

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06761

研究課題名(和文) リポソーム製剤ドキシルによる妊娠初期乳がん治療を実現するための胎児動態の詳細解析

研究課題名(英文) Pharmacokinetic analysis of the fetus for doxorubicin administration during pregnancy

研究代表者

落合 和 (Wataru, Ochiai)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40381008

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠中にドキシルビシンを使用することの安全性を確認するために、薬物動態学的観点から解析した。妊娠中期のマウスにドキシルビシンを投与し、母体から胎児へと移行したドキシルビシン量の経時変化と分布を解析した結果、妊娠マウスにドキシルビシンを投与すると、投与直後から高濃度で胎児に存在していた。また、ドキシルビシン投与24時間後の胎児では、脳、肝臓及び消化管に高濃度であった。さらに、ドキシルビシンを投与した母親から生まれた子供は、顕著に発育の悪かった。さらに、本研究では、ドキシルビシンのリポソーム製剤DOXILに着目し、その有用性を検証したところ、胎児への移行性が低いことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠マウスへのDOXIL投与は、doxorubicin に比べて、胎児への移行が少なく、産まれた後も子供の発育もコントロール(生理食塩水)と変わらないことから、安全な製剤になりうることを示唆された。一方、妊娠中にdoxorubicinを投与する場合には、24時間後までの胎児中doxorubicin濃度が、その後の胎児の生存率や発育に影響を及ぼすことが考えられるため、この間の胎児中のdoxorubicin濃度をコントロールできれば、胎児への毒性(影響)を軽減できる可能性も示唆された。

研究成果の概要(英文)：To confirm the safety of using doxorubicin during pregnancy, it was analyzed from a pharmacokinetic point of view. After administering doxorubicin to mice in the second trimester and analyzing the time course and distribution of the amount of doxorubicin transferred from the mother to the fetus, when her doxorubicin was administered to pregnant mice, it was present in the fetus at a high concentration immediately after administration. It was. In the fetus 24 hours after doxorubicin administration, the concentration was high in the brain, liver and gastrointestinal tract. In addition, children born to mothers who received doxorubicin were significantly stunted. Furthermore, in this study, we focused on the liposome preparation DOXIL of doxorubicin and verified its usefulness, and found that it has low transferability to the fetus.

研究分野：薬物動態

キーワード：妊娠 抗癌剤 リポソーム製剤 ドキシルビシン DOXIL

## 1. 研究開始当初の背景

近年、我が国を含む先進諸外国では、女性の活躍の場が増えたことや生殖医療技術の進歩に伴い、平均出産年齢が年々、上昇している。それに伴い、妊娠中に何らかの疾患を抱えた女性が増加している。その中でも、がんは30代以降で急激に発症率が上昇することから、出産年齢ががんに罹患しやすい年齢とオーバーラップしてきている。特に、乳がんは、妊娠中に診断されるがんの約半数を占め、比較的若い年齢でも発症することから、母子ともに安全な妊娠中の乳がん治療の確立が急務となっている。一般に、妊娠中の乳がんは、妊娠していない時と比較して、妊娠に伴うホルモンバランスの変化により、病状の進行が早く、予後が悪いことが報告されている。そのため、可能な限り早期から積極的に抗がん剤による治療を開始する必要があるが、妊娠初期(妊娠1~4ヶ月)に抗がん剤を使用した場合、胎児の催奇形性リスクが著しく高まることから、胎児の主要な臓器の形成が完了した妊娠中期より抗がん剤による治療が行われる。現在、我が国では、妊娠中の乳がんの治療では、これまでの使用経験を基にアントラサイクリン系薬物のドキソルビシンが第一選択薬として使用されている。しかしながら、妊娠中期にドキソルビシンを使用した際の胎児の安全性に関する詳細は、不明である。これまで申請者は、妊娠中にドキソルビシンを使用することの安全性を確認する目的で、薬物動態学的観点から種々の解析を進めてきた。

申請者は、妊娠中期のマウスにドキソルビシンを投与し、胎盤を介して母体から胎児へと移行したドキソルビシン量の経時変化とドキソルビシンの胎児体内での分布を解析した。その結果、妊娠マウスにドキソルビシンを投与すると、ドキソルビシンは、投与直後から胎児に移行しており、投与16時間後においても高濃度で胎児体内に存在していることが明らかとなった。また、母体にドキソルビシンを投与してから24時間後の胎児体内におけるドキソルビシンの分布を、ドキソルビシンの持つ蛍光特性を利用し、蛍光顕微鏡を用いて解析した。その結果、ドキソルビシンは、胎児の脳、肝臓及び消化管に高濃度で分布していることが明らかとなった。そこで、本研究では、ドキソルビシンに比べ母体から胎児に移行の少ない薬剤を探索することにより、乳がん治療における胎児の発育への悪影響を軽減させることができると考えた。

