

MVAC(Methotrexate, Vinblastine, Adriamycin, Cisplatin)療法におけるデキサメタゾン併用による好中球減少症の重篤化と機序の解明

著者	板井 進悟
著者別表示	Itai Shingo
雑誌名	博士論文要旨Abstract
学位授与番号	13301甲第4544号
学位名	博士(薬学)
学位授与年月日	2017-03-22
URL	http://hdl.handle.net/2297/48031

doi: <https://doi.org/10.1186/s40780-016-0072-5>



学位論文題名

MVAC (Methotrexate, Vinblastine, Adriamycin, Cisplatin)
療法におけるデキサメタゾン併用による好中球減少症の重
篤化と機序の解明

A Retrospective Cohort Study and Mechanism Studies on
the Effects of Co-administration of Dexamethasone on
Severity of Neutropenia by Methotrexate, Vinblastine,
Adriamycin, Cisplatin Combination Chemotherapy.

金沢大学大学院自然科学研究科(博士後期課程)

生命科学専攻

分子作用学講座

板井 進悟

Bladder cancer patients receiving methotrexate, vinblastine, adriamycin and cisplatin (MVAC) chemotherapy are co-administered with dexamethasone (Dex) as an anti-emetic. We examined whether or not Dex affects the severity and onset day of MVAC-induced severe neutropenia. Episodes of grade 3/4 neutropenia occurred in 3 out of 6 (50.0%), 11 out of 12 (91.7%) and 6 out of 6 (100%) patients in the Dex (-), Dex 1 day, and Dex multiday groups, respectively. The appearance day of first severe neutropenia in the Dex multiday group (13.2 ± 1.0) was significantly accelerated compared to the Dex (-) group (17.7 ± 2.1). Univariate logistic regression analysis revealed that Dex is a risk factor for severe neutropenia (OR 17.0; 95%CI: 1.3 - 223.1). In basic studies, dex increased toxicity of cisplatin on CFU-GM colony counts by colony forming cell assay in bone marrow of CD-1 mice treated cisplatin with/without Dex. Dex co-administration also decreased IC_{50} values for cisplatin approximately 30% in HL-60. These results indicated that Dex increased severity of neutropenia in bladder cancer patients on MVAC chemotherapy, through maybe enhancement of cell toxicity by cisplatin in bone marrow.

【背景】

Dexamethasone (Dex) はがん化学療法における悪心・嘔吐に対して優れた制吐作用が様々な臨床試験でその有効性が証明されており、制吐療法に関する American Society of Clinical Oncology や European Society of Clinical Oncology、Multinational Association of Supportive Care in Cancer などのガイドラインでは軽度・中等度・高度の催吐リスクがある抗がん剤を含むレジメンにおいて Dex の使用は推奨されている。一方で、Dex はステロイドであり、多様な副作用が起こることが考えられる。初期のがん化学療法における制吐療法の臨床試験では、有効性を中心として評価されており、安全性の評価が不十分であった。そのため、がん化学療法における制吐療法での Dex の安全性に関する情報は乏しい。

金沢大学附属病院泌尿器科では、尿路上皮がん患者に対して標準療法である MVAC (methotrexate, vinblastine, adriamycin, cisplatin) 療法を行っていた。MVAC 療法は day1、15、22 に 30 mg/m^2 methotrexate、day2 に 70 mg/m^2 cisplatin、 30 mg/m^2 adriamycin day2,15,22 に 3 mg/m^2 vinblastine を投与し、28 日間で 1 コースとなるがん化学療法である。MVAC 療法はがん化学療法の中でも、高い頻度で重度の好中球減少や発熱性好中球減少が認められる化学療法であることから、MVAC 療法開始時の day 1 と day 15、22 において血液検査により患者の好中球数を確認した上で、治療開始、抗がん薬投与の可否を決定する。MVAC 療法では催吐リスクを伴うことから制吐薬として Dex が使用されていたが、制吐療法の標準治療薬の一つである 5-HT₃ 受容体拮抗薬の発売後は、Dex による副作用の経験や血糖値上昇や易感染症、副腎への影響等を懸念し、金沢大学附属病院泌尿器科では制吐薬として使用していない時期があった。著者が泌尿器科病棟を担当した当初、Dex は MVAC 療法における制吐薬として使用されておらず、悪心・嘔吐のコントロールが不十分であったことから、制吐療法ガイドラインを根拠に Dex の使用を提案した。その結果、MVAC 療法における悪心・嘔吐は改善し、嘔吐する症例はほぼ皆無となった。一方で、Dex 導入前は、Day 15 の抗がん薬投与後に好中球減少の nadir (最低値) となることが

