バイオアベイラビリティの個体差を考慮した 母集団薬物動態解析の有用性評価

松葉映美, 服部龍太郎, 大久保翔悟, 深尾美紀, 橋本征也*
富山大学大学院医学薬学研究部医薬品安全性学研究室

Evaluation of Usefulness of Population Pharmacokinetic Analysis Considering Interindividual Variability of Bioavailability

Emi Matsuba, Ryutaro Hattori, Shogo Okubo, Miki Fukao and Yukiya Hashimoto*
Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama

〔 Received January 7, 2016 〕
〔 Accepted April 1, 2016 〕

We previously reported that there is a positive correlation between the oral clearance (CL/F) and the apparent volume of distribution (V/F) of the drugs with variable bioavailability (F). The aim of the present study using the computer simulation method was to evaluate the usefulness of the population pharmacokinetic analysis model assuming the covariance of CL/F and V/F ($\omega_{CL/F, V/F}$). The total clearance (CL), volume of distribution (V), and F values in the 1-compartment model were generated for 50 hypothetical subjects, and the peak and/or trough blood concentrations were calculated at steady state following repetitive bolus dosing. The population parameters could be estimated precisely by the covariance model. In addition, the precision of Bayesian analysis using the covariance model was high as compared with that using the non-covariance model. Furthermore, the relative F values estimated from individual CL/F and V/F values (adjusted as mean value = 1) were well correlated with the true F values. These findings suggest that the covariance model assuming $\omega_{CL/F, V/F}$ is useful for the population pharmacokinetic analysis of the drugs with variable bioavailability.

Key words — nonlinear mixed effects model (NONMEM), relative bioavailability, pharmacokinetics, bisoprolol

緒 言

我々はミゾリビンやビソプロロールなどの薬物では、バイオアベイラビリティ (F) が薬物動態の個体差の要因であることを報告してきた。¹⁻⁴⁾ **Figure 1** は、F の個体差が経口クリアランス (CL/F) と見かけの分布容積 (V/F) に与える影響を探索的に試行した結果の一例を示したものである。すなわち、全身クリアランス (CL) と分布容積 (V) を 1 と仮定し、それらは変動係数 (CV) 10% の個体間変動があるとして、両者の分散 (ω^2_{CL} と ω^2_V) を 0.01 と仮定し、正規乱数を発生させた。その際、F に 40~100% の個体差を導入すると、

CL/F と V/F には相関が認められ、それぞれの分散 ($\omega^2_{CL/F}$ と $\omega^2_{V/F}$) は 0.1 程度 (CV 値 30% 強) と大きくなり、両者には共分散 ($\omega_{CL/F, V/F}$) が生じるようになる。**Figure 1** の例では、CL/F と V/F の相関係数 (ρ) は、ミゾリビンやビソプロロールの母集団動態解析結果と同様に、²⁻⁴⁾ 0.918 とかなり高い値が算出された。この結果より、CL/F と V/F に相関が認められるような薬物では、F がかなり大きく変動し、CL や V の CV 値自体は小さくても、 $\omega^2_{CL/F}$ と $\omega^2_{V/F}$ は比較的大きいものと推定された。従って、F に個体差が想定される薬物の母集団解析に際しては、 $\omega_{CL/F, V/F}$ を導入し、CL/F と V/F の相関性を考慮することが望ましい

*〒930-0194 富山市杉谷2630

Fig 1 Effect of interindividual variability of bioavailability on oral clearance and apparent distribution volume of a hypothetical drug

と考えられる。本研究では、**Fig 1**を参考として、CLとVのCV値を10%、Fを40~100%と想定し、コンピュータシミュレーションの手法を用いて、バイオアベイラビリティの個体差を考慮した母集団動態解析の有用性を評価した。

