

令和 6 年 9 月 5 日現在

機関番号：11301
研究種目：奨励研究
研究期間：2023～2023
課題番号：23H05287
研究課題名 フッ化ピリミジン系薬剤の感受性ならび有害反応予測バイオマーカー精密分析法の開発

研究代表者

阿部 愛 (Abe, Ai)

東北大学・大学病院・薬剤師

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要：液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法（LC/MS/MS）を用いて内因性ピリミジン塩基およびその代謝物計8種と内標準物質（IS）の血中濃度一斉測定法における各種条件を検討し高感度に分析可能な条件を設定することに成功した。前処理方法については構築した条件を用いて得たIS補正マトリクス効果は適正な範囲に収めることができた。少数検体での定量直線性は全ての化合物で良好な直線性を示し、解析ターゲットしたすべての血漿中代謝物が定量可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

5-フルオロウラシル（5-FU）に代表されるフッ化ピリミジン系抗がん薬は代謝反応を触媒するDPDに関わる遺伝子多型と副作用発現リスクとの関連が指摘されている。本邦では、一定数の患者検体を用いたフッ化ピリミジン系薬剤の副作用予測バイオマーカーの有用性実証研究はほとんど行われていないため、本研究により、その有用性が明らかとなり、個別化医療の推進に貢献できる。また、内因性ピリミジン塩基ならびに代謝物8種のバリデートされた同時分析法は開発されていないため、グローバル臨床検査法としても広く波及すると期待される。加えて、本研究により、個別化医療におけるバイオバンクの有用性を明らかにできる。

研究分野：医療薬学関連

キーワード：バイオマーカー フッ化ピリミジン系抗がん薬 LC/MS/MS 個別化医療 DPD 内因性ピリミジン塩基

1. 研究の目的

5-FU に代表されるフッ化ピリミジン系抗がん薬は、様々な固形がん治療に使用される抗悪性腫瘍薬であり、多くの患者に投与されている。主な副作用として、消化管障害、骨髄抑制などがみられるが、その一因として薬物動態関連タンパク質をコードする遺伝子の多型が指摘されている。5-FU の代謝に主に関わる酵素として、特に DPD をコードする DPYD 遺伝子多型によって、5%ほどの患者に代謝活性低下が認められており、副作用発現のリスクが高まることも知られている。そこで、本研究では、ピリミジン系薬剤投与患者の血液検体を用い、内因性ピリミジン塩基ならびに代謝物濃度を定量し、それらと遺伝的多型との関連を解析するとともに、副作用との関連を明らかにし、本邦におけるフッ化ピリミジン系薬剤代謝予測マーカーの個別化医療における有用性を明らかにする。

2. 研究成果

(1) 液体クロマトグラフィー / タンデム質量分析法を使用し、内因性ピリミジン塩基およびその代謝物である U、5,6-dihydrouracil、-ureidopropionic acid、-alanine、T、5,6-dihydrothymine、N-carbamyl- -aminoisobutyric acid および -aminoisobutyric acid の計 8 種を測定対象物質とし、内標準物質 (IS) には複数の安定同位元素標識化合物を用い、全ての測定対象化合物の MS/MS 条件を正イオンモードの SRM で高感度に分析可能な条件を設定することに成功した。

また、測定対象化合物 8 種全てのピークを 10 分以内に LC 分離する条件を設定できた。

(2) 前処理方法については先行研究を参考に除タンパク試薬の種類や量、再溶解溶媒の変更など複数検討を重ね、ZnSO₄ を用い超音波の追加によって、安定した結果が得られるようになった。

(図 1)

構築した条件を用いて得た IS 補正マトリクス効果は、85%から 115%と適正な範囲に収めることができた。

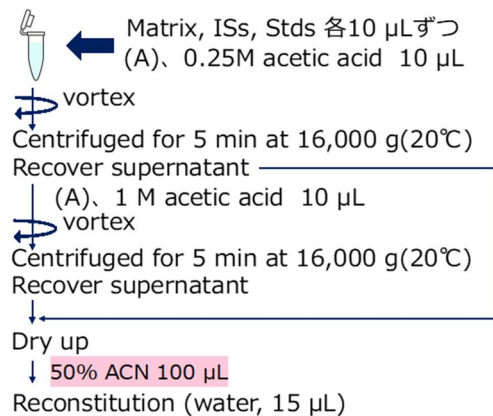


図 1. 前処理方法

(3) 少数検体で予試験的に定量直線性を調べたところ、全ての化合物は R² 0.99 の良好な直線性を示した。(表 1)

また、解析ターゲットしたすべての血漿中代謝物が定量可能であった。

表 1. 定量直線性

Analytes	Lower limit (ng/mL)	Upper limit (ng/mL)	ISs	Equation	R ²
U	0.3	300	U- ¹⁵ N ₂	y = 0.4097x - 0.964	0.9959
UH ₂	0.3	1000	UH ₂ - ² H ₂	y = 0.0019x - 0.062	0.9988
βUPA	0.3	300	βAiBA- ² H ₂	y = 1.2695x + 5.11	0.9998
βAla	0.3	3000	Glu- ¹³ C ₃ , ¹⁵ N	y = 0.0206x + 0.430	0.9980
T	0.3	300	T- ² H ₂	y = 0.000895x - 0.000053	0.9994
TH ₂	0.3	1000	TH ₂ - ² H ₂	y = 0.0107x - 0.0759	0.9989
βUiBA	0.3	300	Phe- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N	y = 0.0021x + 0.0107	0.9980
βAiBA	0.3	3000	βAla- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N	y = 0.013x + 0.257	0.9970

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〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
前川 正充	(Maekawa Masamitsu)
平塚 真弘	(Hiratsuka Masahiro)
菱沼 英史	(Hishinuma Eiji)
眞野 成康	(Mano Nariyasu)