注射用アムホテリシン B リポソーム製剤 (アムビゾーム[®])の抗真菌作用および臨床効果

馬庭 貴司¹⁾, 山本 寛²⁾

要約: アムビゾームは、現在でも深在性真菌症治療の gold standard とされているアムホテリシン B (AMPH-B) の優れた抗真菌活性を維持しつつ、副作用を低減させたリポソーム製剤である。本剤はリン脂質およびコレステロールで構成された単層膜リポソームの脂質二重膜に AMPH-B を保持した製剤である。アムビゾームは深在性真菌症の主要起炎菌である, *Aspergillus* 属, *Candida* 属, および *Cryptococcus* 属を始めとする各種真菌に対し、幅広い抗真菌活性を示し、その作用は殺菌的であった。また、アムビゾームは各種真菌感染モデルにおいて、既存の AMPH-B 製剤 (d-AMPH-B) と比較して、優れた感染防御効果ならびに治療効果を示した。海外臨床試験において、d-AMPH-B で問題とされる投与時間関連反応や腎障害の発現を有意に減少させ、臨床においても本剤のコンセプトが証明された。国内第 II 相臨床試験においても、*Aspergillus* 属, *Candida* 属, および *Cryptococcus* 属による深在性真菌症に有効であり、他剤無効例に対しても効果を示した。また、臨床的に大きな問題となる副作用は認められず、長期間の投与が可能であった。d-AMPH-B では累積投与量が 5 g を超えると不可逆的な腎毒性の発現が懸念されるが、アムビゾームでは総投与量の大幅な増大が可能であった。血中の AMPH-B の存在形態を検討したところ、遊離型として存在している AMPH-B は平均値で 0.8% と低く、そのほとんどがリポソームに保持されており、血中でアムビゾームは安定に存在していた。以上より、アムビゾームは深在性真菌症治療に新たな選択肢になると考えられた。

1. はじめに

深在性真菌症は、好中球減少を伴う血液疾患や臓器移植などの重篤な基礎疾患を有する患者の免疫力が低下した際に合併することが多い予後不良の感染症である。近年、抗腫瘍治療の進歩や、臓器移植の増加などにより、免疫不全状態を呈する患者数の増加や、真菌感染のリスクが高まるとされる脈管内カテーテルの長期留置などの処置を施される患者数の増加にあわせ、深在性真菌感染症の患者数も増加している (1)。

真菌は、ヒトと同じ真核生物であるため、両者の細胞間には多くの共通性が存在し、真菌に対してのみ選択的に作用を発揮しうような標的が極めて限定されている。そのため、臨床現場で使用可能な深在性真菌症治療薬は、これまで種類、数とも限られていた。その中で、アムホテリシン B (AMPH-B) (図 1) は、広い抗真菌スペクトラム、殺菌的な抗真菌活性を有すること、耐性化を起こしにくいことなどの優れた特長を有していることから、古くから深在性真菌症、特に

図 1 アムホテリシン B の化学構造式

キーワード: アムビゾーム, アムホテリシン B, リポソーム, 深在性真菌症, 発熱性好中球減少症

¹⁾ 大日本住友製薬株式会社 開発本部 (〒564-0053 吹田市江の木町 33-94)

e-mail: takashi-maniwa@ds-pharma.co.jp

²⁾ 大日本住友製薬株式会社 薬理研究所 (〒554-0022 大阪市此花区春日出中 3-1-98)

e-mail: yutaka-1-yamamoto@ds-pharma.co.jp 原稿受領日: 2006 年 11 月 22 日, 会誌編集委員会依頼原稿

Title: Antifungal activity and clinical efficacy of liposomal amphotericin B (AmBisome).

Author: Takashi Maniwa, Yutaka Yamamoto

アスペルギルス感染症治療薬の“gold standard”として使用されてきた。しかし、AMPH-Bは、発熱・悪寒・吐き気といった投与時間関連反応や腎障害などの副作用を高頻度で発現し、また、累積投与量が5gを超えると不可逆的な腎障害を引き起こすとされており(2)、長期の投与が必要な深在性真菌症治療現場において十分量の投薬ができないといった問題点を抱えていた。

そこで AMPH-B の薬効面の優れた特長を維持しつつ、問題となる副作用を低減するために、リボソームの脂質二重膜に AMPH-B を強固に保持した製剤であるアムビゾームが開発された(図2)。

