

神戸学院大学大学院薬学研究科学位論文

Modeling and simulation の

薬物動態学的応用と実践

2018年 1月

岡田章

## 目次

|   |       |    |
|---|-------|----|
| 略語一覧  | ----- | 5  |
| 序論  | ----- | 8  |
| 本論  |       |    |
| 第一章   |       |    |
| <b><u>M&amp;S を用いた抗がん剤 cisplatin 適正使用に関する研究</u></b>                     |       |    |
| 第一節: 抗がん剤 cisplatin 誘発性急性腎毒性の   |       |    |
| <b>population pharmacokinetic/toxicodynamic modeling and simulation</b> |       |    |
| 1-1-1. 緒言   | ----- | 11 |
| 1-1-2. 方法   | ----- | 12 |
| 1-1-2-1. 動物および試薬  |       |    |
| 1-1-2-2. PK 試験  |       |    |
| 1-1-2-3. TD 試験  |       |    |
| 1-1-2-4. CDDP の抽出および測定  |       |    |
| 1-1-2-5. Cr の測定   |       |    |
| 1-1-2-6. PK modeling  |       |    |
| 1-1-2-7. TD model   |       |    |
| 1-1-2-8. PPK/TD modeling  |       |    |
| 1-1-2-9. Model validation   |       |    |
| 1-1-2-10. Simulation による至適投与設計の探索                                       |       |    |
| 1-1-3. 結果   | ----- | 20 |
| 1-1-3-1. PK and TD studies  |       |    |
| 1-1-3-2. PPK modeling   |       |    |
| 1-1-3-3. PPK/TD modeling  |       |    |
| 1-1-3-4. Dosing Simulation  |       |    |
| 1-1-4. 考察   | ----- | 29 |

## 第二節: Cisplatin 反復投与時における薬物動態および腎毒性発現予測

|                                       |       |    |
|---------------------------------------|-------|----|
| 1-2-1. 緒言                             | ----- | 32 |
| 1-2-2. 方法                             | ----- | 33 |
| 1-2-2-1. PK 試験                        |       |    |
| 1-2-2-2. 腎臓中 Pt 移行量の測定                |       |    |
| 1-2-2-3. TD 試験                        |       |    |
| 1-2-2-4. PK 解析                        |       |    |
| 1-2-2-5. CDDP-AKI および CDDP-sCKI の評価基準 |       |    |
| 1-2-2-6. 統計解析                         |       |    |
| 1-2-3. 結果                             | ----- | 36 |
| 1-2-3-1. PK study                     |       |    |
| 1-2-3-2. TD study                     |       |    |
| 1-2-3-3. PK-TD 相関                     |       |    |
| 1-2-4. 考察                             | ----- | 41 |

## 第三節: 利尿薬 mannitol の併用が

### cisplatin の薬物動態および腎毒性軽減作用に及ぼす影響

|                         |       |    |
|-------------------------|-------|----|
| 1-3-1. 緒言               | ----- | 43 |
| 1-3-2. 方法               | ----- | 44 |
| 1-3-2-1. PK 試験          |       |    |
| 1-3-2-2. TD 試験          |       |    |
| 1-3-2-3. PK-TD analysis |       |    |
| 1-3-2-4. 統計解析           |       |    |
| 1-3-3. 結果               | ----- | 46 |
| 1-3-3-1. PK study       |       |    |
| 1-3-3-2. TD study       |       |    |
| 1-3-3-3. PK-TD analysis |       |    |
| 1-3-4. 考察               | ----- | 53 |

## 第二章

### M&S を用いた脂肪乳剤適正使用に関する研究

#### 第一節：脂肪乳剤投与時における血漿中中性脂質の

##### **population semi-physiological kinetic modeling and simulation**

|   |       |    |
|---|-------|----|
| 2-1-1. 緒言   | ----- | 57 |
| 2-1-2. 方法   | ----- | 59 |
| 2-1-2-1. 動物および試薬                                    |       |    |
| 2-1-2-2. LE 投与および試料採取                               |       |    |
| 2-1-2-3. TG 濃度測定                                    |       |    |
| 2-1-2-4. Semi-physiological kinetic modeling        |       |    |
| 2-1-2-5. PPK analysis and internal model validation |       |    |
| 2-1-2-6. Simulation and external model validation   |       |    |
| 2-1-3. 結果   | ----- | 64 |
| 2-1-3-1. Model 構築群における血漿中 TG 濃度推移                   |       |    |
| 2-1-3-2. Internal model validation                  |       |    |
| 2-1-3-3. External model validation                  |       |    |
| 2-1-4. 考察   | ----- | 70 |

## 第三章

### 母集団薬物動態解析を用いた医薬品適正使用に関する研究

#### 第一節：腎移植患者における免疫抑制剤 cyclosporine の母集団薬物動態解析

|                             |       |    |
|-----------------------------|-------|----|
| 3-1-1. 緒言                   | ----- | 74 |
| 3-1-2. 方法                   | ----- | 75 |
| 3-1-2-1. 対象患者               |       |    |
| 3-1-2-2. 免疫療法レジメン           |       |    |
| 3-1-2-3. PK Study           |       |    |
| 3-1-2-4. PPK modeling       |       |    |
| 3-1-2-5. Covariate analysis |       |    |

|   |     |
|---|-----|
| 3-1-2-6. Model validation                         |     |
| 3-1-3. 結果   | 80  |
| 3-1-3-1. 患者データおよび血中 CyA 濃度推移                      |     |
| 3-1-3-2. Final PPK model of CyA                   |     |
| 3-1-3-3. Validation of the PPK model              |     |
| 3-1-4. 考察   | 86  |
| <br>  |     |
| <b>第二節: 同種造血幹細胞移植患者における vancomycin の母集団薬物動態解析</b> |     |
| 3-2-1. 緒言   | 89  |
| 3-2-2. 方法   | 90  |
| 3-2-2-1. 対象患者                                     |     |
| 3-2-2-2. PK study                                 |     |
| 3-2-2-3. PPK modeling                             |     |
| 3-2-2-4. Covariate analysis                       |     |
| 3-2-2-5. Model validation                         |     |
| 3-2-2-6. Allo-HSCT 患者における VCM dosing nomogram     |     |
| 3-2-3. 結果   | 92  |
| 3-2-3-1. 患者データおよび血清中 VCM 濃度推移                     |     |
| 3-2-3-2. Final PPK model of VCM                   |     |
| 3-2-3-3. Validation of the PPK model              |     |
| 3-2-3-4. Allo-HSCT 患者における VCM dosing nomogram     |     |
| 3-2-4. 考察   | 100 |
| <br>  |     |
| 総括  | 102 |
| 主論文   | 104 |
| 謝辞  | 106 |
| 引用文献  | 107 |

## 略語一覽

|                     |   |
|---------------------|---|
| %MAPE               | : percent mean absolute prediction error                                |
| %MPE                | : percent mean prediction error   |
| -2LL                | : -2 log likelihood difference  |
| 95 <sup>th</sup> CI | : 95 percentile confidence interval                                     |
| A <sub>e</sub>      | : cumulative amount of CDDP urinary excretion ratio                     |
| allo-HSCT           | : allogeneic hematopoietic stem cell transplantation                    |
| Apo                 | : apolipoprotein  |
| AUC                 | : area under the plasma concentration-time curve                        |
| BSA                 | : body surface area   |
| BUN                 | : blood urea nitrogen   |
| BW                  | : body weight   |
| CDDP-AKI            | : cisplatin-induced acute kidney injury                                 |
| CDDP-sCKI           | : cisplatin-induced sub-chronic kidney injury                           |
| C <sub>0</sub>      | : concentration at trough   |
| CDDP                | : cisplatin   |
| CL                  | : clearance   |
| CL <sub>cr</sub>    | : creatinine clearance  |
| CLD2                | : distribution clearance  |
| CL <sub>m</sub>     | : metabolic clearance   |
| CL <sub>r</sub>     | : renal clearance   |
| CM                  | : chylomicron   |
| C <sub>max</sub>    | : maximum concentration   |
| Cr                  | : creatinine  |
| Cr <sub>base</sub>  | : arithmetic mean Cr concentration in 11–19 day after<br>administration |
| Cr <sub>max</sub>   | : maximum Cr concentration  |
| CRP                 | : C-reactive protein  |
| CWRES               | : conditional weighted residuals  |

|                  |  |
|------------------|--|
| CyA              | : cyclosporine A   |
| DDC              | : N,N-diethyldithiocarbamate trihydrate                                      |
| DM               | : diabetes mellitus  |
| EC <sub>50</sub> | : unbound CDDP concentration producing 50% of the maximum effect             |
| ESI              | : electrospray ionization  |
| F                | : bioavailability  |
| FN               | : febrile neutropenia  |
| FOCE-ELS         | : first order conditional estimate-extended least squares                    |
| GOF              | : goodness-of-fit  |
| HDL              | : high density lipoprotein   |
| Ht               | : hematocrit   |
| IAA              | : 3-methyl-1-butanol   |
| IC <sub>50</sub> | : signal intensity producing 50% of the inhibition effect                    |
| IPRED            | : individual predictions   |
| K <sub>a</sub>   | : first-order absorption rate constant                                       |
| K <sub>cat</sub> | : zero-order catabolic rate  |
| K <sub>col</sub> | : collection delay constant  |
| K <sub>in</sub>  | : zero-order production rate constant of creatinine                          |
| K <sub>m</sub>   | : Michaelis-Menten constant  |
| K <sub>sec</sub> | : zero-order secretion rate from storage sites into the systemic circulation |
| K <sub>str</sub> | : first-order storage rate constant  |
| LBW              | : lean body weight   |
| LC-MS/MS         | : liquid chromatography tandem mass spectrometry                             |
| LE               | : lipid emulsion   |
| M&S              | : modeling and simulation  |
| MID3             | : model-informed drug discovery and development                              |
| OBS              | : observations   |
| P-gp             | : P-glycoprotein   |

|                                 |   |  |
|---------------------------------|---|--|
| PK                              | : | pharmacokinetics   |
| PM <sub>x</sub>                 | : | pharmacometrics  |
| POD                             | : | post-operative day   |
| PPK                             | : | population pharmacokinetics                                      |
| PRED                            | : | predictions  |
| Pt                              | : | platinum   |
| SCr                             | : | serum creatinine   |
| $t_{1/2}$                       | : | elimination half-life  |
| T <sub>1</sub> -T <sub>10</sub> | : | signal intensity in transit compartment                          |
| T-BIL                           | : | total bilirubin  |
| TD                              | : | toxicodynamics   |
| TDM                             | : | therapeutic drug monitoring                                      |
| TG                              | : | triglyceride   |
| T-lag                           | : | lag time   |
| V <sub>1, 2</sub>               | : | distribution volume of each compartment                          |
| VCM                             | : | vancomycin   |
| V <sub>cr</sub>                 | : | creatinine distribution volume                                   |
| Vd <sub>ss</sub>                | : | steady-state distribution volume                                 |
| V <sub>max</sub>                | : | maximum velocity of Apo acquisitions                             |
| X <sub>1, 2</sub>               | : | amount of unbound CDDP of the central and peripheral compartment |
| X <sub>prox</sub>               | : | amount of unbound CDDP in the proximal renal tubule              |
| X <sub>urine</sub>              | : | amount of unbound CDDP in urine                                  |
| $\gamma$                        | : | hill constant  |
| $\varepsilon$                   | : | normally distributed residual error                              |
| $\eta$                          | : | normally distributed inter-individual random effect              |
| $\theta$                        | : | population mean  |
| $\tau$                          | : | transit time in each transit compartment                         |



## 序 論

薬物治療は医療の中でも核となる分野であり、その適正化は薬剤師に求められる重要な役割の一つである。適正な薬物治療には医療用医薬品添付文書等の客観的で科学的根拠に基づいた治療方針の決定が必要であるが、なお薬物治療における **clinical question** や矛盾点は常に生じ続ける。その一部は文献調査などにより解決するが、一方で未解決のまま放置され、次に同様の問題が発生しても過去の経験が活かさないケースも多い。ゆえに、薬剤師は単なるエビデンスの利用者としてのみならず、その専門性を活かして自ら得たデータや経験から新たな情報を発信するエビデンスの構築者として医療の発展に大きく寄与することが求められている。特に薬物を適用するのは疾患により様々な生理的変動が生じている患者であるため、薬物の適正な投与量・投与間隔等は患者個々に最適なものが選択されることが理想である。当然、目の前の **clinical question** は臨床現場のみで解決を図れないケースもあり、適宜動物を用いた基礎実験も必要となるであろう。この薬物治療の適正化において、薬剤師としての専門性の高い生体内運命を考慮した薬物動態学的方策は有用であり、また多くのエビデンスの供給が期待される。**Clinical question** の解決方法として、これまでは種々の回帰分析による要因解析が中心であったが、近年ではその解析法も多様化が進み、解析アルゴリズムも複雑化した。

演算機器による処理速度はここ 10 年で約 1000 倍向上するなど著しい高速化を遂げており、コンピューターを利用した複雑な解析もより簡便になった。それに伴い、実世界における理論や現象等の情報を仮想的に数式化した **model** を構築し、さらにその **model** に基づいた **simulation** を行うことで定量的に予測・検証する **modeling and simulation (M&S)** 手法が多くの分野において発達してきた。近年、薬学領域においても **M&S** は新薬開発時における候補化合物の薬物動態 (**pharmacokinetics; PK**) および薬力学 (**pharmacodynamics; PD**) との関係性を **PK/PD model** として数学的に表現することで、候補化合物の有効性・安全性評価のみならず、開発の **go/no go** の意思決定ツールとしても汎用されている。これは **model** を用いた創薬 (**model-informed drug discovery & development; MID3**) と称される医薬品開発の核ともなっており、本邦のレギュラトリーサイエンスの分野でも **M&S** の結果がインタビューフォームに記載されるなど急速な発展

を遂げ、実際に、2017年には独立行政法人 医薬品医療機器総合機構が母集団薬物動態・薬力学解析ガイドラインを発行予定である。

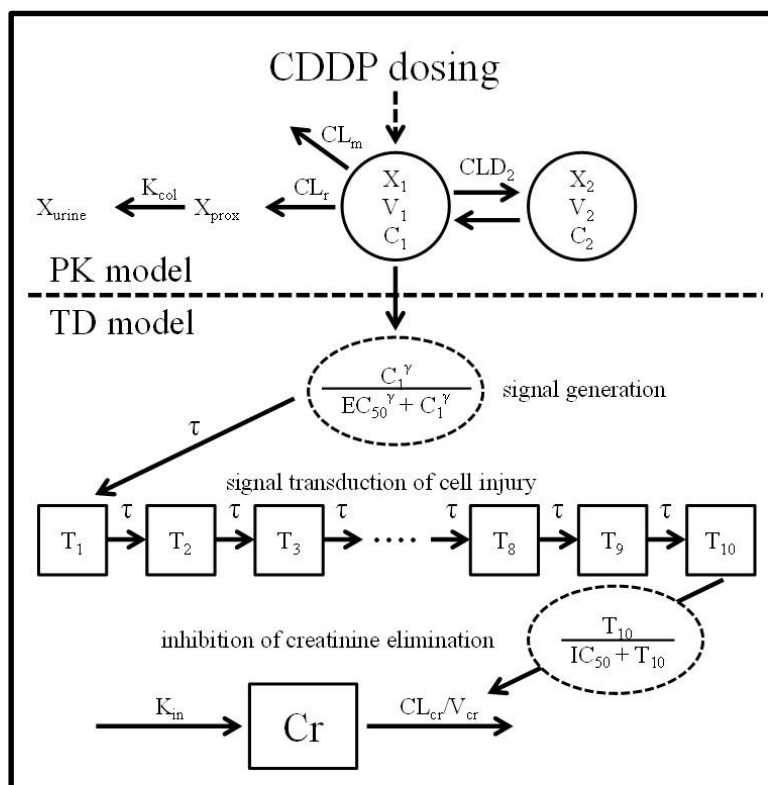
さらに M&S は臨床で生じた種々の clinical question 解決にも応用され、薬物治療の最適化に大きく貢献している。特に、患者より得られた全データを一つの集団として扱い、平均的な挙動（固定効果）に加えて個体間・個体内変動（変動効果）を考慮した母集団薬物動態解析（population pharmacokinetics; PPK）の有用性は広く示されている。PPK の大きな利点として、i) 各個人からのサンプル量の少ないデータの解析、ii) 血中薬物濃度推移の変動要因（共変量）探索、iii) 構成した model を用いた確率論的・定量的 simulation が可能であること等が挙げられる。また、PPK によって得られた model・parameter に加えて共変量等の事前情報を用いることで、1 点採血によるデータからも Bayes の定理に基づく患者個々の速度論的パラメータの推定（Bayesian 推定）が可能であり、血中薬物濃度推移や薬効/毒性発現の予測、および特殊集団への外挿等に有用である。これは臨床現場において血中薬物濃度測定に基づく治療薬物モニタリング（therapeutic drug monitoring; TDM）手法の核であり薬物治療の個別化に大きく貢献している。

これら医薬品の血中濃度推移や発現する薬効・毒性を数理的・確率論的に表す手法は計量薬理学（pharmacometrics; PMx）と称される新規分野の学問であり、臨床・企業・大学いずれの薬剤師においても今後重要な領域の一つとなることが予測される。特に、近年開発された医薬品の多くには M&S・PMx 手法が用いられているものの、現在本邦では未だ基礎・臨床共に発展途上であり諸外国に大きく後れを取っているのが現状である。また、M&S・PMx は clinical question をより迅速に解決するツールとなる一方で、多くの既存薬に対する M&S・PMx に関する情報は不十分であり、より有用なエビデンスの構築が切望されている。そこで本研究では、テーラーメイド医療への貢献を目的として M&S・PMx 手法を用いることで、基礎・臨床両面から薬物療法の適正化方策に対する基礎的エビデンスの確立と実臨床への応用についての検討を行った。

## 本 論

### 第一章：

#### 「M&S を用いた抗がん剤 cisplatin 適正使用に関する研究」



本章の一部は、以下の学術誌に掲載された。

1. Fukushima K, Okada A, Sasaki K, Kishimoto S, Fukushima S, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Shirai T, Terauchi R, Kubo T, Sugioka N. Population pharmacokinetic-toxicodynamic modeling and simulation of cisplatin-induced acute renal injury in rats. *J Pharm Sci*. 2016;**105**:324–32.
2. Okada A, Fukushima K, Fujita M, Nakanishi M, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Sugioka N. Alterations of pharmacokinetics and acute/sub-chronic nephrotoxicity in repeated cisplatin administration. *Biol Pharm Bull*. 2017;**40**:1948–55.
3. Fukushima K, Okada A, Oe H, Hirasaki M, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Sugioka N. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of cisplatin with hydration and mannitol diuresis: the contribution of urine cisplatin concentration to nephrotoxicity. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2017; doi: 10.1007/s13318-017-0436-8.

## 第一節：抗がん剤 cisplatin 誘発性急性腎毒性の

### population pharmacokinetic/toxicodynamic modeling and simulation

#### 1-1-1. 緒言

Cisplatin [*cis*-diammineplatinum (II) dichloride: CDDP] は幅広い抗腫瘍スペクトルを有する抗がん剤であり，がん化学療法の中心的な役割を担っている．一方で，副作用発現率は 85.6% と非常に高く，<sup>1</sup> 特に腎毒性は CDDP 投与制限因子であるため，<sup>2</sup> 臨床では CDDP 誘発性腎毒性の予防・軽減を目的とした大量の輸液および利尿薬を併用する強制利尿の施行が一般的である．<sup>3-4</sup> しかし，現時点で腎毒性の完全な予防は達成されておらず，CDDP 化学療法の大きな障壁となっている．よって，CDDP 誘発性腎毒性を最小限に抑え，かつ十分な有効性を担保するために，より患者個々に対応した投与設計が必要である．

CDDP 誘発性腎毒性を予測・回避するためには，CDDP 誘発性腎毒性と PK との関係性について明らかにする必要がある．Nagai らは腎毒性の指標である血中尿素窒素 (blood urea nitrogen: BUN) や血中クレアチニン濃度 (creatinine: Cr) の最大値と，閾値 (0.9  $\mu\text{g Pt/mL}$ ) 以上における血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) および血漿中遊離形 CDDP の最高濃度 ( $C_{\text{max}}$ ) が強く相関することを報告しており，<sup>5-6</sup> また，Kawai らは腎機能と腎臓中 Pt 蓄積量が相関することを報告している．<sup>7</sup> これらの知見は，いずれも CDDP を同一用法で適用する場合には用量依存的な腎毒性増悪を示すものである．一方で，CDDP の用量を固定して異なる用法にて投与した際の腎毒性発現程度の差異については未だに不明確な点も多い．

そこで本研究では，CDDP の至適投与設計を目的として，ラットにおける CDDP 誘発性腎毒性の母集団薬物動態学-毒力学的 model (population pharmacokinetics/toxicodynamics model: PPK/TD model) を構築し，その model を用いて，異なる用法・用量における血漿中遊離形 CDDP 濃度および Cr 濃度推移を simulation することで，CDDP 誘発性腎毒性を最小限に抑える投与設計について検討した．

## 1-1-2. 方法

### 1-1-2-1. 動物および試薬

Wistar 系雄性ラット (約 11 週齢, 体重  $250 \pm 20$  g) を日本 SLC 株式会社 (Hamamatsu, Japan) より購入し, 恒温恒湿, 照明サイクル 12 時間の条件下で固形飼料および水を自由摂取させ, 予備飼育後に健康状態の良好なラットを実験に使用した. なお, すべての動物実験は神戸学院大学動物実験倫理規定を遵守し, 承認を得て行った. CDDP および Cr 原末は東京化成工業株式会社 (Tokyo, Japan) より購入した. また sodium N,N-diethyldithiocarbamate trihydrate (DDC) はナカライテスク株式会社 (Kyoto, Japan) より, ampicillin sodium (ビクシリン<sup>®</sup>注射用 0.25 g) を Meiji Seika Pharm 株式会社 (Tokyo, Japan) より, 3-methyl-1-butanol (IAA) はキシダ化学株式会社 (Osaka, Japan) より購入し, その他試薬も全て市販特級品を用いた.

### 1-1-2-2. PK 試験

12 時間絶食させたラットに麻酔 (pentobarbital, 50 mg/kg, 腹腔内投与) を行い, 左大腿静脈よりポリエチレンチューブ (0.5 mm i.d., 0.8 mm o.d., 夏目製作所株式会社, Tokyo, Japan) を用いてカテーテルを挿入し, 投与部位を確保した. また, 尿サンプル確保のため, カテーテルを膀胱内に留置した. 左大腿静脈から生理食塩水で溶解した CDDP を急速投与 (7.5 mg/kg, 1 mg/mL) もしくはインフュージョンポンプ (マイクロシリンジポンプ KDS220, kd Scientific Inc., MA, USA) を用いて 0.05 mL/min の速度で 2 時間持続投与 (1.0, 2.5, 5.0 および 7.5 mg/kg, 総投与量=6 mL/2 hr) した. 血液試料 (200  $\mu$ L) は頸静脈より, CDDP 急速投与後 0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 および 2 時間経過時, および CDDP 2 時間持続投与開始 0.5, 1, 1.5, 2, 2.25, 2.5, 3 および 4 時間経過時に採取した. また, 投与された CDDP は遊離形のみが薬効および毒性発現に関与するため,<sup>8,9</sup> 血液試料中で蛋白質への不可逆結合に伴う遊離形濃度低下を防ぐ必要がある. そこで, 採血後速やかに遠心分離 (2840 $\times$ g, 5 min) し, 上清 (50  $\mu$ L) を分取し氷冷 acetonitrile (AcCN) を 100  $\mu$ L 加え遠心分離 (2840 $\times$ g, 5 min) することで除蛋白

した。なお、採血から除蛋白までの過程は全て採血後 15 分以内に行った。尿試料は CDDP 急速投与後膀胱カテーテルより 0-0.25, 0.25-0.5, 0.5-0.75, 0.75-1, 1-1.5 および 1.5-2 時間の区間で、2 時間持続投与開始後 0-0.5, 0.5-1, 1-2, 2-2.25, 2.25-2.5, 2.5-3 および 3-4 時間の区間で採取した。各試料は分析まで遮光下、-80°C で保存した。

### 1-1-2-3. TD 試験

PK 試験と同様の方法にて左大腿静脈より生理食塩水で溶解した CDDP を急速投与 (1.0, 2.5, 5.0 および 7.5 mg/kg, 1 mL/mL), もしくは 2 時間持続投与 (1.0, 2.5, 5.0 および 7.5 mg/kg, 総投与量=6 mL/2 hr) した。投与終了後、感染を防止するために切開部へ ampicillin sodium (4 mg/mL) を適量滴下し縫合した。また、実験に用いた器具は 0.05 w/v% chlorhexidine gluconate で、ラットの飼育環境は 70 w/v% ethanol で、術野は 7 w/v% povidone iodine でそれぞれ消毒した。血液試料 (200  $\mu$ L) は CDDP 投与前、投与後 1, 2, 3, 4, 5 および 7 日経過時に経皮的に頸静脈より採取した。また、採血後速やかに遠心分離 (4°C 15460 $\times$ g, 15 min) し、血漿 100  $\mu$ L を分取した。各試料は分析まで遮光下、-80°C で保存した。

### 1-1-2-4. CDDP の抽出および測定

血漿および尿試料中の遊離形 CDDP 濃度は、Minakata らの報告に準じ以下の方法で前処置を行い liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) にて測定した。<sup>10-11</sup> 氷冷 AcCN で除蛋白した血漿中遊離形 CDDP 試料およびイオン交換水で 10 倍希釈した尿試料 (各 100  $\mu$ L) に、酢酸緩衝液 (0.5 mol/L, pH 3, 100  $\mu$ L) を加えて攪拌し、試料の pH を 3-4 に調整した。pH 調整済試料にキレート形成のため DDC (1 mol/L, 10  $\mu$ L) を加えて 3 分間攪拌し、その後、IAA (100  $\mu$ L) を加えて 3 分間攪拌し遠心分離 (4°C, 15460 $\times$ g, 15 min) した。上澄み (70  $\mu$ L) を分取し、等量の oxalic acid (1 mol/L) を加え 3 分間攪拌した後、遠心分離 (4°C, 15460 $\times$ g, 15 min) した。得られた上清は分取し、1  $\mu$ L を LC-MS/MS システムに注入した。LC-MS/MS システムとして 1260 Infinity (Agilent Technologies Co., MA, USA) および質量分析部に AB SCIEX QTRAP<sup>®</sup> (AB SCIEX Co., MA, USA)

を用いた。カラムは用いず、移動相として特級メタノール（流速=0.2 mL/min）を使用した。分析は electrospray ionization (ESI) 法の positive ion mode で multiple reaction monitoring (MRM) にて Pt (DDC)<sub>3</sub><sup>+</sup>; 642 *m/z* → Pt (DDC)<sub>2</sub><sup>+</sup>; 493 *m/z* の transition を測定した。その他詳細な測定条件は Table 1-1 に示す。なお、CDDP の定量は絶対検量線法にて行った。

#### 1-1-2-5. Cr の測定

血漿試料中の Cr 濃度は、Dodder<sup>12</sup>らの報告を基に当研究室で改良した以下の方法で前処置を行い LC-MS/MS にて測定した。血漿試料（90 μL）に HCl（1 μmol/L, 10 μL）を加えた後、40 μL を分取し、0.1% formic acid : AcCN=1 : 9, v/v を 360 μL 加え 3 分間攪拌し遠心分離（4°C, 15460×g, 15 min）し除蛋白した。得られた上清は分取し、1 μL を LC-MS/MS システムに注入した。カラムは InertSustain™ C18 分析カラム 3 μ（2.1 mm i.d.×100 mm, 3 μm size, GL Sciences Inc., CA, USA）を用い、移動相として 0.1% formic acid : AcCN=1 : 9, v/v（流速=0.2 mL/min）を使用した。分析は ESI 法の positive ion mode で MRM にて Cr; 114.1 *m/z* → 44.1 *m/z* の transition を測定した。その他詳細な測定条件は Table 1-1 に示す。なお、Cr の定量は絶対検量線法にて行った。

**Table 1-1.** Tandem Mass Spectrometry Condition

|                               |          | CDDP | Cr   |
|-------------------------------|----------|------|------|
| Curtain gas flow              | (mL/min) | 30   | 30   |
| Collision gas flow            | (mL/min) | 9    | 9    |
| Ion spray voltage             | (V)      | 5500 | 5500 |
| Temperature                   | (°C)     | 400  | 300  |
| Declustering potential        | (V)      | 76   | 10   |
| Entrance potential            | (V)      | 10   | 10   |
| Collision energy              | (V)      | 39   | 43   |
| Collision cell exit potential | (V)      | 18   | 12   |

### 1-1-2-6. PK modeling

本検討で得られた血漿中遊離形 CDDP 濃度および CDDP 尿中排泄量は、血中遊離形 CDDP の生体内運命を考慮した PK model (Scheme 1-1, 上部) にて fitting させ、各 PK parameter を推定した。投与された CDDP は遊離形のみが薬効および毒性発現に関与する。<sup>8,9</sup> また、CDDP は血中の蛋白質に対して非特異的、不可逆的な結合をする。そこで、本検討では通常の 2-compartment model に加えて central compartment からの消失過程に腎臓からの排泄 (renal clearance:  $CL_r$ ) および蛋白への不可逆結合による消失 (metabolic clearance:  $CL_m$ ) の 2 つの経路を model に加えた。さらに、腎臓で濾過された CDDP は尿細管、尿管を經由して尿中 (膀胱) へ排泄されるため、別途で尿細管区画を設け尿中排泄までの遅延も model に加えた。model 式を下に示す。

$$\frac{dX_1}{dt} = -C_1 \times (CL_r + CL_m) - CLD_2 \times (C_1 - C_2) \quad (1)$$

$$\frac{dX_2}{dt} = CLD_2 \times (C_1 - C_2) \quad (2)$$

$$C_1 = \frac{X_1}{V_1}, \quad C_2 = \frac{X_2}{V_2}$$

$$\frac{dX_{\text{prox}}}{dt} = C_1 \times (CL_r + CL_m) - K_{\text{col}} \times X_{\text{prox}} \quad (3)$$

$$\frac{dX_{\text{urine}}}{dt} = K_{\text{col}} \times X_{\text{prox}} \quad (4)$$

$X_1$  および  $X_2$  はそれぞれ central および peripheral compartment における遊離形 CDDP 量を、 $C_1$  および  $C_2$  はそれぞれ central および peripheral compartment における遊離形 CDDP 濃度を、 $V_1$  および  $V_2$  はそれぞれ central および peripheral compartment における遊離形 CDDP の分布容積を示す。 $CLD_2$  は遊離形 CDDP の分布 CL を示す。 $X_{\text{prox}}$  および  $X_{\text{urine}}$  は、それぞれ腎臓近位尿細管および尿中の遊離形 CDDP 量を示す。 $K_{\text{col}}$  は蓄尿による time-lag を解消する速度定数を示す。なお Eq. 3 および Eq. 4 は PK model でのみ使用した。



### 1-1-2-7. TD model

本検討で得られた血漿中 Cr 濃度は，下記の生体応答カスケードを考慮した TD model (Scheme 1-1, 下部) にて fitting させ，parameter を推定した．また，Chen<sup>13</sup> らの報告した metformin 誘発性腎毒性 model および Rougier<sup>14</sup> らの報告したアミノ配糖体誘発性腎毒性 model を基にシグナル伝達-間接反応 model を構築した．Model 式を下に示す．

$$\frac{DT_1}{dt} = \frac{1}{\tau} \times \left( \frac{C1^\gamma}{EC_{50}^\gamma + C1^\gamma} - T2 \right) \quad (5)$$

$$\frac{dT_{(n+1)}}{dt} = \frac{1}{\tau} \times (T_n - T_{n+1}), \quad n = 1 \sim 9 \quad (6)$$

$$\frac{dCr}{dt} = K_{in} - \frac{CL_{cr}}{V_{cr}} \times \left( 1 - \frac{T_{10}}{IC_{50} + T_{10}} \right) \times Cr \quad (7)$$

ただし t=0 のとき

$$T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = T_7 = T_8 = T_9 = T_{10} \quad (8)$$

$$Cr = \frac{K_{in} \times V_{cr}}{CL_{cr}} \quad (9)$$

$C_1$  は PK model の central compartment における遊離形 CDDP 濃度を示す． $EC_{50}$  および  $\gamma$  はそれぞれ最大効果の 50% を与える遊離形 CDDP 濃度および Hill 係数を示す． $T_1$ - $T_{10}$  および  $\tau$  は各 transit compartment ( $n=10$ ) におけるシグナル強度 および各 transit compartment 間における平均伝達時間を示す． $IC_{50}$  は最大阻害効果の 50% を与えるシグナル強度を示す． $K_{in}$  は 0 次の Cr 生成速度定数を表し， $CL_{cr}$  および  $V_{cr}$  はそれぞれ  $CL_{cr}$  および Cr の分布容積を示す．ここで，ラットにおける  $CL_{cr}$  および  $V_{cr}$  は既報の値 ( $CL_{cr}=4.68 \text{ dL/hr/kg}^{15,16}$ ,  $V_{cr}=5.55 \text{ dL/kg}^{17}$ ) で固定した．また，PK 試験および TD 試験にはそれぞれ別個体を用いて検討しているため，PK parameter は PK 試験にて得られた値で固定し検討した．

### 1-1-2-8. PPK/TD modeling

PK および TD における PPK には、非線形混合効果 model, および解析ソフト WinNonlin® 6.3, NLME™ 1.2 (Certara LP, Princeton, NJ, USA) を使用し,  $\eta$ - $\varepsilon$  間相互作用を考慮した条件付き 1 次近似を用いた拡張最小二乗法 (First order conditional estimate-extended least squares: FOCE-ELS) にて parameter の推定を行った. 実測部位である  $C_1$  および  $C_r$  の個体内変動における誤差 model は, 相対誤差 model を用いた.

$$\text{Obs}_{i,j} = \text{Pred}_{i,j} \times (1 + \varepsilon_{\text{plasma}/Cr}) \quad (10)$$

$\text{Obs}_{i,j}$  は, ラット  $i$  における  $j$  番目の実測値であり,  $\text{Pred}_{i,j}$  はその推定値である.  $\varepsilon_{\text{plasma}}$  は平均値 0 で分散  $\sigma^2$  の正規分布  $N(0, \sigma_{\text{plasma}/Cr}^2)$  に従う確率変数を示す. また,  $X_{\text{urine}}$  の個体内変動における誤差 model は, 絶対誤差 model を用いた.

$$\text{Obs}_{i,j} = \text{Pred}_{i,j} + \varepsilon_{\text{urine}} \quad (11)$$

$\text{Obs}_{i,j}$  は, ラット  $i$  における  $j$  番目の実測値であり,  $\text{Pred}_{i,j}$  はその推定値である.  $\varepsilon_{\text{urine}}$  は平均値 0 で分散  $\sigma^2$  の正規分布  $N(0, \sigma_{\text{urine}}^2)$  に従う確率変数を示す. また, PK parameter の個体間変動は, 指数誤差 model を用いた.

$$P_{i,j} = \theta_{p,j} \times \exp(\eta_j) \quad (12)$$

$P_{i,j}$  は, ラット  $i$  における  $j$  という PK parameter であり,  $\theta_{p,j}$  はその  $j$  という PK parameter の母集団平均値を示す.  $\eta_j$  は,  $j$  という PK parameter における平均値 0 で分散  $\omega^2$  の正規分布  $N(0, \omega^2)$  に従う確率変数を示す.

