Factor Xa (FXa) 阻害薬の次世代経口抗凝固薬としての可能性 —前臨床成績から見た将来展望—

小西 典子¹⁾, 廣江 克彦¹⁾, 川村 正起²⁾

要約: これまでワルファリンは半世紀にわたり、唯一の経口抗凝固薬として世界中で使用されてきた。近年、活性化血液凝固第 X 因子 (factor Xa, FXa) 阻害薬が、ワルファリンの欠点を克服した新たな経口抗凝固薬の候補として注目されている。FXa 阻害薬の適応症としては、静脈血栓症である深部静脈血栓症や肺塞栓症、動脈血栓症である急性冠動脈疾患、そのほか心原性脳塞栓症が挙げられ、これらの疾患を想定した種々動物モデルでの薬効および出血に関する成績が数多く報告されている。臨床開発段階にある経口 FXa 阻害薬、TAK-442 (当社)、リバロキサバン (バイエル・ジョンソン・エンド・ジョンソン)、アピキサバン (ブリストル・マイヤーズ スクイブ・ファイザー) およびエドキサバン (第一三共) については、静脈血栓症モデルにおいて、出血時間を延長しない用量から抗血栓作用を示すこと、抗血栓作用と出血時間延長との安全閾はワルファリンよりも広いことが報告されている。また、動脈血栓症モデルにおいても、アピキサバンは出血時間の延長を伴わずに抗血栓作用を示すこと、臨床での併用が想定される抗血小板薬との組み合わせでその薬効を増強させることが確認されている。さらにラット脳塞栓症モデルにおいて、FXa 阻害薬、DPC602 (ブリストル・マイヤーズ スクイブ) は、血栓の自然溶解を促進して脳血流を改善し、脳梗塞巣や神経脱落症状を改善することが示されている。よりヒトの臨床病態に近いモデルを指向して筆者らが作成したサル血栓性脳塞栓症モデルにおいても、FXa 阻害薬 TAK-239 は神経脱落症状の改善を示した。これらの前臨床成績は、経口 FXa 阻害薬がワルファリンよりも優れた画期的な次世代経口抗凝固薬となることを示唆し、現在進行中の複数の臨床試験でのその有効性、安全性評価が待たれている。

はじめに

日本人における死亡原因の第 2 位および第 3 位は心疾患および脳血管障害であり、血管内での血栓形成に起因するいわゆる血栓症が死亡率の上位を占めている。血栓症は致死的な病態を引き起こすことが多く、再発の可能性も高いため、早期治療および長期にわたる予防が必要と考えられている。

主な血栓症治療薬としては、血小板や血液凝固系の活性化を抑制する抗血小板薬および抗凝固薬がある。ビタミン K 拮抗薬のワルファリンは、経口投与可能な抗凝固薬として 1960 年代に商品化された。しかしながら、ワルファリンは、高頻度の出血副作用、食物や薬剤との相互作用、遅い薬効発現などの欠点を有しており、使用に際しては時間およびコストがかかる定期的な抗凝固モニタリングを必要とする。現在、ワルファリンに代わる経口抗凝固薬として、FXa あるいはトロンビンの阻害薬が臨床開発段階にあり、その有用性が証明されつつある。経口 FXa およびトロンビン阻害薬は抗凝固モニタリングの必要が無く、ワルファリンの欠点を克服した新たな抗凝固薬として期待されている。

これまで経口 FXa 阻害薬の抗血栓作用と出血リスクを検討した前臨床試験では、いずれも出血を増強させずに抗血栓作用を示すことが報告されている。本稿では、経口 FXa 阻害薬の前臨床成績、特に種々動物モデルにおける有効性と安全性を概説し、さらに筆者らが新たに作成したサル血栓性脳塞栓症モデルにおける FXa 阻害薬の薬効について紹介した上で、これらの前臨床試験成績から見た経口 FXa 阻害薬の可能性について述べる。

キーワード: 経口 FXa 阻害薬, 動物モデル, 血栓症, ワルファリン, 経口抗凝固薬

¹⁾ 武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 創薬研究所 (〒532-8686 大阪市淀川区十三本町二丁目 17 番 85 号)

