

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：34509

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18941

研究課題名(和文) 強制利尿法併用時のcisplatinの母集団薬物動態/薬力学的モデルの構築

研究課題名(英文) Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of cisplatin with hydration and mannitol diuresis

研究代表者

福島 恵造 (Fukushima, Keizo)

神戸学院大学・薬学部・助教

研究者番号：30454474

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：強制利尿法(forced diuresis: FD)により、尿中cisplatin(CDDP)濃度が著しく低下するが血中動態には大きな変化は無かった。一方、CDDP誘発性腎障害はFD用量依存的に抑制された。薬物動態-薬力学的解析により体内CDDPと同程度に尿中CDDPも腎毒性に寄与していると考えられ、尿中CDDP濃度を用いた回帰式による腎障害の予測精度は、平均絶対誤差率として22.5%で概ね良好であり予測可能であった。以上の結果より、CDDP投与前後で十分な尿量を確保することが、腎毒性軽減に寄与することが示された。

研究成果の概要(英文)：Forced diuresis treatment did not significantly alter the plasma cisplatin pharmacokinetics but dramatically decreased the urine concentration of unbound cisplatin and its accumulation into the kidneys in a dose-dependent manner, and correspondingly, nephrotoxicity was dose-dependently attenuated by forced diuresis. The pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis suggested that the urine cisplatin concentration has a comparable impact on the cisplatin-induced nephrotoxicity to that in plasma, probably owing to the reabsorption of cisplatin from urine, which can be attenuated by forced diuresis. These results indicated that the nephroprotective effect of forced diuresis is a pharmacokinetic-based drug-drug interaction possibly due to the inhibition of cisplatin reabsorption from urine. Monitoring of urine cisplatin concentration may lead to the optimization of a forced diuresis protocol with mannitol.

研究分野：薬物動態

キーワード：シスプラチン 腎障害 強制利尿法 PKPD解析

## 1. 研究開始当初の背景

抗癌剤 cisplatin(CDDP)は種々の固形癌に有用であるが、多くの副作用を有する。特に、腎障害は重篤であり投与制限因子となっている。臨床ではこのCDDP誘発性腎障害を軽減するために、大量の水負荷(hydration)が必須となっているが、十分な科学的根拠に裏付けされたものではなく、経験則に基づく医療機関独自のレジメで行われている。そのため、水負荷量、施行時間および利尿薬の種類などコンセンサスがなく、その効果の評価も紛糾している[1]。また、コンセンサがないため、経験則で行うしかない。CDDP誘発性腎障害を軽減する為に多くの努力が払われているが、依然としてCDDP投与患者の約1/3が腎障害を経験しているのが現状であり、上述の負のサイクルを断ち切る必要がある。

CDDP誘発性腎障害を軽減するhydrationの最適化には、hydrationのメカニズムおよびその用量-効果関係を明らかにする必要がある。CDDP誘発性腎障害の発症メカニズムに関して、近年、活性酸素種、炎症性サイトカイン等の関与が示され、これらのシグナル伝達により腎細胞のアポトーシス/ネクローシスが誘導されると言われている。一方、hydrationによる腎障害軽減作用は、広義での薬物間相互作用と捉えることが可能であるが、その詳細なメカニズムに関する検討は少ない。高用量のCDDP投与時では、hydrationと利尿薬であるmannitolの併用(強制利尿法: forced diuresis, FD)が推奨されるが、用量・用法に関する具体的な指針はない。hydrationのメカニズムおよびその用量-効果関係を明らかにするためには、hydration施行時にCDDPの何がどう変化し、腎障害にどう影響するのかを詳細に検討する必要がある。

## 2. 研究の目的

現行で最も腎保護作用があるとされるhydration+mannitolによるFD併用時のCDDPの薬物体内動態(pharmacokinetics, PK)および薬力学(pharmacodynamics, PD)を検討し、FDのメカニズムおよびその用量-効果関係を明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) CDDP薬物動態学的試験(PK試験)

