

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-260710

(P2008-260710A)

(43) 公開日 平成20年10月30日(2008.10.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/53 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/53	4 B 0 2 4
<b>A 6 1 K 31/4412 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/4412	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 K 31/513 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/513	
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 15 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-104032 (P2007-104032)	(71) 出願人	504013775
(22) 出願日	平成19年4月11日 (2007.4.11)		学校法人 埼玉医科大学 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38
		(74) 代理人	100088155 弁理士 長谷川 芳樹
		(74) 代理人	100092657 弁理士 寺崎 史朗
		(74) 代理人	100126653 弁理士 木元 克輔
		(72) 発明者	佐々木 康綱 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校 法人埼玉医科大学内
		(72) 発明者	藤田 健一 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校 法人埼玉医科大学内
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 抗癌剤及び抗癌剤の経口投与量決定方法

## (57) 【要約】

【課題】テガフル、ギメラシル及びオテラシルを1：0.4：1のモル比で含有する抗癌剤の適正の経口投与量を決定するための経口投与量決定方法、及び適正に決定された経口投与量で投与される上記抗癌剤を提供する。

【解決手段】テガフルとギメラシルとオテラシルとを1：0.4：1のモル比で含有する抗癌剤の投与量決定方法であって、前記抗癌剤の投与量はクレアチニクリアランスを指標に決定される、抗癌剤の投与量決定方法。また、テガフルとギメラシルとオテラシルとを1：0.4：1のモル比で含有する抗癌剤であって、クレアチニクリアランスを指標に決定された投与量で投与される、抗癌剤。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

テガフルとギメラシルとオテラシルとを 1 : 0 . 4 : 1 のモル比で含有する抗癌剤の経口投与量決定方法であって、前記抗癌剤の経口投与量はクレアチニンクリアランスを指標に決定される、抗癌剤の投与量決定方法。

## 【請求項 2】

テガフルとギメラシルとオテラシルとを 1 : 0 . 4 : 1 のモル比で含有する抗癌剤であって、クレアチニンクリアランスを指標に決定された経口投与量で投与される、抗癌剤

## 【発明の詳細な説明】

10

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、抗癌剤及び抗癌剤の経口投与量決定方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

抗癌剤 S - 1 (ティーエスワン (登録商標) ; 大鵬薬品工業株式会社) は、テガフル (FT)、ギメラシル (CDHP) 及びオテラシル (Oxa) を 1 : 0 . 4 : 1 のモル比で含有する配合剤であり、主に胃がん、結腸・直腸がんなどの腫瘍の治療に用いられている。

## 【0003】

20

S - 1 の作用機序は、以下のように考えられている。S - 1 が経口投与されると、FT が体内において徐々に抗腫瘍効果を有する 5 - FU へ変換される。この変換は、ヒト肝における主要な薬物代謝酵素である CYP2A6 が関与することが知られている (非特許文献 1)。一方、CDHP は主として肝に多く分布する 5 - FU 異化代謝酵素のジヒドロピリミジン脱水素酵素 (DPD) を選択的に拮抗阻害し、5 - FU の異化代謝酵素による無毒化を遅延させる (非特許文献 2)。これによって、生体内 5 - FU 濃度が上昇し、腫瘍内において 5 - FU のリン酸化代謝物である 5 - フルオロヌクレオチドが高濃度持続され、抗腫瘍効果が増強される。また、Oxa は経口投与により主として消化管組織に分布し、orotate phosphoribosyl transferase を選択的に拮抗阻害し、5 - FU から 5 - フルオロヌクレオチドへの生成を選択的に抑制する。その結果 S - 1 投与により 5 - FU の強い抗腫瘍効果を損なうことなく消化器毒性が軽減され

30

## 【0004】

しかしながら、S - 1 の経口投与は依然として重大な副作用を伴うものである。このような重大な副作用としては、重篤な肝障害や骨髄抑制、重篤な口内炎及び消化管潰瘍、急性腎不全などが挙げられる。

## 【0005】

現在、臨床において S - 1 の経口投与量は、患者の体表面積 (BSA) を基準に決定されている (非特許文献 4)。すなわち、BSA が  $1.25 \text{ m}^2$  未満の場合、テガフルの初回基準量は  $40 \text{ mg / 回}$  と、BSA が  $1.25 \text{ m}^2$  以上 ~  $1.5 \text{ m}^2$  未満の場合、テガフルの初回基準量は  $50 \text{ mg / 回}$  と、BSA が  $1.5 \text{ m}^2$  以上の場合、テガフルの初回基準量は  $60 \text{ mg / 回}$  と決定される。この経口投与量決定方法は、日本の保険医療において認められている唯一の方法である。

40

## 【0006】

【非特許文献 1】 Ikeda R, Clin. Cancer Res., Vol. 6, 4409 - 4415 (2000)

【非特許文献 2】 Tatusmi R, Jpn. J. Cancer Res., Vol. 78, 748 - 755 (1987)

【非特許文献 3】 Shirasaka T. R, Cancer Res. Sep 1; 53 (17) : 4004 - 9 (1993)

50

【非特許文献4】Kirataら、Clin. Cancer Res., Vol. 5, 2000 - 2005 (1999)

【非特許文献5】Masutaniら、Cancer Chemother Pharmacol Vol. 50, 25 - 32 (2002)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

