

博士論文

新規抗がん剤及び先端巨大症治療薬の
前臨床研究から初期臨床開発における
ファーマコメトリクス解析の適用に関する研究

2023

薬剤学

飯田 浩之

目次

緒言.....	1
第 1 章 ONO-7579 の前臨床研究における PK/PD/Efficacy モデル解析	3
第 1 節 序論.....	3
1. 抗がん剤開発の課題.....	3
2. NTRK 融合遺伝子陽性がん.....	3
3. ONO-7579.....	4
第 2 節 方法.....	5
1. 試験方法.....	5
i. 単回投与試験 (PK/PD 評価)	5
ii. 反復投与試験 (有効性評価)	5
2. 解析方法.....	5
i. 血漿中及び腫瘍中 ONO-7579 濃度を表す PK モデル.....	6
ii. 腫瘍中 ONO-7579 濃度と腫瘍中 pTRK レベルの関係を表す PK/PD モデル.....	7
iii. 腫瘍中 pTRK 抑制率と腫瘍体積の関係を表す PD/Efficacy モデル.....	7
第 3 節 結果.....	9
1. 血漿中及び腫瘍中 ONO-7579 濃度.....	9
2. 腫瘍中 pTRK レベル.....	11
3. 腫瘍体積.....	13
第 4 節 考察.....	15
第 5 節 小括.....	16
第 2 章 先端巨大症患者における薬剤効果を予測する研究開発プラットフォームの構築 ...	17
第 1 節 序論.....	17
1. 非がん領域における新規医薬品の開発.....	17
2. 先端巨大症.....	17
3. バイオマーカーを用いた PK/PD 解析の適用.....	18
第 2 節 方法.....	19
1. 試験方法.....	20
i. ラット GHRH 刺激試験.....	20
ii. サル GHRH+アルギニン刺激試験.....	21
iii. ヒト GHRH+アルギニン刺激試験.....	22
2. 解析方法.....	23

第3節	結果.....	24
1.	ラット GHRH 刺激試験	24
2.	サル GHRH+アルギニン刺激試験	26
3.	ヒト GHRH+アルギニン刺激試験	28
4.	PK/PD 関係の比較	31
第4節	考察.....	32
第5節	小括.....	33
第3章	ONO-5788 の前臨床研究及び第1相試験における Pop PK 及び PK/PD 解析.....	34
第1節	序論.....	34
第2節	ラット GHRH 刺激試験.....	35
1.	方法.....	35
i.	試験方法.....	35
ii.	解析方法.....	35
2.	結果.....	37
i.	ONO-ST1-641 の PK/PD モデル.....	38
ii.	ONO-5788 の PK/PD モデル.....	39
iii.	PK/PD 関係の比較.....	40
第3節	ヒト GHRH+アルギニン刺激試験.....	41
1.	方法.....	41
i.	試験方法.....	41
ii.	解析方法.....	42
2.	結果.....	43
第4節	Pop PK モデルの構築.....	46
1.	解析方法.....	46
2.	結果.....	48
第5節	先端巨大症患者における投与量予測	52
第6節	考察.....	53
第7節	小括.....	54
総括.....		55
謝辞.....		56
実験の部.....		57
引用文献.....		62

用語及び略号一覧

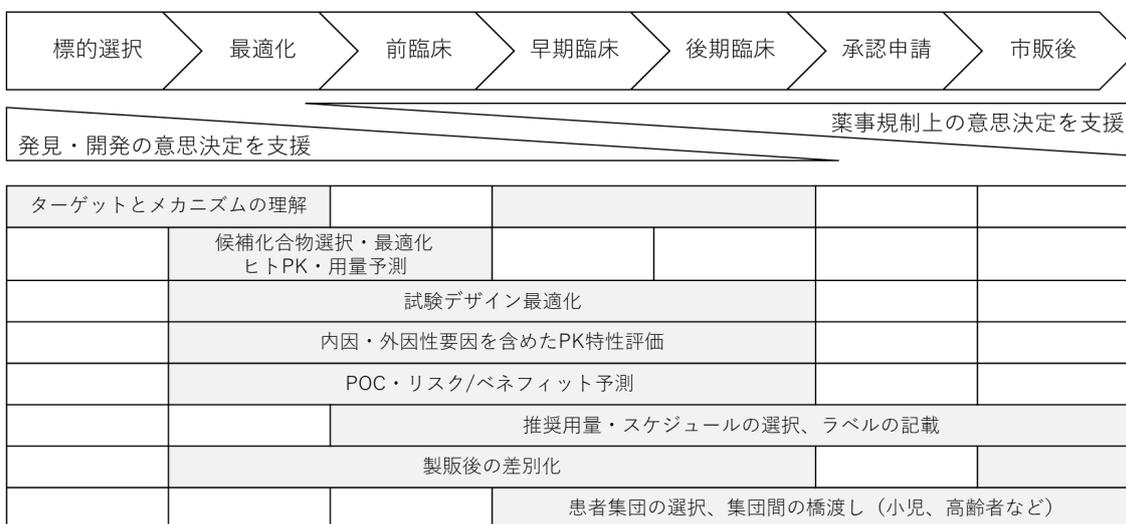
用語及び略号	定義	
ALAG	lag time	吸収のラグタイム
AUC	area under the blood concentration-time curve	血中濃度-時間曲線下面積
CL	clearance	クリアランス
CL/F	apparent clearance	見かけのクリアランス
Cmax	maximum plasma concentration	最大血漿中濃度
COV	covariate	共変量
Cp	plasma concentration	血漿中化合物濃度
Ct	tumor concentration	腫瘍中化合物濃度
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
E0	baseline value	ベースライン値
EC50	half maximal effective concentration	最大効果の半分を与える化合物濃度
Emax	maximum drug effect	最大効果
EPR	enhanced permeability and retention	血管透過性・滞留性亢進
E-R	exposure-response	暴露-反応
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GH	growth hormone	成長ホルモン
GHRH	growth hormone-releasing hormone	成長ホルモン放出ホルモン
Hill	hill coefficient	ヒル係数
IGF-1	insulin-like growth factor 1	インスリン様成長因子 1
Ka	absorption rate constant	吸収速度定数
Kel	elimination rate constant	消失速度定数
Kin	production rate constant	生成速度定数
Kout	elimination rate constant	消失速度定数
Ktd	tumor death rate constant	腫瘍縮小速度定数
Ktg	tumor growth rate constant	腫瘍増殖速度定数
LC/MS/MS	liquid chromatograph-mass spectrometry	液体クロマトグラフータンデム マススペクトロメトリー
LOESS	locally weighted scatterplot smoothing	平滑化曲線
M&S	modeling & simulation	モデリング&シミュレーション
MBMA	model-based meta analysis	モデルに基づくメタ解析

MIDD	model-informed drug development	数理モデルに基づいた医薬品開発
MTD	maximum tolerated dose	最大耐用量
NONMEM	nonlinear mixed effect model	非線形混合効果モデル
NTRK	neurotrophic tyrosine receptor kinase	神経栄養因子チロシンキナーゼ受容体遺伝子
PBPK	physiologically based pharmacokinetics	生理学的薬物動態
PD	pharmacodynamics	薬力学
PK	pharmacokinetics	薬物動態
Pop PK	population pharmacokinetics	母集団薬物動態
pTRK	phosphorylated tropomyosin receptor kinase	リン酸化トロポミオシン受容体キナーゼ
Q	inter-compartmental clearance	コンパートメント間の移行クリアランス
QSP	quantitative systems pharmacology	定量的システム薬理学
SE	standard error	標準誤差
SSTR	somatostatin receptor	ソマトスタチン受容体
TRK	tropomyosin receptor kinase	トロポミオシン受容体キナーゼ
V	distribution volume	分布容積
V/F	apparent distribution volume	見かけの分布容積
σ^2	variance of the residual variability	残差変動誤差
ω^2	variance of the interindividual variability	個体間変動誤差

緒言

新規開発化合物の研究開発における期間と費用は上昇する一方で、上市に至るまでの成功確率は依然として低いままであり、生産性の向上が急務である^{1,2)}。このような背景の下、米国食品医薬品局（FDA）が2004年にクリティカルパス・ホワイトペーパー³⁾を発表して以来、医薬品開発に定量的かつ統計的な評価手法を導入するため、数理モデルに基づいた医薬品開発（MIDD）が提唱されてきた^{4,5)}。MIDDとは、医薬品の研究開発プロセスを通じて定量的な意思決定を推進するため、医薬品の薬物動態、薬力学及び安全性などのプロファイルを数理モデルで解析し、その時点で得られている知見を定量的に統合するとともに、構築されたモデルから次相試験の試験デザインや実施の可否（Go or No-go）をシミュレーションに基づいて検討する創薬フレームワークのことである。

近年では、2016年に欧州製薬団体連合会のワーキンググループより公表されたホワイトペーパーにその適用が包括的に報告されている⁶⁾。標的探索から製造販売後までのあらゆる段階においてモデリング&シミュレーション（M&S）の手法が用いられており、①標的選択やメカニズムの理解、②候補化合物の最適化や臨床用量予測、③試験デザインの最適化、④薬物動態（PK）特性の予測と理解、⑤初期臨床反応からのリスク&ベネフィットの比較と転機の予測、⑥用法用量の設定と添付文書の記載事項、⑦競合や標準療法との差別化と商品化戦略、⑧対象集団の選択と集団間のブリッジングなどに活用されている。



医薬品開発とモデルに基づく情報の活用（参考文献6より引用改変）

また、当ホワイトペーパーでは、従来から広義に用いられていた M&S を、システムファーマコロジーとファーマコメトリクス の 2 つに定義している。前者は生理学的薬物動態 (PBPK) や定量的システム薬理学 (QSP) に代表され、生体システムを表現する数理モデルを構築することにより、生理学的・生物学的な意味を持った解析が可能となる。未知の条件に対して予測できるという利点がある一方、モデル構築の複雑さやパラメータの妥当性検証の困難さが課題となる手法である。後者は母集団薬物動態 (Pop PK)、暴露-反応 (E-R)、モデルに基づくメタ解析 (MBMA) に代表される、得られたデータの特徴をモデルと統計的な手法を用いて抽出、定量化する手法である。解析結果の妥当性や予測性は使用したデータの範囲に限定されてしまうものの、モデルの頑健性は実データで保障され、比較的単純な経験モデルを使用するため扱いやすいという特徴がある。この両アプローチは相互に補完しあう関係にあり、目的に応じて活用することが重要である (Fit-for-purpose)。

これらの手法による MIDD の適用は、開発の後期段階では、薬事規制上の意思決定を支援するという目的から承認申請に積極的に活用されている⁷⁾。一方で、初期研究開発段階においては、製薬企業内部での意思決定を支援するという目的のため、依然として MIDD の理解と適用に組織間でのギャップが存在するという課題がある^{8,9)}。MIDD の普及は欧米と比較して本邦で遅れているとも言われており、ドラッグ・ラグやドラッグ・ロスを加速させる要因となる恐れもある。MIDD の適用は、標的や疾患領域、候補化合物のモダリティなどの特性の違いによっても異なると考えられ、さらなる事例の蓄積が必要である。そこで本研究では、臨床開発の進め方が大きく異なる抗がん剤領域と非抗がん剤領域それぞれに対して、新規開発化合物の前臨床研究～初期臨床開発においてファーマコメトリクス解析を適用し、新規医薬品開発の生産性向上のための MIDD の確立の一助とすることを目的とした。

本博士論文は 3 章から構成される。第 1 章では、抗がん剤開発で課題となっている至適用量の設定に寄与すべく、新規トロポミオシン受容体キナーゼ (TRK) 阻害剤である ONO-7579 を担がんマウスに投与したときの、投与から抗腫瘍効果発現までの一連の挙動を数理モデルで記述することにより、有効性の指標となるバイオマーカーに基づいた臨床用量設定の根拠を見出すことを試みた。第 2 章及び第 3 章では、健康成人を対象として初期臨床開発が行われる疾患として先端巨大症に着目し、第 2 章では動物及び健康成人から先端巨大症患者に有効な用量を予測するための評価系を構築すべく、動物及び健康成人にモデル薬物であるオクトレオチドを投与したときの暴露と反応の関係を数理モデルで記述し、先端巨大症患者の既知情報と定量的な比較評価を行った。第 3 章では、第 2 章で構築した系を用いて、新規ソマトスタチン受容体 (SSTR) 2 作動薬である ONO-5788 の第 1 相試験成績から数理モデルを構築し、先端巨大症患者に有効性を示すために必要な用量のシミュレーションを実施した。以下に得た知見を論述する。

第 1 章 ONO-7579 の前臨床研究における PK/PD/Efficacy モデル解析

第 1 節 序論

1. 抗がん剤開発の課題

抗がん剤の第 1 相試験は、健康な被験者ではなくがん患者を対象として開始され、その主要な目的は用量制限毒性に基づいた最大耐用量（MTD）及び次相以降の試験で用いる推奨用量を決定することである¹⁰⁾。抗がん剤領域は速やかな臨床開発のニーズが高いため、第 1 相試験で設定した拡大コホートにおいて探索的に有効性及び安全性を評価することにより第 2 相試験を省略したり、第 2 相試験と第 3 相試験を一つの試験として実施したりするなど、速やかに検証試験に移行する場合がある。多くの場合、第 1 相試験と検証試験の間に用量設定試験は実施されず、また検証試験では 1 用量のみが検討され、複数用量の無作為化比較試験は実施されない。このような MTD に基づいた用量設定は、歴史的に細胞障害性の抗がん剤開発に適切であったが、近年の分子標的薬においては、十分に有効性を示す用量よりも高い用量が選択され、結果として有害事象の発現リスクを高めてしまうという課題がある¹¹⁾。実際、2010～2015 年に FDA に承認された新規抗がん剤 41 剤の約 27% に対して、承認された用法用量に関する疑念により市販後義務調査／市販後コミットメント調査が発出され、至適な用法用量を同定するための追加の臨床試験や解析が要求されている¹²⁾。この課題に対する方策の 1 つに、バイオマーカーを利用して生物学的に有効な用量を求めるアプローチがある。このような有効性の指標となるバイオマーカーには、標的結合マーカーや薬力学マーカー、腫瘍マーカーなどが考えられ、低分子化合物やモノクローナル抗体の臨床開発において MTD より低い用量が選択された事例が報告されている¹³⁾。

2. NTRK 融合遺伝子陽性がん

神経栄養因子チロシンキナーゼ受容体遺伝子（NTRK1、NTRK2、NTRK3）は、トロポミオシン受容体キナーゼ（TRKA、TRKB、TRKC）タンパク質をコードし、神経細胞の分化及び生存維持、生理的機能の発現に関わっている¹⁴⁾。NTRK 遺伝子と他の遺伝子の融合が起こると TRK 融合タンパク質が生じ、TRK 融合タンパク質を発現する腫瘍細胞は恒常的に TRK キナーゼ及び下流のシグナル伝達経路が活性化されるため、過剰増殖及び生存延長が促進される¹⁵⁾。このように NTRK 融合遺伝子はドライバー遺伝子の一つと考えられており、TRK 阻害剤であるエヌトレクチニブ及びラロトレクチニブが NTRK 融合遺伝子陽性の固形がん患者を対象とした臨床試験において良好な治療効果を示し、各国で承認されている^{16,17)}。一方で、これら TRK 阻害剤を使用し続けることにより、LMNA-NTRK1 や ETV6-NTRK3 の後天的な遺伝子変異により薬剤耐性を獲得することが報告されており^{18,19)}、それら耐性がんにも有効な第 2 世代の TRK 阻害剤の開発が望まれている²⁰⁾。

3. ONO-7579

ONO-7579 は TRK 阻害作用を持つ新規の低分子化合物であり、NTRK 融合遺伝子陽性がん及び報告された耐性がんに有効な第 2 世代の治療薬として期待される²¹⁾。Fig. 1-1 に ONO-7579 の構造式を示した。

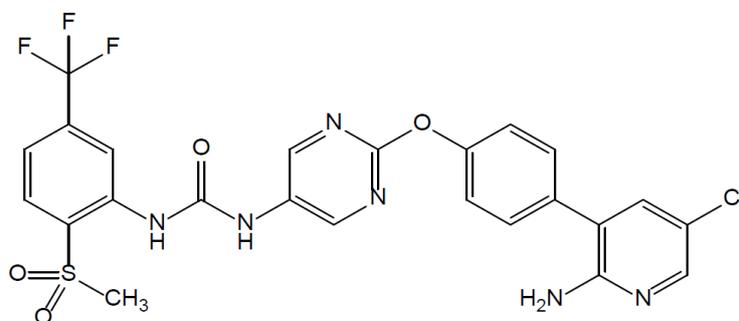


Fig. 1-1 Structural formula of ONO-7579

TRK 受容体にリガンドが結合すると、受容体の二量体化とそれに続くキナーゼドメインのリン酸化が起こり、下流の細胞内シグナル伝達を誘発する²²⁾。そのため、リン酸化 TRK (pTRK) は、ONO-7579 が TRK に結合し阻害したことを示す標的結合のバイオマーカーとなり得ると考えられた。例えば、BRAF 阻害剤であるダブラフェニブは、第 1 相試験にて ERK 経路阻害の指標として腫瘍中のリン酸化 ERK レベルを測定し、次相試験の推奨用量決定に活用している²³⁾。

本研究は、標的結合マーカーである腫瘍中の pTRK レベルを有効性の指標として臨床試験の用量設定に活用するための根拠を得るため、担がんマウスに ONO-7579 を投与したときの抗腫瘍効果発現までの一連の挙動を PK/PD モデルで解析することにより、腫瘍増殖抑制と pTRK 抑制率の関係を定量的に示すことを目的とした。

第2節 方法

1. 試験方法

ONO-7579 を KM12 細胞 (TPM3-NTRK1 融合遺伝子を保有するヒト大腸がん細胞株²⁴⁾) を皮下移植したヌードマウスに経口投与した。血漿中 ONO-7579 濃度、腫瘍中 ONO-7579 濃度、及び腫瘍中 pTRK レベルの経時変化 (PK/PD) の評価を目的とした単回投与試験と、腫瘍体積の経時変化 (有効性) の評価を目的とした反復投与試験を実施した。以下に各試験の詳細を示した。

i. 単回投与試験 (PK/PD 評価)

KM12 細胞を皮下移植後、腫瘍体積が 150~600 mm³ に達した時点で各用量各時点 4 例に群分けした。ONO-7579 を 0.06 又は 0.6 mg/kg で単回経口投与し、Control 群については vehicle を含めて投与を行わなかった。0.06 mg/kg 群については投与 2、4、7 及び 24 時間後に、0.6 mg/kg 群については投与 2、4、7、24、38 及び 48 時間後に血液及び腫瘍を採取した。また、血漿中濃度データを補うため、腫瘍の移植をしていないマウスに ONO-7579 を各群 3 例に 0.1、0.3 又は 1.0 mg/kg で単回投与し、1、2、4、8 及び 24 時間後に血液を採取した。

ii. 反復投与試験 (有効性評価)

KM12 細胞を皮下移植後、腫瘍体積が 80~200 mm³ に達した時点で各用量群 8 例に群分けした。群分け日を Day 0 とし、vehicle 又は ONO-7579 を 0.06、0.2 又は 0.6 mg/kg で 1 日 1 回 12 日間反復経口投与した。腫瘍体積は Day 0、2、5、7、10、12 に測定し、最終評価日 (Day 12) の投与 4 及び 24 時間後に血液及び腫瘍を採取した。

2. 解析方法

単回投与試験及び反復投与試験で得られた血漿中 ONO-7579 濃度、腫瘍中 ONO-7579 濃度、腫瘍中 pTRK レベル及び腫瘍体積データを統合し、ONO-7579 の投与から抗腫瘍効果発現までの一連の挙動を表現する PK/PD/Efficacy モデルを構築した。モデルの概念図を Fig. 1-2 に示した。PK/PD/Efficacy モデルは、血漿中 ONO-7579 濃度を表す PK モデル、腫瘍中 ONO-7579 濃度を表す PK モデル、腫瘍中 ONO-7579 濃度と腫瘍中 pTRK レベルの関係を表す PK/PD モデル、腫瘍中 pTRK 抑制率と腫瘍体積の関係を表す PD/Efficacy モデルの順に逐次的に構築した。以下に各モデルの詳細を示した。

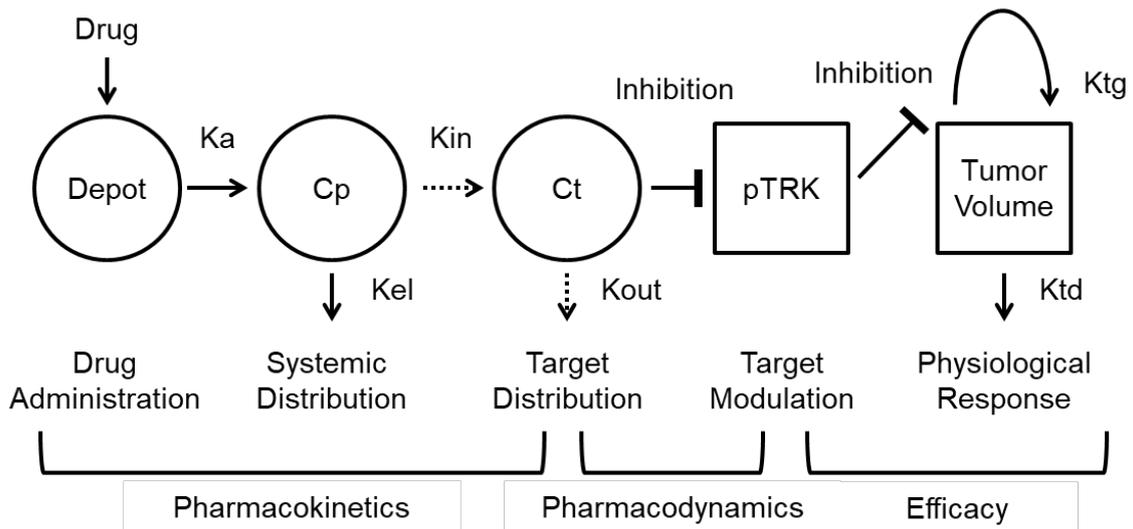


Fig. 1-2 Graphical abstract of PK/PD/Efficacy models

i. 血漿中及び腫瘍中 ONO-7579 濃度を表す PK モデル

血漿中 ONO-7579 を表すモデルとして 1 次吸収を伴う 1-コンパートメントモデルを当てはめた (式 1, 2)。血漿から腫瘍への移行パラメータについては、2-コンパートメントモデルとして血漿からの消失と分離して推定することが困難であった。そのため、腫瘍コンパートメントは血漿コンパートメントに影響しない仮想のコンパートメントとして表した (式 3)。

$$\frac{dX1}{dt} = -Ka \times X1 \quad \text{(式 1)}$$

$$\frac{dX2}{dt} = Ka \times X1 - Kel \times X2 \quad (-Kin \times X2) \quad \text{(式 2)}$$

$$\frac{dX3}{dt} = Kin \times X2 - Kout \times X3 \quad \text{(式 3)}$$

X1 : 投与コンパートメントにおける ONO-7579 量

X2 : 血漿コンパートメントにおける ONO-7579 量

X3 : 腫瘍コンパートメントにおける ONO-7579 量

Ka : 吸収速度定数

CL/F : 見かけのクリアランス

V/F : 見かけの分布容積

Cp : 血漿中 ONO-7579 濃度 (Cp = X2/V/F)

Kel : 消失速度定数 (Kel = CL/V)

Kin : 血漿コンパートメントから腫瘍コンパートメントへの移行速度定数

Kout : 腫瘍コンパートメントから血漿コンパートメントへの移行速度定数

ii. 腫瘍中 ONO-7579 濃度と腫瘍中 pTRK レベルの関係を表す PK/PD モデル

腫瘍中 ONO-7579 濃度と腫瘍中 pTRK レベルの関係を表す PK/PD モデルとして、直接反応モデルを当てはめ、腫瘍中 pTRK レベルは control 群 (vehicle 群) の平均値に対する百分率として解析に用いた。(式 4)。

$$R = \left(1 - \frac{Emax_R \times Ct^{Hill_R}}{EC50_R^{Hill_R} + Ct^{Hill_R}} \right) \times \frac{100}{\text{control 群の平均値}} \quad (\text{式 4})$$