絶食したWistar雄性ラット(250 g)をFDの用量により以下の4群に分けた: control (FDなし)、0.3、1.0、および3.0 mL/hr群。FDの用法は10% mannitolをCDDP投与前後2時間で固定し、尿量の確保および脱水防止の為、FD開始直後および2時間経過後(すなわちCDDP投与前)に生理食塩水4 mLを皮下注射した。FD開始2時間後、全てのラットにCDDP 5 mg/kgを急速静脈内投与した。尿試料として、FD開始以降15 min毎に膀胱カテーテルより採尿し、血液試料として、CDDP投与後、5、15、30、45、60、90、および120 min後に頸静脈より採血した。採取した試料

中の蛋白とCDDPが不可逆的な結合が進行するのを防ぐため、以下の除タンパク操作を15 min以内に行った; 採取した血液は、直ちに遠心分離により血漿分画を分離した。続いて、血漿および尿試料に2倍量の氷冷エタノールを加え、攪拌し、再度遠心分離した。得られた上清をそれぞれ血漿中遊離型および尿中遊離型CDDP試料とした。PK試験の終了時(すなわちFD開始後4時間後)、ラットを放血致死させ氷冷PBS(pH 7.4)にて全身還流し、腎臓を採取した。

### (2) CDDP薬力学的試験(PD試験)

PK試験と同様の方法だが、CDDP測定のための膀胱カテーテル、尿採取、および頸静脈採血は行わずにFDおよびCDDP投与を行った。CDDP測定に替わり、腎機能の指標として血漿中クレアチニン濃度(Cr)を、CDDP投与直前、7日後までの連日、および12日後に経皮的頸静脈採血により monitoring した。

### (3) PK解析

血漿中遊離型CDDPのPK解析はnon-compartment model解析にて行った。血漿中遊離型CDDP濃度推移または尿中CDDP濃度推移より濃度下面積(AUC<sub>p</sub>またはAUC<sub>u</sub>)を算出した。また、累積尿中CDDP排泄量から腎クリアランス(CL<sub>r</sub>)を算出し、尿中CDDP濃度推移より平均尿中滞在時間(MRT<sub>u</sub>)を算出した。

### (4) PKPD解析

PD試験における最大血漿中Cr濃度(Cr<sub>max</sub>)をCDDP誘発性腎障害の指標とし、これに対してCDDPのPK(血漿中遊離型CDDP、尿中CDDPおよび腎臓中CDDP蓄積量)との関連解析を行った。CDDP誘発性腎障害の代替指標として腎臓中CDDP蓄積量を用い、これを次式で予測した。

腎臓中CDDP蓄積量 =

$$CL_{\text{baso,app}} \times AUC_{\text{p,last}} + CL_{\text{api,app}} \times AUC_{\text{u,last}} \dots \text{回帰式}$$

CL<sub>baso,app</sub> および CL<sub>api,app</sub> は、それぞれ基底膜側(血漿側)からの見かけの流入クリアランスおよび頂端膜側(尿細管側)からの見かけの流入クリアランスであり、AUC<sub>p,last</sub> および AUC<sub>u,last</sub> は、それぞれ遊離型CDDPの最終sampling時における血漿中濃度下面積および尿中濃度下面積である。

## 4. 研究成果

### (1) CDDP PK試験

ラットにおける尿生成速度は、FD用量依存的に増加し、120 min後の尿生成速度はcontrol群、0.3、1.0、および3.0 mL/hr FD群で、それぞれ3.7、11.0、27.4、および129.9 μL/minであった(図1)。しかし、3.0 mL/hr FD control群(CDDP非投与群、図1破線)に

対し、3.0 mL/hr FD 群 (図1 実線) では、CDDP 投与後尿量の減少が観察された。このことから、CDDP 投与により腎糸球体濾過量 (GFR) が抑制され、尿量生成が減少したと考えられた。研究計画当初では、FD による尿量生成速度を modeling し、CDDP の PKPD model に組み込むことを予定していたが、CDDP による尿量生成速度への影響も観察されたため、これを考慮した尿量 modeling は非常に煩雑になるため、FD による尿量増加効果は実測値として扱い、以降の PKPD 解析を遂行した。

