

平成 30 年 6 月 16 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08096

研究課題名(和文)チロシンキナーゼ阻害薬のPK-PD決定因子の同定

研究課題名(英文)Study for PK/PD determinant factor of tyrosine kinase inhibitors

研究代表者

直良 浩司(Naora, Kohji)

島根大学・医学部・教授

研究者番号：90243427

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、経口がん分子標的治療薬であるチロシンキナーゼ阻害薬(TKI)の体内動態を変動させる要因として、リファンピシンによる肝代謝酵素の誘導を介した薬物相互作用だけでなく、高度腎機能障害による体液貯留も変動要因となる可能性が明らかとなった。したがって、併用薬や腎障害などの合併症を有する患者においては、TKIの血中薬物濃度モニタリングを行うなど、体内動態の変動に留意する必要がある。また、TKIの手足症候群の副作用発現には外用保湿剤の処方量が重要な因子であることが示されたことから、TKI処方患者に対する薬学的管理の重要性も示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated factors that alter the pharmacokinetics of tyrosine kinase inhibitor (TKI), a therapeutic agent for oral cancer molecular target. As the results, TKI pharmacokinetics was possibly changed by not only drug interaction of hepatic enzyme induction with rifampicin but also fluid retention by serious renal dysfunction. Therefore, it is necessary to pay attention to fluctuation in the pharmacokinetics, such as blood concentration monitoring of TKI, in the patients with concomitant medications or complications such as renal disorder. In addition, it was shown that prescribed amount of topical moisturizer is an important factor for onset of hand-foot syndrome as major adverse effect of TKI, which suggests the importance of pharmaceutical management for TKI-prescribed patients by pharmacists.

研究分野：医療薬学

キーワード：PK/PD tyrosine kinase inhibitor

## 1. 研究開始当初の背景

がん細胞に発現する種々の分子を標的としたチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の開発と普及に伴い、がん化学療法の治療成績は著しく向上したが、欧米人と比較した場合、日本人における副作用の発現頻度は高いことが臨床上指摘されている(1)。例えば、慢性骨髄性白血病治療薬イマチニブの標準投与量は諸外国と同量の 400mg/日連日投与とされているが、日本人では副作用のため減量を余儀なくされる場合があり、200-300mg においても有効性は確保されるとの報告もある。

2012 年度の診療報酬改訂によりイマチニブが特定薬剤管理治療料の適応となり TDM の対象薬物として、科学的な投与設計が行われるようになりつつある。しかし、多くの TKI では実地医療で使用されている多くの TKI の本邦における標準投与量は欧米人と同等量であり、副作用が発現した際には経験的な投与量の調節が行われているのが現状である。

一方、TKI 共通の副作用である皮膚障害および消化器障害のうち、Grade3 以上の重篤な副作用である「脂漏性皮疹」および「下痢」に関しては、投与量依存性を示すことが認められており、それに伴い投与中断および減量が必要とされる場合がある。また Baselga ら(2)によって、第 相の用量反応試験において、皮膚および消化器障害が発症した症例では、非発症例と比較してゲフィチニブの血中濃度が高いことが報告されており、重篤な皮膚、消化器障害の発現に体内動態の個人差が関与している可能性があるかと推察される。すでに我々はゲフィチニブとプロトンポンプ阻害薬を併用した場合、ゲフィチニブの血中濃度が低値を示すこと、臨床効果が減少するとともに皮膚障害の発現率が低下する傾向が認められることを報告した (Nishimura N et al, AAPS annual meeting, Oct. 2011, Washington DC)。

以上のように、TKI の副作用発現とその程度は薬物血中濃度と密接な関係があり、薬物動態変動因子を同定することが、TKI の投与設計や薬物相互作用の回避を行う上で極めて重要と考えられる。