しかしながら、S - 1の経口投与量を患者の体表面積を基準に決定することの有用性は、必ずしも科学的に検証されていない。また、患者の体表面積を基準に投与量を決定しても、患者によって効果及び副作用の個人差が大きい。

10

【0008】

また、上述したように、FTから5 - FUへの変換には、薬物代謝酵素であるCYP2A6が関与しており、CYP2A6の遺伝子多型が存在するにもかかわらず、その影響は殆ど考慮されていない。さらに、CDHPは主に腎臓によって排泄され、CDHPの排泄は、腎機能の低下により遅延し、その結果5 - FUの血中濃度が増加したとの報告もある(非特許文献5)。

【0009】

そこで、本発明は、テガフル、ギメラシル及びオテラシルを1 : 0.4 : 1のモル比で含有する抗癌剤の適正の経口投与量を決定するための経口投与量決定方法、及び適正に決定された経口投与量で投与される上記抗癌剤を提供することを目的とする。

20

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意研究の結果、5 - FUの血漿濃度曲線下面積(AUC<sub>5-FU</sub>)は、CDHPの血漿濃度曲線下面積(AUC<sub>CDHP</sub>)と有意に相関すること、また、AUC<sub>5-FU</sub>はCYP2A6の遺伝子型や体表面積とは相関しないことを見出し、さらに、AUC<sub>5-FU</sub>及びAUC<sub>CDHP</sub>はそれぞれクレアチニンクリアランス(Ccr)と有意に相関することを見出し、本発明の完成に至った。

【0011】

すなわち、本発明の抗癌剤の経口投与量決定方法は、テガフルとギメラシルとオテラシルとを1 : 0.4 : 1のモル比で含有する抗癌剤の経口投与量決定方法であって、上記抗癌剤の経口投与量はクレアチニンクリアランスを指標に決定されるものである。

30

【0012】

また、本発明の抗癌剤は、テガフルとギメラシルとオテラシルとを1 : 0.4 : 1のモル比で含有する抗癌剤であって、クレアチニンクリアランスを指標に決定された経口投与量で投与されるものである。

【発明の効果】

【0013】

本発明の抗癌剤の経口投与量決定方法及び本発明の抗癌剤によれば、抗癌剤の経口投与量をクレアチニンクリアランスを指標に決定することにより、所望の5 - FUの血漿濃度曲線下面積を得ることができ、それによって抗腫瘍効果を高く維持し、かつ副作用を低く抑えることが可能である。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

以下、本発明の好ましい実施形態について説明するが、本発明は以下の実施形態及び実施例に限定されるものではない。

【0015】

本発明の抗癌剤は、テガフルとギメラシルとオテラシルとを1 : 0.4 : 1のモル比で含有する抗癌剤であって、クレアチニンクリアランスを指標に決定された経口投与量で投与されるものである。テガフルとギメラシルとオテラシルとを1 : 0.4 : 1のモル比で含有する抗癌剤として、典型的に日本では大鵬薬品工業株式会社のティーエスワン(

50

登録商標)が挙げられる。ここのティーエスワンは配合剤であるが、本発明の抗癌剤は配合剤でなくてもよく、例えば、ガフル、ギメラシル及びオテラシルのそれぞれの単剤を1:0.4:1のモル比で投与する抗癌剤であってもよい。

【0016】

本発明の抗癌剤は、経口剤である。剤形はとくに限定されず、錠剤やカプセル、散剤、顆粒剤、丸剤などのいずれの剤型であってもよい。

【0017】

本発明の抗癌剤には、上記の3つの有効成分以外に、各種薬学的に許容できる添加剤が含まれてもよい。このような添加剤は、例えば、上記の製剤の製造において、一般に使用される結合剤、包含剤、賦形剤、滑沢剤、崩壊剤、湿潤剤などの添加剤が挙げられる。

10

【0018】

配合剤の場合、経口剤中におけるテガフルの含有量が15~30mgの範囲内であることが好ましく、15mg、20mg、25mg及び30mgであることが特に好ましい。例えば、テガフルが20mgである場合、ギメラシル及びオテラシルのカリウム塩であるオテラシルカリウムはそれぞれ5.8mg及び19.6mg配合される。

【0019】

本発明の抗癌剤は、胃がん、結腸・直腸がん、頭頸部がん、非小細胞肺癌ん、手術不能又は再発乳がん、及び膵がんなどの腫瘍の治療に用いられている。特に、胃がん、結腸・直腸がんの治療に好ましく用いられる。

【0020】

本発明の抗癌剤の経口投与量は、本発明に係る抗癌剤の経口投与量の決定方法によって決定される。すなわち、本発明の抗癌剤の経口投与量は、クレアチンクリアランスを指標に決定される。クレアチンは、腎系球体からろ過された後、殆ど再吸収されることなく、尿中へ排出される。この特性を利用して、クレアチンクリアランスや血清中のクレアチン濃度を測定することによって、腎機能の評価が行われる。クレアチンクリアランスは、血中及び尿中のクレアチンの量などの測定値を用いて、算出することができる。このような算出式としては、Cockcroft & Gault式、Jelliffe式、及びSanaka式などが挙げられ、Cockcroft & Gault式を使用することが好ましい。なお、血清中及び尿中のクレアチンの量を測定する方法は、一般的に用いられている方法であれば特に限定されない。

