

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08902

研究課題名(和文) がん分子標的薬の代謝動態特性と感受性の個人差要因解明に基づく個別化投与設計

研究課題名(英文) Personalized dosing of targeted anticancer drugs by elucidating mechanisms underlying the variability in pharmacokinetics and pharmacodynamics

研究代表者

福土 将秀 (Fukudo, Masahide)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60437233

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)：レゴラフェニブ治療患者における手足皮膚反応の重症度は、未変化体およびM-2/M-5 トラフ濃度の合計と有意に関連することが明らかとなった。また、グレード2以上の手足皮膚反応の発現を予測するカットオフ値は、約5 µg/mL付近であることが示唆された。パゾパニブ治療患者において、薬物血中濃度モニタリング(TDM)に基づく投与量調節により、TDM非実施群(ヒストリカル・コントロール)と比べて治療継続期間が有意に延長し、毒性も軽減されることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、レゴラフェニブやパゾパニブをはじめとするがん分子標的薬の臨床薬物動態を把握する上で有用な知見を提供するものであり、特にTDMを利用した個別化処方設計支援に基づく治療アウトカムの改善が期待され、がん分子標的薬の適正使用の推進とそれによる医療費の抑制にも貢献することが考えられる。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that severity of hand-foot skin reaction induced by regorafenib was significantly associated with sum of trough concentrations of regorafenib and its active metabolites M2/M-5. Furthermore, the cutoff value to predict the development of this adverse event (grade 2 or higher) appeared to be approximately 5 µg/mL. It was clarified that pharmacokinetically-guided dosing of pazopanib with therapeutic drug monitoring (TDM) significantly prolonged the duration of treatment with reduced toxicity, as compared with the historical control group. These findings suggest that TDM could be a useful tool to optimize targeted anticancer therapies by avoiding early discontinuation due to intolerable toxicity.

研究分野：臨床薬理学

キーワード：がん分子標的薬 薬物動態 代謝物 薬剤感受性 個別化投与設計

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、経口製剤の分子標的抗がん薬が次々に開発され、外来通院による治療が可能になってきた。しかし、重篤な有害事象のために治療継続が困難となるケースや、薬剤耐性が臨床上的問題となっており、個々の患者に適した安全で最適な投与法の確立が緊要課題とされている。

我々はこれまでに、マルチキナーゼ阻害薬のソラフェニブを対象に、腎細胞がんまたは肝細胞がん患者における薬物動態を評価し、手足皮膚反応や高血圧の発症と薬物血中濃度が密接に関連することを明らかにしてきた (Fukudo et al., *Clin Pharmacokinet* 53:185-96, 2014)。一方、ソラフェニブにフッ素が付加した類似構造をもつレゴラフェニブに関して、毒性がより強く、重篤な肝機能障害や手足皮膚反応などの副作用に対して注意が必要とされているが、レゴラフェニブの毒性を予測しうる有用なバイオマーカーについては、十分に解明されていない。

レゴラフェニブは、主に肝臓において CYP3A4 と UGT1A9 によって代謝され、それぞれ活性代謝物である N-オキサイド体 (M-2) と N-オキサイドアミド体 (M-5)、および不活性型のグルクロン酸抱合体 (M-7) に変換される (Tlemsani et al., *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 11:785-94, 2015)。M-7 は、一部尿中に排泄されていることが知られているが、その排泄に関わる薬物トランスポータについては不明である。一方、レゴラフェニブの肝臓内への取込や胆汁中排泄過程における薬物トランスポータの寄与は、小さいことが報告されているが (Hotta et al., *Anticancer Res* 35:4681-9, 2015)、脳と精巣において排出ポンプとして機能している P-gp と BCRP が、組織移行障壁として関与することが明らかにされている (Kort et al., *Pharm Res* 32:2205-16, 2015)。

