

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06686

研究課題名(和文) CHDF施行下における膜特性を考慮した抗菌薬投与の適正化研究

研究課題名(英文) Study of the antimicrobial dosage in consideration of hemofilter membranes properties under the CHDF

研究代表者

仲佐 啓詳(Nakasa, Hiromitsu)

千葉大学・大学院医学研究院・特任教授

研究者番号：60260478

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：AN69ST膜hemofilterはcytokineに対して高い吸着能を有するが、治療に用いる抗菌薬に対しても吸着除去することが懸念されている。そこで、メロペナム(MEPM)、パズフロキサシン(PZFX)、セフトゾラン(CZOP)、バンコマイシン(VCM)、テイコプラニン(TEIC)についてin vitroの実験系でAN69ST膜に対する吸着の影響を検討した。その結果、TEIC、PZFX、VCMはAN69ST膜に吸着し除去されたと考えられ、AN69ST膜hemofilter使用中に用いる場合は吸着による抗菌薬の血中濃度減少を考慮し投与量を設定する必要があると示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AN69ST膜の開発の元となった AN69膜に対する薬剤の吸着については、過去に一部の薬剤に対して検討されているものの、そのほとんどが CHDF の施行と同時に使用する可能性の低い薬剤であった。急性期医療において臨床ニーズの高い薬剤においてAN69ST膜に対する吸着挙動を検討することは、急性期チーム医療における薬剤師としての責務でもあると考える。これまでは AN69ST膜HFによる CHDF を行う際の抗菌薬の至適投与量の設定に苦慮していたが、本研究により AN69ST膜に対する抗菌薬の吸着の影響が明らかになれば、至適投与量を推定することにつながり、患者の治療に大きく貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：AN69ST membrane hemofilters have a high adsorption ability for cytokines, but concerns exist regarding their adsorption and removal abilities for antibiotics to use for treatment. Therefore, we examined the effect of the adsorption of meropenem(MEPM), pazufloxacin (PZFX), ceftazidime(CZOP), vancomycin(VCM), and teicoplanin(TEIC) onto AN69ST membranes via in vitro experiments. The adsorption ability was evaluated by measuring the absorbance of each antibiotic solution added to the AN69ST membranes over time. We observed that the content rates of TEIC, PZFX, and VCM decreased compared with those of the solution that was not added to the AN69ST membranes; however, the content rates of MEPM and CZOP showed no decrease. Therefore, our results suggest that TEIC, PZFX, and VCM were adsorbed and removed by the AN69ST membranes. Thus, while using AN69ST membranes, it is crucial to set the antibiotic dose for administration by considering the decrease in the blood level.

研究分野：医療薬学

キーワード：CHDF 抗菌薬 AN69ST PMMA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

集中治療領域では、急性腎不全あるいは循環動態が不安定な慢性腎不全の患者に対する治療法として、サイトカインをはじめとする病因物質の血中からの除去を企図して持続的腎代替療法(以下 CRRT)が用いられている。CRRT には、CHDF、持続的血液濾過、持続的血液透析などがあり、患者の状態や施行目的により使い分けられている。また、施行時に使用する HF も膜の素材によって特性が異なるため、用途に合わせた選択がなされている。

合成高分子膜に分類される AN69ST 膜を用いた HF は、サイトカインをも吸着することから cytokine-adsorbing hemofilter と言われており、敗血症や敗血症性ショックの際に生じる高サイトカイン血症の改善に効果を発揮する。そのため、cytokine-adsorbing hemofilter を用いた CHDF の施行は、敗血症や敗血症性ショックの際の治療法として推奨されている。とりわけ、AN69ST 膜 HF は、膜全体が強い陰性荷電を有していることから、陽性荷電であるサイトカインのアミノ基とイオン結合し、高い吸着能を発揮する。そのため、サイトカインの除去に優れており、2014 年に国内で初めて腎不全の有無に関係なく、敗血症や敗血症性ショックに対して保険適応されている。

一方で、AN69ST 膜の開発の元となった AN69 膜は、一部の薬剤に対しても吸着除去することが報告されており、改良された AN69ST 膜についても当初から薬剤の吸着が懸念されていた。臨床使用において一部の薬剤に対して吸着除去してしまう現象が相次いで発生した。

