

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460205

研究課題名(和文)腎障害患者での肝消失型抗がん薬の排泄遅延と蛋白結合率低下の機構解明と投与設計

研究課題名(英文) Mechanisms of delayed elimination and decreased plasma protein binding of anticancer drugs which are mainly eliminated via the liver in cancer patients with severe renal failure

研究代表者

藤田 健一 (Fujita, Ken-ichi)

昭和大学・腫瘍分子生物学研究所・教授

研究者番号：60281820

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)：透析がん患者における遊離形SN-38の血漿中濃度-時間曲線下面積(AUC_u)は健常腎患者の4.38倍にも上昇した。AUC_uの上昇は好中球減少の遷延の一因であり、1) SN-38の肝取り込みクリアランスの低下、および2) 尿毒素によるSN-38の蛋白結合阻害を介した遊離形分率の上昇に起因すると考えられた。PBPKモデル解析により、腎機能低下患者におけるSN-38の肝取り込みクリアランスは健常腎患者と比較して約1/3に減少することを検証し、さらに健常腎の患者と同程度のSN-38の遊離形血漿中濃度プロファイルを得るには、イリノテカン塩酸塩の投与量を約1/3に減量する必要があると推算した。

研究成果の概要(英文)：The area under the plasma unbound concentration-time curve (AUC_u) of SN-38 in patients with severe renal failure was 4.38-fold higher than that in normal kidney patients. This might be a cause of prolonged neutropenia observed in these patients. Decreased hepatic uptake clearance of SN-38 and the higher unbound fraction of SN-38, partly because of the inhibition of SN-38 protein binding by uremic toxins might be causes for the high AUC_u of SN-38 in such patients. PBPK modeling indicated substantially reduced influx of SN-38 into hepatocytes and approximately one-third irinotecan dose for patients with severe renal failure to produce an unbound concentration profile of SN-38 similar to normal kidney patients.

研究分野：臨床薬理学，薬物動態学，薬理遺伝学

キーワード：腎機能障害 肝消失型抗がん薬 イリノテカン 薬物動態 SN-38 蛋白結合 PBPKモデル 投与設計

1. 研究開始当初の背景

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.しかしながら,これらの患者におけるイリノテカン塩酸塩の薬物動態や薬物有害反応に関するデータは殆ど存在しなかった.

著者らは,前向きな臨床試験を実施し(引用文献),腎透析を施行中の3名のがん患者におけるSN-38の消失速度定数は,5名の正常な腎機能の患者の消失速度定数と比較して1/10と極めて低いことを世界に先駆けて見いだした(P=0.025).腎機能低下患者においては,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の排泄遅延が一因と考えられた.

著者らは続いて,透析がん患者におけるSN-38の排泄遅延のメカニズム解明に取り組んだ(基盤研究(C),H23-25代表藤田健一)(引用文献).透析患者においては,SN-38の排泄は遅延したが,イリノテカンとSN-38Gの薬物動態は健常腎の患者と同等であったことから,循環血中のSN-38の肝細胞への取り込みが何らかの理由により低下したためにSN-38の排泄が遅延した可能性を考えた.研究の結果,(1).ヒト肝細胞のOATP1B1およびOATP1B3によるSN-38の取り込みは,臨床にて認められた濃度の有機アニオン系の尿毒素,3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate(CMPF),馬尿酸,インドキシル硫酸およ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から調製した血漿に暴露した場合に,OATP1B1およびOATP1B3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.腎機能低下がん患者において認められたSN-38の排泄の遅延は,少なくとも部分的にはこれらの機構により惹起されたと考えられた.しかしながら,現状ではSN-38の肝取り込みに対する尿毒素による阻害については,4つの代表的な尿毒素を用いた検討しか行っていない.また,尿毒素はOATP1B1やOATP1B3の活性を可逆的に阻害するのみならず,不可逆的に阻害する可能性もある,すなわち,SN-38の肝取り込みに対する尿毒素による阻害のメカニズムについて,その全体像は未だ明らかとなっていない.

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与する.SN-38は血中において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.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型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に,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.

これらの知見を統合し,腎機能が低下したがん患者におけるSN-38の体内動態を表すことのできる生理学的薬物速度モデル(PBPKモデル)が構築できれば,イリノテカン塩酸塩の投与設計に反映することが可能である.