方 法

1. 仮対象および研究プロトコル

本研究では、1983年にSheinerとBealが行ったシミュレーション研究、および我々が2013年に報告したビソプロロールの臨床薬物動態試験を参考にして、シミュレーションを行った。^{4,5)}すなわち、対象は**Table 1**に示すように、50名の仮想被験者である。体重(WT)は40~80 kgの範囲で一樣乱数を発生させることにより仮定した。クレアチニンクリアランス(CLcr)は、健常人において100 mL/min程度であり腎機能低下時には3分の1低下すると仮定し、2~6 L/hrの範囲で一樣乱数を用いて算出した。投与量は以前の報告において5 mg錠を服用した症例が最も多かったことから5 mg/dayとした。Fは40~100%の範囲で変動すると仮定し、一樣乱数を用いて算出した。50人全ての被験者において、投与後3.0 (ピーク値)もしくは24.0 hr (トラフ値)に1点もしくは2, 3点採血を行うと仮定した。1点採血の被験者数はピーク値の採血を5人、トラフ値の採血を5人とした。3点採血の被験者数はピー

Table 1 Description of patient data used in population analysis

Patients	50
Weight (kg)	40 - 80
CLcr (L/hr)	2 - 6
Dose (mg/day)	5
Inter-dose interval (hr)	24
1-/2-/3-point sampling	10/30/10
V (L)	2·WT (CV = 10%)
CL (L/hr)	0.04·WT + 0.8·CLcr (CV = 10%)
F (%)	40 - 100
σ (%)	7

ク値2点とトラフ値1点の採血を5人、ピーク値1点とトラフ値2点の採血を5人とした。残りの30人はピーク値とトラフ値1点ずつの2点採血とした。CLおよびVの母集団平均値は、ビソプロロールの母集団薬物動態パラメータを参考に設定した。また、各個人のCLおよびVは、10%のCV値を想定し正規乱数を発生させた。薬剤を繰り返し投与し、定常状態における最終投与後の血中薬物濃度は以下の式を用いて算出した。

$$C = (F \cdot D) / V \cdot \exp((-CL) / V \cdot t) / (1 - \exp((-CL) / V \cdot \tau)) \quad (1)$$

D, τ , tはそれぞれ投与量、投与間隔、定常状態における最終投与後の経過時間を表す。血中濃度測定値は、SheinerとBealの報告を参考にして、7%のCV値を想定して正規乱数を発生させて作成した。⁵⁾なお、一樣乱数および正規乱数はMicrosoft Excel® 2013を用いて発生させた。

2. 母集団薬物動態解析

ビソプロロールの母集団動態解析に準じた方法を用いた。⁴⁾すなわち、繰り返し急速投与の1-コンパートメントモデルはCL/FとV/Fに関してパラメータ化した。i番目の被験者におけるCL/FとV/Fは以下の式を用いてモデル化した。

$$CL/F_i = (\theta_1 \cdot WT + \theta_2 \cdot CLcr) \cdot (1 + \eta_{CL/F_i}) \quad (2)$$

$$V/F_i = \theta_3 \cdot WT \cdot (1 + \eta_{V/F_i}) \quad (3)$$

ここで、 $\theta_1 \cdot WT + \theta_2 \cdot CLcr$ と $\theta_3 \cdot WT$ はそれぞれ、経口クリアランスと見かけの分布容積の予測した母集団平均値を示す。WTは個人の体重(kg)を示す。本研究において、確率変数である $\eta_{CL/F}$ と

$\eta_{V/F}$ は平均 0, 分散 $\omega^2_{CL/F}$, $\omega^2_{V/F}$ の正規分布に従うと仮定し, $\omega_{CL/F, V/F}$ を導入していないモデルを Non-covariance model, $\omega_{CL/F, V/F}$ を導入したモデルを Covariance model とした. i 番目の被験者における j 番目に得た血中濃度 (C_{ij}) は i 番目の被験者において j 番目に推定した血中濃度 (C_{ij}^*) から正規分布に従うと仮定した.

$$C_{ij} = C_{ij}^* \cdot (1 + \varepsilon_{ij}) \quad (4)$$

すなわち, ε_{ij} は, 平均 0, 分散 σ^2 の正規分布に従う確率変数であり, 個体内変動および血中濃度の測定誤差を表す.

