

TDM への応用を目指した
血漿中薬物濃度と臨床効果に関する研究

平成25年度

野田久美子

Summary

A modified method for the quantitative determination of bepridil and unbound micafungin in human plasma is herein described. The relationship between the concentration of both drugs in human plasma and the clinical effects were also investigated.

In the bepridil studies, the mobile phase consisted of 50 mM phosphate buffer (pH 3.0): methanol: acetonitrile: triethylamine (57:3:40:1, v/v). The samples were fractionated on a C8-3 column (150 × 4.6 mm, 5 µm) using a flow rate of 0.9 mL/min. 1-Naphthol was used as the internal standard (IS). Bepridil was detected by UV spectroscopy at 254 nm. The relationship was then evaluated between the plasma concentration of bepridil (Cbep) and the effects transformed from atrial fibrillation (AF) to sinus rhythm (SR) for 36 patients with AF. The patients were treated orally with 100, 150 or 200 mg/day bepridil. In the introduction stage (first 14 days after starting therapy, n=15), when 150, 200, 250 or 300 ng/mL were set as a boundary value, the efficacy of bepridil was significantly higher in all patients with Cbep above the boundary value than in those with Cbep below the boundary value ($P<0.05$). During the maintenance stage (3 months after starting therapy, n = 22), the efficacy of bepridil was significantly higher in patients with Cbep above 300 ng/mL ($P=0.04$). The clinical efficacy of bepridil was closely related to Cbep. The target value of Cbep to obtain a clinical benefit was approximately 300 ng/mL. These results suggest that monitoring Cbep should be useful in the treatment of patients with AF.

In the micafungin studies, the mobile phase consisted of 50 mM phosphate buffer (pH 3.0): tetrahydrofuran (65:35, v/v). Samples were fractionated on a C-18 column. The fluorescence detection wavelengths of excitation and emission were set at 273 nm and 464 nm, respectively. 1-Hydroxy-2-naphthoic acid was used as the IS. The peak height ratio of micafungin/IS on a 5-point calibration curve was linear from 0.004 to 0.08 µg/mL ($r=0.999$, $P<0.001$). In addition, the concentrations of unbound and total micafungin were measured in the plasma of 11 patients treated with micafungin for fungal infection. In total, 99 samples were collected. A correlation was observed between the concentrations of unbound and total micafungin in plasma ($r=0.896$, $P<0.001$). Furthermore, the relationship between the plasma concentration of micafungin and the clinical effects for 3 patients suspected to be infected with mycosis was investigated. The patients were treated with micafungin (150 mg/day), resulting in concentrations of unbound and total micafungin being above 0.0069 and 2.5 µg/mL, respectively. Micafungin was thus diagnosed as effective for the patients in this study. In case 1, the aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and total bilirubin levels increased when the plasma concentration of unbound and total micafungin rose just prior to injection. Therefore, it was suggested that delaying excretion and/or metabolism of micafungin in the liver causes a rise in the plasma concentration of micafungin. In all cases, the plasma concentration of unbound micafungin was above the minimum inhibitory concentration of the pathogenic fungi.

Conclusion: Our results suggest that the clinical effect of bepridil depends on the concentration in plasma. Furthermore, it appears possible that the unbound concentration of micafungin in plasma affects the antifungal efficacy in patients. The pharmacokinetics of bepridil display large individual differences, and it is thus important to set the target concentration of micafungin in plasma for achieving effective antifungal therapy. Therefore, the therapeutic drug monitoring of bepridil and micafungin appear useful in antifungal treatment.

学位論文の基礎となる報文

- (1) Noda K., Narayama Y., Goto Y., Kobayashi M., Kuronuma H., Iwai S., Itoh K., Katoh N., Tadano K., The LC method for quantifying bepridil in human plasma using 1-naphthol as the internal standard. *J. Chromatogr. Sci.*, 49, 519-523 (2011).
- (2) Noda K., Gotoh Y., Tanioka S., Narayama Y., Kobayashi M., Iwai S., Katoh N., Tadano K., The relationship between the plasma concentration of bepridil and its efficacy in the treatment of atrial fibrillation in Japanese patients. *Biol. Pharm. Bull.*, 35, 672-676 (2012).
- (3) Noda K., Narayama Y., Gotoh Y., Kobayashi M., Iwai S., Katoh N., Tadano K., The clinical efficacy of bepridil depends on its concentration in human plasma. *TDM研究*, 29, 109-114 (2012).
- (4) 野田久美子, 横山敏紀, 秋山也寸史, 唯野貢司, HPLC法による血漿中遊離型ミカファンギン濃度測定法の構築と血漿中総ミカファンギン濃度との関係. *YAKUGAKU ZASSHI*, 133, 397-404 (2013).

参 考 論 文

- (1) 野田久美子, 上田晃, 黒沼博史, 岩井新治, 伊藤勝美, 斉藤容子, 小倉滋明, 小林道也, 唯野貢司, Antimicrobial Use Density を用いた注射用抗菌薬および抗真菌薬の使用動向変化の長期的解析とその要因 I. *環境感染誌*, 24, 332-336 (2009).
- (2) 野田久美子, 上田晃, 黒沼博史, 岩井新治, 伊藤勝美, 斉藤容子, 小倉滋明, 小林道也, 唯野貢司, Antimicrobial Use Density を用いた注射用抗菌薬および抗真菌薬の使用動向変化の長期的解析とその要因 II. *環境感染誌*, 24, 400-404 (2009).
- (3) 野田久美子, 横山敏紀, 藤澤真一, 渡邊博文, 篠原徹, 藤谷好弘, 秋山也寸史, 小林道也, 唯野貢司, 肝機能検査値の変化と共に血中 micafungin 濃度が上昇した深在性真菌症の一症例. *TDM 研究*, 27, 163-167 (2010).
- (4) 野田久美子, 篠原徹, 横山敏紀, 藤澤真一, 渡邊博文, 藤谷好弘, 原田敏之, 秋山也寸史, 小林道也, 唯野貢司, *Candida* 尿路感染症に micafungin が有効であった 2 症例. *TDM 研究*, 28, 114-118 (2011).

略語表

Af	Atrial fibrillation : 心房細動
AFL	Atrial flutter : 心房粗動
ALT	Alanine amino transferase : アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate amino transferase : アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the blood concentration-time curve : 血中濃度-時間曲線下面積
AUD	Antimicrobial use density : 抗菌薬使用密度
BUN	Blood urea nitrogen : 血中尿素窒素
Ccr	Creatinine clearance : クレアチニンクリアランス
CDC	Centers for disease control and prevention : 米国疾病予防管理センター
C/D	Concentration/dose
C _{max}	Maximum concentration : 最高血中濃度
C _{min}	Minimum concentration : 最小血中濃度
CT	Computed tomography : コンピュータ断層撮影
DDD	Defined daily dose
ESBL	Extended-spectrum β -lactamase : 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ
ESRD	End stage renal disease : 末期腎不全
FPIA	Fluorescence polarization immunoassay : 蛍光偏光免疫アッセイ
HIV	Human immunodeficiency virus : ヒト免疫不全ウイルス
HPLC	High-performance liquid chromatography : 高速液体クロマトグラフィー
ICD	Implantable cardioverter defibrillator : 植込み型除細動装置
ICT	Infection control team : 感染制御チーム
IPA	Invasive pulmonary aspergillosis : 侵襲性肺アスペルギルス症
IS	Internal standard : 内標準物質
LVFX	Levofloxacin : レボフロキサシン

MCFG	Micafungin : ミカファンギン
MDRP	Multi-drug resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : 多剤耐性緑膿菌
MEPM	Meropenem : メロペネム
MFC	Minimum fungicidal concentration : 最小殺真菌濃度
MIC	Minimal inhibitory concentration : 最小発育阻止濃度
MRSA	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> : メチシリン耐性黄色ブドウ球菌
PAF	Paroxysmal atrial fibrillation : 発作性心房細動
PAFE	Post antifungal effect
PIPC/TAZ	Piperacillin/tazobactam : ピペラシリン/タゾバクタム
PK/PD	Pharmacokinetics/Pharmacodynamics : 薬物動態学/薬力学
Scr	Serum creatinine : 血清クレアチニン
S/N	Signal/Noise
SR	Sinus rhythm : 洞調律
SSI	Surgical site infection : 手術部位感染
T-bil	Total bilirubin : 総ビリルビン濃度
TDM	Therapeutic drug monitoring : 治療薬物モニタリング
TdP	Torsades de pointes
TEIC	Teicoplanin : テイコプラニン
Tmax	Maximum drug concentration time : 最高血中濃度到達時間
VCMC	Vancomycin : バンコマイシン
WBC	White blood cell : 白血球
WHO	World Health Organization : 世界保健機関

目 次

序論	1
第1章 血漿中ベプリジル濃度測定法の構築	7
第1節 緒言	7
第2節 方法	7
第1項 血漿中ベプリジル濃度測定法	7
第2項 臨床患者における血漿中ベプリジル濃度測定	11
第3節 結果	12
第4節 考察	18
第2章 経口投与後における血漿中ベプリジル濃度のモニタリングポイントの妥当性に関する検討	21
第1節 緒言	21
第2節 方法	22
第3節 結果	23
第1項 ベプリジル経口投与後の血漿中ベプリジル濃度推移と個体内変動	23
第2項 投与直前濃度と有効性および副作用の関係	27
1) 症例 11	27
2) 症例 12	29
3) 症例 13	31
第4節 考察	33
第3章 ベプリジル導入期および維持期における血漿中ベプリジル濃度と有効性の関係	37
第1節 緒言	37
第2節 方法	38
第3節 結果	39
第1項 患者背景	39
第2項 ベプリジルによる薬物療法導入期における血漿中濃度と有効性の評価	40
第3項 ベプリジルによる薬物療法維持期における血漿中濃度と有効性の評価	44

第4節 考察	……48
第4章 血漿中遊離型ミカファンギン濃度測定法の構築	……53
第1節 緒言	……53
第2節 方法	……54
第1項 血漿中遊離型ミカファンギン濃度測定法	……54
第2項 血漿中総ミカファンギン濃度測定	……57
第3節 結果	……58
第4節 考察	……62
第5章 血漿中ミカファンギン濃度推移と患者個々における臨床効果の検討	……65
第1節 緒言	……65
第2節 方法	……66
第3節 結果	……67
1) 症例1 (肝機能が変化した深在性真菌症患者)	……67
2) 症例2 (尿路感染症が改善した患者)	……70
3) 症例3 (尿路感染症が改善した患者 (ステントあり))	……73
第4節 考察	……75
総括	……80
引用文献	……83
謝辞	……91

序論

治療薬物モニタリング (therapeutic drug monitoring: TDM) の臨床への導入は、フェニトインの有効血中濃度範囲の研究からとされている。¹⁾ 1960～1970年代にかけて薬物速度論の手法を用いて血中濃度データを処理し、薬物治療の適正化に努めることが提唱された。²⁾ これをもとに、測定した患者の血中薬物濃度データを解析して治療効果とともに血中薬物濃度をモニタリングしつつ、患者個々にあわせて薬物投与計画を立案する方法論を TDM と呼ぶようになった。

日本ではサルファ剤の血中濃度測定は早期から実施されていたものの、臨床における TDM の始まりは 1960～1970年代に行われた抗てんかん薬の TDM 研究である。この研究業績により医療における TDM の必要性が認められ、1980年に躁うつ病治療薬である炭酸リチウムの血中濃度測定が初めて特定薬剤治療管理料として保険点数化された。翌 1981年には抗てんかん薬とジギタリス製剤も対象薬物となっている。以降、対象薬物は拡大され、臨床で血中薬物濃度のモニタリングが広く行われるようになった。それにより、薬物の効果や副作用の予測、より効果的な薬剤の投与計画が行われるなど、薬物治療の質の向上が図られている。さらに TDM によって得られたデータの蓄積と、それらの解析結果によって合理的な薬物治療法が研究されている。特に抗 MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) 薬をはじめとする抗菌薬では、治療の成功や使用する抗菌薬に対する細菌の耐性化予防を目的として、薬物動態学/薬力学 (pharmacokinetics/pharmacodynamics: PK/PD) の研究がさかんに行われている。³⁾ すなわち、PD となる細菌の最小発育阻止濃度 (minimal inhibitory concentration: MIC) に対して必要な治療域濃度あるいは血中濃度-時間曲線下面積 (area under the blood concentration-time curve: AUC) を確保するために PK 理論に基づいた投与計画の立案と実践がなされている。

臨床では膨大な種類の薬物が使われているが、TDM は全ての薬物について必要とされるものではない。本邦において現在、TDM のもとに治療することが保険として認められている特定薬剤治療管理料の対象薬物は、Table 1 に示すものに留まっている。⁴⁾ これらは最

適治療域濃度と副作用発現濃度が近く、(1) 薬理反応が可逆的であること、(2) 薬理効果と体液中濃度、特に血中濃度との関係がある程度明らかにされていること、(3) 薬物受容体近傍での薬理学的な耐性が起こりにくいこと、(4) 体液中濃度の定量法が確立されていること、(5) 活性代謝物の存在の有無が明らかにされていること、(6) 臨床的な薬動学的データの蓄積があること、といった条件にあてはまる薬物群であり、このような薬物を用いる場合に TDM は安全で効果的な薬物療法の重要なツールとなる。さらに臨床では様々な要因が薬物の効果に影響を及ぼすが、特に (1) 作用を直接評価しにくい薬物、(2) 治療域濃度が狭い薬物、(3) 体内動態の個人差が大きい薬物、(4) 体内動態に非線形性のある薬物、(5) 肝臓や腎臓などに障害がある患者や患児、高齢者で投与量を決めにくい薬物、(6) 薬物併用により薬物—薬物間相互作用を生じるおそれがある薬物に TDM は特に有用性を発揮する。また、患者が服用指示を守っていない、または誤薬の疑いのある際にも用いられる。さらに、薬物治療の進歩とともに対象薬物のニーズも変化しており、緩和医療における鎮痛補助薬としての抗てんかん薬（ガバペンチンなど）や、膠原病治療における免疫抑制薬（タクロリムスなど）など、既存の TDM 対象薬物についてもその役割に応じた最適治療濃度が新たに設定されている。

血中薬物濃度測定法は、主に分離分析法と免疫学的測定法（イムノアッセイ）に分類される。病院薬剤部におけるルーチン業務としての TDM における定量はほとんどイムノアッセイ、特に自動化された蛍光偏光イムノアッセイ（fluorescence polarization immunoassay: FPIA）によって行われてきた。近年は同様のイムノアッセイ法を搭載した汎用機の開発が進み、血中薬物濃度測定業務は検査室あるいは外部委託へと移行しつつある。そのような中でも、新規の薬剤や治療法を安全かつ有効に利用するために Table 1 に示した TDM 対象薬物以外の薬物について血中薬物濃度を測定する場合がある。しかしイムノアッセイでは新たに抗体作成が必要であり、コストが高く、汎用性が乏しい。そのため、TDM 対象薬物以外の薬物については分離分析法が用いられる。特に高速液体クロマトグラフィー（high-performance liquid chromatography: HPLC）は簡便かつ低コストであることから最も利用される測定機器である。

Table 1. Drugs Required Monitoring a Concentration in Plasma for Therapy

Classification	Drugs
Digitalis and preparations	digitalis, digitoxin
Theophylline and preparations	theophylline, aminophylline
Antiarrhythmic drugs	procainamide, N-acetylprocainamide, aprindine, disopyramide, lidocaine, pilsicainide, propafenone, mexiletine, flecainide, quinidine, cibenzoline, amiodarone, pirmenol, bepridil, sotalol
Antiepileptic drug	phenobarbital, nitrazepam, primidone, diazepam, phenytoin, carbamazepine, zonisamide, ethosuximide, acetazolamide, sodium valproate, trimethadione, clonazepam, clobazam, sultiame
Antibiotics	gentamicin, amikacin, streptomycin, tobramycin, arbekacin, teicoplanin, vancomycin, voliconazole
Immunosuppressive	cyclosporine, mycophenolate mofetil, tacrolimus, everolimus
Salicylic acid	salicylic acid
Antitumor agents	imatinib, methotrexate
Haloperidol and bromperidol	haloperidol, bromperidol
Lithium	lithium carbonate

抗不整脈薬のベプリジル (Fig. 1) は 1980 年代にフランスで開発され、心筋梗塞や不整脈の治療に使用されてきた薬物であるが、新規の β -ブロッカーやカルシウム拮抗薬の登場に伴う治療戦略の変化により、これらの疾患に対する使用頻度は減少している。しかし近年、心房細動 (atrial fibrillation: Af) に対する治療効果が見直され、再び使用頻度は高くなりつつある。

Af とは、心臓上室の様々な部位で散発的に刺激伝導興奮のリエントリーが発生し、正常な律動性収縮による心臓の拍出機能が異常をきたして筋壁の急速で不規則な攣縮を引き起こす心疾患の一つである。Af は自覚症状に乏しい場合も多いものの、脳梗塞発症の独立した危険因子として挙げられており、⁵⁾ 重症の場合は死に至る可能性がある。Framingham 研究⁶⁾ において、Af の発症因子には加齢、糖尿病、高血圧症、心筋梗塞および心不全の既往などが挙げられているが、基礎疾患の有無を除外した場合でも加齢に伴い急激に発症率が上昇するとされている。わが国においては、男性では 40 歳代の Af 発症率が約 1% であったのに対し、80 歳代では約 15% と顕著に増加しており、⁷⁾ 国内外を問わず経年的に Af

の有病率は増加している。^{8,9)}

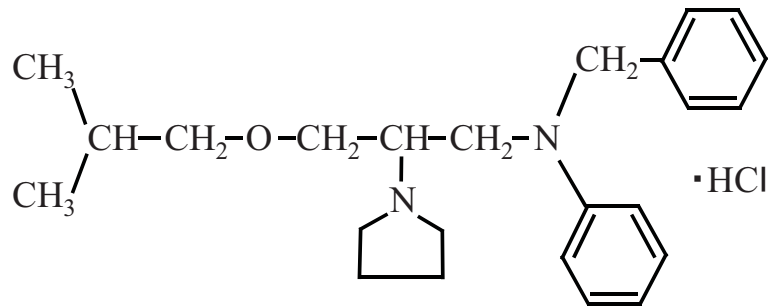


Fig. 1. Chemical Structure of Bepridil Hydrochloride.

Af に対しては、心房細動発生のトリガーとなる期外収縮の発生部位を焼灼して、心筋の異常興奮を心房から電氣的に隔離する外科的処置（カテーテルアブレーション治療）が根治療法として行われている。また、場合によってはペースメーカー埋め込みが選択されるが、正常な律動化—洞調律化には補助的な薬物療法が不可欠であり、外科的処置による治療が不適応な場合や処置後の再発例には、薬物療法が中心となる。¹⁰⁾ 洞調律 (sinus rhythm : SR) を維持するためには Af の原因とされているリエントリーを消失させることが有効であり、心筋細胞間の刺激伝導を遅延させることや有効不応期を延長させることが SR への転化および維持を促すと考えられている。このため、SR 維持治療において使用される薬剤として、Na⁺ チャネルを遮断して刺激伝導遅延を促す Vaughan-Williams 分類の第 I 群薬（ジソピラミド、ピルメノールなど）や、K⁺ チャネル遮断により心臓の有効不応期を延長させる作用を主とする第 III 群薬（アミオダロン、ソタロールなど）が用いられる。近年はこれらにマルチチャネルブロッカーであるベプリジルが加わった。

2005 年より本邦において医師主導治験として行われた「持続性心房細動停止降下およびその用量反応性（プラセボ対照二重盲検比較試験）：J-BAF Study」¹¹⁾ において、ベプリジル投与群における洞調律化がプラセボ群に比べて有意に勝る治療成績を示したことから、ベプリジルには 2008 年に持続性心房細動に対する適応が追加された。一方でベプリジルは重篤な副作用を発現することが知られており、心電図上、用量依存的に QT 間隔を延長さ

せ、重篤な場合には torsades de pointes (TdP) を誘発する危険性が指摘され、¹²⁾ 2012 年に特定薬剤治療管理料の対象薬剤になっている。しかし、海外において Af の薬物治療は抗凝固療法を中心としており、洞調律維持に対してはアミオダロンが選択される場合が多い。そのためペプリジルの使用は日本に限られており、有効性や副作用に関する報告は少ない。

一方、近年の化学療法や高度医療技術の進歩に伴う易感染患者の増加により、感染症治療においては MRSA 感染症以外にも、多剤耐性緑膿菌 (multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP), 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (extended-spectrum β -lactamase: ESBL) 産生菌などの多剤耐性菌や真菌による病院感染が問題となっている。真菌症に対しては近年ミカファンギン、カスポファンギン、ボリコナゾールなどの新規抗真菌薬やリポソーマルアムホテリシン B といった既存の抗真菌薬を製剤学的に改変した薬剤が上市されている。ミカファンギンは真菌に特異的な細胞壁の主要構成成分である 1,3- β -D-グルカンの生合成を阻害することにより、*Candida* 属に対して殺菌的に作用するキャンディン系抗真菌薬である。^{13,14)} ミカファンギン (Fig. 2) は既存の抗真菌薬と比較して副作用や薬物相互作用が少ないことから、本邦においてはカンジダ血症や播種性カンジダ症などの深在性真菌症に対して第 1 選択薬として推奨されているが、¹⁵⁾ 抗 MRSA 薬や他の抗真菌薬と比較して PK/PD に関連する情報は少ない。真菌感染症に対する抗真菌薬の PK/PD については *in vitro* での抗真菌活性が *in vivo* の結果と必ずしも相関せず、¹⁶⁾ また実験に適した動物モデルが少ないことから十分な検討は行われていない。一方、新規アゾール系抗真菌薬であるボリコナゾールは、散見される血中薬物濃度と有効性あるいは副作用発現の報告¹⁷⁻²⁰⁾ をもとに目安となる閾値を設定し、特定薬剤治療管理料の対象薬物として臨床で用いられている。真菌感染症については近年、抗真菌薬の使用頻度増加に伴って薬剤耐性真菌の出現が問題となっている。^{21,22)} 現在、抗真菌剤に対する耐性化の広がりには抗菌薬ほどではない。しかし、抗菌薬と同様に考えた場合、真菌感染症に対する薬物治療は長期にわたる症例もまれではなく、使用頻度の高さや低い血中濃度での使用期間の長さが耐性化を助長するものと推測される。PK/PD 理論にもとづいた効果的な抗真菌薬の投与は真菌に対する抗真菌薬の感受性の維持につながる。そこで、前述したように副作用や他剤との薬

第 1 章 血漿中ベプリジル濃度測定法の構築

第 1 節 緒言

序論で述べたように、ベプリジルの有効性および副作用は血漿中ベプリジル濃度依存的に発現すると考えられているものの、²³⁾ これらの関係を明確にした報告はない。我々はその関係を明らかにすることを目的として、血漿中ベプリジル濃度と臨床効果との関係について検討を行うこととした。血漿中ベプリジル濃度は 1980 年代後半までガスクロマトグラフィーにより測定されていたが、²⁴⁾ その後、Ng ら²⁵⁾ や Taguchi ら²⁶⁾ により、HPLC を用いた方法が報告された。しかし、彼らの使用する内標準物質 (internal standard: IS) は製薬企業からの供与を必要とすることから、臨床応用する方法としては簡便なものではない。また、ベプリジルが用いられる循環器疾患治療領域では薬物治療が中心となり、血漿中に存在する様々な薬物が定量を妨害する可能性は高い。そのため本章では、比較的入手しやすい試薬を IS として使用し、さまざまな併用薬が投与されている患者における血漿中ベプリジル濃度測定法を構築することを目的とした。併せて測定条件における日内および日差再現性、血漿を凍結保存した場合の薬物の安定性について検討した。さらに、臨床上ベプリジルと高頻度に併用されていた薬物による定量妨害について検討した。

第 2 節 方法

第 1 項 血漿中ベプリジル濃度測定法

1) 使用薬物および試薬

ベプリジル塩酸塩は ALEXIS BIOCHEMICALS (New York, USA) より、1-ナフトール、トリエチルアミン、リン酸、水酸化ナトリウム、塩酸、アセトニトリル、エタノール、メタノールは和光純薬工業株式会社 (大阪) より購入した。全ての試薬は特級または HPLC 分析

用を使用した。

2) 検体採血および血漿処理

ブランク用の血液はヘパリン添加採血管に回収した。得られた血液は 25°C, 400 g にて 20 分間遠心分離し、得られた血漿をプラスチックチューブに分取したのち、-20°C で保存した。

3) サンプル調製

サンプル調製法を Chart 1 に示した。500 μ L リン酸カリウム緩衝液 (100 mM, pH 7.4), 500 μ L IS 溶液 (アセトニトリルに溶解した 2.5 μ g/mL 1-ナフトール溶液), 20 μ L アセトニトリルあるいは各濃度のベプリジル溶液 (溶媒: アセトニトリル) を血漿 500 μ L に添加した。ベプリジルおよび 1-ナフトールは, 2.5 mL の *n*-ヘキサンを加え振盪機 (MULTI SHAKER MS-300, ASONE, 大阪) を用いて 2,000 rpm, 10 分間振盪することにより抽出した。遠心機 (centrifuge 5702, Eppendorf, Hamburg, Germany) で室温下, 1,000 g にて水層と *n*-ヘキサン層に分離した後, *n*-ヘキサン層をガラス試験管に分取した。残渣に *n*-ヘキサンを 2.5 mL 加え, 再度抽出した。得られた *n*-ヘキサン層 (5.0 mL) は試験管濃縮器 (TC-8 concentrator, Taitec, 埼玉) により 37°C で蒸発乾固させた。得られた残渣は 250 μ L の移動相に溶解して再度遠心分離したのち, 上清 50 μ L を HPLC の注入試料とした。

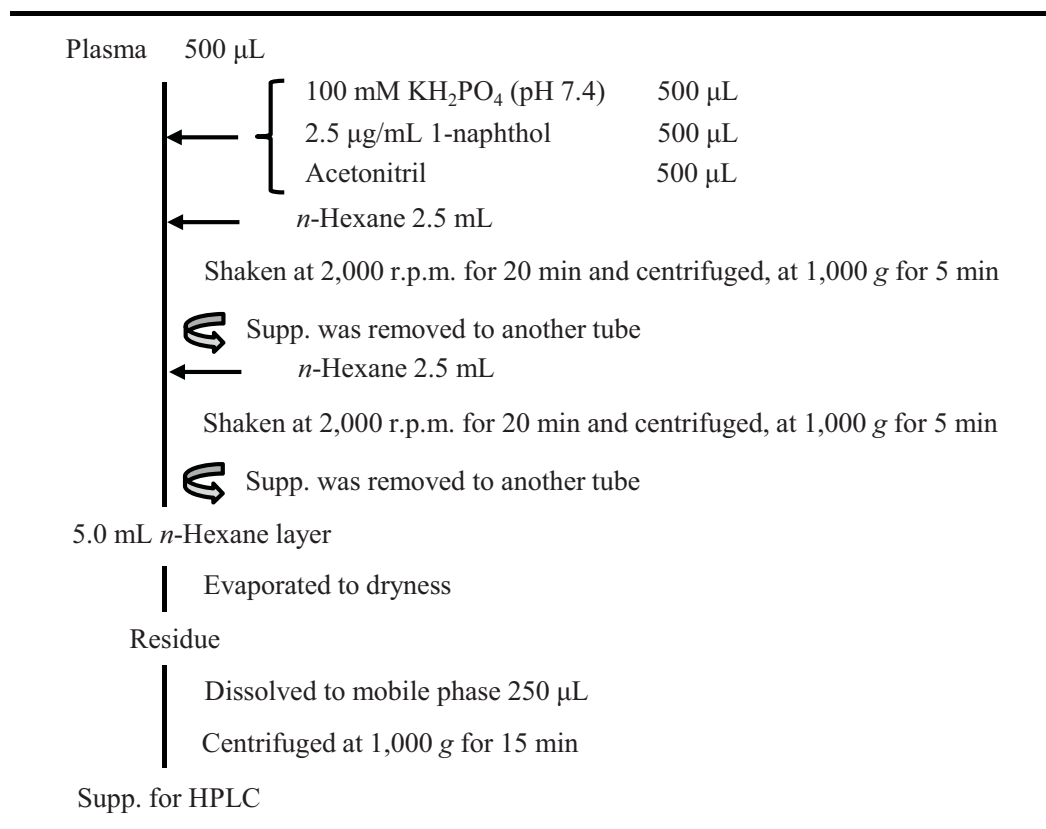


Chart 1. Procedure for Sample Preparation to Measure Bepridil in Human Plasma

4) HPLC 条件

HPLC システム (Shimadzu, 京都) はポンプとして LC-10A, カラムオーブンとして CTO-10AS, 紫外外部吸収検出器として SPD-10A を使用し, 分析カラムには Inertsil C₈-3 column (4.6×150 mm, 5.0 μ m particle size, GL Sciences, 東京) を使用した. データ取得には インテグレータ (C-R8A) を用いた. 移動相は過去に報告されている組成^{25, 26)} に修正を加え, 50 mM リン酸水溶液 (pH 3.0):メタノール:アセトニトリル:トリエチルアミン (57:3:40:1, v/v) とした. カラム温度は 55°C とし, 流速は 0.9 mL/min に設定した. 検出波長は 254 nm とした.

