

令和 2 年 7 月 10 日現在

機関番号：23701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08416

研究課題名(和文) 肺がん患者の脳転移抑制と副作用軽減によるQOL向上のための戦略的薬物療法の構築

研究課題名(英文) Development of strategic pharmaceutical therapy to improve QOL by suppressing brain metastasis and reducing side effects in lung cancer patients

研究代表者

林 秀樹 (Hayashi, Hideki)

岐阜薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：00419665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：非小細胞肺癌治療薬afatinibは、日本人における有効性や安全性に関する情報や詳細な臨床薬物動態に関しては不明な点が多い。本研究においては、afatinib血漿中濃度と下痢の重症度の間に有意な相関が認められた。また、薬物動態に影響を与える可能性が考えられる遺伝子多型を解析し、ABCG2 C421Aがafatinib血漿中濃度と下痢重症度に影響を与える可能性が示唆された。さらに、癌性髄膜炎患者での体内動態について解析した。Afatinibの髄液移行率が高い患者では、予後も良好であったが、髄液移行率の低い患者においては、予後不良で積極的な薬物治療は断念せざるを得なかった症例が存在した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまで情報の少なかった臨床におけるafatinib血漿中濃度と副作用重症度の関連および薬物動態関連遺伝子多型による副作用への影響を解析した。また、これまでにほとんど報告が無かった癌性髄膜炎併発症例でのafatinibの中枢移行動態を解析した。今後はさらに症例数を蓄積していくことでより明確なエビデンスが構築され、非小細胞肺癌における分子標的治療薬の個別化薬物療法の実現が可能になるものと期待でき、患者のQOLの向上と副作用を回避して薬物治療を継続することによる生存期間の延長も期待できる。

研究成果の概要(英文)：A detailed information of afatinib, a non-small cell lung cancer drug, on its efficacy, safety and clinical pharmacokinetics in Japanese patients has not been revealed. In this study, a significant correlation was found between afatinib plasma levels and diarrhea severity. In addition, we analyzed genetic polymorphisms that might affect pharmacokinetics, and suggested that ABCG2 C421A might affect afatinib plasma levels and diarrhea severity. Furthermore, we analyzed the pharmacokinetics in patients with carcinomatous meningitis. The prognosis was good in patients with high rates of afatinib transfer into the cerebrospinal fluid. However, in patients with low cerebrospinal fluid transfer rate, prognosis was poor and active drug treatment had to be abandoned.

研究分野：臨床薬理学

キーワード：afatinib 臨床薬物動態 遺伝子多型

## 1. 研究開始当初の背景

肺がんは、悪性腫瘍の中では男性の死因の第 1 位であり、一般的に肺がん患者の生存率は他のがんと比較して低いことが知られている。肺がんの 8 割以上を占める NSCLC の化学療法では、従来はプラチナ注射製剤が主流であったが、近年、がん細胞の増殖に關与する EGFR をコードする EGFR 遺伝子の変異陽性かつ手術不能または再発の NSCLC に対して EGFR-TKIs を選択的に阻害するゲフィチニブ、エルロチニブが臨床使用されるようになり、再発・進行性 NSCLC における生存期間の大幅な延長が期待できるようになった。また、第 2 世代の EGFR-TKIs であるアファチニブによる一次治療は、臨床試験(LUX-Lung 3 試験、LUX-Lung 6 試験)において、標準的なシスプラチンベースの化学療法に比べて、全生存期間を 1 年以上延長するなど高い奏効率を示すことが報告されており、2014 年には日本を含む各国でアファチニブの製造販売が承認され、NSCLC 患者の生存期間の飛躍的な向上が期待されている。