²⁾ Takeda Global Research & Development Center (One Takeda Parkway, Deerfield, IL 60015, USA)

E-mail: Konishi_Noriko@takeda.co.jp (小西), mkawamura@tgrd.com (川村) 原稿受領日: 2010 年 5 月 12 日, 依頼原稿

Title: Do orally active factor Xa (FXa) inhibitors have potential as innovative new anticoagulants?—future perspective from preclinical data. Author: Noriko Konishi, Katsuhiko Hiroe, Masaki Kawamura

1. 各種動物モデルにおける経口 FXa 阻害薬の有効性と安全性

図 1 に経口抗凝固薬が適応可能と思われる疾患とそれに対応する血栓症モデルの一覧を示す。経口 FXa 阻害薬の適応疾患としては、静脈での血栓形成が原因となるいわゆる静脈血栓症が第一に挙げられる。主な静脈血栓症としては、深部静脈血栓症、肺塞栓症があり、これらの疾患における薬物の有効性を評価するため静脈血栓症モデルを用いた検討が数多くなされている。一方で、安全性に関する評価では、動物の尻尾・耳などを切断あるいは傷をつけて出血が止まるまでの時間を測定する出血時間を指標とすることが多い。これは、臨床での大出血リスクを推定する指標としては不十分と考えられているが、他に外挿性の高いモデルが無いことや簡便なことから汎用されている。

また、ワルファリンとは異なって、動脈で血栓が形成される動脈血栓症（急性冠動脈疾患など）も経口 FXa 阻害薬の適応疾患として注目されており、動脈血栓症モデルでの評価も多く実施されている。しかし、これらのほとんどは正常動物を用いており、臨床では動脈硬化巣でのプラーク破綻に起因した局所的な凝固活性化がより重要であることから、FXa 阻害薬の効果を過小評価している可能性がある。さらに、静脈および動脈血栓症モデルだけではなく、心原性脳塞栓症を想定したモデルでの評価も試みられている。

1) 静脈血栓症モデル

静脈血栓の成因としては、ウィルヒョウの 3 主徴 (Virchow's triad)、すなわち①血管内皮の傷害、②血液凝固の亢進、③血流速度の低下、が古くから提唱されている。それゆえ、多くの静脈血栓症モデルでは、

各種動物の静脈にこれらを組み合わせて血栓形成を惹起する。要素の組み合わせ、あるいは動物種の違いによって数多くのモデルが存在し、複数のモデルを用いた薬物の評価が行われている。

リバロキサバンについては、ラットおよびウサギ静脈血栓症モデルでの成績が公表されている。トロンボプラスチン投与による凝固亢進と血管結紮による血流低下によって腹部大静脈に血栓を形成させるラットモデルにおいて、0.1 mg/kg, i. v. で血栓形成を 50%抑制した(1)。また、ウサギ頸静脈に同様の凝固亢進と血流低下によって血栓を形成させるモデルにおいて、1.3 mg/kg, p. o. で血栓形成を 50%抑制し、予め存在する血栓を土台としてさらに血栓を形成させるモデルにおいて、3.0 mg/kg, p. o. で有意な抗血栓作用を示した(2)。同じ 3.0 mg/kg, p. o. で、ウサギの耳切創による出血時間は有意に延長しなかった。

アピキサバンも、種々のラットおよびウサギ静脈血栓症モデルで有効性あるいは安全性が示されている。ウサギ腹部大静脈に絹糸を留置する静脈血栓症モデルにおいて、0.11 mg/kg/h, i. v. の用量で血栓形成を 50%抑制したが、爪上皮の先端を切断して測定する出血時間を 3.0 mg/kg/h, i. v. の高用量でも対照群の 1.2 倍にしか延長しなかった(3)。同モデルにおいてワルファリンは、0.27 mg/kg/day, p. o. で血栓形成を 50%抑制し、0.70 mg/kg/day, p. o. で出血時間を対照群の 3 倍にまで延長しており、抗血栓作用と出血時間延長との安全閾はワルファリンよりもアピキサバンで広いことが示された。また、ラット腹部大静脈を用いる 2 つのモデル、①組織因子投与による凝固亢進と血管結紮による血流低下で血栓を惹起するモデル、および②血管内皮を塩化鉄で傷害するモデルにおいて、アピキ

