

2012 年度日本臨床薬理学会海外研修員報告書

研修完了報告書

福島県立医科大学 医学部 薬理学講座

三坂 眞元

はじめに

私は 2012 年 9 月から 2014 年 8 月末までドイツの Friedrich-Alexander 大学ニュルンベルク=エアランゲン（以下、エアランゲン大学）の Institute of Clinical and Experimental Pharmacology and Toxicology において、Martin Fromm 教授のご指導のもと研修を行いました。研究テーマは「フラボノイド類と医薬品の相互作用に関する基礎および臨床研究」として、特に緑茶に豊富に含まれるカテキン類に焦点を当て薬物トランスポーターを介したカテキンと薬物の相互作用について研究を行いました。

エアランゲンについて

エアランゲン (Erlangen) は南ドイツ・バイエルン州の北部、クリスマスマーケットやおもちゃの見本市で知られるニュルンベルクから北西約 20 km にある大学町です。ドイツといえばロマンチック街道が有名ですが、それよりややマイナーな「古城街道」沿いになり、近隣には旧市街が世界遺産に登録されているバンベルク (Bamberg)、音楽祭が開かれるバイロイト (Bayreuth)、さらに中世の街並みが残り日本人観光客も多いローテンブルク (Rothenburg ob der Tauber) があります。エアランゲンの一帯はフランケン地方と呼ばれ、話す言葉や料理などが同じ州であるミュンヘンやアウクスブルクなどの南部とはかなり違うとのことでした。またベルリンなどドイツ北部は起伏のほとんどない平野が広がっていますが、エアランゲン周辺は平地と緩やかな丘陵地からなっています。少し北に行くと小高い山が連なりその谷間を川が流れ、山の上には朽ち果てた古城が点々とする風光明媚な場所があります。起伏ある地形があたかもアルプスのようだということから、フランキッシュ・シュバイツ (Fränkische Schweiz, フランケンのスイス) と呼ばれています。ドイツには他にもザクセンのスイス、というように山や谷があるところをスイスに例えることがあるようで、日本でも昔ながらの町並や雰囲気を残したところを小京都や小江戸と呼ぶのに近い感覚ではないかと感じました。エアランゲンは街の中心に大学が立地しており、さらに補聴器や鉄道メーカーとして知られるシーメンスの本社があることから、エアランゲンに住む約 10 万人あまりの人のほとんどは大学かシーメンスに関係があると言われていました。また隣町にはスポーツメーカーのアディダスやベアリングメーカーであるシュフラーの本社があり、それら企業に日本から赴任している方々もいるためエアランゲンはその人口の割に日本人の数は多いように感じました。

(写真1 エアランゲンの街並み)

エアランゲン大学について

エアランゲン大学は 1743 年に設立され、ドイツの他の大学と同様に創設者の名前にちなんで大

学名がつけられています。また、総合大学としてバイエルン州ではミュンヘン大学に次いで2番目の規模を持っており、留学生も多く、私が渡独した直後に通ったドイツ語短期集中講座には様々な国の学生が参加していました。特にインドからの留学生は他のクラスを見回しても多いような印象を受けました。また、ヨーロッパは地理的にアフリカにも近いこともあってか、同じクラスには南アフリカやナイジェリアからの留学生もいました。3週間という短い間でしたが、それぞれのお国柄も感じつつ毎日机を並べて多国籍な学生と一緒にドイツ語を学べたのは今では良い思い出の一つとなっています。また授業は英語で行われたので、私にとっては学部生の時に習って以来のドイツ語はもちろんのこと、英会話のトレーニングとしても良い機会になりました。ドイツ留学といえども研究所でのやりとりはほぼ英語で行われ、一般の人についても特に若い人は英語が堪能なため、ドイツ語を使うのは買い物や食事など日常生活の一部に限られました。

