The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	限定されたデータ取得計画にもとづく血中アルコール濃度の母集団薬物動態解析に関する研究
Author(s)	根本, 明日香
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/69242
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

博 士 論 文

限定されたデータ取得計画にもとづく

血中アルコール濃度の母集団薬物動態解析に関する研究

根本　明日香

目次

緒論 2
本論 5
第 1 章 日本人被験者でのアルコール飲料摂取後の血中アルコール濃度の母集団薬物動態研究 5
方法 6
結果と考察 10
小括 16
第 2 章 Limited sampling データの母集団薬物動態パラメータ推定値に関する研究 17
方法 19
結果 24
考察 28
小括 30
第 3 章 ベイズ流アプローチによる血中アルコール濃度の母集団薬物動態研究 31
方法 33
結果 38
考察 46
小括 48
結論 49
謝辞 51
参考文献 52

緒論

母集団薬物動態（population pharmacokinetic analysis、以下 PPK）解析は、生物学的なばらつきを持つ被験者集団の血中薬物濃度の時間推移データに対して非線形混合効果モデルによる解析を行うものである[1, 2]。すなわち、PPK 解析では、ある時点のある個人の血中薬物濃度の予測値を個人の薬物動態（pharmacokinetic、以下 PK）パラメータに対する非線形の時間の関数として、また、時間 - 血中薬物濃度曲線の個人間差を個人の PK パラメータが集団平均 PK パラメータの周りに変動することによるものとして考える。これを PPK モデルと呼び、各個人の各時点の血中濃度データに対してあてはめ、各 PK パラメータの集団平均、個人間変動の分散、予測値と観測値の差の分散の推定を行う。通常、PPK 解析ではさらに、各 PK パラメータの個人間変動は年齢、性別、腎機能の指標、薬物代謝酵素の遺伝型等の被験者特性によって説明できると考え、個人の PK パラメータを結果変数、被験者特性を説明変数とする関係式を含む階層構造を持つモデルを構築する[3]。

PPK モデルは、薬力学的モデルと合わせて薬物の投与と効果・作用の関係を表現し、把握する手段である。近年提唱されているモデルに基づいた医薬品開発（model-based drug development、以下 MBDD）の概念[4] のなかで中心的な役割を果たすものであり、効率的な医薬品開発のための技術革新の要として世界的にも関心が高まっている。MBDD は、医薬品開発中に得られるデータを含む多くの情報をもとに生物医学的状態を記述する数学モデルを開発し、用量反応性や副作用発現率などの予測などを通して医薬品開発の効率化を図ることができるという考え方である。

PPK モデルの利用目的から考えて、PPK 解析の目標は、精度が高く（precise）正確な（accurate）モデルパラメータの推定値を得ることであるといってよく、本来、この目標に対して適切な試験計画が立てられるべきである。PPK 解析の対象とするデータを収集する計画では、主に、被験者の人数、一人あたりの採血時点数および採血時点の配置が問題となる。データ収集計画を最適化する方法として、情報量理論に基づく D 最適化基準（D-

optimality criterion）を使ってパラメータ推定値の標準誤差を小さくすることを目標にした試験計画法[5－7]、臨床試験シミュレーションによりPPKパラメータの推定精度をもとめ、これを評価の指標として複数の試験計画を比較する方法が用いられている[8－10]。なお、医薬品開発のための薬物動態試験に関する指針等のうち、PPK解析については、「母集団薬物動態・薬力学解析ガイドライン（案）（2015）」がある。その中で、データ収集計画については、「採血にあたっては、パラメータ値の推定に必要な薬物濃度データを適度な分布で得るために、採血時点が外来時間帯等に集中すること等がないように、被験者の都合も勘案しながら採血時点を複数設定しておくことが望ましい。」とされ、具体的な例の提示はないが、「後発品の生物学的同等性試験ガイドライン（1997）」において「Cmax，AUCなどの評価に十分な」データ収集計画として示されている「投与直前に1点，Cmaxに達するまでに1点，Cmax附近に2点，消失過程に3点の計7点以上の体液の採取が必要である.」という内容が参考になろう。

しかし現実には、小児を対象とした臨床試験に代表されるように、許容される採血回数・量の負担や時間的な拘束に限界がある[11]、PPK解析以外の効果・安全性に関する主目的のある臨床試験への追加という形で実施される[12]などの理由から、PPK解析の担当者は試験計画策定に関与できず、所与のデータから有用な情報を探索するという場合が少なくない[10]。最適でないデータ収集計画に基づいたPPK解析結果について、パラメータ推定値の信頼性について評価が行われたのちに公表されることは通常無い。これは臨床薬理学の実践上の課題であると考えるが、十分に研究が進んでいない。

本博士論文では、限定されたデータ収集計画にもとづくデータのPPK解析における問題の検討を行い、対策を提案することを目的とした。なお、パラメータ推定精度・正確度を考慮した計画ではなく臨床試験実施上の制約から定められたデータ収集計画であって、かつ、採血時点が最高血中濃度の前後と消失過程を含む広い時間帯におよぶものでない場合を、限定されたデータ収集計画（limited sampling design、以下LSD）と呼び、また、

LSD により取得されたデータを limited sampling データと呼ぶ。第 1 章から第 3 章で述べる研究を行い、アルコールの血中薬物動態解析を事例とし、PPK 解析におけるパラメータ推定値の評価方法と問題がある場合の対策について提案、検討を行った。第 1 章では、日本人被験者での適量飲酒後の血中アルコール濃度の PPK 解析を行った。これを時間―血中濃度曲線の前半のみデータを収集した場合の limited sampling データの事例と考え、第 2 章では、PPK パラメータ推定値の精度と正確度に対するデータ取得計画の影響を検討し、推定の偏りと方向を見積もる手順を提案した。第 3 章では、これまでに報告された血中アルコール濃度の PPK 解析結果を事前情報とし、第 1 章で扱った日本人被験者の血中アルコール濃度データの解析に利用することによって、単独のデータセットの解析では得られなかった新たな共変量の影響を推定した。

本論

第 1 章 日本人被験者でのアルコール飲料摂取後の血中アルコール濃度の母集団薬物動態研究

アルコール飲料摂取後の血中アルコール濃度は、年齢、性別、体重、摂食の有無、摂取する酒類、アルコール代謝酵素の遺伝子多型の影響を受ける[13-14]。これまで日本人を対象としたアルコールの PPK 解析は行われていない。約半数の日本人の普段の飲酒機会における飲酒量である 1～2 単位（アルコール重量 12～24g）[15] 相当量を摂取した後の血中アルコール濃度について PPK 解析を行った。また、これまでアルコールの吸収速度に影響を及ぼす因子について重点的に遠投した PPK 解析の報告はない。本研究では、アルコールの吸収速度に影響を及ぼす要因を検討するために絶食状態で低用量のアルコールを摂取した直後の血液サンプルを重点的に採取した。

母集団の平均的な薬物動態パラメータ、薬物動態パラメータの個人間変動の大きさ、個人の薬物動態パラメータと関連する被験者特性を明らかにすることにより、所与の被験者特性を持つ患者の飲酒後の所与の時点での平均的な血中アルコール濃度と個人間変動の程度を予測することができ、アルコールの生理作用の経時的な変化の予測に役立つ。

第 1 章では、日本人被験者でのアルコール飲料摂取後の血中アルコール濃度の PPK 研究について述べる。

方法

アルコール飲用実験

日本の健常成人男性 21 人、女性 13 人が参加した。研究者による問診により健康状態を確認し、処方薬を必要とする疾患を有する被験者を除外した。被験者は、実験開始の 12 時間前以降のカロリー摂取を控えるように指示された。試験当日、全被験者は、10 分間かけてアルコール重量 14.0g（体重 1kg あたり平均投与量 0.232g を含むビール一缶（350mL）を摂取した。飲用完了 5、10、20、30 および 60 分後に血液を採取した。研究プロトコルは、大阪大学医学部医学倫理委員会および大阪大学研究倫理審査委員会によって承認された。全被験者から書面による同意を得た。

血中アルコール濃度（blood alcohol concentration、以下 BAC）分析

血液（1.0mL）を、1.0mL の 0.05%メチルエチルケトン（内部標準）を加えた容量 13mL のフッ化ケイ素ラミネートパッキングスクリューキャップつきシリンジバイアルに移した。 ヘッドスペースガスクロマトグラフ（GC）法に従って試料を測定した。 GC 分析は、フレームイオン化検出器を備えた島津 GC-14A ガスクロマトグラフを用いて行った。 カラムは Chromosorb W 101 60-80 メッシュ（信和化工株式会社、京都、日本）を充填した 1m×3mm ガラスカラムを用いた。 カラム、注入口、検出器の温度は、それぞれ 140℃、200℃、220℃とした。検量線は、標準液のエタノール濃度に対するピーク面積比をプロットすることによって得た。 エタノールは 0.001～0.6g / L の範囲で良好な直線性を示した。 曲線の方程式および r 値は、$y = 2.2426 x - 0.014$、$r^2 = 0.9992$ であった。エタノールの定量限界は 0.001g / L であった。

SNP 遺伝子多型決定

ADH1B および *ALDH2* についての一塩基多型（SNP）の遺伝型は、受託検査機関

（DNA バンク、東京、日本）において決定した。 被験者は口を水で 2 回洗浄し、頬の内側を綿棒で少なくとも 10 回擦って口腔上皮細胞を採取した。 綿棒は保存緩衝液で満たされた試験管に入れられ、直ちに郵送された。

モデル構築

被験者 34 人から得た合計 157 の BAC について、ソフトウェア NONMEM 7.3（ICON Clinical Research LLC、North Wales、PA、USA）の ADVAN2 および TRANS2 サブルーチンを使い、推定方法を条件付一次近似法（FOCE）とし、ベースモデルを決定した。

1 コンパートメントモデルの PK パラメータの、吸収速度定数（ka）、みかけの分布容積（V_d/F）および消失速度定数（k_{el}）を推定した。PK パラメータの個人間変動に対数正規分布を仮定した。

$$P_i = P_{pop} \cdot exp(\eta_{p_i}) \qquad (1)$$

ただし、P_iは、個人 i の PK パラメータ、すなわち、k_{a_i}、V_d/F_i 、k_{el_i}であり、η_{p_i}は、平均 0 および分散$\omega_p{}^2$の正規分布にしたがう個人間の変量効果である。P_{pop}は集団平均 PK パラメータのk_a、V_d/F，k_{el}である。誤差は、以下の比例誤差構造を仮定した。

$$C_{ij}^{obs} = C_{ij}^{pred} \cdot (1 + \varepsilon_{ij}) \qquad (2)$$

ここでC_{ij}^{pred}は個人 i の j 番目の時点の PK モデルによる予測値であり、C_{ij}^{obs}は観測値であり、ε_{ij}は被験者 i の j 番目の観測値の予測値とのずれを百分率で表したものである。 ε_{ij}は平均 0、分散σ^2の正規分布にしたがう。共分散行列の全非対角成分は 0 と仮定した。

ベースモデルを基本として、最終モデルを構築した。PK パラメーターの個体間変動に対する被験者特性の影響を評価するために、NONMEM で産出される目的関数値（OFV）を用いた。複数のモデル間の比較の目的で、尤度比検定を用いた。共変量をあらたに取り込むことによる OFV の変化（ΔOFV）は、近似的に、モデル間のパラメータ数の差に等しい自由度（d.f.）のカイ二乗分布に従う。したがって、1 つの母数効果についてΔOFV

＜ -3.84 は、α = 0.05 の統計的有意性に相当し、ΔOFV ＜ -6.63 は、α = 0.01 の統計的有意性に相当する。

最終モデルは、以下に記載するように、4 ステップの手順に従って構築した。

ステップ 1

ベースモデルからはじめ、単変量解析として PK パラメータと共変量候補の全変数の関係を検討し、NONMEM の OFV を少なくとも 3.84（尤度比検定 p <0.05 に対応）減少させ、かつ、最も減少させる変数を共変量としてモデルに留めた。

ステップ 2

ステップ 1 で選んだモデルからはじめ、残りのすべての共変量候補について単変量解析として NONMEM の OFV を少なくとも 3.84 減少させ、かつ、最も減少させる変数を共変量としてモデルに留めた。

ステップ 3

モデルに含まれる各追加共変量について OFV を少なくとも 3.84 減少することを条件に、ステップ 2 を繰り返した。

ステップ 4

バックワードセレクションとして、除いた場合の OFV の上昇が 6.63 より小さい場合にモデルから変数を除いた。

共変量候補として、連続変数では年齢、体重、離散変数では性別、ADH1B 遺伝子型、ALDH2 遺伝子型を共変量候補として PK パラメータとの関連を検討した。連続変数の場合は、中央値を中心とし、以下のようにモデル化した。

$$P_{pop} = \theta_P \cdot (covariate/median_{cov})^{\theta_{cov}} \qquad (3)$$

ただし、θ_Pは共変量が中央値であるときの典型的な PK パラメータであり、θ_{cov}は共変量のスケールファクターである。性別は、0（男性）または 1（女性）の値をとる指標変数

（IND）を用いて二値変数としてモデル化した。

$$P_{pop} = \theta_P + \theta_{cov} \cdot \mathrm{IND} \qquad (4)$$

ここで、θ_Pは IND = 0 のときの母集団平均薬物動態パラメータ値であり、θ_{cov}は IND = 1 の時のパラメータ値の変化である。当初、2 つのアレルの組み合わせから 3 つの接合体、*ADH1B*1/*1* 、*ADH1B*1/*2*、*ADH1B*2/*2* および、*ALDH2*1/*1*、*ALDH2*1/*2*、*ALDH2*2/*2* を考えた。しかし、本研究の参加者は、2 つの接合体（*ALDH2*1/*1* および *ALDH2*1/*2*）をもつ被験者のみであった。これは、*ALDH2*1/*1* 遺伝型を有する個体がアルコールを控える傾向があるためであると考えられた。また、*ADH1B*1/*1* の被験者は 1 名のみであったため、*ADH1B*1/*2* のグループに統合し、*ADH1B*1/*2* と *ADH1B*2/*2* との間の効果のみを評価した。両方の遺伝子について 2 つのカテゴリーとなったので、各遺伝子を二値変数として扱った。 ADH1B の場合、0 は ** 1 / * 2* を示し、1 は **2/*2* を示し、 ALDH2 の場合、0 は **1/*1* を示し、1 は **1/*2* を示す。

モデルバリデーション

最終モデルの検証のために、観測値（observed BAC）対予測値（predicted BAC）、観測値 対 個人予測値（individual predicted BAC）、条件付加重残差（conditional weighted residuals）対 予測値、条件付加重残差 対 時間の散布図を描いた。 最終モデルの予測能力を検証するために、visual predictive check（VPC）をおこなった。VPC のために、最終モデルを使用して、仮想的に臨床研究データを 1,000 セット生成しました。仮想データの各時点での BAC の中央値と、2.5%点と 97.5%点の間隔を 95%予測範囲としてプロットし、観測データと比較した。

結果と考察

被験者特性

被験者 34 人の特性を Table 1 に示す。男性 21 人、女性 13 人、平均年齢（標準偏差）29.4（12.9）歳、平均体重 61.3（10.8）kg であった。アルコール脱水素酵素遺伝型とアルデヒド脱水素酵素遺伝型の構成比は、日本人 524 名を対象とした調査結果（*ADH1B* **1/*1*：6.5%；**1/*2*：33.2%；*2/*2*：60.3%、*ALDH2* **1/*1*：56.8%；*1/*2*：36.6%；*2/*2*：6.5%）[16] とおおむね一致した。

Table 1. Subject characteristics.