20

30

【0021】

クレアチンクリアランスの正常値は、一般に70~130mL/minとされている。腎機能低下の場合には、より低値となるが、妊娠や初期糖尿病の場合には、より高値となる。本発明の抗癌剤を経口投与する場合、 $AUC_{5-FU}$ 及び $AUC_{CDHP}$ はCcrと有意に相関がある。腎機能が低下している場合に、正常な腎機能を有するヒトに比べて、 $AUC_{5-FU}$ 及び $AUC_{CDHP}$ が高い傾向にある。逆に、腎機能が亢進している場合、正常な腎機能を有するヒトに比べて、 $AUC_{5-FU}$ 及び $AUC_{CDHP}$ が低い傾向にある。このため、本発明の抗癌剤の経口投与量は、クレアチンクリアランスを基準に決定される。

【0022】

本発明に係る抗癌剤の経口投与量の決定方法は、以下の工程を含む。抗癌剤の投与前に、癌患者のクレアチンクリアランス(Ccr)を測定する測定工程と、癌患者のCcrによって抗癌剤の経口投与量を決定する決定工程とを含む。決定工程においては、癌患者のCcrは正常値の下限もより低い場合、抗癌剤の投与量を減少させる。癌患者のCcrは正常値の上限よりも高い場合、抗癌剤の投与量を増加させる。このように決定された経口投与量で投与すれば、所望の $AUC_{5-FU}$ 又は $AUC_{CDHP}$ を得ることができ、それにより抗腫瘍効果を高く維持し、かつ副作用を低く抑えることが可能である。

40

【実施例】

【0023】

以下、実施例を挙げて本発明を説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるもの

50

ではない。

【0024】

(実施例1) S-1の臨床投与試験  
(患者)

40名日本人癌患者がS-1の臨床投与試験に参加した。これらの患者は、すべて20歳以上であり、転移性又は再発性固形癌に罹り、かつ以前固形癌と診断されていた。また、これらの患者のWHO Performance Status (PS)が0~3であった。S-1の投与開始前4週間以内に抗癌剤を用いた化学療法又は放射線療法を受けていなかった。

【0025】

試験開始前に、これらの患者が正常な骨髄、正常な肝機能及び腎機能を有することが確認された。各検査結果は、以下のようになる。好中球数が $1.5 \times 10^9 / L$ 以上であり、血小板数は $100 \times 10^9 / L$ 以上であり、血清ビリルビンレベルは $3.0 \text{ mg} / \text{dL}$ 以下であり、アミノ基転移酵素は $2.0 \times$ 上限値以下又は正常であり、血清クレアチニンレベルは $2.0 \text{ mg} / \text{mL}$ 以下であった。

【0026】

(投与)

投与試験は、2005年9月から2006年12月までの間に行われた。投与試験では、患者にS-1(ティーエスワン(登録商標))を1日2回、28日間連続投与した。投与量は、患者の体表面積(BSA)によって決定した。BSAが $1 \text{ m}^2$ 以下の患者に $80 \text{ mg} / \text{日}$ の投与量で、BSAが $1 \text{ m}^2 \sim 1.25 \text{ m}^2$ の患者に $100 \text{ mg} / \text{日}$ の投与量で、BSAが $1.25 \text{ m}^2$ 以上の患者に $100 \text{ mg} / \text{日}$ の投与量で、1日2回投与した。

【0027】

(CYP2A6の遺伝子型)

患者のCYP2A6の遺伝子型を分析した。患者から末梢血を採取し、QIAamp Blood Kitを用いてゲノムDNAを精製し、分析があるまで $-80^\circ\text{C}$ にて保存した。

【0028】

CYP2A6\*4(CYP2A6\*4及びCYP2A6\*4D)は、Nakajimara(FEBS Lett 569:75~81(2004))に記載のPCR-RFLP法にしたがって分析した。PCRプライマーとして、センス: $5' - \text{TTTGTGTCA GGAGAAATCAAAC} - 3'$ (配列番号1)及び、アンチセンス: $5' - \text{AAAATGGGCATGAACGCC} - 3'$ (配列番号2)を使用した。PCR反応は、 $50 \text{ ng}$ のゲノムDNAを鋳型として、 $1.0 \text{ U}$ のAmpli Taq Gold DNA Polymerase(Applied Biosystems)、並びに終濃度として、 $0.4 \mu\text{M}$ ずつのプライマー、 $0.25 \text{ mM}$ のdNTPs、 $1.5 \text{ mM}$ の $\text{MgCl}_2$ 、及び $1 \times$ Gene Amp PCRバッファーを含む $50 \mu\text{L}$ のPCR反応液を用いて行った。最初の変性を $94^\circ\text{C}$ にて15分行った後、 $94^\circ\text{C}$ にて30秒の変性、 $53^\circ\text{C}$ にて30秒のアニーリング、及び $72^\circ\text{C}$ にて2分の伸長を30サイクル行い、最後に $72^\circ\text{C}$ にて5分伸長させた。