私が所属していた薬理学研究所は4階建ての建物で、1階が臨床薬理学講座、2階が基礎薬理学講座、地下と3階以上が共同利用の実験室やオフィスというように分かれています。エアランゲン大学の他の建物はいかにも古そうで重厚な造りであるのに対して、薬理学研究所は比較的新しく近代的な建物でした。しかし、一般の住宅でもそうですが、見た目は古く歴史がありそうな建物であっても内部は非常にモダンな造りになっているというのがドイツの建物の特徴のように思いました。また、この研究所の隣は「Kitzmann」というエアランゲンの地ビール工場であり、いかにもドイツらしいと感じました。ソーセージに加えて、ビールも間違いなくドイツ人にとって欠かせないもので、エアランゲンだけでも2つのビールメーカーがありました。しかし地元の人がいわく、昔はビール工場が20以上もあったとのことでした。さて、臨床薬理学講座には研究所長のFromm教授のほかにJörg König教授とRenke Maas教授の3名が在籍していましたが、ドイツではProfessor以外に明確な教育職ポストはないため、学生への講義を受け持ち日本であれば准教授や助教に当たるような研究者でも、上級研究員やポスドクという扱いになるとのことでした。ドイツの教育職制度は改革が進められているようですが、何も知らなかった私にとってドイツのアカデミアにおける若手研究者のキャリアが不安定であることは意外に感じました。

(写真2 研究所の外観)

エアランゲン大学臨床薬理学講座における臨床試験実施の現状について

私がエアランゲン大学臨床薬理学講座への留学を希望した理由の一つは、薬物相互作用に関する臨床試験を実施している機関であったということでした。Fromm教授はVanderbilt大学にて故Grant R. Wilkinson先生の下で留学された経験があり、薬物相互作用研究についても基礎実験とともに臨床試験を実施することが重要と仰っていました。私はこの留学を通して現在ドイツの大学における研究者主導の臨床薬理試験の実情について学んできたいと思っていました。

ドイツでは他の欧州連合諸国と同様に、いわゆるEU臨床試験指令(EU clinical trial directive)¹⁾の施行に伴い、健康人を対象とした比較的規模の小さな薬物動態試験であっても治験と同様の法規制の下で実施することになっています。そのため、それ以前に比べ試験実施のハードルが格段に上がったとのことでした。上記EU臨床試験指令の詳細について本稿では省略しますが、私の留学先の現状として感じたことを一言で述べると、大学の1講座単位において臨床試験を実施するには、人材がかなり不足しているということです。私がエアランゲン大学に留学した当時、臨

床薬理学講座では医師である Fabian Müller 博士が主任研究者となって臨床試験を 1 件実施していました。彼はエアランゲン大学に着任する以前、CRO (clinical research organization) に勤務したことがあり治験業務の経験があったため、大学であっても臨床試験の実施が可能でした。しかし、薬物投与や採血など臨床試験の実際の遂行のみならず、マネージメントに関するほぼ全てを本人および一緒に研究していた学生の二人で引き受けていたため相当な負担だったことは同室の私から見ても明らかでした。彼のように EU 臨床試験指令に則った臨床試験を実施することのできる医師は大学のみならず製薬企業にとっても非常にニーズが高く、アカデミアにおける若手研究者の不安定な雇用状況下において、企業と大学で人材獲得の競争が生じた時、大学はかなり不利になっているようでした。これらの背景に、実施のためのコストの問題も加わり、ドイツにおける研究者主導の臨床試験実施数は近年減少傾向にあるようです。このことは、第 35 回日本臨床薬理学会学術総会の国際シンポジウムにおいてハイデルベルク大学臨床薬理学講座の Walter E. Haefeli 教授も講演で指摘していました。なおこうした現状を踏まえて、2014 年に新たに EU 臨床試験規則²⁾ が成立し、試験のリスクに基づいて実施要件が一部簡略化されるようになることから、今後はドイツのアカデミアにおける臨床試験も変わっていくのではないかと予想されます。日本においても、私はこれからもドイツにおける臨床研究に関心を寄せていきたいと思えます。

