

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590167

研究課題名（和文）抗癌剤感受性および薬物動態プロファイルの個人差に応じた個別投与設計法の開発

研究課題名（英文）Development of personalized medicine for cancer chemotherapy according to a variety of sensitivity and pharmacokinetics

研究代表者

濱田 哲暢 (HAMADA AKINOBU)

熊本大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：00322313

研究成果の概要（和文）：

非小細胞肺癌治療薬であるエルロチニブは皮膚障害など特徴的な副作用があり、急性肺障害（ILD）と遅延性の肝機能障害が問題である。エルロチニブの体内動態、遺伝子解析を実施し毒性との関連を評価した。評価遺伝子は ABCB1 とし、エルロチニブ血漿中濃度を HPLC 法にて測定した。エルロチニブ投与初日における ABCB1 1236-2677-3435 TT/TT/TT 患者の有意に高い血漿中濃度と高い副作用発現率を認めた。ILD 発症症例においてエルロチニブ血漿中濃度の著しい上昇が認められた。以上、本研究を纏めるとエルロチニブ体内動態および毒性の発現を予測する方法として ABCB1 遺伝子多型解析が期待される。

研究成果の概要（英文）：

**Objectives:** We analyzed the association of *ABCB1* polymorphisms with erlotinib-induced toxicity and the pharmacokinetics in patients with non-small cell lung cancer.

**Methods:** After erlotinib 150 mg was administered to 50 patients, *ABCB1* polymorphisms were analyzed via either TaqMan assays or direct nucleotide sequencing. Plasma concentrations were measured by high-performance liquid chromatography.

**Results:** The trough concentration at steady state ( $C_{ss}$ ) in patients with the *ABCB1* 1236TT-2677TT-3435TT genotype was higher as compared to others groups ( $P=0.021$ ) and this patients carrying this genotype had a higher risk of development for higher grade 2 toxicity ( $p=0.012$ ).

**Conclusion:** The present study suggested that the *ABCB1* 1236TT-2677TT-3435TT genotype was associated with higher concentration and the risk of development for higher toxicity in patients treated with erlotinib.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：オーダーメイド医療，分子標的薬，癌，薬剤反応性

## 1. 研究開始当初の背景

癌化学療法の実展は近年著しく、腫瘍細胞の特性である増殖・転移・血管形成に関与するシグナル伝達系へ作用する分子標的薬治療薬は画期的な新規抗癌薬の一つである。非小細胞肺癌に用いられる上皮増殖因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) ゲフィチニブ、エルロチニブは、標的分子である EGFR のキナーゼドメインに変異を有する腫瘍細胞に対して高い感受性を示すことが示された (Lynch TJ. N Engl J. Med, 2004)。すなわち、標的分子の遺伝子変異は治療効果予測可能なバイオマーカーの可能性が示されており、分子標的治療が更に前進したと考えられる。しかしながら、分子標的薬の副作用は従来の殺細胞型抗癌薬に認められる骨髄毒性は少ないが、急性肺障害 (ILD)、皮膚障害、下痢、食欲不振など非血液毒性が多い傾向がある。特に、EGFR-TKI であるゲフィチニブで発症する ILD 発症率は約 5%であるが、発症症例中の死亡率は約 40%と高く、最も注意すべき副作用であり、社会問題となっている。副作用発現は投与量と相関関係があることから、薬物血中濃度がその指標として有用であり、同じ EGFR-TKI であるエルロチニブの血中濃度-時間曲線面積 (AUC) あるいは最高血中濃度 (Cmax) が毒性予測パラメータとして有効との欧米人を対象とした報告もある。しかし、分子標的薬の副作用発症率は人種差があり、ゲフィチニブの ILD 発症率は欧米人で 1%以下と臨床上大きな問題となっていない。すなわち、副作用発現率は日本人の方が多い傾向にあることから、日本人を対象に分子標的薬においても副作用発現を予測するシステム開発は医薬品の安全管理のため緊急かつ重要な課題である。