## 2. 研究の目的

経口がん分子標的治療薬の開発と普及に伴い、がん化学療法の治療成績は著しく向上しつつあるが、日本人における副作用の発現頻度が欧米人と比較して高いこと、TKI と胃酸分泌抑制薬併用による抗腫瘍効果の減弱などの相互作用が報告されている。TKI の適正使用には標準投与量の維持が必要と考えているが、患者毎の副作用発現や重篤度により適宜増減されていることから、標準投与量と減量投与の実態究明は、薬剤師による患者の服薬指導・薬学的ケアのみならず、処方適正化に関する医師との協議等においても重要な基礎情報となる。TKI の代謝酵素を介し

た相互作用の研究報告は散見されるが、臨床効果および副作用発現との明確な関連性を明らかにした報告はない。TKI の副作用発現とその程度は薬物血中濃度と密接な関係があり、薬物動態変動因子を同定することが、TKI の投与設計や薬物相互作用の回避を行う上で極めて重要と考えられる。

本研究では、経口がん分子標的治療薬である TKI の体内動態を変動させる要因を明らかにすること、臨床効果の向上および副作用発現回避のために、薬物体内動態-薬理作用の関連性を明らかにすること、さらに、臨床効果、副作用の発現決定因子を明らかにし、個別化薬物治療への応用性を検討することを目的とする。

これらのことを明らかにすることで、TKI の患者個別化投与が可能となり、奏効率の維持および副作用回避を考慮したがん化学療法を行うことが可能となり、患者に多大な利益がもたらされると考えられる。また、医療経済学的な観点から、高額な薬剤の効率的な使用により医療費の削減にもつながると考えられる。

## 3. 研究の方法

LC-MS/MS による TKI および代謝物の定量法の確立

### a. 測定用機器

高速液体クロマトグラフ タンデム四重極質量分析装置 (四重極 LC/MS/MS)  
装置名: TSQ Quantum Access MAX-M (サーモフィッシャーサイエンティフィック)を用いた。

### b. 測定方法

既報を参考に簡便で迅速測定可能な LC-MS/MS 条件を検討。

対象薬物: ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、オシメルチニブ、ソラフェニブ、スニチニブとし、クロザピンを内部標準物質とした。

生体成分からの抽出方法: 液・液抽出法を用いた。抽出率、生体成分の除去が妥当であるか評価を行い、検量線の直線性、日内再現性、日間再現性、定量下限などの評価を行った。

### 臨床試験による薬物体内動態の検討

本学倫理委員会で承認された実施計画 (概要は下記) に基づき、対象薬物投与と患者の薬物血中濃度測定、患者背景調査および臨床評価を実施した。

#### a. 患者選択基準

下記の基準をすべて満たす患者を対象とする。

- 1) ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、オシメルチニブ、ソラフェニブ、スニチニブが適応を有する癌種に対して化学療法が施行される患者
- 2) 入院・外来の別および性別は問わないこととし、年齢は 20 歳以上とする

3) 本人の意思により試験参加に関する文書同意が得られている患者

b. 血中濃度モニタリング

1) 対象患者が TKI を服用開始となり、少なくとも 1 週間経過した後 (定常状態)、外来受診時あるいは入院病棟において採血を実施した。

2) 患者の同意が得られれば、服薬後経時的に採血を実施した。

c. 治療効果評価

RECIST ガイドラインをがん治療効果判定の指標として採用し、最良総合効果 (best overall response) を用いて、医師が治療効果を評価した。

d. 副作用評価

CTCAE (Common Terminology Criteria for adverse Events) ver.4 の重症度分類を用い評価した。

e. 薬物動態速度論的解析

非線形最小二乗法を用いて各薬物の体内動態パラメータを推定した。

f. 薬物相互作用の評価

上記の薬物動態パラメータおよび臨床評価、副作用発現、血中濃度データから、それぞれ相互の関連性について解析した。

副作用発現要因に関する後方視的調査

a. 対象

当院においてスニチニブ、アキシチニブ、レゴラフェニブで治療された患者とした。

b. 調査項目

処方 TKI の種類・処方状況、外用保湿剤の種類・処方量、副作用 (手足症候群 : HFS) 発現状況とした。

c. Finger Tip Unit (FTU)

外用保湿剤の処方量から算出し、両手及び両足に 1 日 2 回以上塗布することができる群 (6FTU)、1 日 1 回塗布することができる群 (3FTU)、それ以下の群 (3FTU 未満) の 3 群に分類した。

