

前向き観察研究計画書

グリチルリチン酸代謝産物の薬物動態解明

研究責任者：三村 將、慶應義塾大学医学部漢方医学センター、教授
新宿区信濃町 35 仮設 D 棟 2 階、TEL03-5366-3824、FAX03-5366-3825

Ver No, 1.0 版 (2020 年 12 月 1 日作成)

Ver No, 1.1 版 (2021 年 2 月 3 日作成)

1. 研究組織

本研究は慶應義塾大学を研究代表機関（承認番号 20200333）とする多施設共同研究である。共同研究機関の一覧は別紙 1 に示す通りである。

2. 経緯及び意義

甘草は、漢方薬に用いられる生薬の中で最も頻用される最重要品目の一つである。しかしまた、漢方薬による副作用で最も頻度が多い低カリウム血症も、この甘草が原因とされる。低カリウム血症を引き起こす主たる機序である偽アルドステロン症の発症メカニズムが解明されてきているが、未だその予知は不可能であり、甘草への脆弱性には個人差が非常に大きいことについてもその原因は不明である。

これまでの一連の研究¹⁻⁸⁾では、グリチルリチン酸代謝産物（グリチルレチン酸、グリチルレチン酸-3-モノグルクロニド、グリチルレチン酸-3-O-硫酸、22-OH-グリチルレチン酸-3-O-硫酸など）の血中濃度が高い症例でレニン・アルドステロンの抑制やカリウム低値が見られた。しかしグリチルリチン酸代謝産物の血中濃度は、甘草内服量との相関が弱く、必ずしも甘草高用量だからといって血中代謝産物が高濃度となるわけではないことも示された⁸⁾。これが臨床的に経験されてきた、甘草への脆弱性の個人差を説明する現象であると考えられる。これまでの報告から、個人差を生じる機序の一つとして腸内細菌叢の関与が示唆されている。さらに、偽アルドステロン症例における代謝産物濃度は、高濃度となる代謝産物の種類・性差・代謝産物の尿中濃度といったいくつかの重要な点においてラットを用いた研究結果と解離しており(unpublished data)、ヒトでの薬物動態研究が必要と考えられた。

これらの結果からは、偽アルドステロン症を発症した患者、つまり甘草内服後に代謝産物の血中濃度が高くなりやすい患者とそうでない患者について、甘草含有漢方薬の内服後に代謝産物の血中・尿中濃度推移を比較することで、偽アルドステロン症を発症しやすい体質的素因を検討できると考える。またグリチルリチン酸代謝産物の半減期が長時間であることと臨床での一回投与量のごく少量であることから、一回内服後の濃度測定を繰り返す一般的な薬物動態研究ではなく、より長期間投与での濃度測定を行うことでも十分に研究の目的を達することができると思われる。

本研究では、これまでの一連の研究に参加してきた多施設での共同研究として、甘草含有漢方薬内服後のグリチルリチン酸代謝産物を経時的に測定し、ヒトにおける代謝産物の濃度推移を検討する。

3. 研究の目的

この研究の目的は、甘草による副作用を生じた患者さんの血液中及び尿中のグリチルリチン酸代謝産物濃度を測定することと腸内細菌の関与を検討することにより、甘草に対する副作用を生じやすい体質的素因の有無をあらかじめ調べられるかどうかを解明することである。

甘草による副作用を生じるかどうかについては、非常に大きな個人差があり、どんなタイプの人が、いつ副作用を生じるのか、全く予測がつかない。ほとんどの場合は軽症で済むが、時に高齢者では不整脈などをきたして重篤な状態に至ることがある。本研究によって、甘草による副作用を生じやすいかどうかをあらかじめ判定することが可能になれば、最初から甘草を含まない漢方薬を用いるなどして重篤な副作用に至るのを未然に防ぐことが可能となる。

4. 研究対象者の選定

倫理審査委員会の承認日より 2024 年 3 月までに各参加施設外来に来院する患者

1) 選択基準：

- ① 甘草を含む漢方薬を使用する患者

- ② 20歳以上の患者
- ③ 文書による同意が得られた患者
- 2) 除外基準：
 - ① 漢方薬を服用後にアレルギーを発症した経験のある患者
 - ② 研究者等が除外すべきと判断した患者
- 3) 被験者に説明し同意を得る方法
各施設の倫理委員会で承認の得られた同意説明文書を患者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、当該患者の自由意思による同意を文書で得る。