また最近、肝臓内で生成したソラフェニブのグルクロン酸抱合体が、MRP2/ABCC2 を介して胆汁中に排泄された後、腸内細菌の β -グルクロナダーゼによって脱抱合を受けて、再び吸収される「腸肝循環」モデルが実証された (Vasilyeva et al., *Cancer Res* 75:2729-36, 2015)。レゴラフェニブに関しても、ソラフェニブと同様の腸肝循環が類推されるが、レゴラフェニブ代謝物の排泄メカニズムや、CYP3A5/UGT1A9 並びに ABC トランスポータ等の遺伝子多型の薬物動態に対する影響については、十分に検討されていないのが現状である。

一方、腎細胞がん治療薬のアキシチニブに関しても、レゴラフェニブと同様に、不活性代謝物としてグルクロン酸抱合体が体内で生成することが知られているが、その臨床的意義については不明なままである (Zientek et al., *Drug Metab Dispos* 44:102-14, 2016)。また、パゾパニブについて、トラフ濃度 ($>20.5 \mu\text{g/mL}$) が臨床効果と関連することが、海外から報告されているが (Suttle et al., *Br J Cancer* 111:1909-16, 2014)、日本人におけるパゾパニブの薬物血中濃度モニタリング (TDM: Therapeutic Drug Monitoring) の臨床的有用性に関するエビデンスは乏しい。

2. 研究の目的

(1) レゴラフェニブ体内動態解析

レゴラフェニブおよび活性代謝物 M-2/M-5、グルクロン酸抱合体 M-7/M-8 の同時定量ワークフローを構築するとともに、レゴラフェニブのグルクロン酸抱合における UGT 酵素の寄与、および臨床薬物動態と有害事象の関連を明らかにすることを目的とした。

(2) アキシチニブ体内動態解析

アキシチニブおよびグルクロン酸抱合体の同時定量法を構築するとともに、腎細胞がん患者を対象に、アキシチニブ体内動態特性を明らかにすることを目的とした。

(3) パゾパニブ体内動態解析

パゾパニブの定量法を構築するとともに、腎細胞がんまたは悪性軟部腫瘍患者を対象に、パゾパニブの TDM の臨床的有用性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) レゴラフェニブ体内動態解析

レゴラフェニブとグルクロン酸抱合体の分離定量において、糖類などの水溶性化合物の保持に優れた親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC: Hydrophilic Interaction Chromatography) カラムを用い、それにタンデム質量分析を組み合わせた HILIC-MS/MS 法によって、血液および尿中の未変化体と M-2/M-5 および M-7/M-8 の同時定量を行った。なお、M-8 の定量については、標品を入手することが出来なかった為、サンプル試料に β -グルクロナダーゼ (Abalone 由来) を添加して脱抱合し、M-2 として間接的に定量した。

レゴラフェニブのグルクロン酸抱合における UGT 酵素の寄与について検討する為、ヒト UGT 発現系 Supersomes およびプールドヒト肝マイクロソーム (Xtreme 200) を用いて、レゴラフェニブ (100 μ M) と 1 時間インキュベーションした後、HILIC-MS/MS で分析した。

文書による同意の得られた大腸がんまたは肝細胞がん、消化管間質腫瘍患者 (20 名) を対象に、レゴラフェニブ治療開始後 1 週目または 2 週目、3 週目に経時的に採血し、薬物動態プロファイルを評価した。また、尿サンプル (早朝尿または随時尿) が得られた患者について、尿中の代謝物濃度も測定した。さらに、末梢血からゲノム DNA を抽出し、*CYP3A5**3 および *UGT1A9**3、*ABCG2* 421C>A 多型について調べた。治療期間中の有害事象は、NCI CTCAE ver4.0.3 に基づき評価した。有害事象のグレードとレゴラフェニブ血中濃度との関連については、傾向検定を用いて評価した。また、グレード 3/4 の有害事象が発現するまでの時間とレゴラフェニブ血中濃度の関係については、競合リスクを考慮した Gray 検定によって評価した。