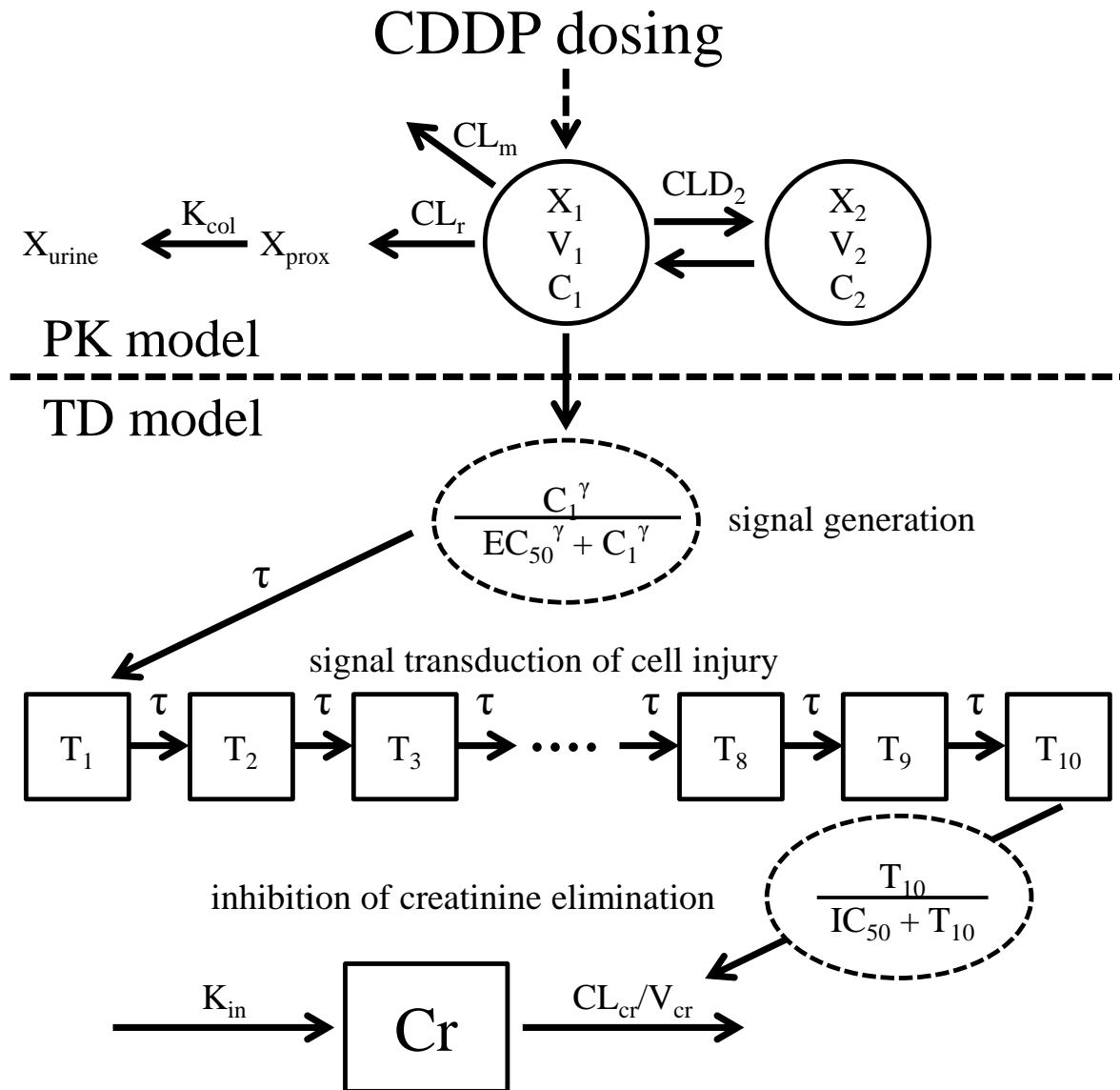
### 1-1-2-9. Model validation

構築した全ての model 構造の妥当性は goodness-of-fit (GOF) plot および bootstrap resampling<sup>18</sup> により検証した. GOF plot では, (i) PPK parameter による推定値 (predictions: PRED) vs. 実測値 (observations: OBS), (ii) PPK parameter に基づき Bayes 推定より得られた個々の推定値 (individual predictions: IPRED) vs.

OBS, (iii) 条件付き重み付け残差 (conditional weighted residuals: CWRES) vs. PRED ,および (iv) CWRES vs. 投与後経過時間 (time after dosing: TAD) をplot し, (i) および (ii) は直線 $y=x$ に対する偏りのない推定値分布を, (iii) および (iv) は直線 $y=0$ に対する偏りのない残差を検証した. Bootstrap resamplingでは, 解析に用いた全ラット個体から繰り返しを許した無作為復元抽出を行い, PPK に用いた全個体数と同数の data set を 1000 組 (PPK model) または 500 組 (PPK/TD model) 得た. それらを構築した model で解析し推定値の中央値と上記の PPK によって得られた推定値との残差および 95 percentile 信頼区間 (95 percentile confidence interval: 95<sup>th</sup>CI) にて再現性を比較することで, 構成 model の頑健性および精度を確認した. PK および TD parameter の非線形混合効果 model における母平均 (固定効果:  $\theta$ ) への個体間変動 (ランダム効果:  $\eta$ ) の寄与の統計学的有意性については, それぞれ帰無仮説値に固定した model (reduced model:  $\eta$  を削除した場合) によって得られる目的関数値の変動値 (-2 log likelihood difference: -2LL) を  $\chi^2$  分布値と比較する尤度比検定で判定した. つまり, -2LL は  $\chi^2$  分布に近似されるので parameter 数 (自由度) が 1 変化した際に, -2LL が 6.635 以上変化した場合 ( $p \leq 0.01$ ), 帰無仮説が棄却される (つまりランダム効果は, 有意に固定効果に寄与する).

#### 1-1-2-10. Simulation による至適投与設計の探索

腎毒性を最小限に抑える至適投与設計の探索を目的として, 異なる用法・用量における血漿中遊離形 CDDP 濃度および Cr 推移を simulation した. CDDP の投与量を 1.0, 2.5, 5.0 および 7.5 mg/kg に設定し, それぞれの投与量を静脈内に急速投与または 1, 2 および 3 時間持続投与したときの血漿中遊離形 CDDP 濃度および Cr の経時的推移を推定した. 具体的には, 前項までに構築した PPK model および推定された PPK parameter の分布に従って Monte Carlo method により乱数を発生させ, 10000 通りの仮想検体を作製し, それぞれの血漿中 CDDP および Cr 濃度推移を simulation した.

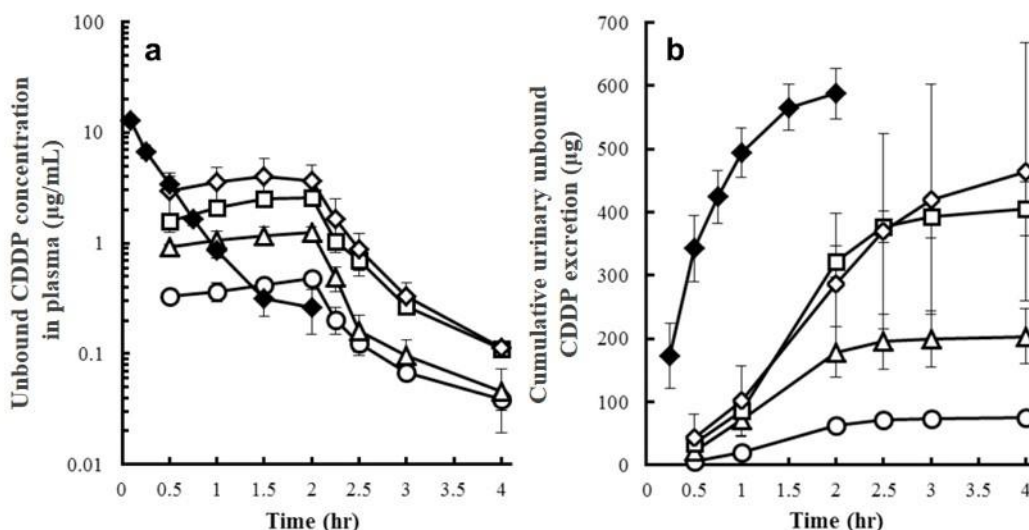


**Scheme 1-1.** Population pharmacokinetic/toxicodynamic (PPK/TD) model for CDDP-induced nephrotoxicity in rats. The TD model was linked with unbound CDDP concentration in central compartment of the PK model ( $C_1$ ). The signal transfers across eight transit compartments and indirectly inhibits the elimination of plasma creatinine.  $EC_{50}$ ,  $IC_{50}$ ; plasma CDDP concentration producing 50% of maximum effect and inhibition.  $\gamma$ ; hill constant.  $\tau$ ; mean transit time in each transit compartment.  $T_1$ - $T_{10}$ ; signal transit compartment.  $K_{in}$ ; zero-order production rate constant of creatinine.  $CL_{cr}$ ; creatinine clearance.

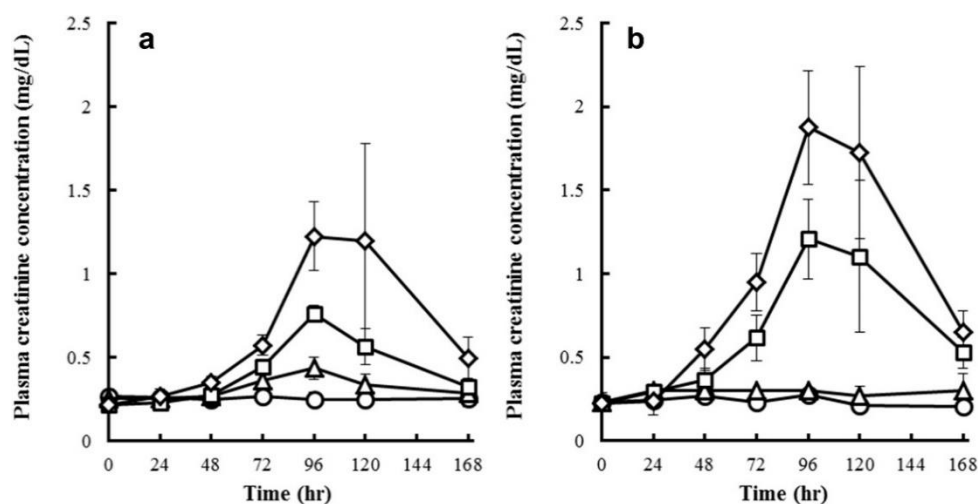
### 1-1-3. 結果

#### 1-1-3-1. PK and TD studies

血漿中遊離形 CDDP 濃度および CDDP 尿中累積排泄量の平均推移をそれぞれ Figure 1-1a および 1-1b に示す. 血漿中遊離形 CDDP 濃度および CDDP 尿中累積排泄量はほぼ投与量に依存した推移を示し, 持続投与した場合, いずれの投与量においても投与後 1.5 時間あるいは 2 時間で  $C_{max}$  に達した. また, 急速および 2 時間持続投与終了後, 血漿中遊離形 CDDP 濃度は二相性に減少した. 急速および 2 時間持続投与後の血漿中 Cr 推移の結果をそれぞれ Figure 1-2a および 1-2b に示す. 急速および 2 時間持続投与後の一過性 Cr 上昇はそれぞれ 2.5 および 5.0 mg/kg 以上の投与量群で観察された. また, 一過性の Cr 上昇は CDDP 投与後約 96-120 時間 (4-5 日) で観察され, 血漿中 Cr 濃度の最大値 ( $C_{rmax}$ ) は用量依存的に上昇した. しかし, 2.5 mg/kg 投与による血漿中 Cr 濃度上昇は 2 時間持続投与群と比較して急速投与群で大きかった, 一方, 5.0 および 7.5 mg/kg 投与時においては 2 時間持続投与群で大きく上昇した.



**Figure 1-1.** The mean profiles of the unbound CDDP concentration in plasma (a) and the cumulative urinary unbound CDDP excretion (b) after 30-sec bolus injection of CDDP at a dosage of 7.5 mg/kg (◆) or 2-hr infusion of 1.0 (○), 2.5 (△), 5.0 (□), and 7.5 mg/kg (◇). Each symbol represents the mean  $\pm$  SD of 3-4 rats.



**Figure 1-2.** The plasma creatinine concentration profiles after 30-s bolus injection of CDDP (a) or 2-hr infusion (b) at a dosage of 1.0 (○), 2.5 (△), 5.0 (□), and 7.5 mg/kg (◇). Each symbol represents the mean  $\pm$  SD of 3-7 rats.

### 1-1-3-2. PPK modeling

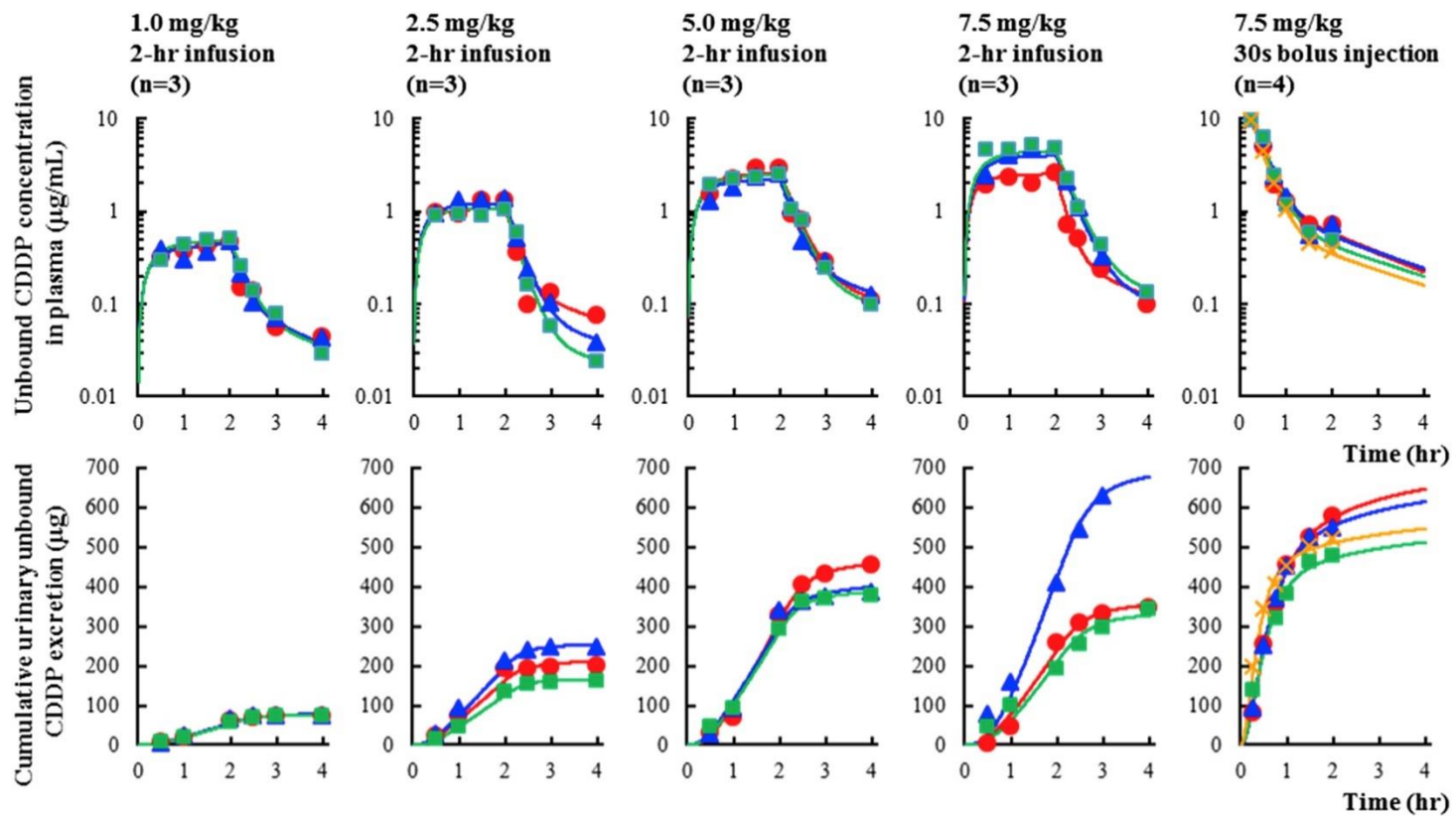
得られた血漿中遊離形 CDDP 濃度を 1-および 2-compartment model に fitting させたところ 2-compartment model がより精度よく血漿中遊離形 CDDP 濃度推移に適合した ( $\Delta$ -2LL=-173.4). さらに model への  $K_{co1}$  の導入もまた有意に model の適合性を改善したことから ( $\Delta$ -2LL=-133.7), 血漿中遊離形 CDDP 濃度および CDDP 尿中排泄量は, Scheme 1-1 上部に示した PK model がより妥当性の高い構造であることが確認された. 個々の血漿中遊離形および尿中 CDDP 濃度に対する fitting を Figure 1-3 に, PPK model より得られた PPK parameter の CV%,  $\eta$ -shrinkage, bootstrap resampling の結果を Table 1-2 に, GOF plots の結果を Figure 1-4 にそれぞれ示す. PPK parameter の CV% および  $\eta$ -shrinkage はそれぞれ 5.21-159% および 6.24-50.0% であり, 全ての PPK parameter は bootstrap resampling より得られた 95<sup>th</sup>CI に収まり median と近似していた. 次に, OBS vs. PRED および OBS vs. IPRED plots は, 観測値が  $y=x$  上に密集しており, いずれの濃度域においても対称に分布したことから PPK model の良好な予測性が確認された. また, CWRES vs. TAD および CWRES vs. PRED plots は, 傾向がなく CWRES=0 周囲にランダムに散在したことから, PPK model の構造および誤差 model の妥当性が示された.

**Table 1-2.** PPK parameters of unbound CDDP and bootstrap validation

| Parameter<br>(Unit)                    | Original dataset |           |                  | Bootstrap replication |                                       | Residual<br>(%) |
|--|------------------|-----------|------------------|-----------------------|---------------------------------------|-----------------|
|  | Estimate         | CV<br>(%) | Shrinkage<br>(%) | Median                | 95 <sup>th</sup> CI<br>[2.5th–97.5th] |                 |
| <b>Population mean</b>                 |                  |           |                  |                       |                                       |                 |
| V <sub>1</sub> (mL)                    | 79.7             | 5.21      |                  | 78.7                  | [ 72.1 –84.6 ]                        | 1.25            |
| V <sub>2</sub> (mL)                    | 116              | 23.9      |                  | 116                   | [ 72.0 –194 ]                         | 0.419           |
| CLD2 (mL/hr)                           | 47.7             | 6.21      |                  | 48.8                  | [ 37.3 –60.4 ]                        | -2.31           |
| CL <sub>m</sub> (mL/hr)                | 157              | 9.21      |                  | 156                   | [ 136 –179 ]                          | 0.637           |
| CL <sub>r</sub> (mL/hr)                | 75.8             | 6.53      |                  | 76.1                  | [ 67.2 –83.1 ]                        | -0.396          |
| K <sub>col</sub> (hr <sup>-1</sup> )   | 5.20             | 21.1      |                  | 5.17                  | [ 3.61 –7.43 ]                        | 0.577           |
| <b>Internal-individual variability</b> |                  |           |                  |                       |                                       |                 |
| V <sub>1</sub> (%)                     | 9.68             | 159       | 50.0             | 7.41                  | [ 0.01 –26.8 ]                        | 23.5            |
| CLD2 (%)                               | 45.3             | 42.7      | 8.74             | 46.3                  | [ 30.2 –59.9 ]                        | -2.21           |
| CL <sub>m</sub> (%)                    | 19.7             | 40.6      | 6.53             | 19.2                  | [ 6.70 –29.5 ]                        | 2.54            |
| CL <sub>r</sub> (%)                    | 24.2             | 38.4      | 6.24             | 23.7                  | [ 7.51 –37.6 ]                        | 2.07            |
| K <sub>col</sub> (%)                   | 59.7             | 64.6      | 25.6             | 55.7                  | [ 15.2 –81.2 ]                        | 6.70            |
| <b>Residual variability</b>            |                  |           |                  |                       |                                       |                 |
| σ <sub>plasma</sub> (%)                | 17.4             | 9.33      |                  | 16.9                  | [ 14.8 –18.9 ]                        | 2.95            |
| σ <sub>urine</sub> (μg)                | 16.9             | 8.69      |                  | 16.9                  | [ 13.1 –20.7 ]                        | 0.125           |

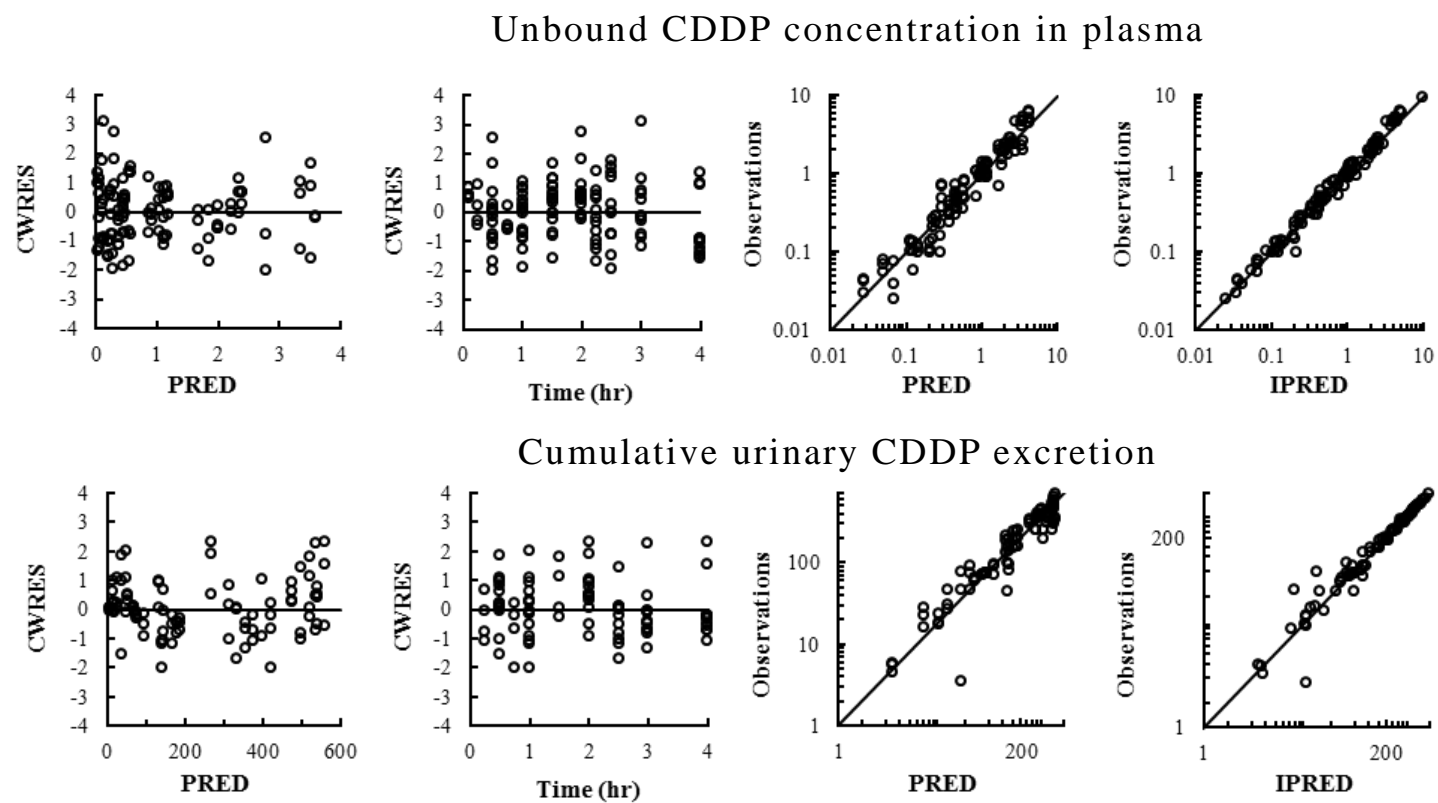
V<sub>1</sub> and V<sub>2</sub>: unbound CDDP distribution volume of each compartment. CLD2: distribution clearance. CL<sub>m</sub> and CL<sub>r</sub>: metabolic and renal clearances, respectively. K<sub>col</sub>: collection delay constant. CV, coefficient of variation; 95<sup>th</sup>CI, 95 percentile confidence interval of bootstrap replications. σ, residual variability.

Residual (%)=(estimate value of original data–bootstrap median values)/estimate value of original data × 100



**Figure 1-3.** Individual fitted curves to the observations of unbound CDDP concentration in plasma (upper) and cumulative urinary unbound CDDP excretion (bottom) by the PPK model. Symbols and the same color line represent individual observations and the fitted curve, respectively.

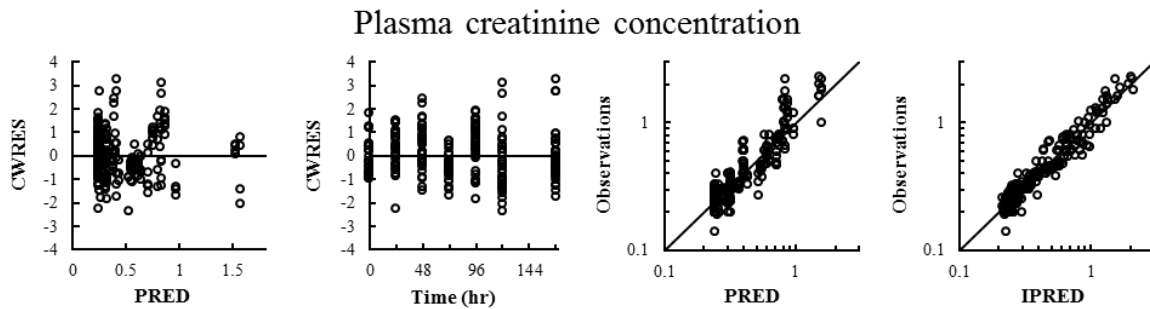




**Figure 1-4.** Goodness-of-fit plots of population pharmacokinetics model of unbound CDDP concentration in plasma (upper) and cumulative urinary CDDP excretion (bottom). Population predictions (PRED) vs. conditional weighed residuals (CWRES), time after dosing vs. CWRES, PRED vs. observations, and individual predictions (IPRED) vs. observations. Solid line in PRED or IPRED vs. observation plot indicates the identity line ( $y=x$ ).

### 1-1-3-3. PPK/TD modeling

腎毒性発現に伴う血漿中 Cr 濃度推移は線形のシグナル伝達 model では十分 fit しなかったため、非線形型である sigmoid  $E_{max}$  model を有するシグナル伝達 model を採用した。シグナル伝達 model は CDDP 投与から血漿中 Cr 濃度が上昇するまでの時間的なラグを解消し、10 個の transit compartment を連結させた model が最も適合した。GOF plots の結果を Figure 1-5 に、PPK model より得られた PPK parameter の CV%,  $\eta$ -shrinkage, bootstrap resampling の結果を Table 1-3 に、個々の血漿中 Cr 推移に対する fitting を Figure 1-6 にそれぞれ示す。PPK parameter の CV% および  $\eta$ -shrinkage はそれぞれ 5.27-46.2% および 22.1-29.8% であった。ここで、PPK/TD model を構築するうえで  $K_{in}$  および  $IC_{50}$  を除いた parameter における個体間変動の導入はいずれも model 適合性を優位に改善させなかったことから、model に組み込まなかった。また、bootstrap resampling および GOF plots の結果はいずれも良好であったことから、PPK/TD model の構造および誤差 model の妥当性が示された。



**Figure 1-5.** Goodness-of-fit plots of PPK/TD model. Population predictions (PRED) vs. conditional weighed residuals (CWRES), time after dosing vs. CWRES, PRED vs. observations, and individual predictions (IPRED) vs. observations. Solid line in PRED or IPRED vs. observation plot indicates the identity line ( $y=x$ ).

**Table 1-3.** PPK/TD parameters of CDDP-induced acute renal injury and bootstrap validation

| Parameter<br>(Unit)             | Original dataset          |        |                  | Bootstrap replication |                                       | Residual<br>(%) |
|---------------------------------|---------------------------|--------|------------------|-----------------------|---------------------------------------|-----------------|
|                                 | Estimate                  | CV (%) | Shrinkage<br>(%) | Median                | 95 <sup>th</sup> CI<br>[2.5th–97.5th] |                 |
| Population mean                 |                           |        |                  |                       |                                       |                 |
| EC <sub>50</sub> (µg/mL)        | 2.48                      | 11.3   |                  | 2.50                  | [ 2.14 -3.53 ]                        | 0.806           |
| γ (—)                           | 5.05                      | 24.8   |                  | 5.02                  | [ 3.28 -170 ]                         | -0.594          |
| τ (hr)                          | 11.1                      | 1.0    |                  | 11.1                  | [ 10.9 -11.4 ]                        | -0.153          |
| K <sub>in</sub> (mg/dL/hr)      | 0.204                     | 2.0    |                  | 0.204                 | [ 0.197 -0.211 ]                      | 0.0562          |
| CL <sub>cr</sub> (dL/hr/kg)     | 4.68 (fixed) <sup>a</sup> |        |                  |                       |                                       |                 |
| V <sub>cr</sub> (dL/kg)         | 5.55 (fixed) <sup>b</sup> |        |                  |                       |                                       |                 |
| IC <sub>50</sub> (µg/mL)        | 0.00298                   | 15.2   |                  | 0.00294               | [ 0.00214 -0.00369 ]                  | -1.34           |
| Internal-individual variability |                           |        |                  |                       |                                       |                 |
| K <sub>in</sub> (%)             | 40.4                      | 38.0   | 29.8             | 38.7                  | [ 2.58 -51.6 ]                        | -4.21           |
| IC <sub>50</sub> (%)            | 8.47                      | 46.2   | 22.1             | 8.19                  | [ 3.06 -11.3 ]                        | -3.31           |
| Residual variability            |                           |        |                  |                       |                                       |                 |
| σ <sub>cr</sub> (%)             | 16.6                      | 5.27   |                  | 16.5                  | [ 14.8 -17.9 ]                        | -0.602          |

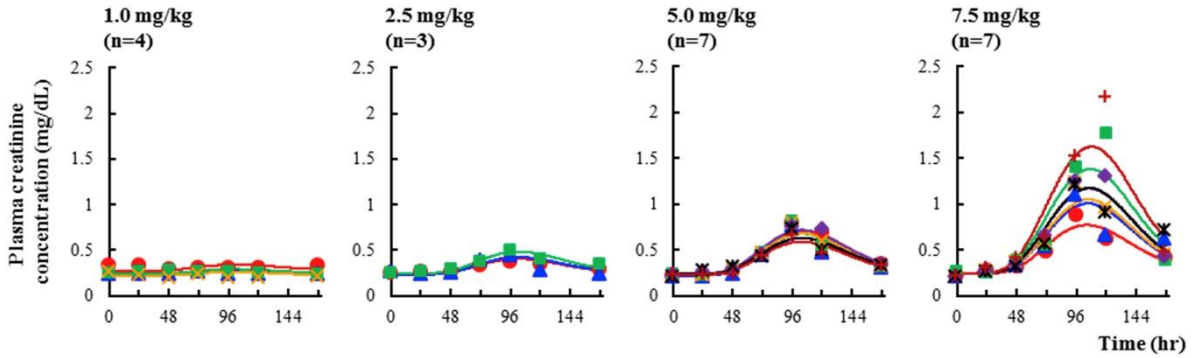
EC<sub>50</sub>: unbound CDDP concentration producing 50% of the maximum effect. γ: hill constant. τ: transit time in each transit compartment. IC<sub>50</sub>: signal intensity producing 50% of the inhibition effect. K<sub>in</sub>: zero-order production rate constant of creatinine. CL<sub>cr</sub> and V<sub>cr</sub>: creatinine clearance and creatinine distribution volume, respectively. CV, coefficient of variation; 95<sup>th</sup>CI, 95 percentile confidence interval of bootstrap replications. σ, residual variability.

Residual (%)=(estimate value of original data–bootstrap median values)/estimate value of original data × 100

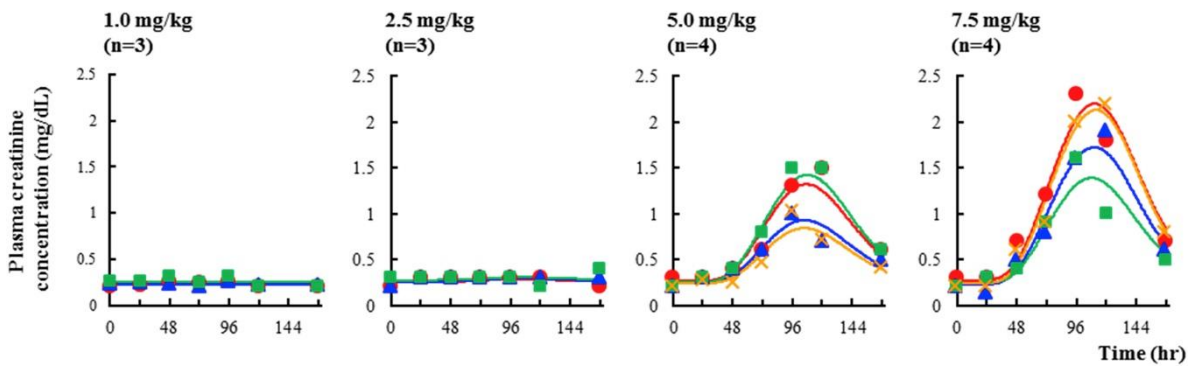
<sup>a</sup> CL<sub>cr</sub> was fixed at previously reported value.<sup>15-16</sup>

<sup>b</sup> V<sub>cr</sub> was fixed at previously reported value.<sup>17</sup>

### 30s bolus injection of CDDP



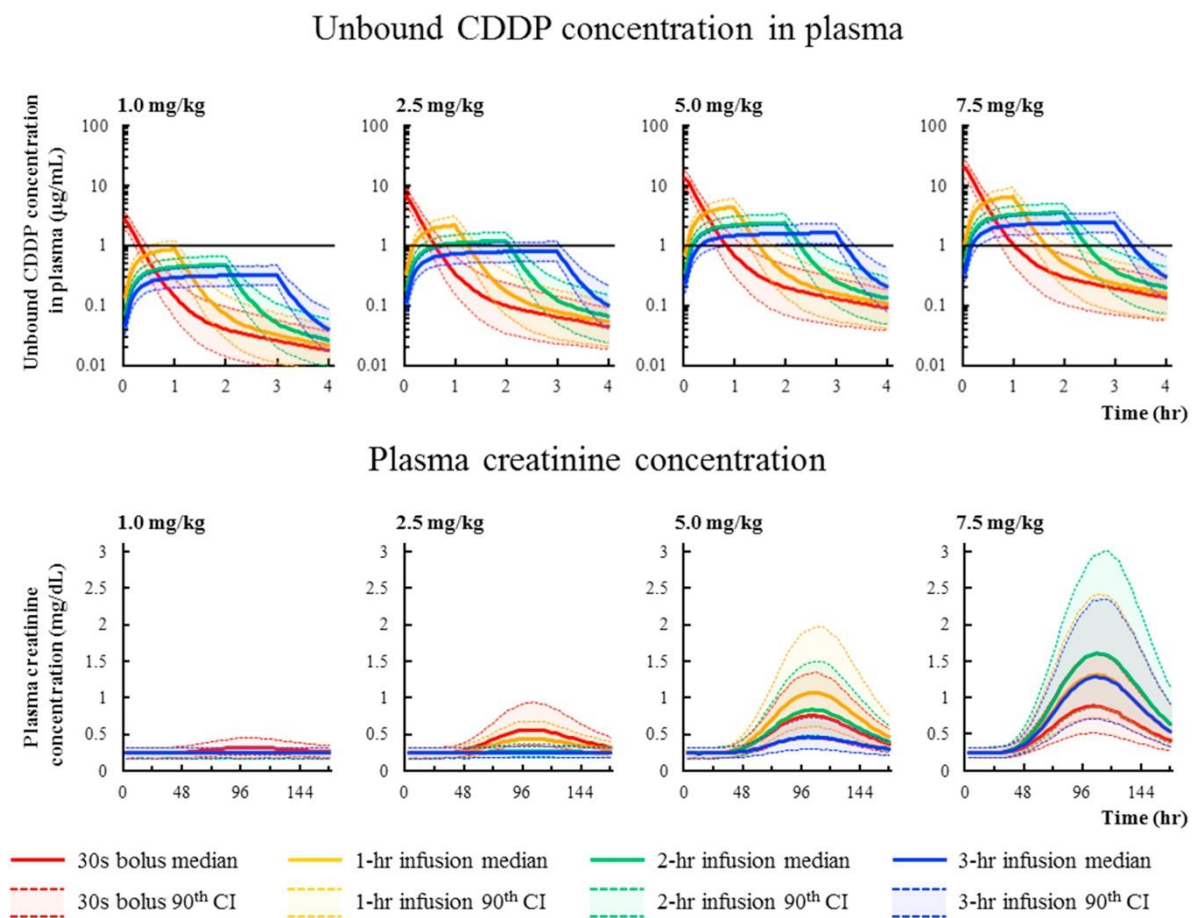
### 2-hr infusion of CDDP



**Figure 1-6.** Individual fitted curves to observed creatinine concentrations after 30-s bolus injection (upper) or 2-hr infusion of CDDP (bottom) by the PPK/TD model. Symbols and the same color line represent the individual observations and the fitted curve, respectively.