多かったが、Dex 導入後、Day 15 直前に nadir が認められることで Day 15 が投与中止になる頻度が増えることを経験した。

そこで本研究では、Dex による MVAC 療法施行患者における好中球減少症への影響を後方視的コホート研究として重篤な好中球減少症の発現頻度、発現の時期などについて調査した。また、Dex による抗がん薬における好中球減少への影響に関する再現性の確認と機序を明らかにし、臨床的な対応策を考案することを目的として、cisplatin による血球細胞毒性におよぼす Dex の影響について検討した。

【方法】

金沢大学附属病院泌尿器科において 2005 年 1 月 1 日から 2009 年 12 月 31 日の間で、MVAC 療法を施行された尿路上皮がん患者を対象とした。除外基準は、Dex の薬物動態に影響を与えるアプレピタントを処方された患者、Dex 以外のステロイドを投与された患者を設定した。

MVAC 療法は methotrexate 30 mg/m² を day 1, 15, 22 に、vinblastine 3.0 mg/m² を day 2, 15, 22 に、cisplatin 70 mg/m² と adriamycin 30 mg/m² を day 2 に静脈投与するプロトコールとなっている。調査対象の患者は、Dex を使用していない群 (Dex(-)) : 6 例、Dex 8 mg を day 2 のみ 1 日投与した群 (Dex 1 day) : 12 例、Dex を day 2 に 8 mg、day 3、4 日目に 2 mg 投与した群 (Dex multiday) : 6 例の 3 つのグループに分類した。なお各群ともに 1 コース目の MVAC 施行時のデータをもとに検討した。

好中球減少症は Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4 を用いて評価し、Grade (以下、G) 3 は 1,000 個/m³、G4 は 500 個/m³ を下回ったものとし、G3 および G4 の好中球減少症を重篤な好中球減少症と定義した。また、初めて重篤な好中球減少症が発現した日は、化学療法開始日を day 1 として算出した。さらに重篤な好中球減少症に関連する危険因子については、単変量ロジスティック回帰分析を用いて検討した。

マウスにおける再現性の確認と機序の解明を目的に Colony Forming Cell assay (以下、CFC assay) を用いて大腿骨における造血幹細胞前駆細胞のコロニー数に対する薬剤の影響について検討した。CFC assay では、CD-1 マウスの大腿骨から骨髓を採取し、骨髓における血球細胞を完全 Methocult 培地によって培養し、形成される顆粒球単球コロニー形成細胞 (CFU-GM) のコロニー数をカウントした。また、前骨髄性白血病細胞である HL-60 細胞を用い、直接的に cisplatin および Dex の単剤または併用で処置した時の細胞毒性を MTT assay 法により評価した。

【結果・考察】

臨床研究において Dex 1 day 群と Dex multiday 群では、Dex (-) 群と比較し、G3 および G4 の好中球減少症が高い発現率で認められた。特に G4 の好中球減少症は Dex (-) 群ではみとめられず、Dex multiday 群では有意に高い発現率であった (Table 1)。これらの結果から、Dex の併用は MVAC 療法における好中球減少症を重篤化することが示唆された。また、Dex の投与日数が 1 日から 3 日に増えることで、より重篤である G4 の好中球減少症の発現率が増えたため、Dex による重篤な好中球減少症の発現率上昇作用には用量依存性が示唆された。次に、重篤な好中球減少症が認められた症例を対象に初めて重

篤な好中球減少症がみとめられた発現日について検討したところ、Dex (-)群 (n = 3) は 17.7 ± 2.1 日、Dex 1 day 群 (n = 11) は 15.1 ± 2.1 日、Dex multiday 群 (n = 6) は 13.2 ± 1.0 日と、Dex の投与日数が増えるに従い重篤な好中球減少症の発現日が早まる結果となり、Dex multiday 群と Dex (-) 群間においては有意な差が認められた (Table 2)。一方、Dex (-) 群、Dex 1 day 群および Dex multiday 群における MVAC 療法 1 クール目 (28 日間) の血液検査の平均実施回数はそれぞれ 11.3 ± 2.2 回、 11.4 ± 2.5 回、 10.0 ± 2.3 回と各群間において有意な差はみとめられなかったことから、血液検査の頻度が好中球減少症の発現日の差に影響を及ぼしたとは考えられなかった。