R : 腫瘍中 pTRK レベル

Ct : 腫瘍中 ONO-7579 濃度

Emax_R : 腫瘍中 pTRK レベルの最大阻害値

Hill_R : 腫瘍中 pTRK レベルの Hill 係数

EC50_R : 腫瘍中 pTRK レベルの 50%阻害に必要な腫瘍中 ONO-7579 濃度

iii. 腫瘍中 pTRK 抑制率と腫瘍体積の関係を表す PD/Efficacy モデル

1 次の腫瘍増殖速度及び腫瘍縮小速度を仮定し、腫瘍増殖は腫瘍中 pTRK 抑制率によって抑制されるとした腫瘍増殖抑制モデルを構築した(式 5)。Vehicle 群において Day 0 と比較して Day 2 に一時的な腫瘍の縮小が認められたため、Day 2 までの一時的な腫瘍縮小効果を組み込んだ。

$$\frac{dT}{dt} = Ktg \times \left(1 - \frac{Emax_T \times (100 - R)^{Hill_T}}{EC50_T^{Hill_T} + (100 - R)^{Hill_T}} \right) \times TEMP \times T - Ktd \times T \quad (\text{式 5})$$

T : 腫瘍体積

Ktg : 腫瘍増殖速度定数

Ktd : 腫瘍縮小速度定数

Emax_T : 腫瘍増殖速度の最大阻害値

EC50_T : 腫瘍増殖速度の 50%阻害に必要な pTRK 抑制率

Hill_T : 腫瘍増殖速度阻害の Hill 係数

TEMP : Day 2 までの一時的な腫瘍増殖抑制率

PK/PD/Efficacy モデルは、非線形混合効果モデルを用いて構築した。解析プログラムには NONMEM version 7.1.2 (ICON Development Solutions) を、推定アルゴリズムとして FOCE-INTER 法を用いた。

1 個体から複数時点のデータが得られた場合（血漿中濃度データ、腫瘍体積データ）、各パラメータの個体間変動の誤差モデルとして下記の対数誤差モデルを仮定した。

$$p_i = \theta \times \exp(\eta_i) \quad (\text{式 6})$$

ここで、 p_i は個体 i のパラメータ値、 θ は母集団の平均パラメータ値、 η_i は個体 i の個体間変動であり、平均が 0 で分散が ω^2 の正規分布に従うものとする。

残差変動の誤差モデルは、いずれのモデルも下記の比例誤差モデルを仮定した。

$$y_{ij} = \hat{y}_{ij} \times (1 + \varepsilon_{ij}) \quad (\text{式 7})$$

ここで、 y_{ij} は個体 i の j 番目の実測値を、 \hat{y}_{ij} は推定値を示す。 ε_{ij} は平均が 0 で分散が σ^2 の正規分布に従うものとする。

NONMEM 解析では、あるパラメータを特定の値に固定した時としなかった時の目的関数値の差はカイ二乗分布に従い、自由度 f は固定したパラメータ数に等しくなる。このことから、モデル候補を選択する際の判定には、モデル候補間の目的関数値の差が $f=1$ の時の有意水準 1%での棄却限界値である 6.63 以上の場合、そのモデルは統計的に有意に改善したと判定した。

各最終モデルの当てはまりを確認するために、実測値と最終モデルに基づいたシミュレーションの 90%予測区間を視覚的に比較評価した。シミュレーションは実施した試験における例数に基づいて行い、反復回数を 1000 回とした。

第3節 結果

1. 血漿中及び腫瘍中 ONO-7579 濃度

マウスに ONO-7579 を経口投与したときの、血漿中 PK パラメータ推定値を Table 1-1 に、腫瘍中 PK パラメータ推定値を Table 1-2 に、単回投与後 48 時間（正常マウスは 24 時間）及び反復投与最終日における投与後 24 時間の血漿中濃度及び腫瘍中濃度の実測値及びモデルによる予測値を Fig. 1-3 に示した。

マウスに ONO-7579 を単回経口投与したとき、血漿中 ONO-7579 は投与後約 2 時間で Cmax に到達し、半減期は約 4 時間であった。検討した用量範囲において血漿中 ONO-7579 濃度は用量に比例して増加し、反復投与による累積は認められなかった。腫瘍中 ONO-7579 濃度は血漿中と異なり、単回投与後約 7 時間で Cmax に到達し、反復投与後の腫瘍中トラフ ONO-7579 濃度は血漿中 ONO-7579 濃度の 10 倍以上であった。

PK モデルの構築において、担がんマウスのデータ（初回採血時点が 2 時間）では Ka を適切に推定することができなかつたため、別途取得した正常マウスの血漿中濃度（初回採血時点が 1 時間）を含めた。いずれの PK パラメータにも個体間変動は組み込まれず、正常マウスと担がんマウスとの間の薬物動態に差は認められなかった。構築した PK モデルによるシミュレーションの結果、実測値はほぼモデルの予測区間に含まれ、良好に実測値を反映した。

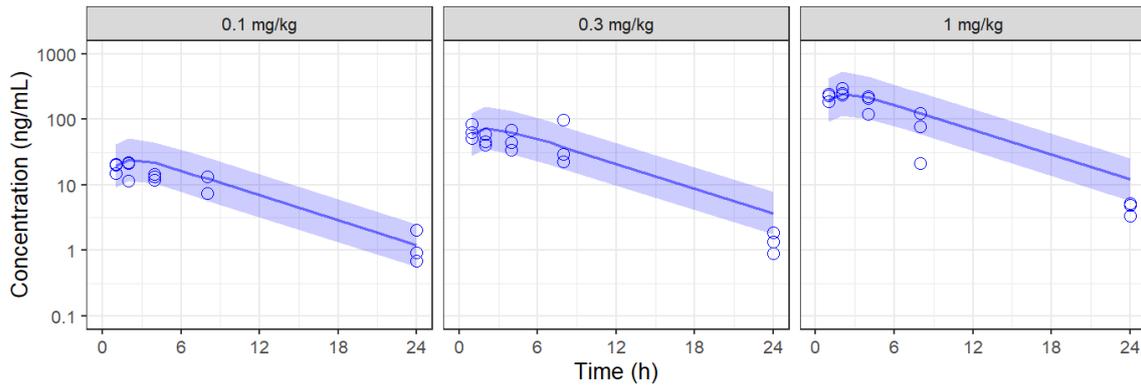
Table 1-1 PK parameter estimates for plasma ONO-7579 in KM12 xenograft or normal mice

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
Ka (h ⁻¹)	0.991	19.5
CL/F (L/h/kg)	0.426	4.8
V/F (L/kg)	2.93	5.9
Residual variability		
σ ² (proportional)	0.207	12.9

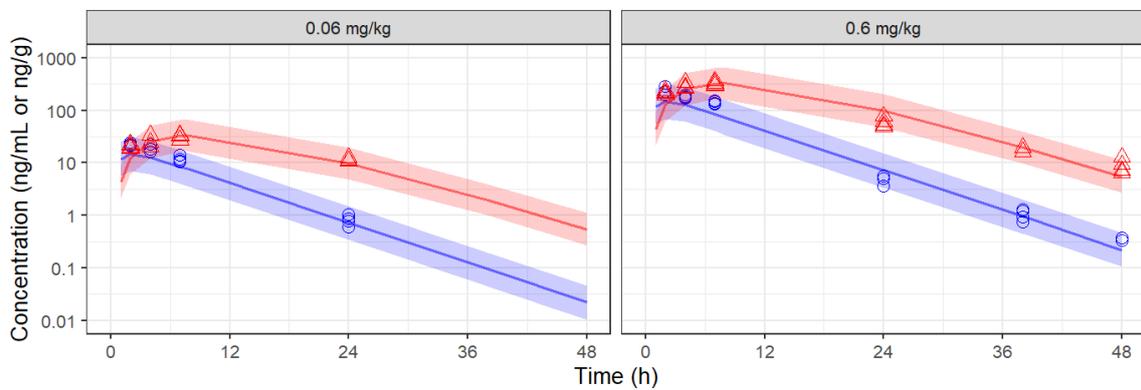
Table 1-2 PK parameter estimates for tumor ONO-7579 in KM12 xenograft mice

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
Kin (h ⁻¹)	0.228	7.9
Kout (h ⁻¹)	0.156	5.7
Residual variability		
σ ² (proportional)	0.185	15.9

(A) Single administration (normal mice)



(B) Single administration (KM12 xenograft mice)



(C) Multiple administration (KM12 xenograft mice)

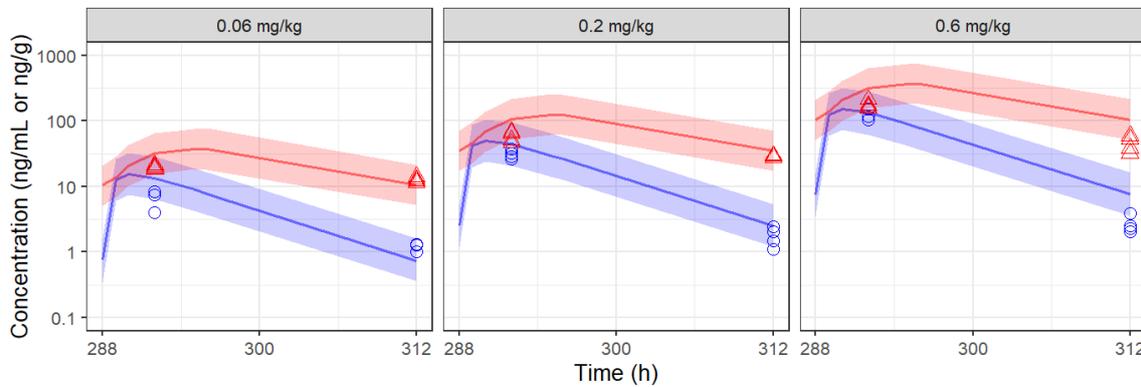


Fig. 1-3 Observed and model-predicted plasma and tumor concentrations of ONO-7579 after single administration of ONO-7579 in normal mice (A), in KM12 xenograft mice (B), or after multiple administration of ONO-7579 in KM12 xenograft mice (C).

Circles represent observed plasma concentrations, blue lines represent median predicted plasma concentrations, and blue areas are 90% prediction intervals of predicted plasma concentrations. Triangles represent observed tumor concentrations, red lines represent median predicted tumor concentrations, and red areas are 90% prediction intervals of predicted tumor concentrations.

2. 腫瘍中 pTRK レベル

マウスに ONO-7579 を経口投与したときの、腫瘍中 pTRK レベルのパラメータ推定値を Table 1-3 に、単回投与後 48 時間及び反復投与最終日における投与後 24 時間の腫瘍中 pTRK レベルの実測値及びモデルによる予測値を Fig. 1-4 に、腫瘍中 ONO-7579 濃度と pTRK レベルの関係を Fig. 1-5 に示した。

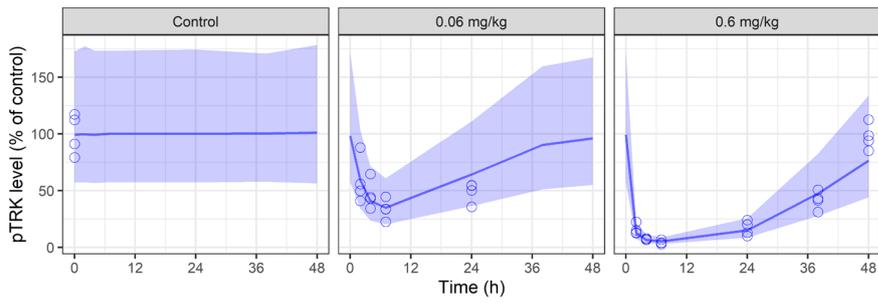
マウスに ONO-7579 を単回経口投与したとき、腫瘍中 pTRK レベルは投与後約 7 時間で阻害の最大値を示し、時間の経過に伴って阻害作用は減弱した。また、ONO-7579 の用量に応じて阻害作用が増強した。ONO-7579 を 1 日 1 回反復経口投与したときも同様に ONO-7579 の用量に応じて阻害作用が増強し、0.6 mg/kg の用量では 90%以上の阻害作用の持続が認められた。

モデル構築において、腫瘍中 ONO-7579 濃度と腫瘍中 pTRK レベルをプロットしたところ薬物濃度と効果反応の時間のズレを示すヒステリシスは認められなかったことから、両者には直接的な相関があることが推察された。0.6 mg/kg 群において腫瘍中 pTRK レベルはほぼ完全に抑制されたことから E_{max} は 1 に固定した。また、Hill 係数を推定した場合に目的関数値の有意な低下は認められなかったため、1 に固定した。その結果、 EC_{50} は 17.6 ng/g と推定された。構築した PK/PD モデルによるシミュレーションの結果、実測値はほぼモデルの予測区間に含まれ、良好に実測値を反映した。

Table 1-3 PK/PD parameter estimates for tumor ONO-7579 in KM12 xenograft mice

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
E_{maxR}	1 (Fixed)	-
EC_{50R} (ng/g)	17.6	6.5
$HillR$	1 (Fixed)	-
Residual variability		
σ^2 (proportional)	0.114	14.2

(A) Single administration



(B) Multiple administration

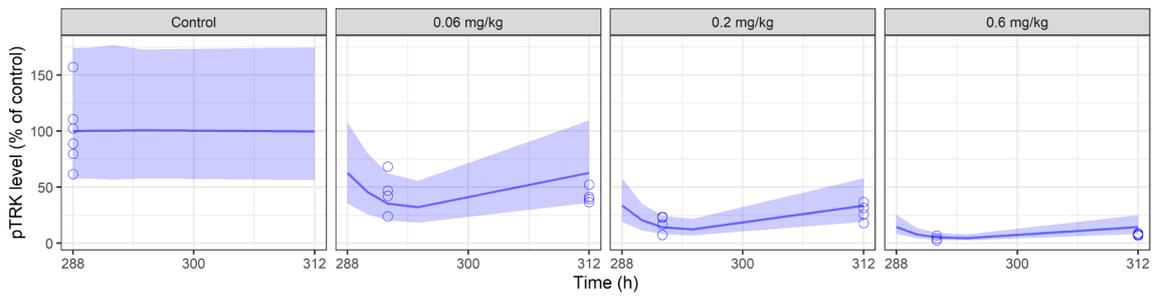


Fig. 1-4 Observed and model-predicted pTRK levels after single (A) or multiple (B) administration of ONO-7579 in KM12 xenograft mice.

Symbols represent observed pTRK levels, lines represent median predicted pTRK levels, and areas are 90% prediction intervals.

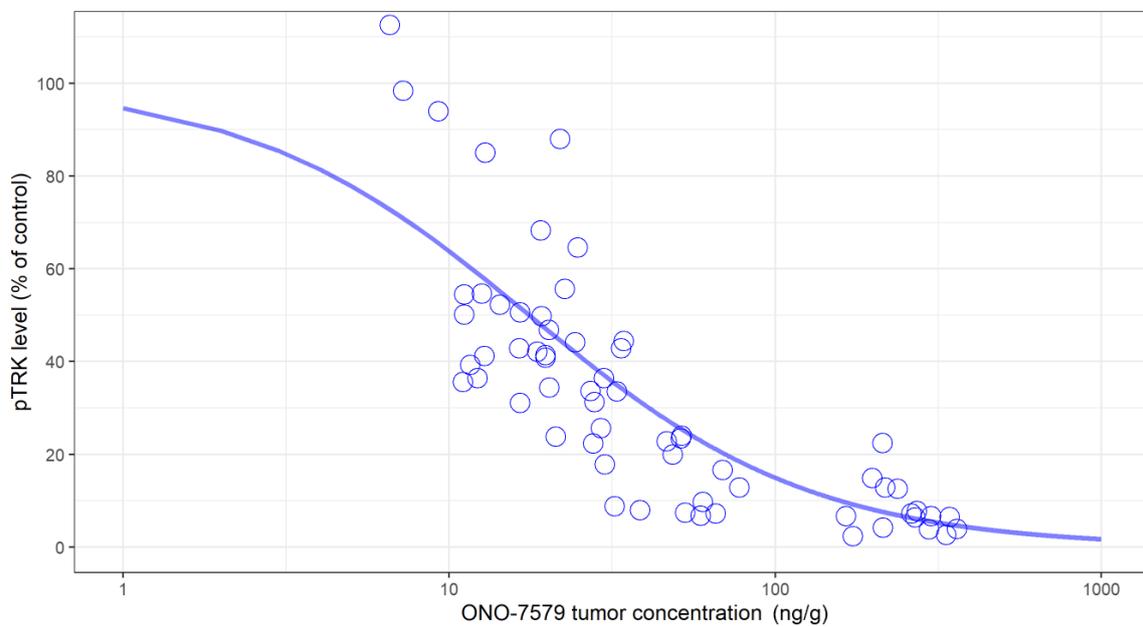


Fig. 1-5 PK/PD relationship between pTRK and tumor concentrations of ONO-7579.

Symbols represent observed pTRK levels, lines represent median predicted pTRK levels.

3. 腫瘍体積

マウスに ONO-7579 を経口投与したときの、腫瘍体積のパラメータ推定値を Table 1-4 に、反復投与後 12 日間の腫瘍体積の実測値及びモデルによる予測値を Fig. 1-6 に、見かけの腫瘍増殖速度定数と腫瘍中 pTRK 抑制率の関係を Fig. 1-7 に示した。

マウスに vehicle を投与したとき、腫瘍体積は Day 2 以降経日的に増加した。ONO-7579 を 1 日 1 回経口投与したとき、0.06 mg/kg 群においては vehicle 群と比較して差は認められなかったものの、0.2 mg/kg 及び 0.6 mg/kg 群の腫瘍体積はいずれも vehicle 群と比べて低く推移し、有意な腫瘍増殖抑制が認められた。

モデル構築において、Emax は推定できなかったため 1 に固定した。個体間変動は Ktd に組み込まれた。構築した PD/Efficacy モデルによるシミュレーションの結果、腫瘍体積の実測値はほぼモデルの予測区間に含まれ、良好に実測値を反映した。モデルより推定した見かけの腫瘍増殖速度定数と腫瘍中 pTRK 阻害率の関係を評価した結果、60%以下の腫瘍中 pTRK 阻害率ではほとんど腫瘍増殖抑制に寄与しないものの、それ以上の阻害率で急峻に効果を示しはじめ、腫瘍増殖を完全に抑制するためには 91.5%以上の阻害率を維持することが必要であると予測された。

Table 1-4 PD/Efficacy parameter estimates for tumor ONO-7579 in KM12 xenograft mice

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
Emax _T	1 (Fixed)	-
EC50 _T (%)	91.3	3.6
Hill _T	9.35	27.7
Ktg (h ⁻¹)	0.0198	15.7
Ktd (h ⁻¹)	0.00983	30.0
TEMP	0.272	49.6
Inter-individual variability		
ω ² on Ktd	0.0151	77.5
Residual variability		
σ ² (proportional)	0.0234	19.4

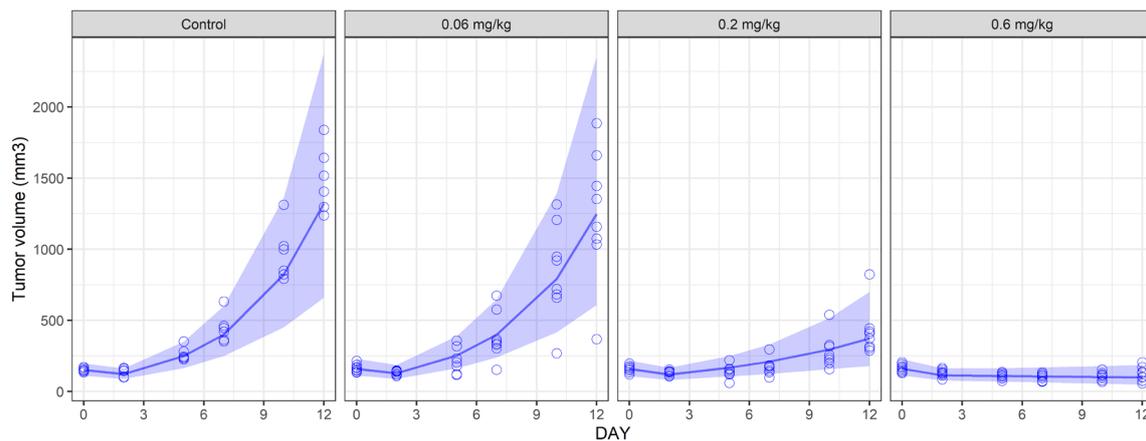


Fig. 1-6 Observed and model-predicted tumor volumes after multiple administration of ONO-7579 in KM12 xenograft mice.

Symbols represent observed tumor volume, solid lines represent median predicted tumor volume, and areas are 90% prediction intervals.

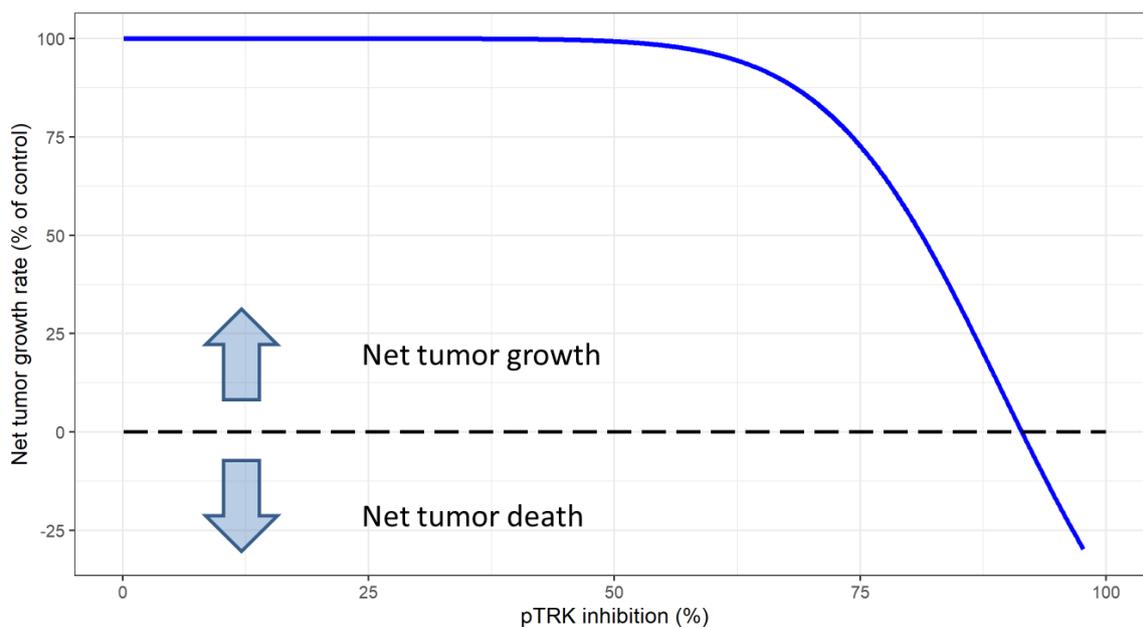


Fig. 1-7 Simulated net tumor growth rate and pTRK inhibition.

Dashed lines represent an apparent tumor growth rate of 0.