お茶と薬物の相互作用に関する研究について

現在、緑茶は日本など東アジア地域に限らず世界的に関心を集めているといっても過言ではないと思えます。その理由として、緑茶に豊富に含まれるカテキンと呼ばれるフラボノイド類が健康や疾病予防に有益な効果を有すると数多く報告されていることも関連していると考えます。ドイツもその例外ではなく、お茶屋さんに行けば大抵は紅茶と並んで緑茶も販売されていました。私はこれまで緑茶と薬物の相互作用について研究を行ってきました。その中で高血圧や狭心症の治療に適応がある β アドレナリン受容体遮断薬のナドロールを緑茶抽出物または主なカテキンであるエピガロカテキンガレート (EGCG) と併用した場合、水と服用した場合と比べてナドロールの血中濃度が大きく低下することを動物実験において見出しました³⁾。それならばヒトではどうか、ということを知るために健康人を対象に臨床試験を実施したところ、ヒトにおいても緑茶を服用した場合においてナドロールの血中濃度は著しく低くなるのが観察されました⁴⁾。ナドロールは水溶性が高いため、消化管から吸収された後、生体内では代謝を受けずに未変化体のまま尿中へと排泄されます。このことは、薬物相互作用の主要な原因の一つである薬物代謝酵素の阻害または誘導以外のメカニズムが関与していることを示唆します。薬物相互作用が生じるもう一つの要因として、近年広く知られるようになったのが薬物トランスポーターを介したものです。ナドロールの水溶性の高さは、受動拡散による生体膜の通過を難しくするので、おそらく何らかのトランスポーターによる能動輸送の機構が働いているであろうとの予測はできました。では、「緑茶とナドロール相互作用に薬物トランスポーターは介しているか？」私はエアランゲン大学臨床薬理学講座が様々なフラボノイドについて薬物トランスポーターの阻害作用を調べていることを論文で知っていたため、以上のことについてある学会のうちに Fromm 教授に相談したことが今回の留学のきっかけとなりました。

エアランゲン大学臨床薬理学講座では薬物動態に関与するものを中心に、薬物トランスポータ

一を発現させた細胞系とそれらを用いた薬物輸送実験系の構築を精力的に行っていました。今後研究に供されるかはわからないが、可能な限り多くのトランスポーターについて発現細胞を作成しデータベース化していつでも使えるようにしよう、という試みに私はどこかドイツ的なものを感じましたが、とにかく私は手始めに小腸に発現し薬物の吸収を担っている有機アニオン輸送ペプチド (OATP) に着目して、ナドロールがその基質となるかどうかを調べました。初めにこれまでに報告がある小腸 OATP サブタイプの中で現在その発現が確認されている OATP2B1 について、ナドロールを取り込むかを調べたところ、残念ながらナドロールは全く細胞内へと蓄積されませんでした。もう一つのサブタイプである OATP1A2 は現在エアランゲン大学に所属している Hartmut Glaeser 博士らが小腸での発現を報告しましたが、結果が追認されずむしろ発現が認められないとした報告の方が多くなっています。ところが、OATP1A2 はナドロールを基質として非常に効率的に細胞内へ取り込むという結果が得られました。さらに緑茶や EGCG が存在すると OATP1A2 を介したナドロール輸送は有意に阻害されることが明らかとなりました。これにより、臨床試験で観察されたナドロールと緑茶の相互作用は緑茶に含まれる EGCG などカテキン類が OATP1A2 を介した小腸におけるナドロールの吸収を阻害することで生じた可能性がある、という流れができました。OATP1A2 の記述には注意を払うように、と Fromm 教授からアドバイスを受けながら、研修前に行った臨床試験の結果と併せて留学中にこれらの知見を論文としてまとめることができました⁴⁾。

