

—— 研究助成報告 ——

患者背景に基づく抗てんかん薬の有効血中薬物濃度域の設定と個別化投与量設計システムの構築

Development of the optimal therapeutic window and personalized dosing system of antiepileptic drugs based on the patient background

猿 渡 淳 二¹⁾, 鬼 木 健太郎¹⁾, 中 嶋 洋 生¹⁾, 石 津 棟 暎²⁾, 兼 子 直³⁾

要旨：バルプロ酸（VPA）等の一部の抗てんかん薬は、有効血中薬物濃度域が提唱されているが、実際の臨床では、有効濃度域は患者毎に異なる。本研究では、母集団薬物動態（PK）－薬力学（PD）解析により、十分な発作抑制効果に関係する血中VPA濃度域を、患者要因毎に設定することを目指した。VPA治療歴があるてんかん患者77名を対象として、50%以上発作が抑制された者を発作抑制ありとした。血中VPA濃度と発作抑制率を表したロジスティクス回帰に基づく母集団PK-PDモデルを構築したところ、発作型や併用薬に加えて、SCN1A IVS5-91遺伝子多型が発作抑制率に影響し、患者因子毎に発作抑制が期待できる血中VPA濃度が算出可能となった。本研究結果は、発作抑制効果が期待できる血中VPA濃度を、遺伝等の患者因子毎に推定できる可能性を示唆しており、抗てんかん薬の至適投与設計に向けて新たな道を開いたと考える。

てんかん治療研究振興財団 研究年報 2018 ; 29 : 103-110

Key Words : 治療薬物モニタリング, 薬物動態, 薬力学, 抗てんかん薬, バルプロ酸

【序論】

てんかん治療の中心は抗てんかん薬による薬物療法であるが、try and errorを繰り返しながら投与量を設定する現在の治療法では、発作抑制まで長期間を要する。バルプロ酸（VPA）は、広く用いられる抗てんかん薬のひとつであるが、その有効血中濃度域は50～100 $\mu\text{g/ml}$ と狭く、治療薬物モニタリング（therapeutic drug monitoring, TDM）による慎重な投与設計が求められる¹⁾。しかしながら、この有効血中濃度域は、少人数の患者を対象とした検討²⁾により、有効で副作用が少ない範囲として設定されており、実際の臨床では発作が抑制される血中VPA濃度には個人差がある。例えば、VPAの有効血中濃度域より低くても有効な場

合や、それより高くないと効果が得られない症例が存在する。そのため、TDMの結果だけでは発作抑制効果を予測することは困難であり、投与開始から維持投与量の決定までに長期間を要する場合が多いことから、様々な患者要因に応じた個別化投与設計法の確立が求められている³⁾。

抗てんかん薬に対する治療反応性に影響を与える患者因子としては、てんかんの重症度や薬物間相互作用、合併症等、様々な要因が考えられている^{3, 4)}。これまでに我々は、遺伝的要因に着目し、てんかん患者において、sodium channel neuronal type I alpha subunit (SCN1A) 遺伝子多型等が抗てんかん薬への治療抵抗性に関係することを明らかにしてきた⁵⁻⁷⁾。しかしながら、これらの遺伝情報に基づいた個別化投

¹⁾ 熊本大学大学院生命科学研究部薬物治療学分野

²⁾ くまもと江津湖療育医療センター

³⁾ 北東北てんかんセンター

Tab. 1 対象者の特徴

症例数	77
男/女*	48 (62.3) / 29 (37.7)
年齢 (歳) †	15.2 ± 8.2 [0.8 - 36.9]
てんかん分類 (症候性/潜因性) *	38 (49.4) / 39 (50.6)
てんかん発作部位 (全般/部分) *	10 (13.0) / 67 (87.0)
知的障害 *	59 (76.6)
VPA 投与量 (mg/day) †	1120.0 ± 592.5 [50 - 3200]
予測血中 VPA 濃度 (μg/mL) †	69.3 ± 19.9 [11.8 - 130.1]
VPA 服用期間 (観察期間, 年) †	5.1 ± 4.4 [0.04 - 14.5]
血中 VPA 濃度の測定数	729

