

1. 論文表紙：

①論文表題：深在性真菌症患者における Liposomal AmphotericinB (L-AMB) の薬物動態及び安全性の検討

②ランニングタイトル：深在性真菌症患者を対象とした liposomal AmphotericinB の薬物動態及び安全性の検討

③著者名：

河野 茂¹⁾・小林宏行²⁾・正岡 徹³⁾・浦部晶夫⁴⁾・金丸昭久⁵⁾・二木芳人⁶⁾・森 健⁷⁾・原 耕平⁸⁾・池本秀雄⁹⁾・馬庭貴司¹⁰⁾・中條英司¹¹⁾・鈴木孝太¹²⁾・山口英世¹³⁾

④所属機関名：

1) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学講座(旧所属:長崎大学医学部・歯学部附属病院 第二内科)、2) 杏林大学名誉教授、3) 地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪府立成人病センター 顧問、4) NTT東日本関東病院 顧問(旧所属:NTT東日本関東病院 血液内科)、5) 近畿大学ライフサイエンス研究所(旧所属:近畿大学医学部附属病院 血液・腎臓・膠原病内科)、6) 昭和大学医学部臨床感染症学(旧所属:川崎医科大学医学部 呼吸器内科)、7) 順天堂大学医学部 血液内科、8) 長崎大学名誉教授、9) 順天堂大学名誉教授、10) 大日本住友製薬株式会社、11) 大日本住友製薬株式会社、12) 大日本住友製薬株式会社、13) 帝京大学名誉教授

⑤キーワード：invasive fungal infection, AmBisome, liposomal amphotericin B, pharmacokinetics

2. 要旨：

深在性真菌症罹患患者 32 名（23～73 歳）を対象にLiposomal amphotericin B(L-AMB)を 1.0 mg/kg/日、2.5 mg/kg/日または 5.0 mg/kg/日の用量で原則 7 日間連日点滴静注し、薬物動態と安全性を検討した。L-AMB投与 1 日目の薬物動態ではC_{max}（平均値±標準偏差）は 1.0 mg/kg/日、2.5 mg/kg/日、5.0 mg/kg/日の各用量でそれぞれ 5.96±3.02 μg/mL、16.19±7.41 μg/mL、45.71±20.14 μg/mL、また、AUC₀₋₂₄（平均値±標準偏差）では 55.5±39.0 μg·hr/mL、138.5±56.5 μg·hr/mL、390.3±223.2 μg·hr/mLと用量が増すにつれ増加したが、投与量に対し非線形的な相関を示した。副作用は、用量が増すにつれ種類、頻度が増加する傾向にあった。1.0mg/kg/日投与群で 14 例中 10 例（71.4%）、2.5mg/kg/日投与群で 9 例中 8 例（88.9%）、5.0mg/kg/日投与群で 9 例中 9 例（100%）であった。しかし、本剤の投与を制限する重篤な副作用は認められず、1.0mg/kg/日～5.0mg/kg/日を連日投与した場合の安全性と忍容性が確認された。

3. 序文：

Amphotericin B (AMPH-B) は真菌の細胞膜に直接作用し、殺菌的に効果を示す薬剤である。本邦では溶解補助剤としてデオキシコール酸を加えた製剤 (d-AMPH) が比較的強い副作用はあるものの、重症の深在性真菌症に対するゴールドスタンダードとして 1962 年から使用されてきた¹⁾。d-AMPH の主な副作用は腎障害や、発熱や悪心・嘔吐などに代表される点滴投与時の副反応があり、d-AMPH では総投与量が 5g を超えると不可逆的な腎障害があらわれることがいわれている²⁾。

Liposomal amphotericin B (L-AMB) は真菌に対する効果を維持したまま副作用を軽減することに成功した AMPH-B のリポソーム製剤で、米国 Vestar 社 (現 Gilead Sciences 社) により開発され、1990 年にアイルランドで初めて承認された。L-AMB は d-AMPH と同様に、各種真菌に対して幅広い抗真菌活性を示す。L-AMB の作用機序は多くの他の抗真菌薬が真菌の細胞膜成分あるいは細胞壁成分を合成する酵素を阻害するのに対し、本剤は真菌の細胞膜成分であるエルゴステロールと結合して細胞質成分を漏出させ、殺菌的に作用する。また、リポソーム化により真菌感染を起こした炎症組織への選択性が高まり、d-AMPH の動物細胞への傷害活性が大幅に低減されている。海外では、1990 年 12 月にアイルランドで最初に承認されて以来、欧米を中心に世界 40 カ国以上で臨床使用されている。

本邦では 2006 年に承認されたが、承認に際し、日本人での L-AMB の薬物動態と安全性を検討する目的で、1998 年から 2001 年の間に深在性真菌症罹患患者を対象とした L-AMB の臨床試験を実施した。

4. 対象及び方法：

1. 被験者

1) 選択基準

次の条件を全て満たす患者を対象とした。

- (1) 深在性真菌症に基づく臨床症状、検査所見が認められる患者
- (2) 真菌の血清診断により 1,3- β -D グルカン陽性、真菌抗原または抗体陽性、または内視鏡、直接鏡検、真菌培養、組織生検等によって、真菌感染症が認められる患者
- (3) 20 歳以上 75 歳未満の入院患者
- (4) 本人からの文書による同意が得られる患者

3) 除外基準

次の患者は対象から除外した。

- (1) 本治験薬投与開始前 1 ヶ月以内に注射用 AMPH-B 製剤 を投与されている患者
- (2) 本治験薬投与開始前 6 ヶ月以内に他の治験薬が投与されている患者
- (3) 腎障害のある患者。（血清クレアチニンまたは血清 BUN (blood urea nitrogen : 血中尿素窒素) の値が治験実施施設の基準値上限の 2 倍以上)
- (4) 肝障害のある患者。AST (GOT) 、ALT (GPT) の値が治験実施施設の基準値上限の 2 倍以上)
- (5) 重篤な不整脈および心不全、狭心症、急性心筋梗塞、拡張型心筋症、肥大型心筋症等の患者
- (6) 低カリウム血症の患者（血清カリウム値が治験実施施設の基準下限値未満）
- (7) 治験期間中に白血球輸注または頭部放射線療法の予定のある患者
- (8) 深在性真菌症治療に 21 日以上必要と推定される患者
- (9) 妊婦または妊娠している可能性のある患者あるいは授乳中の患者
- (10) AMPH-B に対して過敏症またはアレルギーの既往症のある患者
- (11) 臨床症状により、本人からの同意取得が不可能と考えられる患者

(12) その他、治験責任医師または治験分担医師が対象として不適当と判断した患者

2. 試験薬剤

1) 治験薬

本試験では、L-AMB注射用凍結乾燥製剤バイアル（1バイアルにAMPH-Bを50mg含有）を使用した。以下のL-AMBの用量は、すべてAMPH-Bの含量で示した。

