

岩手医科大学
審査学位論文
(博士)

慢性期慢性骨髄性白血病患者への ダサチニブ治療に関する 薬物動態学・薬力学と臨床効果の検討

菅原教史, 村井一範, 石田陽治
岩手医科大学医学部, 内科学講座: 血液・腫瘍内科分野

(Received on February 18, 2013 & Accepted on February 28, 2013)

要旨

慢性骨髄性白血病 (CML) はチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の登場以降治療が期待される疾患となった。しかし, TKI に関する薬物動態学 (PK) と薬力学 (PD) を検討した報告はほとんどない。今回, 我々は第 2 世代の TKI であるダサチニブ治療を受けた新規 CML 患者 15 例について PK を検討し, 最高血中濃度 (Cmax) と薬物血中濃度-時間曲線下面積 [area under the blood concentration time curve (AUC)] を求めた。一方, PD としては細胞内分子 CrkL が *Bcr-Abl* によって選択的にリン酸化されることを利用し, フローサイトメトリを用いて CD34 陽性細胞におけるリン酸化 CrkL の阻害の程度を測定し, 50% に阻害される濃度を IC50 とした。Cmax/IC50,

AUC_{0-8h}/IC50 及び time above IC50 (TAIC50) を算出し, これらと *BCR-ABL* mRNA (IS) 値減少率や臨床効果の関連性を検討した結果, TAIC50 が治療開始 1 ヶ月時点の *BCR-ABL* mRNA (IS) 値減少率に有意に高い相関を認めた。ダサチニブが臨床効果を発揮するためには少なくとも CD34 陽性細胞の感受性から判断された IC50 濃度以上に CML 細胞が 7 時間以上暴露されることが必要であると考えられた。この条件を満たした CML 患者は, 3 ヶ月後の major molecular response (MMR) 達成率も高い傾向を示した。これらより, PK/PD 解析から臨床効果の有効性を評価できる可能性が示唆された。

Key words : chronic myeloid leukemia, pharmacokinetics, pharmacodynamics, dasatinib, phospho-CrkL

I. 緒 言

慢性骨髄性白血病 [chronic myeloid leukemia (CML)] は多能性造血幹細胞の腫瘍化により, 主として顆粒球が不可逆的に増殖する疾患である。フィラデルフィア (Ph) 染色体と呼ばれる 9 番染色体と 22 番染色体の相互転座という特異的な染色体異常を認める。この染色体異常の結果生じる *BCR-ABL* 融合遺伝子から転写, 翻訳された *BCR-ABL* 融合蛋白質が慢性白血化の主たる病因である。

CML の自然歴では慢性期から移行期, 急性転化期へと病期が進行する。慢性期では症状が軽度に留まるが, 無治療の場合は, 通常数年の経過で移行期, 急性転化期へ進行し予後不良となる。1990 年代後半に, *BCR-ABL*

蛋白質を標的とする第 1 世代チロシンキナーゼ阻害薬 [tyrosine kinase inhibitor (TKI)] のイマチニブが登場したことによって CML の治療成績は向上した¹⁾。さらに本邦でも 2009 年 3 月に第 2 世代 TKI (ダサチニブ, ニロチニブ) が承認されており, イマチニブ抵抗性又は不耐容の CML 症例に対して第 2 世代 TKI が導入された。

イマチニブ抵抗性又は不耐容の CML 症例を対象としたダサチニブの開発試験 (START-C)²⁾ の結果からそれらの症例に対するダサチニブの有効性が高いことが明らかとなった。さらには, 新たに診断された CML 症例に対してのダサチニブとイマチニブの無作為化比較試験 (DASISION)³⁾ も

報告された。2年後の分子遺伝学的大寛解 [major molecular response (MMR)] 率に関してもダサチニブが64%であり, イマチニブの46%と比較して有意に高い治療効果を持つ事が示されている。2011年にはダサチニブの適応が拡大され, 新規CML患者にも同剤を使用することが可能となり, 今後さらなる長期の予後の改善が期待されている。