	Number (%) or Mean (SD, range)
Gender	
Male	21 (62%)
Female	13 (39%)
Age, years	29.4 (12.9, 20 - 62)
Weight, kg	61.3 (10.8, 43 - 83)
Genotype	
ADH1B Arg48His (G > A)	
GG (**1/*1*)	1 (3.0%)
GA (**1/*2*)	6 (17.6%)
AA (**2/*2*)	27 (79.4%)
ALDH2 Glu504Lys (G > A)	
GG (**1/*1*)	21 (61.8%)
GA (**1/*2*)	13 (38.2%)

ALDH2, acetaldehyde dehydrogenase 2,
ADH1B, alcohol dehydrogenase 1B.

血中アルコール濃度

各被験者の血中アルコール濃度の経時的推移を Figure 1 に示す。最大値 0.41g / L、最小値 0.0014 g / L の 34 人の被験者からの計 157 の BAC を分析した。

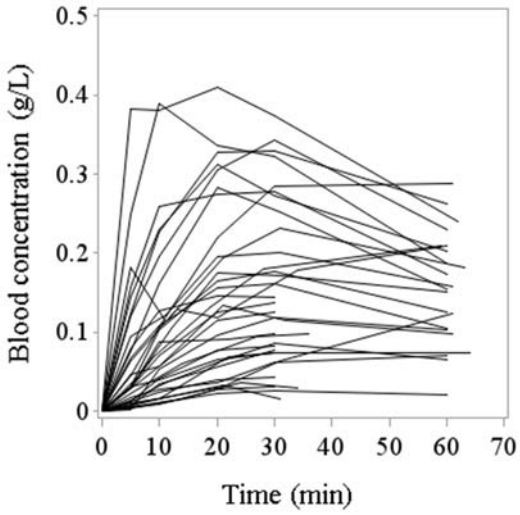

Figure 1. Blood alcohol concentration vs time curves

モデル構築

時間－BAC データに対してベースモデルとして 1 コンパートメントモデルをあてはめた。BAC の消失速度は Michaelis-Menten 式であらわせるとされている[2,14]。しかし、Figure 1 に示すように消失過程の観測値が少なく、消失過程に複雑な解析モデルを適用するのは難しいと考えた。データの持つ情報が少ない場合にはパラメータ数が少ない方が望ましいというモデルによるデータ解析の原則と、Michaelis-Menten 式は BAC が低値の場合は 1 次速度過程で近似できることから、1 次消失過程の 1 コンパートメントモデルにより解析した。ベースモデルと最終モデルのパラメータ推定値、最終モデルでの母集団平均薬物動態パラメータと共変量の関係式を Table 2 に示す。最終モデルのk_a、V_d/Fの集団平均推定値は、それぞれ、0.023 min^{-1}、48.3 L であった。年齢はk_aと正の相関があり、V_d/Fと負の相関があった。体重はV_d/Fと正の相関があり、アルコール脱水素酵素の遺伝型は、*ADH1B*1/*1* または *ADH1B*1/*2* に対して *ADH1B*2/*2* ではV_d/Fの推定値が高値だった。Table 2 にベースモデルのk_a、V_d/F、k_{el}の推定値を示す。当初は、k_a、V_d/F、k_{el}すべてに個人間変動が取り入れたが、k_{el}の個人間変動の推定値は小さく、個人間変動をモ

デルから除いても OFV が大きく変わることがなかったため、最終モデルから除いた。

最終モデル構築の過程で、k_aはステップ 1 で ΔOFV = -31.4 で年齢と関連がみられた。続いて、ステップ 2 およびステップ 3 において、V_d/Fは、ΔOFV= -14.3 で体重と、ΔOFV= -4.4 で年齢と、ΔOFV = -7.6 で ADH1B 遺伝型とそれぞれ関連がみられた。性別はV_d/Fとの関連は有意ではなかった（ΔOFV= -1.6）。ステップ 1、ステップ 2 およびステップ 3 を介してベースモデルに組み込まれた共変量は、ステップ 4 で削除されなかった。最終モデルで推定された PPK パラメータを Table 2 に示した。

この結果から、年齢とk_aとの間に正の関連が、年齢とV_d/Fとの間に負の関連が存在することが示された。k_{a_i}の高い被験者ではアルコール摂取後に BAC が急激に上昇し、V_d/F_iの低い被験者では BAC が比較的高値を示した。老化とk_aとの関係に関する報告は多くない。Pozzato らは、若年成人および高齢の非アルコール依存症の男性被験者において、体重 1kg あたり 0.3g のアルコールを静脈内または経口投与した後の BAC の曲線下面積の差から算出できる初回通過代謝（FPM）が、若年者に比べて高齢者では 1/3 に減少したことを報告している [17]。高齢の被験者でみられた BAC の急速な上昇は、FPM の減少で説明できるため、我々の結果は Pozzato らの報告と一致する。また、本研究の結果と同様に、高齢の被験者は若年の被験者よりもV_d/Fが低いとの報告がある [18, 19]。アルコールの吸収速度は消失速度よりも大きいため、k_aはピーク BAC の重要な決定要因でもある [13, 20, 21]。また、V_d/Fと体重の正の関連は合理的である。

本研究では、V_d/Fは *ADH1B*1/*2* の被験者より *ADH1B*2/*2* の被験者において高かった。この結果は、*ADH1B*2/*2* の被験者では BAC が比較的低いことを意味している。我々の結果は、AHD1B の各遺伝子多型の in vitro 酵素活性 [22] とつじつまが合う。

Table 2. Estimates of population pharmacokinetic parameters for alcohol using the Base and the Final model.

Parameter	Base model estimate (SE)	Final model estimate (SE)
Fixed Effects		
Population mean parameters		
k_a, min^{-1}	0.023 (0.009)	0.033 (0.010)
V_d/F, L	48.3 (14.5)	44.5 (14.5)
k_{el}, min^{-1}	0.014 (0.005)	0.014 (0.004)
Fixed effects of covariates		
$\theta_{AGE(k_a)}$	-	1.86 (0.50)
$\theta_{AGE(V_d/F)}$	-	-0.66 (0.22)
$\theta_{WT(V_d/F)}$	-	1.40 (0.29)
$\theta_{ADH1B(V_d/F)}$	-	15.4 (6.7)
Random Effects (Inter-individual variability)		
ω_{k_a}, %	135 (33.8)	47.3 (11.8)
$\omega_{V_d/F}$, %	4.3 (6.9)	0.3 (1.8)
Residual error		
σ, %	6.2 (1.2)	5.9 (1.1)

Structural model for pharmacokinetic parameters and covariates in the final model:

$$V_d/F_i = \left(V_d/F + \theta_{ADH1B(V_d/F)} \times IND\right) \times (WT/61.3)^{\theta_{WT(V_d/F)}} \times (AGE/29.4)^{\theta_{AGE(V_d/F)}} \times e^{\eta_{V_d/F_i}}$$

$$k_{a_i} = k_a \times (AGE/29.4)^{\theta_{AGE(k_a)}} \times e^{\eta_{k_{a_i}}}$$

k_a, absorption rate constant; V_d/F, apparent volume of distribution; k_{el}, elimination rate constant; WT, body weight; ADH1B: alcohol dehydrogenase 1B; ω, coefficient of variation of interindividual variability; σ, coefficient of variation of residual error; unit of weight = kg.
$IND = 1$ if *ADH1B* genotype is *2/*2; $IND = 0$ if *ADH1B* genotype is *1/*2 or *1/*1.

モデルバリデーション

最後モデルでは、観測値と個人予測値の相関は高く（Figure 2（b））、条件付荷重残差は、許容可能な範囲（すなわち、-5.0 と 5.0 との間）で、-4.6 から 2.7 まで均一に分布していた（Figure 2（c）および（d））。最終モデルを評価するために、VPC を実施した。最終モデルにもとづいて生成された各時点の BAC の 2.5～97.5%値と中央値を実際のデータと比較した（Figure 3）。アルコールの摂取後 10 分から 60 分の間に観察された濃度の形態について、2.5%から 97.5%の範囲内に 87%が含まれていた。観測値に対する最終モデルによる予測は良好であった（Figure 2）。適合度プロットまたは他のモデル評価基準でバイアスはみられず、モデルのデータへのあてはまりが良好であることが示された。

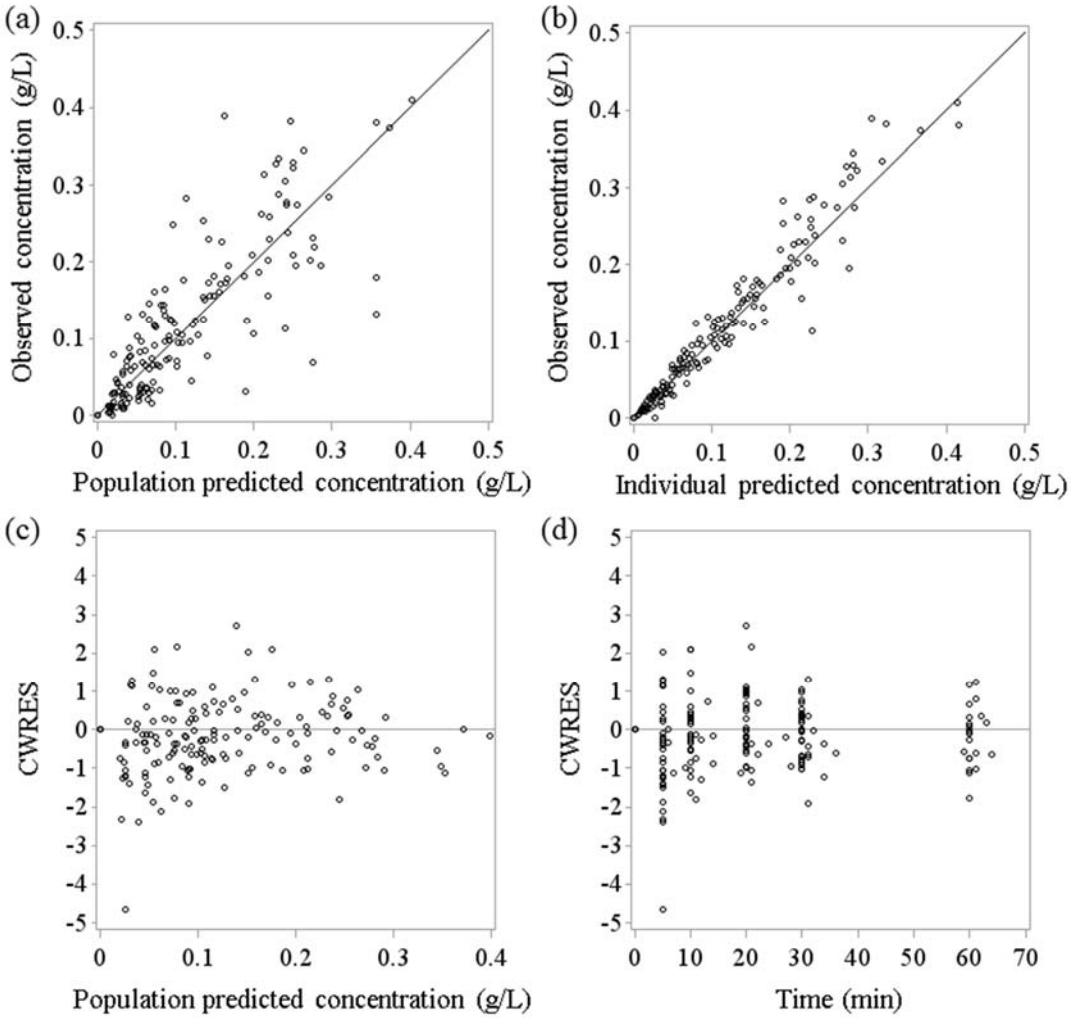

Figure 2. Goodness-of-fit plots for the final model: (a) observed vs population-predicted blood alcohol concentration (BAC); (b) observed vs individual-predicted BAC; (c) conditional weighted residuals (CWRES) vs population-predicted BAC; and (d) CWRES vs time after alcohol consumption.

