

氏名	齋藤 義正
学位の種類	博士 (薬学)
学位記番号	医薬保博甲第 165
学位授与の日付	平成 30 年 3 月 22 日
学位授与の要件	課程博士 (学位規則第 4 条第 1 項)
学位授与の題目	小児がん患者の QOL 向上を目指した支持療法の最適化に関する研究
論文審査委員	主査 玉井 郁巳 副査 崔 吉道 副査 金田 勝幸 副査 加藤 将夫 副査 中西 猛夫

学位論文要旨

【Abstract】

Supportive care is important to improve QOL for pediatric patients and their families, because cancer treatment may cause unwanted side effects. Pediatric cancer patients require individualized supportive cares for drugs such as cyclophosphamide, ifosfamide, and irinotecan that are essential drugs for the treatment of pediatric patients with solid tumors.

There are insufficient evidence on risk factors and supportive care of ifosfamide or cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. To investigate the risk factors and optimal supportive care for ifosfamide and cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis, in the present study the clinical records were retrospectively reviewed. The incidence of chemotherapy-induced hemorrhagic cystitis was suggested to be associated with the dosage amount of ifosfamid but not of cyclophosphamide. Chemotherapy-induced hemorrhagic cystitis is managed by adjusting the dose of ifosfamid through our appropriate supportive care.

Prophylaxis of irinotecan-induced late-onset diarrhea has been reported with Kampo medicines and with the antibiotic cefixime. These treatments have been explained in terms of inhibition of bacterial deconjugation of SN-38-glucuronide to SN-38, since unconjugated SN-38 (active metabolite of irinotecan) is responsible for the gastrointestinal toxicity. Since irinotecan-induced toxicity exhibits dose dependence and SN-38 was found as the substrate of intestinal uptake transporter OATP2B1, it was hypothesized that OATP2B1 contributes to accumulation of SN-38 in gastrointestinal tissues, and its inhibition would help to prevent associated toxicity. Apple juice may be helpful for prophylaxis of late-onset diarrhea observed in irinotecan therapy without disturbance of the intestinal microflora since apple juice has potential to inhibit OATP2B1-mediate transport of SN-38.

These studies demonstrated that pharmacists are able to contribute to better chemotherapy of pediatric cancer patients by mitigating chemotherapy-associated side effects.

【背景・目的】

小児の死亡原因は悪性新生物が常に上位に位置していることから、治療成績をさらに向上させていく必要がある。化学療法を施行する場合には、医薬品毎の特徴的な副作用を適切に管理するためには支持療法が必要不可欠である。小児は成人に向けての成長過程であるため、年齢によって体重や薬物動態などが多様であり、化学療法だけでなく支持療法についても個別の対応が必要である。しかし、小児がんは成人がんと比較して患者数が圧倒的に少なく、そのため細分化された疾患群において新規治療法を開発することは容易ではない。そのため、経験的な少数例の検討を積み重ね、日常診療に応用していくことが必要である。本学位論文では、小児がん患者やその家族の QOL 向上を目指し、最適な支持療法を提案することを目的とした。対象として小児がん治療に使用されるホスファミドとシクロホスファミドによる出血性膀胱炎に注目し、レトロスペクティブに両医薬品の支持療法を調査することによって、

出血性膀胱炎の危険因子や最適な支持療法について検討した。また、CPT-11 による重度の遅発性下痢は、そのメカニズムとして胆汁中に排泄された活性代謝物 SN-38 のグルクロン酸抱合体が腸内細菌により脱抱合されて生成する SN-38 に起因するとされている。そのため、下痢予防薬として併用される漢方薬や抗菌薬は脱抱合酵素阻害によると考えられている。本研究ではさらに、消化管毒性は SN-38 の組織蓄積量に依存すると考えられるため、SN-38 の消化管組織細胞内への移行性を低下させることも有用であると考えた。そこで、下痢発症には小腸上皮細胞に存在し、SN-38 の消化管組織細胞内への取り込みに働くトランスポーターとして見出した OATP2B1 に着目し、OATP2B1 阻害活性を有する果汁が下痢予防に利用可能か検討した。

