

論 文

抗悪性腫瘍薬・ダカルバジンのラットを用いた
薬物動態学的モデル解析の基礎的検討¹喜里山 暁 子 ²山 下 修 吾 ²木 村 峻 輔¹同志社女子大学・薬学部・医療薬学科・准教授²同志社女子大学・薬学部・医療薬学科・特別任用助教（有期）Basic study of pharmacokinetic model analysis
of anti-cancer agent, dacarbazine, using rats¹KIRIYAMA Akiko ²YAMASHITA Shugo ²KIMURA Shunsuke¹Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Doshisha Women's College of Liberal Arts, Associate professor²Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Doshisha Women's College of Liberal Arts, Assistant professor (contract)**Abstract**

Dacarbazine is a therapeutic agent for melanoma of alkylating anti-tumor agents. In this study, we examined its pharmacokinetic characteristics using experimental animals and investigated using various pharmacokinetic model analysis methods. The pharmacokinetic behavior of the drug can be simulated in the various treatment routes and/or schedules and provide basic information on medical treatment.

The pharmacokinetics of dacarbazine followed a 2-compartment pharmacokinetic model, namely some organs being rapidly distributed and some organs taking a long time, resulting in a relatively large volume of distribution. No accumulation of dacarbazine was observed in the body after intravenous administration once daily for 5 days, which is the standard treatment schedule in clinical practice. It shows effective pharmacokinetics as drugs with a concentration-dependent effect.

Dacarbazine is usually administered rapidly intravenous bolus or by iv infusion, though it is considered that dacarbazine shows similar pharmacokinetics and is effective even in the extravascular route where rapid absorption, with an absorption rate constant (k_a) of about 0.5 min^{-1} or more, can be obtained.

Using the pharmacokinetic modeling technique, it is possible to predict the pharmacokinetics when administered under various conditions, and further to predict the degree of effect onset and the time transition (duration) of the effect. In addition, by proceeding with the study, it is possible to estimate how the pharmacokinetics will change and how the effects of the drug will be affected when combination therapy is given as compared to monotherapy. Similarly, when physiological conditions change, such as age and

pathological condition, the outcome of drug therapy is estimated by how the pharmacokinetics and drug effects are affected or hardly affected.

Keywords: anti-cancer agent, dacarbazine, pharmacokinetic modeling, rat

1. Introduction

ダカルバジン (dacarbazine, 5-(3,3-dimethyl-1-triazeno)imidazole-4-carboxamide (DTIC), Figure1) は、1980年代半ばに市場された抗悪性腫瘍薬で、マウス腫瘍モデルで広範囲の抗腫瘍活性を持つ DNA メチル化剤である¹⁾²⁾。ヒトに対しては、悪性黒色腫³⁾、ホジキンリンパ腫、褐色細胞種に保険適応が認められている。またホジキン病のアドリアマイシン、ブレオマイシン、およびビンクリスチン (ABVD) による治療レジメンでも使用され、進行性黒色腫および軟部組織肉腫の治療に使用される。

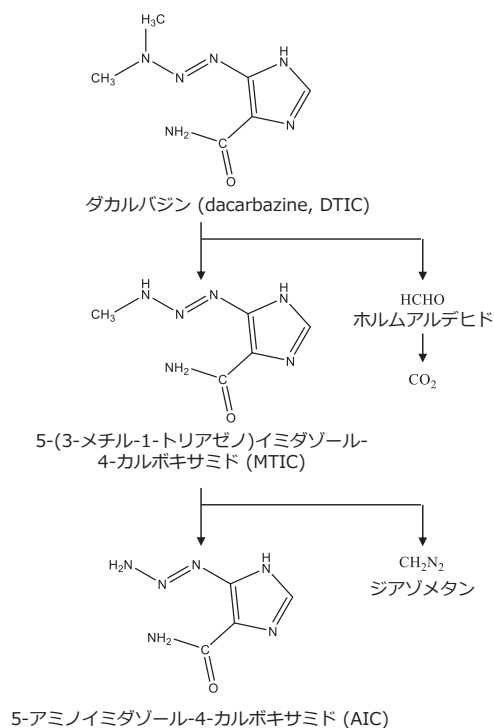


Figure 1 Chemical structure and metabolic pathway of dacarbazine

ダカルバジンの適応となっている悪性黒色腫 (メラノーマ) は皮膚がんの一種で、メラニンを作る細胞が悪性化することによる腫瘍である。原因は明らかではないが、皮膚への摩擦、圧迫といった外的刺激、紫外線などにより誘発され、足の裏や手のひら、腹、背中など様々な部位に発症する。多くは黒色調の色素斑ないし腫瘤となって現れ、「ほくろ」との区別が難しいが、一般的に形状が左右非対称で不規則、病変部位の境界が不明瞭・不均一、色調に濃淡がある、表面が隆起しているなどの所見を伴うことが多い。日本では、1年間で人口10万人あたり2人程度発症⁴⁾するといわれ、2014年の日本における悪性黒色腫の患者数は約4,000人、男女の患者比はほぼ同程度である⁵⁾。年代別では50歳代から増加傾向にあり、60歳代、70歳代に最も多く発症する。また、発症数は少ないものの20~30歳代の発症も認められている⁶⁾。悪性黒色腫の治療は、他臓器への転移がないⅠ~Ⅲ期までは外科的療法が中心で、術後の転移や再発防止に薬物療法がおこなわれる。他臓器に転移が認められるⅣ期や手術が適応できない場合は薬物療法が中心となる⁷⁾。薬物療法では、近年免疫チェックポイント阻害薬の開発や分子標的薬が増加し選択肢が広がっているものの、遠隔転移を生じたメラノーマ患者の予後は極めて不良であり、5年生存率は10%程度と報告されており、まだまだ悪性度の高い疾患で有効な治療法が現段階ではない⁸⁾。