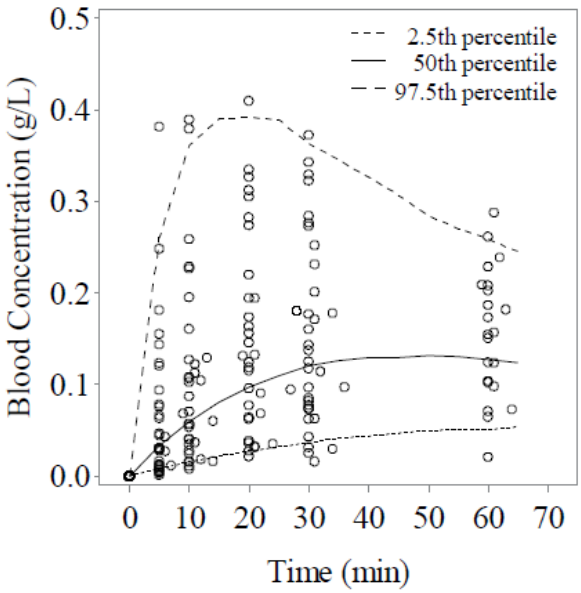

Figure 3. Visual predictive check of the final pharmacokinetic model. Circles represent the observed blood alcohol concentration. Lines indicate the median, 2.5th percentile and 97.5th percentile of predicted values based on the final model.

小括

日本人を被験者とし、適量飲酒（moderate drinking）後の血中アルコール濃度の個人間変動の程度と被験者特性の関係を明らかにした。高齢の被験者でのk_aが比較的高値、V_d/Fが比較的低値であると推定され、これは、高齢者では血中アルコール濃度のピーク値到達時間が比較的早く、ピーク値が比較的高値であると解釈できた。さらに、アジア民族で少数派である *ADH1B*1* の遺伝型（不活性型）をもつ被験者ではV_d/Fが比較的低値であると推定され、これは血中アルコール濃度が高値をとることに対応していると解釈できた。一方、研究の限界として、解析対象データは飲酒後 60 分までの血中アルコール濃度のみであり、血中アルコールの消失過程として知られているミカエリス・メンテン消失過程に関するパラメータである最大反応速度およびミカエリス定数の推定を行うには情報不足であった。モデルを単純化し、1 次速度過程を仮定し消失速度定数の推定を行ったが、この推定値の信頼性には疑問が残った。

第 2 章　Limited sampling データの母集団薬物動態パラメータ推定値に関する研究

PPK 解析のためのデータ収集に際しては、サンプリング計画の検討が重要である。PPK 解析の目標の一つは、PPK パラメータを高い精度・正確度で推定することである。PPK パラメータ推定値は、時間－BAC 曲線の AUC や閾値濃度を越える時間の計算、薬力学的モデルと組み合わせて臨床試験シミュレーションなどに使用される。パラメータ推定値の精度・正確度には、被験者 1 人あたりのサンプル数、時間経過に対するサンプリング点の配置、被験者の数が影響する。

しかし PPK 解析では、臨床試験実施上の制約から、採血時点が適切に選択されたデータ収集計画を実現できないことがある。このようなデータに基づくパラメータ推定値の信頼性について検討されることなく公表されることは、臨床薬理学の実践上の課題である。

モデルパラメータの事前情報を使用するベイズ流アプローチなど、この問題に対するいくつかの解決策がこれまでに提案されている[24-26]。しかし、過去の報告で用いられた解析モデルと同じ PPK モデルを現在の解析で使用することが前提であるため、この方法が使える場合は限られる。アルコール研究の分野では、この方法は最も良い選択肢ではない。アルコール研究の歴史において時間 BAC データの解析モデルとして Widmark の式が長く活用され、分析結果の蓄積がある。血中アルコールの排泄に 0 次速度過程を仮定した Widmark の式は、近年広く使用されているモデルとは異なり、排泄速度は濃度に依存しないと仮定するものである。ここでは、Widmark の式のパラメータ推定値を過去の知見（historical knowledge）と呼ぶ。

確率的臨床試験シミュレーションは、パラメータ推定値の真値からの偏りなどの基準に従って複数のデータ取得計画を比較し、好ましい計画を選択する目的で使われてきた[14-17]。第 1 章の研究を LSD によるデータの事例であると考え、第 2 章では、LSD によるデータについて、PPK パラメータの推定値の精度と正確度を評価する目的で確率的臨床試験

シミュレーションを用いた。採血時点を十分多くとったデータ収集計画（dense sampling design、以下、DSD）によるデータを比較対照とした。

シミュレーションによる評価の結果、信頼性に問題があると考えられたパラメータについて、過去の知見を利用してより真値に近い推定値を得る目的で、過去の知見に基づいて確率的に発生させたデータを実データに補完する方法を試み、「過去の知見を利用したバイアス推定手順」として提案した。

第 2 章では、Limited sampling データの PPK パラメータ推定値に関する研究について述べる。

方法

確率的シミュレーションと推定

シミュレーションの目的は、2 つのデータ収集計画間で、集団平均 PK パラメータの推定精度・正確度を比較することである。式（5）に従って一次吸収速度の 1 コンパートメントモデルを用いてアルコール摂取後の BAC をシミュレートした。

$$C_{ij} = \frac{D_i \cdot k_{a_i}}{V_d/F_i \cdot (k_{a_i} - k_{el_i})} \{exp(-k_{el_i} \cdot t_{ij}) - exp(-k_{a_i} \cdot t_{ij})\} \qquad (5)$$

ただし、V_d/F_i、k_{a_i}、k_{el_i}は個人 i の各 PK パラメータである。C_{ij}は、j 番目の時点t_{ij}における個人 i のモデル予測濃度であり、D_iは、個人 i が消費するアルコールの量である。

各パラメータの個々の値は、条件（6）に従って得られた。

$$\boldsymbol{\theta}_i = \begin{pmatrix} V_d/F_i \\ k_{a_i} \\ k_{el_i} \end{pmatrix}, \quad \boldsymbol{\mu}_\theta = \begin{pmatrix} V_d/F \\ k_a \\ k_{el} \end{pmatrix}$$

$$log\boldsymbol{\theta}_i \sim N(log\boldsymbol{\mu}_{\boldsymbol{\theta}}, \boldsymbol{\Sigma}), \quad \boldsymbol{\Sigma} = \begin{pmatrix} \sigma_{V_d/F}{}^2 & 0 & 0 \\ 0 & \sigma_{k_a}{}^2 & 0 \\ 0 & 0 & \sigma_{k_{el}}{}^2 \end{pmatrix} \qquad (6)$$

ただしV_d/Fは見かけの分布容積の集団平均であり、k_aは吸収速度定数の集団平均であり、k_{el}は消失速度定数の集団平均であり、N は正規分布を表わす。 個々のパラメータは、対数正規分布に従うものと仮定した。ここで、$\sigma_{V_d/F}{}^2$、$\sigma_{ka}{}^2$および$\sigma_{kel}{}^2$は、各 PK パラメータの個人間変動である。

モデルの予測値と観測値との間の残差は、式（7）のように、比例モデルと仮定した。

$$y_{ij} = C_{ij} \times (1 + \varepsilon_{ij}), \quad \varepsilon_{ij} \sim \mathrm{N}(0, \sigma^2) \qquad (7)$$

ここで、y_{ij}は、j 番目の時点における個人 i の観測値である。

式（5）に従って LSD データを生成した。 シミュレーションの条件は、34 人の被験者のそれぞれが 17.5g のアルコールを単回摂取し、その後、5、10、20、30 分および 60 分

で観測値を得るというものである。 DSD データを生成するために、投与後 5、10、20、30、60、120、180 分および 240 分と、8 回のサンプリングがあることを除いて、モデル、アルコール投与量および被験者数は、LSD と同じにした。Table 3 に各シミュレーション設定のパラメータの値を示す。 第 1 のシミュレーションシナリオであるケース 1 のパラメータは、動機となった第 1 章のモデルパラメータ推定値を参考にした。PPK パラメータの違いがケース 1 と異なる結果をもたらすかどうかを検討する目的で、ケース 2～4 を設定した。ケース 2 ではV_d/Fを 2 倍に設定し、ケース 3 では半分に設定した。ケース 4 では、各 PK パラメータの個人間変動を小さく設定した。Figure 4 に、例として LSD と DSD による 1 データセットを示した。

Table 3. Population Pharmacokinetic Parameters in the Simulation Study

Parameter	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
Fixed Effect				
V_d/F , L	45	90	22.5	45
k_a, min^{-1}	0.1	0.1	0.1	0.1
k_{el}, min^{-1}	0.01	0.01	0.01	0.01
Inter-individual Variation				
$\sigma_{V_d/F}$, log(L)	0.4	0.4	0.4	0.1
σ_{k_a}, log(min^{-1})	0.4	0.4	0.4	0.1
$\sigma_{k_{el}}$, log(min^{-1})	0.4	0.4	0.4	0.1
Inter-individual Variation				
σ, g L^{-1}	0.2	0.2	0.2	0.2

The parameters for Case 1 were determined by referencing the estimates of the motivating example summarized in Table 2. V_d/F is set to be twice in Case 2, and is set to be half in Case3.

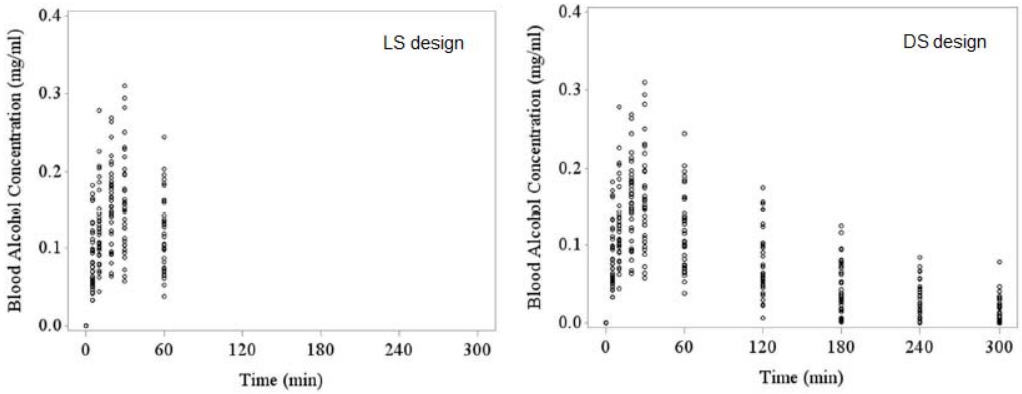

Figure 4. Sampling Time Points for LS and DS designs in the Simulation. One set of simulated data is presented for each sampling design. Limited sampling design (LS design); dense sampling design (DS design).

仮想データに対して、式（5）のモデルを解析モデルとして使用して集団 PK パラメータを推定した。ソフトウェアは SAS 9.3 の NLMIXED プロシージャを用いた。変量効果を積分した尤度関数は解析的に取得できないため、適応ガウス積分を用いて尤度を近似し、尤度の最大化の手法として準ニュートンアルゴリズムを使用した。各データセットの集団平均 PK パラメータの推定値の真値からの偏りは、式（8）に従って算出した。データ取得計画が推定の精度と正確度に及ぼす影響は、% $bias(\hat{\mu}_{\theta_k})$の 2.5%値、中央値、97.5%値を得ることによって調べた。

$$\%\ bias(\hat{\mu}_{\theta_k}) = \frac{\hat{\mu}_{\theta_k} - \mu_\theta}{\mu_\theta} \times 100, (\%) \qquad (8)$$

ただし、平均 PK パラメータ θ はμ_θで表され、k 番目のデータセットの推定値は$\hat{\mu}_{\theta_k}$とする。

過去の知見を利用したバイアス推定手順

法医学において、Widmark の式（式（9））[27]は、血中アルコール濃度を消費されるアルコールの量に変換するために広く使用されてきた。

$$C^w{}_{ij} = \frac{D_i}{\rho_i \times WEIGHT_i} - \beta_i \times t_{ij} + \varepsilon_{ij}, \quad \varepsilon_{ij} \sim N\left(0, \sigma^2\right) \qquad (9)$$

ここで、$C^{w}{}_{ij}$はj番目の時点t_{ij}での個人iの血中濃度、D_iは摂取したアルコールの量、ρ_iは体重あたりの分布量、β_iはアルコールの0次消失速度、および $WEIGHT_i$は、個人iの体重である。

個人のパラメータ値は式（10）に従って生成した。

$$\boldsymbol{\theta}_i = \begin{pmatrix} \rho_i \\ \beta_i \end{pmatrix}, \quad \boldsymbol{\mu}_\theta = \begin{pmatrix} \rho \\ \beta \end{pmatrix}, \quad \boldsymbol{\theta}_i \sim N(\boldsymbol{\mu}_{\boldsymbol{\theta}}, \boldsymbol{\Sigma}), \quad \boldsymbol{\Sigma} = \begin{pmatrix} {\sigma_\rho}^2 & 0 \\ 0 & {\sigma_\beta}^2 \end{pmatrix} \qquad (10)$$

ここで、ρは体重当たりの分布容積の母集団平均であり、βは血液からのアルコールのゼロ次排除速度の母集団平均であり、Nは正規分布を表す。 個々のパラメータは対数正規分布に従うものと仮定した。ここで、${\sigma_\rho}^2$と${\sigma_\beta}^2$は、見かけ上の分布容積、吸収速度、消失速度の個人間変動の分散である。

データを生成するためのパラメータ値は、以下の通りである： ρ = 0.70L / kg; σ_ρ= 0.07L / kg; β = 0.140g / L / hr; σ_β= 0.02g / L / hr; 平均体重= 60kg（標準偏差= 10kg）。σ = 0.036g / L。 これらの値は、1990年代以降に報告されているWidmarkの公式の推定定数を参照して決定した（Table 4）[28-32]。

Table 4. Reported Parameter Estimates using Widmark's Formula

	Subject M / F	Mean ρ (SD) L kg^{-1}	Mean β (SD) g L^{-1}hr^{-1}
Yamamoto et al., 1993	93 M	-	0.136 (0.020)
Gullberg et al., 1994	108 M	0.69 (0.061)	0.133 (0.020)
Nishimura et al., 2006	151 M	-	0.144 (0.020)
Gullberg et al., 2007	24M	0.73 (0.067)	0.148 (0.032)
Dettling et al., 2007	68 M	-	0.158 (0.028)
	64 F	-	0.179 (0.030)

-: Not reported. SD: standard deviation.