2) 用量及び投与方法

用量設定は1.0 mg/kg、2.5 mg/kg、5.0 mg/kgの3用量を設定した。1.0 mg/kgから開始し、安全性を確認した後、2.5 mg/kg投与を実施した。2.5 mg/kgで安全性を確認した後、5.0 mg/kgを実施した。各群の投与方法は1日1回、1時間かけて点滴静注した。

3) 投与期間

各投与群の投与期間は原則、7日間としたが、安全性に大きな問題がなく、有効性が期待できると判断した場合は最長21日間の投与を可とした。

3. 併用禁止薬

他の治験薬及び本剤の評価に影響を及ぼすと判断される他の抗真菌薬、G-CSF（granulocyte-colony stimulating factor：顆粒球コロニー刺激因子）製剤またはM-CSF（macrophage-colony stimulating factor：マクロファージコロニー刺激因子）製剤の併用は禁止とした。ただし、G-CSF製剤及びM-CSF製剤は、試験薬投与開始前からの継続投与は可とした。

4. 薬物動態の検討

1) 薬物動態検討のための採血

投与 7 日目に定常状態に達していることを仮定して投与を終了または中止した場合の採血ポイントは、投与 1 日目は投与前、投与開始 1 時間後（投与終了直後）、投与開始 4 時間後および 8 時間後、投与 2 日目以降は投与 2 日の投与直前、投与 3～5 日目のいずれか 1 日の投与直前、及び投与 7 日目の投与直前と投与開始 1 時間後（投与終了直後）に採血を行った。8 日以上投与した場合はさらに、投与終了日の翌日（最終投与開始時の 24 時間後）、投与 8～14 日目のいずれか 1 日と投与 15～21 日目のいずれか 1 日の投与直前に採血を行った。血液は各時間に静脈血 2 mL を採血し、血清を分取の後 -20℃ 以下に保存した。

2) 血清中 AMPH-B 濃度の定量

血清中 AMPH-B 濃度の測定は、株式会社三菱化学ビーシーエル中央総合ラボラトリーにおいて高速液体クロマトグラフィー法（可視光）にて以前の報告³⁾と同様の方法で行った。本法においては、メタノール処理によりリポソームから AMPH-B を分離し、血清中 AMPH-B の総濃度を測定した。本法における定量限界は 0.05 μ g/mL であった。

3) 薬物動態パラメータの算出

投与 1 日目の薬物動態パラメータをモーメント解析⁴⁾⁵⁾により被験者別に算出し、その変化および用量相関性を検討した。また、投与 1 日目のデータに基づき、重ねあわせによる連続投与予測曲線を作成し、実測値との解離状態プロットにより検討した。

4) トラフ濃度

トラフ濃度は、投与量群ごとに被験者別に、その推移を検討した。

5. 安全性の評価方法

安全性評価は、有害事象（投与期間中に発現したあらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候、症状、疾患で、臨床検査値の異常変動を含む）の発現を検

討した。さらに、投与終了後 1 ヶ月間を転帰観察期間とし同様に有害事象を調査した。また、d-AMPH で重要と考えられる点滴静脈内投与中に発現した副作用（投与時関連反応）を検討した。有害事象の重症度および臨床検査値の異常変動については、日本化学療法学会の基準⁶⁾に基づき判定し、発生した全ての有害事象はL-AMBとの因果関係の判定を行い、因果関係が否定できない有害事象を副作用とした。

5. 結果：

1. 症例の内訳

登録された 32 例は全て本人から文書による同意が得られ、全例に L-AMB が投与された。投与群別では 1.0mg/kg/日は 14 例、2.5mg/kg/日は 9 例、5.0mg/kg/日では 9 例であった。このうち、7 日間以上投与された症例は 27 例、7 日間未満で投与を終了した症例は 5 例であったが、5 例のうち治癒により投与を終了した症例はいなかった。また、21 日間投与された症例は 17 例で、21 日間未満で投与を中止した症例は 15 例であった。平均投与日数は各群 1.0mg/kg/日は 13.4 日、2.5mg/kg/day は 17.9 日、5.0mg/kg/日は 15.6 日であった。中止理由の内訳は、有害事象の発現 10 例、同意撤回 2 例、治験薬の誤投与 1 例、投与開始後の除外基準抵触判明 1 例、病勢の悪化 1 例であった。L-AMB が投与された 32 例中、1 例（1.0mg/kg/日群）は投与開始 2 分後に呼吸困難等が発現し、中止したため 1 例を除く 31 例を薬物動態の解析対象とし、32 例全例を安全性解析対象とした。

2. 症例の背景

安全性解析対象 32 例の被験者背景を示した（Table 1）。深在性真菌症の内訳は、アスペルギローマが 14 例で全体の半数近くを占め、以下、侵襲性肺アスペルギルス症 7 例、カンジダ血症 1 例、播種性カンジダ症 1 例、肺クリプトコック

ス症 3 例、クリプトコックス髄膜炎 1 例、真菌症疑い 5 例であった。

被験者の性別は男性 27 例、女性 5 例と男性の比率が高く、年齢は 23～73 歳で平均年齢は 52.2 ± 14.4 歳（平均±標準偏差）であった。32 例中 31 例に基礎疾患又は合併症（白血病や骨髄異形成症候群など）があり、32 例中 21 例が他の深在性真菌症治療薬による前治療を受けていた。前治療薬ではイトリゾールが 14 例、ジフルカンが 11 例、ファンギゾンが 4 例、フルシトシン及びフロリード F が 1 例であった。

3. 薬物動態

1) 初回投与時の血清中 AMPH-B 濃度

各用量群での L-AMB 投与 1 日目の血清中 AMPH-B 濃度推移及び薬物動態パラメータを示した (Fig.1 および Table 2)。

分布容積 (Vdss) および全身クリアランス (Cl_{tot}) の平均値は、投与量の増加に伴って低下した (Table 2)。C_{max} (平均値±標準偏差) は、1.0 mg/kg/日群、2.5 mg/kg/日群、5.0 mg/kg/日群でそれぞれ 5.96±3.02 µg/mL、16.19±7.41 µg/mL、45.71±20.14 µg/mL、AUC₀₋₂₄ (平均値±標準偏差) では、それぞれ 55.5±39.0 µg·hr/mL、138.5±56.5 µg·hr/mL、390.3±223.2 µg·hr/mL と、用量が増すにつれ増加したが、投与量に対し非線形性を示した (Fig.2)。また、半減期 (t_{1/2}) の平均値±標準偏差はそれぞれ 8.3±2.0 hr、9.8±8.0 hr、7.0±1.4 hr であった。(Table 2)。

2) トラフ濃度

用量群別に、被験者ごとのトラフ濃度の推移を Fig.3 に示す。繰り返し投与によりトラフ濃度が 20 µg/mL 以上上昇している症例が、2.5 mg/kg/日投与群、5.0 mg/kg/日投与群で各 2 例認められた。