5) 血漿由来成分の測定系への干渉の確認

血漿由来ピークがベプリジルおよび 1-ナフトール由来ピークに干渉しないことは, ベプリジル未投与の異なる 4 名の被験者より, それぞれの同意の上で提供された血漿を用い

て確認した.

6) 直線性

検量線は 5 濃度の標準ベプリジル溶液 (25, 100, 250, 500, 1,000 ng/mL) を用いて測定のとど作成した. 1 濃度ごとに 500 μ L のブランク血漿に各設定濃度の 25 倍に調製したベプリジル溶液 (溶媒: アセトニトリル) を 20 μ L ずつ添加した. 血漿中ベプリジル濃度は最小二乗法により回帰直線を算出して以下の式により求めた.

$$\text{Bepridil concentration } (\mu\text{g/mL}) = \alpha \times x + \beta$$

x はベプリジル/IS のピーク面積比, α , β をそれぞれ回帰直線によって得られた傾きおよび y 切片とした.

7) 検出限界および定量限界

標準ベプリジル溶液を用いて作成した検量線を使って, 検出限界および定量限界を決定した. すなわち検出限界は本測定法にて検出できる最小濃度とし, 定量限界は測定時に許容範囲の精度および真度を得られる最低濃度とした.

8) 測定精度

2.5, 250, 1,000 ng/mL となるように標準ベプリジル溶液を添加したブランク血漿 (ベプリジル添加血漿) を用いて, 血漿中ベプリジル濃度測定における日内および日差再現性の精度を求めた. 測定真度は濃度および理論値に対する割合として算出した. 測定精度 (CV%) はベプリジル添加血漿 (2.5, 250, 1,000 ng/mL) を用いて得られた濃度より, 変動係数として算出した.

9) 測定条件における分離の特異性

ベプリジル投与患者の診療録を調査し、ベプリジルと併用頻度の高かった 32 種類の薬物を抽出した。なお、患者らの氏名、患者番号などは匿名化して取り扱った。これらの薬物 (Table 2) を対象に、HPLC におけるベプリジルと 1-ナフトール由来ピークへの干渉の有無を検討した。対象薬物はそれぞれの想定される最高血中濃度に対応した濃度となるように移動相に溶解したのち、HPLC へ注入した。ベプリジルおよび 1-ナフトール由来ピークの近傍にピークが得られた薬物については 500 μ L の 100 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4), 500 μ L アセトニトリル, 500 μ L ブランク血漿を加えた後、*n*-ヘキサンにより抽出した。抽出の対象となった薬物は 5 種類であった。

10) 血漿試料の保存条件の妥当性

-20°C にて 42 日間まで保管した場合の血漿中のベプリジルの安定性を、2.5, 250, 1,000 ng/mL において検討した。ベプリジル濃度の低下率は当日調製した非冷凍ベプリジル添加血漿と比較することにより算出した。

11) 統計処理

結果はすべて平均値 \pm 標準偏差 (mean \pm S.D.) で表した。

第 2 項 臨床患者における血漿中ベプリジル濃度測定

1) 対象患者

研究プロトコルは市立札幌病院倫理委員会の承認の下に、書面による患者からの同意を得た上で行った。対象は外来にて持続性心房細動の洞調律維持を目的に、ベプリジル塩酸塩水和物錠 (100~200 mg/day) を経口投与している患者 5 名とした。採血日の朝は対象患者にベプリジル塩酸塩水和物錠の服用を中止させ、来院時に採血した。

2) 測定方法

第 1 項 2), 3), 4) に示した方法にて試料を調製し, 血漿中ベプリジル濃度を測定した.

3) 統計処理

結果は全て平均値±標準偏差 (mean±S.D.) で示した. また, 精度は変動係数として示し, 真度は理論値からの乖離度で示した.

第 3 節 結果

第 1 項 血漿中ベプリジル濃度測定法の構築

1) HPLC 条件の最適化

Taguchi ら²⁶⁾の方法に準拠して, HPLC の移動相を 2% (w/v) トリエチルアミン含有 10 mM リン酸二水素カリウム緩衝液:アセトニトリル (60: 40, v/v), カラムとして C₁₈カラム (4.6×150 mm, 4.5 μm particle size) を用いてベプリジルの測定を試みた. しかしながらベプリジルの溶出に 30 分以上要したため, C₈カラムに変更し, また, 血漿由来のピークをベプリジルおよび 1-ナフトール由来のピークと分離するために, 移動相のアセトニトリルおよびメタノールの割合を調整した.

2) 特異性

ブランク血漿および 250 ng/mL ベプリジルと 2.5 μg/mL 1-ナフトール となるようにそれぞれを添加した血漿より得た試料のクロマトグラムを Fig. 3 に示した. ブランク血漿からはベプリジルおよび 1-ナフトールに干渉するピークは検出されなかった (Fig. 3A). ベプリジルおよび 1-ナフトール由来ピークの溶出時間はそれぞれ 12.6 分および 7.5 分であり (Fig. 3B), 血漿由来の 5.3, 6.7, 10 分付近のピークとは完全に分離することができた. また, IS 候補として 1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸, *p*-アミノ安息香酸エチルや *p*-アミノ安息

香酸ブチルを試行したものの、1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸は溶出時間がベプリジルに近く、*p*-アミノ安息香酸エチル、*p*-アミノ安息香酸ブチルのピークは血漿由来ピークに干渉されたため、IS として適さなかった。さらに、ベプリジルとの併用頻度の高い 32 種類の医薬品を移動相に溶解したものを試料として測定したところ、5 種類の医薬品（バルサルタン、ロサルタン、ワルファリン、グリクラジド、ロバスタチン）でベプリジルあるいは IS 由来ピークの近傍にピークが得られたが、空白血漿にこれらの医薬品を添加した後、抽出して得られたどの試料もベプリジルおよび IS 由来のピークを干渉しなかった (Table 2).

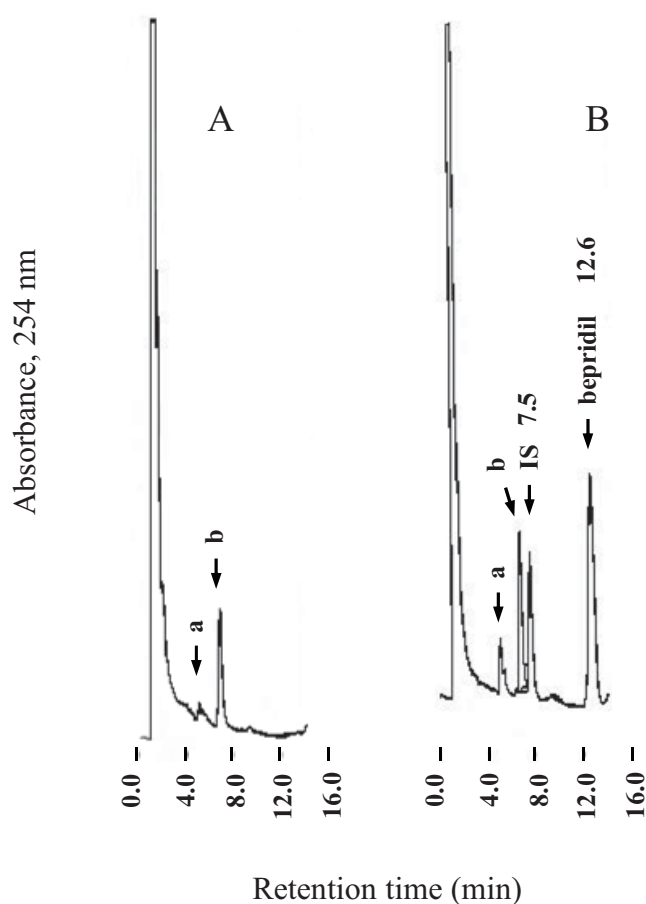


Fig. 3. Typical Chromatograms of Blank Plasma (A) and Plasma Spiked with 250 ng/mL of Bepridil and 2.5 µg/mL IS (1-naphthol) (B)

Peaks a and b originate from plasma. The retention times of bepridil and IS are 12.6 and 7.5 min, respectively.

Table 2. Retention Time and Effect of Extraction of Cardiovascular Medicines Frequently Co-administered to Patients with Bepridil

Chemical name	Brand name*	Retention time (min)	
		Before extraction	After extraction
Bepridil hydrichloride hydrate	BepriCOR [®]	12.6	12.6
1-Naphtol (IS)	-	7.5	7.5
Calcium channel blocker			
Amlodipine besilate	Amlodin [®]	3.9	-
Cilnidipine	Atelec [®]	No peak	-
Nilvadipin	Nivadil [®]	No peak	-
Verapamil hydrochloride	Vasolan [®]	4.2	-
Diltiazem hydrochloride	Herbesser [®]	3.0	-
ARB			
Olmесartan medoxomil	Olmotec [®]	10.3	-
Valsartan	Diovan [®]	13.4	No peak
Candesartan cilexetil	Blopress [®]	No peak	-
Losartan potassium	Nu-Lotan [®]	8.0	No peak
Anti-platelet agents			
Aspirin	Bufferin [®]	3.5	-
Clopidogrel sulfate	Plavix [®]	No peak	-
Warfarin potassium	Warfarin [®]	13.9	No peak
Ticlopidine hydrochloride	Panaldine [®]	10.8	-
Antidiabetic agents			
Glimepiride	Amaryl [®]	No peak	-
Gliclazide	Glimicron [®]	13.6	No peak
Metformin hydrochloride	Glycoran [®]	1.4	-
b-blocker			
Bisoprolol fumarate	Maintate [®]	No peak	-
Propranolol hydrochloride	Inderal [®]	2.5	-
Diuretics			
Furosemide	Lasix [®]	4.6	-
Trichlormethiazide	Fluitran [®]	3.9	-
Inotropic agents			
Digoxin	Digosin [®]	No peak	-
Metildigoxin (methyldigoxin)	Lanirapid [®]	6.9	-
Anti-anginal agents			
Isosorbide mononitrate (MSDN)	Itorol [®]	No peak	-
Nicorandil	Sigmat [®]	2.6	-
Others			
Enalapril maleate	Renivace [®]	No peak	-
Doxazosin mesilate	Cardenalin [®]	No peak	-
Amezinium metilsulfate	Risumic [®]	10.0	-
Rosuvastatin calcium	Crestor [®]	8.4	No peak
Pitavastatin calcium	Livalo [®]	10.7	-
Allopurinol	Zyloric [®]	1.6	-
Fursultiamine hydrochloride	Alinamin F [®]	2.0	-
Pranlukast hydrate	Onon [®]	No peak	-

*: The brand names approved in Japan.

3) 直線性

血漿中ベプリジル濃度 5 点 (25~1,000 ng/mL) のピーク面積比 (ベプリジル/IS) は濃度に依存した良好な直線性を示した (Table 3, Fig. 4). それぞれの濃度における測定精度は 0.5~4.6%, 測定真度は 97.7~103.0% であり (Table 3), 相関係数は 0.999 以上となった (Fig. 4).

Table 3. Linearity of the Relationship between Nominal and Measured Concentrations of Bepridil (n = 6)

Nominal concentration (ng/mL)	Measured concentration (ng/mL, mean \pm S.D.)	Precision (CV%)	Accuracy (%)
25	25.8 \pm 1.1	4.4	103.0
100	99.4 \pm 4.6	4.6	99.4
250	244.2 \pm 2.8	1.2	97.7
500	499.6 \pm 2.6	0.5	99.9
1000	998.5 \pm 7.0	0.7	99.8

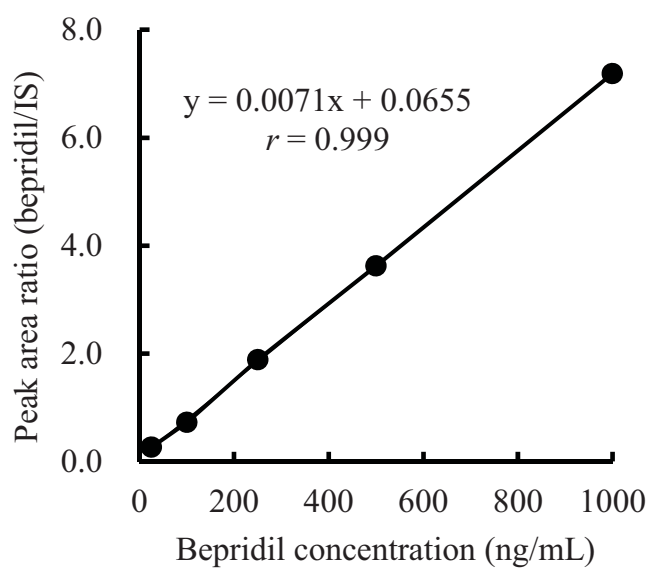


Fig. 4. Calibration Curve of Bepridil

4) 測定感度

今回構築した血漿中ベプリジル濃度測定法における測定限界および定量限界はそれぞれ 5, 10 ng/mL であり, S/N (signal/noise) 比はそれぞれ 3.0 および 8.0 以下であった (データ未記載). また, 定量限界における測定精度および測定真度はそれぞれ 3.2% および 95.1% であった (Table 4).

Table 4. Validation of Bepridil Determination at Lower Concentration

Nominal concentration (ng/mL)	Measured concentration (ng/mL)	Precision (CV%)	Accuracy (%)
5	—	—	—
10	9.5±0.3	3.2	95.1

Measured concentration represents the mean±S.D. of 4 determinations.

5) 日内および日差再現性

3 点の血漿中ベプリジル濃度 (25, 250, 1,000 ng/mL) において, 測定精度は日内および日間で 5.0% 以下だった. 日内における測定真度は 98.0~101.6% であり, 日間では 96.1~100.8% (Table 5) であった. また, 抽出回数に依存して測定精度と測定真度は向上した (データ未記載).

Table 5. Validation of Quality Control Samples Obtained during Within-day and Between-day Validation

Quality control sample	Low	Medium	High
Nominal concentration (ng/mL)	25	250	1000
Within-day (n = 9)			
Mean ± S.D. (ng/mL)	24.7 ± 1.2	253.9 ± 11.6	979.7 ± 49.4
Precision (CV%)	5.0	4.6	5.0
Accuracy (%)	98.9	101.6	98.0

Between-day (n = 4)			
Mean ± S.D. (ng/mL)	25.2 ± 0.8	250.8 ± 2.8	961.5 ± 38.2
Precision (CV%)	3.1	1.1	4.0
Accuracy (%)	100.8	100.3	96.1

6) 抽出効率

3 点の血漿中ベプリジル濃度 (25, 250, 1,000 ng/mL) における抽出効率は $104.4 \pm 3.5\%$, $109.9 \pm 1.1\%$, $110.8 \pm 1.0\%$ であった (データ未記載). IS の抽出効率は 22.9~24.8% であった.

7) 凍結血漿中の保存性

-20°C 下における 25, 250, 1,000 ng/mL のベプリジルの濃度は 21 日まで凍結保存前における濃度の 100% を保持しており, 良好であった (Fig. 5) が, 保存期間の延長に伴い血漿由来ピークが夾雑ピークとして出現した. また, 250, 1,000 ng/mL では 42 日まで凍結保存前のベプリジル濃度を維持していたものの, 25 ng/mL では 42 日までに 82.6% に減少した.

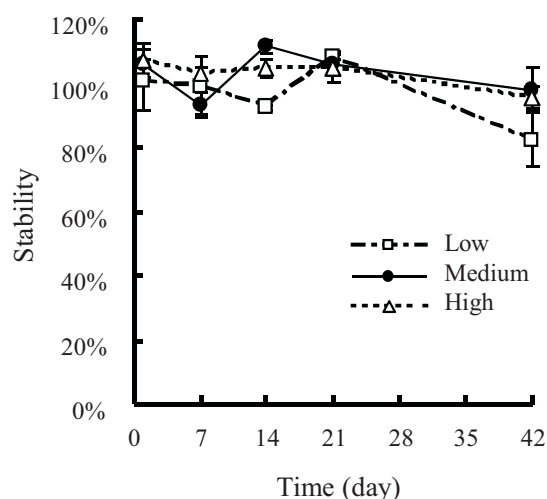


Fig. 5. Time-course of Stability of Bepridil Stored in Plasma at -20°C

Quality control samples of low (\square), medium (\bullet) and high (Δ) concentration were prepared to 25, 250, 1,000 ng/mL, respectively. Each data represents the mean \pm S.D. of 3 samples.

8) 患者検体の測定

心房細動を有する患者 5 名の血漿中のベプリジル濃度を測定した. 採血はそれぞれの患者がベプリジル塩酸塩水和物錠を服用する直前に行った. 血漿中ベプリジル濃度の投与

直前値は 233.9~347.4 ng/mL であり, 5 名の心電図における波形は SR を示していた (Table 6).

Table 6. Background and Concentration of Bepridil in Plasma of 5 Patients with Af

Patient no.	Age (years)	Gender (M/F)	Weight (kg)	Dose (mg/day)	Measured concentration (ng/mL, mean \pm S.D.)	Precision (CV%)
1	85	F	51.0	100	312.7 \pm 2.0	0.6
2	61	M	52.9	200	309.3 \pm 1.8	0.6
3	69	F	57.0	100	327.7 \pm 15.9	4.9
4	65	F	46.2	200	300.4 \pm 4.9	1.6
5	84	F	68.4	100	233.5 \pm 3.7	1.6

第 4 節 考察

Ng ら²⁵⁾ および Taguchi ら²⁶⁾ が報告した血漿中ベプリジル濃度測定法では C₁₈ カラムを使用し, 溶離液にはメタノールを用いていた. そこでまず, 本研究においても同様の条件により定量を試みたが, ベプリジルの溶出が遅く, 迅速な測定には適さなかった. そこで, C₈ カラムを用いて検討したが, ベプリジルは検出されたものの血漿中成分により干渉されたため, さらに溶離液を変更し, 血漿由来成分とベプリジルを分離することができた. IS には 1-ナフトールを用いることでベプリジル由来のピークとの分離は良好となり (Fig. 3), 本法を血漿中ベプリジル濃度測定法として確立することができた. また, Ng ら²⁵⁾ は *n*-ヘキサンによる 1 回抽出法によって血漿からベプリジルを抽出した場合, 抽出効率は 51.6% であったことを報告している. これと同様の方法をとったところ, IS の抽出は不十分であり, 抽出効率も不安定であった. そこで, *n*-ヘキサンによる抽出操作を 2 回とすることで 1-ナフトールの抽出効率を改善し, 定量を可能とした. 抽出条件は塩基性薬物であるベプリジルの抽出効率を上げるために抽出過程における pH は 7.4 に調整したため,

弱酸性化合物である 1-ナフトールの抽出効率は低下した。しかし、他の IS 候補薬物である 1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸, *p*-アミノ安息香酸エチル, *p*-アミノ安息香酸ブチルよりも高い抽出効率であったこととアルカリ条件下あるいは酸性条件下など pH を変えて検討したところ、抽出効率が最も安定していたことから 1-ナフトールを IS として採用した。

本測定法におけるペプリジルの検量線は、25~1,000 ng/mL の濃度範囲においてほぼ原点を通る良好な直線性を示した (Table 3, Fig. 4)。さらに、25, 250, 1,000 ng/mL に調製したペプリジル添加血漿における日内および日差再現性は、変動係数ならび理論値からの乖離度が共に 5% 以内であり、精度と真度は良好であった (Table 5)。Ng らの方法²⁵⁾では精度および真度はそれぞれ 2.0~6.3%, 98.2~102.6% と報告されており、我々の方法はこれらとほぼ同等であった。これより、本測定法は 25~1,000 ng/mL における血漿中ペプリジル濃度の正確な測定が可能であることが示された。また、本測定法では 5 ng/mL で検出限界以下となり、10 ng/mL では精度および真度も良好であったことから、10 ng/mL を本測定法の定量限界とした (Table 4)。Ng ら²⁵⁾は IS として製薬企業からの薬品提供が必要なペプリジル誘導体 (Org30270) を用い、ヒト血漿 500 μ L を用いた場合の定量限界が 10 ng/mL だったことを報告している。また、Taguchi ら²⁶⁾は IS を用いずに絶対検量線法を用いている。本測定法は IS として入手が容易かつ分離が良好な 1-ナフトールを用いて、既報と同等の感度で血漿中ペプリジル濃度の測定が可能であることが示された。

患者検体は医療機関で採血後に血漿を分離し、凍結保存の後に搬送して測定を行うため、凍結保存時の血漿中ペプリジルの安定性を検討する必要がある。そこで、患者の血漿中ペプリジル濃度を想定した上で血漿の凍結による影響を確認する目的とし、25, 250, 1,000 ng/mL の 3 濃度に調製したペプリジル添加血漿を凍結保存して、ペプリジルの安定性を経時的に検討した。その結果、当日に調製した試料と凍結保存した試料におけるペプリジル濃度は、各濃度において 21 日目まではいずれも差がないことが示された。しかしながら、42 日目までに低濃度でのペプリジルの濃度低下が認められたことから (Fig. 5)、採血から測定まで 3 週間は保存可能であることが示された。

臨床において、1 名の患者に複数の薬剤が用いられることはまれではなく、特に循環器

領域の疾患においては多種類の薬物が併用される場合が多い。また、併用薬物のほとんどは長期間投与されるため、高頻度に用いられる薬物については、あらかじめベプリジルの測定に対する干渉の有無を検討する必要がある。そこで、ベプリジルによる治療を受けている患者が使用し、かつ併用頻度の高い 32 種類の薬物について定量妨害の有無を検討した。その結果、それぞれを移動相に溶解した試料を直接測定した場合には、5 種類の薬物でベプリジルおよび IS の溶出時間近傍にピークが出現した (Table 2)。しかし、これらの薬物に対して血漿中ベプリジル濃度測定時と同様に *n*-ヘキサンによる抽出操作を加えた場合には、いずれの薬物もピークは消失した。したがって、本測定法において今回検討した薬物の未変化体によりベプリジルの測定が妨害される可能性は低いことが示された。以上の結果から、本測定法により患者の血漿中ベプリジル濃度は測定可能であると考えられた。

また、臨床で Af に対してベプリジル (100~200 mg/day) を服用している患者の投与直前における血漿中ベプリジル濃度を測定したところ、その値は 233.9~347.4 ng/mL であった (Table 6)。Benet ら²⁷⁾ はベプリジルを 200 mg/day (1日2回) 服用している 28 名の患者の投与直前における血漿中ベプリジル濃度は 456 ± 326 ng/mL であったことを報告している。また、Taguchi²⁶⁾ らは、不整脈の治療として 100~200 mg/day のベプリジルを服用している 34 名の日本人患者における投与後 2~24 時間値は 100~1,500 ng/mL であったことを報告している。それぞれの研究は、採血時間が被験者によって異なり、健常成人²⁸⁾ あるいは末期腎不全 (End stage renal disease: ESRD)、²⁹⁾ もしくは心疾患を持たない患者における単回投与時の血中薬物濃度推移であるなど、必ずしも同じ方法をとっておらず、^{26, 27)} 同じ採血点で評価した本研究で得られた値とは直接比較することはできない。しかしながら、今回得られた結果はこれまでの報告との間に大きな差のないものであった。