(2) アキシチニブ体内動態解析

レゴラフェニブのグルクロン酸抱合体の測定と同様に、アキシチニブのグルクロン酸抱合体 (m/z 563 \rightarrow 387) についても HILIC-MS/MS 法によって、未変化体と代謝物の分離定量を行った。なお、本グルクロン酸抱合体の標品が入手出来なかったこと、また検討した β -グルクロナダーゼによる加水分解反応に抵抗性を示したことから、代謝物/未変化体のピーク面積比を用いてアキシチニブの代謝動態特性を半定量的に評価した。

文書による同意の得られた腎細胞がん患者 (20 名) を対象に、アキシチニブとグルクロン酸抱合体の体内動態解析を実施した。

(3) パゾパニブ体内動態解析

文書による同意の得られた腎細胞がんまたは悪性軟部腫瘍患者 (25 名) を対象に、定常状態におけるパゾパニブ血中濃度測定を LC-MS/MS 法によって実施した。目標トラフ濃度として 20.5 μ g/mL を指標として、パゾパニブの投与量調節について主治医に提案した。また、TDM を実施しない患者群のアウトカムデータとして、自施設における過去の治療患者 (12 名) をヒストリカル・コントロールとした。治療継続期間 (TTD: Time-to-Treatment Discontinuation) を主要評価項目とし、副次評価項目として全生存期間 (OS: Overall Survival) とパゾパニブの安全性とした。薬理ゲノム解析に関して、先述の遺伝子多型に加えて、*CYP3A4**22 多型についても調べた。生存時間解析に関して、Kaplan-Meier 法を用いて生存曲線を作成し、その差をログランク検定によって評価した。

なお、本研究課題の実施にあたり、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に従い、旭川医科大学倫理委員会による承認を受けて実施した (課題番号 15018)。また、本研究 (PROLONG 試験) の内容は、UMIN-CTR に登録して情報を公開した (UMIN000036158)。

4 . 研究成果

(1) レゴラフェニブ体内動態解析

まず、レゴラフェニブと M-2 のグルクロン酸抱合体 (それぞれ M-7 と M-8) について、*in vitro* 代謝実験により検討した。その結果、UGT1A9 酵素による特異的な M-7 と M-8 由来のピークが最も多く検出され、UGT1A1 酵素による代謝物の生成はほとんど認められなかったことから、M-7/M-8 への代謝には UGT1A9 が主に関与することが示唆された。また、UGT1A9 酵素によって生成した M-7/M-8 由来のピークは、プールドヒト肝ミクロソームによって生成した代謝物ピークとも一致していた。

患者の尿サンプルに β -グルクロニダーゼを添加して高温酸性条件下で脱抱合した結果、M-7/M-8 由来のピークは完全に消失して、レゴラフェニブと M-2 に変換されることが確認されたことから、加水分解法を利用して M-8 の間接的な定量が可能であることが示唆された。

患者の血液中には、代謝物として M-8 はほとんど検出されなかった。一方、尿中において M-7 > M-8 の順に多く検出され、その尿中濃度には顕著な個人差も認められた (~1000 倍)。定常状態における薬物血中濃度プロファイルを評価した結果、検討した殆ど全ての症例において、吸収相に明確なピークは認められず、吸収遅延や吸収不良または腸肝循環の影響が原因として考えられた。UGT1A9*3 多型は同定されず、未変化体や代謝物の薬物動態に対する検討した他の遺伝子多型の影響は認められなかった。

標準投与量 (160 mg/day、3 週投与/1 週休薬) で開始となった症例 (8 名) では、忍容性が低く、治療開始後早期に減量または中止となるケースが 6 名と多かった (75%)。一方、より少ない用量の 40 または 80 mg/day から治療を開始された症例では、TDM を実施することによって、増量の適否について慎重に検討することが可能となり、dose titration を安全に実施することが出来たケースや、長期投与が可能であったケースも複数認められた。

手足皮膚反応の重症度は、未変化体および M-2/M-5 のトラフ濃度の合計と有意に関連することが明らかとなった。また、グレード 2 以上の手足皮膚反応の発現を予測するカットオフ値は、約 5 μ g/mL 付近であることが示唆された。治療開始後 1 週目付近のトラフ濃度の合計が 5 μ g/mL 以上の患者では、5 μ g/mL 未満の患者と比較してグレード 3 以上の重篤な有害事象の累積発現頻度が有意に高いことも明らかとなった。

