

図2 ● タキソール内包ミセル

がん種	Cell line	48h		72h	
		NK105	Taxol	NK105	Taxol
食道がん	TE-1	>1.0	>1.0	0.01	0.02
	TE-8	0.02	0.02	0.01	0.01
肺がん	PC-14	0.01	0.01	0.01	0.01
	PC-14/TXT	0.15	0.09	0.08	0.06
乳がん	MCF-7	>1.0	>1.0	0.01	0.01
胃がん	MKN-28	0.03	0.03	0.01	0.01
	MKN-45	0.02	0.07	0.01	0.02
大腸がん	DLD-1	0.95	0.26	0.29	0.2
	HT-29	0.01	0.01	0.01	0.01
卵巣がん	MCAS	0.01	0.01	0.01	0.01
	OVCAR-3	>1.0	>1.0	>1.0	>1.0
膵がん	AsPC-1	ND	ND	0.02	0.02
	PAN-9	ND	ND	0.03	0.02

ND: not done.

表2 ● 培養ヒトがん細胞に対するNK105とタキソールの増殖抑制効果の比較

キソール群比有意に神経変性が軽度であった。また電気生理学的検討としてcaudal sensory nerve action potential (caudal SNAP) を比較した

が、NK105群はcontrol群とほぼ同等であり、タキソール群は両者に比べ明らかにcaudal SNAPは低下していた(図4)。以上から、NK105はタキソ-

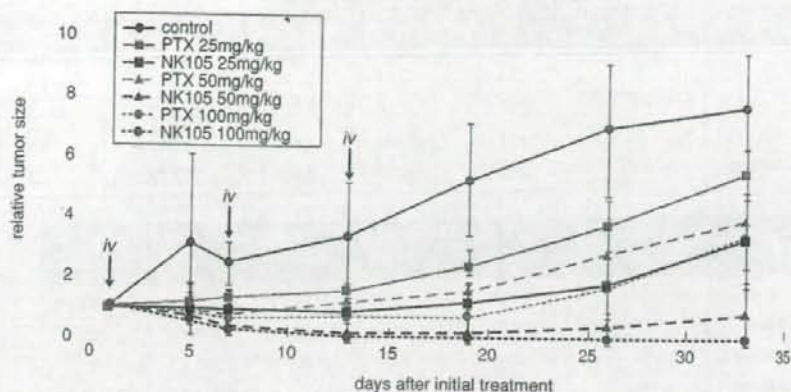


図3 ● タキソールとNK105の抗腫瘍効果

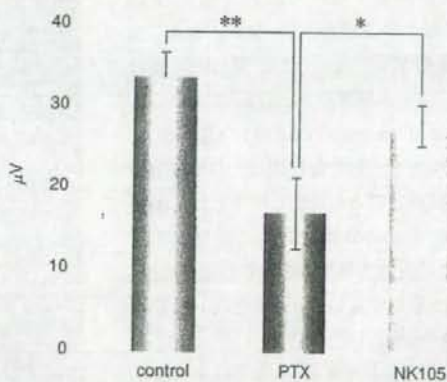


図4 ● NK105群、タキソール群、コントロール群における caudal sensory nerve action potential (caudal SNAP) の比較

ルで認められる末梢性神経障害が軽減しており、ヒトでの臨床試験で再現できることが望まれる。マウスでの各PKパラメーターは表3に示したとおりである。血中滞留性は向上し、plasma AUCおよびtumor AUCはそれぞれ50～86倍、約25倍であった。以上より、前臨床試験において、NK105はEPR効果による抗腫瘍効果の増強および末梢神経障害の軽減が期待され、国内で臨床第I相試験

が行われた。

タキソール内包ミセルの臨床第I相試験¹⁰⁾

本臨床第I相試験での主要な評価項目は、最大耐用量、用量制限毒性 (DLT) および第II相試験での推奨投与量である。標準治療に不応となった

薬剤	投与量 (mg/kg)	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (h)	AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	AUC _{0-∞} (µg·h/mL)	CL _R (mL/kg)	V _d (mL/kg)
血漿 Taxol	50	59.32	0.98	90.2	91.3	547.6	684.6
Taxol	100	157.67	1.84	309.0	309.0	323.6	812.2
NK105	50	1,157.03	5.99	7,860.9	7,862.3	6.4	46.4
NK105	100	1,812.37	6.82	15,565.7	15,573.6	6.4	54.8

薬剤	投与量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	半減期 (h)	AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	AUC _{0-∞} (ng·h/mL)
腫瘍 Taxol	50	12.50	2.0	7.02	120.8	133.0
Taxol	100	28.57	0.5	8.06	330.4	331.0
NK105	50	42.45	24.0	35.07	2,360.1	3,192.0
NK105	100	71.09	6.0	73.66	3,884.9	7,964.5

表3●マウスにおけるNK105とタキソールの薬物動態(PK)パラメーター

タキサン系抗がん剤未治療の固形がん患者19名：肺がん11名、胆道がん5名、胃がん2名、大腸がん1名(表4)に投与を行った。開始投与量は内包されたタキソール換算で10mg/m²であり、これはイヌのtoxic dose low (TDL)の1/3量である。NK105は抗アレルギー剤の前投薬なしに1時間の投与とし、3週毎にPDとなるまで投与した。増量計画は、まずaccelerated titration(AT)法に基づきgrade 2以上の薬物有害反応がみられなければ、1例/レベルで倍量に増量し、grade 2以上の副作用が出現後はFibonacci変法に移行した。DLTの定義は、①5日以上継続するgrade 4の好中球減少(500/μL未満)、②2.5×10⁴/μL未満の血小板減少、③grade 3以上の非血液毒性とした。レベル4である80mg/m²まではAT法により増量したがgrade 2以上の薬物有害反応はみられなかった。タキソールの3週1回投与方法での投与量は175mg/m²~210mg/m²であることから、効果安全性委員会の推奨によりレベル5の増量は倍の160mg/m²ではなく40%増の110mg/m²とし、以降はFibonacci変法にしたがって増量した。NK105のDLTは好中球減少であり、非血液毒性、とくに神経毒性は軽

Number of Patients	19
Male / Female	13 / 6
Age, years	
median	57
range	43-72
ECOG PS	
median	0
0	10
1	9
Prior treatment	
Chemotherapy regimens	
median	1
range	1-3

表4●標準治療に不応となったタキサン系抗がん剤未治療の患者背景

微であった(表5)。Grade 2の過敏反応が1例みられたがステロイドの投与でコントロールされ、その後の継続投与でもステロイドの前投薬により過敏症の再発はみられなかった。NK105の薬物動態は図5および表6に示すとおりであるが、C_{max}および

	150 mg/m ² (n=24)				210 mg/m ² (n=21)				280 mg/m ² (n=5)			
	Grade				Grade				Grade			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
leukopenia	2	0	2	0	1	5	1	0	1	1	3	0
neutropenia	1	0	1	1	0	2	1	3	0	0	3	2
thrombocytopenia	1	0	0	0	2	0	0	0	4	0	0	0
hemoglobin	1	0	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0
neuropathy	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
myalgia	1	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
arthralgia	1	0	0	0	4	0	0	0	3	0	0	0
hypersensitivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
rash	1	0	0	0	1	3	0	0	4	0	0	0
fatigue	1	0	0	0	5	0	0	0	4	0	0	0
fever	2	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1	0
anorexia	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0
nausea	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
stomatitis	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
alopecia	3	0	—	—	5	0	—	—	5	0	—	—

表5 ● NK105による副作用

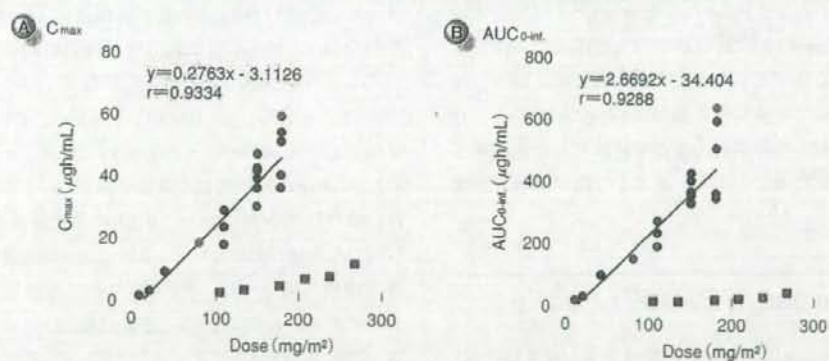


図5 ● NK105の薬物動態

AUCは用量依存性であり、推奨投与量であるNK105の150mg/m²のAUCはタキソールの国内承認用量である210mg/m²と比べて約15倍高かった。T_{1/2α}は7.0～13.2時間であった。またCL_{tot}は280.9

～880.4mL/hr/m²、V_{ss}は3,668.9～10,400.3mL/m²であり、NK105の150mg/m²とタキソールの210mg/m²でそれぞれを比較すると、1/25、1/13とNK105のほうが明らかに低く、EPR効果を端的