4. 安全性

本試験で認められた副作用を用量群別に示した (Table 3)。主な副作用は、血清中クレアチニン値上昇、血清中カリウム値低下、血清中 β₂ ミクログロブリン値低下であった。副作用の種類、頻度は用量が増すにつれ増加する傾向にあり、何らかの副作用が認められた症例は、1.0 mg/kg/日投与群で 14 例中 10 例 (71.4%)、2.5 mg/kg/日投与群で 9 例中 8 例 (88.9%)、5.0 mg/kg/日投与群で 9 例中 9 例 (100%) であった。

本試験で、L-AMB 投与期間中及び L-AMB 投与終了 1 ヶ月後までに死亡した症例は、1.0 mg/kg/日投与群 14 例中 2 例、2.5 mg/kg/日投与群 9 例中 1 例、5.0 mg/kg/日投与群 9 例中 2 例の計 5 例（15.6%）であった。いずれの死亡例も L-AMB 投与開始前から重篤な基礎疾患や合併症を有し、担当医師はそれらが主因で死亡に至ったと判断したが、L-AMB が投与されていたため 1.0 mg/kg/日投与群で 1 例、5.0 mg/kg/日投与群で 2 例は L-AMB との因果関係は否定できないと判定された。

副作用により中止した症例は、1.0 mg/kg/日投与群で 2 例、2.5 mg/kg/日投与群で 1 例、5.0 mg/kg/日投与群で 5 例の計 8 例であった。中止に至った主な副作用は血清中クレアチニン増加、BUN 増加であった。

投与時関連反応を用量群別に示した (Table 4)。投与時関連反応の発現例数は、1.0 mg/kg/日投与群で 14 例中 5 例（35.7%）、2.5 mg/kg/日投与群で 9 例中 3 例（33.3%）、5.0 mg/kg/日投与群で 9 例中 6 例（66.7%）であり、また、複数の被験者で認められた投与時関連反応は、悪心及び潮紅が各 4 例、呼吸困難が 3 例、灼熱感、発熱、胸痛が各 2 例であった。

臨床検査値のうち、血清中クレアチニン、血清中カリウム、AST(GOT)、ALT(GPT)の「投与開始前」、「投与期間中」、「投与終了時」及び「最終観察時」での中央値を用量群別に示した (Fig4a)-b)及び Table5a)-b))。なお、「投与期間中」の値は血清中クレアチニン、AST(GOT)及び ALT(GPT)は各症例の最大値、血清中カリウムは各症例での最小値からそれぞれ中央値を算出した。AST (GOT) 及び ALT(GPT)は「投与開始前」から「最終観察時」まで各用量群で大きな変動はなかったが、血清中クレアチニンは「投与期間中」、用量が増すにつれ増加傾向にあった。一方、血清中カリウムは用量が増すにつれ減少傾向にあった。

6. 考察：

L-AMBの有効成分であるAMPH-Bの腎障害など副作用発現率の高さを考慮し、健康成人ではなく深在性真菌症罹患患者を対象に治療効果が期待できる用量にてL-AMBの薬物動態および安全性を検討する臨床試験を実施した。

L-AMBを投与した症例のうち薬物動態解析対象症例 31 例での初回投与時の薬物動態は、海外で実施された臨床試験⁷⁾と比較してC_{max} (平均値±標準偏差)は国内で 1.0mg/kg、2.5mg/kg及び 5.0mg/kgでそれぞれ 5.96±3.02 µg/mL、16.19±7.41 µg/mL、45.71±20.14 µg/mLであるのに対し、海外では 7.3±3.8 µg/mL、17.2±7.1 µg/mL、57.6±21.0 µg/mLであったことからほぼ同じ結果が見られた。AUC値は海外に比べ国内ではやや大きい傾向が認められたが、個体間のばらつきによるものであり、AUC値も大きな違いはなかった。国内でのC_{max}及びAUC₀₋₂₄は用量が増すにつれ増加し、C_{max}は 1.0mg/kgに対し 2.5mg/kg及び 5.0mg/kgでそれぞれ約 2.7 倍、7.7 倍、AUC₀₋₂₄では約 2.5 倍、7.0 倍であった。また、分布容積は、1.0 mg/kg投与群では 0.30 L/kgであったが、2.5、5.0 mg/kgと投与量が高くなるに従い、0.21、0.18 L/kgと減少傾向が認められた。全身クリアランスでは 31 例全例での平均値±標準偏差は 1.12±0.88 L/hであったが、これは近年、Hopeらにより報告されたL-AMB 10mg/kgまで投与された全身クリアランスの平均値とほぼ類似していた。⁸⁾

AMPH-Bは、胆管、尿路からの排泄及び 細網内皮系臓器への取り込みにより循環系から除去されるといわれている⁹⁾¹⁰⁾。一方、L-AMBが点滴静注された後、血中での AMPH-Bの存在形態は、大部分が リポソームに結合したままになっている¹¹⁾。L-AMBの粒子径は 80-100 nmのため、糸球体を含む一般の臓器での毛細血管からの漏出は考えられず、肝臓や脾臓の類洞壁からの漏出と病巣部位での血管壁通過に限られると考えられており¹²⁾、L-AMBの循環系からの消失は細網内皮系臓器への取り込みに依存するといわれている¹⁰⁾¹³⁾¹⁴⁾。一般にリポソームの血中クリアランスは、肝臓への累積取り込み量 (累積の投与量) の増加に従っ

て低下するという“満腹モデル”に支配されることが知られており¹⁵⁾、L-AMBのC_{max}及びAUC₀₋₂₄の投与量との非線形性は、L-AMBの肝臓や脾臓などの細網内皮系臓器への取り込みと、高用量での取り込みの飽和によると考えられる¹⁶⁾

トラフ濃度の上昇は、1.0 mg/kg/日投与群よりも5.0 mg/kg/日投与群の方でトラフ濃度が高い傾向がみられた (Fig.3)。海外で実施された臨床試験でもL-AMBを連投した結果 (投与期間の平均値は9.2日)、CL値が投与1日目と比較して最終日では50%以下に低下しており、連投時にもL-AMBの細網内皮系臓器への取り込みと、その飽和の関与が示唆された¹⁶⁾。L-AMBの連投により細網内皮系臓器で取り込みきれなかったリポソームに結合したAMPH-Bの血清濃度が上昇した結果、L-AMBのトラフ濃度が上昇したものと考えられた。

また、L-AMB投与1日目の血清中AMPH-B濃度測定の結果は、3用量いずれの群でも、被験者間で大きなばらつきを示したが、同様にトラフ濃度の上昇も被験者間で差がみられており、細網内皮系臓器への取り込みの個人差によるものと考えられた。