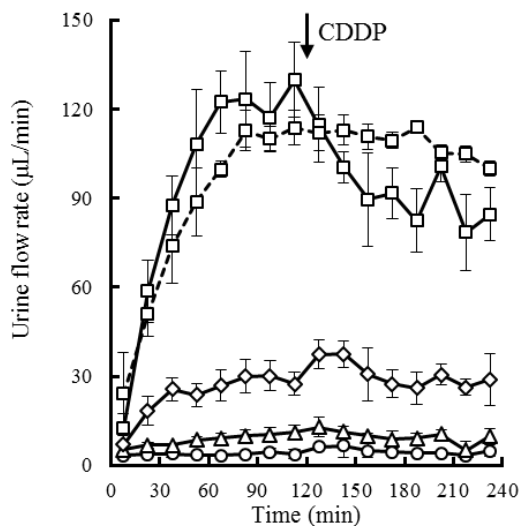


図1 . FD による尿量生成速度. Control (○), 0.3 (△), 1.0 (□), および 3.0 mL/hr FD (実線). FD 開始 120 min に CDDP 投与. 破線は非 CDDP 投与 3.0 mL/hr FD 群

FD 併用 CDDP 投与後の血漿中遊離型 CDDP 濃度推移を図2 に示す。CDDP 投与後、血漿中遊離型 CDDP 濃度は急速に減少するが、FD の有無および用量に依らず、処置群間で有意な変化は観察されなかった。

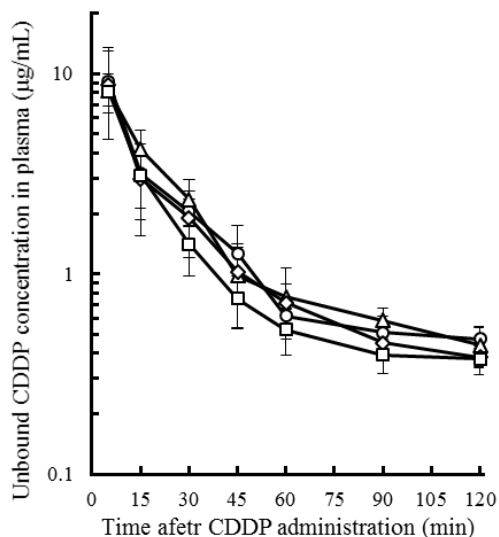


図2 . 血漿中遊離型 CDDP 濃度推移. Control (FD 非併用, ○), 0.3 (△), 1.0 (□), および 3.0 mL/hr FD (実線)

一方、FD の用量に依存して尿中 CDDP 濃度は顕著に減少しており (図3 A)、加えて、CDDP 投与 120 min 後における腎臓中 CDDP 蓄積量も FD の用量に依存して減少した (図3 B)。