本研究では、ドキソルビシンに変わる新たな妊娠中の乳がんの治療薬の候補として、ドキシルに着目した。ドキシルは、ドキソルビシンをポリエチレングリコールで内包した直径約100nmのリポソーム製剤である。一般に、母体から胎児へ薬物が移行する場合、多くの薬物が受動拡散によって胎盤を透過するが、その際、分子量が600未満の薬物は移行しやすく、一方で、1000以上の薬物は透過できないことが報告されている。つまり、ドキソルビシンの分子量は、543.5であることから、胎盤を透過しやすい薬物に分類される。一方で、ドキシルは、物理的なサイズが大きいため、胎盤を介して胎児に移行しにくく、妊娠中の乳がん治療に適した製剤であると考えられる。本研究では、ドキシルの妊娠中の乳がんへの適応拡大を最終的な目標に掲げ、妊娠中の乳がん治療に対するドキシルの有効性について、ドキソルビシンを比較対象とし解析した。

## 2. 研究の目的

妊娠中の抗がん剤治療は、胎児への影響を懸念し行われぬ場合が多い。治療の選択肢が与えられず、妊娠を断念するケースもある。申請者は、抗がん剤の胎児薬物動態が不明なことが問題であり、それが明らかになれば、抗がん剤から胎児を守りつつ、母体を治療することが可能になると考えた。そこで本研究では、「抗がん剤の胎児薬物動態を解明し、妊娠中の抗がん剤治療

を可能にする方策を得ること」を目的とする。抗がん剤として、妊娠中乳がん治療選択薬の一つ、ドキソルピシンに特化するが、その理由は、放射性ラベルを用いずに動態追跡可能で、リポソーム製剤化することで胎児移行を低減可能であることを申請者が見出しているためである。ドキソルピシン本来の胎児薬物動態をリポソーム製剤(ドキシル)と詳細に比較検討し、通常の治療対象期間である器官形成期以降のドキシルの安全性を担保するとともに、妊娠初期という従来顧みられなかった妊娠期における治療の実現性についても明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### 1) ドキソルピシンとドキシルの胎児薬物分布の可視化

妊娠中期(妊娠 13 日マウス)に臨床用量を中心にドキソルピシンまたはドキシルを尾静脈内に投与し、経時的に胎児を取り出し、胎児全体の凍結切片を作製し、蛍光顕微鏡で観察し両者の違いを解析する。ドキソルピシン、ドキシルは蛍光を発する特性を有するため、物性を変えることなく追跡可能である。

#### 2) ドキソルピシンとドキシルの胎児中の薬物動態の比較解析

妊娠中期(妊娠 13 日マウス)に臨床用量を中心にドキソルピシンまたはドキシルを尾静脈内に投与し、経時的に胎児を取り出し、胎児全体の薬物濃度を蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィー(HPLC-FL)で定量し、1)の薬物移行性の違いを検討する。

#### 3) ドキソルピシンとドキシルの胎児臓器中の薬物濃度の比較解析

臨床用量を中心にドキソルピシンまたはドキシルを尾静脈内に投与し、経時的に胎児全体と胎児の各臓器(脳、肝臓、小腸など)を摘出し、それぞれの薬物量を 1)と同様にして測定する。その際、母体の血液、羊水、胎盤についても、胎児との薬物量の比較のために採取し解析を行う。

#### 4) 妊娠中期ドキソルピシンまたはドキシルの胎児臓器への影響(毒性)解析

胎児への分布が認められた臓器について、組織切片を作製し病理解析するとともに、細胞死の有無を免疫組織化学染色法により調べ、投与直後の直接的毒性の有無を明らかにする。

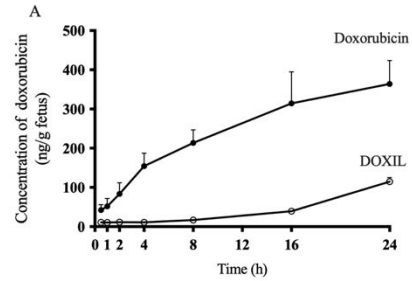
### 4. 研究成果

#### 1) ドキソルピシンとドキシルの胎児薬物分布の可視化

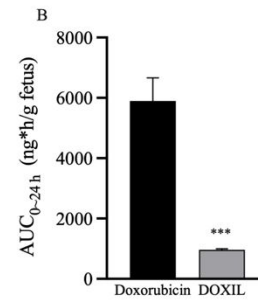
ドキソルピシンを投与した妊娠マウスでは、胎児中にドキソルピシンの移行がかなり観られたが、ドキシルを投与したマウスでは、胎児中のドキソルピシンの移行は抑制されていた(data not shown)。

2) ドキソルピシン及びドキシル 投与から 24 時間後までの胎児中ドキソルピシン濃度の経時変化とその AUC

ドキソルピシン投与群における胎児中ドキソルピシン濃度は、投与 24 時間後まで増加していた。ドキソルピシン投与群における投与 24 時間後の胎児中ドキソルピシン濃度は、364.0 ng/g fetus であった。一方、ドキシル投与群における胎児中ドキソルピシン濃度は、ドキソルピシン投与群と比較して、投与後 24 時間後まで緩やかに増加し続けた。ドキシル投与群における投与後 24 時間後の胎児中ドキソルピシン濃度は、114.9 ng/g fetus であり、ドキソルピシン投与群の 31.6% であった (Fig. A)。



