維持透析患者における recombinant human erythropoietin (KRN 5702) の血中動態

小 出 桂 三^{*1} 守 尾 一 昭^{*1} 百 瀬 卓 志^{*1}
生 方 英 一^{*1} 武 田 福 治^{*1} 古 村 正^{*1}
佐 野 元 昭^{*1} 清 水 直 容^{*1} 大 坪 公 子^{*2}

(受付: 1988年10月7日) (特別掲載)

Pharmacokinetics of Recombinant Human Erythropoietin (KRN 5702) in Patients on Maintenance Hemodialysis

Keizo KOIDE^{*1} Kazuaki MORIO^{*1} Takashi MOMOSE^{*1}
Eiichi UBUKATA^{*1} Fukuji TAKEDA^{*1} Tadashi KOMURA^{*1}
Motoaki SANO^{*1} Naokata SHIMIZU^{*1} and Kimiko OTSUBO^{*2}

^{*1} The Third Department of Internal Medicine, Teikyo University, 3426-3 Anesaki, Ichiharashi, Chiba 299-01, Japan

^{*2} Sangenjaya Hospital

The present study was performed to determine the pharmacokinetic parameters of recombinant human erythropoietin (r-HuEPO: KRN 5702) in patients on maintenance hemodialysis.

After a single (300 IU; n=11, 1,500 IU; n=8, 3,000 IU; n=12, 6,000 IU; n=7) and multiple (3,000 IU; n=12, 3 times per week) intravenous administration of KRN 5702, plasma concentrations of KRN 5702 were analyzed by RIA method.

KRN 5702 was cleared from the circulation in an exponential fashion. Its half life ($T_{1/2}$: hr) and total clearance (Cl_{tot} : ml/hr·kg) showed dose dependency ($T_{1/2}$: 300 IU, 6.0; 1,500 IU, 5.9; 3,000 IU, 7.5; 6,000 IU, 9.7; Cl_{tot} : 300 IU, 10.8; 1,500 IU, 7.4; 3,000 IU, 5.7; 6,000 IU, 4.1), although the apparent volume of distribution (V_d) remained unchanged.

After repeated administration of KRN 5702 (3 times per week for 2 wk and 6 wk), $T_{1/2}$ showed a tendency to decrease and Cl_{tot} showed a tendency to increase, although V_d remained the same. The accumulation of r-HuEPO was not observed.

These results suggest the existence of bone marrow saturation of KRN 5702 when administered at high dose, and the increase of bone marrow activity, which was responsible

^{*1} 帝京大学医学部第三内科

〒299-01 市原市姉崎 3426-3

^{*2} 三軒茶屋病院

for accelerated utilization of KRN 5702 when administered repeatedly.

Key words; recombinant human erythropoietin, pharmacokinetics, renal chronic failure, renal anemia, hemodialysis

緒 論

腎性貧血は慢性腎不全患者に必発する症状であり、透析患者の社会復帰を妨げる難治の合併症であった。この腎性貧血の成因には、種々の要因があげられているが、このうち、腎におけるエリスロポエチン (erythropoietin: 以下 EPO と略す) の産生低下が最も主要な原因と考えられている。そこで腎性貧血の治療薬として EPO の開発が待望されていたが 1983 年以後、ヒト遺伝子組換え法によるリコンビナント・ヒト・エリスロポエチン (r-HuEPO) の生産系の研究がなされ、高純度の r-HuEPO を大量に生産する方法が確立された¹⁻³⁾。

現在透析患者に対する r-HuEPO(KRN 5702)の臨床試験がすすめられ、腎性貧血に対し極めて有用な薬剤であることが明らかにされつつある⁴⁻⁶⁾が、KRN 5702 の透析患者における血中動態に関する報告はきわめて少ない。そこでわれわれは維持透析患者に種々の投与量の KRN 5702 を投与し、単回投与時の血中動態および連続投与時の血中動態を検索したのでその成績を報告する。