本研究ではヒト血漿中におけるベプリジル濃度の簡便な測定法を確立し、併用薬として用いられる薬物による定量への干渉がないことを確認した。この方法を用いて次の章では、血漿中ベプリジル濃度と臨床効果を評価するにあたっての適切な採血時間を決定するための検討を行った。

第 2 章 経口投与後における血漿中ベプリジル濃度のモニタリングポイントの妥当性に関する検討

第 1 節 緒言

抗不整脈薬であるベプリジルは、Af に対して用量依存的に除細動効果を示すが、副作用として QT 間隔延長を伴う重篤な催不整脈作用を生じる可能性も指摘されている。¹¹⁾ そのため、血漿中ベプリジル濃度と除細動効果および副作用発現との間には相関性があると考えられている。しかし、心筋細胞内へのベプリジルの取り込みおよび蓄積が生じるという報告はあるものの、^{30, 31)} 薬理作用点における組織内濃度と血漿中濃度の関係あるいは、これらの濃度と臨床効果の関係について詳細な検討は行われておらず、適切な血中薬物濃度域は十分に明らかにされていない。²³⁾

一般的に、薬物投与後の血漿中濃度は投与後の経過時間により変化することから、TDM を実施する際には、血漿中濃度を評価するためにどの時点で採血するか、すなわち投与後から次回投与までの間のどの時点で採血するか、および投与開始から何日目に採血をするか、などを定めることが重要である。年齢、性別、生活習慣や病態などの多様性もあり、ヒトの薬物動態は個体差が大きく、最高血中濃度 (maximum concentration: C_{max})、最小血中濃度 (minimum concentration: C_{min}) や最高血中濃度到達時間 (maximum drug concentration time: T_{max}) は必ずしも同じではない。特に経口的に投与される薬剤の場合には消化管吸収過程の要因が増えるため、その採血ポイントはできる限りこれらの影響が少ない時点を選択することが望ましい。しかしながら、ベプリジル服用後の血漿中濃度推移に関する報告は極めて少ない。^{29, 32)} 国内では、杉ら³³⁾ が複数のベプリジル投与患者における服用後の血漿中濃度を測定したところ、服用後の経過時間に関わらず、血漿中ベプリジル濃度は大きく変化しないことを報告しているのみである。このように、患者にベプリジルを経口投与した際の、次回投与までの血漿中濃度を経時的に測定した報告はなく、ベプリジルの臨床効果と血漿中濃度の関係性を評価するための適切な採血点は明らかにされていない。そこで本章では、Af に対しベプリジルによる薬物治療を行っている患者の服用後の血漿中濃度推

移を測定し、ベプリジルの血漿中濃度と臨床効果の関係を明確にするための最適な採血点を探索することを目的とした。また、3名の患者を対象として得られた血漿中ベプリジル濃度と臨床経過を比較し、その有用性について評価した。

第2節 方法

1) 使用薬物および試薬

第1章、第2節、第1項、1) に準じた。

2) 対象患者

本研究は市立札幌病院倫理委員会の承認の下に、書面による患者からの同意を得た上で行った。経口投与後、次回投与までの血漿中濃度推移の検討では、Afの治療を目的に市立札幌病院循環器内科に入院した患者のうち、ベプリジル服用後に経時的に採血可能であった3名(2名は1日分、1名は2日分:症例1~3)を対象とした。採血点は、投与直前および投与後12時間までの5~7点とした。投与直前における血漿中ベプリジル濃度の
個体間および個体内変動の検討では、定常状態到達後に複数日にわたり投与直前の採血が可能であった7名(6名は2日分、1名は8日分:症例4~10)を対象とした。投与直前濃度と臨床経過に関する検討では、Afによる心電図上の不正な波形を洞調律化することを目的に、ベプリジル塩酸塩水和物錠(100~200 mg/day)の経口投与を開始した患者3名(症例11~13)とした。採血はすべて投与直前に行った。

3) 調査項目

ベプリジル塩酸塩水和物錠の処方状況、併用薬物、Afの出現頻度、QT間隔、心拍数などの臨床所見のほか、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(aspartate amino transferase: AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(alanine amino transferase: ALT)、血清クレアチニン(serum creatinine: Scr)、血中尿素窒素(blood urea nitrogen: BUN)などの肝機能・腎機能

検査値はカルテより調査した。なお、クレアチニンクリアランス (creatinine clearance: Ccr) は Cockcroft-Gault 式³⁴⁾より算出した。

Cockcroft-Gault 式：【男性】 $(140 - \text{Age}) \times \text{Weight} / (72 \times \text{Scr})$

【女性】 $(140 - \text{Age}) \times \text{Weight} \times 0.85 / (72 \times \text{Scr})$

Weight: kg, Scr: mg/dL

4) 血漿中ベプリジル濃度測定法

第 1 章, 第 2 節, 第 1 項, 2), 3), 4) に準じた。

5) 有効性および副作用判定

SR および Af, 心房粗動 (atrial flutter: AFL) の判断は医師が行い, QT 間隔は 12 誘導心電図から測定した。また、Yasuda らの報告¹²⁾に基づき、QT 間隔は 0.52 秒以内を許容範囲とした。

第 3 節 結果

第 1 項 ベプリジル経口投与後の血漿中ベプリジル濃度推移と採血点の妥当性

1) ベプリジル経口投与後の血漿中ベプリジル濃度推移

ベプリジル服用後 5~12 時間まで経時的に採血した 3 症例における血漿中濃度推移を Fig. 6 に示した。症例 1 では投与直前および 1 回 50 mg (100 mg/day, 1 日 2 回) にて経口投与後, 1~12 時間後の計 7 点の血漿中濃度を得た。投与直前の血漿中濃度は 197 ng/mL であったが, 投与 2 時間後には 167 ng/mL に低下した。その後, 血漿中濃度は上昇し, 投与 6 時間後に 273 ng/mL となった後に再び減少し, 服用 12 時間後には投与直前と同レベルとなった (Fig. 6A)。

症例 2 では投与直前および、1 回 100 mg (200 mg/day, 1 日 2 回) にて経口投与後、0.5 ~8.5 時間後の計 6 点における血漿中ペプリジル濃度を得た。なお、本症例はペプリジル投与直後から 4.5 時間後まで透析を施行していた。投与直前の血漿中ペプリジル濃度は 132 ng/mL であったが、投与 0.5 時間後には 117 ng/mL に低下した。その後、透析終了直前である 4.5 時間後に 346 ng/mL まで上昇し、その後再び減少した (Fig. 6B)。

症例 3 は透析日および非透析日の 2 日間に、投与直前および、1 回 50 mg (150 mg/day, 1 日 3 回) にて経口投与後 4.5 時間までの各 5 点を得た。非透析日では投与直前の血漿中ペプリジル濃度は 629 ng/mL であったが、投与直後からすみやかに血漿中濃度は上昇し、服用 2.5, 3.5 時間後にそれぞれ 829, 834 ng/mL となり、その後、減少した (Fig. 6C)。一方、透析日では投与直前の血漿中ペプリジル濃度は 788 ng/mL であったが、投与 2.5 時間後には 743 ng/mL となった後に上昇し、投与 4.5 時間後には 931 ng/mL となった (Fig. 6D)。

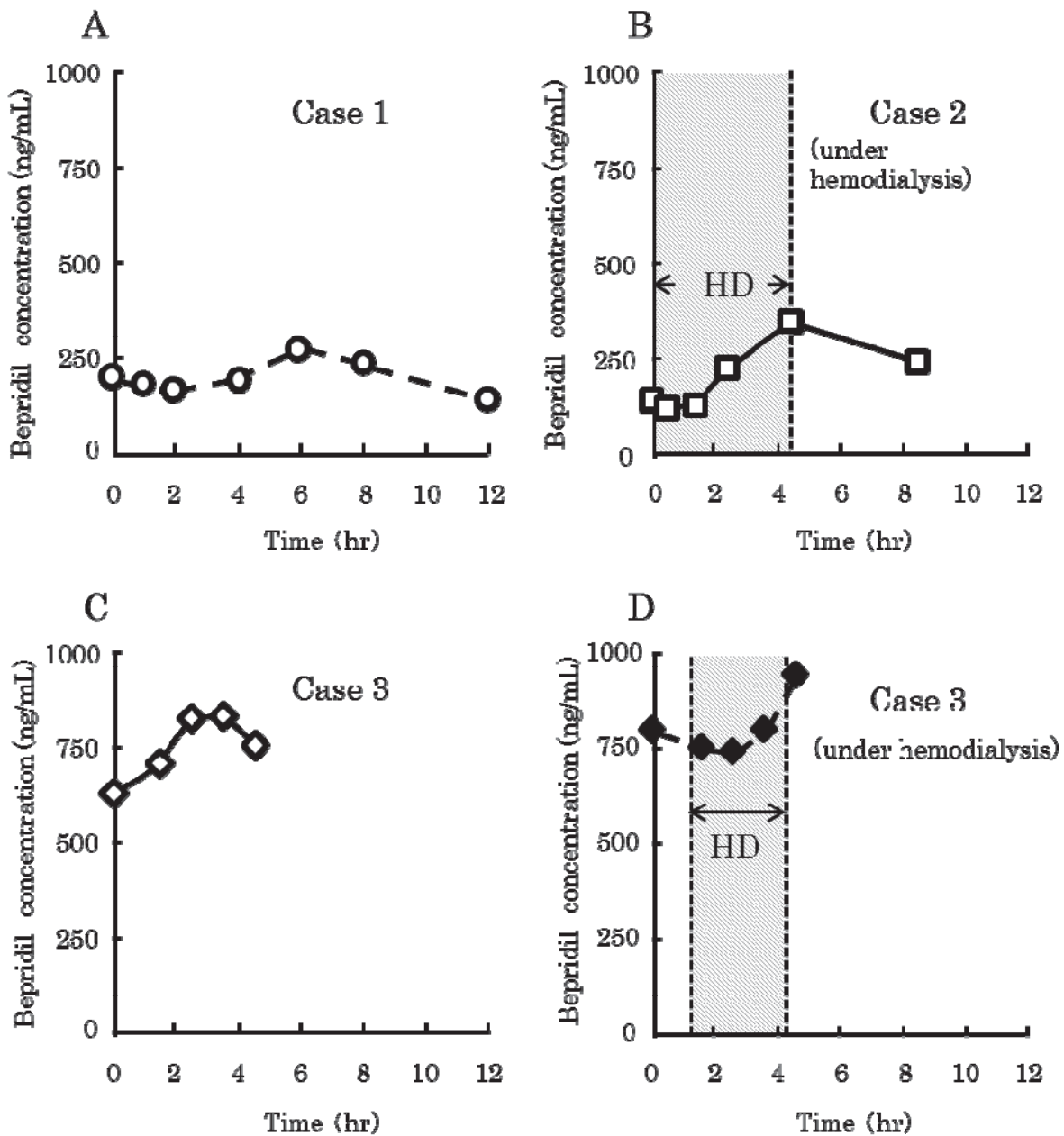


Fig. 6. Profile of Plasma Concentration of Bepridil in 3 Patients (Case 1-3)

The dosage of case 1, 2 and 3 were 100 mg/day, 200 mg/day and 150 mg/day, respectively. HD means hemodialysis.

2) 投与直前濃度の個体間変動と個体内変動

Fig. 7 には患者 7 名において異なる採血日の投与直前に得られた血漿中ベプリジル濃度を示した. 症例 4~9 では 2 回分の検体が得られ, 症例 4 (100mg/day) : 128, 129 ng/mL, 症例 5 (200 mg/day) : 256, 261 ng/mL, 症例 6 (200 mg/day) : 298, 265 ng/mL, 症例 7 (150 mg/day) : 482, 523 ng/mL, 症例 8 (200 mg/day) : 748, 742 ng/mL, 症例 9 (200 mg/day) : 898, 961 ng/mL であり, 同一患者内の投与直前における血漿中ベプリジル濃度に大きな差はな

かった. しかし, 患者間では最大で 4 倍程度の差があり, 1 日投与量で血漿中ベプリジル濃度を除して評価した場合にもその差は解消されなかった (Fig. 8). 症例 10 (100 mg/day) では他の症例と比べて 1 日投与量で補正することによる血漿中ベプリジル濃度の変化が大きかったが (Fig. 7, 8), 病態や臨床検査値に大きな特徴はなかった. また 8 日分の投与直前値を得ることができた症例 10 の血漿中ベプリジル濃度は 503 ± 31 ng/mL であり, 投与直前における血漿中濃度の変動係数は 6.1% と小さかった.

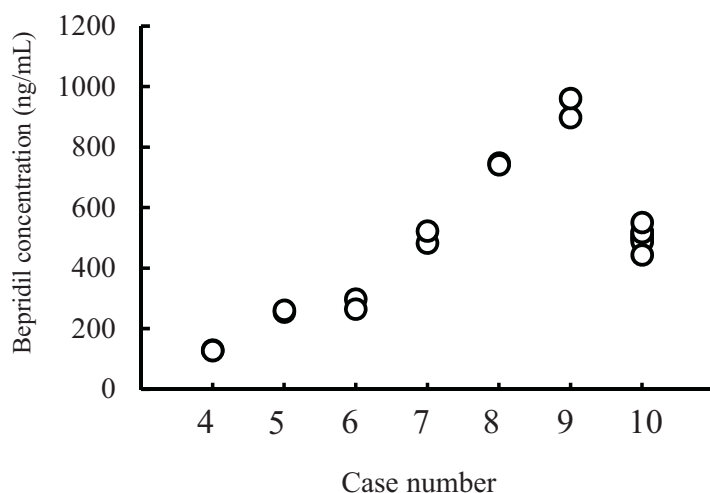


Fig. 7. Plasma Concentration of Bepridil just before Dosing on Steady-state

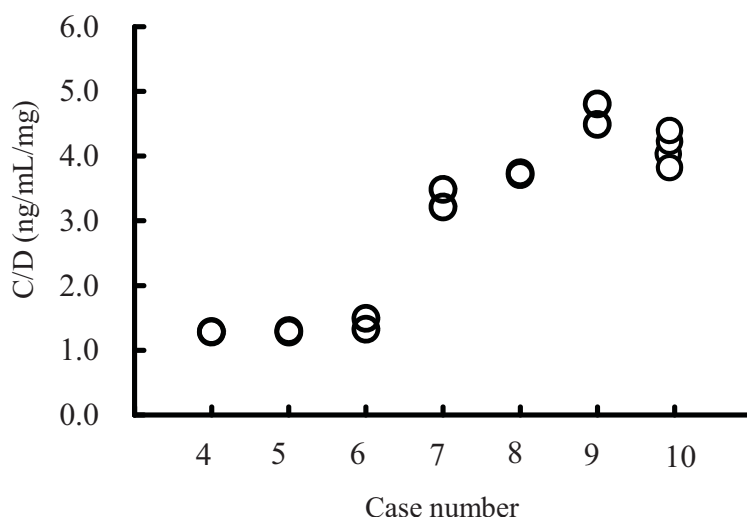


Fig. 8. C/D Ratio of Bepridil just before Dosing on Steady-state
C/D ratio was calculated as plasma concentration/dose of bepridil.

第 2 項 投与直前濃度と有効性および副作用の関係

1) 症例 11

76 歳，女性．治療開始時の身長および体重はそれぞれ 154 cm, 44.8 kg だった．発作性心房細動 (paroxysmal atrial fibrillation: PAF)，高血圧症，陳旧性心筋梗塞などの既往があり，市立札幌病院循環器内科の外来にて加療中であった．2009 年 5 月上旬に夜間にトイレにおいて動悸および呼吸苦を自覚し，救急車にて同院へ搬入され，入院後に PAF が認められた．そのため電氣的除細動およびピルジカイニド，シベンゾリン，ベラパミルによる薬物治療を施行したが，依然として PAF は頻発していた．そのため，同月下旬にベプリジルを 100 mg/day より経口投与にて開始した．

Fig. 9 および Table 7 には症例 11 の血漿中ベプリジル濃度推移ならびにベプリジル投与開始以降の臨床経過を示した．ベプリジルを投与開始した後の血漿中ベプリジル濃度（投与直前値）は，投与開始 9 日目で 249 ng/mL, 15 日目で 462 ng/mL に上昇した．その後，18 日目に一時的に 367 ng/mL へ低下したものの，その後は 506 ng/mL で定常状態に達した (Fig. 9)．一方，臨床症状は投与開始 9 日目では Af が頻発していたものの，15 日目ではその頻度は減少しており，SR が維持される時間が長くなった．さらに投与開始 18 日目には，投与開始時に軽微に認められていた AST および ALT の高値は改善し (Table 7)，Af も認められなかったため投与開始 22 日目に退院となった．また，外来移行後も投与開始より 111 日目まで SR が維持されていた．心拍数，血圧，Scr，血清カリウム，AST，ALT， γ -GTP 値に大きな変動は認められなかった．投与 1 日目における Ccr は 45.4 mL/min であった．QT 間隔は投与開始 7 日目で 0.42 秒，19 日目には 0.49 秒となったが，41 日目には 0.46 に戻った (Fig. 9)．この症例では経口的にワルファリンカリウム，カルベジロール，ロスバスタチンカルシウム，アスピリン，クロピドグレル硫酸塩，オメプラゾールが併用されていた．

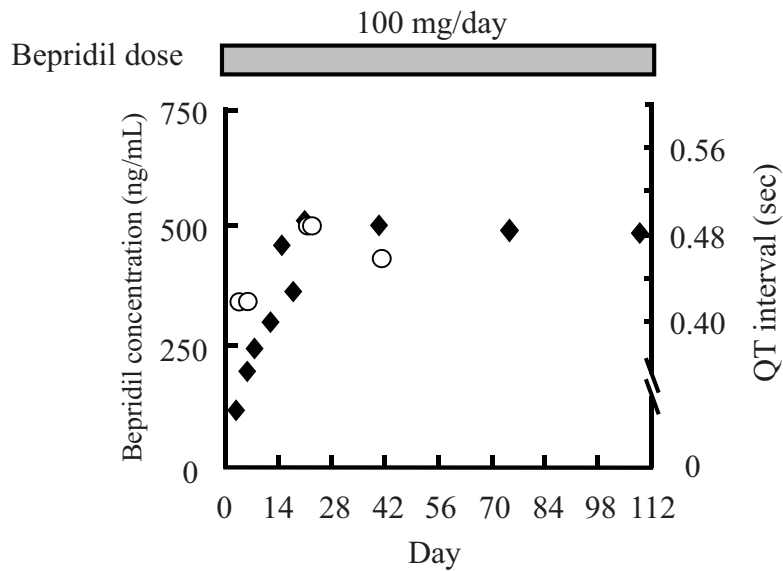


Fig. 9. Plasma Concentrations of Bepridil (◆) and QT Interval (○) on the ECG Waveform in Case 11

Table 7. Clinical Index and Laboratory Data in Case 11

day	1	9	15	75
date	5/29	6/6	6/12	8/11
Monitor cardiac electrogram	AF	AF	AF < SR	SR
Heart rate (bpm)	90-100	60-120	52	-
Blood press. (max/min mmHg)	112/60	-	-	-
Laboratory data				
BUN (mg/dL)	18	8	17	23
Scr (mg/dL)	0.8	0.7	0.8	0.8
Ccr (mL/min)	45.4	50.3	43.3	43.0
K (mEq/L)	4.1	3.7	4.6	4.2
AST (U/L)	46	22	19	21
ALT (U/L)	34	11	11	12
T-Bil (mg/dL)	0.8	0.8	0.4	0.5
γ-GTP (U/L)	32	-	25	24
Alb (g/dL)	2.7	-	3.5	3.9

2) 症例 12

71 歳, 男性. 治療開始時の身長および体重はそれぞれ 164 cm, 49.4 kg であった. 徐脈性の PAF および AFL に対して外来にて加療中であり, 重篤な不整脈により心肺停止を起こした既往歴があった. これらの心疾患に対し, 植込み型除細動装置 (implantable cardioverter defibrillator: ICD) を使用していたが, 2009 年の 3 月から 4 月にかけて誤作動が数回発生した. 原因は PAF および AFL の発生による軽微な刺激伝導異常を, ICD が重篤な不整脈によるものと誤認識したためと判断された. そのため, PAF および AFL に対してベラパミルによる心拍数調節治療が行われたものの改善されなかったことから, SR 維持治療を目的として 6 月半ばからベプリジル 200 mg/day を経口投与にて開始した. 投与開始 8 日目における血漿中ベプリジル濃度は 442 ng/mL に上昇し (Fig. 10), この時点で, PAF および AFL は消失していた (Table 8). その後, ベプリジルは 100 mg/day へ減量となり, 投与開始 162 日目の血漿中ベプリジル濃度は 316 ng/mL となったが (Fig. 10), PAF および AFL は出現しなかった (Table 8). 一方, 観察期間中の心拍数, 血圧, Scr, 血清カリウム, AST, ALT, γ -GTP 値に大きな変動は認められなかった (Table 8). 投与 1 日目の Ccr は 59.4 mL/min であり, QT 間隔は投与 1 日目では 0.44 秒だったが, 投与 5 日目に一過性に 0.48 秒に延長した (Fig. 10). この症例では経口的にワルファリン, ベラパミル, エナラプリル, フロセミドを併用していた.

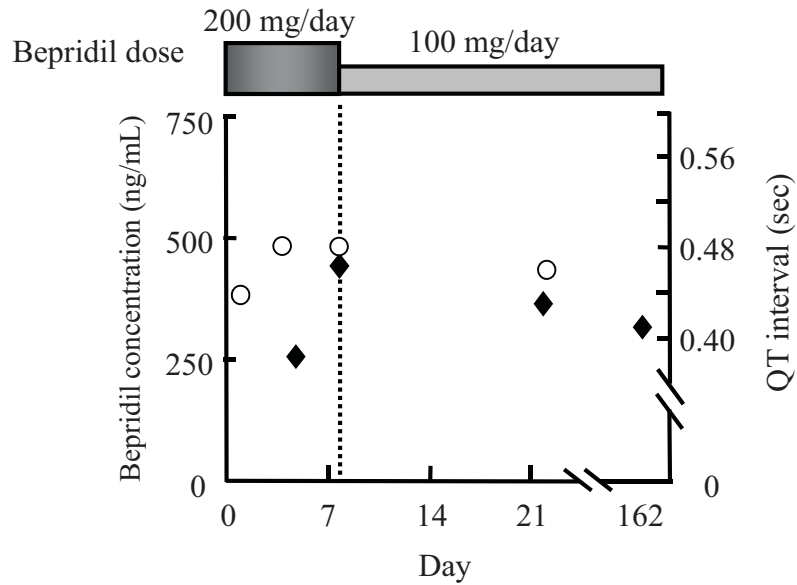


Fig. 10. Plasma Concentrations of Bepridil (◆) and QT Interval (○) on the ECG Waveform in Case 12

Table 8. Clinical Index and Laboratory Data in Case 12

day	1	8	22
date	6/12	6/19	7/3
Monitor cardiac electrogram	Pacing* ↔AFL	Pacing	Pacing + SR
Heart rate (bpm)	50-100	51	60
Blood press. (max/min mmHg)	-	-	98/66
Laboratory data			
BUN (mg/dL)	21	12	14
Scr (mg/dL)	0.8	0.9	0.8
Ccr (mL/min)	60.0	53.4	59.9
K (mEq/L)	3.6	4.0	4.1
AST (U/L)	15	15	16
ALT (U/L)	8	11	12
T-Bil (mg/dL)	1.3	0.9	1.0
γ-GTP (U/L)	18	19	22
Alb (g/dL)	4.5	4.4	4.6

* Pacing means good maintenance of SR by ICD.

3) 症例 13

74 歳, 男性. 身長および体重はそれぞれ 154 cm, 54.2 kg であり, 狭心症, 陳旧性心筋梗塞, 慢性心不全, 慢性腎不全などにより外来にて加療中であった. しかし, 2009 年 6 月中旬頃に呼吸苦を自覚するようになり, その後, 同月下旬に胸部レントゲンにてうっ血像が確認されたことから緊急入院となった. 入院後, PAF および AFL が頻回に出現し, アプリンジンやベラパミルを投与するも奏効しなかったため, ベプリジルの経口投与を 200 mg/day より開始した.

Fig. 11 および Table 9 には 症例 13 における血漿中濃度推移並びにベプリジル投与開始以降の臨床経過をそれぞれ示した. ベプリジルを投与開始した 4 日目における血漿中濃度は 401 ng/mL であり (Fig. 11), この時点では Af と SR を繰り返していたため用量を変更せずに投与を継続した. その後, 6 日目にモニター心電図上における波形は SR が得られていたものの, 血漿中ベプリジル濃度は 726 ng/mL に上昇し (Fig. 11), QT 間隔は 0.64 秒に延長していたためベプリジルの投与を中止した. しかし, 中止後 5 日目 (投与開始 11 日目) に Af が再発したため, 100 mg/day にてベプリジルの投与を再開した. この時の血漿中ベプリジル濃度は 574 ng/mL だった (Fig. 11). さらに再開より 5 日後 (投与開始 15 日目), 血圧低下と共に AST と ALT は一過性に軽微な上昇を認め (Table 9), 再開より 11 日目 (投与開始 21 日目) に血漿中濃度は再び 815 ng/mL に上昇した (Fig. 11). 同時に AFL は収束する傾向が認められたが, ベプリジルの投与量は 50 mg/day へ減量した. 投与開始より 40 日目の血漿中濃度は 286 ng/mL となり, 心電図上の波形は SR と Af を繰り返していたものの, 自覚症状は少なく安定した (Table 9). 観察期間中の AST, ALT 以外の臨床検査値に大きな変動はなかった.

また, 症例 13 では 1-コンパートメントモデルにもとづいて消失速度定数および消失半減期を求めた. 投与開始 7 日目のベプリジル投与中止 8.5 時間後における血漿中ベプリジル濃度は 790 ng/mL, 22.5 時間後では 616 ng/mL だったことから, 消失速度定数は 0.0178 hr^{-1} , 消失半減期は 38.9 時間と算出された.