さらに、ナドロールについては OATP1B1, OATP1B3, 有機カチオントランスポーター (OCT) 1, OCT2, H⁺/有機カチオン交換輸送体 (MATE) 1, MATE2-K および P-糖タンパクの基質となるかどうかを調べていきました。その結果、ナドロールは OATP1B1 と OATP1B3 以外の上記トランスポーターについては基質となりうる事が明らかとなりました。しかしいずれのトランスポーターについても親和性は低く、ナドロールの血中濃度と血漿タンパク結合率を考慮すると、それらトランスポーターのナドロールの腎尿細管における分泌や再吸収への関与は非常に小さいことが示唆されました。実際、ナドロールの腎クリアランスは糸球体濾過量に近い値となっており、有機カチオン系トランスポーターを広範に阻害するシメチジンとナドロールとの相互作用を調べた臨床試験においても、シメチジンの併用はナドロールの体内動態に影響しなかった⁵⁾ という報告があることも今回の実験結果を支持するものでした。

一方、緑茶や EGCG が OATP1A2 以外の薬物トランスポーターの活性を阻害するかについても各トランスポーターの典型的な基質薬物を用いて検討しました。今回私たちが用いた緑茶では、調べた全ての薬物トランスポーターについて阻害強度の違いはあるものの阻害作用を有することがわかりました。加えて、EGCG 単独であっても OATP2B1 を含め各薬物トランスポーターに対して阻害作用が認められました。しかし一般的にカテキンなどフラボノイド類は消化管から吸収されにくくバイオアベイラビリティが非常に低いことが知られています。今回明らかになった *in vitro* における緑茶ならびにカテキンの薬物トランスポーター阻害能が実際にヒトにおいて、基質薬物の体内動態に影響を及ぼす可能性は消化管に発現するトランスポーターを除けば低いと考えられました。

おわりに

思い返せば 2 年間という研修期間はあっという間に過ぎ去ってしまったように感じます。研究についてやり残したことがないわけではありませんが、Fromm 教授を初めとするエアランゲン大学臨床薬理学講座の先生方からの多くの協力を得ておおむね順調に進めることができました。また臨床研究に関しては、日本においても本年 4 月から新たな倫理指針が施行され、大学における臨床試験のあり方も変わってくることと思います。その過渡期にあたりドイツの大学における研究者主導の臨床試験の実情を多少なりとも知ることができたのは意義があったのではないかと思います。最後になりましたが、今回の留学を快諾してくださり、送り出していただいた木村純子教授をはじめとする福島県立医科大学薬理学講座の先生方に心より感謝申し上げます。またご支援いただきました日本臨床薬理学会の先生方ならびに日本製薬工業協会に厚く御礼申し上げます。(写真 3 臨床薬理学の皆さんと、筆者の右隣が Fromm 先生)

参考文献

- 1) European Commission. *Clinical trials - Directive 2001/20/EC*.
<http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/dir_2001_20/dir_2001_20_en.pdf>.
- 2) European Commission. *Clinical Trials Regulation (CTR) EU No 536/2014*.
<http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/reg_2014_536/reg_2014_536_en.pdf>.
- 3) Misaka, S., Miyazaki, N., Fukushima, T., Yamada, S., and Kimura, J.: Effects of green tea extract and (–)-epigallocatechin-3-gallate on pharmacokinetics of nadolol in rats. *Phytomedicine*, **20**: 1247-1250 (2013).
- 4) Misaka, S., Yatabe, J., Müller, F., Takano, K., Kawabe, K., Glaeser, H., Yatabe, M. S., Onoue, S., Werba, J. P., Watanabe, H., Yamada, S., Fromm, M. F., and Kimura, J.: Green tea ingestion greatly reduces plasma concentrations of nadolol in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther*, **95**: 432-438 (2014).
- 5) Duchin, K. L., Stern, M. A., Willard, D. A., and McKinstry, D. N.: Comparison of kinetic interactions of nadolol and propranolol with cimetidine. *Am Heart J*, **108**: 1084-1086 (1984).