過去の知見に基づいてデータの補完を試みた。34人の被験者（1被験者につき1つの観察）からの3種類の時間範囲の時点での34の観測値を生成し、第1章の研究で得た実

際のデータ（被験者 34 人からの観測値 157）と組み合わせた。Widmark の式で生成したデータセットには年齢は含まれないが、解析につかう PPK モデルでは年齢を共変量として必要とするため、第 1 章の研究の被験者の平均年齢を補完した。 60-120 分（パターン 1）、60-180 分（パターン 2）、および 60-240 分（パターン 3）と、3 種類の時間範囲内の時点での観測値を生成した。説明のために、各パターンの結合データセットの例を Figure 5 に示す。

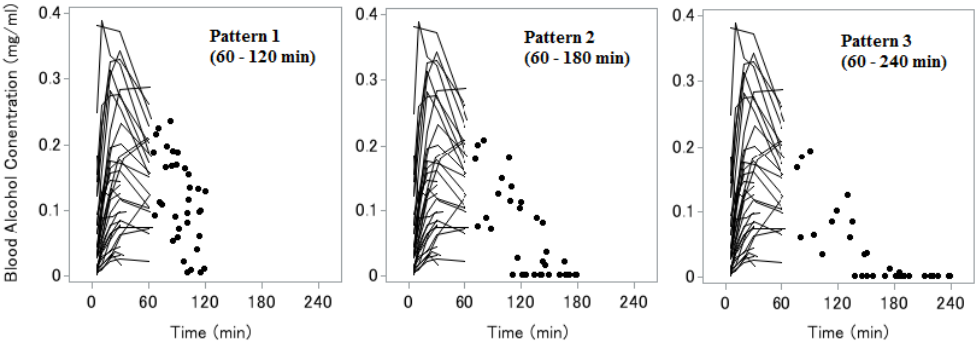

Figure 5. Patterns of Complemented Data. One set of simulated data for each pattern is presented. Real data are presented as unbroken lines and complemented data as dotted lines.

結果

LSD での集団平均 PK パラメータの推定精度

ここでは、集団平均 PK パラメータの推定値の偏りの分布を数値的に調べた。ケース 1 のシミュレーション設定での推定値の偏りの分布は、箱ひげ図（Figure 5）に示した。DSD に比較して LSD の精度はk_{el}に限って劣っていた。Table 6 は、LSD および DSD による集団平均 PK パラメータ（V_d/F、k_a、k_{el}）の% $bias$の 95%分布範囲を示す。 LSD でのk_{el}の% $bias$の 95%範囲（-40.7%、+ 51.0%）は、DSD（-12.7%、+ 15.2%）の約 3 倍であったのに対し、95% V_d/Fとk_aの% $bias$は両者で大きく異ならなかった。Figure 5 に示すように、ケース 1 の LSD でのk_{el}の推定精度の問題は、他のすべてのケースで見られた（Table 6）。各ケースの収束率は少なくとも 73%であり、十分に高かった。 DSD の収束率は比較的低かったが（Table 6 注）、LSD と DSD の間の集団平均 PK パラメータの推定値の分布に顕著な差はなかった。

データ収集計画とは無関係に、すべての集団平均 PK パラメータでは、バイアスの中央値は約 0 であり、LSD が推定バイアスを引き起こさなかったことが示された。

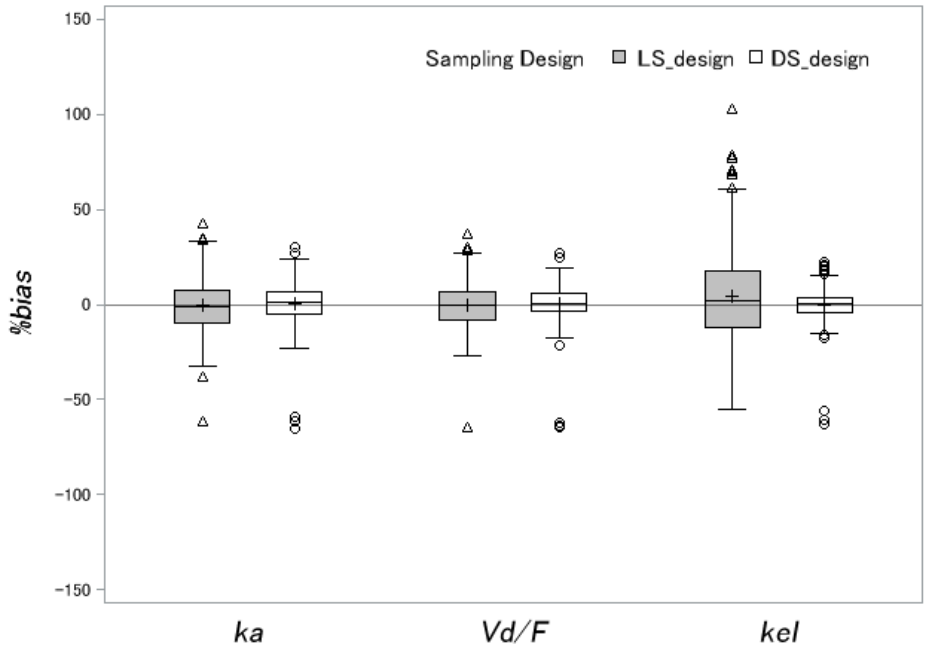

Figure 6. Distribution of *%bias* of Population Pharmacokinetic Parameter Estimates in the Simulation Setting of Case 1. The gray filled boxes indicate the LS design; the open boxes the DS design. The precision of the estimated k_{el} was poorer in the LS than DS design study. V_d/F is the population mean of the apparent volume of distribution, k_a is the population mean of the absorption rate constant, and k_{el} is population mean of the elimination rate constant. The centerline and vertical ends of the boxes represent the median, 25th, and 75th percentile of the distributions, and the whiskers extend to the full range of the data or to 1.5-fold of the interquartile range (IQR) from the median value, whichever was less. The *%bias* outside of 1.5-fold of the IQR are plotted as triangles for the LS design and circles for the DS.

Table 6. Comparison of the Bias and Precision of Parameter Estimation Between Limited and Dense Sampling Designs

		%bias (%)					
		k_a		V_d/F		k_{el}	
		LSD	DSD	LSD	DSD	LSD	DSD
Case 1[a]	97.5 percentile	27.6	19.0	21.6	13.9	51.0	15.2
	Median	-1.4	0.8	-0.3	0.6	2.2	0.1
	2.5 percentile	-25.8	-15.2	-19.1	-14.7	-40.7	-12.7
Case 2[b]	97.5 percentile	27.3	15.5	21.6	15.6	47.2	13.4
	Median	1.5	-0.5	0.7	-0.2	0.7	-0.6
	2.5 percentile	-22.4	-21.1	-18.8	-30.5	-40.5	-17.5
Case 3[c]	97.5 percentile	28.9	16.6	23.8	13.3	94.1	17.5
	Median	0.1	-0.2	0.8	0.3	0.6	-0.3
	2.5 percentile	-32	-16.7	-25.3	-14.2	-93.5	-15.0
Case 4[d]	97.5 percentile	22.5	10.3	14.2	6.0	49.0	4.7
	Median	-1.2	0.9	-0.3	0.1	1.8	0.0
	2.5 percentile	-21.7	-10.5	-15.8	-7.2	-34.3	-7.0

The parameters for Case 1 were determined by referencing the estimates of the motivating example summarized in Table 1. V_d/F is set to be twice in Case 2, and is set to be half in Case3. Convergence rate = (the number of data set in which iteration converged) / (the number of the total data set). [a] Convergence rates were 81.6% for LS design and 57.4% for DS design. [b] Convergence rates were 73.8% for LS design and 68.0% for DS design. [c] Convergence rates were 87.2% for LS design and 59.0% for DS design. [d] Convergence rates were 90.6% for LS design and 64.2% for DS design. LS design: limited sampling design; DS design: dense sampling design.

過去の知見を利用したバイアス推定手順

パターン 1 からパターン 3 でデータの追加を行ったシミュレーションの結果、k_{el}推定値の分布の中央値は 0.021 min^{-1} であり、この値に比較して、LSD による現実のデータでの推定値 0.014 min^{-1} は 34.6%低い値であった（Figure 7）。LSD に起因する推定バイアスが存在し、真値よりも低い値であったと考えられた。

LSD でのk_{el}の推定値が真値に比較して 30%低い値である場合、平均的な時間―血中濃度曲線下面積について、28%高値に偏った推定値が得られることを意味する（Figure 8）。

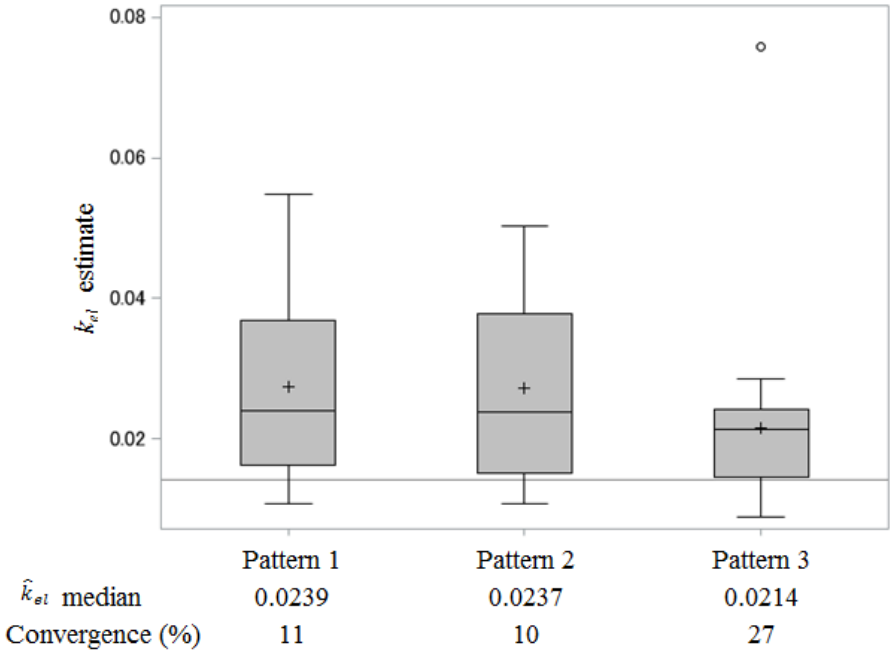

Figure 7. Distribution of k_{el} Estimates for Each Complemented Pattern. In every pattern, the median of estimates of k_{el} was greater than the estimate of k_{el} (0.0140) in the motivating example that is presented as a reference line. The centerline and vertical ends of the boxes represent the median, 25th, and 75th percentile of the distributions, and the whiskers extend to the full range of the data or to 1.5-fold of the interquartile range from the median, whichever was less.

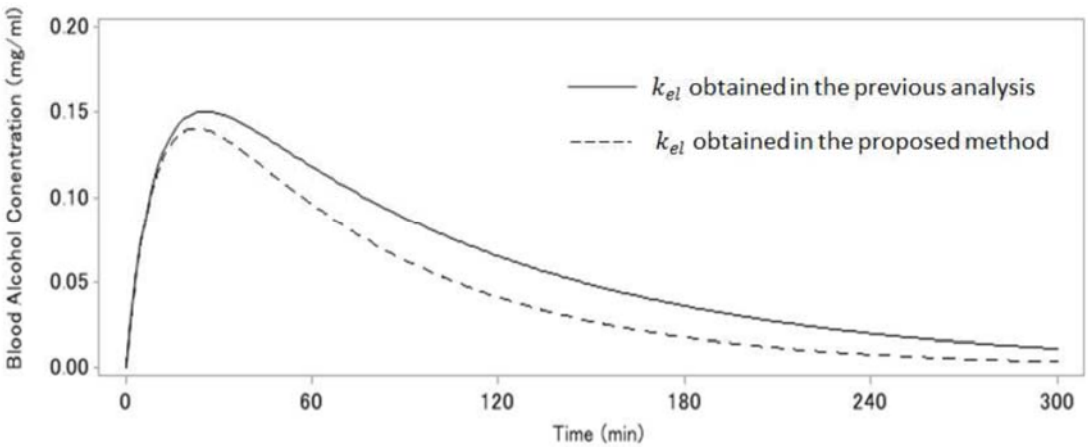

Figure 8. Graphic Presentation of the Influence of Bias in k_{el} Estimates on the Area Under the Time-concentration Curve. The solid line indicates the time-course of blood alcohol concentrations calculated using the estimates of population mean pharmacokinetic parameters that were obtained in the previous analysis. Dotted lines indicate the calculated blood alcohol concentration using the estimate of k_{el} obtained by using the proposed method.

