

抗悪性腫瘍薬の遊離形血漿中濃度測定的重要性 ～治療効果・毒性評価における意義～

藤田 健一 (39期 1996年卒)

1. はじめに

私は昭和大学薬学部のがんゲノム医療薬学部門において、「様々な背景を有するがん患者にとって至適ながん薬物療法を確立することを目指して、薬物動態や遺伝子多型と効果・毒性との関係を調べる臨床薬理研究や基礎研究」を進めている。私がこのような研究を行うに至った過程には、私の少々変わった経歴が影響している。

高卒後に東北大学工学部に進学した私は、化学工学科でプロセス制御を勉強した。卒業後、川崎製鉄株式会社(現 JFE スチール株式会社)に入社した。製鉄ラインの熱・流体関係のエンジニアとして、高炉を有する一貫製鉄所の最終工程である、冷間圧延部の連続焼鈍炉(しょうどんろ)を担当した(全長 200 m、高さ 4 階建て)。これは鋼板の焼きなましを行う設備である。圧延機で大きな荷重をかけて薄く延ばされた鋼板は加工硬化しており、そのままでは自動車の車体や飲料用の缶へのプレス成形ができない。圧延後の鋼板を還元的气氛で 700～950 度まで加熱し、適切な速度で冷却することにより、鋼板は焼きなまされてプレス成形が可能になる。設備に不具合が生じる(設備が病気になる)と、製品のロスを生じる。私は、設計に関わる様々な問題について熱・流体の技術を適用し、原因を科学的に突き止めて、設備の改造や操業法の改善(設備の病気の治療)を行った。さらには得られた技術を新規設備の設計に反映させた。

エンジニア時代のある時、医師と交流を持つ機会があった。医療の現場での様々なお話を伺う中で、病気の治療に立ち向かう彼らの仕事、特に切れのある薬物による治療に興味を持った。人体の仕組みはどうなっているのか? その仕組みがどうなると病気になるのか? 切れのある薬物はどこに作用して効果を発揮するのか? といった疑問が沸々と湧いてきた。エンジニア時代は設備の病気の機序を解明して対策を講じたが、ヒトの病気の機序を解明して、機序に根差した薬物療法を確立したいと考えた。その強い思いから会社を退職して、北海道大学薬学部で学士入学した。北大では薬物代謝酵素であるシトクローム P450 研究の大家である鎌滝哲也博士の研究室に進み、薬物代謝学を学

んだ。鎌滝教授は、研究者のみならず教育者としても多く哲学をお持ちで、研究者としての在り方・考え方などに加えて、教育に関することも色々教えていただいた。

ヒトの薬物治療に興味のあった私は、薬物代謝酵素の遺伝子多型に基づいた個別化医療を臨床の現場で実現したいと考えていた。そんな折、埼玉医科大学で日本初の大学の腫瘍内科を開設し、教授となられた佐々木康綱博士から、一緒に抗がん薬の臨床薬理研究をやらないかとお話いただいた。佐々木先生は、我が国における抗がん薬の至適な投与を目指した臨床薬理研究の草分け的な存在である。佐々木先生とのお付き合いは 20 年になるが、その間に抗がん薬の標準治療とはどのようなものか、臨床試験とはどのようなものかについて、徹底的にご指導いただいた。そのお蔭で、北大で専攻した薬物代謝学と抗がん薬治療を融合し、独自の視点から抗がん薬の臨床薬理的な研究を進めることができるようになった。

がん薬物療法においては、治療効果や副作用には大きな個人差が認められる。がん患者にとって、抗がん薬の治療効果と共に副作用もあらかじめ予測できることは切実な願いである。奏効率や延命効果が示されても、自分の場合はどうなのか、毒性ばかりが強く、効果が得られないのではないかという不安が、がん薬物療法に対する患者の恐怖心を誘う原因にもなっている。それぞれの患者に有効な治療法を選択しかつ副作用を回避し得る方法を開発することは、こうした患者のニーズに応えるために重要である。私は科学的な根拠に基づいた個別化医療の確立を目指す研究を進めてきた。私の研究はトップダウンアプローチであり、(1) ヒトでの前向き臨床研究、(2) *in vivo* 及び *in vitro* 基礎研究の 2 本の柱より成る。