海外45カ国で使用実績のあるアムビゾームは、本邦では2006年4月に製造販売承認を取得し、6月より販売された。

本稿では、アムビゾームのリボソーム製剤としての特徴を紹介した後、薬効薬理、および臨床試験成績について述べる。

2. アムビゾームの特徴

アムビゾームは hydrogenated soy phosphatidylcholine (HSPC), distearoyl phosphatidylglycerol (DSPG) およびコレステロールで構成された単層膜リボソームの脂質二重膜に AMPH-B を保持した製剤である。リボソーム構成成分である HSPC ならびに DSPG の相転移温度は55℃と、体温よりはるかに高いため、生体内でリボソームとして安定に存在する。それに加え、アムビゾーム中の AMPH-B はリボソームの脂質成分と強固に相互作用しており、容易にはリボソームから遊離することがない。このことにより、AMPH-B の副作用発現の理由のひとつである生体細胞への傷害活性は、大きく減弱させることが可能となった。

またこれに関連して、発熱・悪寒といった投与時間関連反応の発現頻度がアムビゾームでは低減された(後述の臨床成績の項参照)。この機序としては、以下のように考えられる。AMPH-B は、自然免疫を司る Toll like receptor (TLR) と結合し、IL-6 や TNF- α といった炎症系サイトカインを産生させ、これらが発熱・悪寒といった投与時間関連反応を誘発するとされているが(3)、リボソーム製剤化することにより直接 TLR と AMPH-B が接触する機会が減少するため、アムビゾームでは TLR との反応性が低減し(3)、その結果、投与時間関連反応の発現頻度が低減するものと考えられる。

更にリボソーム製剤に起因する薬物動態的な特徴も、アムビゾームの副作用発現頻度の低減に関与している。一般にリボソーム製剤では、その粒子径のため、毛細

血管から臓器組織への漏出は考え難いとされている(4)。アムビゾームにおいても、生体内でリボソームとして安定に存在するため、不連続な血管内皮を有する肝臓や脾臓といった臓器以外の連続内皮を有する正常の組織では、血管からの漏出は考え難い。そのため、AMPH-B の主要な副作用発現臓器である腎臓への分布量が低減し、その結果、腎障害の発現頻度も低下するものと考えられる。

一方、感染などにより血管の透過性が亢進した組織では、リボソーム製剤は血管より漏出し、細胞間隙まで分布するとされている(4)。本剤においても、炎症反応により血管透過性が亢進している感染部位近傍では、血管から漏出し、薬効を発揮するものと考えられる。事実、免疫不全マウス *Aspergillus* 呼吸器感染モデルに蛍光色素を封入したアムビゾームを投与したところ、PAS 染色陽性の感染部位近傍に蛍光シグナルが認められ、感染部位近傍にアムビゾームが局在化することが示された(図3)(5)。また、マウス *Candida* 全身感染モデル(6)や、マウス *Cryptococcus* 髄膜炎モデル(7)においても、感染部位近傍にアムビゾームが局在化することが報告されている。

感染部位近傍に局在化したアムビゾームは、真菌表層に結合した後リボソーム構造が崩壊し、その後真菌が死滅することが報告されている(6)。これらの現象から、アムビゾームが真菌表層に結合した後にリボソームから AMPH-B が遊離し、真菌細胞膜構成成分であるエルゴステロールと結合することにより真菌細胞膜の透過性が高まり、その結果、抗真菌活性を引き出すものと考えられた。現在のところ、リボソーム構造が崩壊し AMPH-B を遊離するメカニズムについては不明であるが、AMPH-B を含まない空リボソームでは、真菌表層への結合は認められるものの、リボソーム構造の崩壊は起こらないことより(6)、真菌表層への結合にはリボソームと真菌の相互作用が、リボソーム構造の崩壊にはアムビゾーム中の AMPH-B が重要な役割を果たしていると考えられる。

また、生体において、好中球や単球といった網内系細胞は真菌を貪食し、血流中や感染組織から真菌を効率良く排除するが、貪食された真菌がその細胞内で増殖し、網内系細胞が真菌のリザーバーとなって感染を拡大・増悪させる要因になり得ることもある(8)。真菌を貪食させたマウス腹腔マクロファージとアムビゾームを *in vitro* で反応させると、アムビゾームはマクロファージに速やかに取り込まれ、貪食された真菌に対して殺真菌活性を示すことが報告されている(6)。これは網内系細胞に取り込まれやすいという、リボソ