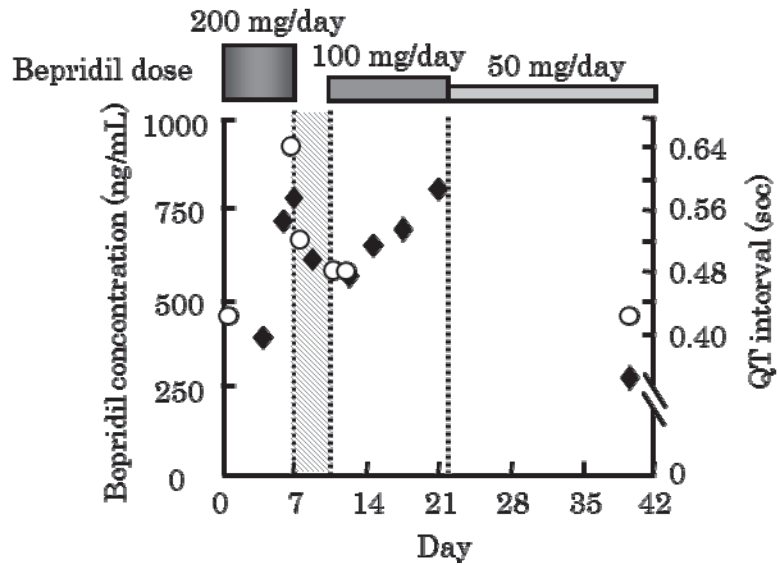


Fig. 11. Plasma Concentrations of Bepridil (◆) and QT Interval (○) on the ECG Waveform in Case 13

Table 9. Clinical Index and Laboratory Data in Case 13

day	2	6	12	15	40
date	7/11	7/15	7/21	7/24	8/18
Monitor cardiac electrogram	AF+AFL	SR	AF	AFL	AF:SR=4:1
Heart rate (bpm)	80-130	50-60	100	130	73
Blood press. (max/min mmHg)	-	128/50	120/64	80/54	112/74
Laboratory data					
BUN (mg/dL)	31	-	26	26	29
Scr (mg/dL)	2.5	-	2.4	2.5	2.1
Ccr (mL/min)	21.3	21	20.4	19.1	21.8
K (mEq/L)	4.0	3.8	4.4	5.1	4.3
AST (U/L)	27	22	18	28	18
ALT (U/L)	26	24	18	23	10
T-Bil (mg/dL)	0.7	0.8	0.7	0.9	0.8
γ-GTP (U/L)	-	32	34	36	29
Alb (g/dL)	-	3.0	3.2	3.4	3.3

第 4 節 考察

ペプリジルを経口投与後に血漿中ペプリジル濃度の上昇に要した時間は、症例 1 では投与後 2~4 時間、症例 2 では投与後 0.5~1.5 時間、症例 3 では投与後 0~1.5, 2.5~3.5 時間であり、個体間だけでなく個体内においても異なることが示された。Awni ら²⁹⁾ は慢性腎不全患者 6 名にペプリジル塩酸塩水和物 200 mg を一定量の水により経口投与し、血漿中ペプリジル濃度を服用直前および服用 0.5~168 時間後にかけて経時的に測定している。その結果、血漿中ペプリジル濃度の T_{max} は服用 2.6±1.6 時間後であり、血漿中濃度は患者間で変動の幅は狭いものの、差のあることを報告している。この報告では投与 10 時間前から投与 4 時間後まで絶食させ、投与 2 時間前から投与後 1 時間を経過するまで水分摂取制限し、かつ投与開始から 4 時間後まで座位状態で経過させるなど、厳しい条件下で検討されている。また、Wu ら³²⁾ は 5 名の健常成人に ¹⁴C-ペプリジル塩酸塩 400 mg を単回投与した場合、食事の制限下では血漿中 ¹⁴C-ペプリジル濃度の T_{max} は 1.7±0.5 時間であり、投与後速やかに血漿中濃度は上昇し、その後減少したことを報告している。しかし、これらの実験的な条件では、薬物の消化管吸収に影響を与える食事や水の多量摂取および日常生活動作による影響が最小限となるよう行動が制限されていたことが予測される。今回の我々の検討では対象患者の摂食や日常的な行動に制限を設けていない。そのため、経口投与後の一時的な血漿中濃度の低下といった推移の違いは、消化管運動などに影響されるペプリジルの消化管吸収過程の個体差により生じた可能性がある。症例 3 は透析を受けている患者であり、非透析下と透析下で得られた、異なる採血日において、ペプリジル投与後 4.5 時間までの血漿中濃度推移を比較することができた。両日で血漿中ペプリジル濃度の上昇に要する時間は異なったものの、透析中でも血漿中濃度が上昇したこと (Fig. 6C, D) や、ペプリジルのタンパク結合率は 99% 以上と高く、^{27, 35, 36)} 血漿中においてはほとんどが透析膜を通過しない血清アルブミンと結合していることから、血漿中のペプリジルは透析除去されにくいと考えられる。また、Awni ら²⁹⁾ は透析患者に対してペプリジルを経口的に単回投与した場合、透析前後のペプリジルの血漿中濃度はほとんど

変化がなく、透析液中にペプリジルは検出されなかったこと、および C_{max} や AUC などの薬物動態学的パラメータも健常成人との間に差を認めなかったことを報告しており、これらは今回の結果を支持するものだった。一方で鎌倉ら³⁷⁾ は不整脈に対してペプリジルを使用した 112 例を対象にペプリジル最終服薬より平均 5.0 ± 2.8 時間後に採取された血漿中ペプリジル濃度を用いて有効性との関係性を評価し、日本人における血漿中ペプリジルの至適濃度は 600~1,000 ng/mL と報告している。この報告にもとづいて 2012 年に適応となった血漿中ペプリジル濃度モニタリングの採血点は、ペプリジル投与後 3 時間後とされている。しかし、今回の我々の検討により、ペプリジル経口投与後の血漿中濃度の経時的推移は個体間、個体内のいずれにおいても個体差が大きく、患者ごとに C_{max} 付近で採血することは困難であると推測された。したがって、血漿中ペプリジル濃度をモニタリングする際には、一般的に経口投与後に最も変動の少ない投与直前が最適であると考えた。そこで、定常状態に到達している患者 7 名を対象に、投与直前の血漿中ペプリジル濃度を複数日にわたって測定したところ、同一患者での投与直前における血漿中ペプリジル濃度にほとんど変動は認められず (Figs. 7, 8)、血漿中濃度は投与直前でモニタリングすることが妥当であることが示された。

さらに、TDM における採血点の妥当性を検討するために 3 症例を抽出し、患者別に臨床効果と投与直前における血漿中ペプリジル濃度の関係性について検討した。ペプリジル 100 mg/day を経口的に投与開始した症例 11 および 200 mg/day より開始した症例 12, 13 の血漿中ペプリジル濃度は、約 1 週間でそれぞれ 249, 442, 726 ng/mL となった (Figs. 9-11)。症例 12, 13 ではこの時点で SR を得たが、症例 11 では SR を得るまで約 2 週間を要し、その時の血漿中濃度は 461 ng/mL であった。3 症例ともに SR を得た時点での血漿中濃度は 450 ng/mL 以上であることから、ペプリジルが治療効果を発現するためには一定以上の血漿中濃度が必要となる可能性が示唆された。また、症例 13 では血漿中濃度が 726 ng/mL に上昇したのと同じタイミングで、大幅に QT 間隔の延長が認められた。ペプリジルの体内動態に関して、健常成人における単回投与時の分布容積は約 8.0 L/kg と非常に大きく、また、主に肝代謝により消失し、尿中への未変化体の排泄率は 0.1%以下で

あったと報告されている。^{27,38)} 症例 13 は身長 154 cm, 体重 54 kg と小柄であり, Benet²⁷⁾ が報告した欧米の健常成人と比較して分布容積は小さいと考えられた。また, 症例 13 はペプリジル投与開始時には脱水傾向にあり, 体内水分量の減少に伴う循環血量の減少が予測された。そのため, さらに Af による血液循環動態の変化から肝血流量が低下し, 肝クリアランスが低下したことにより血漿中濃度が上昇した可能性がある。一方, Yamashita ら¹¹⁾ は Af 患者に対してペプリジルを投与した場合, 100 mg/day 投与群と比較して 200 mg/day 投与群は有意に QT 間隔が延長することを報告している。症例 12 と 13 を比べると, ペプリジル投与開始時の投与量は両者ともに 200 mg/day であるにも関わらず, 症例 12 では投与期間中 QT 間隔にほとんど変動はなく, 症例 13 では約 1 週間で QT 間隔が大幅に延長した。症例 12 と 13 の投与開始後約 1 週間の時点における血漿中ペプリジル濃度はそれぞれ 442, 726 ng/mL であり, 症例 13 の血漿中ペプリジル濃度は症例 12 の 1.5 倍以上に上昇していた。以上より, 病態等の個人差はあるものの, 症例 13 では血漿中ペプリジル濃度の上昇に伴って QT 間隔が延長した可能性が示唆された。

症例 13 はペプリジル投与期間中の QT 間隔延長により, 一時的にペプリジルの投与を中止したが, その後, 血漿中濃度の低下とともに Af が再発した。そこで QT 間隔が許容範囲となった時点で投与量を 100 mg/day に減量して再開したものの, 血漿中濃度は再び 800 ng/mL まで上昇した。Benet²⁷⁾ は, 健常成人に対して単回投与を行った場合, ペプリジルの消失半減期は約 30 時間であり, 定常状態到達には約 2 週間要すると報告している。また, Desiraju ら³⁹⁾ は 11 人の被験者に対し 1~10 日目に 200 mg/day, 11~20 日目に 300 mg/day, 21~30 日目に 400 mg/day にてペプリジルを投与した後, 31~35 日目の血漿中ペプリジル濃度より算出された消失半減期は 42 ± 12 時間であったことを報告している。症例 13 の投与中止期間の血漿中濃度 2 点より得られた消失速度定数および消失半減期はそれぞれ 0.0178 hr^{-1} , 38.9 時間と算出され, Benet²⁷⁾ の報告および Desiraju ら³⁹⁾ が報告した値と近似していた。一般的に, 薬物血中濃度が定常状態に達するためには半減期の 5 倍の時間が必要であることが知られている。症例 13 においても血漿中ペプリジル濃度が定常状態に到達するには 8 日以上必要であることが予測され, ペプリジルの投与再開時で

は定常状態に到達していなかったことが考えられた。また、投与再開から 5 日後の血圧低下と、それにより生じていたことが予測される肝クリアランスの低下も、投与量の減量にも関わらず血漿中濃度が急速に上昇した要因の一つと考えられる。

以上より、ベプリジルの Af に対する治療効果は血漿中ベプリジル濃度依存的に発現している可能性が示唆され、そのモニタリングポイントとしては投与直前が適当であることが示された。

第 3 章 ベプリジル導入期および維持期における血漿中ベプリジル濃度と有効性の関係

第 1 節 緒言

序論でも述べたように、Af に対するベプリジルの有効性は用量依存的であると同時に、重篤な副作用として用量依存的に QT 間隔を延長させ、これに伴い TdP を誘発する危険性をもつことが指摘されている。¹²⁾ Yamashita ら¹¹⁾ はベプリジルを 100 mg/day で投与した場合と 200 mg/day で投与した場合の Af 再発率を比較すると、200 mg/day 投与群における Af の再発率が有意に低いものの、QT 間隔は 100 mg/day 投与群に比べて、200 mg/day 投与群で有意に延長したことを報告している。したがって、ベプリジルは一律の用量負荷では適正使用が困難であり、有効性および安全性をコントロールするための指標を必要とする。現在、ベプリジルの有効性の指標としては血漿中ベプリジル濃度が候補として認知されており、2012 年 4 月より、特定薬剤治療管理料の対象薬として認められた。⁴⁾ しかし、ベプリジルの Af に対する有効血中濃度域は明確ではなく、得られた血漿中濃度の薬物治療における位置づけは確立していない。我々は第 1 章において簡便かつ正確な血漿中ベプリジル濃度の測定法を構築し、第 2 章では患者における血漿中ベプリジル濃度のモニタリングポイントとしては投与直前が最適であることを明らかにした。また、3 名の患者における血漿中ベプリジル濃度を臨床効果とともに追跡することにより、有効性と副作用の発現する一定の濃度域がある可能性を示した。本章ではさらに対象患者を増やし、その有効性と血漿中濃度の関係について検討した。なお、頻発する Af の発生を抑えることを目的とするベプリジル治療の導入期と、Af の予防を目的とする治療の維持期ではエンドポイントの設定を分ける必要があるため、有効性の検討は導入期と維持期に分けて行った。

第 2 節 方法

1) 対象患者

本研究では、治療時期としてベプリジルによる治療を開始して 2 週間までを導入期、3 か月以上経過した場合を維持期として取り扱った。対象は Af によりベプリジル塩酸塩水和物錠を 100, 150, 200 mg/day で経口投与している患者 36 名とし、15 名は導入期、22 名は維持期の患者であった。そのうち 1 名はどちらのグループにも該当したが、対象となる時期が異なるため別の患者として扱った。重篤な肝機能障害を有する患者はいなかったが、導入期の 13 名、維持期の 10 名は腎機能が低く ($\text{Ccr} \leq 60 \text{ mL/min}$)、維持期に該当する 1 症例は ESRD であった。ベプリジルの臨床効果はバイタルサインと 12 誘導心電図により評価した。患者からの採血はすべてベプリジル投与 0~1 時間前に行った。本研究のプロトコルは市立札幌病院倫理委員会の承認の下に、書面による患者の同意を得て実施した。

2) 血漿中ベプリジル濃度測定法

第 1 章、第 2 節、第 1 項、2), 3), 4) に準じた。

3) 調査項目

ベプリジル塩酸塩水和物錠の投与状況、併用薬物、Af の出現頻度、QT 間隔、心拍数などの臨床所見のほか、AST, ALT, Scr, BUN, 総ビリルビン濃度 (total bilirubin: T-bil) などの肝機能・腎機能検査値はカルテより調査した。Ccr は Cockcroft-Gault 式³⁴⁾より算出した。なお、これらの患者のうち、Af を SR へ転化させる薬理作用をもつ抗不整脈薬の併用はなかった。

4) 有効性判定

ベプリジルの有効性は導入期と維持期で分けて評価した。すなわち導入期ではエンドポ

イントを「12誘導心電図上, Af の頻度が減少した場合を有効」とし, 維持期では「12誘導心電図上, Af が認められない場合を有効」と定義した. また有効性評価に当たっては, 導入期をさらに投与開始 7 日目までの term I と投与開始 8~14 日目までの term II に分けた.

5) 統計処理

血漿中ペプリジル濃度の測定結果はすべて mean ± S.D. で示した. 統計処理には Statcel 2 (OMS 出版, Saitama, Japan) を用いて 2 群間の差の比較には *t* 検定もしくは Mann-Whitney の U-検定を, 2 群間の割合の検定には Fisher の直接確率計算を, 2 変量の相関関係の検定には Pearson の相関係数の検定を用い, 危険率 *P* が 5% 以下の場合を有意差ありとした.

第 3 節 結果

第 1 項 患者背景

導入期における対象患者の男女比は男:女 = 7:8 であり, 年齢は 53~85 歳 (69±11 歳), 体重は 36~107 kg (61±18 kg) であり, 維持期においてはそれぞれ男:女 = 15:7, 年齢は 44~84 歳 (71±11 歳), 体重は 45~110 kg (63±17 kg) であった (Table 10). 合併症としては, 導入期において 6 名で高血圧症, 5 名で虚血性心疾患, 4 名で糖尿病, 1 名で心筋症を有しており, 維持期では 15 名で高血圧症, 4 名で虚血性心疾患, 5 名で弁膜症, 2 名で心筋症, 6 名で糖尿病を有していた. 多くの患者は心血管系に働きかける複数の薬剤をペプリジルと併用しており, アンジオテンシン変換酵素阻害薬, アンジオテンシン II 受容体拮抗薬, カルシウム拮抗薬, β-遮断薬, 利尿薬, ジギタリス製剤, アスピリン, ワルファリン, HMG-CoA 還元酵素阻害薬を併用していた.

Table 10. Clinical Characteristics of Patients with Af

	Introduction group (n = 15)	Maintenance group (n = 22)
Gender	male: 7 female: 8	male: 15 female: 7
Age (years)	69 ± 11 (53 – 85)	71 ± 11 (44 – 84)
Weight (kg)	61 ± 18 (36 – 107)	63 ± 17 (45 – 110)
Basic diseases		
Hypertension	6	15
Ischemic heart disease	5	4
Valvular disease	0	5
Cardiomyopathy	1	2
Diabetes	4	6
Concomitant medications		
ACE inhibitor	1	1
ARB	3	8
Ca ²⁺ channel blocker	8	9
β-blocker	3	10
Diuretic	6	4
Digitalis	1	2
Asprin	6	4
Warfarin	5	10
HMG CoA-Ri	4	5

ACE, angiotensin-converting enzyme; ARB, angiotensin-II receptor blocker; HMG CoA-Ri, HMG CoA reductase inhibitors

第 2 項 ベプリジルによる薬物療法導入期における血漿中濃度と有効性の評価

1) ベプリジルの血漿中濃度と投与量の関係

対象患者におけるベプリジルの投与量は 100 mg/day 投与群が 8 名, 150 mg/day 投与群が 2 名, 200 mg/day 投与群が 18 名であった. term I における血漿中ベプリジル濃度は 100 mg/day 投与群において 173 ± 67 ng/mL, 200 mg/day 投与群において 323 ± 205 ng/mL であり, 有意な差はなかった (Fig. 12A). Term II における血漿中ベプリジル濃度は 100 mg/day 投与群において 275 ± 91 ng/mL, 200 mg/day 投与群において 466 ± 134 ng/mL であり, 血漿中ベプリジル濃度は投与量に依存して増加した ($P = 0.04$, Fig. 12B). 150 mg/day 投与群は term I では 0 名, term II では 2 名のみだったため, 比較することはできなかった.

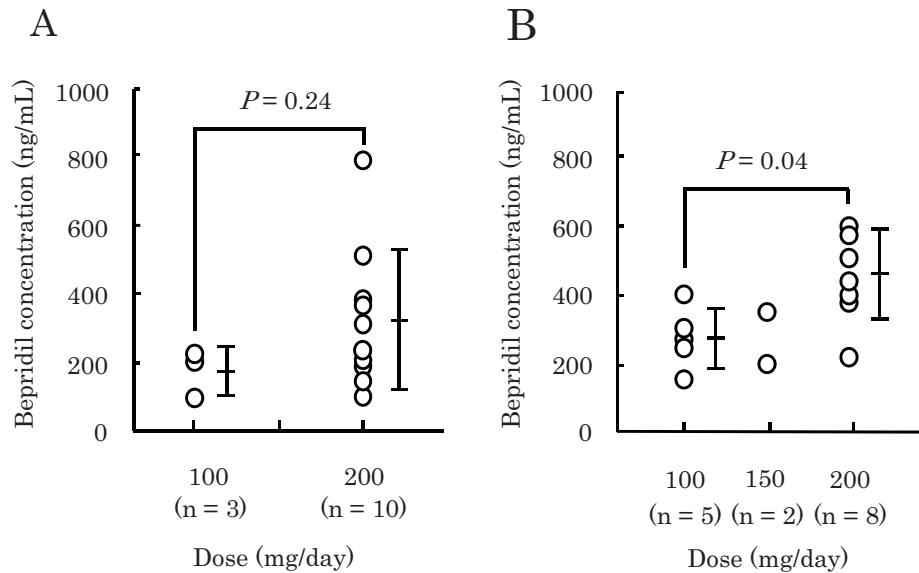


Fig. 12. Relationship between Plasma Concentration of Bepridil and Daily Dose of Bepridil in the Introduction Group

The introduction group was subdivided into two time periods: term I (A) was from the onset of treatment until day 7, and term II (B) was from day 8 to 14.

2) ベプリジルの血漿中濃度と臨床効果の関係

導入期における血漿中ベプリジル濃度と有効性の関係を比較した。投与開始 14 日目までの血漿中ベプリジル濃度は有効群 (24 例) において 385 ± 169 ng/mL, 無効群 (4 例) において 146 ± 63 ng/mL であり, 有意な差があった ($P = 0.01$, Fig. 13).

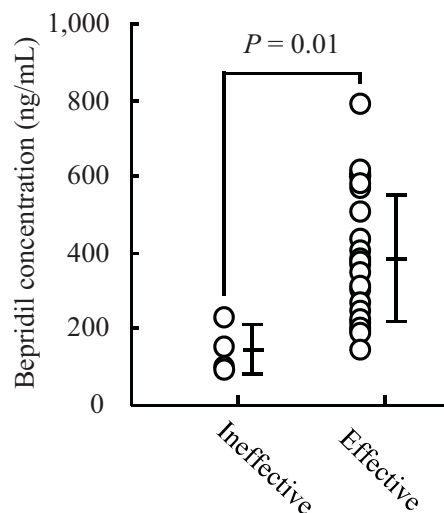


Fig. 13. Relationship between Efficacy of Bepridil and Plasma Concentration of Bepridil in the Introduction Group

3) ベプリジルの臨床効果と用量依存性

導入期においてベプリジルを 100 mg/day あるいは 200 mg/day で投与されている患者について、有効性と 1 日投与量の関係と比較した。投与開始 14 日目までに 100 mg/day 投与群の 75%、200 mg/day 投与群の 89% が有効となり、両者の間に有意な差はなかった ($P = 0.365$, Table 11)。なお、150 mg/day 投与群は対象患者が 2 名のみだったため、評価できなかった。

Table 11. Efficacy Rate of Bepridil for Af in the Introduction Stage

	Effective	Ineffective	Total	Efficacy rate	
100 mg/day	6	2	8	75%] $P = 0.365$
150 mg/day	1	1	2	50%	
200 mg/day	16	2	18	89%	

P values are shown for 200 mg/day compared with 100 mg/day.

4) 血漿中ベプリジル濃度と閾値別の有効率の関係

血漿中ベプリジル濃度に閾値 (150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 ng/mL) を設定し、それらを境界とした場合の閾値以上と閾値未満における有効率の差を検定した。投与開始 14 日目まででは 150, 200, 250, 300 ng/mL を閾値とした場合、それぞれの閾値以上と閾値未満の有効率には有意な差が認められた ($P < 0.05$, Table 12).

Table 12. Boundary Values of Efficacy Rate until Day 14

Bepiridil Conc. (ng/mL)	Effective (n)	Ineffective (n)	Total (n)	Efficacy rate	P value
< 150	1	2	3	33%	0.044
≥ 150	23	2	25	92%	
< 200	3	3	6	50%	0.022
≥ 200	21	1	22	96%	
< 250	8	4	12	67%	0.024
≥ 250	16	0	16	100%	
< 300	9	4	13	69%	0.035
≥ 300	15	0	15	100%	
< 350	12	4	16	75%	0.089
≥ 350	12	0	12	100%	
< 400	15	4	19	79%	0.189
≥ 400	9	0	9	100%	
< 450	18	4	22	82%	0.357
≥ 450	6	0	6	100%	
< 500	18	4	22	82%	0.357
≥ 500	6	0	6	100%	
< 550	20	4	24	83%	0.519
≥ 550	4	0	4	100%	

5) 血漿中ベプリジル濃度と Ccr および T-bil

導入期における血漿中ベプリジル濃度と、腎機能の指標となる Ccr および胆汁排泄の指標となる T-bil の関係を比較した (Fig. 14). 血漿中ベプリジル濃度は体重および 1 日投与量で除した値 (C/D/WT) を用いて評価した。C/D/WT と Ccr の相関係数は 0.116 ($P = 0.680$, Fig. 14A), T-bil との相関係数は 0.174 ($P = 0.534$, Fig. 14B) であり、それぞれの間に

相関関係は認められなかった。

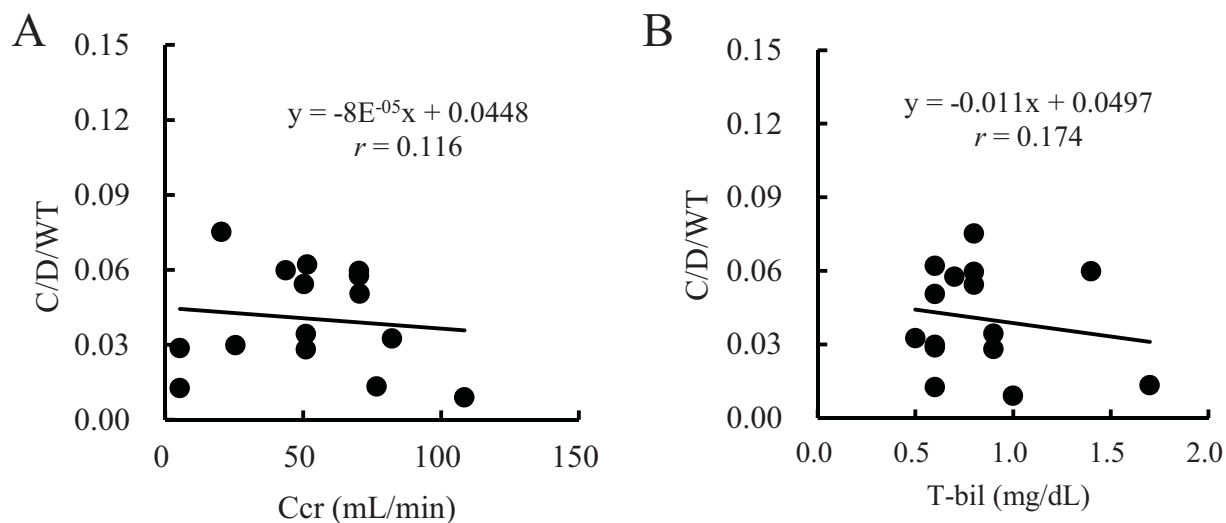


Fig. 14. Relationship between Plasma Concentration of Bepridil and Ccr (A) or T-bil (B) in the Introduction Stage

第 3 項 ベプリジルによる薬物療法維持期における血漿中濃度と有効性の評価

1) ベプリジルの血漿中濃度と投与量の関係

対象患者におけるベプリジルの投与量は 100 mg/day 投与群が 12 名, 150 mg/day 投与群が 2 名, 200 mg/day 投与群が 8 名であった。100 mg/day 投与群における血漿中ベプリジル濃度は 296 ± 159 ng/day, 200 mg/day 投与群では 559 ± 296 ng/day であり, 100 mg/day 投与群と比較して 200 mg/day 投与群では有意に高かった ($P = 0.05$, Fig. 15)。150 mg/day 投与群は 2 名のみだったため, 比較することはできなかった。

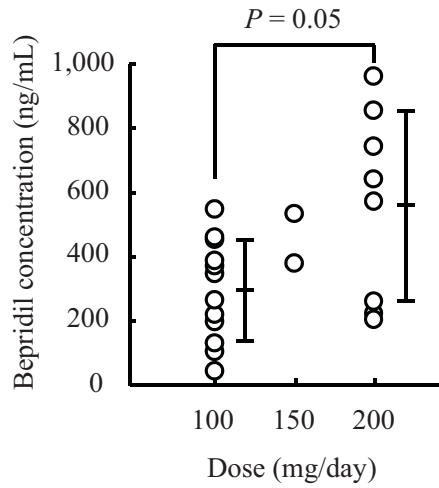


Fig. 15. Relationship between Plasma Concentration of Bepridil and Daily Dose of Bepridil in the Maintenance Group

2) ベプリジルの血漿中濃度と臨床効果の関係

維持期における血漿中ベプリジル濃度と有効性について比較したところ、有効群の血漿中ベプリジル濃度は 443 ± 251 ng/mL、無効群においては 279 ± 172 ng/mL であり、有意な差は認められなかった ($P = 0.50$, Fig. 16).