一方, 抗菌薬領域では薬物動態学 [pharmacokinetics (PK)] と薬力学 [pharmacodynamics (PD)] の概念が最も確立されており, これらの理論による抗菌薬投与が現在推奨されている。また, 抗がん剤の一部の薬剤でもPK/PD解析はなされており, 例えばカルボプラチンやエピルビシンは薬物血中濃度-時間曲線下面積 [area under the blood concentration time curve (AUC)] 依存性であり, パクリタキセルやエトポシドは時間依存性であることが報告されている⁴⁻⁷⁾。しかしながら, TKIをはじめとする分子標的薬領域においては, こうした報告はほとんど認められず, PK/PD理論による投与方法が未だ確立していないのが現状である。例えば, イマチニブに関しては血中濃度のトラフ値が有効性と相関するとの報告⁸⁾はあるものの, CML細胞を用いたPDに関する報告は皆無である。

そこで我々は, 初発のCML症例に対して薬剤投与前に薬剤感受性を測定し (PD解析), 臨床経過の観察をするとともに, 治療開始1ヵ月後にダサチニブの血中濃度を測定し (PK解析), それぞれのパラメータを解析して, 初発慢性期の慢性骨髄性白血病患者に対するダサチニブのPK/PDを検討し, 臨床効果の合致性について検討した。

II. 研究材料および方法

1. 対象患者

2011年6月から2012年12月までに岩手医科大学血液・腫瘍内科, 青森県立中央

病院血液内科, 釧路ろうさい病院内科を受診した新規CML患者に対して, 同意の得られた症例を対象とした (岩手医科大学倫理委員会承認H23-2並びに臨床研究登録UMIN000006358)。

2. 薬剤投与量と臨床効果の評価

ダサチニブ1日1回100mgを毎日服用した。臨床効果の評価としてはダサチニブ治療開始後1, 3, 6, 9, 及び12ヵ月に末梢血液の*BCR-ABL* mRNAをRQ-PCR法により測定した。RQ-PCR法はinternational scale (IS) のconversion factor (CF)を取得した中央検査機関で施行した。

3. PK解析

ダサチニブ治療開始後1ヵ月の時点で, 内服1時間後, 2時間後, 4時間後に採血した。分離した血漿はhigh performance liquid chromatography-mass spectrometry法で解析した^{9,10)}。血中濃度の最高値を最高血中濃度 [maximum concentration (Cmax)] とし, 0-8時間の薬物血中濃度-時間曲線下面積 [area under the blood concentration time curve from 0 to 8 hours (AUC_{0-8h})] は上記より得られた血中濃度から台形法を用いて算出した。

4. PD解析

小野寺ら¹¹⁾の解析法に基づき下記を行った。

1) 骨髄細胞の分離・保存

薬剤投与前に得た新規CML患者の骨髄液をHISTOPAQUE[®]-1077 (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA)を用いて400g, 15分で遠心し, 単核球を分離した。Phosphate buffered saline (PBS)で洗浄後, セルバンカー (三菱化学, 東京)を加え, 2×10⁶個/mlに調整して-80℃で解析まで保存した。

2) 骨髄細胞液とダサチニブの2時間共培養

凍結保存していたヒト骨髄細胞液を, DNase (Deoxyribonuclease 1, Invitrogen, St Louis, MO, USA) 46.2μl (639U), 1mM CaCl₂ 1μl, 1mM MgCl₂ 1μlを含んだ

37℃のRPMI-1640 (GIBCO, Grand Island, NY, USA) を加え, 37℃の温浴上で急速解凍し, RPMI-1640 で2回洗浄した. 10%牛胎仔血清 (FCS, MP Biomedicals, Inc. Eschwege, Germany) 加 RPMI-1640 に浮遊した骨髓単核球細胞にダサチニブを添加し, 1×10^6 個/ml で2時間培養した.

3) CD34 陽性細胞のリン酸化 CrkL[v-crk sarcoma virus CT10 oncogene homolog (avian) -like] の染色

ヒト骨髓単核球細胞 (2×10^6 個/ml) 1ml にヒト血清 20 μ l を加えて10分間室温に静置した. FITC 標識抗 CD34 マウス抗体 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) 10 μ l を加え, 30分間室温暗室で静置した後, 10%ホルムアルデヒドおよび冷100%エタノールでそれぞれ固定した. 10%FCS 加 RPMI-1640 で2回洗浄後, 抗リン酸化 CrkL 家兎抗体 (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA) を加えて30分暗室で静置した. 10%FCS 加 RPMI-1640 で2回洗浄後, ヒト血清 20 μ l と PE 標識ヤギ抗家兎 IgG 抗体 (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) を加えて30分暗室で静置した. PBS で2回洗浄後, PBS で希釈しフローサイトメトリ (EPIX, Beckman Coulter, Miami, FL, USA) の検体とした. 陰性コントロール群は FITC 標識抗 CD34 マウス抗体の代わりに FITC 標識マウス IgG 抗体 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) を用いた. PE 標識ヤギ抗家兎 IgG 抗体と代わりに PE 標識ヤギ IgG 抗体 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) を用いた.

