

臨床薬理学海外研修を終えて

日本臨床薬理学会海外研修員として、2007年3月から2008年9月まで米国のハーバード大学公衆衛生大学院 (Harvard School of Public Health = HSPH) の生物統計学科 (Department of Biostatistics) にて研修を受けました。研修先での生活・教育、研修により得られた知見および成果について報告します。

佐藤 泰憲 (千葉大学医学部附属病院臨床試験部 講師)

1. 研修先紹介

2

2007年3月下旬、千鳥ヶ淵の桜が七分咲きになったころに満開の桜を見ぬまま飛行機に乗り、日本から約1万マイル離れたローガン国際空港 (ボストン市) に到着しました。飛行機から降りると、外は一面銀世界で驚きとともに不安な気持ちで研修が始まりました。

私が研修したHSPHは、米国マサチューセッツ州ボストン市内のロングウッドメディカルエリアにあります。このエリアには、ハーバード・メディカルスクール (Harvard Medical School)、ブリガム・アンド・ウィメンズ病院 (Brigham and Women's Hospital)、ボストン小児病院 (Children's Hospital Boston)、ダナ・ファーマーがん研究所 (Dana-Farber Cancer Institute)、ジョスリン糖尿病センター (Joslin Diabetes Center) などの有名な医療関係の施設が集まっています。

HSPHは公衆衛生、予防医学の教育および研究を目的に1909年に米国で最初に創設された公衆衛生大学院です。医学、疫学、生物統計学はもちろん、経済学、法律などのさまざまな分野の専門家が集まり生活習慣病の疫学研究、大気汚染の健康調査研究、



ハーバード大学公衆衛生大学院

医療政策や医療事故に関する調査研究、コストベネフィット分析などで数多くの研究成果を挙げています。近年では、HIV/AIDS、SARS、バイオテロ対策などにも取り組み、世界をリードする研究機関の一つです。

HSPHは全部で9つの学科を有し、私はその中の生物統計学科 (Department of Biostatistics) にポスドク (Postdoctoral Fellow) として所属しておりました。ここでの研究では医学・疫学・生物学・遺伝学分野において、研究の立案から統計手法



をそれぞれの分野に応用することに取り組んでいます。応用する研究分野は、大きく8分野（エイズ、がん、地域研究、バイオインフォマティクス、環境、遺伝疫学、脳神経、精神医学）に分かれており、私は、ナン・レアード（Nan M.Laird）教授のもとでがんおよび遺伝疫学分野で研究に取り組みました。

レアード先生は、生物統計分野において世界を代表する研究者で、生物統計学科の研究科長(Chair)を10年間の長きにわたって務め、生物統計学の発展に尽力しました。特に、1982年に開発した「Laird and Wareモデル」は、線形混合効果モデルを直感的に理解するために非常に有用であり、現在では医学研究のみならず工学分野にも幅広く用いられています。最近では、生活習慣病の易罹患性遺伝子を同定するために、家系情報を利用した遺伝疫学研究および薬剤反応性遺伝子を同定するためのゲノム薬理学研究に従事し、世界で初めてINSIG2遺伝子の近傍によくみられる遺伝子変異が肥満と相関していることを明らかにし、優れた業績を挙げています。

2. HSPHの教育について

HSPHには、修士課程と博士課程の学生がおり、修士課程はMaster of Public Health (MPH)、Master of Science (MS)、Master of Occupational Health (MOH) の3つのプログラムで構成されています。これらの3つのプログラムの違いは、MSおよびMOHは学科ごとに構成され、MPHは横断的なプログラムで専門ごとに構成されています。博士課程は、前期2年、後期3年の計5年のプログラムで構成され、前期2年間は修士課程と同じプログラムを受け、所定の単位を取得することが義務付けられ、後期3年間で博士論文作成のための研究に取り組んでいます。講義は倫理学、生物統計学、疫学、環境衛生、医療マネジメント、社会疫学の各分野からの必修科目と、各学科および専攻の必修/選択科目を履修します。1回90分の講義が週に2回あり、毎回大量の宿題が出されます。その宿題について、TA（ティーチングアシスタント）が解説するための補習が週に1回あり、日本の大学院生と比較すると数倍勉強をしている印象を受けました。