【方法】

イホスファミドとシクロホスファミドによる出血性膀胱炎の支持療法に関する研究は、2010年1月から2014年12月までに国立がん研究センター中央病院小児腫瘍科において、イホスファミドまたはシクロホスファミドを含む化学療法が開始された30歳未満の固形がん患者を対象とした。解析に必要な情報は電子カルテから収集し、危険因子や最適な支持療法について検討を行った。各調査項目は、化学療法開始前の情報で直近のものとし、サイクル毎に評価した。出血性膀胱炎の予防法として用いる2-メルカプトエタンスルホン酸 (メスナ) は、イホスファミド1日投与量の20%相当量またはシクロホスファミド1日投与量の20-40%相当量をイホスファミドまたはシクロホスファミド投与時、その4, 8時間後に投与し、輸液は125 mL/m²/hの流速で投与した。人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に従い、国立がん研究センター中央病院研究倫理審査委員会の承認を得て行った。イリノテカン誘発性消化管毒性に対する新規毒性回避方法の提案に関する研究では、OATP2B1 トランスポーターを発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いて SN-38 の取り込みを検討した。さらに、SN-38 の取り込みに対するバイカリン、セフィキシム (CFIX) 及び果汁による阻害効果を検討した。

【結果・考察】

イホスファミド投与による出血性膀胱炎は、70例中9例(13%)、425サイクル中14サイクル(3.3%)でみられ、出血性膀胱炎の発現頻度はこれまでの報告と同程度であった。イホスファミドによる出血性膀胱炎発現の危険因子を評価するため、化学療法425サイクルを出血性膀胱炎発現の有無に分けて背景因子を比較した。イホスファミド1日投与量が危険因子になる可能性が示唆され、出血性膀胱炎の発現群と非発現群におけるイホスファミド1日投与量は、それぞれ $2.23 \pm 0.58 \text{ g/m}^2$ と $1.85 \pm 0.50 \text{ g/m}^2$ であった ($P=0.006$)。ここで、イホスファミドまたはシクロホスファミドによる出血性膀胱炎は、両医薬品の最終代謝産物の一つであるアクロレインが α , β -不飽和アルデヒドであるため反応性が高く、尿中に排泄されるため強い尿路障害性を有する。メスナは生体内で酸化されて二量体であるジメスナを形成し、尿細管で還元されメスナとして尿中に排泄され、アクロレインと結合して不活化することで出血性膀胱炎を予防すると考えられている。イホスファミドによる出血性膀胱炎が発現した

9例に注目すると、出血性膀胱炎を発現した次コースでは、9例中7例でメスナの増量や持続投与に変更することによって出血性膀胱炎の予防が可能であった。また、出血性膀胱炎がみられた場合、次コースで輸液流量を増加したすべての症例で出血性膀胱炎の発現はみられなかった。従って、イホスファミドによる出血性膀胱炎の支持療法として、輸液の流量増加ならびにメスナ投与量の増量や持続投与が出血性膀胱炎の発現率減少に寄与することが示唆された。

シクロホスファミドによる出血性膀胱炎は、81例中4例(4.9%)、486サイクル中5サイクル(1.0%)であった。シクロホスファミドについては、出血性膀胱炎の発現頻度が少なく危険因子を同定することはできなかった。シクロホスファミドよりイホスファミド[®]で出血性膀胱炎の発現頻度が高いのは、イホスファミドの代謝産物の一つであるクロロアセトアルデヒドが尿路障害性を有するためと考えられている。次に、シクロホスファミドを含む化学療法は、投与方法や投与量が大きく異なるため、シクロホスファミドの投与方法(単回投与 vs 分割投与)や投与量($<1,500 \text{ mg/m}^2$ vs $\geq 1,500 \text{ mg/m}^2$)によって分類し、メスナ投与の有無と輸液流量を比較検討した。シクロホスファミド投与量が $1,500 \text{ mg/m}^2$ 未満の場合、メスナ投与の有無で輸液流量を比較した時、それぞれ $106 \pm 16 \text{ mL/m}^2/\text{h}$ と $126 \pm 25 \text{ mL/m}^2/\text{h}$ になり、メスナ投与群で有意に少なかった ($P < 0.01$)。さらに、低・中等量群 311 サイクル中 3 サイクル (0.96%) で出血性膀胱炎が発現し、そのすべてでメスナが投与されていた。従って、メスナ投与にかかわらず、輸液は $125 \text{ mL/m}^2/\text{h}$ で投与する必要があると考えられた。高用量群では、199 サイクルのすべてでメスナを投与し、輸液流量は $115 \pm 16 \text{ mL/m}^2/\text{h}$ であった。1 サイクル (0.84%) で出血性膀胱炎が発現したことから、輸液流量が不足している可能性が考えられた。