## 2. 研究の目的

細胞内のキナーゼドメインを標的分子とするチロシンキナーゼ分子標的薬治療薬エルロチニブ・イマチニブを対象とし、至適投与量を決定する遺伝子群である薬物動態関連遺伝子群と腫瘍細胞標的分子を同時に解析し、副作用の発現回避と治療効果を期待できる目標血中濃度を設定し、患者個々の特性に応じた科学的な個別投与設計法の開発を目的として、1) 分子標的薬の感受性・薬物輸送機能に影響する遺伝子群の決定と多型解析 (PG)、2) 薬物血中濃度と抗腫瘍効果・副作用の相関解析 (PK/PD) により目標濃度設定、3) 薬物動態の個人差に影響する遺伝子と薬物体内動態の相関解析 (PK/PD) により目標濃度に合わせた至適投与量と臨床効果への影響を検証し、分子標的薬の個別投与設計法に必要な基盤情報を集積する。

## 3. 研究の方法

### (1) 非小細胞肺癌患者を対象とした EGFR-TKI の PK/PD/PD 試験

進行・再発非小細胞肺癌患者を対象に、腫瘍細胞の EGFR 遺伝子変異解析が可能であった症例を対象とする。EGFR の ATP 結合部位の遺伝子変異は EGFR-TKI と感受性の相関が確認された、exon 19 欠失、exon 21 L858R を評価する。腫瘍細胞 EGFR 遺伝子変異解析は本研究に参加する腫瘍内科医が実施した。文書にて同意が得られた患者を対象に、EGFR-TKI としてエルロチニブは 150mg を承認用法用量に従い経口投与を行う。対象患者は投与開始後 2 週間入院し、ILD 発症に注意する。投与初日、1 週間後および 2 週間後は 24 時間採血を行い、詳細な薬物動態パラメータを算出した。その後治療継続に従い血中濃度のモニタリングを実施する。エルロチニブの血中濃度は HPLC 法にて定量した。投与開始

後1ヶ月後に効果判定を実施し、腫瘍増殖の不変(SD)あるいは一部縮小(PR)をEGFR-TKI有効症例として、EGFR-TKIの血中濃度とEGFR遺伝子変異との相関解析を行う。また、不応例の血中濃度の比較も行い、EGFR-TKIの血中濃度が治療効果を予測するバイオマーカーとして有効か検証する。投与量の調整は主治医判断で臨床効果ならびに副作用に合わせて随時変更して良いとする。特に、副作用回避の減量投与した症例の場合、血中濃度と副作用の程度の変化を詳細に観察する。また、EGFR-TKIの薬物動態に関連する薬物代謝酵素CYP3A4並びに薬物トランスポータABCB1とABCG2の遺伝子多型解析を行い、血中濃度と薬物動態関連遺伝子の相互解析により血中濃度の個人差に影響するか検証を行う。解析予定症例は50例とし、熊本県呼吸器内科医(熊本地域医療センター、熊本中央病院、熊本市市民病院、熊本済生会病院)の協力を受けて症例を集積する。

#### (2)慢性骨髄性白血病患者を対象としたイマチニブPK/PD/PG試験

イマチニブの承認用法用量に従い、患者の病態に応じて慢性期に400-600mg/day、移行期・急性期に600-800mg/day経口投与を行った。投与開始後経時的(投与2ヶ月毎)に採血を行い、血漿中のイマチニブ濃度をHPLC法にて定量した。投与開始後2ヶ月にて血液学的完全寛解が認められない症例は投与量の増量あるいは試験計画の中止を検討する。観察期間は治療開始後12ヶ月と設定し、観察期間終了時点での投与量、生体試料中のイマチニブ濃度と臨床効果との相関解析を行い、イマチニブ血中濃度推移と臨床効果および副作用との関連を検討し、有効血中濃度を検証する。

