

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06716

研究課題名（和文）適切な抗凝固療法を目指した直接経口抗凝固薬の薬効および副作用に関する理論的解析

研究課題名（英文）Theoretical analysis of efficacy and side effects of direct oral anticoagulants for appropriate anticoagulation therapy

研究代表者

山田 安彦（Yasuhiko, Yamada）

東京薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40158225

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：抗凝固療法は、直接経口抗凝固薬（DOAC）の上市にともない、ワルファリン中心の治療から選択肢が増えた。DOACは、モニタリングの必要性も用量調節も必要なく安全に使用できるとされていたが、近年、その使用方法を改めて評価する必要性が生じてきた。本研究では、適切な抗凝固療法の施行を目指し、有効性・安全性の指標となるような血中薬物濃度域を推定すること、また、簡便な評価法の開発を目的とする。ワルファリンと比較した第3相試験の結果を解析することにより、血中第Xa因子阻害薬濃度の危険域と推定することができた。また、吸光度計を用いて評価可能な測定系を開発し、第Xa因子阻害剤濃度を測定することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

直接経口抗凝固薬はワルファリンと異なり用量調整が不可能である。多くの患者は、常用量で安全かつ有効に使用できるが、高齢者や併用薬が多い患者などは、安全に使用できるとは限らない。本研究の成果は、特に出血リスクが高くなる血中濃度域を明らかにできたため、血中濃度が変化しやすい病態の患者を抽出し、適切な抗凝固療法の施行に貢献できると考えられる。一方、直接経口抗凝固薬の血中濃度測定は液体クロマトグラフィー質量分析計が専らであり、設備の面で測定できる施設はかなり限られる。直接経口抗凝固薬はその血中濃度と標的酵素の阻害活性に相関関係があり、既報の条件を応用することで、特別な設備がなくとも血中濃度を評価できた。

研究成果の概要（英文）：With the launch of direct oral anticoagulants (DOACs), anticoagulant therapy has become more flexible, moving away from warfarin-based treatment. DOACs were considered safe to use without the need for monitoring or dose adjustment, but in recent years, it has become necessary to reevaluate their use. In this study, we aim to estimate the blood drug concentration range that will serve as an indicator of efficacy and safety, and to develop a simple evaluation method, with the aim of implementing appropriate anticoagulant therapy. By analyzing the results of a phase 3 trial comparing them with warfarin, we were able to estimate the risk range of blood Xa inhibitor concentrations. We also developed a measurement system that can be evaluated using an absorption spectrophotometer, and were able to measure the Xa inhibitor concentration.

研究分野：医療薬学

キーワード：直接経口抗凝固薬 血中濃度 比色法

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗凝固療法は、主に静脈血栓症(深部静脈血栓症、肺塞栓など)や、心房細動からの脳塞栓(心原性脳塞栓)の発症予防に用い、ワルファリンが中心的な役割を担ってきた。2010年代に直接経口抗凝固薬(direct oral anticoagulants; DOAC)であるダビガトラン、リバーロキサバン、アピキサバン、エドキサバンが相次いで上梓され、日本循環器学会の2013年の心房細動治療(薬物)ガイドラインでは、ワルファリンと同様に推奨薬となっている。ワルファリンは、ビタミンKを競合的に阻害し、ビタミンKが関与する血液凝固因子の第II因子(プロトロンビン)、第VII因子、第IX因子、第X因子の生合成を阻害することで、抗凝固作用を示す。一方、ダビガトランはトロンビン(第IIa因子)を直接阻害することで、リバーロキサバン、アピキサバン、エドキサバンは第Xa因子を直接阻害することで、抗凝固作用を示す。

ワルファリンは食品や薬物との相互作用が多数報告されており、作用機序が複雑なため、プロトロンビン時間あるいはトロンボテストによるモニタリングが必要であるが、直接経口抗凝固薬に関しては薬効・副作用のモニタリングは不要であるとされている。しかし、ダビガトランは2012年に安全性速報(ブルーレター)が発出されていたり、リバーロキサバンやエドキサバンも薬物相互作用が報告されたりしており、誰にでも安全に適用できるとは限らない。また、ワルファリンには、競合阻害するビタミンKが存在するため中和剤として使用できるが、直接経口抗凝固薬には中和剤が存在しないため、過量投与時など薬効が強く発現している場合などは、出血のリスクが高いまま経過観察や対症療法を行うしかない。