疾患名	モデル	血栓作成方法
心原性脳塞栓症	脳塞栓症モデル (ラット/サル)	血栓注入
深部静脈血栓症 肺塞栓症	静脈血栓症モデル (ラット/ウサギ/サル)	血管傷害+血液うつ滞 凝固促進+血液うつ滞 血管障害
	肺塞栓症モデル (マウス/ラット)	血栓注入 組織因子注入
急性冠動脈疾患	狭心症モデル (ラット/サル/イヌ)	シェア・ストレス
	動脈血栓症モデル (マウス/ラット/モルモット/ウサギ/サル)	血管障害 (化学的/電氣的/ 物理的/光化学的)

図 1 血栓症モデルの種類

疾患とそれに対応した主な血栓症モデルを示す。動物の種類や血栓作成方法の違いによって数多くの血栓症モデルが存在する。

サバンはそれぞれ 1.55 および 0.39 mg/kg/h, i. v. の ID_{50} 値で血栓形成を抑制した(4). 一方, ラットの爪, 腎臓および腸間膜動脈に切創を作って測定する出血時間を, それぞれ 3, 3 および 1 mg/kg/h, i. v. の用量から有意に延長した.

臨床開発段階にある別の経口 Fx_a 阻害薬エドキサバンについても, ラットおよびウサギ静脈血栓症モデルでの成績が公表されている. リバロキサバンやアピキサバンと同様, 本薬剤も出血時間を延長する用量よりも低い用量で, 各種静脈血栓を有意に抑制することが明らかとなっている(5).

以上のように, 様々な条件の静脈血栓症モデルにおいて, 経口 Fx_a 阻害薬は出血時間を延長しない用量から抗血栓作用を示しており, アピキサバンの成績を考慮すると, その有効性と安全性のバランスはワルファリンよりも優れていると推定される. 経口 Fx_a 阻害薬は, ワルファリンよりも安全閾の広い静脈血栓症の治療・予防薬となることが期待される.

2) 動脈血栓症モデル

静脈血栓とは異なり, 動脈血栓は血流速度の速い条件で形成されるため, その形成には血小板が深く関与する. それゆえ, 各種動脈の血管内皮を何らかの手法で傷害し, コラーゲン等を露出することによって血小板の粘着・活性化を引き起こし, 動脈血栓を形成させるモデルが汎用されている.

アピキサバンについては, ラットおよびウサギ動脈血栓症モデルでの成績が報告されている. ラット頸動脈の血管内皮を塩化鉄で傷害し血栓形成を惹起するモデルにおいては, 0.72 mg/kg/h, i. v. の用量で血栓形成を 50%抑制した(4). また, ウサギ頸動脈の血管内皮を電気で傷害する動脈血栓モデルにおいて, 0.07 mg/kg/h, i. v. の用量で血栓形成を 50%抑制した(3). 大規模臨床試験において急性冠動脈疾患に対する有効性が証明されている非経口アンチトロンビン依存性 Fx_a 阻害薬, フォンダパリヌクスは, 同じウサギ動脈血栓症モデルにおいて 0.27 mg/kg/h, i. v. の ID_{50} 値を示し, ワルファリンは 0.08 mg/kg/day, p. o. の ID_{50} 値を示した. なお, ウサギにおいて, アピキサバンおよびフォンダパリヌクスは 3.0 mg/kg/h, i. v. で出血時間を対照群の 1.2 ~ 1.3 倍にしか延長しなかったが, ワルファリンは 0.70 mg/kg/day, p. o. で出血時間を対照群の 3 倍にまで延長した. 以上の成績より, アピキサバンは動脈血栓症に対しても有効であり, その安全閾は, フォンダパリヌクスと同様に, ワルファリンよりも広いことが示唆された.