4) CD34 陽性細胞のリン酸化 CrkL の減少率の検討

フローサイトメトリで CD34 細胞群にゲートをかけ, そのゲートのリン酸化 CrkL の比率を求めた. ダサチニブ濃度 0nM 時の CrkL リン酸化率を 100% とし, ダサチニブ各濃度下におけるリン酸化 CrkL の減少率

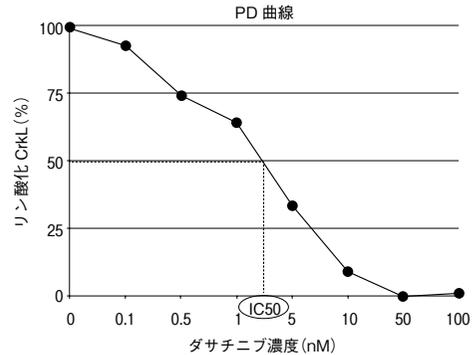


図1. 各ダサチニブ濃度下におけるリン酸化 CrkL の割合の推移の1例. 0nM の濃度時のリン酸化 CrkL を 100% とし, 各ダサチニブ濃度下の PD 曲線を描き, リン酸化 CrkL が 50% 抑制されるとき濃度を 50% inhibitive concentration (IC50) とし算出した.

を求めた. 典型的な PD 曲線を図に示す (図1). この図から, リン酸化 CrkL の 50% 減少率を示すダサチニブ濃度を 50% inhibitive concentration (IC50) とした.

5. PK/PD 解析

PK 解析から得られた C_{max} , AUC_{0-8h} を, PD 解析から得られた IC50 で割った値 (C_{max}/IC_{50} , AUC_{0-8h}/IC_{50}) を算出した. また, ダサチニブの経時的血中濃度曲線から, time above IC50 (TAIC50) を算出した.

6. 臨床効果

RQ-PCR 法で得られた *BCR-ABL* mRNA 値 ($BCR-ABL/ABL \times CF$, IS) により 0.1% 以上 1% 未満の場合は細胞遺伝学的寛解 [complete cytogenetic response (CCyR)], 0.1% 未満を分子遺伝学的大反応 (MMR) とした. ダサチニブ治療開始後 1 ヶ月の *BCR-ABL* mRNA (IS) 値を初診時の *BCR-ABL* mRNA (IS) 値で除した割合を PCR 減少率として, % 1M-*BCR-ABL* と定義した.

7. 統計

各種 PK/PD パラメータと % 1M-*BCR-ABL* の相関関係については回帰分析で解析した.

表 1. 患者背景

| | |
|------------------------------|----------------|
| 症例数 | 15 例 |
| 男性/女性 | 9 例/6 例 |
| 年齢 (中央値) | 59 歳 (37-80 歳) |
| Sokal スコア | |
| 低リスク | 9 例 |
| 中リスク | 5 例 |
| 高リスク | 0 例 |
| 未評価 | 1 例 |
| 初診時 | 58.4% |
| <i>BCR-ABL</i> mRNA (IS) 中央値 | (25.4-222.2%) |

IS: international scale

III. 結 果

1. 細胞遺伝学的・分子遺伝学的効果

新規に慢性期 CML と診断され、ダサチニブで治療開始された 15 名の患者について解析した。年齢の中央値は 59 歳 (37-80 歳) であり、男性 9 例、女性 6 例であった。ダサチニブ投与量の中央値は 100mg/日であった。対象患者の performance status は全て 0 であったが、Sokal スコア¹²⁾では低リスクが 9 例、中リスクが 5 例、高リスクが 0 例で、未評価が 1 例であった。患者のプロフィールを表に示す (表 1)。初診時の *BCR-ABL* mRNA (IS) 値の中央値は 58.4% (25.4-222.2%) であった。