Figure 1 に示すように、ダカルバジンの主消失経路は代謝で⁹⁾、肝ミクロソーム中の CYP1A2 によって酸化的代謝により N-脱メチル化され¹⁰⁾¹¹⁾、不安定な代謝物5-(3-メチル-1-トリアゼノ)イミダゾール-4-カルボキサミド (MTIC) を経て、5-アミノイミダゾール-4-カルボキサミド (AIC) とジアゾメタンになる

ことが報告されている¹²⁾¹³⁾。そのジアゾメタンがDNAにアルキル基を付加することで癌細胞の増殖に必要な遺伝情報が刻まれたDNAの複製を阻止し、抗腫瘍効果を発揮する¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。アルキル化剤の効果は濃度依存的で、高用量を投与し設定された治療域以上の血漿中濃度に到達させることにより、抗腫瘍効果を発揮する¹⁷⁾。ただし、その血漿中濃度を長時間維持してしまうと副作用の原因となり、化学療法の継続が不可能となる。したがって、有効な薬物療法を継続的に行うためには、高用量を投与することにより高い血漿中薬物濃度に到達させ、その後速やかに体内から薬物が消失していく必要がある。薬物の体内動態がどのようなものであるか、その特性を検討することにより、結果として薬物の効果を推定することができ、また薬物の体内動態を様々な手法で制御することにより、効果の発現をコントロールすることも可能となる。

本研究では、このメラノーマ治療薬・ダカルバジンをモデル薬物として用い、実験動物を用いてその体内動態特性について検討し、その特性をもとに体内動態のモデル解析手法を用いて、各種治療計画での体内挙動についてシミュレーションを行い、治療に関する基礎的情報を提供する。

2. 実験方法

2. 1 実験材料

ダカルバジンは富士フィルム和光純薬株式会社(大阪、日本)より購入した。メタノール(LC/MS grade)は富士フィルム和光純薬株式会社、生理食塩水は大塚製薬株式会社(東京、日本)より購入した。その他の試薬は市販特級試薬を購入した。

分析等に用いたダカルバジンの基準濃度溶液はダカルバジンをメタノールに溶解させて、1.0mg/mLの濃度に調製したものをを用いた。

2. 2 ラットへのダカルバジン投与実験

すべての動物実験は、同志社女子大学動物実験倫理規定を厳守して行った。実験には

Wistar系雄性ラット(体重289~322g、清水実験材料(株)、京都、日本)を用い、標準飼料および水を自由に摂取し、24時間の明暗サイクルにて最低1週間順化飼育した後、実験に用いた。

ダカルバジンの投与実験は、イソフルラン吸入麻酔(導入麻酔2%、維持麻酔1.5%、流速1.0L/min)下にて、投与量が1.0mg/kgとなるようにダカルバジンを生理食塩水に溶解させて調製し、ラットの大腿静脈より定速注入ポンプ(KDS100、株式会社エル・エム・エス、東京、日本)にて、1.0mL/hの速度で30分間点滴静脈内投与した。点滴開始前および、開始後360minまで経時的に左右頸静脈よりヘパリン処理したシリンジにて直接採血(約100μL)を行った。得られた血液を4℃、12,000rpmにて10min遠心分離後を行い、血漿(50μL)を分取して血漿中ダカルバジン濃度の測定試料とした。

2. 3 血漿中ダカルバジン濃度定量法

ラット血漿50μLをガラス製の遠沈管に入れ、H₂Oを50μL、酢酸エチルを2mL添加して20分間振とうし、ダカルバジンを酢酸エチルにて抽出した。その後、試験管を4℃、3,000rpmで15min遠心して両層を分離後、下部の水層を凍結させて有機層を新しい試験管に分取した。分取した有機層はSPD1010 SpeedVac concentrator system(サーモ・エレクトロン株式会社、横浜、日本)にて乾固し、得られた残渣を下記移動相50μLにて再溶解させLC-MS/MS法にて定量した。検量線試料は、既知量のダカルバジン(0.5~50ng)をラット血漿に添加して、定量用試料と同様の方法で抽出操作し、調製した。

ラット血漿中のダカルバジン濃度は、Prominence HPLCシステム(株式会社 島津製作所、京都、日本)を備えたLCMS 8050 LC-MS/MSシステム(島津製作所)を用いて定量した。HPLCシステムはLC-20AD Pumpが2台とSIL-20ACオートサンプラーで構成

され、移動相にはメタノール：0.1%ギ酸溶液＝9：1の混液を用い、流速は0.2mL/minに設定した。分析用カラムはCosmosil 5C₁₈-MS-II (50mm×2.0mm ID、ナカライテック株式会社、京都、日本)で、CTO-20Aカラムオープン（島津製作所）で40°Cの定温にて分析を行い、Lab Solutions ver. 5.91 analytical software（島津製作所）にて解析を行った。

目的化合物はelectrospray ionization (ESI) methodにて、positiveにイオン化後、multiple reaction monitoring (MRM) modeにて、ダカルバジン m/z183.2→123.05のピークを検出した。ここで、ダカルバジンの検量線は、10～1000ng/mLの範囲で直線性を示した。