【0029】

CYP2A6\*7はAriyoshiら(Biochem Biophys Res Commun 281:810-814(2001))に記載の対立遺伝子特異的PCR法にしたがって分析した。第1のPCRでは、プライマーとして、センス: $5' - \text{CACCGAAGTGTTCCTATGCTG} - 3'$ (配列番号3)、及び、アンチセンス: $5' - \text{TGTAAAATGGGCATGAACGCC} - 3'$ (配列番号4)を使用した。第1のPCR反応は、 $50 \text{ ng}$ のゲノムDNAを鋳型として、 $1.0 \text{ U}$ のLA Taq DNA Polymerase、並びに終濃度として、 $0.2 \mu\text{M}$ ずつのプライマー、 $0.4 \text{ mM}$ のdNTPs、 $2.5 \text{ mM}$ の $\text{MgCl}_2$ 、及び $1 \times$ LA PCRバッファーIIを含む $25 \mu\text{L}$ のPCR反応液を用いて行った。最初の変性を $94^\circ\text{C}$ にて3分行った

10

20

30

40

50

後、94にて1分の変性、56にて1分のアニーリング、及び72にて2分の伸長を30サイクル行った。第2のPCRでは、プライマーとして、センス：5'-CTCC CAGTCACCTAAGGACAT-3'（配列番号5）、及びアンチセン：5'-CTCCCAGTCACCTAAGGACAC-3'（配列番号6）を使用した。第1のPCR産物を10倍希釈して、第2のPCR反応に適用した。第2のPCR反応は、1 $\mu$ Lの第1のPCR産物の希釈液を鋳型として、1.0 UのAmpli Taq Gold DNA Polymerase（Applied Biosystems）、並びに終濃度として、0.25 $\mu$ Mずつのプライマー、0.25mMのdNTPs、1.0mMのMgCl<sub>2</sub>、及び1 $\times$ Gene Amp PCRバッファーを含む25 $\mu$ LのPCR反応液を用いて行った。最初の変性を94にて15分行った後、94にて20秒の変性、60にて20秒のアニーリング、及び72にて45秒の伸長を13サイクル行った。

10

## 【0030】

CYP2A6\*9はYoshidaら（Clin Pharmacol Ther 74:69-76（2003））に記載の対立遺伝子特異的PCR法にしたがって分析した。PCRプライマーとして、センス：5'-GATTCCTCTCCCTGGAAC-3'（配列番号7）、及び、アンチセンス：5'-GGCTGGGGTGGTTTGCC TTTA-3'（配列番号8）を使用した。PCR反応は、50ngのゲノムDNAを鋳型として、1.0 UのAmpli Taq Gold DNA Polymerase（Applied Biosystems）、並びに終濃度として、0.4 $\mu$ Mずつのプライマー、0.25mMのdNTPs、2mMのMgCl<sub>2</sub>、及び1 $\times$ Gene Amp PCRバッファーを含む25 $\mu$ LのPCR反応液を用いて行った。最初の変性を94にて15分行った後、94にて30秒の変性、64にて30秒のアニーリング、及び72にて25秒の伸長を25サイクル行った。

20

## 【0031】

CYP2A6\*1 $\times$ 2は、Schoedelら（Pharmacogenetics 14:615-626（2004））に記載の方法にしたがって分析した。第1のPCRでは、PCRプライマーとして、センス：5'-GGCCAACATGCCCTACATG-3'（配列番号9）、及び、アンチセンス：5'-GCACTTATGTTTTGTGAGACATCAGATAGAG-3'（配列番号10）を使用した。第1のPCR反応は、50ngのゲノムDNAを鋳型として、1.0 UのAmpli Taq Gold DNA Polymerase（Applied Biosystems）、並びに終濃度として、0.25 $\mu$ Mずつのプライマー、0.2mMのdNTPs、1.2mMのMgCl<sub>2</sub>、及び1 $\times$ Gene Amp PCRバッファーを含む25 $\mu$ LのPCR反応液を用いて行った。最初の変性を95にて1分行った後、95にて15秒の変性、60にて20秒のアニーリング、及び72にて3分の伸長を35サイクル行い、最後に72にて7分伸長させた。第2のPCRでは、プライマーとして、センス：5'-CATTTCCTGGATGAC-3'（配列番号11）、及び、アンチセンス：5'-AAAA TGGGCATGAACGCTT-3'（配列番号12）を使用した。第2のPCR反応は、50ngのゲノムDNAを鋳型として、1.0 UのAmpli Taq Gold DNA Polymerase（Applied Biosystems）、並びに終濃度として、0.25 $\mu$ Mずつのプライマー、0.2mMのdNTPs、1.2mMのMgCl<sub>2</sub>、及び1 $\times$ Gene Amp PCRバッファーを含む25 $\mu$ LのPCR反応液を用いて行った。最初の変性を95にて1分行った後、95にて15秒の変性、44にて20秒のアニーリング、及び72にて4分半の伸長を15サイクル行、最後に72にて10分伸長させた。

30

40

## 【0032】

（DPYDの遺伝子型）

DPYD\*2及びDPYD\*3は、Ridgeら（Br J Clin Pharmacol 46:151-156（1998））に記載の方法にしたがって分析した。DPYD\*2用のPCRプライマーとして、センス：5'-GAACCACCTCTGGCC

50

CCACGTATG - 3' (配列番号13)、及び5' - CAGCAAAGCAACTG  
GCAGATTC - 3' (配列番号14)を使用し、また、DPYD\*3用プライマーと  
して、センス: 5' - GAACCACTCTGGCCCCACGTATG - 3' (配列  
番号15)、及び、アンチセンス: 5' - TGTAAATCACACTTACGTTG  
TCCG - 3' (配列番号16)を使用した。PCR反応は、50ngのゲノムDNAを  
鋳型として、1.25 UのAmpliTaq Gold DNA Polymerase (Applied  
Biosystems)、並びに終濃度として、0.2µMずつの  
プライマー、0.2mMのdNTPs、2.0mMのMgCl<sub>2</sub>、及び1×GeneAmp  
PCRバッファーを含む25µLのPCR反応液を用いて行った。最初の変性を95  
にて15分行った後、95にて1分の変性、58にて1分のアニーリング、及び7  
2にて2分の伸長を31サイクル行い、最後に72にて3分の伸長を行った。