データ解析は Windows 8.1 コンピュータにおいて NONMEM ソフトウェア (double precision NONMEM Version VI Level 2.0, PREDPP Version V Level 2.0, NM-TRAN Version IV Level 2.0, Beal SL and Sheiner LB, San Francisco, CA, U.S.A.) を用いて行った.⁶⁾ 本研究において, 著者らは急速投与における 1-コンパートメントモデルに対して, NONMEM-PREDPP のサブルーチン ADVAN1 と TRANS2 を使用した.^{4,6)} パラメータの統計的有意性は NONMEM が算出した目的関数値 ($-2 \log \text{likelihood}$) を用いた尤度比検定で評価した.⁶⁾ すなわち, パラメータ数が 1 つ増減する 2 つのモデル間の目的関数の差が 6.64 より大きい時, そのパラメータの値は統計的有意であると判定した ($P < 0.01$). さらに, NONMEM は全てのパラメータに対し, 標準推定誤差 (SE) を算出する. SE は推定パラメータ値の 95% 信頼区間 (CI) の算出に使用した.⁶⁾

$$95\% \text{ CI} = (\text{推定パラメータ値}) \pm 1.96 \cdot \text{SE} \quad (5)$$

3. 1 点採血による Bayesian 解析の精度評価

母集団解析における被験者と同様な条件で, 血中濃度がピーク値もしくはトラフ値のみの新たな仮想被験者 50 名をそれぞれ発生させた. Non-covariance model の Bayesian 解析は, Non-covariance model による母集団薬物動態解析において推定した母集団パラメータを用いた. また, Covariance model の Bayesian 解析は, Covariance model による母集団薬物動態解析において推定した母集団パラメータを用いた.

4. パラメータの推定精度評価

真値 (シミュレーションに使用した値) が既知のパラメータに関しては % error を次のようにして計算した.⁵⁾

$$\% \text{ error} = (\text{推定値} - \text{真値}) \div \text{真値} \times 100 \quad (6)$$

この, % error の平均値は偏りの度合を表し, 0 に近い程推定値が正確であることを示す. また, % error の標準偏差はパラメータの推定精度を表し, 値が小さい程精度が高いことを示す.⁵⁾ 一方, 真値が未知のパラメータに関しては Microsoft Excel® 2013 で算出した線形回帰直線の決定係数 (R^2) で評価した.

5. 相対的 F (F_{rel}) の推定

仮想薬物は静脈投与試験を想定していないため, 絶対的 F を推定することは不可能である. しかし, Bayesian 解析で算出した CL/F_{Bayes} や V/F_{Bayes} から母集団平均値を 1 とした相対的な F を推定することは可能である. すなわち, F_{rel} は母集団平均 CL/F (V/F) を各個人の CL/F_{Bayes} (V/F_{Bayes}) で除することによって得られると仮定し, 次のような式を用いて算出した.

$$F_{\text{rel}} = \frac{\theta_1 \cdot \text{WT} + \theta_2 \cdot \text{CL}_{\text{cr}}}{CL/F_{\text{Bayes}}} \quad (7)$$

$$F_{\text{rel}} = \frac{\theta_3 \cdot \text{WT}}{V/F_{\text{Bayes}}} \quad (8)$$

結 果

1. 母集団薬物動態解析

血中濃度を発生させた一例を Fig 2 に示す. F が変動する場合の血中濃度を片対数プロットで示したところ, 血中濃度も大きく変動した. 一方, CL/F が大きい個人程 V/F も大きくなるため, 血中濃度の半減期は全被験者間で比較的類似することがわかった.

CL/F と V/F の間に相関を仮定しない Non-covariance model および CL/F と V/F の間に相関を仮定した Covariance model で母集団解析を行った. Table 2 は, 母集団薬物動態パラメータとその 95% CI を示した. Covariance model における

Table 2 Population pharmacokinetic parameters estimated with Simulation 1

Parameters	True	Non-covariance model		Covariance model	
		Estimates	95% CI	Estimates	95% CI
θ_1 (L/h/kg)	0.0571	0.0360	0.0115-0.0605	0.0565	0.0391-0.0739
θ_2	1.14	1.47	1.05-1.89	1.10	0.81-1.39
θ_3 (L/kg)	2.86	2.80	2.58-3.01	2.86	2.64-3.08
$\omega^2_{CL/F}$		0.0674	0.0370-0.0978	0.0699	0.0397-0.1000
$\omega_{V/F, CL/F}$		0 (FIX)		0.0542	0.0272-0.0812
$\omega^2_{V/F}$		0.0601	0.0289-0.0913	0.0634	0.0322-0.0946
σ^2	0.00490	0.00208	-0.00004-0.00420	0.00190	0.00020-0.00360
-2 log likelihood		409.514		371.979	

a) $P < 0.01$ vs Non-covariance model **Fig 2** Plasma concentrations of a hypothetical drug at steady-state