2.4 薬物動態学的解析

薬物動態学的パラメータはPhoenix 64 WinNonlin version 8.3.3.33 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA)を用い、ノンコンパートメントモデルで解析した。血漿中濃度－時間曲線下面積 (AUC) は、台形公式により最終測定時間まで計算し、無限時間まで外挿して求めた。消失速度定数 (k_e) は、最終3～5ポイントのデータを対数線形二乗法することにより求めた。消失相の半減期 ($t_{1/2}$)、全身クリアランス (CL_{tot})、定常状態の分布容積 (V_{dss})、平均滞留時間 (MRT) は、それぞれ、 $0.693/k_e$ 、 D/AUC 、 $D/(AUC \times k_e)$ 、 $AUMC/AUC$ にて算出した。ただし、 D はダカルバジンのラットへの投与量、 $AUMC$ は1次モーメント－時間曲線下面積を示す。

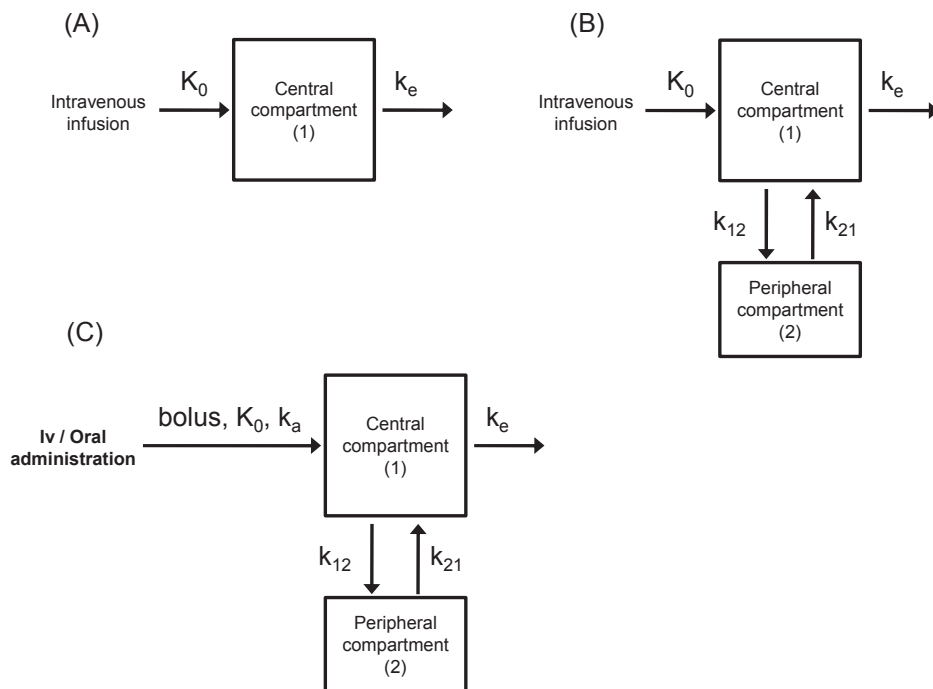


Figure 2 Schematic representation of pharmacokinetic model of dacarbazine

- (A) 1-compartment model after intravenous infusion and (B) 2-compartment model after intravenous infusion for dacarbazine pharmacokinetic analysis
 (C) 2-compartment model after intravenous bolus and extravascular administration for dacarbazine pharmacokinetic simulation

単回静脈内投与実験で得られた薬物動態学的パラメータを用いて各種投与条件における血漿中濃度の時間推移をシミュレーションするため、ダカルバジンの最適な薬物動態学的モデル選択を行った。Figure 2 に示す一般的な1-(A) および2-コンパートメントモデル (B) にダカルバジン投与後の血漿中濃度 (C_t) の時間推移のデータを当てはめ、Phoenix WinNonlin によりモデルフィッティングを行い、薬物動態学的パラメータを算出した。ここで、 K_0 は点滴速度を表す0次速度定数、 k_e 、 k_{12} 、 k_{21} は薬物の体外への消失および各コンパートメント間の移行を表す1次速度定数、 V_1 はcentral compartmentにおける分布容積を示している。モデルの妥当性は、両モデルのフィッティング結果より得られた赤池情報量規準 (AIC) を比較して行った。

各モデルに従った場合、 C_t は下記の式に従う。

1-コンパートメントモデル

$$C_t = \frac{D}{T_{inf} \cdot V_1 \cdot k_e} (e^{-k_e \cdot t^*} - e^{-k_e \cdot t})$$

2-コンパートメントモデル

$$C_t = \frac{A}{T_{inf} \cdot \alpha} (e^{-\alpha \cdot t^*} - e^{-\alpha \cdot t}) + \frac{B}{T_{inf} \cdot \beta} (e^{-\beta \cdot t^*} - e^{-\beta \cdot t})$$

ここで、 T_{inf} は点滴持続時間を示し、

$t^* = 0$ ($t < T_{inf}$ のとき)

$t^* = t - T_{inf}$ ($t > T_{inf}$ のとき)

となる。また、

$$A = \frac{D}{V_1} \left(\frac{\alpha - k_{21}}{\alpha - \beta} \right)$$

$$B = \frac{D}{V_1} \left(\frac{\beta - k_{21}}{\beta - \alpha} \right)$$

であり、 $-\alpha$ 、 $-\beta$ ($\alpha > \beta$) は

$$r^2 + (k_{12} + k_{21} + k_e) \cdot r + k_{21} \cdot k_e = 0$$

の解である。

2. 5 薬物動態学的シミュレーション

2. 4 で最適と評価された薬物動態学的モデルおよび、その解析で得られた薬物動態学的パラメータを用いて、各種投与条件におけるダカルバジンの血漿中濃度推移のシミュレーションを行った。用いた薬物動態学的モデルを、Figure 2 (C) に示す。基本は2-コンパートメントモデル (Figure 2 (B)) で、血管外投与 (吸収過程のある投与経路) の場合は、吸収速度定数 (k_a 、1次速度定数) を用いて吸収過程を表した。投与量は1.0~5.0mg/kg の範囲で検討し、血管外投与の場合は投与量を1.0mg/kg で固定させ、 k_a 値が0.001~0.5min⁻¹の範囲で検討した。また同投与量で急速静脈内投与した場合についても併せて検討した。