6ヶ月以上臨床的有効性が確認された症例の投与量を至適投与量と決定する。患者毎の

至適投与量と性別、体表面積、腎機能、肝機能、前治療歴、血中濃度等について多変量解析を実施し、至適投与量の決定因子を探索、および血中濃度と副作用の関連について検討する。消化管粘膜にP-gpが発現することから、消化管吸収を制御する重要な因子の一つである。イマチニブの消化管吸収はP-gpにより制御されていることから、P-gpをコードするABCB1のpolymorphism(C3435T)はイマチニブの体内動態に影響すると考えられる。PK/PD解析と並行して薬物トランスポータABCB1、ABCG2、OCT1、OATP1B3、代謝酵素cytochrome P450 [CYP] 2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5の遺伝子多型を解析し、体内動態および臨床効果への影響を評価した。

#### 4. 研究成果

##### (1)非小細胞肺癌患者を対象としたEGFR-TKIのPK/PD/PG試験

非小細胞肺癌治療薬エルロチニブを投与される患者の薬物体内動態、副作用との関連を検討した。経口投与により2週間以内で定常状態に到達することが確認された。定常状態のトラフ血中濃度のバラツキは0.2-3.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と約11倍であった。皮膚障害は投与初日の最高血中濃度と有意に関連することが示された。急性肺障害を2例認められたが、高い血中濃度はリスク因子の一つと推定された。エルロチニブ体内動態に影響を与える遺伝子群として代謝酵素であるCYP1A2, CYP3A4, CYP3A5および細胞外排出タンパクであるABCトランスポータに属するABCB1とABCG2が考えられるが、P糖タンパクをコードするABCB1の1236C>T, 2677G>T/A, 3435C>Tと血中濃度との相関を認めた( $p<0.05$ )。ABCB1の変異型(TTT/TTT)を有する患者において有意な血中濃度の上昇とグレード2以上の皮膚障害の発生が認められた。更に、エルロチニブ代謝

物を網羅的に解析し、患者血液より 16 個の代謝物を同定し、患者個々の代謝物の生成比を算出したところ、グレード 3 以上の毒性発現患者においてグルクロン酸抱合活性低下が確認された。

(2) 慢性骨髄性白血病患者を対象としたイマチニブ PK/PD/PG 試験

慢性骨髄性白血病薬治療薬イマチニブの体内動態に影響する遺伝子群を探索行った。血中濃度と DNA が抽出されている 35 名の症例を対象とした。イマチニブの細胞外輸送に関与すると考えられる ABC トランスポータに属する ABCB1 と ABCG2 の遺伝多型は体内動態の個人差に影響は認められなかった。また、代謝酵素である cytochrome P450 (CYP) CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, CYP2D6 においても関連は認められなかった。その後他の因子を網羅的に探索したが、新たに organic anion transporting polypeptides である OATP1A2 and OATP1B3 の遺伝多型が関与する事を認めた。特に、イマチニブの体内動態に影響する遺伝子群を探索により、新たに organic anion transporting polypeptides である OATP1A2 の一塩基置換をプロモーター領域にあることを新たに同定した。

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 15 件)

1. Iwata K, Aizawa K, Kamitsu S, Jingami S, Fukunaga E, Yoshida M, Yoshimura M, Hamada A, Saito H. Effects of genetic variants in SLC22A2 organic cation transporter 2 and SLC47A1 multidrug and toxin extrusion 1 transporter on cisplatin-induced adverse events.