副作用は、発現率が高かった事象から順に投与時関連反応に関連すると考えられる悪心や発熱、臨床検査値異常変動では血清クレアチニン増加や血清カリウム減少、血清中β2ミクログロブリンの増加が見られた。また、臨床検査値のうち、腎機能及び肝機能の指標である血清中クレアチニン、血清中カリウム、AST (GOT) 及びALT (GPT) の中央値の推移を用量群別に見るとAST(GOT)及びALT(GPT)では各用量群で大きな変動はなかった。血清中クレアチニンは投与期間中には用量が増すにつれ、増加傾向にあったが、どの用量群でも投与終了時には回復傾向にあった。また、血清中カリウム値も投与終了時にはカリウム補充等の適切な処置により回復傾向にあったものの、投与期間中は用量が増すにつれ、減少傾向にあった。これはCornelyら¹⁷⁾が行った標準用量群 (L-AMB 3 mg/kg) と高用量群 (10 mg/kg) とを比較した研究及び浜田ら¹⁸⁾による報告でも用量依存

的に血清中クレアチニン値が増加及び血清カリウム値が低下する傾向であることが報告されている。このことからL-AMB高用量投与時には血清中クレアチニン値及び血清中カリウム値のモニタリングを適宜行い、特にカリウム減少時にはカリウム補充を行うなど、適切な処置が必要であると考えられる。

これらは、d-AMPHで認められる副作用であるが、海外の二重盲検比較試験では、本剤の投与時関連反応及び低カリウム血症、血清中クレアチニン増加、BUN増加などの副作用発現率はd-AMPHと比し有意に低かったことが報告されている¹⁹⁾。

AMPH-Bをリポソーム化することにより投与時関連反応が抑えられる理由として発熱等の投与時関連反応は、単球やマクロファージからの炎症性サイトカインの放出が関係しており²⁰⁾²¹⁾、このサイトカインの産生にはToll-like receptor (TLR) が関与しているとされている²²⁾。L-AMBは、フリーのAMPH-B濃度が抑えられているため、TLRとの反応性が減弱し²²⁾、炎症性サイトカインの放出も減少していると考えられる。

一方、d-AMPHの副作用、特に腎機能障害が、リポソーム化により軽減化されるメカニズムとして次の3つが提唱されている。第1は、L-AMB投与では、細網内皮系でAMPH-B濃度が高まるが、腎臓中では血中濃度と比べてAMPH-B濃度は低く抑えられている¹⁰⁾¹³⁾²³⁾。第2は、AMPH-Bが低密度リポタンパク質(LDL)と結合するのに対して、リポソームは高密度リポタンパク質(HDL)に優先して結合する²⁴⁾ためである。これは腎臓細胞でのHDLレセプター発現が低いため、L-AMBの腎臓への取り込みが減少し、腎毒性が低減すると考えられている。第3は、AMPH-Bが真菌細胞およびヒト細胞に対する傷害性を有するのに対し、L-AMBでは、AMPH-Bがリポソーム膜に保持されているため血中には放出されず、ヒト細胞に対する傷害性は減弱され、真菌細胞への選択性が高まっているためである²⁵⁾。

また、本試験の安全性判定は 2012 年に発行された日本化学療法学会抗真菌薬臨床評価委員会指針²⁶⁾にも合致しているため本試験の安全性評価は特に問題ないと考えている。

以上、本試験の結果、国内の薬物動態は海外とほぼ同じ結果が得られた。また、安全性では用量が増すにつれ、副作用発現率は上昇したが、**5.0mg/kg/日**までの投与量で L-AMB の投与を制限する副作用は認められなかったことから国内での**5.0mg/kg/日**までの安全性と忍容性は確認されたと考える。

利益相反について

著者 河野茂は大日本住友製薬株式会社より資金援助を受けている。

著者 二木芳人は大日本住友製薬株式会社より資金援助を受けている。

著者 馬庭貴司、中條英司、鈴木孝太は大日本住友製薬株式会社の社員である。

7. 引用文献：

- 1) 森 健：肺真菌症治療の動向。臨床と微生物,近代出版,東京,2000;27(2):201～206
- 2) 添付文書「ファンギゾン注射用 50mg」2010年8月改訂（第13版）
- 3) Alak A, Moys S, Bekersky I: A high-performance liquid chromatographic assay for the determination of amphotericin B serum concentrations after the administration of AmBisome, a liposomal amphotericin B formulation. *Ther Drug Monit.*1996;18:604-609
- 4) 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
- 5) 高田 寛治：薬物動態学。薬事時報社,東京,1987
- 6) 国井乙彦:抗菌薬による治験症例における副作用,臨床検査値異常の判定基準。*Chemotherapy* 1991;39:687～689
- 7) Package insert「AmBisome® (amphotericin B)liposome for injection」
- 8) William W Hope, Joanne Goodwin, Timothy W Felton, Michael Ellis, David A Stevens:Population Pharmacokinetics of Conventional and Intermittent Dosing of Liposomal Amphotericin B in Adults:aFirst Critical Step for Rational Design of Innovative Regimens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(10):5303-5308
- 9) Ruth M Lawrence, Paul D Hoepflich, Franklyn A Jagdis, Nobuo Monji, Alice C Huston, Carl P Schaffner:Distribution of doubly radiolabelled amphotericin B methyl ester and amphotericin B in the non-human primate, *Maccaca*

mulatta. J Antimicrob Chemother. 1980;6:241~249

10) Els W M van Etten, Mariee Otte-Lambillion, Wim van Vianen, Marian T Ten Kate, Irma A J M Bakker-Woudenberg: Biodistribution of liposomal amphotericin B (AmBisome®) and amphotericin B desoxycholate (Fungizone) in uninfected immunocompetent mice and leucopenic mice infected with *Candida albicans*. J. Antimicrob. Chemother.1995; 35:509-519

11) Ihor Bekersky, Rober M Fielding, Dawna E Dressler, Jean W Lee, Donald N Buell, Thomas J Walsh: Plasma protein binding of Amphotericin B and pharmacokinetics of bound versus unbound Amphotericin B after administration of intravenous Liposomal Amphotericin B (AmBisome) and Amphotericin B deoxycholate. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46(3) : 834 ~ 840

12) Juliano RL.:Factors affecting the clearance kinetics and tissue distribution of liposomes, microspheres and emulsions. Adverse Drug Deliv Rev. 1988;2: 31~54.

