

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 31 日現在

機関番号：13802
研究種目：奨励研究
研究期間：2019
課題番号：19H00349
研究課題名：関節リウマチの治療効果改善を目的とした新規血中トシリズマブ濃度測定法の開発

研究代表者
望月 啓志 (MOCHIZUKI, Takashi)
浜松医科大学・医学部附属病院・薬剤師

交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：540,000 円

研究成果の概要：

抗 IL-6 受容体抗体のトシリズマブの治療効果には個人差があり、効果不十分な関節リウマチ患者が存在する。その原因としてトシリズマブの血中濃度が治療域に到達していないことが挙げられるため、トシリズマブの治療効果向上のために血中濃度の測定が有用である。しかし、既存の血中濃度測定法には定量性や前処理時間の問題があり、臨床には普及していない。本研究により確立した LC-MS/MS 法は、免疫グロブリン精製の省略、固相化トリプシンを用いた迅速タンパク消化により前処理時間の短縮が可能となったうえ、トシリズマブを皮下注または点滴静注する患者に適用することが可能である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トシリズマブの血中濃度測定法には主に免疫学的測定法が用いられるが、交差反応や試薬ロット差などにより測定値が変動する可能性がある。本研究により新たに開発された LC-MS/MS 法は抗原抗体反応を利用しないため、この問題点を克服可能である。また免疫グロブリン精製の省略、固相化トリプシンを用いた迅速消化により、既存の LC-MS/MS 法に比べ、前処理時間を約 12 時間短縮することが可能となった。よって前処理時間の短い本測定法は臨床応用の実現性が高く、本測定法を用いてトシリズマブの血中濃度を管理することで関節リウマチの治療効果向上に繋がる。

研究分野：医療系薬学

キーワード：トシリズマブ、抗体医薬、血中濃度、LC-MS/MS、定量的標的プロテオミクス、関節リウマチ、臨床適用

1. 研究の目的

抗ヒト IL-6 受容体抗体であるトシリズマブの投与は各患者の体重で補正されているにも関わらず、血中トシリズマブ濃度には大きな個人差があり、治療有効濃度を下回る患者が 30%程度存在することが報告されている。従って、トシリズマブの治療効果を最大化するためには血中濃度モニタリングが有用であると考えられている。トシリズマブの血中濃度測定には、従来、免疫学的測定法が用いられてきたが、交差反応や試薬ロット差などの種々の問題があった。近年、免疫学的測定法の問題点を克服するため、定量的標的プロテオミクスによる方法が開発されているが、既存の方法は免疫グロブリン精製やトリプシン消化に多大な時間を要するため、臨床には普及していない。本研究では、固相化トリプシンの導入により消化時間を短縮し、かつ免疫グロブリン精製の必要のない血中トシリズマブ濃度測定法を開発し、関節リウマチ患者への適用性を評価することを目的としている。

2. 研究成果

【結果】

トシリズマブの相補性決定領域を含み、患者血清由来のピークと分離可能なペプチドをシグネイチャーペプチドとして定量に用いた。固相化トリプシンによる消化時間は 30 分であり、LC-MS/MS による分析時間は 15 分であった。検量線は 2-200 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲で直線性を示し、その定量下限は 2 $\mu\text{g/mL}$ であった。本測定法で得られた真度および精度は国際ガイダンスに準拠していた。本測定法による関節リウマチ患者の血中トシリズマブ濃度は、皮下および静脈内

投与において、それぞれ 2.4-63.5 μ g/mL、5.8-28.9 μ g/mL であり、免疫学的測定法による測定値と良好に相関した ($r=0.83$)。

【結論】

本研究のヒト血清中トシリズマブ濃度測定法では、免疫グロブリン精製を行わず、かつ固相化トリプシン消化の導入により前処理時間を短縮することで臨床での利用性が向上するとともに、関節リウマチ患者への適用性も確認された。

【今後の展望】

本研究により開発された前処理時間を短縮した血中トシリズマブ濃度測定法は臨床応用の実現性が高く、本測定法を用いトシリズマブ血中濃度を管理することでトシリズマブの関節リウマチ治療効果向上が期待される。また今後、本測定法により測定されたトシリズマブ血中濃度を用いて、トシリズマブ血中濃度のバイオマーカーや変動要因の探索、トシリズマブによる薬物代謝能変動を検討する予定である。以上より、本研究により開発された血中トシリズマブの LC-MS/MS 測定法は臨床的、学術的貢献度は大きい。

本研究結果は ASCPT annual meeting 2020 (2020 年、アメリカ・テキサス州) にて「Rapid quantitative LC-MS/MS method of tocilizumab in human serum using immobilized tryptic digestion」としてポスター発表予定であったが、COVID-19 のため学会は中止となった。

3. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

浜松医科大学医学部附属病院薬剤部ホームページ

<http://www2.hama-med.ac.jp/w6a/pharm/yakuzaitop.html>

4. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名：柴田 海斗、内藤 隆文

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。