さらに、定量結果を基に AUC を算出した。その結果、ドキソルピシン投与群の AUC を 100% とした場合、ドキシル投与群の AUC は、16.3% と著しく低い値を示した (Fig. B)。



3) ドキソルピシンとドキシルの胎児臓器中の薬物濃度の比較解析

当研究室では、これまでに、母体から胎児に移行した doxorubicin が、胎児の脳、肝臓及び消化管に高濃度で分布することを明らかにしている。そこで、母体に doxorubicin を投与 24 時間及び 72 時間後までの胎児の脳、肝臓及び消化管における doxorubicin の AUC を算出した。

その結果、投与 24 時間後では、脳、肝臓及び消化管のいずれの臓器においても、DOXIL® 投与群の AUC は、doxorubicin 投与群と比較して有意に低かった。また、各臓器の値を比較すると、肝臓及び消化管では、それぞれ 13.0%、7.4% と著しく低い値であったのに対し、脳では 42.0% であり、肝臓や消化管と比較すると差が小さかった。

	Whole	Brain	Liver	GI tract
	AUC <sub>0-24h</sub> (ng*h/g tissue)			
Doxorubicin	5687.6 ± 765.4	2531.0 ± 225.8	19276.2 ± 2200.1	3266.4 ± 610.9
DOXIL	960.0 ± 35.7	1064.5 ± 30.7	2497.0 ± 123.6	242.8 ± 90.2

4) 妊娠中期ドキソルピシンまたはドキシルの胎児臓器への影響 (毒性) 解析

妊娠中のドキソルピシン投与は、大脳および胎児自体の発育に影響を及ぼすが、ドキシルでは胎児および新生児に対しても影響がほとんどみられなかった。

考察

本研究では、胎児に対してより安全なドキソルピシンの変わりとなる薬剤の候補としてドキシルに着目した。ドキシルは、ドキソルピシンを PEG 修飾型の STEALTH リポソームに内包した直径約 100 nm のリポソーム製剤であり、その物理的サイズの大きさから容易には胎盤を透過しない。そのため、ドキソルピシンをドキシルに置き換えることで、ドキソルピシンの母体から胎児への移行を軽減できるのではないかと考えた。そこで、本研究では、妊娠中の乳がん治療におけるドキシルの有用性をドキソルピシンと比較検討した。ドキシルはドキソルピシンよりも胎児

への毒性の低い理由として、母体から胎児への移行量の差に着目し、解析した。その結果、投与24時間後までのドキソルピシン投与群とドキシル投与群におけるドキソルピシンのAUCの差は、84%であった。これらの結果から、ドキソルピシンは、投与直後から24時間後にかけて母体から胎児へと速やかに移行するのに対して、ドキシルでは、ドキソルピシンの母体から胎児への移行速度が遅いことが明らかとなった。

次に、本研究では、投与24時間後までに母体から胎児へと移行したドキソルピシンが、胎児の生存率を低下させた要因について、さらに詳細に解析するため、胎児の臓器別のAUCを算出した。その結果、投与24時間後までの胎児の脳、肝臓、消化管のAUCを比較すると、肝臓及び消化管では、ドキソルピシン投与群と比較してドキシル投与群では、それぞれ13.0%、7.4%と著しく低い値であったのに対し、脳では42.0%であり、肝臓や消化管と比較すると差が小さかった。

本研究では、現在、妊娠中の乳がん治療に対し、第一選択薬として用いられているドキソルピシンに比べ、母体から胎児への移行の少ない、より胎児に安全な治療薬の候補としてドキソルピシンのリポソーム製剤であるドキシルに着目し、その有用性をドキソルピシンと比較検討した。その結果、ドキシルは、ドキソルピシンに比べて、72時間後の胎児の生存率が約2倍になることが明らかとなった。また、その理由として、ドキシルを投与した際のドキソルピシンの母体から胎児への移行率の低いことが考えられた。特に、投与24時間後までの胎児の脳への移行率が、胎児の生存率に影響を及ぼしていることが示唆された。これらの結果から、ドキシルは、ドキソルピシンに比べて、妊娠中の乳がん患者に対して、より安全な製剤になりうることが示唆された。一方、ドキソルピシンを使う場合には、24時間後までの胎児中ドキソルピシン濃度が、その後の胎児の生存率に影響を及ぼすため、この間の胎児中のドキソルピシン濃度をコントロールすることによって、胎児への毒性を軽減できる可能性が示唆された。

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 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Wataru Ochiai
2. 発表標題 The influence of drug administration during pregnancy evaluated from the pharmacokinetic analysis of embryo
3. 学会等名 日本薬物動態学会（招待講演）（国際学会）
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------