しかし、これらの EGFR-TKIs では、皮膚の EGFR チロシンキナーゼ阻害に起因する皮膚障害が高頻度で発生し患者の QOL を低下させている。また、重篤な下痢によって投与が中断される例も多く存在する。さらに、ゲフィチニブでは間質性肺炎による死亡例が大きな社会問題にまで発展した。これらの有害反応をうまくコントロールできないことで休薬を余儀なくされ、生存期間の延長が制限されることも危惧されている。しかし、一方では皮膚障害の発生する患者では抗がん作用も期待できるとの報告も存在する。これら NSCLC における経口 EGFR-TKIs 治療においては、有害反応による休薬を最小限に抑えることが、生存期間の延長につながり、患者の QOL を考える上でも、有害反応のコントロールが最大の課題であった。

一方で、肺がんは悪性腫瘍の中でも脳転移を来す頻度が高いことが知られており、脳転移は様々な神経症状を来し患者の QOL を大きく低下させ、生命予後にも重大な影響を与える。EGFR-TKIs による化学療法を受けている患者においても、一部の患者では脳転移を来すが、脳転移を来した患者に使われていた抗がん剤投与量や血漿中薬物濃度、脳脊髄液中薬物濃度についての報告は殆どないのが現状である。一般的に、中枢への薬物移行は血液脳関門や血液脳脊髄液関門により制限されており、EGFR-TKIs の脳移行性についての検討は少なく、脳移行性について EGFR-TKIs を比較した報告も殆どない。脳転移の発症を抑え、また、脳転移の患者に対する化学療法を効果的に実施するためには、EGFR-TKIs の脳移行特性についての詳細な情報が必要であった。

患者毎の投与量の調節などで体内動態をコントロールし、下痢や爪囲炎などの有害反応や頻発する脳転移を防ぐことができれば、患者の QOL の維持・改善が期待でき、さらなる生存期間の延長も期待できる。しかし、NSCLC における経口 EGFR-TKIs の体内動態と薬効および有害反応の関係を調査した報告は少なく、特にアファチニブに関しては、バリデートされた血中濃度測定法の報告すら無かったのが現状であった。

肺がん以外に用いられている経口分子標的薬については、慢性骨髄性白血病治療薬であるイマチニブや腎細胞がん治療薬であるスニチニブでは、血中濃度と薬効との関連が報告されており、さらにそれらの血中濃度に薬物代謝酵素やトランスポーターの遺伝子多型が影響することが示唆されている。NSCLC に用いられる経口 EGFR-TKIs に関しても、ゲフィチニブとエルロチニブに関しては、血中濃度と代謝酵素の遺伝子多型の関係が示唆されているが日本人患者についての情報は少なく、アファチニブについては全く報告されていなかった。

## 2 . 研究の目的

非小細胞肺癌 (NSCLC) は、肺癌の病型の一つである。上皮成長因子受容体 (*EGFR*) 遺伝子変異陽性の有無が NSCLC の薬物療法に大きな影響を及ぼすことが知られており、*EGFR* チロシンキナーゼ阻害剤(*EGFR*-TKIs)が使用される<sup>1)</sup>。*Afatinib* は非可逆的な *EGFR*-TKI であり治療効果が高く *EGFR* 変異(deletion 19)患者で全生存期間の延長が認められている<sup>2)</sup>。しかし、*afatinib* は、日本人における有効性や安全性に関する情報が乏しく、詳細な臨床薬物動態に関しては不明な点が多い。特に、副作用に関しては、日本人では下痢が必発であり、皮膚障害も高い頻度で出現する。また、*afatinib* の体内動態には ABC トランスポーターや代謝酵素として *FMO3* などが関わっているが、これらの遺伝子多型が *afatinib* の薬物動態や副作用の発現に与える影響については報告されていない。

また、肺癌は脳転移を来す頻度が高く、脳転移は患者の QOL を大きく低下させ、生命予後にも重大な影響を与える<sup>3)</sup>。一般的に、中枢への薬物移行は血液脳関門や血液脳脊髄液関門により制限されているが、*EGFR*-TKIs の脳移行性についての報告は殆どない。