血管外投与時

$$C_t = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} + C \cdot e^{-k_a t}$$

$$A = \frac{D}{V_1} \cdot \frac{k_a(k_{21} - \alpha)}{(\alpha - \beta) \cdot (\alpha - k_a)}$$

$$B = \frac{D}{V_1} \cdot \frac{k_a(k_{21} - \beta)}{(\beta - \alpha) \cdot (\beta - k_a)}$$

$$C = \frac{D}{V_1} \cdot \frac{k_a(k_{21} - k_a)}{(\beta - k_a) \cdot (\alpha - k_a)}$$

急速静脈内投与時

$$C_t = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t}$$

ここで、AおよびBは、点滴投与時と同様の計算式により求められる。

また、 $-\alpha$ 、 $-\beta$ ($\alpha > \beta$) は

$$r^2 + (k_{12} + k_{21} + k_e) \cdot r + k_{21} \cdot k_e = 0$$

の解である。

ダカルバジンは1クルの治療において、1日1回5日間投与が一般的なことから、上記投与スケジュールにて5日間連続投与した場合についてもシミュレーションを行い、血漿中濃度推移について検討した。

3. 結果

Figure 3 (A) に、ラットにダカルバジンを30分間点滴投与後の血漿中薬物濃度の時間推移を示す。ダカルバジンは30分の点滴投与中血漿中濃度は上昇し続け、点滴終了時点の30分時点では定常状態には到達していないことがわかる。その後点滴投与を中止すると、2相性を示しながら血漿中濃度が低下した。Table 1 には、ノンコンパートメントモデルにより求めた薬物動態学的パラメータを示す。ノンコンパートメントモデルにより求めたパラメータは、モデルを仮定せず実測値より計算されたものであり、より実際に近い薬物動態学的パラメータが得られる。得られた AUC は $1.19 \pm 0.45 \mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$ 、

$t_{1/2}$ は $289 \pm 112 \text{min}$ 、 CL_{tot} は $4.74 \pm 2.02 \text{mL}/\text{min}$ 、 V_{dss} は $1846 \pm 769 \text{mL}$ 、MRT は $366 \pm 181 \text{min}$ であった。次に得られた実測値を1-および2-コンパートメントモデルに当てはめ解析を行ったときのフィッティングカーブを Figure 3 (B) に示す。AIC 値は、1-コンパートメントモデルで136、2-コンパートメントモデルで96であり、2-コンパートメントモデルにおいて低い値となった。したがって、Figure からわかるように、ダカルバジンの血漿中濃度の時間推移は2-コンパートメントモデルにフィットした曲線で推移することがわかる。両モデルにフィッティングさせた時の各速度定数を Table 2 に示す。1-コンパートメントモデルに当てはめると、 $k_e = 0.0123 (19.6\%) \text{min}^{-1}$ 、

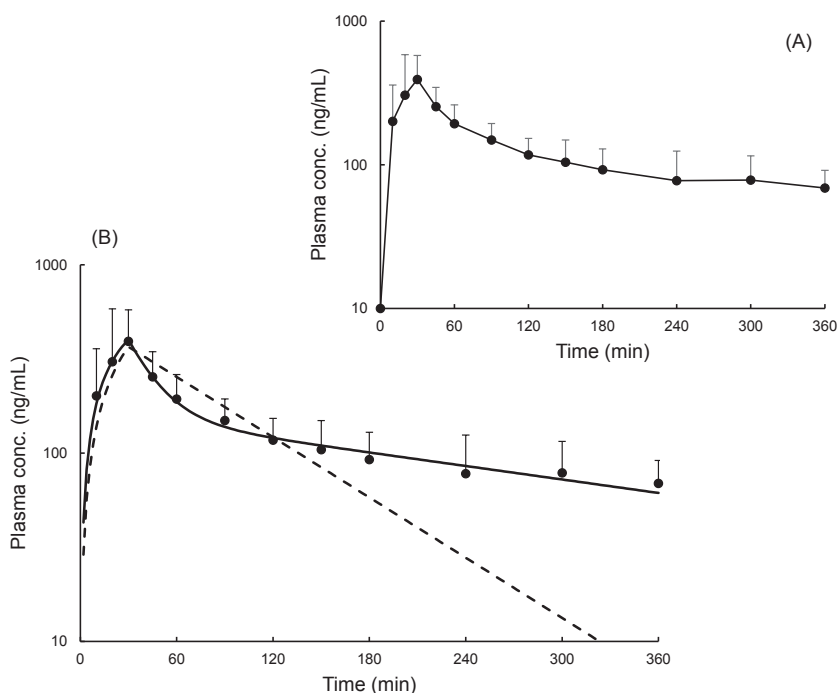


Figure 3 Observed (A) and fitted (B) plasma concentration-time profiles of dacarbazine after intravenous infusion to rats

- (A) Observed each point represents the mean \pm SD of the data obtained from 5 experiments.
 (B) Fitted solid and dashed lines were obtained according to the 2- and 1-compartment pharmacokinetic models, respectively. Closed circles are observed points same as Figure 3(A).