5. 研究の方法

- 1) 研究の種類・デザイン
仮説探索的臨床研究
- 2) 研究のアウトライン
当科外来診療において甘草を含む漢方薬を使用する患者で、検査のため採取された血液および尿の余剰分を同意の上で提供していただき、甘草及びグリチルリチン酸代謝産物の測定を行う。各種グリチルリチン酸代謝産物の濃度が高い症例に対しては、便の提供を依頼し、測定における標品合成に用いるとともにグリチルリチン酸代謝酵素の測定を行う。
- 3) 被験者の研究参加予定期間
本研究承認後から、2024年3月末まで
- 4) 研究対象者の人数
参加施設の合計で200例とする。施設毎の登録限度は設定しない。
- 5) 実施場所
血液・尿・便サンプルの手配：各参加施設の外来
サンプルの解析：名古屋市立大学大学院薬学研究科生薬学分野
代謝産物濃度と臨床データの解析：慶應義塾大学医学部漢方医学センター
- 6) 観察及び検査項目
患者背景
年齢、性別、身長、体重、合併症、甘草投与量、甘草投与期間、甘草最終投与、血圧、併用薬、下腿浮腫の有無、下痢嘔吐の有無、横紋筋融解・不整脈の有無

通常血液検査結果
AST, ALT, Bil, TP, ALB, UN, Cr, Na, K, Cl, Ca, Mg, PT, ARC（施設によってはPRA）・PAC、尿中コルチゾール・コルチゾン比などのうち数値がえられたもの

グリチルリチン酸代謝産物
名古屋市立大学において血液および尿中の代謝産物濃度を測定する。
グリチルレチン酸、グリチルレチン酸-3-モノグルクロニド、グリチルレチン酸-3-O-硫酸、22-OH-グリチルレチン酸-3-O-硫酸、30-モノグルクロニル-グリチルレチン酸-3-O-硫酸など
各種グリチルリチン酸代謝産物の濃度が高い症例に対しては、便の提供を依頼し、測定における標品合成に用いるとともにグリチルリチン酸代謝酵素の測定を行う。
- 7) 中止基準
対象から同意の撤回があった場合、研究担当医師は該当検体及びそこから得られたデータを破棄するとともに、中止の日付・時期、中止の理由をカルテならびにCRFに明記する。

6. 統計解析

本研究は観察研究であるため、甘草投与量も観察期間も血液・尿検査実施間隔も指定や制限はない。その上で、甘草を含む漢方薬を使用した後の血液および尿中のグリチルリチン酸代謝産物濃度が上昇しやすい患者とそうでない患者の間で、これまでに報告されてきた偽アルドステロン症発症リスク⁹⁻¹²⁾を中心に違いがあるかどうか検討する。

7. 研究機関の長への報告内容及び方法

研究責任者は、年に1回、研究機関の長に対して研究の進捗状況の報告を行う。さらに、研究を中止または終了した場合も同様に、速やかに報告を行う。

また、以下に示す状況に該当するものが発生した場合は、研究責任者は速やかに研究機関の長に報告を行う。

- 1) 研究の妥当性や科学的合理性を損なう事実、情報、損なう恐れのある情報を得た場合
- 2) 研究実施の適正性や研究結果の信頼を損なう事実、情報、損なう恐れのある情報を得た場合

8. 研究全体の中止基準

- 1) 倫理指針または研究計画書の重大な違反/不遵守が判明した場合
- 2) 倫理的妥当性もしくは科学的合理性を損なう、または損なう恐れのある事実を得た場合
- 3) 研究機関の長や厚生労働省による中止の要請や勧告があった場合
- 4) その他、研究責任者が中止と判断した場合

9. 研究の終了

本研究に登録された症例数が目標症例数に達し、途中で中止または同意撤回した研究対象者以外の全ての研究対象者が規定来院を完了した時点を研究終了とする。

10. 研究実施期間

倫理審査委員会承認後から2025年3月31日（登録締切：2024年3月31日）

いずれも開始日は倫理審査承認日以降に設定し、研究実施期間にはデータ解析期間を含む。

10.1. 予期される利益と不利益

1) 利益

研究対象者が本研究に参加することにより、通常の診療のみでは測定しえない詳細な甘草代謝産物の濃度推移などを知ることができる。

2) 不利益

本研究では、漢方薬服用に際し、通常診療の一環として血液検査・尿検査を行い、その残血清・残尿検体を用いる。また便検体を依頼する場合も、体外に排出された分の提出を依頼する。そのため、本研究実施によって患者に身体的危険等の有害事象が発生することは考えにくい。

また、個人情報等を厳重に管理する手続、設備、体制等を整備することにより、患者へ不利益が生じることも極めて低いものと予想される。

患者に不利益が生じた場合の補償は特にないが、万が一、そのような事態が起きた場合には、関連する諸規定に従って事故報告を行い、患者にも適切な処置を行う。

1 2. インフォームド・コンセントを受ける手続き

- 1) 倫理審査委員会で承認の得られた同意説明文書を研究対象者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、研究対象者の自由意思による同意を文書で得る。
- 2) 研究対象者の同意に影響を及ぼすと考えられる有効性や安全性等の情報が得られた場合や、研究対象者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われる場合は、速やかに研究対象者に情報提供し、研究に参加するか否かについて研究対象者の意思を予め確認するとともに、事前に倫理審査委員会の承認を得て同意説明文書等の改訂を行い、研究対象者の再同意を得る。