考察

本研究では、LSD で得たデータを用いて推定された集団平均 PK パラメータの精度を評価した。 確率的シミュレーションと推定により、LSD にもとづく集団平均k_{el}の推定精度には問題があるが、他の集団平均 PK パラメータの推定精度には問題がないことが示された。 過去の知識に基づく補完を行ったシミュレーションにより、LSD によるデータを対象とした解析においてある集団平均 PK パラメータが約 30%過小評価されていたであろうと推測された。

過去の知見を利用したバイアス推定手順は、k_{el}を正確に推定するためには時間－BAC 曲線の後半の観測値が重要であるという基本的な知識に基づいている。Norberg らは、予測値の各 PK パラメータに関する偏導関数の時点ごとの絶対値のプロットによって、時間 BAC 曲線の後半の観測値は消失過程に関連する PK パラメータに関して information rich であることを示している [33]。時間－BAC 曲線の後半の観測値を過去の知見にもとづいて発生させ、実データに追加すると、k_{el}の推定精度は大幅に改善されると考えた。また、LSD のデータにもとづくk_{el}l の推定値の偏りの大きさと方向が推定できると考えた。

本研究では、現在の解析と以前に報告された解析とのモデルの違いにかかわらず、LSD における推定 PPK パラメータの偏りの大きさと方向を推定する方法を提案した。ほとんどの PPK 試験は他に目的がある臨床試験の上乗せ試験として実施され、望むデータ収集計画を実現することはしばしば困難である。したがって、試験計画（例えば、被験者 1 人当たりのサンプル数、サンプリングのタイミング、被験者数）は、最適な試験計画に基づくのではなく、臨床試験実施上の制約に基づいている [11, 12]。そのような状況に対する現実的な対策として、PPK 解析の結果は、パラメータ推定値の信頼性の評価と、バイアスの大きさと方向の評価とを伴うべきであると考えた。

アルコールの薬物動態・薬力学を正確に理解することは法医学の分野で重要な意味を持

っている。 例えば、特定の時間内に摂取したアルコール量の推定は、酒気帯び運転の疑いのある運転者の取り調べに際して貴重な情報である。 法医学において、Widmark の式（式（9））[27]は、血中アルコール濃度を消費されるアルコールの量に変換するために広く使用されてきた。

過去の知見を PPK 解析に役立てるために、ベイズ流接近法をはじめいくつかの統計的方法が提案されている[24-26]。しかし、アルコール研究の場合は、信頼性の高い過去の知見は、PPK 解析に用いる解析モデルとは異なる Widmark 式により得られてきたため、これらの手法は適用できない。これに対して、提案手法は、現在と過去の解析のモデルの違いにかかわらず用いることができる。

小括

データ収集計画の PPK パラメータ推定値の精度と正確度に対する影響を検討し、続いて、過去の知見を用いて推定値の偏りと方向を推定する方法を検討した。LSD で得られたデータにもとづく PPK パラメータの推定値の精度と正確度を確率的シミュレーションと推定で評価し、k_{el}の推定精度に問題があることを示した。続いて、過去のアルコール研究で得られたモデルによって発生させた確率的変動性を有するデータを補完するシミュレーションにより、LSD でのk_{el}の推定値は約 30%低い値であることが示唆された。

第 2 章では、臨床試験シミュレーションにより、データ取集計画に起因するパラメータ推定精度・正確度を検討できることを示した。また、既存の知見を利用し、推定値の偏りを推定する手順を提案した。ベイズ流に過去の知見をこのたびのデータ解析に活用する方法が知られているが、これに比較して過去の知見を利用したバイアス推定手順は、過去の知見での解析モデルの種類による制限がない点で有用である。

第 3 章　ベイズ流アプローチによる血中アルコール濃度の母集団薬物動態研究

アルコールは、主に肝臓での酸化反応によって体内から排除され、アルコール代謝酵素であるアルコール脱水素酵素 1B（ADH1B）、アルデヒド脱水素酵素 2（ALDH2）、ミクロソームエタノール酸化システム（MEOS）によって触媒される[13]。 ADH1B および ALDH2 遺伝子の遺伝子多型は、アルコール代謝の個体間差に寄与するとされている[33-37]。 ADH1B の変異体（*ADH1B*2*）は、野生型（*ADH1B*1*）と比較して高い活性を有する酵素をコードし、ALDH2 の変異体（*ALDH2*2*）は、不活性な ALDH2 酵素をコードする[38]。

知る限りでは、4 報のアルコールの PPK 解析の結果が報告されている。 Clardy らは、体重当たり 0.12～0.93g のアルコールを消費した被験者 55 人からの BAC データを分析し、1 次の吸収速度、Michaelis-Menten 消失過程をともなう 2 コンパートメントモデルを報告したが、PK パラメータの個人間変動への共変量の寄与は検討されていない[39]。 Yang らは、0.5～0.7g / kg のアルコールを消費した被験者 184 人からの BAC データについて、1 コンパートメントモデルの共変量として、食物摂取、性別、および体重を報告した[40]。 Lee らは、55.39g のエタノールの平均投与量を摂取した被験者 59 人のデータの解析において、Michaelis-Menten 消失過程をともなう 1 コンパートメントモデルの共変量として、年齢、体重および飲料中の溶存酸素濃度を報告した[41]。 Seng らは、男性 54g、女性 36g のアルコールを消費した被験者 154 人の BAC に対して、Michaelis-Menten 消失過程をともなう 1 コンパートメントモデルについて、共変量候補として、性別、体重、アルコール代謝酵素の遺伝子多型を調べた[42]。筆者は第 1 章に述べた研究において、1 コンパートメントモデルでアルコール 17.5g 飲用後の被験者 34 人で測定された BAC データを分析することにより、年齢、体重、ADH1B 遺伝型を共変量として報告した。しかし、これらの研究のなかで、Seng ら[42]および筆者はアルコールの PPK モデルの共変量候補として *ALDH2* の影響を検討したが、ALDH2 遺伝型を共変量とするアルコ

ールの PPK モデルを報告していない。

ベイズ流アプローチは、PPK モデリングにおいて情報の統合のための有用なツールであり、現在のデータ解析に過去の知見を事前情報（prior information）として取り込むことができる。最近、PPK 解析ソフトウェアとして汎用されている NONMEM にマルコフ連鎖モンテカルロ（MCMC）ベイズ法が実装され[44]、利用しやすい条件が整った。第 1 章で示した血中アルコール濃度データのデータ採取時点は、アルコール飲用 60 分後までであり、これまで血中アルコール濃度の解析モデルとして報告されている複雑なモデル、すなわち、消失速度を Michaelis-Menten 式とする 1 または 2 コンパートメントモデルを解析に用いても、全パラメータを推定することができない。このような情報不足のデータであっても、過去に報告された PPK モデルパラメータをベイズ流の事前情報として取り込んで解析することによって、新たに有意な共変量を同定することができるとされている[45]。第 3 章ではベイズ流アプローチによる血中アルコール濃度の PPK 研究について述べる。

方法

データセット

第 1 章で述べた日本人の健常成人 34 人を対象として行ったアルコール飲用実験で収集した 157 の BAC 観測値。対象集団、投与計画、データ収集計画を Table 6 に要約した。

ソフトウェア

BAC データを対象とした MCMC ベイズ法による PPK 解析を NONMEM 7.3（ICON Clinical Research LLC、North Wales、PA、USA）を用いて実施した。モデル構築の一部の作業と、モデルバリデーションを SAS 9.4（SAS Institute Inc.、Cary、NC、USA）および R 3.3.1 を用いて実施した。

ベイズ解析

完全条件付き階層ベイズ流解析は、NONMEM の$ PRIOR NWPRI 文を用いた。これは、母集団平均 PK パラメータベクトルΘと各 PK パラメータの分散ベクトルΩの事前分布を、それぞれ正規分布、逆 Wishart 分布として指定するものである[46]。正規事前分布の平均$\widehat{\Theta}$、分散$\widehat{\Gamma}$を指定する。$\widehat{\Theta}$の値は、過去の報告での母数効果の推定値を用いた。$\widehat{\Gamma}$値は、過去の報告での母数効果の推定値の分散を用い、非対角要素はゼロであると仮定した。事前逆 Wishart 分布は、モード$\widehat{\Omega}$と自由度（df）を指定した。$\widehat{\Omega}$の対角要素の値は、過去の報告での変量効果の分散の推定値から得て、非対角要素はゼロと仮定し、df は Karlsson が推奨する式[46]に従って計算した。

マルコフ連鎖モンテカルロ（MCMC）ベイズ推定を行った。バーンイン区間のサンプル最大数を 100000 とし、バーンイン区間での MCMC サンプルの終了検定を行った。すなわち、100 の反復ごとに、各パラメータと目的関数を目的変数として線形回帰を実行し、線形回帰の傾きがすべてのパラメータについて統計学的に有意に 0 と異ならない場合、バ

ーンイン区間を終了させた。パラメータの事後分布についての推論を行うために、MCMC サンプル数を 10,000 とした。

事前情報

対象者がアジア人（中国系およびインド系のシンガポール人）であること、Seng らの報告の最終モデルの全共変量（体重、性別、*ADH1B* 遺伝型）を第 1 章の研究で収集したことから、パラメータの事前分布は、Seng らによる報告から得た[42]。対象集団、投与計画、データ収集計画、解析モデルを Table 6 に要約した。事前情報は、$\theta_{AGE(k_a)}$、$\theta_{AGE(V_d/F)}$、$\theta_{ALDH2(V_d/F)}$を除くすべてのパラメータに適用し、無情報事前分布として、$\theta_{AGE(k_a)}$、$\theta_{AGE(V_d/F)}$、$\theta_{ALDH2(V_d/F)}$の平均および標準誤差は 0.001 および 1,000,000 に設定した。

Table 6. Study [a] designs

Population	n	Dose	Sampling plan	Basic PK model	Ref.
Japanese	13F, 21M	14 g of ethanol (350 mL of beer) 10 min in the fasted	5, 10, 20, 30, 60 min postdose	One-compartment	43
Chinese Indian	36F, 31M 43F, 44M	36 [b] and 56 [c] g of ethanol (200 [b] mL and 300 [c] mL of a mixture of vodka and orange juice) 1 hr with a meal	1.5, 2, 2.5, 3, 3.25, 3.5, 3.75, 4, 4.25, 4.5, 4.75, 5, 6 hr postdose	One-compartment, MM elimination	42

[a] The current dataset for re-analysis was obtained a study of ref. 43; the priors for population pharmacokinetic parameters were obtained from ref. 42.
[b] a dose for female.
[c] a dose for male.
F, female; M, male; MM, Michaelis-Menten.

モデル構築

以下のステップに従って PPK 分析を実施した。ステップ（i）では、Seng らのモデル[42]から PPK パラメータと共変量の主効果の事前分布を決めることにより、現在のデータセットの分析に外部情報を適用した。これをベースモデルと呼んだ。ステップ（ii）で

は、追加の共変量のモデリングを行い、ここで開発したモデルを最終モデルと呼んだ。

ステップ（i）でベースモデルをあてはめた後、個人の PK パラメータの事後中央値と共変量との関係を示す散布図を視覚的に検討し、共変量をスクリーニングした。現在のデータに含まれる 5 つの被験者特性（年齢、性別、体重、*ADH1B* および *ALDH2*）の中で、他の 3 変数がすでにベースモデルに含まれていたため、年齢および *ALDH2* 遺伝型について検討した。年齢は、中央値を中心とする連続変数としてモデル化した。

$$P = \theta_P \cdot (covariate/median_{cov})^{\theta_{cov(P)}} \qquad (11)$$

ただし、Pは共変量の値について条件付きの集団平均 PK パラメータ、θ_Pは PK パラメータの典型的な値、すなわち、共変量が中央値である時のk_aまたはV_d/Fであり、$\theta_{cov(P)}$はPに対するスケールファクターである。*ALDH2* は二値変数としてモデル化し、IND を 0 または 1 の二値変数とすると、

$$P = \theta_P + \theta_{cov} \cdot \mathrm{IND} \qquad (12)$$

ただし、θ_Pは、IND が 0 の場合の集団平均 PK パラメータ値であり、θ_{cov}は、IND が 1 の場合のパラメータ値の変化である。

モデル構築において、最終モデルに含める共変量は、次の要件を満たすものとした。（I）デビアンスの事後分布の平均値（-2 対数尤度に相当する）の減少、（II）個人間変動の分散、および/または、誤差（観測値と予測値の差）の分散の事後分布のモードの減少、（III）パラメータ値に対する臨床的に意味のある影響（現在のデータセットでの当該の共変動の最低値および最高値を有する被験者間で 20%以上の集団 PK パラメータの差があるとして定義する）の確率が 0.8 を上回ること。

ベースモデル

Seng らの報告では、PPK 解析の基本としたモデルは、 1 次吸収過程と Michaelis-Menten 消失過程をともなう 1 コンパートメントモデルであった[42]。このモデルでは、濃

度 C は

$$\frac{dC}{dt} = \left(k_a \cdot D \cdot e^{-k_a t} - \frac{V_{max}}{K_m + C} \cdot C\right) \cdot \frac{1}{V_d/F} \quad (13)$$

ただし、k_a、D、V_{max}、K_m、V_d/Fは、一次吸収速度定数、投与量、最大代謝速度、Michaelis-Menten 定数、みかけの分布容積である。 PK パラメータの個人間変動は、対数正規分布を仮定し、

$$\theta_i = \theta \cdot exp(\eta_{\theta_i}) \quad (14)$$

ここで、θ_iは、i 番目の個体の PK パラメータであり、η_{θ_i}は、平均値 0 で分散$\omega_\theta{}^2$の正規分布に従う個体間変量効果であり、θ は母集団平均 PK パラメータでありk_a, V_{max}, K_m or V_d/Fとされる。誤差は、比例誤差構造でモデル化し、

$$C_{ij}^{obs} = C_{ij}^{pred} \cdot (1 + \varepsilon_{ij}) \quad (15)$$

ここで、C_{ij}^{pred}は PK モデルで予測された i 番目の個人の j 番目の観測値、C_{ij}^{obs}は観測された濃度、ε_{ij}は i 番目の個人の j 番目の観測値と予測値の誤差である。ε_{ij}、平均が 0 で分散がσ^2である正規分布乱数である。母集団共分散行列の全非対角はゼロにと仮定した。

