経口 FXa 阻害剤エドキサバン選定までの みちのり

森島義行*

森島義行

Road to selection of edoxaban as an oral factor Xa inhibitor

Yoshiyuki MORISHIMA

要約：本稿では経口血液凝固第 Xa 因子 (factor Xa; FXa) 阻害剤エドキサバン (商品名リクシアナ[®]錠) が臨床開発化合物として選定されるまでのみちのりを解説する。本邦で唯一の経口抗凝固剤として長年使用されてきたワルファリンには、薬効の個人差、薬物-薬物相互作用などの問題点がある。これらの問題点を克服した経口抗凝固剤を創製するために、われわれは FXa を競合的・選択的に直接阻害する低分子化合物の獲得を目指した。世界初の低分子の直接かつ選択的 FXa 阻害剤 DX-9065a を見出したが、ヒトでの経口吸収性は十分ではなかった。DX-9065a の経口吸収性の改善には極性基の除去が必要で、FXa 阻害活性と経口吸収性の両立がこの創薬研究の最大の難関であった。詳細な構造-活性相関の検討とヒトへの精度の高い外挿を期待したサルでの薬物動態学/薬力学的評価を実施し、約 20 年の研究の集大成として、最適な化合物エドキサバンの獲得に成功した。

1988年3月 広島大学大学院医学系研究科生命薬学系博士前期課程 修了
同年4月 第一製薬株式会社 入社 探索第二研究所
1995年 薬学博士 (広島大学)
1998年5月 Division of Neuroscience, Children's Hospital, Boston 留学
2000年5月 第一製薬株式会社 創薬第三研究所
2007年4月 第一三共株式会社 生物医学研究所

Key words: edoxaban, factor Xa inhibitor, direct oral anticoagulant, antithrombotic drug

1. 新しい抗凝固剤のコンセプト

抗凝固剤の標準薬として、唯一の経口剤のワルファリンと注射剤のヘパリンが 50 年以上の長きにわたって使われてきた。ワルファリンは肝臓でのビタミン K 依存性血液凝固因子 (第 VII 因子, 第 IX 因子, 第 X 因子, プロトロンビン) の生合成を阻害することによって血液凝固系を抑制する (図 1)。ワルファリンは経口投与可能な抗凝固剤として長期服用に適しており、適切に使用されれば心原性脳塞栓症の発症を 62% 抑制する¹⁾、高い有効性を持つ薬である。しかし、ワルファリンには以下に述べるような

多くの問題点があるため、使いにくい薬の代表例としてもよく知られ、本来ならワルファリンを服用すべき血栓リスクの高い患者でも処方されない場合が少なくなかった。ワルファリンの問題点としては、その代謝酵素 CYP2C9 や標的分子 VKORC1 の遺伝子多型などのために薬効の個人差が大きいこと、CYP2C9 を阻害する薬物やビタミン K を含有する食物との相互作用を有することがまず挙げられる。そのため、ワルファリンを使用する時には凝固活性を一定以上のレベルに低下させると同時に、過剰投与による出血を回避するために、プロトロンビン時間-国際標準化比を指標として血液凝固能を厳密にモニタリングしながら用量を調節する必要がある。その他の問題点としては、安全に使用できる治療域が狭いことや、薬効発現にはビタミン K 依存性凝固因子が血液中から消失する時間を要するために作用発現が遅く安定した薬効を示すまでに数日間を要する

*責任者連絡先：

第一三共株式会社 研究開発本部 生物医学研究所
〒140-8710 東京都品川区広町 1-2-58
Tel: 03-3492-3131, Fax: 03-5436-8587
E-mail: morishima.yoshiyuki.t4@daiichisankyo.co.jp

図1 血液凝固カスケードと抗凝固剤の作用点

ことも挙げられる。

ヘパリンは血液中に存在する抗凝固因子であるアンチトロンビンの作用を増強してトロンビンおよびFXaを間接的に阻害する抗凝固剤である(図1)。最近では、ヘパリンの低分子量分画を製剤化した低分子ヘパリンや、更に低分子量化してFXa選択的にしたフォンダパリヌクスも使用されるようになった。これらのヘパリン類は注射剤であるため、注射に伴う苦痛や手間など患者および医療従事者双方の負担となり、長期投与に適していないことが最大の問題点である。