### 1-1-3-4. Dosing Simulation

Figure 1-7 は構築した PPK/TD model および parameter から 4 つの異なる用法・用量で CDDP を投与した際の血漿中遊離形 CDDP 濃度推移 (上部) および血漿中 Cr 濃度推移 (下部) を simulation した結果である。血漿中遊離形 CDDP の  $C_{max}$  は用量の減少および持続投与時間の延長に伴い低下した。しかし、7.5 mg/kg 急速投与後の  $C_{max}$  は、3 時間持続投与後の  $C_{max}$  と比較して約 10 倍高いにもかかわらず  $Cr_{max}$  は 3 時間持続投与群でより高値を示し、 $Cr_{max}$  は遊離形 CDDP の  $C_{max}$  と完全には相関しなかった。



**Figure 1-7.** Simulated unbound CDDP concentrations in plasma (upper) and creatinine concentrations (bottom) at various dosages and dosing rates of CDDP. Each solid line and shaded area represents the median and 90<sup>th</sup> percentile confidence interval (90<sup>th</sup>CI) of 10,000 simulations, respectively. The horizontal line indicates 1.0 µg/mL of the unbound CDDP concentration.

#### 1-1-4. 考察

本研究では、ラットにおける CDDP 誘発性腎毒性の PPK/TD model を構築し、異なる用法・用量における血漿中遊離形 CDDP 濃度推移および Cr 濃度推移を simulation することで、腎毒性を最小限に抑える投与設計について検討した。

血漿中遊離形 CDDP 濃度は CDDP 投与終了時が最大であり、その後速やかに血漿中より消失した (Figure 1-1a)。CDDP (1.0, 2.5, 5.0 および 7.5 mg/kg) 2 時間持続投与後における血漿中遊離形 CDDP の AUC を線形台形公式より算出した結果、それぞれ  $1.04 \pm 0.06$ ,  $2.45 \pm 0.18$ ,  $5.40 \pm 0.38$ ,  $7.97 \pm 2.23$  hr $\cdot$  $\mu$ g/mL であり AUC は用量に比例して増加し、CDDP の PK は用量に対して線形性を示すことが確認された。また、PPK model には、血漿中遊離形 CDDP 濃度推移の二相性、 $-2LL$  値を用いた model 適合性、および既報を参考に 2-compartment model を採用した。<sup>19-20</sup> CDDP は腎排泄型であり、<sup>21</sup> さらに血漿中の蛋白質と非特異的・不可逆的に結合し薬効を失うため、<sup>8-9</sup> 蛋白質との結合は不活性種への代謝とみなされる。よって、 $CL_r$  および  $CL_m$  の 2 経路での消失過程を model に採用し、validation の結果も良好であった。以上より、構築した PPK model の構造は血漿中遊離形 CDDP 濃度推移を高精度に捕捉し、かつ CDDP の生体内運命を高く反映するものであると考えられる。

一過性の Cr 濃度上昇は投与後約 96-120 hr (4-5 day) で観察され (Figure 1-2) 既報とも一致した。<sup>9,22</sup> ここで、CDDP 投与終了後速やかに消失する血漿中遊離形 CDDP と、一過性の Cr 濃度上昇との間には大幅な時間的遅延が認められた。CDDP 誘発性腎毒性の発現機序として、腎尿細管上皮細胞におけるアポトーシスが報告されている。<sup>23,24</sup> アポトーシスのメカニズムには活性酸素種の生成や <sup>25</sup> TNF- $\alpha$  の産生亢進 <sup>26,27</sup> 等の関与が知られており、実際に腎臓近位尿細管細胞のアポトーシスが CDDP 投与後 5 日目にピークに達すると報告されている。<sup>25</sup> 以上より、細胞傷害性シグナルの伝達には時間を要するため、本研究でも同様に血漿中遊離形 CDDP 濃度に対して Cr 濃度推移の時間的遅延が生じたと考えられる。また、CDDP 投与後の一過性 Cr 上昇は 2.5 mg/kg 以上の用量を急速投与、もしくは 5.0 mg/kg 以上の用量を 2 時間持続投与した際に観察され (Figure 1-2, 1-6)、Nagai ら <sup>5,6</sup> による BUN 上昇のタイミングと一致した。さらに、CDDP の用量と腎毒性の程度には非線形性が観察された。腎毒性が用量非線形性を示した理由は未解明であるもの

の、CDDP 誘発性アポトーシスを調節する DNA 修復因子 (p53) の feedback 系が関与した可能性が考えられる。<sup>23</sup> よって、CDDP 投与後の TD 解析には非線形および時間的遅延を考慮した model を適応する必要性が示された。

以上より、PPK/TD model は腎毒性の発現機序に基づき構築し、細胞傷害性シグナルの発生、シグナル伝達・アポトーシスの誘導、および Cr 排泄阻害の 3 つの過程で構成した (Scheme 1-1 下部)。細胞傷害性シグナルの発生は  $C_1$  を起点としたシグモイド  $E_{max}$  model により表現することで、腎毒性発現における非線形性を説明した。また、細胞傷害性シグナルの増幅は、シグナル発生の起点であるシグモイド  $E_{max}$  model に Hill 係数 ( $\gamma$ ) を組み込むことで単純化した。また、CDDP 投与後の細胞傷害性シグナル発生から腎毒性発現までの時間的遅延を説明するためにシグナル伝達 model を用いた。シグナル伝達 model は、抗がん剤の効果予測を目的とした modeling に広く用いられており、<sup>28,29</sup> 抗がん剤の投与とそれに伴い発生するシグナル伝達を介した効果発現までの時間的遅延を説明することが可能である。加えて腎臓での Cr 排泄阻害により生じる Cr 上昇を説明するために間接反応 model を組み込んだ。また、これら腎毒性の発現機序に基づき構築した PPK/TD model の validation 結果は良好であり、model の生理学的妥当性が示された。

本研究の目的は構築した PPK/TD model を用いて異なる用法・用量における血漿中遊離形 CDDP 濃度および Cr 推移を simulation することで腎毒性を最小に抑制し得る投与設計を探索することである。これまでに同一用法であれば用量依存的な腎毒性増悪が報告されているが、<sup>5,6,9,22,30</sup> 異なる用法で同一用量を投与した際の腎毒性発現との関連性は未解明であるため、構築した PPK/TD model にて検討した。その結果、同一用法で用量のみを変更した場合、用量依存的に上昇する  $C_{max}$  と  $Cr_{max}$  との間に高い相関を示した (Figure 1-7)。一方、同一用量で投与持続時間のみを変更した場合、 $C_{max}$  は投与持続時間の延長に伴い低下するのにも関わらず、 $Cr_{max}$  は  $C_{max}$  と相関せず  $C_{max}$  が低くても投与持続時間が長いと腎毒性が増悪することが示された (Figure 1-7)。よって、腎毒性は  $C_{max}$  と共に血漿中遊離形 CDDP 濃度が一定の毒性発現濃度以上を持続した時間に応じて発現することが示唆された。この毒性発現濃度は約  $1.0 \mu\text{g/mL}$  であったことから、血漿中遊離形 CDDP 濃度は約  $1.0 \mu\text{g/mL}$  を超えない投与速度設計が腎毒性軽減に有用である可能性が示された。この毒性発現濃度 (約  $1.0 \mu\text{g/mL}$ ) は  $EC_{50}$  および  $\gamma$  値より算出

される  $EC_1$  (最大効果の 1%を与える濃度) に対応する。よって、本研究で示した血漿中遊離形 CDDP の毒性発現濃度はラットにおける値であるが、PPK/TD model を用いてヒトにおける  $EC_{50}$  および  $\gamma$  を推定し毒性発現濃度を算出することで、患者個々に応じたより有用で安全な投与設計が可能になると考えられる。

本研究で構築した PPK/TD model は、GOF plots および bootstrap resampling の結果より誤差 model の妥当性と良好な推定精度が示された。構築した PPK/TD model を用いた simulation により、CDDP 誘発性腎毒性を抑えるためには血漿中遊離形 CDDP 濃度が約  $1.0 \mu\text{g/mL}$  を超えない投与設計が重要であることが示唆された。また、CDDP 誘発性腎毒性は  $C_{\text{max}}$  および毒性濃度以上における持続時間に応じて発現する可能性が示唆された。



## 第二節：抗がん剤 cisplatin 反復投与時における薬物動態および腎毒性発現予測

### 1-2-1. 緒言

CDDP は高い奏効率を示すものの副作用発現率も高く、がん化学療法の大きな障害となっている。臨床では投与制限因子である CDDP 誘発性腎毒性抑制を目的として水負荷や利尿剤併用による強制利尿法などの施行による腎毒性の予防・軽減を試みているが、依然として患者の 1/3 に腎毒性が発生している。<sup>31,32</sup>

CDDP の PK および CDDP 誘発性急性腎毒性 (CDDP-induced acute kidney injury: CDDP-AKI) の病態生理に関しては多くの調査がなされている。<sup>5,6,9,33</sup> 一方, CDDP は単回投与による治療は行われず, 通常は一定の washout 期間を設け複数 cycle に渡って投与される。CDDP の投与 cycle はレジメンにより様々であり, 単回もしくは 5 日間連続で投与した後に 2-3 週間の washout 期間を設けるなどが実施されている。また, CDDP-AKI の重症度は cycle を重ねるごとに変化する可能性が示唆されている。<sup>24,34</sup> Mizushima らは CDDP (4 mg/kg) をラットに 2 週間間隔で反復投与した際に 1st cycle では CDDP-AKI が厳密に 4 日後に生じたのに対して, 2nd cycle では CDDP-AKI は発生せず, また 3rd cycle 以降の血中 Cr 濃度推移には大きなバラツキおよび cycle を経るに従った CDDP-AKI の増悪を報告した。<sup>34</sup> ゆえに CDDP-AKI の発生は一過性であると考えられるが, 長期にわたる CDDP 治療は進行性の腎毒性を誘発している可能性がある。

上記の通り, CDDP-AKI に関しては多くの検討がなされておりその詳細は解明されつつある。しかしながら長期にわたる CDDP 治療が及ぼす腎機能障害の蓄積性に関する検討は少なく, 不可逆的な腎間質線維症が関与しているとされているものの,<sup>35,36</sup> CDDP 投与との関連性は未だ明らかとなっていない。当然, CDDP を有する化学療法施行時には CDDP-AKI のみならず CDDP の反復投与により誘発される亜慢性期における腎毒性 (CDDP induced sub-chronic kidney injury: CDDP-sCKI) のコントロールは副作用発現抑制につながる可能性は非常に高い。そこで本研究では, ラットを用いて CDDP 反復投与時における PK, 腎機能, および Pt の腎蓄積の変化に対する CDDP-AKI および CDDP-sCKI との関連性に焦点を当て検討を行った。

## 1-2-2. 方法

1-1-2. に記載したものと同一の機材および方法にて研究を行った。

### 1-2-2-1. PK 試験

Wistar 系雄性ラットに CDDP (5.0 mg/kg) を大腿静脈より急速投与した後, 21 日間休薬した。これら投与と休薬を合わせて 1 cycle とし, 合計で 1-3 cycle 間検討を行った。1st, 2nd, および 3rd cycle まで投与を行った 3 群に対して, 最終 CDDP 投与日に血漿サンプルは CDDP 投与後 5,15,30,45,60,90 および 120 分後に, 尿サンプルは CDDP 投与後 120 分経過時まで 15 分間隔で採取し, 血漿中遊離形 CDDP 濃度および尿中 CDDP 濃度をそれぞれ測定した。さらに PK 試験終了直後 (CDDP 投与 120 分後) に氷冷リン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH7.4) を用いて灌流し, 両腎臓を採取し, 測定まで -80°C で凍結保存した。

### 1-2-2-2. 腎臓中 Pt 移行量の測定

採取した腎臓は質重量を測定した後に 4 倍量の PBS を用いてホモジナイズした。ホモジネート (100  $\mu$ L) に濃硝酸 (200  $\mu$ L) を加えて攪拌し, 85°C で 20 時間かけて湿式灰化を行った。タンパク質を灰化させた後, NaOH (10 mol/L) を用いて pH を 3-4 に調整した後に, 血漿および尿サンプルと同様の操作にて腎臓中 Pt 移行量を測定した。

### 1-2-2-3. TD 試験

PK 試験と同一の投与方法および cycle にて合計 3 cycle に渡り血漿中 Cr 濃度推移を観察した。ラットは感染および他個体からの影響を最小化するため単独ケージにて飼育し, 水およびエサは自由摂取させた。採血は各 cycle とも CDDP 投与直前および投与後 7 日目までは連日で, 8 日目以降は隔日で経皮的に行い, 血漿中 Cr 濃度を測定した。なお, PK 試験とは別個体を用いて実験を行った。

#### 1-2-2-4. PK 解析

全ての PK parameter は解析ソフト WinNonlin® 6.4 を用いて non-compartmental PK analysis にて算出した。まず、血漿中遊離形 CDDP 濃度推移に関する PK parameter は以下の方法で算出した。血中消失速度定数 ( $\lambda_z$ ) は血漿中遊離形 CDDP 濃度度対時間 plots の終末相の 3 点以上を用いた勾配から線形最小二乗法を用いて算出した。0-120 min までの AUC ( $AUC_{p,0-120}$ ) は最終実測値 ( $C_{120}$ ) までの値を線形台形公式より求め、さらに無限大時間までの AUC ( $AUC_{p,0-\infty}$ ) は  $C_{120}$  を  $\lambda_z$  で除した値を補正し算出した;  $C_{120}/\lambda_z$ 。終末相の消失半減期 ( $t_{1/2}$ ) は  $t_{1/2}=\ln(2)/\lambda_z$  により算出した。無限大時間までの血中濃度 1 次モーメント対時間曲線下面積 ( $AUMC_{p,0-\infty}$ ) もまた、最終実測時間 ( $T_{120}$ ) までの値を線形台形公式より求め、 $T_{120} \times C_{120}/\lambda_z + C_{120}/\lambda_z^2$  で補正し算出した。平均体内滞留時間 ( $MRT_p$ )、全身 CL ( $CL_{tot}$ ) および定常状態の分布容積 ( $Vd_{ss}$ ) は、それぞれ  $AUMC_{p,0-\infty}/AUC_{p,0-\infty}$ 、 $Dose/AUC_{p,0-\infty}$ 、および  $CL_{tot} \times MRT_p$  により算出した。次に、尿中 CDDP 濃度に関する PK parameter も血漿中と同一の手順にて解析を行い、0-120 min までの尿中 CDDP 濃度の AUC ( $AUC_{u,0-120}$ )、無限大時間までの尿中 CDDP 濃度の AUC ( $AUC_{u,0-\infty}$ ) および無限大時間までの尿中濃度 1 次モーメント対時間曲線下面積 ( $AUMC_{u,0-\infty}$ )、平均尿中滞留時間 ( $MRT_u$ ) を算出した。最後に尿中排泄速度に関する PK parameter は以下の方法で算出した。終末相における尿中排泄速度定数 ( $K_u$ ) は尿中排泄速度対時間 plots の終末相 3 点以上を用いた勾配から線形最小二乗法を用いて算出した。0-120 min までの尿中排泄速度対時間曲線下面積 ( $AURC_{0-120}$ ) は最終尿中排泄率 ( $R_{120}$ ) までの値を線形台形公式より求め、さらに無限大時間までの AURC ( $AURC_{0-\infty}$ ) は  $R_{120}$  を  $K_u$  で除した値を補正し算出した;  $R_{120}/K_u$ 。尿中排泄率 ( $A_e$ ) は  $AURC_{0-\infty}$  を投与量で除すことにより算出した。ここで、血漿中遊離形 CDDP の消失過程に腎臓からの排泄 ( $CL_r$ ) および蛋白への不可逆結合による消失 ( $CL_m$ ) があるが、 $CL_r$  および  $CL_m$  はそれぞれ  $CL_{tot} \times A_e$  および  $CL_{tot} - CL_r$  で算出した。

#### 1-2-2-5. CDDP-AKI および CDDP-sCKI の評価基準

2012 *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*によると、急性腎障害とは48時間以内にSCr値が0.3 mg/dL以上上昇した場合、またはSCr値が以前7日以内の値と比較して1.5倍以上の増加があった場合と、慢性腎臓病は3ヶ月以上にわたって腎障害のマーカーや糸球体濾過量などの腎臓の構造や機能が健康に及ぼす状態が持続している場合と定義されている。<sup>37,38</sup> Cr濃度はCDDP投与後2~3日で大きく増加し始め、約5日でCr<sub>max</sub>に達し、10日後には収束する。<sup>22,33,34</sup> また、Cr濃度は投与前のbaseline値にまで回帰しない。<sup>39,40</sup> これらの情報に基づき本研究では、各cycleにおけるCDDP投与後8日以内に生じるCr<sub>max</sub>および11-19日におけるCr濃度の算術平均 (Cr<sub>base</sub>) をそれぞれCDDP-AKIおよびCDDP-sCKIの指標とした。

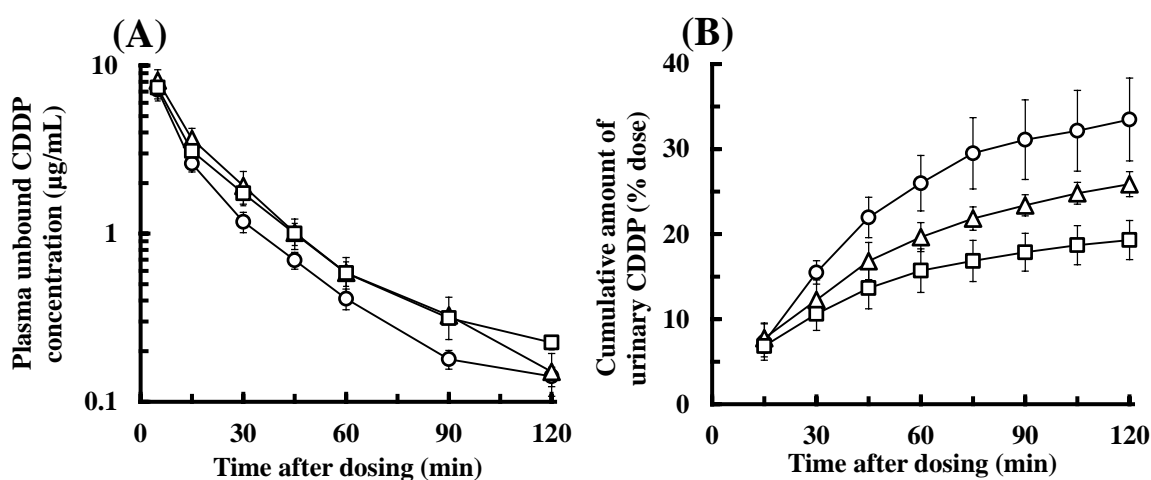
#### 1-2-2-6. 統計解析

全ての値は mean ± standard error (SE) で表した。PK試験における統計解析は、一元配置要因分散分析を行った後に、Scheffé's test を用いた。またTD試験における統計解析はFriedman's test を行った後に、Steel-Dwass test を行った。また、有意差は危険率5%を基準とした。なお、統計解析にはSPSS ver. 22.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) を用いた。

### 1-2-3. 結果

#### 1-2-3-1. PK study

各 cycle における血漿中遊離形 CDDP 濃度推移および尿中累積 CDDP 排泄率を Figure 1-8 に、またその際に得られた PK parameter を Table 1-4 にそれぞれ示す。いずれの cycle においても血漿中遊離形 CDDP 濃度は緩やかな 2 相性推移を示し、cycle 間における大きな差は観察されなかった (Figure 1-8A)。また、腎蓄積 Pt 量は cycle を重ねるに従い、直前 cycle 時の腎蓄積 Pt 量と比較して 2 倍程度に増加した。尿量は cycle を重ねるに従い有意に増加し、それに伴い、尿中 CDDP 濃度および  $AUC_{u,0-120}$  は有意に低下した。また、 $A_e$  は cycle を重ねるに従った有意な減少が観察され、それに伴い  $CL_r$  も cycle を重ねるに従った有意な減少が観察された。一方で  $CL_m$  に有意差は得られなかった。



**Figure 1-8.** The unbound CDDP concentration profiles in plasma (A) and the cumulative amounts of urinary excreted CDDP (B) after administration of CDDP (5.0 mg/kg) to rat in each cycle. The symbols indicates those in the 1st cycle (○), in the 2nd cycle (△), and in the 3rd cycle (□), respectively. Each data with a bar represents the mean±SE of 6 rats in each cycle.

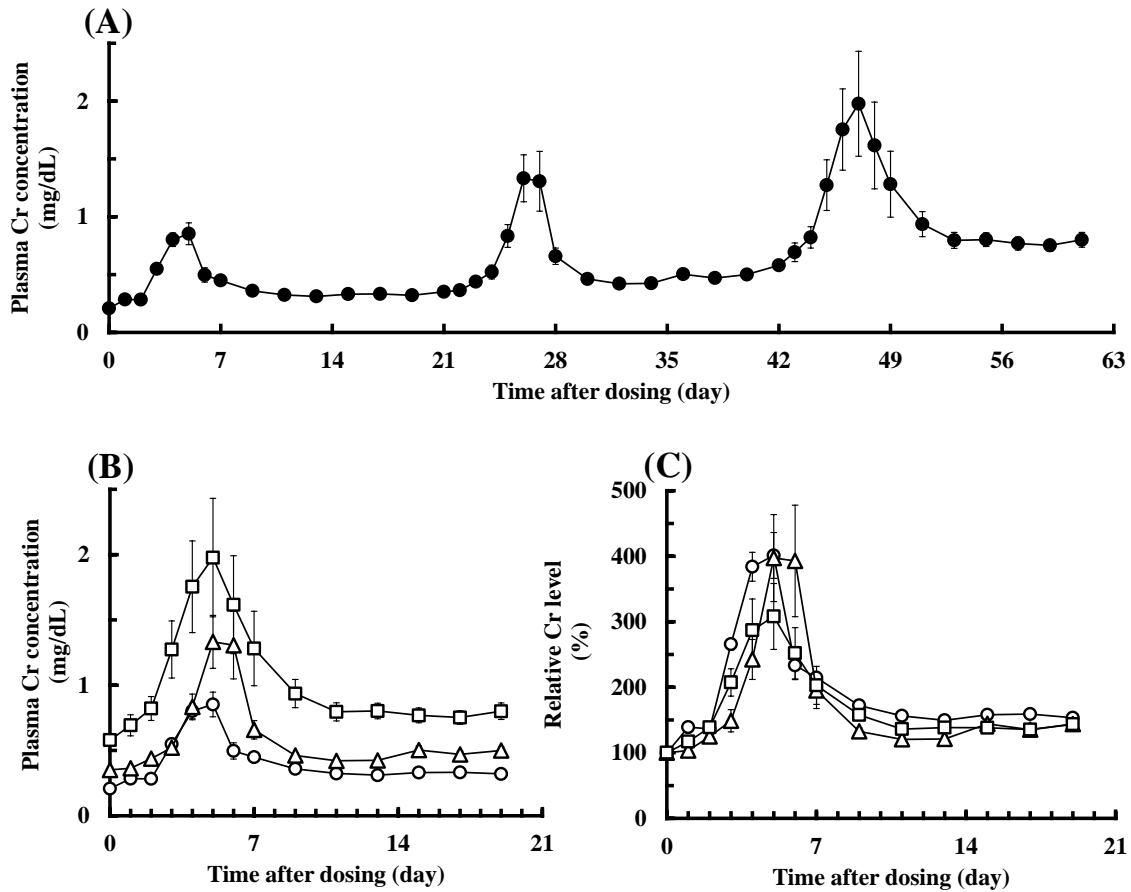
**Table 1-4.** PK parameters of unbound CDDP in plasma and urine over three cycles of CDDP treatment in rats

| Parameter (Unit)                |  | 1st cycle        | 2nd cycle         | 3rd cycle           |
|---------------------------------|--|------------------|-------------------|---------------------|
|                                 |  | mean $\pm$ SE    | mean $\pm$ SE     | mean $\pm$ SE       |
| Non-compartmental PK parameters |  |                  |                   |                     |
| AUC <sub>p,0-120</sub>          | ( $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ ) | 182 $\pm$ 16     | 213 $\pm$ 38      | 213 $\pm$ 14        |
| t <sub>1/2</sub>                | (min)  | 42.9 $\pm$ 7.9   | 28.7 $\pm$ 1.5    | 49.9 $\pm$ 7.1      |
| Vd <sub>ss</sub>                | (mL)   | 196 $\pm$ 23     | 153 $\pm$ 21      | 195 $\pm$ 25        |
| CL <sub>tot</sub>               | (mL/min)                                     | 7.07 $\pm$ 0.65  | 6.37 $\pm$ 1.17   | 5.67 $\pm$ 0.49     |
| CL <sub>r</sub>                 | (mL/min)                                     | 2.79 $\pm$ 0.45  | 1.96 $\pm$ 0.38*  | 1.10 $\pm$ 0.09**   |
| CL <sub>m</sub>                 | (mL/min)                                     | 4.28 $\pm$ 0.51  | 4.41 $\pm$ 0.84   | 4.60 $\pm$ 0.41     |
| The urinary parameters          |  |                  |                   |                     |
| AUC <sub>u,0-120</sub>          | ( $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ ) | 72954 $\pm$ 8186 | 46707 $\pm$ 3319* | 22761 $\pm$ 3871**† |
| A <sub>e</sub>                  | (% of dose)                                  | 36.6 $\pm$ 5.1   | 30.7 $\pm$ 2.4    | 19.8 $\pm$ 2.1**†   |
| Amount of renal Pt              | ( $\mu\text{g}/\text{g}$ tissue)             | 13.4 $\pm$ 1.1   | 26.0 $\pm$ 4.1*   | 56.4 $\pm$ 4.2**††  |

AUC<sub>p,0-120</sub> and AUC<sub>u,0-120</sub>; area under the plasma and urine concentration–time curve from 0-120 min after CDDP administration, t<sub>1/2</sub>; elimination half-life, Vd<sub>ss</sub>; steady-state volume of distribution, CL<sub>tot</sub>; total body clearance, CL<sub>r</sub>; renal CL, CL<sub>m</sub>; metabolic inactivation CL, A<sub>e</sub>; cumulative amount of CDDP urinary excretion ratio. \**p*  $\leq$  0.05, \*\**p*  $\leq$  0.01 compared with 1st cycle, †*p*  $\leq$  0.05, ††*p*  $\leq$  0.01 compared with 2nd cycle, one-way factorial analysis of variance and Scheffe's test (n=6).

### 1-2-3-2. TD study

CDDP 反復投与時における 3 cycle に渡った 1 cycle ごとの、および CDDP 投与時を 100%とした相対的な血漿中 Cr 濃度推移を Figure 1-9 に、また、得られた TD parameter を Table 1-5 にそれぞれ示す. 血漿中 Cr 濃度推移はいずれの cycle においても、特に CDDP 投与時を 100%とした相対 Cr level はほぼ同様の推移を示し、 $Cr_{base}$  は投与直前の Cr 値の約 150%に増加した. また、各個体における  $Cr_{max}$  および  $Cr_{base}$  の変動を Figure 1-10 に示す. 個々の  $Cr_{max}$  は cycle ごとに大きな変動を示したが、 $Cr_{base}$  はいずれの個体においても一貫した増加を示した.



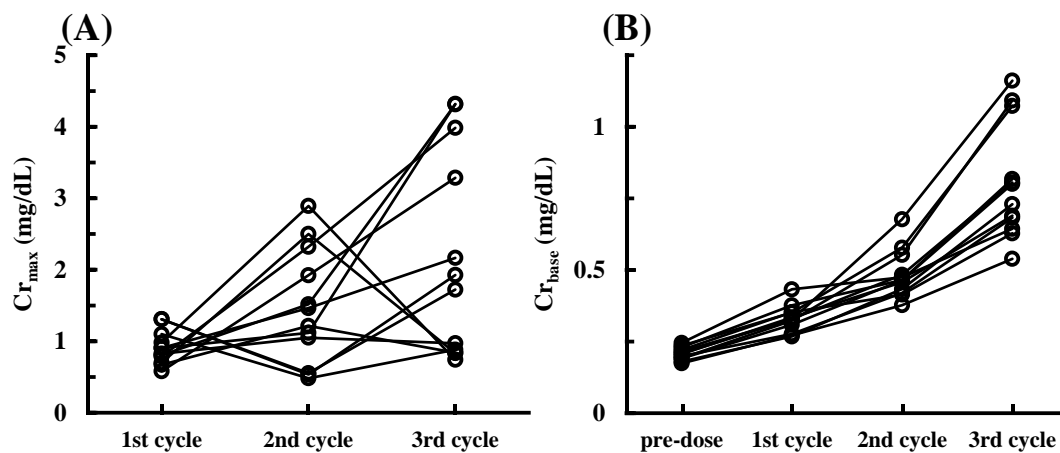
**Figure 1-9.** The plasma Cr concentration profiles in rats after multiple administration of CDDP (5.0 mg/kg). ( $\circ$ ) in the 1st cycle; ( $\triangle$ ) in the 2nd cycle; ( $\square$ ) in the 3rd cycle. Each data with a bar represents the mean $\pm$ SE of 12 rats. (A): The mean Cr concentration profiles are represented over three cycles. (B): Overlay Cr concentration profiles of each cycle. (C): Overlay relative Cr level profiles in each cycle (each Cr profile is adjusted by each Cr concentration on the day of CDDP administrations).

**Table 1-5.** TD parameters over three cycles of CDDP treatment to rats

| Parameter (Unit)           | pre-dose          | 1st cycle         | 2nd cycle                       | 3rd cycle                         |
|----------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
|                            | mean $\pm$ SE     | mean $\pm$ SE     | mean $\pm$ SE                   | mean $\pm$ SE                     |
| Cr <sub>max</sub> (mg/dL)  | N.D.              | 0.906 $\pm$ 0.078 | 1.46 $\pm$ 0.27 <sup>†</sup>    | 2.17 $\pm$ 0.48 <sup>††#</sup>    |
| Cr <sub>base</sub> (mg/dL) | 0.208 $\pm$ 0.007 | 0.329 $\pm$ 0.016 | 0.483 $\pm$ 0.027 <sup>**</sup> | 0.805 $\pm$ 0.067 <sup>**††</sup> |
| Cr increasing ratio (%)    | N.D.              | 153 $\pm$ 4       | 144 $\pm$ 9                     | 143 $\pm$ 5                       |

Cr<sub>max</sub>; maximum Cr concentration, Cr<sub>base</sub>; arithmetic mean Cr concentration in 11–19 day after CDDP administration, Cr increase ratio; % difference in Cr concentration between day 0 and day 19., N.D.; no data, <sup>\*\*</sup> $p \leq 0.01$  compared with pre-dose, <sup>†</sup> $p \leq 0.05$ , <sup>††</sup> $p \leq 0.01$  compared with 1st cycle, <sup>#</sup> $p \leq 0.05$ , compared with 2nd cycle, Friedman's test and Steel–Dwass test (n=12).

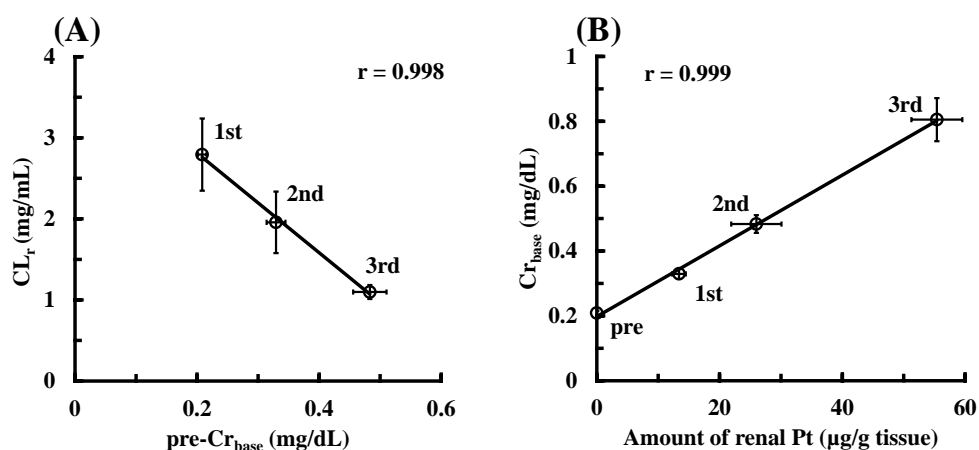




**Figure 1-10.** The individual changes in nephrotoxicity over three cycles.  $Cr_{max}$  and  $Cr_{base}$  are the creatinine maximum concentration and the arithmetic mean concentration in 11–19 day in each cycle, respectively. The symbols connected with a line are the values obtained by the individual rats.

### 1-2-3-3. PK-TD 相関

CDDP 反復投与時における代表的な相関を Figure 1-11 に示す.  $CL_r$  と CDDP 投与時における  $Cr_{base}$  との間には高い負の相関 ( $r=0.998$ ) が観察され, また  $Cr_{base}$  と腎蓄積 Pt 量との間には高い正の相関 ( $r=0.999$ ) が認められた.