- (1) 前向きな臨床研究により、抗がん薬の体内動態と効果・毒性との関連、またこれらと薬力・薬物動態関連因子の遺伝子多型との関連を解明する。
- (2) 抗がん薬の体内動態を決定する因子や、複雑な細胞内イベントを介して発現する毒性の機序を、実験動物(*in vivo*)、そしてヒト肝細

胞、及び異種発現系など(*in vitro*)を用いた基礎的な研究により解明する。
エンジニア時代に設備を対象に行っていたアプローチを、ヒトを対象に応用したものである。

2. 抗がん薬の臨床薬理研究における遊離形血漿中濃度測定の意義

抗がん薬の臨床薬理学的研究では、薬物の体内動態を測定する。多くの臨床研究では、アルブミンなどの血漿中蛋白質に結合した結合形と、結合していない遊離形の総和である総血漿中濃度を測定し、その効果や毒性に対する意義を検討する。しかしながら、旧来から知られているように、薬効や毒性に関連するのは遊離形である(図1)。私は、遊離形血漿中濃度を測定して初めて、抗がん薬の効果や毒性と血漿中濃度の関係を明らかにすることができた例を2つ経験した。本稿ではそれらについて紹介し、遊離形血漿中濃度測定の意義について述べる。

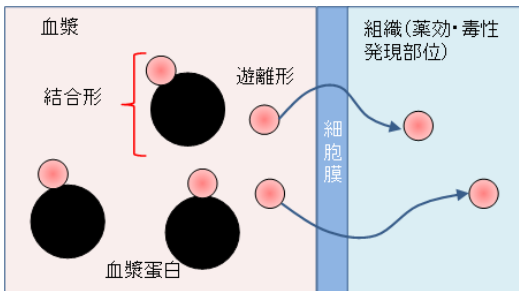


図1. 薬物の薬効・毒性と遊離形薬物

3. 透析を要するほどの腎機能障害を有するがん患者における遊離形 SN-38 の特異な体内動態

イリノテカン塩酸塩、特に活性代謝物であるSN-38は肝消失型の抗がん薬である。実地医療では全身状態が良好であれば、透析を要するほどに腎機能が低下したがん患者においても、イリノテカン塩酸塩による化学療法が標準的治療として行われる。SN-38は、95%以上が血漿中蛋白質と結合する高蛋白結合型の抗がん薬である。SN-38の抗腫瘍効果や毒性は、アルブミンなどの血漿中蛋白質に結合していない遊離形の濃度と関連する。高蛋白結合型の薬物は、何らかの原因でその結合率が低下すると遊離形の割合が大きく増加するため、薬物有害反応を惹起する可能性が高くなる。しかしながらこれまで、重篤な腎機能低下患者におけるSN-

38の血漿中蛋白質結合率や遊離形血漿中濃度については全く知見が得られていなかった。そこで我々は前向きな臨床研究を実施し^{1, 2)}、腎透析を施行中のがん患者と正常な腎機能の患者におけるSN-38の総血漿中濃度、蛋白質結合率、及び遊離形血漿中濃度を測定した(表1)。

表1. 重篤な腎機能低下患者におけるSN-38のAUCuと遊離形分率

	健常腎 ^a	重篤な腎障害 ^a	増加	P ^b
AUCt (μM·h)	0.77 ± 0.48	1.31 ± 0.63	1.70 ↑	0.297
AUCu (μM·h)	0.0069 ± 0.0043	0.030 ± 0.015	4.38	0.0253
遊離形分率	0.0089 ± 0.0046	0.023 ± 0.0060	2.59	0.0339

その結果、透析がん患者におけるSN-38の総濃度基準の血漿中濃度-時間曲線化面積(AUCt)は、健常腎患者の1.7倍にも上昇することを見いだした。また、透析がん患者におけるSN-38の遊離形分率は、健常腎の患者と比較して2.59倍高いこと、さらに遊離形濃度基準の血漿中濃度-時間曲線化面積(AUCu)は、4.38倍にも上昇することを世界に先駆けて見いだした。一般に抗がん薬の有効治療濃度域は狭く、4.38倍ものAUCuの上昇は、有害反応の発症に繋がる。本研究においても、腎機能低下患者では好中球減少の遷延が認められたため、イリノテカン塩酸塩の次回投与が、2週間から1ヶ月遅延したが、SN-38のAUCuの顕著な増加が一因と考えられた。

