



Title	同種造血幹細胞移植におけるエトポシド/シクロホスファミド/全身放射線前処置レジメンの最適化に関する研究 : エトポシドのPK/PD解析による投与量の最適化および殺細胞効果を指標とした曝露順序の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	田澤, 佑基
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第11418号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55806
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuki_Tazawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称

博士(薬科学)

氏名 田澤 佑基

学位論文題名

同種造血幹細胞移植におけるエトポシド/シクロホスファミド/全身放射線前処置
レジメンの最適化に関する研究～エトポシドの PK/PD 解析による投与量の最適化および
殺細胞効果を指標とした曝露順序の検討～

同種造血幹細胞移植とは白血病の根治を目的として大量の抗がん薬や全身放射線(TBI)による骨髄破壊の前処置を行ない、その後にドナー由来の造血幹細胞を輸注することで造血機能を回復させる治療法である。標準的前処置としてシクロホスファミド(CY)と TBI を組み合わせた CY/TBI レジメンが開発されたが、同種移植における長期生存率は 40-50% と十分な治療成績が得られていない。そこで、治療強度を増強するためにリンパ性悪性腫瘍に対する有効性が確認されているエトポシド(VP-16)を 60 mg/kg の用量で併用した前処置レジメンが開発された。しかし、再発率の減少は認められるものの重篤な合併症による死亡例が増加し、生存率の向上は認められなかった。

北海道大学病院では VP-16 を 30 mg/kg の用量で併用する中等量 VP-16/CY/TBI 前処置を用いた同種造血幹細胞移植を施行してきた。その結果、3 年生存率は 89.2%、再発率は 8.6% と非常に良好な成績が示されている。このことより VP-16 の投与量が合併症を増加させず、再発率を減少させる上で重要であると考えられる。また、抗がん薬の曝露順序や曝露スケジュールの違いによってがん細胞への殺細胞効果が変化することが知られているが、本レジメンでの抗がん薬の投与順序による治療効果への影響については検討されていない。

そこで、本研究では中等量 VP-16/CY/TBI 前処置を用いた患者を対象として、VP-16 の体内動態(PK)と薬理作用(PD)を関連付けた投与量の最適化の検討を行なった。さらに、VP-16 と CY の投与順序の最適化を目的として、両薬物の曝露順序による殺細胞効果の違いを検討した。

まず、VP-16 の体内動態を解析するために、対象患者の VP-16 の血中濃度を経時的に測定し、PK パラメーターを算出した。その結果、VP-16 の血中濃度および PK パラメーターは患者間で大きく異なることが明らかとなった。そこで、VP-16 の血中濃度と有害事象(口内炎、下痢の Grade、サイトメガロウイルス(CMV)感染、血栓性微小血管症発現)との関連性を検討したところ、 C_{max} が高い患者では CMV 感染者が有意に多く、ROC 分析結果から CMV 感染の予測に C_{max} が優れた指標であることが示された。次に、血中濃度の変動要因を明らかにするため種々検討した。その結果、体重と分布容積(V_d)が血中濃度の個体間変動の要因であると示唆された。そこで、 V_d を推定するために、患者の身体情報や臨床検査値を独立変数としてステップワイズ回帰分析を行なった。その結果、体重の値を強制投入して解析した時に、影響の大きい順に Alb 値、BUN 値、T-bil 値、体重、年齢が選択され、相関係数は 0.80 と良好な相関を示した。これらの結果より、予測 V_d と ROC 分析から算出した目標 C_{max} から投与量を補正できると示唆された。ヒトでの検討では Alb 値や腎機能、肝機能など患者背景の違いが V_d と体重の相関に影響を及ぼしていると考えられた。そこで、健常ラットを週齢により体重差を群別して、VP-16 の血中濃度との関連性が認められるか検討した。その結果、体重が重い群の方が C_{max} と AUC が大きい値を示した。また、群間で体重の増加に伴い $T_{1/2\beta}$ 値に変化は認められなかったが、体重あたり