**Figure 1-11.** The PK–TD relationship during multiple cycles of CDDP treatment in rat.  $CL_r$ ; renal clearance of CDDP,  $Cr_{base}$ ; arithmetic mean Cr concentration (11–19 day);  $Cr_{base,prev}$ ,  $Cr_{base}$  in the previous cycle. Each data with a bar represents the  $mean \pm SE$  of 6 rats (amount of renal Pt and  $CL_r$ ) and 12 rats ( $Cr_{base}$  and  $Cr_{base,prev}$ ).

#### 1-2-4. 考察

本研究の目的は、ラットに CDDP を複数 cycle に渡って処置した際の血漿中遊離形および尿中 CDDP 濃度、および腎毒性の変化を検討することである。血漿中遊離形 CDDP 濃度推移は、 $A_e$ 、 $CL_r$  の低下、および腎臓中 Pt の蓄積除いていずれの cycle においても有意に変化しなかった。血中に投与された CDDP は約 30% が腎臓から排泄され、残りの約 70% は血中に存在する蛋白質と不可逆的に結合しその薬理活性および毒性を消失することが報告されている。<sup>8,9</sup> 実際に 1st cycle における  $A_e$  は  $33.5 \pm 4.9\%$  であり既報とほぼ一致した。<sup>33</sup> また本検討で  $CL_r$  は低下したが、これは  $CL_{tot}$  に占める割合が  $CL_m$  と比較し相対的に低いため、血中遊離形 CDDP 濃度推移に大きな影響を与えなかったと考えられ、また薬効発現部位への CDDP 暴露も変化しないと推測される。腎蓄積 Pt 量は、各直前 cycle 時における腎蓄積 Pt 量と比較していずれも 2 倍程度の増加を示した。腎上皮細胞の代謝回転は非常に遅く、<sup>41,42</sup> Devarajan らは CDDP 投与後 1 hr で腎中 Pt 濃度は定常状態に達し、その後殆ど腎臓から消失しないことを報告している。<sup>43</sup> これは一度腎臓へと移行した Pt が腎臓の細胞体中でタンパク質と共有結合するため、排泄されることなく留まり続けることを示唆している。詳細なメカニズムは未だ明らかではないが、障害を受けた腎細胞の主たる turnover の経路は autophagy であるため、<sup>44</sup> 腎臓に移行した Pt が排泄されずに蓄積されたと考えられる。これらの報告より、今回検討した CDDP の投与量および投与間隔では腎臓に移行した Pt が次回 CDDP 投与まで十分量が消失できず、結果として腎に蓄積したと考えられる。また  $CL_r$  は CDDP 投与時の CDDP-sCKI の指標である  $Pre-Cr_{base}$  と強く相関していたことから、 $Pre-Cr_{base}$  は腎機能を高く反映し、さらに  $Cr_{base}$  と腎蓄積 Pt 量も強く相関していたことから、CDDP 投与に伴い腎蓄積した Pt が CDDP-sCKI を誘発し、さらに誘発された CDDP-sCKI が腎へのさらなる Pt 蓄積を促進させる増悪サイクルが形成された可能性が示唆された。

CDDP-AKI の指標である  $Cr_{max}$  は cycle を重ねるごとに増加した。しかし、個体間・個体内変動は大きく、前 cycle と比較してより低い毒性を示す個体もいた。Mizushima らは、CDDP 21 日間隔で反復投与すると 2nd cycle のみ  $Cr_{max}$  が消失することを、<sup>34</sup> また Miyaji らは、CDDP を 14 日間隔で投与すると 2nd cycle で  $Cr_{max}$  が有意に抑制され、その際に細胞周期進行制御因子 (p21) が増加するこ

とを報告した.<sup>24</sup> 以上より, CDDP-AKI の重症度に大きな個体間・個体内変動を示す原因として CDDP-AKI の一過性耐性獲得が関与している可能性が考えられるが, それらを適切に評価するためにはさらなる検討が必要であろう.

CDDP-sCKI の指標である  $Cr_{base}$  は cycle を重ねるごとに増加した. 特に CDDP-AKI とは対照的に CDDP-sCKI の個体間・個体内変動は小さく, 全ての個体で一貫した増悪を示した. ゆえに, CDDP-sCKI は変動の大きい CDDP-AKI の重症度によらず増加したことから CDDP-AKI と異なるメカニズムにて生じた可能性が示唆された. さらに, CDDP-sCKI の程度は腎 Pt 蓄積量と強く相関した点から, 腎 Pt 蓄積は腎毒性発現に関与し, 上記の様な増悪サイクルが形成されることで, CDDP-sCKI は指数関数的増悪を示した可能性がある. また, いずれの cycle においても  $Cr_{base}$  は投与時の  $Cr_{base}$  と比較して 150% に増加した点から, 任意の cycle における CDDP-sCKI の程度は, 下式により予測し得る可能性がある;

$$Cr_{base,n} = 1.50^n \times \text{Pre-dose at } Cr_{base} \quad (n = 1-3) \quad (13)$$

ここで,  $n$  は経過した cycle 数,  $Cr_{base,n}$  は CDDP の  $n$ -th cycle 終了時の CDDP-sCKI の指標である血漿中 Cr 濃度, そして係数 1.50 は 5 mg/kg を急速静脈内投与した際の Cr 増加率を示す (Table 1-5). したがって, 予測式を用いることで投与直前における血漿中 Cr 濃度のモニタリングは, CDDP-sCKI の予測は可能となるであろう. しかし, 得られた 5.0 mg/kg で急速静脈内投与した場合のものであるため, 種々の用法用量にて同様の検討を行う必要がある.

本検討では CDDP の反復投与は血漿中遊離形 CDDP 濃度推移に大きな影響を与えないものの, 腎臓中に Pt が蓄積し腎機能が低下することを示した. また, CDDP-AKI および CDDP-sCKI は cycle を重ねるに従った増悪を示した. CDDP-AKI は個体間および個体内変動が大きく, CDDP-AKI 発現に一過性の耐性獲得が示唆されたのに対し, CDDP-sCKI は cycle を重ねるに従い一貫して約 150% ずつの増悪を示した. これは, CDDP 投与時の血漿中 Cr 濃度をモニタリングにより, 任意の cycle における CDDP-sCKI の重症度を予測し得る可能性を示唆した. 本研究の結果は, 科学的根拠に基づいた用量調整による, より有効で安全な CDDP 化学療法を実施する際の有用な情報を提供するものと考えられる.

### 第三節：利尿薬 mannitol の併用が

#### cisplatin の薬物動態および腎毒性軽減作用に及ぼす影響

##### 1-3-1. 緒言

臨床において CDDP を有する化学療法を施行する際には用量制限因子である腎毒性の発現を抑制する腎保護的な戦略として大量の水負荷や強制利尿 (hydration) を実施する.<sup>3,4</sup> しかし、これらの腎保護療法は必ずしも科学的根拠に基づき実施されてはならず、経験的な用法および投与速度で投与されるケースも多い。また、hydration の投与速度や持続時間やタイミング、利尿剤の種類などには未だコンセンサスが得られておらず、施設によりレジメンは大きく異なる。したがって、より腎毒性を抑制し得る最適な hydration に関するエビデンスの構築が望まれる。

Hydration 実施における用法・投与速度の最適化を行うためには、腎毒性および腎保護作用のメカニズムに基づく dose-response の関係性を明らかにすることが重要である。CDDP の大部分は糸球体より濾過され、また一部は能動輸送により尿細管分泌にて腎排泄される。<sup>45,46</sup> この過程において CDDP は近位尿細管上皮細胞に蓄積し、活性酸素種の生成,<sup>23,24</sup> アポトーシスシグナル伝達経路の活性化<sup>25</sup> 等の細胞傷害を惹起し腎毒性をもたらす。一方で hydration のメカニズムや至適用法・投与速度に関する情報は少ないが、hydration により近位尿細管への CDDP 暴露時間を減少させ再吸収を抑制することで、腎毒性軽減に関与する可能性が示唆されている。<sup>47,48</sup>

上記のメカニズムを考慮すると、hydration による腎保護作用とは利尿剤が CDDP の排泄過程や腎への暴露時間など PK 的因子を変化させることで TD 的因子である腎毒性発現に影響を及ぼす広義の薬-薬相互作用としてとらえることが可能である。これまでに CDDP の PK および腎毒性はそれぞれ多くの研究がなされているものの、それらを統合したメカニズムベースの体系的な検討は少ない。そこで本検討では hydration 実施に際し最も有効な利尿薬として知られている mannitol を用いて利尿剤の投与速度と CDDP の PK および腎毒性との関連性を検討した。

## 1-3-2. 方法

1-1-2. に記載したものと同一の機材および方法にて研究を行った。

### 1-3-2-1. PK 試験

Wistar 系雄性ラットを利尿剤併用群および対照群に分類し、さらに利尿剤併用群には左大腿静脈より 10% mannitol (Kishida Chemical Co., Ltd. ,Osaka, Japan) を 0.3,1.0 および 3.0 mL/hr の速度で 3 群に分類して持続投与した。さらに、脱水を抑制するため、mannitol の投与時および CDDP 投与時にそれぞれ生理食塩水を 4 mL ずつ皮下投与した。ここで、mannitol 1.0 mL/hr の投与速度は 60 kg の患者に対して約 250 mL/hr の速度で水負荷を行い、かつ 25 g/hr の速度で mannitol を投与するレジメンを基準とし、その 3 倍および 0.33 倍である mannitol 3.0 および 0.3 mL/hr 群を用いた。次に CDDP (5.0 mg/kg) は利尿剤投与後の尿量が安定する 2 hr 後に右大腿静脈より急速投与した。血漿サンプルは CDDP 投与後 5,15,30,45,60,90 および 120 分後に採取し、尿サンプルは CDDP 投与後 120 分 (mannitol 投与開始 240 分) 経過時まで 15 分間隔で採取した。また、PK 試験終了直後 (CDDP 投与 120 分後) に PBS で灌流し、両腎臓を採取した。血漿中、尿中、および腎臓中 CDDP 濃度は前項の方法に従い測定した。また、PK parameter も前項の方法に従い non-compartmental PK analysis にて算出した。

### 1-3-2-2. TD 試験

対照群および 3 通りの利尿剤併用群 (mannitol: 0.3, 1.0, および 3.0 mL/hr) に分類し、PK 試験と同様の方法にて CDDP, mannitol および生理食塩水を投与した。なお、血液試料の採取および膀胱へのカテーテル挿入は実施せず、薬物処置を行う際の侵襲が最小限になる様に留意した。ラットは感染および他個体からの影響を最小化するため単独ケージにて飼育し、水およびエサは自由摂取させた。採血は CDDP 投与直前、投与後 1-7 日、および 12 日に経皮的に行い、血漿中 Cr 濃度を測定した。なお、PK 試験とは別個体を用いて実験を行った。

### 1-3-2-3. PK-TD analysis

CDDP-AKI の指標として  $Cr_{max}$  を用い、 $Cr_{max}$  と血漿および尿中の CDDP の PK parameter または腎蓄積 Pt 量との関連性を評価した。また、腎臓への Pt 蓄積には血漿中および尿中からの移行の 2 経路であるため、下式にて重回帰分析を行い、腎蓄積 Pt 量を予測し得る係数を推定した；

$$\text{Pt amount in the kidney } (\mu\text{g}) = CL_{\text{baso,app}} \times AUC_{\text{p},0-120} + CL_{\text{api,app}} \times AUC_{\text{u},0-120} \quad (14)$$

ここで、 $CL_{\text{baso,app}}$  および  $CL_{\text{api,app}}$  (mL/min) は、それぞれ近位尿細管基底膜および腎臓の頂端膜からの見かけの CL である。また式を用いて推定された腎蓄積 Pt 量の偏りおよび精密さはそれぞれ平均予測誤差(mean percentage prediction error: %MPE) および平均予測絶対誤差(mean percentage absolute prediction error: %MAPE) で検討した。%MPE および %MAPE の式は下記に示す：

$$\%MPE = \frac{1}{N} \times \sum_{i=1}^N \frac{X_{\text{pred},i} - X_{\text{obs},i}}{X_{\text{obs},i}} \times 100 \quad (15)$$

$$\%MAPE = \frac{1}{N} \times \sum_{i=1}^N \left| \frac{X_{\text{pred},i} - X_{\text{obs},i}}{X_{\text{obs},i}} \times 100 \right| \quad (16)$$

ここで、 $N$  は実測値の総数で、 $i$  は実際の観測値数、 $X_{\text{obs},i}$  は血中濃度の実測値  $X_{\text{pred},i}$  は推定された  $X_{\text{obs},i}$  と同一時間における血中濃度予測値をそれぞれ示す。

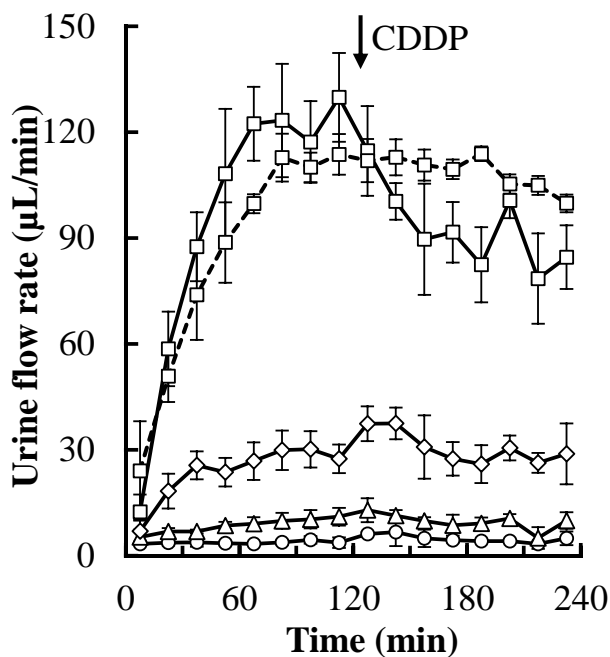
### 1-3-2-4. 統計解析

全ての値は mean  $\pm$  standard deviation (SD) で表した。統計解析は、一元配置分散分析もしくは Kruskal-Wallis test を行った後に、Scheffe's test を用いた。また、有意差は危険率 5% を基準とした。なお、統計解析には SPSS ver. 22.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) を用いた。

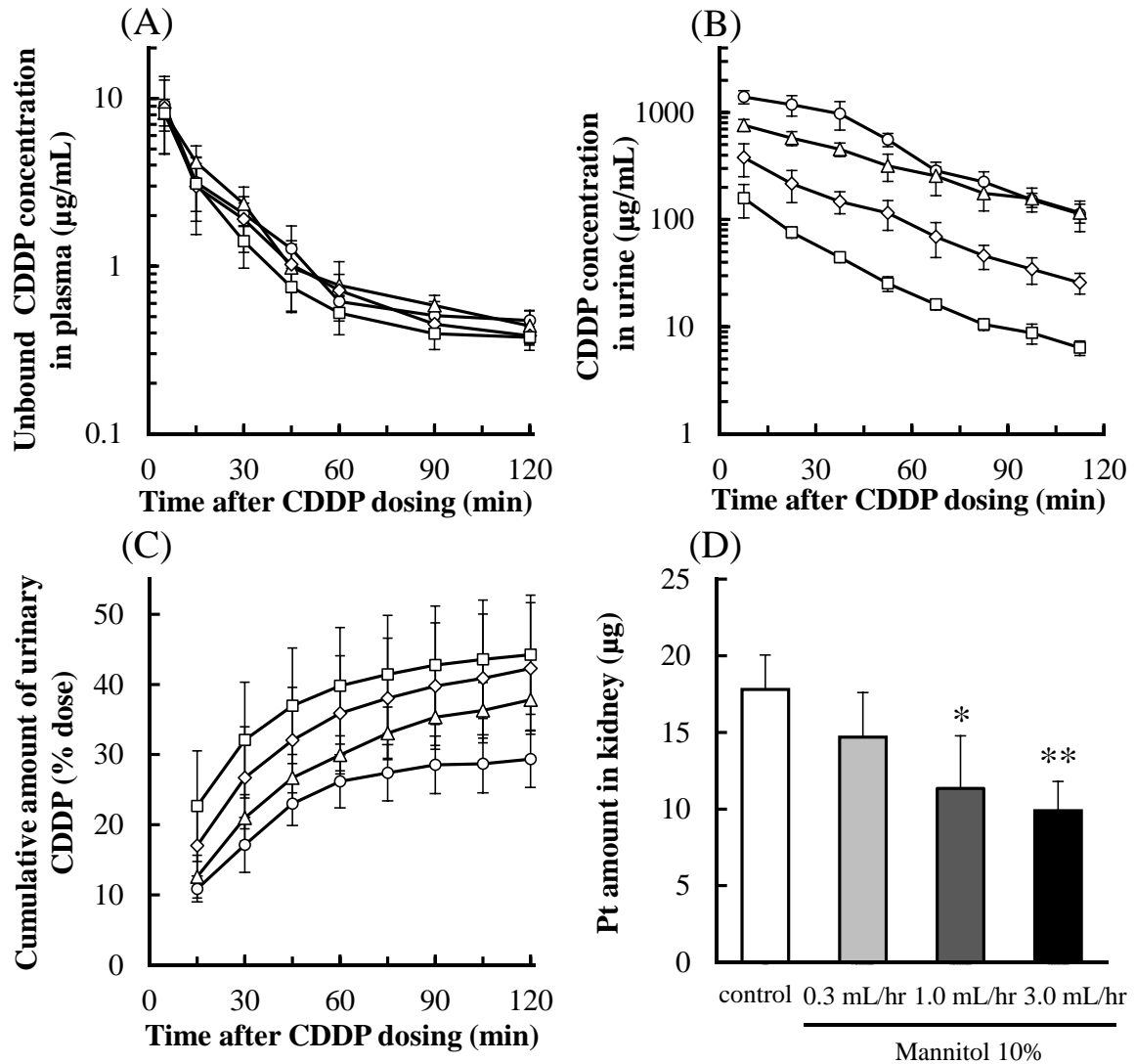
### 1-3-3. 結果

#### 1-3-3-1. PK study

Mannitol 投与後の尿量は Figure 1-12 に示す。尿量は mannitol 投与後直ちに増加し、CDDP 投与時 (mannitol 投与後 120 分) には定常状態に達した。また、定常状態における尿量は mannitol の投与速度に依存しており、CDDP を投与した直後より尿量は約 20%減少した。血漿中および尿中 CDDP 濃度推移、尿中累積 CDDP 排泄率、および腎蓄積 Pt 量を Figure 1-13 に、またその際に得られた PK parameter を Table 1-6 にそれぞれ示す。いずれの PK parameter においても有意差は観察されなかったが、 $CL_r$  および  $A_e$  は mannitol の投与速度の増加に従って増加する傾向を示した。一方、 $AUC_{u,0-120}$  および腎蓄積 Pt 量は mannitol の投与速度の増加に従い減少した。



**Figure 1-12.** Urine flow rates in rats treated with or without 10% mannitol for 2 hr pre- and post-CDDP administration. (○) in the control (without forced diuresis); (△), (◇), and (□) in the 10% mannitol treatments at infusion rates of 0.3, 1.0, and 3.0 mL/hr, respectively. The dashed line with the open square symbols depicts the mannitol control at an infusion rate of 3.0 mL/hr (without CDDP administration). Each symbol represents the mean  $\pm$  SD of 5 rats.



**Figure 1-13.** Concentration profiles of unbound CDDP in plasma (A) and urine (B), cumulative amounts of urinary CDDP (C), and Pt amounts in kidney (D) after CDDP administration (5.0 mg/kg) with or without 10% mannitol to rats. (○) in the control (without forced diuresis); (△), (◇), and (□) in the 10% mannitol treatments at infusion rates of 0.3, 1.0, and 3.0 mL/hr for 2 hr pre- and post-cisplatin administration, respectively. The Pt amounts in kidney were determined at 2 hr after CDDP administration. \* $p \leq 0.05$ ; \*\* $p \leq 0.01$ , indicating a statistically significant difference versus control (ANOVA followed by Scheffé's *post-hoc* test). Each value represents the mean  $\pm$  SD of 5 rats.



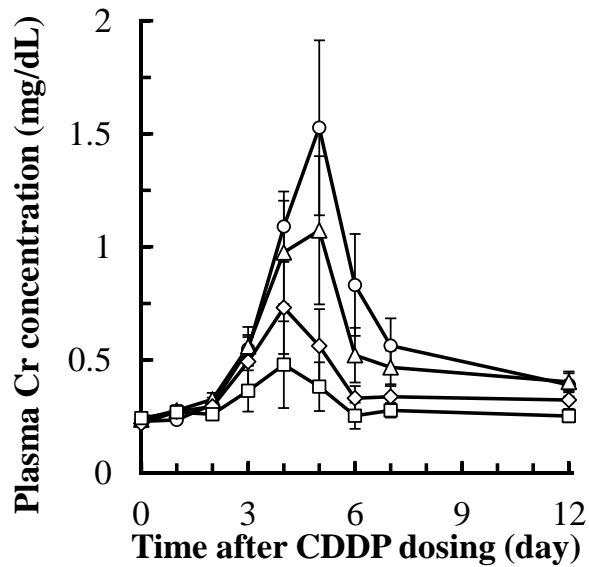
**Table 1-6.** PK parameters of unboud CDDP in plasma and urine after CDDP administration with or without 10% mannitol

| Parameter (Unit)                | CDDP alone    |       |    | CDDP with 10% mannitol |       |    |           |       |    |           |      |    |        |
|---------------------------------|---------------|-------|----|------------------------|-------|----|-----------|-------|----|-----------|------|----|--------|
|                                 | (control)     |       |    | 0.3 mL/hr              |       |    | 1.0 mL/hr |       |    | 3.0 mL/hr |      |    |        |
|                                 | mean          | ±     | SE | mean                   | ±     | SE | mean      | ±     | SE | mean      | ±    | SE |        |
| Non-compartmental PK parameters |               |       |    |                        |       |    |           |       |    |           |      |    |        |
| AUC <sub>p,0-120</sub>          | (µg • min/mL) | 216   | ±  | 46                     | 229   | ±  | 45        | 220   | ±  | 61        | 186  | ±  | 48     |
| t <sub>1/2</sub>                | (min)         | 133   | ±  | 49                     | 98    | ±  | 34        | 108   | ±  | 51        | 103  | ±  | 11     |
| CL <sub>tot</sub>               | (mL/min)      | 5.68  | ±  | 1.37                   | 5.24  | ±  | 1.08      | 5.85  | ±  | 1.51      | 6.83 | ±  | 1.60   |
| CL <sub>r</sub>                 | (mL/min)      | 1.67  | ±  | 0.43                   | 1.96  | ±  | 0.34      | 2.46  | ±  | 0.81      | 3.06 | ±  | 0.95   |
| CL <sub>m</sub>                 | (mL/min)      | 4.01  | ±  | 1.00                   | 3.28  | ±  | 0.80      | 3.39  | ±  | 1.12      | 3.77 | ±  | 0.88   |
| The urinary parameters          |               |       |    |                        |       |    |           |       |    |           |      |    |        |
| AUC <sub>u,0-120</sub>          | (µg • min/mL) | 55924 | ±  | 6887                   | 38472 | ±  | 6656      | 13883 | ±  | 4084*     | 4542 | ±  | 648**† |
| MRT <sub>u</sub>                | (min)         | 33.3  | ±  | 4.0                    | 40.5  | ±  | 2.6       | 34.6  | ±  | 2.9       | 29.2 | ±  | 3.7†   |
| A <sub>e</sub>                  | (% of dose)   | 29.4  | ±  | 4.0                    | 37.8  | ±  | 4.3       | 42.3  | ±  | 9.4       | 44.2 | ±  | 8.5*   |

AUC<sub>p,0-120</sub> and AUC<sub>u,0-120</sub>; area under the plasma and urine concentration–time curve from 0-120 min after CDDP administration, t<sub>1/2</sub>; elimination half-life, CL<sub>tot</sub>; total body clearance, CL<sub>r</sub>; renal CL, CL<sub>m</sub>; metabolic inactivation CL, A<sub>e</sub>; cumulative amount of CDDP urinary excretion ratio. Kruskal–Wallis tests followed by Scheffé tests were used to compare groups; \**p* ≤ 0.05 and \*\**p* ≤ 0.01, statistically significant difference versus cisplatin alone (control) group; †*p* ≤ 0.05, statistically significant difference versus cisplatin with 0.3 mL/hr group. Each value represents the mean ± SD of 5 rats.

### 1-3-3-2. TD study

CDDP 投与時における血漿中 Cr 濃度推移を Figure 1-14 に、また、その際に得られた TD parameter を Table 1-7 にそれぞれ示す。血漿中 Cr 濃度推移はいずれの群においてもほぼ同様の推移を示したが、 $Cr_{max}$  は mannitol の投与速度が速くなるに従い低下した。



**Figure 1-14.** Cr concentration profiles in plasma after CDDP administration (5.0 mg/kg) with or without 10% mannitol. (○) in the control (without forced diuresis); (△), (◇), and (□) in the 10% mannitol treatments at infusion rates of 0.3, 1.0, and 3.0 mL/hr for 2 hr pre- and post-cisplatin administration, respectively. Each symbol represents the mean  $\pm$  SD of 5 rats.

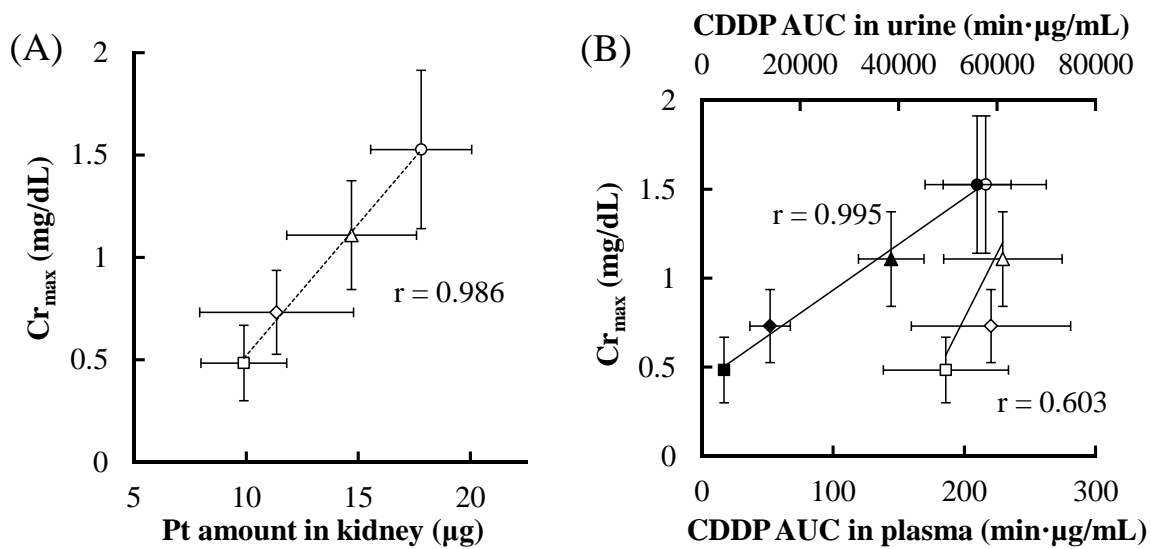
**Table 1-7.** TD parameters after CDDP administration with or without 10% mannitol

| Parameter<br>(Unit)        | CDDP alone  | CDDP with FD |               |                |
|----------------------------|-------------|--------------|---------------|----------------|
|                            | (control)   | 0.3 mL/hr    | 1.0 mL/hr     | 3.0 mL/hr      |
|                            | mean ± SE   | mean ± SE    | mean ± SE     | mean ± SE      |
| Cr <sub>base</sub> (mg/dL) | 0.23 ± 0.02 | 0.24 ± 0.01  | 0.22 ± 0.02   | 0.24 ± 0.02    |
| Cr <sub>max</sub> (mg/dL)  | 1.53 ± 0.39 | 1.11 ± 0.27  | 0.73 ± 0.21** | 0.48 ± 0.18**† |
| T <sub>max</sub> (day)     | 5.0 ± 0.0   | 4.8 ± 0.4    | 4.2 ± 0.4**   | 4.2 ± 0.4**    |

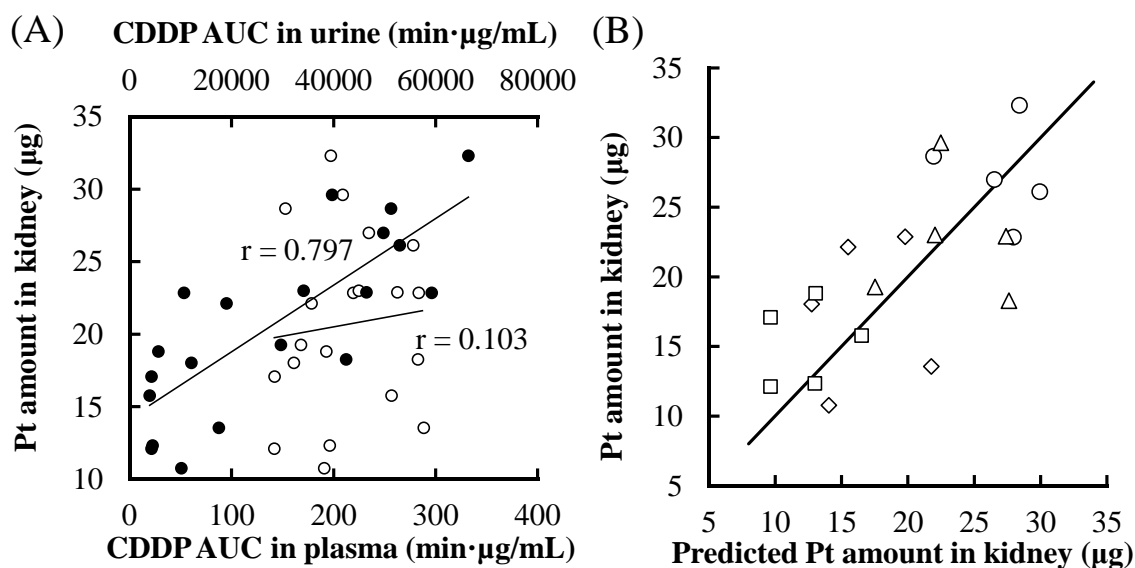
Cr<sub>max</sub>; maximum Cr concentration, Cr<sub>base</sub>; arithmetic mean Cr concentration in 11–19 day after CDDP administration, T<sub>max</sub>; day to reach maximum concentration of Cr. One-way ANOVA followed by Scheffe's test were used to compare groups; \*\*  $p \leq 0.01$ , statistically significant difference versus control group; †  $p \leq 0.05$ , statistically significant difference versus CDDP with 0.3 mL/hr group. Each value represents the mean ± SD of 13 rats in control or of 5 rats in mannitol treatment groups.

### 1-3-3-3. PK-TD analysis

Cr<sub>max</sub> に対する PK parameter の平均値による相関を検討したところ、腎蓄積 Pt 量 ( $r=0.986$ , Figure 1-15A) および  $AUC_{u,0-120}$  ( $r=0.995$ , Figure 1-15B) においてそれぞれ非常に高い正の相関が示された。また、個々の  $AUC_{u,0-120}$  と腎蓄積 Pt 量もまた高い正の相関を示したが ( $y=0.000230x + 14.2$ ,  $r=0.797$ , Figure 1-16A),  $AUC_{p,0-120}$  は腎蓄積 Pt 量とほとんど相関しなかった ( $y=0.00129x + 17.9$ ,  $r=0.103$  Figure 1-16A). さらに、CDDP 投与後の血漿中および尿中遊離形 CDDP 量より予測される腎蓄積 Pt 量の推定値の偏りおよび精密さは、いずれも許容範囲内であり (%MPE, -1.63%; %MAPE, 22.5%), 実測値対予測値 plot は  $y=x$  上に密集し、いずれの群、腎蓄積 Pt 量の範囲においても対称的な分布を示した (Figure 1-16B). また、腎蓄積 Pt 量を推定する際に得られた  $CL_{baso,app}$  および  $CL_{api,app}$  は、それぞれ 0.0605 および 0.000248 mL/min であった。



**Figure 1-15.** Relationship between the mean  $Cr_{max}$  with the mean Pt amount in kidney at 2 hr after CDDP administration (a), and with the mean unbound cisplatin  $AUC_{0-120}$  in plasma or urine (b). (○) in the control (without 10% mannitol,  $n=13$ ); (△), (◇), and (□) in the 10% mannitol treatments at infusion rates of 0.3, 1.0, and 3.0 mL/hr for 2 hr pre- and post-cisplatin administration ( $n=5$ ), respectively. The open and solid symbols in Figure 1-15B represent unbound CDDP  $AUC_{0-120}$  in plasma and urine, respectively. The solid and dashed lines are the corresponding regression lines. Each symbol represents the mean  $\pm$  SD.



**Figure 1-16.** Relationship of individual CDDP amounts in kidney at 2 hr after CDDP administration with the individual unbound CDDP AUC<sub>0-120</sub> in plasma or urine (a), and its predictions (b). The measured Pt amounts in the kidney samples were reconverted to CDDP amounts. The open and solid symbols in Figure 1-16A represent the CDDP AUC<sub>0-120</sub> in plasma and urine, respectively. (○) in the control (without 10% mannitol); (△), (◇), and (□) in the 10% mannitol treatments at infusion rates of 0.3, 1.0, and 3.0 mL/hr for 2 hr pre- and post-cisplatin administration, respectively. The CDDP amounts in kidney were estimated by  $0.0605 \times AUC_{p,0-120} + 0.000248 \times AUC_{u,0-120}$ . The solid line in Figure 1-16B is the identity line ( $y=x$ ).