第4節 考察

マウスに ONO-7579 を経口投与したとき、腫瘍中の ONO-7579 濃度は血漿中よりも高いことが示された (Fig. 1-3)。通常、血管から組織に分布するのは非結合型薬物であるが、ONO-7579 の血漿タンパク結合率は 99.9%と非常に高いにも関わらず、腫瘍組織に十分分布した。このような特性を示した理由として、一つは Enhanced Permeability and Retention (EPR) 効果が考えられる。腫瘍周囲の新生血管は不完全であるため、アルブミンなどのタンパク質と強固に結合できるような化合物は血管壁を抜けて組織中へと透過することが可能であり、また腫瘍ではリンパ組織も成熟していないため組織中の異物を排除することができず、結果として血中から漏れだした高分子薬剤は腫瘍組織中に貯留する現象が知られている²⁵⁾。また、ONO-7579 は構造式にアミノピリジン基を持つ弱塩基性化合物であり (Fig. 1-1)、リソソーム指向性の挙動を示した可能性も考えられる。血中では主に分子型として存在する塩基性化合物は濃度勾配によって容易に組織の細胞膜を通過し細胞内に分布することができるが、その後リソソーム内に取り込まれると、リソソームの内腔は pH 5 前後に酸性化されているため化合物のイオン形分率が増加し、その結果水溶性が上昇することによりリソソーム膜への透過性が低下し、内腔側に集積することが知られている²⁶⁾。したがって、これらの機序が腫瘍内での ONO-7579 の蓄積に寄与した可能性が考えられる。このような ONO-7579 の特性から、臨床試験において血漿中 ONO-7579 濃度は有効性の指標にはならず、腫瘍組織内での挙動を理解しなければならないことが示唆された。

血漿から腫瘍への分布に遅延が認められたが、腫瘍中 ONO-7579 濃度及び pTRK レベルの関係にヒステリシスは認められず、直接阻害 Emax モデルで良好に記述された (Fig. 1-5)。追加の解析として、pTRK 阻害の時間遅れを表現する間接反応モデル²⁷⁾を検討したところモデルの当てはまりは改善しなかった (結果は非掲載)。受容体チロシンキナーゼのリン酸化はシグナル伝達の第一段階であることから²²⁾、標的となる腫瘍組織における ONO-7579 濃度と直接相関することは妥当であると考えられた。

担がんマウスにおける腫瘍増殖モデルについては多くの報告がある²⁸⁾。反復投与試験で観察した 12 日間ではマウスの腫瘍体積は指数関数的に増加したため (Fig. 1-6)、腫瘍増殖の頭打ちモデル^{29, 30)}は適用せず、単純な 1 次増殖 1 次消失のモデルを適用した。一方で、vehicle 群を含むすべての群において、投与 2 日後の観察時にわずかな腫瘍の縮小が認められた。この原因は不明であるが、腫瘍細胞移植後 3 日目に試験を開始したため、移植部位に残存していた移植細胞懸濁液や注射部位の炎症が投与 2 日後の腫瘍体積測定に影響してしまった可能性が考えられた。PD/Efficacy モデルの構築において、Ktg に 2 日目までの一時的な腫瘍抑制効果 (TEMP) を組み込んだ場合、モデル選択の指標となる目的関数値の有意な減少が認められたため、当該パラメータによりモデルが統計的に有意に改善したと判断し、

TEMP を組み込んで最終モデルとした (式 5)。モデルの予測値は実測値を正確に反映していたことから、ONO-7579 の抗腫瘍効果は適切に評価できたと考えられた。

構築した PD/Efficacy モデルにより、ONO-7579 の抗腫瘍効果は pTRK 阻害率が 60%以下ではわずかであるものの、60%を超えると急激に増強することを定量的に示した (Fig. 1-7)。この結果は、他のいくつかのキナーゼ阻害剤でも報告されているように³¹⁻³⁴⁾、抗腫瘍効果を発揮するための pTRK 阻害率にはスイッチ様の閾値があることを示している。また、既存の TRK 阻害剤には薬剤耐性が報告されていることを考慮すると^{18, 19)}、定常状態トラフにおいて pTRK レベルを完全に (腫瘍が縮小する 91.5%以上) かつ持続的に阻害することが望ましいと考えられた。得た知見は、ONO-7579 の第 1 相試験において腫瘍中の pTRK レベルを有効性の指標として用量設定に活用するための根拠となるとともに、下流シグナルが同じ他の TRK 阻害剤の用法用量設定に応用することも可能であると考えられる。

第 5 節 小括

担がんマウスに ONO-7579 を投与したときの、薬物動態、腫瘍中 pTRK レベル、抗腫瘍効果の関係を定量的に示す PK/PD/Efficacy モデルを構築し、腫瘍中 pTRK レベルが初期臨床試験における抗腫瘍効果の指標となる有用なバイオマーカーであることを示した。また、pTRK レベルが抗腫瘍効果を発揮するためのスイッチ様の特性を明らかにし、臨床推奨用量設定の根拠となる pTRK 阻害率を示した。得た知見は ONO-7579 の第 1 相試験のプロトコール策定に役立ち、臨床試験においても腫瘍中 ONO-7579 濃度及び腫瘍中 pTRK レベルの測定を提案する根拠となった。

第2章 先端巨大症患者における薬剤効果を予測する研究開発プラットフォームの構築

第1節 序論

1. 非がん領域における新規医薬品の開発

第1章で示した通り、抗がん剤の開発ではヒトに初めて化合物が投与される第1相試験はがん患者を対象に実施されるが、他の疾患領域の開発においては健康な被験者が対象となる。健康成人を対象とした第1相試験では、主に開発化合物の安全性及び忍容性、並びに薬物動態が検討されるが、病態を持たないことから有効性を確認することは困難である。一方で、標的や対象とする疾患のエンドポイントによっては、薬物動態と薬力学的な反応の関係（PK/PD）を健康な被験者で評価できる場合がある³⁵⁾。このような場合におけるPK/PD関係の解析と臨床効果のシミュレーションは、その後の患者を対象とした臨床試験の計画に有益な情報を与える。特に希少疾患のように被験者を組み入れることが困難な疾患を対象とした医薬品の開発において、試験規模を小さくしたり不必要な臨床試験の実施を避けたりすることも可能となる^{36,37)}。加えて、第1相試験で定量的な薬理反応を評価できれば、最も成功確率が低い第2相試験の前に化合物の価値を見極めることも可能となる³⁸⁾。このようにバイオマーカーを活用したPK/PD解析は効率的な医薬品開発に寄与することが期待されている。

2. 先端巨大症

先端巨大症は、良性の下垂体腺腫を主因として、成長ホルモン（GH）及びインスリン様成長因子1（IGF-1）が過剰分泌される希少疾患である。顔貌の変化（眉弓部の膨隆、鼻及び口唇の肥大、下顎の突出など）や四肢末端の肥大を生じることが特徴的であるが、病態が進行すると、高血圧、糖尿病、心筋障害、睡眠時無呼吸症候群、悪性腫瘍などの種々の合併症を引き起こし、適切な治療が行われない場合には、平均寿命が10-15年程度短くなる³⁸⁾。治療の第一選択は下垂体腫瘍摘出術であり、合併症のために手術が難しい場合や術後コントロール不良の場合には薬物療法や放射線療法が行われ³⁹⁾、GH及びIGF-I値を適切にコントロールすることによって予後の改善が報告されている⁴⁰⁾。

標準的な薬物治療はオクトレオチドに代表されるソマトスタチン誘導体の投与であり、4週ごとに1回の投与にて持続的な効果を発揮する徐放製剤が汎用されている。しかし、これらのソマトスタチン誘導体は筋肉内注射又は深部皮下注射として投与され、生涯にわたる注射は患者の日常生活に大きな負担をかけるとともに、注射部位の疼痛などの理由により治療アドヒアランスの低下が課題とされている⁴¹⁾。米国においては、2020年に経口投与可能なオクトレオチドカプセルが承認されたものの、十分な経口吸収性を確保するための厳しい食事制限が課せられている⁴²⁾。このように、依然として経口投与可能かつアドヒアランスの確保が容易な新規ソマトスタチン受容体（SSTR）2作動薬の開発が望まれている。

3. バイオマーカーを用いた PK/PD 解析の適用

先端巨大症の新規治療薬の開発に先立ち、動物及び健康成人の試験から患者における薬剤効果を予測する研究開発プラットフォームの構築を試みた。

先端巨大症は GH 及び IGF-1 の過剰分泌により種々の症状が引き起こされるため、薬物治療の目標は血中 GH を基準値 (1 ng/mL) 未満、かつ IGF-1 を年齢・性別基準範囲内へと低下させることである³⁹⁾。よって、これらホルモンが健康被験者で評価可能なバイオマーカーになると考えられる。健康成人において、既存のソマトスタチン誘導体投与後のこれらホルモンの挙動は報告されているものの、IGF-1 の抑制が定常状態に達するまでには薬剤投与開始から数カ月を要するため⁴³⁾、通常の第 1 相試験での評価には適さない。また、GH はソマトスタチン誘導体の単回投与後に鋭敏に反応する有用なバイオマーカーであるが、一日を通じて不規則にパルス状に分泌され、その分泌はソマトスタチン誘導体の投与では制御できないことが報告されている^{44,45)}。健康成人において日内変動の影響を軽減しつつソマトスタチン誘導体の GH 抑制効果を確認する方法として、成長ホルモン放出ホルモン (GHRH) の投与により一過性に血中 GH 濃度を惹起する方法がある^{46,47)}。しかし、健康成人にソマトスタチン誘導体を投与したときの GHRH 刺激性 GH 分泌の抑制効果が、先端巨大症患者における下垂体性 GH 分泌の抑制を反映するか否かは不明である。

そこで、GHRH 刺激下において、健康成人に既存のソマトスタチン誘導体を投与したときの血中暴露と GH 抑制効果の関係 (PK/PD 関係) を明らかにすることで、新規候補化合物の第 1 相試験にて先端巨大症患者の治療に必要な用法用量と臨床効果を予測する評価系が構築できると考えた。加えて、動物においても同様の評価系を構築し、その PK/PD 関係を明らかにすることで、前臨床研究から新規候補化合物の臨床効果を精度高く予測することができるようになり、効率的な開発計画の立案が可能になると考えた。以上より、本研究では動物、健康人から先端巨大症患者における薬剤効果を予測する研究開発プラットフォームを構築することを目的とした。

第2節 方法

本検討のモデル薬剤としてソマトスタチン誘導体であるオクトレオチドを選択した。天然のソマトスタチンは半減期が2~3分と極めて短いため臨床応用が困難であったが、オクトレオチドはソマトスタチンが薬理活性を示すために必要なアミノ酸配列を残しつつ、生体内でのペプチダーゼによる分解を受けにくくした合成ペプチドであり、半減期の延長（約100分）により臨床応用が可能となった。国内では1991年に先端巨大症の適応で承認されており、以来、薬物療法の第一選択薬として使用されている³⁹⁾。その臨床試験成績は規制当局から報告されており、先端巨大症患者における血中濃度とGH抑制効果のPK/PD解析結果が明らかにされている⁴⁸⁾。先端巨大症の治療には4週ごとに1回投与する筋注徐放性製剤が汎用されているが、本検討ではPKをコントロールしやすい普通製剤を使用した。Fig. 2-1にオクトレオチドの構造式を示した。

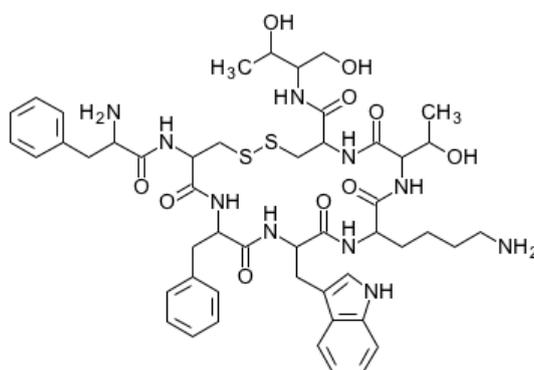


Fig. 2-1 Structural formula of octreotide

GH分泌を一過性に刺激する方法は種々報告されているが、GHRH、アルギニン、GH放出ペプチドなどの単剤投与と比較して、GHRHとアルギニンの併用によりGHを強力に分泌できる^{46, 49, 50)}。GHRH+アルギニン法はGH欠損症の診断に用いられる確立されたGH刺激方法でもあり⁵¹⁾、本検討に用いた。

ラット、サル、ヒト（健康な被験者）にオクトレオチドを複数用量で投与した後にGHRH+アルギニン刺激したときの、血漿中オクトレオチド濃度とGH抑制効果の関係をPK/PD解析により定量化し、先端巨大症患者の既知情報⁴⁸⁾と比較した。以下に各動物種における試験方法の詳細を示した。

1. 試験方法

i. ラット GHRH 刺激試験

ラット試験は、新薬候補化合物をスクリーニングするための簡便な系を想定して実施した。試験デザインの概略を Fig. 2-2 に示した。

ラットにオクトレオチドを 0.32、0.65、1.3、2.2、6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で皮下投与した（各群 $n=5$ ）。動物が興奮状態にあると GH 濃度が乱れるため、オクトレオチド投与 27 分後に麻酔した。ラットにおいてオクトレオチドは投与 30 分後に全身器官に十分分布することから⁵²⁾、オクトレオチド投与 30 分後に、GHRH を尾静脈より投与し GH 分泌を刺激した。ラットは GHRH のみで十分な量の GH が分泌されるため、アルギニンの持続投与は実施しなかった。ラットに GHRH を投与したとき、血漿中 GH は 5 分でピークに達し、30 分以内に消失することから⁵³⁾、GHRH 投与の 5 分後（オクトレオチド投与 35 分後）に血漿中 GH 及びオクトレオチド濃度測定のための採血を実施した。得た血漿中 GH 濃度及びオクトレオチド濃度を PK/PD 解析に供した。

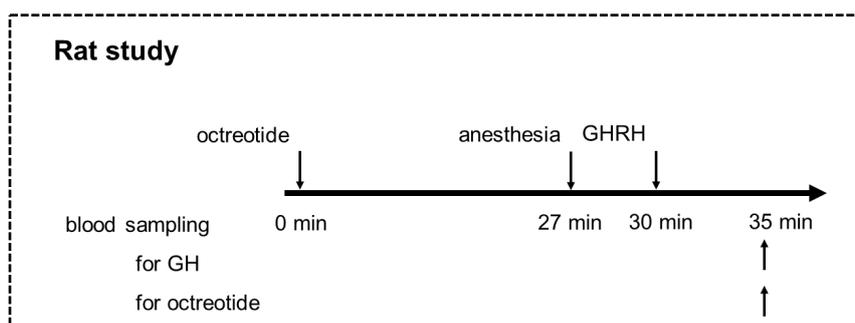


Fig. 2-2 Study design in rats

ii. サル GHRH+アルギニン刺激試験

サルは、ヒト試験を実施する前段階の前臨床研究において、薬物の有効性、安全性及び薬物動態を評価するための非げっ歯類モデルとして使用される^{54,55)}。サル試験は、可能な限りヒト臨床試験を想定したデザインで実施した。試験デザインの概略を Fig. 2-3 に示した。

サルにおいては、より正確にオクトレオチド濃度と GH 抑制効果の関係を得るため、GH 抑制効果は GHRH+アルギニン刺激後 2 時間の GH の血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) として評価した。オクトレオチドは静脈内持続投与し、サルの麻酔時間を考慮して持続投与時間は 4 時間とした。投与開始から 2 時間の負荷投与をすることにより、投与開始 2~4 時間後の GHRH+アルギニン刺激後のオクトレオチド濃度を一定に保った。vehicle、オクトレオチドの低用量 (0~2 時間 ; 0.233 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ \Rightarrow 2~4 時間 ; 0.133 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$)、中用量 (0~2 時間 ; 0.467 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ \Rightarrow 2~4 時間 ; 0.27 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$)、高用量 (0~2 時間 ; 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ \Rightarrow 2~4 時間 ; 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$) を各群 n=8 例で静脈内持続投与する 4 期クロスオーバーデザインで実施し、各投与期は 7 日間以上の休薬期間を設けた。各投与期間の 1 日目に、麻酔下にて、オクトレオチド又は vehicle を 4 時間静脈内持続投与し、投与開始 2 時間後に GHRH を静脈内投与すると共にアルギニンを 30 分間静脈内持続投与した。オクトレオチドの血漿中濃度測定のために、オクトレオチド投与開始後 2, 3, 4 時間に採血し、GH 濃度測定のために、オクトレオチド投与開始後 0, 2, 2.25, 2.5, 2.75, 3, 3.25, 3.5, 3.75, 4 時間に採血した。GHRH 投与後 2 時間の血漿中 GH 濃度の曲線下面積、及び平均血漿中オクトレオチド濃度を用いて PK/PD 解析を実施した。

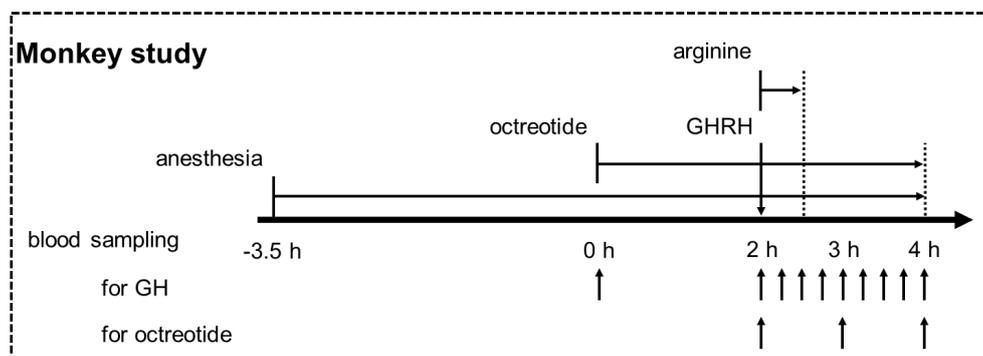


Fig. 2-3 Study design in monkeys

iii. ヒト GHRH+アルギニン刺激試験

ヒト試験は、性別が GHRH+アルギニン刺激による GH 分泌に影響を及ぼすことを考慮し⁵⁶⁾、男性のみで実施した。健康成人男性 24 名を対象に、二重盲検、無作為化、プラセボ対照、5 期クロスオーバーデザインで実施した。試験デザインの概略を Fig. 2-4 に示した。

GHRH+アルギニン刺激による GH 分泌の再現性を評価することも目的とし、第 1 期にプラセボを投与したのち、4 期にわたってプラセボ、オクトレオチドの低用量 (8.5 µg/200 mL)、中用量 (21 µg/200 mL)、高用量 (92 µg/200 mL) のいずれかを投与し、各投与期は 7 日間以上の休薬期間を設けた。健康成人を対象とした従来の GH 刺激試験では、ソマトスタチン誘導体の投与後 2~3 時間で GH 刺激が行われているが^{46,47)}、本試験系を新規経口化合物の評価に使用することを想定すると、血漿中濃度が吸収相に相当した場合に薬物濃度のばらつきや変動が大きいことから GH 抑制効果の評価に適さない懸念がある。多くの経口薬の薬物動態が消失相に到達すると考えられる薬物投与開始 6~8 時間後の GH 及びオクトレオチド濃度を評価することとした。すなわち、各投与期の 1 日目に、オクトレオチド又はプラセボを 8 時間静脈内持続投与し、投与開始 6 時間後に GHRH を静脈内投与すると共にアルギニンを 30 分間静脈内持続投与した。GHRH 投与後 2 時間の血漿中 GH 濃度の AUC、及び平均血漿中オクトレオチド濃度を用いて PK/PD 解析を実施した。

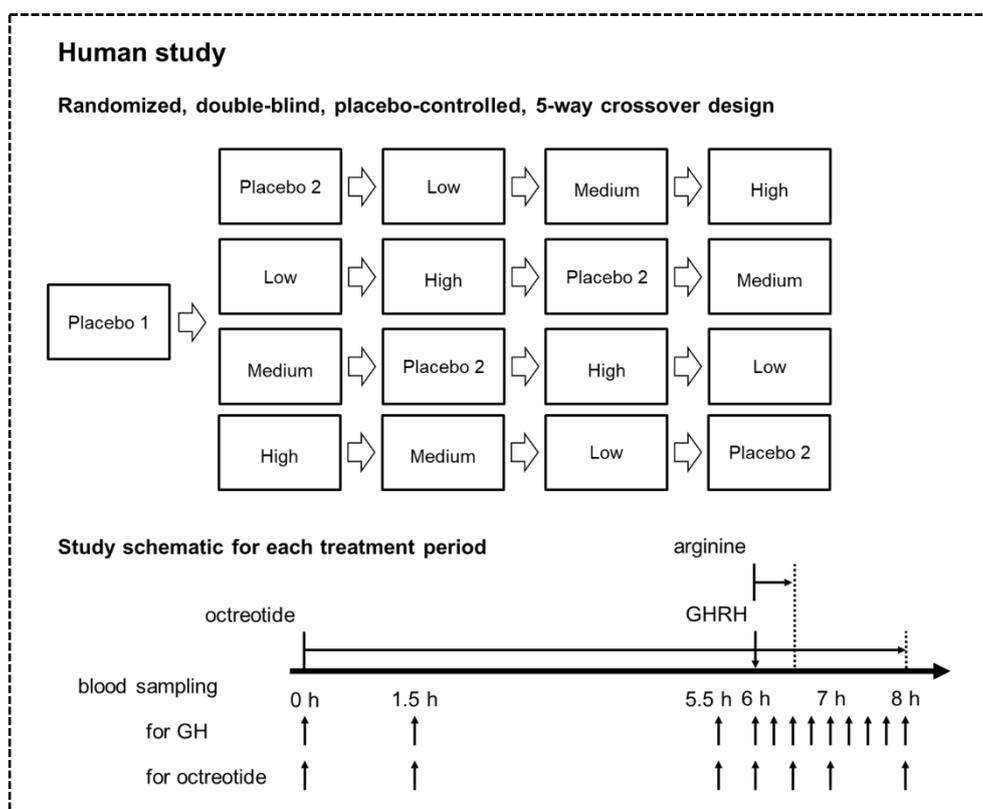


Fig. 2-4 Study design in humans

2. 解析方法

各試験で得られた血漿中オクトレオチド濃度及び GH 濃度を、以下の阻害型 Emax モデル (式 8) に当てはめ、オクトレオチド濃度と GH 分泌抑制の関係を評価した。

$$GH(AUC) = E0 \times \left(1 - \frac{Emax \times Cp^{Hill}}{EC50^{Hill} + Cp^{Hill}} \right) \quad (式 8)$$

GH : GHRH 刺激 5 分後における血漿中 GH 濃度 (ラット)

GH (AUC) : GHRH+アルギニン刺激後 2 時間の血漿中 GH AUC (サル及びヒト)

Cp : 血漿中オクトレオチド濃度 (ラット)

GHRH+アルギニン刺激後 2 時間の平均血漿中オクトレオチド濃度 (サル及びヒト)

E0 : vehicle 又はプラセボ投与時の血漿中 GH (AUC)

Emax : GH 分泌に対するオクトレオチドの最大抑制効果

EC50 : Emax の 50%の効果を与える (平均) 血漿中オクトレオチド濃度

Hill : Hill 係数

PK/PD モデルは、非線形混合効果モデルを用いて構築した。解析プログラムには NONMEM version 7.3.0 を、推定アルゴリズムとして FOCE-INTER 法を用いた。1 個体から複数時点のデータが得られた場合 (サル試験及びヒト試験)、各パラメータの個体間変動の誤差モデルとして対数誤差モデルを仮定した。Emax に個体間変動を組み込む場合、ロジスティック関数 $\{Emax = e^{\text{logit}} / (1 + e^{\text{logit}})\}$ を用いて個体ごとの Emax が 1 を超えないようにした。残差変動の誤差モデルとして、いずれのモデルも比例誤差モデルを仮定した。前述したように、モデルの選択には目的関数値の差 (-6.63 以下, $p \leq 0.01$) を考慮した。各最終モデルの当てはまりを確認するために、実測値と最終モデルに基づいたシミュレーションの 90% 予測区間 (ヒト試験では予測値の中央値、5%点及び 95%点それぞれの 90%信頼区間と、実測値の中央値、5%点及び 95%点) を視覚的に比較評価した。シミュレーションは実施した試験における例数に基づいて行い、反復回数を 1000 回とした。ヒト試験においては、最終モデルにおけるバイアスの有無を確認するため、診断プロット (実測値と母集団平均パラメータからの予測値の関係、実測値と個々の Bayes 推定パラメータからの予測値の関係、条件付き重み付き残差と母集団平均パラメータからの予測値の関係) も図示した。

第3節 結果

1. ラット GHRH 刺激試験

GHRH 刺激後の血漿中オクトレオチド濃度及び GH 濃度を Fig. 2-5 に示した。オクトレオチド投与 35 分後の血漿中オクトレオチド濃度は用量に比例して増加し、0.32 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与時の血漿中オクトレオチド濃度はそれぞれ、 0.0533 ± 0.0223 ng/mL、 0.145 ± 0.0179 ng/mL、 0.292 ± 0.0225 ng/mL、 0.553 ± 0.0625 ng/mL、 2.69 ± 0.210 ng/mL であった（平均値 \pm SE）。GHRH 刺激 5 分後の vehicle 群の血漿中 GH 濃度は 1340 ± 90.4 ng/mL であった。オクトレオチドは GHRH 投与後の GH 分泌を用量依存的に有意に抑制し、0.32 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与時の血漿中 GH 濃度はそれぞれ、 1030 ± 105 ng/mL、 674 ± 120 ng/mL、 363 ± 126 ng/mL、 142 ± 36.9 ng/mL、 24.6 ± 3.72 ng/mL であった。

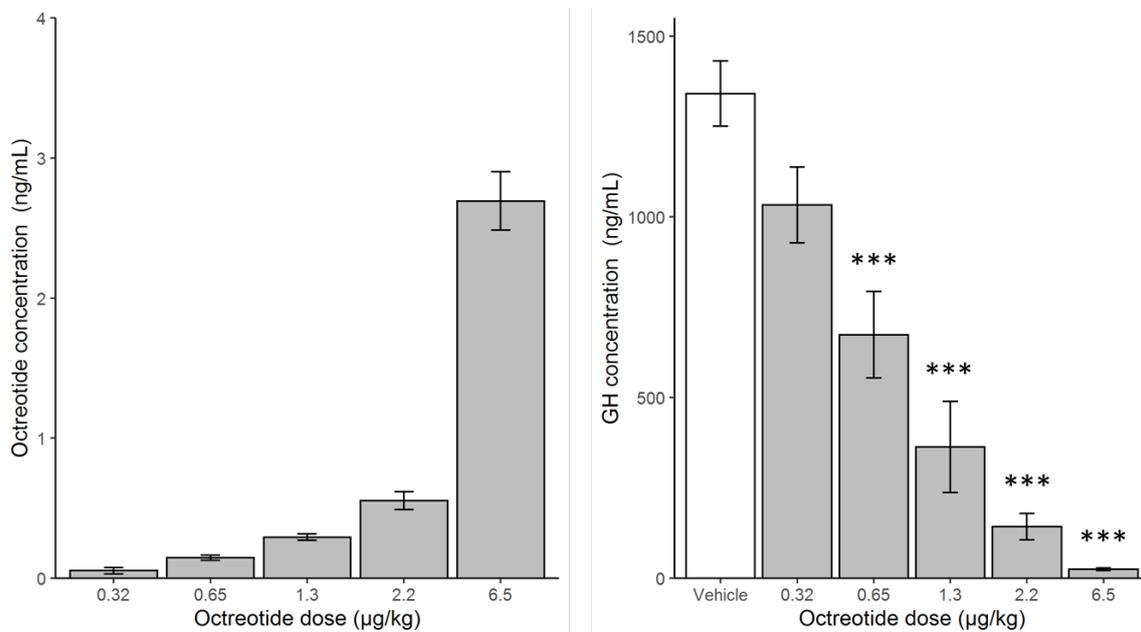


Fig. 2-5 Plasma octreotide and GH concentrations following GHRH-induced GH hypersecretion and after octreotide administration in rats

Plasma octreotide concentration and plasma GH concentration were expressed as mean \pm SE ($n = 5$); one-way analysis of variance followed by Dunnett's test was applied to comparison of GH concentration between the vehicle control group and test octreotide-treated groups; ***P < 0.001 vs. vehicle controls.