以上の既存の抗凝固剤の問題点を克服した新しい抗凝固剤のコンセプトとして、われわれは以下の目標を掲げた。①経口剤であること、②単一の用量で個人差の少ない薬効を示し、モニタリングの必要がないこと、③治療域が広いこと、④出血リスクが低いこと、⑤作用発現が速やかであること、⑥高い安全性を有すること。

2. 創薬研究戦略

創薬の標的分子として、われわれは、血液凝固カスケードの中で外因系と内因系とが合流した位置にあるFXaを選び(図1)、低分子化合物で直接的かつ競合的に阻害することを目指した。FXaはトロンビン

よりもカスケードの上流に位置し、1分子のFXaが1000分子のトロンビンを産生するとされており、トロンビンの酵素活性を抑制するよりも、その産生を阻害する方がより効率的に凝固反応を抑制できると推定した。また、トロンビンは、血液凝固系活性化の他に、血液凝固系へのネガティブフィードバック作用(抗凝固作用)、炎症や細胞増殖などの多彩な作用を有しているのに対し、FXaは血液凝固系に選択的である点からも、創薬の標的分子としてより適していると考えた。実際に、注射剤ではあるが選択的FXa阻害剤フォンダパリヌクスの臨床試験が実施され、FXa阻害による血栓塞栓症の予防および治療効果が証明されたことから、FXaは抗凝固剤の重要な創薬標的として認知され、多くの製薬会社が研究開発競争に凌ぎを削ってきた。

3. 世界初の低分子直接的FXa阻害化合物DX-9065aの獲得

第一三共株式会社では1990年代初めに世界で初めて低分子化合物でFXaを直接(アンチトロンビン非依存的)かつ選択的に阻害するDX-9065a(図2)を創製した²⁾。DX-9065aは高いFXa阻害活性(IC₅₀値70 nM)を有し、動物実験で経口投与によって血栓形成を抑制する効果を示した。しかし、第I相臨床

DX-9065a

エドキサバン

図2 DX-9065aとエドキサバンの構造

試験で経口吸収性が十分ではないことが判明したため、経口剤としての開発を断念した。その後、注射剤として第Ⅱ相臨床試験を実施し、低分子直接的FXa阻害剤として初めて臨床試験で有効な抗血栓効果を示した³⁾。他の製薬会社も1990年代に選択的経口FXa阻害薬の臨床開発を進めたが、いずれもFXa阻害活性は充分高いものの満足ゆく経口吸収性が得られず、開発は中断された⁴⁾。

4. DX-9065aの経口吸収性の改善

われわれは、DX-9065aの低い経口吸収性は3個の極性基、アミジノ基、アセトイミドイル基、カルボキシ基に起因すると考え、これらの極性基の除去を検討した⁵⁾。極性基を除去して新たな部分構造を導入することによって、経口吸収性を改善できる可能性は示されたものの、FXa阻害活性が大きく低下してしまい⁵⁾、FXa阻害活性と経口吸収性の両立が経口FXa阻害剤研究の最大の難関であった。

化合物最適化のスクリーニングの過程では、薬物動態プロファイル(経口吸収性、作用の持続性など)のヒトへのより正確な外挿を期待して、サルを用いた薬物動態学/薬力学試験を重視し、経口生物学的

表1 エドキサバンのFXa阻害活性と酵素選択性

セリンプロテアーゼ(ヒト)	Ki(nM)
血液凝固 Xa 因子	0.561
プロトロンビナーゼ	2.98
トロンビン	6000
血液凝固 IXa 因子	41700

上記の酵素のほか、血液凝固 VIIa 因子、血液凝固 XIa 因子、t-PA、プラスミン、aPC、トリプシン、キモトリプシンに対しては100 μM まで阻害しなかった。

利用率50%を目標にした。さらに、薬理活性や薬物動態学/薬力学試験だけではなく、化合物の物性(脂溶性、溶解度)や代謝安定性、薬物相互作用リスク、安全性に関連するハイスループットスクリーニングを実施して、数多くの化合物の構造-活性相関を詳細に把握してドラッグデザインに活用した⁵⁾。以上の創薬研究の結果、強力なFXa阻害活性と良好な薬物動態プロファイルを兼備した有望な経口FXa阻害剤の候補として、エドキサバン(図2)⁶⁾やDY-807f⁷⁾などの複数の化合物を見出した。