ダビガトランは血中濃度を経時的に測定することで、出血のリスクを軽減できるといった報告もあり、直接経口抗凝固薬投与患者で薬物動態の変化が予想される患者、例えば高齢者や複数の薬剤を服用している患者などは、血中薬物濃度などを指標に効果をモニタリングする必要があると考えられる。しかし、直接経口抗凝固薬の効果または副作用の指標となるバイオマーカーはもとより、有効血中濃度などの指標となる値も報告されていない。

各直接経口抗凝固薬は治験段階でワルファリンとの比較研究が多数報告されている。研究代表者らはそれらの情報を収集し、標的分子結合占有理論を用いて理論的に解析することで、ワルファリンを基準とした、有効性または副作用発現の指標となる血中濃度が算出できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

研究の目的は、直接経口抗凝固薬を安全にかつ有効に使用できる血中薬物濃度域を推定すること、また、簡便な血中薬物濃度測定法を開発することである。

3. 研究の方法

(1) 第Xa因子阻害薬の危険域の推定

第Xa因子阻害薬3剤(リバーロキサバン、アピキサバン、エドキサバン)に関して、解析に必要な薬物動態学的・力学的パラメータ(分子量、バイオアベイラビリティ、全身クリアランス、分布容積、解離定数等)を医薬品インタビューフォーム、承認申請資料概要、論文等をもとに収集した。

(2) 比色法を用いた抗Xa阻害薬濃度測定系の開発

第Xa因子の基質として、S-2222を用いた。S-2222は第Xa因子が認識するアミノ酸配列を含むペプチドで、第Xa因子によってArg残基のC末端側が切断され、発色物質であるp-ニトロアニリンが遊離し、黄色を呈す。ここに第Xa因子阻害剤が存在すると、第Xa因子の活性が抑制され、発色が弱くなる。第Xa因子の濃度依存的に発色が弱まるため、吸光度を測定することで第Xa因子の濃度を評価できると考えた。基質濃度、第Xa因子添加の必要性、第Xa因子を添加場合の添加量、血漿量、反応時間、反応温度の最適化を行った。凝固・線溶系因子を含んだコントロール血漿を疑似血漿として用い、試薬として購入可能であったリバーロキサバン、エドキサバンを評価対象とした。また、血中薬物濃度(C)を標的分子結合占有率()に変換し、第Xa阻害薬間での比較を行った。標的分子結合占有率は標的分子への結合の度合いを示す指標であり、解離定数(K_i)を用いて以下の(i)式で算出した。

$$\phi(\%) = \frac{C}{C+K_i} \times 100 \quad \dots (i)$$

4. 研究成果

(1) 第Xa因子阻害薬の危険域の推定

抗第Xa因子活性について、式(ii)から(iv)の関係式が得られた^{1, 2)}。

リバーロキサバン: 抗 Xa 活性 = $0.0171 \times C + 0.3034$... (ii)¹⁾
 アピキサバン: 抗 Xa 活性 = $0.0138 \times C + 0.2215$... (iii)¹⁾
 エドキサバン: 抗 Xa 活性 = $0.0125 \times C - 0.0228$... (iv)²⁾

また、各第 Xa 因子阻害薬の臨床用量を日本人に反復投与したときの最大血漿中濃度(Css^{max})、定常状態の血漿薬物濃度 (Css) の値と、それらの値と式 (ii) ~ (iv) を用いて算出した抗第 Xa 因子活性値を table 1 に示した。

Table 1. Css^{max} および Css と抗 Xa 活性

	用量	Css ^{max} [μg/L]	Css ^{max} の 抗第 Xa 因子活性	Css [μg/L]	Css の 抗第 Xa 因子活性
リバーロキサバン	15 mg	268.2	4.89	80.2	1.67
アピキサバン	5 mg	205.1	3.05	129.0	2.00
エドキサバン	30 mg	174.0	2.15	37.8	0.45
	60 mg	241.2	2.99	64.4	0.78