耐性白血病細胞を用いた検討

耐性癌細胞における TKI の抗腫瘍効果および耐性克服作用について検討した。

a. 細胞

ヒト慢性骨髄性白血病由来細胞 (K562) およびそのドキソルビシン耐性株 (K562-ADR) を用いた。既報に従い細胞培養を行い、耐性細胞の機能維持のため、ドキソルビシンを低濃度曝露した。

b. Cell viability

既報に準じて測定。

c. qPCR

MDR1 プライマーを用いて、サイバーグリーンにより定量した。

d. 蛋白定量

Western blotting 法により定量した。1 次抗体は rabbit、2 次抗体は goat 由来のものを用い、既報に準じて定量・解析した。

抗がん剤耐性細胞を用いて耐性メカニズ

ムを明らかにし、TKI との併用による耐性克服効果ならびに植物由来成分であるマトリンの耐性克服作用についても検討した。

4. 研究成果

チロシンキナーゼ阻害薬の定量法確立 :

上記薬剤に加え、エルロチニブおよびスニチニブについては、活性代謝物の定量を併せて実施することとした。測定方法は、既報を参考に簡便で迅速測定可能な液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS/MS) 法条件の開発を行い、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブはクロザピンを内部標準物質として定量法を確立した。ソラフェニブ、スニチニブ、活性代謝物については、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法で定量を考慮しており、検討を進めている。

薬物相互作用および特殊病態における薬物体内動態変化と薬理効果および副作用発現との関連性解析 :

-1 : ゲフィチニブとリファンピシンの薬物相互作用

まず、臨床での症例調研究を実施した。肝代謝酵素を誘導するリファンピシンを服用する肺結核患者におけるゲフィチニブの体内動態をリファンピシン併用前後で比較し、リファンピシンの酵素誘導により、ゲフィチニブの血中濃度は 10 分の 1 に低下することを明らかにした。また、血液透析患者におけるゲフィチニブの体内動態を検討し、経時的な血中濃度の上昇が観察された。その要因として、腹水・胸水などへの移行の可能性を推定した。

本症例 (肺結核を合併した非小細胞肺癌) において、ゲフィチニブとリファンピシンを併用することにより、ゲフィチニブの血中濃度が著しく低下することが明らかとなった (図 1)。

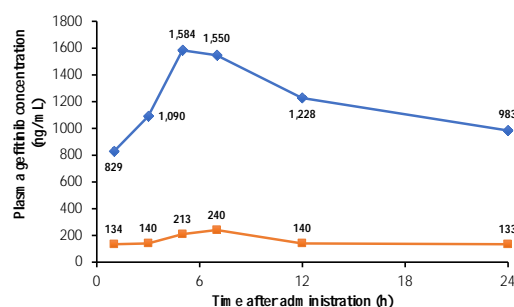


図 1. リファンピシン併用・非併用時のゲフィチニブ血漿中濃度-時間推移

インタビューフォームにゲフィチニブ単独反復投与時の Cmax、AUC が記載されているが、本症例におけるゲフィチニブ単独投与時の Cmax は 1,584 ng/mL、AUC は 65,638 ng・h/mL と、その約 4 倍高い値であった。

さらに、我々が経験した肺癌症例 (22 症

例)におけるゲフィチニブ血中濃度(平均トラフ濃度: 219 ng/mL)に比較して、本症例のゲフィチニブ単独投与時の血中濃度は著しく高値であるため、リファンピシンをリファブチンへは変更せず、肺結核および肺癌治療を継続した症例である。

リファンピシン併用後、ゲフィチニブのCmax および AUC はそれぞれ 15%および 12%に減少した。Tmax、T1/2 には大きな変化は観察されなかった。

リファンピシンと併用開始 8 日目以降についても、ゲフィチニブの血中濃度を定期的に測定した結果、トラフ濃度は 128-135 ng/mL、ピーク濃度は 266 ng/mL であり、8 日目の血中濃度とほぼ同等であった。したがって、リファンピシン併用中はゲフィチニブの血中濃度は一定に維持されていたものと推察された。

