

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 24 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590223

研究課題名(和文) 個別化医療のためのフッ化ピリミジン系抗癌剤の定量的治療効果予測システムの構築

研究課題名(英文) Novel monitoring system of fluoropyrimidines for personalized therapy based on PK/PD modeling using dihydropyrimidine dehydrogenase activity as a biomarker of predicting efficacy and side-effects.

研究代表者

伊藤 由佳子 (Ito, Yukako)

京都薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：30278444

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)：消化器癌化学療法のkey drugである5-FUについて、バイオマーカーとしての肝臓でのDPD活性に着目し、同代謝酵素によって変換される生体内のuracil (Ura)とdihydrouracil (UH2)の比をサロゲートバイオマーカーとして血漿中5-FU濃度と腫瘍径との間におけるPK/PDモデルを構築した。血漿中UH2 / Ura比と肝臓中でのDPD活性との相関関係が成立し、さらに日内変動に関するパラメータをPK/PDモデル導入したところ、腫瘍径の予測値は実測値を十分説明し得る値を示した。本知見は個別化医療への実用的合理的投与設計と患者の身体的・経済的負担軽減に貢献し得ることが期待される。

研究成果の概要(英文)：For personalized chemotherapy in colorectal cancer (CRC), the relationship between plasma ratio of dihydrouracil (UH2)/uracil (Ura) and pharmacokinetics parameters of 5-FU was investigated to evaluate the usefulness as a surrogate marker of DPD activity in liver. Based on the pharmacokinetic parameters estimated from CRC rats, we developed a pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) model with plasma UH2/Ura ratio for predicting the tumor growth in CRC rats. Before 5-FU treatment, the measurement of UH2/Ura values as a surrogate biomarker of DPD activity in liver could predict tumor growth in CRC rats. Besides, the UH2/Ura ratio in plasma could be useful for the optimized dosage regimen for CRC chemotherapy. These findings would be cost-effective and helpful for personalized anti-cancer treatment

研究分野：薬物動態

キーワード：薬物動態 抗がん剤 PK/PD DDS

## 1. 研究開始当初の背景

5-FU は消化器癌の癌化学療法において key drug として汎用されている薬剤であり、そのメカニズムは、腫瘍細胞内でリン酸化されて、RNA および DNA の機能障害と合成阻害作用によって殺細胞効果を示す。一方、肝臓での DPD (dihydro pyrimidin-dehydrogenase) により約 80% が代謝を受けて不活化される。この DPD は体内の核酸代謝にも関与しており、ウラシル (Ura) からジヒドロウラシル (UH<sub>2</sub>) への変換に関わっている (図 1)。近年、尿中のウラシル/ジヒドロウラシル比と 5-FU の不活化酵素である DPD 活性との間の相関関係が報告され、DPD のバイオマーカーとして有用性が唱えられている<sup>1, 2)</sup>。しかし、個別化医療への実用的利用には至っておらず、投与量、血漿中薬物濃度、バイオマーカー (量)、抗腫瘍効果、といった関係因子を定量的に関連付けることが必要とされている。

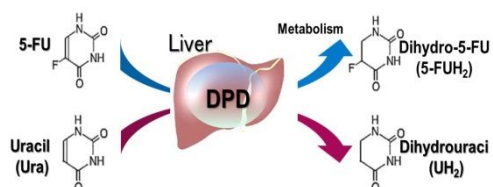


図 1 Pathway of degradation of 5-FU and Ura.

## 2. 研究の目的

5-FU は、バイオマーカーとして DPD 活性が副作用と薬効の指標になることが認識されてきたが、投与量、バイオマーカー (量) および薬効の定量的関係が確立されていないため、臨床では、無駄な投薬や過度の投与量の減量による完全奏功の妨げにつながっていた。そこで、本研究では、患者様から得られる尿または血清検体から得た DPD 活性を用いて、PK/PD 理論に導入することによって 5-FU の定量的治療効果予測システムを構築し、個

別化医療への実用的合理的投与設計が患者の身体的・経済的負担軽減に貢献出来ることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### 1) 大腸癌化学療法における血漿中 dihydrouraci/uraci 比のバイオマーカーとしての有用性