5. エドキサバンの薬効薬理

(1)FXa阻害活性

エドキサバンのFXaに対する阻害活性および選択性を評価するために、FXa、トロンビン、および血液凝固第IXa因子(factor IXa: FIXa)などの凝固因子を中心としたセリンプロテアーゼの酵素活性に対する阻害作用を検討した⁶⁾。エドキサバンはヒトFXaのプロテアーゼ活性をKi値0.561 nMで競合的に阻害した(表1)。エドキサバンはアンチトロンビン非存在下でFXaを阻害したため、その作用様式は直接的な阻害であった。エドキサバンのFXa阻害活性はDX-9065a(Ki値41 nM)と比べて約70倍向上した。一方、エドキサバンのFXa以外のセリンプロテアーゼに対する阻害活性は弱く、エドキサバンはFXaに極めて高い選択性を有する阻害剤であることが示された。

血液凝固反応の進行の際にFXaはリン脂質上で血液凝固Va因子およびカルシウムイオンと複合体(プロトロンビナーゼ複合体)を形成し、高い効率でプ

表2 ヒト血漿におけるエドキサバンの抗凝固活性

凝固時間	2 倍延長濃度 (μM)
プロトロンビン時間	0.256
活性化部分トロンボプラスチン時間	0.508
トロンビン時間	4.95

ロトロンビンをトロンビンに変換する。そこで、人工的にプロトロンビナーゼ複合体を再構成し、そのプロテアーゼ活性に対するエドキサバンの作用を評価した⁶⁾。エドキサバンはプロトロンビナーゼ複合体によるプロトロンビンのトロンビンへの変換を K_i 値 2.98 nM で阻害したことから、生理的な凝固反応を司るプロトロンビナーゼ複合体に対しても高い阻害活性を有することが示された。

(2) 抗凝固活性

エドキサバンのプロトロンビン時間 (prothrombin time: PT) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time: APTT) に対する延長作用を評価した⁶⁾。エドキサバンは PT および APTT をいずれも濃度依存的に延長した (表 2)。ヒト血漿で PT および APTT を 2 倍延長するエドキサバンの濃度はそれぞれ $0.256 \mu\text{M}$ および $0.508 \mu\text{M}$ であり、PT をより感度良く延長した。

(3) 経口投与時の薬力学的作用

エドキサバン経口投与後の血漿中での薬理活性の経時変化を、カニクイザイルを用いて DX-9065a と比較検討した⁶⁾。カニクイザイルにエドキサバンおよび DX-9065a を各 1 mg/kg の用量で経口投与したところ、エドキサバンは投与 30 分後から、DX-9065a よりも高い血漿中抗 FXa 活性を示した (図 3)。エドキサバンは経口投与後速やかに作用を発現することが明らかになった。

(4) 抗血栓効果

① 静脈血栓予防効果

エドキサバンの静脈血栓に対する抗血栓効果を、ラット白金線留置静脈血栓モデルおよびラット静脈うっ血血栓モデルを用いて評価した⁶⁾。いずれのモデルにおいても、エドキサバンは用量依存的に有意な抗血栓効果を示した。また、ラット白金線留置静

図3 エドキサバンを経口投与した後の血漿中抗 FXa 活性の経時変化

カニクイザイルにエドキサバンあるいは DX-9065a を経口投与し、経時的に採血して、血漿中の抗 FXa 活性を測定した。平均値 $\pm$ 標準誤差, $n=6$ 。(文献 6)

脈血栓モデルで低分子量ヘパリンのエノキサパリンおよびワルファリンの抗血栓効果と比較したところ⁸⁾、エドキサバンはこれらの既存の抗凝固剤と同等の抗血栓効果を示した (図 4)。

② 静脈血栓治療効果

ラットの下大静脈に静脈血栓を形成させた後にエドキサバンを経口投与し、投与 3 時間後に血栓重量を測定して静脈血栓に対する治療効果を検討した⁹⁾。エドキサバンを静脈血栓形成後に投与すると、対照群に比べて用量依存的に有意に血栓重量が減少し、血栓の成長の抑制が認められた (図 5)。さらに、エドキサバン 3 および 10 mg/kg 群の血栓重量は経口投与した時点での血栓重量よりも有意に減少し、静脈血栓の退縮効果が認められた。エドキサバンの静脈血栓治療効果は、エノキサパリンおよびフォンダパリヌクスと同等であった。