	Dose (mg/m ²)	n	C _{max} (ng/mL)	AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	t _{1/2} (h)	C _{last} (ng/mL)	V _d (mL/m ²)	UE (%)	Cl _r (mL/min)
NK105	10	1	0.9797	11.4	9	880.4	10,400	7.5	66.4
	20	1	2.8971	29.1	8.5	687.9	8,027	8.6	59.4
	40	1	8.8334	93.9	13.2	426.1	5,389.8	5.2	22
	80	1	18.453	149.3	7	535.8	5,875.8	4.7	25.3
	110	3	23.392 ±5.6325	232 ±39.1	9.7 ±1.6	483.3 ±82.7	5,881.2 ±1,512.0	7.6 ±1.7	35.6 ±6.9
	150	7	40.17 ±5.5334	369.8 ±35.2	10.6 ±1.3	408.6 ±37.3	4,527.1 ±639.5	5.3 ±1.5	21.6 ±6.5
	180	4**	45.628 ±8.6430	454.5 ±119.1	11.3 ±0.6	416.5 ±104.7	4,983.4 ±887.5	5.9 ±1.4	23.7 ±4.2
PTX	210	5	6.744 ±2.733	23.18 ±10.66	13.3 ±1.5	10,740 ±4,860	58,900 ±24,700	9.45 ±3.76	1,020 ±648

* UE:Urinary excretion

** One patient at 180 mg/m² level was omitted from the calculation of summary pharmacokinetic parameters as there was administering interruption for developing allergic reactions

表6●NK105の薬物動態

に証明することができた。有効性については、ゲムシタピン不応な膵がん症例でPRが得られ、約11ヵ月間の治療が可能であった(図6)。以上より、第II相試験での推奨投与量は150mg/m²であり、今後、胃がんや卵巣がんなどを対象とした臨床第II相試験を計画中であり、速やかな臨床評価が望まれる。

Abraxane (ABI-007)

Abraxaneはアルブミン包埋タキソール粒子で、粒子サイズが約130nmのDDS製剤である。アルブミンを結合したことで水溶性となり、タキソールの投与溶媒であるcremophor ELが不要である。DLTは好中球減少であり、角膜炎、末梢神経障害、口内炎などがみられたが、前投薬なしでも過敏反応はみられなかった。転移性乳がんに対するタキソールとAbraxaneとの第III相試験が行われた¹¹⁾。この試験において、grade3の末梢神経障害はタキ

ソールに比べAbraxaneの方が高頻度に見られたものの(2% vs 10%、p<0.001)、奏効率(19% vs 31%、p=0.001)、無増悪生存期間(16.9w vs 23w、HR=0.75、p=0.006)、grade3、4の好中球減少(22% vs 9%、p<0.001)はタキソールよりAbraxaneの方が優れた結果が得られ、2005年1月に転移性乳がんに対してFDAの承認が得られ、国内でも治験行われている。Abraxaneの抗腫瘍効果の増強に関しては、EPR効果により腫瘍へのターゲティングが向上し、腫瘍組織でより多く発現している血管内皮上のアルブミンレセプターgp60を使って、腫瘍組織への効率よい製剤の移行などが関与しているものと考えられている。また医療経済学的視点からの検討では、薬価自体はAbraxaneがタキソールより2.5倍高価であるが、1回投与当たりの副作用対策費用(過敏反応に対する前投薬、G-CSFや抗生物質など)、総費用両者においてAbraxaneがタキソールよりも安価であったと報告されている(表7)¹²⁾。

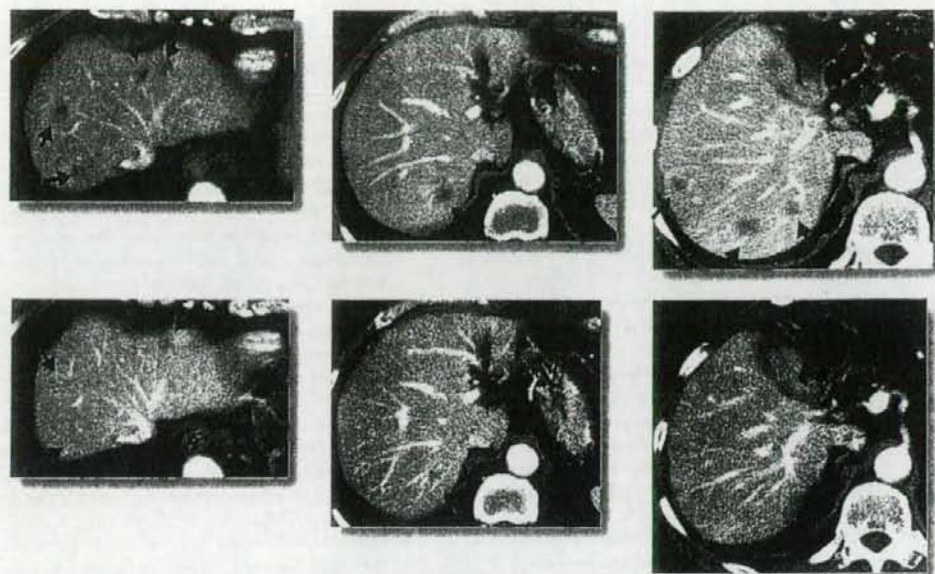


図6 ●NK105によりゲムシタピン不応な膵がん症例でPRが得られた症例

表7 ●タキソールとAbraxaneの
医療経済学的視点からの検討

descriptor	ABI-D07	PTX	Difference
premedication cost/cycle	\$0	\$23.10	-\$23.10
administration cost/cycle	\$14.31	\$62.35	-\$48.04
toxicity management cost/cycle	\$4,934.70	\$7,227.57	-\$2,292.87
treatment failure cost/cycle	\$5,107.96	\$6,175.30	-\$1,067.34
total cost/cycle	\$10,128.52	\$13,830.13	-\$3,701.61
cost/responder	\$30,692.49	\$72,790.16	-\$42,097.67
cost/progression-free month	\$2,001.68	\$3,717.78	-\$1,716.10

今後のNK105の開発

今後、NK105の臨床開発を進めていくうえで、タキソールのみならずAbraxaneのような他の剤型よりも、臨床的有用性において優れていることを示

すことが要求されるであろう。われわれは、NK105のような日本の優れた技術により創出されたDDS系抗がん剤を効率よく臨床評価し、その有用性を世界にアピールしていくことが責務であると考えている。

文献

- 1) Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent SMANCS. *Cancer Res* 1986; 46: 6387-92.
- 2) Maeda H, Matsumura Y. Tumorotropic and lymphotropic principles of macromolecular drugs. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1989; 6: 193-210.
- 3) Maeda H, Wu J, Sawa T, et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J Controlled Release* 2000; 65: 271-84.
- 4) Bader H, Ringsdorf H, Schmidt B. Water-soluble polymers in medicine. *Angew Makromol Chem* 1984; 123/124: 457-85.
- 5) Yokoyama M, Miyauchi M, Yamada N, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K, Inoue S. Characterization and anticancer activity of the micelle-forming polymeric anticancer drug adriamycin-conjugated poly (ethylene glycol)-poly (aspartic acid) block copolymer. *Cancer Res* 1990; 50: 1693-1700.
- 6) Yokoyama M, Fukushima S, Uehara R, Okamoto K, Kataoka K, Sakurai Y, Okano T. Characterization of physical entrapment and chemical conjugation of adriamycin in polymeric micelles and their design for in vivo delivery to a solid tumor. *J Controlled Release* 1998; 50: 79-92.
- 7) Eisenhauer EA, ten Bokkel Huinink WW, Swenerton KD, Gianni L, Myles J, van der Burg ME, et al. European Canadian randomized trial of paclitaxel in relapsed ovarian cancer: high-dose versus low-dose and long versus short infusion. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2654-66.
- 8) Rowinsky EK, Donehower RC. Paclitaxel (taxol). *N Engl J Med* 1995; 332: 1004-14.
- 9) Hamaguchi T, Matsumura Y, Suzuki M, Shimizu K, Goda R, Kakizoe T, et al. NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation, can extend in vivo antitumor activity and reduce the neurotoxicity of paclitaxel. *Br J Cancer* 2005; 92: 1240-6.
- 10) Kato K, Hamaguchi T, Yasui H, Okusaka T, Ueno H, Matsumura Y, et al. Phase I study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle, in patients with advanced cancer. *ASCO Meeting Abstracts* 2006 24: 2018.
- 11) Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, Shaw H, Desai N, et al. Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7794-803.
- 12) Gradishar W, Wolinsky S, Vishalpuria T, Nightengale B, Bramley T. Cost-effectiveness of nanoparticle albumin-bound (nab) paclitaxel (ABX) vs Cremophor-based paclitaxel (CP) in the treatment of metastatic breast cancer (MBC). *J Clin Oncol Annual Meeting Proceedings* 2004; 22: 635.