HSPHには学生の他に私のようなポスドクが多数おり、世界中から研究をするために集まって来ています。ポスドクに対する教育・研修なども充実しており、多くの研究室ではメンター制度を導入しております。私のメンターであるレアード先生は、1週

間に1度、約2時間、1対1のゼミ形式で研究の進捗状況をチェックし、研究に対する助言をしてくれまし、投稿論文の原稿を見せると真っ赤になって戻ってきます。

ポスドク終了後に研究者として独立して研究をするために、米国国立衛生研究所（National Institutes of Health = NIH）などの公的研究費を取得するための申請書の書き方やテニユア（Tenure、大学教職員終身雇用資格）付のポジションを得るための履歴書の書き方などのセミナーが多数開催されており、ポスドクが一人前の研究者になるための教育および研修システムが充実していたことには非常に驚いたと同時に、日本でもこのようなシステムを導入するべきだと思いました。

3. 研修の概要とその成果

医

薬品に対する患者の反応には、著しい個体差がみられる場合があります。この個体差の原因の1つとして、薬剤の曝露量に影響する薬物動態関連分子や応答性に影響を与える薬効強度関連分子（例えば、薬剤標的分子）の遺伝子多型（SNP）が考えられます。このため、薬剤反応性の個体差の原因となるSNPを明らかにし、テーラーメイド医療の実現を目指して、2005年に米国食品医薬品局（FDA）からファーマコゲノミクス（ゲノム薬理学）のガイドラインが公表されました。それによって欧米ではファーマコゲノミクスを考慮した臨床試験の実施が一般化していますが、日本におけるファーマコゲノミクスの医薬品開発および臨床研究への実際の適用については、その緒についたばかりで、プロセスの全体像を把握し、現実的課題を議論するという状況には至っていないと思われます。このような欧米との格差を埋めると同時に薬剤反応性の個体差の原因となるSNPsを明らかにすることを目標として、ファーマコゲノミクスにおける諸問題を統計学的視点から検討することが本研修の主な目的でした。その目的を達成するために以下の4つの課題に取り組みました（図1参照）。① 薬物動態（PK）とSNPsとの関連解析、② 薬効強度および有害反応とSNPsとの関連解析、③ PK/PDモデリング、④ 薬効強度および有害反応とSNPs、PKの情報を組み合わせた数理モデルを構築することです。

