

機関番号：14301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21790520

研究課題名 (和文) 新規分子標的治療薬の体内動態とゲノム解析を基盤とした
個別化癌薬物療法の確立研究課題名 (英文) Development of personalized chemotherapy with novel molecular targeted
agents based on pharmacokinetic and pharmacogenomic analysis

研究代表者

福土 将秀 (FUKUDO MASAhide)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60437233

研究成果の概要 (和文)：

分子標的抗がん薬の体内動態と遺伝子多型、副作用の関連を検討した。薬物排出ポンプである ABCG2 の遺伝子変異 (421C>A) を保有する患者では、スニチニブ血中濃度が上昇し、副作用発現に繋がることを明らかにした。また、エルロチニブによる皮疹は、血中濃度と密接に関係することが明らかとなった。本研究により、抗がん薬の血中濃度モニタリングや遺伝子多型解析は、がん患者における副作用を回避する上で有用であることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

We examined the relationships between pharmacokinetics and genetic polymorphisms as well as adverse events in patients treated with molecular targeted anticancer agents. The genetic variation (421C>A) of ABCG2, an efflux transporter, was related to increased sunitinib exposure, resulting in the development of side effects. Furthermore, erlotinib-related rash was closely associated with plasma erlotinib level. These findings suggest that therapeutic drug monitoring and pharmacogenomic analysis help to prevent adverse events in cancer patients with molecular targeted therapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：分子標的治療薬、薬物動態、副作用、ゲノム情報、個別化投与設計

1. 研究開始当初の背景

新規分子標的治療薬のエルロチニブやソラフェニブ/スニチニブは、それぞれ非小細胞肺癌と腎細胞がんに対する新たな治療選択として期待される経口抗がん剤であるが、エルロチニブによる致命的な間質性肺疾患をはじめ重篤な副作用（皮疹、下痢、高血圧、手足症候群など）が多く、安全かつ適正な使用法の確立が急務とされる。

近年、薬理ゲノム研究の進歩に伴い、薬物代謝酵素や薬物トランスポータの遺伝子多型が薬物動態に影響を及ぼすことが解明されつつあるが、分子標的抗がん薬に関する情報は乏しい。一方、イマチニブのトラフ値が慢性骨髄性白血病患者の予後と相関することが報告され、薬物治療モニタリング (TDM) の重要性が認識されつつある (Larson et al: *Blood* 111: 4022-4028, 2008)。しかしながら、

新規分子標的治療薬の血中濃度と治療効果の関係については十分なデータが得られていない状況である。

2. 研究の目的

(1) スニチニブの薬物動態・薬理ゲノム解析

腎細胞がんに対するマルチキナーゼ阻害薬であるスニチニブの薬物動態変動因子、及び副作用関連因子について、基礎及び臨床的アプローチにより解明することを目的とした。

(2) エルロチニブの母集団薬物動態・薬理ゲノム解析

上皮成長因子受容体 (EGFR) 阻害薬であるエルロチニブの母集団薬物動態を明らかにするとともに、有害事象と薬物血中濃度の関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) スニチニブの薬物動態・薬理ゲノム解析

文書による同意の得られた腎細胞がん患者を対象に、スニチニブ (50 mg/day) 内服後経時的に採血し、薬物動態プロファイルを評価した。スニチニブ血中濃度測定には、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法または LC-MS 法を用いた。また、末梢血からゲノム DNA を抽出し、薬物動態関連遺伝子として薬物排泄トランスポーター ABCG2 及び薬物代謝酵素 CYP3A5 に着目し、遺伝子多型解析を実施した。治療期間中に認められた有害事象に関する情報 (発現時期や重症度) は、電子カルテシステムから収集した。スニチニブによる有害事象と薬物血中濃度の関係、及び遺伝子多型との関連について評価した。

スニチニブの輸送に対する ABCG2 の関与について、一過性発現 HEK293 細胞を用いて評価した。また、*in vivo* におけるスニチニブ体内動態に対する ABCG2 の役割に関して、*Abcg2* や *Abcb1a/1b* 遺伝子欠損マウス、及びトリプルノックアウト (TKO) マウス等を用いて詳細な検討を行った。

(2) エルロチニブの母集団薬物動態・薬理ゲノム解析

上述と同様に、文書による同意の得られた非小細胞肺癌患者を対象に、エルロチニブ (150 mg/day) 内服後経時的に採血し、薬物動態プロファイルを評価した。また、透析症例や中枢転移症例におけるエルロチニブの体内動態特性を評価した。エルロチニブ及びその活性代謝物 (OSI-420) 血中濃度測定には、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法を用いた。また、末梢血からゲノム DNA を抽出し、ABCG2 及び CYP3A5 について遺伝子多型解析を実施した。母集団薬物動態解析には、非線形混合効果モデルプログラム

