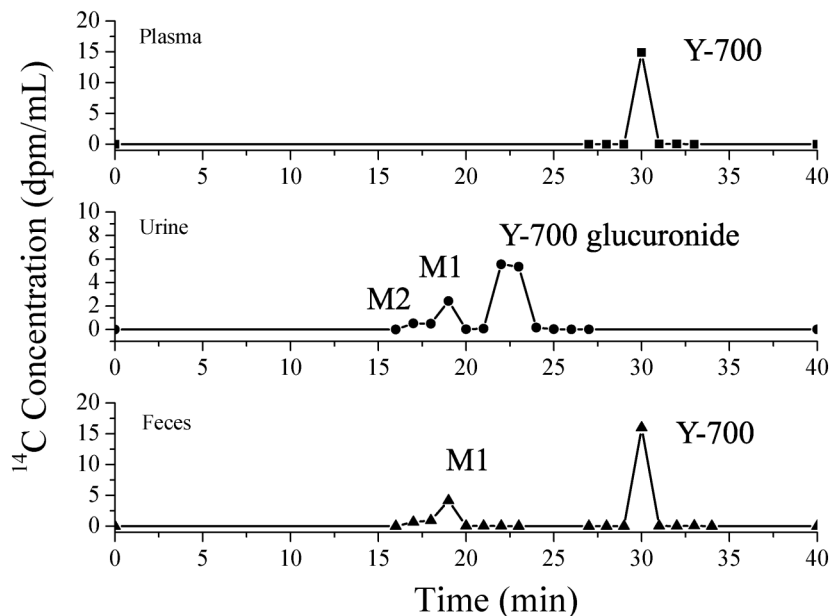


Fig. 7. Typical HPLC-AMS chromatograms of plasma, urine, and feces in healthy male volunteers after a single oral administration of [¹⁴C]-Y-700 at a dose of 20 mg.

測定した。累積尿中排泄率 (n=4) および AMS-LSC 相関をそれぞれ Fig. 3 および Fig. 4 に示した。なお、バックグラウンドとして、各被験者から採取した pre-dose 試料中の天然¹⁴C量を用いた。AMS法で得られた累積尿中排泄率はLSC法で得られた結果と一致しており、良好な相関性を示した(傾き=0.929, r=0.997)。

3-3) 糞中排泄率

糞試料を100~10,000倍希釈した後、試料中¹⁴C量を

AMS測定した。累積糞中排泄率 (n=4) と AMS-LSC 相関をそれぞれ Fig. 5 および Fig. 6 に示した。なお、バックグラウンドとして、各被験者から採取した pre-dose 試料中の天然¹⁴C量を用いた。AMS法で得られた糞中排泄率はLSC法で得られた結果と良く一致しており、血漿および尿試料と同様に良好な相関性を示した(傾き=0.969, r=0.997)。

3-4) 代謝物プロファイル

被験者1名の血漿(0~2時間)、尿(0~168時間)および糞

Table 1. Relative percent of peak area of Y-700 and metabolites between HPLC-LSC and HPLC-AMS

	% in plasma		% in urine		% in feces	
	HPLC-LSC	HPLC-AMS	HPLC-LSC	HPLC-AMS	HPLC-LSC	HPLC-AMS
M1	—	—	15.5	16.4	29.0	23.0
Y-700	95.3	99.8	80.4*	74.5*	67.7	72.4

*Y-700 glucuronide

(0~168時間)試料を HPLC(移動相の流速: 1 mL/min)に約 20 dpm 注入した。放射能の検出される可能性の低い画分はその間の溶出液をプールし、放射能が検出されると予測される付近は 1 分毎(1 mL)に分取し、各分画試料中の¹⁴C量を AMS 測定した(HPLC-AMS)。なお、バックグラウンドとして、放射能を HPLC に注入しない場合の溶出液の¹⁴C量を別途測定し、各画分の¹⁴C量(0.002 dpm/mL 以下)を用いた。溶出液中¹⁴C量を AMS 測定して得られた代謝物プロファイルを図 7 に示した。また、各ピーク(未変化体 Y-700 および代謝物 M1)が占める割合を HPLC-LSC で得られたデータと比較した(Table 1)。HPLC-AMS 測定値は、HPLC-LSC で得られた値とほぼ一致した。HPLC と AMS を併用することにより、代謝物プロファイルを明らかにすることが出来た。

4) 結論

Y-700 のマスバランス試験における血漿、尿および糞試料を用いて AMS 法と LSC 法の測定結果を比較検討した。

ヒトの血漿、尿および糞試料において、AMS 法で得られた結果は 100~10,000 倍希釈を行なったにも関わらず、LSC 法で得られた結果と高い相関性を示し、生体試料中の極微量¹⁴C量を精度良く測定することが可能であった。また、HPLC 法と組み合わせて使用することにより、代謝物プロファイルを明らかにすることが出来た。AMS 法は高感度、高精度に¹⁴C量を定量可能であり、ヒト単回 microdose 試験の生体試料中の¹⁴C量測定に有用であると考えられる。また、投与放射エネルギーが制限されたマスバランス試験の試料測定においても、AMS 法の有効利用が期待される。

参考文献

- 1) EMEA, Position paper on non-clinical safety studies to support clinical trials with a single microdose, CPMP/SWP/2599/22, CPMP, London, 23 Jan (2003).
- 2) R. C. Garnner, Accelerator mass spectrometry in pharmaceutical research and development —A new ultrasensitive analytical method for isotope measurement—, *Curr. Drug. Metab.*, **1**, 205–213 (2000).
- 3) G. Young, W. Ellis, J. Ayrton, E. Hussey, and B.

Adamkiewicz, Accelerator mass spectrometry (AMS): recent experience of its use in a clinical study and the potential future of the technique, *Xenobiotica*, **31**, 619–632 (2001).

- 4) G. Lappin and RC Garner, Big physics, small doses: the use of AMS and PET in human microdosing of development drugs, *Nature Reviews: Drug Discovery*, **2**, 233–240 (2003).
- 5) I. Yamada, A. Fukunari, T. Osajima, M. Kamezawa, H. Mori, and J. Iwane, Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Y-700, a novel xanthine oxidase inhibitor, in rats and human, *Nucleoside, Nucleotides & Nucleic Acids*, **8&9**, 1123–1125 (2004).
- 6) I. Yamada, Mass balance study of [¹⁴C]-Y-700, a novel xanthine oxidase inhibitor, in rats, dogs, and human, The 18th JSSX Meeting in Sapporo (2003).

早期スクリーニング臨床試験の 法的・倫理的問題

科学技術文明研究所
栗原千絵子

1) はじめに

2004年11月19日金沢にて開催された「第19回日本薬物動態学会年会フォーラム・早期ヒト試験に向けて;薬物動態から考える」において、筆者は「英国の研究倫理審査システムの改革と現状」との演題で発表したが、フォーラムでの議論を通じて、日本国内において早期ヒト試験の実現化に必要な法的・倫理的論点が明確になった。

そこで本稿では、フォーラムの発表内容の概要を示した上、当日課題とされながら時間に余裕がなく十分に討議できなかった論点に重点を置き発展させる形で、人を対象とする早期スクリーニング試験の実施に必要な法的・倫理的論点および制度的基盤について述べることにする。

なお、本稿では、micro dosing 試験(MD 試験)の何種類かの厳密な定義よりも広く、法的・倫理的観点からの検討が求められる領域を示す用語として、通常の第 I 相試験実