本研究では、*afatinib* 投与患者における薬物体内動態を解析し、*afatinib* 血漿中濃度と副作用重症度および動態関連遺伝子多型を解析することで、個別化薬物療法のためのエビデンス構築を目的とした。さらに、中枢への転移を認める患者の脳脊髄液中の薬物濃度を測定することで薬剤の脳移行性と治療効果について検討を行った。

## 3 . 研究の方法

岐阜大学医学部附属病院において *afatinib* が経口投与される非小細胞肺癌患者を研究対象とした。また、草津総合病院および松山赤十字病院において癌性髄膜炎を併発した患者を症例検討の対象とした。本研究を実施するにあたり、「ヘルシンキ宣言」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、岐阜薬科大学および関連施設の各倫理委員会の承認のもと実施した。対象患者には研究の目的や方法を説明し文書による同意を得た。

*Afatinib* 投与開始 9 日目 (投与初期) の投与直前に静脈血 7 mL を採取した。採取した血液検体は、直ちに匿名化を行った。カルテより患者背景、治療経過、*afatinib* 処方量、副作用重症度、臨床経過を調査した。また、癌性髄膜炎を発症した患者については、脳脊髄液を併せて採取した。血漿中薬物濃度および脳脊髄液中薬物濃度は、我々の報告した方法<sup>4)</sup> に準じて高速液体クロマトグラフ質量分析計を用いて測定した。全血から抽出したゲノム DNA を用いて、allele specific PCR 法または PCR-RFLP 法により *ABCB1* C1236T、C3435T、*ABCG2* G34A、C421A、*FMO3* G15167A の遺伝子多型を解析した。

## 4 . 研究成果

岐阜大学医学部附属病院において同意の得られた日本人患者は 33 名であった。投与初期の afatinib 血漿中濃度と下痢最悪グレードの関連について検討したところ、投与初期の afatinib 血漿中濃度と下痢最悪グレードとの間で正の相関が認められた(図 1)。

Afatinib 血漿中濃度と 3 つの遺伝子における 5 ケ所の SNPs との関連を調査した結果、*ABCG2* C421A の A アレルを持つ患者では持たない患者に比べて afatinib 血漿中濃度が有意に高かった。*ABCG2* C421A 以外の SNPs では、変異アレルの有無と

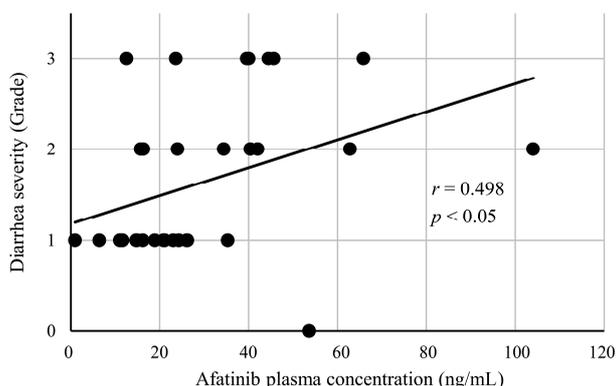


図 1: 投与初期での afatinib 血漿中濃度と下痢重症度の関係

afatinib 血漿中濃度との間で有意な関連は認められなかった。

また、5 ケ所の SNPs について変異アレルの合計数が増えるにつれて、afatinib を標準投与量で継続できる割合が減少し(図 2a)、下痢の発生率が上昇した(図 2b)。

癌性髄膜炎を併発した患者における 2 症例(症例 1, 2)について、患者情報を表 1 に示した。また、afatinib 血漿中濃度および髄液中濃度と予後について表 2 に示した。症例 1 では症例 2 と比較して髄液中濃度および髄液移行率が高く、良好な治療効果も認められた。