さらに、臨床効果と副作用の指標として、PT-INR を 2.0-3.0 にコントロールされていたワルファリン投与群と各 Xa 因子阻害薬投与群の比較試験を行った際に算出されたオッズ比 (OR) を抽出した (table 3)³⁾。

Table 3. ワルファリンの投与群に対する脳卒中および全身性塞栓症発現率と大出血発現率の OR

	用量	脳卒中および全身性塞栓症発現率	大出血発現率
リバーロキサバン	20 mg*	0.88	1.03
アピキサバン	5 mg	0.78	0.69
エドキサバン	30 mg	1.14	0.46
	60 mg	0.87	0.79

*欧米人データ。ただし、日本人 15mg1 日 1 回投与と欧米人 20mg1 日 1 回投与は同程度の 血中濃度が得られるため、常用量投与時の値として解析に用いた⁴⁾。

Css^{max} および Css から算出した抗第 Xa 因子活性と、ワルファリン投与群との有効性・安全性を評価したオッズ比の関係を fig. 1、2 に示した。

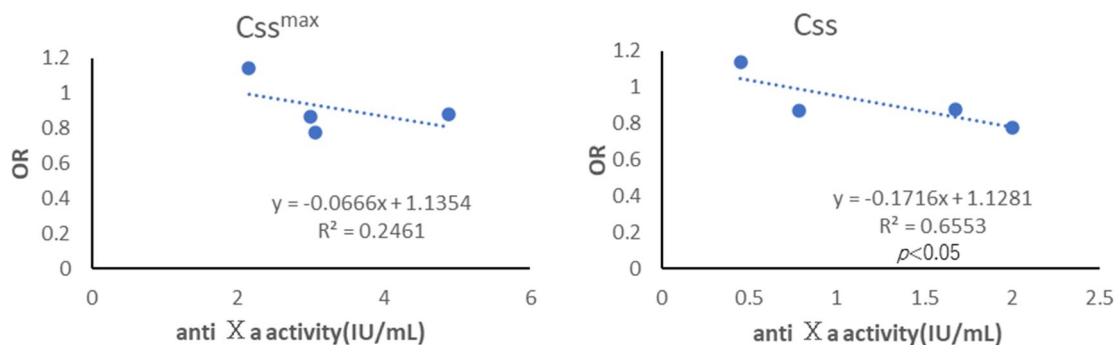


Fig. 1 脳卒中および全身性塞栓症発現リスクに関するオッズ比と抗第 Xa 因子活性の関係

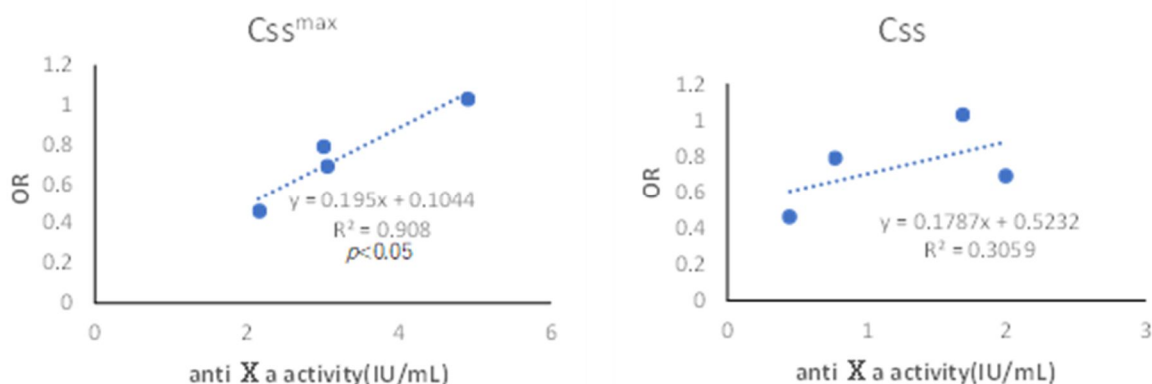


Fig. 2 大出血発現リスクに関するオッズ比と抗第 Xa 因子活性の関係

Fig. 1、2 より、 C_{ss} と臨床効果（脳卒中および全身性塞栓症発現率）に、 C_{ss}^{max} と副作用（大出血発現率）に有意な相関があることが示唆された。