ダサチニブ治療開始後の *BCR-ABL* mRNA (IS) 値の推移を図に示す (図 2)。治療開始後 1 ヶ月、3 ヶ月時点での *BCR-ABL* mRNA (IS) 値のそれぞれの中央値は 26.7% (6.3-63.9%)、0.17% (0.01-4.68%) であった。また、3 ヶ月時点での *BCR-ABL* mRNA (IS) 値が 1% 未満 (CCyR) に 15 例中 12 例で到達し、さらにそのうちの 6 例で *BCR-ABL* mRNA (IS) 値が 0.1% 未満 (MMR) に到達していた。残りの 3 例は 3 ヶ月の時点での *BCR-ABL* mRNA (IS) 値が 1% 以上であった。

2. PK/PD 解析結果

PK パラメータである C_{max} と AUC_{0-8h}

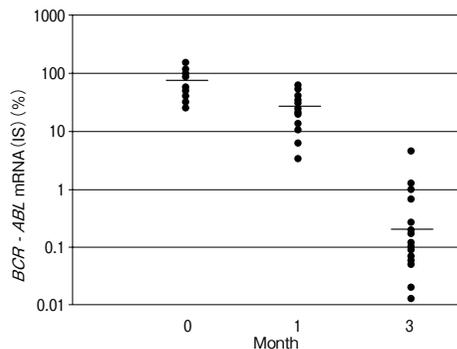


図 2. ダサチニブ治療開始前と開始以降の *BCR-ABL* mRNA (IS) 値の推移。

ダサチニブ治療開始前 (0 ヶ月)、開始後 1 ヶ月、3 ヶ月の 3 時点での *BCR-ABL* mRNA (IS) 値のそれぞれの中央値は 58.4% (25.4-222.2%)、26.7% (6.3-63.9%)、及び 0.17% (0.013-4.68%) であった。

表 2. ダサチニブ治療後の各種 PK / PD パラメータ

| PK/PD パラメータ | 中央値 (範囲) |
|--------------------------|----------------------|
| C_{max} (ng/ml) | 99.4 (5.5 - 274.4) |
| AUC_{0-8h} (ng · h/ml) | 365.9 (16.7 - 792.0) |
| IC50 (ng/ml) | 3.8 (0.4 - 49.6) |
| C_{max}/IC_{50} | 25.9 (0.6 - 591.9) |
| AUC_{0-8h}/IC_{50} | 97.6 (2.7 - 1708.4) |
| Time above IC50 (h) | 7.67 (0.64 - 8.00) |

PK: pharmacokinetics, PD: pharmacodynamics, C_{max} : maximum concentration, AUC_{0-8h} : area under the blood concentration time curve from 0 to 8 hours, IC50: 50% inhibitive concentration

のそれぞれの中央値は、99.4ng/ml (5.5-274.4ng/ml)、365.9ng · h/ml (16.7-792.0 ng · h/ml) であった。PD のパラメータとしては、*in vitro* で増殖が半減となる IC50 を測定した。IC50 の中央値は 3.8ng/ml (0.4-49.6ng/ml) であった。これらのパラメータより算出される C_{max}/IC_{50} 、 AUC_{0-8h}/IC_{50} 及び、TAIC50 のそれぞれの中央値は 25.9 (0.6-591.9)、97.6 (2.7-1708.4) 及び、7.67h (0.64-8.00h) であった (表 2)。なお、15 例

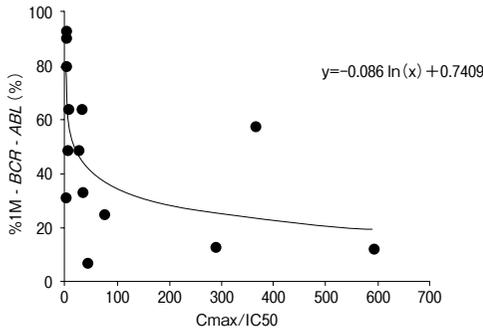


図 3. Cmax/IC50 と % 1M-BCR-ABL の関連性。
 $r^2=0.26$, $r=0.51$, $p=0.16$ であった。
 なお, $\log(Cmax/IC50)$ を独立変数として
 回帰分析した。

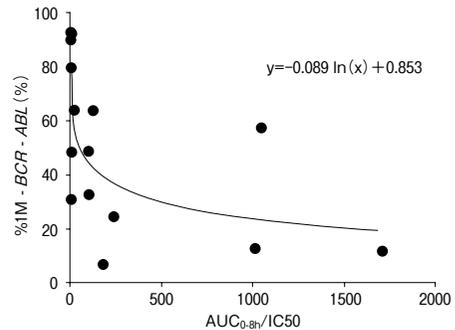


図 4. $AUC_{0-8h}/IC50$ と % 1M-BCR-ABL の関連性。
 $r^2=0.30$, $r=0.54$, $p=0.12$ であった。