話題

ポリマーミセル抗がん剤の 作用機序と臨床導入*

濱 口 哲 弥**

Key Words : drug delivery system (DDS), enhanced permeability and retention effect (EPR effect), stealth effect, nanoparticle

はじめに

抗がん剤治療の最大の問題点は、臨床的な薬効量と副作用量が接近しているため、満足のいく結果が得られていないことである。これは低分子抗がん剤が容易に正常組織の血管からも漏出し体全体に分布するため、十分な量の抗がん剤が腫瘍組織に到達できず、正常細胞の中でも比較的分裂の速い血液系細胞、粘膜上皮などがダメージを受けるからである。がん治療におけるdrug delivery system (DDS)の目的は、抗がん剤を化学修飾またはキャリアに封入することによって抗がん剤をより選択的にがん局所へ到達させ治療効果を高めること、あるいは正常組織への薬剤分布を少なくし副作用を軽減することである。

がん治療におけるDDSにはactive targetingとpassive targetingという2つの概念がある。前者は分子間の特異的結合能を利用してtargetingを図るもので、モノクローナル抗体や各種受容体に対するリガンドを利用したやり方などがあげられる。後者は、腫瘍の脈管系の特性を利用して、抗がん剤の選択的集積性を達成しようとするものである。この点について、松村らは、生体でのがん組織の特性を検討した結果、一般に固形腫瘍では腫瘍血管の増生と、それに見合うリンパ系システムの増生がなく、また腫瘍血管においては著しい血管透過性の亢進が起きていることを見出し、このことから正常血管では血

管外に漏れにくい高分子物質も腫瘍血管からは漏出しやすく、またいったん局所で漏出した高分子はその場に停滞しやすい、いわゆるEPR (enhanced permeability and retention)効果(図1)により高分子制がん剤は受動的ターゲティングが可能となることを明らかにした^{1)~3)}。このアイデアは現在世界的に受け入れられている。本稿では、国内で開発されたポリマーミセル抗がん剤の知見を中心に概説する。

ミセル体

高分子ミセルに薬剤を結合させ、その薬剤の徐放に応用しようという案はRingsdorfらにより報告され⁴⁾、その後横山らは、アドリアマイシン(ADR)をミセル内核に封入した高分子ミセルを作製することに成功した⁵⁾⁶⁾。このミセルとは疎水性ポリマーと親水性ポリマーよりなるAB型ブロックコポリマーの疎水性部分に薬物としてアドリアマイシンを導入した薬物-ブロックコポリマー複合体である。親水性鎖はポリエチレングリコール(PEG)で疎水性鎖はポリアスパラギン酸からなり、アドリアマイシンはポリアスパラギン酸とともに内核を形成する。一方、外殻は電気的に中性のPEGが樹枝状に被うことにより、オプソニン効果を抑制することになり、網内系からのトラップを回避し高い血中滞留性を示す。このような網内系からの回避をステルス効果と称している。このような高分子ミセルは表1に示すように、薬物の生体内におけるキャ

* Clinical development of micelle-forming polymeric agents.

** Tetsuya HAMAGUCHI, M.D., Ph.D.: 国立がんセンター中央病院消化器内科〔〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1〕; Division of Gastroenterological Medicine, National Cancer Center Hospital, Tokyo 104-0045, JAPAN

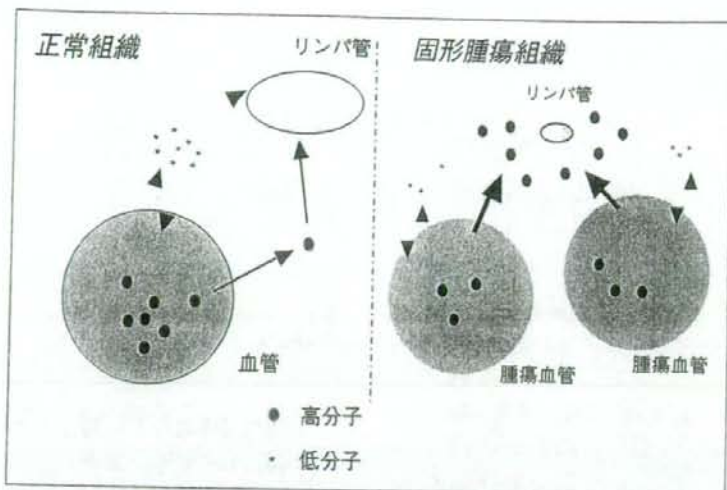


図1 正常組織と固形腫瘍組織の脈管学的特性

正常組織(左図): ①高分子物質は、ほとんど血管から漏れない。②漏出した高分子物質はリンパ管から回収されてしまう。③低分子物質は、容易に血管から漏出し、ただちに血管系またはリンパ管系で回収される。

腫瘍組織(右図): 新生血管が造成し、種々の機構により血管透過性が亢進している。①高分子物質は容易に血管から漏出される(Permeability ↑)。②リンパ系が未熟なためリンパ回収が十分にできない(Retention ↑)。すなわち、漏出した高分子は長く局所にとどまる(EPR effect)。③低分子物質は血管系より容易に漏出するものの、回収もされやすく、長く局所にとどまることができない。

表1 DDS製剤としてのミセル体の特長

- ・ 粒子径が数十nmで腎糸球体から濾過されない
- ・ 外殻をPEGで覆うため網内系によるtrapが少ない
- ・ 長い血中半減期を有する
- ・ 長期での非蓄積性
- ・ 高い水溶性
- ・ 高い薬物安定性
- ・ 凍結乾燥後も再び容易に水溶液に戻すことができる
- ・ 外殻の高分子鎖の先端に、目的に応じてパイロット分子を連結できる
- ・ 疎水性薬剤やペプチドや遺伝子も内包できる

リアとして非常に優れた特徴をもっている。

DDS製剤としてはリポソームの方が歴史は古く、海外ではアドリマイシン内包リポソーム(liposomal doxorubicin, Doxil®)が、カポジ肉腫、卵巣がん、乳がんにも認可されており、多発性骨髄腫などを中心に適応拡大のために臨床試験が進められている。リポソームとミセル体を比較すると以下ようになる。リポソームは脂質二重膜でありミセルは親水性差と疎水性鎖からなるブロック共重合体の自己会合体であり、リポソームは約120nmサイズで硬い剤型であるのに対して、ミセルは内包する抗がん剤によりサイズが変わるが約20~90nmとリポソームより小さく

かつ、外殻部分のPEGが多いため比較的柔軟であり局所での浸透性に富む。また内角構成セグメントである疎水性鎖の化学構造を制御することで、さまざまな薬を内包できる。たとえばリポソームの場合は、バクリタキセルのような疎水性の薬剤は内包が難しく二重膜のintegrityが低下するのに対して、ミセルは疎水性の薬剤でも内包可能で、高濃度に内包させてもミセルの安定性は影響を受けない。リポソームは安定に薬剤を内包させるとその薬剤のリポソームからのリリースが難しくなるが、ミセルは望ましいプロファイルで薬剤をコントロールしてリリースさせることが可能である。また、臨床的にはリ

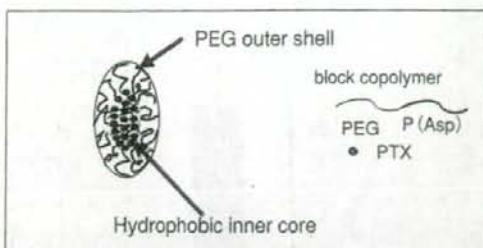


図2 NK105の構造

PEGとポリアスパラギン酸からなるポリマーによりバクリタキセルは内包される。平均粒径は90nmである。

ボソームの投与時にみられるinfusion-related reactionがミセルでは認められないといった利点がある。このようなコンセプトをもとに、国内でアドリマイシン内包ミセル⁷⁾、バクリタキセル内包ミセル⁸⁾⁹⁾、SN-38内包ミセル、シスプラチン内包ミセルが開発され、臨床試験が行われている。以下の章では、バクリタキセル内包ミセルについて説明する。

バクリタキセル内包ミセルの 前臨床試験⁸⁾

バクリタキセルは植物アルカロイドで、太平洋イチイの樹皮に由来する抗微小管薬であり、ピンカアルカロイド類とは異なる部位でチューブリンと結合し微小管の脱重合を阻害する。その結果、微小管は細胞周期の必要な時期に解離できず正常な細胞増殖が停止すると考えられている。バクリタキセルは水難溶性であるため、Cremophor ELが投与溶媒として使用されており、そのため気管支収縮や蕁麻疹、低血圧などを伴う過敏反応をひき起こすことがあり、このため、ステロイド類や抗ヒスタミン剤を予防投与することが必要となる。しかし、これらの予防投与にもかかわらず1~3%程度で過敏反応が出現するため注意が必要である¹⁰⁾。バクリタキセルは卵巣がん、乳がん、非小細胞肺癌、胃がん、子宮体がんに対して適応承認されている。バクリタキセルの毒性は、催吐作用は経度で好中球減少と末梢神経障害が用量制限毒性(dose-limiting toxicities; DLT)である¹¹⁾。好中球減少は0.05~0.1 μ Mの血中濃度持続時間との相関が報告されており、長時間投与では低濃度の持続時間延長によって好中球減少が高度となるため、通常1~3

時間投与が主流である。末梢神経障害は投与継続により発現頻度が高まる蓄積性の毒性である。感覚鈍麻もしくは過敏、ビリビリとしたしびれ感、灼熱感などの知覚異常が四肢遠位端優位に発現する。このような神経障害への対処法は確立していないため、神経障害の程度が強くなると抗腫瘍効果が持続していても治療を休止もしくは中止しなくてはならない重要な毒性である。