イホスファミドの消失半減期は、 $1.6\text{-}2.4 \text{ g/m}^2$ の投与量では約 7 時間、 $3.8\text{-}5.0 \text{ g/m}^2$ の投与量では約 15 時間に延長する。そのためイホスファミドを高用量投与する場合には、消失半減期の延長に伴いアクロレインなどの代謝物が尿路上皮細胞と接触する時間が延長し、出血性膀胱炎の発現頻度を高めていることが考えられる。一方、シクロホスファミドでは、投与量が $6\text{-}80 \text{ mg/kg}$ の範囲では消失半減期は 2-9 時間で、臨床用量範囲内では個体差が大きいため半減期を一概に比較することはできない。アクロレインの中和剤であるメスナの消失半減期は 108 分と比較的短いため、イホスファミド投与時には、出血性膀胱炎発現の危険性が高い時は、メスナの増量と持続投与が有効な選択肢の一つになり得ると考えられた。また、シクロホスファミド投与時には、メスナ投与方法の変更よりも大量輸液による強制利尿によって物理的にアクロレインと尿路上皮細胞の接触時間を短縮することが有効であると考えられる。本研究で、メスナ投与量を調査したところ、シクロホスファミド 1 日投与量の 0-270% 相当量で使用されていた。出血性膀胱炎を発現した 4 例では、メスナ 1 日投与量は 120% を超えているため、メスナの増量は出血性膀胱炎の発現予防に寄与しない可能性がある。

CPT-11 による遅発性下痢の発症を規定する因子として、SN-38 の消化管組織細胞内蓄積が重要であるという仮説のもと、SN-38 の消化管組織細胞内取り込みに寄与するトランスポーターの探索を行った。本検討では、SN-38 の肝取り込みに働く OATP1B1 と同じファミリーで消化管に発現する OATP2B1 に着目した。OATP2B1 の cDNA をアフリカツメガエルの

卵母細胞に注入し、OATP2B1を発現させた実験系を用いてSN-38の取り込みを検討したところ、対照として水を注入した卵母細胞と比べ、OATP2B1を発現した卵母細胞でSN-38の取り込みは顕著に増大した。さらに、10分間の取り込みを比較した時、OATP2B1発現卵母細胞ならびに対照(水注入卵母細胞)でそれぞれ 1.15 ± 0.13 と $0.624 \pm 0.066 \mu\text{L}/\text{oocyte}$ であった。以上より、OATP2B1は、SN-38の消化管組織細胞内への取り込みに寄与している可能性が示唆された。CPT-11は肝細胞内で活性体であるSN-38に変換され、さらにUGT1A1によってグルクロン酸抱合された不活性なSN-38Gが生成する。SN-38Gは血中に直接的に戻るとともに胆汁を介して消化管内に排泄され、腸内細菌の β -グルクロニダーゼによってSN-38に再変換される。CPT-11による重篤な下痢は消化管組織内のSN-38に起因すると考えられ、下痢の支持療法として消化管腔内 β -グルクロニダーゼを阻害するバイカリンを含む漢方薬や β -グルクロニダーゼを産生する腸内細菌の除菌にセフェム系抗生剤CFIXが用いられる。しかし、本研究ではOATP2B1を介したSN-38の取り込みをCFIXやバイカリンが濃度依存的に阻害することが見出された。CPT-11とSN-38は、酸性条件ではラクトン体を形成し、生理的pHやそれより高い条件ではカルボン酸体を形成し、ラクトン体はカルボン酸体よりも単純拡散による膜透過性が高い。そこで、SN-38のカルボン酸体およびラクトン体の取り込みに対するCFIXの IC_{50} 値を算出したところ、それぞれ $2,078 \pm 1,040$ と $1,303 \pm 389 \mu\text{M}$ であった。また、バイカリンの IC_{50} 値は、それぞれ 97.7 ± 22.3 と $9.41 \pm 2.83 \mu\text{M}$ であった。CFIXは 8 mg/kg を1日1回経口投与するが、仮に体重が 10 kg の患児が服用する場合、 80 mg ($158 \mu\text{mol}$)を服用することになる。小児では成人と異なり、少ない量の水で服用することが予測されるため、 $0\text{-}100 \text{ mL}$ の水で服用した場合の濃度を計算すると $1.5\text{-}3 \text{ mM}$ になり、OATP2B1に対する IC_{50} 値から、阻害作用を示すことが示唆される。バイカリンを含む漢方薬である半夏瀉心湯は、1回 2.5 g を服用するが、その中には約 $12.7\text{-}38.1 \mu\text{mol}$ のバイカリンを含んでいる。仮に 200 mL の水で服用した場合、単純にその濃度を計算すると $64\text{-}160 \mu\text{M}$ になり、OATP2B1に対する IC_{50} 値と比較して低いことが示唆される。バイカリンとCFIXは、臨床用量でOATP2B1を介したSN-38の取り込みを阻害することが考えられる。従って、CPT-11投与による遅発性下痢の発現予防には、OATP2B1を介した小腸上皮細胞へのSN-38の蓄積を減らすという新しい概念が加わることが示唆された。さらに、OATP2B1活性は果汁によって低下することが報告されている。そこで、SN-38についてもOATP2B1を介した取り込みを測定したところ、取り込み量は市販の100%リンゴ果汁による濃度依存的な減少がみられ、ラクトン体とカルボン酸体の IC_{50} 値は、それぞれ、 $6.93 \pm 2.11\%$ と $20.3 \pm 3.67\%$ であった。リンゴ果汁によるOATP2B1阻害には、競合的阻害と持続的阻害の2つの機序が報告されているが、本検討では少なくともリンゴ果汁によって競合的な阻害を受けることが示された。生体では、競合阻害だけでなく持続的阻害が加わり、リンゴ果汁の服用はSN-38の消化管組織内蓄積性を低下させることが予想される。従って、CPT-11による遅発性の下痢に対する支持療法としてリンゴ果汁服用の有効性が期待できる。本アプローチの有効性を証明するためには臨床試験が必要になるが、実臨床ならびに日常生活で利用しているCFIXとリンゴ果汁を利用するため、安全性プロファイルは良好であり、今後の臨床研究が期待される。