ベースモデルにおいて、集団 PK パラメータと共変量との間に次の関係式を仮定した。

$$k_{a_i} = (k_a + \theta_{SEX(ka)} \times FEMALE) \times exp(\eta_{k_a}) \quad (16),$$

$$V_d/F_i = (V_d/F + \theta_{SEX(V_d/F)} \times FEMALE) \times (WT/Median_{WT})^{\theta_{WT(V_d/F)}} \times exp(\eta_{V_d/F}) \quad (17),$$

$$K_{m_i} = K_m \times exp(\eta_{K_m}) \quad (18),$$

ただし、WT は体重、FEMALE は 0（男）か 1（女）の値をとる 2 値変数であり、$\theta_{cov(PK\ parameter)}$ は共変量cov が連続変数の場合は PK parameter のスケールファクターであり、共変量cov が 2 値変数である場合は PK parameter の変化量である。V_{max_i} は *ADH1B* 遺伝型が *ADH1B *2/*2* の場合に次式を

$$V_{max_i} = V_{max_{ADH1B*2/*2}} \times (WT/Median_{WT})^{\theta_{WT(V_{max})}} \times exp(\eta_{V_{max}}) \quad (19),$$

、*ADH1B* 遺伝型が *ADH1B*2/*1* の場合に次式を仮定する

$$V_{max_i} = V_{max_{ADH1B*2/*1}} \times (WT/Median_{WT})^{\theta_{WT(V_{max})}} \times exp(\eta_{V_{max}}) \qquad (20)$$

モデルバリデーション

最終モデルは、visual predictive check（VPC）を含む適合度プロットで評価した。VPC 評価では、ブートストラップサンプリングにより 1000 セットの仮想的な被験者集団が作成された。次に、個人の PK パラメータを生成した。消失速度が Michaelis-Menten 式に従うため、R パッケージ deSolve を用いて常微分方程式を解くことにより、各時点の BAC を得た。生成した BAC のパーセント値ををプロットし、観測データと比較した。

結果

モデル構築

第 1 章で 34 人の日本人被験者から得られた BAC（157 観測値）を再解析した。性別、体重、*ADH2* 遺伝型を共変量として含む Mikaelis-Menten 消失過程をともなう 1 コンパートメントモデルであるベースモデルをデータにあてはめた。集団平均 PK パラメータ、共変量の主効果の事前分布の平均と標準偏差値、個体間変動の事前分布のモードは、Seng ら [42]によって報告された PPK モデルのパラメータ推定値から得た（Table 8）。変量効果パラメータの df（自由度）を計算し、35 とした。

ベースモデルを現在のデータにあてはめた結果を Table 8 のベースモデルの欄に示した。推定値はおおむね、事前情報と一致した。k_aとω_{k_a}では事前分布と事後分布の比較的大きな変化がみられた。これは、今回のデータがk_aとω_{k_a}についてより情報を持っていた（informative）であったためであると考えられる。

共変量のモデリングは、今回のデータは消失相の観測値が少なくk_{el}に関して情報不足であるためにk_aとV_d/Fについてのみ検討した。モデル作成の過程の中間モデルを Table 7 にまとめた。ベースモデルをあてはめたのちの、個人のk_aの事後推定値 対 年齢、または対 ALDH2 遺伝子型、個人のV_d/F の事後推定値 対 年齢、または対 ALDH2 遺伝型の事後推定値の散布図を Figure 7 に示した。年齢とk_aのあいだに正の相関関係が観察された（Figure 7 (a)）。年齢は、式（11）のように指数関数モデルを仮定した。年齢の中央値は 29.4 歳であった。

k_aの共変量として年齢がベースモデルに追加されたとき、デビアンスの事後分布の平均は-1360 から-1401 に減少した（Table 7、Model 0 および Model 1）。k_aの個人間変動ω_{k_a}事後分布モードは、年齢をk_aの共変量に含めると 0.66 から 0.35 に減少した（データは示していない）。年齢がk_aに臨床的に有意な影響を与える確率は 0.95 以上であり、この共変量を最終モデルに含めた。続いて、Table 7 に示すように、Model 1 への別の共変量の追

加を検討した。すなわち、Model 2 ではV_d/Fに年齢、Model 3 ではV_d/Fに *ALDH2*、Model 4 ではk_aに *ALDH2* を検討した。

Model 2 - 4 のうち、Model 1 と比較して、Model 3 では事後分布のデビアンスが-1401 から-1412 となり、減少が最も大きかった（Table 7）。また、誤差の分散の事後分布モードは、Model 1 と比較して Model 3 では 0.34 から 0.31 に減少した。年齢がk_aに臨床的に有意な関連がある確率と、ALDH2 がV_d/Fに臨床的に有意な関連がある確率はいずれも 0.95 以上であり、これら 2 つの共変量を最終モデルに含めた。その後、年齢とV_d/Fとの関係を Model 3 に追加して Model 5 とし、Model 6 として *ALDH2* とk_aの関係を追加した。

Model 3 に対して Model 5 では、デビアンスの事後分布は-1412 から-1424 に減少し、誤差の分散の事後分散モードσ^2は 0.31 から 0.28 に減少した（Table 7）。Model 5 から Model 6 までは、デビアンスの事後分布が-1424 から-1436 に減少し、${\omega_{k_a}}^2$の事後分布モードおよびσ^2の事後分布モードとも減少した。共変量候補が PK パラメータ値に臨床的に有意な関連がある確率は、Model 5 に含まれる 3 つの共変量のそれぞれにおいて 0.8 を超えた。しかし、Model 6 では、*ALDH2* がk_aに対して臨床的に有意な効果を有する確率は 0.8 未満であった。したがって、ALDH2 とk_aとの間の関係は最終モデルに含まれなかった。

要約すると、Model 5（Table 7）の関係がベースモデルに追加され、これが最終モデルとして決定された。ベースモデルをあてはめた推定値を Table 8 に示す。典型的なk_a値は、29 歳の男性で 3.0 hr^{-1}、40 歳の男性で 6.9 hr^{-1} であった。典型的なV_d/F値は、29 歳、体重は 61.3 kg であって、遺伝型が *ALDH2*1/*1* の男性では 49.3L であり、*ALDH2*1/*2* の男性では 28.9L であった。 また、典型的なV_d/F値は、体重 61.3kg、*ALDH2*1/*1* であって、29 歳の男性では 49.3L で、40 歳の男性では 57.9L であった。

最終モデル (Table 8, Table 7 の Model 5)での、k_{a_i}とV_d/F_iの共変量との関係式は次式のと

おり。

$$k_{a_i} = (k_a + \theta_{SEX(ka)} \times FEMALE) \times \left(age/Median_{age}\right)^{\theta_{age(k_a)}} \times exp\left(\eta_{k_a}\right) \quad (21)$$

$$V_d/F_i = (V_d/F + \theta_{SEX(V_d/F)} \times FEMALE + \theta_{ALDH2(V_d/F)} \times ALDH2) \times$$

$$(WT/Median_{WT})^{\theta_{WT(V_d/F)}} \times \left(age/Median_{age}\right)^{\theta_{age(V_d/F)}} \times exp\left(\eta_{V_d/F}\right) \quad (22)$$

ただし *ALDH2* genotype が*1/*2 のとき ALDH2 = 1、*ALDH2* genotype が*1/*1 のとき ALDH2 = 0 とする。

Table 7. Pharmacokinetic model building: effect of addition of covariates to the Base model

Model number and added covariates	Relationship(s) [b]	Posterior mean Deviance	σ^2
0: Base model [a]	-	-1360	0.034
1: age on k_a	$k_a = \theta \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(k_a)}}$	-1401	0.034
2: 1 plus age on V_d/F	$k_a = \theta \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(k_a)}}$ $V_d/F = \theta \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(V_d/F)}}$	-1401	0.034
3: 1 plus ALDH2 on V_d/F	$k_a = \theta \times (age/29.4)^{\theta_{age(k_a)}}$ $V_d/F = \left(\theta + \theta_{ALDH2(V_d/F)} \times ALDH2\right)$	-1412	0.031
4: 1 plus ALDH2 on k_a	$k_a = \left(\theta + \theta_{ALDH2(k_a)} \times ALDH2\right) \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(k_a)}}$	-1401	0.034
5: 3 plus age on V_d/F	$k_a = \theta \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(k_a)}}$ $V_d/F = \left(\theta + \theta_{ALDH2(V_d/F)} \times ALDH2\right) \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(V_d/F)}}$	-1424	0.028
6: 5 plus ALDH2 on k_a	$k_a = \left(\theta + \theta_{ALDH2(k_a)} \times ALDH2\right) \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(k_a)}}$ $V_d/F = \left(\theta + \theta_{ALDH2(V_d/F)} \times ALDH2\right) \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(V_d/F)}}$	-1436	0.027

[a] The basic compartment model, random effects for pharmacokinetic parameters and the error model are described in Methods.
[b] The only different relationships compared to the Base model are presented. The relationships between pharmacokinetic parameters and covariates in the Base model are described in the Appendix.
k_a, absorption rate constant; V_d/F, apparent volume of distribution; ALDH2: aldehyde dehydrogenase 2; θ, typical value of parameter in the base model; σ^2, variance of residual error; $\theta_{AGE(k_a)}$, scale factor for age on k_a; $\theta_{AGE(V_d/F)}$, scale factor for age on V_d/F; $\theta_{ALDH2(V_d/F)}$, change in V_d/F for ALDH2; $\theta_{ALDH2(V_{max})}$, change in V_{max} for ALDH2.
ALDH2 = 1 if *ALDH2* genotype is **1/*2;* ALDH2 = 0 if *ALDH2* genotype is **1/*1.*

Table 8. Parameter estimates of the Base model and the Final model for alcohol population pharmacokinetic analysis, and the prior distributions used in the analysis

	Mean (SD) of normal prior or Mode of Inverse Wishart prior [a]	Estimate for parameters (95% CI)	
		Base model	Final model
Population mean pharmacokinetic parameters			
k_a, hr^{-1}	4.4 (0.48)	3.3 (2.7−4.1)	3.0 (2.4−3.9)
V_d/F, L	50.2 (1.0)	49.7 (47.8−51.7)	49.3 (47.4−51.2)
$V_{max_{ADH1B*2/*1}}$, mg/hr	7760 (255)	7827 (7327−8310)	7790 (7403−8264)
$V_{max_{ADH1B*2/*2}}$, mg/hr	8060 (300)	8197 (7660−8731)	7966 (7422−8483)
K_m, mg/L	16.2 (6.9)	0.09 (0.01−0.47)	0.074 (0.001−0.391)
Regression parameters for covariate model			
$\theta_{AGE(k_a)}$	0.01 (1000)	-	2.7 (2.1−3.4)
$\theta_{AGE(V_d/F)}$	0.01 (1000)	-	0.52 (0.19−0.83)
$\theta_{ALDH2(V_d/F)}$, L	0.01 (1000)	-	-20.4 (-27.7−-10.9)
$\theta_{WT(V_d/F)}$	0.78 (0.09)	0.80 (0.63−0.98)	0.78 (0.60−0.95)
$\theta_{WT(V_{max})}$	0.79 (0.06)	0.77 (0.66−0.89)	0.78 (0.66−0.90)
$\theta_{SEX(k_a)}$, hr^{-1}	-1.9 (0.5)	-1.9 (-2.6−-1.1)	-1.3 (-2.1−-0.56)
$\theta_{SEX(V_d/F)}$, L	-11.4 (1.5)	-11.7 (-14.5−-8.8)	-12.2 (-15.0−-9.41)
Between subject variance			
${\omega_{k_a}}^2$	0.29	0.66 (0.45−0.95)	0.37 (0.24−0.55)
${\omega_{V_d/F}}^2$	0.025	0.028 (0.017−0.044)	0.029 (0.018−0.048)
${\omega_{V_{max}}}^2$	0.026	0.027 (0.017−0.042)	0.027 (0.017−0.042)
${\omega_{K_m}}^2$	1.04	1.11 (0.69−1.77)	1.13 (0.69−1.83)
Residual error (%RSE)			
σ^2	-	0.034 (0.026,0.044)	0.028 (0.020,0.038)

Structural model for pharmacokinetic parameters and covariates in the Base model:

$$k_{a_i} = (k_a + \theta_{SEX(ka)} \times FEMALE) \times exp\left(\eta_{k_{a_i}}\right)$$

$$V_d/F_i = (V_d/F + \theta_{SEX(V_d/F)} \times FEMALE) \times (WT/61.3)^{\theta_{WT(V_d/F)}} \times exp\left(\eta_{V_d/F_i}\right)$$

$$V_{max_i} = V_{max_{ADH1B*2/*2}} \times (WT/61.3)^{\theta_{WT(V_{max})}} \times exp\left(\eta_{V_{max_i}}\right) \text{ [b]}$$

$$K_{m_i} = K_m \times exp\left(\eta_{K_{m_i}}\right)$$

Structural model for pharmacokinetic parameters and covariates in the Final model [c]:

$$k_{a_i} = (k_a + \theta_{SEX(ka)} \times FEMALE) \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(k_a)}} \times exp\left(\eta_{k_{a_i}}\right)$$

$$V_d/F_i = (V_d/F + \theta_{SEX(V_d/F)} \times FEMALE + \theta_{ALDH2(V_d/F)} \times ALDH2) \times (WT/61.3)^{\theta_{WT(V_d/F)}} \times (age/29.4)^{\theta_{AGE(V_d/F)}} \times exp\left(\eta_{V_d/F_i}\right)$$

[a] All of values for prior distribution of model parameters except $\theta_{AGE(k_a)}$, $\theta_{AGE(V_d/F)}$ and $\theta_{ALDH2(V_d/F)}$ were from Seng *et al*.[10]

[b] $V_{max_{ADH2*2/*2}}$ is replaced with $V_{max_{ADH2*1/*2}}$ for the subject with $ADH2*1/*2$.