1 3. 健康被害発生時の対処方法

本研究は、研究対象者に介入を行う研究ではないため、研究による健康被害の発生は原則としてないものと考えており、特別な補償は設けない。

1 4. 倫理的配慮

- 1) 倫理指針の遵守
本研究に携わるすべての者は、人を対象とする全ての医学研究が準拠すべき「ヘルシンキ宣言」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」（平成 26 年 12 月 22 日 文部科学省・厚生労働省（平成 29 年 2 月 28 日一部改正））の内容を熟読し理解した上で遵守し、研究を実施する。
- 2) 倫理審査委員会
本研究の実施に先立ち、倫理審査委員会にて、本研究の倫理性・科学的妥当性及び実施の適否につき審査を受け、倫理審査委員会の承認を得て、研究機関の長の許可を受けた上で本研究を実施する。研究の継続に関しても同様に研究機関の長の許可を受けた上で継続する。

1 5. 個人情報の保護方法

個人情報管理者は、以下に従って個人情報が適切に保護されるよう管理する。

- 1) 資料の匿名化
研究実施施設内で対応表を作成する。研究実施に係るデータ類および同意書等を取り扱う際は、研究対象者の秘密保護に十分配慮する。
- 2) 個人情報を含むデータの取扱者の範囲
研究の結果を公表する際は、研究対象者を特定できる情報を含めないようにする。研究の目的以外に、研究で得られた研究対象者のデータを使用しない。
- 3) データの取扱いについて
個人情報はすべて専用の機器内に暗号化された形で記録する。登録されたデータの解析を実施する為にデータの移動が必要な場合は、個人が特定されることがないように匿名化された情報に加工し、専用の暗号化 USB メモリーを用いて、USB メモリー内に暗号化されたデータとして保存する。
データの移動に関しては、すべてこの暗号化 USB によって運搬され、個人情報管理者によって管理する。
- 4) 同意撤回後のデータの取扱いについて
速やかに破棄する。同意を撤回した場合は、解析の結果などは、個人名が特定できないようにしたうえで廃棄し、診療記録なども同意を撤回した以降は研究目的に用いない。ただし、同意を撤回した時点ですでにデータが処理されていた場合、あるいは研究結果が論文などで公表されていた場合、解析結果を廃棄することができない場合がある。この場合でも、個人を特定できる情報が公表されないようにする。
- 5) 対応表の管理方法
漢方医学センターにある鍵のかかる棚に収納する。また、外部に提出することはな

い。

16. 試料・情報の新たな研究での利用および他研究機関への提供の可能性について

試料の二次利用は行わない。本研究で保管される情報を新たな研究に利用する場合は、新たな研究に該当する規範を遵守し、新たな研究計画書等の審査を受け、承認されてから利用する。また、その際は、オプトアウトの手続きにより情報公開文書を作成し、研究対象者が研究参加を拒否する機会を保障する。

17. モニタリング及び監査の実施体制及び実施手順

本研究は、侵襲を伴う研究ではないため、モニタリング及び監査は実施しない。

18. 研究資金および利益相反

1) 研究に関わる費用

研究の人的費用と研究に関する諸経費（特殊検査測定費など）は、各施設研究費から負担する。

2) 利益相反

本研究計画・実施・報告において、研究の結果および結果の解釈に影響を及ぼすような「起こりえる利益の衝突」は存在しないこと、および研究の実施が研究対象者の権利・利益をそこねることがないことを文章で確認する。

本研究に係る開示すべき利益相反は無い。

19. 記録等の管理および保管

【記録の管理】

研究責任者は、別にデータ管理者を定めることができ、対象データの情報管理を行う。

【記録の管理方法】

研究責任者から指示された保管場所にて指示された期間保管を行う。

（データ保管）

- ① 研究責任者より指示された保管場所にて、データ管理者が適切に管理及び保管を実施する。
- ② 研究責任者より許可を得た者以外の使用を禁止とする。

（データ廃棄）

データ管理者は、研究責任者から指示された場合のみデータの廃棄を行うことができる。

【試料の管理】

対象試料の管理は、実務担当者が行う。

【試料の管理方法】

研究責任者から指示された保管場所にて指示された期間保管を行う。

（試料保管）

- ① 研究責任者より指示された保管場所にて、実務責任者が適切に管理及び保管を実施する。
- ② 研究責任者より許可を得た者以外の使用を禁止とする。

（試料廃棄）

採取した試料を測定解析後、研究責任者に報告した後、施設規則に従い速やかに匿名化し廃棄する。

20. 研究成果の発表方法および結果や研究計画の開示

研究結果の公表に関しては、互いに協議し決定することとし、研究対象者の秘密は保全する。研究の公表とは学会発表および論文掲載を指す。研究成果発表の際、個人が識別できる情報は発表内容に含まないように配慮する。