(2) 比色法を用いた第 Xa 因子阻害薬濃度測定系の開発

当初、血漿中に存在する第 Xa 因子で測定が可能だと見込んだが、血漿を希釈せずに用いても、十分な発色を得ることができず、遺伝子組換え第 Xa 因子を添加することで評価系を構築した。血漿は淡黄色を呈しているため、血漿自体の影響を最小限に、かつ薬物濃度が測定できる希釈倍率が 4 倍希釈であった。また、反応時間は 20 分以降、2 時間は安定した吸光度が観測された。上記の条件で、リバロキサバン、エドキサバンをスパイクして検量線を作成したところ、両薬剤とも 4 係数ロジスティックモデルで回帰することができた (Fig. 3、4)。

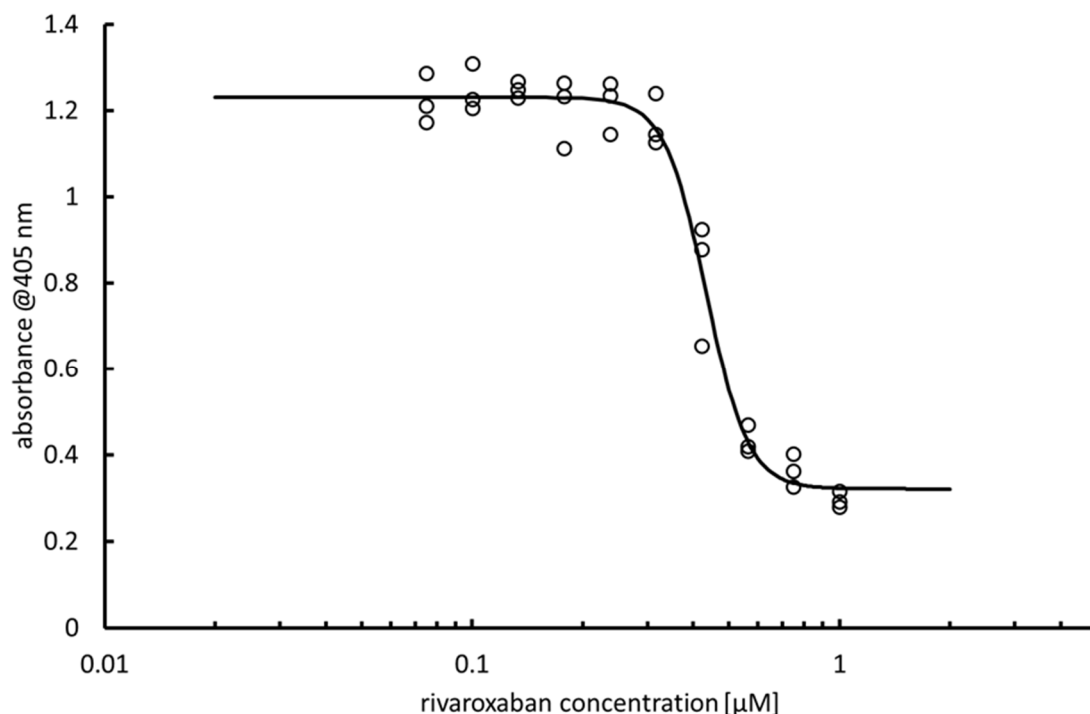


Fig. 3 リバーロキサバンの検量線

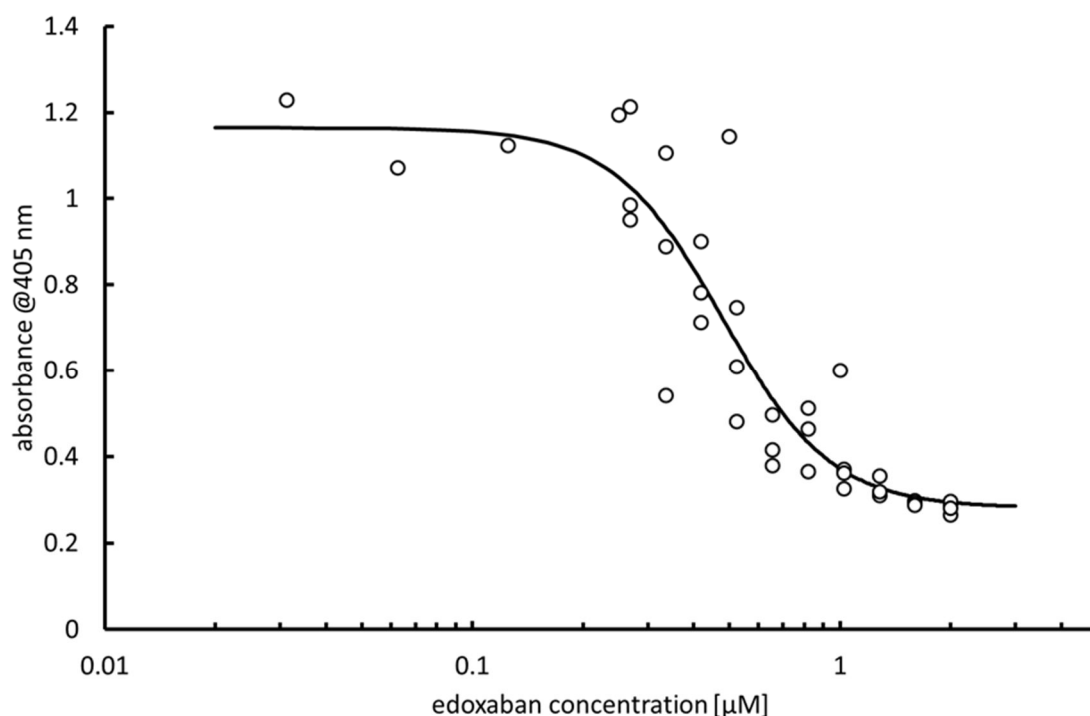


Fig. 4 エドキサバンの検量線

両薬剤は異なる濃度域で直線性を示したが、両薬剤の第 Xa 因子に対する結合定数を用いて、薬物濃度を標的分子結合占有率に変換したところ、同一の直線に回帰することができた (Fig. 5)。標的分子結合占有率と吸光度の間には相関があり、標的分子結合占有率を用いることで、異なる薬物でも同一の条件で評価可能であることが示唆された。