対象と方法

1. 対 象

対象は著者らの施設で原則として週3回の透析を受け透析導入後3カ月以上経過した維持透析患者で、

- 1) KRN 5702 投与開始1週間前および投与開始日のヘマトクリット値 (以下 Ht) がともに 25% 未満。
- 2) KRN 5702 投与開始前1カ月間に輸血を受けていない。
- 3) 体重が標準体重の $\pm 20\%$ の範囲内である。
- 4) 有腎患者。

の条件を満たした症例を対象とした。ただし Tab. 1 に示す項目に該当する患者は、あらかじめ

Tab. 1 除外規定

- (1) 試験開始日現在満 25 歳未満 60 歳以上の者
- (2) 妊娠または授乳中の患者
- (3) 薬物アレルギーなどの特異体質者
- (4) アルコール依存症である者
- (5) あきらかな鉄欠乏性貧血症の者
- (6) 汎血球減少症の者
- (7) 消化管系出血のある者または過剰月経のある者
- (8) 明らかな aluminum 蓄積症である者
- (9) クームス試験陽性者
- (10) 肝機能障害者 (試験前の GOT, GPT が正常上限より 2 倍以上高い者等)
- (11) アミロイドーシスの者
- (12) 現在進行性の癌患者
- (13) 投与開始前 3 カ月以内に androgen および steroid therapy をうけた者
- (14) 投与開始前 3 カ月以内に免疫抑制剤の投与をうけた者
- (15) その他医師が試験対象として不適当と判断した者

対象から除外した。

対象患者は 27 名で、性別、年齢別分布、体重、原疾患は Tab. 2 に示すとおりである。平均年齢は 47.4 歳で平均体重は 52.1 kg であった。また原疾患はそのほとんどが慢性糸球体腎炎 (21 名) であった。

2. 試験薬剤

試験薬剤はキリンビール (株) にて製造された r-HuEPO (KRN 5702); 300 IU, 1,500 IU, 3,000 IU および 6,000 IU を 1 バイアル (2 ml) 中に含む注射剤を使用した。

3. 投与方法

血中動態測定時は透析日の翌朝薬剤を静注した。その他の場合には透析終了直前に静脈側血液回路より投与した。なお薬剤の希釈や他剤との混注は行わないものとした。

4. 投与量および投与スケジュール

- 1) 単回投与試験

試 験 期	I			II								III				IV				
	前観察期			KRN5702連続投与期															後観察期	
週	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
血中動態測定	□			□															□	
	Ht1			Ht2															Ht3	
	↑			↑															↑	
	300IU			3000IU															3000IU	
	(単回投与後)			(単回投与後)															(7回投与後)	
投与量と設定基準	300IU			3000IU/HD								Ht2-Ht1<5% 6000IU/HD						休 薬		
												Ht2-Ht1≥5% 3000IU/HD								

Ht1: 連続投与開始-1週及び-2週のヘマトクリット値の平均値
Ht2: 連続投与開始5週及び6週後のヘマトクリット値の平均値
Ht3: 連続投与開始12週及び13週後のヘマトクリット値の平均値
HD: 血液透析

Fig. 1 KRN 5702 連続投与試験スケジュール.

Tab. 2 患者背景

項 目	分 類	例 数
性	男	11
	女	16
年 齢 (歳)	22~66 (47.4±9.5)	
体 重 (kg)	35.6~67.2 (52.1±9.0)	
原 疾 患	慢性糸球体腎炎	21
	糖尿病性腎症	2
	のう胞腎	2
	紫斑病性腎炎	1
	妊娠中毒症	1

KRN 5702; 300 IU, 1,500 IU, 3,000 IU, および 6,000 IU を週の最後の透析日の翌日に投与した。3,000 IU は 300 IU を投与した同一の患者に 300 IU 投与後 1 週間経過した後に投与した。