θ_1 , θ_2 , θ_3 の平均値は、真値と非常に近似していた。しかし、Non-covariance model における θ_1 は真値より小さくなり、 θ_2 は真値より大きくなった。一方、このシミュレーションでは $\omega^2_{CL/F}$ および $\omega^2_{V/F}$ は両モデル間で類似する値となった。Non-covariance model と Covariance model の間における目的関数値の差は 38.738 であり、Non-covariance model よりも Covariance model のほうが適切であると考えられた。

2. Bayesian 解析の推定精度

次に、推定した母集団パラメータを用いて Bayesian 解析の推定精度を評価した。Figure 3A,

B は Non-covariance model, C, D は Covariance model における投与 3 時間後の血中濃度（ピーク値）のみを用いた CL/F, V/F の推定値と真値の一致性を示す。CL/F の真値に対する推定値の一致性において、両モデル間に大きな精度（% error の標準偏差）の差は認められなかった（Fig 3A, C）。一方、V/F の真値に対する推定値の一致性において Non-covariance model の精度（% error の標準偏差）が Covariance model より低くなった（Fig 3B, D）。Figure 4A, B は Non-covariance model, Figure C, D は Covariance model における投与 24 時間後の血中濃度（トラフ値）のみを用いた CL/F, V/F の推定値と真値の一致性を示す。Non-covariance model による CL/F の推定精度（% error の標準偏差）は、Covariance model と比較し軽度劣っていた（Fig 4A, C）。一方、V/F の推定値と真値の一致性は Non-covariance model において著しく低かったが、Covariance model ではかなりの改善が認められた（Fig 4B, D）。

3. バイオアベイラビリティの推定

Covariance model において、NONMEM により推定された CL/F および V/F から相対的な F を算出し、被験者個人に仮定した F を真値として、F の真値と推定値の一致性を評価した（Fig 5A, B）。Covariance model における F の推定値は真値に良好に近似しており、% error 値の平均値と標準偏差は、 -1.79 ± 10.43 （Fig 5A）および -0.32 ± 11.46 （Fig 5B）であった。また、CL/F から推定した相対的な F、および V/F から推定した相対的な F との間に良好な相関を示し、線形回帰直線の決定係数（ R^2 ）は 0.726 であった（Fig 5C）。

Fig 3 Predictivity of the Bayesian analysis using peak values of plasma concentration

The correlation between true value and predicted values of oral clearance (A) or apparent distribution volume (B) estimated by use of population parameters of the non-covariance model. The correlation between true value and predicted values of oral clearance (C) or apparent distribution volume (D) estimated by use of population parameters of the covariance model. The diagonal lines are $y = x$.

Fig 4 Predictivity of the Bayesian analysis using trough values of plasma concentration

The correlation between true value and predicted values of oral clearance (A) or apparent distribution volume (B) estimated by use of population parameters of the non-covariance model. The correlation between true value and predicted values of oral clearance (C) or apparent distribution volume (D) estimated by use of population parameters of the covariance model. The diagonal lines are $y = x$.

Fig 5 Variability of relative bioavailability estimates by the covariance model

A: The correlation between true values and predicted values estimated from oral clearance. B: The correlation between true values and predicted values estimated from apparent distribution volume. C: The correlation between predicted values estimated from oral clearance and from apparent distribution volume. The diagonal lines are $y = x$ (A and B). The regression line is $y = 0.936x + 0.059$ (C). a) : adjusted to mean = 1

4. シミュレーションの再現性

本研究では、上記と同様のシミュレーションを2回追加した。Non-covariance modelを用いた母集団解析では、その2回ともに $\omega^2 V/F$ の推定値が0近くになり、母集団パラメータ推定は不調に終わった。その結果、Bayesian解析による個人の