我々は続いて、透析がん患者におけるSN-38のAUC上昇のメカニズム解明するための基礎研究に取り組んだ³⁾。その結果、(1) ヒト肝細胞の有機アニオン輸送ポリペプチドOATP1B1及びOATP1B3によるSN-38の取り込みは、臨床で認められる濃度の有機アニオン尿毒素、3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate (CMPF)、馬尿酸、インドキシル硫酸、及びインドール酢酸により有意に阻害されること、(2) ヒト肝細胞を重篤な腎機能低下患者の血漿に暴露した場合に、これらのトランスポーターのmRNA発現が健常腎の血漿の場合と比較して有意に低下することを明らかにした。これらの要因により腎機能低下がん患者においては、SN-38の肝細胞への取り込みが低下したと考えられた。

続いて、腎機能の低下したがん患者において認められた高いSN-38遊離形分率は、これらの患者

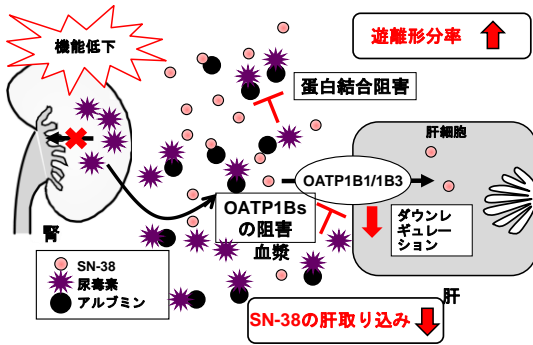
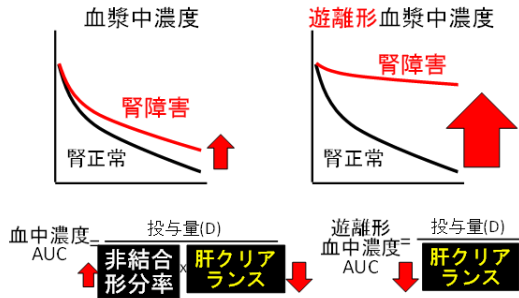


図2. 重篤な腎機能低下患者におけるSN-38の肝取り込み低下と遊離形分率上昇

の血液内に存在する血漿中蛋白質に対して高い親和性を持つ尿毒素が、SN-38の蛋白結合を阻害するために生じるとの仮説を立てて研究した。22種類の尿毒素について、臨床的に認められる濃度でのSN-38の蛋白結合に対する置換を *ex vivo* 試験により検討したところ、CMPF、インドキシル硫酸、及び馬尿酸が有意にSN-38の蛋白結合を阻害することを見いだした。アルブミンには幾つかの薬物結合サイトが存在する。CMPFはアルブミンのサイト1に結合することが知られている。そこで、SN-38がアルブミンのサイト1に結合し、競合的な相互作用が起こっているのか否かについて検討したところ、SN-38のアルブミンへの結合はサイト1に結合するCMPFを同時に添加することにより阻害された。一方、サイト2に結合する物質には影響されなかった。以上のように、SN-38はアルブミンのサイト1に結合し、本結合はCMPFの添加により競合的に阻害されることを見いだした。すなわち、重篤な腎障害患者では、尿毒素による蛋白結合の阻害により、SN-38の遊離形分率が上昇することを見いだした。

腎障害患者の、SN-38の肝取り込み低下と、遊離形分率の上昇の機序を図2にまとめた。腎機能低下患者で、遊離形血漿中濃度の方が総血漿中濃度よりも著著に増加した理由として、 AUC_u に対しては肝取り込みクリアランスの低下のみが影響するが、 AUC については肝取り込みの低下と蛋白結合率の上昇が関与してお互いに相殺する方向に作用するためであることが考えられた(図3)。

我々の目指すところは、腎機能低下患者における適切なイリノテカン塩酸塩の投与量の推算である。そこで、イリノテカンとSN-38の生理学的速度論(PBPK)モデルを構築した。イリノテカンとSN-38の血漿中濃度に対するパラメータのフィッティングにより、今回の見いだした腎機能低下がん患者