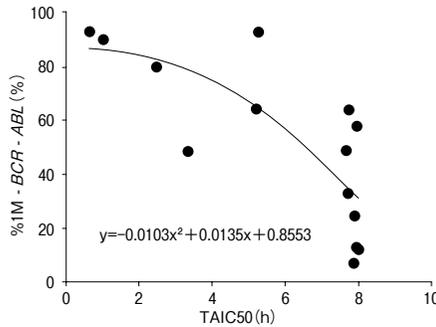


図 5. time above IC50 と % 1M-BCR-ABL の関連性。
 $TAIC50$ と % 1M-BCR-ABL のパラメータは二次関数的な相関を示した。
 相関係数 $r^2=0.83$, $r=0.91$, $p=0.000023$ と有意な相関を認めた。

のうち 1 例で IC50 が Cmax を越えていたため、TAIC50 は算出不能であった。

3. 各種 PK/PD パラメータと BCR-ABL mRNA (IS) 値減少率の相関

今回我々が検討した症例の初診時 BCR-ABL mRNA (IS) 値の分布は 25.4-222.2% と広範囲に分布していた。ダサチニブ治療開始後 1 ヶ月時点では 6.3-63.9%、3 ヶ月時点では 0.01-4.68% と収束する傾向が認められた。% 1M-BCR-ABL と各種 PK/PD パラメータの相関性について検討した。Cmax/IC50, $AUC_{0-8h}/IC50$ 及び、TAIC50 の各パラメータと % 1M-BCR-ABL の相関をそれぞれ図に示す (図 3-5)。PK/PD パラメータのう

ち、Cmax/IC50 と $AUC_{0-8h}/IC50$ は % 1M-BCR-ABL と有意な相関を認めなかった [Cmax/IC50 ($r^2=0.26$, $r=0.51$, $p=0.16$), $AUC_{0-8h}/IC50$ ($r^2=0.30$, $r=0.54$, $p=0.12$)]. しかし、TAIC50 においては % 1M-BCR-ABL (IS) と有意な相関を認めた [TAIC50 ($r^2=0.83$, $r=0.91$, $p=0.000023$)].

また、TAIC50 が 7 時間以上であった 8 例のうち 4 例 (50%) が 3 ヶ月で MMR を達成し、その一方で TAIC50 が 7 時間未満であった 6 例のうち MMR に達成したのは 2 例 (33.3%) のみであった。

IV. 考 察

今回我々は、初発 CML 患者に対してダサチニブ治療を行い、経過中の臨床効果とともに、PK/PD パラメータとその臨床効果とを解析した。我々が検討した 15 例の MMR の 3 ヶ月時点での達成率は 40.0% (6/15 例) であった。新規 CML 症例を対象としたイマチニブとダサチニブの国際共同試験である DASISION 研究³⁾によると 3 ヶ月時点での MMR 達成率は 8% と報告されている¹³⁾。今後、多数例での検討が必要であるが、日本人におけるダサチニブの有効率は外国人のそれと異なるかもしれない。

第 1 世代の TKI であるイマチニブは投与 2-3 時間で最高血中濃度となり、その後単相性に減少し半減期は 16-18 時間である。イマチニブの第 1 相試験では PK/PD 解析を施行されているが、この場合の PD は 28 日後の白血球数の減少度合いであり、トラフ値、AUC、Cmax、570ng/ml (およそ 1 μ M/l) 以上の暴露持続時間の全てが、PD と深く関わっていると報告している¹⁴⁾。また最近になり、イマチニブのトラフ値と細胞遺伝学的臨床効果には正の相関関係が報告されており^{8, 15)}、特にトラフ濃度がおよそ 1000ng/ml 以上を示す患者は、それを下回る患者と比べて有意に CCyR 達成率が高いことが報告されている¹⁵⁾。