NONMEM を用いた。FOCE-INTER 法を用いて、エルロチニブ及び OSI-420 の母集団薬物動態パラメータの同時推定を行った (ADVAN5)。治療期間中に認められた有害事象に関する情報 (発現時期や重症度) は、電子カルテシステムから収集した。エルロチニブによる有害事象が発現するまでの時間と薬物血中濃度の関係について、競合リスクを考慮して評価した (Gray 検定)。

なお、ヒトを対象とした臨床研究は、京都大学医学部附属病院及び医学部医の倫理委員会による承認を得て実施した。

4. 研究成果

(1) スニチニブの薬物動態・薬理ゲノム解析

スニチニブ治療開始後早期に、様々な重篤な副作用が発症した 1 例を経験した。服用 8 日目の本症例の薬物血中濃度は、他の患者と比べて顕著に高いことが判明した。本症例は、薬物排泄トランスポーター *ABCG2* 遺伝子変異 (C421A) のホモ型であり、薬物曝露量 (AUC) は野生型またはヘテロ型と比べて約 2 倍高いことが明らかとなった (図 1)。

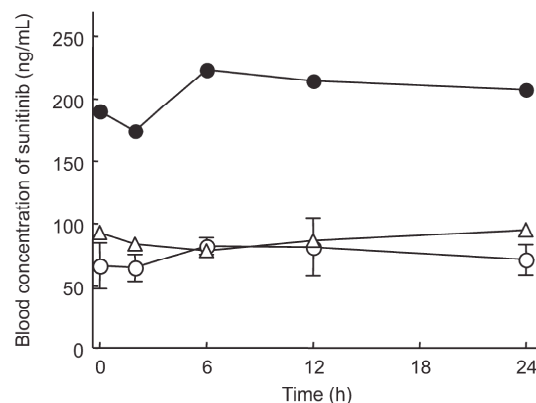


図 1. スニチニブの血中濃度プロファイル
○: ABCG2 421C/C (n=3)、△: ABCG2 421C/A (n=1)、●: ABCG2 421A/A (n=1)、発表論文 ①

次に、ABCG2 一過性発現 HEK293 細胞を用いて、スニチニブの輸送実験を行った結果、細胞内蓄積量はコントロール細胞と比較して有意に減少し、また細胞内から有意に高いスニチニブの排出が確認された。以上の結果から、スニチニブは ABCG2 の基質であることが示され、発現低下と関連する ABCG2 C421A 変異をホモで保有する場合、スニチニブの腸管からの吸収が増大し、副作用発現のリスクが上昇することが示唆された (発表論文 ①)。

さらに、ABCG2 とスニチニブ体内動態の関連について、*Abcg2* や *Abcb1a/1b* 遺伝子欠損マウス及び TKO マウス等を用いて検討した。その結果、スニチニブの脳内蓄積量は、野生型 FVB マウスと比較して TKO マウスにおいて顕著に増大することが判明し、ABCG2 は ABCB1 と協調的にスニチニブの中核移行障壁として、重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

(2) エルロチニブの母集団薬物動態・薬理ゲノム解析

透析施行中の非小細胞肺癌患者（3名）におけるエルロチニブ血中濃度プロファイルを非透析患者と比較した結果、薬物蓄積性は認められず、非透析患者の血中濃度と同程度であることが明らかとなった。また、透析患者において重篤な副作用は認められなかったことから、透析施行時においてもエルロチニブは安全に使用できることが示唆された（発表論文②）。中枢転移を有する肺癌患者において脳脊髄液中の薬物濃度を測定した結果、エルロチニブ/OSI-420 の中枢移行性は約 5-6%と極めて低いことなどが初めて明らかとなった（発表論文③、④）。

エルロチニブの母集団薬物動態解析を実施した結果、未変化体及び代謝物の見かけのクリアランスに対して性別や年齢、臨床検査値、併用薬の影響は認められなかった。一方、体重と服用日数が、エルロチニブの見かけのクリアランスの共変量として同定された。さらに、*CYP3A5*3* 多型ではなく *ABCG2 421C>A* 多型を保有する場合、エルロチニブと OSI-420 の見かけのクリアランスが、有意に低下することが明らかとなった。