(2) アキシチニブ体内動態解析

先述のレゴラフェニブと同様に、アキシチニブのグルクロン酸抱合体について、*in vitro* 代謝実験により検討した。その結果、レゴラフェニブとは対照的に、UGT1A9 酵素による代謝物の生成はほとんど認められず、UGT1A1 酵素によるグルクロン酸抱合体由来のピークが検出された。両薬物のグルクロン酸抱合に関わる主要な UGT 酵素は、異なることが示された。

外来患者のアキシチニブ血中濃度に関して、吸収相のピーク濃度に大きな個人差が認められ (>50 倍) 日本人健常者における過去の報告とも一致していた (Pithavala et al., *Cancer Chemother Pharmacol* 65:563-70, 2010)。また、投与量で補正した薬物血中濃度にも顕著な個体内変動が認められ、同一患者内における薬物吸収の変動が大きいことが示唆された。さらに、代謝物/未変化体のピーク面積比が大きい症例では、治療開始後アキシチニブ血中濃度が上昇しづらいことが判明し、そのような症例では治療効果を得る為に、より積極的な dose titration の必要性が示唆された。

(3) パゾパニブ体内動態解析

定常状態におけるパゾパニブ血中濃度プロファイルを評価した結果、内服 3 時間付近にピーク濃度が認められた。また、標準投与量 (800 mg/day) より少ない 400 mg/day の投与によって

も、平均トラフ濃度は目標トラフ濃度である 20.5 µg/mL を超えていることが判明した。

パゾパニブの薬物動態に対する遺伝子多型の影響について検討した結果、海外において既報の *CYP3A4**22 遺伝子多型は同定されなかった (Bins et al., *Clin Pharmacokinet* 58:651-8, 2019)。また、*CYP3A5**3 および *ABCG2* 421C>A 遺伝子多型のパゾパニブ血中濃度に対する影響も認められなかった。一方、制酸剤の併用によるパゾパニブ血中濃度の有意な低下、並びに無増悪生存期間と OS 中央値の有意な短縮が明らかとなった。

パゾパニブのトラフ濃度の上昇に伴い、最良総合効果に改善傾向が認められた。TTD 中央値は、TDM 群の方がヒストリカル・コントロール群と比べて、有意に延長することが明らかとなった (252 日 vs 74 日、 $p = 0.012$)。また、OS 中央値も TDM 群の方がヒストリカル・コントロール群と比べて、有意に延長していた (未到達 vs 313 日、 $p = 0.002$)。一方、グレード 3 以上の有害事象の発現頻度は、高血圧と皮膚障害を除いて、TDM 群の方がヒストリカル・コントロール群と比較して、低い傾向であることが判明した。