10

## 【0033】

DPYD\*11及びDPYD\*12は、Kouwakira (Clin Cancer  
Res 4: 2999 - 3004 (1998))に記載の方法にしたがって分析した。D  
PYD\*11用プライマーとして、センス: 5' - GTGCGCCTGTCACTCTC  
CAT - 3' (配列番号17)、及び5' - TTTACCTCCTCAGGGACAGC  
- 3' (配列番号18)を使用し、また、DPYD\*12用プライマーとして、センス5  
' - TTTAGAGTATCCTGGCTTTA - 3' (配列番号19)、及び、アンチ  
センス: 3' - TGGTACTTACAAAGCAGTTC - 3' (配列番号20)、或  
いは、センス: 5' - TAGATGGAACCTTGCTAAGGA - 3' (配列番号21  
)、及び、アンチセンス: 5' - GAACCTGAACCAAAAGGCACTG - 3' (配  
列番号22)を使用した。PCR反応は、50ngのゲノムDNAを鋳型として、0.  
13 UのAmpliTaq Gold DNA Polymerase (Applied  
Biosystems)、0.2µMずつのプライマー、0.2mMのdNTPs、  
3.0mMのMgCl<sub>2</sub>、及び1×GeneAmp PCRバッファーを含む25µLの  
PCR反応液を用いて行った。PCR増幅の条件は上記のDPYD\*2及びDPYD\*3  
のときと同じであった。

20

## 【0034】

## (薬物動態)

薬物動態を評価するための採血はS-1投与初日に行われた。また、初日の2回目の投  
与はしなかった。採血は、S-1投与直前、投与後0.5、1、2、4、8及び24時間  
後にそれぞれ行われた。血液は採血直後に遠心分離し、血漿サンプルは分析があるまで -  
80にて保存した。

30

## 【0035】

FT及び5-FUの血漿濃度は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて測  
定した。標準品のFT及び5-FUは、Sigma-Aldrichより入手した。25  
0µLの血漿サンプル、100µLの0.2Mリン酸緩衝液 (pH7.0)、及び100  
µLの100µMプロモウラシル (内部標準) を混合した後、さらに4mLの酢酸エチル  
を加え、10分間振とうし、2300gで10分間遠心分離した。有機相は、別の試験管  
に移し、上記の抽出をもう一度行った。有機層を合わせ、濃縮・乾燥し、残渣を0.3m  
Lの20mMのNaClO<sub>4</sub>緩衝液 (pH2.5) に溶かし、2,000gで10分間遠  
心分離した。10µLの上清を取り、Capcell Pak C18 SG 120分  
析カラム (4.6×250mm; 5µm; 資生堂) を装着したHPLCシステム (日立モ  
デル7000シリーズ) に投入した。

40

## 【0036】

HPLCの条件は以下の通りである。

A液: 20mM NaClO<sub>4</sub>緩衝液 (pH2.5)

B液: アセトニトリル

温度: 35

流速: 0.8mL/分

50

グラジエント：A / B = 100 / 0 ~ 87.5 / 12.5 で 20 分溶出

検出波長：270 nm

【0037】

FT及び5-FUの定量は、クロマトグラフィーにおけるそれぞれのピークの面積と内部標準であるプロモウラシル（和光純薬工業株式会社）のピーク面積とを比較することによって行った。FT及び5-FUの定量の下限値は、それぞれ50 ng/mL（0.25 μM）及び16 ng/mL（0.125 μM）であった。FT及び5-FUのintra-assay及びinter-assayの変動変数は10%未満であった。

【0038】

CDHPの血漿濃度は、Matsushimaら（J Chromatogr B 691:95-104（1997））に記載の方法にしたがい、GC-MSシステムを用いて測定した。水で10倍に希釈した血漿サンプル0.25 mLに、0.1 mLの0.2 Mリン酸緩衝液及び0.1 mLの内部標準物質である[<sup>18</sup>O<sub>2</sub>]-CDHP（500 ng/mL）を加え、さらに4 mLのジクロロメタンを加えた後、10分間振とうし、2,000 gで5分間遠心分離した。有機層を別の試験管に取り、上記抽出をさらに2回行った。水層に0.4 mLのリン酸二水素カリウム及び4 mLの酢酸エチルを加えた後、10分間振とうし、2,000 gで5分間遠心分離した。酢酸エチル相を別の試験管に取り、上記抽出をもう一度行った。酢酸エチル相を合わせて、40 mLにて窒素ガスを吹き付けながら蒸発乾固させた。残渣を30 μLのアセトニトリルに溶解し、さらに10 μLのペンタフルオロベンジルブロマイド及び10 μLのトリエチルアミンを加えた。室温に30分放置した後、0.05 mLの酢酸エチル及び0.5 mLのn-ヘキサンを順に加え、ボルテックスで混合し、遠心分離した。分離した上層液を窒素ガスを吹き付けながら蒸発乾固させ、残渣を0.2 mLの酢酸エチルに溶解し、そのうちの1 μLをGC/MSシステムに投入した。