図2 アムビゾームのモデル図（断面図）

図3 ローダミン標識アムビゾームを用いた免疫不全マウス *Aspergillus* 呼吸器感染モデルにおける感染部位への薬剤分布
正常マウス，ならびに免疫不全マウス *Aspergillus* 呼吸器感染モデルにローダミン標識アムビゾームを投与し，肺組織を観察した（上段：PAS染色，下段：蛍光観察）．
PAS 染色陽性の部分に，ローダミン由来のシグナルが認められ，アムビゾームが感染部位近傍に分布することが示された．

ーム製剤の薬物動態特性によるものと考えられ、生体に投与された後に網内系細胞内に取り込まれ、貪食された真菌を効率的に殺菌することもアムビゾームの有効性に寄与していると考えられる。

3. 薬理学的特性

1) in vitro 抗真菌活性

アムビゾームは深在性真菌症の主要起炎菌である、*Aspergillus* 属、*Candida* 属、および *Cryptococcus* 属に対し、既存の AMPH-B 製剤 (d-AMPH-B) と比較して若干の乖離は認められるものの、抗真菌活性を示すこと、またその作用は殺菌的であることが示された (表 1, 図 4)。このことより、アムビゾームはリポソーム製剤化することによっても AMPH-B が有する抗真菌活性面の特長を維持していることが示された。

2) in vivo 抗真菌活性

アムビゾームの in vivo 抗真菌活性を *C. albicans* および *Aspergillus* 属を用いた播種性真菌症モデルであるマウス全身感染モデルおよび免疫不全マウス全身感染モデル (9, 10)、侵襲性肺アスペルギルス症モデルである免疫不全マウス *A. fumigatus* 呼吸器感染モデル (5)、クリプトコッカス症モデルであるマウス *Cryptococcus* 髄膜炎モデル (7) を用いて、d-AMPH-B と比較検討した。その結果、アムビゾームの低用量である 1 mg/kg 投与時の感染防御効果および治療効果は、d-AMPH-B の最大無影響量である 1 mg/kg 投与時と同程度であった。また安全性が向上したアムビゾームでは、投与量を増大させることが可能であり、用量依存的に抗真菌活性が上昇し、アムビゾームの最大無影響量で

ある 10 mg/kg 投与時では、d-AMPH-B を上回る感染防御効果ならびに治療効果を有することが示された。また感染組織での菌数減少効果を検討したところ、それぞれのモデルで有意に菌数を減少させることが示された (代表的な結果を図 5 および 6 に示した)。

4. 臨床成績

1) 発熱性好中球減少症患者を対象とした d-AMPH-B との二重盲検比較試験 (海外臨床試験)

米国において、化学療法または骨髄移植を受け、広

図 4 *C. albicans* に対するアムビゾームの殺真菌活性
アムビゾームを 1/4 × MIC ~ 64 × MIC になるように添加した培地中で、*C. albicans* ATCC90029 株を 35℃にて振盪培養した。経時的に 24 時間後まで菌液をサンプリング後、Sabouraud 寒天培地に接種して 35℃で培養し生菌数を求めた。グラフ内の点線は検出限界濃度 (10 cfu/mL) を示す。

表 1 臨床分離株に対する抗真菌活性

使用菌株 (n)	薬剤	MIC (µg/mL)		MFC (µg/mL)	
		Range	MIC ₉₀	Range	MFC ₉₀
<i>C. albicans</i> (20)	アムビゾーム	1 ~ 4	2	4 ~ > 16	> 16
	d-AMPH-B	0.5 ~ 1	0.5	0.5 ~ 2	1
<i>Candida. spp.</i> (7) ※	アムビゾーム	2		2 ~ > 16	
	d-AMPH-B	0.5 ~ 1		0.5 ~ 2	
<i>Cx. neoformans</i> (8)	アムビゾーム	0.5 ~ 2		2 ~ 4	
	d-AMPH-B	0.25 ~ 0.5		0.5 ~ 1	
<i>A. fumigatus</i> (13)	アムビゾーム	0.5 ~ 2	2	1 ~ 32	16
	d-AMPH-B	0.5	0.5	0.5 ~ 4	1
<i>A. flavus</i> (5)	アムビゾーム	4 ~ 32		4 ~ 32	
	d-AMPH-B	0.5		0.5	
<i>A. niger</i> (6)	アムビゾーム	0.5 ~ 1		0.5 ~ 1	
	d-AMPH-B	0.25 ~ 0.5		0.25 ~ 0.5	