5-FU 化学療法に関して、肝臓中 DPD 活性に基づく投与設計の必要性が示唆されるものの、臨床の現場において治療への応用は難しい。そこで、患者様から提供可能な試料としての血液検体から血漿中 UH<sub>2</sub>/Ura 比の測定意義を見いだすことを目的として、血漿中 UH<sub>2</sub>/Ura 比と 5-FU 体内動態及び治療効果との関係について、DMH (1, 2-dimethylhydrazine) 誘発大腸癌モデルラット (CRC) モデルラットを用いて検討を行った。健康成人およびがん患者同様、ラットおよびマウスにおいても肝臓中 DPD 活性には日内変動が報告されているため、正常および CRC ラットの肝臓中 DPD 活性測定は同時刻に行い、Tateishi らの方法<sup>30)</sup>に準じて以下のように測定した。さらに、DPD 活性には日内変動が存在する、という報告があることから、5-FU の投与時刻が肝臓中 DPD 活性と血漿中 UH<sub>2</sub>/Ura 比との相関に及ぼす影響について検討した。

### 2) バイオマーカーを用いた PK-PD モデリングによる 5-FU 抗腫瘍効果予測システム

肝臓中 DPD 活性レベルに応じた 5-FU の抗腫瘍効果の定量的予測を目的として、血漿中 UH<sub>2</sub>/Ura 比をモデルに組み込んだ PK-PD モデルを構築した。5-FU 投与前に採取した血漿中 UH<sub>2</sub>/Ura 比は 5-FU の体内からの消失速度定数  $k_e$  と相関性を示したことから、5-FU 投与前に得られた血漿中 UH<sub>2</sub>/Ura 比から単回

帰直線式を用いて消失速度定数  $k_e$  を推定した後、PK-PD モデル解析を行った。PK-PD モデルの妥当性は、CRC ラットにおける血漿中 UH2/Ura 比、血漿中 5-FU 濃度及び大腸腫瘍体積の実測値との乖離の有無と、PD パラメータの変動係数 (coefficient of variation: CV%) より判断した。

#### 4. 研究成果

1) CRC ラットにおける肝臓中の DPD 活性に関して日内変動が確認されたとともに、血漿中 UH2/Ura との間には高い相関関係 ( $r^2 = 0.934$ ) が認められた(図 2)。また、5-FU 静脈内投与後の全身クリアランス  $CL_{tot}$  及び血中濃度 - 時間曲線下面積  $AUC_{0-}$  にも、肝臓中 DPD 活性同様、日内変動が認められ、血漿中 UH2/Ura 比と全身クリアランス  $CL_{tot}$  及び血中濃度 - 時間曲線下面積  $AUC_{0-}$  との間にはそれぞれ相関性が確認された ( $CL_{tot}$ :  $r^2 = 0.905$ ,  $AUC_{0-}$  :  $r^2 = 0.843$ )。これらの結果から、血漿中 UH2/Ura 比は肝臓中 DPD 活性だけではなく、5-FU 投与後の全身クリアランス  $CL_{tot}$  及び血中濃度 - 時間曲線下面積  $AUC_{0-}$  を予測し得る間接的バイオマーカーであることが明らかとなった。一方、5-FU の治療効果に関して、大腸腫瘍体積は肝臓中 DPD 活性変動に応じて変化しており、5-FU 投与開始

前に採取した血漿中 UH2/Ura 比と 5-FU 投与開始 10 日目の大腸腫瘍体積との間に強い相関関係が認められた ( $r^2 = 0.988$ )。したがって、5-FU による化学療法を施行する前の血漿中 UH2/Ura 比は、肝臓中 DPD 活性及び 5-FU 薬物動態学的パラメータのみならず、5-FU の抗腫瘍効果をも予測し得るバイオマーカーであることが示唆された。大腸癌患者に対する 5-FU の適正使用に関して、5-FU による化学療法を施行する前の血漿中 UH2/Ura 比の測定は、期待すべき血漿中 5-FU 濃度及び抗腫瘍効果に対応した投与設計に応用可能であり、個別化医療に向けた有用なバイオマーカーとなし得ることが示された。

2) PK-PD モデル解析(図 3)から得られた 5-FU 投与後の腫瘍体積の予測値は実測値にほぼ一致し ( $r^2 > 0.99$ )、良好な PD パラメータ値 ( $CV\% < 8.3$ ) を予測することができたことから、5-FU 投与前の血漿中 UH2/Ura 比を組み込んだ PK-PD モデルを用いることで、5-FU 投与後の大腸腫瘍体積の経時的変化を定量的に予測し得ることが示唆された(図 4)。したがって、大腸癌患者への 5-FU による化学療法を施行する前に血漿中 UH2/Ura 比を測定し、その値を用いた PK-PD 理論を導入することにより、個別化医療への実用的かつ合理的投与設計が可能になると考えられた。