【0039】

FT、5-FU及びCDHPのAUC（μM-h）は、台形法（血漿濃度のピークまで）、及びLinear/Log台形法（最後の検出可能な濃度まで）によって、コンピュータプログラム（WinNonlin version 5.1 software; Pharsight Corporation）を用いて算出した。FTの0から無限大時間までのAUC（AUC<sub>0-∞</sub>）は、0.5、1、2、4、8及び24時間の測定値に基づいて評価した。FTの経口投与クリアランス（CL/F, l/h）は、AUC<sub>0-∞</sub>及び投与量によって算出した。5-FUの0から8時間までのAUC（AUC<sub>0-8</sub>）は、0.5、1、2、4及び8時間の測定値に基づいて評価した。CDHPの0から無限大時間までのAUC（AUC<sub>0-∞</sub>）は、0.5、2、4、8及び24時間の測定値に基づいて評価した。CDHPの定量の下限値は、2 ng/mL（13.8 nM）であり、intra-assay及びinter-assayの変動変数は10%未満であった。

【0040】

（統計解析）

FTの経口投与クリアランス又は5-FUのAUC<sub>0-8</sub>と、他の潜在的なファクターと相関性について、連続変数を求めるためにANOVA解析を、名義変数を求めるためにWilcoxon（Kruskal-Wallis）解析を行った。両側検定のP値が0.05未満である場合、有意な相関があると判断した。

【0041】

また、FTの経口投与クリアランス又は5-FUのAUC<sub>0-8</sub>と、他の潜在的なファクターとの間に相関性について、最小二乗を用いて多変量線性解析を行った。このモデルでは、ANOVAにおいて両側検定のP値が0.05未満であるとき、有意な相関があると判断した。効果試験において0.05未満の両側検定のP値が得られる場合、モデルに含まれるファクターは変数と統計的に相関すると判断した。

【0042】

（結果）

10

20

30

40

50



## 1. 患者

患者の内訳及び生理検査結果は下記の表 1 に示した。

【 0 0 4 3 】

【 表 1 】

		患者数
年齢 (歳)	61 (33 - 81)*	40
性別	男性	25
	女性	15
P S	0	22
	1	17
	3	1
血清クレアチニン (mg/dl)	0.67 (0.43 - 1.2)*	40
クレアチンクリアランス (mL/min)	83 (45 - 174)*,**	40
総ビリルビン (mg/dl)	0.5 (0.2 - 1.5)*	40
癌の種類	胃癌	23
	結腸癌	7
	乳癌	5
	その他の癌	5
先の化学療法レジメン	0	23
	1	8
	2	4
	3	5

\*平均値 (数値範囲)

\*\*クレアチンクリアランスは Cockcroft & Gault 式により  
算出された数値である。

【 0 0 4 4 】

## 2. CYP2A6 及び DPYD の遺伝子型

CYP2A6\*1、CYP2A6\*4、CYP2A6\*7、及び CYP2A6\*9 の対立遺伝子頻度は、それぞれ 40%、22.5%、22.5% 及び 15% であった。Nakajima らによればすべての CYP2A6\*4 は CYP2A6\*4A である。本試験の患者において、CYP2A6\*1、CYP2A6\*4、及び CYP2A6\*9 の対立遺伝子頻度は、従来報告とほぼ同程度であったが、CYP2A6\*7 の対立遺伝子頻度は報

10

20

30

40

50

告のものよりも少し高かった。また、少なくとも一つのCYP2A6\*1型を有する患者に、遺伝子の複製(CYP2A6\*1×2)は認められなかった。CYP2A6遺伝子型の分布は、以下の通りであった。\*1/\*1、22.5%；\*1/\*4、15%；\*1/\*7、10%；\*4/\*4、7.5%；\*4/\*7、10%；\*4/\*9、5%；\*7/\*7、7.5%；\*7/\*9、10%；\*9/\*9、2.5%。

【0045】

DPYD\*2、DPYD\*3、DPYD\*11又はDPYD\*12などのDPYD多型は、本試験に参加した患者に認めなかった。

【0046】

3. FT及び5-FUの薬物動態に影響を及ぼすファクター

FTの経口投与クリアランス又は5-FUのAUC<sub>0-8</sub>と、他の潜在的なファクター(CYP2A6遺伝子型、CDHPのAUC<sub>0-8</sub>、年齢、性別、体表面積(BSA)及び総ビリルビン)との間に相関性について解析した。解析結果を以下の表2に示した。

【0047】

CYP2A6遺伝子型についての分析は、まず、CYP2A6遺伝子型を3つのグループに分けた：野生型グループ(\*1/\*1)、一つの変異型対立遺伝子グループ(\*1/\*4、\*1/\*7及び\*1/\*9)、二つの変異型対立遺伝子グループ(\*4/\*4、\*4/\*7、\*4/\*9、\*7/\*7、\*7/\*9、\*9/\*9)。下記の表2から、FTの経口投与クリアランスはCYP2A6遺伝子型とは有意に相関することが分かった(P=0.0000256、Kruskal-Wallis検定)(図1)。FTの経口投与クリアランスは個別のCYP2A6遺伝子型との相関についても、解析した(図2)。これらの10のCYP2A6遺伝子型について、Kruskal-Wallis検定を行ったところ、P値が0.00101であった。また、\*4/\*4、\*7/\*7、\*7/\*9、\*1/\*4、及び\*1/\*7の遺伝子型を有する患者において、\*1/\*1の遺伝子型を有する患者に比べて、FTの経口投与クリアランスが有意に低かった(P=0.0124、0.0124、0.0054、0.0032及び0.0437；Wilcoxon検定)(表2)。