以上の研究成果は、レゴラフェニブやパゾパニブをはじめとするがん分子標的薬の臨床薬物動態を把握する上で有用な知見を提供するものであり、特に TDM を利用した個別化処方設計支援に基づく治療アウトカムの改善が期待され、がん分子標的薬の適正使用の推進とそれによる医療費の抑制にも貢献することが考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akhtari FS, Havener TM, Fukudo M, Jack JR, McLeod HL, Wiltshire T, Motsinger-Reif AA	4. 巻 6
2. 論文標題 The influence of Neanderthal alleles on cytotoxic response	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PeerJ	6. 最初と最後の頁 e5691
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7717/peerj.5691	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 該当する
1. 著者名 Iwasaki M, Yano I, Fukatsu S, Hashi S, Yamamoto Y, Sugimoto M, Fukudo M, Masuda S, Nakagawa S, Yonezawa A, Kaido T, Uemoto S, Matsubara K	4. 巻 40
2. 論文標題 Pharmacokinetics and pharmacodynamics of once-daily tacrolimus compared with twice-daily tacrolimus in the early stage after living donor liver transplantation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ther Drug Monit	6. 最初と最後の頁 675-681
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/FTD.0000000000000551	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 -
1. 著者名 Tanaka A, Yano I, Shinsako K, Sato E, Fukudo M, Masuda S, Yamasaki T, Kamba T, Ogawa O, Matsubara K	4. 巻 38
2. 論文標題 Population Pharmacokinetics of Everolimus in Relation to Clinical Outcomes in Patients With Advanced Renal Cell Carcinoma	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Ther Drug Monit	6. 最初と最後の頁 663-669
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/FTD.0000000000000344	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 -
1. 著者名 Kashima S, Tanabe H, Tanino M, Kobayashi Y, Murakami Y, Iwama T, Sasaki T, Kunogi T, Takahashi K, Ando K, Ueno N, Moriichi K, Fukudo M, Tasaki Y, Hosokawa M, Mizukami Y, Fujiya M, Okumura T	4. 巻 9
2. 論文標題 Lymph Node Metastasis From Gastroesophageal Cancer Successfully Treated by Nivolumab: A Case Report of a Young Patient	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Oncol	6. 最初と最後の頁 1375
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fonc.2019.01375	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9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Fukudo M, Kubo Y, Shinden Y, Koeda M, Tani C, Miyamoto M, Asai K, Furukawa H, Ueno N, Okumura T, Tasaki Y
2. 発表標題 Regorafenib pharmacokinetics and exposure-toxicity relationship in Japanese cancer patients
3. 学会等名 第16回国際TDM会議 (IATDMCT2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福土将秀、石川良太、相馬亮太、吉田光一、木村周古、新田悠一朗、小枝正吉、三嶋一登、小野尚志、田崎嘉一
2. 発表標題 北海道内におけるニボルマブ廃棄量の実態調査とその解消方策に関する多施設共同研究 (NEWHOPE STUDY) 最終報告
3. 学会等名 第28回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直貴、福土将秀、寺川央一、佐々木健太、小林友紀、上原治朗、山本明美、三嶋一登、田崎嘉一
2. 発表標題 ニボルマブ治療終了後イピリムマブ投与によって劇症1型糖尿病を発症した悪性黒色腫患者の一例報告
3. 学会等名 日本臨床腫瘍薬学会学術大会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福土将秀、吉田光一、寺川央一、佐々木高明、大崎能伸、上原治朗、山本明美、玉木 岳、安住 誠、柿崎秀宏、三嶋一登、田崎嘉一
2. 発表標題 抗PD-1抗体薬ニボルマブおよびペムプロリズマブの臨床薬物動態に関する検討
3. 学会等名 第38回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福土将秀、久保靖憲、小枝正吉、谷 誓良、宮本正之、浅井慶子、古川博之、上野伸展、奥村利勝、田崎嘉一
2. 発表標題 HILIC-MS/MSを用いたレゴラフェニブと代謝物の同時分析と個別化投与設計に関する研究
3. 学会等名 第38回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福土将秀
2. 発表標題 分子標的抗がん薬の薬物動態評価に基づく処方設計支援
3. 学会等名 第26回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Fukudo M, Mishima K, Kimura N, Shinden Y, Sasaki T, Okumura S, Ohsaki Y, Uehara J, Yamamoto A, Tamaki G, Kakizaki H, Kishibe K, Takahara M, Hayashi T, Harabuchi Y, Shonaka T, Hasegawa K, Ono T, Tasaki Y
2. 発表標題 Long-term follow-up of pharmacokinetics (PK) and immunogenicity of the anti-PD-1 antibodies nivolumab (Nivo) and pembrolizumab (Pembro) in real-world practice
3. 学会等名 第55回米国臨床腫瘍学会年会 (ASCO2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福土将秀
2. 発表標題 TDMを活用したがん分子標的抗薬の個別化治療戦略 -Start Low and Go Slow-
3. 学会等名 第36回日本TDM学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福土将秀
2. 発表標題 薬物体内動態評価に基づく抗がん剤治療の最適化に向けて
3. 学会等名 第2回日本腫瘍循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

旭川医科大学病院薬剤部 http://www.asahikawa-med.ac.jp/hospital/pharmacy/
--

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