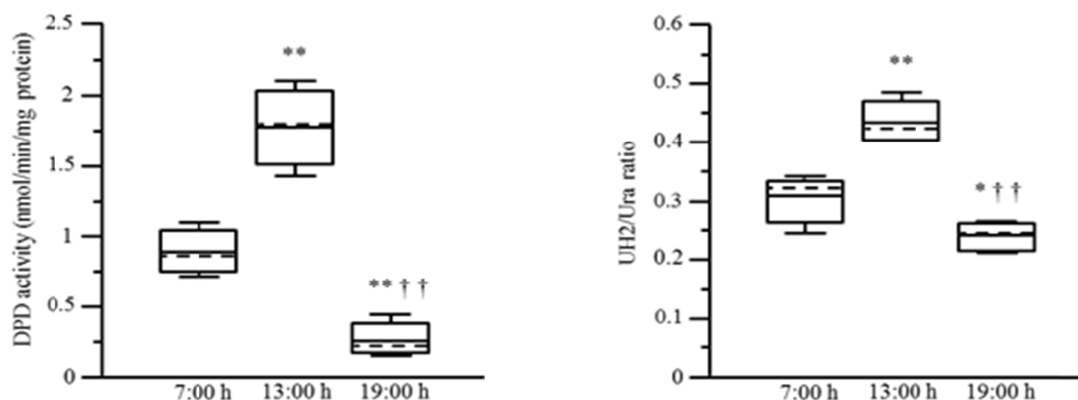


図 2 Circadian variation of DPD activity levels in the liver (left side) and the plasma UH2/Ura ratio (right side).

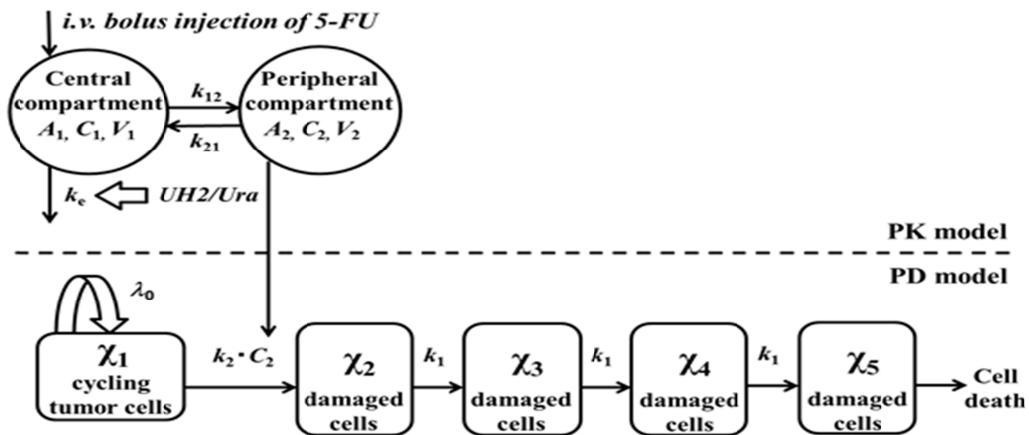


図3 Scheme of the pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK/PD) model

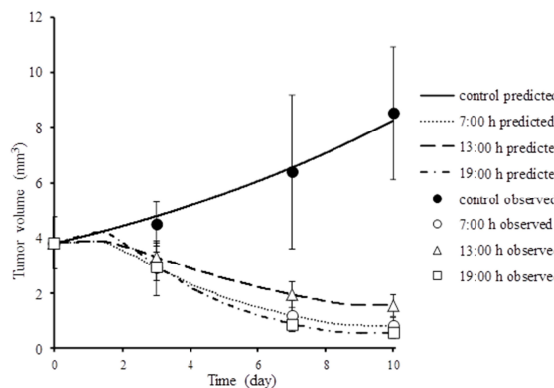


図4 Simulated time-course profile of tumor volume using PK/PD modeling)

## 引用文献

- 1) Important role of the dihydrouracil/uracil ratio in marketed interpatient variations of fluoropyrimidine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Clin Pharmacol.* 44, 1260-1272, 2004.
- 2) FU 系抗癌剤における簡便なオーダーメイド治療を目指した尿中ウラシルおよびプラズマ 5-FU クリアランスの併用測定. *Jpn J Cancer Chemother.* 30, 89-94, 2003.
- 3) Tateishi T, Nakura H, Watanabe M, Tanaka M, Kumai T, Kobayashi S. Preliminary examination of the influence of incubation time or cytosolic protein concentration on dihydropyrimidine

dehydrogenase activity. *Clin. Chim. Acta,* 252, 1-9 (1996).