急性冠動脈疾患では抗血小板薬のアスピリン(シクロオキシゲナーゼ阻害薬)はほぼ全ての患者に, クロピドグレル(ADP 受容体 P2Y₁₂ 拮抗薬)も 70 ~ 80% 程度の患者に投与される. それゆえ, 本疾患において

は, これらの抗血小板薬と併用した上で有効性・安全性が確保されるか否かが重要になってくる. 上述のウサギ動脈血栓症モデルにおいて, アスピリンおよびクロピドグレルの併用にさらにアピキサバンの低用量(単独で血栓形成を 20%抑制する用量)を上乗せすると, 2 剤の抗血栓作用を著明に増強した(6). 一方, アスピリン+クロピドグレル+アピキサバンの 3 剤併用は出血時間を 2 倍程度に延長したが, これはクロピドグレル単独あるいはアスピリン+クロピドグレルの 2 剤併用による出血時間延長と同程度であった. これらの結果は, アピキサバンが抗血小板薬治療との併用が可能であることを示唆している.

3) 脳塞栓症モデル

心原性脳塞栓症は, 心房細動によって心房内の血液がうっ滞し, 血栓が形成され, その血栓が脳の動脈に詰まることで発症する. 血栓の性状はフィブリン主体の赤色血栓であり, その形成には血液凝固が深く関与すると考えられている. これまでの臨床試験において, ワルファリンは血栓塞栓症の発症を 70%抑制することが明らかとなっており, 経口 Fx_a 阻害薬も血栓塞栓症に対する予防効果を発揮することが期待されている. 本疾患に対する有効性は, 血栓の性状が類似していることから, 静脈血栓症モデルである程度の類推は可能と考えられる. しかしながら, 真の有効性, すなわち, 血栓形成を抑制することによって実際に脳保護効果を発揮するか否かについては評価できない.

Wang らは, Fx_a 阻害薬の脳保護効果を評価するために, 同種血で作成した血栓塊をラットの中大脳動脈に留置する脳塞栓症モデルを作成し, Fx_a 阻害薬の効果を検討している(7). 脳塞栓を作成すると, ベヒクル投与群では血流が元の値の 34%にまで低下した後, 24 時間で 76%までに回復するが, DPC-602 の 8 mg/kg, i. v. + i. p. を投与すると 24 時間後ではほぼ完全に血流が回復した. さらに, 同用量の DPC-602 は 24 時間後における虚血領域を 89%縮小させ, 7 日目まで神経症状を有意に改善させた. 以上の成績から, Fx_a 阻害薬によって脳血流を改善することにより, 脳の障害を防ぎ, 神経症状を改善できる可能性が示された.

2. 新規サル血栓性脳塞栓症モデルにおける Fx_a 阻害薬の作用

上述したラット脳塞栓症モデルは, 脳保護効果を評価する上で有用なモデルであるが, いくつかの問題点が考えられる. 第一に, 24 時間が経過した血栓塊を注入するため血栓形成の予防効果については評価できていない可能性が高いこと, 第二に, ラットを使用していることである. 後者については, ラットとヒトとの解剖学的, 病態生理学的差異から, ラットの脳梗塞が臨床を反映していない可能性が考えられる. 筆者らは,

より臨床に近いモデルを指向して、カニクイザル中大脳動脈に新鮮な血栓塊を注入する血栓性脳塞栓症モデルの構築を試みた。さらに、武田薬品で創製した経口 FXa 阻害薬、TAK-239 (図 2) (8) の本モデルにおける作用を検討した。

1) カニクイザル血栓性脳塞栓症モデルの方法

イソフルレン麻酔下にて、カニクイザルの頭骨直下までポリエチレンチューブを挿入した。全血とヒト組織因子を含む塩化カルシウム溶液を 9:1 (v/v) の割合で混合した液をポリエチレンチューブに満たし、5 分後にチューブ内部で形成された血栓塊を 1 mL の同混合液を用いて 10 秒間で脳内へ注入した。さらに、チューブ内の混合液を 300 μ L の生理食塩水を用いて注入した。血栓塊注入後、血管・傷口を縫合して覚醒させ、3 および 24 時間後に神経脱落症状（覚醒状態、知覚機能、運動機能および骨格筋統合機能）を観察した。神経症状の観察は既報 (9) に従って神経脱落症状スコア表を用いて行い、死亡例の場合は最大スコア (100) を適用した。血栓塊注入 24 時間後に脳を摘出して、脳冠状切片 5 枚を作製し、1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride で梗塞巣を可視化した。全ての脳冠状切片をデジタルカメラにて撮影して、画像解析ソフトを用いて梗塞面積を定量した。