【0048】

一方、5-FUのAUC<sub>0-8</sub>は、CDHPのAUC<sub>0-8</sub>のみと有意に相関することが分かった(表2、図2)。一方、他の潜在的なファクターは5-FUのAUC<sub>0-8</sub>とは相関はなかった(表2)。

【0049】

10

20

30

【表 2】

	Summary of fit		ANOVA		X <sup>2</sup>	P
	R <sup>2</sup> (%)	Root mean square error (RMSE)	F ratio	P		
FT の経口投与クリアランスとの相関						
CDHP の AUC <sub>0-∞</sub>	19.5	1.12	0.0741	0.787		
BSA	1.01	1.12	0.339	0.537		
年齢	1.0	1.12	0.385	0.539		
総ビリルビン	1.83	1.11	0.711	0.404		
CYP2A6 遺伝子型					21.1*	0.0000256*
性別					0.985**	0.321**
5-FU の AUC <sub>0-8</sub> との相関						
CDHP の AUC <sub>0-∞</sub>	28.6	3.25	15.2	0.00038		
BSA	0.614	3.83	0.235	0.631		
年齢	0.0833	3.84	0.0317	0.86		
総ビリルビン	3.33	3.77	1.31	0.26		
CYP2A6 遺伝子型					2.73*	0.256*
性別					1.69**	0.194**

\*Kruskal-Wallis test \*\*Wilcoxon test

## 【0050】

FT の経口投与クリアランスについて最小二乗を用いて多変量線性解析を行った結果、CYP2A6 遺伝子型は FT の経口投与クリアランスの有意な予測であることが証明された (ANOVA、P = 0.00089、R<sup>2</sup> = 51.2%) (表 3)。効果試験において得られた CYP2A6 遺伝子型の P 値は、0.000133 であった (ANOVA) (表 3)。一方、他の潜在的なファクターは FT の経口投与クリアランスとは有意な相関はなかった (P > 0.05)。

## 【0051】

また、5-FU の AUC<sub>0-8</sub> について最小二乗を用いて多変量線性解析を行った結果、CDHP の AUC<sub>0-∞</sub> は 5-FU の AUC<sub>0-8</sub> の有意な予測であることが証明された (ANOVA、P = 0.00579、R<sup>2</sup> = 44%)。また、効果試験において得られた CDHP の AUC<sub>0-∞</sub> の P 値は、0.000233 であった (ANOVA) (表 3)。一方、他のファクターは 5-FU の AUC<sub>0-8</sub> とは有意な相関はなかった (P > 0.05)。

## 【0052】

すなわち、FT 及び 5-FU の薬物動態は、CYP2A6 遺伝子型及び CDHP の血漿中の露出量と有意な相関があった。

## 【0053】

10

20

30

40

【表 3】

	Summary of fit		ANOVA	
	R <sup>2</sup> (%)	Root mean square error (RMSE)	F ratio	P
FT の経口投与クリアランスとの相関	51.2	0.856	4.80	0.00089
CYP2A6 遺伝子型			11.9	0.000133
CDHP の AUC <sub>0-∞</sub>			1.00	0.325
BSA			0.114	0.738
年齢			0.12	0.730
性別			1.79	0.190
総ビリルビン			0.710	0.406
5-FU の AUC <sub>0-8</sub> との相関	44	3.13	3.59	0.00579
CYP2A6 遺伝子型			1.59	0.220
CDHP の AUC <sub>0-∞</sub>			17.2	0.000233
BSA			0.216	0.645
年齢			0.180	0.674
性別			1.52	0.227
総ビリルビン			2.83	0.102

10

20

30

40

## 【0054】

4.5-FU又はCDHPの薬物動態とクレアチンクリアランス(Ccr)との関係  
5-FUのAUC<sub>0-8</sub>又はCDHPのAUC<sub>0-∞</sub>とクレアチンクリアランス(Ccr)との相関についても解析した。図3に示したように、5-FUのAUC<sub>0-8</sub>はCcrと逆相関することが分かった(ANOVA、P=0.016、R<sup>2</sup>=14.3%)。また、CDHPのAUC<sub>0-∞</sub>とCcrとの逆相関も認められた(ANOVA、P=0.00056、R<sup>2</sup>=27.2%)。

## 【0055】

この試験において、最も高い5-FUのAUC<sub>0-8</sub>及びCDHPのAUC<sub>0-∞</sub>を示した患者は、同時に最も低いCcrも示した。この患者は、致命的な(グレード5)の口内炎となり、死亡した。これは、恐らくS-1の投与に関係すると予想される。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0056】