NK105はバクリタキセル内包ミセルの臨床試験用製剤であり、有機溶媒なしに安全かつ簡便に投与可能となり、さらに高分子化によるEPR効果により薬剤の腫瘍集積性を増すとともに、体内組織(臓器)への薬剤分布を変えることにより、バクリタキセルで実地臨床において問題となっている蓄積性末梢性神経障害の克服につながることを期待されバクリタキセル内包ミセルの開発が進められた。種々の改良を経て臨床用製剤NK105が作製された。

NK105はバクリタキセルをPEGとポリアスパラギン酸が鎖状に結合したポリマーによりミセル可溶化した製剤で1バイアル中にポリマー100mg、バクリタキセル30mgを含有し平均粒径は約90nmである(図2)。培養ヒトがん細胞に対する増殖抑制効果をNK105とバクリタキセルで比較検討したところ、用量反応曲線およびIC₅₀は両者ともほぼ同等であった。次にヒト大腸がんHT-29に対する抗腫瘍効果を比較検討したところ、ヌードマウスにヒト大腸がん株HT-29を皮下移植し、腫瘍径が約5mmになった時点でバクリタキセルおよびNK105をバクリタキセル当量100mg/kg、50mg/kg、25mg/kgを週1回、3週にわたり尾静脈より投与した。すべての投与群でNK105の抑制率がバクリタキセルのそれを有意に上回り、バクリタキセルの100mg/kg群とNK105の25mg/kg群とがほぼ同等の抗腫瘍効果を示した。さらにNK105の100mg/kg投与群では全例で腫瘍の消失を認め観察期間中に再発を認めず、バクリタキセル投与では得られない優れた効果を示した。またバクリタキセルの100mg/kgとNK105の100mg/kg投与群とでは後者の方が体重減少は軽度であった。次にミセル化により末梢神経毒性を軽減することができるかを検討した。ICRFマウスにバクリタキセルおよびNK105をバクリ

タキセル当量25mg/kg/日、連続5回静注後、神経病理学および電気生理学的に比較した。神経病理学的検討では、NK105群ではバクリタキセル群に比べ有意に神経変性が軽度であった。また電気生理学的検討としてcaudal sensory nerve action potential(caudal SNAP)を比較したが、NK105群はcontrol群とほぼ同等であり、バクリタキセル群は両者に比べ明らかにcaudal SNAPは低下していた(図3)。以上から、NK105はバクリタキセルで認められる末梢性神経障害が軽減しており、ヒトでの臨床試験で再現できることが望まれる。マウスでの各PKパラメーターは表2および図4に示したとおりであるが血中滞留性は向上し、plasma AUCおよびtumor AUCはそれぞれ50~86倍、約25倍であった。以上より、前臨床試験において、NK105はEPR効果による抗腫瘍効果の増強および末梢神経障害の軽減が期待され、国内で臨床第I相試験が行われた。

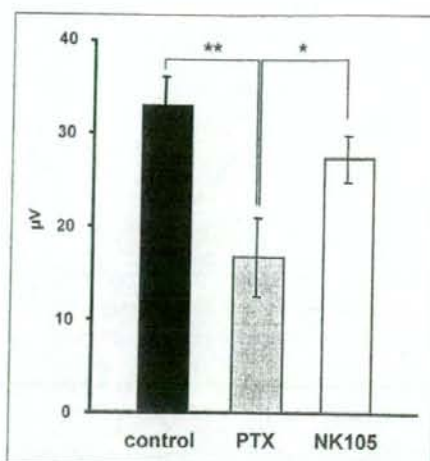


図3 ラット神経生理学的検討
ラットに生理食塩水(control)、バクリタキセル、NK105を週1回投与を6日繰り返した後のcaudal SNAPの比較。バクリタキセルはcontrolに比べ、caudal SNAP電位が有意に低下していた(** $P < 0.01$)。さらにバクリタキセルにはNK105に比べて有意に低下していた(* $P < 0.05$)。

表2 マウスPK

薬剤	投与量(mg/kg)	C_{5min} (mg/ml)	$t_{1/2z}$ (h)	AUC_{0-4} (μ gh/ml)	AUC_{0-inf} (μ gh/ml)	CL_{tot} (ml/h/kg)	V_{ss} (ml/kg)
血漿							
paclitaxel	50	59.32	0.98	90.2	91.3	547.6	684.6
paclitaxel	100	157.67	1.84	309.0	309.0	323.6	812.2
NK105	50	1157.03	5.99	7860.9	7862.3	6.4	46.4
NK105	100	1812.37	6.82	15565.7	15573.6	6.4	54.8
腫瘍							
		C_{max} (μ g/ml)	T_{max} (h)	$t_{1/2z}$ (h)	AUC_{0-4} (μ gh/ml)	AUC_{0-inf} (μ gh/ml)	
paclitaxel	50	12.50	2.0	7.02	120.8	133.0	
paclitaxel	100	28.57	0.5	8.06	330.4	331.0	
NK105	50	42.45	24.0	35.07	2360.1	3192.0	
NK105	100	71.09	6.0	73.66	3884.9	7964.5	

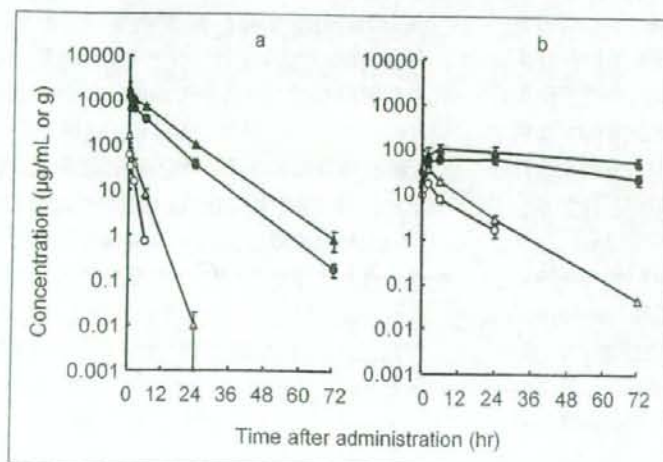


図4 マウスにおけるPK
a: 血漿, b: 腫瘍内薬物濃度. Colon-26 移植マウスにバクリタキセルおよびNK105を1回投与した後の薬物動態。
(▲)NK105: 100mg/kg(バクリタキセル換算)
(●)NK105: 50mg/kg(バクリタキセル換算)
(△)バクリタキセル: 100mg/kg
(○)バクリタキセル: 50mg/kg

パクリタキセル内包ミセルの
臨床第I相試験⁹⁾

本邦でNK105の臨床第I相試験が行われた。この臨床第I相試験での主要な評価項目は、最大耐量、用量制限毒性および第II相試験での推奨投与量である。標準治療に応じなかったタキサン系抗がん剤に未治療の固形がん患者19名：肺がん11名、胆道がん5名、胃がん2名、大腸がん1名(表3)に投与を行った。開始投与量は内包されたパクリタキセル換算で10mg/m²であり、これはイヌのtoxic dose low (TDL)の1/3量である。NK105は抗アレルギー剤の前投薬なしに1時間の投与とし、3週ごとにPDとなるまで投与した。増量計画は、まずaccelerated titration(AT)法に基づきgrade 2以上の薬物有害反応がみられなければ、1例/レベルで倍量に増量し、grade 2以上の副作用が出現後はFibonacci変法に移行した。用量制限毒性の定義は①5日以上継続するgrade 4の好中球減少(500/ μ l未満)、②2.5 \times 10⁴/ μ l未満の血小板減少、③grade 3以上の非血液毒性とした。レベル4である80mg/m²まではAT法により増量したがgrade 2以上の薬物有害反応はみられなかった。パクリタキセルの3週1回投与方法での投与量は175~210mg/m²であることから、効果安全性委員会の推奨によりレベル5の

表3 臨床試験患者背景

Number of patients	19
Male/Female	13/6
Age, years	
Median	57
Range	43~72
ECOG PS	
Median	0
0	10
1	.9
Prior treatment	
Chemotherapy regimens	
Median	1
Range	1~3

増量は倍の160mg/m²ではなく40%増の110mg/m²とし、以降はFibonacci変法にしたがって増量した。NK105の用量制限毒性(DLT)は好中球減少であり、非血液毒性、とくに神経毒性は軽微であった(表4)。Grade 2の過敏反応が1例みられたがステロイドの投与でコントロールされ、その後の継続投与でもステロイドの前投薬により過敏症の再発はみられなかった。NK105の薬物動態は図5および表5に示すとおりであるが、CmaxおよびAUCは用量依存的であり、NK105の150mg/m²のAUCはパクリタキセル210mg/m²と比べて約15倍高かった。T_{1/2z}は7.0~13.2時間であった。またCL_{tot}は280.9~880.4ml/hr/m²、V_{ss}は3668.9~10400.3ml/m²であり推奨投与量である