③ 動脈血栓に対する効果

ラット塩化鉄誘導動脈血栓モデルを用いて動脈血栓形成に対する効果を評価した¹⁰⁾。エドキサバンは動脈血栓に対しても用量依存的な抗血栓効果を示した。その有効用量は静脈血栓に対する有効用量とほぼ同じであった (図 6)。一方、アンチトロンビン依存性 FXa 阻害剤のフォンダパリヌクスは、静脈血栓に比べて動脈血栓の形成を抑制するには高い用量が必要であった。エドキサバンは静脈および動脈の

図4 エドキサバン、エノキサパリン、ワルファリンのラット白金線留置静脈血栓モデルでの抗血栓効果
ラットにエドキサバン(A)を単回経口投与、エノキサパリン(B)を単回皮下投与し、投与30分後に
麻酔下で下大静脈に血栓形成を誘導した。ワルファリン(C)は実験の4日前から1日1回反復経口投
与した。平均値±標準誤差, n=8, ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ vs. control (Dunnett 検定)。(文献8)

いずれの血栓に対しても同等の用量で有効性を示す幅広い抗血栓スペクトラムを有することが明らかになった。

(5) 出血

抗血栓薬の重大な副作用である出血に及ぼす影響をラット尾出血モデルで検討した⁸⁾。エドキサバンの抗血栓効果を示す用量(50% effective dose: ED₅₀)と出血促進作用を示す用量(dose required to double bleeding time: BT2)との乖離幅は、ワルファリンやエノキサパリンに比べて大きく(表3)、エドキサバンは安全域が他剤よりも広いことが明らかになった。

以上を含む非臨床研究で明らかになったエドキサバンの特長は、①既存の抗凝固剤と同等の抗血栓作

用を示す、②抗血栓効果と出血助長の用量の乖離が大きい、③経口投与後の作用発現が速やか、④薬物-薬物相互作用のリスクが低く薬効用量の調節が不要である可能性などであった。

6. 第I相臨床試験

非臨床試験に続いてエドキサバン¹¹⁾やDY-807f⁷⁾などの複数の経口FXa阻害剤の候補化合物の第I相臨床試験を実施した。いずれの化合物も経口投与の用量に依存した血漿中濃度の増加、血漿中濃度と高く相関した薬力学的パラメータ(PT, APTT, 抗FXa活性)の変動、個人差の少ない薬物動態学/薬力学データを示した。これらの知見は、われわれのFXa

図5 エドキサバンの静脈血栓治療効果

ラットの下大静脈を部分的に狭窄した後に10%塩化第二鉄溶液を浸したろ紙(2×5 mm)を血管外表面に5分間接触させて血栓形成を誘導した。血栓を1時間形成させた後、エドキサバンを経口投与した。エドキサバン投与前(initial), ならびにコントロールあるいはエドキサバン1, 3, 10 mg/kg 経口投与3時間後の血栓重量を測定した。平均値±標準誤差, n=8, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ vs. control (Dunnett 検定)。### $P<0.01$ vs. initial (Dunnett 検定)。 (文献9)

図6 エドキサバンの動脈血栓および静脈血栓の形成に対する抑制効果

動脈血栓に対する効果はラット塩化鉄誘導動脈血栓モデルで、静脈血栓に対する効果はラット白金線留置静脈血栓モデルで評価した。エドキサバンは血栓誘導1.5時間前から持続的に静脈内投与した。平均値±標準誤差, n=6-7, * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ vs. control (Dunnett 検定)。 (文献10)

表3 エドキサバン, ワルファリン, およびエノキサパリンの抗血栓用量と出血用量

抗凝固剤	血栓形成抑制作用 (ED ₅₀)	出血時間延長作用 (BT2)	安全域 (BT2/ED ₅₀)
エドキサバン	1.9 mg/kg	>20 mg/kg	>10.5
ワルファリン	0.12 mg/kg	0.16 mg/kg	1.3
エノキサパリン	500 IU/kg	1700 IU/kg	3.4