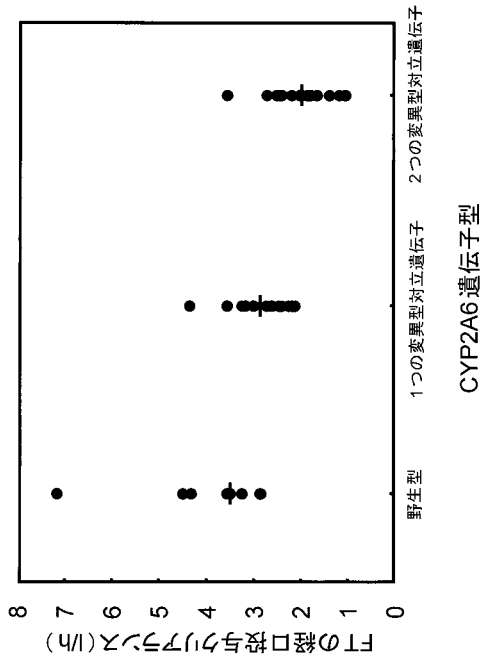
【図1】テガフルの全身クリアランスとCYP2A6遺伝子型(グループ別)との相関を示す図である。

【図2】テガフルの全身クリアランスと個別のCYP2A6遺伝子型との相関を示す図である。

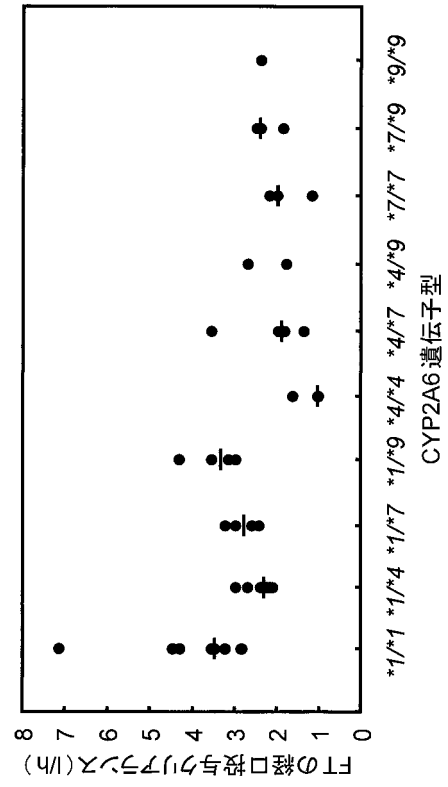
【図3】5-FUのAUC<sub>0-8</sub>とCDHPのAUC<sub>0-∞</sub>との相関を示す図である。

【図4】5-FUのAUC<sub>0-8</sub>とCcrとの相関を示す図である。

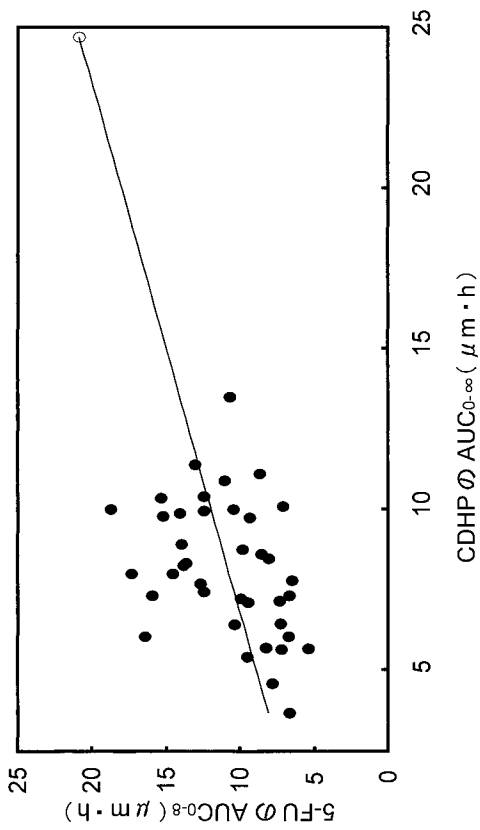
【 図 1 】



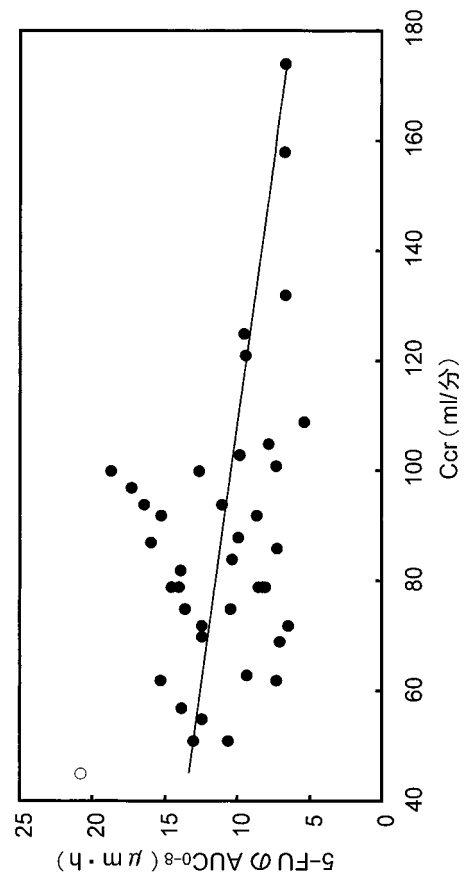
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【配列表】

2008260710000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
C 1 2 N 15/09 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 2 1  
C 1 2 N 15/00 Z N A A

Fターム(参考) 4B024 AA11 CA09 HA14  
4C086 AA01 AA02 BC17 BC43 BC64 GA02 GA07 MA03 MA04 NA05  
NA10 NA13 ZB21 ZB26 ZC41 ZC75