Clin Exp Nephrol. 2012 (accepted). 査読有り

2. Tsubata Y, Hamada A, Sutani A, Isobe T. Erlotinib-induced acute interstitial lung disease associated with extreme elevation of the plasma concentration in an elderly non-small-cell lung cancer patient, Journal of Cancer Research and Therapeutics, 8: 154-156(2012). 査読有り
3. Hamada A, Sasaki J, Saeki S, Iwamoto N, Inaba M, Ushijima S, Urata M, Kishi H, Fujii S, Semba H, Kashiwabara K, Tsubata Y, Kai Y, Isobe T, Kouroggi H, Saito H. Association of ABCB1 polymorphisms with erlotinib pharmacokinetics and toxicity in Japanese patients with non-small cell lung cancer, Pharmacogenomics, 13:615-624(2012). 査読有り
4. Iwata K, Aizawa K, Sakai S, Jingami S, Fukunaga E, Yoshida M, Hamada A, Saito H. The relationship between treatment time of gemcitabine and development of hematologic toxicity in cancer patients, Biol Pharm Bull, 34:1765-1768(2011). 査読有り
5. Yamakawa Y, Hamada A, Shuto T, Yuki M, Uchida T, Kai H, Kawaguchi T, Saito H. Pharmacokinetic impact of SLC01A2 polymorphisms on imatinib disposition in patients with chronic myeloid leukemia, Clin Pharmacol Ther, 90:157-163(2011). 査読有り
6. Yuki M, Yamakawa Y, Uchida T, Nambu T, Kawaguchi T, Hamada A, Saito H. High-performance liquid chromatographic assay for the

- determination of nilotinib in human plasma, *Biol Pharm Bull*, 34:1126-1128(2011). 査読有り
7. Masuda T, Hattori N, Hamada A, Iwamoto H, Ohshimo S, Kanehara M, Ishikawa N, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Kohno N. Erlotinib efficacy and cerebrospinal fluid concentration in lung adenocarcinoma patients developing leptomeningeal metastases during gefitinib therapy, *Cancer Chemother Pharmacol*, 67:1465-1469(2011). 査読有り
  8. Yamakawa Y, Hamada A, Nakashima R, Yuki M, Hirayama C, Kawaguchi T, Saito H. Association of genetic polymorphisms in the influx transporter *SLCO1B3* and the efflux transporter *ABCB1* with imatinib pharmacokinetics in patients with chronic myeloid leukemia. *Ther Drug Monit*, 33:244-250(2011). 査読有り
  9. Nambu T, Hamada A, Nakashima R, Yuki M, Kawaguchi T, Mitsuya H, Saito H. Association of *SLCO1B3* polymorphism with intracellular accumulation of imatinib in leukocytes in patients with chronic myeloid leukemia, *Biol Pharm Bull*, 34:114-119, 2011. 査読有り
  10. Shimokata T, Ando Y, Yasuda Y, Hamada A, Kawada K, Saito H, Matsuo S, Kondo M, Imaizumi K, Hasegawa Y. Prospective evaluation of pharmacokinetically guided dosing of carboplatin in Japanese patients with cancer, *Cancer Sci*, 101:2601-2605, 2010. 査読有り
  11. Costa DB, Kobayashi S, Yeo WL, Hamada A. Serum concentrations of erlotinib at a dose of 25 mg daily, *J Thorac Oncol*, 5:1311-1312, 2010. 査読有り
  12. Nambu T, Araki N, Nakagawa A, Kuniyasu A, Kawaguchi T, Hamada A, Saito H. Contribution of BCR-ABL-independent Activation of ERK1/2 to Acquired Imatinib Resistance in K562 Chronic Myeloid Leukemia Cells, *Cancer Sci*, 10: 137-142, 2010. 査読有り
  13. Maeda Y, Hamada A, Sanematsu E, Sasaki J, Yokoo K, Hira A, Saito H. Co-administration of irinotecan decreases the plasma concentration of an active metabolite of amrubicin, amrubicinol in rats. *Cancer Chemother Pharmacol*, 65: 653-659, 2009. 査読有り
  14. Fujimoto H, Higuchi M, Watanabe H, Koh Y, Ghosh AK, Mitsuya H, Tanoue N, Hamada A, Saito H. P-Glycoprotein mediates efflux transport of darunavir in human intestinal Caco-2 and *ABCB1* gene-transfected renal LLC-PK1 cell lines. *Biol Pharm Bull*, 32; 1588-1593, 2009. 査読有り
  15. Kawaguchi T, Hamada A, Hirayama C, Nakashima R, Nambu T, Yamakawa Y, Watanabe H, Horikawa H, Mitsuya H, Saito H. Relationship between an effective dose of imatinib, body surface area, and trough drug levels in patients with chronic myeloid leukemia. *Int J Hematol*, 89: 642-8, 2009. 査読有り