ED₅₀: 50%血栓形成抑制用量

BT2: 出血時間2倍延長用量

阻害化合物が経口投与可能で、薬効の予測が容易であり、モニタリングの必要がないことを示唆し、われわれの掲げた目標コンセプトを満足できる可能性が高いと判断した。われわれは、第I相臨床試験の他にも、創薬に向けた様々な評価を詳細に行った上で、最終的な臨床開発化合物としてエドキサバンを選択した。実に、研究開始から約20年を要した長いみちのりであった。

7. 最後に

その後の臨床試験を経て、エドキサバントシル酸

塩水和物は、本邦では2011年に商品名リクシアナ®として「下肢整形外科手術施行患者における静脈血栓塞栓症の発症抑制」の適応承認を取得し、さらに、2014年には「非弁膜症性心房細動患者における虚血性脳卒中および全身性塞栓症の発症抑制」および「静脈血栓塞栓症(深部静脈血栓症および肺血栓塞栓症)の治療および再発抑制」の両適応で効能追加承認を取得した。エドキサバンは使いやすい経口抗凝固剤として、今後の抗血栓療法に大きく貢献するものと期待する。

著者の利益相反(COI)の開示：

役員・顧問職・社員など(第一三共株式会社 社員)

文献

- 1) Hart RG, Halperin JL: Atrial fibrillation and stroke : concepts and controversies. *Stroke* **32**: 803–808, 2001.
- 2) Hara T, Yokoyama A, Ishihara H, Yokoyama Y, Nagahara T, Iwamoto M: DX-9065a, a new synthetic, potent anticoagulant and selective inhibitor for factor Xa. *Thromb Haemost* **71**: 314–319, 1994.
- 3) Alexander JH, Yang H, Becker RC, Kodama K, Goodman S, Dyke CK, Kleiman NS, Hochman JS, Berger PB, Cohen EA, Lincoff AM, Burton JR, Bovill EG, Kawai C, Armstrong PW, Harrington RA; XaNADU-ACS INVESTIGATORS: First experience with direct, selective factor Xa inhibition in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: results of the XaNADU-ACS Trial. *J Thromb Haemost* **3**: 439–447, 2005.
- 4) 相川直樹：抗 Xa 薬—臨床試験の現況. 血栓と循環 **10**: 455–462, 2002.
- 5) 吉野利治：経口 FXa 阻害剤エドキサバンの創製. *Med-chem News* **23**: 22–29, 2013.
- 6) Furugohri T, Isobe K, Honda Y, Kamisato-Matsumoto C, Sugiyama N, Nagahara T, Morishima Y, Shibano T: DU-176b, a potent and orally active factor Xa inhibitor: in vitro and in vivo pharmacological profiles. *J Thromb Haemost* **6**: 1542–1549, 2008.
- 7) Ogata K, Shimizu T, Masumoto H, Oguma T, Sugiyama N, Kunitada S: Clinical safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of the novel factor Xa inhibitor DY-807f in healthy volunteers. *Thromb Res* **135**: 594–601, 2015.
- 8) Morishima Y, Honda Y, Kamisato C, Tsuji N, Kita A, Edo N, Shibano T: Comparison of antithrombotic and haemorrhagic effects of edoxaban, an oral direct factor Xa inhibitor, with warfarin and enoxaparin in rats. *Thromb Res* **130**: 514–519, 2012.
- 9) Morishima Y, Kamisato C, Honda Y: Treatment of venous thrombosis with an oral direct factor Xa inhibitor edoxaban by single and multiple administrations in rats. *Eur J Pharmacol* **742**: 15–21, 2014.
- 10) Fukuda T, Tsuji N, Honda Y, Kamisato C, Morishima Y, Shibano T: Comparison of antithrombotic efficacy between edoxaban, a direct factor Xa inhibitor, and fondaparinux, an indirect factor Xa inhibitor under low and high shear rates. *Thromb Haemost* **106**: 1062–1068, 2011.
- 11) Ogata K, Mendell-Harary J, Tachibana M, Masumoto H, Oguma T, Kojima M, Kunitada S: Clinical safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the novel factor Xa inhibitor edoxaban in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* **50**: 743–753, 2010.