*頻度 (%), †平均値 ± 標準偏差 [最小値 - 最大値]

与設計を実現するためには、各遺伝因子とその他の患者因子、血中薬物濃度の影響を、定量的に、かつ、同時に考慮した検討が必要である。

母集団薬物動態 (pharmacokinetics, PK) - 薬力学 (pharmacodynamics, PD) 解析は、対象集団におけるPK及びPDパラメータに影響を及ぼす生理的・病態的・遺伝的要因と、個体内・個体間変動の特性を総合的、かつ、定量的に求める方法論である⁸⁾。本研究では、母集団PK-PD解析の手法を用いてVPAの発作抑制効果に及ぼす血中VPA濃度、遺伝因子並びに他の患者因子の影響を検討した。

【方法】

1. 対象

1996年以降に独立行政法人国立病院機構熊本再春荘病院の小児科で加療され、本研究に対して同意が得られたVPA服用歴のあるてんかん患者456名のうち、以下に示す適格基準を満たす77名を対象とした。なお、本研究は、熊本大学生命科学研究部等倫理委員会及び国立病院機構熊本再春荘病院倫理委員会承認のもとに実施した。Tab. 1に対象者の特徴を示す。

適格基準：1) VPAの徐放錠 (デパケンR及びセレニカR) を服用する者、2) 年齢、体重、VPA投与量、1日投与回数、併用薬等の臨床情報が明らかである者、3) コンプライアンスが良好である者、4) VPAの投与期間が3週間以上で、血中VPA濃度が定常状態に達している者、5) 特発性てんかん及び重症心身症患者以外の

者、6) 投与期間中に副作用発現により投与が中止されなかった者

2. 遺伝子型判定

同意が得られた被験者から、血液または口腔粘膜細胞を採取後、DNAを抽出した。SCN1A IVS5-91G>A (rs3812718) 多型の有無をTaqMan polymerase chain reaction法により判定した。

3. 臨床情報収集

てんかんの診断名、病歴、合併症、生理所見、VPA服用歴 (投与量、TDM結果等)、併用薬の有無、血液一般及び生化学検査値、臨床症状 (発作頻度、効果、有害事象等) を調査し、解析に用いた。50%発作抑制効果はVPA投与開始前～投与後1年間の発作回数を抽出し、50%以上抑制されている場合を効果ありとした。

4. 予測血中VPA濃度の算出

これまでに我々が報告⁸⁾した下記の母集団PKモデル (式1) を用いて、各対象者の臨床情報を基に、患者毎の予測血中VPA濃度 (トラフ値) を算出した。

$$Vd = 110 \times (DOSE/1000)^{1.51}$$

$$CL/F = 0.577 \times (DOSE/1000)^{0.535} \times 0.875^{\text{性別}} \times 1.22^{\text{CBZ}} \times 1.1^{\text{PB}} \times 1.4^{\text{PHT}} \times 0.915^{\text{CLB}} \quad (\text{式1})$$

式中のVdは分布容積 (単位はL)、CL/Fは経口クリアランス (単位はL/時間)、DOSEは

VPAの一日投与量（単位はmg）、CBZはカルバマゼピン、PBはフェノバルビタール、PHTはフェニトイン、CLBはクロバザムであり、以上の各薬物の併用があれば1、無ければ0とする。また、式中の性別は、女性であれば1、男性では0とする。

5. PK-PDモデルの構築

SCN1A遺伝子型及びその他の個体要因が50%発作抑制率に影響を与える因子とその程度について検討した。PK-PDモデルには、ロジスティック回帰に基づく線形モデル（式2）を用いた。個体間変動（ η ）モデルには等誤差モデルを用いた。

$$\text{Logit} = \text{Log}_{10}(p/1-p) = \text{Intercept} + \text{予測血中VPA濃度} \times \text{Slope} + \eta \quad (\text{式2})$$