表4 臨床試験毒性プロファイル

	10~110mg/m ² (n=7)				150mg/m ² (n=7)				180mg/m ² (n=5)			
	Grade				Grade				Grade			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Leukopenia	2	0	2	0	1	5	1	0	1	1	3	0
Neutropenia	1	0	1	1	0	2	1	3	0	0	3	2
Thrombocytopenia	1	0	0	0	2	0	0	0	4	0	0	0
Hemoglobin	1	0	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0
Neuropathy	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Myalgia	1	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Arthralgia	1	0	0	0	4	0	0	0	3	0	0	0
Hypersensitivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Rash	1	0	0	0	1	3	0	0	4	0	0	0
Fatigue	1	0	0	0	5	0	0	0	4	0	0	0
Fever	2	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1	0
Anorexia	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0
Nausea	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Stomatitis	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Alopecia	3	0	-	-	5	0	-	-	5	0	-	-

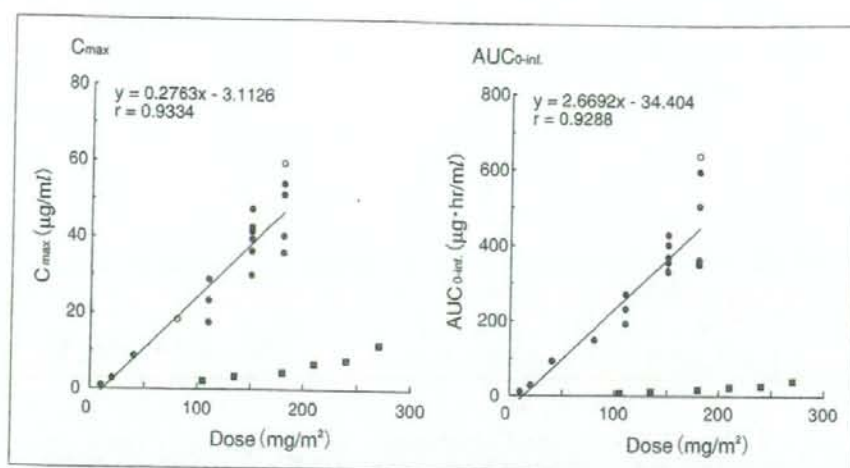


図5 NK105の薬物動態

NK105の各用量レベルにおける C_{max} (左図), AUC_{0-inf} (右図)のプロット. ●:いずれも線形的であった. また, 参考までにパクリタキセルの C_{max} , AUC のプロット(■)を示した.

表5 NK105臨床第I相試験における各PKパラメーター

	Dose (mg/m ²)	n	C _{max} (µg/ml)	AUC _{0-inf} (µg·hr/ml)	t _{1/2} (hr)	CL _{tot} (ml/hr/m ²)	Vd _{ss} (ml/m ²)	UE* (%)	CL _r (ml/hr/m ²)
NK105	10	1	0.9797	11.4	9	880.4	10400	7.5	66.4
	20	1	2.8971	29.1	8.5	687.9	8027	8.6	59.4
	40	1	8.8334	93.9	13.2	426.1	5389.8	5.2	22
	80	1	18.453	149.3	7	535.8	5875.8	4.7	25.3
	110	3	23.392	232	9.7	483.3	5881.2	7.6	35.6
			±	±	±	±	±	±	±
	150	7	5.6325	39.1	1.6	82.7	1512.0	1.7	6.9
			±	±	±	±	±	±	±
	180	4	40.17	369.8	10.6	408.6	4527.1	5.3	21.6
			±	±	±	±	±	±	±
210	5	5.5334	35.2	1.3	37.3	639.5	1.5	6.5	
		±	±	±	±	±	±	±	
PTX	210	45.628	454.5	11.3	416.5	4983.4	5.9	23.7	
		±	±	±	±	±	±	±	
210	5	8.6430	119.1	0.6	104.7	887.5	1.4	4.2	
		±	±	±	±	±	±	±	
210	5	6.744	23.18	13.3	10740	58900	9.45	1020	
		±	±	±	±	±	±	±	
210	5	2.733	10.66	1.5	4860	24700	3.76	648	
		±	±	±	±	±	±	±	

* UE : urinary excretion.

NK105の150mg/m²とパクリタキセルの国内承認用量である210mg/m²でそれぞれを比較すると, 1/25, 1/13とNK105の方が明らかに低く, EPR効果を端的に証明することができた. 有効性については, ゲムシタピン不応な肺がん症例でPRが得られ, 約11か月間の治療が可能であった. 以上より, 第II相試験での推奨投与量は150mg/m²であり, 今後, 胃がんや卵巣がんなどを対象とした臨床第II相試験を計画中であり, すみやかな臨床評価が望まれる.

アブラキサシ

アブラキサシ(ABI-007)はアルブミン包埋パクリタキセル粒子で, 粒子サイズが約130nmのDDS製剤である. アルブミンを結合したことで水溶性となり, パクリタキセルの投与溶媒であるCremophor ELが不要である. DLTは好中球減少であり, 角膜炎, 末梢神経障害, 口内炎などがみられたが, 前投薬なしでも過敏反応はみられなかった. 転移性乳がんに対するパクリタキセ

表6 医療経済的効果

	アブラキサン	パクリタキセル	コストの差
Premedication cost/cycle	\$ 0	\$ 23.10	-\$ 23.10
Administration cost/cycle	\$ 14.31	\$ 62.35	-\$ 48.04
Toxicity management cost/cycle	\$ 4934.70	\$ 7227.57	-\$ 2292.87
Treatment failure cost/cycle	\$ 5107.96	\$ 6175.30	-\$ 1067.34
Total cost/cycle	\$ 10128.52	\$ 13830.13	-\$ 3701.61
Cost/responder	\$ 30692.49	\$ 72790.16	-\$ 42097.67
Cost/progression-free month	\$ 2001.68	\$ 3717.78	-\$ 1716.10

ルとアブラキサンとの第III相試験が行われた¹²⁾。この試験において、grade 3の末梢神経障害はパクリタキセルに比べアブラキサンの方が高頻度にみられたものの(2% vs. 10%, $P < 0.001$)、奏効率(19% vs. 31%, $P = 0.001$)、無増悪生存期間(16.9w vs. 23w, $HR = 0.75$, $P = 0.006$)、grade 3, 4の好中球減少(22% vs. 9%, $P < 0.001$)とパクリタキセルよりアブラキサンの方が優れた結果が得られ、2005年1月に転移性乳がんに対してFDAの承認が得られ、国内でも治験が行われている。アブラキサンの抗腫瘍効果の増強に関しては、EPR効果により腫瘍へのターゲティングが向上し、腫瘍組織でより多く発現している血管内皮上のアルブミンレセプター-gp60を使って、腫瘍組織への効率よい製剤の移行などが関与しているものと考えられている。また医療経済学的視点からの検討では、薬価自体はアブラキサンがパクリタキセルより2.5倍高価であるが、1回投与あたりの副作用対策費用(過敏反応に対する前投薬、G-CSFや抗生物質など)、総費用両者においてアブラキサンがパクリタキセルよりも安価であったと報告されている(表6)。

おわりに

これまで国内の優れた技術により創出されたポリマーミセル抗がん剤の作用機序と臨床導入について、すでに臨床第I相試験が終了したパクリタキセル内包ミセル(NK105)を中心に説明した。DDS系抗がん剤はポリマーミセル以外にもリポソームやアブラキサンのようなアルブミン包埋ナノ粒子製剤などいくつかの剤型が存在し、それぞれで臨床的有用性について臨床試験により厳しく評価されている。Therapeutic windowが広がることにより、安全性と有効性が高ま

ることを示していくとともに、医療経済的な効果などに関しても検討することが必要である。現在、多くの欧米の新薬が一時的に日本に流れ込んでいる現状の中で、EPR効果のような日本発の概念から生まれたポリマーミセル製剤を臨床評価し、今後は国際的にも発展させていきたいと考えている。

文 献

- 1) Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent SMANCS. *Cancer Res* 1986; 46: 6387.
- 2) Maeda H, Matsumura Y. Tumorotropic and lymphotropic principles of macromolecular drugs. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1989; 6: 193.
- 3) Maeda H, Wu J, Sawa T, et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J Controlled Release* 2000; 65: 271.
- 4) Bader H, Ringsdorf H, Schmidt B. Water-soluble polymers in medicine. *Angew Makromol Chem* 1984; 123/124: 457-85.
- 5) Yokoyama M, Miyauchi M, Yamada N, et al. Characterization and anticancer activity of the micelle-forming polymeric anticancer drug adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Cancer Res* 1990; 50: 1693.
- 6) Yokoyama M, Fukushima S, Uehara R, et al. Characterization of physical entrapment and chemical conjugation of adriamycin in polymeric micelles and their design for in vivo delivery to a solid tumor. *J Controlled Release* 1998; 50: 79.

- 7) Matsumura Y, Hamaguchi T, Ura T, et al. Phase I clinical trial and pharmacokinetic evaluation of NK911, a micelle-encapsulated doxorubicin. *Br J Cancer* 2004 ; 91 : 1775.
- 8) Hamaguchi T, Matsumura Y, Suzuki M, et al. NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation, can extend in vivo antitumour activity and reduce the neurotoxicity of paclitaxel. *Br J Cancer* 2005 ; 92 : 1240.
- 9) Kato K, Hamaguchi T, Yasui H, et al. Phase I study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle, in patients with advanced cancer. *ASCO Meeting Abstracts* 2006 ; 24 : 2018.
- 10) Eisenhauer EA, ten Bokkel Huinink WW, Swenerton KD, et al. European-Canadian randomized trial of paclitaxel in relapsed ovarian cancer : high-dose versus low-dose and long versus short infusion. *J Clin Oncol* 1994 ; 12 : 2654.
- 11) Rowinsky EK, Donehower RC. Paclitaxel (taxol). *N Engl J Med* 1995 ; 332 : 1004.
- 12) Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, et al. Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 7794.