2. 研究の目的

本研究は、AN69ST 膜 HF を臨床現場で有効に使用可能とするため、CHDF の施行と同時に使用される可能性が高く、敗血症の治療において必須となる抗菌薬について AN69ST 膜に対する吸着の影響及びその吸着機序を明らかにし、吸着量を推定することから、CHDF の施行下における抗菌薬投与の適正化を目指すものである。

AN69ST 膜の開発の元となった AN69 膜に対する薬剤の吸着については、過去に一部の薬剤に対して検討されているものの、そのほとんどが CHDF の施行と同時に使用する可能性の低い薬剤であった。申請者らの勤務する施設は、3 次救急医療を担当する医療機関であり、申請者は超急性期の患者に対する薬剤師として従事している。急性期医療において臨床ニーズの高い薬剤において AN69ST 膜に対する吸着挙動を検討することは、急性期チーム医療における薬剤師としての責務でもあると考える。これまでは AN69ST 膜 HF による CHDF を行う際の抗菌薬の至適投与量の設定に苦慮していたが、本研究により AN69ST 膜に対する抗菌薬の吸着の影響が明らかになれば、至適投与量を推定することにつながり、患者の治療に大きく貢献できると考える。

3. 研究の方法

AN69ST 膜に対する各抗菌薬の吸着と吸着機序の検討

この研究は、敗血症の適応を有する抗菌薬について AN69ST 膜に対する吸着を検討する。

対象薬剤として、広域スペクトラム抗菌薬であるカルバペネム系のメロペネム水和物(以下 MEPM)、ニューキノロン系のパズフロキサシンメシル酸塩(以下 PZFX)、第 4 世代セフェム系のセフォゾプラン塩酸塩(以下 CZOP)と抗 MRSA 薬でグリコペプチド系に分類されるバンコマイシン塩酸塩(以下 VCM)、テイコプラニン(以下 TEIC)等について検討を加え、吸着する薬物の特徴や物性などから、吸着機序につながる原因を探求し、吸着機序を検討する。

方法は、AN69ST 膜 HF を解体して AN69ST 膜を取り出した後、一定の大きさに切断し、各抗菌

薬を溶解した溶液に投入して攪拌する。AN69ST 膜を投入する前と投入後攪拌した後の溶液を経時的に採取し、分光光度計を用いて各抗菌薬の極大吸収波長にて吸光度を測定し抗菌薬の含有量を測定する。得られた含有量の差から AN69ST 膜自体に対する薬剤の吸着を検討する。また、分離定量が必要な場合は、HPLC により定量する。また、吸着を認めた抗菌薬については、化学構造や分子内の電荷状態など吸着に関与する可能性があると思われる項目を確認し吸着機序を検討する。