ラット試験の結果を用いてPK/PD解析を実施したときのパラメータ推定値を Table 2-1 に、モデルの 90% 予測区間と実測値を視覚的に比較した結果を Fig. 2-6 に示した。オクトレオチド 6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群において GH 分泌がほぼ完全に抑制されたことから、Emax は 1 に固定して解析した。推定された EC50 は 0.196 ng/mL、Hill 係数は 1.50 であった。実測値と予測値の間には良好な一致が認められ、構築したラット PK/PD モデルは実測値を良好に反映した。

Table 2-1 PK/PD parameter estimates for octreotide in rats

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
E0 (ng/mL)	1170	8.47
Emax	1 (Fixed)	
EC50 (ng/mL)	0.196	22.7
Hill	1.50	7.33
Residual variability		
σ^2 (proportional)	0.195	28.3

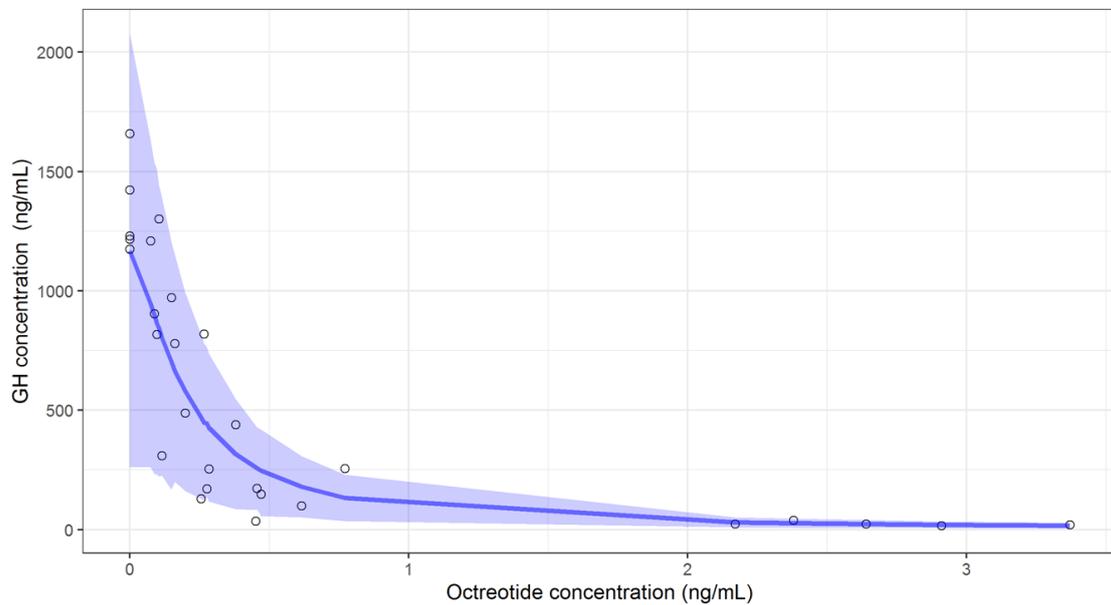


Fig. 2-6 Observed and model-predicted PK/PD relationship between GH and octreotide concentrations in rats.

Dots are observed values, solid lines are predicted median, shaded areas represent the simulation based 90% prediction intervals.

2. サル GHRH+アルギニン刺激試験

オクトレオチドを静脈内持続投与したときの血漿中オクトレオチド濃度及び GHRH+アルギニン刺激後の血漿中 GH 濃度を Fig. 2-7 に示した。血漿中オクトレオチド濃度は用量に比例して増加し、投与後 2-4 時間の GH 分泌評価時において概ね一定濃度に維持された。低用量、中用量、高用量投与時の投与後 2-4 時間の平均血漿中オクトレオチド濃度はそれぞれ、 0.394 ± 0.0455 ng/mL、 0.788 ± 0.0493 ng/mL、 1.78 ± 0.152 ng/mL であった（平均値 \pm SE）。GHRH+アルギニン刺激後 2 時間の vehicle 群の血漿中 GH AUC は 71.0 ± 10.4 ng*h/mL であった。オクトレオチドは GHRH+アルギニン刺激後の GH 分泌を用量依存的に有意に抑制し、低用量、中用量、高用量投与時の血漿中 GH AUC はそれぞれ、 58.4 ± 13.9 ng*h/mL、 23.0 ± 7.45 ng*h/mL、 11.4 ± 5.37 ng*h/mL であった。

サル試験の結果を用いて PK/PD 解析を実施したときのパラメータ推定値を Table 3-2 に、モデルの 90% 予測区間と実測値を視覚的に比較した結果を Fig. 2-8 に示した。オクトレオチド高用量群において GH 分泌は十分に抑制され、Emax を推定した場合にモデルの当てはまりは有意に改善しなかったため、Emax は 1 に固定して解析した。個体間変動は EC50 に組み込まれ、推定された EC50 は 0.416 ng/mL、Hill 係数は 1.71 であった。実測値と予測値の間には良好な一致が認められ、構築したサル PK/PD モデルは実測値を良好に反映した。

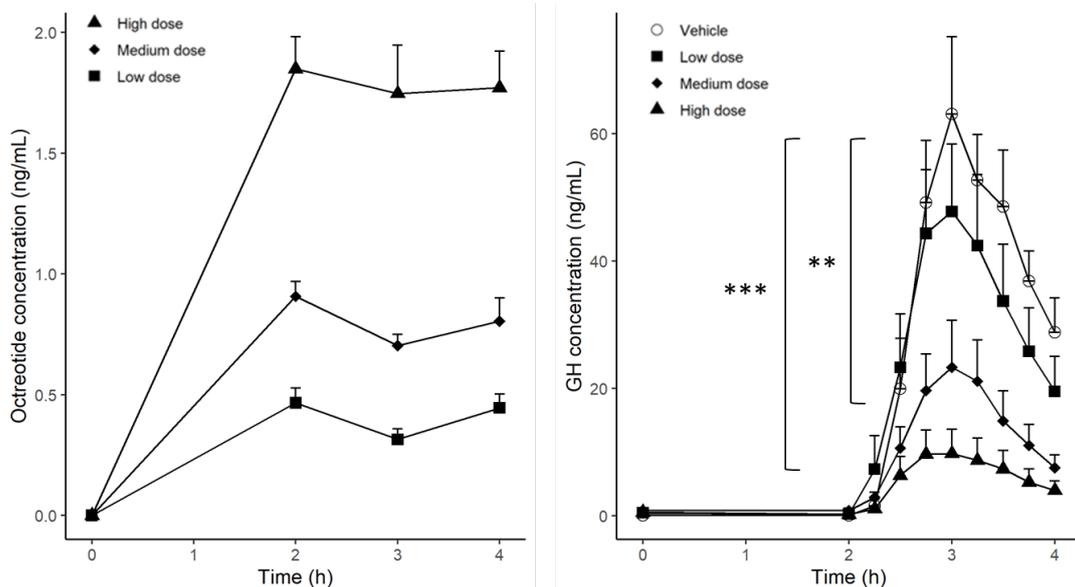
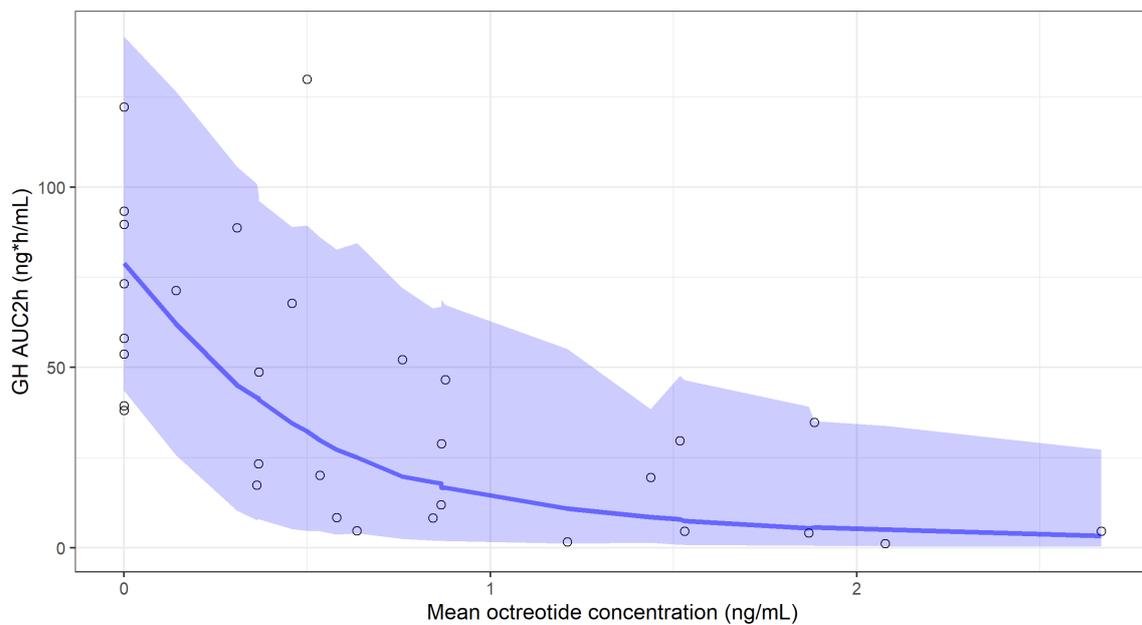


Fig. 2-7 Plasma octreotide and GH concentrations following GHRH+arginine-induced GH hypersecretion and after octreotide administration in monkeys.

Plasma octreotide concentration and plasma GH concentration were expressed as mean \pm SE (n = 8); one-way analysis of variance followed by Dunnett's test was applied to comparison of GH AUC between the vehicle control group and test octreotide-treated groups; **P < 0.01 and ***P < 0.001 vs. vehicle controls.

Table 3-2 PK/PD parameter estimates for octreotide in monkeys

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
E0 (ng*h/mL)	78.9	11.2
E _{max}	1 (Fixed)	
EC50 (ng/mL)	0.416	29.3
Hill	1.71	26.3
Inter-individual variability		
ω^2 on EC50	0.693	48.5
Residual variability		
σ^2 (proportional)	0.128	29.0

**Fig. 2-8 Observed and model-predicted PK/PD relationship between GH AUC2h and octreotide concentrations in monkeys**

Dots are observed values, solid lines are predicted median, shaded areas represent the simulation based 90% prediction intervals.

3. ヒト GHRH+アルギニン刺激試験

試験に参加した 24 名の被験者はいずれもオクトレオチドの投与を受けたが、1 名が第 5 期の高用量投与前に中止された。残りの 23 名は 5 期の投与を完遂した。いずれの用量においてもオクトレオチドの忍容性は良好であり、重篤な有害事象は認められなかった。

オクトレオチドを静脈内持続投与したときの血漿中オクトレオチド濃度及び GHRH+アルギニン刺激後の血漿中 GH 濃度を Fig. 2-9 に示した。血漿中オクトレオチド濃度は用量に比例して増加し、投与後 6-8 時間の GH 分泌評価時において概ね一定濃度に維持された。低用量、中用量、高用量投与時の投与後 2-4 時間の平均血漿中オクトレオチド濃度はそれぞれ、 0.101 ± 0.00381 ng/mL、 0.241 ± 0.00894 ng/mL、 1.15 ± 0.0446 ng/mL であった（平均値 \pm SE）。

プラセボ投与時の GHRH+アルギニン刺激後 2 時間の GH AUC は、第 1 期固定期 (Placebo 1) 及び第 2~5 期ランダム化期 (Placebo 2) でそれぞれ 55.6 ± 4.27 ng*h/mL 及び 58.3 ± 5.46 ng*h/mL と同程度であり、GH 分泌の再現性が確認された。オクトレオチドは GHRH+アルギニン刺激後の GH 分泌を用量依存的に有意に抑制し、低用量、中用量、高用量投与時の血漿中 GH AUC はそれぞれ、 52.8 ± 4.68 ng*h/mL、 41.3 ± 3.53 ng*h/mL、 20.3 ± 2.52 ng*h/mL であった。

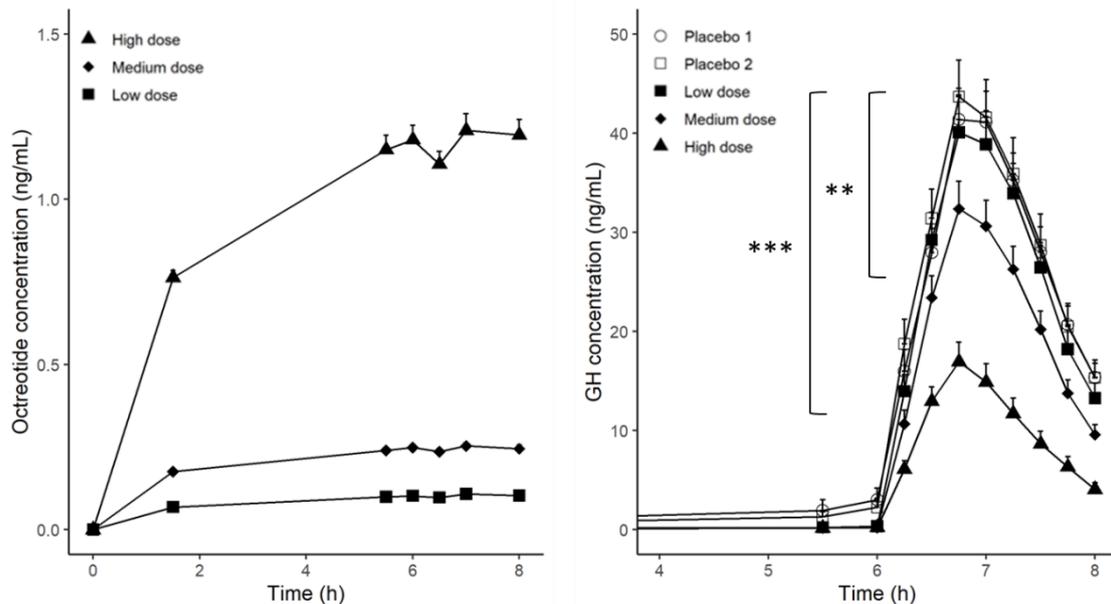


Fig. 2-9 Plasma octreotide and GH concentrations following GHRH+arginine-induced GH hypersecretion and after octreotide administration in humans.

Plasma octreotide concentration and plasma GH concentration were expressed as mean \pm SE (n = 24); one-way analysis of variance followed by Dunnett's test was applied to comparison of GH AUC between the vehicle control group and test octreotide-treated groups; **P < 0.01 and ***P < 0.001 vs. vehicle controls.

ヒト試験の結果を用いて PK/PD 解析を実施したときのパラメータ推定値を Table 2-3 に、診断プロットを Fig. 2-10 に、モデルによる予測の中央値、5%点及び95%点の90%信頼区間と実測値を視覚的に比較した結果を Fig. 2-11 に示した。個体間変動は Emax 及び EC50 に組み込まれ、Emax は個々の推定値が 1 を超えないようロジスティック関数を用いて推定した。推定された Emax は 0.67、EC50 は 0.292 ng/mL、Hill 係数は 2.44 であった。診断プロットにおいて、実測値と母集団平均パラメータからの予測値及び個々の Bayes 推定パラメータからの予測値との間には良好な一致が認められ、条件付き重み付き残差と母集団平均パラメータからの予測値との関係に一定の傾向は認められなかった。実測値の中央値、5%点、95%点はそれぞれモデルによる予測値の90%信頼区間にほぼ含まれており、構築したヒト PK/PD モデルの適合性が確認できた。

Table 2-3 PK/PD parameter estimates for octreotide in humans

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
E0 (ng*h/mL)	50.7	9.90
Emax	0.670	-
Logit for Emax	0.707	16.3
EC50 (ng/mL)	0.292	7.60
Hill	2.44	8.44
Inter-individual variability		
ω^2 on Logit for Emax	0.520	51.3
ω^2 on E0	0.219	30.0
Residual variability		
σ^2 (proportional)	0.0260	14.0

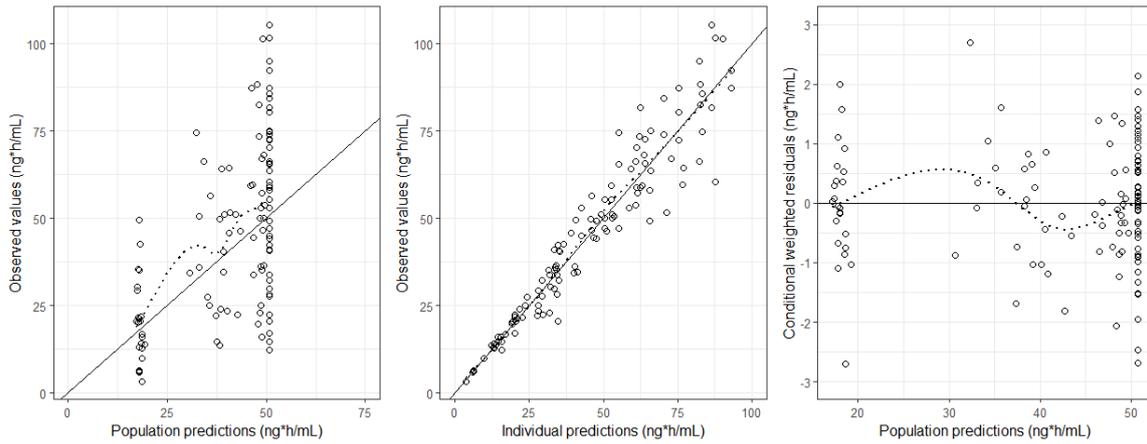


Fig. 2-10 Goodness of fit plots of PK/PD model for octreotide in humans.

Dots are observed values, dotted line and solid line represent LOESS (locally weighted scatterplot smoothing) fit and unity, respectively.

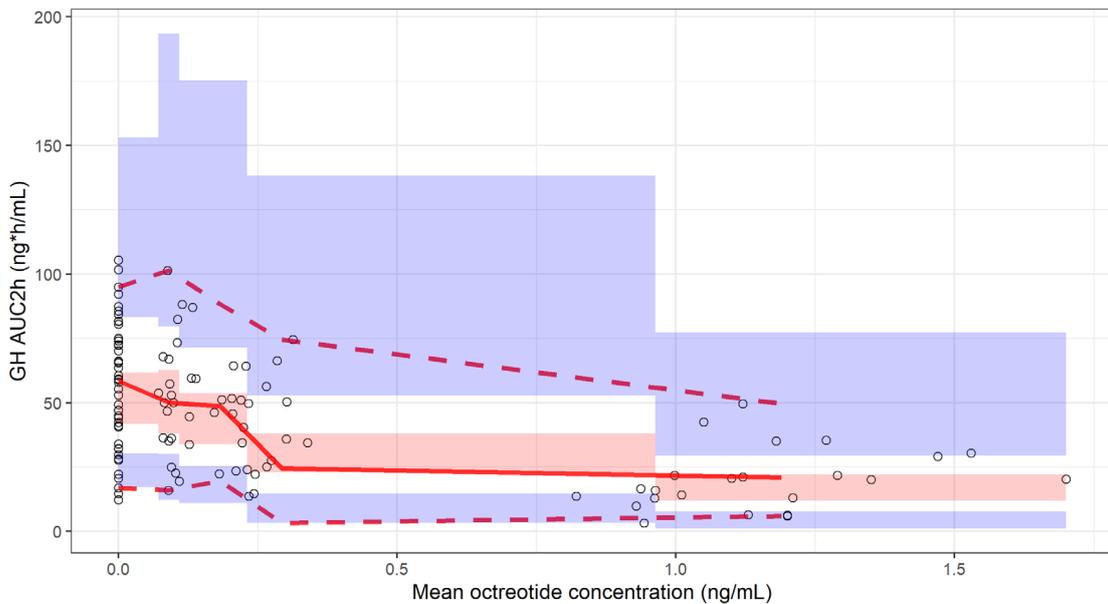


Fig. 2-11 Observed and model-predicted PK/PD relationship between GH AUC2h and octreotide concentrations in humans.

Dots are observed values, the solid line is the observed median, the dashed lines are observed p5 and p95, the shaded areas are the 90% confidence intervals of the simulated median, p5 and p95.

4. PK/PD 関係の比較

ラット、サル、ヒト試験で得た PK/PD 解析結果に加え、FDA データベースに登録されているオクトレオチドの既存の申請資料⁴⁸⁾で示されている先端巨大症患者の PK/PD 関係を比較した結果を Fig 2-12 に示した。GHRH 刺激下においてもオクトレオチドの GH 抑制効果に種差はなく、また先端巨大症患者の PK/PD 関係とも良好な一致を示した。

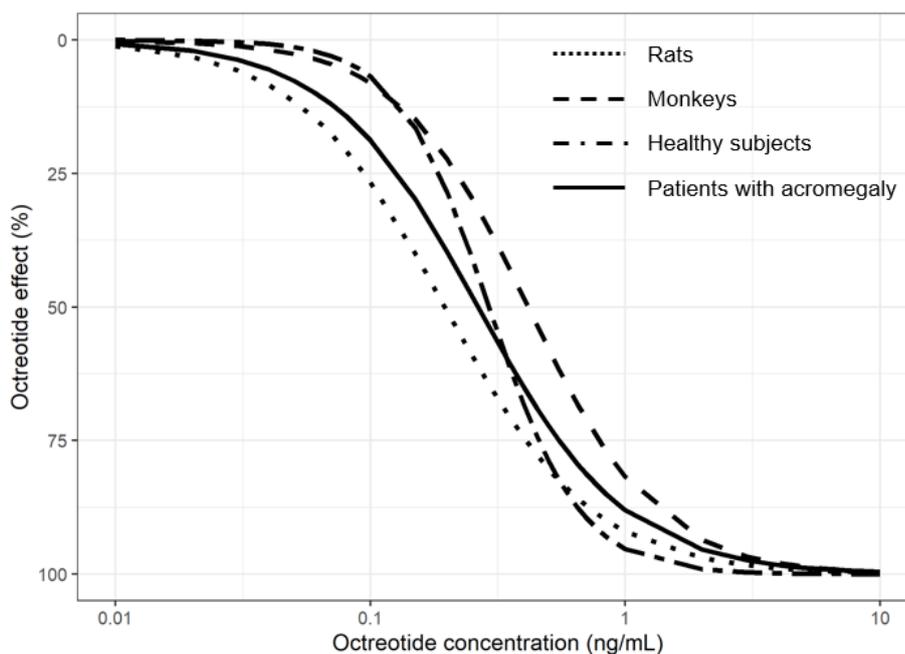


Fig. 2-12 PK/PD relationship between GH inhibitory effect and octreotide concentration after GHRH + arginine stimulation in rats, monkeys, and humans.