※: *C. glabrata* (3), *C. parapsilosis* (1), *C. tropicalis* (3). MIC の測定は日本医真菌学会の方法にて実施し、接種菌量を 10⁴cfu (conidia) /mL とした。MFC の測定は MIC 測定後培養液を分取し、Sabouraud dextrose 寒天培地で、35℃で 2 ~ 3 日間培養し、接種菌量の 99% を上回る殺真菌を呈する最小の薬剤濃度とした。

図5 免疫不全マウス *Aspergillus* 呼吸器感染モデルに対する感染防御効果
Cyclophosphamide 投与により白血球数を減少させたマウスに *Aspergillus fumigatus* の分生胞子を肺内に接種することにより感染させ、感染4時間後に薬剤を静脈内投与した。
*: d-AMPH-B 投与群の生存日数に対して有意差あり ($P < 0.05$, Steel の多重比較) ($n = 10$)

図6 免疫不全マウス *Aspergillus* 呼吸器感染モデルにおける肺内菌数減少効果
感染1日後における各群の肺内菌数を平均値±SDで示した ($n = 10$)。* 溶媒対照群の肺内菌数に対して Dunnett の多重比較を用いた検定 ($P = 0.0036$) † d-AMPH-B の肺内菌数に対する t 検定 ($P = 0.0142$)

域スペクトラム抗菌薬投与後も持続性の発熱が認められる好中球減少症患者を対象として、アムビゾームと d-AMPH-B による経験的治療の有効性および安全性について多施設無作為化二重盲検による比較検討が実施された(11)。アムビゾームは 3.0 mg/kg/日、d-AM-

PH-B は 0.6 mg/kg/日を開始用量として増減可能とした。本試験に組み入れられた患者は、アムビゾーム 343 例、d-AMPH-B 344 例であり、その中で白血病などの造血器腫瘍を合併する患者は各々 78.7%、77.3%であった。アムビゾームと d-AMPH-B の平均投与期間はいずれも約 10 日であり、総合効果は 50.1%と 49.4%と同等であった。一方、アムビゾームは d-AMPH-B で問題となる発熱、悪寒などの投与時間関連反応や腎障害、低カリウム血症の発現を有意に減少した (表 2, 3)。これによって、d-AMPH-B の有効性を維持したままリボゾーム化による副作用の軽減が臨床においても示され、欧米では発熱性好中球減少症に対する経験的治療の標準薬のひとつと位置付けられた。

2) 深在性真菌症患者を対象とした国内第 II 相臨床試験

本邦においては、深在性真菌症患者を対象とした非盲検非対照試験が実施され、アムビゾームの有効性および安全性が検討された。アムビゾームは 2.5 mg/kg/日を開始用量とし、5 mg/kg への増量、1 mg/kg への

表2 投与時間関連反応の発現率

事象名	アムビゾーム (n = 343)	d-AMPH-B (n = 344)
発熱 (1.0℃以上の上昇)	58 (16.9%)	150 (43.6%) ***
さむけ / 悪寒	63 (18.4%)	187 (54.4%) ***
はきけ	42 (12.2%)	35 (10.2%)
嘔吐	21 (6.1%)	28 (8.1%)
その他の有害事象	57 (16.6%)	82 (23.8%) **

投与初日にプレメディケーションなしで、投与時間関連反応を検討した。

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.05$ vs アムビゾーム (文献 10 から改変)

表3 腎毒性、肝毒性、grade 3以上の有害事象の発現率

有害事象名	アムビゾーム (n = 343)	d-AMPH-B (n = 344)
血中クレアチニン > 1.5 × baseline	101 (29.4%)	170 (49.4%) ***
> 2.0 × baseline	64 (18.7%)	116 (33.7%) ***
低カリウム血症(< 2.5mmol/l)	23 (6.7%)	40 (11.6%) *
肝毒性	61 (17.8%)	70 (20.3%)
Grade 3以上の有害事象		
さむけ	35 (10.2%)	147 (42.7%) ***
発熱	24 (7.0%)	70 (20.3%) ***
ビリルビン血症	25 (7.3%)	29 (8.4%)
呼吸困難	20 (5.8%)	37 (10.8%) *
はきけ	12 (3.5%)	25 (7.3%) *
嘔吐	4 (1.2%)	19 (5.5%) **

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs アムビゾーム (文献 10 から改変)