まず、第1課題については、薬物動態と関連する遺伝子を見つけるために、薬物動態パラメータ〔薬物血中濃度－時間曲線下面積（AUC）、最高血中濃

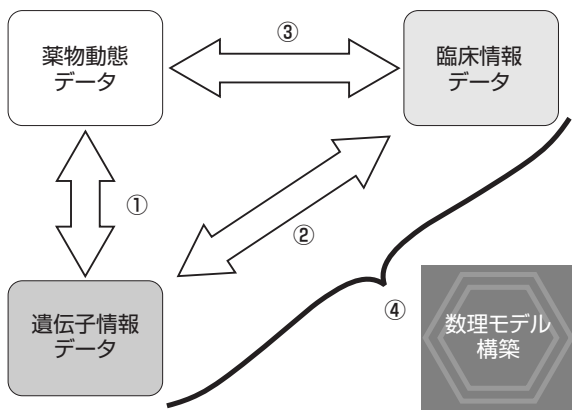


図1 研修計画の概略図

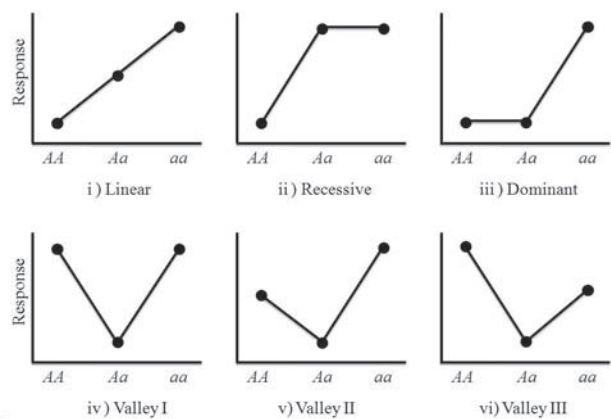


図2 遺伝子型と薬物動態パラメータの反応関係

度 (Cmax)、消失速度定数 (Kel) など] とSNPsとの関連を調べる方法が良く用いられています。SNPデータは、集団の中で頻度の高いホモ接合型 (AA)、ヘテロ接合型 (Aa)、頻度の低いホモ接合型 (aa) のように2つの対立遺伝子の対からなる3種類の遺伝子型に分類され三値のカテゴリカルデータとして測定され、薬物動態データは、左に裾を引いた分布で非負の連続値として測定されます。そのため多くの実験家は、これまでは薬物動態パラメータとSNPsとの関連を調べる統計手法として、遺伝子型の各群における薬物動態パラメータの母平均に差があるかどうかについて、分散分析を適用し関連の有無を調べることが一般的でした。しかしながら、検出されたSNPsは、偽陽性を含んでいる可能性があるため、実験家は検出されたSNPsの遺伝子型と薬物動態パラメータの反応関係を目視によりチェックし、遺伝子型と薬物動態パラメータが単調に変化するもの (図2のi~iii) を選択します。検出されたSNPsの数が少ない場合には実験家が目視で確認することはそれほど大変ではないですが、最近では一度に10~100万のSNPsを調べるゲノム網羅的なアプローチが主流になりつつあり、そのような膨大なデータから検出されたSNPsを実験家が目視により反応パターンを一つずつ確認することは困難です。そのため、遺伝子型反応パターンを考慮して薬物動態関連SNPsを検出するための統計学的スクリーニング法を提案しました [Sato et al. Pharmacogenomics J. 2009; 9 (2) :137-46]。

シミュレーションにより提案法の性能評価した結果、対立遺伝子頻度が小さくなるにつれて提案法は、従来法 (Kruskal-Wallis検定) よりも検出力が高くなり、遺伝子反応パターンを正確に検出できることが分かりました。さらに、ミレニアム・ゲノム・プロジェクトとして国立がんセンターと国立医薬品食

品衛生研究所と共同研究で実施された抗がん剤のゲノム網羅的研究に提案法を適用しました。その結果、アンジオテンシン前駆体の遺伝子中のSNPsが提案法により検出されましたが、従来法ではこれらのSNPsは検出できませんでした。したがって、提案法は偽陽性を抑え生物学的に意味のある反応パターンのみ検出することができ、ゲノム網羅的研究における統計学的スクリーニング法として、有用な手法と示唆されました。

次に、第2課題については、ゲノム網羅的研究のデータ解析において、多くの論文では、カイ二乗検定のP値が、0.01未満のものを薬剤反応性SNPsと同定する判定基準や、選択の多重性を考慮してボンフェロニ補正を行い有意になったSNPsを薬剤反応性SNPsと同定する判定基準を設けているため、調べるSNPsの数も多いことからかなり保守的な結果になっていました。また、近年、偽陽性のある程度許容して、薬剤反応性SNPsをなるべく抽出したいという観点からFDR (False Discovery Rate) 法という判定方法が広まりつつあります。しかし、どの判定法も一長一短であることから、どの手法を用いればより多くの薬剤反応性SNPsが同定されるか実験家にとっては悩ましい問題です。そこで、従来から良く使われている統計学的手法と提案法をモンテカルロシミュレーションで比較して、偽陽性と偽陰性のバランスを考慮して性能評価を行いました。

その結果、偽陽性を極力少なくしたいという観点からは、ホルム法が望ましく、ある程度の偽陽性を許容して極力たくさんの薬剤反応性SNPsを見つけたいのであればFDR法が望ましいという結論になりました。点推定値による判定方法と区間推定による判定方法は、真の薬剤反応性SNPsのオッズ比が既知の時にはカットオフ値を調整することで、感度および陽性的中率をコントロールすることがで