Patients with acromegaly derived from the FDA database were also included (FDA, 1998). Octreotide effect was calculated as a percentage of Emax normalized to 100% in each species. FDA, Food and Drug Administration.

第4節 考察

本研究では、先端巨大症患者における薬剤効果を予測するための非臨床－臨床プラットフォームとして GHRH 刺激性の GH 抑制の評価を試みた。各動物種における試験の PK/PD 解析の結果、いずれの動物種においてもオクトレオチドの血漿中濃度と GH 濃度との間に明確な PK/PD 関係が認められた (Fig. 2-12)。脳の他の部位とは異なり、オクトレオチドが主に作用する下垂体では内皮細胞間のタイトジャンクションが欠如しているため⁵⁷⁾、オクトレオチドは血中から容易に分布し、標的近傍濃度と血漿中濃度が強い相関を示すと考えられる。推定された EC50 値は動物種間で概ね一致するとともに、暴露に対する反応の傾きを表す Hill 係数はいずれの種でも 1 以上と推定された。これは既存のソマトスタチン誘導体を先端巨大症患者に投与したときの GH 抑制効果の PK/PD 解析結果と同様であり^{58,59)}、血漿中濃度の上昇とともに GH 抑制効果が急峻に表れる特性も捉えられていた。

ラット及びサルでは Emax を 1 に固定することが適切であった。試験系を構築する際の前備的検討としてラットにオクトレオチドを 8 時間かけて静脈内持続投与したところ、オクトレオチドの GH 抑制効果は時間依存的に 15%程度減弱した (結果は非掲載)。下垂体腫瘍由来細胞を用いた *in vitro* 試験において、アゴニストがソマトスタチン受容体の内在化及び脱感作を生じさせることが報告されており⁶⁰⁾、ラットにおける GH 抑制効果の減弱の原因である可能性が考えられた。動物種間で脱感作によるオクトレオチドの GH 抑制効果の見誤りを防ぐため、ラットは急速静脈内投与とし、オクトレオチドの暴露時間を短くすることとした。また、サルにおいてこのような脱感作が認められるかは不明であったが、ラット及びサルのいずれも最高用量のオクトレオチドによって刺激後の GH は十分に抑制されており (Fig. 2-5、Fig. 2-7)、脱感作の影響はなく、オクトレオチドの効力が適切に評価できると考えられた。

ヒトにおいては、先端巨大症患者や健康男性被験者にソマトスタチン誘導体を長期投与してもその効果が減弱しないことが知られているものの^{61,62)}、実施した GHRH+アルギニン刺激後の GH は最高用量のオクトレオチドによっても完全に抑制されず、推定された Emax は 67%であった (Table 2-3)。ヒト試験における最高用量での平均血漿中オクトレオチド濃度は 1.15 ng/mL であり (Fig. 2-9)、先端巨大症患者におけるオクトレオチドの最大有効濃度と同程度の暴露が得られていたにも関わらず⁴⁸⁾、GH が完全に抑制されず、また被験者間によってばらつきがあった。この原因については、ソマトスタチン受容体のサブタイプが関与していると推察された。ヒト下垂体細胞からの GH 分泌抑制には SSTR2 と SSTR5 の両方のサブタイプが関与するが、オクトレオチドは SSTR2 に高い親和性を示す一方 SSTR5 への親和性は低いことから⁶³⁾、被験者ごとの SSTR2 と SSTR5 の発現の差異が Emax のばらつきの原因である可能性がある。実際、*in vitro* 試験により SSTR2 及び SSTR5 の両方が活性化される

と相乗的な GH 抑制が生じることが報告されている⁶⁴⁾。また、他の既承認のソマトスタチン誘導体として、SSTR2 及び SSTR5 の両方に高い親和性を示すパシレオチドが用いられているが、先端巨大症患者を対象とした臨床試験においてオクトレオチドが作用しにくい被験者に対しても強い GH 抑制効果を示している⁶⁵⁾。

このように、GH 抑制の最大効果においてはヒトと動物で異なる特性を示したものの、最大効果に対する百分率として比較した PK/PD 関係は動物種に関わらず良好に一致した。よって本研究で構築した試験系及び解析方法を用いることで、新規候補化合物の動物を用いた前臨床試験結果から、健康成人を対象とした第 1 相試験、さらに先端巨大症患者を対象とした第 2 相試験における GH 抑制効果を定量的に予測し、臨床試験を合理的に計画することが可能となると考えられた。

第 5 節 小括

マウス、サル及び健康成人を対象として GHRH+アルギニン刺激下におけるオクトレオチドの GH 抑制試験を実施し、得た結果を阻害型の Emax モデルに当てはめることにより、オクトレオチドの PK/PD 関係は動物種に関わらず良好に一致することを示した。本研究で構築した試験系及び解析方法を新規候補化合物の評価に用いることで、動物を用いた前臨床試験結果から、健康成人を対象とした第 1 相試験、さらに先端巨大症患者を対象とした第 2 相試験における GH 抑制効果を定量的に予測し、臨床試験を合理的に計画することが可能となると考えられた。本研究は、希少疾患であり患者試験の実施が困難と想定される先端巨大症の研究開発において有益な知見となることが期待される。

第3章 ONO-5788の前臨床研究及び第1相試験におけるPop PK及びPK/PD解析

第1節 序論

ONO-5788はSSTR2作動活性を示す新規の経口投与可能な低分子化合物であり、ペプチドである既存のソマトスタチン誘導体とは異なる構造を持つ⁶⁶⁾。前臨床におけるヒト肝ミクロソームを用いたin vitro代謝実験により、ONO-5788はCYP3A4を介した酸化代謝を受けて活性代謝物であるONO-ST1-641を生じることが明らかとなっている。Fig.3-1にONO-5788及びONO-ST1-641の構造式を示した。

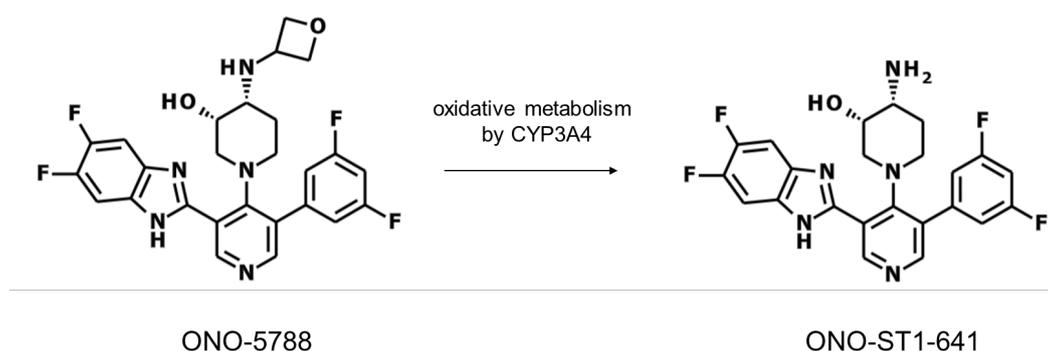


Fig. 3-1 Chemical structures of ONO-5788 and ONO-ST1-641

また、ヒト及びラットSSTR2を発現させたCHO-K1細胞を用いたin vitro実験において、ONO-5788及びONO-ST1-641はいずれも天然のアゴニストであるsomatostatin-14よりも強い活性を示し、さらにONO-ST1-641はONO-5788と比較して7~12倍程度強力かつオクトレオチドと同等以上の強い活性を示した。Table. 4-1に各化合物のSSTR2アゴニスト活性(cAMP産生抑制のEC50)を示した⁶⁷⁾。

Table 3-1 Agonistic Effects for Human and Rat SSTR2

	Mean [95% CI] EC50 Values of cAMP Inhibition (nmol/L)	
	Human SSTR2	Rat SSTR2
Somatostatin-14	0.24 [0.19–0.30]	0.15 [0.12–0.17]
Octreotide	0.030 [0.026–0.035]	0.030 [0.026–0.034]
ONO-5788	0.11 [0.10–0.13]	0.14 [0.13–0.15]
ONO-ST1-641	0.016 [0.014–0.017]	0.012 [0.010–0.014]

以上より、ONO-5788は未変化体及び活性代謝物ONO-ST1-641の両方を介してSSTR2を作動させることにより、オクトレオチドと同様にGH及びIGF-1の分泌を抑制し、先端巨大症患者に対する経口治療薬となることが期待される。

第2節 ラット GHRH 刺激試験

前臨床研究として、in vivo において ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の GH 阻害活性を評価するため、第2章にて構築した方法に基づき、ラットを用いた GHRH 刺激試験を実施した。ラットに ONO-5788 を投与すると ONO-ST1-641 が生じるため、そのときの GH 抑制効果は ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の両方の効果が合わさったものとなる。両化合物の PK/PD 関係を分離評価するため、ONO-5788 又は ONO-ST1-641 をそれぞれ静脈内投与したときの GH 抑制効果と化合物濃度の関係を評価した。

1. 方法

i. 試験方法

ラットに vehicle、若しくは各用量の ONO-5788 又は ONO-ST1-641 をそれぞれ静脈内投与した（各群 n=5）。予備的な検討に基づき、ONO-5788 の用量は 2.1、7、21、70、210 µg/kg、ONO-ST1-641 の用量は 3、6、20、60、200 µg/kg とした。化合物の投与 30 分後に GHRH を尾静脈より投与し GH 分泌を刺激した。化合物投与 35 分後に血漿中化合物濃度及び血漿中 GH 濃度を測定し、PK/PD 解析に供した。なお、血漿中化合物濃度は ONO-5788 210 µg/kg 群、ONO-ST1-641 20 µg/kg 群、60 µg/kg 群のみから得た。

ii. 解析方法

ラット試験で得た血漿中 ONO-5788 濃度、ONO-ST1-641 濃度及び GH 濃度を用いて PK/PD 解析を実施した。すべての用量群で血漿中 ONO-5788 濃度及び ONO-ST1-641 濃度を得ておらず、個々の血漿中化合物濃度が測定されていない群については、最も近い用量群における平均血漿中濃度を用量比で補正した予測値を解析に供した。ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の PK/PD 関係を分離評価するため、まず活性代謝物である ONO-ST1-641 を投与したときの濃度データを阻害型の Emax モデル（式9）に当てはめて ONO-ST1-641 の PK/PD パラメータを求めた。次いで ONO-5788 を投与したときの濃度データを阻害型の競合的相互作用モデル^{68, 69}（式10）に当てはめ、既に得ている ONO-ST1-641 のパラメータを固定して ONO-5788 の PK/PD パラメータを求めた。モデルの構築及び当てはまりの確認は第2章と同様の方法にて行った。

ONO-ST1-641 の場合 :

$$GH = E0_{ONO-ST1-641} \times \left(1 - \frac{Emax \times Cp_{ONO-ST1-641}^{Hill}}{EC50_{ONO-ST1-641}^{Hill} + Cp_{ONO-ST1-641}^{Hill}} \right) \quad (\text{式 9})$$

ONO-5788 の場合 :

$$GH = E0_{ONO-5788} \times \left\{ 1 - \frac{Emax \times \left[\left(\frac{Cp_{ONO-5788}}{EC50_{ONO-5788}} \right)^{Hill} + \left(\frac{Cp_{ONO-ST1-641}}{EC50_{ONO-ST1-641}} \right)^{Hill} \right]}{1 + \left(\frac{Cp_{ONO-5788}}{EC50_{ONO-5788}} \right)^{Hill} + \left(\frac{Cp_{ONO-ST1-641}}{EC50_{ONO-ST1-641}} \right)^{Hill}} \right\} \quad (\text{式 10})$$

GH : GHRH 刺激 5 分後における血漿中 GH 濃度

E0 : vehicle 投与時の血漿中 GH 濃度

Cp : 血漿中化合物濃度

Emax : GH 分泌に対する化合物の最大抑制効果 (ONO-5788 及び ONO-ST1-641 共通)

EC50 : Emax の 50% の効果を与える血漿中化合物濃度

Hill : Hill 係数 (ONO-5788 及び ONO-ST1-641 共通)

2. 結果

ONO-5788 又は ONO-ST1-641 を投与したときの GHRH 刺激後の血漿中 GH 濃度を Fig. 3-2 に示した。なお、血漿中 ONO-5788 及び ONO-ST1-641 濃度は限られた用量群での評価であるため、図示しなかった。

ONO-5788 を 210 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与したときの投与 35 分後の血漿中 ONO-5788 濃度は $28.2 \pm 1.96 \text{ ng}/\text{mL}$ 、血漿中 ONO-ST1-641 濃度は $1.98 \pm 0.135 \text{ ng}/\text{mL}$ であった（図は非掲載）。ONO-5788 群において、GHRH 刺激 5 分後の vehicle 群の血漿中 GH 濃度は $1280 \pm 228 \text{ ng}/\text{mL}$ であり、GHRH 刺激後の GH 分泌は ONO-5788 の用量依存的に有意に抑制され、2.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、210 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与時の血漿中 GH 濃度はそれぞれ、 $1010 \pm 158 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $987 \pm 129 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $426 \pm 43.6 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $150 \pm 17.7 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $25.0 \pm 7.93 \text{ ng}/\text{mL}$ であった。

ONO-ST1-641 を 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与したときの投与 35 分後の血漿中 ONO-ST1-641 濃度は $0.687 \pm 0.0276 \text{ ng}/\text{mL}$ 及び $1.99 \pm 0.0556 \text{ ng}/\text{mL}$ であった（図は非掲載）。ONO-ST1-641 群において、GHRH 刺激 5 分後の vehicle 群の血漿中 GH 濃度は $1150 \pm 171 \text{ ng}/\text{mL}$ であり、GHRH 刺激後の GH 分泌は ONO-ST1-641 の用量依存的に有意に抑制され、3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与時の血漿中 GH 濃度はそれぞれ、 $1050 \pm 161 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $538 \pm 109 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $195 \pm 34.9 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $50.0 \pm 11.0 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $16.7 \pm 2.08 \text{ ng}/\text{mL}$ であった。

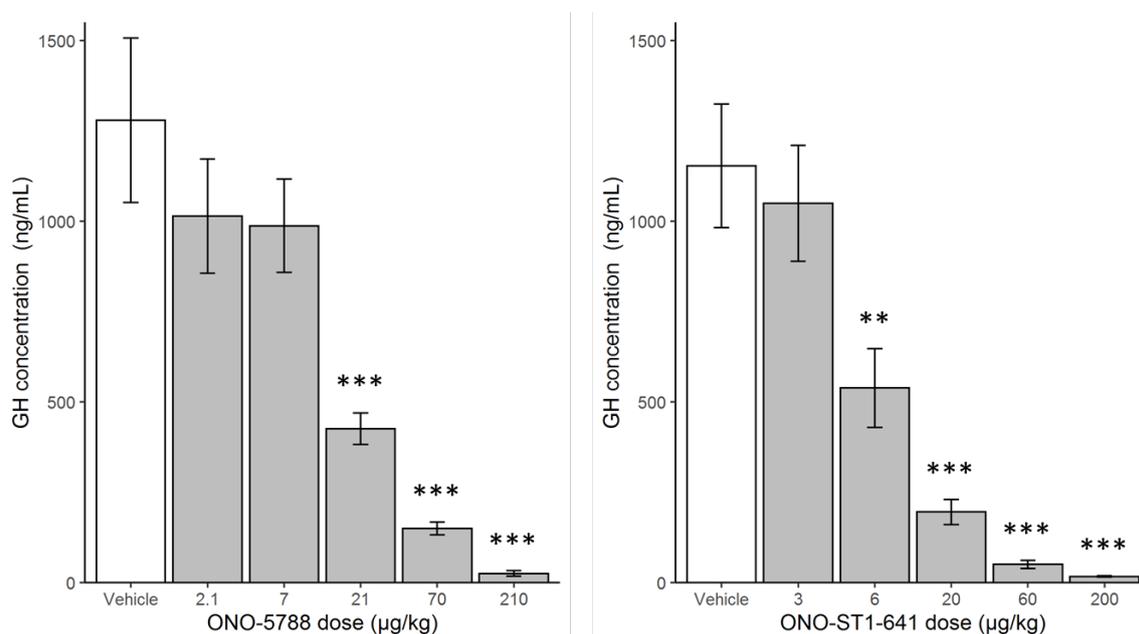


Fig 3-2 Plasma GH concentrations following GHRH-induced GH hypersecretion and after ONO-5788 or ONO-ST1-641 administration in rats.

Plasma GH concentration were expressed as mean \pm SE (n = 5); one-way analysis of variance followed by Dunnett's test was applied to comparison of GH concentration between the vehicle control group and test octreotide-treated groups; **P < 0.01 and ***P < 0.001 vs. vehicle controls.

i. ONO-ST1-641 の PK/PD モデル

ONO-ST1-641 群の結果を用いて PK/PD 解析を実施したときのパラメータ推定値を Table 3-2 に、モデルの 90% 予測区間と実測値を視覚的に比較した結果を Fig. 3-3 に示した。ONO-ST1-641 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群において GH 分泌がほぼ完全に抑制されたことから (Fig 3-2)、 E_{max} は 1 に固定して解析した。推定された ONO-ST1-641 の EC_{50} は 0.179 ng/mL 、Hill 係数は 1.24 であった。実測値と予測値の間には良好な一致が認められ、構築した ONO-ST1-641 のラット PK/PD モデルは実測値を良好に反映した。

Table 3-2 PK/PD parameter estimates for ONO-ST1-641 in rats

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
$E_{0 \text{ ONO-ST1-641}}$ (ng/mL)	1270	11.4
E_{max}	1 (Fixed)	
$EC_{50 \text{ ONO-ST1-641}}$ (ng/mL)	0.179	16.8
Hill	1.24	4.16
Residual variability		
$\sigma_{\text{ONO-ST1-641}^2}$ (proportional)	0.140	23.1

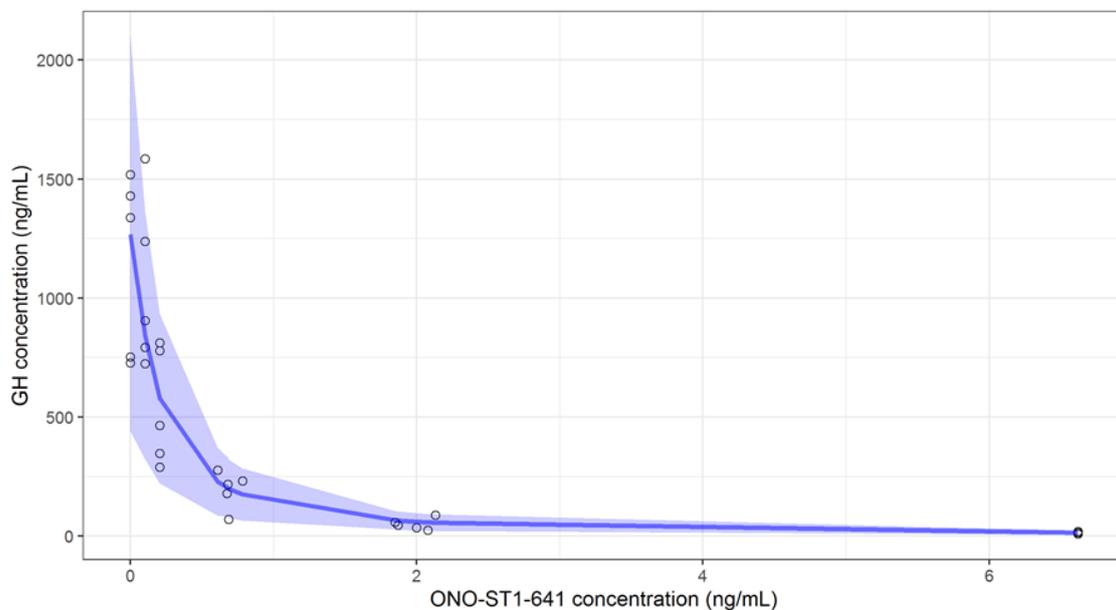


Fig. 3-3 Observed and model predicted PK/PD relationship between GH and ONO-ST1-641 concentrations in rats.

Dots are observed values, solid lines are predicted median, shaded areas represent the simulation based 90% prediction intervals.

ii. ONO-5788 の PK/PD モデル

前項で得た ONO-ST1-641 の PK/PD パラメータを固定して (式 10) に当てはめ、ONO-5788 群の結果を用いて PK/PD 解析を実施したときのパラメータ推定値を Table 3-3 に、モデルの 90% 予測区間と実測値を視覚的に比較した結果を Fig. 3-4 に示した。推定された ONO-5788 の EC50 は 2.96 ng/mL であった。実測値と予測値の間には良好な一致が認められ、構築した ONO-5788 のラット PK/PD モデルは実測値を良好に反映した。

Table 3-3 PK/PD parameter estimates for ONO-5788 in rats

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
$E0_{\text{ONO-5788}}$ (ng/mL)	1280	10.9
E_{max}	1 (Fixed)	-
$EC50_{\text{ONO-5788}}$ (ng/mL)	2.96	31.8
$EC50_{\text{ONO-ST1-641}}$ (ng/mL)	0.179 (Fixed)	-
Hill	1.24 (Fixed)	-
Residual variability		
$\sigma_{\text{ONO-5788}}^2$ (proportional)	0.130	24.2

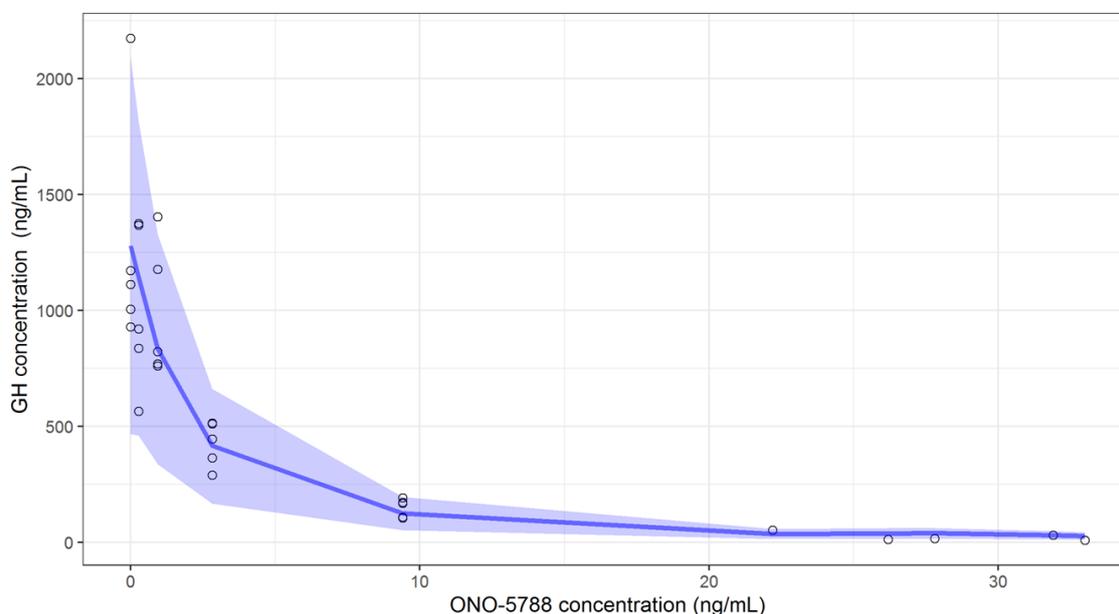


Fig. 3-4 Observed and model predicted PK/PD relationship between GH and ONO-5788 concentrations in rats.