Table 1 Pharmacokinetic parameters of dacarbazine in rats analyzed by non-compartment, and 1- and 2-compartment models

PK parameters	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)		$t_{1/2}$ (min)		CL_{tot} (mL/min)		V_{dss} (mL)		MRT (min)	
Non Compartmental analysis	1.19 \pm 0.45		289 \pm 112		4.74 \pm 2.02		1846 \pm 769		366 \pm 181	
1-Compartmental analysis	0.60	14.1	56.4	19.6	8.44	14.1	687	10.6	81.4	19.6
2-Compartmental analysis	1.11	10.6	252	19.4	4.51	10.6	1426	9.6	316	19.7

Non-compartmental analysis: Each value expressed mean \pm SD of 5 experiments.

1- and 2-compartmental analyses: Each value was calculates using the mean data obtained from 5 experiments, and expressed mean and coefficient of variation (CV, %).

Table 2 Pharmacokinetic rate constants and volume of distribution of dacarbazine in rats analyzed by 1- and 2-compartment models

PK parameters	V_1 (mL)		k_e (min^{-1})		k_{12} (min^{-1})		k_{21} (min^{-1})	
1-Compartmental analysis	687	10.6	0.0123	19.6				
2-Compartmental analysis	450	4.4	0.0100	12.6	0.0331	11.5	0.0153	16.7

Each value was calculates using the mean data obtained from 5 experiments, and expressed mean and coefficient of variation (CV, %).

$V_1=687$ (10.6%) mL であり、2-コンパートメントモデルでは、 $k_e=0.0100$ (12.6%) min^{-1} 、 $V_1=450$ (4.4%) mL、 $k_{12}=0.0331$ (11.5%) min^{-1} 、 $k_{21}=0.0153$ (16.7%) min^{-1} となった。これらの値を当てはめ計算された薬物動態学的パラメータをノンコンパートメントモデルの解析値と併せて Table 1 に示す。これらのパラメータを比較すると、2-コンパートメントモデルで得られたパラメータ値がよりノンコンパートメントモデルの解析値と近似し、このことから、2-コンパートメントモデルがよりダカルバジンのラットでの体内動態に近いモデルと考えられる。上記の結果より、以下ダカルバジンの体内動態をシミュレーションするにあたり、2-コンパートメントモデルを用いることとする。

次に、2-コンパートメントモデルに上記で得られた薬物動態学的パラメータを当てはめ、各種条件にてダカルバジンを投与した際の血漿中

濃度推移をシミュレーションした。まず、Figure 4 には、ダカルバジンの投与量を、1.0、2.0 および 5.0 mg/kg と変化させた場合の血漿中濃度推移についてシミュレーションを行った。Figure 4 (A) に単回投与時、および Figure 4 (B) に 1 日 1 回 5 日間繰り返し投与時の各投与量での血漿中濃度-時間推移を示す。24 時間ごとに投与した場合、繰り返し投与による血漿中濃度の上昇はほとんど認められず、5 日間繰り返し投与後の蓄積率 (R) は、いずれの投与量でも 2 回目投与時 (3 回目投与前) で $R=1.0191$ 、それ以降のトラフ値ではすべて $R=1.0195$ であった。R 値は、初回投与時に対して繰り返し投与時の血漿中濃度が何倍になったかを示し、本研究ではトラフ値で比較した。初回投与時からダカルバジンの体内での蓄積はほとんど認められず、次回投与までに投与した大部分のダカルバジンが体内から消失することがわ

かる。次に、ダカルバジンの投与量を1.0mg/kgに固定し、投与経路を急速静脈内および血管外投与した場合について、ダカルバジンの血漿中濃度推移のシミュレーションを行った。血管外投与については経口投与、筋肉内投与、皮下投与などを想定し、吸収速度定数 k_a 値を0.001~0.5min⁻¹の範囲で設定した。 k_a 値は投与経路の吸収特性や製剤的な工夫などにより変化することから、広範囲でシミュレーションを行った。Figure 5 (A)には単回投与時、Figure 5 (B)には5日間の繰り返し投与時の濃度推移を示す。 k_a 値が大きい場合は、投与直後の高血漿中濃度域の推移を除いて、ダカルバジンの血漿中濃度推移はほぼ静脈内投与時と同じと考えられる。最高血漿中濃度 (C_{max}) は、急速静脈内投与時

に666ng/mL (最高血漿中濃度到達時間(t_{max})=0min)であったのに対し、 $k_a=0.5\text{min}^{-1}$ で530ng/mL ($t_{max}=6\text{min}$)、 $k_a=0.1\text{min}^{-1}$ で353ng/mL ($t_{max}=20\text{min}$)であった。それに対して k_a 値が0.01min⁻¹あたりを境に Flip-flop 現象が認められ、消失相が吸収速度を反映し、体内からの消失過程に対する吸収速度の影響が大きくなった。それに伴い、 C_{max} は低下し、 t_{max} も延長された。これらの k_a 値で繰り返し投与を行った場合についてシミュレーションを行った。図ではわかりにくいのが、 k_a 値の低下に伴い、繰り返し投与直前において前回投与の薬物が体内から十分には消失しなくなる。その結果、例えば k_a 値が0.001min⁻¹の場合、5日間の繰り返し投与でも定常状態には到達せ