一方、ダサチニブはイマチニブと比較して約 325 倍の *BCR-ABL* 蛋白に対する薬理活性を有する薬剤である¹⁶⁾。イマチニブと異なり投与後 1-2 時間で血中濃度は最高値となり、その半減期は 3-5 時間である。Luo らは xenograft モデルマウスを用いてダサチニブの PK/PD 解析を行った¹⁷⁾。PD パラメータは、ダサチニブを投与したヌードマウスに植え付けた CML 細胞株 K562 のリン酸化 CrkL をウエスタンブロットで評価したものである。彼らの報告では time above effective concentration 90 が 6-8 時間以上で

ヌードマウスにおいて臨床的な有効性を認めた。我々の今回用いた PD は、新規 CML 患者骨髄細胞を 10%FCS 加 RPMI-1640 中でダサチニブ添加で培養した時の CD34 陽性細胞のリン酸化 CrkL の減少率をフローサイトメトリで測定したものである。この方法でダサチニブ投与を受けた CML 患者の骨髄を経時的に解析したところ、G-Band 法で得られた Ph 染色体の減少率あるいは FISH 法で得られた *BCR-ABL* 融合遺伝子の減少率とはほぼ一致したところから、信頼できる方法と考えられる¹¹⁾。また、臨床効果の指標はいろいろと考えられ、3 ヶ月目の CCyR 率や MMR 率、1 ヶ月目、3 ヶ月目の PCR 減少率等も挙げられるが、今回の検討では 1 ヶ月目の PCR 減少率を用いた。ダサチニブはチロシンキナーゼ阻害薬であり、*BCR-ABL* 融合蛋白質であるチロシンキナーゼが阻害され、その結果として CrkL のリン酸化が減少することを利用して求めた IC50 を今回の PD として用いた。ダサチニブにはこの作用の他にも large granular lymphocyte (LGL) が増加する作用も報告されている¹⁸⁾。この LGL による免疫学的な機序で抗白血病効果が得られ、予後が改善するという報告¹⁸⁾や、CCyR 率、MMR 率が増加するという報告もある¹⁹⁾。従って、3 ヶ月目の PCR 減少率、CCyR 率、MMR 率はこの LGL の影響を受けるため、PK/PD 解析時の臨床効果の指標として 3 ヶ月目のそれらを用いて検討を行うことは不適切と考えられた。

以上より、全 15 例の 1 ヶ月目の臨床効果と Cmax/IC50、AUC_{0-8h}/IC50 及び、TAIC50 (14 例) のそれぞれのパラメータと解析を行ったところ、有意な相関を認めたものは TAIC50 のみであった。TAIC50 が 7 時間以上の症例では % 1M-*BCR-ABL* が 67% 以下となった割合は 8 例中 8 例 (100%) であり、その一方で 7 時間未満の症例ではその割合は 6 例中 2 例 (33%) であった。以上から

TAIC50 が7時間以上持続することが1ヵ月後のPCR減少率が有意に減少すると推察された。我々のこの結果は前述のLuoら¹⁷⁾のxenograftモデルマウスの結果ともよく一致していた。

ダサチニブが臨床効果をより良く発揮するためには、少なくともCD34陽性CML細胞の感受性から判断したIC50濃度にCML細胞が7時間以上暴露されることが必要であると推測された。PKから得られるCmax/IC50やAUC_{0-8h}/IC50とは有意な相関が得られないことより、ダサチニブは時間依存性で薬理効果を発揮するものと考えられる。しかしながら、今回の解析は症例数が15例と