* * *

A phase I and pharmacokinetic study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation

T Hamaguchi¹*, K Kato¹, H Yasui¹, C Morizane¹, M Ikeda¹, H Ueno¹, K Muro¹, Y Yamada¹, T Okusaka¹, K Shirao¹, Y Shimada¹, H Nakahama² and Y Matsumura³¹Department of Medicine National Cancer Center Hospital, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045, Japan; ²Clinical Trial Coordinating Division, National Cancer Center Hospital, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045, Japan; ³Investigative Treatment Division, Research Center for Innovative Oncology, National Cancer Center Hospital East, 6-5-1 Kashiwanoha, Kashiwa, 277-8577, Japan

This phase I study was designed to examine the maximum tolerated dose (MTD), the dose-limiting toxicities (DLTs), the recommended dose (RD) for phase II, and the pharmacokinetics of NK105, a new polymeric micelle carrier system for paclitaxel (PTX). NK105 was administered as a 1-h intravenous infusion every 3 weeks, without antiallergic premedication. The starting dose was 10 mg m⁻², and the dose was escalated according to the accelerated titration method. Nineteen patients were recruited. The tumour types treated included pancreatic (n = 11), bile duct (n = 5), gastric (n = 2), and colonic (n = 1) cancers. Neutropenia was the most common haematological toxicity. A grade 3 fever developed in one patient given 180 mg m⁻². No other grades 3 or 4 nonhaematological toxicities, including neuropathy, was observed during the entire study period. DLTs occurred in two patients given 180 mg m⁻² (grade 4 neutropenia lasting for more than 5 days). Thus, this dose was designated as the MTD. Grade 2 hypersensitivity reactions developed in only one patient given 180 mg m⁻². A partial response was observed in one patient with pancreatic cancer. The maximum concentration (C_{max}) and area under the concentration (AUC) of NK105 were dose dependent. The plasma AUC of NK105 at 150 mg m⁻² was approximately 15-fold higher than that of the conventional PTX formulation. NK105 was well tolerated, and the RD for the phase II study was determined to be 150 mg m⁻² every 3 weeks. The results of this phase I study warrant further clinical evaluation.

British Journal of Cancer (2007) 97, 170–176. doi:10.1038/sj.bjc.6603855 www.bjancer.com

Published online 26 June 2007

© 2007 Cancer Research UK

Keywords: NK105; paclitaxel; polymer micelles; phase I study; DDS

Paclitaxel (PTX), an antimicrotubule agent, has a wide spectrum of antitumour activity including ovarian, breast, stomach, lung, and head and neck cancers (Rowinsky *et al*, 1990; Carney, 1996; Crown and O'Leary, 2000). The clinically used PTX preparation is a mixture of Cremophor EL and ethanol because of PTX's poor water solubility. However, the use of Cremophor EL is known to be associated with acute hypersensitivity reactions (Weiss *et al*, 1990; Rowinsky and Donehower, 1995; Kloover *et al*, 2004). Other PTX preparations that have been categorised as drug delivery systems (DDS) have also been developed. These preparations include Xyotax (polyglutamate-conjugated PTX; Singer *et al*, 2003; Boddy *et al*, 2005), Abraxane (PTX coated with albumin; Ibrahim *et al*, 2002; Deisai *et al*, 2003; Nyman *et al*, 2005), and Genexol-PM (a PTX micelle in which PTX has been simply solubilised; Kim *et al*, 2004). The common advantage shared by these formulations is that they are injectable intravenously without the mixture of Cremophor EL and ethanol. Among them, Abraxane has been approved for metastatic breast cancer by the Food and Drug Administration in the USA based on the results of a randomised phase 3 trial. In this trial, Abraxane demonstrated significantly higher response

rates, compared with standard PTX, and a significantly longer time to progression (Gradishar *et al*, 2005). In addition, the incidence of grade 4 neutropenia was significantly lower for Abraxane than for PTX. However, peripheral sensory neuropathy was more common in the arm (Gradishar *et al*, 2005).

NK105 is a PTX-incorporating 'core-shell-type' polymeric micellar nanoparticle formulation (Hamaguchi *et al*, 2005). This particle can be injected intravenously without the use of Cremophor EL or ethanol as a vehicle. Therefore, NK105 is expected to possess a clinical advantage similar to that of the above-mentioned PTX formulations. The difference between NK105 and the other PTX dosage forms is that NK105 is expected to yield a markedly higher plasma and tumour area under the concentration (AUC), compared with those for the other PTX formulations. Moreover, regarding the toxic profiles, the repeated administration of NK105 to rats at 7-day intervals produced significantly fewer toxic effects on peripheral nerves than free PTX. Macromolecular drugs, including NK105, have been developed based on the characteristic macroscopic features of solid tumours, such as hypervascularity, the presence of vascular permeability factors stimulating extravasation within cancer, and the suppressed lymphatic clearance of macromolecules. These characteristics, which are unique to solid tumours, constitute the basis of the enhanced permeability and retention (EPR) effect (Matsumura and Maeda, 1986; Maeda *et al*, 2000; Duncan, 2003). The *in vivo*

*Correspondence: Dr T Hamaguchi; E-mail: thamaguc@ncc.go.jp
Received 13 March 2007; revised 23 May 2007; accepted 23 May 2007;
published online 26 June 2007

antitumour activity of NK105 was significantly more potent than that of free PTX, probably because of enhanced tumour exposure through the EPR effect (Hamaguchi *et al*, 2005).

We conducted a phase I clinical trial using NK105 in patients with advanced solid tumours. The objectives of this trial were to determine the maximum tolerated dose (MTD), the phase II recommended dose (RD), and the pharmacokinetics of NK105.

PATIENTS AND METHODS

The protocol and all materials were approved by the Institutional Review Board of the National Cancer Center, Tokyo. This study was conducted in compliance with the Good Clinical Practice Guidelines of the International Conference on Harmonization and the Declaration of Helsinki Principles. Written informed consent was obtained from all the patients.

Therapeutic agent

NK105 was supplied by Nippon Kayaku Co. Ltd. (Tokyo, Japan) in 20-ml glass vials containing a dose equivalent to 30 mg of PTX. When reconstituted in 10 ml of 5% glucose solution and diluted with a total volume of 250 ml of 5% glucose, the reconstituted solution was stable for 24 h at room temperature. In our preclinical study, DLS and HPLC analysis showed that less than 2% of PTX incorporated in the micelles was released for 24 h at room temperature (data not shown).

Figure 1 shows the schematic structure of NK105, a PTX-entrapped polymeric micelle formulation. The NK105 polymers were constructed using polyethylene glycol (PEG) as the hydrophilic component and modified polyaspartate as the hydrophobic component. PEG is believed to form the outer shell of the micelle, producing a 'stealth' effect that enables NK105 to avoid being captured by the reticuloendothelial system.

The modified polyaspartate chain is hydrophobic and is believed to form the hydrophobic inner core of the micelles in aqueous media. The hydrophobic inner core enables NK105 to entrap a sufficient amount of PTX. NK105 has a diameter of about 90 nm (Hamaguchi *et al*, 2005).

Patients

Patients with solid tumours refractory to conventional chemotherapy and for whom no effective therapy was available were eligible for enrolment in this study, provided that the following criteria were met: a histologically confirmed malignant tumour; a performance status of ≤ 2 ; an age of ≥ 20 and < 75 years; a normal haematological profile (neutrophil count $\geq 2000 \text{ mm}^{-3}$, platelet count $\geq 100\,000 \text{ mm}^{-3}$, hemoglobin $\geq 9 \text{ g dl}^{-1}$); normal hepatic function (total bilirubin level $\leq 1.5 \text{ mg dl}^{-1}$, AST and ALT ≤ 2.5

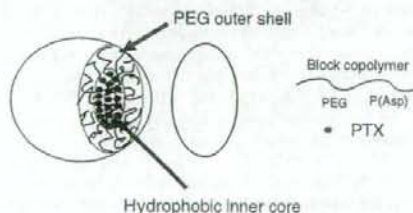


Figure 1 Schematic structure of NK105. A polymeric micelle carrier of NK105 consists of a block copolymer of PEG (molecular weight of about 12 000) and modified polyaspartate. PEG is believed to be the outer shell of the micelle. PEG is believed to form the outer shell of the micelle. NK105 has a highly hydrophobic inner core, and therefore can entrap a sufficient amount of PTX.

times the upper normal limit); normal renal function (serum creatinine $\leq 1.5 \text{ mg dl}^{-1}$); normal cardiac function (New York Heart Association (NYHA) classification of ≤ 1); normal pulmonary function ($\text{PaO}_2 \geq 60 \text{ mm Hg}$); no chemotherapy within 4 weeks (6 weeks for nitrosourea or mitomycin C) of the administration of NK105; and a life expectancy of more than 2 months. Patients with serious infections (including hepatitis B, hepatitis C, or HIV) were ineligible for enrolment in the study. Patients who had been previously treated with a taxane were excluded because of assessing neuropathy. Patients were also excluded if they were pregnant or lactating. Additionally, any patient whom the investigators considered ineligible was excluded.