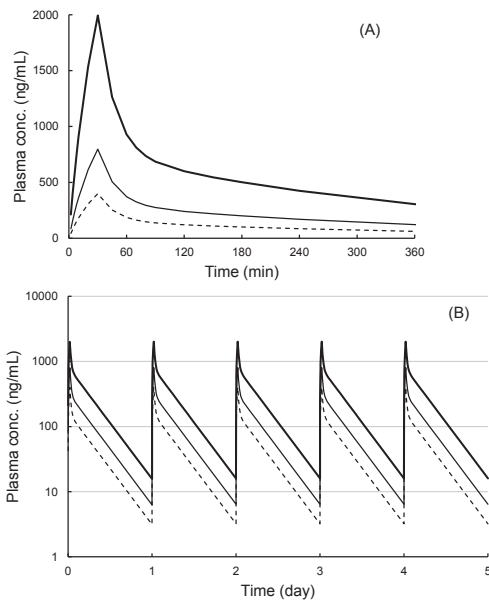


Figure 4 Simulated plasma concentrations-time profiles of dacarbazine after intravenous infusion at various doses to rats (A) single administration, (B) repeated administration for five days
Symbols: 1.0 (---), 2.0 (—) and 5.0 (— · —)
mg/kg dose
Curves were obtained according to the 2-compartment pharmacokinetic model.

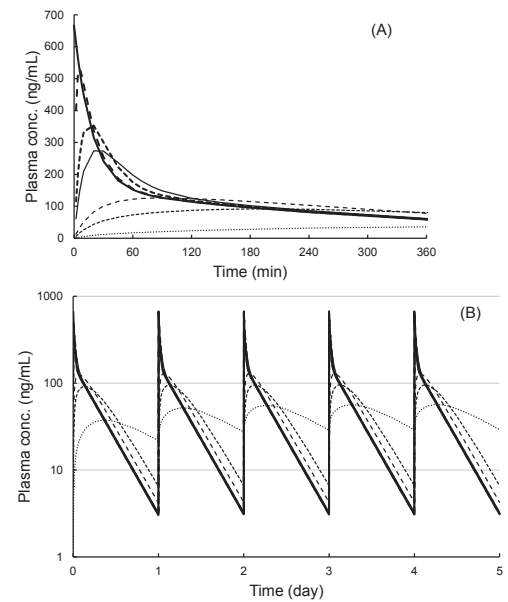


Figure 5 Simulated plasma concentrations-time profiles of dacarbazine after intravenous bolus and extravascular administration with various k_a values to rats (A) single administration, (B) repeated administration for five days
Symbols: $k_a=0.001$ (.....), 0.005 (---), 0.01 (- · -), 0.05 (—), 0.1 (- - -), 0.5 (- -) min⁻¹ and iv bolus (—).

ず、5日後の $R=1.332$ であった。一方 k_d 値が 0.05min^{-1} では3回目投与から定常状態に到達し、 $R=1.019$ 程度で蓄積はほとんど起こらないことがわかる。

4. 考察

ダカルバジンは1980年代半ばに市場された抗悪性腫瘍薬で、アルキル化剤に分類される。アルキル化剤は、構造内にDNA塩基と共有結合できるアルキル基部位を複数持ち、2本のDNA鎖に作用して塩基同志を架橋することで2本鎖のDNAが1本鎖に分離できなくなり、腫瘍細胞のDNAの複製を妨げ、増殖を停止させる。ダカルバジンは生体内代謝で生じるジアゾメタンのアルキル化作用を介して、抗腫瘍効果を発現すると考えられている¹⁴⁾¹⁵⁾。また細胞周期に対する影響では、低濃度の場合はG1期細胞、高濃度の場合はG2期細胞にも作用することが報告されている。この分類に属する抗腫瘍薬は濃度依存型の効果を示し、濃度が高い、すなわち高投与量で治療するほど効果が増加する。従って一回の投与量を安全治療域内で最大に増やし、投与回数を減らすことが有効かつ副作用を軽減させると考えられる。ダカルバジンは、メラノーマの治療では成人に対して1日量100~200mgを5日間連日静脈内投与し、以後約4週間休薬し、これを1コースとし繰り返し投与するのが標準的な投与方法である。本研究では、実験動物としてラットを用い、ダカルバジンの基本的な体内動態を把握するとともに、その結果をもとに各種投与方法により体内動態がどのように変化するかについて、投与量や投与経路を変化させてシミュレーションにより検討を行った。体内動態が変化すると、結果として抗腫瘍効果にも影響があることから、同様に濃度依存的な効果を示す多くの薬物の治療効果に関しても基本的な情報が得られ、応用が可能であると考えられる。

がん由来細胞を使った *in vitro* における抗腫瘍御効果の検討では、濃度依存型の薬物の場合、薬物濃度とその50%阻害濃度 (IC_{50}) の関

係で抗腫瘍効果がほぼ決定され、何日間薬物を暴露させたかよりも IC_{50} 値に対してどれだけの濃度を暴露させたかによって腫瘍細胞の生存率が決定されると報告されている。一方、時間依存型の薬物は IC_{50} 値に対してどれだけの薬物濃度を暴露させたかより、何日間暴露させたか、すなわちどれくらいの時間薬物を暴露させたかにより、腫瘍細胞の生存率が影響を受ける¹⁸⁾。