3,000 IU を投与した患者については、引き続き連続投与試験を行った (Fig. 1)。

2) 連続投与試験

試験期間を 4 期に分けて、Fig. 1 に示した基準に従い薬剤を投与した。すなわち第 I 期 (300 IU 単回投与試験より 1 週を経てから) 後透析日ごとに KRN 5702; 3,000 IU を 6 週間投与した (第 II 期)。第 III 期は 300 IU 単回投与試験 1 週間前および 300 IU 単回投与試験日の Ht の平均値 (投与前 Ht: Ht1) に比して、3,000 IU 連続投与開始 5 週後および 6 週後の Ht の平均値 (Ht2) が 5% 以上上昇した場合はそのままの投与量で、5% 以

上上昇しない場合は 6,000 IU に増量し、さらに 6 週間投与した。第 III 期終了後は 2 週間の休薬、観察期間 (第 IV 期) を設けた。

5. KRN 5702 の血中動態の測定

1) 単回投与試験

薬剤投与 5, 10, 20, 30 分, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 24, 48 時間後に採血し、血漿を分離し冷凍保存後 EPO 濃度を SRL 社にて RIA 法で測定した。なお採血は薬剤投与した反対側の前腕で行った。

2) 連続投与試験

Fig. 1 に示すように KRN 5702 3,000 IU 単回投与試験後の透析日から 3,000 IU を透析ごとに 2 週間投与し (6 回目の透析日は投与しない)、6 回目の透析日の翌日通算 7 回目の薬剤投与の後、第 2 回目の血中動態測定 (単回投与試験の項参照) を行った。その後さらに 4 週間同様に 3,000 IU を継続投与し、通算 19 回目の投与後、同様に第 3 回目の血中動態測定を行った。

3) 薬動学的解析

薬剤投与後の血中動態の解析は各患者における投与後の血中 EPO 濃度の測定値から、薬剤投与前夜および投与直前の血中 EPO 濃度の平均値 (これを内因性 EPO 濃度とした) を差し引いた値を用いて行った。

解析は山岡⁷⁾の非線形最小二乗法プログラム MULTI を用いて行い、KRN 5702 の消失速度等のパラメータを算出した。全身クリアランスは、

実測値から求めた AUC ($0 \rightarrow \infty$) で投与量を割って算出した。各投与群のパラメータは Scheffé の多重比較検定法により、群間の有意差検定を行った。

6. 観察項目

試験期間中、血算および血液生化学検査を行い、さらに抗 EPO 抗体測定は RIA 法を用い SRL 社にて行った。血圧、脈拍などのバイタルサイン、KRN 5702 投与後 30 分間の異常、臨床検査値異常およびアナフィラキシー反応他の副作用出現の有無について観察した。

成績

1. KRN 5702 の血中動態

1) 単回投与試験

KRN 5702; 300 IU, 1,500 IU, 3,000 IU, 6,000 IU 単回投与後の血漿中濃度の推移を Fig. 2 に示す。血漿中 EPO 濃度は、300 IU 投与時は 24 時間後に、1,500, 3,000 IU 投与時は 48 時間後に投与前値に復していた。消失相半減期 ($T_{1/2}$, hr) は KRN 5702 300 IU; 6.0 ± 0.8 , 1,500 IU; 5.9 ± 0.4 , 3,000 IU; 7.5 ± 0.3 , 6,000 IU; 9.7 ± 1.0 であり、投与量の増加とともに半減期の延長する傾向がみられた。また全身クリアランス (Cl_{tot} , ml/hr·kg) については、300 IU; 10.8 ± 0.9 , 1,500 IU; 7.4 ± 0.5 , 3,000 IU; 5.7 ± 0.4 , 6,000 IU; 4.1 ± 0.9 と投与量の増加とともに減少する傾向を示した。また分布容積は投与量によって変動しなかった (Tab. 3)。

2) 連続投与試験

KRN 5702 3,000 IU 連続投与時の血漿中濃度の推移を Fig. 3 に示す。7 回および 19 回連続投

Fig. 2 KRN 5702 単回投与時の血漿中濃度推移。
▲, ○, △, ● はそれぞれ KRN 5702 6,000 IU, 3,000 IU, 1,500 IU, 300 IU 投与時の血漿中濃度推移を示す。縦軸は対数表示。