2. 研究の目的

本申請研究では,SN-38排泄遅延と蛋白質結合率低下のメカニズムの全体像を解明することを目的とする.さらに,メカニズムに根ざした適切なイリノテカンの投与法を構築するとともに,その妥当性を臨床研究にて検証する.他の肝消失型,高蛋白結合型抗がん薬の薬物体内動態や毒性に対する腎機能の影響も臨床研究にて検討し,SN-38にて見いだされたコンセプトの一般化を図り,これらの抗がん薬の安全使用に対して,メカニズムに根ざした道筋をつける.

3. 研究の方法

(1) インドキシル硫酸と関連する物質によるOATP1B1の阻害の検討

尿毒素の中には,インドール環を有する化合物が複数存在し,そのうちインドキシル硫酸はOATP1B1を阻害した.そこで,インドキシル硫酸の前駆体であるインドールと,その代謝物群に着目し,OATP1B1を阻害するインドール関連化合物を探索した.

ヒトOATP1B1安定発現細胞株(HEK293/OATP1B1)を用いた.腎障害患者肝細胞は,長期にわたって尿毒素に暴露されることを考慮し,Pre-incubation時のみ,Incubation時のみ,または両方にインドールとその代謝物を添加した際のエストロン-3-硫酸($[^3\text{H}]E_3S$)の取り込み活性を評価した.

(2) 遊離形SN-38の血漿中濃度の検討

限外濾過法によりイリノテカン塩酸塩を投与したがん患者の血漿を処理した.HPLCを用いてSN-38の総血漿中濃度および遊離形血

漿中濃度を測定し、蛋白結合率を算出した。算出した蛋白結合率(遊離形分率)を用いて、遊離形 SN-38 の血漿中濃度-時間曲線下面積(AUC₀)を算出した。

(3) 様々な腎機能の被験者の血漿を用いた ex vivo 試験による、SN-38 の蛋白結合率と腎機能の関係の検討

推算糸球体濾過量(eGFR)が 15 mL/min 未満、15-30mL/min、30-60 mL/min、または >60 mL/min の被験者 10 名ずつより血漿検体を採取した。各血漿に SN-38 を添加した後に限外濾過を行った。HPLC を用いて SN-38 の総血漿中濃度、および遊離形血漿中濃度を測定し、蛋白結合率を調べ、腎機能との関係を検討した。

(4) 尿毒素による SN-38 の蛋白結合置換の検討

血漿中蛋白に対して高い親和性を示すことが知られている 22 の尿毒素について、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。健常腎の被験者より調製した血漿を購入して用いた。アルブミンにおける SN-38 の結合サイトを、各結合サイトに強く結合することが知られている典型的な化合物を用いて検討した。

(5) イリノテカン、および SN-38 の PBPK モデルの構築

血液、肝の細胞外液および肝細胞の 3 つのコンパートメントにおけるイリノテカンおよび SN-38 の物質収支式を立て、PBPK モデルを構築した。構築したモデルを用いて、腎機能低下患者にける特異な SN-38 の体内動態のメカニズムについて検証し、さらにこれらの患者において薬物動態的に適正と考えられるイリノテカン塩酸塩の投与量を算出した。

4. 研究成果

(1) インドキシル硫酸と関連する物質による OATP1B1 の阻害の検討

6- 水酸化インドール(6I)が、HEK293/OATP1B1 への³H]E₃S の取り込みを、濃度依存的かつ Pre-incubation 時間依存的に阻害し、6I は OATP1B1 を直接および Long-lasting に阻害することがわかった。IC₅₀ を比較すると、OATP1B1 への直接阻害はインドキシル硫酸よりも 6I の方が 100 倍以上強かった。6I の Pre-incubation による阻害は 3h 程度で回復し、Long-lasting 阻害は

可逆的であると考えられた。マウスおよびヒトの初代培養肝細胞で 6I による阻害を評価したところ、³H]E₃S の取り込みに対する直接阻害が観察された。さらに、マウスでは有意差がなかった一方、ヒトでは Pre-incubation 時の阻害も生じた。6I は、ヒト肝においても OATP1B1 を阻害することが示唆された。さらに 6I はヒト慢性腎障害時に血漿中濃度が上昇することも見出した。以上、生体内に存在する 6I は、肝膜輸送体 OATP1B1 を直接および Long-lasting に阻害することを解明した。