本症例においては、観察期間を通してゲフィチニブの血中濃度に影響をおよぼす可能性のある他の薬剤の併用はなく、また、ゲフィチニブの体内動態に影響するような身体的変化・異常等も認められなかった。したがって、ゲフィチニブ血中濃度の低下はリファンピシン併用により CYP3A4 が誘導され、ゲフィチニブの代謝が促進されたためであると推定される。

#### -2: 血液透析施行患者におけるゲフィチニブの体内動態変動

ゲフィチニブ服用 11 日目において透析前の血中濃度は 484 ng/mL、透析後の血中濃度は 357 ng/mL となり、6 時間の透析を経て血中濃度は約 26% 減少した。また服用 11 日目における透析中のゲフィチニブの半減期は 13.5 時間であったのに対し、服用 12、13 日目における非透析時の半減期は 105 時間であり、血液透析によりゲフィチニブの消失が促進される可能性が示唆された。

定常状態に到達していると考えられる服用 25 日目および 26 日目のトラフ値はそれぞれ 748 ng/mL および 778 ng/mL であり、インタビューフォームに記載されている定常状態でのトラフ値  $264 \pm 6$  ng/mL の約 3 倍となった。(図 2)

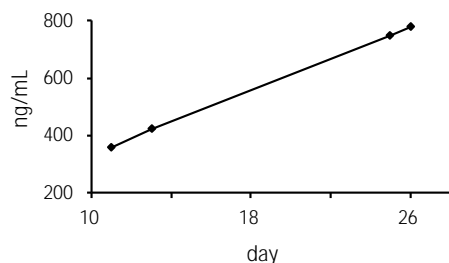


図 2. 透析患者における血漿中ゲフィチニブトラフ濃度の推移

肝機能等の検査値に大きな変動はなく、血中濃度が高値となった理由は不明であるが、腹膜透析患者において胸水が third space と

なることで、半減期が延長し、血中濃度が上昇する可能性があることが報告されている。本症例においても胸水が認められたことから同様の要因により半減期が延長した可能性がある。

以上のことから、ゲフィチニブは高度腎障害のある血液透析患者や胸水のある患者において体内動態が変化する可能性があるため注意する必要があることが示唆された。

#### TKI 処方患者の副作用発現要因に関する検討

臨床使用されている TKI による副作用発現状況を後方視的に調査した。研究対象薬剤に共通で、代表的な副作用であるハンドフットシンドローム (HFS) の発現予測につながる因子について検討した。

対象患者は 51 人 (スニチニブ: 24 人、アキシチニブ: 16 人、レゴラフェニブ: 11 人) であった。保湿外用剤の処方率は全体の 78.4% であり、処方された薬剤はヘパリン類似物質製剤が 83.3% を占め、16.7% が 20% 尿素製剤であった。対象患者に処方された保湿外用剤の総量で 3 群に分類すると、6FTU 群が 23.5% (12 人)、3FTU 群が 19.6% (10 人) 及び 3FTU 未満群が 56.9% (29 人) であった。よって、全体的に処方量は少なく、適切に使用できていない可能性が示唆された。この 3 群間において休薬した人数には一定の傾向は見られなかったが、relative dose intensity は処方量が多い群で高い傾向が認められた。次に HFS 初回発現時までの処方量から FTU を算出し、改めて 3 群に分類して HFS 発現状況を比較した。その結果、初発症状発現までの日数には 3 群間で差は見られなかったが、HFS 初回発現時の Grade は 6FTU 群において Grade 2 以上が 12.5%、3FTU 群では 30.0%、3FTU 未満群では 36.0% となった。1 日の使用量がより多い群の方が HFS 初回発現時の重症度が低い傾向となった。以上より、TKI 投与患者における HFS の発現要因として保湿外用剤の処方量が重要であることが示された。