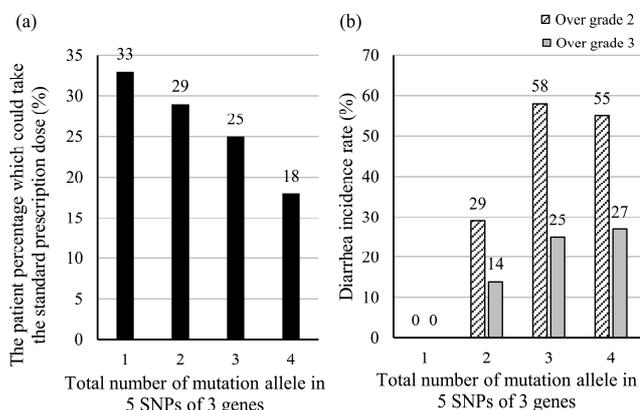


図 2: 5 つの SNPs における変異アレルの合計数と標準投与量で継続できた患者の割合(a)および下痢の発生率(b)

Afatinib を服用する多くの患者で下痢などの副作用による投与量の減量が余儀なくされている。投与初期より患者毎に投与量を調整して副作用をコントロールできれば、患者の QOL の改善のみならず、投与可能期間の延長により生命予後の更なる改善も期待できる。そのためには、afatinib による副作用発現の個人差の原因を解明することが重要である。本研究では、afatinib 体内動態と下痢重症度について解析したところ、投与初期の afatinib 血漿中濃度と下痢の重症度の間に関連が認められた。

Afatinib は、ABC トランスポーターである ABCB1 や ABCG2 の基質である。また、CYP は代謝にほとんど関与せず、一部が FMO3 により代謝されることが報告されている。本

表 1: 癌性髄膜炎患者における afatinib 投与と症例

年齢 性別	診断	Afatinib 開始量	PS	EGFR 遺伝子 変異
症 例 1 41 歳 女性	肺腺癌 cT1aN3M1b Stage IV	30mg	4	Exon 21 L858R
症 例 2 50 代 女性	NR	40 mg	NR	Exon 18 G719A

PS: performance status, NR: data not reported

研究では、薬物動態、薬効および副作用に影響を与える可能性が考えられるこれらのタンパク質の遺伝子多型を解析した。その結果、*ABCG2* C421A が、afatinib 血漿中濃度と下痢重症度に影響を与える可能性が示唆された。*ABCG2* は、肝臓や腎臓、小腸等に発現し薬剤の排出に関わっている。*ABCG2* C421A において A アレル保持者では、*ABCG2* の発現量が低下するとの報告がある<sup>5)</sup>。したがって、本研究では A アレル保持患者は *ABCG2* の発現低下による afatinib の排泄遅延が生じたことで、血漿中濃度が上昇し、下痢が重症化していることが考えられる。また、*FMO3* G15167A の遺伝子型では *FMO3* の酵素活性の低下が報告されており<sup>6)</sup>、*ABCG2* G34A の変型は gefitinib に関して下痢や皮疹が重症化しやすいことが報告されている<sup>7)</sup>。これらの遺伝子多型による影響を詳細に検討するためには、更なる症例数が必要と考えられる。

また、肺癌は脳への転移が多くの患者で認められ、脳転移は患者の QOL を著しく低下させる。Afatinib の中枢移行動態を解析した報告は少なく、本研究では、癌性髄膜炎を発症した 2 症例について報告した。Afatinib の髄液移行率が高い患者では、予後も良好であったが、髄液移行率の低い患者においては、予後不良で積極的な薬物治療は断念せざるを得なかった。中枢移行率の個人差の原因解明には更なる研究が必要と考えられる。

本研究では、臨床における afatinib 血漿中濃度と副作用重症度および薬物動態関連遺伝子多型による影響を解析した。また、これまでにほとんど報告が無かった癌性髄膜炎併発での afatinib 体内動態に関して症例を報告した。今後はさらに症例数を増やしていくことでより明確なエビデンスが構築され、非小細胞肺癌における分子標的治療薬の個別化薬物療法の実現が可能になるものと期待できる。

