レクチャーノート：母集団薬物動態解析のイロハ(6)

慶應義塾大学病院薬剤部　笠井英史

今回は，母集団薬物動態解析を実際に行うために用いられる代表的なコンピュータ・プログラム，すなわち，NONMEM と WinNONMIX を紹介する．

1. NONMEM

NONMEM はカリフォルニア大学サンフランシスコ校の Sheiner と Beal によって開発されたソフトウェアである．PPK 解析ソフトとしては最初に開発され，その後も，この分野における事実上の標準ソフトとみなされている．なお，NONMEM とは，NONlinear Mixed Effects Model(非線形混合効果モデル)の略である．

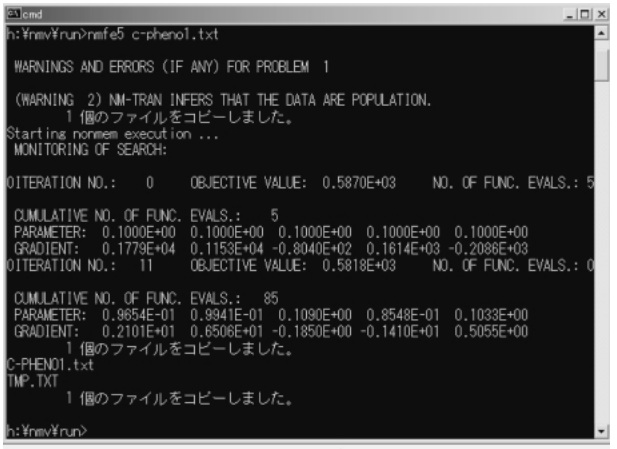

図 1　NONMEM 実行中の画面

NONMEM プログラム自体は Fortran のソースコードとして提供される．解析の際には，モデルに応じて各自が(簡単な)プログラムを書き，コンパイル，リンクと呼ばれるコンピュータ上の作業を毎回，キーボードから行う必要がある．図 1 に NONMEM 実行中の画面(Windows 上の DOS プロンプトの画面である)を示す．この操作方法は Windows や Macintosh コンピュータのマウス操作を中心とするユーザーインターフェイスに慣れた我々にとってあまり便利なものとは言えない．ただし，慣れればある程度は定型化できる作業であり，それほど大きな障害ではないとも言えよう．

NONMEM の最大の利点はなんと言っても，母集団薬物動態解析のために便利な機能が多数用意されている点にある．例えば，基本的なコンパートメントモデルはライブラリとしてすでに用意されている．したがって，コンパートメントモデルの式自体をプログラムとして記述する必要はない．定常状態に対応するモデルも用意されている．また，実際の臨床現場での患者のデータは，複雑な投与形態(用法・用量)のもとに得られている場合が多い．このような投与形態に対応するモデルを実際に記述するのはかなり面倒な作業になるのであるが，NONMEM を利用するならば，その投与形態に対応する形でのデータファイルを作成するだけでよい．ライブラリとして用意されている基本的なコンパートメントモデルだけで満足できないならば，ユーザーが任意のモデル式を定義して使用することもできる．さらに，非線形薬物動態モデルを記述するためには非線形の微分方程式でモデル化する必要があるが，NONMEM はこれにも対応している．

一方，NONMEM の欠点は使えるようになるまでのハードルの高さである．しかし，NONMEM はそのハードルを乗り越える努力をする価値があるソフトウェアであるともいえよう．

2. WinNONMIX

Pharsight 社によって開発されたプログラムである．Windows 上で動作し，モデリング過程のかなりの作業をマウス操作によって行うことができる(図 2)．また，代表的な薬物動態モデル，薬力学モデルがあらかじめ用意されており，それらを利用すれば，解析を非常に容易に行うことができるようになる．