式中のpは50%発作抑制率、Interceptは切片、Slopeは傾きを表す。

6. 統計解析

VPAの母集団PK-PD解析は、非線形混合効果モデル（non-linear mixed effect model：NONMEM, ver. 7.3.0, ICON Dev Soln, Ellicott City, MD）プログラムにより行い、モデルの作成にはlaplacian likelihood法を用いた。VPAのPK-PDパラメータに影響を与える固定効果は、変数増減法を用いて抽出し、最終モデルに組み込んだ。固定効果は、SCN1A IVS5-91G>A（rs3812718）遺伝子多型の他に、性別、投与開始年齢、てんかん発作部位、てんかん分類、知的障害合併の有無、併用薬〔CBZ、PB、PHT、CLB、クロナゼパム（CZP）、ガバペンチン（GBP）、ラモトリギン（LTG）、トピラマート（TPM）、ゾニサミド（ZNS）〕について検討した。モデルの統計的有意性の評価にはNONMEMによって得られる目的関数（OBF）の変動値と χ^2 値を比較する尤度比検定を用いた。得られた式（最終モデル）の妥当性は、最終モデルを用いたvisual predictive checkにより評価した⁹⁾。さらに、構築された母集団PK-PDモデルを用いて、Receiver Operating Characteristic（ROC）曲線を作成し、発作抑制の有無を予測するlogitのカットオ

フ値を推定した。全ての統計解析で、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】

1. PK-PDモデル構築

VPA服用患者の50%発作抑制率に関するベースモデルの検討を行った結果、ロジスティック回帰モデルは予測VPA濃度と50%発作抑制率の関係に適合した。50%発作抑制率に影響を与える因子の検討を行った結果をTab. 2に示す。50%発作抑制率に対しては、血中VPA濃度に加えて、SCN1A遺伝子多型及び、年齢、てんかん発作部位、併用薬の影響を認めた。これらの因子を含めたモデルを最終モデル（式3）とした。ベースモデル及び最終モデルの個体間変動はそれぞれ12.9、11.3であり、最終モデルにより個体間変動が12.4%減少した。

（最終モデル）

$$\begin{aligned} \text{Logit} = & 6.1 + (\text{AGE}/10) \times 1.0 - 1.8^{\text{CBZ}} - 1.2^{\text{CZP}} \\ & - 5.9^{\text{SCN1A GA遺伝子型}} - 4.9^{\text{SCN1A AA遺伝子型}} \\ & - (13.3 + 3.6^{\text{PHT}} + 1.7^{\text{TPM}} - 2.4^{\text{部分発作}} \\ & - 10.1^{\text{SCN1A GA遺伝子型}} - 9.5^{\text{SCN1A AA遺伝子型}}) \\ & \times \text{血中VPA濃度} \quad (\text{式3}) \end{aligned}$$

式中のAGEは年齢（単位は歳）を表し、CBZ、CNZ、PHT、TPMはそれぞれの併用があれば1を、併用が無ければ0とする。部分発作は、発作型が部分発作であれば1を、それ以外であれば0とする。SCN1A GA及びAA遺伝子型は、SCN1A遺伝子型の判定結果がそれぞれに該当する場合は1、該当しない場合は0とする。

2. 妥当性の評価

母集団PK-PD解析で得られた最終モデルの妥当性を評価するため、最終モデルを用いたvisual predictive checkを行った。観測された50%発作抑制率（実測値）の推移は、1,000回のシミュレーションより得られた95%信頼区間に収まっていたことから、最終モデルの妥当性を確認した（Fig. 1）。

