

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：35413

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16064

研究課題名（和文）エピルビシンとホスアプレピタントの併用による血管障害の機構解明と回避方法の探索

研究課題名（英文）Study on the method to avoid vascular toxicity of epirubicin and fosaprepitant using cultured endothelial cells in vitro

研究代表者

小田 啓祐 (Oda, Keisuke)

広島国際大学・薬学部・講師

研究者番号：60712594

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：乳がんの治療で使用されるエピルビシン（EPI）とNK1受容体遮断薬のホスアプレピタント（FAP）を併用すると、臨床において重篤な静脈炎が発生する。この相互作用をin vitro血管内皮細胞で検討すると、EPIによる細胞障害は、FAP共存時のみ増強され、共存を回避する手法は血管障害の回避に有用であることが示された。また、スタチン系薬剤であるロバスタチンは、活性酸素種依存性のアポトーシスを抑制することでEPIとFAPの併用時の血管毒性を軽減できることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学療法が誘発する悪心・嘔吐は、患者のquality of life (QOL) を低下させる要因であり、避けることが望ましい副作用である。ホスアプレピタントは化学療法時に1回の静脈内投与でアプレピタントと同様の嘔気抑制効果を示すことから、経口投与することができない患者やアドヒアランスの不良な症例に対して優れていると考えられているが、抗がん剤と併用した際には血管障害のリスクが顕著に増大する。ホスアプレピタントによる血管障害に着目し、そのリスクファクターと回避方法について検討し、今回の結果が示すような予防方法を提唱することは効果的かつ安全な化学療法の遂行に貢献できるものと考えている。

研究成果の概要（英文）：The combination of intravenous Proemend containing fosaprepitant meglumine, a prodrug for aprepitant (FAP), and Tween 80 and chemotherapy with anthracyclines, such as epirubicin (EPI), can cause infusion-site adverse events in clinical practice. In immortalized human umbilical vein endothelial (HUEHT-1) cells, the cytotoxic effects of FAP, EPI, diluted Proemend with culture medium and Tween 80 alone, and a combination of FAP and EPI, were evaluated. FAP, EPI and diluted Proemend exhibited cytotoxicity in a concentration-dependent manner and marked synergic cytotoxicity was observed between FAP and EPI. The washing of the cell surface following incubation with diluted Proemend containing FAP and Tween-80 eliminated the synergic cytotoxicity of EPI applied thereafter. In addition, lovastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, remarkably reduce the cytotoxicity of EPI combined use of FAP by suppressing the production of reactive oxygen species (ROS).

研究分野：薬物動態学

キーワード：血管障害 アンスラサイクリン系抗がん剤 ホスアプレピタント 活性酸素種 ロバスタチン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

抗がん剤を用いた化学療法は、用いる抗がん剤の種類によって発生する副作用は異なるものの、嘔気、脱毛、白血球減少などが一般的に起こりうる。中でも、ドキシソルピシンやエピルピシンなどのアンスラサイクリン系薬剤は悪心・嘔吐の副作用発生確率が高く、乳がんに対する FEC (フルオロウラシル、エピルピシン、シクロホスファミド)療法や EC 療法には制吐薬として選択的 NK1 受容体拮抗薬を使用することが推奨されている。ホスアプレピタントは NK1 受容体拮抗薬であるアプレピタントの水溶性を向上させたリン酸化プロドラッグであり、点滴静注により投与される。ホスアプレピタントは、静脈内投与 1 回でアプレピタントを 3 日間経口投与した時と同様の嘔気抑制効果を示すことから、経口投与することができない患者や、アドヒアランスの不良な症例に対して優れていると考えられている。この利便性により、アプレピタントの経口投与はホスアプレピタントの静脈内投与に切り替えられてきている。

しかし、申請者と共同研究を行っている独立行政法人 労働者健康安全機構 中国労災病院において、FEC 療法を施行中の患者の NK1 受容体拮抗薬をアプレピタントからホスアプレピタントに変更したところ、重篤な静脈炎が頻発した。また、他の病院においても同様の報告がなされている (Sato Y et al., J Cancer. 2014;5:390-397, Tsuda T et al., Mol Clin Oncol. 2016;4:603-606)。従って、エピルピシンとホスアプレピタント併用による相互作用が疑われるが、この原因については明らかにされていないため、副作用の回避は対処的となっている。

重篤な静脈炎は、抗がん剤による治療の中断につながる可能性があるため、回避することが必須な副作用である。そのため、エピルピシンとホスアプレピタントの相互作用メカニズムを明らかにし、その回避方法を提唱することは、効果的かつ安全な化学療法を遂行するために重要な課題であると言える。