#### 1-3-4. 考察

本研究では強制利尿が CDDP の PK および腎毒性にどのような影響を与えるかを検討した。尿流量は mannitol の投与速度依存的に増加し、CDDP 投与時には既に定常状態に達していた。また mannitol を 3.0 mL/hr で投与した場合、CDDP の投与により尿量は約 20%減少した。ここで、利尿剤により引き起こされる体液減少はいずれの個体においても 1.3%を超えず、異常な生理的な兆候も観察されなかったため (data not shown)、多尿に伴う脱水は尿量減少にほぼ影響しないと思われる。また、単離したラットの腎臓を CDDP (0.5 mol/L) で還流すると時間依存的に糸球体濾過速度が低下することが報告されており<sup>49</sup>、本検討でも同様のメカニズムにより CDDP 投与に伴い尿量が減少したものであると考えられる。

Mannitol の併用は、投与速度依存的に  $A_e$  を増加させ、それに応じて  $CL_r$  も増加した。また本検討においても、前節と同様に  $CL_{tot}$  に占める  $CL_r$  の割合が 30%程度と相対的に低いため、血中遊離形 CDDP 濃度推移に大きな影響を与えなかったと考えられる。一方で、mannitol の投与速度依存的に尿中 CDDP 濃度および  $AUC_{u,0-120}$  は顕著に減少したのに対して  $MRT_u$  に有意差は得られなかった。これは、尿中遊離形 CDDP の滞留時間は mannitol 併用による腎保護効果に関与しない可能性を示した。よって、mannitol を用いた強制利尿は投与速度依存的に腎蓄積 Pt 量が減少したことも考慮すると、血漿中の PK を変化させるのではなく、尿中 CDDP 濃度の低下が腎蓄積 Pt 量減少に寄与したと考えられる。

対照群と比較して、CDDP-AKI の指標である  $Cr_{max}$  は mannitol の投与速度依存的に減少した。一方で  $Cr_{max}$  以外の血漿中 Cr 濃度推移は対照群と酷似していたため、mannitol による強制利尿は毒性発現に関与するシグナル伝達強度を減弱させる毒性軽減に寄与したと考えられる。

PK-TD analysis の結果、 $Cr_{max}$  と腎蓄積 Pt との間に強い正の相関が認められ、Kawai らによる CDDP および nedaplatin を用いて腎蓄積 Pt 量と血漿中 Cr 濃度との間に正相関を示した報告と一致した。<sup>7</sup> また本検討では、mannitol の投与速度増加に伴い腎蓄積 Pt 量が減少したため、腎蓄積 Pt 量は腎毒性発現に大きな影響を及ぼす因子であり、mannitol を用いた腎保護作用は PK に基づく薬-薬相互作用であると結論付けた。

$AUC_{u,0-120}$  もまた  $Cr_{max}$  と高い相関を示した。本検討では PK および TD 試験は別個体を用いているため、PK 試験における腎毒性のサロゲートマーカーとして腎蓄積 Pt 量を用いて PK parameter との関連性評価を行った。これまでに CDDP の生体内運命に関する検討は多く報告されており、側底膜に発現している organic cation transporter-2 によって近位尿細管上皮細胞へ移行され、その後、頂端膜に発現している multidrug and toxin extrusion proteins によって尿中排泄されることが知られている。<sup>50,51</sup> また Endo らは、OK 腎上皮細胞を用い CDDP の細胞内取込みを検討することで、Pt の蓄積は頂端膜より側底膜で有意に大きいものの、側底膜からの Pt の蓄積には飽和が生じるされることを *in vitro* にて報告している。<sup>52</sup> したがって、側底膜からの取り込みが、腎細胞における Pt 移行の主要な経路であると思われるが、本検討では、個々の腎蓄積 Pt 量と側底膜側の濃度を直接反映する個々の  $AUC_{p,0-120}$  との間の相関は弱かった。その原因として以下の3つの要因が影響したと考えられる。第一に、mannitol が血漿中遊離形 CDDP 濃度推移に与える影響が小さいため、各 mannitol 投与群間における  $AUC_{p,0-120}$  の差が小さく影響がマスクされた可能性がある。第二に、側底膜からの移行が高濃度によって飽和していた可能性がある。最後に、*in vivo* においては頂端膜からの腎細胞への Pt 移行の影響がより大きく寄与した可能性がある。これらの可能性の検証には、様々な CDDP の用法・用量におけるさらなる検討が必要である。

$AUC_{p,0-120}$  とは対照的に、個々の  $AUC_{u,0-120}$  は腎蓄積 Pt 量と強い線形相関を示した。頂端膜を介した Pt 移行は受動拡散であることが知られている。<sup>53</sup> また、糸球体濾過された原尿は再吸収によって著しく濃縮され、CDDP の主な毒性発現部位である近位尿細管 S3 セグメントでは原尿の 33% に、尿中には原尿の 2% にまで流量が低下することから、<sup>54</sup> 尿中 CDDP 濃度は近位尿細管 S3 セグメントにおける原尿中 CDDP 濃度と比較して約 16.5 濃くなると推定される。本検討における対照群における  $AUC_{p,0-120}$  と  $AUC_{u,0-120}$  の比率は約 258 倍であり、これを上記の通り近位尿細管 S3 セグメントにおける原尿中 CDDP 濃度に変換した場合、 $AUC_{p,0-120}$  と比較して 15.6 倍高くなると推定される。よって大まかな換算ではあるものの、高い尿中 CDDP 濃度は頂端膜からの受動拡散による腎臓への Pt 移行に大きな影響を及ぼすと考えられる。実際に、個々の腎蓄積 Pt 量と  $AUC_{u,0-12}$  の相関性は高く、これらの仮説を支持するものであった。また、Eq 1

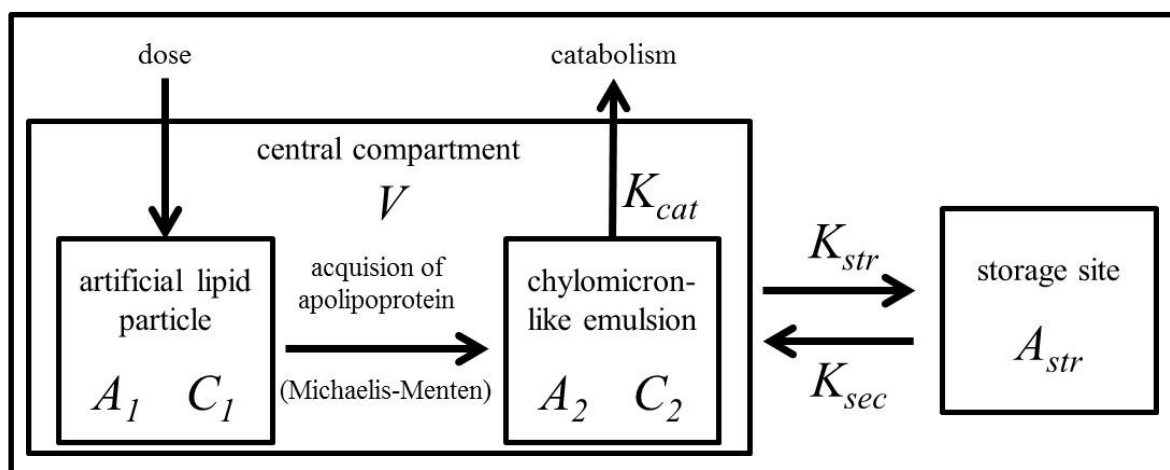
に示した model より推定した腎蓄積 Pt 量の予測誤差も概ね許容範囲内であったことから, mannitol による強制利尿を施行したラットの血漿および尿中 CDDP のモニタリングは, 腎毒性のサロゲートマーカーである腎蓄積 Pt 量の予測可能性を示唆した.

本検討では, mannitol による強制利尿は血漿中遊離形 CDDP 濃度推移に大きな影響を与えないものの, 腎蓄積 Pt 量を減少させ, 投与速度依存的に腎毒性を軽減させることを示した. また, 強制利尿による腎保護作用は尿からの CDDP 再吸収過程の阻害に起因した薬-薬相互作用である可能性を示した. よって尿中 CDDP 濃度のモニタリングは, mannitol を用いた CDDP 保護療法の最適化に繋がる有用な情報を提供すると考えられる.



第二章:

「M&S を用いた脂肪乳剤適正使用に関する研究」



本章の一部は、以下の学術誌に掲載された。

Okada A, Hirano M, Tanioka M, Tsujimoto T, Koyama H, Nishimura A, Shibata N, Fukushima K, Sugioka N. Population semiphysiologic kinetic modeling and simulation of plasma triglyceride levels after soybean oil-based intravenous lipid emulsion administration in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2017;**41**:1356–65.

## 第一節

### 脂肪乳剤投与時における血漿中中性脂質の

#### population semi-physiological kinetic modeling and simulation

##### 2-1-1. 緒言

脂肪乳剤 (lipid emulsion: LE) は、中性脂質 (triglyceride: TG) を主成分として含有する経静脈投与可能な脂質栄養輸液である。その役割は、高いエネルギー効率を有する熱源の供給、必須脂肪酸の供給および脂肪肝の抑制等が挙げられ、臨床における有用性は確立されている。その反面、投与時間は非常に長く、併用薬との相互作用や呼吸窮迫症、血栓症惹起等を代表とする副作用が報告されているため、<sup>55-57</sup> 高い有用性にもかかわらず使用が敬遠される傾向にある。

副作用発現は血漿中 TG 濃度の一過性上昇に起因することが多く、<sup>58,59</sup> 血漿中 TG 濃度の適正管理には、LE 総投与量および投与速度の調節が非常に重要である。総エネルギー摂取量は栄養学的な観点から患者ごとに個別化されており、そこから LE 総投与量も決定される。一方で、LE 投与速度に関する科学的エビデンスは乏しく、多くの場合、LE の投与速度は体重および経験則によってのみ決定されるため、多様な基礎疾患を考慮した調節もほとんど実施されていない。この LE 投与速度の適正化が未だ発展途上である最たる原因は、dose-response、すなわち LE 投与速度と血漿中 TG 濃度との因果関係が未解明であるからに他ならない。これまでに Iriyama らは TG の加水分解速度に上限があることを報告しており、日本人における LE 投与速度の上限は 0.1 g/kg/hr (TG 等量) とされている。<sup>60</sup> これを上回る速度で投与すると、TG は加水分解されずに血中に停滞することで一過性に血漿中 TG 濃度が上昇するため、その様な副作用回避の観点から LE 投与速度管理は非常に重要であると考えられる。さらに、近年は LE の物性を活かして静脈内大量投与による脂溶性薬物中毒の救援療法 (Lipid rescue) も実施されている。<sup>61-63</sup> 一方、Lipid rescue は適応外使用であり、特に血漿中 TG 濃度は 3,000 mg/dL にも達するため、fat overload syndrome を惹起することも報告されている。<sup>64</sup> 上述した様に、LE の適正使用に関する研究は基礎・臨床ともに未だ発展途上であり、薬学的観点からの体系的な検討も少ない。これらの現状を鑑みて、LE 適正使用のための基礎的エビデンス構築は急務である。

LE の構成は生体のカイロミクロン (chylomicron: CM) と類似した構造の人工脂肪粒子を主としていることから、静脈内投与された LE は CM とほぼ同様のメカニズムにより代謝される.<sup>65</sup> 栄養素である TG も薬物と同様に、吸収されたのちに全身に拡散 (分布)、消費 (代謝) されることから、TG の生体内運命も速度論的概念で捕捉し得るはずであるため、この理論の応用は LE 投与時の血漿中 TG 濃度を捕捉する新たな戦略となり得るであろう。

そこで本研究では、栄養療法のさらなる個別化設計のため、TG の生体内運命を考慮した population semi-physiological kinetic model を構築し、種々の LE 投与速度における simulation を行うことで、LE 至適投与設計への基礎情報を提供することを目的とした。

## 2-1-2. 方法

### 2-1-2-1. 動物および試薬

Wistar 系雄性ラット 11 週齢 (体重  $250 \pm 20$  g) は日本 SLC 株式会社 (Hamamatsu, Japan) より購入し,  $24^{\circ}\text{C}$ , 湿度  $55 \pm 5\%$ , 照明サイクル 12 時間 (8:00 点灯, 20:00 消灯) の条件下で, 固形飼料および水を自由摂取させ, 予備飼育後に健康状態の良好なラットを実験に使用した. LE (Intralipos<sup>®</sup> 20%) は大塚製薬株式会社 (Tokyo, Japan) より購入した. ここで, LE の組成は 100 mL あたり大豆油 20 g (palmitic acid, 2.2 g; stearic acid, 0.8 g; oleic acid, 4.8 g; linoleic acid, 10.6 g;  $\alpha$ -linolenic acid, 1.6 g; および  $\alpha$ -tocopherol,  $87 \mu\text{mol/L}$ ), グリセリン 2.2 g, および卵黄レシチン 1.2 g である. また, トリグリセライド E-テストワコーは和光純薬工業株式会社 (Osaka, Japan) より購入した.

### 2-1-2-2. LE 投与および試料採取

ラットは, model 構築群および validation 群の二群に分けた. 12 時間絶食させたラットに麻酔 (pentobarbital, 50 mg/kg, 腹腔内投与) を行い, 背面固定下左大腿静脈より LE を急速もしくは持続投与した. なお, 実験中のラットの体温は厳密に管理した. Model 構築群には LE を 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 および 2.0 g/kg を 30-sec かけて急速投与, もしくは 3.0 g/kg の総量を 1-hr かけて持続投与した. Validation 群には 0.1 g/kg/hr (480-min), 0.3 g/kg/hr (270-min), 0.5 g/kg/hr (240-min) および典型的な Lipid rescue regimen (0.3 g/kg の急速静脈内投与を行った後に 1.5 g/kg の総量を 30-min かけて持続投与)<sup>66,67</sup> で同様に投与した. 血液サンプルは, LE 投与開始 30 min 前, および直前に TG 濃度の baseline 測定のために採取し, また, 投与後は TG 濃度が baseline に回帰するまで適宜採取した. 採血は全て右鎖骨下静脈より行い, 採血量は 1 回 100  $\mu\text{L}$ , 総量 1500  $\mu\text{L}$  を超えない様に留意した. 採血後速やかに遠心分離 ( $3000 \times g$ ,  $25^{\circ}\text{C}$  15 min) し, 上清 (10  $\mu\text{L}$ ) を分取後  $4^{\circ}\text{C}$  で保存し, 48 時間以内に血漿中 TG 濃度を測定した. なお, 血漿中 TG 濃度には概日リズムが知られているため, 全ての実験は A.M. 9:00 に開始した.

### 2-1-2-3. TG 濃度測定

血漿中 TG 濃度はトリグリセライド E-テストワコーおよび分光光度計 (UV-265, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) を用いて測定した。Glycerol-3-phosphate oxidase (GPO) および N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline sodium salt (DAOS) を有する発色試液を PIPES buffer (50 mmol/L, pH6.5) に溶解させたものを反応試薬として用いた。氷冷下で plasma sample 10  $\mu$ L に対して反応液 1 mL を加え、37°C の温浴層で 5 分間酵素的呈色反応を行い、その後速やかに氷冷し反応を停止させ、分光光度計 (600 nm) にて測定した。ここで、検量線は TG 300 mg/dL 相当である Glycerol 31.2 mg/dL を用いて作製した。また、本法の定量域である 10-1000 mg/dL での線形性を確認し、高濃度の TG 検体を測定する場合は蒸留水で適宜希釈し、終濃度が TG として 1000 mg/dL を超過しない様に留意した。

### 2-1-2-4. Semi-physiological kinetic modeling

LE 投与後の血漿中 TG 濃度推移を表す semi-physiological kinetic model は、以下の TG 生体内運命に基づき構築した。Model 構造を Scheme 2-1 に示す。LE 投与直後は血漿中で人工脂肪粒子として存在するが、この状態では生体に認識されず、マクロファージ等により外来異物として貪食される。<sup>55</sup> よって人工脂肪粒子が栄養素として異化されるためには high density lipoprotein (HDL) からアポリポタンパク質 (apolipoprotein: Apo) が転送され疑似 CM 様粒子となる必要がある。<sup>60</sup> 特に Apo-CII はリポタンパク質リパーゼ (lipoprotein lipase: LPL) 認識による加水分解を促進し、<sup>68,69</sup> Apo-E はレムナント受容体認識による肝細胞への移行を促進する。<sup>70</sup> また、Apo 転送過程には飽和が生じることが知られている。<sup>60</sup> 加えて血漿中の TG の生体内運命として、肝臓や脂肪細胞等の貯蔵組織への移行や、貯蔵組織からの分泌による再流入、<sup>71</sup> そして栄養素としての異化等が挙げられる。そこで本 model は一定 TG 濃度の baseline を有し、Apo 転送過程の飽和、貯蔵部位への 1 次移行、貯蔵部位からの 0 次分泌および 0 次異化機構を持つ compartment model を構築した。その際の物質収支の微分式を以下に示す：

$$\frac{dA_1}{dt} = -\frac{V_{\max} + C_1}{K_m \times C_1} \quad (1)$$

$$\frac{dA_2}{dt} = \frac{V_{\max} + C_1}{K_m \times C_1} - K_{\text{str}} \times A_2 + K_{\text{sec}} - K_{\text{cat}} \quad (2)$$

$$\frac{dA_{\text{str}}}{dt} = K_{\text{str}} \times A_2 - K_{\text{sec}} \quad (3)$$

$A_1$ ,  $A_2$  および  $A_{\text{str}}$  はそれぞれ Apo 転送前の人工脂肪粒子, Apo 転送後の疑似 CM 様粒子, および貯蔵部位における TG 量を示す.  $C_1$  および  $C_2$  はそれぞれ人工脂肪粒子および疑似 CM 様粒子における TG 濃度を示す. さらに  $V_{\max}$  は最大代謝速度を,  $K_m$  は Michaelis-Menten 定数を,  $K_{\text{str}}$  は貯蔵部位への 1 次移行定数を,  $K_{\text{sec}}$  は貯蔵部位から血中へ 0 次分泌定数を, そして  $K_{\text{cat}}$  は 0 次異化速度定数を示す. ここで,  $K_{\text{cat}}$  の値は雄の Wistar ラットにおける一日当たりの基礎代謝量 (約 72 kcal/day/kg<sup>0.75</sup>)<sup>72</sup> に呼吸商 (0.93)<sup>73</sup> を考慮した値である 0.770 mg/min で固定した. 次に, 今回用いた TG 濃度測定法では血漿中人工脂肪粒子および疑似 CM 様粒子の分別が不能であるため, 実測 TG 濃度である TG は  $C_1$  および  $C_2$  の合計濃度であり, それぞれ同一の分布容積を持つと仮定した. その際の式をそれぞれ以下に示す.

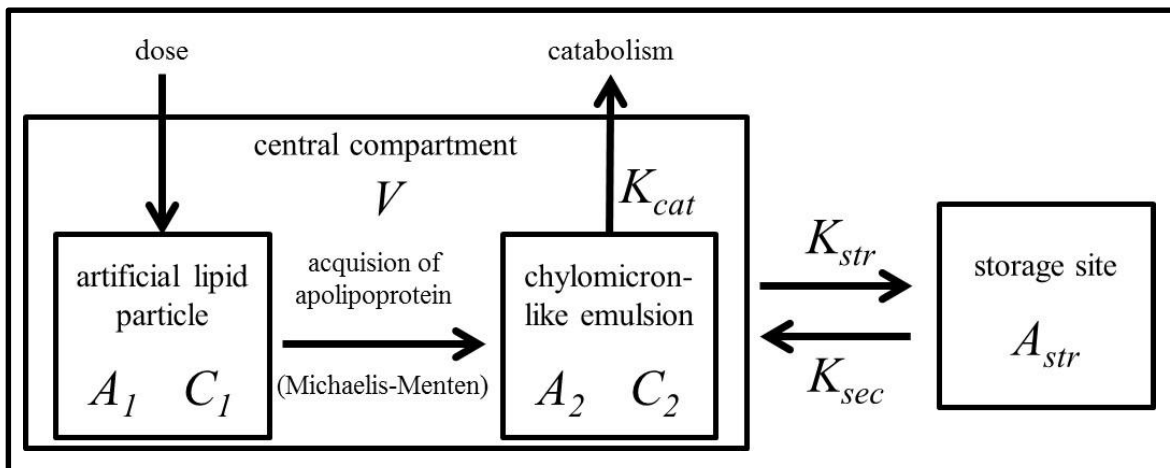
$$TG \equiv C_1 + C_2 \quad (4)$$

$$V = \frac{A_1}{C_1} = \frac{A_2}{C_2} \quad (5)$$

また, LE 投与前の baseline 濃度 ( $TG_{\text{base}}$ ) は Eq.2 より  $dA_1/dt=dA_2/dt=0$  であり,  $C_2=TG_{\text{base}}$  となるため, その時の  $A_2$  における TG 量を  $A_{\text{base}}$  とすると, 下式 Eq.6 および Eq.7 として表すことが可能である.

$$A_{\text{base}} = \frac{K_{\text{sec}} - K_{\text{cat}}}{K_{\text{str}}} \quad (6)$$

$$TG_{\text{base}} = \frac{A_{\text{base}}}{V} \quad (7)$$



**Scheme 2-1.** Semi-physiological kinetic model of triglyceride after intravenous lipid emulsion administration in rats.  $A_1$ ,  $A_2$ , and  $A_{str}$  are amounts of triglyceride in artificial lipid particle, chylomicron-like emulsion, and storage site, respectively;  $C_1$  and  $C_2$  are the concentrations of triglyceride in the systemic circulation as artificial lipid particle and chylomicron-like emulsion, respectively;  $K_{str}$  is the first-order storage rate constant from the systemic circulation.  $K_{sec}$  is the zero-order secretion rate from storage sites in the systemic circulation, and  $K_{cat}$  is the zero-order catabolic rate.  $V$  is the distribution volume of triglyceride.

#### 2-1-2-5. PPK analysis and internal model validation

本検討で得られた血漿中 TG 濃度は、前項で構築した semi-physiological kinetic model に当てはめ PPK により各 parameter を推定した。PPK には、非線形混合効果 model、および解析ソフト WinNonlin® 6.4 および NLME™ 1.3 を使用し、FOCE-ELS にて PPK parameter の推定を行った。実測部位である TG の個体内変動における誤差 model は、相対および相対誤差 model を検討し、個体間変動には、指数誤差 model を用いた。また、各初期値の設定には、Non-compartmental analysis および Naïve pooled data method にて解析し、算出された推定値を用いた。構築した semi-physiological kinetic model の妥当性は GOF plots および bootstrap resampling (1000 組) により検証し、統計学的有意性は -2LL を  $\chi^2$  分布値と比較する尤度比検定で判定した。

#### 2-1-2-6. Simulation and external model validation

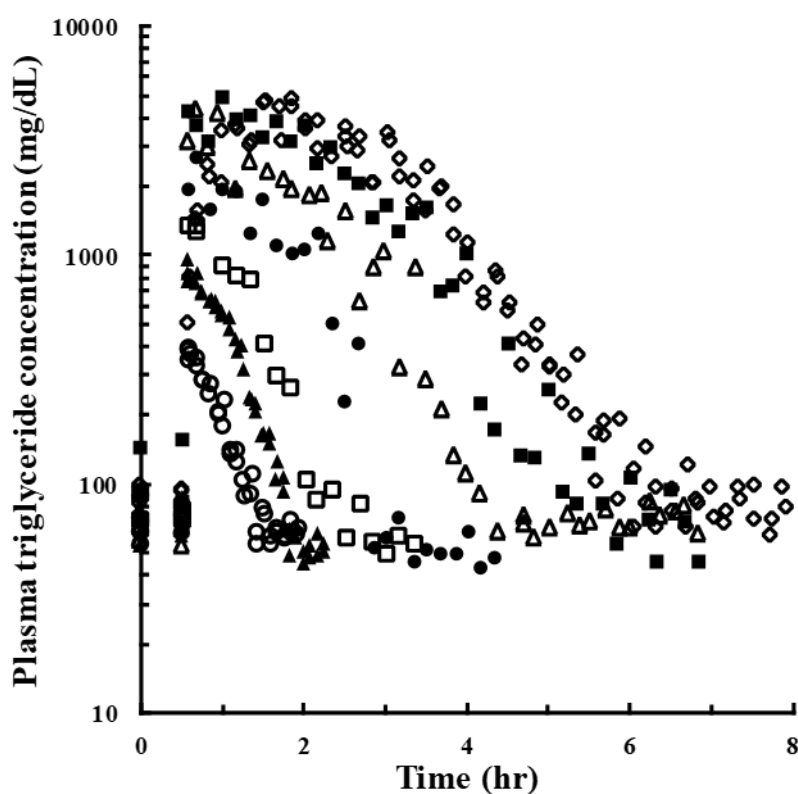
構築した semi-physiological kinetic model および推定された PPK parameter の分布に従って Monte Carlo method により乱数を発生させ、10,000 通りの仮想検体を作製した。次に、Validation 群と同様の方法にて LE を投与した際のそれぞれの血漿中 TG 濃度推移を simulation し、その median および 90<sup>th</sup>CI を算出した。この median および 90<sup>th</sup>CI に対して、validation 群より得られた血漿中 TG 濃度推移を fitting させることで、外的妥当性を評価した。その際の偏りおよび精密さはそれぞれ %MPE および %MAPE で評価した。



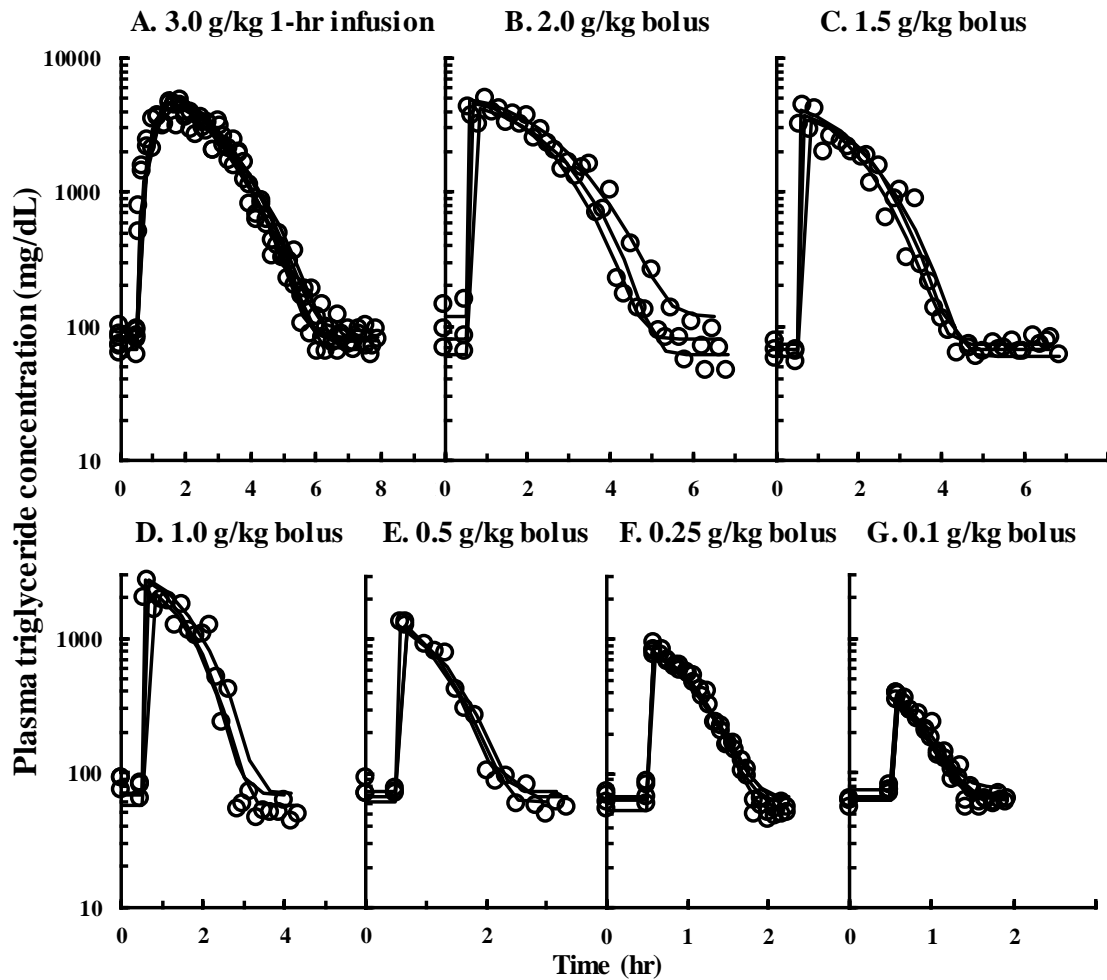
### 2-1-3 結果

#### 2-1-3-1. Model 構築群における血漿中 TG 濃度推移

26 匹のラットから得られた合計 342 点の血漿中 TG 濃度推移を Figure 2-1 に、投与量ごとの血漿中 TG 濃度推移を Figure 2-2 にそれぞれ示す。LE 投与前の baseline 濃度は  $77.8 \pm 2.6$  mg/dL であった。LE 投与後、TG の  $C_{max}$  は用量依存性を示し、0.1 g/kg 急速投与群を除いて二相性の消失様式が観察され baseline に回帰した。また、第一相と第二相との境界濃度は各投与量群間で異なった (0.25 および 2.0 g/kg 急速投与後の境界濃度はそれぞれ約 500 および 2,000 mg/dL であった)。



**Figure 2-1.** Observed plasma triglyceride concentrations before and after intravenous lipid emulsion administration in rats. Intravenous bolus: ○, 0.1 g/kg; ▲, 0.25 g/kg; □, 0.5 g/kg; ●, 1.0 g/kg; △, 1.5 g/kg; ■, 2.0 g/kg. 1-hour infusion: ◇, 3.0 g/kg.



**Figure 2-2.** Individual curves fitting a population semi-physiological kinetic model to observations of plasma triglyceride concentrations. Symbols and solid lines represent observations and fitted curves, respectively.

### 2-1-3-2. Internal model validation

個々の血中濃度推移に対する fitting curve を Figure 2-2 に、得られた PPK parameter および bootstrap resampling の結果を Table 2-1 にそれぞれ示す。いずれの投与量群においても非常に精度の高い fitting 精度を示し、また、得られた PPK parameter の CV% は 2.91–46.3 の範囲であった。ほぼ全ての個体間変動は、model 構造を優位に改善させたが、 $K_m$  の個体内変動のみは統計的有意性を示さなかったため model に組み込まなかった。さらに、全ての PPK parameter は bootstrap resampling により得られた 95<sup>th</sup>CI に収まり、median 値と非常に近似していた。次に GOF を Figure 2-3 に示す。OBS vs. PRED および OBS vs. IPRED plots

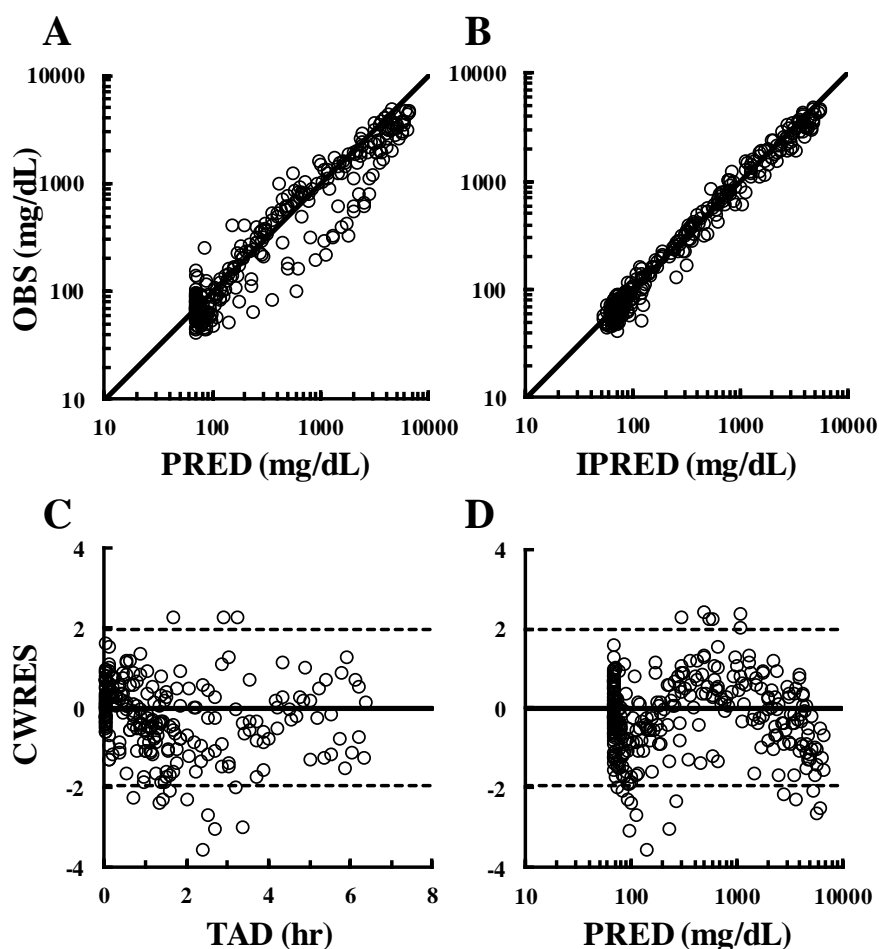
は、観測値が  $y=x$  上に密集しており、いずれの濃度域においても対称的な分布を示したことから構築した model の良好な予測性が確認された (Figure 2-3A, 3B). また、CWRES vs. TAD および CWRES vs. PRED plots は、CWRES に一定の傾向がなく CWRES=0 周囲にランダムに散在したことから、構築した model の構造および誤差 model の妥当性が示された (Figure 2-3C, 3D). したがって、これらの結果より構築した semi-physiological kinetic model は妥当であり、いずれの投与方法においても血漿中 TG 濃度推移を十分説明可能であることが立証された.

**Table 2-1.** Population Parameters and Bootstrap Validation of Plasma Triglyceride after Intravenous Lipid Emulsion Administration in Rats

| Parameter (Unit)            | Original dataset |        | Bootstrap replication |  | <sup>a</sup> Residual (%) |
|-----------------------------|------------------|--------|-----------------------|--|---------------------------|
|                             | Estimate         | (CV%)  | Median                | 95 <sup>th</sup> CI [2.5 <sup>th</sup> –97.5 <sup>th</sup> ] |                           |
| Population mean             |                  |        |                       |  |                           |
| V (mL)                      | 9.69             | (5.27) | 9.66                  | [8.71–10.7]  | 0.285                     |
| V <sub>max</sub> (mg/mL)    | 2.58             | (11.5) | 2.58                  | [1.76–3.52]  | 0.0545                    |
| K <sub>m</sub> (mg/dL)      | 210              | (46.3) | 210                   | [48.0–588]   | 0.199                     |
| K <sub>str</sub> (1/min)    | 0.0544           | (10.4) | 0.0594                | [0.0438–0.0820]  | 8.43                      |
| K <sub>sec</sub> (mg/min)   | 1.13             | (2.91) | 1.16                  | [1.07–1.32]  | 2.82                      |
| K <sub>cat</sub> (mg/min)   | 0.770 (fixed)    |        |                       |  |                           |
| Interindividual variability |                  |        |                       |  |                           |
| V (%)                       | 11.3             | (34.1) | 10.7                  | [7.68–13.3]  | 5.47                      |
| V <sub>max</sub> (%)        | 21.8             | (58.2) | 20.5                  | [9.55–43.1]  | 6.24                      |
| K <sub>str</sub> (%)        | 32.4             | (40.0) | 30.0                  | [1.86–49.9]  | 8.15                      |
| K <sub>sec</sub> (%)        | 5.61             | (97.0) | 5.69                  | [0.594–15.8]   | 1.43                      |
| Residual variability        |                  |        |                       |  |                           |
| C (%)                       | 20.5             | (5.78) | 20.2                  | [17.5–22.8]  | 1.55                      |

CV%: coefficient of variation, 95<sup>th</sup>CI: 95<sup>th</sup> confidence interval of bootstrap estimates.  
 C: observed concentration, V: distribution volume,  $V_{max}$ : maximum metabolic rate,  
 $K_m$ : Michaelis–Menten constant;  $K_{str}$  is the first-order storage rate constant from the  
 systemic circulation,  $K_{sec}$  is the zero-order secretion rate from storage sites in the  
 systemic circulation, and  $K_{cat}$  is the zero-order catabolic rate.

<sup>a</sup>Residual (%)=(estimate value of original data–bootstrap median values)/estimate  
 value of original data  $\times 100$



**Figure 2-3.** Goodness-of-fit plots of a population semi-physiological kinetic model. (A): population predictions (PRED) vs. observations (OBS), (B): individual predictions (IPRED) vs. OBS, (C): conditional weighted residuals (CWRES) vs. time after dose (TAD), (D): CWRES vs. PRED. Solid lines in (A) and (B) represent  $y=x$  lines and in (C) and (D) represent zero conditional residuals; dashed lines in (C) and (D) represent  $\pm 2$  standard deviation.