Dots are observed values, solid lines are predicted median, shaded areas represent the simulation based 90% prediction intervals.

iii. PK/PD 関係の比較

ラットを用いた検討で得た ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の PK/PD 関係に加え、第 2 章で得たオクトレオチドの PK/PD 関係を比較した結果を Fig 3-5 に示した。推定された ONO-5788 の EC50 は 2.96 ng/mL、ONO-ST1-641 の EC50 は 0.179 ng/mL であり、ONO-5788 の GH 阻害活性は ONO-ST1-641 の 17 分の 1 程度であった。第 2 章で得たオクトレオチドの EC50 は 0.196 ng/mL であったことから、ラットにおいても ONO-ST1-641 はオクトレオチドと同等の GH 阻害活性を持つことが示された。

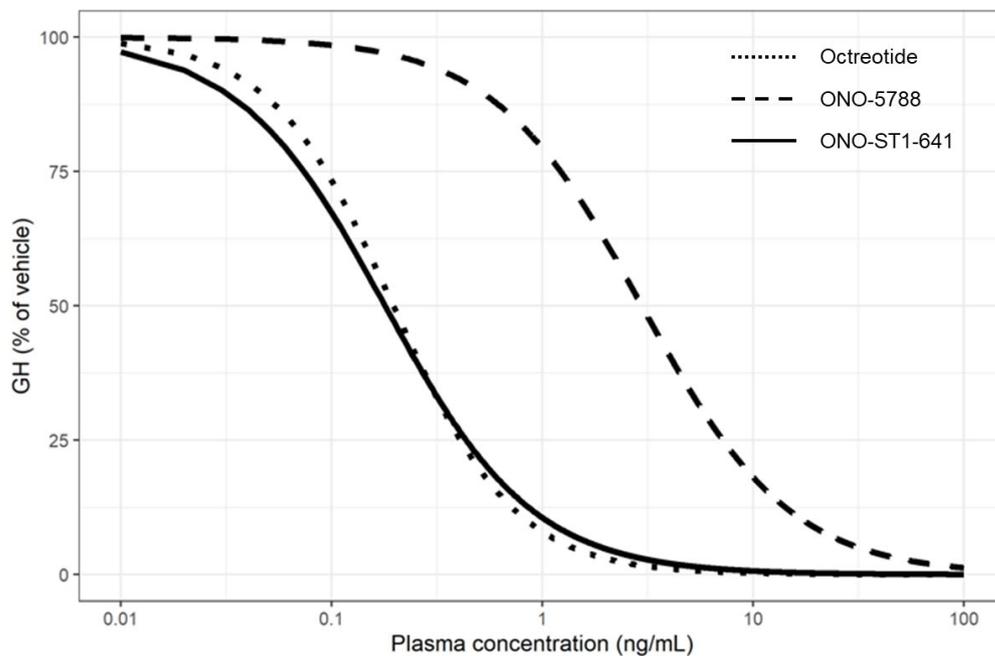


Fig. 3-5 PK/PD relationship between GH inhibitory effect and plasma concentration of octreotide, ONO-5788 and ONO-ST1-641 after GHRH+arginine stimulation in rats.

Dotted line is octreotide, dashed lines is ONO-5788, solid line is ONO-ST1-641.

第3節 ヒト GHRH+アルギニン刺激試験

ONO-5788をヒトへ初めて投与する第1相ONO-5788-01試験（ClinicalTrials.gov 識別番号：NCT03571594）の1部としてGHRH+アルギニン刺激試験パートを設け、ONO-5788及びONO-ST1-641のPK/PDを評価し、先端巨大症患者を対象とした第2相試験の投与量の予測を試みた。

1. 方法

i. 試験方法

第2章で構築した方法に準じて、健康成人男性24名を対象に、非盲検、無作為化、プラセボ対照、5期クロスオーバーデザインでGHRH+アルギニン刺激試験を実施した。試験デザインの概略をFig. 3-6に示した。

24名の被験者を6つの投与順序（各群4名）のいずれかに割り付け、最初の3期にプラセボ、オクトレオチド高用量（92 µg/200 mL）、ONO-5788 7 mgのいずれかを投与した。4期はONO-5788 30 mg、5期はONO-5788 120mgを投与した。1～3期のプラセボ又はオクトレオチド投与後の休薬期間は7日間、ONO-5788 7 mg投与後は3週間とし、4期のONO-5788 30 mg投与後は4週間とした。各投与期の1日目に、プラセボ又はONO-5788を空腹時経口投与、若しくはオクトレオチドを8時間静脈内持続投与し、投与開始6時間後にGHRHを静脈内投与すると共にアルギニンを30分間静脈内持続投与した。GHRH投与後2時間の血漿中GH濃度のAUC、並びに平均血漿中ONO-5788濃度、ONO-ST1-641濃度及びオクトレオチド濃度を用いてPK/PD解析を実施した。

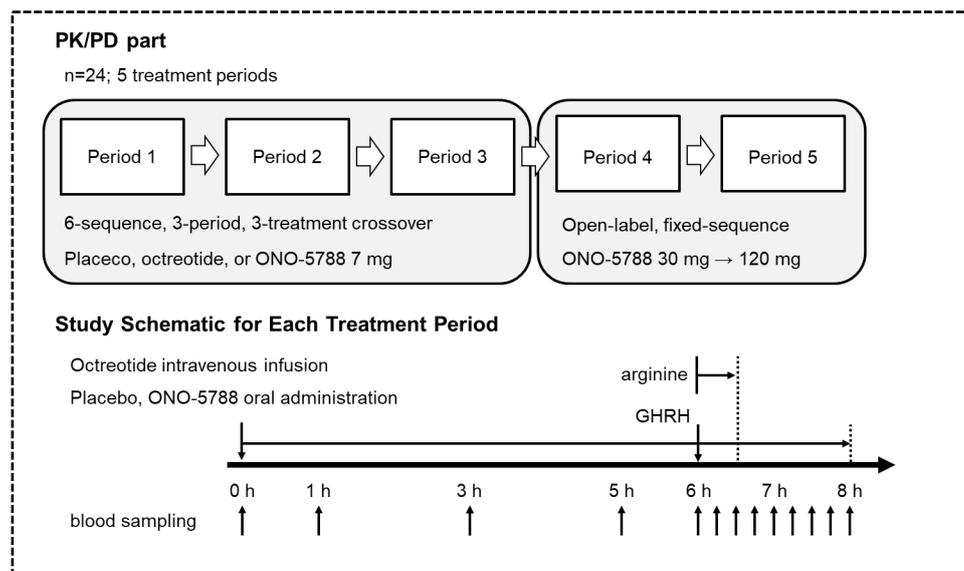


Fig. 3-6 Study design in humans

ii. 解析方法

GHRH+アルギニン刺激試験にて得た GHRH 投与後 2 時間の血漿中 GH AUC、平均血漿中 ONO-5788 濃度及び ONO-ST1-641 濃度を、ラット試験にて用いた式と同様の阻害型の競合的相互作用モデルに当てはめ、PK/PD 解析を実施した (式 11)。ラット試験とは異なり、ヒト試験で投与できるのは治験薬として製造された ONO-5788 であり、代謝物である ONO-ST1-641 を直接ヒトに投与することは計画しなかった。そのため、モデル上で両化合物の EC50 を分離評価することとし、ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の濃度データの同時当てはめを実施した。本試験では ONO-5788 を投与したときの GH 抑制は最大に達しておらず、Emax を求めることができなかつたため、第 2 章のオクトレオチド投与したヒト試験のデータ及び本試験で得られたオクトレオチド投与期のデータを併合し、阻害型の Emax モデルに当てはめ、ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の Emax はオクトレオチドと同じと仮定してパラメータを推定した (式 12)。モデルの構築及び当てはまりの確認は第 2 章と同様の方法にて行った。

ONO-5788 又は ONO-ST1-641 の場合：

$$GH\ AUC = E0 \times \left\{ 1 - \frac{Emax \times \left[\left(\frac{Cp_{ONO-5788}}{EC50_{ONO-5788}} \right)^{Hill_{ONO}} + \left(\frac{Cp_{ONO-ST1-641}}{EC50_{ONO-ST1-641}} \right)^{Hill_{ONO}} \right]}{1 + \left(\frac{Cp_{ONO-5788}}{EC50_{ONO-5788}} \right)^{Hill_{ONO}} + \left(\frac{Cp_{ONO-ST1-641}}{EC50_{ONO-ST1-641}} \right)^{Hill_{ONO}}} \right\} \quad (式 11)$$

オクトレオチドの場合：

$$GH\ AUC = E0 \times \left(1 - \frac{Emax \times Cp_{octreotide}^{Hill_{octreotide}}}{EC50_{octreotide}^{Hill_{octreotide}} + Cp_{octreotide}^{Hill_{octreotide}}} \right) \quad (式 12)$$

GH AUC : GHRH+アルギニン刺激後 2 時間の血漿中 GH AUC

E0 : プラセボ投与時の血漿中 GH 濃度

Cp : 血漿中各化合物濃度

Emax : GH 分泌に対する各化合物の最大抑制効果 (各化合物共通)

EC50 : Emax の 50% の効果を与える血漿中各化合物濃度

Hill : 各化合物の Hill 係数 (ONO-5788 及び ONO-ST1-641 共通)

2. 結果

試験に参加した24名の被験者は5期の投与を完遂し、ONO-5788を経口投与したときの血漿中ONO-5788濃度、ONO-ST1-641濃度、オクトレオチド濃度、並びにGHRH+アルギニン刺激後の血漿中GH濃度をFig. 3-7に示した。

ONO-5788は投与後3時間以内にCmaxに到達し、半減期は約6~17時間であった。ONO-ST1-641のCmaxはONO-5788の2~5%程度と小さく、半減期は約48~77時間とONO-5788より長かった。血漿中ONO-5788濃度及びONO-ST1-641濃度は用量に応じで増加したものの、その増加は用量比よりも小さかった。ONO-5788投与後6-8時間のGH分泌評価時において血漿中ONO-5788濃度及びONO-ST1-641濃度は概ね一定であり、7mg、30mg、120mg投与時の血漿中ONO-5788濃度はそれぞれ、 11.2 ± 0.707 ng/mL、 27.0 ± 3.73 ng/mL、 67.7 ± 10.3 ng/mLであり、血漿中ONO-ST1-641濃度はそれぞれ、 0.724 ± 0.0620 ng/mL、 2.01 ± 0.334 ng/mL、 6.33 ± 1.08 ng/mLであった(平均値 \pm SE)。

GHRH+アルギニン刺激後2時間のGH AUCは、プラセボ投与時で 55.2 ± 4.23 ng*h/mL、オクトレオチド投与時で 15.7 ± 1.67 ng*h/mLであり、第2章で実施したヒト試験と同程度であった。ONO-5788はGHRH+アルギニン刺激時のGH分泌を用量依存的に有意に抑制したものの、その抑制はオクトレオチドよりも弱く、7mg、30mg、120mg投与時の血漿中GH AUCはそれぞれ、 47.0 ± 3.94 ng*h/mL、 37.9 ± 3.95 ng*h/mL、 27.5 ± 3.70 ng*h/mLであった。

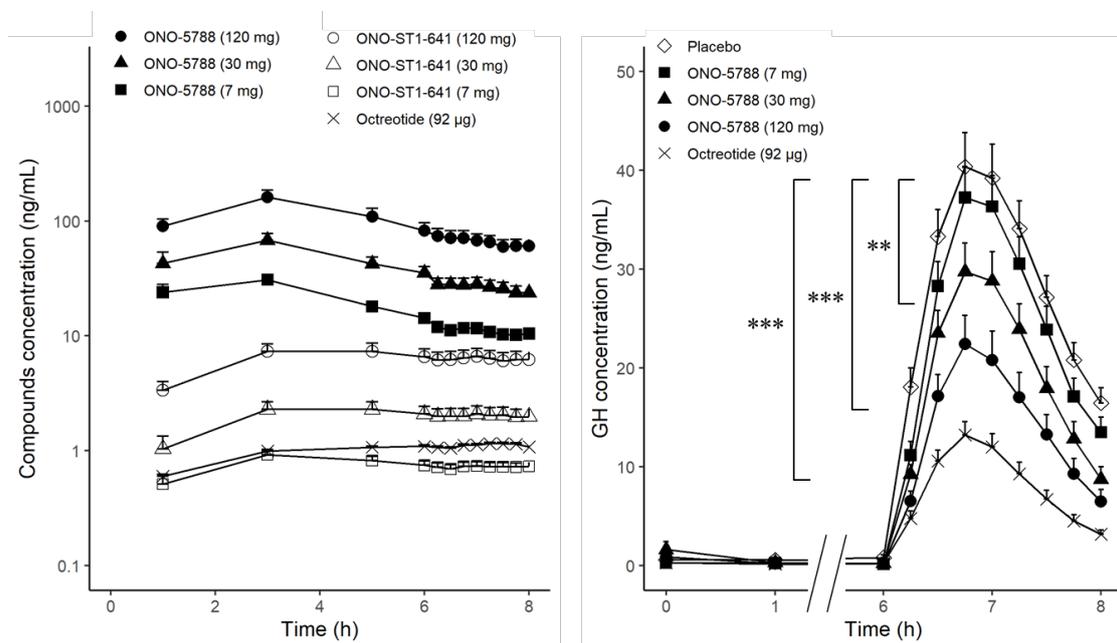


Fig. 3-7 Plasma ONO-5788, ONO-ST1-641, octreotide and GH concentrations following GHRH+arginine-induced GH hypersecretion and after ONO-5788 administration in humans.

Plasma concentrations were expressed as mean \pm SE (n = 24); one-way analysis of variance followed by Dunnett's test was applied to comparison of GH AUC between the placebo control group and test compounds-treated groups; **P < 0.01 and ***P < 0.001 vs. placebo controls.

ヒト試験の結果を用いて PK/PD 解析を実施したときのパラメータ推定値を Table 3-4 に、診断プロットを Fig. 3-8 に、モデルによる予測の中央値、5%点及び 95%点の 90%信頼区間と実測値を視覚的に比較した結果を Fig. 3-9 に示し、横軸は血漿中 ONO-ST1-641 濃度で表した。個体間変動は Emax 及び EC50 に組み込まれ、Emax は個々の推定値が 1 を超えないようロジスティック関数を用いて推定した。推定された Emax は 0.701、ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の EC50 は 207 ng/mL 及び 2.70 ng/mL、Hill 係数は 2.39 であった。診断プロットにおいて、実測値と母集団平均パラメータからの予測値及び個々の Bayes 推定パラメータからの予測値との間には良好な一致が認められ、条件付き重み付き残差と母集団平均パラメータからの予測値との関係に一定の傾向は認められなかった。また、実測値の中央値、5%点、95%点はそれぞれモデルによる予測値の 90%信頼区間にほぼ含まれており、構築したヒト PK/PD モデルの適合性が確認できた。

Table 3-4 PK/PD parameter estimates for ONO-5788, ONO-ST1-641 and octreotide in humans

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
E0 (ng*h/mL)	48.5	7.40
Logit for Emax	0.853	12.0
Emax	70.1	-
EC50 _{ONO-5788} (ng/mL)	207	179
EC50 _{ONO-ST1-641} (ng/mL)	2.70	17.2
Hill _{ONO}	2.06	22.8
EC50 _{octreotide} (ng/mL)	0.303	7.43
Hill _{octreotide}	2.39	11.4
Intra-individual variability		
ω^2 on E0	0.0195	25.8
ω^2 on Logit for Emax	0.0457	33.5
Residual variability		
σ_{ONO}^2 (proportional)	0.0457	16.3
$\sigma_{\text{octreotide}}^2$ (proportional)	0.0195	24.3

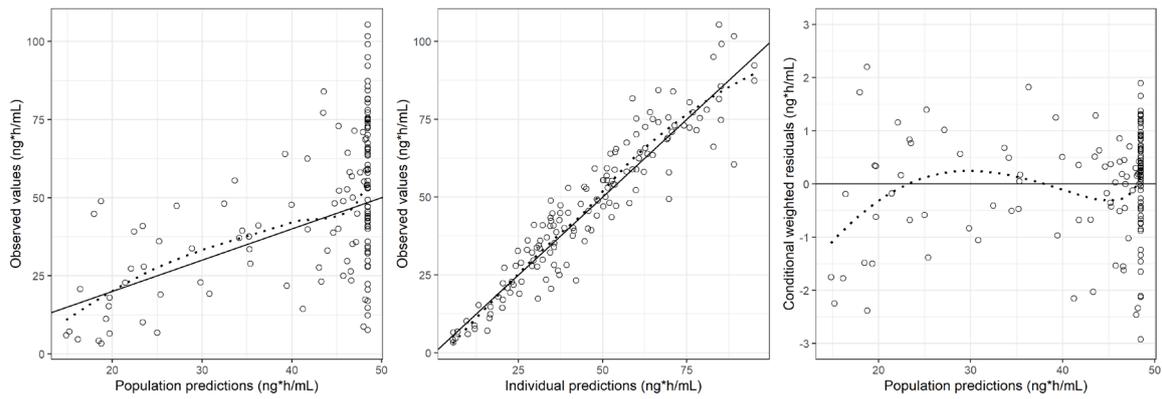


Fig. 3-8 Goodness of fit plots of PK/PD model for ONO-5788 in humans

Dots are observed values, dotted line and solid line represent LOESS (locally weighted scatterplot smoothing) fit and unity, respectively.

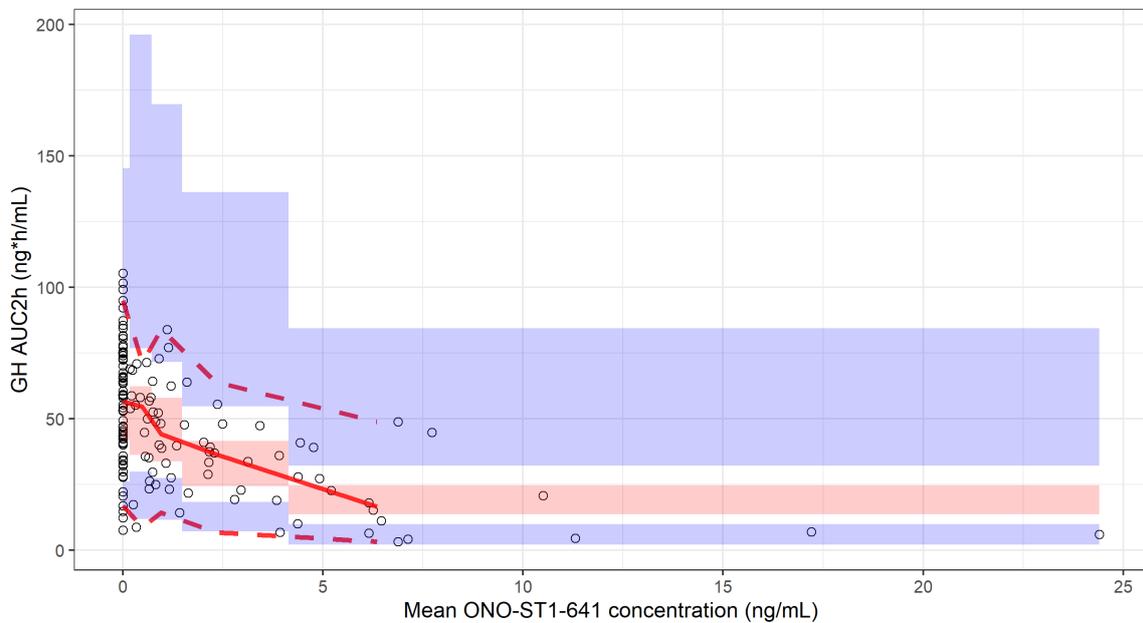


Fig. 3-9 Observed and model-predicted PK/PD relationship between GH AUC2h and ONO-ST1-641 concentrations in humans.

Dots are observed values, the solid line is the observed median, the dashed lines are observed p5 and p95, the shaded areas are the 90% confidence intervals of the simulated median, p5 and p95.

第4節 Pop PK モデルの構築

ONO-5788 を 120 mg の用量まで単回投与したときの GH 抑制効果はオクトレオチドよりも弱かった。一方で、主に GH 抑制効果に寄与した ONO-ST1-641 の半減期は長く、1 日 1 回の反復投与で血漿中濃度の累積が期待できる。先端巨大症患者の治療において、定常状態において GH を正常域に維持することが重要であることから⁴²⁾、Pop PK モデルを構築し、前項で構築した PK/PD モデルと合わせて、ONO-5788 を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態における ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の血漿中濃度及び GH 抑制効果を予測することとした。

1. 解析方法

Pop PK モデルの構築には、GHRH+アルギニン刺激試験パートで得た PK データに加えて、ONO-5788-01 試験の単回投与パート及び反復投与パートにおける PK データを使用した。単回投与パートは、ONO-5788 を 5、20、50、120 mg の用量で各群 6 名の被験者に投与された。反復投与パートは、ONO-5788 を 1 日 1 回 7、15 mg の用量で 14 日間、各群 8 名の被験者に投与された。なお、ONO-5788 15 mg を反復投与したときの忍容性は不良であったため、すべての被験者が 7 日以内に投与を中止された。

Pop PK モデルの構築は 2 つのステップに分けて実施した。最初のステップでは ONO-5788 の血漿中濃度を表現するモデルとして、吸収のラグタイムを有し 1 次吸収過程を伴う 3 コンパートメントモデルを当てはめた。次のステップでは、最初のステップで求めた ONO-5788 のパラメータを固定し、ONO-ST1-641 の血漿中濃度を表現するモデルを構築した。ONO-ST1-641 の生成は ONO-5788 の中央コンパートメントからの一次生成を仮定し、初回通過効果による吸収過程は考慮しなかった。ONO-ST1-641 を直接投与したデータは無いため、ONO-ST1-641 に代謝される ONO-5788 の割合 (F_m) は不明であり、識別できない⁷⁰⁾。このパラメータの識別性の問題を回避するため、ONO-5788 から ONO-ST1-641 への変換率は、前臨床試験で別途検討されたヒト肝キメラマウスにおける肝変換率 (41.6%) を用いた。構築した Pop PK モデルの概念図を Fig. 3-10 に示した。

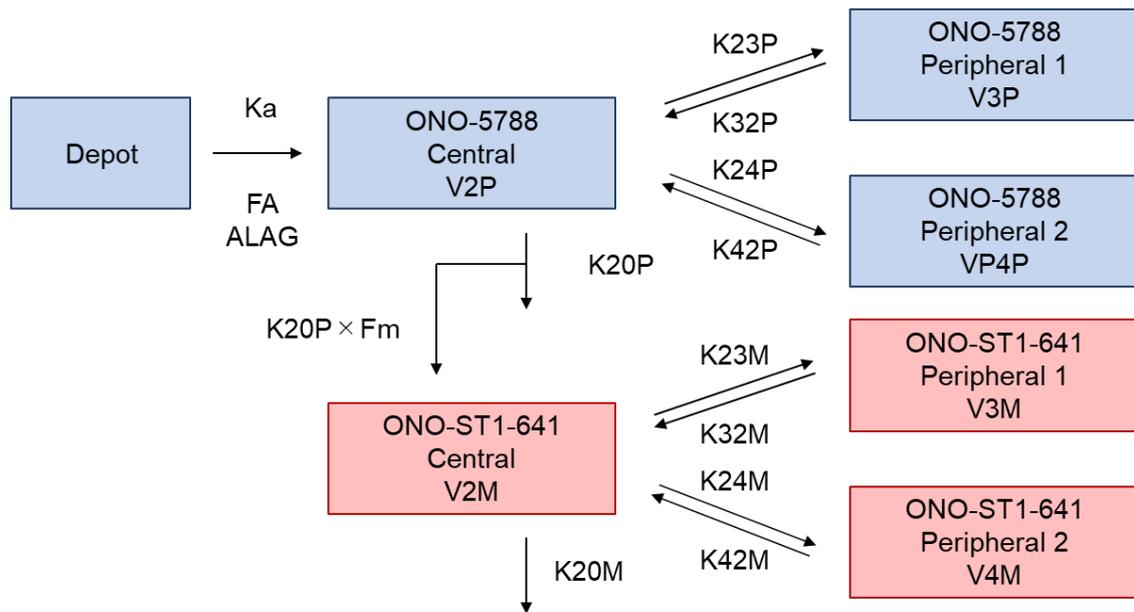


Fig. 3-10 Structural population PK model for ONO-5788 and ONO-ST1-641

FA : 母集団平均値を 1 としたときの ONO-5788 の相対的バイオアベイラビリティ

Fm : ONO-5788 から ONO-ST1-641 への代謝分率

ALAG : ONO-5788 の吸収のラグタイム

Ka : ONO-5788 の吸収速度定数

K20P : ONO-5788 の消失速度定数 ($K20P = CLP/V2P$)