## 引用文献

- 1) Sebastian M, Schmittl A, Reck M. *Eur. Respir. Rev.* 2014; 23: 92-105.
- 2) Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. *Lancet Oncol.* 2015; 16: 141-151.
- 3) Hsu F, De Caluwe A, Anderson D et al. *Lung Cancer* 2016; 96: 101-107
- 4) Hayashi H, Kita Y, Iihara H, et al. *Biomed. Chromatogr.* 2016; 30: 1150-1154.
- 5) Kobayashi D, Ieiri I, Hirota T, et al. *Drug Metab. Dispos.* 2005; 33: 94-101.
- 6) Zhou LP, Tan ZR, Chen H, et al. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2014; 70: 1333-1338.
- 7) Tamura M, Kondo M, Horio M, et al. *Nagoya J Med Sci.* 2012; 74: 133-140.

表 2: 癌性髄膜炎患者における afatinib 髄液移行と予後

	血漿中 濃度 (ng/mL)	髄液中 濃度 (ng/mL)	移 行 率 (%)	予後
症 例 1	33.7	0.14	0.40	PS 4 から 0 に改善。無増悪生存期間 7 カ月。
症 例 2	29.4	0.05	0.16	3 か月後に PD と判断、他剤へ切替え、3 週間で PS 悪化。BSC の方針へ。

PS: performance status, PD: progressive disease,

BSC: best supportive care

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hayashi Hideki, Iihara Hirotoishi, Hirose Chiemi, Fukuda Yoshihisa, Kitahora Mika, Kaito Daizo, Yanase Komei, Endo Junki, Ohno Yasushi, Suzuki Akio, Sugiyama Tadashi	4. 巻 134
2. 論文標題 Effects of pharmacokinetics-related genetic polymorphisms on the side effect profile of afatinib in patients with non-small cell lung cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.05.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 福田純久、林 秀樹、飯原大稔、水崎直樹、廣瀬智恵美、柳瀬恒明、大野 康、伊藤善規、杉山 正、小原道子
2. 発表標題 非小細胞肺癌患者におけるEGFRチロシンキナーゼ阻害薬の血漿中濃度と動態関連遺伝子多型が副作用重症度に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshihisa Fukuda, Hideki Hayashi, Hirotoishi Iihara, Naoki Mizusaki, Chiemi Hirose, Komei Yanase, Yasushi Ohno, Yoshinori Itoh, Tadashi Sugiyama, Michiko Obara
2. 発表標題 Effect of Afatinib plasma levels and pharmacokinetics-related genetic polymorphisms on the degree of side effects in patients with non-small cell lung cancer
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Gomyo T, Iihara H, Hayashi H, Endo J, Ito K, Yanase K, Kaito D, Sasaki Y, Fukuda Y, Hirose C, Sugiyama T, Suzuki A, Ohno Y
2. 発表標題 Relationship between severity of adverse events of afatinib and its pharmacokinetics and pharmacogenomics for EGFR mutation-positive non-small cell lung cancer.
3. 学会等名 American Thoracic Society 2019 International Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林秀樹、飯原大稔、廣瀬智恵美、福田純久、上森将吾、北洞美佳、垣内大蔵、柳瀬恒明、遠渡純輝、大野康、鈴木昭夫、杉山正
2. 発表標題 Effects of Pharmacokinetics-related Genetic Polymorphisms on the Efficacy and the Side Effect Profile of Afatinib in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	杉山 正  (Sugiyama Tadashi)  (30453054)	岐阜薬科大学・薬学部・教授    (23701)	
研究分担者	轟木 堅一郎  (Todoroki Kenichiro)  (70341451)	静岡県立大学・薬学部・教授    (23803)	
研究協力者	大野 康  (Ohno Yasushi)	岐阜大学・医学部附属病院呼吸器内科・准教授    (13701)	
研究協力者	飯原 大稔  (Iihara Hirotooshi)	岐阜大学・医学部附属病院薬剤部・薬剤主任    (13701)	