ダカルバジンは、静脈内投与後、2-コンパートメントモデルに従う時間推移を示した。このことから、投与後血漿中と同様にすばやく分布する組織・臓器と薬物の移行に時間を要する臓器があると考えられるが、分布容積がラットあたり1846mLと比較的大きく、臓器移行性が高いと考えられる。Housholderらの報告¹⁹⁾によると、ダカルバジンはマウスに腹腔内投与後、肝臓、小腸、次いで腎臓に移行する。ここで肝臓、腎臓はダカルバジンの消失臓器であり、ダカルバジンはまず肝臓のCYP1A1/2により代謝され、その後腎臓より排泄される²⁰⁾²¹⁾。ダカルバジンの基礎的なヒト体内動態の検討によると、静脈内投与、経口投与、点滴静脈内投与いずれの経路での投与でも、投与量の30~50%程度が投与後12時間までに尿中へ排泄され、消失半減期は1.5時間~5時間弱と報告されている。また臓器移行性は高いものの消失は速やかで、投与24時間後にはほぼ体内から消失し、標準的な投与スケジュールの場合、投与回数ごとにほぼ同程度の血漿中濃度推移が得られ、蓄積による副作用には至らないと報告されている²²⁾²³⁾²⁴⁾。ラットを用いた本研究のシミュレーションでもこれらの報告と同様の結果が得られ、標準投与レジメンにおける体内での蓄積は、ヒト、ラットともにほぼ無いと考えられる。

ダカルバジンは現在急速静脈内、もしくは点滴静脈内投与にて患者に投与し治療に用いられている。静脈内投与を毎日行うことは患者にとって負担になる。ここで、その他の血管外投与を行った場合には体内動態がどのように変化するかについて、シミュレーションを行った。血管外投与を行うと、薬物は投与部位から循環血へ

移行するために吸収過程を必要とし、その吸収過程の速度や特性によって体内動態が大きく影響を受ける。例えば、血管外投与の最も身近で一般的なものが経口投与である。薬物は経口投与されると、胃を通過して多くは十二指腸や小腸から吸収される。この吸収過程において薬物は、胃酸・消化酵素による分解や小腸粘膜通過における障壁や小腸上皮細胞での代謝、その後肝臓に移行し代謝を免れたのちに循環血に到達する。非常に身近な投与経路ではあるが、服用後に効果を発揮するためには比較的時間を要し克服すべき過程も多い。その他の血管外投与には皮下投与や筋肉内投与、皮膚への貼付、吸入などがある。皮膚への貼付は、薬物が強固な生体内バリア機能を備えた表皮の角質層を通過する必要があるが、皮下や筋肉内への投与では、吸収は一般的に比較的速やかで、投与した薬物のほとんどが循環血へ到達できると考えられ、インスリンの自己注射などでも利用されている。シミュレーションにおいて、 k_a が 0.5 min^{-1} でのダカルバジンの体内動態は、ほぼ静脈内投与時と同じであると考えられる。またデータには示していないが、 k_a が 0.2 min^{-1} では、30分間の点滴静脈内投与時とほぼ同程度の血漿中濃度まで上昇させることができる。このような k_a 値で吸収される場合、投与後10分前後までに C_{\max} に到達することになる。一般的に経口投与時、特に固体状の薬物（粉末剤、錠剤など）で投与した場合、薬物の消化管液での崩壊や溶解過程が必要で、吸収に時間がかかる。このような素早い吸収は筋肉内や皮下への投与、液体での吸入投与で想定される。

In vitro 条件下で、B16-F1、A875、およびSK-MEL-5腫瘍細胞を用いたダカルバジンの細胞毒性効果の報告では、いずれの腫瘍細胞でもダカルバジンの濃度に依存的に増殖が抑制され、薬物投与後の血漿中濃度とは直接比較はできないが、その IC_{50} 値はそれぞれ、 $259.5 \pm 22.7 \mu\text{M}$ ($47.3 \mu\text{g/mL}$)、 $287 \pm 20.9 \mu\text{M}$ ($52.2 \mu\text{g/mL}$) および $380 \pm 29.8 \mu\text{M}$ ($69.2 \mu\text{g/mL}$) であった²⁵⁾。また、B16細胞移植マウスに対してダカルバジ

ン投与を投与し、生存日数の延長について比較した研究では、1日200mg/kgで3日おきに3回、もしくは50mg/kgで7日間投与時に生存日数が15.2日(control)から20.0日あるいは23.2日にそれぞれ延長された。この生存日数が延長された用量は、検討された投与量範囲(6.25~400mg/kg)のうち最高容量ではないことから、効果と毒性のバランスを考慮して投与量を設定する必要がある²⁶⁾。

薬物の体内動態をモデル化することにより、様々な条件で投与した場合の体内動態を予測することができ、その先には効果発現の程度や効果の時間推移(持続時間)を予測することができる。さらに、併用療法を行った際に単独投与の場合と比較して体内動態がどのように変化するか、薬物の効果がどのように影響を受けるかが推定できる。同様に、年齢、病態時のように生理的条件が変化する場合に、体内動態、薬物の効果がどのように影響を受けるか、あるいはほとんど影響を受けないのか、といった薬物療法の結果を推定することができる。

5. 結論

本研究では抗腫瘍効果を持つダカルバジンをモデル薬物として、各種体内動態の検討を行った。ダカルバジンは1日1回5日間繰り返し投与で用いられるが、そのスケジュールで投与すると薬物の体内への蓄積は認められず、高用量で投与し高い血漿中薬物濃度に達成した後、次回投与までにほぼ体内から消失する。また血管外投与時でも、吸収過程がすばやい場合は静脈内投与時とほぼ同等の血漿中濃度推移を示すことができる。これは濃度依存型で効果を発揮する薬物として、ダカルバジンをはじめ、類似した体内動態や効果発現の特性を持つ薬物に応用できるものと考えられる。

