

令和 3 年 4 月 22 日現在

機関番号：12501

研究種目：奨励研究

研究期間：2020～2020

課題番号：20H01013

研究課題名 尿細管障害バイオマーカー及び血中濃度測定によるガンシクロビル用量調節の有用性評価

研究代表者

後藤 優理 (Goto, Yuri)

千葉大学・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） 480,000 円

研究成果の概要：本研究では、GCVの血中濃度及び尿細管障害バイオマーカーと副作用との関連性を探索し、個々の患者に応じたGCVの至適投与量を算出することを目的とした。
上記目的を明らかにするため、HPLC-UVおよび蛍光検出器を用いたGCVの血中濃度測定の条件検討を行った。内標準物質としてアシクロビル（ACV）を用いて検討を行い、移動相に0.05%酢酸：アセトニトリル（99.1：0.9）を用いて流量0.5mL/minで送液することで、C18の分析カラムを用いて短時間で検出可能な測定条件を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
肺移植後のサイトメガロウイルス感染症発症率は38-75%に上るだけでなく、重症化し致死率が高いため、抗ウイルス薬のガンシクロビル(GCV)の予防投与が行われるが、副作用として重篤な汎血球減少が臨床問題となる。本研究では、GCVの血中濃度及び尿細管障害バイオマーカーと副作用との関連性を探索し、個々の患者に応じたGCVの至適投与量を算出することを目的とした。今回はHPLC-UVによるGCVの血中濃度測定条件を確立した。今後は血中濃度測定を行い、尿細管障害バイオマーカーと副作用との関連性を探索するため継続して研究を行う。

研究分野：臨床薬学

キーワード：サイトメガロウイルス感染症 ガンシクロビル 血中濃度

1. 研究の目的

サイトメガロウイルス (CMV) 感染症は肺移植後に最も注意を要する感染症である。肺移植後の CMV 感染症発症率は 38-75% に上るだけでなく、重症化し致死率が高いため、抗ウイルス薬であるガンシクロビル (GCV) の予防投与が行われるが、副作用として重篤な汎血球減少が臨床上問題となる。腎機能低下時の GCV の投与量はクレアチニンクリアランスにより規定されているが、肺移植待機患者は呼吸機能低下に伴う活動量低下により筋肉量が著しく減少しており、腎機能が過大評価される危険性が高い。近年、GCV の血中濃度測定の実用性が期待されつつあるが、82 人を組み込んだ後方視的な研究 (Antimicrob Agents Chemother. 2019, Feb 26, 63) では有用性は示されなかった。この結果は我々が臨床現場で経験する状況と解離している。上記の様に腎機能の評価が困難で多数の併用薬を使用する特殊集団においては、投与量調節に際して血中濃度測定が有用となる可能性が考えられる。また、カルシニューリン阻害薬等の移植後の併用必須薬の一部は尿細管障害を誘発し、GCV の排泄が遅延する可能性があるが、尿細管障害のバイオマーカーと GCV の血中濃度や副作用との関連性を示した報告は無い。そこで本研究では、GCV の血中濃度及び尿細管障害バイオマーカーと副作用との関連性を探索し、個々の患者に応じた GCV の至適投与量を算出することを目的とした。

2. 研究成果

上記目的を明らかにするため、HPLC-UV および蛍光検出器を用いた GCV の血中濃度測定の条件検討を行った。

(1) 内部標準物質

内部標準物質には、抗ウイルス薬であるアシクロビル (ACV) およびレテルモビル (LMV) を用いて検討を行った。ACV は GCV と類似した溶出パターンを示したが、LMV は GCV および ACV と比較して疎水性が高く、一定組成の移動相では測定困難であったため、ACV を内部標準物質として用いることとした。

(2) 標準溶液

GCV および ACV それぞれについて 100 µg/mL の stock solution を調製し、超純水で段階的に希釈して最終濃度が以下になるように調製した。

GCV : 0.5, 1.25, 2.5, 5.0, 12.5, 25, 50, 75 µg/mL

ACV : 100 µg/mL (stock solution を希釈せずに使用)

(3) 測定条件

移動相には A 液: 0.05% acetic acid および B 液: acetonitrile を用い、移動相 B 液の濃度を 0.9% に設定して流量 0.5 mL/min の条件下で測定を行った。A 液に用いる溶媒は acetic acid の他、formic acid や ammonium acetate を検討した。各溶媒において移動相 B 液の濃度を変更して組成検討を行ったが、標準溶液のみを注入した場合には移動相の pH や B 液の濃度に関わらず GCV および ACV とともに retention time 2.5 分にピークが検出された。血漿由来の妨害ピークも 2.5 分で検出されたことから、各成分が分析カラムにほとんど保持されていないことが示唆された。そこで、各サンプルに過塩素酸を添加してイオンペアを形成させることにより、GCV は 7.6 分、ACV は 9.8 分、血漿由来成分は 4.9 分に安定して検出することが可能となった。

検出器は UV および蛍光検出器で測定を行った。ピーク面積は UV と蛍光検出器で同等である一方で、蛍光検出器では血漿成分由来と思われる妨害ピークが retention time 4.9 分の他に複数確認されたため、UV 検出器を用いて測定を行うこととした。

(4) 抽出方法

新鮮凍結血漿 (Blank 血漿) 200 µL に標準溶液を各 40 µL と内部標準物質溶液を 20 µL を添加して血漿サンプルを調製した。血漿サンプルに 10% 過塩素酸を 100 µL を加えて 30 秒 vortex した後、室温で 15 分静置した。13,500rpm で 10 分遠心し、上清 20 µL を注入して測定した。

(5) 検量線の作成

検量線は GCV の血漿中濃度として 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10, 15 µg/mL で作成した。ACV を用いた内部標準法により、ピーク面積を比較して行った。0.1-15 µg/mL の範囲で R^2 値=0.999 と良好な直線性を示す検量線が得られた (図 1)。

GCV の血中濃度に関して HPLC-UV を用いて当院で測定可能な条件を確立した。今後は確立した測定条件を用いて血中濃度測定を行い、尿細管障害バイオマーカーと副作用との関連性を探索するため継続して研究を行う。

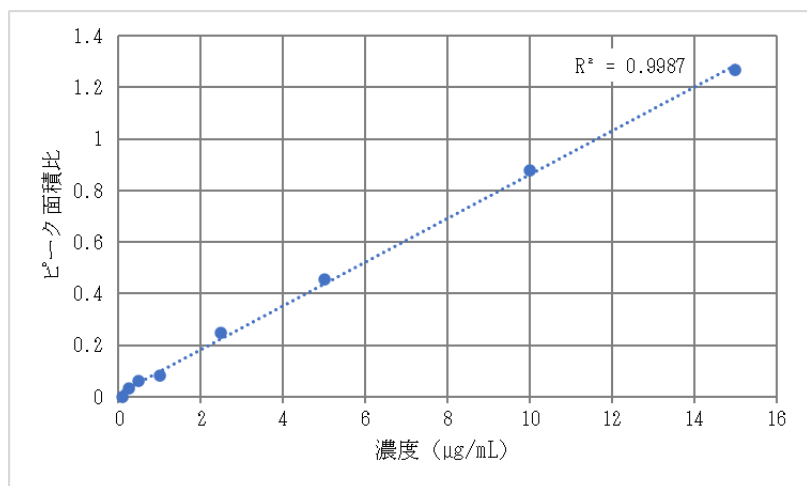


図 1. GCV 検量線

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
----	--------