Fig. 3 KRN 5702 連続投与時の血漿中濃度推移。
○, △, ● はそれぞれ KRN 5702 単回投与時, 7 回投与時, 19 回投与時の血漿中濃度推移を示す。縦軸は片対数表示。

Tab. 3 KRN 5702 単回投与時の薬動学的パラメータ

投与量(例数)	$T_{1/2}$ (hr)	群間比較	Cl_{tot} (ml/hr·kg)	群間比較	V_d (ml/kg)	群間比較
300 IU (11)	6.0 ± 0.8	**	10.8 ± 0.9	**	57.2 ± 1.6	N. S.
1,500 IU (8)	5.9 ± 0.4		7.4 ± 0.5		46.7 ± 3.6	
3,000 IU (12)	7.5 ± 0.3		5.7 ± 0.4		63.6 ± 3.5	
6,000 IU (7)	9.7 ± 1.0		4.1 ± 0.9		46.1 ± 6.4	

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, Mean $\pm$ S. E.

Tab. 4 KRN 5702 連続投与時の薬動学的パラメータ

投与回数 (例数)	T _{1/2} (hr)	群間比較	Cl _{tot} (ml/hr・kg)	群間比較	V _d (ml/kg)	群間比較
1 (12)	7.5±0.3	**	5.7±0.4	**	63.6±3.5	N. S.
7 (12)	5.9±0.2		7.6±0.4		69.9±8.2	
19 (11)	6.2±0.3		6.9±0.4		59.1±3.6	

** : P<0.01, Mean±S.E.

Fig. 4 KRN 5702 連続投与時の蓄積性の検討.

与時の血漿中 EPO 濃度は 48 時間後には投与前値に復していた。連続投与時による消失相半減期, 全身クリアランスおよび分布容積を初回, 7 回目, 19 回目投与時と比較すると, 消失相半減期 (hr) は初回投与時 7.5±0.3, 7 回目 5.9±0.2, 19 回目 6.2±0.3 で連続投与により減少しており, 全身クリアランス (ml/hr・kg) は初回投与時 5.7±0.4, 7 回目 7.8±0.4, 19 回目 6.9±0.4 と増加した。また分布容積に変動はみられなかった (Tab. 4)。

2. KRN 5702 の蓄積性の検討

各血中動態測定時において, 投与 48 時間後には 6,000 IU を除いた 300 IU, 1,500 IU, 3,000 IU で, 投与前値にまで血中 EPO 値は復していた。

連続投与試験患者において, KRN 5702 投与前値について比較検討した結果, 300 IU, 3,000 IU 初回, 7 回, 19 回投与前値の間に有意な差は認められなかった (Fig. 4)。

3. 貧血の改善と安全性

KRN 5702 連続投与により Ht は Fig. 5 のように上昇し貧血の改善が認められた。また試験期間中抗 EPO 抗体の産生やアナフィラキシー症状

Fig. 5 KRN 5702 連続投与時の Ht の推移. *: P<0.05, **: P<0.01 vs. before value.

の出現, 副作用および臨床検査値の異常等は認められなかった。

考 察

今回われわれは遺伝子組換え技術によって生産されたヒト型エリスロポエチン (r-HuEPO) である KRN 5702 の維持透析患者における単回投与および連続投与時の血中動態を検討した。KRN 5702 (300 IU, 1,500 IU, 3,000 IU, 6,000 IU) 単回投与時の血中動態は, 投与量に依存して体内からの消失が遅くなる傾向のあることが示唆された。しかし, 分布容積には投与量間における大きな差は認められなかった。

このような投与量に依存した薬動学的パラメータの変動の理由については現在のところ明らかではないが, 標的臓器と考えられる骨髄等における利用あるいは取り込みの飽和が考えられる。KRN 5702 の骨髄への取り込みについては, ラッ