[学会発表] (計9件)

1. 濱田哲暢: 新規経口分子標的薬抗がん剤の体内動態とPharmacogenomics, 第9回日本臨床腫瘍学会, 2011. 7. 21-23, 横浜 (パシフィコ横浜) .
2. 濱田哲暢: 上皮成長因子受容体阻害薬 (EGFR-TKI)におけるTDM/PGx研究の展望, 第28回日本TDM学会・学術大会, 2011. 6. 18-19, 広島 (広島国際会議場) .
3. 濱田哲暢: 副作用とトランスポータ親和性を指標とし抗がん剤個別化治療戦略, 第25回薬物動態学会ワークショップ, 2011. 5. 12-13, 東京 (東京大学) .
4. 濱田哲暢: 呼吸器疾患の最前線: 基礎から臨床まで 抗悪性腫瘍薬の薬効・毒性を薬物動態から考察する, 第65回日本呼吸器学会・日本結核病学会九州支部秋期講演会, 2010. 11. 12, 熊本 (熊本市市民会館) .
5. 濱田哲暢: 良きがん化学療法をめざして分子標的薬におけるPK/PD解析, 九州山口薬学会ファーマシューティカルケア研修会, 2010, 2, 13, 別府 (ビーコンプラザ) .
6. 濱田哲暢: 抗悪性腫瘍薬開発における臨床薬理研究の役割 非小細胞肺癌に対する上皮増殖因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬の有害事象と薬物動態との相関解析に基づく個別投与設計の開発, 第30回日本臨床薬理学会年会, 2009. 12. 3-5, 横浜 (パシフィコ横浜) .
7. Akinobu Hamada: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, PK/PD of anticancer drugs for personalized medicine, International Symposium 2009 “New Perspectives in Cancer Research”, 2009. 11. 14, Ulsan, Korea.

8. 濱田哲暢: PK/PD解析から見た抗がん剤の効果・副作用-分子標的薬の至適投与設計法の開発, 医療薬学フォーラム2009, 2009. 7. 11-12, 京都. (京都国際会館) .
9. Akinobu Hamada: Association of pharmacokinetics and germline mutations in EGFR and ABC transporters with erlotinib toxicity in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC), 2009 Annual meeting American Society of Clinical Oncology, 2009. 5. 29-6. 2, Orlando, USA.

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: エルロチニブの副作用又は薬効を判定する方法

発明者: 濱田哲暢、佐々木治一郎、齋藤秀之、興梠博次

権利者: 国立大学法人熊本大学

種類: 特許

番号: A91205A 特願 2009-116385

出願年月日: 2009. 5. 31

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱田 哲暢 (HAMADA AKINOBU)

熊本大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号: 0 0 3 2 2 3 1 3

(2) 研究分担者

齋藤 秀之 (SAITO HIDEYUKI)

熊本大学・医学部附属病院・教授

研究者番号: 4 0 2 2 5 7 2 7

(3) 連携研究者

佐々木 治一郎 (SASAKI JI-ICHIRO)

北里大学・医学部・准教授

研究者番号: 6 0 4 1 9 6 3 7

川口 辰哉 (KAWAGUCHI TATSUYA)

熊本大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号: 5 0 2 4 4 1 1 6

(4) 研究協力者

安藤 雄一 (ANDO YUICHI)

名古屋大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号: 1 0 3 6 0 0 8 3