(2) 遊離形 SN-38 の血漿中濃度の検討

透析がん患者における SN-38 の遊離形分率は 0.0230 ± 0.00600 [平均 ± 標準偏差] であり、健常腎の患者(0.00887 ± 0.00456)と比較して 2.59 倍高かった(P=0.0339)。透析がん患者における総濃度ベースの SN-38 の AUC は 1.31 ± 0.632 μM・h であり、健常腎患者の(0.772 ± 0.480 μM・h)の 1.7 倍であった(P=0.297)。一方、腎機能障害患者の AUC₀(0.0301 ± 0.0145 μM・h)は、健常者(0.00687 ± 0.00427 μM・h)と比較して 4.38 倍にも上昇することを(P=0.0253)、初めて見いだした。腎機能低下患者における好中球減少の遷延は、AUC₀の顕著な増加が一因であると考えられた。

(3) 様々な腎機能の被験者の血漿を用いた ex vivo 試験による、SN-38 の蛋白結合率と腎機能の関係の検討

腎機能の低下したがん患者における SN-38 の遊離形分率が、健常腎の患者と比較して有意に高かったとの現象を検証するために、様々な eGFR を示す患者から得た血漿を用いて、腎機能と SN-38 の遊離形分率の関係を調べた。

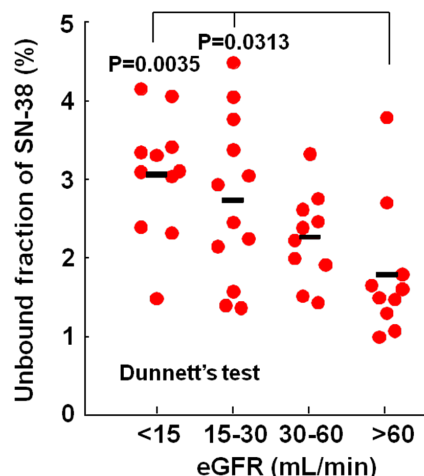


図 1. eGFR と SN-38 遊離形分率の関係

図 1 に示すように、eGFR が 15 mL/min 未満の患者、および 15-30mL/min の患者における SN-38 の遊離形分率は、>60 mL/min の被験者と比較して有意に高かった。また、eGFR と SN-38 の遊離形分率には負の有意な相関が認められた (Spearman's rank correlation coefficient -0.5207 , $P=0.0003$)。これらの結果はイリノテカン塩酸塩を投与したがん患者における SN-38 遊離形分率の結果と一致するものである。

(4) 尿毒素による SN-38 の蛋白結合置換の検討

著者らは、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た。臨床的に認められる濃度の 22 の尿毒素について、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 (300 μ M)、インドキシル硫酸 (1 mM)、および馬尿酸 (3 mM) が有意に SN-38 の蛋白結合を阻害することを見いだした。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。SN-38 のアルブミンへの結合は、サイト 1 に結合する物質を同時に添加することにより阻害された (図 2)。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、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。