6. 謝辞

本研究は、2020年度「同志社女子大学 研究奨励金」の助成を受け行ったものである。

REFERENCES

- 1) Montgomery JA, Experimental studies at Southern Research Institute with DTIC (NSC-45388). *Cancer Treat. Rep.*, **60**, 125-134, 1976.
- 2) Venditti JM, Antitumor activity of DTIC (NSC-45388) in animals, *Cancer Treat. Rep.*, **60**, 135-140, 1976.
- 3) Legha SS, Current therapy for malignant melanoma. *Semin. Oncol.*, **16** (Suppl 1), 34-44, 1989.
- 4) 斎田俊明, 宮地良樹, 清水宏, 1冊でわかる皮膚がん, p16-17, 文光堂, 2011.
- 5) 厚生労働省. 平成26年患者調査
- 6) 藤澤康弘, 藤本学, 悪性黒色腫全国統計調査: 2005~2013年度の集計結果. *Skin Cancer*, **29**, 189-194, 2014.
- 7) 日本皮膚科学会ガイドライン, 皮膚悪性腫瘍ガイドライン第3版 メラノーマ診療ガイドライン 2019
- 8) Ishihara K, Past statistics and prognostic factors for malignant skin tumors. *Skin Cancer*, **22**, 209-216, 2007.
- 9) Meer L, Janzer RC, Kleihues P, Kolar GF, In vivo metabolism and reaction with DNA of the cytostatic agent, 5-(3,3-dimethyl-1-triazeno)imidazole-4-carboxamide (DTIC). *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 3243-3247, 1986.
- 10) Reid JM, Kuffel MJ, Miller JK, Rios R, Ames MM, Metabolic activation of dacarbazine by human cytochromes P450: the role of CYP1A1, CYP1A2, and CYP2E1. *Clin. Cancer Res.*, **5**, 2192-2197, 1999.
- 11) Long L, Dolan ME, Role of Cytochrome P450 Isoenzymes in Metabolism of O⁶-Benzylguanine: Implications for Dacarbazine Activation. *Clin. Cancer Res.*, **7**, 4239-4244, 2001.
- 12) Hill DL. Microsomal metabolism of trizenyylimidazoles. *Cancer Res.*, **35**, 3106-3110, 1975.
- 13) Skibba JL, Beal DD, Ramirez G, Bryan GT, N-Demethylation of the antineoplastic agent 4(5)-3,3-dimethyl-1-trizeno)-imidazole-5(4)-carboxamide by rats and man. *Cancer Res.*, **30**, 147-150, 1970.
- 14) Bono VH Jr., Studies on the mechanism of action of DTIC (NSC-45388). *Cancer Treat. Rep.*, **60**, 141-148, 1976.
- 15) Loo TL, Housholder GE, Gerulath AH, Saunders PH, Farquhar D, Mechanism of action and pharmacology studies with DTIC (NSC-45388). *Cancer Treat. Rep.*, **60**, 149-152, 1976.
- 16) Skibba JL, BRYAN GT, Methylation of Nucleic Acids and Urinary Excretion of ¹⁴C-Labeled 7-Methylguanine by Rats and Man after Administration of 4(5)-(3,3-Dimethyl-1-triazeno)-imidazole 5(4)-Carboximidel. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **18**, 707-719, 1971.
- 17) Tachihara R, The effect of dacarbazine and vincristine sulfate on human melanoma cell lines. In vitro analysis of interaction on DNA synthesis, RNA synthesis and protein synthesis. *Nihon Ika Daigaku Zasshi*, **64**, 238-248, 1997.
- 18) Takahashi N, Kobayashi M, Itagaki S, Hirano T, Takekuma Y, Sugawara M, Iseki K, Basic investigation for classification of anticancer drugs by pharmacological effects. *YAKUGAKU ZASSHI*, **132**, 777-783, 2012.
- 19) Housholder GE, Loo TL, Disposition of 5-(3,3-dimethyl-1-triazeno)imidazole-4-carboxamide, a new antitumor agent. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **179**, 386-395, 1971.
- 20) Reid JM, Kuffel MJ, Miller JK, Rios R, Ames MM, Metabolic activation of dacarbazine by human cytochromes P450:

- the role of CYP1A1, CYP1A2, and CYP2E1. *Clin. Cancer Res.*, **5**, 2192-2197, 1999.
- 21) Lewis BC, Mackenzie PI, Miners JO. Application of homology modeling to generate CYP1A1 mutants with enhanced activation of the cancer chemotherapeutic prodrug dacarbazine. *Mol. Pharmacol.*, **80**, 879-88, 2011.
- 22) Skibba JL, Ramirez G, Beal DD, Bryan GT, Preliminary clinical trial and the physiologic disposition of 4(5)-(3,3-dimethyl-1-triazeno)imidazole-5(4)-carboxamide in man. *Cancer Res.*, **29**, 1944-1951, 1969.
- 23) Breithaupt H, Dammann A, Aigner K, Pharmacokinetics of dacarbazine (DTIC) and its metabolite 5-aminoimidazole-4-carboxamide (AIC) following different dose schedules. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **9**, 103-109, 1982.
- 24) Buesa JM, Urréchaga E, Clinical pharmacokinetics of high-dose DTIC. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **28**, 475-479, 1991.
- 25) Jin JL, Gong J, Yin TJ, Lu YJ, Xia JJ, Xie YY, Di Y, He L, Guo JL, Sun J, Noteborn MH, Qu S, PTD4-apoptin protein and dacarbazine show a synergistic antitumor effect on B16-F1 melanoma in vitro and in vivo. *Eur. J. Pharmacol.*, **654**, 17-25, 2011.
- 26) 吾妻光彦, 他, DTIC のメラノーマに対する抗腫瘍性. サンド株式会社 社内資料 (ダカルバジン インタビューホーム引用文献, 2011.