V/Fの推定値は、全てが母集団平均値と類似した値になってしまった。そのため、**Fig 3A, B**や**Fig 4A, B**のようなBayesian解析精度の評価はできなかった。一方、Covariance modelを用いた母集団解析には再現性があり、重複が多くなるためデータは掲載していないが、**Table 2**と同様の良好な母集団パラメータが得られた。また、母集団パラメータを用いたBayesian解析によるCL/FとV/Fの推定値も真値に対して良好な近似性を示した。データは掲載していないが、**Fig 3C, D**や**Fig 4C, D**より精度良くBayesian解析が行われたシミュレーションもあった。さらに、**Fig 5**と同様に相対的Fの推定を評価したが、相対的Fを良好に推定できることが再現できた。

考 察

薬物のVとCL、およびFを母集団解析で求める理想的な臨床薬物動態試験は、各被験者に静脈内投与試験と経口投与試験を行い、静脈内投与データからVとCLに関する情報を得るとともに、経口投与データからFに関する情報を得て全ての母集団パラメータを同時に得ることである。しかし、現実的にはこのような理想的な臨床試験を遂行することは殆ど不可能だと思われる。そこで、本研究では経口投与データのみから、Fの個体差を考慮しながらV/FとCL/Fとそれらの個体間変動を推定した。従って、Covariance modelはV、CL、Fとそれらの個体間変動を推定する真の解析モデルというよりは、近似解析モデルと言ったほうが良いかもしれない。そのため、Covariance modelの定量的な性能評価は、後述するように意外に難しい。従って本研究ではCovariance modelとNon-covariance modelとを比較した定性的な性能評価を行った。3回のシミュレーションを行った際、Non-covariance modelでは3回中2回で母集団パラメータ推定が不調に終わったことは、Non-covariance modelの致命的な欠陥を示している。一方、Covariance modelを用いて推定した母集団パラメータの精度はNon-covariance modelより高く(**Table 2**)、これには別のシミュレーションデータを用いた際にも再現性が認められた。

従って、Fに個体差があると推定される薬物の経口投与データの母集団解析に際しては、Covariance modelの積極的な適用が望ましいと考えられる。⁷⁾

Fの平均値を0.7とすると母集団パラメータの θ_1 , θ_2 , θ_3 については真値を算出することができるが (Table 2), $\omega^2_{CL/F}$, $\omega_{CL/F}$, V/F , $\omega^2_{V/F}$ については真値の算出が非常に難しい。そこで、 θ と ω の推定精度を総合的に評価するために、本研究ではBayesian解析の精度評価を追加した。すなわち、両母集団解析で得られた母集団パラメータ (Table 2) を事前確率としたBayesian解析の精度を、新たに発生させた50人分のピーク値 (Fig 3), あるいはトラフ値 (Fig 4) を用いて評価した。その結果、Non-covariance modelによる母集団パラメータを事前確率としたBayesian解析の精度は、ピーク値を用いた際には許容範囲と考えることも可能かと思われるが (Fig 3A, B), V/F に関する情報量が少ないトラフ値を用いた際には、Bayesian解析の精度は不十分であると考えられた (Fig 4A, B)。Non-covariance modelで得られた母集団パラメータには、 CL/F と V/F に相関がある、すなわち個体間で薬物の消失半減期が比較的類似しているという情報が反映されていない。そのため、特にトラフ値のBayesian解析では母集団平均の V/F 値に近づける方向で、パラメータ推定が収束してしまうものと推察された。一方、Covariance modelによる母集団パラメータを事前確率としたBayesian解析の精度は、ピーク値あるいはトラフ値1点のみを用いた場合であっても、かなり高精度 (Fig 3C, D) あるいは許容範囲にあると考えられた (Fig 4C, D)。以上のことから、薬物の消化管吸収が必ずしも完全でなくバイオアベイラビリティに個体差があり得る場合には、積極的に CL/F と V/F の共分散 $\omega_{CL/F, V/F}$ を仮定した母集団動態解析を試みるべきであると考えられた。