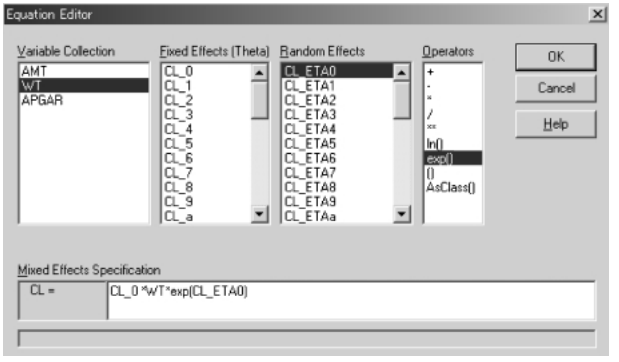

図 2　WinNONMIX による *CL* の固定効果，変量効果のモデリング

一般に，統計モデル解析結果を適切なグラフとして示し，そのグラフを用いて，モデルのデータへの当てはまり具合を検討することは非常に重要な作業である．ところが，NONMEM においては解析結果はすべてテキストファイルとして出力される．NONMEM の解析時に必要な指定を行うことで種々のプロットを作成することも可能であるが，それらはすべてテキスト文字を用いたグラフである．この種のグラフも慣れればあまり不自由なく，必要な診断を行うことも可能になってくるのかもしれないが，やはり，きれいなグラフを見ながら考察できるに越したことはない．

そこで，NONMEM の解析結果を Excel 等の別のソフトウェアに取り込んで必要なグラフを作成する必要がでてくる．その点，WinNONMIX は解析結果を瞬時に美しいグラフで出力してくれる．また，WinNONMIX が Windows のソフトウェアであることから，グラフあるいは解析結果の数表を他のアプリケーション(Word や PowerPoint 等)に貼り付けて再利用することも容易である．

一方，WinNONMIX の欠点としては，定常状態を扱うモデルが組み込まれていないという点が挙げられる．

患者においては，同一の用法・用量である期間投与が繰り返され，体内動態が定常状態になっている時点で採血・濃度測定がなされることが多い．この定常状態を記述するためには，単回投与後の基本的なコンパートメントモデル式から導かれる「定常状態でのモデル式」を用いる必要がある．しかし，WinNONMIX にはこの定常状態でのモデルが標準では組み込まれていない．もっとも，WinNONMIX においても，ユーザーがモデル式を任意に定義して，そのモデルを用いて種々の解析を行うことはできる．この機能を用いれば，WinNONMIX においても定常状態での薬物濃度を解析することが可能である．しかし，そのためには Fortran 言語あるいは C++ 言語の知識が若干必要になる（方法は WinNONMIX のマニュアルに記載してあるので，ハードルがそれほど高いわけではない）．

3. 解析プログラム間の比較

NONMEM と WinNONMIX それぞれによる解析結果をシミュレーションデータを用いて比較した．

シミュレーションデータは次のようにして生成した．すなわち，患者50人にある仮想的な薬物10 mg を経口投与後，0～24時間の間のランダムな 2 時点において薬物血中濃度が測定されたものとした．この薬物の体内動態は 1－コンパートメントモデルに従うものとし，*CL* は 1 L/hr，*Vd* は 10 L，*Ka* は0.7 hr^{-1}とした．各パラメータの個体間変動は対数正規分布に従うと仮定し，*CL*，*Vd*，*Ka* の個体差は変動係数としてそれぞれ20%，20%，50%と設定した．また個体内変動も対数正規分布に従うと仮定し，ばらつきは変動係数として20%に設定した．このような設定のもと，血中濃度データを100セット発生させ，それぞれのデータについて，NONMEM および WinNONMIX で解析を実施した．