13) Richard T Proffitt, Alan Satorius, Su-Ming Chiang, Layla Sullivan, Jill P Adler-Moor:Pharmacology and toxicology of a liposomal formulation of amphotericin B (AmBisome) in rodents. J. Antimicrob. Chemother. 1991;28(Suppl. B):49~61

14) J.Tollemar, O.Ringden for the AmBisome® users group: Early pharmacokinetic and clinical results from a noncomparative multicenter trial of amphotericin B encapsulated in a small unilamellar liposome (AmBisome®) in rodents. Drug Investig.1992;4:232-238

15) 原島秀吉:薬物速度論に基づいたリポソームによる薬物送達システムの構築。薬物動態 1995;10(4) : 566~75

- 16) Thomas J Walsh, Vijay Yeldandi, Maureen Mcevoy, Corina Gonzalez, Stephen Chanock, Alison Freifeld et al.: Safety, Tolerance, and Pharmacokinetics of a Small Unilamellar Liposomal Formulation of Amphotericin B (AmBisome) in Neutropenic Patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(9) : 2391~2398
- 17) Cornely OA, Maertens J, Bresnik M, Ebrahimi R, Ullmann AJ, Bouza E, *et al.* : Liposomal-Amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection : a randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiLoad trial). *Clin Infect Dis* 2007;44 : 1289-97.
- 18) 浜田 幸宏, 小松 敏彰, 瀬戸 良教, 松原 肇, 久米 光, 砂川 慶介, 他 : Liposomal-Amphotericin B の有効性および安全性の検討。 *感染症学雑誌* 2012;84:193-198
- 19) Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C, Hiemenz J, Schwartz C, et al.: Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *New England Journal of Medicine*. 340:764~771, 1999
- 20) Arning M, Kliche KO, Heer-Sonderhoff AH, Wehmeier A: Infusion-related toxicity of three different amphotericin B formulations and its relation to cytokine plasma levels. *Mycoses* 1995;38:459~465
- 21) Louie A, Baltch AL, Franke MA, Smith RP, Gordon MA: Comparative capacity of four antifungal agents to stimulate murine macrophages to produce tumour necrosis factor alpha: an effect that is attenuated by pentoxifylline, liposomal vesicles, and dexamethasone. *J. Antimicrob. Chemother.* 1994; 34:975~987
- 22) Sau K, Mambula SS, Latz E, Henneke P, Golenbock DT, Levitz SM: The antifungal drug amphotericin B promotes inflammatory cytokine release by a

Toll-like Receptor- and CD14-dependent mechanism. *J. Biological. Chemistry.*
2003;278(39):37561~37568

23) Lee JW, Navarro E, Francis P, McManus E, Schaufele R, Bacher J, Pizzo PA, Walsh TJ.: Pharmacokinetics and safety of a unilamellar liposomal formulation of amphotericin B (AmBisome) in rabbits. *Antimicrob. Agents Chemother.*1994 38:713~718

24) Wasan KM, Rosenblum MG, Cheung L, Lopez-Berestein G.: Influence of lipoproteins on renal cytotoxicity and antifungal activity of amphotericin B. *Antimicrob. Agents Chemother.*1994 38:223~227

25) Legrand P, Cheron M, Leroy L, Bolard J.: Release of amphotericin B from delivery systems and its action against fungal and mammalian cells. *J. Drug Targeting.*1997 4:311~319

26) 河野 茂,網谷 良一,亀井 克彦,二木 芳人,宮崎 義継,掛屋 弘,他:日本化学療法学会抗真菌薬臨床評価委員会 指針。日本化学療法学会雑誌 2012;60:348-353

Table 1 Characteristics of patients

Evaluation items		1.0 mg/kg/day (n=14)	2.5 mg/kg/day (n=9)	5.0 mg/kg/day (n=9)	Total (n=32)
Sex	male	12	8	7	27
	female	2	1	2	5
Age (years)	20-29	2	2		4
	30-39	1	1		2
	40-49	3		2	5
	50-59	3	1	5	9
	60-69	4	4	1	9
	70-74	1	1	1	3
	Mean	50.3	52.0	55.3	52.2
	S.D.	15.2	18.5	8.5	14.4
Height (cm)	Mean	164.5	163.7	164.7	164.3
	S.D.	5.7	10.0	8.3	7.6
Weight (kg)	Mean	56.1	49.5	50.6	52.7
	S.D.	15.3	10.0	7.7	12.2
Diagnosis					
Invasive					
	pulmonary aspergillosis	1	3	3	7
	Pulmonary aspergilloma	7	4	3	14
Candidemia					
	Disseminated candidiasis	1			1
	Pulmonary cryptococcosis	3			3
Cryptococcal meningitis					
	possible mycosis	2	1	2	5
Severity of infection	mild	5	3	1	9
	moderate	3	4	3	10
	severe	6	2	5	13
Underlying disease	yes	13	9	9	31
	no	1			1
Antifungal pretreatment	yes	9	5	7	21
	no	5	4	2	11

Table 2 Pharmacokinetic parameters of L-AMB in patients after intravenous infusion on the first day.

Dosage (mg/kg)		C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	$T_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-24} ($\mu\text{g} \cdot$ hr/mL)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g} \cdot$ hr/mL)	Cl_{tot} (L/kg/hr)	$Vd(ss)$ (L/kg)
1.0 (n=13)	Mean	5.96	8.3	55.5	64.8	0.026	0.30
	S.D.	3.02	2.0	39.0	45.8	0.018	0.25
2.5 (n=9)	Mean	16.19	9.8	138.5	175.2	0.019	0.21
	S.D.	7.41	8.0	56.5	84.2	0.013	0.13
5.0 (n=9)	Mean	45.71	7.0	390.3	442.5	0.018	0.18
	S.D.	20.14	1.4	223.2	269.7	0.017	0.16