の Vd_{β} は減少した。これらの結果より、 C_{max} と AUC の増大には Vd の違いが関係していることが示唆された。ラットの体重と Vd との相関をみたところ強い正の相関が認められた。そこで、体重と実測 Vd の回帰式から Vd を予測し、目標として設定した血中濃度に合わせて、VP-16 の投与量を算出し、投与した。その結果、投与量を補正した群ではほぼ目標の血中濃度を得ることができた。これらの結果から、体重が VP-16 の血中濃度の個体間変動に大きく影響を及ぼしていると考えられる。

次に、中等量 VP-16/CY/TBI 前処置における VP-16 と CY の投与順序の最適化を目的として、白血病細胞への殺細胞効果を指標とした VP-16 と CY の曝露順序の影響を検討した。白血病細胞としてヒト慢性骨髄性白血病由来である K-562 細胞およびヒト急性リンパ性白血病由来の Jurkat 細胞を用いて検討した。なお、CY はプロドラッグであるため、CY の安定化活性体である 4-hydroperoxy cyclophosphamide(4-HPC)を用いて実験を行った。その結果、K-562 細胞に対し、低濃度 VP-16→4-HPC の順で曝露した場合には、4-HPC を単独曝露した場合と比較して生存曲線には大きな変動は認められず、 EC_{50} 値も有意な差は認められなかった。一方、低濃度 4-HPC→VP-16 の順に曝露した場合には、VP-16 を単独曝露した場合に比較して、生存曲線は大きく低濃度側にシフトし、 EC_{50} 値も VP-16 単独曝露群に比較して有意に低下した。低濃度の 4-HPC 曝露後の細胞周期解析では VP-16 の殺細胞効果の高い S 期の細胞が増加した。これらの結果から、K-562 細胞を先に 4-HPC に曝露すると S 期の細胞が増加するため、細胞周期依存的で特に S 期に強く作用する VP-16 の殺細胞効果が増強することが示された。さらに、Jurkat 細胞でも同様の検討を行ったが、低濃度の 4-HPC 曝露により、VP-16 の殺細胞効果の増強は認められず、細胞周期変化も確認されなかった。VP-16 は排出トランスポーターである P 糖蛋白質(P-gp)の基質であることが報告されており、白血病の治療抵抗性に関与すると報告されている。そこで P-gp を発現した K-562/P-gp 細胞でも低濃度 4-HPC→VP-16 の順で曝露することで VP-16 の殺細胞効果が増強するか検討した。その結果、低濃度の 4-HPC 曝露により S 期の細胞の増加と VP-16 の殺細胞効果の増強が認められた。次に、安全性も考慮したレジメンの最適化を目的として、ヒト血管内皮細胞由来の HUVEC 細胞を用いて前述と同じ方法で VP-16 と 4-HPC の曝露順序が殺細胞効果に与える影響を検討した。その結果、先に低濃度の 4-HPC に曝露しても VP-16 の殺細胞効果の増強は認められず、細胞周期の変化も認められなかった。さらに 4-HPC 以外の細胞周期を変化させる薬物でも VP-16 の殺細胞効果に影響を及ぼすか検討したところ、S 期の細胞数を減少させるドキソルビシンと VP-16 を前処理後に VP-16 を曝露した群は前処理をしていない群と比較して細胞生存曲線が上にシフトし、殺細胞効果の減弱が示された。

本研究結果より、患者の VP-16 血中濃度の変動要因に Vd の個体差が大きく影響していること、および臨床検査値から Vd を予測し投与量を補正できる可能性が示された。また、白血病細胞を用いた検討から、細胞周期を同調させる薬物を事前に投与することにより抗がん薬の効果を増強できる可能性が見出された。

本研究で得られた知見が抗がん薬治療のさらなる向上に貢献できることが期待される。