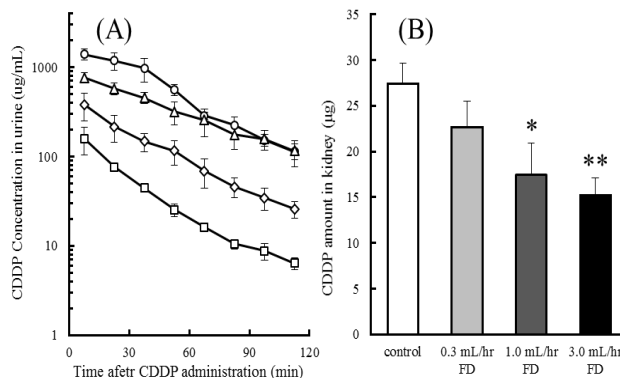


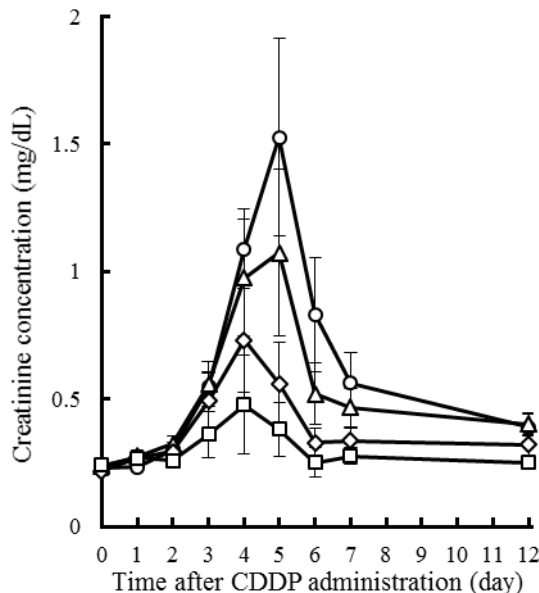
図3 . 尿中 CDDP 濃度推移(A)および腎臓中 CDDP 蓄積量(B). Control (○), 0.3 (△), 1.0 (□), および 3.0 mL/hr FD (実線).

PK 解析より、CDDP の腎クリアランスは FD の用量に伴い増加傾向であったが統計学的有意差は無く、CDDP 平均尿中滞在時間もどの処置群間で有意差は確認されなかった。

## (2) CDDP PD 試験

CDDP 投与後の血漿中 Cr 濃度推移を図4 に示す。

図4 . CDDP 投与後血漿中 Cr 濃度推移.



Control (FD 非併用, ○), 0.3 (△), 1.0 (□), および 3.0 mL/hr FD (実線)

血漿中 Cr 濃度の上昇、すなわち腎障害は CDDP 投与後 4~5 日後にピークが観察され、最大 Cr 濃度( $Cr_{max}$ )は、control、0.3、1.0、および 3.0 mL/min FD 群で、それぞれ  $1.53 \pm 0.39$ 、 $1.11 \pm 0.27$ 、 $0.73 \pm 0.21$ 、および  $0.48 \pm 0.18$  mg/dL であり FD 用量依存的に腎障害を抑制していた。

(3) PKPD 解析

CDDP の PK 試験および PD 試験より得られた結果を統合した PKPD 解析を行った。まず、 $Cr_{max}$  と血漿中遊離型 CDDP の AUC または尿中 CDDP の AUC との関係を図 5 に示す。加えて、CDDP 投与後の腎障害の指標である  $Cr_{max}$  と CDDP 腎蓄積量との関係を図 6 に示す。

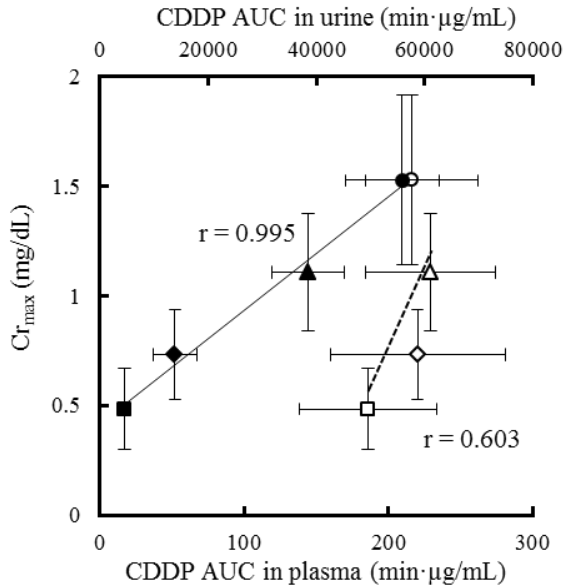


図 5 .  $Cr_{max}$  と血漿中遊離型 CDDP AUC または尿中 CDDP AUC との相関. 血漿中遊離型 CDDP AUC: control (FD 非併用, □), 0.3 (△), 1.0 (◇), および 3.0 mL/hr FD (○). 尿中 CDDP AUC: control (FD 非併用, □), 0.3 (△), 1.0 (◇), および 3.0 mL/hr FD (○)