レアード研究室の仲間たち

きることがわかりました〔Sato et al. Stat Appl Genet Mol Biol. 2009; 8 (1) : Article 46〕。さらに、抗がん剤（塩酸ゲムシタピン・タキサン）のゲノム網羅的研究の実データに提案法を適用したところ、提案法は偽陽性を抑え、抗がん剤の抗腫瘍効果および生存期間に有意に相関する新規のSNPsを同定することができ、米国臨床腫瘍学会にて報告しました（Ueno et al. 2008: J Clin Oncol 26; Yamamoto et al. 2008: J Clin Oncol 26; Sato et al. 2009: J Clin Oncol 26）。

最後に、第3課題および第4課題については研修期間中に完了しなかったものの、研究の方針は定まったので、以下に簡単に示します。血中濃度推移から薬剤の効果を個体ごとに定量的に評価する方法として、体内動態をモデル化した母集団薬物動態解析があります。母集団薬物動態解析とは、被験者が抽出された母集団における薬物動態パラメータの被験者間変動としてある確率分布を仮定し、その確率分布を規定するパラメータを実際に得られたデータに基づいて推定する方法です。本研究では、個人のパラメータを推定することよりも母集団におけるパラメータの分布に興味があるので個体を変量効果とし、薬効などの推定に興味あるパラメータを固定効果とした非線形混合効果モデルを適用しました。モデルの当てはまりを残差プロット、赤池情報量基準（AIC）などで評価した結果、通常の内動態モデルよりも提案法のほうが当てはまりが良いことがわかりました。また、提案したモデルにSNPsを固定効果として含めることでSNPsの影響も定量的に評価できることがわかりました。

4. 統計コンサルテーション

レアード・メディカルスクールの関連施設であるチャニング研究所（Channing Laboratory）、メルトン研究所（Melton Laboratory）において統計を専門としない研究者に研究デザインやデータ解析などをサポートするために統計のコンサルテーションを教育の一環として行っておりました。

チャニング研究所のスコット・ワイズ（Scott Weiss）教授と共同研究で、米国国立精神保健研究

所を中心として実施されている双極性障害のゲノム網羅的関連解析における染色体コピー数の多型（Copy Number Variation = CNV）の検出に取り組みました。また、メルトン研究所のダグラス・メルトン（Douglas Melton）教授と共同研究で、ヒト胚性幹細胞（ES細胞）の株間に分化能の違いがあるかどうかを取り組みました。これらの研究成果は、「Science」や「Nature」などの主要な科学雑誌に掲載され、基礎研究者と統計家が研究デザインの段階から協力することで大きな成果が得られることを実感しました。

5. おわりに

当

初の計画では、2009年3月末までを研修予定としていましたが、2008年9月末で研修を修了し、同年10月1日付で千葉大医学部附属病院臨床試験部に着任しました。研修を途中で修了し、着任した経緯を簡単に説明します。千葉大医学部附属病院が治験中核病院・拠点医療機関を選定され、中核病院に生物統計家を医療機関あたり一名以上配置することが義務づけられました。一方で、東京大学、京都大学、東京理科大学、久留米大学などで毎年、生物統計家を養成しているものの、生物統計家の需要に対して日本では人材の供給が極端に不足しているのが現況です。そのような背景から、千葉大学で生物統計家として、臨床研究の基盤整備および生物統計的側面からの研究サポートをして欲しいという要請が私のところにありました。アメリカに残ってこのまま研究を続けたいという思いはありましたが、日本の治験の空洞化を解決するための大変重要な仕事であると考え、その要請を受諾し9月末で日本へ帰国することを決心しました。

突然の研修計画の変更で、日本臨床薬理学会ならびに日本製薬工業協会の皆様に大変ご迷惑をおかけしたことを深くお詫びいたします。海外でこのような貴重な経験ができたのは、皆様の援助があつてのものです。この場を借りて心より感謝いたします。今後は研修経験を生かしながら、生物統計家として日本の医療を良くするために貢献していきたいと考えています。