また、他の材質の膜においても比較のため各薬物において同様に検討する。

透析回路循環時における抗菌薬の吸着の検討

CHDF 施行時は、血液を透析回路内で循環させ濾過透析を行うため流動性がある。

の研究では、実際に透析回路に AN69ST 膜 HF をセットし回路内を循環させた状態での抗菌薬の吸着挙動を検討する。

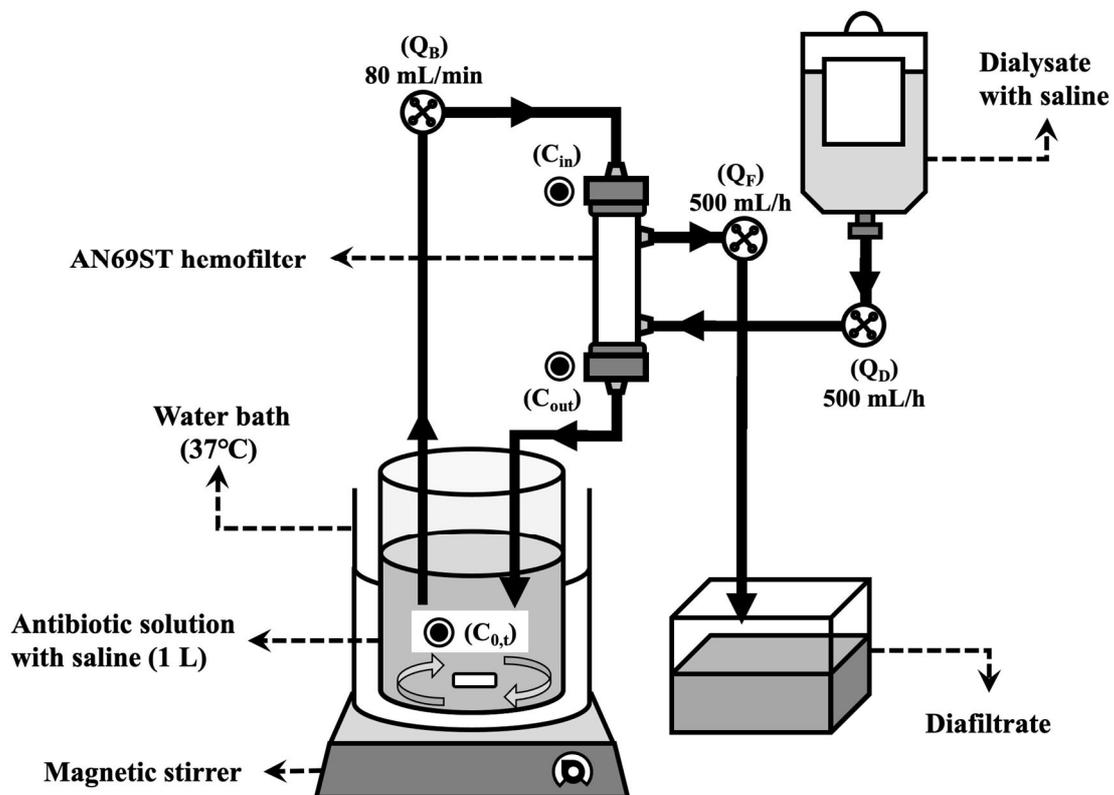


Fig.1 In vitro dialysis circuit model device

Black arrows indicate solution flow, and double circles indicate sampling points.

C_0 is the initial concentration of the drug solution, and C_t is the concentration of the drug solution collected over time. C_{in} and C_{out} are the concentrations of the drug solutions collected at the inlet and outlet of the hemofilter

方法は、の研究で吸着を認めた抗菌薬を対象に行う。AN69ST 膜 HF を透析回路にセットし、抗菌薬を溶解した溶液を回路内に循環させる。HF を通過する前と後でそれぞれ溶液を採取し、HPLC 等で抗菌薬の含有量を測定する。得られた含有量の差から AN69ST 膜 HF に対する吸着量を検討する。

初めに透析回路モデルは、5000 単位/L のヘパリン溶液でプライミングを行った。その後、各濃度に調製した 1000mL の薬剤溶液を接続し、80 mL/min の溶液流量 (Q_B) で循環させた。透析液は生理食塩液を使用し、透析液流量 (C_D) と濾過流量 (C_F) は限外濾過による影響を除くため共

に 500 mL/h に設定した (Fig.1)。0、5、10、20、30、60、120min に薬剤溶液を分取して吸光度を測定した。測定した吸光度から濃度を求めて含有率を算出した。なお、回路内に充填されたブライミング液が薬剤溶液に置き換わった時点を開始とするため、150sec 後を 0min とした。また、5 と 60min には、hemofilter の入口と出口で薬剤溶液を分取して濃度を測定し、クリアランス (CL) を算出した。

実験は 37 °C の温度下で行い、標準試薬は分子量 1000 以下の ABK と LZD に対して MEPM (以下 standard-)、分子量 1000 以上の VCM、DAP、TEIC に対して CN-cbl (以下 standard-) を使用した。

4. 研究成果

AN69ST 膜に対する各抗菌薬の吸着と吸着機序の検討

TEIC 溶液の含有率は、開始 1 分後に 81.6%、5 分後に 60.0%、15 分後に 48.4%と経時的に後も 45.8%とほぼ平衡状態となった。PZFX 溶液の含有率も 1 分後に 73.7%、5 分後に 63.1%と control と比較明らかに減少したが、その後は TEIC 溶液と同様にほぼ平衡状態となり、45 分後でも 62.9%に留まった。VCM 溶液の含有率は、1 分後に 88.5%、5 分後に 83.8%となったが、以降は経時的な減少は見られなかった。CZOP 溶液の含有率は、経時的に微減したが control も同様に微減しており明らかな差は見られなかった。MEPM 溶液は、AN69ST 膜を加えた前後でも変化が見られなかった。