トにおいて投与後骨髄への速やかな移行が認められ、また高用量投与時において骨髄への移行の飽和が報告されている⁹⁾。

KRN 5702 3,000 IU 連続投与後の血中動態は、全身クリアランスが大きくなり、消失相半減期が短くなる傾向がみられたが、分布容積には変動は見られなかった。このことは Mladenovic ら⁹⁾が EPO rich な血漿を用いた動物実験において同様な結果を報告しており、ヒトにおいても Egrie ら¹⁰⁾が r-HuEPO を用いた試験において同様な報告をしている。その理由としては、EPO 連続投与により標的細胞と考えられている CFU-E, BFU-E 等が増加することが報告されており^{11,12)}、骨髄活性の増大に起因する EPO 利用の促進が一因であると考えられる。近年骨髄細胞における EPO の receptor の存在^{13,14)}、down regulation¹⁵⁾、等の報告もあり、receptor 数の増減、親和性の変化が血中動態に及ぼす影響も無視できないが、今後さらに検討が必要である。

また、単回投与試験の結果から判断すると、臨床用量と考えられる 1,500 IU および 3,000 IU は、投与間隔 (48 時間後) の間に体内から消失しており、KRN 5702 3,000 IU を用いた連続投与試験においても、血中 EPO 値は各投与前値 (1 回, 7 回, 19 回目投与前値) と試験開始前値との間に有意な差は認められず、KRN 5702 の蓄積性はないものと判断された。さらに、KRN 5702 1,500 IU, 3,000 IU, 6,000 IU を 8 週間投与する試験においても蓄積性は認められていない¹⁶⁾。

EPO の代謝に対する腎の関与に関しては、腎摘動物において ¹²⁵I-r-HuEPO の血漿中からの消失が遅れることから、腎の EPO 代謝への関与が提唱されてきたが^{17,18)}、一方、同様の実験において、腎の関与が小さいとの報告もある^{9,19,20)}。しかしながら EPO の代謝については、代謝部位あるいは代謝様式に未だ不明な点が多い。

今回われわれが検討した腎不全患者における血中動態の結果をすでに報告されていた健常人での KRN 5702 300 IU 投与時の成績²¹⁾と比較すると、健常人のデータにはばらつきが大きく明確な比較はできないが、平均値で見た場合の血漿中からの

消失パターンおよび半減期 (健常人 7.0 hr, 患者 6.0 hr) などのパラメータには著明な差異は認められず、ヒトにおける KRN 5702 の体内動態に対する腎の影響は少ないと推察される。

結 論

維持透析患者におけるリコンビナント・ヒト・エリスロポエチン (r-HuEPO: KRN 5702) の単回および連続投与時の血中動態を検討した。

1) 各投与量 (300 IU, 1,500 IU, 3,000 IU, 6,000 IU) における単回投与試験では投与量の増加に伴い、全身クリアランスは減少、また半減期は延長する傾向が示された。

2) 3,000 IU 連続投与試験においては投与回数増加により、全身クリアランスは増加、半減期は減少する傾向が示された。

3) 連続投与試験開始前 EPO 濃度と試験開始後の投与前 EPO 濃度との比較で有意な差は認められず、KRN 5702 の蓄積性はないものと考えられた。

4) KRN 5702 連続投与により、貧血は著明に改善した。また抗 EPO 抗体の産生およびアナフィラキシーショックなどの副作用は認められず、KRN 5702 の安全性が示された。

文 献

- 1) Miyake, T., Kung, K.-H. C. and Goldwasser, E.: Purification of human erythropoietin. *J. Biol. Chem.*, **252**: 5558-5564 (1977).
- 2) Lin, F.-K., Suggs, S., Lin, C.-H. et al.: Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **82**: 7580-7584 (1985).
- 3) Jacobs, K., Shoemaker, C., Rudersdorf, R., et al.: Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature*, **313**: 806-810 (1985).
- 4) Eschbach, J. W., Egrie, J. C., Downing, M. R. et al.: Correction of the anemia of endstage renal disease with recombinant human erythropoietin. *N. Eng. J. Med.*, **316**: 73-78 (1987).
- 5) Winearls, C. G., Oliver, D. O., Pippard, M. J. et al.: Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anemia of patients maintained by chronic hemodialysis. *Lancet*, **2**: 1175-1177 (1986).