引き続き、重篤な好中球減少症発現に関連する臨床的な要因についてロジスティック回帰分析を用いて検討した。単変量ロジスティック回帰分析では、Dex 使用のみが有意差をもって重篤な好中球減少症発現に関連する臨床的な要因となった (Table 3)。

以上のことから Dex は MVAC 療法における好中球減少症に対し投与日数依存的に好中球減少症の重篤化し、発現時期を早期化することが示された。

Table 1 Severity of neutropenia in patients on the first course of MVAC chemotherapy

Neutropenia	Dex (-) (n = 6)	Dex 1 day (n = 12)	Dex multiday (n = 6)
G3 (%)	50.0	41.7	0
P value		1.0	0.18
G4 (%)	0	50.0	100.0
P value		0.054	0.002
G3/4 (%)	50.0	91.7	100.0
P value		0.08	0.18

P values are for G3,4 and G3/4 neutropenia with Dex (1 day or multiday) versus Dex (-), as determined by Fisher's exact test.

Table 2 Day of onset of first severe neutropenia in patients on the first course of MVAC chemotherapy

Neutropenia	Dex (-) (n = 3)	Dex 1 day (n = 11)	Dex multiday (n = 6)
Day of onset of severe neutropenia	17.7 ± 2.1	15.1 ± 2.1	13.2 ± 1.0
P value		0.113	0.008

Data are mean \pm SD. P values are for day of onset of severe neutropenia with Dex (1 day or multiday) versus Dex (-), as determined by ANOVA with post hoc Tukey's test.

Table 3 Risk factors associated with Grade 3/4 neutropenia among 24 patients undergoing MVAC therapy at first course, univariate logistic regression analysis

Variable	Incidence of severe neutropenia (%)	OR (95% CI)	P value
Dexamethasone	(+) : 94.4 (-) : 50.0	17.0 (1.3–223.1)	0.03
Age (>65 y)	(+) : 88.2 (-) : 71.4	3.0 (0.33–27.2)	0.33
Female	Female : 75.0 Man : 85.0	0.5 (0.04–7.0)	0.63
PS (>0)	(+) : 66.7 (-) : 85.7	0.3 (0.02–4.9)	0.42
Total bilirubin (>0.5 mg/dL)	(+) : 90.9 (-) : 76.9	3.0 (0.3–34.0)	0.38
BMI (<23 kg/m ²)	(+) : 84.6 (-) : 81.8	1.2 (0.1–10.5)	0.86

OR: odds ratio, PS: performance status, BMI: body mass index

Dex は急性期・遅発期の悪心・嘔吐に対して優れた制吐作用を有することから、がん化学療法における制吐療法ガイドラインにおいて、使用が推奨されている薬剤であるため、Dex を使用しない症例を追加することは倫理的に難しい。また 2009 年に発売となった標準的な制吐薬の一つである NK-1 阻害薬は Dex との薬物相互作用を有する薬剤でもあり、Dex 単独による好中球減少症への影響について臨床実地においてこれ以上の例数の追加や検討は困難であった。そこで、再現性の確認と機序の解明を目的として、cisplatin ならびに Dex を前処置した CD-1 マウスの大腿骨から抽出した骨髓細胞を用いて、CFC assay によって検討した。

Cisplatin 処置群の CFU-GM のコロニー数は 68.5 ± 11.7 個であり、コントロール群の 105 ± 14.3 個と比較して、有意な減少が認められたが、Dex 0.1 mg 単独群では CFU-GM のコロニー数は 106 ± 24.3 個とコントロール群と差が認められなかった。Cisplatin と Dex 0.1 mg 併用群では CFU-GM は 49.5 ± 6.3 個と cisplatin 処置群と比較して有意な減少が認められたが、低用量の 0.01 mg Dex 併用群では 71.3 ± 11.9 個と、cisplatin による CFU-GM のコロニー数と差が認められなかった(Figure 1)。以上のことから、Dex による CFU-GM のコロニー数の減少は高用量である 0.1 mg Dex 単剤では認めら

れず、cisplatin 併用により cisplatin 単剤時よりも増強されていたことから、高用量の Dex が cisplatin による CFU-GM のコロニー数の減少効果を増強することが示唆された。また、低用量である 0.01 mg Dex 併用時には、cisplatin 単剤時と差が認められなかったため、Dex による cisplatin の血球細胞毒性の増強作用は用量に依存することが示唆された。