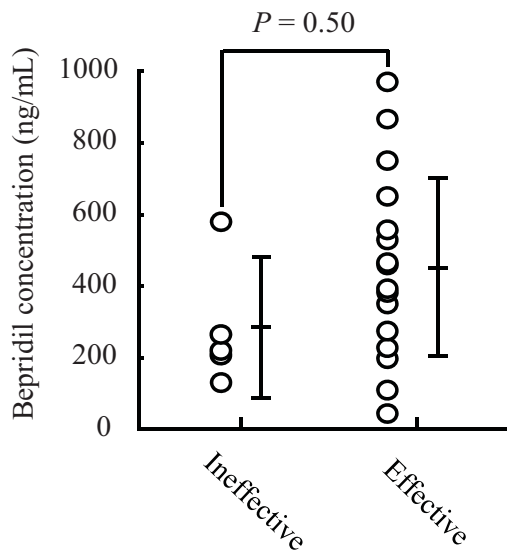


Fig. 16. Relationship between Efficacy of Bepridil and Plasma Concentration of Bepridil in the Maintenance Group

3) ベプリジルの臨床効果と用量依存性

維持期においてベプリジルを 100 mg/day あるいは 200 mg/day にて投与されている患者について、有効性と 1 日投与量の関係を比較した。100 mg/day 投与群の 58%、200 mg/day 投与群の 63% が有効であり、両者の間に有意な差はなかった ($P = 0.852$, Table 13).

Table 13. Efficacy Rate of Bepridil for Af in the Maintenance Stage

	Effective	Ineffective	Total	Efficacy rate	
100 mg/day	7	5	12	58%] $P = 0.852$
150 mg/day	2	0	2	100%	
200 mg/day	5	3	8	63%	

P values are shown for 200 mg/day compared with 100 mg/day.

4) 血漿中ベプリジル濃度と閾値別の有効率の関係

血漿中ベプリジル濃度に閾値 (150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 ng/mL) を設定し、それらを境界とした場合の閾値以上と閾値未満における有効率の差を検定した。維持期においては 300 ng/mL を閾値とした場合、有意ではないものの、300 ng/mL 未満の群と比較して 300 ng/mL 以上の群で有効率が高い傾向にあった ($P = 0.062$, Table 14).

Table 14. Boundary Values of Efficacy Rate after Three Months

After three months					
Bepidil Conc. (ng/mL)	Effective (n)	Ineffective (n)	Total (n)	Efficacy rate	<i>P</i> value
< 150	2	1	3	67%	0.442
≥ 150	15	4	19	79%	
< 200	3	1	4	75%	0.465
≥ 200	14	4	18	78%	
< 250	4	3	7	57%	0.140
≥ 250	13	2	15	87%	
< 300	5	4	9	56%	0.062
≥ 300	12	1	13	92%	
< 350	7	4	11	67%	0.138
≥ 350	10	1	11	91%	
< 400	9	4	13	69%	0.244
≥ 400	8	1	9	89%	
< 450	9	4	13	69%	0.244
≥ 450	8	1	9	89%	
< 500	11	4	15	73%	0.363
≥ 500	6	1	7	86%	
< 550	12	4	16	75%	0.415
≥ 550	5	1	6	83%	

5) 血漿中ベプリジル濃度と Ccr および T-bil の関係

維持期における血漿中ベプリジル濃度と、腎機能の指標となる Ccr および胆汁排泄機能の指標となる T-bil の関係を比較した (Fig. 17). 血漿中ベプリジル濃度は体重および 1 日投与量で除した値 (C/D/WT) を用いて評価した。C/D/WT と Ccr との間には有意な負の相関はあるものの ($P = 0.030$), 相関係数は 0.486 であり, 2 変数間の関連性は低いことが

示された (Fig. 17A). また, C/D/WT と T-bil の間に相関性は認められなかった ($r = 0.274$, $P = 0.256$, Fig. 17B).

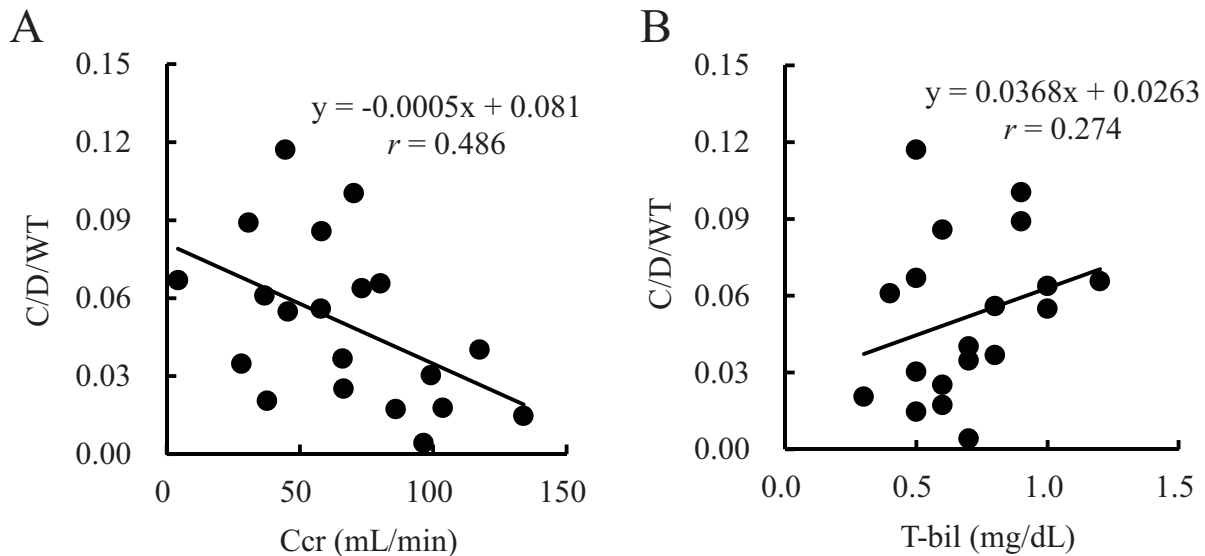


Fig. 17. Relationship between Plasma Concentration of Bepridil and Ccr (A) or T-bil (B) in the Maintenance Stage

第 4 節 考察

ベプリジルを経口投与した後の血漿中濃度は, 1 日用量に関わらず個体差の大きいことが知られている.²⁶⁾ しかしながら, これらが投与後どの時間での採血により得られた値であるかは不明であり, その評価を難しくしている. また, ベプリジルの生物学的半減期は 33 時間以上と長く,^{27, 39)} 定常状態に達するまで数日単位での時間を要する. そのため, 血漿中ベプリジル濃度や投与量进行评估するうえで, 次回投与までのどの時点で, また, 投与開始より何日目に採血をするべきか決定する必要があると考えた. そこで, 第 2 章ではこれらに関する検討を行い, 得られた知見から本章での採血はベプリジルを投与する直前に行った. また, Af は継続的な治療を必要とする疾患であるため, 臨床的に頻発する Af の除細動 (洞調律化) を目指す導入期と, Af の再燃抑制を目的とする維持期では, 有効性を

示す血漿中濃度が異なる可能性がある。そのため本章では、血漿中ペプリジル濃度の用量依存性や血漿中濃度と有効性の関係を検討するにあたり、エンドポイントを導入期と維持期に分けて評価することとした。

導入期において、term II ではペプリジルの投与量依存的に血漿中濃度も増大したが、この傾向は term I では認められなかった (Fig. 12)。Term I では 100 mg/day 投与群の患者数が少なかったことや、投与開始からの時間が不十分なために定常状態に達しておらず、ペプリジルの分布容積や消失速度などの個体差が血漿中濃度に反映されたものと考えられる。健常成人におけるペプリジルの生物学的半減期は 33 時間以上と報告されていることから、^{27, 39)} 一般的に、血漿中ペプリジル濃度が定常状態に達するためには 150 時間以上 (6 日以上) が必要である。本研究での対象患者は多くが高齢者であり、加齢によりペプリジルの総クリアランスは低下していることが考えられ、生物学的半減期は延長していると推測される。一方、term II では投与開始後 8 日以上経過しており、血漿中濃度が定常状態に到達している症例が多かったことから用量依存性が現れたものと考えられる。なお、今回の研究では維持期における血漿中ペプリジル濃度と Ccr の間に有意な相関性が認められたものの (Fig. 17A)、個体差は大きく、臨床的に投与設定の際活用できる良好な相関性は得られなかった。また、これ以外の血漿中ペプリジル濃度と Ccr および T-bil の間に相関性は認められなかった (Figs. 14, 17)。さらに、維持期において血漿中ペプリジル濃度は用量に依存して上昇し、個体差も大きいことが明らかとなった (Fig. 15)。ペプリジルは肝臓において主に CYP2D6 に代謝されると考えられている。²⁶⁾ CYP2D6 遺伝子には多くの多型が知られており、頻度はそれぞれ異なるものの、日本人の CYP2D6*2,*5,*10,*14 のアレル頻度は 12.9, 6.2, 38.6, 2.2% と報告されている。⁴⁰⁾ 血漿中ペプリジル濃度の個体差は、遺伝的多型による代謝能の違いが原因となっている可能性があり、今後さらなる検討が必要である。

さらに本章では、ペプリジルの血漿中濃度と有効性の関係について検討した。導入期において有効群と無効群の血漿中ペプリジル濃度には著しい差が認められ (Fig. 13)、少なくとも投与開始 14 日目までの Af に対するペプリジルの効果は、血漿中濃度依存的である

ことが示唆された。一方、維持期における有効群での血漿中ベプリジル濃度は、個体差が大きく、有意な差はないものの、無効群と比較して高い傾向が認められた (Fig. 16)。Nishida ら⁴¹⁾ は心房リモデリングを生じたイヌにおいて、頻脈により減少した L-型カルシウムチャネルの α_{1c} サブユニットの発現量はベプリジルの投与により回復し、6 週間投与を継続することにより Af の改善効果が得られたと報告している。細胞レベルにおける Af の病理学的特徴の一つは、L 型カルシウムチャネルの減少による心房不応期の短縮と考えられている。⁴²⁾ そのため、本検討において Af をコントロールするために必要な血漿中ベプリジル濃度の個体差が大きかった原因は、L-型カルシウムチャネルの発現レベルの違いによる可能性がある。また、維持期における症例では Af の発症からの経過時間が 3 か月から数年まで多岐にわたっていた。心房細動は発症からの期間延長に伴い発作性心房細動から慢性心房細動、永続性心房細動に進展する疾患である。⁴³⁾ そのため、それぞれの患者における Af の進展度が Af コントロールに必要な血漿中ベプリジル濃度の個体差を大きくした要因の一つとも考えられる。さらに Yamashita ら¹¹⁾ は 12 週間、プラセボ、100 mg/day あるいは 200 mg/day のベプリジルを投与した Af 患者において、SR を得られた割合はそれぞれ 3.4%、37.5%、69.0% であったと報告している。これは、導入期および維持期において、個体差は大きいものの血漿中ベプリジル濃度は投与量依存的に上昇し、さらに、ベプリジルの有効性が血漿中濃度依存的であった本研究の結果と一致している。一方、今回は導入期と維持期のいずれにおいても 100 mg/day 投与群と 200 mg/day 投与群のあいだに有効性の差を認めなかったが、これは対象患者の数が不十分であったことが要因の一つと考えられている。

また本研究では、血漿中濃度に閾値を設定した場合のベプリジルの有効率評価を試みた。投与開始 14 日目までは 150, 200, 250, 300 ng/mL を閾値とした場合に、閾値未満の有効率と比較して閾値以上における有効率は有意に高かった (Table 12)。しかし、150, 200 ng/mL を閾値とした場合の閾値未満の症例数は少なく、有意差はあるもののこれらの値を臨床的に意義のある濃度として設定するにはさらに症例数を集める必要があると考えられた。一方、閾値を 350 ng/mL とした場合、有効率に有意な差はなかった。したがって、投与開始

14 日目までは血漿中ベプリジル濃度 250~350 ng/mL の範囲に有効率が高くなる境界域のあることが示唆された。同様に維持期においても、血漿中ベプリジル濃度 300 ng/mL 未満と比較してそれ以上の群では有効率が高い傾向にあり (Table 13), 300 ng/mL 付近が境界となる可能性が示唆された。

英国人 14 名を対象とした研究において、ベプリジルの投与は Af を SR へ転換するために効果的だったが、そのうち 400 mg/day および 600 mg/day を投与した 2 名で TdP を起こしたことが報告されている。⁴⁴⁾ さらに、日本人を対象とした J-BAF study では、ベプリジルを 200 mg/day で投与した場合に有害事象として心室性頻脈、QT 間隔の延長、洞性徐脈、突然死を認めており、これらは 100 mg/day で投与した場合には生じなかった。¹¹⁾ 今回の検討では、ベプリジル投与前と投与開始後の QT 間隔のデータは十分得られなかったため、QT 延長に対するベプリジルの影響については明らかにできなかった。しかし、重篤な有害作用を起こした患者はおらず、数名でわずかな QT 間隔の延長が認められたものの、その程度は 0.52 秒以下と小さいものであった。

本研究において、Af の治療開始以降の経過時間を導入期と維持期に分けてベプリジルの有効性と血漿中濃度の関係について検討し、Af をコントロールするには一定以上の血漿中ベプリジル濃度が必要であることを明らかにした。また、血漿中ベプリジル濃度は用量に依存して得られ、その増加に伴って有効性が得られることを明らかにした。さらに、投与開始 14 日目までは 250~350 ng/mL, 3 か月以上経過したのちは 300 ng/mL 付近に有効率に変化する濃度閾値がある可能性を示した。しかし今回の研究では、病態が急性期から回復期に大きく転換し、治療効果の評価が難しい時期である投与開始 15 日目以降から 3 か月までに該当する患者のデータを除外している。また、倫理上、無効の患者については治療計画を変更せざる得ないため、無効群の患者数は非常に小さいものとなった。このように Af の患者は個々の血液循環動態や分布容積などによる影響を受け、薬物動態が複雑である。そのため、第 2 章の結果も併せると、臨床での利用に際しては対象となるすべての患者にベプリジルを一律の用量負荷で投与し、至適濃度を維持することは困難であると考えられた。したがって、ベプリジルによる有効性を確保し、副作用を抑えるためには血

漿中濃度をモニタリングすることが有用であり、併せて心電図のモニタリングを行うことで、より有効かつ安全なベプリジルによる Af の治療が可能となると考えられた。

Af は加齢とともに有病率が増加する疾患であり、高齢化社会の進展により罹患率は増加している。また、Af は長期に持続することにより心房筋の肥大や線維化を経て、さらなる心血管系疾患のリスクを高めることから、そのコントロールは生命予後の観点からも重要となる。ベプリジル服用患者の血清中濃度にもとづいた母集団薬物動態解析によりベプリジルの投与設計に必要なパラメータもわずかながら報告され始めている。⁴⁵⁾ 今後、臨床効果も含めたさらなるエビデンスを積むことにより、血漿中ベプリジル濃度を Af をコントロールするための治療マーカーとしてモニタリングすることが期待される。

第 4 章 血漿中遊離型ミカファンギン濃度測定法の構築

第 1 節 緒言

がん化学療法や移植医療が一般的に受けられるようになってきた昨今では、平均寿命が高いことも相まって免疫能の低い易感染患者が増加し、本来病原性を示しにくい常在真菌による真菌症が発症するリスクは高くなっている。⁴⁶⁾ 深在性真菌症は免疫不全患者において罹患率、死亡率ともに高く、治療が長期間に渡ることや、薬剤が高価であることから治療コストも高い。そのため一度罹患すると、医療経済的にも負担の大きいことも問題となっている。⁴⁶⁻⁴⁹⁾ このような背景から我々は市中の医療機関における抗菌薬および抗真菌薬の使用量を調査し、抗菌薬とともに抗真菌薬の使用頻度も経時的に減少していることを明らかにした。^{50, 51)} しかし、薬剤別に解析したところ、アゾール系薬の使用量が低下する一方で、比較的新規の抗真菌薬であるミカファンギン (micafungin: MCFG) の使用頻度は年々増加していた (Table 15)。MCFG は日本および EU 諸国を中心に使用されているキャンディン系抗真菌薬であり、薬物相互作用や副作用が起こりにくい薬物として知られている。⁵²⁻⁵⁴⁾ 主に真菌の細胞壁を構成する際に働く 1,3-β-D-グルカン合成酵素を濃度依存的に阻害することにより、殺菌的に効果を発揮する。^{52,53)} 日本における真菌感染症の多くは免疫能の低下による日和見感染症が主であるため、感染の原因は常在的に環境に存在する *Candida* 属や *Aspergillus* 属となる。MCFG はこれらに対して殺菌的かつ広い抗真菌スペクトルをもち、⁵⁵⁾ また、1 日 1 回投与であることから処置も容易である。このような理由から、免疫抑制剤の血中薬物濃度コントロールが治療の重要な位置を占める臓器移植患者や、高齢者・小児にも深在性真菌症の治療・予防目的で使用される。⁵⁶⁾

近年、抗菌薬領域においては PK/PD 理論に基づく薬物投与設計が行われているが、抗真菌薬については真菌感染症診断や真菌の MIC 測定は難しく、その関係は明らかになっていない。上述のように、MCFG は臨床における使用頻度が高くなっている薬物であり、

高度医療が広く行われ、HIV 感染患者なども増加傾向にある現状を考慮してもニーズは益々高まることが予想される。

また、MCFG は健常成人において血漿タンパク結合率が 99.8% 以上と報告されているが、⁵⁷⁾ 血漿中遊離型 MCFG 濃度と有効性の関係も含め、患者を対象とした十分な検討は行われていない。そのため本章では、患者を対象とした血漿中 MCFG 濃度とともに、遊離型 MCFG 濃度と臨床効果の関係を明らかにするために、その測定法を構築することとした。

Table 15. Usage of Antifungal Agents at Sapporo City General Hospital

Antifungals	AUD (patients·day)						
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
fluconazole	7.09	5.53	4.65	0.30	0.05	0.01	0.01
micafungin	—	0.14	1.20	1.90	2.21	2.86	3.19
amphotericin B	1.17	1.77	0.24	0.51	0.39	0.38	0.34
voriconazole	—	—	—	—	0.00	0.00	0.15
miconazole	0.09	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
fosfluconazole	—	—	0.02	2.42	2.62	1.28	0.62
Total	8.35	7.51	6.11	5.13	5.28	4.54	4.31

— : Before adopted

第 2 節 方法

第 1 項 血漿中遊離型ミカファンギン濃度測定法

1) 使用薬物および試薬

標準ミカファンギンナトリウム溶液はアステラス製薬株式会社 (東京) より供与された。1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸、リン酸、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、メタノールは和光純薬株式会社より購入した。全ての試薬は特級または HPLC 分析用を使用した。

2) 対象患者

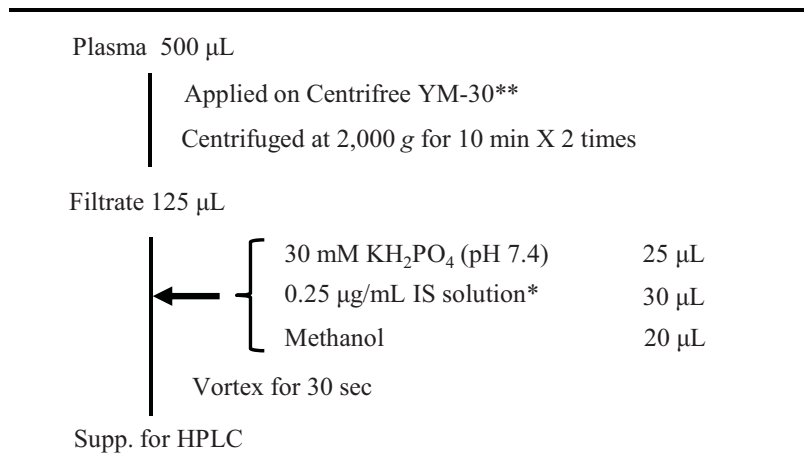
対象は、真菌が原因と疑われる呼吸器感染症に罹患し、治療として MCFG (50~300 mg/day) を 1 時間で点滴静脈内投与された患者 11 名とした。他の抗真菌薬を併用している患者およびデータ収集が不十分な患者は除外した。本研究は北海道社会保険病院倫理委員会の承認のもとに、患者あるいは患者の家族による承諾を得て行った。

3) 検体採血および血漿処理

患者由来およびブランク用の健常成人由来の血液は、ヘパリン添加採血管に回収した。患者から採取する場合には、MCFG 投与 4 日目および投与が終了となるまで1週間毎を目安として投与直前、投与開始 1 時間後ならびに 3 時間後に採血した。得られた血液は 25°C, 400 g にて 20 分遠心分離し、得られた血漿をプラスチックチューブに分取したのち、-20°Cで保存した。

4) サンプル調製

血漿中遊離型 MCFG 濃度の測定に使用するサンプルは、Azuma ら⁵⁸⁾ および Yamato らの方法⁵⁹⁾ を一部変更して、限外ろ過法により調製した (Chart 2)。患者血漿 400 μ L を Centrifree YM-30 (threshold M.W.:30,000, Millipore, 東京) に添加し、室温下で 10 分以上静置した後、2,000 g にて 10 分間遠心分離した。得られたろ液および残液を除き、再び患者血漿 500 μ L を Centrifree に添加した。再度、2,000 g にて 10 分間遠心分離を 2 回繰り返す。遊離型 MCFG を含むろ液を得た。ろ液 125 μ L に 30 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) を 25 μ L, IS として 0.25 μ g/mL 1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 30 μ L, メタノール 20 μ L を添加し、混合したものをサンプルとした。検量線および日内・日間再現性の検討では健常人の血漿より得たろ液 125 μ L, それぞれの濃度の MCFG を含むメタノール溶液 20 μ L を上記と同様の緩衝液などと混合し、HPLC 用サンプルを調製した。



* 1-Hydroxy-2-naphtoeic acid was dissolved in 20 mM KH_2PO_4 : acetonitrile (50 : 50)

** Centrifree YM-30 was equilibrated with 400 μ L of plasma.

Chart 2. Procedure for Sample Preparation of Measuring Unbound MCFG in Human Plasma

5) HPLC 条件

測定装置は Shimadzu LC-20A システム (Shimadzu, 京都) としてポンプ (LC-20AD), カラムオーブン (CTO-10AS VP), 蛍光検出器 (RF-10AXL) を使用し, データ処理にはインテグレータ (C-R8A) を用いた. 分離カラムは L-column 2 (4.6 \times 150 mm, 5.0 μ m, CERI, 埼玉), 溶離液は 50 mM リン酸水溶液 : テトラヒドロフラン (65:35, v/v) を用い, 55 $^{\circ}$ Cにて流速 1.1 mL/min で送液した. 検出は励起波長 273 nm, 蛍光波長 464 nm の蛍光検出とした.

6) 直線性

検量線は, MCFG 標準メタノール溶液 (4.0, 8.0, 16.0, 40.0, 80.0 ng/mL) を含むサンプルで作成した. 各濃度のサンプルは 125 μ L のブランクろ液に 30 mM リン酸カリウム (pH 7.4) を 25 μ L, 0.25 μ g/mL 1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸を 30 μ L, 6.25 倍濃度の MCFG 標準メタノール溶液を 20 μ L 添加して調製した. 遊離型 MCFG 濃度は最小二乗法を用いて下記の式より算出した.

$$\text{MCFG 濃度 (ng/mL)} = \alpha \times x + \beta$$

x は MCFG/IS のピーク面積比, α, β をそれぞれ検量線によって得られた傾きおよび y 切片とした.

7) 測定精度

測定精度は低, 中, 高濃度 (4.0, 8.0, 16.0 ng/mL) に MCFG 濃度を設定し, 日内に連続的に 3 回 MCFG 濃度を測定した場合, および異なる 4 日間に測定した場合の変動係数をそれぞれ日内再現性, 日差再現性として評価した.

8) 測定条件における血漿由来成分の干渉

異なる健常成人由来の 4 サンプルで, MCFG および 内標準物質の保持時間に干渉ピークがないことを確認した.

9) 統計処理

2 群間の平均値の検定には Student の t 検定あるいは Welch の t 検定, 多群間における平均値の検定には Kruskal-Wallis 検定を用いた. 2 変量の相関関係の検定には Spearman の相関関係の検定を用い, 危険率 P が 5% 以下の場合を有意差ありとした.

第 2 項 血漿中総ミカファンギン濃度測定

1) 使用薬物および試薬

第 1 項, 1) に準じた.

2) 対象患者

第 1 項, 2) に準じた.

3) 検体採血および血漿処理

第 1 項, 3) に準じた.