- 遊離形濃度の上昇 → 肝取り込み等の低下による
- 蛋白結合率の変化 → 遊離形濃度上昇をマスク

図3. 腎障害時のSN-38総血中濃度と遊離形血中濃度の上昇

におけるSN-38の蛋白結合率の低下と、肝細胞への取り込みの低下により、腎機能低下患者における特異なSN-38の体内動態が再現できることを検証した(図4)。

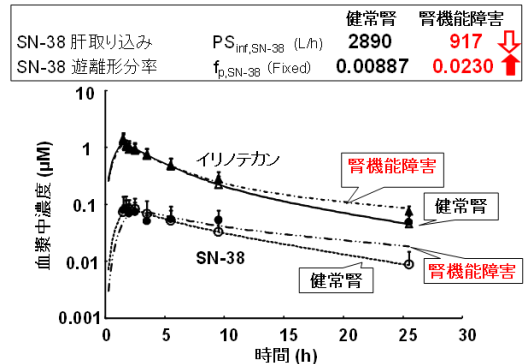


図4. PBPKモデルによるシミュレーションの結果

腎機能低下患者のSN-38の体内動態を、健康腎の患者と同等にするために、イリノテカン塩酸塩の投与量をどれだけ減量すれば良いかについて検討した。総血漿中濃度を同等にするためには約3/4に減量する必要があること、また、遊離形血漿中濃度を同等にするためには約1/3に減量する必要があることを明らかにした。これらの指標は、日常臨床において腎機能低下患者に対するイリノテカン塩酸塩の投与量を決定する際の目安になると考えられる。

4. レゴラフェニブとその活性代謝物の遊離形血漿中濃度と効果・毒性

レゴラフェニブは転移・再発の結腸・直腸がんの3次治療以降に用いられる経口のマルチキナーゼ阻害薬である。1日1回160mgを21日間投与し、1週間休薬する。これを1サイクルとして繰り返し投与する。レゴラフェニブによる治療では手足症候群

や多形紅斑などの有害事象が発症し、減量や治療中止に至ることがある。本抗がん薬は肝の CYP3A により親化合物とほぼ同等の薬理活性を有する M-2 に代謝される。M-2 はさらに CYP3A より活性代謝物 M-5 に変換される。我々は、薬物動態学に基づいたレゴラフェニブの個別化投与設計の基盤を確立するために、レゴラフェニブと両活性代謝物の総濃度基準の AUCt と AUCu と治療効果や毒性の関係を調べる前向きな臨床研究を行った⁴⁾。本臨床研究では、投与初日に投与から 48 h までの体内動態解析用の経時的採血を行うのみならず、同意を得た患者では体内動態が定常状態に達した 15 日目にも同様に投与から 24 h までの動態解析用採血を経時的に行った。

36 名の患者について、血漿中濃度を測定し、AUC を算出した。Day 1 及び day 15 における、各化合物の総血漿中濃度プロファイル及び AUCt は、レゴラフェニブが最も高く、M-2、M-5 の順に低下した (図 5)。

それぞれの化合物の遊離形分率 f_u を図 6 に示す。M-2 と M-5 の f_u はレゴラフェニブと比較して約 10 倍高いことを見出した。レゴラフェニブ、M-2、及び M-5 の各採血ポイントの総血漿中濃度に f_u を掛け、遊離形血漿中濃度を算出した。これらの値をもとに AUCu を算出した。図 7 に示すように、各化合物の遊離形血漿中濃度プロファイル及び AUCu は、

M-2 が最も高く、M-5 が 2 番目に高かった。興味深いことに、レゴラフェニブの遊離形血漿中濃度プロファイル及び AUCu は、3 つの化合物の中で最も低かった。これらは、世界初の知見であり、レゴラフェニブの薬効や毒性の発現に寄与するのは遊離形の活性代謝物 M-2 と M-5 の体内動態であり、親化合物の寄与はこれらの化合物よりも低いことを示すものである。

続いて、レゴラフェニブ、M-2、及び M-5 の AUCt 及び AUCu と投与開始から病勢進行までの期間を表す無増悪生存期間 (PFS) の関係を検討した。全患者をそれぞれの化合物の各 AUC の平均値を基準にそれ以上と以下の群に分け、それぞれの群における PFS を比較した。M-2 または M-5 の AUCu が高い群の患者では、低い群の患者と比較して有意に PFS が短いことを明らかにした (図 8)。一方、レゴラフェニブの AUCu や各化合物の AUCt は PFS と相関しなかった。見出された現象の原因を解明するために、レゴラフェニブ投与 1 サイクル目の相対治療強度 (RDI) を算出して、M-2 または M-5 の AUCu が高い群の患者と低い群の患者で比較した。RDI は 1 日の投与量 160 mg/day に 1 サイクル目の投与日数 21 日を掛けた値を 100 として、この値に対して 1 サイクル目実際に投与された量の比