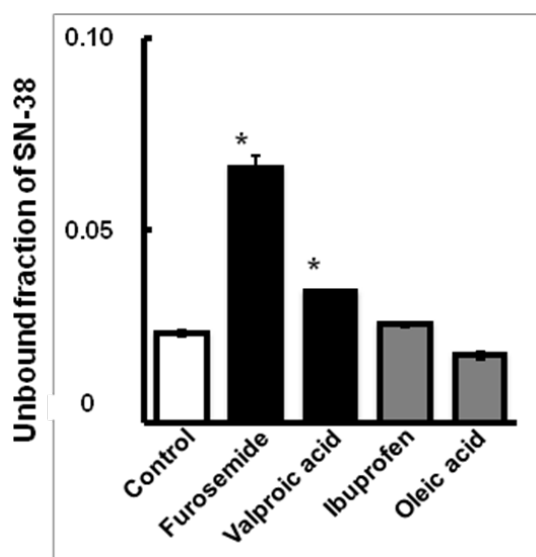


図 2 . SN-38 のアルブミン上の結合サイト

さらに、様々な eGFR を示す患者から得た血漿を用いて CMPF の血漿中濃度と SN-38 の遊離形分率が有意に相関することを見いだした。

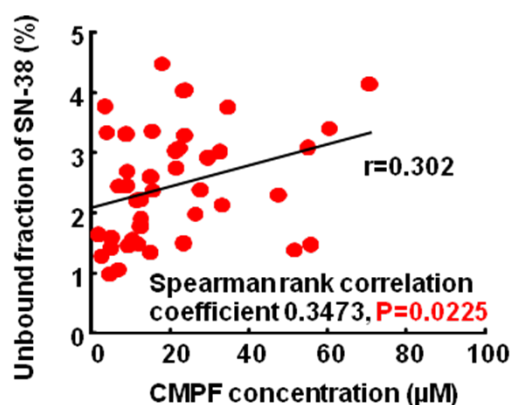


図 3 . CMPF の血漿中濃度と SN-38 の遊離形分率

(5) イリノテカン、および SN-38 の PBPK モデルの構築

図 4 に示すコンパートメントと物質の輸送を考慮して、イリノテカンと SN-38 の PBPK モデルを構築した。

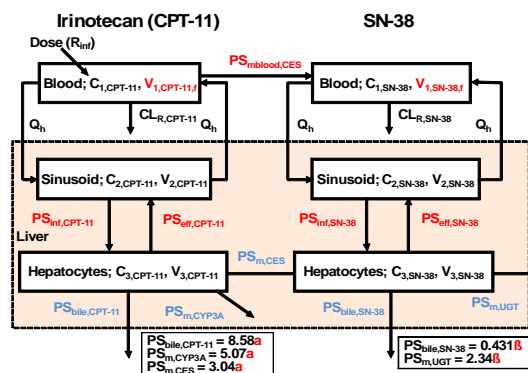


図 4 . イリノテカンと SN-38 の PBPK モデル

イリノテカンと SN-38 の血漿中濃度に対する PBPK モデルのパラメータフィッティングにより、今回の研究で見いだした腎機能低下がん患者における SN-38 の蛋白結合率の低下と、著者らが既に見いだしたこれらの患者における OATP1B1 や OATP1B3 による SN-38 の肝細胞への取り込みの低下 (引用文献) 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 5)。腎機能低下患者において、遊離形血漿中濃度の方が総血漿中濃度よりも顕著に増加した理由として、 AUC_0 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る(図 6) .

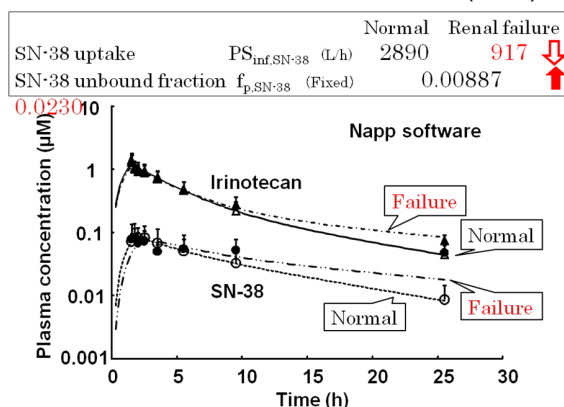


図 5 . イリノテカンと SN-38 の血漿中濃度に対する PBPK モデルのパラメータフィッティング

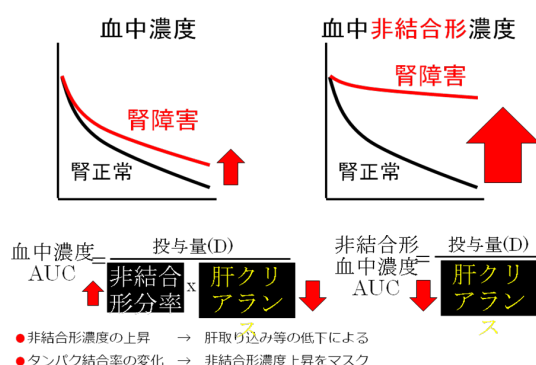


図 6 . 腎機能障害時における SN-38 の総血漿中濃度と遊離形血漿中濃度推移に関する考察

腎機能低下患者の SN-38 の体内動態を、健常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よ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上で有益であると考えられる。

現在、他の肝消失型、高蛋白結合型抗がん薬の薬物体内動態や毒性に対する腎機能の影響を検討し、本研究で得られたコンセプトを一般化するための臨床研究を実施中である。

<引用文献>

Fujita K et al. Drug Metab Dispos, 2011;39:161-4
 Fujita K et al. Pharm Res,

2014;31:204-15

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 3 件)

Fujita K, Masuo Y, Okumura H, Watanabe Y, Suzuki H, Sunakawa Y, Shimada K, Kawara K, Akiyama Y, Kitamura M, Kunishima M, Sasaki Y, Kato Y. Increased plasma concentrations of unbound SN-38, the active metabolite of irinotecan, in cancer patients with severe renal failure. Pharm Res, 査読有り, 2016;33:269-82. doi: 10.1007/s11095-015-1785-0.