本研究では新たに、Covariance modelによる母集団動態解析の際に、相対的なFの推定が可能か、否かを評価した。すなわち、母集団平均 CL/F をBayesian解析で得られた各個人の CL/F で割る (式7), あるいは母集団平均 V/F をBayesian解析で

得られた各個人の V/F で割る (式8) ことによって、平均値を1とする相対的なFを算出するものである。今回のシミュレーションでは、各個人の真のF値がわかっているので、それら平均値が1になるように補正して、式7と式8の有用性を評価した (Fig 5A, B)。当初、式7と式8には V と CL の個体間変動がノイズとして反映されるため、真値と推定値にはずれが生じるのではないかと懸念された。しかし、 CL/F_{Bayes} および V/F_{Bayes} より算出された相対的Fの% errorの標準偏差は10%程度であり (Fig 5A, B), また両者の相関性も悪くないため (Fig 5C), バイオアベイラビリティの変動性を推定するために、この手法は実用の可能性があると考えられた。

そこで今回我々は、以前に報告したビソプロロールの臨床薬物動態試験データに,⁴⁾ 式7と式8を適用してみた。その結果、Fig 6に示すように、 CL/F と V/F の母集団平均値とBayesian解析で得られた2つの相対的Fには良好な相関が観察された。また、Fig 6における両者の相関性 ($R^2 = 0.937$)は、 V と CL のCV値10%を仮定したシミュレーションの結果 (Fig 5C, $R^2 = 0.726$) よりむしろ高いことから、ビソプロロールの V と CL のCV値は10%を下回る可能性もあるものと推察された。さらに、相対的Fが最も高い個人と最も低い個人では2倍以上の相違があることから、日常的にビソプロロールを服用している患者間で大きな個体差があるものと推定された。これらの結

Fig 6 Estimation of relative bioavailability in 52 Japanese patients who took bisoprolol
The regression line is $y = 1.11x - 0.107$.

果より、バイオアベイラビリティの個体差を考慮した母集団動態解析によって、ほかの薬物についても新たな臨床薬物動態学的知見が得られるものと期待される。

本研究では、バイオアベイラビリティに個体差がある薬物の経口投与後の血中濃度解析に、Non-covariance model の使用は危険を伴うことを明らかにした。一方、Covariance model は、Non-covariance model に比べ解析精度が高いと考えられるが、本研究では限られた条件での検討であるため、今後、さらなる系統的な研究が必要であろう。

謝 辞

本研究は JSPS 科研費 15K08069 の助成を受けたものです。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Fukao M, Ishida K, Sakamoto T, Taguchi M, Matsukura H, Miyawaki T, Hashimoto Y, Effect of genetic polymorphisms of SLC28A1, ABCG2 and ABCC4 on bioavailability of mizoribine in healthy Japanese males, *Drug Metab Pharmacokinet*, 2011, **26**, 538-543.
- 2) Ishida K, Okamoto M, Ishibashi M, Hashimoto Y, Population pharmacokinetics of mizoribine in adult recipients of renal transplantation, *Clin Exp Nephrol*, 2011, **15**, 900-906.
- 3) Ishida K, Motoyama O, Shishido S, Tsuzuki K, Hashimoto Y, Population pharmacokinetics of mizoribine in pediatric recipients of renal transplantation, *Clin Exp Nephrol*, 2012, **16**, 799-804.
- 4) Ishida K, Horie A, Nishimura M, Taguchi M, Fujii N, Nozawa T, Inoue H, Hashimoto Y, Variability of bioavailability and intestinal absorption characteristics of bisoprolol, *Drug Metab Pharmacokinet*, 2013, **28**, 491-496.
- 5) Sheiner LB, Beal SL, Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters. III. Monoexponential model: routine clinical pharmacokinetic data, *J Pharmacokinet Biopharm*, 1983, **11**, 303-319.
- 6) Beal SL, Boeckmann AJ, Sheiner LB, "NONMEM Users Guides: NONMEM Project Group." University of California, San Francisco, 1992.
- 7) Ishida K, Fukao M, Itoh H, Uemura O, Hashimoto Y, Advantages and disadvantages of conditional estimation methods for population pharmacokinetic analysis of mizoribine, *Jpn J Pharm Health Care Sci*, 2014, **40**, 643-651.