4) サンプル調製

0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように 1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸を 20 mM リン酸二水素一カリウム : アセトニトリル (50:50, v/v) に溶解したものを IS 溶液とし, これを患者血漿 50 μL に 100 μL 添加後, アセトニトリルを 100 μL 加えた. これにメタノール 50 μL あるいは検量線用 (MCFG 濃度 1.0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) メタノール溶液を 50 μL 添加して攪拌し, 室温下, 10,000 g で 10 分遠心分離して得られた上清 10 μL を HPLC の注入試料とした.

5) HPLC 条件

血漿中 MCFG 濃度は既報^{58, 59)} に修正を加え, HPLC により測定した. 溶離液には 50 mM リン酸水溶液 : アセトニトリル (60:40, v/v) を用い, 他の条件は第 1 項 5) に準じた.

第 3 節 結果

1) HPLC 条件の最適化

HPLC 条件は Yamato ら⁵⁹⁾ により報告された移動相である 50 mM リン酸水溶液 : アセトニトリル (60:40, v/v) を 50 mM リン酸水溶液 : テトラヒドロフラン (65:35, v/v) に変更し, 定量範囲を 4.0~80.0 ng/mL の低濃度域において検討した. 4.0~80.0 ng/mL におけるピーク面積比 (MCFG/IS) 5 点で描いた検量線の相関係数は 0.999 以上であり, 良好な直線性を示した (Fig. 18).

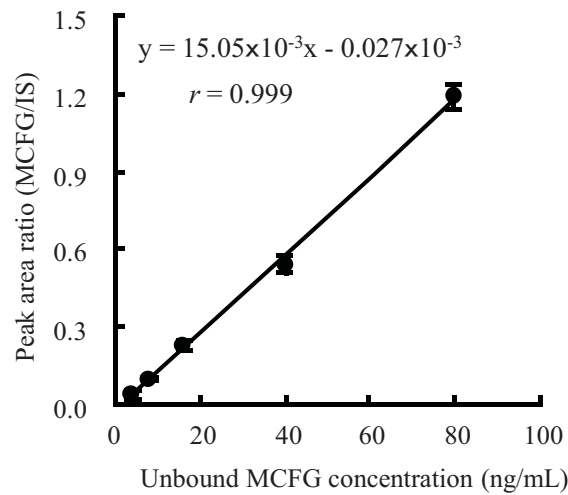


Fig. 18. Calibration Curve of MCFG (n= 3)
 Each data represents the mean \pm S.D. of 3 determinations.

2) 分離度と特異性

ブランク血漿ろ液のクロマトグラムを Fig. 19A に、最終濃度として 16.0 ng/mL となるように MCFG を、また、IS として 0.25 $\mu\text{g/mL}$ の 1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸を添加した血漿ろ液のクロマトグラムを Fig. 19B に示した. ブランク血漿ろ液からは MCFG や IS 由来のピークを妨害するピークは検出されなかった. MCFG および IS 由来ピークの保持時間はそれぞれ 7.3 分および 10.5 分だった.

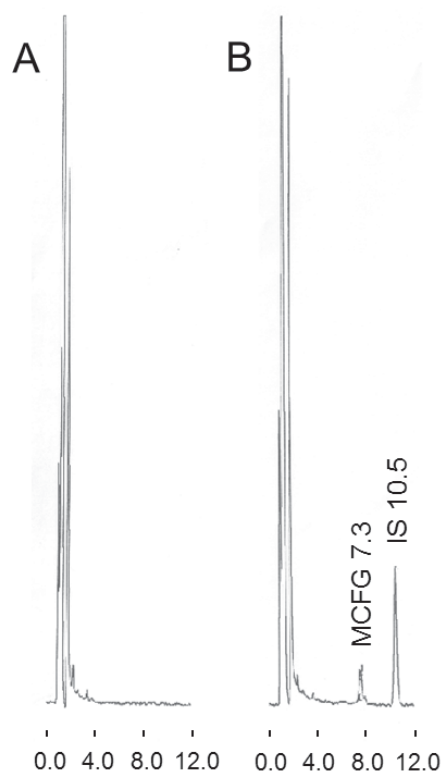


Fig. 19. Typical Chromatograms of Blank Plasma (A) and Plasma Spiked with 16.0 ng/mL of MCFG and 0.25 µg/mL IS (1-hydroxy-2-naphtoeic acid) (B).

The retention times of MCFG and IS are 7.3 and 9.6 min, respectively.

3) 測定精度および測定感度

日内および日差再現性の結果を Table 16 に示した。日内再現性における測定精度は 2.5~4.7%、測定真度は 101.5~104.7% であった。また、日差再現性における測定精度は 0.9~3.9%、測定真度は 101.3~112.5% であった。また、検出限界は 2.0 ng/mL であり、この測定時における S/N 比は 2.7 だった。定量限界は 4.0 ng/mL であった (データ未記載)。

4) 患者背景

対象患者 11 名の患者背景を Table 17 に示した。男女比は 8 : 3、体重は 29.9~65.5 kg であり、11 名の 1 日あたりの MCFG 投与量は 50~300 mg、投与期間は 8~63 日間だった。原疾患は化学療法後の感染なども含まれたものの、誤嚥性肺炎が最も多かった。

Table 16. Results of MCFG Assasy in This Study Within-day and Between-day Validation

Nominal concentration (ng/mL)	Low 4.0	Medium 8.0	High 16.0
Within-day (n =3)			
Mean \pm S.D. (mg/mL)	3.9 \pm 0.2	7.6 \pm 0.2	16.2 \pm 0.6
Precision (CV%)	4.7	2.5	3.8
Accuracy (%)	103.3	104.7	101.5
Between-day (n =4)			
Mean \pm S.D. (mg/mL)	3.9 \pm 0.2	7.9 \pm 0.3	16.2 \pm 0.2
Precision (CV%)	3.9	3.2	0.9
Accuracy (%)	112.5	101.3	101.3

Each data represents the mean \pm S.D. of 3 determination for Within-day and 4 determination for Between-day.

Table 17. Background of Patients

no	Gender	Age (years)	Weight (kg)	Medication term (days)	Dose (mg/day)	Present illness
1	F	85	30.7	55	150	aspiration pneumonia
2	M	91	35.5	12	150	aspiration pneumonia
3	M	75	42.0	24	150	pulumonary tuberculosis
4	M	83	39.1	18	50	aspiration pneumonia
5	M	67	55.1	32	300	acute pneumonia
6	M	73	33.0	63	250	pneumomycosis
7	M	58	65.5	9	150	lung cancer (after chemothrapy)
8	F	71	29.9	15	150	aspiration pneumonia
9	F	69	33.3	26	300	CA-pneumonia
10	M	96	30.7	8	150	aspiration pneumonia
11	M	77	52.3	14	300	pulmonary aspergillus

CA-peumonia: community acquired pneumonia

5) 血漿中遊離型および総ミカファンギン濃度の関係

患者 11 名より遊離型 MCFG 濃度測定に必要な量が得られた血液試料は 99 ポイントであり、算出された血漿タンパク結合率は $99.83 \pm 0.09\%$ (99.38~99.92%) だった。血漿中遊離型 MCFG 濃度および総 MCFG 濃度はそれぞれ 4.5~45.1 ng/mL, 1.77~36.28 $\mu\text{g/mL}$ に分布していた。これらについて血漿中遊離型 MCFG 濃度および総 MCFG 濃度の関係を検討したところ、血漿中遊離型 MCFG 濃度は総 MCFG 濃度依存的に増加し、両者は有意な相関関係にあった (Fig. 20, $r = 0.896$, $P < 0.001$)。

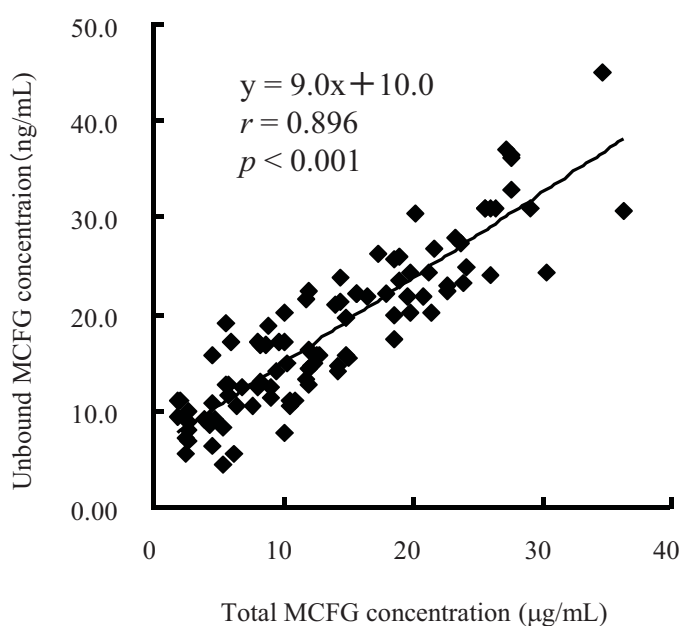


Fig. 20. Relationship between Concentrations of Unbound and Total MCFG in Plasma of Patients

第4節 考察

今回構築した HPLC 条件は Azuma らの報告⁵⁸⁾をもとに設定した。すなわち、彼らは移動相として 50 mM リン酸水溶液 : アセトニトリル (60:40, v/v) を、カラムには TSKgel ODS-80TM (4.6 mm \times 250 mm, 5.0 μm) を用いていたが、本研究室ではカラムオーブンの長さの都合上、より短いカラムを選択する必要があり、L-column 2 (4.6 \times 150 mm, 5.0 μm) を

用いた。その場合 MCFG を検出することが出来なかったため、新たな移動相として 50 mM リン酸水溶液：テトラヒドロフラン (65:35, v/v) とした。また, Azuma ら⁵⁸⁾ は IS として MCFG 類縁体である FR195743 を用いていたが, MCFG と同様に検出することができなかった。そのため容易に入手できる試薬であり, 患者血漿由来ピークに干渉されない物質として 1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸を選択した。IS の候補として 1-ナフトールも試みたが, 感度は良いものの MCFG 由来ピークと保持時間が近く, 使用することができなかった。

今回構築した血漿中遊離型 MCFG 濃度の測定法では, MCFG 濃度として 4.0~80.0 ng/mL において相関係数 0.999 の良好な直線性が得られた (Fig. 18)。また, 実測した患者 11 名由来の検体では, 血漿中 MCFG の総濃度が 1.77~36.28 µg/mL の範囲において遊離型濃度は 4.5~45.1 ng/mL に分布しており, 患者サンプルを過不足なく測定ができると考えられる。また, 本方法は, 検出限界 2.0 ng/mL, 定量限界は 4.0 ng/mL という Azuma ら⁵⁸⁾ の報告と比較しても同等の感度で検出が可能なことに加え, 定量性が確認できた。

日差再現性においては 4.0 ng/mL の低濃度領域において測定精度が 12.5% と劣るものの, ほとんどの検体における濃度が集中する 8.0, 16.0 ng/mL では日内再現性, 日差再現性ともに測定精度は 5.0% 以下, 真度は 95.0~105.0% の範囲で良好であり (Table 16), 比較対照できる報告はないものの, 臨床的には簡便かつ信頼性のある測定法であることも確認された。

患者 11 名の血漿中における遊離型 MCFG 濃度と総 MCFG 濃度の関係を検討したところ, 得られた血漿タンパク結合率は $99.83 \pm 0.09\%$ だった。MCFG は血漿中において 99% 以上が血清アルブミンや α_1 -酸性糖タンパクと結合して存在すると考えられている。^{52, 53)} 今回の結果はこれらの報告を支持するものであった。また, 両者には有意な相関関係が認められ (Fig. 20), 患者の年齢, 1 日投与量, 投与開始後の経過時間や MCFG による治療期間, 基礎疾患に関わらずタンパク結合率はほぼ一定であることが推察された。

本研究ではヒト血漿中における血漿中遊離型 MCFG 濃度の簡便な測定法を確立し, 複数の患者における多数の採血点における濃度を測定することができた。本法を用いて, 次

章では深在性真菌症患者における血漿中 MCFG 濃度推移とそれぞれの臨床経過との関係を検討することとした。

第 5 章 血漿中ミカファンギン濃度推移と患者個々における臨床効果の検討

第 1 節 緒言

移植技術やがん化学療法 of 進歩は高い治療効果をもたらす一方で、免疫力低下に伴い易感染宿主は増加し、健常時には生活環境の中で共存している細菌や真菌などの常在微生物に日和見感染するリスクが増加している。临床上、免疫能低下や感染障壁の破綻により深在性真菌症を発症すると致死率は高く、治療法は薬物療法が主となることから抗真菌治療薬の位置づけは大きい。⁶⁰⁾ MCFG は真菌に特異的な細胞壁の主要構成成分である 1, 3-β-D-グルカンの生合成を阻害することにより、*Candida* 属や *Aspergillus* 属に対して抗真菌活性を示す^{13,14)}。MCFG は肺への移行性が高く、⁶¹⁾ 真菌症の診断・治療ガイドライン 2007¹⁵⁾ においても播種性 *Candida* 血症や肺 *Aspergillus* 症などに対する治療および予防薬として推奨されている。また、従来用いられてきた抗真菌薬と比較して、副作用や薬物相互作用が少ないことから、高齢者や小児、肝機能・腎機能の低下した患者に対しても選択される頻度の高い薬物である。しかし、真菌感染症の診断および有効性の判定は難しいことから、有効性を得るために必要な用量や投与間隔、血中濃度は未だ明らかではない。

一方、感染症治療および予防投与においては近年の抗菌薬適正使用への関心の高まりにより、抗菌スペクトルの狭い薬物への薬剤選択の切り替えは進みつつある。しかし、がん化学療法のような免疫不全を伴う治療の増加により、広域スペクトルをもつ抗菌薬の使用が必須な患者は一定以上存在しており、その使用に伴い真菌尿路感染症についても発症リスクは高まっている。⁶²⁾ その起因は *Candida* 属の場合が多く、その中でも特に *C. albicans* , *C. glabrata* がそれぞれ 55%, 25%を占めたとの報告がある。⁶²⁾ *Candida* 尿路感染症に対する治療薬は、米国においてフルコナゾールやアムホテリシン B が推奨されているが、⁶²⁾ 近年、*C. glabrata* のアゾール系抗真菌薬に対する耐性化が報告されており、⁶³⁾ 治療効果が十分に得られない場合も多い。また、アムホテリシン B は腎障害発症リスクが高いなど安全性において問題がある。しかし、尿路に存在する真菌に作用するためには

薬物が尿中に排泄される必要があるものの、MCFG の尿中排泄率は投与量の 0.7% と極めて低く、⁵⁸⁾ 治療上十分な濃度の確保が難しいといった理由から尿路感染症に対しては使用経験が少ない。

本報告では、細菌および真菌感染を呈した患者に抗菌薬治療と MCFG による抗真菌薬治療を施行した 1 症例および *Candida* 尿路感染症に対して MCFG を投与し、治療効果を得ることのできた 2 症例について臨床経過と血漿中 MCFG 濃度を示し、MCFG を用いた治療に際しての血漿中 MCFG 濃度モニタリングの有用性を検討した。

第 2 節 方法

1) 対象患者

対象は真菌が原因と疑われる感染症に罹患し、MCFG (50~300 mg/day) による治療を受けた患者 3 名とした。本研究は北海道社会保険病院倫理委員会の承認のもとに、患者あるいは患者の家族による承諾を得て行った。

2) 調査項目

身長、体重、年齢、性別などの患者の背景因子、ミカファンギンナトリウム注射液の投与状況、併用薬物、体温、医師の診断所見のほか、血清中の白血球 (White blood cell: WBC) 数、CRP 値、 β -D-グルカン、Scr、BUN などの臨床検査値は診療録より調査した。Ccr は Cockcroft-Gault 式³⁴⁾より算出した。

3) 検体採血

患者由来および検量線に用いるブランク血はヘパリン添加採血管に回収した。患者から採取する場合には、MCFG 投与 4 日目および投与が終了となるまで 1 週間毎を目安として投与直前、投与開始 1 時間後、3 時間後に採血した。ただし、症例 1 の MCFG 投与 4 日目における投与直前の試料は処置上の理由により採取できなかった。得られた血液は

25°C, 400 g にて 20 分間遠心分離し, 得られた血漿をプラスチックチューブに分取したのち, -20°Cで保存した.

4) 血漿中遊離型および総ミカファンギン濃度測定方法

第 4 章 第 1 項, 第 2 項に従った.

第 3 節 結果

1) 症例 1 (肝機能に変化した深在性真菌症患者)

84 歳, 女性. 体重 30.7 kg であり, 心不全および認知症のため老人介護施設にて療養中であつた. 入所施設で 39°Cの発熱および意識レベルの低下が認められ, 夜間に緊急搬送された. レントゲン像, 臨床所見および CRP 値の上昇, WBC 数と好中球数の増加 (Table 18, Fig. 21) などから誤嚥性肺炎および肺膿瘍と診断され, 初期治療としてメロペネム (meropenem: MEPM) の投与を開始した. これにより症状の改善が認められたものの, 後日, MEPM 投与前に実施された喀痰培養より *C. glabrata*, MRSA および α -*Streptococcus* が検出されたことから, MCFG ならびにテイコプラニン (teicoplanin: TEIC) の投与が追加された. その後, CRP 値, WBC 数, 好中球数は減少したが, β -D-グルカンが 164.9 pg/mL であつたため MCFG の投与を継続した (Table 18). また, 喀痰培養にて起因菌は未検出であつたが, グラム陰性菌の感染を否定できなかつたことからメロペネム, セフォゾプラン, セフェピムを約 14 日ごとにサイクリング (耐性化を防ぐための薬剤変更) しながら併用した. MCFG 投与 27 日目において AST および ALT と T-bil 値の上昇が認められ (Fig. 22), 臨床所見と併せて胆汁うっ帯と診断された. MCFG 投与 44 日目に発熱等の感染兆候が再燃し, 医療関連感染を疑いピペラシリン/タゾバクタム (piperacillin/tazobactam: PIPC/TAZ) の投与を開始した. 45 日目に中心静脈カテーテル先の細菌培養より *Acinetobacter lwoffii* が検出されたため投与は継続されたが, MCFG 投与 55 日目には β -D-グルカンが 48.6 pg/mL まで減少し, 感染を示す所見も認められなくなつたため MCFG, PIPC/TAZ 共に投与を終

了した。観察期間中、血漿中 TEIC 濃度が投与開始 6 日後以降、10~30 µg/mL にて推移していたにも関わらず喀痰培養では MRSA が継続的に検出されていた。しかし、TEIC 投与後 33 日目までに X 線像では肺膿瘍は消失していたため MRSA は定着菌と判断されて TEIC は中止となった。

Table 18. Clinical Index and Laboratory Data in Case 1

Day	-3	1	3	8	15	23	30	37	41	44	51	58	65
Administration schedule		← MCFG 150 mg /day →											
In sputum													
<i>C. glabrata</i>		(2+)				(-)	(-)			(-)	(-)		
MRSA		(2+)				(1+)	(1+)	(1+)		(1+)	(-)		
β-D-glucan (pg/mL)	-	-	-	164.9	91.5	99.9	73.7	-	46.3	-	48.6	47.8	25.5
WBC (x10 ³ /mm ³)	29.03	22.59	16.38	7.97	4.33	4.41	5.87	7.47	6.81	5.79	6.71	5.77	-
Neutro. (x10 ³ /mm ³)	25.75	-	-	6.19	2.69	2.35	-	3.83	3.49	3.32	3.91	2.73	-
BUN (mg/dL)	91.5	32.4	14.5	11.4	12.2	15.2	18.2	14.1	14.2	13.5	10.4	17.1	-
Ccr (mL/min)	17.2	35.0	42.4	44.3	51.1	58.6	64.3	60.4	57.0	57.0	47.5	39.9	-

MCFG は 1 回 150 mg を 1 時間かけて点滴静注され、血漿中濃度測定のための採血は MCFG 投与開始後 4 日目の点滴終了 1 時間後と 2 時間後の 2 点および 8, 15, 22, 30, 37, 44, 55 日目の投与直前、点滴終了 1 時間後および 2 時間後の 3 点において行なった。MCFG 投与開始 8 日目における投与直前、点滴終了 1 時間後、2 時間後の血漿中総 MCFG 濃度はそれぞれ 5.9, 16.6, 13.1 µg/mL となり、その後 22 日目まで大きな変化はなかった (Fig. 23A)。しかし、30 日目の投与直前、点滴終了 1 時間、点滴終了 2 時間の値は 11.9, 29.1, 22.7 µg/mL へ上昇し、以降、投与終了時までそれぞれ 11.0±0.7, 25.7±2.5, 20.6±1.8 µg/mL で推移した。

一方、血漿中遊離型 MCFG 濃度は MCFG 投与開始 8 日目における投与直前、点滴終了 1 時間後、2 時間後の血漿中総 MCFG 濃度としてそれぞれ 16.7, 41.9, 33.0 ng/mL となり、その後 22 日目まで大きな変化はなかった (Fig. 23B)。しかし、30 日目の投与直前、点滴終了 1 時間、点滴終了 2 時間の値は 12.8, 31.0, 22.5 ng/mL となり、以降、投与終了時

までそれぞれ 10.9 ± 0.3 , 24.8 ± 2.1 , 20.2 ± 0.2 ng/mL で推移した. 本症例における MCFG の血漿タンパク結合率は $99.84 \pm 0.07\%$ だった.

AST, ALT, T-bil は入院直後より上昇し, それぞれ最大 63 U/L, 52 U/L, 1.2 mg/dL まで達した後, MCFG 投与開始後 10 日目には回復した (Fig. 22). しかし, 23 日目より再度 AST および ALT の上昇が認められ, 特に AST は 44 日目に最大 71 U/L となったのち徐々に低下し, MCFG の投与終了時まで正常範囲に回復した (Fig. 22A). 患者の Scr から算出した Ccr は入院時において 17.2 mL/min であったが, MCFG 投与 8 日目までに 44.3 mL/min に回復し, その後投与終了までに 53.6 ± 6.5 mL/min で推移した. また, BUN は入院時に 91.5 mg/dL と高値を示したが, 8 日目までに 12 mg/dL に減少し, その後は 20 mg/dL 以下で推移した (Table 18).

なお, 本症例では播種性血管内凝固症候群および膵炎を観察初期より併発しており, それに対して蛋白分解酵素阻害薬を, また MCFG 投与 21 日目までオメプラゾールを, 22 日目以降はファモチジンを併用した.

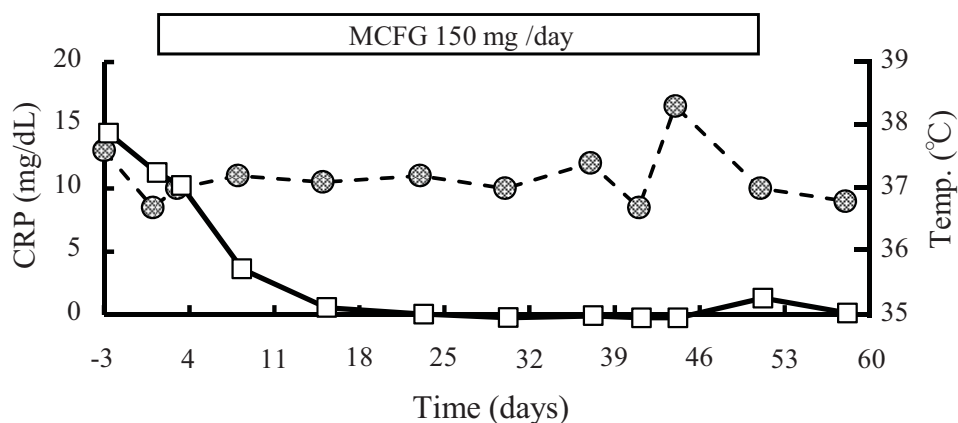


Fig. 21. Changes in CRP (□) and Body Temperature (●) in Case 1

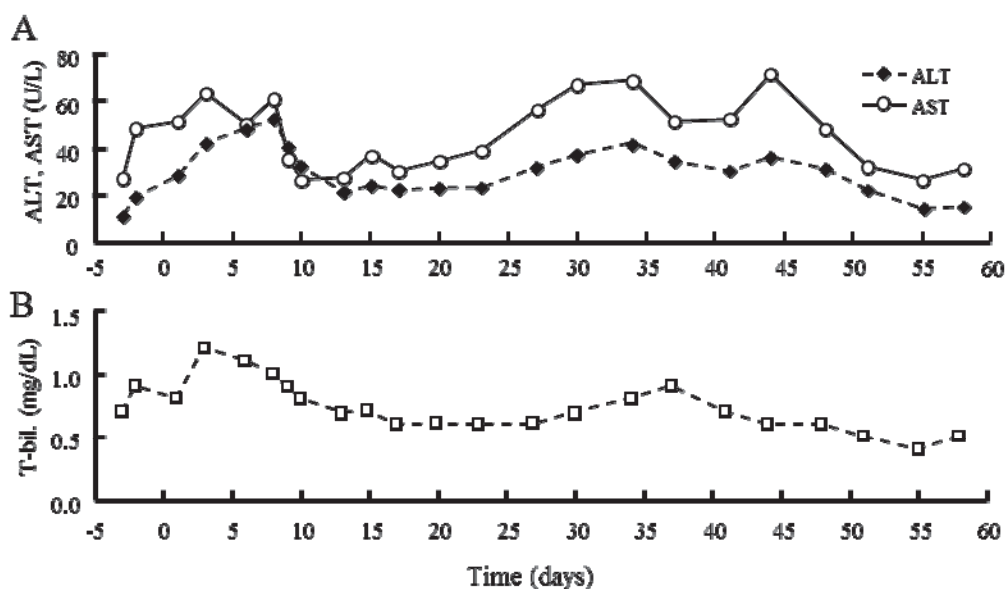


Fig. 22. Changes of AST (A), ALT (A) and Total Bilirubin (B) for Case 1

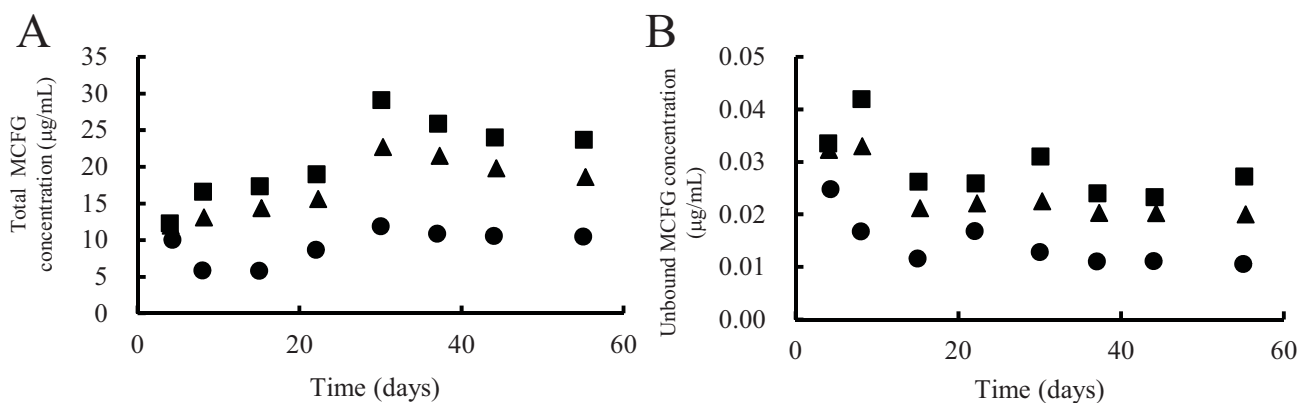


Fig. 22. Plasma Concentration of Total (A) and Unbound (B) MCFG in Case 1

Each point represents the value just before administration (●), 1 hour after administration (■), and 3 hours after administration (▲).