【結論】

小児および若年成人では、イホスファミドやシクロホスファミドによる出血性膀胱炎発現の危険因子としてイホスファミド1日投与量との関連性を示唆することができた。出血性膀胱炎発現の危険性が高い場合には、輸液の流量増加、メスナ投与量の増量や持続投与を考慮することで副作用を軽減できることを見出した。一方、シクロホスファミドでは危険因子の同定には至っていないが、シクロホスファミドの投与方法や投与量によって支持療法を選択することが有用である可能性を示唆できた。CPT-11による下痢は、胆汁中に排泄された活性代謝物 SN-38 のグルクロン酸抱合体が活性体の SN-38 に変換される腸内細菌の持つ酵素活性のみならず、新たに小腸組織内への SN-38 の蓄積に関与するトランスポーターOATP2B1を見出した。酵素阻害により SN-38 毒性を低下させる CFIX やバイカリンと同様に OATP2B1 活性阻害作用を有する果汁を、新たに下痢抑制に利用できる可能性を示唆した。その有用性は臨床試験で裏付ける必要はあるが、新しい CPT-11 による下痢予防策の提唱に至った。

以上、本学位論文では患児や家族の QOL 向上について直接証明には至っていないが、出血性膀胱炎ならびに下痢の重症度や発現頻度を減らす支持療法の提案に至る成果を得ることができたとともに、果汁を副作用対策に利用できれば、将来の小児がん患者やその家族の QOL 向上に寄与することが期待できる成果を得ることができた。

審査結果の要旨

本論文は、患者数が少ない等の理由で未だ十分な情報がない小児がん患者やその家族の QOL 向上を目指し、小児化学療法に望まれる効果的な副作用予防法の提案を目的とし、イホスファミド (IFO)、シクロホスファミド (CFO)、および塩酸イリノテカン (CPT-11) に着目し、出血性膀胱炎と下痢に対する支持療法を検討したものである。IFO による出血性膀胱炎の危険因子と支持療法のレトロスペクティブな解析から、1 日投与量が危険因子になる可能性を示すとともに、本副作用の支持療法として輸液流量の増加ならびにメスナ投与量の増量や持続投与の有効性を見出した。CFO について同様な解析を行ったところ、危険因子の同定には至らなかったが、本薬による出血性膀胱炎の頻度は少ないことから、輸液による強制利尿とメスナによる予防が有効であることを見出した。CPT-11 に伴う遅発性下痢の発症影響因子として、活性代謝物 SN-38 の消化管組織内蓄積に寄与する OATP2B1 輸送体を見出した。OATP2B1 活性は食品により変動することからリンゴに着目したところ、SN-38 の OATP2B1 を介した輸送は市販リンゴ果汁により濃度依存的に低下することなどから、リンゴ果汁の服用は SN-38 の消化管組織内蓄積性を低下させ、CPT-11 の遅発性下痢予防に有効である可能性を示した。以上の成果は、化学療法に伴う副作用防止に向けた新しい支持療法を提案するものであり、本論文は博士（薬学）に値すると判断された。