[c] Structural model for V_{max_i} and K_{m_i} is the same as those in the Base model.

SE, standard error; %RSE, percent relative standard error of the estimate, equal to SE/parameter estimate x 100; 95% CI, 95% Credible Interval; WT, body weight; k_a and k_{a_i}, the absorption rate and that for *i*th individual; V_d/F and V_d/F_i, the apparent volume of distribution and that for the *i*th individual; V_{max}, V_{max_i}, $V_{max_{ADH1B*2/*1}}$ and $V_{max_{ADH1B*2/*2}}$, the maximum metabolic rate, that for *i*th individual, that for subjects carrying *ADH1B*2/*1*, and that for subjects carrying *ADH1B*2/*2*; K_m and K_{m_i}, Michaelis-Menten constant and that for *i*th individual; $\theta_{AGE(V_d/F)}$, scale factor for age on V_d/F; $\theta_{AGE(k_a)}$, scale factor for age on k_a; $\theta_{ALDH2(V_d/F)}$, change in V_d/F for *ALDH2*; $\theta_{WT(V_d/F)}$, scale factor for *WT* on V_d/F; $\theta_{WT(V_{max})}$, scale factor for *WT* on V_{max}; $\theta_{SEX(k_a)}$, change in k_a for sex; $\theta_{SEX(V_d/F)}$, change in V_d/F for sex; ${\omega_{k_a}}^2$, inter-individual variance of k_a; ${\omega_{V_d/F}}^2$, inter-individual variance of V_d/F; ${\omega_{V_{max}}}^2$, inter-

individual variance of V_{max}; ${\omega_{K_m}}^2$, inter-individual variance of K_m; σ^2, variance of residual in the proportional error model; η_i, inter-individual random effect for *i*th individual.
FEMALE = 1 for a female subject; *ALDH2* = 1 for a subject with *ALDH2*1/*2*; *ALDH2* = 0 for a subject with *ALDH2*1/*1*.

モデルバリデーション

このモデルから得られた BAC の個人予測値（individual-predicted BAC）対 観測値（observed BAC）の散布図および重み付残差（weighted residuals）対 個人予測値（individual-predicted BAC）の散布部を Figure 8 に示した。 個人予測値と観測値との相関は高く（Figure 8 (a)）、重み付残差は許容範囲内（すなわち、-5.0～5.0）に均一に分布していた（Figure 8 (b)）。 年齢層別の時間 対 BAC の VPC プロットを Figure 9 に示した。BAC 観測値を、元のデータセットの被験者の 1000 回のブートストラップサンプルについて最終モデルにもとづいて確率的シミュレーションで発生させた BAC の各時点のパーセント値の推移と比較した。最終モデルは、各年齢層のデータを適切に記述することが示された。

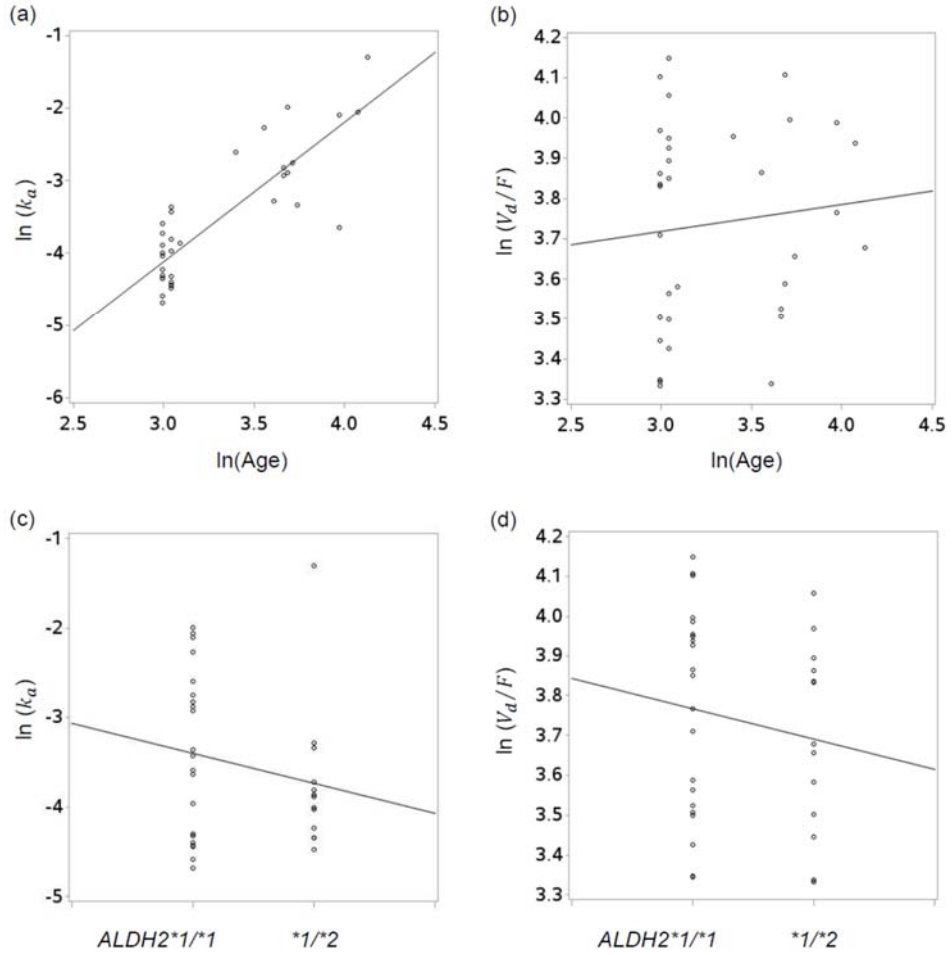

Figure 7 Plots of the natural log of estimated individual pharmacokinetic parameters vs covariates: (a) $ln(k_a)$ vs ln(age); (b) $ln(V_d/F)$ vs ln(age); (c) $ln(k_a)$ vs *ALDH2* genotype; (d) $ln(V_d/F)$ vs ALDH2 genotype.

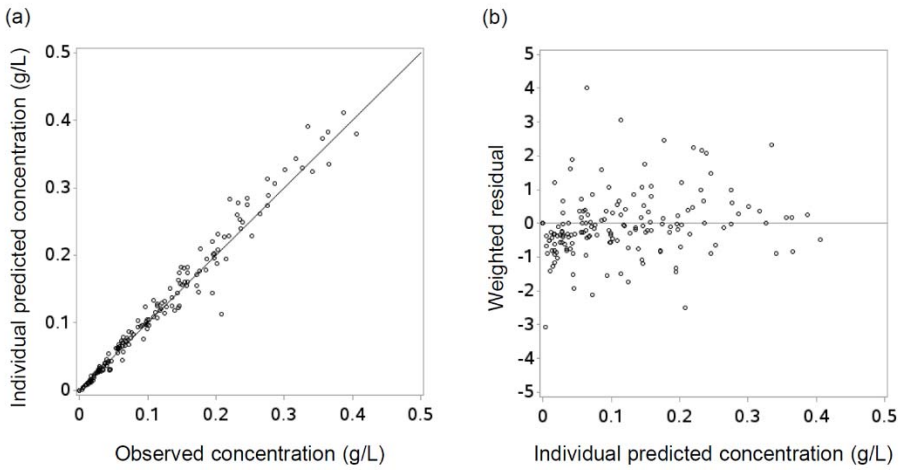

Figure 8 Goodness-of-fit plots for the final model: (a) individual-predicted vs observed blood alcohol concentrations (BACs); (b) weighted residuals vs individual-predicted BACs.

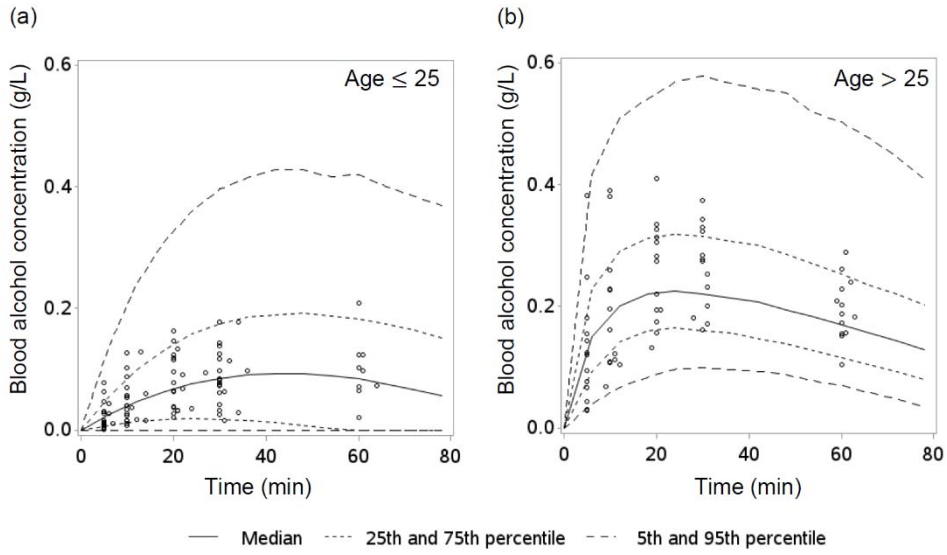

Figure 9 Visual predictive check of the final population pharmacokinetic model stratified by age group: (a) subjects aged under 25 years old; (b) subjects aged equal and over 25 years old. Circles represent the observed blood alcohol concentration. The solid line denotes the median of 1000 simulated concentrations from the final model, the dotted lines denote 25th and 75th

考察

解析対象のデータの特徴は、被験物質投与の後、測定時点は最も遅くて 60 分後であり、吸収過程とピーク BAC の前後の観測値はあるが消失過程の観測値をほとんど持たないことである。第 1 章で、BAC の消失過程は Michaelis-Menten 式に従うことが知られている [47]にもかかわらず、消失過程の観測値が少なくV_{max}、k_mの推定ができなかったため、単純なモデルとして 1 次速度過程を仮定し、さらに単純化し、k_{el}の個人間変動はないと仮定するモデルをあてはめたが、現実をよく模倣したモデルとはいい難いという問題が残った。第 3 章の研究では *ALDH2* とV_d/Fという一見生理的学的に説明がつかない関連がみいだされたが、ここにもデータの情報不足の問題が影響していると考えられる。この点について、以下に述べる。

不活化型の酵素をコードする変異型 ALDH2 遺伝子（*ALDH2 * 2*）を有する被験者では、血中アセトアルデヒド濃度が上昇することが知られている [48]。アセトアルデヒドの生成物阻害作用により、高濃度のアセトアルデヒド下では ADH によって触媒されるアルコール酸化反応が阻害され、血中のアルコール濃度が上昇するというメカニズムが考えられる [49]。実際、Peng らは、背景（民族、性別、年齢、BMI、栄養状態、ADH 遺伝型）が一致しており ALDH2 遺伝子型（*ALDH2*1/*1*、*ALDH2*1/*2* および *ALDH2*2/*2*）が異なる 3 つの被験者群間で時間－平均 BAC 曲線を比較すると、野生型（*ALDH2*1/*1*）よりもヘテロ変異（*ALDH2*1/*2*）、ヘテロ変異よりもホモ変異（*ALDH2*2/*2*）の被験者グループで BAC の値が高値で推移した [48]。

最終モデルでは、*ALDH2*1/*2* の被験者におけるV_d/Fは、*ALDH2*1/*1* の被験者より 20.4L 小さいと推定された。 ALDH2 遺伝型が各個人のV_dと関連すると考えられる生理学的な根拠はなく、むしろ、消失速度に影響する方が理にかなっている。しかし、試みにV_{max}と *ALDH2* の関連を検討したところ、*ALDH2*1/*1* の被験者におけるV_{max}に対する *ALDH2*1/*2* の被験者におけるV_{max}の差は、-246 mg/hr（95%信用区間：-1702、1417）

と推定され、有意な関連はみられなかった。先に述べたとおり、解析対象のデータは吸収過程とピーク前後の BAC であって消失速度の個人差について情報不足であることが一因となって ALDH2 遺伝子型と消失速度の関連がみられなかったと考えられる。一方で、データ収集がおこなわれた時間帯の BAC の個人差がV_d/Fの個人差に起因するというモデルが選択されたと考えられる。Peng らの報告[48]においても、ピーク付近の BAC は、野生型（*ALDH2*1/*1*）よりもヘテロ変異（*ALDH2*1/*2*）、ヘテロ変異よりもホモ変異（*ALDH2*2/*2*）で高値であった。

第 I 相試験の場合のように時間 - 濃度曲線の全体にわたって高密度にサンプリングされたデータとは対象的に、このたびの解析対象のデータはすべての PPK パラメータを推定するために十分な情報を持っていない。例数および時点数が少ないこと、サンプリング時点の配置の偏りなどの問題から、解析対象のデータが PPK パラメータを推定するのに情報不足である場合でも、解析に際して外部情報を取り入れることにより、モデル構築プロセスを安定化させることができるとされている[25]。Dansirikul は、情報の不十分なデータであっても、ベイズ流の事前情報を用いた PPK 解析によって、新たに共変量関係を見出すことが可能であると指摘している[45]。本研究の結果は、これらの主張を裏付けるものといえる。知る限りでは、ベイズ法を用いたアルコールの PPK 解析の結果はこれまで報告されていない。アルコールは最古の娯楽目的の薬物の一種であって、世界中の多くの研究者が研究の対象としてきた。本研究で示したベイズ流の解析手法の適用によって、個別の研究結果を統合し、また、過去の知見を活用して新たな知見をみいだすことによって、アルコール代謝研究が発展することが期待できる。