3. ROC曲線によるカットオフ値の推定

母集団PK-PDの最終モデルにより算出したlogit値と50%発作抑制の有無に関するROC曲線

Tab. 2 50%発作抑制率に対する共変量の検討

	Intercept				Slope			
	増加法		減少法		増加法		減少法	
	DOBF	P値*	DOBF	P値*	DOBF	P値*	DOBF	P値*
年齢	6.46	<0.05	42.67	<0.05	16.64	<0.05	31.48	<0.05
性別	11.16	<0.05	0.7	NS	14.62	<0.05	1.35	NS
SCN1A 遺伝子型 [†]	16.98	<0.05	28.24	<0.05	30.92	<0.05	52.67	<0.05
てんかん発作部位	8.42	<0.05	37.91	<0.05	9.46	<0.05	42.29	<0.05
てんかん分類型	3.05	NS			0.67	NS		
知的障害	11.84	<0.05	0.01	NS	12.45	<0.05	1.27	NS
併用薬								
CBZ	18.73	<0.05	58.66	<0.05	14.52	<0.05	46.23	<0.05
CZP	8.51	<0.05	14.13	<0.05	5.95	<0.05	9.54	<0.05
CLB	0.27	NS			0.48	NS		
GBP	0.19	NS			0.08	NS		
LTG	1.19	1.19	NS		2.12	NS		
PB	0.38	NS			0	NS		
PHT	21.28	<0.05	44.01	<0.05	28.02	<0.05	38.54	<0.05
TPM	17.07	<0.05	13.91	<0.05	19.63	<0.05	12.2	<0.05
ZNS	0.28	NS			0.69	NS		

DOBF: difference of objective function, NS: not significant, CBZ: カルバマゼピン, CZP: クロナゼパム, CLB: クロバザム, GBP: ガバペンチン, LTG: ラモトリギン, PB: フェノバルビタール, PHT: フェニトイン, TPM: トピラマート, ZNS: ゾニサミド

*尤度比検定, [†]GG vs. GA vs. AA

を作成したところ, ROCの曲線下面積は0.823 (感度71.3%, 特異度80.1%) であり, logit値による50%発作抑制の予測精度は高かった。また, 50%発作抑制の有無を予測するlogit値のカットオフ値は0.1と推定された。

4. 血中VPA濃度カットオフ値の算出

ROC曲線で得られたlogit値のカットオフ値から, 式4を用いて患者背景に応じた血中VPA濃度のカットオフ値を算出した。

血中VPA濃度=(Intercept-Logit)/Slope (式4)

例えば, 全般発作を有し, フェニトインを服用するてんかん患者 (年齢: 5歳, 10歳) において, SCN1A遺伝子型毎に算出された血中VPA濃度のカットオフ値をTab. 3に示す。本結果より, 算出された血中VPA濃度のカットオフ値以上になるようにVPAを増量しても,

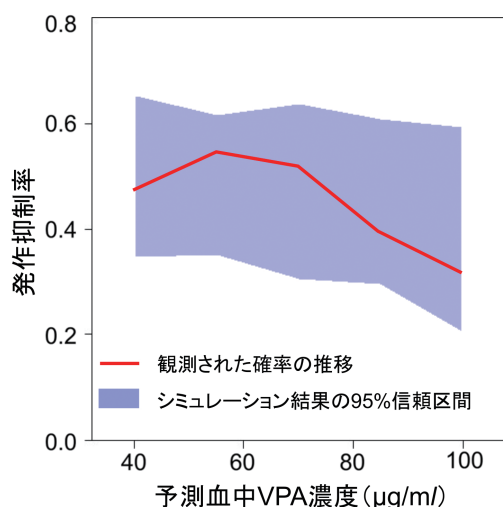


Fig. 1 シミュレーションによる発作抑制率と血中VPA濃度の関係 (シミュレーション回数1000回)

Tab. 3 模擬症例（全般発作，フェニトイン併用）における血中VPA濃度カットオフ値

SCN1A 遺伝子型	血中 VPA 濃度のカットオフ値	
	年齢：5 歳	年齢：10 歳
GG	63.5 $\mu\text{g/ml}$	92.0 $\mu\text{g/ml}$
GA	71.3 $\mu\text{g/ml}$	140.9 $\mu\text{g/ml}$
AA	78.5 $\mu\text{g/ml}$	142.4 $\mu\text{g/ml}$