Drug administration

NK105 was dissolved in 5% glucose solution for injection at room temperature. NK105 was administered intravenously without in-line filtration and without premedication. NK105 solution was infused using an electric pump at a speed of 250 ml h^{-1} .

Dosage and dose escalation

The starting dosage of NK105 was 10 mg m^{-2} , which is one-third of the toxic dose low in dogs. NK105 was administered once every 3 weeks, and the treatment was continued unless a severe adverse event or disease progression was observed. Dose escalation was performed according to the previously described accelerated titration method (Simon *et al*, 1997; Matsumura *et al*, 2004).

Toxicity was graded from 1 to 4 using the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (version 2.0). Inpatient dose escalation was not permitted. The MTD was defined as the level at which two out of six patients experienced dose-limiting toxicities (DLTs). The recommended dosage for a phase II trial was defined by the Efficacy and Safety Assessment Committee based on the safety, pharmacokinetics, and efficacy results of this trial. DLT was defined as grade 4 neutropenia lasting more than 5 days, a platelet count of less than $25\,000 \mu\text{l}^{-1}$, or grade 3 or higher non-haematological toxicity, with the exception of nausea, vomiting, appetite loss, and hypersensitivity.

Pretreatment assessment and follow-up care

A complete medical history and physical examination, performance status evaluation, complete blood cell count (CBC), blood chemistry, urinalysis, electrocardiogram (ECG), and a computed tomography (CT) examination were performed in each patient. Other examinations were performed only in the presence of a specific clinical indication. Patients were physically examined every day until the second administration of NK105; CBC and blood chemistry tests were performed on day 3 and weekly thereafter. An ECG examination was repeated before each administration of NK105. Tumour marker levels were also measured before every administration. Tumour response was evaluated according to the Response Evaluation Criteria in Solid Tumours criteria (Therasse *et al*, 2000).

Liquid chromatography/tandem mass spectrometry determination of PTX concentrations

The PTX concentrations determined in the present phase I study represented the total drug concentrations (both micelle-entrapped and released). It was difficult to measure released PTX and micelle-entrapped PTX separately, because the equilibrium between both forms could not keep constant during the separating procedure. PTX was extracted from human plasma (0.2 ml) or urine (0.5 ml) by deproteinisation with acetonitrile. The quantifications of PTX in plasma and urine were performed using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Reversed-phase column-switching

chromatography was conducted using an ODS column and detection was enabled by electrospray ionisation of positive mode.

Pharmacokinetic analysis

The following pharmacokinetic parameters were calculated for each patient using a non-compartmental model using the WinNonlin Professional version 4.1 program (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA). The maximum concentration (C_{max}) was the maximum observed plasma concentration of PTX, and the time-to-the-maximum concentration (T_{max}) was the time corresponding to C_{max} . The area under the concentration (AUC)-time curve from time zero up to the last quantifiable time point (AUC_{0-t}) was calculated using the linear trapezoidal rule, and the area under the concentration-time curve from zero until infinity (AUC_{0-inf}) was calculated as the sum of AUC_{0-t} and the extrapolated area under the zero moment curve from the last quantifiable time point to infinity calculated by dividing the plasma concentration of the last quantifiable time point (observed value) by the elimination rate constant. The half-life of the terminal phase ($t_{1/2}$) was calculated as $\ln 2/\lambda_z$, where λ_z is the elimination rate constant calculated from the terminal linear portion of the log of the concentration in plasma. Total clearance (CL_{tot}), the volume of distribution at steady state (V_{ss}), and renal clearance (CL_r) were calculated using the following equations, where D is the dose and $AUMC_{inf}$ the area under the first moment curve from time zero until infinity:

$$CL_{tot} = D/AUC_{inf}$$

$$V_{ss} = AUMC_{inf}/AUC_{inf} \times CL_{tot}$$

$$CL_r = \text{cumulative urinary excretion}/AUC_{inf} \\ \text{/body surface area}$$

RESULTS

Patient characteristics

Nineteen eligible patients were recruited for the study (Table 1). All the patients had received chemotherapy before enrolment. Prior therapies ranged from 1 to 3 regimens of chemotherapy. None of the patients had received taxane chemotherapy. All the patients were included in the safety and response analyses.

Dosing

Dosage escalation started at 10 mg m^{-2} and was increased up to 180 mg m^{-2} . In total, 73 administrations were performed in 19 patients. Eighteen patients received more than two administra-

Table 1 Patient characteristics

Number of patients	19
Male/female	13/6
Age (years)	
Median	57
Range	43-72
ECOG PS	
Median	0
0	10
1	9
Prior treatment	
Chemotherapy regimens	
Median	1
Range	1-3

tions. The maximum number of treatments was 14 courses at 150 mg m^{-2} ; the average number of administrations at all levels was 3.8 courses. Up until 80 mg m^{-2} , grade 2 toxicity was not observed during the first course.

According to the original protocol, the dosage of NK105 should have been doubled for each escalation until grade 2 toxicity. However, the safety committee recommended that the dosage should be raised by 40% instead of 100% at 110 mg m^{-2} and that a modified Fibonacci escalation method should be implemented. Therefore, we recruited three patients at dosage level 5 (110 mg m^{-2}) and re-started the dose identification study using a modified Fibonacci method.

Haematological toxicity

Significant myelosuppression was not observed up to level 4 (80 mg m^{-2}). At level 7 (180 mg m^{-2}), two out of five patients appeared to have acquired DLTs, namely grade 4 neutropenia lasting for more than 5 days. On the basis of these results, 180 mg m^{-2} was considered to be the MTD, with neutropenia as the DLT. Since a dosage of 150 mg m^{-2} was considered to be the recommended dosage for phase II studies, an additional four patients were enrolled at a dosage of 150 mg m^{-2} ; one patient developed DLT, namely grade 4 neutropenia lasting for more than 5 days (Table 2). During the entire period of this study, G-CSF was never used to rescue patients.

Nonhaematological toxicity

The NK105 injection was generally uneventful and well tolerated in terms of nonhaematological toxicities (Table 2). Most of the toxicities were grade 1; none of the patients manifested grade 4 toxicity. A few patients developed a grade 1 elevation in AST or ALT, but these changes were transient. Pain or local toxicity in the area of the injection was not observed in any of the patients treated with NK105. No infusion-related reactions were observed; such reactions sometimes occur during liposomal drug administration. Patients were not premedicated with steroids or antihistamines. Only one patient at 180 mg m^{-2} developed grade 2 hypersensitivity. After the first course, the patient received premedication of hydrocortisone and did not develop such hypersensitivity after that. The other 18 patients did not experience any hypersensitivity during the study. Neuropathy occurred in a typical stocking/glove distribution and was manifested by numbness. Three patients at level 6 (150 mg m^{-2}) and three patients at level 7 (180 mg m^{-2}) experienced grade 1 neurotoxicity during 1 cycle. Of the four patients who received multicycle treatment more than five times, only three patients developed grade 2 neuropathy and the other patient developed grade 1 neuropathy. Even one patient who received 14 cycles of treatment experienced only grade 2 neuropathy.

Pharmacokinetics

The plasma concentrations of PTX after the intravenous infusion of NK105 were determined in each of the patients enrolled at a dose of 150 mg m^{-2} (Figure 2A). The C_{max} (Figure 2B) and AUC (Figure 2C) increased as the doses were escalated from 10 to 180 mg m^{-2} . The pharmacokinetic parameters are summarised in Table 3. The $t_{1/2}$ ranged from 7.0 to 13.2 h, and a slight tendency towards a dose-dependent extension of this parameter was observed. The CL_{tot} ranged from 280.9 to $880.4 \text{ ml h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, and the V_{ss} ranged from 3668.9 to $10400.3 \text{ ml m}^{-2}$. Although these parameters were slightly reduced depending on the dose, linear pharmacokinetics was assumed to have been observed in the dose range from 10 to 180 mg m^{-2} . The AUC of NK105 at 150 mg m^{-2} (recommended phase II dose) was about 15-fold larger than that of conventional PTX at dose of 210 mg m^{-2} (conventional dose for a

Table 2 Haematological and nonhaematological toxicities (cycle 1 and all cycles)