## 2. 研究の目的

これまでの研究で、ラットを用いてエピルピシンとホスアプレピタントの併用による静脈炎の発生を再現し、投与血管組織においてエピルピシンの細胞内蓄積がホスアプレピタントによって上昇することを見出した (Yamasaki M, Oda K et al., Mol Clin Oncol. 2019;11:43-49)。この結果に加え、今回は *in vitro* 血管内皮細胞を用いて細胞毒性増強を引き起こしているメカニズムを評価する。ホスアプレピタント製剤に含まれている添加剤にも着目し、エピルピシンなどのアンスラサイクリン系抗がん剤との併用により血管毒性を増強している原因物質を特定し、その原因物質によるアンスラサイクリン系抗がん剤の毒性増強を回避する方法を探索する。

この副作用の回避方法を提言できれば、安全に嘔気抑制を達成しながら抗がん剤治療を遂行することができる。さらに、他の抗がん剤とホスアプレピタント製剤を組み合わせる用いた時の静脈炎発生を予測することができるため、予め副作用を回避した抗がん剤化学療法を提案できるものと考ええる。

## 3. 研究の方法

*In vitro* 初代培養ヒト臍帯静脈内皮細胞 HUVEC 由来不死化細胞株 HUEhT-1 を用いてアンスラサイクリン系抗がん剤であるエピルピシンおよびドキシソルピシンの細胞毒性を WST-1 法および LDH 活性測定により評価する。さらに、ホスアプレピタント製剤に含まれる可能性のある物質であるホスアプレピタント、アプレピタント、ポリソルベート 80 をエピルピシンまたはドキシソルピシンと同時に処置し、エピルピシンまたはドキシソルピシンの細胞毒性を増強させる成分を同定する。

また、エピルピシンおよびドキシソルピシンの血管内皮細胞への取り込み実験を行う。その際、ホスアプレピタント、アプレピタント、ポリソルベート 80 を濃度を変化させて共存させ、エピルピシンの取り込みに及ぼす影響を検討する。また、この相互作用が可逆的であるか否かについて検討するため、ホスアプレピタント製剤の成分とアンスラサイクリン系抗がん剤を別のタイミングで処置する検討も行う。

フローサイトメトリーを用いてドキシソルピシンとホスアプレピタントを共存させた時の毒性メカニズムを明らかにする。さらに、活性酸素種を除去することが知られている N-アセチルシステインや、カスパーゼの阻害剤である Z-VAD-FMK による影響を検討し、細胞毒性増強メカニズムを探索する。

#### 4. 研究成果

エピルビシンおよびドキソルビシンによる毒性は添加剤であるポリソルベート 80 や活性本体であるアプレピタントでは増強されず、ホスアプレピタントによってのみ増強されたため、ホスアプレピタント製剤との併用によるアンスラサイクリン系抗がん剤の毒性増強は、ホスアプレピタント自体によるものであることが示された。また、ホスアプレピタントを共存させることにより、エピルビシンおよびドキソルビシンの血管内皮細胞内蓄積を有意に上昇させたため、血管内皮細胞への抗がん剤の蓄積上昇が、毒性増強と関連しているものと考えられた。さらに、これらの相互作用が細胞にホスアプレピタントの処置後、wash out してアンスラサイクリンを添加したときには起こらなかったことから、ホスアプレピタントとの物理化学的な interaction によりアンスラサイクリンの細胞内蓄積および毒性の増強が引き起こされていると考えている。

また、ドキソルビシンとホスアプレピタントによる血管毒性増強メカニズムをフローサイトメトリーにより評価したところ、ホスアプレピタントにより増強されたドキソルビシンによる細胞毒性は、抗酸化剤である N - アセチルシステインやカスパーゼ阻害剤である Z - VAD - FMK 処置によりほぼ完全に抑制されたことから、活性酸素種およびカスパーゼ依存性のアポトーシスであると考えられ、活性酸素種を除去することができるスタチン系薬剤であるロバスタチンにより、ホスアプレピタントにより増強された血管障害を減弱させることが示された。一方で、がん細胞である HepG2 細胞に対して同様の検討を行うと、血管内視鏡である HUEhT-1 細胞の場合とは異なり、ロバスタチンはドキソルビシンによる細胞毒性を顕著に増強することが示され、ロバスタチンは血管障害を減弱しつつその抗がん活性は担保することが示された。

従って、ホスアプレピタントを併用する際には、アンスラサイクリン系抗がん剤と投与する間隔を確保することや、ロバスタチンなどの活性酸素種を除去する薬剤を併用することが有用であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小田啓祐
2. 発表標題 ホスアプレピタントとアントラサイクリン系抗がん剤の併用による静脈炎発生メカニズムの解析
3. 学会等名 日本薬学会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------