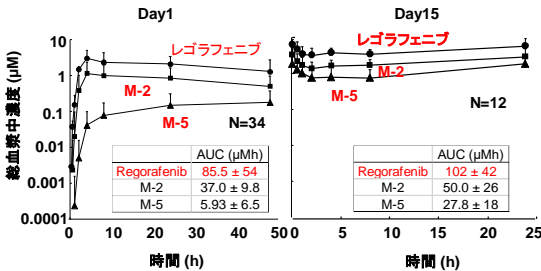


図5. Day 1 及び day 15 におけるレゴラフェニブ、M-2、及び M-5 の総血漿中濃度推移

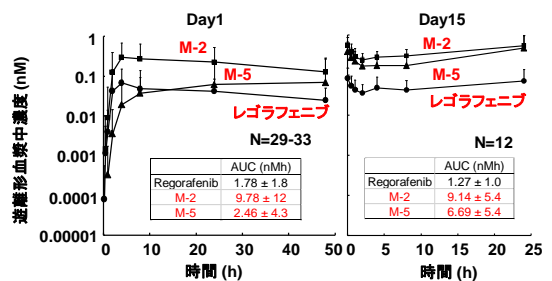


図7. Day 1 及び day 15 におけるレゴラフェニブ、M-2、及び M-5 の遊離形血漿中濃度推移

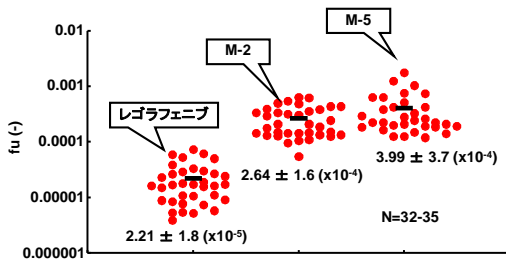


図6. レゴラフェニブ、M-2、及び M-5 の遊離形分率 f_u

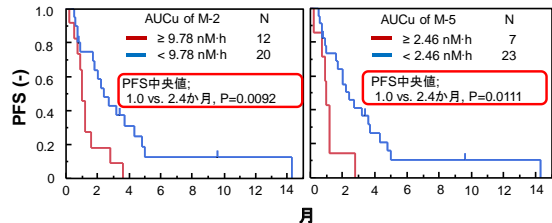


図8. M-2 と M-5 の AUCu が平均より高い患者と低い患者における無増悪生存期間 (PFS) の比較

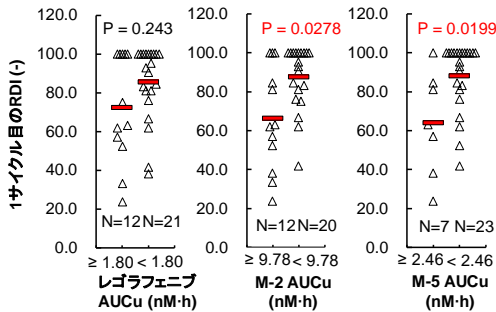


図9. レゴラフェニブ、M-2、及びM-5のAUCuが平均より高い患者と低い患者における相対治療強度(RDI)の比較

率として算出した。結果を図9に示す。M-2またはM-5のAUCuが高い患者においては、低い患者と比較してRDIが有意に低いことを見出した。一方、レゴラフェニブのAUCuはRDIと相関しなかった。M-2またはM-5のAUCuが高い患者においては、1サイクル目のRDIが低かったため、結果としてPFSが短くなった可能性が考えられた。そこで、M-2またはM-5のAUCuと1サイクル目の治療期間との関連を調べた(図10)。M-2またはM-5のAUCuの高い群では、21日以内に様々な副作用を発症して治療が中止となった患者が有意に多く認められた。すなわち、M-2ま

たはM-5のAUCuの高い患者は、(1)1サイクル目に副作用を発症したために治療が中止(中断)となり、結果としてRDIが低下したこと、(2)その結果これらの患者ではPFSが短くなったことを明らかにした。