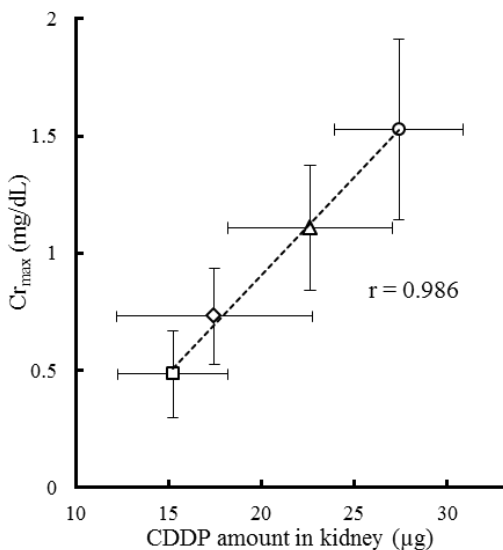


図 6 .  $Cr_{max}$  と CDDP 腎蓄積量の相関. Control (FD 非併用, □), 0.3 (△), 1.0 (◇), および 3.0 mL/hr FD (○)

$Cr_{max}$  と尿中 CDDP AUC には非常に強い相関関係 ( $r=0.995$ ) が得られたが、相対的に血漿中遊離型 CDDP AUC とは相関が弱かった(図 5)。一方、 $Cr_{max}$  と CDDP 腎蓄積量にも非常に強い相関関係が得られ、CDDP 腎蓄積量が腎障害の代替指標 (surrogate marker) として非常に有用であることが確認された。図 5 お

よび図 6 は、各群別個体の PK および PD 試験の結果の平均値での相関であるため、各群内の個体間変動は平均値に要約されている。そこで、CDDP 腎蓄積量を腎障害の代替指標とし、同一ラットにおける血漿中遊離型 CDDP AUC および尿中 CDDP AUC と CDDP 腎蓄積量との相関を図 7 に示した。

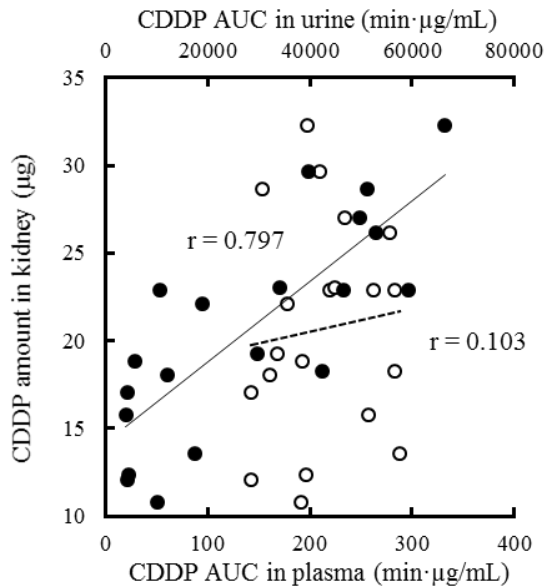


図 7 . 同一個体における CDDP 腎蓄積量と血漿中遊離型 CDDP AUC または尿中 CDDP AUC との相関. 血漿中遊離型 (○) および尿中 CDDP AUC (□)

尿中 CDDP AUC は依然として、CDDP 腎蓄積量と強い相関を示したが、血漿中遊離型 CDDP AUC とは相関が認められなかった。CDDP は近位尿細管上皮細胞に基底膜側 (血漿側) から organic cation transporter 2 を介して取り込まれることが知られており[2]、この CDDP 細胞内取り込みが腎障害の一因となっている。よって、血漿中遊離型 CDDP AUC は CDDP 腎蓄積量に大きな影響を持つと思われたが、相関は弱かった。考えられる原因として、そもそもの AUCp のバラつきが小さい (血漿中遊離型 CDDP は FD の影響を受けにくい) ので、相関分析で検出できなかった。