本結果から、Dex 併用が MVAC 療法における好中球減少症を重篤化した機序の一つとして、骨髄内の造血幹細胞前駆細胞における cisplatin による血球細胞毒性を Dex が増強した可能性が考えられた。また、低用量の Dex では、この増強作用が認められなかったことから、Dex を減量することで、Dex 併用による好中球減少症の重篤化の影響を軽減できる可能性が考えられた。

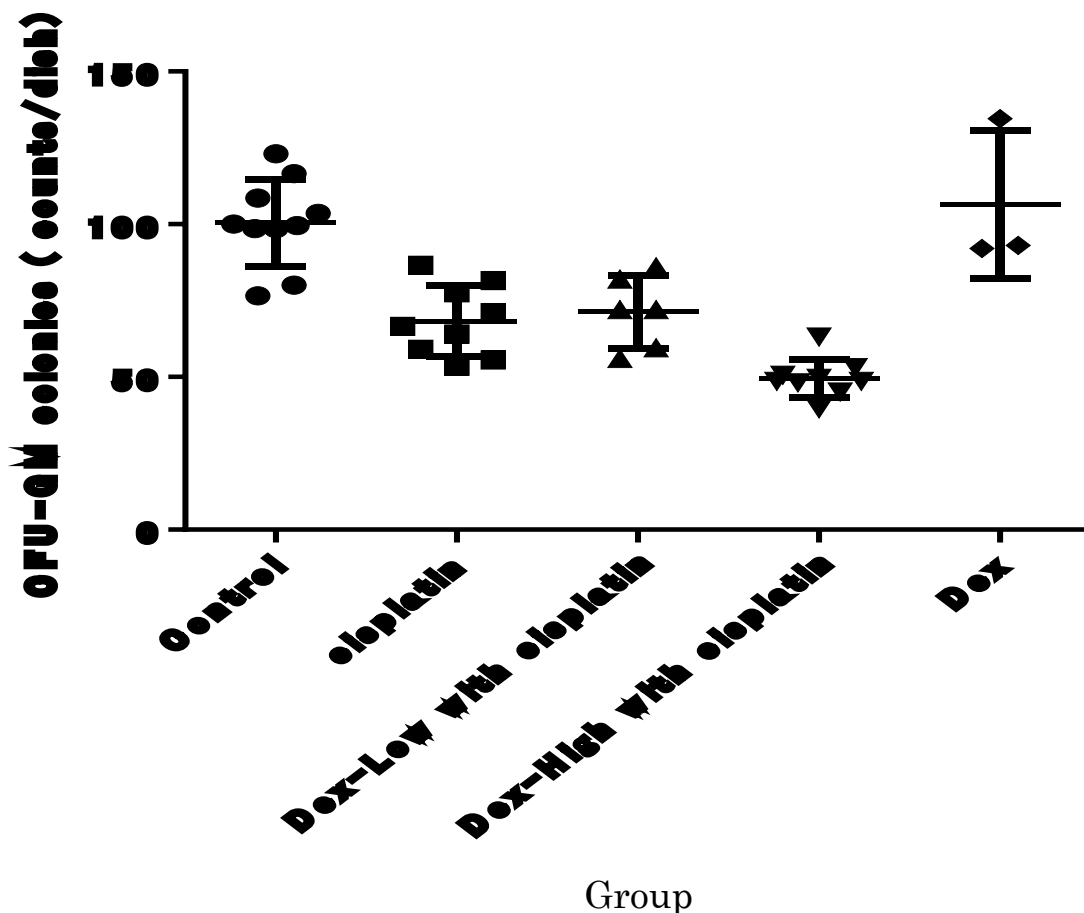


Figure 1 CFU-GM colony counts after treatment of drugs in CD-1 mice

Data are expressed as mean values \pm SEM of 3-10. Control group is no treatment (n=10). Cisplatin group is administrated 10 mg/kg cisplatin on day1 (n=9). Dex group is administrated 0.1mg/body dexamethasone on day1-5 (n=3). Dex-High group is administrated 10mg/kg cisplatin on day1 and 0.1mg/kg dexamethasone on day1-5 (n=9). Dex-Low group is administrated 10mg/kg cisplatin on day1 and 0.01mg/kg dexamethasone on day1-5 (n=6). All drugs are administered by intraperitoneal administration.