2) 症例 2 (尿路感染症が改善した患者)

90 歳代, 男性, 身長 149 cm, 体重 34.4 kg. 他院にて誤嚥性肺炎を発症し, 治療のために転院してきた. 陳旧性肺結核, 認知症, 前立腺肥大症を併発していた. 入院時体温は 37.1°C, CRP 値は 21.91 mg/dL であり, 細菌感染による肺膿瘍と診断された. 第 1 病日より PIPC/TAZ が投与され, さらに後日喀痰培養より MRSA を検出したためバンコマイシン塩酸塩 (vancomycin: VCM) の投与を追加した. また, 尿閉を起こしており, 転院時には

尿道カテーテルを留置されていた。自宅退院を前提とし、感染の防止および日常生活活動向上の観点から尿道カテーテルの抜去を試みたが自排尿を行うことが出来ず、カテーテル留置を継続していた。PIPC/TAZ および VCM の投与により、第 25 病日には体温 37.0°C、CRP 値 1.54 mg/dL に改善した。しかし、第 28 病日に発熱があり、尿道カテーテル挿入が背景にあったことから尿路感染症を疑った。尿のグラム染色にて酵母様真菌が多数検出され、また、尿沈渣白血球が 68.6/HPF と高値を示したため、同日より MCFG を 150 mg/day で投与開始した。尿のグラム染色にて検出された酵母様真菌は後日、*C.albicans* と培養同定された (Table 19)。

Table 19. Clinical Index and Laboratory Data in Case 2

Day	-27	1	5	9	12	15	19
Administration schedule		← MCFG 150 mg /day→					
Yeast-like fungus		(+)	(few)		(-)		
<i>C. albicans</i>		(2+)			(-)		
WBCs in urine sediment (/HPF)	1.0	68.6	35.9	10.0	3.1	5.7	2.7
RBCs in urine sediment (/HPF)	4.1	4.5	6.5	13.3	8.9	4.3	2.5
Uric protein	(-)	(+/-)	(+)	(-)	(+/-)	(+/-)	(-)
Occult hematuria	(+/-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)

(Normal level of WBCs and RBCs in urin sediment : ≤ 5 /HPF)

MCFG は 1 回 150 mg を 1 時間かけて点滴静注した。MCFG 投与開始 5 日目の血漿中 MCFG 濃度は投与直前、投与終了 1 時間後および 3 時間後においてそれぞれ 4.6, 14.0, 10.4 $\mu\text{g/mL}$ であり、MCFG 投与開始 8 日目にはそれぞれ 4.4, 15.6, 12.6 $\mu\text{g/mL}$ となった (Fig. 24A)。

血漿中遊離型 MCFG 濃度は MCFG 投与開始 5 日目の投与直前、投与終了 1 時間後および 3 時間後においてそれぞれ 10.8, 21.0, 14.9 ng/mL であり、MCFG 投与開始 8 日目にはそれぞれ 9.2, 22.2, 15.8 ng/mL となった (Fig. 24B)。症例 2 における MCFG の血漿タンパク結合率は $99.83 \pm 0.04\%$ だった。

CRP 値は 投与開始 5 日目までは上昇を続けたが、その後は低下した。体温も MCFG 投与開始 5 日目には解熱し、その後は平熱を維持していた (Fig. 25)。MCFG 投与開始時の尿より多数検出されていた酵母様真菌は、MCFG 投与期間中に減少し、MCFG 投与開始 12 日目には未検出となった (Table 19)。尿沈渣白血球は MCFG 投与開始日には 68.6/HPF であったが MCFG 投与開始 12 日目には 3.1 /HPF まで低下し (Table 19)、体温、CRP 値および尿検査所見の改善が認められたことから MCFG 投与開始 12 日目にて MCFG の投与を終了した。

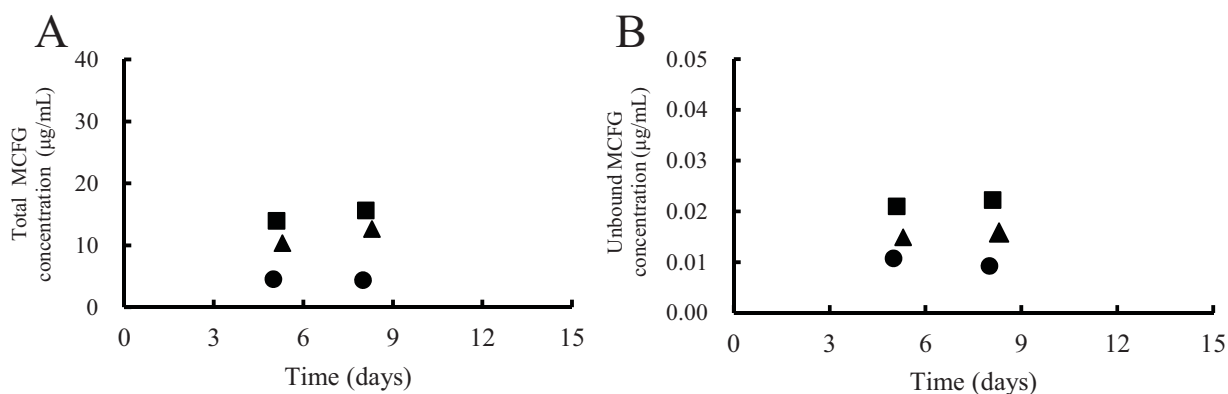


Fig. 24. Plasma Concentrations of Total (A) and Unbound (B) MCFG in Case 2

Each point represents the value just before administration (●), 1 hour after administration (■), and 3 hours after administration (▲).

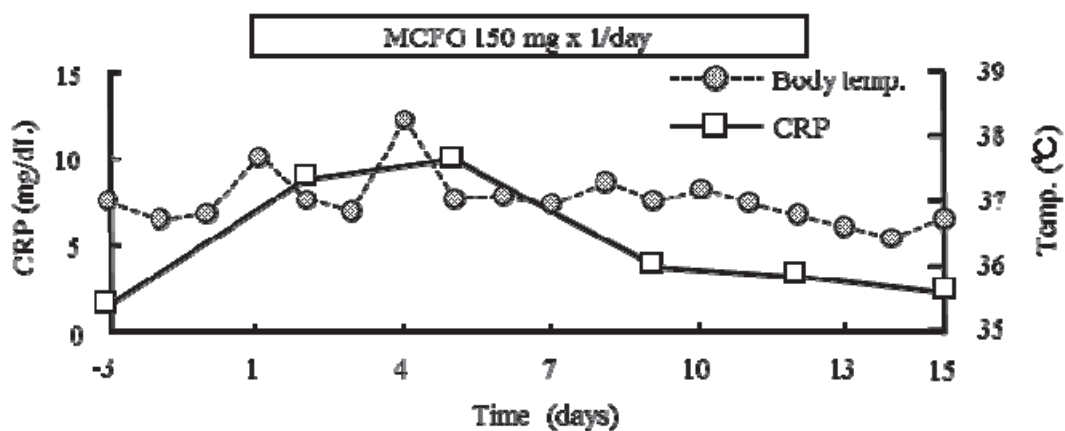


Fig. 25. Changes in CRP (□) and Body Temperature (●) in Case 2

3) 症例 3 (尿路感染症が改善した患者 (ステントあり))

70 歳代, 男性. 身長 166 cm, 体重 44.6 kg. 水腎症および尿路性敗血症の既往があり, 他院にて左右尿管ステントを留置していた. 入院前 1 カ月までに右尿管ステントの抜去および左尿管ステントの入れ替えなどの処置を行っていた. 他院にて肺炎が疑われ治療していた際に肺結核の診断を受け, その治療の目的で転院となり, イソニアジド, リファンピシンを経口投与していた. 入院時のコンピュータ断層撮影 (computed tomography: CT) 画像にて左腎の腫大を認め, 左腎膿瘍, 腸腰筋膿瘍と診断された. 入院時の体温は 37.8°C, CRP 値は 7.73 mg/dL であり, 前医にて尿より培養同定された緑膿菌を起炎菌と想定して第 1 病日より PIPC/TAZ の投与が開始された. 入院初期より膿尿が認められたが PIPC/TAZ 投与期間中に改善せず, PIPC/TAZ の投与期間が 14 日を超えたために耐性化防止の観点からレボフロキサシン (levofloxacin: LVFX) に変更となった. LVFX 投与期間中も発熱が持続し, 膿尿は改善しなかった. 第 12 病日および第 19 病日に行った尿検査において緑膿菌は検出されず, *C. glabrata* が培養同定されたためにこれを起炎菌として疑い, 第 22 病日より MCFG を 150 mg/day にて投与開始した.

MCFG を 1 回 150 mg で 1 時間かけて点滴静注したところ, 投与直前における血漿中総 MCFG 濃度は MCFG 投与開始 5, 8, 15 日目において 2.5, 2.7, 2.8 $\mu\text{g/mL}$ で推移していた (Fig. 26A). 一方, 遊離型 MCFG 濃度は MCFG 投与開始 5, 8, 15 日目において 7.2, 6.9, 8.0 ng/mL で推移していた (Fig. 26B). 症例 3 における MCFG の血漿タンパク結合率は $99.72 \pm 0.03\%$ だった.

MCFG 投与開始時に発熱を認めたが, MCFG 投与開始 6 日目には解熱し, 同様に上昇していた CRP 値も MCFG 投与開始 8 日目までに 0.78 mg/dL まで低下した (Fig. 27). また, MCFG 投与開始 8 日目には膿尿も改善し, MCFG 投与開始 13 日目以降の尿培養では *C. glabrata* は消失していた (Table 20). なお, 症例 3 において β -D-グルカンは MCFG 投与開始 3 日前から MCFG 投与開始 8 日目にかけて低下し (Table 20), 臨床所見の改善も認めていた. そのため MCFG の投与終了を検討し, 投与開始 19 日目に β -D-グルカンの測定を行ったところ 42.2 pg/mL まで上昇していたことから MCFG の投与を

継続した (Table 25). その後, MCFG 投与開始 24 日目まで MCFG を投与し, 経過観察したが, 再度発熱などは起こらなかった. また, 臨床所見より *Candida* 尿路感染症は完治したものと考えられたため MCFG 投与開始 24 日目にて MCFG の投与は終了となった. MCFG 投与終了 2 日後 (投与開始から 26 日目) に行った尿検査では *C. glabrata* は培養同定されず, β -D-グルカンは 10.9 pg/mL と低下していた (Table 20). なお, 症例 3 において MCFG 投与期間中に尿沈査白血球, 尿沈査赤血球, 尿タンパク, 尿潜血に変化はなかった (Table 20).

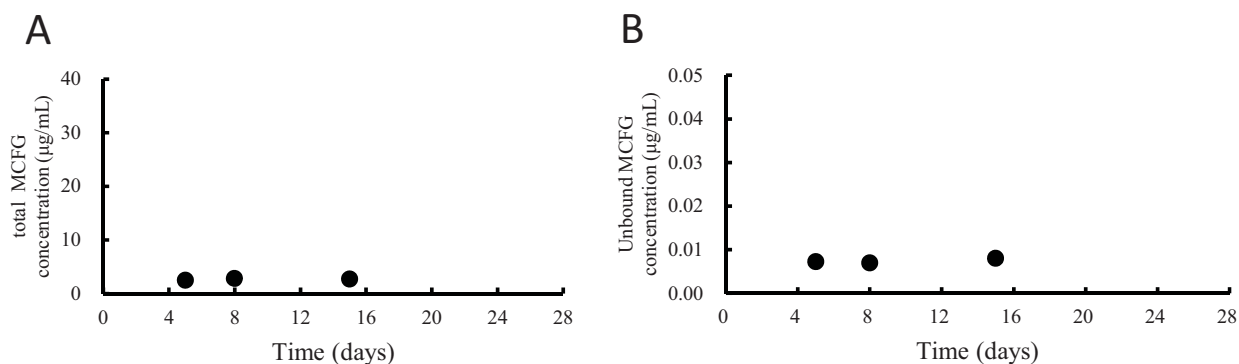


Fig. 26. Plasma Concentrations of Total (A) and Unbound (B) MCFG in Case 3
Each point represents the value just before administration (●).

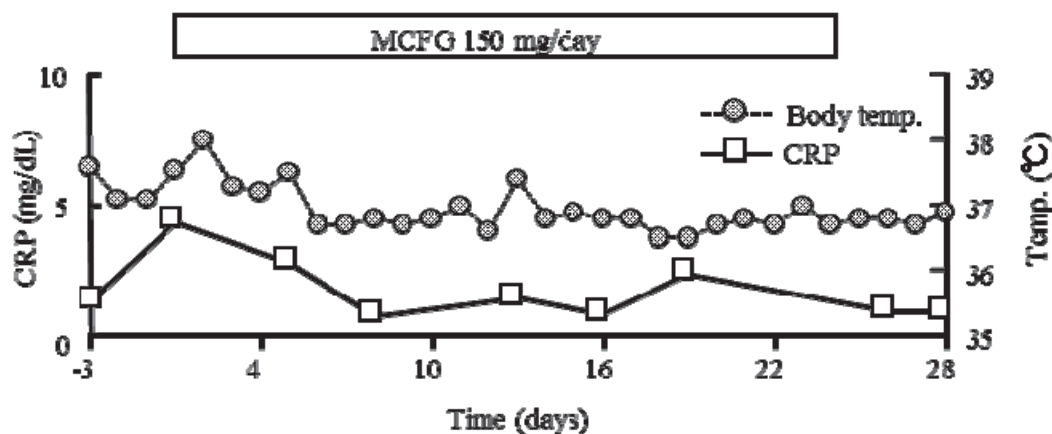


Fig. 27. Changes in CRP (□) and Body Temperature (●) in Case 3

Table 20. Clinical Index and Laboratory Data in Case 3

Day	-3	1	5	8	13	19	26
Administration schedule	← MCFG 150 mg x 1/day →						
Yeast-like fungus	(+)				(-)		(-)
<i>C. glabrata</i>	(+)			(+)	(-)		(-)
β -D-glucan (pg/mL)	24.3			15.2		42.2	10.9
WBCs in urine sediment (/HPF)	610	3294	202	375	307	1210	1554
RBCs in urine sediment (/HPF)	1.4	Unmeasurable	14.8	253.9	7.9	16.7	25.9
Uric protein	(+)	(+)	(+)	(2+)	(+/-)	(+)	(2+)
Occult hematuria	(+)	(+)	(+/-)	(3+)	(+)	(2+)	(2+)
Cloudiness of urine	← Strong → ← Improvement tendency →						

(Normal level of WBCs and RBCs in urine sediment : ≤ 5 /HPF)

第4節 考察

症例 1 は細菌性の誤嚥性肺炎および肺膿瘍に真菌感染症が合併していると考えられ、細菌感染に対する抗菌薬の有効性と、真菌感染症に対する MCFG の有効性を明確に分けることはできない。しかし、治療初期に喀痰培養検査において検出された *C. glabrata* がその後陰性となったことに併せ、高値を示した β -D-グルカンが MCFG の投与継続により経時的に減少した (Table 18) ことは、真菌感染を予測する上で判断基準の一つとなった。また、投与期間中に炎症の再燃も認められなかったことから、本症例において MCFG は真菌感染症に対して有効であったと推測される。

症例 1 において血漿中総 MCFG 濃度は投与直前値として $5.8 \mu\text{g/mL}$ 以上、投与後 1 時間値 $12.0 \mu\text{g/mL}$ 以上、投与後 2 時間値 $10.3 \mu\text{g/mL}$ 以上を維持していた (Fig. 23)。Shimoeda ら⁶⁴⁾ は、重篤な深在性真菌感染症に対する MCFG の有効血中濃度は投与直前において $5 \mu\text{g/mL}$ 以上必要であることを示唆している。また、Muraki ら⁶⁵⁾ は、臓器移植後の真菌感染疑い症例に対し MCFG を投与した場合、投与直前値として $5.2 \pm 2.6 \mu\text{g/mL}$ 以上

で有害事象なく有効性が得られたと報告している。症例 1 において真菌感染症に対する有効性を確保しつつ、治療終了までに MCFG との因果関係を疑う副作用症状も出現しなかったことは上記の報告と一致していた。

一方で、血漿中遊離型 MCFG 濃度は投与直前値として 10.9 ng/mL 以上、投与後 1 時間値 24.8 ng/mL 以上、投与後 2 時間値 20.2 ng/mL 以上を維持していた (Fig. 23B)。Pfaller ら⁶⁶⁾ は Asian-Pacific で採取された *C. glabrata* の MCFG に対する MIC は 0.007～0.12 µg/mL, Ernst ら⁶⁷⁾ は 0.0039 µg/mL と報告している。また、MCFG に対する *C. glabrata* の最小殺真菌濃度 (minimum fungicidal concentration: MFC) はアルブミン非存在下で 0.00156 µg/mL と報告している。感染症治療における抗微生物薬の働きは患者自身の免疫機構と共同して働く。本症例の投与直前濃度は上記の MIC および MFC を上回っており、これらの免疫機構や投与後の高い血漿中濃度により殺真菌効果が持続的に働く作用 (post antifungal effect: PAFE)⁶⁶⁾ も加わり、有効となった可能性がある。

MCFG の半減期は約 14 時間と報告されていることから、⁵⁸⁾ 投与開始 4 日目には定常状態を得ていることが予測される。しかし、本症例では定常状態到達までに少なくとも 8 日を要しており、半減期は延長していたことが考えられた。MCFG は一部が肝において CYP3A4 により水酸化され、代謝物である M-1, M-2, M-5 となるが、ほとんどは未変化体として胆汁中に排泄されると考えられている。⁵⁶⁾ 胆汁排泄型薬物のシクロスポリンでは肝機能障害を有する患者において肝機能が正常な患者よりも胆汁中シクロスポリン濃度が著しく上昇していたことが報告されており、⁶⁸⁾ 肝機能の低下により薬物の胆汁中排泄が低下することが示唆されている。本症例の観察初期には ALT, AST および T-bil が上昇していたことから、肝機能の異常が MCFG の胆汁中排泄に影響した可能性が考えられた。また、MCFG 投与開始 30 日目における血漿中 MCFG 濃度の上昇に先立って ALT および AST と T-bil は 28 日目より上昇した (Fig. 22)。Shimoeda ら⁶⁹⁾ は造血器疾患を有する患者において T-bil の著しい上昇は、投与量あたりの MCFG の血中濃度 (concentration/dose ratio: C/D 比) を上昇させたことを報告している。また、Muraki ら⁶⁵⁾ は生体肝移植を受けた患者における MCFG の体内動態について、腎機能や AST, ALT は MCFG の血中濃度

に影響しなかったものの、T-bil の上昇は MCFG の投与直前における血漿中濃度を有意に上昇させることを報告している。さらに、肝機能障害をもつ患者では健常成人と比較して AUC や消失半減期などに大きな差はないものの、高度な肝機能障害の場合、MCFG 代謝物の血漿中濃度が上昇したことが報告されている。^{56, 57)} 本症例では MCFG の薬物代謝および体外排泄への影響が大きいと予想される薬物は併用していなかった。また、30 日目の T-bil の上昇はわずかであったが、臨床的には脱水や絶食等に誘発された胆汁うっ滞と診断されていた。ヒトにおいては、¹⁴C-MCFG 25 mg を単回投与した場合の糞中への MCFG 回収量は、28 日目までに 70% 以上であったことが報告されている。⁵⁶⁾ また、ラットに MCFG を静脈内投与した場合も投与後 48 時間までに胆汁中へ 43.9%、尿中へ 13.2% が排泄されたと報告されている。⁶¹⁾ 実験的に患者の行動を管理した場合との差や種差はあるものの、本症例においては胆汁うっ滞により血中から胆汁中への MCFG の排泄が遅延し、そのため血漿中 MCFG 濃度は上昇した可能性が考えられた。

AST, ALT などの逸脱酵素は肝における細胞傷害度を示すものであり、薬物代謝能などの肝機能を直接反映するものではない。そのため、対象患者が複数である場合、酵素の逸脱レベルに比例した薬物体内動態の変動は検出しにくいと考えられる。しかし、本報告では一症例を追跡することにより AST, ALT の変動に遅れて生じた血中 MCFG 濃度の上昇を捉えることができた。胆汁うっ滞に伴い軽微な AST, ALT の上昇が起こることも少なくない。そのため、MCFG を使用するにあたっては、肝機能の変動が MCFG の体内動態へ影響する可能性を踏まえて治療を行う必要がある。

MCFG は血漿タンパク結合率が 99.8% 以上と高く、尿中排泄は少ないことから⁶¹⁾ 真菌尿路感染症において有効性は低いと考えられてきた。⁶²⁾ しかし、タンパク結合率が 97% であり、MCFG と同じキャンディン系抗真菌薬であるカスポファンギンでは、*non-albicans Candida* を起因菌とする尿路感染症に対して有効であった症例が報告されており、⁷⁰⁾ また、一部では *C. glabrata* による尿路感染症に対して MCFG が奏功したという報告もある。⁷¹⁾ カンジダ尿路感染症における治療薬は欧米においてはフルコナゾールやアムホテリシン B が推奨されているが、⁶²⁾ これらの薬物は他剤との併用による薬物相互作用および副作用の

報告が多いなどの理由から、易感染宿主に至るような化学療法を受けている患者や高齢者、移植に伴い著しく免疫が低下しているような患者に対しては使用が困難な場合もある。このような背景により症例 2, 3 では治療薬として MCFG を選択した。これらの症例では、MCFG 投与期間中の尿培養より *Candida* の消失を認めており、炎症反応も改善傾向にあることから (Table 19, 20), *Candida* 尿路感染症に対して、MCFG は有効であったと考えられる。また、症例 2 において MCFG 投与期間中に泌尿器系の炎症疾患の指標となる尿沈渣白血球などの尿検査値の改善が認められ (Table 20), 症例 3 では膿尿の改善が認められた (Table 20)。なお、症例 3 では尿沈渣白血球などの尿検査値の改善は認められなかったが (Table 20), その原因は尿路結石などによるものと考えられる。

症例 2, 3 における投与開始 5 日目, 8 日目の投与直前の血漿中総 MCFG 濃度は、症例 2 ではそれぞれ 4.6, 4.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Fig. 24A), 症例 3 ではそれぞれ 2.5, 2.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ だった (Fig. 26A)。投与開始 5 日目と 8 日目で大きな変動は認められなかったことから、投与開始 5 日目にはほぼ定常状態に達していたと考えられる。症例 2, 3 における投与直前の血漿中総濃度は、後藤ら⁷²⁾ が深在性真菌症患者において MCFG の治療効果を得たと報告している定常状態の投与直前値と同一範囲内であった。また、深在性真菌症患者について報告している定常状態血漿中総 MCFG 濃度算出式⁷²⁾ より求められる投与直前値は、症例 2 では 5.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 症例 3 では 4.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となり、実測値との大きな差はなかったものの、症例 2 では 予測値と比較して実測値がやや低い値であった。また、MCFG の 1 日投与量は 3 症例で同一であるにも関わらず、血漿中 MCFG 濃度レベルには大きな差が生じた。症例 3 の体重は症例 1, 2 と比較して大きく、分布容積が大きいと予測されること、また、症例 3 においては結核の治療のためにリファンピシンを服用していたが、リファンピシンは CYP3A4 をはじめとする肝薬物代謝酵素を誘導することが知られている。⁷³⁾ MCFG の消失経路としての P450 の寄与は胆汁中排泄ほど大きくはないものの、MCFG は CYP1A2, 2B6, 3A4 等により代謝されると報告されており、⁵⁸⁾ リファンピシンの併用により MCFG の代謝が亢進したことが考えられる。また、症例 3 においては原疾患によって尿中にタンパクが漏出していた。タンパク結合率の高い MCFG がタンパクとともに尿中

に排泄され、血漿中 MCFG 濃度が低下したことなどが考えられた。

症例 2, 3 における投与直前における血漿中総 MCFG 濃度はそれぞれ 4.4 $\mu\text{g/mL}$ 以上, 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 以上, 遊離型 MCFG 濃度は 9.2 ng/mL 以上, 6.9 ng/mL 以上であった (Fig. 24, 26). Pfaller ら⁶⁶⁾ はアジア太平洋地域より採取された *C. albicans*, *C. glabrata* に対する MCFG の MIC をそれぞれ 0.007~0.06 $\mu\text{g/mL}$, 0.007~0.03 $\mu\text{g/mL}$ と報告している。一方, Azuma ら⁵⁸⁾ は健常成人において MCFG 75 mg を 1 日 1 回にて反復投与した 4~7 日目の投与直前における血漿中総 MCFG 濃度は $2.4 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$, 0~12 時間までに採取された尿中 MCFG 濃度は $0.13 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ であったと報告している。症例 2, 3 において尿中 MCFG 濃度および *C. albicans*, *C. glabrata* に対する MIC の測定は行っていないが, それぞれの血漿中遊離型 MCFG 濃度は想定される起病菌の MIC と同程度以上に保たれていた。また, これらの症例における血漿中総 MCFG 濃度と尿中 MCFG 濃度の関係および MCFG に対する *C. albicans*, *C. glabrata* の MIC が Azuma ら⁵⁸⁾ の報告と同様であったと仮定すると, 尿中 MCFG 濃度は *C. albicans*, *C. glabrata* に対する MCFG の MIC を 2~10 倍程度上回り, そのために MCFG による治療効果が得られたと考えられる。