5. まとめ

透析を要するほどの腎機能障害を有するがん患者におけるAUCtは、正常腎患者の1.7倍高かったが、AUCuは4.38倍も高かった。腎機能低下によるSN-38の遊離形分率の上昇よりも、肝取り込みクリアランスの低下の程度が大きかったために、AUCtの上昇が認められた。これらのパラメータの上昇と低下が完全に相殺される場合は、SN-38のAUCtは腎機能に影響を受けない。すなわち、総血漿中濃度の測定のみでは、AUCuの上昇は見いだせない。

レゴラフェニブの活性代謝物M-2及びM-5の遊離形分率はレゴラフェニブの約10倍であり、遊離形血漿中濃度はM-2が最も高く2番目に高いのはM-5であり、レゴラフェニブが最も低かった。レゴラフェニブの効果や毒性は、親化合物ではなく活性代謝物のAUCuと相関した。

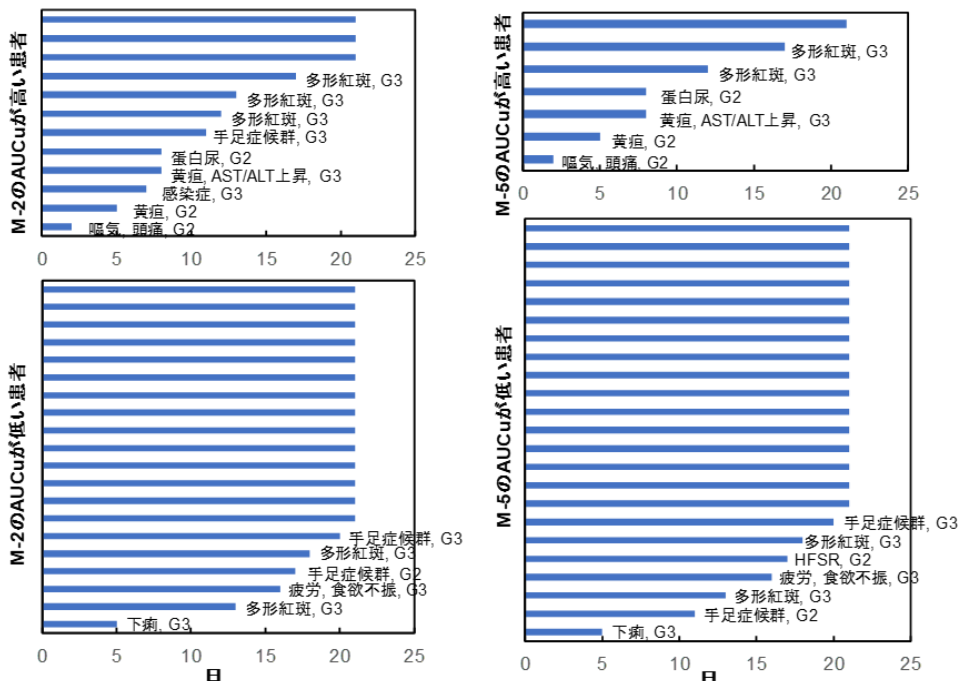


図10. M-2とM-5のAUCuが高い患者と低い患者における1サイクル目のレゴラフェニブ投与期間

これらの知見は、遊離形血漿中濃度を基準とした薬物動態解析を行わないと、本質を見逃す可能性があることを示す。今回は、臓器機能が蛋白結合に影響を及ぼす例と親化合物と代謝物の遊離形分率が異なる例を紹介したが、これ以外にも遊離形血漿中濃度を測定しないと本質が見えない例は存在すると考えられる。我々は他の抗がん薬においても、がん薬物治療の個別化を目指して、遊離形血漿中濃度を用いた臨床薬理研究を進めている。

参考文献

- 1) Fujita, K. et al., *Drug Metab. Dispos.*, 39(2), 161-4 (2011).
- 2) Fujita, K. et al., *Pharm. Res.*, 31(1), 204-15 (2014).
- 3) Fujita, K. et al., *Pharm. Res.*, 33(2), 269-82 (2016).
- 4) Kubota, Y., Fujita, K. et al., *Clin. Pharmacol. Ther.*, 108(3), 586-95 (2020).

同窓会 HP:2024 年 3 月 12 日公開