- 6) 高久史磨, 三村信英, 前田貞亮ほか: 腎性貧血に対する recombinant human erythropoietin 製剤 KRN 5702 の効果. 腎と透析, **24** (6): 117-133 (1988).
- 7) 山岡 清: マイコンによる薬物体内動態解析法, 南江堂, 東京 (1984).
- 8) 植村家顕, 丹羽卓郎, 長尾紀子ほか: KRN 5702 の体内動態(2)—ラットにおける ^{125}I -KRN 5702 単回静脈投与後の血漿中濃度推移, 分布, 代謝及び排泄—. 基礎と臨床, **22**(15): 415-434 (1988).
- 9) Mladenovic, J., Eschbach, W. J., Koup, R. J. et al.: Erythropoietin kinetics in normal and uremic sheep. *J. Lab. Clin. Med.*, **105**, 659-663 (1985).
- 10) Egrie, J. C., Eschbach, J. W., McGuire, T. et al.: Pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin (r-HuEPO) administered to hemodialysis (HD) patients. *Kidney Int.*, **33**: 262 (1988).
- 11) Dessypris, E. N., Graber, S. E., Kants, S. B. et al.: Effects of recombinant erythropoietin on human marrow hematopoietic progenitors in vivo. *Blood*, **70** (suppl 1); 132 a (1987).
- 12) 日野雅之, 宮園浩平, 浦部晶夫ほか: KRN 5702 (recombinant human erythropoietin) の慢性腎不全患者の骨髓造血機能に及ぼす影響. 基礎と臨床, **22** (16): 185-193 (1988).
- 13) Chang, S. C.-S., Sikkema, D. and Goldwasser, E.: Evidence for an erythropoietin receptor protein on rat bone marrow cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **57**: 399-405 (1974).
- 14) Krantz, S. B., Sawada, K., Sawyer, S. T. et al.: Specific binding of erythropoietin to human erythroid colonyforming cells. *Trans. Assoc. Am. Phys.*, **100**: 164-172 (1987).
- 15) Fukamachi, H., Tojo, A., Saito, T. et al.: Internalization of radioiodinated erythropoietin and the ligand-induced modulation of its receptor in murine erythroleukemia cells. *Int. J. Cell Cloning*, **5**: 209-219 (1987).
- 16) 高久史磨, 三村信英, 前田貞亮ほか: 腎性貧血に対する recombinant human erythropoietin (KRN 5702) の臨床効果—多施設共同二重盲検比較試験による至適投与量の検討—. 腎と透析, **26** (2): 125-152 (1988).
- 17) Neats, J. P. and Wittek, M.: A role of the kidney in the catabolism of erythropoietin in the rat. *J. Lab. Clin. Med.*, **84**: 99-106 (1974).
- 18) Emmanouel, D. S., Goldwasser, E. and Katz, A. I.: Metabolism of pure human erythropoietin in the rat. *Am. J. Physiol.*, **247**: 168-175 (1984).
- 19) Fu, J. -S., Lerotora, J. J. L., Brookins, J. et al.: The pharmacokinetics of human erythropoietin in the dog, *Pharmacologist*, **27**: 202 (1986).
- 20) Steinberg, S. E., Garcia, J. F., Matzke, G. R. et al.: Erythropoietin kinetics in rats: Generation and clearance. *Blood*, **67**: 646-649 (1986).
- 21) 田中孝司, 熊谷宗土, 伊藤祐子ほか: KRN 5702 (recombinant human erythropoietin) の第1相臨床試験. 臨床評価, **16**: 547-563 (1988).