Table 3 Adverse drug reactions

MedDRA SOC NAME	MedDRA PT NAME	1.0mg/kg/day	n	2.5mg/kg/day	n	5.0mg/kg/day	n	Total	n
Total number of patients		10 (71.4 %)	14	8 (88.9 %)	9	9 (100 %)	9	27 (84.4 %)	32
Gastrointestinal disorders		4 (28.6 %)	14	3 (33.3 %)	9	6 (66.7 %)	9	13 (40.6 %)	32
	Diarrhoea	2 (14.3 %)	14	1 (11.1 %)	9	2 (22.2 %)	9	5 (15.6 %)	32
	Nausea	1 (7.1 %)	14	1 (11.1 %)	9	6 (66.7 %)	9	8 (25.0 %)	32
	Vomiting	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	2 (22.2 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Constipation	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	1 (11.1 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Abdominal pain	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
Infection and infestations		2 (14.3 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	3 (9.4 %)	32
	Nasopharyngitis	1 (7.1 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Pneumonia	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Herpes simplex	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
Hepatobiliary disorders		0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	2 (22.2 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Liver disorder	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Cholelithiasis	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.0 %)	9	1 (3.1 %)	32
Eye disorders		1 (7.1 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Eyelid oedema	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Visual acuity reduced	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
Musculoskeletal and connective tissue disorders		0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	3 (33.3 %)	9	3 (9.4 %)	32
	Arthralgia	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	2 (22.2 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Back pain	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
Vascular disorders		1 (7.1 %)	14	3 (33.3 %)	9	1 (11.1 %)	9	5 (15.6 %)	32
	Flushing	0 (0 %)	14	3 (33.3 %)	9	1 (11.1 %)	9	4 (12.5 %)	32
	Hypertension	1 (7.1 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	2 (6.3 %)	32
Respiratory, thoracic and mediastinal disorders		1 (7.1 %)	14	4 (44.4 %)	9	1 (11.1 %)	9	6 (18.8 %)	32
	Dyspnoea	1 (7.1 %)	14	1 (11.1 %)	9	1 (11.1 %)	9	3 (9.4 %)	32
	Hypoxia	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Pharyngolaryngeal pain	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Upper respiratory tract inflammation	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Rhinalgia	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
Cardiac disorders		0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Tachycardia	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
Nervous system disorders		2 (14.3 %)	14	3 (33.3 %)	9	4 (44.4 %)	9	9 (28.1 %)	32
	Headache	1 (7.1 %)	14	1 (11.1 %)	9	2 (22.2 %)	9	4 (12.5 %)	32
	Burning sensation	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Dizziness	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Cerebral infarction	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Nonketotic hyperglycaemic-hyperosmolar coma	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
General disorders and administration site conditions		4 (28.6 %)	14	1 (11.1 %)	9	4 (44.4 %)	9	9 (28.1 %)	32
	Pyrexia	3 (21.4 %)	14	1 (11.1 %)	9	2 (22.2 %)	9	6 (18.8 %)	32
	Chest pain	1 (7.1 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Chills	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Asthenia	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Feeling cold	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Injection site anaesthesia	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
Metabolism and nutrition disorders		0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	2 (22.2 %)	9	3 (9.4 %)	32
	Anorexia	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	2 (22.2 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Hyperglycaemia	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
Endocrine disorders		0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Hypothyroidism	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
Skin and subcutaneous tissue disorders		0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	2 (22.2 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Pruritus	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	2 (22.2 %)	9	2 (6.3 %)	32
Investigations		7 (50.0 %)	14	7 (77.8 %)	9	9 (100 %)	9	23 (71.9 %)	32
	White blood cell count decreased	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Neutrophil percentage decreased	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Eosinophil percentage decreased	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Basophil percentage increased	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Basophil percentage decreased	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Monocyte percentage increased	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Lymphocyte percentage decreased	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Differential white blood cell count abnormal	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Platelet count decreased	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	1 (11.1 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Blood sodium increased	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Blood potassium increased	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Blood potassium decreased	1 (7.1 %)	14	3 (33.3 %)	9	5 (55.6 %)	9	9 (28.1 %)	32
	Blood magnesium increased	0 (0 %)	12	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.3 %)	30
	Blood magnesium decreased	0 (0 %)	12	2 (22.2 %)	9	1 (11.1 %)	9	3 (10.0 %)	30
	Blood calcium increased	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Blood urea increased	1 (7.1 %)	14	2 (22.2 %)	9	4 (44.4 %)	9	7 (21.9 %)	32
	Blood uric acid increased	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	0 (0 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Blood uric acid decreased	1 (7.1 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	2 (6.3 %)	32
	Blood creatinine increased	1 (7.1 %)	14	4 (44.4 %)	9	5 (55.6 %)	9	10 (31.3 %)	32
	Blood bilirubin increased	0 (0 %)	14	0 (0 %)	9	1 (11.1 %)	9	1 (3.1 %)	32
	Aspartate aminotransferase increased	0 (0 %)	14	1 (11.1 %)	9	3 (33.3 %)	9	4 (12.5 %)	32
	Alanine aminotransferase increased	1 (7.1 %)	14	1 (11.1 %)	9	2 (22.2 %)	9	4 (12.5 %)	32
	Gamma-glutamyltransferase increased	0 (0 %)	12	0 (0 %)	9	2 (22.2 %)	9	2 (6.7 %)	30

Table 4 Infusion related reactions (IRRs)

MedDRA SOC NAME	MedDRA PT NAME	1.0mg/kg/day (n=14)	2.5mg/kg/day (n=9)	5.0mg/kg/day (n=9)	Total (n=32)
Total number of patients		5 (35.7 %)	3 (33.3 %)	6 (66.7 %)	14 (43.8 %)
Gastrointestinal disorders		1 (7.1 %)	1 (11.1 %)	3 (33.3 %)	5 (15.6 %)
	Nausea	0 (0 %)	1 (11.1 %)	3 (33.3 %)	4 (12.5 %)
	Vomiting	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11.1 %)	1 (3.1 %)
	Abdominal pain	1 (7.1 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)
Eye disorders		1 (7.1 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)
	Eyelid oedema	1 (7.1 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)
Musculoskeletal and connective tissue disorders		0 (0 %)	0 (0 %)	2 (22.2 %)	2 (6.3 %)
	Back pain	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11.1 %)	1 (3.1 %)
	Arthralgia	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11.1 %)	1 (3.1 %)
Vascular disorders		0 (0 %)	3 (33.3 %)	1 (11.1 %)	4 (12.5 %)
	Flushing	0 (0 %)	3 (33.3 %)	1 (11.1 %)	4 (12.5 %)
	Hypertension	0 (0 %)	1 (11.1 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)
Respiratory, thoracic and mediastinal disorders		1 (7.1 %)	2 (22.2 %)	1 (11.1 %)	4 (12.5 %)
	Dyspnoea	1 (7.1 %)	1 (11.1 %)	1 (11.1 %)	3 (9.4 %)
	Hypoxia	0 (0 %)	1 (11.1 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)
Cardiac disorders		0 (0 %)	1 (11.1 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)
	Tachycardia	0 (0 %)	1 (11.1 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)
Nervous system disorders		1 (7.1 %)	0 (0 %)	2 (22.2 %)	3 (9.4 %)
	Burning sensation	1 (7.1 %)	0 (0 %)	1 (11.1 %)	2 (6.3 %)
	Headache	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (11.1 %)	1 (3.1 %)
General disorders and administration site conditions		4 (28.6 %)	1 (11.1 %)	0 (0 %)	5 (15.6 %)
	Pyrexia	2 (14.3 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (6.3 %)
	Chest pain	1 (7.1 %)	1 (11.1 %)	0 (0 %)	2 (6.3 %)
	Chills	1 (7.1 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)
	Injection site anaesthesia	1 (7.1 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (3.1 %)

