

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16826

研究課題名(和文) 分子標的治療薬に対する血中モニタリング法の開発

研究課題名(英文) Rapid measurement of plasma concentration of a molecular-targeted agent with diamond sensor.

研究代表者

松本 吉史 (MATSUMOTO, YOSHIFUMI)

新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：60770211

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：血中薬物濃度と治療効果・毒性の関連に関して先行研究の多いパゾパニブに着目し、ラット血漿に既知濃度の標的薬物を生体外で混和して実験した。臨床的な至適濃度をカバーする0-150 μM において、ダイヤモンド電極で測定した直線的な検量線を得た。血漿中濃度を測定する系を確立した。この系で、測定時間は35秒、サンプル調製に要する時間を合わせて10分、測定に必要な全血は60 μL と見積もられ、従来の質量分析計より、所要時間が短く、簡便、安価な測定法となる可能性を示した。標的薬物をラットに経口投与し、複数回の採血で得た血漿を用いて実験を行った。ダイヤモンド電極を用いた測定系により、先行研究と類似の結果を観察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の血中薬物濃度測定には時間と高額な装置が必要である。また、経口マルチキナーゼ阻害薬の血中濃度測定に関する報告は一部の臨床試験以外ない。上記の経口チロシンキナーゼ阻害薬の薬理効果と有害事象は血中濃度と相関しているという報告があり、経口マルチキナーゼ阻害薬、チロシンキナーゼ阻害剤を含む経口分子標的治療薬の血中濃度測定をより安価で短時間に簡便に行うことができるダイヤモンド電極による血中薬物濃度の測定を可能にすることは、今後有害事象の少ない治療を目指すことができる。

研究成果の概要(英文)：This study proposes a strategy for rapid, easy, and low-cost detection of the drugs with boron-doped diamond (BDD) electrode, a state-of-the-art sensor material. This electrochemical approach quantified chemical compounds in a sample of 0 to 100 μL . We chose pazopanib, a multi-kinase inhibitor, as a test drug. Initially, we examined a rat plasma mixed in advance with pazopanib on the BDD sensor. We measured the concentrations from the limit of detection of 10 μM to 150 μM , a range that covers the therapeutic window. The measurement took a short time of within 35 s, and all the procedures, including sample preparation, were completed in within 10 min. Next, pazopanib was orally administered to rats, and the plasma of blood (< 60 μL) sampled over time was analyzed on the BDD sensor. The concentration was peaked at 4 h after the administration. The determined pharmacokinetics resembled the data in the literature.

研究分野：がん薬物療法

キーワード：分子標的薬 血中濃度 ダイヤモンド電極 がん治療

1. 研究開始当初の背景

新潟大学を中心として、微小環境において低コストで簡便に薬物濃度が測定可能な、ダイヤモンド電極法が開発された。本申請課題では、ダイヤモンド電極法で、分子標的治療薬の血中濃度が測定可能か検証し、血中モニタリング法の開発を最終研究目的とする。ダイヤモンド電極法は、電流の変化をとらえるため、薬物特異度が高くないことが予想される。そこで、他の薬剤を服用中で、イマチニブまたはレンパチニブを服用予定の患者から、採血を行い、ダイヤモンド電極法および HPLC-MS/MS で、薬物濃度の測定を行う。ダイヤモンド電極法で、臨床検体における薬物濃度が測定可能かを明らかにし、今後の機器開発の資料とする。現在、数多くの悪性腫瘍に対するがん薬物療法に分子標的治療薬が導入されて、その結果、治療成績が著しく向上している。しかし、一方で様々な有害事象が発生し、結果として減量する患者が多い。

一般に、殺細胞薬の場合注射薬および経口内服薬ともに、体表面積に基づいて投与量が決定される。一方、分子標的治療薬の場合、注射薬は体重により投与量を決めるが、経口薬は量が固定されていることがほとんどである。また、分子標的治療薬の多くは、国際共同試験として実施されるため、欧米人と同量が投与される小柄な日本人には過量になることが懸念される。

経口分子標的薬の問題点：

経口薬は、分子標的治療薬に限らず、内服時の条件や個人によって吸収が大きく異なることが、報告されている。また、分子標的治療薬の多くは、胃の pH や食事によって影響をうけることが、臨床試験で明らかとなっており、各薬剤によって、内服するタイミングが異なっている。しかしながら、各個人の内服後の吸収を調べることは、日常臨床では不可能である。その結果、過量と予想されても、添付文書に従い投与を開始し、発生した有害事象の程度を勘案して、減量し投与量を決めていくのがほとんどである。

薬物血中濃度モニタリングの必要性：

一部のハイリスク薬剤では、血中濃度を測定し投与量を決めることが、保険診療で認められている。抗がん薬では、メソトレキセートとイマチニブが認められ、保険点数は月 1 回のみ算定可能で 470 点である。測定法は、LC-MS/MS : Liquid chromatography tandem mass spectrometry (液体クロマトグラフィータンデム四重極型質量分析法)で行われるため、特別の機器、技術、およびコストが必要である。その結果、血中濃度測定が有用と考えられる分子標的治療薬においては、血中濃度が測定されておらず、患者に無用な有害事象を与えている。