少ないこともあり、今後さらに症例数を重ねていく必要があると考えられる。

今回の我々が行った臨床検体を用いてのダサチニブのPK/PD解析は、世界初の臨床研究である。

稿を終えるにあたり、本研究のダサチニブの血中濃度測定に関しまして御協力頂きました明治薬科大学薬学部薬剤情報解析学教室、岸野史志先生に心から御礼申し上げます。

また、フローサイトメトリに関し御指導・御協力頂きました岩手医科大学内科学講座：血液・腫瘍内科分野、千葉浩子様、平山静音様に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) **Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, et al.:** Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* **2**, 561-566, 1996.
- 2) **Hochhaus A, Baccarani M, Deininger M, et al.:** Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib. *Leukemia* **22**, 1200-1206, 2008.
- 3) **Kantarjian HM, Shah NP, Cortes JE, et al.:** Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood* **119**, 1123-1129, 2012.
- 4) **Jakobsen P, Bastholt L, Dalmarks M, et al.:** A randomized study of epirubicin at four different dose levels in advanced breast cancer. Feasibility of myelotoxicity prediction through single blood-sample measurement. *Cancer Chemother Pharmacol* **28**, 465-469, 1991.
- 5) **Calvert AH:** Dose optimisation of carboplatin in adults. *Anticancer Res* **14**, 2273-2278, 1994.
- 6) **Joel SP, Shah R and SleVIN ML:** Etoposide dosage and pharmacodynamics. *Cancer Chem Pharmacol* **34** (suppl), S69-S75, 1994.
- 7) **Keams CM, Gianni L and Egorin MJ:** Pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel. *Semin Oncol* **22** (suppl 6), 16-23, 1995.
- 8) **Picard S, Titier K, Etienne G, et al.:** Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood* **109**, 3496-3499, 2007.
- 9) **De Francia S, D'Avolio A, De Martino F, et al.:** New HPLC-MS method for the simultaneous quantification of the antileukemia drugs imatinib, dasatinib, and nilotinib in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **877**, 1721-1726, 2009.
- 10) **Roche S, McMahon G, Clynes M, et al.:** Development of a high-performance liquid chromatographic-mass spectrometric method for the determination of cellular levels of the tyrosine kinase inhibitors lapatinib and dasatinib. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **877**, 3982-3990, 2009.
- 11) **小野寺志真, 古和田周吾, 小宅達郎, 他:** 慢性骨髄性白血病骨髄における前駆/幹細胞のBcr-Ablキナーゼ活性の検討. *岩手医誌* **59**, 225-233, 2007.
- 12) **Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al.:** Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. *Blood* **63**, 789-799, 1984.
- 13) **Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al.:** Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* **362**, 2260-2270, 2010.
- 14) **Peng B, Hayes M, Resta D, et al.:**

- Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. *J Clin Oncol* **22**, 935-942, 2004.
- 15) **Larson RA, Druker BJ and Guilhot F:** Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood* **111**, 4022-4028, 2009.
- 16) **O'Hare T, Walters DK, Stoffregen EP, et al.:** In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. *Cancer Res* **65**, 4500-4505, 2005.
- 17) **Luo FR, Yang Z, Camuso A, et al.:** Dasatinib (BMS-354825) pharmacokinetics and pharmacodynamic biomarkers in animal models predict optimal clinical exposure. *Clin Cancer Res* **12**, 7180-7186, 2006.
- 18) **Mustjoki S, Eklom M, Arstila TP, et al.:** Clonal expansion of T/NK-cells during tyrosine kinase inhibitor dasatinib therapy. *Leukemia* **23**, 1398-1405, 2009.
- 19) **Kim DH, Kamel-Reid S, Chang H, et al.:** Natural killer or natural killer/T cell lineage large granular lymphocytosis associated with dasatinib therapy for Philadelphia chromosome positive leukemia. *Haematologica* **94**, 135-139, 2009.

Pharmacokinetics/ pharmacodynamics of dasatinib and
clinical efficacy in patients with newly-diagnosed
chronic myeloid leukemia in chronic phase

Norifumi SUGAWARA, Kazunori MURAI and Yoji ISHIDA

Division of Hematology and Oncology,
Department of Internal Medicine, School of Medicine,
Iwate Medical University, Morioka, Iwate, Japan

(Received on February 18, 2013 & Accepted on February 28, 2013)

Abstract

CML is a curable and treatable disease in the imatinib era. Dasatinib is a highly potent 2nd generation *BCR-ABL* inhibitor. Pharmacokinetic/ pharmacodynamic data about dasatinib remain unavailable.

The correlation between PK/PD parameters of dasatinib and clinical efficacy was investigated in 15 adult patients with newly-diagnosed Philadelphia chromosome-positive leukemias. Patients received 100mg dasatinib orally once/day. PK parameters of dasatinib including AUC and Cmax, obtained from the plasma concentration-time curves, were determined. PD parameter (IC50), defined as the inhibitory concentration with 50% reduction

of phospho-CrkL in CD34 positive CML cells was measured by flow cytometry. Clinical efficacy (% reduction of *BCR-ABL* expression at 1 month) was expressed as *BCR-ABL* expression at 1 month divided by that at 0 month.

The only significant correlation was found between clinical efficacy and time above IC50 (TAIC50). These data strongly suggested that the exposure of CML cells to a dasatinib concentration over IC50 for more than 7 hours might be necessary to obtain better clinical efficacy. Dasatinib may be effective in a time-dependent manner, not a dose-dependent manner.