血漿中遊離型 CDDP 濃度が高すぎて、基底膜側からの細胞内取り込みに飽和があった。

生体内では基底膜側からの細胞内取り込みは、頂端膜側 (尿細管) からの受動拡散に比べて、相対的に影響力が低い。上記の可能性が考えられるが、本実験系からの結果のみでは、結論付けることは不可能である。In vitro による既報では、基底膜側からの細胞内取り込みは、頂端膜側に比べて約 2 ~ 3 倍であると報告されている[3]。しかし、本実験で AUCu は AUCp に比べて約 258 倍である。尿の濃縮過程を考慮しても、近位尿細管での血漿と尿細管での濃度比は 16 倍程度と推定される。つまり、血漿と尿細管の濃度が同じであれば、CDDP は血漿から細胞内取り込みが大きいため、細胞内の CDDP 蓄積量は血漿中濃度に大きく依存すると考えられるが、生体

内では、CDDP は原尿中で濃縮され血漿中濃度の十数倍と推察されるため、原尿から受動拡散による尿細管上皮細胞への取り込みが支配的になると考えられた。そして、この原尿中 CDDP 濃度が FD によって希釈されることで腎保護作用を発現していると考えられる。また、FD 非併用での腎蓄積量が約 27  $\mu\text{g}$  であり、CDDP 腎蓄積量と尿中 CDDP AUC との相関式の切片(つまり尿中 CDDP がいない場合)が約 14  $\mu\text{g}$  であることから、尿細管からの細胞内蓄積が約半分を占めていると考えられた。

最後に、血漿中 AUC と尿中 AUC を用いた回帰式 から、

$$\text{CDDP 腎蓄積量} = 0.0605 \times \text{AUC}_{\text{p,last}} + 0.000248 \times \text{AUC}_{\text{u,last}}$$

上式が得られ、これを用いた CDDP 腎蓄積量の予測値と実測値を図 8 に示した。

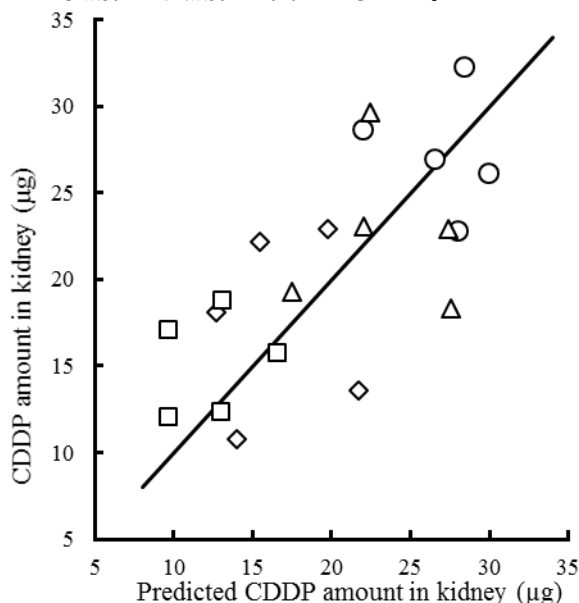


図 8 . 回帰式を用いた CDDP 腎蓄積量の予測精度.  $\text{Cr}_{\text{max}}$  と CDDP 腎蓄積量の相関. Control (FD 非併用,  $\square$ ), 0.3 ( $\circ$ ), 1.0 ( $\triangle$ ), および 3.0 mL/hr FD ( $\diamond$ )

平均誤差率 (mean percentage error) および平均絶対誤差率 (mean absolute percentage error) は、それぞれ-1.63%および 22.5%であり、また FD 用量による予測誤差の偏りも見られなかったことから、概ね良好な予測精度が確認された。すなわち、血漿中遊離型および尿中 CDDP 濃度を monitoring することで CDDP 誘発性腎障害を予測し得ることが示された。

以上、mannitol による FD 併用時 CDDP の PKPD 解析により、FD による腎障害軽減作用は、CDDP の尿中滞在時間の短縮ではなく尿中濃度の希釈による近位尿細管への受動拡散減少によるものと考えられた。FD 併用時の尿中 CDDP 濃度を monitoring することで、腎障害軽減を目的とした FD の試適投与設計