エルロチニブの有害事象として皮疹が最も発現頻度が高かった。さらに、Grade 2 以上の皮疹の累積発現頻度は、服用 8 日目の AUC が中央値と比べ高い群の方が、AUC 低値群と比べ有意に高いことが判明した。発現頻度が次に高かった下痢に関して、エルロチニブの AUC と同様に *ABCG2 421C>A* 多型も、下痢の発現と関連することが明らかとなった。これらの結果は、ゲフィチニブに関する結果（Cusatis et al: *J Natl Cancer Inst* 98:1739-1742, 2006）とも対応しており、*ABCG2 421C>A* 多型は EGFR 阻害薬による消化器毒性のリスク因子の一つになる可能性が考えられた。

以上、本研究結果に基づき、エルロチニブの体内動態変動因子、及び副作用関連因子に関する有用な情報を得ることができた。今後、薬物動態と臨床効果（抗腫瘍効果や無増悪生存期間）、副作用に関する解析を進めることによって、エルロチニブの個別最適投与方法の開発が期待される。

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 4 件、全て査読有）

1. Mizuno T, Terada T, Kamba T, Fukudo M, Katsura T, Nakamura E, Ogawa O, Inui K. ABCG2 421C>A polymorphism and high exposure of sunitinib in a patient with renal cell carcinoma. *Ann Oncol* 21:1382-1383 (2010)
2. Togashi Y, Masago K, Fukudo M, Terada T, Ikemi Y, Kim YH, Fujita S, Irisa K, Sakamori Y, Mio T, Inui K, Mishima M. Pharmacokinetics of erlotinib and its active metabolite OSI-420 in patients with non-small cell lung cancer and chronic renal failure who are undergoing hemodialysis. *J Thorac Oncol* 5:601-605 (2010)
3. Togashi Y, Masago K, Fukudo M, Terada T, Fujita S, Irisa K, Sakamori Y, Kim YH, Mio T, Inui K, Mishima M. Cerebrospinal fluid concentration of erlotinib and its active metabolite OSI-420 in patients with central nervous system metastases of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 5:950-955 (2010)
4. Masago K, Togashi Y, Fukudo M, Terada T, Irisa K, Sakamori Y, Fujita S, Kim YH, Mio T, Inui K, Mishima M. Good clinical response to erlotinib in a non-small cell lung cancer patient harboring multiple brain metastases and a double active somatic epidermal growth factor gene mutation. *Case Rep Oncol* 3:98-105 (2010)

〔学会発表〕（計 7 件）

1. Higuchi K, Terada T, Fukudo M, Ogasawara K, Katsura T, Hatano E, Ikai I, Inui K. Upregulation of multidrug resistance-associated protein 4 in the early stage of vascular invasion of hepatocellular carcinoma. 2010 ASCO Annual Meeting, Chicago, IL, USA, June 4-8, 2010
2. Fukudo M, Togashi Y, Masago K, Terada T, Katsura T, Kim KH, Mio T, Mishima M, Inui K. Clinical pharmacokinetics of erlotinib and its active metabolite OSI-420 in patients with non-small cell lung cancer. The 25th JSSX Annual Meeting, Omiya, October 7-9, 2010
3. 水野知行、寺田智祐、神波大己、福土将秀、桂 敏也、中村英二郎、小川 修、乾 賢一. ABCG2 遺伝子多型のスニチニブ血中濃度に及ぼす影響. 第 48 回日本癌治療学会学術集会、京都、10 月 28-30 日、2010 年

4. 水野知行、増田智先、石橋直哉、福土将秀、矢野育子、乾 賢一、桂 敏也. 質量分析法を用いた経口チロシンキナーゼ阻害薬6種の一斉定量法の確立. 第20回日本医療薬学会年会、千葉、11月13-14日、2010年
5. 福土将秀、池見泰明、寺田智祐、桂 敏也、乾 賢一、富樫庸介、真砂勝泰、金 永学、三尾直士、三嶋理晃. 非小細胞肺癌患者におけるエルロチニブの体内動態と副作用に関する母集団解析. 第31回日本臨床薬理学会年会、京都、12月1-3日、2010年
6. 水野知行、福土将秀、寺田智祐、神波大己、中村英二郎、小川 修、乾 賢一、桂 敏也. ABCG2 遺伝子多型のスニチニブ体内動態に及ぼす影響と遺伝子欠損マウスを用いた薬物動態解析. 日本薬学会第131年会、静岡、3月29-31日、2011年
7. Mizuno T, Fukudo M, Terada T, Kamba T, Nakamura E, Ogawa O, Inui K, Katsura T. Pharmacogenomics of sunitinib in patients with renal cell carcinoma and pharmacokinetic analysis in Abcg2, Abcb1a/1b and triple knockout mice. The 112th Annual Meeting of American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics, Dallas, TX, USA, March 2-5, 2011

[その他]

ホームページ等

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~yakuzai/main.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福土 将秀 (FUKUDO MASAHIDE)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60437233