K23P : ONO-5788 の中心コンパートメントから第 1 末梢コンパートメントへの移行速度定数
($K23P = Q3P/V2P$)

K32P : ONO-5788 の第 1 末梢コンパートメントから中心コンパートメントへの移行速度定数
($K32P = Q3P/V3P$)

K24P : ONO-5788 の中心コンパートメントから第 2 末梢コンパートメントへの移行速度定数
($K24P = Q4P/V2P$)

K42P : ONO-5788 の第 2 末梢コンパートメントから中心コンパートメントへの移行速度定数
($K42P = Q4P/V4P$)

K20M : ONO-ST1-641 の見かけの消失速度定数 ($K20M = CLM/V2M$)

K23M : ONO-ST1-641 の中心コンパートメントから第 1 末梢コンパートメントへの移行速度定数
($K23M = Q3M/V2M$)

K32M : ONO-ST1-641 の第 1 末梢コンパートメントから中心コンパートメントへの移行速度定数
($K32M = Q3M/V3M$)

K24M : ONO-ST1-641 の中心コンパートメントから第 2 末梢コンパートメントへの移行速度定数
($K24M = Q4M/V2M$)

K42M : ONO-ST1-641 の第 2 末梢コンパートメントから中心コンパートメントへの移行速度定数 ($K42M = Q4M/V4M$)

CLP/F : ONO-5788 の見かけのクリアランス

CLM : ONO-ST1-641 の見かけのクリアランス

Q3P/F : ONO-5788 の中心コンパートメントと第 1 末梢コンパートメント間の見かけの移行クリアランス

Q4P/F : ONO-5788 の中心コンパートメントと第 2 末梢コンパートメント間の見かけの移行クリアランス

Q3M : ONO-ST1-641 の中心コンパートメントと第 1 末梢コンパートメント間の見かけの移行クリアランス

Q4M : ONO-ST1-641 の中心コンパートメントと第 2 末梢コンパートメント間の見かけの移行クリアランス

V2M : ONO-ST1-641 の中心コンパートメントの見かけの分布容積

V3M : ONO-ST1-641 の第 1 末梢コンパートメントの見かけの分布容積

V4M : ONO-ST1-641 の第 2 末梢コンパートメントの見かけの分布容積

V2P/F : ONO-5788 の中心コンパートメントの見かけの分布容積

V3P/F : ONO-5788 の第 1 末梢コンパートメントの見かけの分布容積

V4P/F : ONO-5788 の第 2 末梢コンパートメントの見かけの分布容積

2. 結果

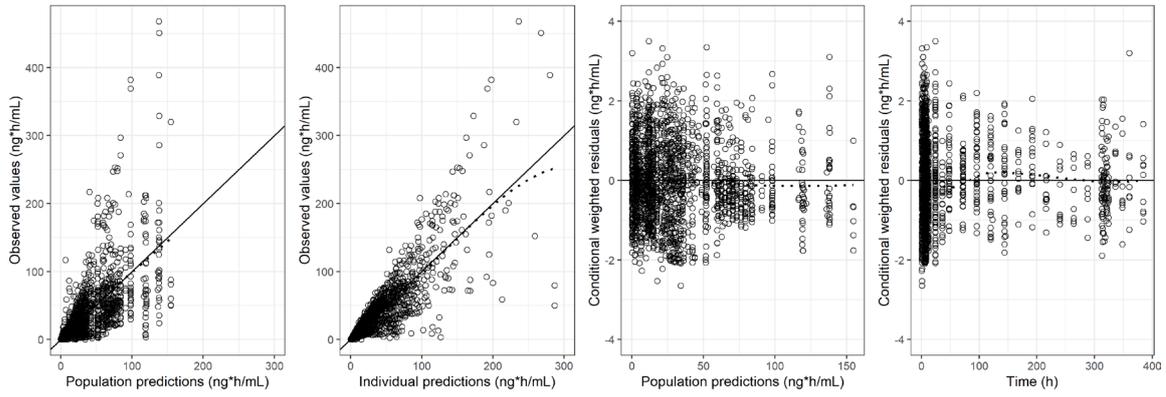
構築した Pop PK モデルのパラメータ推定値を Table 3-6 に、診断プロットを Fig. 3-11 に、モデルによる予測の中央値、5%点及び 95%点の 90%信頼区間と実測値を視覚的に比較した結果を Fig. 3-12 に示した。

血漿中 ONO-5788 濃度及び血漿中 ONO-ST1-641 濃度が用量に対して負の非線形を示したことから、FA に対する共変量として投与量を組み込んだ $\{FA = \theta_{FA} \times (Dose/30)^{\theta_{cov}}\}$ 。個体間変動は、Ka、V2P、V3P、FA、QPM、Q4M に組み込まれた。診断プロットにおいて、ONO-5788 及び ONO-ST1-641 のいずれも、実測値と母集団平均パラメータからの予測値及び個々の Bayes 推定パラメータからの予測値との間には良好な一致が認められ、条件付き重み付き残差と母集団平均パラメータからの予測値及び投与開始からの経過時間との関係に一定の傾向は認められなかった。また、両化合物の実測値はモデルによる予測値の 90%予測区間にほぼ含まれており、構築した Pop PK モデルの適合性が確認できた。

Table 3-6 Population PK parameter estimates for ONO-5788 and ONO-ST1-641 in humans

Parameter (Unit)	Estimate	Relative standard error (%)
Fixed effect parameters		
Ka (h ⁻¹)	0.243	6.6
CLP/F (L/h)	48.9	7.9
V2P/F (L)	48.0	6.0
Q3P/F (L/h)	30.5	9.1
V3P/F (L)	285	10.7
Q4P/F (L/h)	0.901	8.1
V4P/F (L)	74.2	21.7
FA	1 (Fixed)	-
ALAG (h)	0.440	10.3
COV	-0.392	11.2
Fm	0.416 (Fixed)	-
CLM (L/h)	67.7	4.9
V2M (L)	14.5	10.0
Q3M (L/h)	524	13.1
V3M (L)	2000	6.8
Q4M (L/h)	274	5.8
V4M (L)	9900	6.5
Intra-individual variability		
ω^2 on Ka	0.288	20.8
ω^2 on V2P/F	1.37	52.8
ω^2 on V3P/F	0.141	19.1
ω^2 on FA	0.144	27.6
ω^2 on QPM	0.0525	11.7
ω^2 on Q4M	0.316	28.7
Residual variability		
$\sigma_{\text{ONO-5788}^2}$ (proportional)	0.158	10.3
$\sigma_{\text{ONO-ST1-641}^2}$ (proportional)	0.165	12.8

ONO-5788



ONO-ST1-641

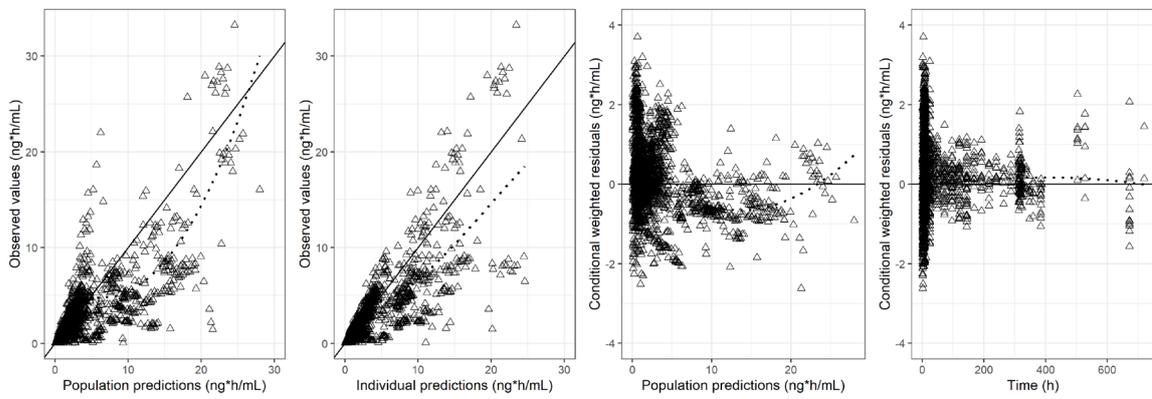
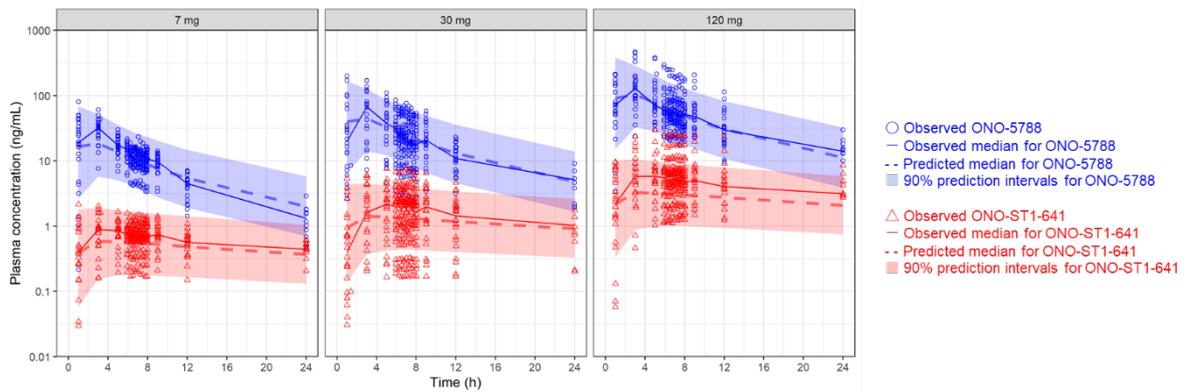


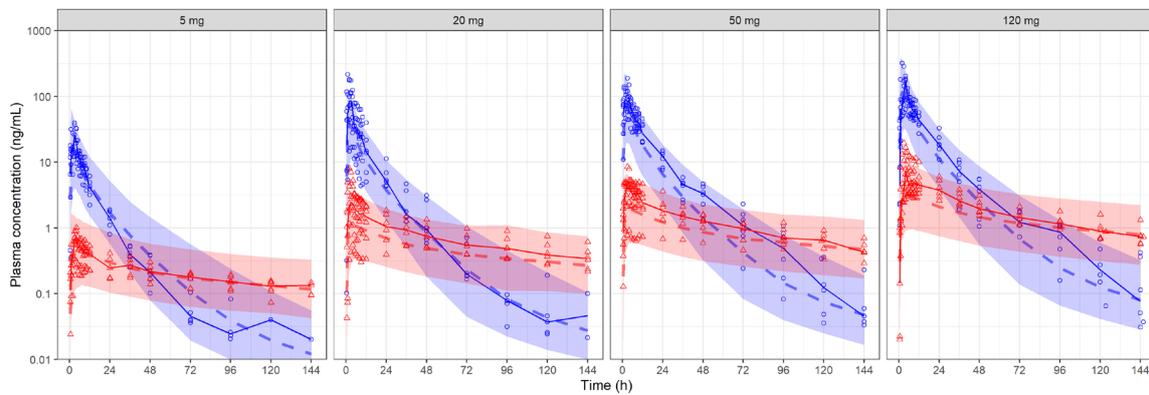
Fig. 3-11 Goodness of fit plots of population PK model for ONO-5788 and ONO-ST1-641 in humans

Dots are observed values, dotted line and solid line represent LOESS (locally weighted scatterplot smoothing) fit and unity, respectively.

PK/PD part



Single ascending dose part



Multiple ascending dose part

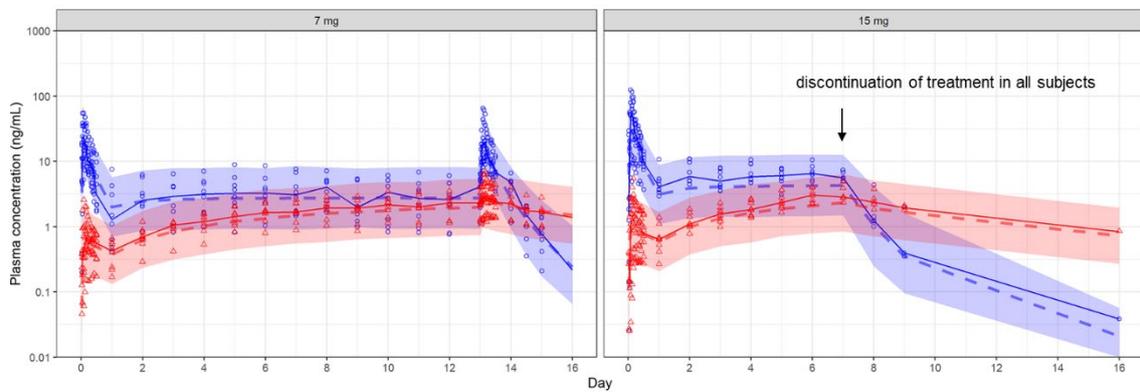


Fig. 3-12 Observed and model-predicted plasma concentrations of ONO-5788 and ONO-ST1-641 after single or multiple administration of ONO-5788 in humans.

Circles are observed values of ONO-5788, triangles are observed values of ONO-ST1-641, solid lines are observed median, dashed lines are predicted median, shaded areas represent the simulation based 90% prediction intervals.

第5節 先端巨大症患者における投与量予測

構築した PK/PD モデル及び Pop PK モデルを用いて、ONO-5788 を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態における GH 抑制効果を予測した結果を Fig. 3-13 に示した。GH 抑制効果はオクトレオチドに対する相対値で示し、先端巨大症患者にサンドスタチン LAR 20 mg を 4 週毎に 24 週反復筋肉内投与した時のトラフ血漿中濃度 (1.2 ng/mL)⁷¹⁾を指標とした。

予測の結果、反復投与パートで忍容性が確認された 7 mg においては、オクトレオチドの臨床用量の 50%程度の GH 抑制効果しか示さず、効果が定常に到達するまでに 21 日以上を要することが示された。ONO-5788 がオクトレオチドの臨床用量と同等の効果を示すためには、60 mg 以上の反復投与が必要であると予測された。

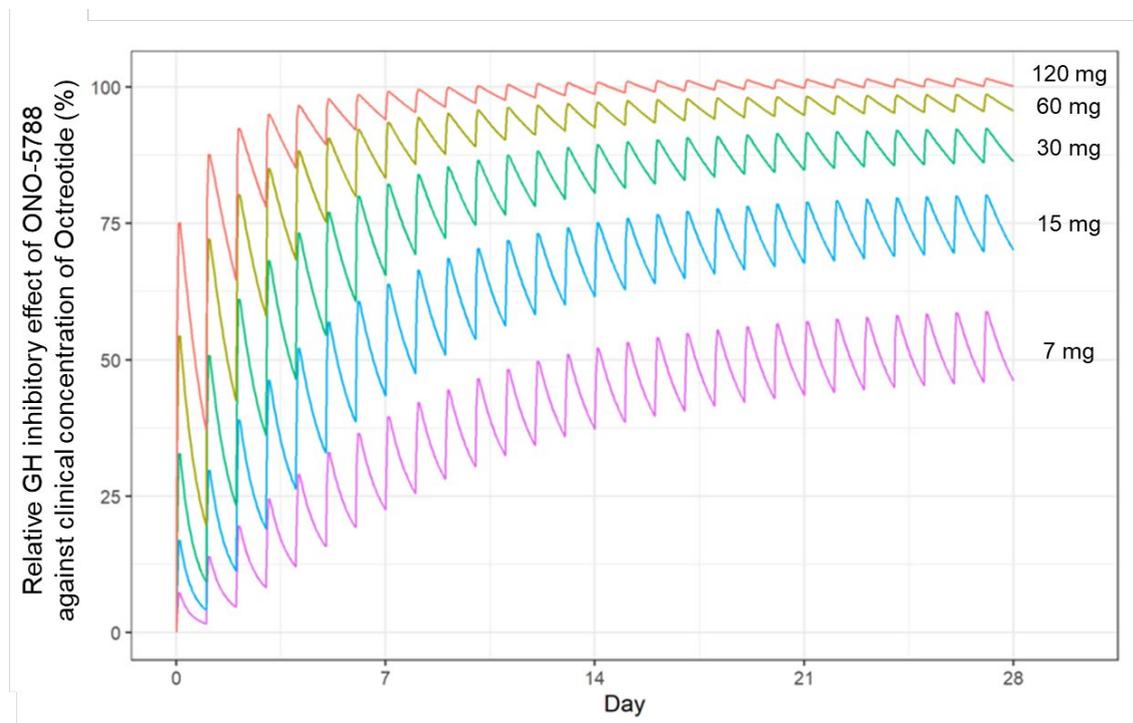


Fig. 3-13 Simulated effect–time profiles of ONO-5788 after repeated daily oral administration.

Y-axis is percentage of GH inhibitory effect of ONO-5788 against clinical effective concentration of octreotide (= 1.2 ng/mL; the steady-state serum concentrations at trough with 20 mg SANDOSTATIN[®] LAR DEPOT given every 4 weeks in patients with acromegaly⁷¹⁾).

第6節 考察

SSTR2 発現 CHO-K1 細胞を用いた *in vitro* 作動実験、及びラットを用いた *in vivo* GHRH 刺激試験において、活性代謝物である ONO-ST1-641 はオクトレオチドと同等以上の強い活性を示した (Table 3-1、Fig. 3-5)。一方で、ヒトにおいては、GHRH+アルギニン刺激時に ONO-5788 を 120 mg で投与したときの平均血漿中 ONO-ST1-641 濃度は 6.33 ± 1.08 ng/mL であり、オクトレオチドの 1.11 ± 0.0299 ng/mL を大きく上回る血漿中暴露を得ていたにも関わらず、GH 抑制効果はオクトレオチドよりも弱かった (Fig. 3-7)。つまり、ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の SSTR2 アゴニスト活性にはラットとヒトで種差があり、*in vitro* 試験はこのことを反映していなかった。第2章では、オクトレオチドを用いた検討において、ラットとヒトの PK/PD 関係は種差なく良好に一致していたことから、ONO-5788 及び ONO-ST1-641 固有の特性が種差を生じた原因と考えられる。*In vitro* 評価系と *in vivo* 評価系で活性の種差を生じる原因の一つとしてタンパク結合の差、すなわち比較的タンパク添加量の少ない *in vitro* 評価系では *in vivo* 評価系のタンパク結合による活性の低下を反映しない可能性が挙げられるが、ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の血漿タンパク結合率はヒト及びラットで概ね 80~90%と類似しており、オクトレオチドの 65%⁷¹⁾よりもやや高いものの、種差を生じる原因ではないと考えられた。ONO-5788 及び ONO-ST1-641 で生じた種差の原因に関しては依然として不明であり、種差を検出できる *in vitro* 評価系の構築は今後の課題である。

このように、非臨床から予測した効果と実際の臨床試験の効果に差が認められることはしばしば起こるものの⁷²⁾、早期臨床試験でバイオマーカーの用量反応のデータを取得し、ファーマコメトリクス解析を適用することで、患者試験で必要な用量を修正することが可能となる。特に ONO-5788 は未変化体と活性代謝物の両方が活性を持つため、両者の臨床での活性をモデル上で分離推定する必要があった。PK/PD 解析の結果、ONO-ST1-641 の EC₅₀ は 2.70 ng/mL、ONO-5788 の EC₅₀ は 207 ng/mL と推定され、約 77 倍の GH 阻害活性の乖離があった。一方で、推定された ONO-5788 の EC₅₀ の相対的標準誤差は 179%と大きく (信頼区間が 0 を含まない 50%以下が望ましい)、信頼できる推定値でないことに留意する必要がある (Table 3-4)。追加の解析として、GH 抑制効果を ONO-ST1-641 のみとして解析したところ、モデルの当てはまりが有意に変化することはなかった。一方で、ONO-5788 のみとして解析した場合にはモデルの当てはまりが有意に悪化した (結果は非掲載)。すなわち GH 抑制効果は ONO-ST1-641 のみでも十分説明できることから、活性の大部分を担っているのは ONO-ST1-641 であるということは妥当と考えられた。

ONO-5788-01 試験の反復投与パートにおいて、ONO-5788 7 mg を 14 日間反復経口投与したときの忍容性は比較的良好であったものの、15 mg を反復経口投与したときの忍容性は不良であった。Pop PK 及び PK/PD 解析に基づく予測の結果、忍容性が確認された 7 mg におい

てはオクトレオチドの臨床用量の 50%程度の GH 抑制効果しか示さず、効果発現までの時間も長くかかることが示された。また、オクトレオチドと同等の効果を発揮するためには 60 mg 以上の反復投与が必要なことも示された (Fig. 3-13)。このような背景を勘案し、ONO-5788 は先端巨大症を適応として以降の開発を進めることが困難であると判断された。このように、期待された結果は得られなかったものの、バイオマーカーを活用したファーマコメトริก解析による定量的なシミュレーションが ONO-5788 の臨床開発の早期 No-Go 判断に大きく寄与したと言える。このことは、成功確率の低い患者試験を削減し、他のプログラムに資本の再投資を可能とするという点で、医薬品の生産性の向上に寄与したと考える。

第 7 節 小括

先端巨大症治療における新規の経口薬となることが期待される ONO-5788 の前臨床研究及び初期臨床開発として、第 2 章で構築した GHRH+アルギニン刺激下における GH 抑制試験を実施し、ファーマコメトริก解析を適用することで、先端巨大症患者における有効用量の予測を試みた。ラットにおいて、活性代謝物である ONO-ST1-641 はオクトレオチドと同等以上の GH 抑制効果を示したものの、ヒトにおいてはオクトレオチドの約 9 分の 1、また ONO-5788 は ONO-ST1-641 の約 77 分の 1 の GH 阻害活性しか示さないと推定され、ONO-5788 はほとんど GH 抑制に寄与していないと考えられた。母集団 PK 解析に基づくシミュレーションの結果、先端巨大症患者に対してオクトレオチドと同等の GH 抑制効果を示すために必要な ONO-5788 の用量は 60 mg 以上であると予測された一方で、第 1 相試験で忍容性が確認された最大用量は 7 mg であった。実施した解析は ONO-5788 の開発中止の意思決定に寄与し、成功確率の低い患者試験の削減に貢献した。

総括

本研究は、新規医薬品開発の生産性向上のための MIDD の確立の一助とすべく、臨床開発の進め方が大きく異なる抗がん剤領域と非抗がん剤領域それぞれに対して、新規開発化合物の前臨床研究～初期臨床開発においてファーマコメトリクス解析を適用し、その有用性を示した。

第 1 章 ONO-7579 の前臨床研究における PK/PD/Efficacy モデル解析

担がんマウスに ONO-7579 を投与したときの、薬物動態、腫瘍中 pTRK レベル、抗腫瘍効果の関係を定量的に示す PK/PD/Efficacy モデルを構築し、腫瘍中 pTRK レベルが抗腫瘍効果の指標となる有用なバイオマーカーであることを示すとともに、早期臨床試験における推奨用量設定の根拠となる pTRK 阻害率を示した。得た知見は ONO-7579 の第 1 相試験のプロトコル策定に役立ち、また、他の新規分子標的薬が早期臨床試験にてバイオマーカーを利用して生物学的に有効な用量を求めるために必要な前臨床研究の一例を示した。

第 2 章 先端巨大症患者における薬剤効果を予測する研究開発プラットフォームの構築

マウス、サル及び健康成人を対象とした GHRH+アルギニン刺激下におけるオクトレオチドの GH 抑制試験を実施し、得た結果を PK/PD 解析に当てはめることにより、オクトレオチドの PK/PD 関係は動物種に関わらず良好に一致することを示した。構築した試験系及び解析方法を新規候補化合物の評価に用いることで、動物を用いた前臨床試験結果から、健康成人を対象とした第 1 相試験、さらに先端巨大症患者を対象とした第 2 相試験における GH 抑制効果を定量的に予測し、臨床試験を合理的に計画することが可能となると考えられた。