VPAによる発作抑制効果は期待できないと推定された。

【考察】

本研究では，VPA服用患者の発作抑制率に関する母集団PK-PDモデルを構築し，VPAの治療効果にSCN1A遺伝子多型が影響することを証明した。また，発作抑制率に，年齢，てんかん発作部位，CBZ，CZP，PHT，TPMの併用が影響することを確認した。さらに，発作抑制率に関する母集団PK-PDモデルに基づいた，予測精度の高いROC曲線によるカットオフ値を定めることで，発作抑制効果が期待できる血中VPA濃度上限値を推定出来る可能性を示した。

本研究のPK-PD解析では，我々の過去の横断研究の結果⁵⁾と同様に，発作抑制率に対してSCN1AのIVS5-91G>A遺伝子多型が影響することが示された（Tab. 2，式3）。VPAは γ -アミノ酪酸（GABA）の作用を増強する働きの他に電位依存性ナトリウムチャネルを標的分子として阻害する働きがある^{3, 4)}。薬物の作用標的分子の構造変化や機能変化は，抗てんかん薬の効果を減少させ，治療抵抗性の一因になると考えられている^{3, 4)}。SCN1A遺伝子のスプライスドナー部位（exon 5）に位置するIVS5-91G>A多型は，SCN1A遺伝子の選択的スプライシングに関与すると考えられている¹⁰⁾。このことから，選択的スプライシングによって生成されたneonatal isoformとadult isoformの構造の違いが抗てんかん薬治療反応性に影響した可能性が示唆されている。本研究結果においても，SCN1A IVS5-91G>A遺伝子多型のGA遺伝子型及びAA遺伝子型においてlogit値のinterceptがそれぞれ5.9，4.9低下し，slopeがそれぞれ10.1，9.5低下していたことから，Aアリル保有者において抗てんかん薬による発作抑制効果が低下し

ていることが確認された。

本研究のROC曲線を用いた解析において，構築した母集団PK-PDモデルにより発作抑制の有無を予測する精度の高いカットオフ値が推定され，発作抑制効果が期待できる血中VPA濃度の上限値を推定できる可能性を示唆した。現在，VPAによる薬物療法は，全ての患者に対して有効血中濃度域を50～100 $\mu\text{g/ml}$ と設定されて投与量の調整が行われている。しかしながら，有効血中濃度域の上限値（100 $\mu\text{g/ml}$ ）以上であっても発作が抑制される場合があり，逆に上限値を超えても発作が抑制されない患者が存在する。従って，VPAの血中濃度が有効血中濃度域の上限値未満であっても，上限値以上であっても，VPAを増量するか，また，他の併用薬を追加するかは，try and errorによる判断に委ねられている。本研究の成果により，患者背景毎に発作抑制効果が期待できる血中VPA濃度の上限値を設定できれば，VPAの投与量漸増時に治療効果が得られなかった場合，TDMの結果から，血中VPA濃度が上限値未満である場合はVPAを増量し，上限値以上