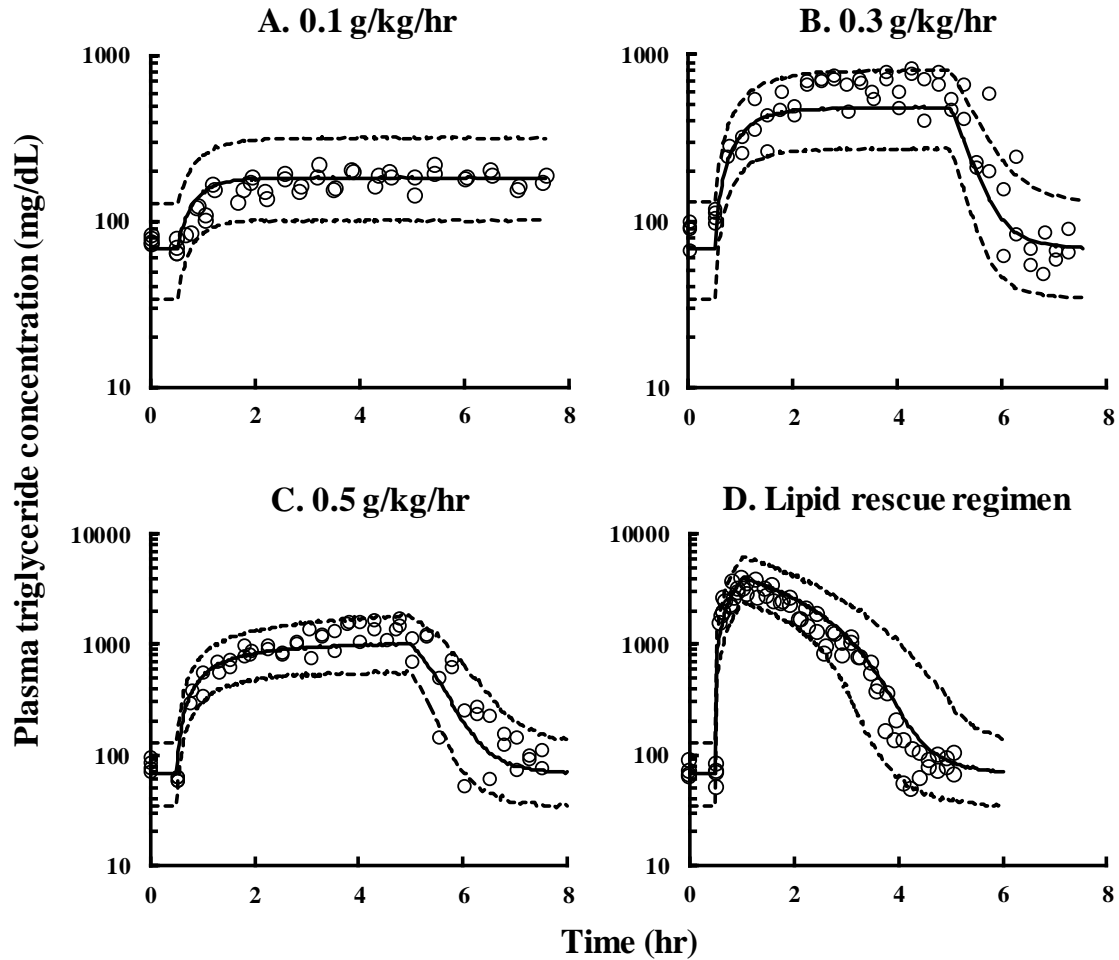
### 2-1-3-3. External model validation

Validation 群より得られた血漿中 TG 濃度, および semi-physiological kinetic model を用いて validation 群と同様の投与方法で LE を投与したと仮定した simulation の median および 90<sup>th</sup>CI を Figure 2-4 に示す. 0.1, 0.3 および 0.5 g/kg の速度での LE を持続投与した際の血漿中 TG 濃度は投与後 3 時間以内におおよそ定常状態に達した. しかし投与終了時における血漿中 TG 濃度はそれぞれ約 470, 620, および 1400 mg/dL と非線形性を示した. また, いずれの投与速度群においても, ほぼ全ての実測値は simulation の median 値の近くに密集し, 約 90% が 90<sup>th</sup>CI の範囲に収束した. したがって, 最終的に構築した semi-physiological kinetic model および算出された PPK parameter は, 任意の LE 投与速度における血漿中 TG 濃度推を精度よく予測することが出来た. さらに, external model validation を行った際の偏りおよび精密さを Table 2-2 に示す. %MPE および %MAPE の結果からも, 構築した semi-physiological kinetic model における予測誤差は概ね 25%程度であり, model の頑健性が確認された.

**Table 2-2.** Bias and Precision of External Validation

| Dosing schedule        | %MPE [90 <sup>th</sup> CI] | %MAPE | % within 90 <sup>th</sup> CI |
|------------------------|----------------------------|-------|------------------------------|
| 0.1 g/kg/hr for 7 hr   | -8.22 [-41.0 –15.5]        | 10.5  | 100.0                        |
| 0.3 g/kg/hr for 4.5 hr | 15.0 [-40.0 –43.3]         | 27.2  | 93.4                         |
| 0.5 g/kg/hr for 4.5 hr | 16.4 [-38.2 –41.2]         | 26.4  | 95.3                         |
| Lipid rescue regimen   | -14.9 [-58.0 –21.5]        | 21.7  | 97.2                         |
| All validated samples  | 1.4 [-46.8 –40.0]          | 21.2  | 96.3                         |

%MPE, mean percentage error (bias); %MAPE, mean absolute percentage error (precision); 90<sup>th</sup>CI, 90 percentile confidence interval; %within 90<sup>th</sup>CI; overlap between the 90<sup>th</sup>CI.



**Figure 2-4.** Simulation and external validation of a population semi-physiological kinetic model for triglyceride in rats. The solid line and dashed lines represent the median and 5–95 percentile range of 10,000 simulated concentration–vs. time profiles and open circles represent observed concentrations of TG. LE was administered at 0.5 hr. (A): 0.1 g/kg/hr for 7 hr, (B): 0.3 g/hg/hr for 4.5 hr, (C): 0.5 g/kg/hr for 4.5 hr and (D): 0.3 g/kg bolus injection followed by continuous infusion at a rate of 3.0 g/kg/hr for 0.5 hr (a typical Lipid rescue regimen).

#### 2-1-4. 考察

CMの生体内運命は、これまでに放射性標識されたトレーサーを用いた研究がなされており、**compartment model**によって生体内の物質収支を説明している。<sup>65,71</sup> これらはTGの血漿中濃度推移を示す貴重な**model**であるが、**Lipid rescue**で観察される様な高濃度域を含む臨床で通常生じ得る血漿中TG濃度には対応していない。本研究では極めて高濃度域を含む臨床上生じ得る濃度域において適合可能なTGの**semi-physiological kinetic model**を構築することで、LEの適正使用のための基礎的情報を提供することを目的とした。

血漿中TG濃度は0.1 g/kg投与量群を除いてLE投与後2相性の消失様式で**baseline**へと回帰した (Figure 2-1, 2)。Carlson および Hallberg はイヌにおいてLE投与後の血漿中TG濃度推移は約886 mg/dLを境に線形の消失を示す第一相と、指数関数的な消失を示す第二相の2つに分離することを報告している。<sup>74</sup> 本検討においても同様の二相性消失を示したが、二相の境界濃度は投与量ごとに変化した。これは、この二相性の消失が単一の経路のみでなく、複数の要因が関与していることを示唆しており、単純な**compartment model**では解釈不能である。したがって、本**semi-physiological kinetic model**には疑似CM様粒子を形成するためのApo獲得過程、およびそれに続くCMとしての代謝過程を考慮して構築した。

Iriyamaらは、HDLに存在するApo-CIIおよびC-IIIが人工脂肪粒子へ移行する速度に上限(飽和)があると報告している。<sup>60</sup> 本研究で観察された血漿中TG濃度は、LEに含有する外因性TGと疑似CM様粒子に存在する内在性TGの総和として表しているため (Eq. 4)、伝統的な薬物動態学的アプローチである**curve-stripping**法にて第一相のみの抽出を試みた。その結果、LE高用量投与群の第一相にて非線形性が確認され、さらに**model**への飽和様式の導入は、線形**model**と比較して**model**適合性を優位に改善した (-2L=-71.8)。この外来性TGの代謝に飽和様式を考慮した**model**は我々の知る限りこれが最初のものである。ここで、Apo獲得の最大速度 ( $V_{max}$ ) は2.58 mg/minであった (Table 1)。これは、ラットにおいてTGを2.58 mg/kg (0.619 g/kg/hr)を超過する速度で投与した時、TG代謝が飽和し血漿中TG濃度は上昇し続けることを意味している。

本研究で第二相は指数関数的な消失を示した。その傾きはいずれのLE投与量

群においても  $0.0322 \pm 0.0020$  /min (半減期:  $21.5 \pm 1.4$  min) であり, これまでに報告されている TG の半減期 (11.9-52.1 min) とほぼ一致した.<sup>74</sup> したがって, Apo を獲得した後の TG 代謝は主に一次の消失速度論に従うことが推測される. Apo 獲得後の疑似 CM 様粒子の生体内運命は, CM と同様の経路であることは多く報告されている.<sup>60,65,71,75</sup> 疑似 CM 様粒子中の TG の一部は LPL で加水分解された後に筋肉や心臓などの組織で異化され, また一部は肝臓や脂肪組織に貯蔵される. さらに, TG は肝臓から内因性の超低密度リポタンパク質として体循環に再分泌される.<sup>76,77</sup> 従って, 本 semi-physiological kinetic model には異化, 貯蔵部位への移行, および貯蔵部位からの分泌の 3 つの経路を導入した. また, これら 3 つの経路はそれぞれ血漿中 TG 濃度に影響を及ぼし, LE 未投与時における平衡状態 (baseline) を構築する. ここで, 我々の構築した model では  $K_{cat}$  を文献値に固定した. これは  $K_{cat}$  および  $K_{sec}$  はそれぞれ 0 次速度定数であり, 2 つの parameter を同時に推定することは不可能であるためである. しかしながら解析で重要となるのは  $K_{cat}$  と  $K_{sec}$  の差であるため,  $K_{cat}$  の固定は解析結果に影響を及ぼさない. また, 興味深いことに  $K_{cat}$  を固定しているのにもかかわらず,  $K_{sec}$  の推定値は  $1.13$  mg/min と既報の肝 TG 分泌速度 ( $0.75$ - $0.89$  mg/min) と近い値を示した.<sup>78,79</sup> 以上より, 構築した semi-physiological kinetic model は, 高い生理学的妥当性を有していると考えられる.

External model validation の結果, 構築した semi-physiological kinetic model は LE の実臨床における推奨投与速度, それをはるかに上回る速度, さらに Lipid rescue 施行時においても血漿中 TG 濃度推移を精度よく予測可能であった. ゆえに構築した model の高い頑健性が確認された. これは, LE の投与速度と血漿中 TG 濃度との間の関連性を明らかにし, さらにヒトにおける  $V_{max}$  値の推定は LE 最大投与速度の決定に有用であると考えられる. また, Lipid rescue 療法は薬物と TG との相互作用として広義の解釈が可能である. よって, LE と対象薬物とを同時に速度論的解析し定量化することで, Lipid rescue 施行における有用な科学的根拠の提供も可能であろう.

本研究には数点の制限事項がある. 第 1 に, この研究で用いたラットは, 健常時であり, LE 療法を施行する必要がある患者の臨床状態, 特に脂質代謝に影響を及ぼす可能性のある合併症などの影響を十分反映しておらず, これは個体間変動のバラツキを過小評価する可能性がある. 第 2 に, ヒトとラットとの間に

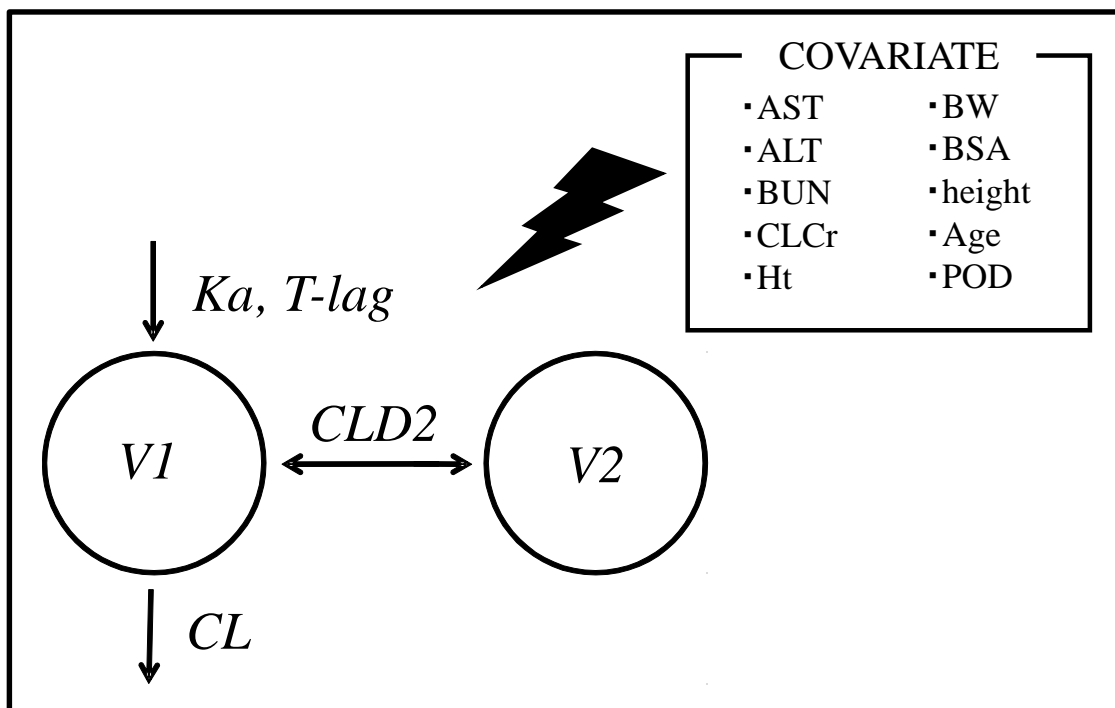


は脂質代謝の種差が知られている。ラットには HDL を低密度リポタンパク質変換する cholesteryl ester transfer 活性が弱いため,<sup>80</sup> ラットの血漿リポタンパク質は Apo の貯蔵部位である HDL の割合が高くなる。また、それに伴いラット血漿中の Apo-E 濃度はヒトと比較して約 5 倍高くなる。<sup>81,82</sup> したがって、ヒトの最大代謝速度はラットと比較して小さくなると推測されるが、基本的な脂質代謝様式はヒトとラットで大きな差は無いため、parameter の推定値は変動するものの同一 model の適応は可能であろう。

結論として、LE 投与時の血漿中 TG 濃度推移を表す semi-physiological kinetic model を構築することで、栄養素である TG も速度論的な解釈が可能である点を実証され、LE 投与速度と TG 濃度との dose-response の関連性を明らかにすることができた。また、最大代謝速度 ( $V_{max}$ ) の導入は、LE の投与速度の推定を可能とするであろう。本結果は LE の至適投与速度設定に対する有用な情報を提供すると考えられる。

第三章:

「母集団薬物動態解析を用いた医薬品適正使用に関する研究」



本章の一部は、以下の学術誌に掲載された。

1. Okada A, Ushigome T, Kanamori M, Morikochi A, Kasai H, Kosaka M, Kokuhu T, Nishimura A, Shibata N, Fukushima K, Yoshimura N, Sugioka N. Population pharmacokinetics of cyclosporine A in Japanese renal transplant patients: comprehensive analysis in a single center. *Eur J Clin Pharmacol*. 2017;**73**:1111–9.
2. Okada A, Kariya M, Irie K, Okada Y, Hiramoto N, Hashimoto H, Kajioka R, Maruyama C, Kasai H, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Fukushima K, Sugioka N. Population pharmacokinetics of vancomycin in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Pharmacol*. [in press]

## 第一節：腎移植患者における免疫抑制剤 cyclosporine の母集団薬物動態解析

### 3-1-1. 緒言

Cyclosporine (CyA) は強力な免疫抑制作用を有するカルシニューリン阻害薬で、腎移植をはじめとした臓器移植時に生じる拒絶反応抑制を目的として使用される.<sup>83,84</sup> しかし CyA の有効血中濃度域は狭く、中毒域では腎障害等の副作用発現のリスクがあり、一方で有効血中濃度未満では免疫反応により移植片対宿主反応による拒絶が生じる恐れがある.<sup>85</sup> この様に有効血中濃度域は狭いのにも関わらず、CyA 投与後の血中動態の個体間および個体内変動は大きく、その変動要因として患者の体格や基礎疾患、肝機能、併用薬など様々な因子が影響していると考えられる。ゆえに、血中 CyA 濃度を精度よくコントロールするのは非常に困難であり、より綿密なモニタリングが必要である。<sup>86,87</sup> 当然患者個々の詳細な PK 情報を得るためには頻回採血による評価が望ましいが、患者への大きな負担となるため現実的でない。よって、実臨床では投与直前の  $C_0$  および投与後 2 時間の  $C_2$  を治療の指標として用いる施設が多い。<sup>88,89</sup> この様な少ない採血点から血中濃度推移を予測するためには PPK が非常に有用な手段であり、これまでに多くの CyA PPK model が構築されてきた。<sup>90-93</sup> しかしながら、これらの結果はいずれも非常に大きな個体間および施設間変動を有していた。さらに得られる共変量にもコンセンサスは得られておらず、すなわち、CyA の体内変動に関しては人種や治療機関毎の免疫抑制療法のプロトコルの違い、術後経過などを含めた更なる未知の変動要因が関与していることが考えられる。特に、術後の状態は患者によってさまざまであり、移植術後初期には、手術、麻酔薬などの影響で消化管機能が安定せず、血中濃度のコントロールは困難である。この様な CyA 投与時の変動効果を説明しうることができれば、より有効で安全な免疫治療も可能となる。そこで本研究では、腎移植患者に CyA を経口投与した際に得られた血中薬物濃度を用いた PPK を行い、どの様な患者背景因子が CyA の薬物動態に影響する共変量となりうるかを検討した。

### 3-1-2. 方法

#### 3-1-2-1. 対象患者

本研究は 2005 年 2 月から 2013 年 2 月までの間に京都府立医科大学附属病院で生体腎移植を施行され、CyA による免疫抑制療法を受けた患者の中で、現病歴に消化器疾患を有さない患者 98 名を対象とした後ろ向き研究である。得られた患者構成および代表的な臨床検査値を Table 3-1 に示す。本研究は、京都府立医科大学附属病院倫理委員会の承認を得たうえで、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (International Committee on Harmonization; ICH) の臨床試験実施基準ガイドラインに従い行った。また、インフォームドコンセントは全ての対象患者から得られた。

**Table 3-1.** Summary of demographics and clinical data of the study population

|  |      |        |      |
|--|------|--------|------|
| Number of patients (Male / Female)             | 98   | 65 /   | 33   |
| Number of<br>type 2 diabetes mellitus patients | 20   |        |      |
| Age (year)                                     | 45   | 15 –   | 69   |
| Body weight (kg)                               | 59.0 | 35.5 – | 84.0 |
| Body surface area (m <sup>2</sup> )            | 1.54 | 1.17 – | 1.91 |
| Hematocrit (%)                                 | 31.7 | 19.4 – | 48.3 |
| Aspartate aminotransferase (IU/L)              | 15   | 2 –    | 173  |
| Alanine aminotransferase (IU/L)                | 21   | 1 –    | 228  |
| Blood urea nitrogen (mg/dL)                    | 23.6 | 7.5 –  | 167  |
| Serum creatinine (mg/dL)                       | 1.17 | 0.51 – | 19.4 |
| Cyclosporine A daily dose (mg)                 | 350  | 125 –  | 500  |
| Post-operative hospital stay (day)             | 35   | 17 –   | 42   |

Number of patients or median value [range]

### 3-1-2-2. 免疫療法レジメン

全ての患者は、京都府立医科大学附属病院移植・一般外科で構築された以下の免疫抑制療法が施行された。腎移植を行う 2-5 日前に CyA (Neoral®; Novartis Pharmaceuticals, East Hanover, NJ, USA) を約 12 mg/kg/day の用量で経口投与し、これを CyA の術前投与群とした。腎移植術の当日は CyA (Sandimmun®; Novartis Pharmaceuticals) を 4 mg/kg/day の速度で持続投与し、術後は CyA (Neoral®) を約 12 mg/kg/day の用量で一日二回食前の 8:00 および 17:00 に経口投与した。CyA の投与量は  $C_0$  (target range, 200–300 ng/mL) および  $AUC_{0-9}$  (target range, 5000–6000 ng•hr/mL) となる様に適宜調節した。腎移植当日、methylprednisolone を 500 mg/day の速度で持続投与し、その後 prednisolone を CyA と併用した。Prednisolone の投与量は、術後 3 日 (postoperative day 3; POD3) までは 50 mg/day で投与し、その後 40 mg/day (POD4–11), 30 mg/day (POD12–18), 25 mg/day (POD19–25), 20 mg/day (POD26–32), 15 mg/day (POD33–39), および 10 mg/day (from POD40 onward) と投与量を漸減させた。加えて azathioprine (1.0–1.5 mg/kg/day) もしくは mycophenolate mofetil (20–25 mg/kg/day) の併用を POD21 より開始した。また、腎性高血圧治療を目的として nifedipine を、真菌感染症の予防を目的として azole 系抗菌薬を、そしてステロイド誘発胃潰瘍の予防を目的として lafutidine を併用した。

### 3-1-2-3. PK Study

本検討では、 $AUC_{0-9}$  算出を目的として腎移植前 2-5 日、および移植後は 1 週間間隔で CyA 投与直前および投与後 1, 2, 3, 4, 6, 9 hr にエチレンジアミン四酢酸処理した採血管にて末梢静脈から 2 mL 採血し、全血中 CyA 濃度を測定した。加えて  $C_0$  は同様に退院まで連日測定した。ここで、 $AUC_{0-9}$  は線形台形公式より算出した。また、全血中 CyA 濃度は Dimension Xpand® system (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Deerfield, IL, USA) による酵素免疫測定法にて定量した。なお、定量下限は 25 ng/mL であり、測定間の誤差は 10%以内であった。

### 3-1-2-4. PPK modeling

術前および術後の PK model は Phoenix® NLME™ 1.4 にて検討した。また、推定アルゴリズムには FOCE-ELS を用いた。PK model には一次吸収過程を有する 1-, 2-, および 3-compartment model を検討し、さらに吸収までの遅延時間 (T-lag) の必要性も検討した。ここで model 適合性は -2LL および GOF plots にて判断した。その結果、後述する様に本母集団における CyA 血中濃度推移は、一次吸収過程および吸収までの T-lag を有する 2-compartment model で記述することが出来た。物質収支の微分式は以下に示す：

$$\frac{dA_1}{dt} = -C_1 \times CL/F - (C_1 - C_2) \times CLD2/F \quad (1)$$

$$\frac{dA_2}{dt} = (C_1 - C_2) \times CLD2/F \quad (2)$$

$V_1/F$  および  $V_2/F$  はそれぞれ central および peripheral compartment における分布容積， $K_a$  は一次吸収速度定数， $CL/F$  および  $CLD2/F$  はそれぞれ経口および compartment 間の  $CL$ ，および T-lag である。実測値の個体内変動における誤差 model は、相対誤差 model を、個体間変動には、指数誤差 model を用いた。

### 3-1-2-5. Covariate analysis

共変量は basic model に対して共変量候補を一つずつ追加する forward addition ( $p \leq 0.05$ ) により選定し final model を構築した。その後 final model の妥当性は、選定された共変量の一つを取り除いた際の尤度を評価する backward elimination 法 ( $p \leq 0.01$ ) で確認した。本検討では下記の共変量候補を網羅的に解析した。性別 (male, 0; female, 1), 年齢, 身長, 体重 (BW), body mass index (BMI), 除脂肪体重 (LBW), 体表面積 (BSA), hematocrit (Ht), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr). また, POD や II 型糖尿病 (diabetes mellitus: DM) 等の基礎疾患も共変量候補とした。さらに本検討では、術前における PPK より *post-hoc* 法にて算出された PK parameter (structure および secondary parameter) もまた共変量候補とし

た. 術前における individual PK parameter を Table 3-2 に示す. LBW および BSA はそれぞれ Yanaga ら<sup>94</sup> および Du Bois ら<sup>95</sup> の式により算出した [LBW (male)=1.1 × total BW - 0.0128 × BMI; LBW (female)=1.07 × BW - 0.0148 × BMI; and BSA=BW<sup>0.425</sup> × height<sup>0.725</sup> × 0.007184]. 一部の臨床検査値は日本臨床検査医学会「臨床検査のガイドライン」に基づき正常値もしくは異常値 (normal, 0; abnormal, 1) として分類した. その際の cut-off 値は以下に示す; Ht: <40% (male) or <35% (female), AST: >35 IU/L, ALT: >30 IU/L, BUN: >20 mg/dL, SCr: >1.0 mg/dL (male) or >0.8 mg/dL (female). 共変量構造として, 連続変数は direct type (Eq. 3) もしくは power type (Eq. 4), 二変数の場合は category type (Eq. 5), そして POD には Michaelis–Menten type (Eq. 6) を検討した.

$$\text{Direct type} \quad P_i = \theta_p \times \text{COV}_i \quad (3)$$

$$\text{Power type} \quad P_i = \theta_p \times \left( \frac{\text{COV}_i}{\text{COV}_{\text{median}}} \right)^{\theta_{\text{cov}}} \quad (4)$$

$$\text{Category type} \quad P_i = \theta_p \times (1 + \text{COV}_i)^{\theta_{\text{cov}}} \quad (5)$$

$$\text{Michaelis–Menten type} \quad P_i = \theta_p \times \frac{\theta_{\text{cov}} \times \text{COV}_i}{\theta'_{\text{cov}} + \text{COV}_i} \quad (6)$$

$P_i$  は i-th の患者における個々の PK parameter,  $\theta_p$  は各 PK parameter における母平均値,  $\theta_{\text{cov}}$  および  $\theta'_{\text{cov}}$  は共変量に対する係数,  $\text{COV}_i$  は i-th の患者における個々の共変量, そして  $\text{COV}_{\text{median}}$  は共変量の母集団中央値を示す (Table 3-1). 全ての共変量候補は,  $\Delta\text{OFV}$  および共変量と, 共変量導入前の候補 model より推定された PK parameter の相関によって評価した.

### 3-1-2-6. Model validation

全ての model 構造と PPK parameter の妥当性は, CV%,  $\eta$ -shrinkage, GOF plots および bootstrap resampling (1000 組) により検証した. また, 統計学的有意性は -2LL を  $\chi^2$  分布値と比較する尤度比検定で判定した. さらに本検討では推定濃度の偏りおよび精密さをそれぞれ %MPE および %MAPE で評価した.

**Table 3-2.** The basic model population and individual pharmacokinetic parameters of cyclosporine A in preoperative patients

| Parameter (Unit)     | Population mean     |        | Inter-individual variability |        | Individual parameters |       |                 |              |   |
|----------------------|---------------------|--------|------------------------------|--------|-----------------------|-------|-----------------|--------------|---|
|                      | Estimate            | CV (%) | Estimate (%)                 | CV (%) | Median                | [     | Range           | ]            |   |
| Structure parameters |                     |        |                              |        |                       |       |                 |              |   |
| Pre-V1/F             | (L)                 | 95.5   | 5.64                         | 4.77   | 30.6                  | 95.6  | [               | 93.0 – 96.2  | ] |
| Pre-Ka               | (hr <sup>-1</sup> ) | 1.10   | 9.36                         | 64.4   | 16.1                  | 1.18  | [               | 0.311 – 4.33 | ] |
| Pre-T-lag            | (hr)                | 0.813  | 6.35                         | 12.8   | 14.5                  | 0.815 | [               | 0.715 – 1.00 | ] |
| Pre-CL/F             | (L/hr)              | 25.2   | 4.71                         | 37.7   | 15.8                  | 26.6  | [               | 12.0 – 45.9  | ] |
| Pre-V2/F             | (L)                 | 256    | 16.2                         | 25.2   | 34.5                  | 258   | [               | 195 – 369    | ] |
| Pre-CLD2/F           | (L/hr)              | 18.1   | 6.32                         | 45.1   | 22.5                  | 17.4  | [               | 9.79 – 33.4  | ] |
| Residual variability |                     |        |                              |        |                       |       |                 |              |   |
| $\sigma$             | (%)                 | 26.8   | 8.23                         |        |                       |       |                 |              |   |
| Secondary parameters |                     |        |                              |        |                       |       |                 |              |   |
| Pre-half life        | (hr)                |        |                              |        | 2.47                  | [     | 1.35 – 6.91     | ]            |   |
| Pre-AUC/dose         | (hr/L)              |        |                              |        | 0.0247                | [     | 0.0146 – 0.0459 | ]            |   |

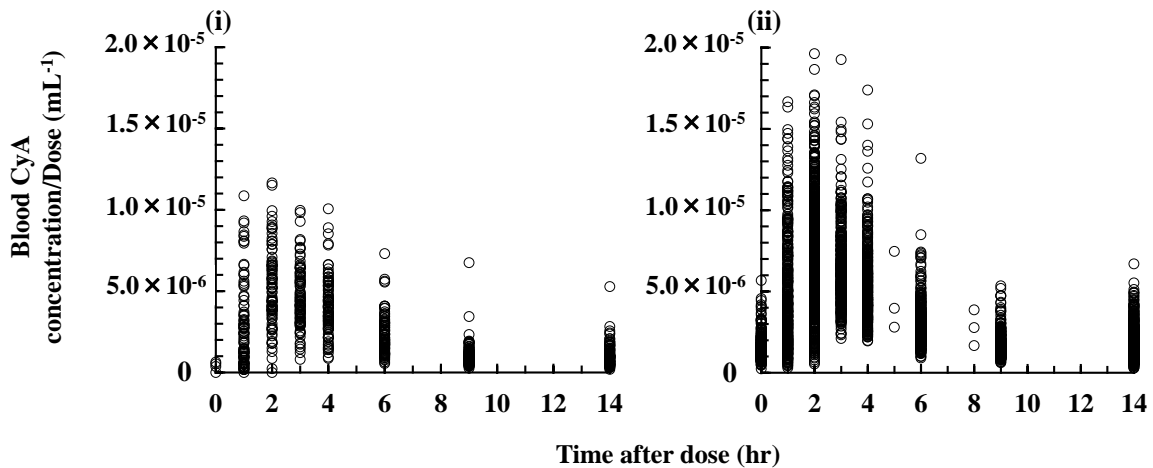
AUC, area under the whole blood concentration–time curve; CL/F, oral clearance; CLD2/F, distribution clearance; Ka, first-order absorption rate constant; CV%, coefficient of variation; T-lag, absorption lag time; V1/F, distribution volume of central compartment; V2/F, distribution volume of peripheral compartment;  $\sigma$ , associated variance of the residual error variable ( $\epsilon$ )



### 3-1-3 結果

#### 3-1-3-1. 患者データおよび血中 CyA 濃度推移

解析に用いた患者集団のデータを Table 3-1 に示す. BUN および SCr のみが術前データと比較して POD7 で顕著な改善を示したが, 他の患者特性に有意差はなかった (one-way repeated measures analysis of variance followed by the Tukey's test). また, DM の有無はいずれの術後患者特性においても有意差を与えなかった (unpaired *t*-test). 98 人の患者から合計 660 ポイント (術前) および 4785 ポイント (術後) の血中濃度データが得られ, 投与量で標準化した全血液中濃度推移を Figure 3-1 に示す. 両群とも大きな個体間・個体内変動を示し, TDM の目標範囲内に入った割合は  $C_0$  で 60.7% (below the target range, 23.0%; above the target range, 16.2%),  $AUC_{0-9}$  で 54.5% (below the target range, 8.50%; above the target range, 36.4%) であった.



**Figure 3-1.** Pre- and postoperative dose-normalized blood concentration–time profiles of cyclosporine A (CyA). (i) Preoperative data. (ii) Postoperative data.

### 3-1-3-2. Final PPK model of CyA

共変量を網羅的に探索した結果および Final PPK model から得られた PPK parameter をそれぞれ Table 3-3,4 に示す. AST, BSA, pre-AUC/dose, および POD が CL/F の, BSA が V1/F の, そして DM が Ka の共変量として選択された. 尤度比検定および GOF plots の結果, 術前・術後はいずれも一次吸収過程および T-lag を有する 2-compartment model が最も妥当な model として選択された.

**Table 3-3.** Covariate model development and evaluation of cyclosporine A

| Model No.            | Model                          | Covariate type   | ΔOFV  |
|----------------------|--------------------------------|------------------|-------|
| Basic model          |                                |                  |       |
| 0                    | No covariate                   | —                | —     |
| Forward addition     |                                |                  |       |
| 1                    | Model-0 + POD on CL/F          | Michaelis-Menten | -130  |
| 2                    | Model-1 + BSA on V1/F          | power            | -38.1 |
| 3                    | Model-2 + pre-AUC/dose on CL/F | power            | -26.4 |
| 4                    | Model-3 + BSA on CL/F          | power            | -20.1 |
| 5                    | Model-4 + AST on CL/F          | category         | -14.0 |
| 6                    | Model-5 + DM on Ka             | category         | -8.67 |
| Backward elimination |                                |                  |       |
| 7                    | Model-6 - POD on CL/F          | Michaelis-Menten | 129   |
| 8                    | Model-6 - BSA on V1/F          | power            | 40.2  |
| 9                    | Model-6 - pre-AUC/dose on CL/F | power            | 31.9  |
| 10                   | Model-6 - BSA on CL/F          | power            | 20.0  |
| 11                   | Model-6 - AST on CL/F          | category         | 10.9  |
| 12                   | Model-6 - DM on Ka             | category         | 8.67  |

ΔOFV, difference in objective function value; AUC, area under the whole blood concentration-time curve; BSA, body surface area; CL/F, oral clearance; DM, diabetes mellitus; Ka, first-order absorption rate constant; POD, postoperative day.