#### 耐性白血病細胞を用いた検討

ドキソルビシン (DOX) に対して高度耐性を有する K562-ADR 細胞は K562 細胞に比較して、MDR1 mRNA の発現が有意に上昇していることが qPCR 法による解析により認められ、MDR1 タンパクの高発現もウエスタンブロット法により確認された。これらの結果から、細胞膜における薬物排出ポンプである MDR1 の発現上昇により DOX 耐性が生じていることが示唆された。TKI は MDR1 の基質ではないことから、K562-ADR 細胞における抗腫瘍効果が期待できる。さらに、K562-ADR 細胞では、caspase 3 を介したアポトーシスが抑制されていることが明らかとなり、K562-ADR 細胞における耐性発現には MDR1 および caspase 3 が深く関わってい

る可能性が示唆された。

また、植物由来成分であるマトリンは K562-ADR 細胞における MDR1 発現を低下させ、caspase 3 を介したアポトーシスを促進させる作用を有していることを明らかとなったことから、TKI との併用による相乗的な抗腫瘍効果を検討したが、明確な影響は認められなかった。

以上の結果から、TKI の体内動態の変動要因として、リファンピシンによる肝薬物代謝酵素の誘導を介した薬物相互作用ならびに高度腎障害による体液貯留が見いだされた。併用薬や腎障害などの合併症を有する患者においては、TKI の血中薬物濃度モニタリングを行うなど、体内動態の変動に留意する必要がある。また、TKI の代表的な副作用である手足症候群の発現因子として保湿外用剤の処方量が見いだされたことから、TKI 処方患者に対する薬学的管理の重要性も示唆された。

#### <引用文献>

- (1) 高根浩他. 薬局, 5: 1794-1797, 2005.
- (2) Baselga J, et al, J Clin Oncol, 20:4292-4302, 2002.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 6 件)

Chen Z, Nishimura N, Okamoto T, Wada K, Naora K. ABCB1-mediated multi-drug resistance in leukemic K562/ADR cells was reversed by Matrine, the main ingredient from Sophora alopecuroides, The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会), October, Kyoto, 2018

西村信弘. 医薬品適正使用における「臨床ファーマコメトリクス」の展開. 第 26 回日本医療薬学会年会, 京都, 9 月, 2016. 星野鉄兵, 西村信弘, 雄亮 森, 中尾美香, 天野芳宏, 堀田尚誠, 木庭尚哉, 濱口愛, 沖本民生, 津端由佳里, 濱口俊一, 須谷顕尚, 栗屋幸一, 磯部威. 結核合併肺癌症例におけるリファンピシンによるゲフィチニブの薬物動態変化を検討した 1 例. 第 66 回日本結核病学会中国四国支部会, 松江, 12 月, 2015.

村上正樹, 北郷真史, 玉木宏樹, 濱口俊一, 津端由佳里, 磯部威, 西村信弘, 直良浩司. ゲフィチニブの血中濃度上昇がみられた血液透析患者の 1 例. 第 54 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 10 月-11 月,

高知, 2015.

江角純, 中村健志, 玉木宏樹, 西村信弘, 直良浩司. マルチキナーゼ阻害薬投与患者における手足症候群の予防に対する外用軟膏剤の処方状況. 第 9 回島根薬剤師学術大会, 11 月, 出雲, 2015.

内田篤史, 松井頌明, 上村智哉, 玉木宏樹, 西村信弘, 直良浩司. スニチニブ投与時における甲状腺機能低下症の発現状況. 第 54 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 10 月-11 月, 高知, 2015.

西村信弘, 磯部威, 直良浩司. Rifampicine の併用により gefitinib の体内動態が劇的に変化した肺結核と非小細胞肺癌を合併した 1 例. 第 63 回日本化学療法学会総会, 6 月, 東京, 2015.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者  
直良 浩司 (NAORA, Kohji)  
島根大学・医学部・教授  
研究者番号: 90243427

(2)研究分担者  
西村 信弘 (NISHIMURA, Nobuhiro)  
島根大学・医学部・准教授  
研究者番号: 30529657

(3)連携研究者  
( )

研究者番号:

(4)研究協力者

玉木 宏樹 (TAMAKI, Hiroki)  
北郷 真史 (HONGO, Masafumi)  
中村 健志 (NAKAMURA, Takeshi)  
石原 慎之 (ISHIHARA, Noriyuki)