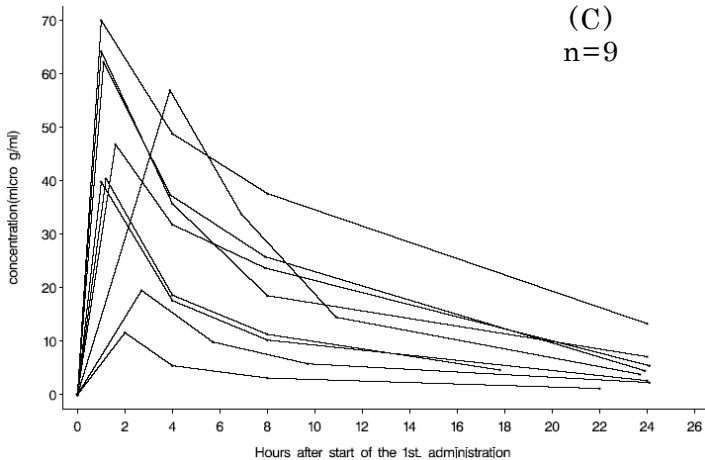
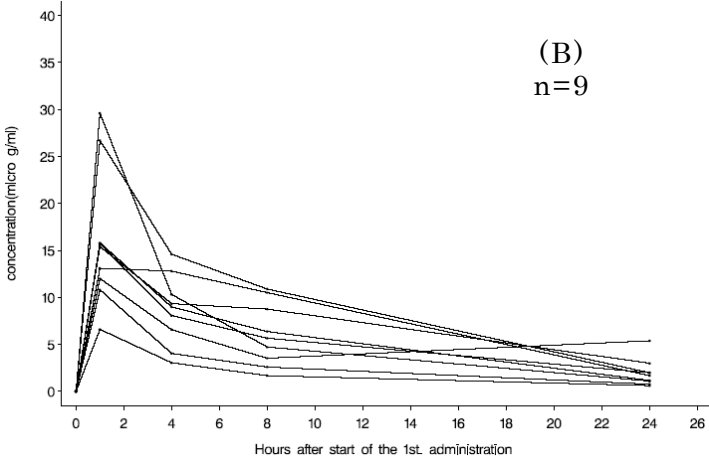
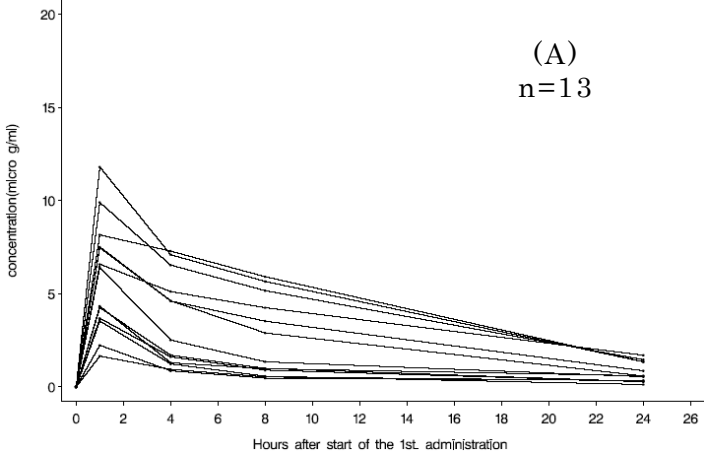
Table 5a) AST(GOT) level in patients receiving L-AMB at dose of
 1.0mg/kg(n=13), 2.5mg/kg(n=9) or 5.0mg/kg(n=9)

	Baseline			Maximum			End			Follow-up		
	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max
1.0mg/kg	24.0	13.0	83.0	21.0	16.0	58.0	19.0	12.0	58.0	14.0	13.0	33.0
2.5mg/kg	16.0	10.0	34.0	23.0	17.0	42.0	20.0	12.0	42.0	22.5	13.0	44.0
5.0mg/kg	18.0	16.0	34.0	29.5	16.0	127.0	19.5	11.0	59.0	23.5	13.0	109.0

Table 5b) ALT(GPT) level in patients receiving L-AMB at dose of
 1.0mg/kg(n=13), 2.5mg/kg(n=9) or 5.0mg/kg(n=9)

	Baseline			Maximum			End			Follow-up		
	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max
1.0mg/kg	17.0	10.0	99.0	19.0	8.0	106.0	17.0	5.0	39.0	15.0	11.0	38.0
2.5mg/kg	14.0	5.0	68.0	20.0	15.0	86.0	15.0	11.0	86.0	39.0	12.0	493.0
5.0mg/kg	16.0	7.0	66.0	40.0	10.0	172.0	17.0	7.0	56.0	37.0	7.0	57.0

Fig.1 Serum concentrations of a mphotericin B after intravenous infusion of L-AMB at doses of 1.0 mg/kg (A), 2.5 mg/kg (B) or 5.0 mg/kg (C).



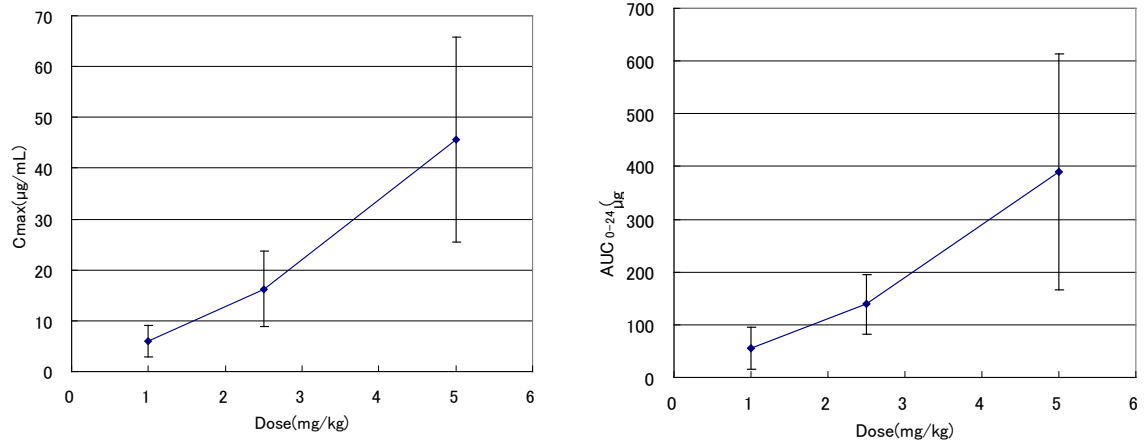
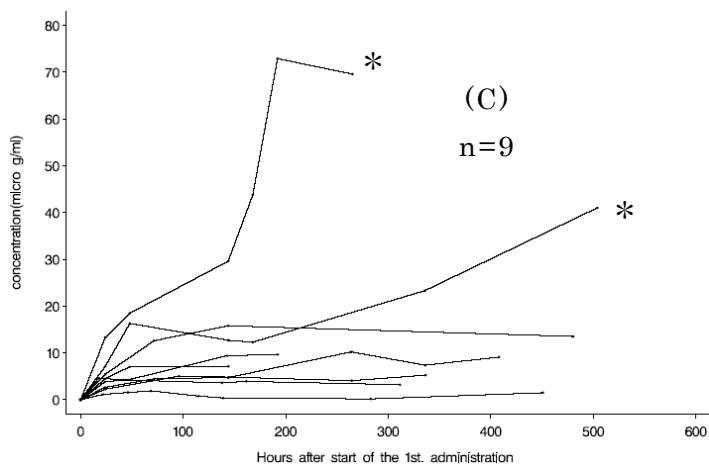
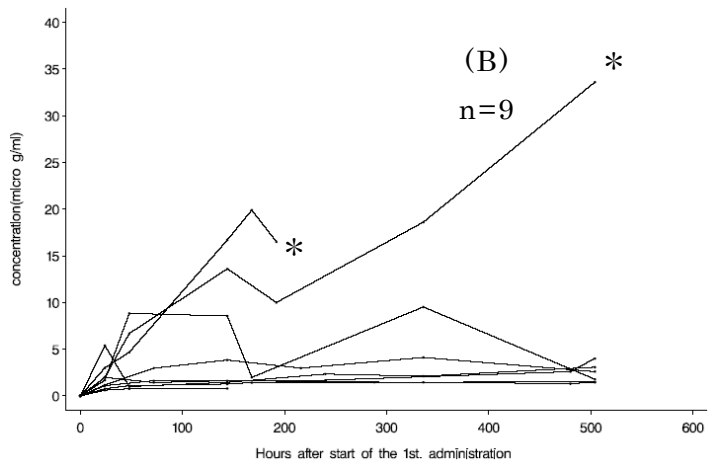
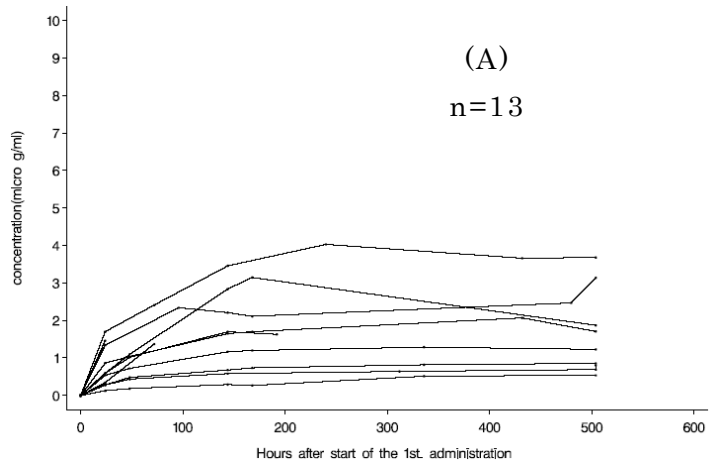