次に骨髄性白血病細胞である HL-60 細胞を用いて、Dex 併用時における cisplatin の細胞毒性の変化が血球細胞に対する直接的なものかを明らかにする目的で、MTT assay を行った。48 時間の Dex 単剤処置では、Dex の臨床用量による濃度と考えられる 0.1-100 nM の濃度範囲では MTT assay における細胞毒性は認められなかった。Cisplatin 単剤処置において cisplatin は用量依存的に細胞毒性を示し、IC₅₀ は 1.24 ± 0.078 μM であった。各濃度の Dex 併用により IC₅₀ の低下が認められ、特に 1 nM Dex を併用した場合の IC₅₀ は 0.85 ± 0.058 μM となり cisplatin 単剤処置と比較して約 30% の有意な低下を示した (Table 4)。

Dex 単剤では細胞毒性は変化せず、cisplatin 単剤と比較して cisplatin と Dex の併用により細胞毒性が増強した。ただ、その影響は cisplatin の IC₅₀ を最大でも約 30% 低下させるのみであったこと、また Dex による細胞毒性増強作用には用量依存性が認められなかったことから、その影響は小さいものと考えられた。

Table 4 Comparison of IC₅₀ values for Cisplatin with and without Dex in HL-60 cells

Dex (nM)	Cisplatin IC₅₀ (μM)	<i>p</i>
0	1.24 ± 0.078	---
0.1	0.96 ± 0.067	0.079
1	0.85 ± 0.058	0.005*
10	0.93 ± 0.067	0.054
100	1.11 ± 0.074	0.452

Data are expressed as mean values ± SEM of three independent experiments. Asterisks indicate significant difference from Dex 0 nM ($p < 0.05$).

【結論】

臨床研究の結果から、制吐薬として用いている Dex 併用が MAVC 療法における好中球減少症を重篤化し、発現を早期化する可能性が示唆された。また、その機序の1つとして cisplatin による血球細胞毒性を Dex が増強している可能性が CD-1 マウスと HL-60 細胞を用いた基礎研究により示唆された。重篤な好中球減少症はがん化学療法における抗がん薬の用量規制因子であり、Dex による好中球減少の重篤化は抗がん薬の治療強度の低下を招く可能性がある。一方で、低用量・低濃度の Dex ではその影響が小さくなるのが CD-1 マウス、HL-60 細胞を用いた検討では示唆された。がん化学療法施行中の患者で悪心・嘔吐

がコントロールできている場合は、Dex を減量・中止することでこれらの影響を軽減できる可能性が示された。本研究は、がん化学療法における制吐薬物療法に対して新たな知見を提供し、今後の制吐薬物療法を見直す一助となる重要なものと考えられる。

学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

MVAC (Methotrexate, Vinblastine, Adriamycin, Cisplatin) 療法におけるデキサメ
タゾン併用による好中球減少症の重篤化と機序の解明

2. 論文提出者 (1) 所属 生命科学 専攻

(2) 氏名 板井 進悟

3. 審査結果の要旨（600～650字）

申請者は、尿路上皮がんの標準療法のひとつのMVAC療法(methotrexate, vinblastine, adriamycin, cisplatin 併用)で高頻度にみられる悪心・嘔吐に対して、ガイドラインの推奨に従い制吐薬として dexamethasone (Dex)を導入した際に、好中球減少症の重篤度が増悪した症例の経験を端緒として、MVAC 療法による好中球減少症に対する Dex 及ぼす影響に関する後方視的コホート研究と CD-1 マウスおよび培養細胞 (HL-60)を用いた好中球減少症の重篤化の機序に関する研究を行った。その結果、臨床において制吐剤として用いられる Dex が MAVC 療法での好中球減少症を重篤化、早期化する可能性が示唆された。また、その機序の1つとして Dex が cisplatin による血球細胞毒性を増強している可能性が示唆された。重篤な好中球減少症は、がん化学療法における抗がん薬の用量規制因子であり、Dex による好中球減少の重篤化は抗がん薬の治療強度の低下を招く可能性がある。一方で、低用量・低濃度の Dex ではその影響が小さいことから、がん化学療法施行中の患者で悪心・嘔吐がコントロールできている場合は、Dex を減量・中止することでこれらの影響を軽減できる可能性が示された。

本研究は、がん化学療法時の制吐療法に一石を投じるもので、今後の制吐療法を見直す一助となる重要な研究と位置付けられることから、博士(薬学)に値するものと評価できる。

4. 審査結果 (1) 判定 (いずれかに○印) 合格 ・ 不合格

(2) 授与学位 博士(薬学)