研究対象者が、検査結果について報告を受けたい場合は、研究者等より説明する。

ただし、提供者及び血縁者の生命に重大な影響をあたえる情報が偶然判明した場合には、その旨を研究機関の長に報告する。倫理指針に示されたしかるべき協議ののち、研究責任者又は研究分担者等は提供者に十分な説明を行った上で提供者の意向に基づいて、結果の開示を行うか、あるいは非開示のままとする。

21. 研究対象者等の経済的負担又は謝礼

研究対象者が通常診療を受けるための交通費、診療費、検査費、薬剤費などは保険診療の範囲内で研究対象者が負担する。研究の人件費と研究に関する諸経費（特殊検査測定費など）は、各施設研究費から負担するため、研究対象者が本研究に参加するための追加負担はない。

研究対象者への負担軽減費支払いは行わない。

22. 参考資料・文献リスト

1. Kato H, Kanaoka M, Yano S, Kobayashi M. 3-Monoglucuronyl-glycyrrhetic acid is a major metabolite that causes licorice-induced pseudoaldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(6):1929-33.
2. Ohtake N, Kido A, Kubota K, Tsuchiya N, Morita T, Kase Y, Takeda S. A possible involvement of 3-monoglucuronyl-glycyrrhetic acid, a metabolite of glycyrrhizin (GL), in GL-induced pseudoaldosteronism. *Life Sci.* 2007;80(17):1545-52.
3. Makino T, Ohtake N, Watanabe A, Tsuchiya N, Imamura S, Iizuka S, Inoue M, Mizukami H. Down-regulation of a hepatic transporter multidrug resistance-associated protein 2 is involved in alteration of pharmacokinetics of glycyrrhizin and its metabolites in a rat model of chronic liver injury. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(7):1438-43.
4. Makino T, Okajima K, Uebayashi R, Ohtake N, Inoue K, Mizukami H. 3-Monoglucuronyl-glycyrrhetic acid is a substrate of organic anion transporters expressed in tubular epithelial cells and plays important roles in licorice-induced pseudoaldosteronism by inhibiting 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;342(2):297-304.
5. Makino T. 3-Monoglucuronyl glycyrrhetic acid is a possible marker compound related to licorice-induced pseudoaldosteronism. *Biol Pharm Bull.* 2014;37(6):898-902.
6. Morinaga O, Ishiuchi K, Ohkita T, Tian C, Hirasawa A, Mitamura M, et al. Isolation of a novel glycyrrhizin metabolite as a causal candidate compound for pseudoaldosteronism. *Sci Rep.* 2018;8(1):15568.
7. Ishiuchi K, Morinaga O, Ohkita T, Tian C, Hirasawa A, Mitamura M, et al. 18beta-glycyrrhetyl-3-O-sulfate would be a causative agent of licorice-induced pseudoaldosteronism. *Sci Rep.* 2019;9(1):1587.
8. Takahashi K, Yoshino T, Maki Y, Ishiuchi K, Namiki T, Ogawa-Ochiai K, et al. Identification of glycyrrhizin metabolites in humans and of a potential biomarker of liquorice-induced pseudoaldosteronism: a multi-centre cross-sectional study. *Arch Toxicol.* 2019;93(11):3111-9.
9. Yoshino T, Yanagawa T, Watanabe K. Risk Factors for Pseudoaldosteronism with Rhabdomyolysis Caused by Consumption of Drugs Containing Licorice and Differences Between Incidence of These Conditions in Japan and Other Countries: Case Report and Literature Review. *Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 2014;20(6):516-20.

10. Yoshino T, Nakamura H, Sano M, Horiba Y, Nakamura T, K. W. Elevated Direct Bilirubin - Possible Predictors for Pseudoaldosteronism: A Case-Control Study. *Traditional and Kampo Medicine*. 2016;3(2):174-6.
11. Shimada S, Arai T, Tamaoka A, Homma M. Licorice-induced hypokalaemia in patients treated with Yokukansan preparations: identification of the risk factors in a retrospective cohort study. *BMJ Open*. 2017;7(6):e014218.
12. Komatsu A, Yoshino T, Suzuki T, Nakamura T, Kanai T, Watanabe K. Risk factors associated with pseudoaldosteronism in patients with chronic hepatitis: A retrospective cohort study. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2018.