小括

アルコール摂取 60 分後より後の測定値がない血中アルコール濃度データについて、シンガポールで行われたアジア系民族を対象とした血中アルコール濃度の PPK 解析の最終モデルを事前情報とし、MCMC ベイズ法により、PPK 解析モデルにおいて *ALDH2* 遺伝子多型の影響の推定値を初めて報告した。

MCMC ベイズ法をパラメータ推定方法としてモデル構築を行った結果、*ALDH2*1/*1* に比較し *ALDH2*1/*2* の対象者ではV_d/Fは低値であり、その差は -20.4 L と推定された。その他、k_aと年齢に正の相関、V_d/Fと年齢に正の相関があった（Table 8）。以上の結果から、外部情報である既存の知見をベイズ流に現在のデータ解析に取り入れることにより、アルコールの PPK 解析において新たに有意な共変量の影響をみいだし、その影響の大きさを推定することができることが示された。既存の知見と現在のデータを統合し、アルコールの PPK モデルを更新したということができる。

結論

本博士論文では、限定されたデータ採取計画に基づく PPK 解析においてモデルパラメータ推定精度を検討し、問題がある場合により良い推定値を得る手順を新たに提案すること、また、これまで適用事例の少ない方法を用いることによってあらたな知見を得ることができる事例を示すことを目的とした。問題と対策の提案を目的として、次の検討を行った。

第 1 章では、アルコール飲用後の血中アルコールデータの PPK 解析を行った。この研究は、解析対象データは飲酒後 60 分までの血中アルコール濃度であり、臨床試験実施上の制約から適切に採血時点が選択されたデータサンプリング計画を実現できないという課題の一事例であるとみることができた。

第 2 章では、limited sampling データに基づくパラメータ推定値について、信頼性について検討し、推定値の偏りの大きさと方向を推定する方法を提案した。過去の知見を現在のデータ解析に活用する目的方法として従来提案されてきた各種法とは異なり、過去の報告で使われた解析モデルがどのようなものでも活用できるという利点があり、現実の問題への対処法に新たな選択肢を加えるものである。

第 3 章では、limited sampling データのもつ情報の限界に対する別の接近法として、過去に報告された解析モデルのパラメータ推定値を既存の知見とするベイズ流の方法により、既存の知見と現在のデータを統合して新たな知見を得るという方法論の成功事例を示すことができた。複数の研究結果を統合し、個別の研究からは引き出すことのできない結論や、信頼性の高い結論を導くという接近法の有用性を示唆するものである。

第 1 章～第 3 章で示した研究により、時間濃度曲線の前半（投与後 60 分まで）の観測値のみ得られるという特徴を有する限定されたデータ採取計画にもとづくデータの PPK 解析について、パラメータ推定値の評価方法を提案し、パラメータ推定値の信頼性が低い

という問題に 2 つの接近法を適用した結果を示した。臨床薬理学の実践上の課題である制約のある試験計画にもとづくデータ解析に対して広く適応されることを期待する。

謝辞

本論文の執筆にあたり、ご指導、ご鞭撻を賜りました大阪大学大学院薬学研究科　情報・計量薬学分野　教授　高木　達也先生に心より感謝の意を表します。

本論文を審査していただき、適切なご助言を賜りました大阪大学大学院薬学研究科　教授　上島　悦子先生ならびに教授　大久保　忠恭先生に厚くお礼申し上げます。

本研究の遂行にあたり、始終暖かくご指導、ご鞭撻を賜りました帝京大学大学院公衆衛生学研究科　研究科長・教授　山岡　和枝先生ならびに教授　松浦　正明先生に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたり、適切なご指導、ご鞭撻を賜りました東京理科大学　名誉教授　吉村　功先生、東京理科大学工学部　教授　浜田知久馬先生に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたり、多大なご協力を賜りました大阪大学　名誉教授　的場　梁次先生、元東邦大学医学部　准教授　寺田　賢先生、元サントリー株式会社　研究センター品質保証本部　チーフサイエンティスト　諏訪　芳秀博士に心よりお礼申し上げます。

参考文献

1. Beal SL, Sheiner LB. Estimating population kinetics. *Crit. Rev. Biomed. Eng.*, **8**, 195–222 (1982).
2. Aarons, L. Population pharmacokinetics: theory and practice. *Br. J. Clin. Pharmacol.,* **32**, 669-70 (1991).
3. Mandema JW, Verotta D, Sheiner LB. Building population pharmacokinetic pharmacodynamic models. I. Models for covariate effects. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **20**, 511–28 (1992).
4. FDA. Critical path opportunities report. (2006). http://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/SpecialTopics /CriticalPathInitiative/CriticalPathOpportunitiesReports/UCM077254.pdf
5. Mentre F, Mallet A, Baccar D. Optimal design in random-effects regression models. *Biometrika*. **84**, 429–42 (1997).
6. Duffull SB, Retout S, Mentré F. The use of simulated annealing for finding optimal population designs. *Comput. Methods. Programs. Biomed.,* **69**, 25–35 (2002).
7. Nyberg J, Bazzoli C, Ogungbenro K, Aliev A, Leonov S, Duffull S, *et al.* Methods and software tools for design evaluation in population pharmacokinetics-pharmacodynamics studies. *Br. J. Clin. Pharmacol.*. **79**, 6–17 (2015).
8. Al-Banna MK, Kelman a W, Whiting B. Experimental design and efficient parameter estimation in population pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **18**, 347–60 (1990).
9. Jonsson EN, Wade JR, Karlsson MO. Comparison of some practical sampling strategies for population pharmacokinetic studies. *J Pharmacokinet Biopharm.* **24**, 245–63 (1996).
10. Roy A, Ette EI. A pragmatic approach to the design of population pharmacokinetic

studies. *AAPS J.*

7, E408–20 (2005).

11. Meibohm B, Laer S, Panetta JC, Barrett JS, Läer S, Panetta JC, et al. Population pharmacokinetic studies in pediatrics: issues in design and analysis. *AAPS J.*, **7**, E475–87 (2005).
12. Bonate PL. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling and simulation, Springer: London, 2011; pp 330-336.
13. Ramchandani V, Bosron WF, Li TK. Research advances in ethanol metabolism. *Pathol. Biol. (Paris).*, **49**, 676–82 (2001).
14. Norberg Å, Jones WA, Hahn RG, Gabrielsson JL. Role of variability in explaining ethanol pharmacokinetics: Research and forensic applications. *Clinical. Pharmacokinetics.,* **42**, 1–31 (2003).
15. 清水 新二, 金 東洙, 廣田 真理. 全国代表標本による日本人の飲酒実態とアルコール関連問題. *日本アルコール・薬物医学会雑誌* **39**, 189-206 (2004).
16. Takeshita T, Mao X-Q, Morimoto K. The contribution of polymorphism in the alcohol dehydrogenase β subunit to alcohol sensitivity in a Japanese population. *Hum Genet.* **97**, 409–13 (1996).
17. Pozzato G, Moretti M, Franzin F, Croce LS, Lacchin T, Benedetti G, et al. Ethanol metabolism and aging: the role of “first pass metabolism” and gastric alcohol dehydrogenase activity. *A BiolSciMed Sci.* **50**, B135–41 (1995).
18. Ogungbenro K, Hulme S, Rothwell N, Hopkins S, Tyrrell P, Galea J. Study design and population pharmacokinetic analysis of a phase II dose-ranging study of interleukin-1 receptor antagonist. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* **43**, 1–12 (2016).
19. Vestal RE, McGuire EA, Tobin JD, Andres R, Norris AH, Mezey E. Aging and ethanol metabolism. *Clin Pharmacol Ther.* **21**, 343−54 (1977).
20. Wiberg GS, Samson JM, Maxwell WB, Coldwell BB, Trenholm HL. Further studies

on the acute toxicity of ethanol in young and old rats: relative importance of pulmonary excretion and total body water. *Toxicol Appl Pharmacol* **20**, 22–9 (1971).

21. Holt S. Observations on the relation between alcohol absorption and the rate of gastric emptying. *Can Med Assoc J.* **124**, 267-297 (1981).
22. Wilkinson PK, Sedman AJ, Sakmar E, Kay DR, Wagner JG. Pharmacokinetics of ethanol after oral administration in the fasting state. *J Pharmacokinet Biopharm.* **5**, 207–24 (1977).
23. Bosron F. Special Articles Genetic Polymorphism of Human Liver Alcohol and Aldehyde Dehydrogenases, and their Relationship to Alcohol Metabolism and Alcoholism. **6**, 502–10 (1986).
24. Bortot P, Thomaseth K, Salvan A. Population toxicokinetic analysis of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin using Bayesian techniques. *Stat. Med.*, **21**, 533–47 (2002).
25. Gisleskog PO, Karlsson MO, Beal SL. Use of prior information to stabilize a population data analysis. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.*, **29**, 473–505 (2002).
26. Ribbing J, Hooker AC, Jonsson EN. Non-Bayesian knowledge propagation using model-based analysis of data from multiple clinical studies. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* **35**, 117–37 (2008).
27. Widmark, EMP. *Principles and applications of medicolegal alcohol determination.* Biomedical publications (1981).
28. Yamamoto K, Ueno Y, Mizoi Y, Tatsuno Y. Genetic polymorphism of alcohol and aldehyde dehydrogenase and the effects on alcohol metabolism. *Arukoru Kenkyuto Yakubutsu Ison* **28**, 13–25 (1993).
29. Gullberg RG, Jones AW. Guidelines for estimating the amount of alcohol consumed from a single measurement of blood alcohol concentration: re-evaluation of Widmark's equation. *Forensic Sci Int.* **69**, 119–130 (1994).

30. Gullberg RG. Estimating the uncertainty associated with Widmark's equation as commonly applied in forensic toxicology. *Forensic Sci Int.* **172**, 33–39 (2007).

31. Nishimura FT, Kimura Y, Abe S, Fukunaga T, Saijoh K. Effect of -361 G/A polymorphism of aldehyde dehydrogenase-2 gene on alcohol metabolism and its expression in human peripheral blood leukocytes. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi.* **41**, 108–119 (2006).

32. Dettling A, Fischer F, Böhler S, Ulrichs F, Skopp G et al. Ethanol elimination rates in men and women in consideration of the calculated liver weight. *Alcohol.* **41**, 415-420 (2007).

33. Norberg Å, Gabrïelsson J, Jones AW, Hahn RG. Within- and between-subject variations in pharmacokinetic parameters of ethanol by analysis of breath, venous blood and urine. *Br J Clin Pharmacol.* **49**, 399-408 (2000).

34. Eng MY, Luczak SE, Wall TL. ALDH2, ADH1B, and ADH1C genotypes in Asians: a literature review. *Alcohol Res Health.* **30**, 22 (2007).

35. Stephens EA, Taylor JA, Kaplan N, Yang CH, Hsieh LL, Lucier GW, Bell DA. Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans, European-Americans and Taiwanese. *Pharmacogenetics.* **4**, 185–192 (1994).

36. Chen YC, Peng GS, Wang MF, Tsao TP, Yin SJ. Polymorphism of ethanol-metabolism genes and alcoholism: Correlation of allelic variations with the pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences. *Chem-Biol Interact.* **178**, 2–7 (2009).

37. Yoshihara E, Ameno K, Nakamura K, Ameno M, Itoh S, Ijiri I, Iwahashi K. The effects of the ALDH2*1/2, CYP2E1 C1/C2 and C/D genotypes on blood ethanol elimination. *Drug Chem Toxicol.* **23**, 371–379 (2000).

38. Edenberg HJ. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Res Health.* **30**, 5–13 (2007).

39. Clardy DO. Population pharmacokinetics of ethanol in drinking drivers using breath

measures. *Ther Drug Monit.* **26**, 391–400 (2004).

40. Yang CT, Fung WK, Tam TWM. Population pharmacokinetics of alcohol on Chinese subjects using breath measures. *J Clin Pharm Ther.* **36**, 716–724 (2011).
41. Lee BY, Yoon HK, Baek IH, Kwon KIl. Population pharmacokinetics of multiple alcohol intake in humans. *Alcohol.* **47**, 159–165 (2013).
42. Seng KY, Limenta LMG, Heng D, Lee EJD. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of alcohol in Chinese and Indians in Singapore. *J Clin Pharm Ther*. 2013;38:141–149
43. Nemoto A, Terada M, Hayashi T, Hamada C, Matoba R. Population pharmacokinetic analysis of alcohol concentration after beer consumption in fasted Japanese subjects. *Int J Clin Pharmacol Toxicol.* **5**, 225-230 (2016).
44. Bauer JR. *NONMEM users guide: Introduction to NONMEM 7.3.0.* Ellicot City, Maryland: ICON Development Solutions. 2013
45. Dansirikul C, Morris RG, Tett SE, Duffull SB. A Bayesian approach for population pharmacokinetic modelling of sirolimus. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;62:420–434
46. Bauer JR. NONMEM users guide: Introduction to NONMEM 7.3.0. Ellicot City, Maryland: ICON Development Solutions. 2013
47. Holford, NHG. Clinical pharmacokinetics of ethanol. Clin Pharmacokinet. 1987;13: 273-292
48. Peng GS, Wang MF, Chen CY, Luu SU, Chou HC, Li TK, Yin SJ. Involvement of acetaldehyde for full protection against alcoholism by homozygosity of the variant allele of mitochondrial aldehyde dehydrogenase gene in Asians. Pharmacogenetics. 1999;9:463–476
49. Thomasson HR, Crabb DW, Edenberg HJ, Li TK. Alcohol and aldehyde dehydrogenase polymorphisms and alcoholism. Behavior Genetics. 1993;23:131–136