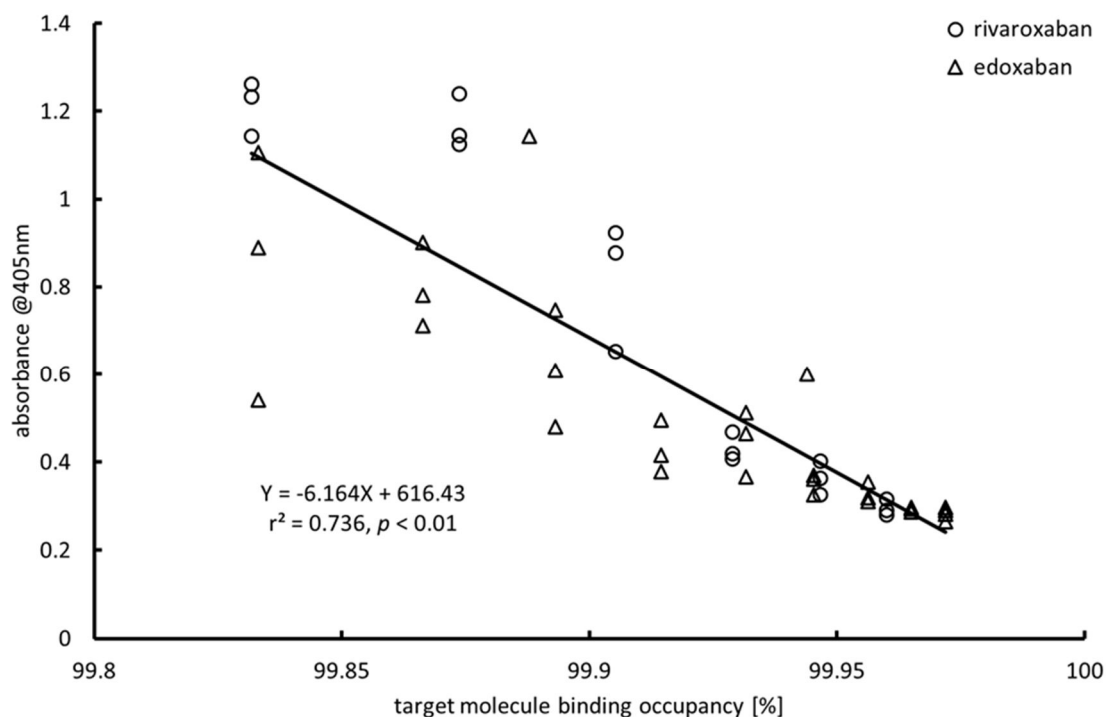


Fig. 5 標的分子結合占有率と吸光度の回帰分析

式 (ii) から (iv) のように、抗第 Xa 因子活性は第 Xa 因子阻害剤の濃度と比例関係があることが報告されている。第 Xa 因子阻害剤は血球にも移行することが知られており、報告者らは全血中の第 Xa 因子阻害剤の濃度を標的分子結合占有率に変換すると、ほぼ同一のプロファイルを示すことを明らかにしつつある。また、PT-INR によってコントロールされているワルファリン投与群と比較して、大出血発現率に関するオッズ比は、反復投与時の最大血漿中濃度と相関があり、また、脳卒中発症率に関するオッズ比は、反復投与時の平均血漿中濃度と相関することを明らかにし、今後有効血中濃度の推定を目指してさらなる解析を行っている。今回確立した、高度な設備を必要とせず、比較的簡単に第 Xa 因子阻害剤の濃度を評価できる測定系は、さらなるバリデーションは必要ではあるが、薬物濃度を標的分子結合占有率に変換することで、第 Xa 因子阻害剤に共通で適用することができると考えており、本研究の成果は、適正な抗凝固療法の施行に貢献できると考えられる。

<引用文献>

- 1) Jacob Bayer, Toby Trujillo, Sheila Fisher, Ann Ko, Stuart E. Lind, Tyree H.Kiser. Evaluation of a Heparin-Calibrated Antifactor Xa assay for Measuring the Anticoagulant Effect of Oral Direct Xa Inhibitors. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2016. 22(5): 423-428.
- 2) Jeanne Mendel, Robert J. Noveck, Minggao Shi. A randomized trial of the safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of edoxaban, an oral factor Xa inhibitor, following a switch from warfarin. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2013. 75(4): 966-978
- 3) Chris Cameron, Doug Coyle, Trevor Richter, Shannon Kelly, Kasandra Gauthier, Sabine Steiner, Marc Carrier, Kathryn Coyle, Annie Bai, Kristen Moulton, Tammy Clifford, George Wells. Systematic review and network meta-analysis comparing antithrombotic agents for the prevention of stroke and major bleeding in patients with atrial fibrillation. *BMJ open*.2014.4(6).
- 4) Takahiko Tanigawa, Masato Kaneko, Kensei Hashizume, Mariko Kajikawa, Hitoshi Ueda, Masahiro Tajiri, John F. Paolini, Wolfgang Mueck. Model-based Dose Selection for Phese Rivaroxaban Study in Japanese Patients with Non-valvular Atrial Fibrillationdrug. *metab pharmacokinet*.2013.28(1):59-70

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片桐文彦、田中（鳩山）紗緒里、坂本麻衣子、今浦将治、木村耕二、高柳理早、山田安彦
2. 発表標題 汎発性血管内血液凝固症治療薬トロンボモデュリン アルファの効果・副作用に関する理論的解析
3. 学会等名 第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片桐文彦、近藤海斗、大和田悠乃、木村耕二、高柳理早、山田安彦
2. 発表標題 抗凝固療法の適正化を志向した直接第Xa因子阻害薬の血中濃度簡易測定法の開発
3. 学会等名 第25回日本医薬品情報学会総会・学術大会
4. 発表年 2023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
研究分担者	片桐 文彦 (Fumihiko Katagiri) (60420642)	東京薬科大学・薬学部・講師 (32659)	

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