第 3 章 ONO-5788 の前臨床研究及び第 1 相試験における Pop PK、PK/PD 解析

ONO-5788 の前臨床研究及び初期臨床開発として、第 2 章で構築した GHRH+アルギニン刺激下における GH 抑制試験を実施し、ファーマコメトリクス解析を適用した結果、先端巨大症患者に対してオクトレオチドと同等の GH 抑制効果を示すために必要な ONO-5788 の用量は 60 mg 以上であると予測され、忍容性が確認された最大用量である 7 mg と乖離があることを示した。実施した解析は先端巨大症を適応とした ONO-5788 の開発中止の意思決定に寄与し、成功確率の低い患者試験の削減に貢献した。

MIDD は効率的に医薬品開発を推進していくための方法論として、今後もさらなる発展を遂げていくと予想される。本研究で示した知見が新規医薬品の研究開発に携わる方々の知識となり、製薬業界の生産性が改善され、病気と苦痛に苦しむ患者にいち早く新薬が提供できることになるならば、これに勝る喜びはない。

謝辞

終わりに臨み、本研究に対し、終始御懇篤な御指導、御鞭撻を賜りました神戸薬科大学 薬剤学講座 大河原賢一教授に衷心より深甚なる謝意を表します。

本研究論文の審査にあたり、有益な御助言と御指導を賜りました神戸薬科大学 製剤学講座 坂根稔康教授、臨床薬学講座 江本憲昭教授、薬理学講座 小山豊教授に衷心より感謝いたします。

本研究は小野薬品工業（株）及び Ono Pharma UK Ltd.が実施した基礎研究及び臨床試験の成績をもとにしたものであり、携わられた研究部員及び開発部員の皆様に厚く御礼申し上げます。特に、本研究の実施の機会を与えて頂き、有益な御助言を賜りましたクリニカルファーマコロジー部 PK/PD サイエンス課 課長 大野朋也博士に深謝いたします。

最後に、常に支えてくれた家族に心から感謝します。

実験の部

第1章

小野薬品工業株式会社の「薬効薬理試験信頼性基準規則」及び「動物実験等に関する規程」を遵守した。

【1】 試薬

ONO-7579 は、小野薬品工業株式会社 医薬品化学研究部より入手し、-20℃にて保管したものを使用した。

【2】 実験動物

雌性 BALBnu/CrlCrj マウス（日本チャールズリバー株式会社、実験開始時週齢：6 週齢）を使用した。

【3】 細胞株

大腸がん細胞株 KM12 は American Type Culture Collection より入手し、数回継代した後、液体窒素タンク内で凍結保存したものを用いた。

【4】 腫瘍径の測定

KM12 移植日から最終評価日（Day 12）まで、2～3 日ごとに腫瘍の長径及び短径を電子ノギスで測定した。腫瘍体積は以下の式で算出した。

$$\text{腫瘍体積} = \text{腫瘍の長径} \times (\text{腫瘍の短径})^2 \times 0.5$$

【5】 ONO-7579 測定用腫瘍試料の調製

採血後にマウスを放血致死させ、腫瘍を採取した。腫瘍重量の 3 倍容量の蒸留水を添加後、ホモジナイズして腫瘍試料を調製した。腫瘍試料 10 μL に対してアセトニトリル/エタノール（7 : 3）200 μL を添加し攪拌したのち、6000 g にて 1 分間遠心ろ過し、上清を定量に供した。

【6】 ONO-7579 の定量

血漿中及び腫瘍中 ONO-7579 は LC/MS/MS を用いて測定した。以下に分析条件を示す。

LC システム :	Nexera MP (島津製作所)
カラム :	InertSustain C18、2.1 mm×50 mm、3 μm (GL Sciences)
移動相 :	10 mmol/L ぎ酸アンモニウム : タノール = 25 : 75 から開始し、 10 : 90 まで線形のグラジエント条件で変化させた
流速 :	0.5 mL/min
カラム温度 :	40°C
分析時間 :	5 分
MS システム :	API-4000 (AB Sciex)
インターフェース :	Turbo spray
イオン化法 :	Electrospray ionization (ESI)、negative ion mode
スキャンモード :	Multiple reaction monitoring (MRM)
モニターイオン :	precursor → product = m/z 576.9 → m/z 237.8

【7】 pTRK レベルの定量

腫瘍中の pTRK レベルは Meso Scale Discovery 社の操作手順書に従い、電気化学発光法を用いて TPM3-TRKA として定量した。以下に使用した資材及び抗体を示す。

ウェルプレート : MULTI-ARRAY 96-well Plate (Meso Scale Discovery)

プレートリーダー : MESO QuickPlex SQ 120 (Meso Scale Discovery)

pTRK 検出用プレート :

Capture 抗体 : マウス抗 TRK 抗体 (Santa Cruz Biotechnology)

Detect 抗体 : ウサギ抗リン酸化 TRK 抗体 (Cell Signaling)

二次抗体 : SULFO-TAG Labeled Anti-Rabbit Antibody (Goat)
(Meso scale discovery)

総 TRK 検出用プレート :

Capture 抗体 : ウサギ抗 TRK 抗体 (Santa Cruz Biotechnology)

Detect 抗体 : マウス抗 TRK 抗体 (Santa Cruz Biotechnology)

二次抗体 : SULFO-TAG Labeled Anti-Mouse Antibody (Goat)
(Meso scale discovery)

pTRK レベルは、以下の式を用いて総 TRK に対する相対値として算出した。

$$\text{pTRK 相対値} = (\text{リン酸化 TPM3-TRKA の発光量} / \text{総 TPM3-TRKA の発光量})$$

第2章

ラット試験

小野薬品工業株式会社の「薬効薬理試験信頼性基準規則」及び「動物実験等に関する規程」を遵守した。

【1】 試薬

オクトレオチドは Genscript Corporation より入手し、5°Cで保管したものをを用いた。成長ホルモン放出ホルモンは Bachem より入手し、-20°Cで保管したものをを用いた。

【2】 実験動物

雄性 CrI : CD (SD) IGS ラット (日本チャールス・リバー株式会社, 使用時 6 週齢) を使用した。

【3】 オクトレオチドの定量

血漿中オクトレオチドは LC/MS/MS を用いて測定した。以下に分析条件を示す。

LC システム :	Nexera X2 (島津製作所)
カラム :	Xbridge C18、2.1 mm ID×50 mm、3.5 μ m (Waters Corp)
移動相 :	0.1% ぎ酸 : 0.1% ぎ酸アセトニトリル = 80 : 20 から開始し、40 : 60 まで線形のグラジエント条件で変化させた
流速 :	0.25 mL/min
カラム温度 :	25°C
分析時間 :	9 分
MS システム :	Triple Quad 6500 (AB Sciex)
インターフェース :	Turbo-V spray
イオン化法 :	Electrospray ionization (ESI)、positive ion mode
スキャンモード :	Multiple reaction monitoring (MRM)
モニターイオン :	precursor → product = m/z 510.3 → m/z 120.0

【4】 GH の定量

血漿中 GH 濃度の測定は、Rat/Mouse Growth Hormone ELISA kit を EMD Millipore Corporation より購入し、-20°Cで保管したものをを用いた。血漿検体は、付属の assay buffer にて 100 倍希釈し、測定に供した。吸光度の測定にはマイクロプレートリーダー (Spectra Max™ M5e, Molecular Devices, LLC.) を用いた。

サル試験

株式会社イナリサーチの「動物実験指針」及び「麻薬、向精神薬、覚せい剤及び覚せい剤原料管理規定」を遵守した。

【1】 試薬

オクトレオチドは Genscript Corporation より入手し、5℃で保管したものをを用いた。GH 分泌の惹起剤として、成長ホルモン放出因子（GRF，注射用 GRF 住友 100，大日本住友製薬株式会社）及びアルギニン塩酸塩（L（+）-アルギニン塩酸塩，キシダ化学）を用いた。

【2】 実験動物

雄性カニクイザル（*Macaca fascicularis*，供給元：株式会社 GMJ 及び株式会社イブバイオサイエンス，使用時年齢 3～6 歳）を使用した。

【3】 オクトレオチドの定量

ラット試験と同様である。

【4】 GH の定量

血漿中 GH 濃度の測定は、hGH ELISA（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）及びマイクロプレートリーダー（SPECTRA MAX M5e, Molecular Devices）を用いて実施した。操作はキットの手順書に従った。

第3章

ラット試験

小野薬品工業株式会社の「薬効薬理試験信頼性基準規則」及び「動物実験等に関する規程」を遵守した。

【1】 試薬

ONO-5788 及び ONO-ST1-641 は、小野薬品工業株式会社 医薬品化学研究部より入手し、 -20°C にて保管したものを使用した。他の試薬は、第2章のラット試験と同様である。

【2】 実験動物

第2章のラット試験と同様である。

【3】 ONO-5788 及び ONO-ST1-641 の定量

血漿中 ONO-5788 及び ONO-ST1-641 は LC/MS/MS を用いて測定した。以下に分析条件を示す。

LC システム :	Prominence UFLC _{XR} (島津製作所) API-5000、API-4000 (AB Sciex)
カラム :	Shim-pack XR-ODS II、2.0 mm ID×75 mm (島津製作所)
移動相 :	0.2% ぎ酸 5 mmol/L 酢酸アンモニウム : アセトニトリル = 80 : 20 から開始し、10 : 90 まで線形のグラジエント条件で変化させた
流速 :	0.5 mL/min
カラム温度 :	40°C
分析時間 :	4 分
MS システム :	Triple Quad 6500 (AB Sciex)
インターフェース :	Turbo-V spray
イオン化法 :	Electrospray ionization (ESI)、positive ion mode
スキャンモード :	Multiple reaction monitoring (MRM)
モニターイオン :	ONO-5788 ; precursor → product = m/z 514.25 → m/z 422.93 ONO-ST1-641 ; precursor → product = m/z 458.223 → m/z 423.044

【4】 GH の定量

第2章のラット試験と同様である。

引用文献

- 1) Paul SM, Mytelka DS, Dunwiddie CT, et al. How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(3):203-214.
- 2) Pammolli F, Magazzini L, Riccaboni M. The productivity crisis in pharmaceutical R&D. *Nat Rev Drug Discov.* 2011;10(6):428-438.
- 3) Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products, FDA white paper, 2004
- 4) Lalonde RL, Kowalski KG, Hutmacher MM, et al. Model-based drug development. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;82(1):21-32.
- 5) Milligan PA, Brown MJ, Marchant B, et al. Model-based drug development: a rational approach to efficiently accelerate drug development. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;93(6):502-514.
- 6) Marshall SF, Burghaus R, Cosson V, et al. Good Practices in Model-Informed Drug Discovery and Development: Practice, Application, and Documentation. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2016;5(3):93-122.
- 7) Sato M, Ochiai Y, Kijima S, et al. Quantitative Modeling and Simulation in PMDA: A Japanese Regulatory Perspective. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2017 Jul;6(7):413-415.
- 8) Lesko LJ. Perspective on model-informed drug development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2021;10(10):1127-1129.
- 9) Marshall S, Madabushi R, Manolis E, et al. Model-Informed Drug Discovery and Development: Current Industry Good Practice and Regulatory Expectations and Future Perspectives. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2019;8(2):87-96.
- 10) Toloï Dde A, Jardim DL, Hoff PM, Riechelmann RS. Phase I trials of antitumour agents: fundamental concepts. *Ecancermedicalsecience.* 2015;9:501.
- 11) Bullock JM, Rahman A, Liu Q. Lessons Learned: Dose Selection of Small Molecule-Targeted Oncology Drugs. *Clin Cancer Res.* 2016;22(11):2630-2638.
- 12) Lu D, Lu T, Stroh M, et al. A survey of new oncology drug approvals in the USA from 2010 to 2015: a focus on optimal dose and related postmarketing activities. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016;77(3):459-476.
- 13) Sachs JR, Mayawala K, Gadamssetty S, Kang SP, de Alwis DP. Optimal Dosing for Targeted Therapies in Oncology: Drug Development Cases Leading by Example. *Clin Cancer Res.* 2016;22(6):1318-1324.
- 14) Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 2003;72:609-642.
- 15) Vaishnavi A, Le AT, Doebele RC. TRKking down an old oncogene in a new era of targeted therapy. *Cancer Discov.* 2015;5(1):25-34.
- 16) Al-Salama ZT, Keam SJ. Entrectinib: First Global Approval. *Drugs.* 2019;79(13):1477-1483.
- 17) Scott LJ. Larotrectinib: First Global Approval. *Drugs.* 2019;79(2):201-206.

- 18) Russo M, Misale S, Wei G, et al. Acquired Resistance to the TRK Inhibitor Entrectinib in Colorectal Cancer. *Cancer Discov.* 2016;6(1):36-44.
- 19) Drilon A, Li G, Dogan S, et al. What hides behind the MASC: clinical response and acquired resistance to entrectinib after ETV6-NTRK3 identification in a mammary analogue secretory carcinoma (MASC). *Ann Oncol.* 2016;27(5):920-926.
- 20) Drilon A, Nagasubramanian R, Blake JF, et al. A Next-Generation TRK Kinase Inhibitor Overcomes Acquired Resistance to Prior TRK Kinase Inhibition in Patients with TRK Fusion-Positive Solid Tumors. *Cancer Discov.* 2017;7(9):963-972.
- 21) Kawamoto M, Ozono K, Oyama Y, Yamasaki A, Oda Y, Onishi H. The Novel Selective Pan-TRK Inhibitor ONO-7579 Exhibits Antitumor Efficacy Against Human Gallbladder Cancer In Vitro. *Anticancer Res.* 2018;38(4):1979-1986.
- 22) Kheder ES, Hong DS. Emerging Targeted Therapy for Tumors with NTRK Fusion Proteins. *Clin Cancer Res.* 2018;24(23):5807-5814.
- 23) Falchook GS, Long GV, Kurzrock R, et al. Dose selection, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of BRAF inhibitor dabrafenib (GSK2118436). *Clin Cancer Res.* 2014;20(17):4449-4458.
- 24) Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med.* 2013;19(11):1469-1472.
- 25) Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumortropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* 1986;46(12 Pt 1):6387-6392.
- 26) Goldman SD, Funk RS, Rajewski RA, Krise JP. Mechanisms of amine accumulation in, and egress from, lysosomes. *Bioanalysis.* 2009;1(8):1445-1459.
- 27) Jusko WJ, Ko HC. Physiologic indirect response models characterize diverse types of pharmacodynamic effects. *Clin Pharmacol Ther.* 1994;56(4):406-419.
- 28) Mould DR, Walz AC, Lave T, Gibbs JP, Frame B. Developing Exposure/Response Models for Anticancer Drug Treatment: Special Considerations. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2015;4(1):e00016.
- 29) Kogame A, Tagawa Y, Shibata S, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of hedgehog inhibitor TAK-441 for the inhibition of Gli1 messenger RNA expression and antitumor efficacy in xenografted tumor model mice. *Drug Metab Dispos.* 2013;41(4):727-734.
- 30) Simeoni M, Magni P, Cammia C, et al. Predictive pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth kinetics in xenograft models after administration of anticancer agents. *Cancer Res.* 2004;64(3):1094-1101.
- 31) Wong H, Alicke B, West KA, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of vismodegib in preclinical models of mutational and ligand-dependent Hedgehog pathway activation. *Clin Cancer Res.* 2011;17(14):4682-4692.

- 32) Liu L, Di Paolo J, Barbosa J, Rong H, Reif K, Wong H. Antiarthritis effect of a novel Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitor in rat collagen-induced arthritis and mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling: relationships between inhibition of BTK phosphorylation and efficacy. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011;338(1):154-163.
- 33) Wong H, Vernillet L, Peterson A, et al. Bridging the gap between preclinical and clinical studies using pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling: an analysis of GDC-0973, a MEK inhibitor. *Clin Cancer Res.* 2012;18(11):3090-3099.
- 34) Wong H, Belvin M, Herter S, et al. Pharmacodynamics of 2-[4-[(1E)-1-(hydroxyimino)-2,3-dihydro-1H-inden-5-yl]-3-(pyridine-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]ethan-1-ol (GDC-0879), a potent and selective B-Raf kinase inhibitor: understanding relationships between systemic concentrations, phosphorylated mitogen-activated protein kinase kinase 1 inhibition, and efficacy. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009;329(1):360-367.
- 35) 臨床試験の一般指針 (ICH E8、1998年4月21日)
- 36) 医薬品の曝露－反応解析ガイドラインについて (薬生薬審発 0608 第4号、令和2年6月8日)
- 37) U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry. Exposure-response relationships study design, data analysis, and regulatory applications. 2003.
- 38) Melmed S. Acromegaly pathogenesis and treatment. *J Clin Invest.* 2009;119(11):3189-3202.
- 39) Giustina A, Barkhoudarian G, Beckers A, et al. Multidisciplinary management of acromegaly: A consensus. *Rev Endocr Metab Disord.* 2020;21(4):667-678.
- 40) Holdaway IM, Rajasoorya RC, Gamble GD. Factors influencing mortality in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):667-674.
- 41) Strasburger CJ, Karavitaki N, Störmann S, et al. Patient-reported outcomes of parenteral somatostatin analogue injections in 195 patients with acromegaly. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(3):355-362.
- 42) Fleseriu M, Biller BMK, Freda PU, et al. A Pituitary Society update to acromegaly management guidelines. *Pituitary.* 2021;24(1):1-13.
- 43) Tiberg F, Roberts J, Cervin C, et al. Octreotide s.c. depot provides sustained octreotide bioavailability and similar IGF-1 suppression to octreotide LAR in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 2015;80(3):460-472.
- 44) Dimaraki EV, Jaffe CA, Bowers CY, Marbach P, Barkan AL. Pulsatile and nocturnal growth hormone secretions in men do not require periodic declines of somatostatin. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285(1):E163-E170.
- 45) Dimaraki EV, Jaffe CA, Demott-Friberg R, et al. Generation of growth hormone pulsatility in women: evidence against somatostatin withdrawal as pulse initiator. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;280(3):E489-E495.

- 46) Tuvia S, Atsmon J, Teichman SL, et al. Oral octreotide absorption in human subjects: comparable pharmacokinetics to parenteral octreotide and effective growth hormone suppression. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(7):2362-2369.
- 47) Golor G, Hu K, Ruffin M, et al. A first-in-man study to evaluate the safety, tolerability, and pharmacokinetics of pasireotide (SOM230), a multireceptor-targeted somatostatin analog, in healthy volunteers. *Drug Des Devel Ther.* 2012;6:71-79.
- 48) U.S. Food and Drug Administration (1998) Drug approvals and databases for Sandostatin lar depot (octreotide acetate) injection. Application No.: 021-008. Clinical pharmacology biopharmaceutics review(s). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/98/021008a_clinphrm.pdf.
- 49) Berg CA, Pokrajac A, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, Shalet SM, Trainer PJ. Use of a GH receptor antagonist (GHRA) to explore the relationship between GH and IGF-I in adults with severe GH deficiency (GHD). *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009;70(3):439-445.
- 50) Iranmanesh A, Bowers CY, Veldhuis JD. Activation of somatostatin-receptor subtype-2/-5 suppresses the mass, frequency, and irregularity of growth hormone (GH)-releasing peptide-2-stimulated GH secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(9):4581-4587.
- 51) Ho KKY; 2007 GH Deficiency Consensus Workshop Participants. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with GH deficiency II: a statement of the GH Research Society in association with the European Society for Pediatric Endocrinology, Lawson Wilkins Society, European Society of Endocrinology, Japan Endocrine Society, and Endocrine Society of Australia. *Eur J Endocrinol.* 2007;157(6):695-700.
- 52) Lemaire M, Azria M, Dannecker R, Marbach P, Schweitzer A, Maurer G. Disposition of sandostatin, a new synthetic somatostatin analogue, in rats. *Drug Metab Dispos.* 1989;17(6):699-703.
- 53) Tulipano G, Soldi D, Bagnasco M, et al. Characterization of new selective somatostatin receptor subtype-2 (sst2) antagonists, BIM-23627 and BIM-23454. Effects of BIM-23627 on GH release in anesthetized male rats after short-term high-dose dexamethasone treatment. *Endocrinology.* 2002;143(4):1218-1224.
- 54) Weckbecker G, Briner U, Lewis I, Bruns C. SOM230: a new somatostatin peptidomimetic with potent inhibitory effects on the growth hormone/insulin-like growth factor-I axis in rats, primates, and dogs. *Endocrinology.* 2002;143(10):4123-4130.
- 55) 医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス (ICH M3、薬食審査発 0219 第 4 号、平成 22 年 2 月 19 日)
- 56) Markkanen HM, Pekkarinen T, Hämäläinen E, Välimäki MJ, Alftan H, Stenman UH. Gender has to be taken into account in diagnosing adult growth hormone deficiency by the GHRH plus arginine test. *Growth Horm IGF Res.* 2017;35:52-56.
- 57) Wilhelm I, Nyúl-Tóth Á, Suciu M, Hermenean A, Krizbai IA. Heterogeneity of the blood-brain barrier. *Tissue Barriers.* 2016;4(1):e1143544.

- 58) Ma P, Wang Y, van der Hoek J, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic comparison of a novel multiligand somatostatin analog, SOM230, with octreotide in patients with acromegaly. *Clin Pharmacol Ther.* 2005;78(1):69-80.
- 59) Garrido MJ, Cendrós JM, Ramis J, Peraire C, Obach R, Trocóniz IF. Pharmacodynamic modeling of the effects of lanreotide Autogel on growth hormone and insulin-like growth factor 1. *J Clin Pharmacol.* 2012;52(4):487-498.
- 60) Hipkin RW, Friedman J, Clark RB, Eppler CM, Schonbrunn A. Agonist-induced desensitization, internalization, and phosphorylation of the sst2A somatostatin receptor. *J Biol Chem.* 1997;272(21):13869-13876.
- 61) Chanson P, Timsit J, Harris AG. Clinical pharmacokinetics of octreotide. Therapeutic applications in patients with pituitary tumours. *Clin Pharmacokinet.* 1993;25(5):375-391.
- 62) Beglinger C, Hu K, Wang Y, et al. Multiple once-daily subcutaneous doses of pasireotide were well tolerated in healthy male volunteers: a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over, Phase I study. *Endocrine.* 2012;42(2):366-374.
- 63) Ben-Shlomo A, Melmed S. Somatostatin agonists for treatment of acromegaly. *Mol Cell Endocrinol.* 2008;286(1-2):192-198.
- 64) Ren SG, Taylor J, Dong J, Yu R, Culler MD, Melmed S. Functional association of somatostatin receptor subtypes 2 and 5 in inhibiting human growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(9):4239-4245.
- 65) van der Hoek J, de Herder WW, Feelders RA, et al. A single-dose comparison of the acute effects between the new somatostatin analog SOM230 and octreotide in acromegalic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):638-45.
- 66) Ishida A, Okabe Y, Matsushita T, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel somatostatin receptor subtype-2 agonists: Optimization for potency and risk mitigation of hERG and phospholipidosis. *Bioorg Med Chem.* 2021;49:116424.
- 67) Komagata T, Tanaka H, Ishida A, et al. MON-464 Non-Clinical Profiling of ONO-5788, a Novel Oral Small Molecule Somatostatin Receptor Type-2 (SST2) Agonist, to Support Studies in Humans. *J Endocr Soc.* 2019;3(Suppl 1):MON-464.
- 68) Lehr T, Staab A, Tillmann C, et al. Contribution of the active metabolite M1 to the pharmacological activity of tesofensine in vivo: a pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling approach. *Br J Pharmacol.* 2008;153(1):164-174.
- 69) Holford NH, Sheiner LB. Kinetics of pharmacologic response. *Pharmacol Ther.* 1982;16(2):143-166.
- 70) Mulubwa M, Mugabo P. Steady-state population pharmacokinetics of terizidone and its metabolite cycloserine in patients with drug-resistant tuberculosis. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(9):1946-1956.

- 71) Novartis Pharmaceuticals Corporation. SANDOSTATIN LAR DEPOT (octreotide acetate) prescribing information.
- 72) Shanks N, Greek R, Greek J. Are animal models predictive for humans? Philos Ethics Humanit Med. 2009;4:2.