このときの各パラメータ推定値の散布図を図 3 に示す．

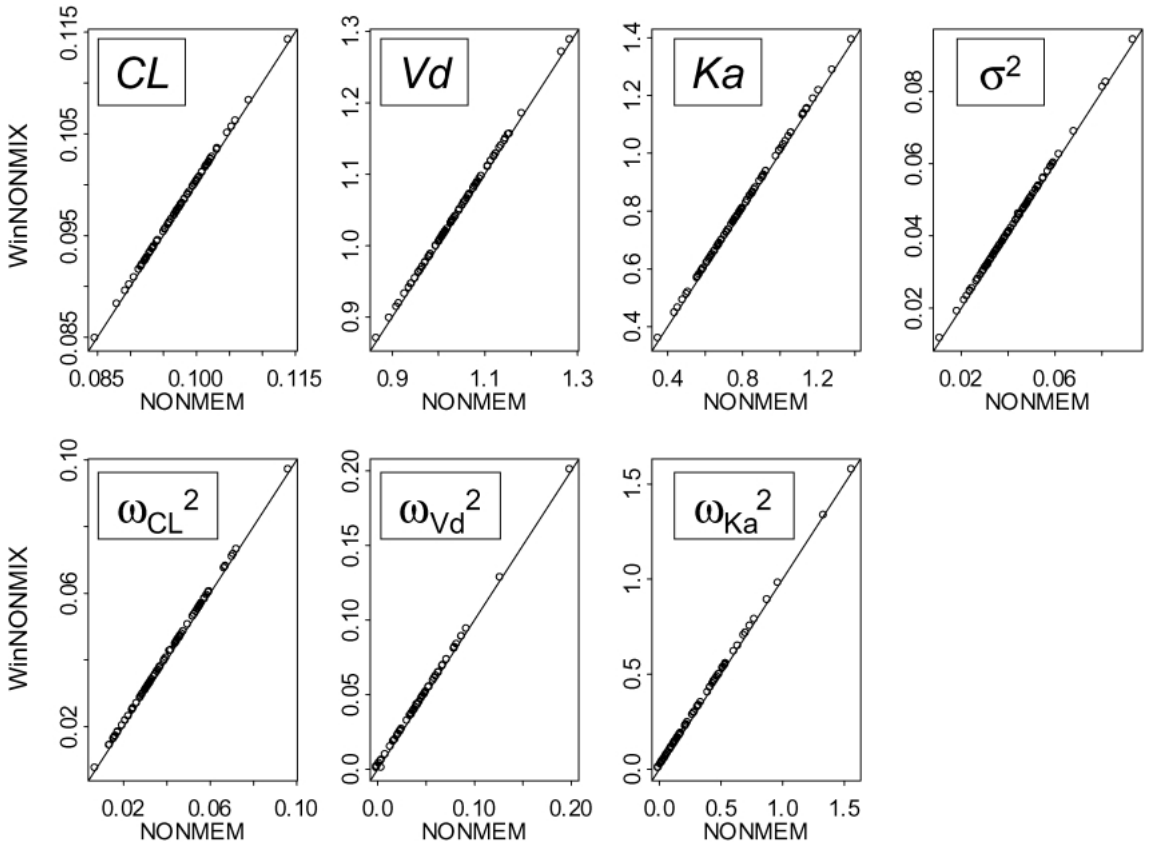

図 3 シミュレーションデータでの各パラメータの推定結果の散布図
（横軸は NONMEM，縦軸は WinNONMIX による各パラメータの推定値．上段左から，*CL*，*Vd*，*Ka* および個体内変動分散 σ^2，下段左から，それぞれ，*CL*，*Vd*，*Ka* の各個体間変動分散 ω_{CL}^2，ω_{Vd}^2，ω_{Ka}^2．）

この図からわかるように，両プログラムによるパラメータ推定値はいずれも非常によく一致していた．本シミュレーションにおいては，計算アルゴリズムとしてはもっとも単純なFO法を用いた．したがって，少なくともFO法に関しては，NONMEMとWinNONMIXとで計算結果はよく一致することが確認された．

FO法はSheinerおよびBealによってPPK解析が提案された当初から用いられている計算法であり，現在でも汎用されている手法である．しかし，FO法においては計算を容易にするためにかなり強引な近似を用いている．その結果，FO法による解析結果には種々の問題があることが知られている．FO法のこうした問題点を改良した，より精度の高い近似方法としてFOCE法と呼ばれる手法も提案されている．FOCE法はNONMEMおよびWinNONMIXいずれでも利用可能である．なお，FOCE法は確かに精度の高い計算方法ではあるが，(1)FO法に比して計算時間が余計にかかる，(2)一人あたり2，3点という臨床上よくあるタイプのデータに対しては適用しにくい(FOCE法は，一人あたりの点数がもう少し多い場合のデータにより適する)，といった欠点もある．FOCE法を採用した場合のソフトウェア間の比較に関しては今後の検討が必要である．

レクチャーノート：ヒト代謝の *in vitro* からの予測戦略(最終回)