## 5. 主な発表論文等

### 雑誌論文 (4件)

- 1) Shinji Kobuchi, Yukako Ito, Kae Okada, Kazuki Imoto, and Kanji Takada: Pharmacokinetics of 5-fluorouracil and increased hepatic dihydropyrimidine dehydrogenase activity levels in 1,2-dimethylhydrazine induced colorectal cancer model rats. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, 査読有 38(3), 2013, 171-181. DOI 10.1007/s13318-012-0114-9
- 2) Shinji Kobuchi, Yukako Ito, Kae Okada, Kazuki Imoto, Kuwano Shota, and Kanji Takada: Pre-therapeutic assessment of plasma dihydrouracil/uracil ratio for predicting the pharmacokinetic parameters of 5-fluorouracil and tumor growth in a rat model of colorectal cancer. *Biol. Pharm. Bull.*, 査読有 36(6), 907-916 (2013).
- 3) Shinji Kobuchi, Shota Kuwano, Kazuki Imoto, Kae Okada, Asako Nishimura, Yukako Ito, Nobuhito Shibata, and Kanji Takada: A predictive biomarker for altered 5-fluorouracil pharmacokinetics following repeated administration in a rat model of

colorectal cancer. *Biopharm. Drug Dispos.*,  
査読有 34(7), 365–376 (2013).

4) Shinji Kobuchi, Yukako Ito, Kae Okada,  
Kazuki Imoto, Kuwano Shota, and Kanji  
Takada: Pharmacokinetic/pharmacodynamic  
modeling of 5-fluorouracil by using a  
biomarker to predict tumor growth in a rat  
model of colorectal cancer. *J. Pharm. Sci.*,  
査読有 102(6), 2056–2067 (2013). DOI  
10.1002/jps.23547

学会発表 ( 5 件 )

- 1) Shinji Kobuchi, Yukako Ito, Taro  
Hayakawa, Asako Nishimura, Nobuhito  
Shibata, and Toshiyuki Sakaeda.  
Pharmacokinetic-pharmacodynamic  
(PK-PD) modeling of 5-fluorouracil  
(5-FU) using hepatic dihydropyrimidine  
dehydrogenase (DPD) activity levels for  
myelosuppression in rats. 19th North  
American Regional ISSX Meeting and  
29th JSSX Annual Meeting. October  
19-23, 2014. (San Francisco, California,  
USA).
- 2) Yukako Ito, Shinji Kobuchi, Taro  
Hayakawa, Asako Nishimura, Nobuhito  
Shibata, and Toshiyuki Sakaeda.  
Population  
pharmacokinetic-pharmacodynamic  
(PK-PD) modeling of 5-fluorouracil  
(5-FU) for myelosuppression in rats:  
predicting the whole time course of  
alterations of blood cell counts after the  
administration of various doses of 5-FU.  
19th North American Regional ISSX  
Meeting and 29th JSSX Annual  
Meeting. October 19-23, 2014. (San

Francisco, California, USA).

- 3) Shinji Kobuchi, Shota Kuwano, Akiko  
Baba, Kota Shinohara, Yukako Ito and  
Kanji Takada.  
Pharmacokinetic-pharmacodynamic  
modeling of 5-fluorouracil using the  
time-course of leukocytes and  
neutrophils for predicting the risk of  
myelosuppression in rats. 2013.10. 第  
28 回日本薬物動態学会 ( 東京 )
- 4) Shinji Kobuchi, Yukako Ito and Kanji  
Takada. A  
pharmacokinetic-pharmacodynamic  
(PK-PD) model with predictive  
biomarker to simulate colorectal tumor  
growth in rats after 5-fluorouracil  
treatment. 10th International ISSX  
Meeting (Toronto, Ontario, Canada),  
September 29-October 3, 2013.
- 5) Yukako Ito, Shinji Kobuchi and Kanji  
Takada. Plasma dihydrouracil/uracil  
ratio as a predictive biomarker for the  
effect and pharmacokinetics of  
5-fluorouracil in colorectal tumor  
growth. 10th International ISSX  
Meeting (Toronto, Ontario, Canada),  
September 29-October 3, 2013.

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

伊藤 由佳子 ( ITO, Yukako )

京都薬科大学・薬学部・講師

研究者番号 : 3 0 2 7 8 4 4 4