Fig.2 Dose dependence of L-AMB pharmacokinetics (Cmax or AUC : Mean \pm S.D.) . N=13,9 and 9 at doses of 1.0 mg/kg, 2.5 mg/kg and 5.0 mg/kg.

Fig.3 Serum trough concentrations of amphotericin B after intravenous infusion of L-AMB at doses of 1.0 mg/kg (A), 2.5 mg/kg (B) or 5.0 mg/kg (C).*:Patients with increased serum trough concentrations of amphotericin B



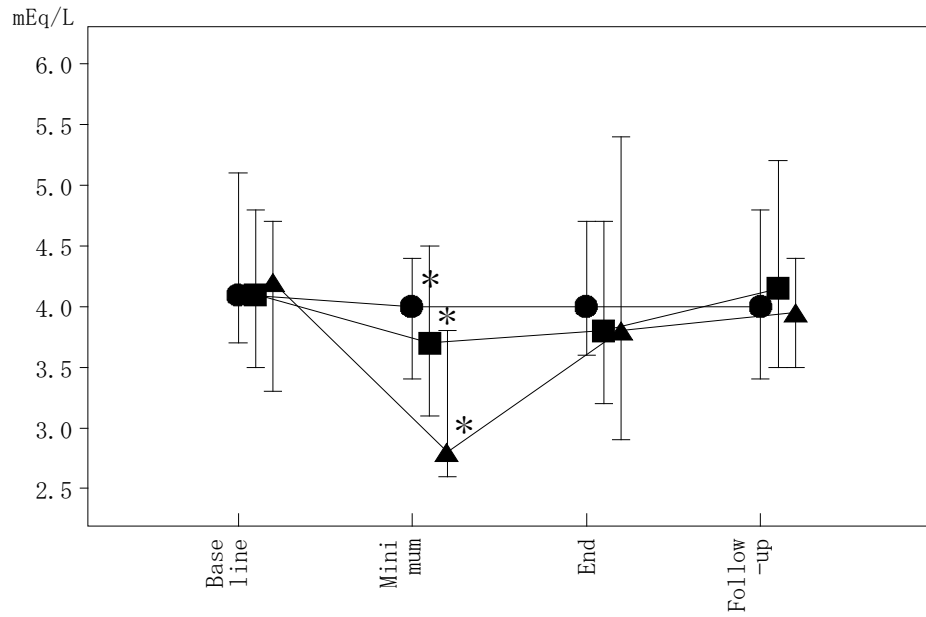


Fig4-a) Serum potassium level(median) in patients receiving L-AMB at doses of 1.0 mg/kg (●), 2.5 mg/kg (■) or 5.0 mg/kg (▲). N=13,9 and 9 at doses of 1.0 mg/kg, 2.5 mg/kg and 5.0 mg/kg. * :P<0.05 (Signed rank test)

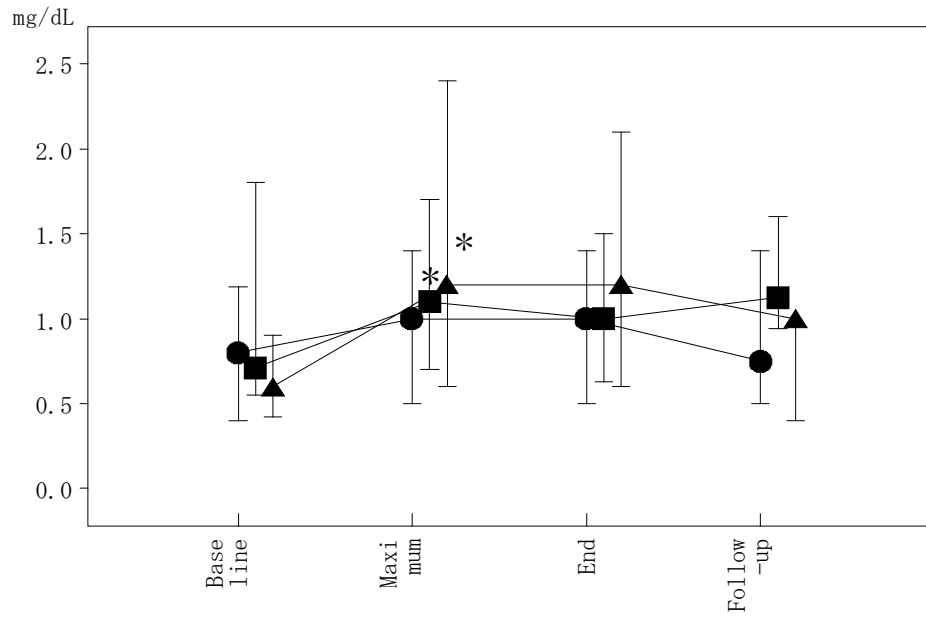


Fig4- b) Serum creatinin level(median) in patients receiving L-AMB at doses of 1.0 mg/kg (●), 2.5 mg/kg (■) or 5.0 mg/kg (▲). N=13,9 and 9 at doses of 1.0 mg/kg, 2.5 mg/kg and 5.0 mg/kg. * :P<0.05 (Signed rank test)