が可能であることが示された。

#### <引用文献>

- [1] Morgan KP, Buie LW, Savage SW. The role of mannitol as a nephroprotectant in patients receiving cisplatin therapy. *Ann Pharmacother.* 2012;46(2):276–81.
- [2] Filipinski KK, Mathijssen RH, Mikkelsen TS, Schinkel AH, Sparreboom A. Contribution of organic cation transporter 2 (OCT2) to cisplatin-induced nephrotoxicity. *Clin Pharmacol Ther.* 2009;86(4):396–402.
- [3] Endo T, Kimura O, Sakata M. Carrier-mediated uptake of cisplatin by the OK renal epithelial cell line. *Toxicology.* 2000;146(2–3):187–95.

#### 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)

- [1] Fukushima K, Okada A, Oe H, Hirasaki M, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Sugioka N. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analysis of Cisplatin with Hydration and Mannitol Diuresis: The Contribution of Urine Cisplatin Concentration to Nephrotoxicity. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* (査読有) 2018 Apr;43(2):193-203. doi: 10.1007/s13318-017-0436-8.

- [2] Okada A, Fukushima K, Fujita M, Nakanishi M, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Sugioka N. Alterations in Cisplatin Pharmacokinetics and Its Acute/Sub-chronic Kidney Injury over Multiple Cycles of Cisplatin Treatment in Rats. *Biol Pharm Bull.* (査読有) 2017;40(11):1948-1955. doi: 10.1248/bpb.b17-00499.

- [3] Fukushima K, Okada A, Sasaki K, Kishimoto S, Fukushima S, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Shirai T, Terauchi R, Kubo T, Sugioka N. Population Pharmacokinetic-Toxicodynamic Modeling and Simulation of Cisplatin-Induced Acute Renal Injury in Rats: Effect of Dosing Rate on Nephrotoxicity. *J Pharm Sci.* (査読有) 2016 Jan;105(1):324-32. doi: 10.1016/j.xphs.2015.10.022.

[学会発表](計 5 件)

- [1] 田中 夏海, 行時 真人, 岡田 章, 佐々木 臯祥, 福島 恵造, 小坂 直史, 寺内 竜, 杉岡 信幸. 抗がん剤 Cisplatin 誘発性急性腎障害の予測を目的とした母集団薬物動態/毒力学モデルの構築 2015 年 日本薬学会 3 月 第 135 回 (神戸)

[2] 岡田 章, 丸藤 峻佑, 中西 真那, 藤田 まい, 大江 裕之, 平崎 実花, 福島 恵造, 杉岡 信幸. 抗がん剤 cisplatin の反復投与が腎障害の発現・重症度に及ぼす影響. 第 26 回 日本医療薬学会年会 2016 年 9 月 (京都)

[3] Okada A, Marufuji S, Nakanishi M, Fujita M, Oe H, Hirasaki M, Fukushima K, Sugioka N. Nephrotoxic alterations in repeated administration of cisplatin to rats: acute and chronic kidney injury. 第 31 回年会 日本薬物動態学会 2016 年 10 月 (松本)

[4] 岡田 章, 大江 裕之, 平崎 実花, 中西 真那, 藤田 まい, 福島 恵造, 杉岡 信幸. 強制利尿法の用量が抗がん剤 cisplatin の薬物動態および腎障害軽減作用に及ぼす影響. 第 137 年会 日本薬学会 2017 年 3 月 (仙台)

[5] 岡田 章, 藤田 まい, 中西 真那, 本田 朱李, 福島 恵造, 杉岡 信幸. Cisplatin 反復投与時における急性および亜慢性腎毒性発現予測を目的とした Modeling & Simulation. 第 27 回 日本医療薬学会年会 2017 年 11 月 (幕張)

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

福島 恵造 (Fukushima Keizo)

神戸学院大学・薬学部・助教

研究者番号：30454474