2) TAK-239 による神経脱落症状の改善

対照群では血栓塊注入 3 時間後から 24 時間後までに 2/5 例 (C1, C3) が死亡し、生存例の全てに 3.3 ~ 17% の梗塞巣が認められた (図 3)。死亡個体の脳を摘出したところ、中大脳動脈付近に血栓が確認された (図 4)。血栓塊の注入 90 分前に TAK-239 の 3 mg/kg を経口投与した群では全例が生存し、3/5 例 (T2, T4, T5) では梗塞巣が認められなかった。残り 2/5 例では、それぞれ 2.3% および 46% の梗塞巣が認められた。血栓塊注入 3 時間後の神経脱落症状スコア [中間値 (最小値 / 最大値)] は、対照群 35 (28/44) に対し、TAK-239 投与群で 25 (10/43) と有意な差は認められなかったが、24 時間後では対照群 48 (27/100) に対して TAK-239 投与群 17 (6/51) と有意な神経症状の改善

が認められた (図 3)。

3) 考察

本モデルでは、残念ながら対照群に死亡例が出たため、TAK-239 投与による梗塞巣の縮小は確認できなかったが、24 時間後における神経脱落症状の改善は確認できた。それゆえ、TAK-239 は、注入された血栓塊周辺での血栓形成を抑制するか、あるいは血栓塊の自然溶解を促進して、脳血流を保持し神経障害を防いだと推定される。死亡例が出ない条件への改善、脳血流の測定や神経障害の指標となるマーカーの構築など今後の課題は残るが、今回の成績は経口 FXa 阻害薬の血栓塞栓症に対する有用性を示唆するものと考えられる。

3. FXa 阻害薬の次世代経口抗凝固薬としての可能性

本稿で紹介したように、経口 FXa 阻害薬は様々な静脈血栓症モデルにおいて、出血時間を延長しない用量で血栓形成を抑制し、その安全閾はワルファリンに比べて広いことが明らかとなっている。リバロキサバンおよびアピキサバンについては、深部静脈血栓症患者における用量設定試験 (phase II study) の成績が報告されており、これらの薬剤は抗凝固モニタリングを必要とせず、標準療法 (低分子量ヘパリン + ワルファリン) とほぼ同等以上の有効性あるいは安全性を有する傾向を示している (10, 11)。現在、リバロキサバン (EINSTEIN DVT [www.clinicaltrials.gov; NCT00440193], EINSTEIN PE [NCT00439777]), アピキサバン (AMPLIFY [NCT00643201]) およびエドキサバン (HOKUSAI-VTE [NCT00986154]) は、深部静脈血栓症患者の血栓塞栓症 2 次発症予防を目的とした Phase III 試験 (各試験名は上述括弧内) が実施されているが、前臨床試験や phase II 試験の成績を考慮すると、標準療法よりも出血副作用が少ないあるいは有効性に優れる薬剤となることが期待される。

また、経口 FXa 阻害薬については、前述したように動脈血栓症モデルでの有効性および安全性、さらには抗血小板薬との併用効果も前臨床試験で確認されている。リバロキサバンおよびアピキサバンは、急性冠動脈疾患を適応とした用量設定試験 (phase II) において標準療法との併用で、より強力に虚血性イベントの発症を抑制する傾向を示し、同時に用量依存的に出血リスクを増加させる傾向も示した (12, 13)。本疾患については、ワルファリンでは有効性を示すとともに、顕著に出血リスクを増加させることがすでに知られている (14, 15)。前臨床試験では経口 FXa 阻害薬の単独投与はワルファリンよりも高い安全性を示しており、臨床においてもワルファリンよりも出血副作用が軽減することが期待される。現在、リバロキサバン (ATLAS ACS TIMI 51 [www.clinicaltrials.gov; NCT00809965])