減量や休薬を可とし、1日1回、1-2時間かけて点滴静注を行った。なお、投与期間は最長で84日間とした。安全性評価対象である86例の投与期間の平均は36±27日でそのうち14例が84日間投与された。累積投与量は最大で22.1g、平均で5.2gであった。有効性評価対象66例における総合効果の有効率は63.6%(42/66例)であり、原因真菌別有効率では、カンジダ症66.7%(8/12例)、アスペルギルス症51.4%(18/35例)、クリプトコッカス症(1/1例)、混合真菌症(0/2例)であった。また、真菌感染の証拠は掴めなかったが、1,3-β-D-グルカン陽性と臨床症状、画像所見等により確定診断には至らないが臨床的に診断されたいわゆる臨床的診断例での有効率は93.8%(15/16例)で、真菌感染症を疑った場合の早期治療によって、より高い効果が期待できることが示唆された。アスペルギルス症のうち、アスペルギローマを除く肺アスペルギルス症に対する有効率は62.5%(15/24例)であった。また、他剤無効例では62.3%(33/53例)、好中球減少症の患者には55.6%(10/18例)、造血器悪性腫瘍を合併した症例では72.7%(32/44例)の有効率であった。

安全性評価対象とした86例中、副作用は82例(95.3%)に認められ、発現件数は664件であった。発現率が5%以上の副作用は悪心、発熱、血中クレアチニン増加、BUN増加、低カリウム血症などで、4件(血中ALP増加、低カリウム血症各1件、血中ビリルビン増加2件)を除いていずれも軽度または中等度であり、血中クレアチニン上昇、低カリウム血症およびAST、ALT上昇などの発現率は海外臨床試験と比べ同程度と考えられた。また、重篤な副作用は6例において21件が発現したが、基礎疾患の悪化に伴うものがほとんどであった。

血中のAMPH-Bの存在形態について検査実施可能であった一部の被験者において検討したところ、アムビゾームからのAMPH-Bの漏出は投与後8-24時間に約10%であり、約90%がリポソームに保持されていた。リポソームから漏出したAMPH-Bのほとんどがタンパク結合型として存在し、遊離型として存在しているAMPH-Bは平均値で全体の0.8%と低かった。本剤はそのほとんどがリポソームのままで血中に存在

していること、またリポソーム体の粒子径を考えると、糸球体を含む正常組織への毛細血管壁からのAMPH-Bの漏出は考え難い。こうした点が、従来のd-AMPH-Bに比べて本剤が腎障害などの副作用が軽減された要因と考えられた。

5. おわりに

AMPH-Bは、優れた抗真菌活性を有することから、古くから、深在性真菌症治療薬の“gold standard”とされていた。しかしながら、腎障害などの深刻な副作用を発現するなどの問題により、使用し難い面があった。

アムビゾームは、リポソーム製剤化することによってAMPH-Bの真菌に対する優れた特長を維持しつつも、腎糸球体をはじめとする正常組織への分布を制限する一方で、感染部位へ局在することによって副作用の軽減に成功した。臨床試験においても、投与時間関連反応や腎障害の発現をd-AMPH-Bに比べ有意に減少した。また、臨床的診断例も含め*Aspergillus*属、*Candida*属、*Cryptococcus*属による深在性真菌症に有効であり、他剤無効例に対しても効果を示した。

深在性真菌症の多くは予後不良の重篤な疾患であり、早期より強力な抗真菌剤による治療を行うことは重要である。海外での発熱性好中球減少症患者を対象とした試験結果および国内第Ⅱ相臨床試験の結果よりアムビゾームは本邦で初めて真菌感染症を疑う発熱性好中球減少症に対して効能が認められた。アムビゾームは今後の深在性真菌症の治療薬として、新たな治療の選択肢になると考えられた。

文 献

- 1) 渡辺哲, 他. 医薬ジャーナル. 2003;39(12):3284-3287.
- 2) Hoepfich PD. Clin Infect Dis. 1992;14 Suppl 1:S114-119.
- 3) Sau K, et al. J Biol Chem. 2003;278:37561-37568.
- 4) 橋田充. 生物薬剤学. 薬業時報社; 1989. p. 371-383.
- 5) Takemoto K, et al. J Antimicrob Chemother. 2006;57:724-731.
- 6) Adler-Moore JP, et al. J Liposome Res. 1993;3:429-450.
- 7) Takemoto K, et al. Chemotherapy. 2006;52:271-278.
- 8) Domer JE, et al. Candidiasis. CRC Press;1989.
- 9) Takemoto K, et al. Microbiol Immunol. 2006;50:579-586.
- 10) Takemoto K, et al. J Antimicrob Chemother. 2004;53:311-317.
- 11) Walsh TJ, et al. N Engl J Med. 1999;340:764-771.