TEIC、PZFX、VCM には、陽性に荷電したアミノ基が存在している。そのため、NM と同様に AN69ST 膜に対してイオン結合し吸着除去されたと推察された。一方、CZOP にも陽性荷電となるイミダゾピリタジニウム基が存在しているが、イミダゾピリタジニウム基は隣接しているセフェム環の陰性荷電であるカルボキシル基とペダイン構造により非局在化されている。また、MEPM に関してもカルバペネム骨格の 2 位側鎖に陽性荷電となるピロリジン環が存在しているが、3 位側鎖にカルボキシル基が配置しており、その塩基性が軽減されている。これらのことから CZOP と MEPM は、分子内における電荷が減弱し AN69ST 膜に対して吸着しなかったと推察された。

透析回路循環時における抗菌薬の吸着の検討

本研究では、透析回路モデルに抗 MRSA 薬の溶液を循環させて含有率の変化を観た。また、5min と 60min における各薬剤の CL を算出し、AN69ST 膜 hemofilter への吸着の影響について検討した。

始めに、基準となる standard- について含有率の変動を観たところ、分子量の大きさに関係なく、ともに概ね一定で緩やかな低下となった。透析の原理は、拡散、濾過、吸着である。本研究は、限外濾過による影響を除外していることから、AN69ST 膜に吸着しない standard- の含有率の低下は、拡散による影響と判断できる。よって、standard- と同様の変動を認めた薬剤は拡散のみによる影響であり、異なる変動を認めた薬剤は吸着による影響が加わったと推察される。そのことを踏まえ、各薬剤の含有率の変動を確認すると、LZD は含有率の変動が standard- と同様だったが、ABK、TEIC、DAP、VCM は開始直後から明らかな低下を認めていた。

次に、各薬剤の CL を確認すると、LZD を除く ABK、TEIC、DAP、VCM の CL が開始 5min で増大していた。しかし、60min には全ての薬剤が standard- と同じレベルまで減少した。千野らは、AN69ST-CHDF を施行中の患者に対して、炎症性サイトカインである IL-6 の体外循環クリアランスを測定したところ開始 15 分後が最も高く、1 時間後には著しく低下したと報告している¹⁾。これは AN69ST 膜 hemofilter への吸着が、開始後短時間で発揮されていることを意味して

いる。

以上のことから、AN69ST 膜 hemofilter への各薬剤の吸着は、LZD を除く ABK、TEIC、DAP、VCM が影響を受けると示唆された。

また、CL から各薬剤の AN69ST 膜 hemofilter への吸着度合を比較したところ、ABK が最も吸着されやすく、次いで TEIC、その後 DAP と VCM の順となった。これは、以前我々が行った AN69ST 膜への吸着度合と概ね同様であった。このことから、中空糸膜を用いた検討結果も、hemofilter への吸着の影響を予測するに有用であったと思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshinori INANO, Kayoko TSUCHIYA, Ryota KUMANO, Go MIURA, and Hiromitsu NAKASA	4. 巻 47
2. 論文標題 Determination of arbekacin sulfate using 2,4,6-trinitrobenzene-1-sulfonic acid sodium salt dihydrate via a simple method	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 医薬品相互作用研究	6. 最初と最後の頁 150-154
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inano Yoshinori, Tsuchiya Kayoko, Kumano Ryota, Miura Go, Nakasa Hiromitsu	4. 巻 10
2. 論文標題 In vitro effects of anti-MRSA agent adsorption onto the AN69ST hemofilter	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Renal Replacement Therapy	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41100-024-00527-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 稲野祥宗、土屋香代子、熊野諒太、三浦剛、仲佐啓詳
2. 発表標題 AN69ST膜hemofilterを用いた持続的血液濾過透析回路モデルにおける抗MRSA薬の吸着への影響
3. 学会等名 第33回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 熊野 諒太、稲野 祥宗、土屋 香代子、仲佐 啓詳
2. 発表標題 持続的血液濾過透析に用いられる各種透析膜に対する抗 MRSA 薬の吸着挙動の検討
3. 学会等名 第31回医療薬学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 稲野 祥宗、土屋 香代子、熊野 諒太、三浦 剛、仲佐 啓詳
2. 発表標題 ANG9ST膜に対するアルベカシンの吸着 -TNP誘導体化によるアルベカシンの定量法を用いて-
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究協力者：稲野祥宗 所属：地方独立行政法人東金九十九里地域医療センター 東千葉メディカルセンター 薬剤部</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	稲野 祥宗 (Inano Yoshinori)	地方独立行政法人東金九十九里地域医療センター 東千葉メディカルセンター・薬剤部・副薬剤部長	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------