以上より, MCFG は *Candida* 尿路感染症に対しての治療効果が得られる可能性が示唆され, アゾール系抗真菌薬に低感受性の *C. glabrata* が起病菌である場合や腎機能障害を有する場合など, これまで治療の選択肢の少なかった *Candida* 尿路感染症患者に対して, MCFG が治療薬の一選択肢となる可能性が示唆された。

本検討は 3 症例の治療経過を血漿中 MCFG 濃度とともに検討し, 肝機能の変動が血漿中 MCFG 濃度レベルに影響する可能性や, カンジダ尿路感染症に対しても遊離型として病原真菌の MIC まで血漿中 MCFG 濃度を上昇させることで有効となる可能性を示すことができた。今後はエンドポイントと有効性の定義を明確にし, 対象患者を増やして検討するとともに, 小児がん領域のような特殊な病態における同様の検討も予定している。

総括

本研究はベプリジルおよびミカファンギンの簡便な血漿中濃度の確立と、得られた血漿中濃度と有効性の関係を明らかにすること、およびこれらの薬物について TDM を行うことの有用性を検証することを目的とした。

第 1 章では入手が容易な試薬を IS として使用し、患者における血漿中ベプリジル濃度測定法を構築した。併せて本測定法における日内および日差再現性、血漿を凍結保存した場合の薬物の安定性について検討し、採血後 21 日目までの検体について安定かつ良好な精度で測定可能であることを確認した。また、臨床上ベプリジルと高頻度に併用される薬物による定量への干渉がないことを確認した。

第 2 章では Af に対してベプリジルによる薬物治療を行っている患者について、服用後の血漿中濃度推移を測定し、ベプリジルの血漿中濃度と臨床効果の関係を明確にするための最適な採血点として投与直前が適していることを示した。また、得られた点に採血した血漿中ベプリジル濃度と 3 名の患者における臨床経過を比較し、ベプリジルの Af に対する臨床効果は血漿中濃度依存的に発現しており、有効性と副作用発現には一定の濃度域が存在する可能性を示した。

第 3 章では対象患者 36 名をベプリジル治療の導入期と維持期に分けた上で、その有効性と血漿中ベプリジル濃度の関係を比較し、Af をコントロールするには一定以上の血漿中ベプリジル濃度が必要であることを明らかにした。また、血漿中ベプリジル濃度の上昇は用量依存的であり、その増加に伴って有効性が得られることを明らかにした。第 2 章の結果も併せると、経口投与後のベプリジルの薬物動態は複雑であることから、臨床での利用に際しては、すべての患者に同じ用量を負荷し、至適濃度を維持することは困難であると思われた。したがって、ベプリジルによる有効性を確保し、副作用を抑えるためには血漿中濃度をモニタリングすることが有用であり、併せて心電図のモニタリングを行うことでより有効かつ安全にベプリジルによる Af の治療ができると考えられた。

第 4 章では患者を対象とした血漿中遊離型ミカファンギン濃度、総 MCFG 濃度と臨床

効果の関係を検討するために、血漿中遊離型 MCFG 濃度の測定法を構築し、高い感度で検出が可能なことに加え、安定的な定量性が確認できた。また、臨床で MCFG を投与されている患者 11 名から得られた検体の血漿中遊離型および総 MCFG 濃度は有意な相関関係にあること、MCFG の血漿タンパク結合率は 99.8% であることを示した。

第 5 章では、細菌および真菌感染を呈した患者に抗菌薬治療と MCFG による抗真菌薬治療を施行した 1 症例、および *Candida* 尿路感染症に対して MCFG を投与し、治療効果を得ることのできた 2 症例について臨床経過と血漿中 MCFG 濃度を示し、肝機能の変動が血漿中 MCFG 濃度に影響する可能性や、カンジダ尿路感染症に対しても遊離型として病原真菌の MIC まで血漿中 MCFG 濃度を上昇させることで有効となる可能性を示すことができた。

ベプリジルとミカファンギンは全く異なる領域の薬物であるが、それぞれの臨床効果は血漿中濃度依存的に得られる可能性を示した。ベプリジルは研究期間中に TDM のもとに使用されるべき薬物として、既に特定薬剤治療管理料算定の対象となったが、その目標濃度や採血点は不明瞭なままである。今回の研究では採血点を設定し、一定の血漿中濃度で有効性は変化するものの、ベプリジルの薬物動態は個体差が大きいため使用にあたっては TDM が有用であることを示すことができた。また、MCFG については明確な目標濃度設定はできなかったものの、感染の原因真菌の MIC をターゲットとして血漿中 MCFG 濃度を設定することにより有効性を得られる可能性を示すことができた。今回は症例数が少ないため治療にあたって事前に投与量を設定することは困難であるが、治療と並行して TDM を行うことで治療の適正化が可能であることが示唆された。

薬物治療においては薬効を客観的に評価するために臨床検査値や臨床所見をもとに医師の診断がなされる。その一方で、新薬の登場や新たな適応の拡大などにより薬物の選択肢は膨大となっている。薬効評価の指標として血中薬物濃度を用いることができれば、TDM は医師による診断を支え、薬剤師が薬物治療の適正化に貢献する上で強い根拠となり得る。現在 TDM の対象となる薬物は一部に過ぎないが、今後、患者にとっての最適な治療を提供する上で TDM の必要性のある薬物をスクリーニングし、治療に活用していくことが求

められる.

引用文献

- 1) Buchthal F., Svensmark O., Shiller P.J., “Clinical and electroencephalographic correlations with serum levels of diphenylhydantoin.” *Arch. Neurol.*, **2**, 624-630 (1960).
- 2) 伊賀立二, 斎藤佑也, 薬物投与設計のための TDM の実際. 薬業時報社, 東京, 1993.
- 3) Suzuki Y., Kawasaki K., Sato Y., Tokimatsu I., Itoh H., Hiramatsu K., Takeyama M., Kadota J., Is peak concentration needed in therapeutic drug monitoring of vancomycin ? A pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis in patients with methicillin-resistant staphylococcus aureus pneumonia. *Chemotherapy*, **58**, 308-312 (2012).
- 4) 厚生労働省, 診療報酬の算定方法の一部改正に伴う実施上の留意事項について. 保医発 0305 第 1 号, 平成 24 年 3 月 5 日, 2012.
- 5) 湧川佳幸, 井林雪郎, 脳梗塞の疫学からみた心房細動. *治療学*, **39**, 375-8 (2005).
- 6) Benjamin E. J., Levy D., Vaziri S. M., D'Agostino R. B., Belanger A. J. and Wolf P. A., Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. The Framingham Heart Study. *JAMA.*, **271**, 840-844 (1994).
- 7) 藤島正敏, 脳血管障害のリスクファクターとしての心疾患. *循環器専門医*, **6**, 19-26 (1998).
- 8) Friberg J., Scharling H., Gadsbøll N. and Jensen G. B., Sex-specific increase in the prevalence of atrial fibrillation (The Copenhagen City Heart Study). *Am. J. Cardiol.*, **92**, 1419-23 (2003).
- 9) Hashiba K., Arrhythmias in the elderly. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi*, **26**, 101-10 (1989).
- 10) Fuster V., Rydén L.E., Cannom D.S., Crijns H.J., Curtis A.B., Ellenbogen K.A., Halperin J.L., Le Heuzey J.Y., Kay G.N., Lowe J.E., Olsson S.B., Prystowsky E.N., Tamargo J.L., Wann S., Smith S.C. Jr., Jacobs A.K., Adams C.D., Anderson J.L., Antman E.M., Halperin J.L., Hunt S.A., Nishimura R., Ornato J.P., Page R.L., Riegel B., Priori S.G., Blanc J.J., Budaj A., Camm A.J., Dean V., Deckers J.W., Despres C., Dickstein K., Lekakis J., McGregor K., Metra M., Morais J., Osterspey A., Tamargo J.L. and Zamorano J.L., American College of Cardiology; American Heart

Association Task Force; European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines; European Heart Rhythm Association; Heart Rhythm Society. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: full text: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation) developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Europace*, **8**, 651-745 (2006).

11) Yamashita T., Ogawa S., Sato T., Aizawa Y., Atarashi H., Fujiki A., Inoue H., Ito M., Katoh T., Kobayashi Y., Koretsune Y., Kumagai K., Niwano S., Okazaki O., Okumura K., Saku K., Tanabe T., Origasa H., J-BAF Investigators. Dose-response effects of bepridil in patients with persistent atrial fibrillation monitored with transtelephonic electrocardiograms: a multicenter randomized, placebo-controlled, double-blind study (J-BAF study). *Circ. J.*, **73**, 1020–1027 (2009).

12) Yasuda M., Nakazato Y., Sasaki A., Kawano Y., Nakazato K., Tokano T., and Daida H., Clinical evaluation of adverse effects during bepridil administration for atrial fibrillation and flutter. *Circ. J.*, **70**, 662-666 (2006).

13) Kohno S., Yamaguchi H., Overview of micafungin. *Jpn. J. Chemother.*, **50**, 1-7 (2006).

14) Ikeda F., Otomo M., Nakai T., Morishita Y., Maki K., Tawara S., Muto S., Matsumoto F., Kuwahara S., In vitro activity of a new lipopeptide antifungal agent, micafungin against a variety of clinically important fungi. *Jpn. J. Chemother.*, **50**, 8-19 (2002).

15) 深在性真菌症のガイドライン作成委員会. 在性真菌症の診断・治療ガイドライン 2007. 協和企画, 東京, 2007.

16) 山口英世, 病原真菌と真菌症 (改訂 4 版). 南山堂, 東京, 2007.

17) Smith J., Safdar N., Knasinski V., Simmons W., Bhavnani S.M., Ambrose B.G., Andes D., Voriconazol therapeutic drug monitoring. *Antimicrobial. Agents Chemother.*, **50**, 1570-1572 (2006).

18) Pascual A., Calandra T., Bolay S., Buclin T., Bille J., Marchetti O., Voriconazol therapeutic drug

monitoring in patients with invasive mycoses improves efficacy and safety outcomes. *Clin. Infect. Dis.*, **46**, 201-211 (2008).

19) Tan K., Brayshaw N., Tomaszewski K., Troke P., Wood N., Investigation of the potential relationships between plasma voriconazol concentrations and visual adverse events or liver function test abnormalities. *J. Clin. Pharm.*, **46**, 235-243 (2006).

20) Hagiwara E., Shiihara J., Matsushima A., Enomoto T., Tagawa T., Sekine A., Tsuchiya N., Baba T., Shinohara T., Endo T., Sogo Y., Nishihira R., Komatsu S., Kato T., Ogura T. Takahashi H., Usefulness of monitoring plasma voriconazole concentration in patients with chronic necrotizing pulmonary aspergillosis. *Ann. Jpn. Respir. Socie.*, **47**, 93-97 (2009).

21) Johnson E.M., Warnock D.W., Luker J., Porter S.R., Scully C., Emergence of azole drug resistance in candida species from HIV-infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for oral candidosis. *J. Antimicrob. Chemother.*, **35**, 103-114 (1995).

22) Marr K.A., White T.C., van Burik J.A.H., Bowden R.A., Development of fluconazole resistance in *Candida albicans* causing disseminated infection in a patient undergoing marrow transplantation. *Clin. Infect. Dis.*, **25**, 908-910 (1997).

23) 阿部秀年, 山崎恭平, 小池直樹, 横田大介, 鈴木順, 上小澤護, 勝山善彦, 大森栄, ベプリジル塩酸塩内服による発作性心房細動の洞調律維持効果の検討および血中濃度と QT 時間延長との関係. *Ther. Res.*, **30**, 983-988 (2009).

24) Vink J., Hal H.J.M., Pognat J.F., Bouquet des Chaut J.L. Determination of the anti-ischaemic drug bepridil in human plasma using gas chromatography with nitrogen-sensitive detection. *J. Chromatogr.*, **272**, 87-94 (1983).

25) Ng. K-T., Plutte J.A., Galante L.J., Determination of bepridil in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **309**, 125-131 (1984).

26) Taguchi M., Fujiki A., Iwamoto J., Inoue H., Tahara K., Saigusa K., Horiuti I., Oshima Y., Hashimoto Y., Nonlinear mixed effects model analysis of the pharmacokinetics of routinely administered bepridil in Japanese patients with arrhythmias. *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 517-521 (2006).

- 27) Benet L.Z., Pharmacokinetics and metabolism of bepridil. *Am. J. Cardiol.*, **55**, 8-13 (1985).
- 28) Lesko L.J., Benotti J.R., Alpert J.S., Brady P.M., McCue J.E., Weiner B.H., Ockene I.S., Pharmacokinetics of intravenous bepridil in patients with coronary disease. *J. Pharm. Sci.*, **75**, 952-954 (1986).
- 29) Awni W.M., Halstenson C.E., Nayak R.K., Opsahl J.A., Desiraju R.K., Minn F.L., Matzke G.R., Pharmacokinetics of bepridil and two of its metabolites in patients with end-stage renal disease. *J. Clin. Pharmacol.*, **35**, 379-383 (1995).
- 30) Pang D.C., Sperelakis N., Nifedipine, diltiazem, bepridil and uptakes into cardiac and smooth muscles. *Eur. J. Pharmacol.*, **87**, 199-207 (1983).
- 31) Neilsen-Kudsk F., Askholt J., Jakobsen P., Bepridil, myocardial accumulation kinetics and dynamic effects in the isolated rabbit heart. *Pharmacol. Toxicol.*, **63**, 122-128 (1998).
- 32) Wu W.N., Pritchard J.F., Ng K.T., Hills J.F., Uetz J.A., Yorgey K.A., Mckown L.A., O'neill P.J., Disposition of bepridil in laboratory animal and man. *Xenobiotica*, **22**, 153-169 (1992).
- 33) 杉 薫, 草野歩, 野呂真人, 沼田綾香, 手塚尚紀, 中江武志, 酒井毅, 熊谷賢太, 森山明義, 久次米真吾, 浅山亨, ベプリジルの薬物動態の特徴. *心電図*, **27**, 30-35 (2007).
- 34) Cockroft D.W., Gault M.H., Prediction of creatinine clearance from serumcreatinine. *Nephron*, **16**, 31-41 (1976).
- 35) Pritchard J. F., McKown L. A., Dvorchik B. H., O'Neill P. J., Plasma protein binding of bepridil, *J. Clin. Pharmacol.*, **25**, 347-353 (1985).
- 36) Albengres E., Urien S., Pognat J.-F., Tillement J.-P., Multiple binding of bepridil in human blood. *Pharmacology*, **28**, 139-149 (1984).
- 37) 鎌倉 令, 山田優子, 岡村英夫, 野田 崇, 相庭武司, 里見和浩, 須山和弘, 清水 渉, 相原直彦, 上野和行, 鎌倉史郎, 不整脈例におけるベプリジルの至適投与量と血中濃度域. *Jpn. J. Electrocardiology*, **31**, 150-157 (2011).
- 38) Tillement J.P., Albengres E., Urien S., Defer G., Pognat J.F., Metabolism pharmacocinetique du bepridil chez l'homme. *Rev. Med.*, **24**, 1265-1269 (1983).

- 39) Desiraju R.K., Gemzik B., Nayak R.K., Esterling D.E., Steady-state dose proportionality and pharmacokinetics of bepridil in healthy volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **35**, 234 (1984).
- 40) Kubota T., Yamaura Y., Ohkawa N., Hara H., Chiba K. Frequencies of CYP2D6 mutant alleles in a normal Japanese population and metabolic activity of dextromethorphan O-demethylation in different CYP2D6 genotypes. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **50**, 31-34 (2000).
- 41) Nishida K., Fujiki A, Sakamoto T., Iwamoto J., Mizumaki K., Hashimoto N., Inoue H. Bepridil reverses atrial electrical remodeling and L-type calcium channel downregulation in a canine model of persistent atrial tachycardia. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, **18**, 765–772 (2007).
- 42) Van Wagoner D.R., Nerbonne J.M. Molecular basis of electrical remodeling in atrial fibrillation. *J. Mol. Cell Cardiol.*, **32**, 1101–1117 (2000).
- 43) 山下武志 編, 心房細動—アップストリーム治療とダウンストリーム治療—. 東京, 中山書店, 2007.
- 44) Perelman M. S., McKenna W.J., Rowland E., Krikler D.M. A comparison of bepridil with amiodarone in the treatment of established atrial fibrillation. *Br. Heart J.*, **58**, 339–344 (1987).
- 45) 福本恭子, 笠井英史, 土下喜正, 児島成之, 鎌倉史郎, 上野和行, 心房細動患者におけるベプリジルの母集団薬物動態解析. *TDM 研究*, 29, 77-82 (2012).
- 46) Arendrup M.C., Epidemiology of invasive candidiasis. *Curr. Opin. Crit. Care.*, **16**, 445-452 (2010).
- 47) Pappas P.G., Micafungin for candidiasis. *Mycoses*, **55**, 8-12 (2012).
- 48) Playford E.G., Lipman J., Sorrel T.C., Management of invasive candidiasis in the intensive care unit. *Drugs*, **70**, 823-39 (2012).
- 49) Glockner A., Treatment and prophylaxis of invasive candidiasis with anidulafungin, caspofungin and micafungin: review of the literature. *Eur. J. Med. Res.*, **16**, 167-179 (2011).
- 50) 野田久美子, 上田晃, 黒沼博史, 岩井新治, 伊藤勝美, 斉藤容子, 小倉滋明, 小林道也, 唯野貢司, Antimicrobial Use Density を用いた注射用抗菌薬および抗真菌薬の使用動向変化の長期的解析とその要因 I. *環境感染誌*, **24**, 332-336 (2009).

- 51) 野田久美子, 上田晃, 黒沼博史, 岩井新治, 伊藤勝美, 斉藤容子, 小倉滋明, 小林道也, 唯野貢司, Antimicrobial Use Density を用いた注射用抗菌薬および抗真菌薬の使用動向変化の長期的解析とその要因 II —診療科別の解析—. *環境感染誌*, **24**, 400-404 (2009).
- 52) Cross S.A., Scott L.J. Micafungin: a review of its use in adults for the treatment of invasive and oesophageal candidiasis, and as prophylaxis against Candida infections. *Drugs*, **68**, 2225-2255 (2008).
- 53) Carter N.J., Keating G.M., Micafungin: a review of its use in the prophylaxis and treatment of invasive Candida infections in pediatric patients. *Paediatr. Drugs*, **11**, 271-279 (2009).
- 54) Sakaeda T., Iwaki K., Kakumoto M., Nishikawa M., Niwa T., Jin J-S., Nakamura T., Nishiguchi K., Okamura N., Okumura K., Effect of micafungin on cytochrome P450 3A4 and multidrug resistance protein 1 activities, and its comparison with azole antifungal drugs. *J. Pharm. Pharmacol.*, **57**, 759-764 (2005).
- 55) Candrasekar P.H., Sobel J.D., Micafungin: a new echinocandin. *Clin. Infect. Dis.*, **48**, 1171-1178 (2006).
- 56) Scott L.J., Micafungin. *Drugs*, **72**, 2141-2165 (2012).
- 57) Hebert M.F., Smith H.E., Marbury T.C., Swan S.K., Smith W.R., Townsend R.W., Buell D., Keirns J., Bekersky I., Pharmacokinetics of micafungin in healthy volunteers, volunteers with moderate liver disease, and volunteers with renal dysfunction. *J. Clin. Pharmacol.*, **45**, 1145-1152 (2005).
- 58) Azuma J., Nakahara K., Kagayama A., Okuma T., Kawamura A., Mukai T., Pharmacokinetic study of micafungin. *Jpn. J. Chemother.*, **50**, 155-185(2002).
- 59) Yamato Y., Kaneko Y., Hashimoto T., Katashima M., Ishibashi K., Kawamura A., Terakawa M., Kagayama A., Pharmacokinetics of the antifungal drug micafungin in mice, rats and dogs, and its *in vitro* protein binding and distribution to blood cells. *Jpn. J. Chemother.*, **50**, 74-79 (2002).
- 60) Yamato Y., Kaneko H., Tanimoto K., Katashima M., Ishibashi K., Kawamura A., Terakawa M., Kagayama A., Simultaneously determination of antifungal drug, micafungin, and its two active

metabolites in human plasma using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Jpn. J. Chemother.*, **50**, 68-73 (2002).

61) Yamato Y., Kaneko H., Yamasaki H., Fujiwara T., Katashima M., Kawamura A., Terakawa M., Kagayama A., Distribution and excretion after intravenous dosing of [¹⁴C] micafungin to rats. *Jpn. J. Chemother.*, **50**, 80-87 (2002).

62) Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D., Benjamin D.K., Calandra T.F., Edwards J.E., Filler S.G., Fisher J.F., Kullberg B-J., Ostrosky-Zeichner L., Reboli A.C., Rex J.H., Walsh T.J., Sobel J.D., Clinical practice guidelines for the management of Candidiasis: 2009 update by the infectious diseases society of America. *CID*, **48**, 503-535 (2009).

63) Ng T.B., Pharmacotherapy approaches to antifungal prophylaxis. *Expert Opin. Pharmacother.*, **13**, 1695-1705 (2012).

64) Shimoeda S., Ohta S., Kobayashi H., Yamato S., Sasaki M., Kawano K., Effective blood concentration of micafungin for pulmonary aspergillosis. *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 1886-1891 (2006).

65) Muraki Y., Iwamoto T., Kagawa Y., Sakurai H., Usui M., Isaji S., Uemoto S., Okuda M., The impact of total bilirubin on plasma micafungin levels in living-donor liver transplantation recipients with severe liver dysfunction. *Biol. Pharm. Bull.*, **32**, 750-754 (2009).

66) Pfaller M.A., Boyken L., Hollis R.J., Kroeger J., Messer S.A., Tendolkar S., Diekema D.J., In vitro susceptibility of invasive isolates of *Candida* spp. To antifungal agents, caspofungin, and micafungin: six years of global surveillance. *J. Clin. Microbiol.*, **46**, 5425-5427 (2008).

67) Ernst E.J., Roling E.E., Petzold C.R., Keele D.J., Klepser M.E., In vitro activity of micafungin (FK-463) against *Candida* spp.: microdilution, time-kill, and postantifungal-effect studies. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **46**, 3846-3853 (2002).

68) Burckart G.J., Starzl T.E., Venkataramanan R., Hashim H., Wong L., Wang P., Makowka L., Zeevi A., Ptachcinski R.J., Knapp J.E., Excretion of cyclosporine and its metabolites in human bile. *Transplant. Proc.*, **18**, 46-49 (1986).

69) Shimoeda S., Ohta S., Kobayashi H., Saitou H., Kubota A., Yamato S., Shimada K., Sasaki M.,

Kawano K., Analysis of the blood level of micafungin involving patients with hematological diseases: new findings regarding combination therapy with tacrolimus. *Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 477-480 (2005).

70) Sobel J.D., Bradshaw S.K., Lipka C.J., Kartsonis N.A., Caspofungin in the treatment of symptomatic Candiduria. *Clin. Infect. Dis.*, **44**, 46-49 (2007).

71) Lagrotteria D., Rotstein C., Lee C.H., Treatment of candiduria with micafungin : A case series. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbial.*, **18**, 149-150 (2007).

72) Gotoh Y., Iwai S., Itoh K., Uegaki S., Mukai M., Araki T., Kobayashi M., Oda M., Saitoh H., Tadano K., Kishino S., Relationship between Plasma Concentration of Micafungin and Its Efficacy and Safety in Patients. *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **33**, 578-584 (2007).

73) Rae J.M., Johnson M.D., Lippman M.E., Flockhart D.A., Rifampicin is a selective, pleiotropic inducer of drug metabolism genes in human hepatocytes : study with cDNA and oligonucleotide expression arrays. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **299**, 849-857 (2001).

謝辞

本研究の過程において終始懇切なるご指導とご鞭撻を賜りました北海道医療大学大学院薬学研究科薬剤学分野 唯野貢司教授に心より感謝を申し上げます。

本論文の審査過程において数々のご助言とご指導を賜りました，薬学研究科薬剤学分野 齊藤浩司教授，薬学研究科生命物理化学分野 豊田栄子教授，薬学研究科薬理学分野 平藤雅彦教授に深謝申し上げます。

本研究を進めるにあたりひとかたならぬご指導・ご協力をいただきました薬学研究科薬剤学分野 小林道也教授に深く感謝申し上げます。

共同研究として本研究に多大なご協力・ご指導をいただきました市立札幌病院薬剤部 後藤仁和先生，市立札幌病院循環器内科 加藤法喜先生，前・北海道社会保険病院薬剤部 横山敏紀先生，北海道社会保険病院 呼吸器センター 秋山也寸史先生をはじめ，ご協力いただいたすべての方々に厚く御礼申し上げます。

本研究において実験および患者データ収集に尽力し，共に議論をしてくれた檜山恭弘修士，大久保利成修士，谷岡 哲修士，篠原 徹修士に心から御礼申し上げます。

また，金沢大学における学部・修士課程において研究の考え方・技術面において基礎をご指導いただいた現・名古屋大学医学部 横井 毅教授に深謝いたします。

最後に，日頃の業務面から研究をサポートしていただいた実務薬学教育研究講座の諸先生，始終あたたかいご声援をいただいた本講座の卒業生・在校生の皆様，近隣研究室の皆様，北海道 TDM 研究会役員の諸先生に御礼申し上げます。ありがとうございました。

平成 25 年 9 月 13 日

野田 久美子