代謝阻害に基づく薬物間相互作用の予測(3)：Mechanism-based inhibitionの場合

星薬科大学薬動学教室　　伊藤清美

前号までは，薬物代謝酵素において競合あるいは非競合的な阻害が生じる場合の相互作用の予測方法について解説した．これらの阻害様式は可逆的であり，基本的にはある時点における阻害剤濃度と阻害定数から，その時点での代謝阻害の程度を予測することが可能であった(前号(8)式参照)．本号では，代謝酵素がmechanism-based inhibitionと呼ばれる不可逆的な機構により阻害されるために，(8)式が適用できない場合の予測方法について述べる．なお，式，図表および参考文献の番号は，前号からの続きとして示す．

薬害事件として問題になったsorivudineと5-fluorouracil(5-FU)との相互作用のメカニズムは，sorivudineの代謝物である(E)-5-(2-bromovinyl)uracil (BVU)が5-FUの代謝酵素であるdihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)により代謝活性化され，生じた活性型BVUが酵素と不可逆的に結合するmechanism-based inhibitionであったことが明らかにされている[13]．また，マクロライド系抗生物質によるCYP3Aの阻害も，代謝過程で生成したニトロソアルカンがCYP3Aと解離しにくい複合体を形成するためにCYP3Aが不活性化されるmechanism-based inhibitionが関与している[14]．このような相互作用の場合，酵素阻害の程度は阻害剤濃度だけではなく，酵素と阻害剤との接触時間や酵素のturnoverにも依存するため，予測に当たってはそれらを考慮したin vitro試験を行う必要がある[1,15]．

一例として，CYP3Aの基質であるmidazolamの経口投与後のAUCは，マクロライド系抗生物質の併用により約3～7倍に上昇することが臨床で報告されている．これらの相互作用をin vitro試験から予測するために，ヒト肝ミクロソームを用いた代謝阻害試験を行った[16]．NADPH存在下，ヒト肝ミクロソームとマクロライド系抗生物質(erythromycin，clarithromycin，azithromycin)を5～20分間プレインキュベートし，midazolamを添加後さらに3分間インキュベートした．反応液中のmidazolam代謝物(α位および4位水酸化体)を定量した結果，残存活性は阻害剤濃度とプレインキュベーション時間に依存して低下していた．Figure 5にerythromycinについての結果を示す．残存酵素活性とプレインキュベーション時間を片対数プロットし，阻害の初速度がみられている領域の傾きからみかけの不活化速度定数(k_{obs})が得られる．さらにFig. 5右に示すように，k_{obs}の値を阻害剤濃度[I]に対してプロットし，非線形最小二乗法を用いて(9)式に当てはめることにより阻害の速度論パラメータ(k_{inact}：最大不活化速度定数，K'app：酵素と阻害剤のみかけの解離定数，kd: in vitroにおける阻害剤非存在下での不活化速度定数)が求められる．

$$k_{obs} = k_{inact} \cdot [I]/(K'app + [I]) + kd \qquad (9)$$

上記3種類のマクロライド系抗生物質に関して，Table 5に示す速度論パラメータが得られ，midazolamの両代謝経路についての結果はほぼ同等であった．

肝臓内の活性型酵素(CYP3A)量(Eact)および不活性型酵素量(Einact)については，次のような微分方程式を書くことができる．

$$dEact/dt = -(k_{inact} \cdot Eact \cdot fb \cdot Iliver/Kp)/(K'app + fb \cdot Iliver/Kp) + k_{deg}(Eo - Eact) \qquad (10)$$

$$dEinact/dt = (k_{inact} \cdot Eact \cdot fb \cdot Iliver/Kp)/(K'app + fb \cdot Iliver/Kp) - k_{deg} \cdot Einact \qquad (11)$$

ここで，k_{deg}は酵素の分解速度定数(turnover rate constant)，Kpは阻害剤の肝臓中/血中濃度比，fbは阻害剤の血中非結合型分率，Iliverは肝臓中阻害剤濃度，Eoは酵素の総濃度を表す．また$t=0$のとき，Eact＝Eo，Einact＝0である．

さらにmidazolam (S)および阻害剤(I)について，生理学的モデルに基づいて以下の微分方程式が立てられる．