**Table 3-4.** The final population pharmacokinetic parameters and bootstrap validation of cyclosporine A in postoperative patients

| Parameter   | (Unit) | Postoperative dataset |        |               | Bootstrap replication |                                      | Residual <sup>a</sup><br>(%) |
|---|--------|-----------------------|--------|---------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------------|
|   |        | Estimate              | CV (%) | Shrinkage (%) | Median                | 95 <sup>th</sup> CI [2.5th – 97.5th] |                              |
| Population mean   |        |                       |        |               |                       |                                      |                              |
| $V1/F = \theta1 \times (BSA / 1.54)^{07}$   |        |                       |        |               |                       |                                      |                              |
| $\theta1$   | (L)    | 77.7                  | 3.21   |               | 77.9                  | [ 44.4 – 86.5 ]                      | -0.335                       |
| $\theta7$   | (—)    | 2.01                  | 2.14   |               | 2.04                  | [ 1.47 – 2.87 ]                      | -1.52                        |
| $Ka = \theta2 \times (1 + DM)^{08}$   |        |                       |        |               |                       |                                      |                              |
| $\theta2$   | (/hr)  | 0.954                 | 5.44   |               | 0.951                 | [ 0.544 – 1.19 ]                     | 0.307                        |
| $\theta8$   | (—)    | -0.284                | 3.39   |               | -0.286                | [ -0.411 – -0.110 ]                  | -0.593                       |
| T-lag = $\theta3$   |        |                       |        |               |                       |                                      |                              |
| $\theta3$   | (h)    | 0.530                 | 3.21   |               | 0.546                 | [ 0.472 – 0.610 ]                    | -3.10                        |
| $CL/F = \theta4 \times (1+AST)^{09} \times (BSA / 1.54)^{010} \times (pre-AUC/dose / 0.0247)^{011} \times [(POD \times \theta12) / (POD + \theta13)]$ |        |                       |        |               |                       |                                      |                              |
| $\theta4$   | (L/h)  | 17.1                  | 1.51   |               | 16.9                  | [ 1.46 – 18.4 ]                      | 0.827                        |
| $\theta9$   | (—)    | -0.164                | 3.65   |               | -0.165                | [ -0.417 – -0.0538 ]                 | -0.541                       |
| $\theta10$  | (—)    | 0.766                 | 1.76   |               | 0.774                 | [ 0.510 – 1.28 ]                     | -1.04                        |
| $\theta11$  | (—)    | -0.397                | 1.70   |               | -0.399                | [ -0.499 – -0.277 ]                  | -0.332                       |
| $\theta12$  | (—)    | 1.47                  | 1.38   |               | 1.48                  | [ 1.34 – 1.71 ]                      | -0.954                       |

|                                 |        |       |      |      |       |                   |        |
|---------------------------------|--------|-------|------|------|-------|-------------------|--------|
| $\theta_{13}$                   | (day)  | 0.706 | 2.70 |      | 0.701 | [ 0.0524 – 1.21 ] | 0.833  |
| V2/F = $\theta_5$               |        |       |      |      |       |                   |        |
| $\theta_5$                      | (L)    | 2804  | 2.83 |      | 2759  | [ 2017 – 3226 ]   | 1.62   |
| CLD2/F = $\theta_6$             |        |       |      |      |       |                   |        |
| $\theta_6$                      | (L/hr) | 18.3  | 2.66 |      | 18.2  | [ 16.8 – 19.5 ]   | 0.288  |
| <hr/>                           |        |       |      |      |       |                   |        |
| Internal-individual variability |        |       |      |      |       |                   |        |
| V1/F                            | (%)    | 13.4  | 5.08 | 35.8 | 13.7  | [ 8.31 – 35.6 ]   | -2.46  |
| Ka                              | (%)    | 38.6  | 8.08 | 20.2 | 37.4  | [ 7.74 – 53.0 ]   | 3.16   |
| T-lag                           | (%)    | 40.5  | 4.72 | 18.0 | 40.5  | [ 30.3 – 52.3 ]   | 0.122  |
| CL/F                            | (%)    | 18.6  | 8.13 | 7.20 | 18.0  | [ 15.0 – 21.6 ]   | 3.49   |
| V2/F                            | (%)    | 58.1  | 5.65 | 11.0 | 58.4  | [ 50.4 – 72.9 ]   | -0.377 |
| CLD2/F                          | (%)    | 30.1  | 5.70 | 13.1 | 30.7  | [ 26.0 – 34.9 ]   | -1.92  |
| <hr/>                           |        |       |      |      |       |                   |        |
| Residual variability            |        |       |      |      |       |                   |        |
| $\sigma$                        | (%)    | 26.6  | 2.48 |      | 26.5  | [ 25.3 – 27.6 ]   | 0.208  |

95<sup>th</sup>CI, 95<sup>th</sup> percentile confidence interval of bootstrap estimates; AST, aspartate aminotransferase; AUC, area under the whole blood concentration–time curve; BSA, body surface area; CL/F, oral clearance; CLD2/F, distribution clearance; DM, diabetes mellitus; Ka, first-order absorption rate constant; POD, postoperative day; T-lag, absorption lag time; V1/F and V2/F, distribution volume of central and peripheral compartment;  $\theta$ , population mean value;  $\sigma$ , associated variance of the residual error variable ( $\epsilon$ )

<sup>a</sup> Residual (%)=(estimate value of original data–bootstrap median values)/estimate value of original data  $\times$  100

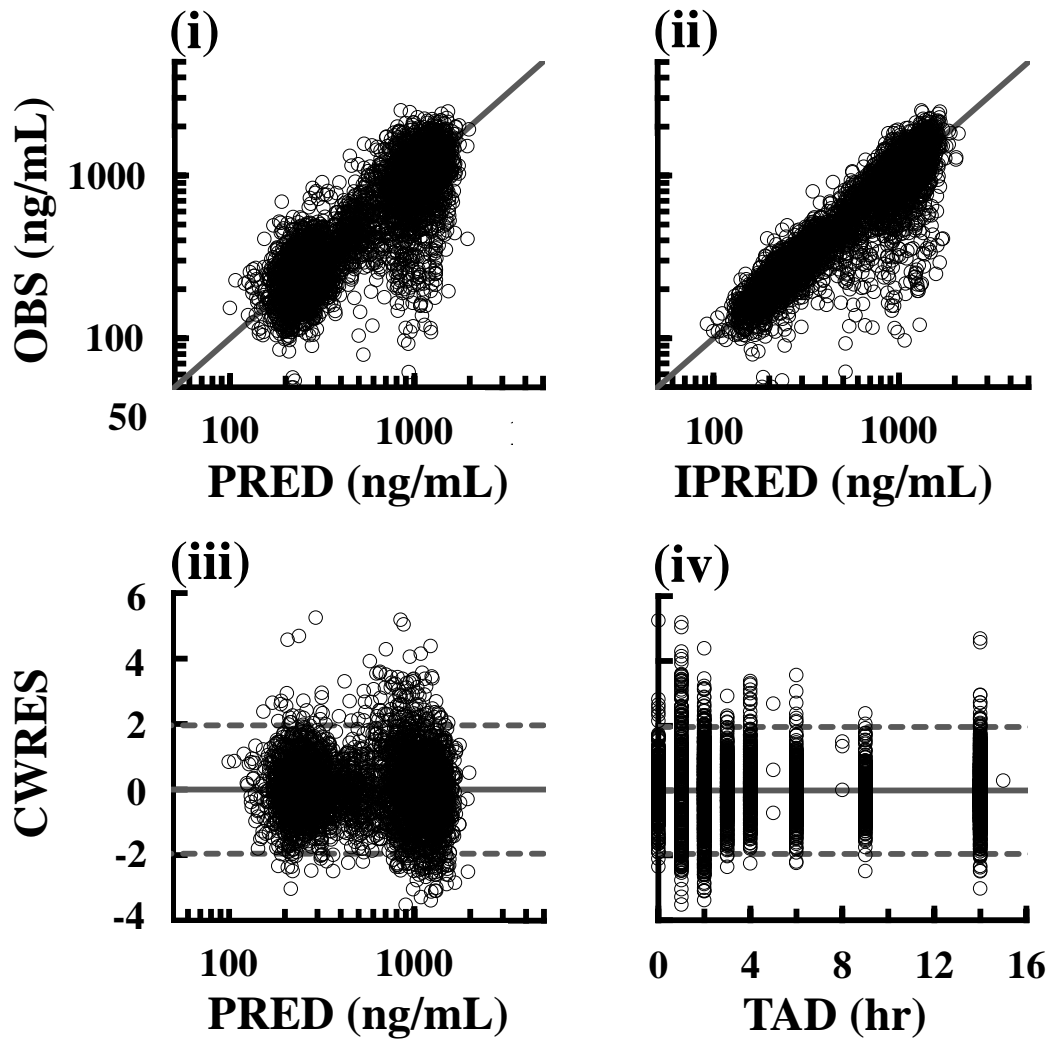
### 3-1-3-3. Validation of the PPK model

Final PPK model より得られた PPK parameter の CV%,  $\eta$ -shrinkage, および bootstrap resampling の結果を Table 3-4 に, GOF plots の結果を Figure 3-2 に, 推定濃度の偏りおよび精密さを Table 3-5 にそれぞれ示す. PPK parameter の CV% および  $\eta$ -shrinkage の範囲はそれぞれ 1.51-8.13% および 7.2-35.8% であり, 全ての PPK parameter は bootstrap resampling より得られた 95<sup>th</sup>CI に収まり, median と非常に近似していた. 次に, OBS vs. PRED および OBS vs. IPRED plots は, 観測値が  $y=x$  上に密集しており, いずれの濃度域においても対称的な分布を示したことから final PPK model の良好な予測性が確認され, また, CWRES vs. TAD および CWRES vs. PRED plots は, CWRES に一定の傾向がなく CWRES=0 周囲にランダムに散在したことから, final PPK model の構造および誤差 model の妥当性が示された. さらに, Final PPK model の %MPE および %MAPE は, basic PPK model と比較していずれも 0% に近づき, 偏りおよび精密さはいずれも許容範囲内であった. 以上より final PPK model の良好な頑健性と推定精度が確認された.

**Table 3-5.** The prediction accuracy test of basic and final PPK model

|                                  |        | %MPE [95 <sup>th</sup> CI] | %MAPE |
|----------------------------------|--------|----------------------------|-------|
| <b>Basic PPK model</b>           |        |                            |       |
| All blood concentration (n=4677) | 12.2   | [ -65.3 – 136 ]            | 36.3  |
| Trough concentration (n=1823)    | 20.0   | [ -46.7 – 165 ]            | 37.9  |
| AUC <sub>0-9</sub> (n=345)       | 8.72   | [ -47.5 – 79.5 ]           | 24.5  |
| <b>Final PPK model</b>           |        |                            |       |
| All blood concentration (n=4677) | -0.500 | [ -65.5 – 84.0 ]           | 28.4  |
| Trough concentration (n=1823)    | 1.22   | [ -47.8 – 85.4 ]           | 27.2  |
| AUC <sub>0-9</sub> (n=345)       | -2.71  | [ -40.4 – 35.3 ]           | 17.4  |

95<sup>th</sup>CI, 95<sup>th</sup>-percentile confidence interval; AUC<sub>0-9</sub>, area under the whole blood concentration–time curve from time 0 to 9 hr; %MAPE, percentage mean absolute prediction error (precision); %MPE, percentage mean prediction error (bias)



**Figure 3-2.** Goodness-of-fit plots for a population pharmacokinetic model: (i), PRED vs. OBS; (ii), IPRED vs. OBS; (iii), TAD vs. CWRES; and (iv), PRED vs. CWRES. Solid lines (i, ii) represent  $y=x$  and (iii, iv) zero conditional residuals; dashed lines (iii, iv) represent  $\pm 2$  SD. CWRES, conditional weighted residuals; IPRED, individual predictions; OBS, observations; PRED, population predictions; TAD, time after dose.

### 3-1-4. 考察

本研究では腎移植患者における CyA PPK model を患者 98 名から合計 5445 points の全血中 CyA 濃度データを用いて網羅的解析より構築した。これは現在報告されている PPK model の中で最もサンプルサイズが大きい。さらに、同一施設内での検討であるため免疫抑制療法の治療プロトコルは同一である。これらより得られる PPK parameter の信頼性および選択された共変量の妥当性は高いと考えられる。

CyA PPK parameter の母平均値は術前および術後において既報とほぼ同値を示した。<sup>90</sup> 一方、術前および術後における患者個々の PK parameter を比較したところ、V1/F, T-lag および V2/F において有意差が見られた ( $p \leq 0.01$  by paired *t*-test)。よって、腎移植に伴う種々の処置は、CyA の吸収および分布に大きな影響を及ぼす可能性が示唆された。

本検討では DM および AST がそれぞれ Ka および CL/F の低下に関連する共変量として選択された。経口投与された CyA は micro-emulsion として小腸上部から吸収され、<sup>96</sup> また吸収された CyA のほとんどは肝臓の cytochrome P450 (CYP) によって代謝され胆汁排泄される。<sup>97</sup> DM は多くの薬物の PK を変動させることが知られているが、DM 病態下において腸管上皮細胞の P-糖タンパク質 (P-gp) 発現は亢進している可能性があり、<sup>98</sup> これが P-gp の基質である CyA 吸収動態を変動させた要因の一つとなった可能性が考えられる。実際に本施設では DM 患者において吸収遅延および  $C_{max}$  の低下など吸収相の変化を受け易いことを経験してきている。また、肝機能障害を反映する AST の増加に伴い CyA の CL/F は減少した。当然肝機能障害に伴う CyA 代謝能の低下は予測され、CL/F の共変量として AST が選択されたと考えられる。したがって、DM または急性/慢性肝障害を有する患者に CyA を投与する際には十分な注意が必要であろう。

本検討では BSA が V1/F および CL/F に影響を及ぼす共変量として選択された。体組成は薬物の分布および代謝能に大きな影響を与えることが広く知られている。特に BW は最も標準的で汎用が高く、CyA の V1/F や CL/F に影響を与える因子であると報告されている。<sup>90-92</sup> 一方で、BW のみでは患者の体格や循環血液量などの詳細な患者プロフィールを十分反映しないため、今回は BW 以外に

様々な体組成因子も共変量候補として検討した。Covariate analysis の結果、CL/F への BSA 導入は最も有意に model 適合性を改善させ ( $\Delta$ -2LL=-20.1), かつ V1/F への BSA 導入 ( $\Delta$ -2LL=-38.1) は LBW の導入 ( $\Delta$ -2LL=-39.1) に次いで大きな改善を示した。また、V1/F および CL/F の両方に同一の共変量を導入して検討した結果、BSA 導入が最も model 適合性を改善させたため、本検討では体組成の共変量として BSA を採用した。実際に BSA は BW と比較して体液量や体脂肪率などで高い相関を示すと報告されているため、<sup>99,100</sup> 脂肪組織に多く分布する CyA の用量調節に BSA を用いることはより合理的であると考えられる。

もし薬物の個体間変動を完全に説明できたのであれば、薬物の個別化療法の劇的に改善される。一般的に個体間変動は個体内変動よりも大きいため、CyA 個体間変動の事前情報は腎移植術後の投与設計向上に大きく貢献するはずである。しかしながら、多くの既知 (CYP3A5 の遺伝子多型など)<sup>92</sup> や未知の要因が関与しているので、実際は術前に個体間変動を予測することは難しい。そこで本検討では、腎移植前における PPK より得られた患者個々の PK parameter もまた術後における CyA PK の共変量候補として評価した。その結果、CL を高く反映する pre-AUC/dose が術後の CyA CL/F の共変量として選択された。

CyA PK は術後経過とともに変化することが知られているが、POD の与える CyA PK への変動に関しては、数点の矛盾した報告が存在する。Irtan らは、腎移植後の POD に伴って CL/F は有意に増加することを報告しており、<sup>93</sup> 対照的に Wu らは、腎臓移植後の POD に伴った F の増加によって CL/F が低下することを報告しており、<sup>91</sup> 最終的なコンセンサスは未だ得られていない。本検討においては腎移植後の POD に伴って CL/F は有意に増加したが、用いた母集団サイズは非常に大きいため、より信頼性の高い結果であると考えられる。本検討で共変量探索を行った結果、POD は Michaelis-Menten 型で CL/F に導入した際に最も有意に model 構造を改善した (Table 3-3, 4)。また、得られた CL/F および CL/F 回復の最大化係数 ( $\theta_{12}$ ) の推定値はそれぞれ 17.1 L/hr および 1.47 であり、これは十分な POD が経過した時の CL/F が 25.1 L/hr であり、pre-CLF とほぼ同程度まで回復することを意味している。また得られた  $\theta_{12}$  の 1/2 となるのに要する期間 ( $\theta_{13}$ ) の推定値は 0.706 day であり、これは腎移植後約 7 日で CL/F が 90% 以上に回復することを示している。以上より、腎移植後の早期において CyA の CL/F は大きく変動するため、術直後はより慎重な CyA 全血液中濃度の



モニタリングを実施すべきであるだろう。ここで、腎機能の指標である BUN および SCr は、POD に伴って Michaelis-Menten 型の改善を示した (data not shown)。また興味深いことに、BUN および SCr は腎移植術施行直前 (BUN,  $53.3 \pm 2.5$  mg/dL; SCr,  $9.46 \pm 0.38$  mg/dL) と比較して POD7 以降より有意差が観察され、CL/F の回復に要する期間と一致した。当然腎機能の改善は腎移植の影響や腎の生着を反映するため、腎機能と CyA の直接的な関係はないものの、腎臓が生着し、腎移植後の患者容体に安定する BUN や SCr の改善に伴って CL/F も回復したと考えられる。また、CyA PK に影響を及ぼす可能性のある術後摂食状況および生活習慣は、当然 POD に従って改善していると考えられるため、それらの数値化は困難であるものの CL/F 改善に影響した可能性もある。この結果は、POD が腎移植後の CyA の用量調節にとって重要な因子であることを示唆している。

今回構築した CyA PPK model は我々の知る限り既報の中で最も多くの全血中 CyA 濃度データを使用して構築した。さらに全患者が単一施設で同じ免疫抑制療法を受け、かつ術前 PK データを含む網羅的解析を実施したものであるため、得られた PPK parameter の信頼性および選択された共変量の妥当性は非常に高いと考える。また AST, BSA, pre-AUC/dose, および POD が CL/F の、BSA が V1/F の、そして DM が Ka の共変量として選択された。本検討で構築した PPK model および選択された共変量は、CyA PK に影響を及ぼす因子に関する有用な情報を提供し、より有効で安全な CyA 免疫抑制療法に大きく寄与するものと期待される。

※本研究は第 36 回日本臨床薬理学会学術総会にて優秀演題賞を受賞した。

## 第二節：同種造血幹細胞移植患者における vancomycin の母集団薬物動態解析

### 3-2-1. 緒言

同種造血幹細胞移植 (allo-HSCT) に伴う宿主免疫無防備状態は好中球減少性感染の危険因子であり、発熱性好中球減少症 (FN) の発症率は 30% に上る。<sup>101</sup> FN の予防は allo-HSCT 患者の生命予後に大きく寄与するため、経験的に広域スペクトルの抗菌薬が予防投与されるほか、<sup>102,103</sup> 近年は vancomycin (VCM) の併用療法が施行されるケースも多い。<sup>104-106</sup>

VCM が十分な有効性を維持し菌の耐性化を抑制するためには TDM が不可欠である。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染時であれば 24 時間の AUC (AUC<sub>24</sub>) と最小発育阻止濃度との比が 400 以上であり、かつ血清中 VCM 濃度が 15-20 µg/mL であることが望ましく、<sup>107,108</sup> その有効域を目標として VCM の用量調節が実施される。VCM 濃度を有効域で維持するためには、その PK 特性の十分な理解が重要である。特に腎機能は VCM の PK における最大の変動要因であり、<sup>109,110</sup> 腎機能を指標とした用量調節が実施されているが、未だ clinical question は多く、血清中濃度コントロールが困難な事例が散見される。

これまでに VCM の至適投与設計を目的とした PPK は多く報告されている。<sup>111-115</sup> TDM における投与設計は、PPK parameter を用いたベイズ推定に基づき実施されることが多いが、ベイズ推定も万能ではなく、特殊集団を対象とした TDM 実施時には推定精度が大きく欠如した事例も多い。実際に HSCT 患者において、VCM 血清中濃度は既報のいずれの PPK parameter を用いても推定が困難であることを報告している。<sup>116</sup> 先端医療センター病院においても VCM を allo-HSCT 患者に投与した際に得られるベイズ推定値と実測値との乖離は大きく、至適投与設計の大きな障壁となっている。当然、allo-HSCT における造血幹細胞の破壊は VCM の血中分布の変動をもたらす PK 変動要因となり得る可能性はあるが、allo-HSCT 施行患者を対象とした VCM の PK に関する情報は少なく、PPK 研究もなされていない。そこで本検討では allo-HSCT 患者に対する VCM 療法の適正化を目的として PPK model を構築した。さらに構築した PPK model を用いて allo-HSCT 患者への VCM の至適投与設計に有用な推奨 VCM 投与方法の構築を試みた。

### 3-2-2. 方法

#### 3-2-2-1. 対象患者

本研究は 2010 年 10 月から 2016 年 6 月の期間に先端医療センター病院で allo-HSCT を施行され、VCM を投与された患者を対象とした後ろ向き研究である。本研究では投与量、正確な採血時間、年齢、性別、BW、Ht、albumin、C-reactive protein (CRP)、total-bilirubin (T-BIL)、BUN、SCr、そして Cockcroft-Gault 式によって算出した CLCr の全てが欠落していない患者 106 名を対象とした。さらに、患者はカルテ上の時系列に従って前 80 名を model development 群、そして後 26 名を external validation 群に分類した。本研究は、先端医療センター病院倫理委員会の承認を得たうえで、ICH 臨床試験実施基準ガイドラインに従って行った。

#### 3-2-2-2. PK study

VCM はいずれも 1 時間かけて静脈内に投与され、また初回投与量は腎機能が正常であれば 1 g/12 hr であった。血液試料は投与直前 ( $C_0$ )、VCM 持続投与 1 時間経過時 ( $C_2$ )、およびその他必要に応じて適宜採取した。投与量は  $C_0$  (target range, 10–20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) および  $C_2$  (target range, 25–40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) となる様に適宜調整した。<sup>117</sup> 血清中 VCM 濃度は Emit® 2000 Vancomycin Assay (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., Newark, DE, USA) にて定量し、定量下限は 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、測定間の誤差は 5%以内であった。

#### 3-2-2-3. PPK modeling

Allo-HSCT 施行後の VCM PK model は Phoenix® NLME™ 7.0 にて検討した。推定アルゴリズムには FOCE-ELS を用い、PK model には 1-および 2-compartment model を検討した。ここで model の妥当性は -2LL および GOF plots にて判断した。また、実測値の個体内変動における誤差 model は、相対誤差 model を、個体間変動には、指数誤差 model を用いた。

#### 3-2-2-4. Covariate analysis

共変量は 3-1-2-5 と同様の方法にて解析した。共変量候補として、性別 (male, 0; female, 1), 年齢, BW, Ht, albumin, CRP, T-BIL, BUN, SCr, および CLCr を用いた。さらに、背景となった血液学的疾患 (acute myelocytic leukemia, acute lymphocytic leukemia, adult T-cell leukemia, myelodysplastic syndrome, and diffuse large B-cell lymphoma) および allo-HSCT の前処置 (myeloablative or reduced-intensity conditioning) も共変量候補とした。共変量構造として、連続変数は direct type もしくは power type, 二変数の場合は category type を検討した。

#### 3-2-2-5. Model validation

全ての model 構造と PPK parameter の妥当性は, CV%,  $\eta$ -shrinkage, GOF plots および bootstrap resampling (1000 組) により検証した。また, 統計学的有意性は -2LL を  $\chi^2$  分布値と比較する尤度比検定で判定した。また, model development 群にて構築した model を external validation 群を用いて外的妥当性を検証し, 実測値に対する偏りおよび精密さはそれぞれ %MPE および %MAPE で評価した。

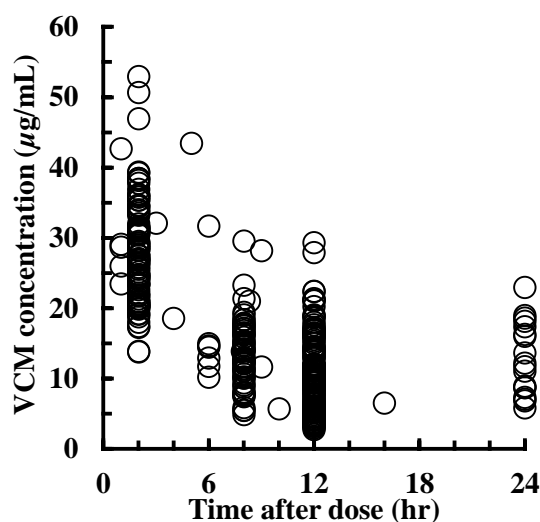
#### 3-2-2-6. Allo-HSCT 患者における VCM dosing nomogram

構築した PPK model より allo-HSCT 患者における VCM dosing nomogram を作製した。Monte Carlo method にて様々な腎機能 (CLCr: <30, 30–45, 45–60, 60–90, 90–120, 120–150, and >150) を有する仮想患者をそれぞれ 10000 人作成し, VCM を 0.25 g の倍数の投与量で, かつ 6, 8, 12, もしくは 24 時間間隔で投与した際の最も有効で安全な投与方法を検討した。ここで, 至適投与方法は定常状態で以下の 3 項目全てを満たす割合の最も高かった方法とした; (i)  $C_0$ : 10–20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,<sup>118-119</sup> (ii)  $C_{\text{max}}$ : <60  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,<sup>117</sup> (iii)  $\text{AUC}_{24}$ : >400  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ .<sup>120</sup> さらに, 典型的な allo-HSCT 患者に対して経験的投与量 (1 g/12 hr) もしくは上記で構築した dosing nomogram に従い VCM を投与した際の定常状態における血清中 VCM 濃度推移の median および 90<sup>th</sup>CI を simulation した。

### 3-2-3 結果

#### 3-2-3-1. 患者データおよび血清中 VCM 濃度推移

解析に用いた患者集団のデータを Table 3-6 に示す. 106 人の患者から合計 333 ポイントの血清中 VCM 濃度データが利用可能であった. また, allo-HSCT の前処置法の人数割合を除いて群間における患者データに有意差は得られなかった. 本母集団の特徴として, 非常に低い Ht および albumin, そして非常に高い CRP および体温 (56 人が  $>38^{\circ}\text{C}$ ) が観察された. また CLCr も正常もしくはそれ以上の高値を示しており, 低値を示す中等度以上の腎機能障害 (CLCr,  $<50\text{ mL/min}$ ) を有する患者は 5 人のみであった. 得られた血清中 VCM 濃度推移を Figure 3-3 に示す. ここで, TDM の目標範囲内に入った割合は  $C_0$  で 54.8% (below the target range, 39.2%; above the target range, 6.0%),  $C_2$  で 59.4% (below the target range, 37.6%; above the target range, 3.0%) であった.



**Figure 3-3.** Plasma vancomycin (VCM) concentration–time profiles in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

**Table 3-6.** Summary of demographic and clinical data of the study population in the model development and external validation groups

| Characteristic                       | Model development group |             | External validation group |              | <i>P</i> value |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------|---------------------------|--------------|----------------|
|                                      | Median / No.            | Range       | Median / No.              | Range        |                |
| Number of patients                   | 80                      |             | 26                        |              |                |
| Male (%)                             | 58.8                    |             | 57.7                      |              | 0.629          |
| Number of observations               | 236                     |             | 97                        |              |                |
| Number of samples per patient        | 3                       | 1 – 10      | 3                         | 2 – 8        | 0.165          |
| Vancomycin daily dose (g)            | 2.4                     | 0.6 – 4.5   | 2.4                       | 0.5 – 4.5    | 0.903          |
| Age (year)                           | 50                      | 17 – 69     | 48                        | 17 – 65      | 0.697          |
| Body weight (kg)                     | 59.5                    | 39.1 – 81.6 | 57.7                      | 42.2 – 104.6 | 0.982          |
| Body mass index (kg/m <sup>2</sup> ) | 21.3                    | 15.8 – 27.6 | 21.3                      | 17.5 – 33.2  | 0.311          |
| Hematocrit (%)                       | 23.9                    | 17.6 – 41.5 | 24.6                      | 18.0 – 36.3  | 0.506          |
| Albumin (g/dL)                       | 3.1                     | 1.8 – 4.4   | 2.7                       | 2.3 – 3.6    | 0.201          |
| C-reactive protein (mg/dL)           | 4.6                     | 0.3 – 29.2  | 4.2                       | 0.7 – 16.2   | 0.492          |
| Total bilirubin (mg/dL)              | 0.5                     | 0.1 – 3.7   | 0.6                       | 0.2 – 2.4    | 0.666          |
| Blood urea nitrogen (mg/dL)          | 15                      | 5 – 49      | 7                         | 14 – 41      | 0.179          |
| Serum creatinine (mg/dL)             | 0.62                    | 0.20 – 1.65 | 0.58                      | 0.27 – 1.83  | 0.348          |

|                                 |     |          |     |          |        |
|---------------------------------|-----|----------|-----|----------|--------|
| Creatinine clearance (mL/min)   | 118 | 37 – 293 | 110 | 47 – 280 | 0.533  |
| Conditioning of transplantation |     |          |     |          |        |
| Myeloablative conditioning      | 60  |          | 16  |          | 0.003  |
| Reduced-intensity conditioning  | 20  |          | 10  |          |        |
| Hematologic disease             |     |          |     |          |        |
| Acute myelocytic leukemia       | 31  |          | 14  |          | 0.6436 |
| Acute lymphocytic leukemia      | 13  |          | 5   |          |        |
| Myelodysplastic syndrome        | 6   |          | 2   |          |        |
| Adult T-cell leukemia           | 5   |          | 1   |          |        |
| Diffuse large B-cell lymphoma   | 4   |          | 2   |          |        |
| Chronic myelocytic leukemia     | 4   |          | 0   |          |        |
| Aplastic anemia                 | 3   |          | 0   |          |        |
| Other                           | 14  |          | 2   |          |        |

---

Differences in patient characteristics between the model development and external validation groups were analyzed by Mann–Whitney *U*-test or chi-square test, as appropriate. Creatinine clearance was calculated by the Cockcroft–Gault equation.

### 3-2-3-2. Final PPK model of VCM

尤度比検定および GOF plots の結果, allo-HSCT 施行患者に VCM を投与した場合, 2-compartment model が最も適切に血清中濃度推移に適合した。また, CLD2 に個体間変動を導入した場合のみ model 適合性を有意に改善しなかったため本検討では CLD2 の個体間変動を除外した。共変量を網羅的に探索した結果および final PPK model から得られた parameter を Table 3-7 に示す。その結果 CLCr が CL の ( $\Delta$ -2LL, -54.9), BW が V1 の ( $\Delta$ -2LL, -8.9) 共変量として選択された。

### 3-2-3-3. Validation of the PPK model

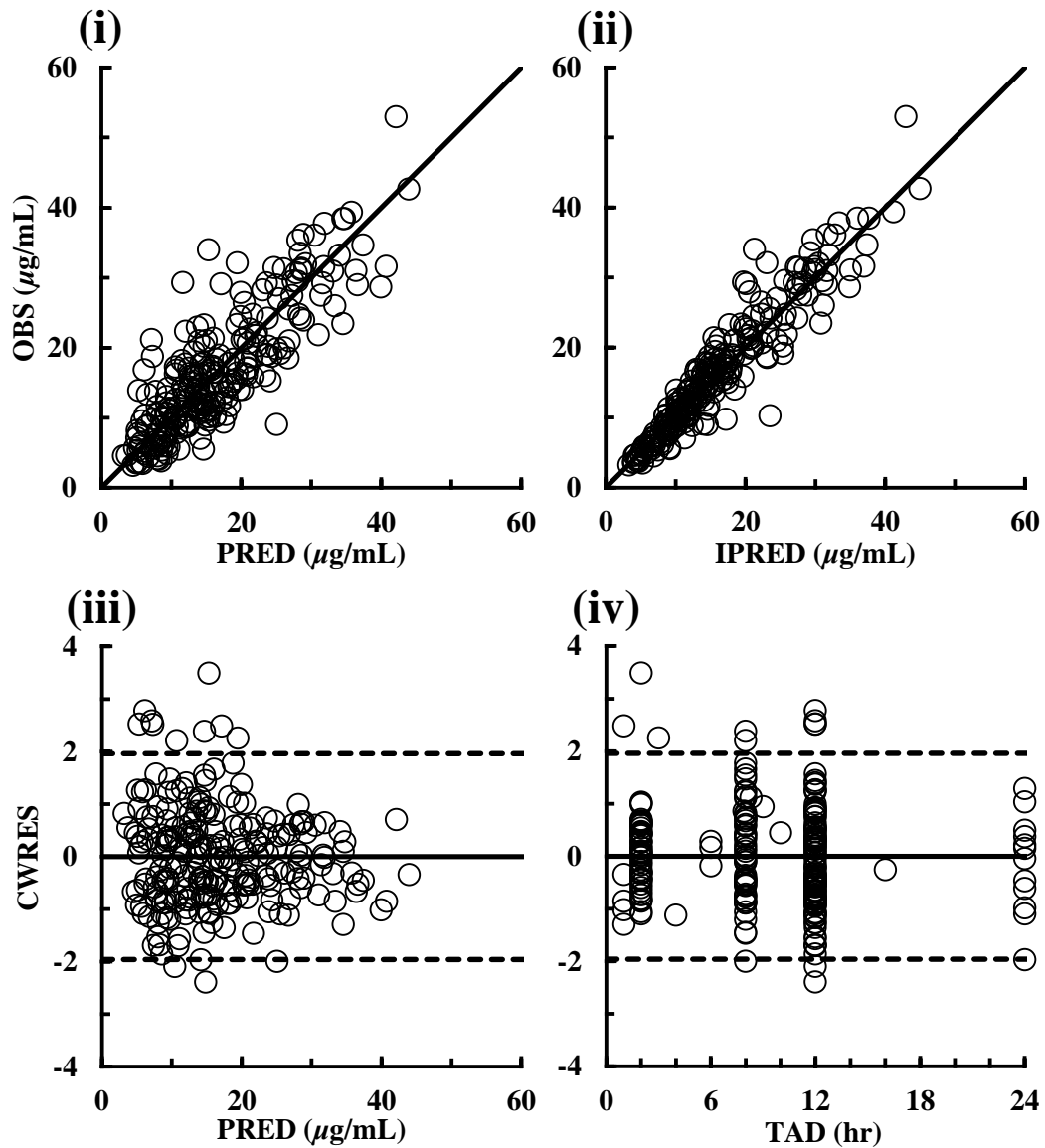
Final PPK model より得られた parameter の CV%, および bootstrap resampling の結果を Table 3-7 に, GOF plots の結果を Figure 3-4 にそれぞれ示す。PPK parameter の CV% および  $\eta$ -shrinkage の範囲はそれぞれ 2.08–16.2%, 16.8–42.8% であり, 全ての PPK parameter は bootstrap resampling より得られた 95<sup>th</sup>CI に収まり, median と非常に近似していた。次に, OBS vs. PRED および OBS vs. IPRED plots は, 観測値が  $y=x$  上に密集しており, いずれの濃度域においても対称的な分布を示したことから final PPK model の良好な予測性が確認され, また CWRES vs. TAD および CWRES vs. PRED plots は, CWRES に一定の傾向がなく CWRES=0 周囲にランダムに散在したことから, final PPK model の構造および誤差 model の妥当性が示された。さらに, final PPK model を用いた external validation の結果, 推定濃度に対する観測値の偏りおよび精密さは許容範囲内であり (%MPE, 0.7%; %MAPE, 28.4%), いずれの濃度域においても  $y=x$  上で対称的な分布を示したことから ( $r=0.863$ ), final PPK model の良好な頑健性と推定精度が確認された。



**Table 3-7.** The final population pharmacokinetic parameters and bootstrap validation of vancomycin in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation

| Model equation                     | Parameter  | (Unit)   | Original dataset   |        | Bootstrap replication |   |  |  | Residual <sup>a</sup><br>(%) |
|------------------------------------|------------|----------|--------------------|--------|-----------------------|---|--|--|------------------------------|
|                                    |            |          | Estimate           | CV (%) | Median                | 2.5th – 97.5th percentile               |  |  |                              |
| Population mean                    |            |          |                    |        |                       |   |  |  |                              |
| V1 = $\theta_1 \times \text{BW}$   | $\theta_1$ | (mL/kg)  | 588                | 7.41   | 586                   | 382 – 711                               |  |  | 0.29                         |
| CL = $\theta_2 \times \text{CLCr}$ | $\theta_2$ | (–)      | 0.627              | 2.08   | 0.627                 | 0.582 – 0.672                           |  |  | 0.13                         |
| V2 = $\theta_3$                    | $\theta_3$ | (mL)     | $7.29 \times 10^4$ | 7.18   | $7.34 \times 10^4$    | $4.85 \times 10^4$ – $1.08 \times 10^5$ |  |  | -0.66                        |
| CLD2 = $\theta_4$                  | $\theta_4$ | (mL/min) | 90.2               | 15.9   | 90.2                  | 41.8 – 158.0                            |  |  | -0.30                        |
| Internal-individual variability    |            |          |                    |        |                       |   |  |  |                              |
|                                    | V1         | (%)      | 14.2               | 12.7   | 13.1                  | 1.3 – 28.3                              |  |  | 7.91                         |
|                                    | CL         | (%)      | 23.3               | 15.5   | 23.3                  | 18.2 – 28.1                             |  |  | -0.18                        |
|                                    | V2         | (%)      | 63.1               | 16.2   | 63.1                  | 33.5 – 84.5                             |  |  | -0.07                        |
| Residual variability               |            |          |                    |        |                       |   |  |  |                              |
|                                    | $\sigma$   | (%)      | 20.7               | 6.84   | 20.1                  | 16.7 – 23.6                             |  |  | 2.68                         |

V1 and V2: distribution volume of central and peripheral compartment (mL), CL: clearance (mL/min), CLD2: distribution clearance (mL/min), BW: total body weight (kg), CLCr: Cockcroft–Gault equation-based creatinine clearance (mL/min),  $\theta$ : population mean,  $\sigma$ : associated variance of the residual error variable ( $\epsilon$ ). <sup>a</sup>Residual (%)=(estimate value–bootstrap median values)/estimate value  $\times$  100.