	10–110 mg m ⁻² (n = 7) grade				150 mg m ⁻² (n = 7) grade				180 mg m ⁻² (n = 7) grade			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<i>Cycle 1</i>												
Leukopenia	2	0	2	0	1	5	1	0	1	1	3	0
Neutropenia	1	0	1	1	0	2	1	3 ^a	0	0	3	2 ^b
Thrombocytopenia	1	0	0	0	2	0	0	0	4	0	0	0
Hemoglobin	1	0	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0
Neuropathy	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
Myalgia	1	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Arthralgia	1	0	0	0	4	0	0	0	3	0	0	0
Hypersensitivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Rash	1	0	0	0	1	3	0	0	4	0	0	0
Fatigue	1	0	0	0	5	0	0	0	4	0	0	0
Fever	2	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1	0
Anorexia	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0
Nausea	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Stomatitis	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Alopecia	3	0	—	—	5	0	—	—	5	0	—	—
<i>All cycles</i>												
Leukopenia	3	0	2	0	1	4	2	0	1	1	3	0
Neutropenia	1	0	1	1	1	1	1	4	0	0	3	2
Thrombocytopenia	1	0	0	0	3	0	0	0	4	0	0	0
Hemoglobin	1	0	0	0	1	5	0	0	1	0	0	0
Neuropathy	2	0	0	0	1	3	0	0	4	0	0	0
Myalgia	1	1	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0
Arthralgia	2	0	0	0	4	0	0	0	3	0	0	0
Hypersensitivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Rash	1	0	0	0	3	3	0	0	4	0	0	0
Fatigue	3	0	0	0	5	1	0	0	4	0	0	0
Fever	3	0	0	0	3	1	0	0	1	0	1	0
Anorexia	2	1	0	0	2	1	0	0	2	0	0	0
Nausea	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
Stomatitis	1	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0
Alopecia	2	2	—	—	4	3	—	—	4	1	—	—

^aOne of three patients developed DLT, namely grade 4 neutropenia lasting for more than 5 days. ^bThese two patients developed DLT, namely grade 4 neutropenia lasting for more than 5 days.

3-week regimen in Japanese patients) (Tamura *et al*, 1995). The V_{dss} and CL_{tot} of NK105 were significantly lower than those of conventional PTX.

The cumulative urinary excretion rates of PTX (0–73 h) after the administration of NK105 were 2.8–9.2%. These values were low, similar to those reported after the administration of conventional PTX (Tamura *et al*, 1995). The CL_r ranged from 11.7 to 66.4 ml h⁻¹ m⁻², and was slightly decreased with the dose. Since the ratio of CL_r to CL_{tot} was 3–9%, CL_r hardly contributed to CL_{tot} .

Therapeutic response

Six patients (two gastric, two bile duct, one colon, and one pancreatic) were evaluated as having had a stable disease for longer than 4 weeks at the time of the study's completion. A partial response was seen in a patient with metastatic pancreatic cancer who had been treated at 150 mg m⁻², and in whom the size of the liver metastasis had decreased by more than 90%, compared to the baseline scan (Figure 3A). This patient had previously undergone treatment with gemcitabine. The antitumour response was maintained for nearly 1 year. In a patient with stomach cancer who was treated at 150 mg m⁻², about 40% reduction was observed in a peritoneal metastasis, but a liver metastasis remained stable (Figure 3B).

DISCUSSION

The observed toxicities of NK105 were similar to those expected for conventional PTX. The DLT was neutropenia. The recom-

mended phase II dose using a 3-week schedule was determined to be 150 mg m⁻². This recommended dose of NK105 is less than that of conventional PTX (210 mg m⁻²). Since the plasma AUC of the recommended dose of NK105 was 15- to 20-fold higher than that of the recommended dose of conventional PTX (210 mg m⁻²), whether the so-called therapeutic window of NK105 is wider than that of conventional PTX should be determined in a future phases II or III trial, although the therapeutic window of NK105 appears to be wider than that of free PTX in mice experiments (Hamaguchi *et al*, 2005).

In general, haematological toxicity was mild and well managed in this trial. PTX is known to cause cumulative peripheral neuropathy resulting in the discontinuation of treatment with PTX. At a dose of 150 mg m⁻², three out of seven patients experienced only grade 1 neuropathy during the first cycle. Since the patients enrolled in this trial had almost intractable cancer, such as pancreatic or stomach, a relatively small number of patients received multiple cycles of treatment. Therefore, NK105-related neurotoxicity could not be evaluated in this study. However, three out of four patients who received more than five cycles of treatment experienced transient grade 2 peripheral neuropathy, and other patient developed transient grade 1 peripheral neuropathy. Future phase II trials may clarify whether NK105 is less toxic in terms of peripheral neuropathy when compared with conventional PTX, Abraxane, and other PTX compounds. Another characteristic adverse effect of PTX is hypersensitivity, which may be mainly caused by Cremophor EL. Since NK105 is not formulated in a Cremophor EL-containing solvent, we presumed that hypersensitivity would be diminished.

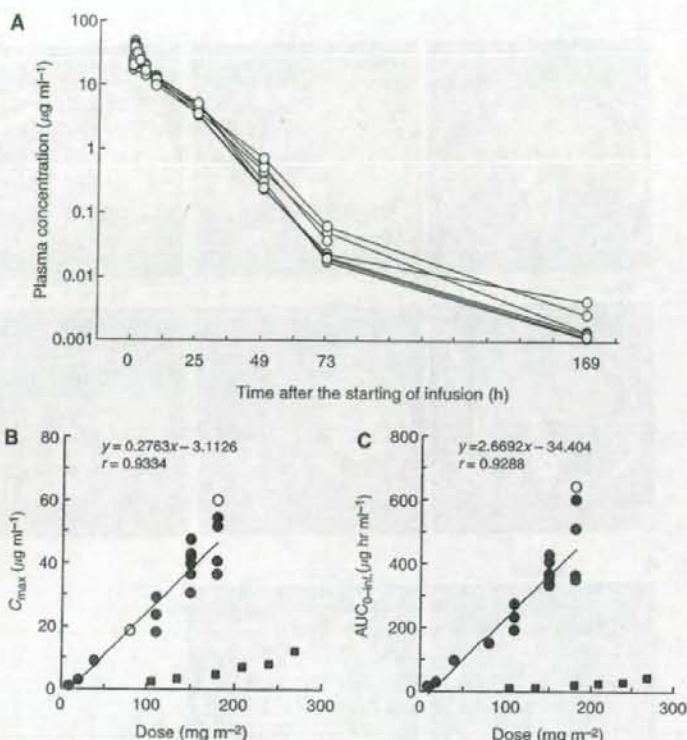


Figure 2 (A) Individual plasma concentrations of PTX in seven patients following 1-h intravenous infusion of NK105 at a dose of 150 mg m^{-2} . (B) Relationships between dose and C_{max} and (C) between dose and $\text{AUC}_{0-\infty}$ of PTX in patients following 1-h intravenous infusion of NK105. Regression analysis for dose vs C_{max} was applied using all points except one patient at 80 mg m^{-2} whose medication time became 11 min longer and one patient at 180 mg m^{-2} who had medication discontinuation and steroid medication. (Plots were shown as open circle.) Regression analysis for dose vs $\text{AUC}_{0-\infty}$ was applied using all points except one patient who had medication discontinuation and steroid medication. (Plot was shown as open circle.) Relationships between dose and C_{max} and $\text{AUC}_{0-\infty}$ in patients following conventional PTX administration were plotted (closed square, see Tamura et al, 1995).

Table 3 Pharmacokinetic parameters

	Dose (mg m^{-2})	n	C_{max} ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	$\text{AUC}_{0-\infty}$ ($\mu\text{g h ml}^{-1}$)	$t_{1/2}$ (h)	CL_{tot} ($\text{ml h}^{-1} \text{ m}^{-2}$)	V_d (ml m^{-2})	UE* (%)	CL_r ($\text{ml h}^{-1} \text{ m}^{-2}$)
NK105	10	1	0.9797	11.4	9	880.4	10 400.3	7.5	66.4
	20	1	2.8971	29.1	8.5	687.9	8027	8.6	59.4
	40	1	8.8334	93.9	13.2	426.1	5389.8	5.2	22
	80	1	18.4533	149.3	7	535.8	5875.8	4.7	25.3
	110	3	23.3924	232	9.7	483.3	5881.2	7.6	35.6
			± 5.6325	± 39.1	± 1.6	± 82.7	± 1512.0	± 1.7	± 6.9
	150	7	40.1699	369.8	10.6	408.6	4527.1	5.3	21.6
			± 5.5334	± 35.2	± 1.3	± 37.3	± 639.5	± 1.5	± 6.5
	180	4 ^b	45.6278	454.5	11.3	416.5	4983.4	5.9	23.7
			± 8.6430	± 119.1	± 0.6	± 104.7	± 887.5	± 1.4	± 4.2

*UE, urinary excretion. ^bOne patient at 180 mg m^{-2} level was omitted from the calculation of summary pharmacokinetic parameters, as there was administering interruption for developing allergic reactions.

Indeed, the results of this clinical trial show that NK105 can be administered safely as a short infusion (1 h) without the administration of anti-allergic agents like dexamethasone and antihistamine, although one patient at 180 mg m^{-2} developed transient grade 2 hypersensitivity at the first course. Therefore, NK105 may offer advantages in terms of safety and patient convenience and comfort.

The pharmacokinetic analysis of NK105 suggests that the distribution of PTX-incorporating micelles is mostly restricted to the plasma and, in part, to extracellular fluids in the body. This is consistent with data obtained in a preclinical study (Harnaguchi et al, 2005) showing that the distribution of NK105 in tissues is characterised by an EPR effect, similar to that of tumour and inflammatory lesions, or by the presence of a reticuloendothelial