セリンプロ テアーゼ	FXa	トロンビン	トリプシン	プラスミン	t-PA
K _i (μ M)	0.0020 $\pm$ 0.0010	6.2 $\pm$ 0.4	>60	>60	>60

図 2 経口 FXa 阻害薬 TAK-239 の化学構造式と酵素阻害活性データは 3 回測定の前値と標準誤差で示す (文献 8 より改変)。

図3 サル血栓性脳塞栓症モデルにおける神経脱落症状とそれに及ぼす TAK-239 の影響

A は対照群 (個体番号: C1-C5), B は TAK-239 (3 mg/kg) 投与群 (T1-T5). 縦軸は覚醒状態, 知覚機能, 運動機能および骨格筋統合機能におけるスコアの総合点を示す. 各個体の代表的な脳切片像として最も梗塞巣が大きい断面を示した.

図4 中大脳動脈内の血栓

対照群 (個体番号: C3) の脳底から見た図. 血栓塊により中大脳動脈の完全閉塞が生じている (左図 a). 右脳には顕著な浮腫が認められる (右図).

phase III (各試験名は上述括弧内) 試験が進行中であり, 経口 FXa 阻害薬がワルファリンに比べて同等あるいはそれ以上の有効性あるいは安全性を示すか否かが注目される.

おわりに

本稿では, 主に前臨床試験成績から見た経口 FXa 阻害薬の可能性について述べてきた. 各種動物モデルにおいて, 経口 FXa 阻害薬はワルファリンよりも優れた有効性と安全性のバランスを示している. これが臨床において再現され, 経口 FXa 阻害薬が抗凝固モニタリング不要かつ安全閾の広い画期的な次世代経口抗凝固薬となることを期待する.

文 献

およびアピキサバン (APPRAISE-2 [NCT00831441]) については, 急性冠動脈疾患の 2 次発症予防を目的とした大規模 Phase III 試験 (各試験名は上述括弧内) が実施されており, その結果が待たれる.

本稿で示した, サル血栓性脳塞栓症モデルにおける TAK-239 の神経脱落症状の改善作用は, 心原性脳塞栓症の予防における経口 FXa 阻害薬の有用性を期待させる. 心房細動患者での心原性脳塞栓症予防については, エドキサバンで用量設定のための phase II 試験が終了しており, ワルファリンと同程度の安全性を示す用量が確認されている (16). さらに, リバロキサバン (ROCKET-AF [www.clinicaltrials.gov; NCT00403767]), アピキサバン (ARISTOTLE [NCT00412984], AVERROES [NCT00496769]) およびエドキサバン (ENGAGE AF TIMI 48 [NCT00781391]) で大規模

- 1) Perzborn E, et al. J Thromb Haemost. 2005;3:514-521.
- 2) Biemond BJ, et al. Thromb Haemost. 2007;97:471-477.
- 3) Wong PC, et al. J Thromb Haemost. 2008;6:820-829.
- 4) Schumacher WA, et al. J Cardiovasc Pharmacol. 2010;55:609-616.
- 5) Furugohri T, et al. J Thromb Haemost. 2008;6:1542-1549.
- 6) Wong PC, et al. J Thromb Haemost. 2008;6:1736-1741.
- 7) Wang X, et al. Stroke. 2003;34:468-474.
- 8) Imaeda Y, et al. J Med Chem. 2008;51:3422-3436.
- 9) Kito G, et al. J Neurosci Methods. 2001;105:45-53.
- 10) Buller HR, et al. Blood. 2008;112:2242-2247.
- 11) Buller H, et al. J Thromb Haemost. 2008;6:1313-1318.
- 12) Mega JL, et al. Lancet. 2009;374:29-38.
- 13) APPRAISE Steering Committee and Investigators. Circulation. 2009;119:2877-2885.
- 14) Hurlen M, et al. N Engl J Med. 2002;347:969-974.
- 15) Andreotti F, et al. Eur Heart J. 2006;27:519-526.
- 16) Perzborn E. Hamostaseologie. 2009;29:260-267.