患者背景毎に血中VPA濃度カットオフ値を設定

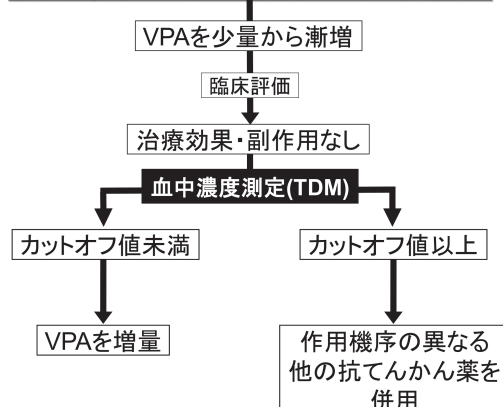


Fig. 2 本研究結果の臨床応用（展望）

の場合は作用機序の異なる他の抗てんかん薬を追加するという判断基準を提供できると考える (Fig. 2)。

以上、本研究結果は、発作抑制効果が期待できる血中VPA濃度を患者毎に推定できる可能性を示唆しており、抗てんかん薬の至適投与設計に向けて新たな道を開いたと考える。

【文献】

- 1) Patsalos PN, Berry DJ, Bourgeois BF, Cloyd JC, Glauser TA, Johannessen SI, et al. Antiepileptic drugs—best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2008 ; **49** : 1239-1276.
- 2) Turnbull DM, Rawlins MD, Weightman D, Chadwick DW. Plasma concentrations of sodium valproate: their clinical value. *Ann Neurol* 1983 ; **14** : 38-42.
- 3) Schmidt D, Schachter SC. Drug treatment of epilepsy in adults. *BMJ* 2014 ; **348** : g254.
- 4) Loscher W, Klitgaard H, Twyman RE, Schmidt D. New avenues for anti-epileptic drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 2013 ; **12** : 757-776.
- 5) Abe T, Seo T, Ishitsu T, Nakagawa T, Hori M, Nakagawa K. Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. *Br J Clin Pharmacol* 2008 ; **66** : 304-307.
- 6) Seo T, Ishitsu T, Ueda N, Nakada N, Yurube K, Ueda K, et al. ABCB1 polymorphisms influence the response to antiepileptic drugs in Japanese epilepsy patients. *Pharmacogenomics* 2006 ; **7** : 551-561.
- 7) Haerian BS, Baum L, Tan HJ, Kwan P, Raymond AA, Saruwatari J, et al. SCN1A IVS5N+5 polymorphism and response to sodium valproate: a multicenter study. *Pharmacogenomics* 2012 ; **13** : 1477-1485.
- 8) Ogusu N, Saruwatari J, Nakashima H, Noai M, Nishimura M, Deguchi M, et al. Impact of the superoxide dismutase 2 Val16Ala polymorphism on the relationship between valproic acid exposure and elevation of gamma-glutamyltransferase in patients with epilepsy: a population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis. *PLoS One* 2014 ; **9** : e111066.
- 9) Keizer RJ, Karlsson MO, Hooker A. Modeling and Simulation Workbench for NONMEM: Tutorial on Pirana, PsN, and Xpose. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2013 ; **2** : e50.
- 10) Heinzen EL, Yoon W, Tate SK, Sen A, Wood NW, Sisodiya SM, et al. Nova2 interacts with a cis-acting polymorphism to influence the proportions of drug-responsive splice variants of SCN1A. *Am J Hum Genet* 2007 ; **80** : 876-883.

Summary

Development of the optimal therapeutic window and personalized dosing system of antiepileptic drugs based on the patient background

Junji Saruwatari, Kentaro Oniki, Hiroo Nakashima, Takateru Ishitsu, Sunao Kaneko

Although therapeutic drug monitoring (TDM) has often been performed during the pharmacological treatment of epilepsy, the plasma levels of some antiepileptic drugs (AEDs) do not correlate well with the doses or the therapeutic or toxic effects of the drugs. Therefore, the pharmacological treatment of epilepsy has been empirical and often based on trial and error (e.g., increase or decrease the doses of AEDs). Since the dose requirements for valproic acid (VPA) are highly variable and interactions with other drugs are common, therapeutic drug monitoring is often performed during VPA therapy. We aimed to develop a population pharmacokinetic (PK)-pharmacodynamic (PD) model to determine the optimal concentration of VPA based on the clinical characteristics of each patient among 77 VPA-treated Japanese patients with epilepsy. The final PK-PD model showed that the age, seizure locus, the sodium channel neuronal type I alpha subunit polymorphism and co-administration of carbamazepine, clonazepam, phenytoin or topiramate were associated with an over 50% reduction in the seizure frequency. According to the final PK-PD model, we calculated the optimal trough concentration of VPA for each patient. We believe that this study can provide a useful procedure for the further development of personalized pharmacological therapy for epilepsy.

Ann.Rep.Jpn.Epi.Res.Found. 2018 ; 29 : 103-110