ダイヤモンド電極による薬物濃度測定法の開発：

新潟大学、慶応大学、東京大学のグループは、ダイヤモンド電極を駆使し、微小領域の薬物動態の計測機器の開発を行ってきた。その成果として、ダイヤモンド電極を用いて、モルモット蝸牛管における抗がん剤ドキシソルピシンの濃度を測定することに成功した (Ogata G ら Nature Biomedical Engineering, 2017; 1: 654-666、右図)。この原理は、物質の酸化還元反応を利用して、電圧をかけた時の電流を測定することにより、物質の濃度測定をするものである。このダイヤモンド電極を用いて、更に、ラット血液中における、イマチニブ、ゲフィチニブ、スニチニブ、レゴラフェニブ、レンパチニブなどの経口分子標的治療薬の濃度測定に成功しつつある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ダイヤモンド電極法を用いて、ヒト血中における分子標的薬であるレンパチニブおよびイマチニブの濃度測定が可能かを検証することを目的とする。イマチニブおよびレンパチニブ服用予定患者に、研究の同意を書面で取得後に、内服開始前、2 時間後、4 8 時間後に採血を行い、血漿を分離する。得られた血漿を従来の薬物濃度測定法である HPLC-MS/MS 法と、ダイヤモンド電極法で濃度測定を行い、ダイヤモンド電極法が使用可能か評価し、改善点を探る。

ラット血漿に、分子標的薬であるイマチニブとレンパチニブを混和して、ダイヤモンド電極法で、測定可能なことを確認した。測定濃度は、ヒトが服用したとき得られる血中濃度の範囲で、測定可能であった。一方、ダイヤモンド電極法は、電流の変化をとらえるため、薬物特性が高くないという弱点がある。患者は一般に複数の薬剤を服用しているため、これらの薬剤が、電流の変化に影響を及ぼすことが十分予想される。そこで、他の薬剤を服用中で、イマチニブまたはレンパチニブを服用予定の患者に、文書で同意を得た後に、採血を行い、これら薬物の濃度が臨床の現場で、測定可能かを明らかにする。

3. 研究の方法

分注した血漿サンプル(100 μ l)を、ダイヤモンドセンサ上に配置し、クロノアンペロメトリー法により測定する。使用するセンサは、測定前に検量線を作成し、これを用いて薬物濃度を、測定値から算出する。投与前の検体を用いてベースラインの電流の波形を描く。次に内服後の検体を用いて波形を描く。投与前後の波形の違いから、標的薬剤の濃度測定を試みる。図は、ラット血漿中のレンパチニブの濃度測定結果である。分子標的薬剤以外の内服薬剤を医療情報から得て、他薬剤の影響について解析する

4. 研究成果

がん分子標的薬の中で、血中薬物濃度と治療効果・毒性の関連に関して先行研究の蓄積の多い、

パゾパニブに着目して研究を進めた。実験動物(ラット)血漿に既知濃度の標的薬物を生体外で混和して実験に用いたところ、パゾパニブの臨床的な至適血漿中濃度域をカバーする 0 - 150 μM において、ダイヤモンド電極で観察された電流から直線的な検量線 ($n = 8$, $R^2: 0.9552$) を得ることができ、血漿薬物濃度を測定する系が確立された。この系では、1 回の測定時間は~35 秒、サンプル調製に要する時間を合わせても~10 分、1 回の測定に必要な全血は~60 μL と見積もられ、従来の質量分析計(LC-MS)による測定と比べ、所要時間が短く、簡便、安価な測定法となる可能性が示された。次に、標的薬物をラットに経口投与し、その後、複数回の採血で得られた血漿を用いて実験を行った。先述のダイヤモンド電極を用いた測定系により、血漿薬物濃度が投与後~4 時間に上昇のピークを示したのち、24 時間後にはほぼベースラインまで低下するという、先行研究で示された薬物動態と類似の結果を観察することができた。現在、これらのラット血漿サンプルに加え、臨床研究として、がん分子標的薬を実際の治療で使用する患者の同意のもと、~40 例のヒト血漿サンプルを採取・保管しており、ダイヤモンド電極法を用いてこれらの薬物濃度の測定を進めている。これらの血漿サンプルの薬物濃度については、従来法である LC-MS 法でも同時に測定を行い、ダイヤモンド電極法で得られた測定結果の妥当性を検証する予定である。今後、測定系の見直しにより、当初の目的である、より迅速、簡便、安価な血中薬物濃度測定法の創出を目指す。また、より多彩な薬剤の血中濃度測定を目指し、各薬剤における測定法の最適化、動物・ヒト血漿を用いた検証実験を継続中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 齋木 琢郎
2. 発表標題 ダイヤモンド電極を用いた電気化学測定に基づく、経口分子標的薬血漿中濃度の迅速・簡便な測定
3. 学会等名 第143回日本薬理学会関東支部
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋木 琢郎
2. 発表標題 ダイヤモンド電極を用いた電気化学測定による薬物血中濃度の迅速測定
3. 学会等名 第67回中部日本生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋木 琢郎
2. 発表標題 Rapid Measurement of Plasma Concentration of Pazopanib, a Multi-Kinase Inhibitor, with Diamond Sensor
3. 学会等名 第18回日本臨床腫瘍学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

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