Fujita K, Kubota Y, Ishida H, Sasaki Y. Irinotecan: a key chemotherapeutic drug for metastatic colorectal cancer. World J Gastroenterol, 査読有り, 2015;21:12234-48. doi: 10.3748/wjg.v21.i43.12234.

藤田健一 . 透析を要するほど腎機能の低下したがん患者における肝消失型抗がん薬イリノテカン塩酸塩の特異な体内動態と毒性 . 日本透析医学会誌, 査読無し, 2015;30:538-42. <http://www.touseki-ikai.or.jp/index.html>

[学会発表](計 11 件)

1. 藤田健一: Unfit症例におけるがん薬物療法に至適化と臨床薬理学: 腎障害患者におけるイリノテカンの特異な体内動態と投与方法(シンポジウム). 第37回日本臨床薬理学会学術総会, 米子, 2016, 12, 1-3
2. Seba N, Masuo Y, Fujita K, Nakamichi N, Sasaki Y, Kato Y: Inhibition of human hepatic transporter OATP1B1 by indole metabolites. 31st Japanese Society for the Study of Xenobiotics annual meeting, Matsumoto, 2016, 10, 13-15
3. Fujita K: Delayed elimination of SN-38 in cancer patients with severe renal failure: mechanism and appropriate irinotecan dose (Symposium). The 14th Japanese Society of Medical Oncology annual meeting, Kobe, 2016, 7, 28-30
4. 藤田健一: 腎機能低下がん患者における特異なSN-38の体内動態とPBPKモデル(シ

- ンポジウム). 医療薬学フォーラム2016/
第24回クリニカルファーマシーシンポジ
ウム, 大津, 2016, 6, 25-26
5. 藤田健一, 増尾友祐, 奥村英典, 佐々木康綱, 加藤将夫: 極めて腎機能の低下したがん患者におけるイリノテカン塩酸塩の至適投与量の推定. 第36回日本臨床薬理学会学術総会, 東京, 2015, 12, 9-11
 6. Kogi T, Masuo Y, Fujita K, Kitamura M, Nakamichi N, Sasaki Y, Kunishima M, Kato Y: Long-lasting inhibition of organic anion transporting polypeptide (OATP) 1B1 by endogenous uremic toxin indoxyl sulfate. 30th Japanese Society for the Study of Xenobiotics annual meeting, Tokyo, 2015, 11, 12-14
 7. Fujita K, Masuo Y, Okumura H, Sasaki Y, Kato Y: Appropriate dose of irinotecan in cancer patients with severe renal failure (SRF). The 13rd Japanese Society of Medical Oncology annual meeting, Sapporo, 2015, 7, 16-18
 8. Fujita K, Masuo Y, Okumura H, Sasaki Y, Kato Y: Optimization of the dose of irinotecan in cancer patients with severe renal failure (SRF) based on physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) model. 116th American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics annual meeting, New Orleans USA, 2015, 3, 4-7
 9. 藤田健一, 増尾友祐, 奥村英典, 砂川優, 嶋田顕, 河原香織, 秋山祐子, 佐々木康綱, 加藤将夫: 極めて腎機能が低下したがん患者において, SN-38の血漿蛋白結合は低下し遊離形濃度が顕著に上昇する. 第35回日本臨床薬理学会学術総会, 松山, 2014, 12, 4-6
 10. 小木達也, 増尾友祐, 藤田健一, 北村正典, 奥村英典, 中道範隆, 佐々木康綱, 国嶋崇隆, 加藤将夫: 尿毒症物質による肝膜輸送体OATP1B1の阻害様式. 第36回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 徳島, 2014, 11, 20-21
 11. Fujita K, Okumura H, Masuo Y, Sunakawa Y, Shimada K, Kawara K, Akiyama Y, Sasaki Y, Kato Y: Change in plasma protein binding of SN-38, an active metabolite of irinotecan, in cancer patients with severe renal failure

(SRF). The 39th European Society for Medical Oncology annual meeting, Madrid Spain, 2014, 9, 26-30

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤田 健一 (FUJITA, Ken-ichi)
昭和大学・腫瘍分子生物学研究所・教授
研究者番号: 60281820

(2)連携研究者

加藤 将夫 (KATO, Yukio)
金沢大学・薬学系・教授
研究者番号: 30251440

佐々木 康綱 (SASAKI, Yasutsuna)
昭和大学・医学部・教授
研究者番号: 20235279

安藤 雄一 (ANDO, Yuichi)
名古屋大学・医学部・教授
研究者番号: 10360083