**Figure 3-4.** Goodness-of-fit plots for a population pharmacokinetic model: (i), PRED vs. OBS; (ii), IPRED vs. OBS; (iii), TAD vs. CWRES; and (iv), PRED vs. CWRES. Solid lines (i, ii) represent  $y=x$  and (iii, iv) zero conditional residuals; dashed lines (iii, iv) represent  $\pm 2$  SD. CWRES, conditional weighted residuals; IPRED, individual predictions; OBS, observations; PRED, population predictions; TAD, time after dose.

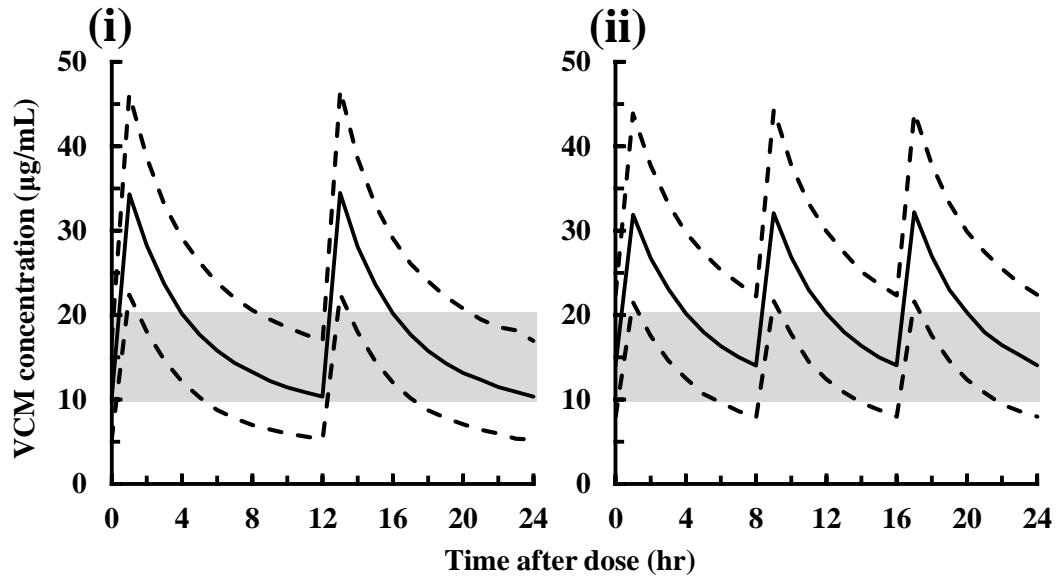
### 3-2-3-4. Allo-HSCT 患者における VCM dosing nomogram

Allo-HSCT に対する VCM dosing nomogram を Table 3-8 に示す. CLCr の変動は VCM の推奨投与量および推奨投与間隔に大きな影響を与えたが, 一方で同様に V1 の共変量として選択された BW は, 40–80 kg の範囲内では CLCr が同一ならば同一の投与方法が選択されたため割愛した. また, 典型的な allo-HSCT 患者 (BW, 59.5 kg; CLCr, 118 mL/min) に対して VCM を経験的な投与量 (1 g/12 hr) もしくは構築した推奨 VCM 投与方法に従って投与した際の血清中濃度推移を Figure 3-5 に示す. 経験則に従い投与したと仮定した場合,  $C_0$  の中央値は 10.4  $\mu\text{g/mL}$  と低く, 項目全てを満たした割合は 53%であったのに対し, VCM dosing nomogram に従うことで,  $C_0$  の中央値は 14.0  $\mu\text{g/mL}$ , 項目全てを満たした割合は 68%と大きく改善した.

**Table 3-8.** Vancomycin dosing nomogram in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation

| CLCr (mL/min) | Dosage (g) | Dosing Interval (hr) |
|---------------|------------|----------------------|
| > 150         | 1.25       | 8                    |
| 120 – 150     | 1.00       | 8                    |
| 90 – 120      | 0.75       | 8                    |
| 60 – 90       | 0.75       | 12                   |
| 45 – 60       | 1.00       | 24                   |
| 30 – 45       | 0.75       | 24                   |
| < 30          | 0.50       | 24                   |

CLCr, Cockcroft–Gault equation-based creatinine clearance.



**Figure 3-5.** Simulated median (solid line) and 90<sup>th</sup> percentile confidence intervals (dashed lines) of vancomycin (VCM) concentration–time profile at a steady state in typical patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (59.5 kg with CLCr of 118 mL/min). Shaded region represents the target range of C<sub>0</sub> (10–20 µg/mL). (i): complied with an empirical dosage (1 g/12 hr), (ii): complied with the developed VCM dosing nomogram (0.75 g/8 hr).

### 3-2-4. 考察

血清中 VCM 濃度推移の個体間・個体内変動の主な原因は腎機能の変動であるが、種々の特殊集団においても VCM の PK は変化する。<sup>112,113,121,122</sup> 実際に先端医療センター病院の allo-HSCT 患者における血清中 VCM 濃度は上昇しにくく、既報の parameter を用いたベイズ推定値も過大評価する傾向にあるため、allo-HSCT 患者において VCM の PK が変動していることは明らかである。しかし、allo-HSCT 患者に VCM を投与した際の PK 変動に関する既報は少ない。本研究は allo-HSCT 患者の VCM 投与時における最初の PPK 研究である。

Allo-HSCT 患者においても他の多くの報告と同様に 2-compartment model が採用され、また網羅的解析の結果 BW が V1 の、CLCr が CL の共変量として選択された。一方で、背景となった血液学的疾患および allo-HSCT の前処置はいずれも VCM PK に影響を及ぼさなかった。また、CLCr と比較して BW の VCM PK に及ぼす影響は小さく、少なくとも 40–80 kg の範囲内であれば VCM dosing nomogram の決定には関与しなかった。ゆえに、原疾患や前処置による投与設計を考慮する必要は無く、allo-HSCT 患者においてもまた CLCr のみを用いた投与設計で問題なく有用であることが示された。

本検討で得られた V1 および V2 はそれぞれ 588 (mL/kg) および  $7.29 \times 10^4$  (mL) と、既報と比較して 2 倍程度高値を示した。<sup>111,112</sup> これまでに VCM は悪性腫瘍や炎症性疾患の罹患時において Vd が増大することは知られている。Yamamoto らは healthy volunteer と比較して pneumonia 患者で V1 が約 3.5 倍に、V2 が約 2 倍に上昇を、<sup>112</sup> Medellin-Garibay らは trauma 患者で非常に大きな V1 (740 mL/kg,  $\leq 65$  years; 1070 mL/kg,  $>65$  years) および V2 (5860 mL/kg) を報告している。<sup>113</sup> さらに FN 患者は VCM 等の抗菌薬の Vd が増大することでより多い投与量を必要とすると報告されている。<sup>123,124</sup> これらのメカニズムには未解明な点も多いが、炎症による血管透過性の亢進が影響すると考えられている。<sup>125</sup> 本検討の母集団は allo-HSCT 後の CRP も高く FN を併発しているタイミングで VCM を投与されているため、上記と同様のメカニズムで V1 および V2 が増大したと考えられる。また、この V1 および V2 の増大が allo-HSCT 患者に対して経験則に従って VCM を投与した際の上昇しにくい血清中濃度の原因であると考えられる。実際に経験則に基づいた方法を Yasuhara らの構築した PPK model に当てはめると、<sup>111</sup> 定常状態における  $C_0$  は高精

度に治療域内に収まるのに対し (median: 16.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), allo-HSCT 患者に経験則に従って VCM を投与した際の推定  $C_0$  の median は 10.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  と推奨  $C_0$  レンジの下限付近であった。ゆえに, allo-HSCT 患者の VCM TDM には, 患者特性に特化した PPK parameter を用いる必要があるであろう。

本研究で推定された CL は  $0.627 \times \text{CLCr}$  と既報と比較して僅かに低値を示した。<sup>111,112,115</sup> Allo-HSCT は低 SCr およびそれに伴う高 CLCr が報告されており,<sup>126</sup> 加えて本検討では非常に低い Ht も観察された。この低 Ht 値は allo-HSCT の前処置に伴う造血幹細胞の破壊が原因である。一般的に血球成分量が低下すると循環を確保するために細胞外液が代償的に血中に移行するが, この機構が血清分画に分布する Cr の濃度を低下させた可能性がある。実際に血清過多や過剰輸液が SCr を希釈し, 急性腎毒性の重症度をマスクすることは報告されている。<sup>127</sup> ゆえに SCr は造血幹細胞の破壊に伴う増大した血清分画で希釈されたのであろう。また, Cockcroft–Gault equation は Ht の低下に伴う Cr の希釈を想定していないため, allo-HSCT 患者の CLCr は過大評価される。当然他の患者集団より構築された PPK model および過大評価された CLCr に基づく VCM の推定値と実測値との乖離は大きくなるであろう。しかし, 本検討では過大評価した CLCr を用いて PPK model を構築したため, CLCr の過大評価による投与量補正は不要である。つまり, 過大評価された CLCr による腎機能評価と VCM の投与補正は別物と考える必要がある。さらに, この PPK 解析を基に構築した VCM dosing nomogram を適用することで, 典型的な allo-HSCT 患者の血清中濃度は概ね良好にコントロールされた (Figure 3-5)。よって構築した nomogram の遵守は, allo-HSCT 患者における良好な血清中 VCM 濃度のコントロールを可能にするであろう。

本検討では VCM の PPK model を構築することで allo-HSCT 患者における V1 および V2 の増大を明らかにした。また, allo-HSCT の前処置に伴う造血幹細胞の破壊 (低 Ht 値) が原因で SCr が希釈され, Cockcroft–Gault equation-based CLCr を過大評価する可能性を示唆した。これらの PK 変動を加味して構築した PPK model および model より推定される VCM dosing nomogram は, 現行の経験的投与で不良である血清中 VCM 濃度コントロールを大きく改善するであろう。本結果は allo-HSCT 患者への VCM 投与最適化に繋がる有用な情報を提供するものと考えられる。

## 総括

本研究では M&S・PMx 手法を用いた検討を行うことで、以下の結果を得た。

### 第一章

本検討では、第一節にて CDDP 投与時の PK と投与制限因子である腎毒性 (TD) との関連性を連結させた PPK/TD model を構築し、simulation を行うことで、CDDP 誘発性腎毒性の抑制するためには、動物モデルにおいて血漿中遊離形 CDDP 濃度が約 1.0  $\mu\text{g/mL}$  を超えない投与設計が望ましいことが示された。また、第二節では臨床で問題である CDDP 反復投与時における CDDP-sCKI の程度は CDDP の投与を重ねるに従い一貫して増加し、その原因として Pt の腎蓄積とそれに伴う腎機能の低下が関与することが示唆された。CDDP-sCKI の増悪度は同一用法・用量である場合ほぼ一定であったため、CDDP 投与時の任意の cycle における CDDP-sCKI 増悪度の予測可能性が示した。さらに、第三節では腎毒性発現抑制のため併用される mannitol は、尿からの CDDP 再吸収過程の阻害による Pt の腎蓄積抑制に起因した薬-薬相互作用である可能性が示唆された。これらは CDDP を有するがん化学療法施行時の腎毒性発現の予測および抑制に大きく貢献し得る基礎的エビデンスとなるであろう。

### 第二章

本検討では、TG の生体内運命を考慮した population semi-physiological kinetic model を構築することで、LE 投与速度と TG 濃度との dose-response の関連性を明らかにし、栄養素である TG も速度論的解釈の適応が可能であることを実証した。さらに、model に飽和を表す parameter である  $V_{\max}$  を導入することで LE の最大投与速度の推定 (Wistar 系雄性ラットの場合は 0.619 g/kg/hr) が可能となり、simulation (external validation) の結果も良好であった。これらは、投与に長時間を要する LE の欠点に対して、投与時間短縮を含む至適投与速度を決定し、さらに薬物や病態との相互作用を検討するうえでの有用な情報を提供した。

### 第三章

本検討では、臨床現場で患者より得られた血中濃度データ等を用いて、最適な PPK model を構築し、PK に変動を及ぼす背景因子の探索を試みた。第一節では、腎移植を施行され、かつ術前の PK 情報を得た患者における CyA の PPK を行い、AST, BSA, pre-AUC/dose および POD が CL/F の、BSA が V1/F の、そして DM が Ka の共変量として選択された。特に本母集団において POD の経過が最も大きな変動因子であり、CL/F が腎移植前の値にまで回復するためには腎移植後約 7 日間を要することが示された。この様に、腎移植後の早期において CyA の CL/F は大きく変動するため、術直後はより慎重な CyA 全血液中濃度のモニタリングを実施すべきであるだろう。また第二節では、allo-HSCT を施行された患者における VCM の PPK を行い、allo-HSCT 患者の V1 および V2 の大きな増加が観察され、さらに allo-HSCT の前処置に伴う造血幹細胞の破壊（低 Ht 値）が原因で SCr が希釈され、Cockcroft-Gault equation-based CLCr を過大評価する可能性を示唆した。また本検討では構築した model および parameter を用いた simulation に基づき VCM dosing nomogram を作製した。Allo-HSCT 患者に対して VCM を nomogram に従い投与した際の血中濃度推移の simulation は、既存の model を用いた場合と比較して大きく改善し、目的とする血中濃度域に精度よく収まった。本研究により構築した model および nomogram は実臨床における血中濃度推移の推定精度を大きく改善し、治療の最適化に繋がる有用な情報を提供すると考えられる。

2011 年に一秒当たりの処理能力が 1 京回を超えた次世代スーパーコンピュータ“京”(富士通)が開発されて 6 年、演算速度は既に 10 京回/秒を超えている(神威・太湖之光)。そして 2032 年にその速度は 10 垓 ( $10^{21}$ ) に達するとの目算もあり、それに伴い、現行の薬剤師業務の多くがビッグデータを背景とした人工知能にとって代わられると予測されている。その大きな変革の中で薬剤師は、ヒューマンタッチな在宅医療業務の充実を図ると共に、PMx や M&S といった手法を用いた医薬品情報の構築、およびこれらの結果の解釈スキルを有することが今後益々必要とされるであろう。本研究では M&S が臨床現場での clinical question を解決し、エビデンスを構築するための有用なツールとなることを示した。本研究の成果は、本分野への今後の発展に寄与し、より有効で安全な医療の個別化の実現へと貢献すると信ずる。



## 主論文

本研究の一部は、以下の学術誌に掲載された。

### 第一章: M&S を用いた抗がん剤 **cisplatin** 適正使用に関する研究

1. Fukushima K, Okada A, Sasaki K, Kishimoto S, Fukushima S, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Shirai T, Terauchi R, Kubo T, Sugioka N. Population pharmacokinetic-toxicodynamic modeling and simulation of cisplatin-induced acute renal injury in rats. *J Pharm Sci*. 2016;**105**:324–32.
2. Okada A, Fukushima K, Fujita M, Nakanishi M, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Sugioka N. Alterations of pharmacokinetics and acute/sub-chronic nephrotoxicity in repeated cisplatin administration. *Biol Pharm Bull*. 2017;**40**:1948–55.
3. Fukushima K, Okada A, Oe H, Hirasaki M, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Sugioka N. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of cisplatin with hydration and mannitol diuresis: the contribution of urine cisplatin concentration to nephrotoxicity. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2017. doi: 10.1007/s13318-017-0436-8.

### 第二章: M&S を用いた脂肪乳剤適正使用に関する研究

4. Okada A, Hirano M, Tanioka M, Tsujimoto T, Koyama H, Nishimura A, Shibata N, Fukushima K, Sugioka N. Population semiphysiologic kinetic modeling and simulation of plasma triglyceride levels after soybean oil-based intravenous lipid emulsion administration in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2017;**41**:1356–65.

### 第三章：母集団薬物動態法を用いた医薬品適正使用に関する研究

5. Okada A, Ushigome T, Kanamori M, Morikochi A, Kasai H, Kosaka M, Kokuhu T, Nishimura A, Shibata N, Fukushima K, Yoshimura N, Sugioka N. Population pharmacokinetics of cyclosporine in renal transplant patients: Comprehensive analysis in a single-center. *Eur J Clin Pharmacol*. 2017;**73**:1111–9.
6. Okada A, Kariya M, Irie K, Okada Y, Hiramoto N, Hashimoto H, Kajioka R, Maruyama C, Kasai H, Hamori M, Nishimura A, Shibata N, Fukushima K, Sugioka N. Population pharmacokinetics of vancomycin in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Pharmacol*. [in press]

#### 参考論文

1. Fukushima K, Uchimura Y, Okada A, Sugioka N. Evaluation of efficacy and safety of artesunate and its active metabolite, dihydroartemisinin, in streptozotocin-induced diabetes rats by blood pharmacokinetic analysis. *Interact Med Chem*. 2014;**2**:1.
2. 岡田 章, 松本 結希, 山越 達也, 西川 誠, 福島 恵造, 杉岡 信幸. 吸入ステロイド薬の副作用である嗄声発現の要因解析. *医療薬学*. 2014;**40**:716–25.
3. Fukushima K, Okada A, Hayashi Y, Ichikawa H, Nishimura A, Shibata N, Sugioka N. Enhanced oral bioavailability of vancomycin in rats treated with long-term parenteral nutrition. *Springerplus*. 2015;**22**:4:442.

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり終始御懇切なる御指導と御鞭撻を賜り、また、本研究の実施にあたり適切な御教示を賜りました神戸学院大学臨床薬物動態学研究室、杉岡信幸 教授ならびに福島恵造 助教に深甚なる謝意を表します。

本論文を作成するにあたり、御校閲ならびに御助言を賜りました神戸学院大学薬物送達システム学研究室、武田真莉子 教授、神戸市立医療センター中央市民病院、橋田亨 薬剤部長・連携教授に深甚なる謝意を表します。

本研究を遂行するにあたり、有益な御助言、御協力をいただいた神戸学院大学代謝栄養学研究室、辻本貴江 講師、同志社女子大学生物薬剤学研究室、芝田信人 教授、西村亜佐子 助教ならびに羽森真美 助教、サターラ合同会社 ジャパンマネージャーコンサルティングサービス、笠井英史 先生に心よりお礼申し上げます。

本研究を実施するにあたり、患者情報の提供など多大なるご支援をいただいた京都府立医科大学附属病院医学部移植一般外科、吉村了勇 先生ならびに牛込秀隆 先生、同・薬剤部、小阪直史 先生ならびに小山光 先生、京都鞍馬口医療センター薬剤科、国府孝敏 先生、先端医療センター病院血液内科、橋本尚子 先生ならびに平本展大 先生、同・薬剤科、岡田裕 先生、入江慶 先生ならびに刈谷美里 先生に心よりお礼申し上げます。

また、本研究の実施には日本薬学会長井記念薬学研究奨励金からの御支援を賜りましたこと心より感謝申し上げます。

末筆ながら、本研究を実施するにあたり、終始便宜を図っていただいた神戸学院大学臨床薬物動態学研究室内の学生ならびに卒業生の皆様方に心より感謝いたします。

## 引用文献

1. 日本化薬株式会社, ランダ注®, 医薬品インタビューフォーム, p30-32 (2013年10月 改訂第17版).
2. Campbell AB, Kalman SM, Jacobs C. *Cancer Treat Rep.* 1983;**67**:169-72.
3. Santoso JT, Lucci JA 3rd, Coleman RL, Schafer I, Hannigan EV. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2003;**52**:13-8.
4. Horinouchi H, Kubota K, Itani H, *et al.* *Jpn J Clin Oncol.* 2013;**43**:1105-9.
5. Nagai N, Kinoshita M, Ogata H, *et al.* *Cancer Chemother Pharmacol.* 1996;**39**:131-7.
6. Nagai N, Ogata H. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1997;**40**:11-8.
7. Kawai Y, Taniuchi S, Okahara S, Nakamura M, Gemba M. *Biol Pharm Bull.* 2005;**28**:1385-8.
8. Cole WC, Wolf W. *Chem Biol Interact.* 1980;**30**:223-35.
9. Hanada K, Ninomiya K, Ogata H. *J Pharm Pharmacol.* 2000;**52**:1345-53.
10. Minakata K, Nozawa H, Okamoto N, Suzuki O. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006;**832**:286-91.
11. Minakata K, Nozawa H, Suzuki M, *et al.* *Forensic Toxicol.* 2007;**25**:284-7.
12. Dodder NG, Tai SS, Sniegoski LT, Zhang NF, Welch MJ. *Clin Chem.* 2007;**53**:1694-9.
13. Chen J, Lu Q, Balthazar JP. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2007;**34**:829-47.
14. Rougier F, Claude D, Maurin M, *et al.* *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;**47**:1010-6.
15. Ulu N, Mulder GM, Vavrinc P, *et al.* *J Pharmacol Exp Ther.* 2013;**345**:393-403.
16. Studena S, Martinkova J, Slizova D, *et al.* *Biol Pharm Bull.* 2012;**35**:1703-10.
17. Hu L, Maslanik T, Zerebeckyj M, Plato CF. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2012;**65**:75-82.
18. Parke J, Holford NH, Charles BG. *Comput Methods Programs Biomed.* 1999;**59**:19-29.
19. Chen R, Li J, Hu WW, *et al.* *Cancer Chemother Pharmacol.* 2013;**72**:1111-23.
20. Urien S, Lokiec F. *Br J Clin Pharmacol.* 2004;**57**:756-63.

21. Preiss R, Brovtsyn VK, Perevodchikova NI, *et al.* *Eur J Clin Pharmacol.* 1988;**34**:139–44.
22. Hanada K, Suda M, Kanai N, Ogata H. *Pharm Res.* 2010;**27**:1893–9.
23. Bragado P, Armesilla A, Silva A, Porras A. *Apoptosis.* 2007;**12**:1733–42.
24. Miyaji T, Kato A, Yasuda H, Fujigaki Y, Hishida A. *J Am Soc Nephrol.* 2001;**12**:900–8.
25. Kawai Y, Nakao T, Kunimura N, Kohda Y, Gemba M. *J Pharmacol Sci.* 2006;**100**:65–72.
26. Ramesh G, Kimball SR, Jefferson LS, Reeves WB. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;**292**:812–9.
27. Faubel S, Lewis EC, Reznikov L, *et al.* *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;**322**:8–15.
28. Katsube T, Wajima T, Yamano Y, Yano Y. *J Pharm Sci.* 2014;**103**:1288–97.
29. Har-Even R, Stepensky D, Britzi M, *et al.* *J Clin Pharmacol.* 2014;**54**:1023–30.
30. Hanada K, Odaka K, Kudo A, Ogata H. *Pharm Res.* 1999;**16**:1589–95.
31. Faig J, Haughton M, Taylor RC, *et al.* *Am J Clin Oncol.* 2016; doi:10.1097/COC.0000000000000301.
32. Latcha S, Jaimes EA, Patil S, *et al.* *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016;**11**:1173–9.
33. Fukushima K, Okada A, Sasaki K, *et al.* *J Pharm Sci.* 2016;**105**:324–32.
34. Mizushima Y, Nagahama H, Yokoyama A, Morikage T, Yano S. *Tohoku J Exp Med.* 1987;**151**:129–35.
35. Martinez G, Costantino G, Clementi A, *et al.* *Exp Toxicol Pathol.* 2009;**61**:183–8.
36. Guinee DG Jr, van Zee B, Houghton DC. *Cancer.* 1993;**71**:4050–4.
37. Khwaja A. *Nephron Clin Pract.* 2012;**120**:c179–84.
38. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, *et al.* *Kidney Int.* 2005;**67**:2089–100.
39. Yamate J, Sato K, Ide M, *et al.* *Vet Pathol.* 2002;**39**:322–33.
40. González R, Romay C, Borrego A, *et al.* *Mediators Inflamm.* 2005;**2005**:139–143.
41. Nadasdy T, Laszik Z, Blick KE, Johnson LD, Silva FG. *J Am Soc Nephrol.* 1994;**4**:2032–9.
42. Thomasova D, Anders HJ. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;**30**:1622–30.
43. Devarajan P, Tarabishi R, Mishra J, *et al.* *Anticancer Res.* 2004;**24**:2193–200.

44. Takahashi A, Kimura T, Takabatake Y, *et al.* *Am J Pathol.* 2015;**180**:517–25.
45. Yonezawa A, Masuda S, Nishihara K, *et al.* *Biochem Pharmacol.* 2005;**70**:1823–31.
46. Klein J, Bentur Y, Cheung D, Moselhy G, Koren G. *Clin Invest Med.* 1991;**14**:388–94.
47. Frick GA, Ballentine R, Driever CW, Kramer WG. *Cancer Treat Rep.* 1979;**63**:13–6.
48. Daugaard G, Holstein-Rathlou NH, Leyssac PP. *J Pharmacol Exp Ther.* 1988;**244**:1081–5.
49. Miura K, Goldstein RS, Pasino DA, Hook JB. *Toxicology.* 1987;**44**:147–58.
50. Franke RM, Kosloske AM, Lancaster CS, *et al.* *Clin Cancer Res.* 2010;**16**:4198–206.
51. Nakamura T, Yonezawa A, Hashimoto S, Katsura T, Inui K. *Biochem Pharmacol.* 2010;**80**:1762–7.
52. Endo T, Kimura O, Sakata M. *Toxicology.* 2000;**146**:187–95.
53. Gately DP, Howell SB. *Br J Cancer.* 1993;**67**:1171–6.
54. Dave RA, Morris ME. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2015;**42**:497–513.
55. Sobrado J, Moldawer LL, Pomposelli JJ. *Am J Clin Nutr.* 1985;**42**:855–63.
56. Wanten GJ, Calder PC. *Am J Clin Nutr.* 2007;**85**:1171–84.
57. Duerksen DR, Papineau N. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2004;**28**:30–3.
58. Hojsak I, Kolaček S. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2014;**38**:119–21.
59. Haber LM, Hawkins EP, Seilheimer DK, Saleem A. *Am J Clin Pathol.* 1988;**90**:223–7.
60. Iriyama K, Tonouchi H, Azuma T, Suzuki H, Carpentier YA. *Nutrition.* 1991;**7**:355–7.
61. Hamann P, Dargan PI, Parbat N, Ovaska H, Wood DM. *Emerg Med J.* 2010;**27**:590–2.
62. Christian MR, Pallasch EM, Wahl M, Mycyk MB. *J Med Toxicol.* 2013;**9**:231–4.
63. Heinonen JA, Litonius E, Pitkänen M, Rosenberg PH. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2015;**59**:1032–7.
64. Kollef MH, McCormack MT, Caras WE, Reddy VV, Bacon D. *Ann Intern Med.* 1990;**112**:545–6.
65. Hultin M, Carneheim C, Rosenqvist K, Olivecrona T. *J Lipid Res.* 1995;**36**:2174–84.
66. Crandell DE, Weinberg GL. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2009;**19**:181–6.
67. DeGroot WD. *Can Vet J.* 2014;**55**:1253–4.

68. Havel RJ, Shore VG, Shore B, Bier DM. *Circ Res*. 1970;**27**:595–600.
69. LaRosa JC, Levy RI, Herbert P, Lux SE, Fredrickson DS. *Biochem Biophys Res Commun*. 1970;**41**:57–62.
70. Rohlmann A, Gotthardt M, Hammer RE, Herz J. *J Clin Invest*. 1998;**101**:689–95.
71. Hultin M, Savonen R, Chevreuril O, Olivecrona T. *J Lipid Res*. 2013;**54**:2595–605.
72. Komenami N, Yamamoto Y, Miyoshi M. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1995;**41**:395–407.
73. Tsutsumi K, Inoue Y, Kondo Y. *Biol Pharm Bull*. 2002;**25**:1360–3.
74. Carlson LA, Hallberg D. *Acta Physiol Scand*. 1963;**59**:52–61.
75. Iriyama K. *Surg Today*. 1996;**26**:673–8.
76. Siuta-Mangano P, Janero DR, Lane MD. *J Biol Chem*. 1982;**257**:11463–7.
77. Wang Y, Gusarova V, Banfi S, et al. *J Lipid Res*. 2015;**56**:1296–307.
78. Windmueller HG, Spaeth AE. *J Lipid Res*. 1985;**26**:70–81.
79. Frick F, Lindén D, Améen C, et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;**283**:E1023–31.
80. Oschry Y, Eisenberg S. *J Lipid Res*. 1982;**23**:1099–106.
81. Dallinga-Thie GM, Groot PH, van Tol A. *J Lipid Res*. 1985;**26**:970–6.
82. Ginsberg HN, Le NA, Goldberg IJ, et al. *J Clin Invest*. 1986;**78**:1287–95.
83. Kahan BD, Grevel J. *Transplantation*. 1988;**46**:631–44.
84. Burke JF Jr, Pirsch JD, Ramos EL, et al. *N Engl J Med*. 1994;**331**:358–63.
85. Yee GC, Self SG, McGuire TR, et al. *N Engl J Med*. 1988;**319**:65–70.
86. Fahr A. *Clin Pharmacokinet*. 1993;**24**:472–95.
87. Wacke R, Rohde B, Engel G, et al. *Eur J Clin Pharmacol*. 2000;**56**:43–8.
88. Billaud EM. *Transplantation*. 2005;**80**:542.
89. Knight SR, Morris PJ. *Transplantation*. 2007;**83**:1525–35.
90. Han K, Pillai VC, Venkataramanan R. *AAPS J*. 2013;**15**:901–12.
91. Wu KH, Cui YM, Guo JF, et al. *Drug Metab Dispos*. 2005;**33**:1268–75.
92. Chen B, Zhang W, Gu Z, et al. *Eur J Clin Pharmacol*. 2011;**67**:601–12.
93. Irtan S, Saint-Marcoux F, Rousseau A, et al. *Ther Drug Monit*. 2007;**29**:96–102.
94. Yanaga Y, Awai K, Nakaura T, et al. *Am J Roentgenol*. 2009;**192**:1071–8.
95. Du Bois D, Du Bois EF. *Nutrition*. 1989;**5**:303–11.

96. Nishi Y. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 2001;**118**:107–15.
97. Maurer G. *Transplant Proc*. 1985;**7**:19–26.
98. Nawa A, Fujita-Hamabe W, Tokuyama S. *Life Sci*. 2011;**89**:834–8.
99. Halliday D, Hesp R, Stalley SF, *et al*. *Int J Obes*. 1979;**3**:1–6.
100. Nawaratne S, Brien JE, Seeman E, *et al*. *Br J Clin Pharmacol*. 1998;**46**:447–52.
101. Klastersky J, Ameye L, Maertens J, *et al*. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;**Suppl 1**:S51-9.
102. Paul M, Borok S, Fraser A, Vidal L, Leibovici L. *J Antimicrob Chemother*. 2005;**55**:436–44.
103. Yeshurun M, Gafter-Gvili A, Thaler M, *et al*. *Infection*. 2010;**38**:211–5.
104. Shenep JL, Hughes WT, Roberson PK, *et al*. *N Engl J Med*. 1988;**319**:1053–8.
105. Anaissie EJ, Fainstein V, Bodey GP, *et al*. *Am J Med*. 1988;**84**:581–9.
106. Karp JE, Dick JD, Angelopoulos C, *et al*. *Am J Med*. 1986;**81**:237–42.
107. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, *et al*. *Clin Infect Dis*. 2011;**52**:285–92.
108. Rybak MJ, Lomaestro BM, Rotschafer JC, *et al*. *Clin Infect Dis*. 2009;**49**:325–7.
109. Rodvold KA, Blum RA, Fischer JH, *et al*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988;**32**:848–52.
110. Matzke GR, McGory RW, Halstenson CE, Keane WF. *Antimicrob Agents Chemother*. 1984;**25**:433–7.
111. Yasuhara M, Iga T, Zenda H, *et al*. *Ther Drug Monit*. 1998;**20**:139–48.
112. Yamamoto M, Kuzuya T, Baba H, Yamada K, Nabeshima T. *J Clin Pharm Ther*. 2009;**34**:473–83.
113. Medellín-Garibay SE, Ortiz-Martín B, Rueda-Naharro A, *et al*. *J Antimicrob Chemother*. 2016;**71**:471–9.
114. Thomson AH, Staatz CE, Tobin CM, Gall M, Lovering AM. *J Antimicrob Chemother*. 2009;**63**:1050–7.
115. Purwonugroho TA, Chulavatnatol S, Preechagoon Y, *et al*. *ScientificWorldJournal*. 2012;**2012**:762649.
116. Taghizadeh-Ghehi M, Rezaee S, Gholami K, Hadjibabaie M. *J Res Pharm Pract*. 2015;**4**:129–34.



117. Tissing WJ, Umans-Eckenhuis MA, van den Anker JN. *V. Eur J Pediatr.* 1993;**152**:700.
118. Mohr JF, Murray BE. *Clin Infect Dis.* 2007;**44**:1536–42.
119. Elyasi S, Khalili H, Dashti-Khavidaki S, Mohammadpour A. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012;**68**:1243–55.
120. Moise-Broder PA, Forrest A, Birmingham MC, Schentag JJ. *Clin Pharmacokinet.* 2004;**43**:925–42.
121. Capparelli EV, Lane JR, Romanowski GL, *et al.* *J Clin Pharmacol.* 2001;**41**:927–34.
122. Zhao W, Kaguelidou F, Biran V, *et al.* *Br J Clin Pharmacol.* 2013;**75**:1068–80.
123. Hochart C, Berthon C, Corm S, *et al.* *Med Mal Infect.* 2011;**41**:652–6.
124. Lortholary O, Lefort A, Tod M, *et al.* *Lancet Infect Dis.* 2008;**8**:612–20.
125. Tanigawara Y, Sato R, Morita K, *et al.* *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;**50**:3754–62.
126. Parikh GC, Amjad AI, Saliba RM, *et al.* *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;**15**:812–6.
127. Macedo E, Bouchard J, Soroko SH, *et al.* *Crit Care.* 2010;**14**:R82.