

(表紙)

表 題 ファロペネムナトリウムの透析性に関する研究

論文の区分 論文博士

著 者 名 長谷川 豪紀

所 属 (現所属)
マルホ株式会社 プロジェクト推進部
(研究が行われた機関)
自治医科大学 医学部 薬理学講座 臨床薬理学部門

2017 年 4 月 14 日申請の学位論文

紹介教員 地域医療学系 専攻 臨床薬物治療学 専攻科
職名・氏名 今井 靖 教授

目次

1. 諸言	1
2. 臨床研究	2
2.1 患者と方法	2
2.2 血漿中 FRPM 濃度の測定	4
2.3 透析性の評価	4
2.4 統計解析	5
2.5 結果	5
2.6 考察	8
2.7 小括	10
3. <i>In vitro</i> 研究	11
3.1 方法	11
3.2 結果	14
3.3 考察	22
3.4 小括	24
4. イヌ血漿を用いた検討	25
4.1 方法	25
4.2 結果	28
4.3 考察	29
4.4 小括	29
5. 総括	30
6. 引用文献	31

1. 諸言

血液透析（HD）患者は、細菌感染のリスクが高い免疫不全状態にあり、米国では、感染症は HD 患者の主な疾患及び死亡の原因の 1 つである¹⁾。また、日本でも同様の臨床データが報告されている²⁾。したがって、HD 患者の予後を改善するためには感染症に対する予防だけでなく、適切な治療法も重要である。

ファロペネムナトリウム（分子量 352.34）（FRPM）は、世界初の経口ペネム系抗菌薬である。FRPM は、 β ラクタマーゼに対して高い安定性を示し³⁾⁴⁾、グラム陽性菌及び緑膿菌を除くグラム陰性菌に対し、広い抗菌スペクトルと強い抗菌活性を示す⁵⁾⁶⁾⁷⁾。FRPM はほとんど代謝されず、大部分は未変化体として尿中に排泄され、未変化体の一部は腎臓で代謝される⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。また、FRPM は主にアルブミンに結合し、タンパク結合率は約 90%と比較的高い¹¹⁾。しかし、HD 中の FRPM の透析性に関する情報はない。FRPM は、臨床現場で利用できる唯一のペネム系抗菌薬であるため、HD 患者におけるペネム系抗菌薬の適切使用に関する情報は必要である。また、感染症時には、薬物代謝が抑制されることがある¹²⁾。本研究では、感染症に罹患した HD 患者における FRPM の透析性プロファイルを明らかにすることを目的とした。

多くの HD 患者では尿毒素や酸の尿中排泄が低下しているため、血液中の尿毒素が増加し、代謝性アシドーシスの状態にある¹³⁾。また、HD 患者は低栄養や体液量増加のために低アルブミン血症であることが多い¹³⁾。さらに、HD 時の透析膜や抗凝固剤も患者によって異なる。これらの因子は、一般的に薬物の透析性に影響を及ぼすとされている¹⁴⁾。本研究では、*in vitro* 研究およびイヌ血漿を用いた研究において FRPM の透析性に影響を与える因子についても検討した。

2. 臨床研究

2.1 患者と方法

真岡病院（栃木県）及び笠岡第一病院（岡山県）において、8名のHD患者が本臨床研究に参加した。患者背景は表1に示す。いずれの被験者も尿量は非常に少なかった。被験者は感染症関連の症状を訴えて病院を受診し、細菌感染症と診断され（4名が気管支炎、4名が蜂窩織炎）、FRPM（ファロム[®]錠）が処方された。FRPMの薬物動態試験の実施前に、全ての被験者から本臨床研究の参加について文書による同意を得た。本試験計画は、真岡病院及び笠岡第一病院の倫理委員会で承認され、大学病院医療情報ネットワーク研究センター（UMIN）に登録された（UMIN000019365）。

表 1 患者背景

Patient No.	Sex	Age (years)	BW (kg)	Alb (g/dL)	BUN (mg/dL)	Cr (mg/dL)
1	F	48	58.5	3.9	84.9	12.6
2	M	65	64.0	3.4	57.5	8.7
3	F	71	49.3	4.0	31.8	7.3
4	M	55	49.6	3.7	50.3	9.8
5	M	53	69.0	3.8	70.7	15.7
6	F	72	45.7	4.0	55.7	6.8
7	F	61	59.0	4.2	72.2	8.0
8	M	61	69.4	4.2	50.4	13.3
Mean ± SD	—	60.8 ± 8.5	58.1 ± 9.1	3.9 ± 0.3	59.2 ± 16.4	10.3 ± 3.2

Alb: albumin, BUN: blood urea nitrogen, BW: body weight, Cr: creatinine, F: female, M: male

全ての被験者は、FRPMを計400mg（ファロム[®]錠200mgを2錠）、HD間の12時間毎に服用した（図1）。Day1では、被験者はFRPM200mgを12時間毎に服用した。薬物動態試験当日（Day2～11の1日）には、HD開始1～5時間前

に FRPM 200mg を服用し、HD 中に反復して血液サンプルを得た。

各被験者の HD 条件を表 2 に示す。各 HD 実施時間は 3～4 時間、透析膜は全てポリスルフォン (PS) 膜であった。No.5 以外、HD 終了まで血流量及び除水率を変更しなかった。Daugirdas の式を用いて Kt/V (標準化透析量) を算出した。診療録から FRPM 投与前後の白血球数 (WBC) と C 反応性タンパク (CRP) を抽出した。

HD 開始前と開始後に計 3～4 回、動脈側 (透析膜前) と静脈側 (透析膜後) からヘマトクリット (Ht) と薬物濃度測定用の血液サンプルを得た。

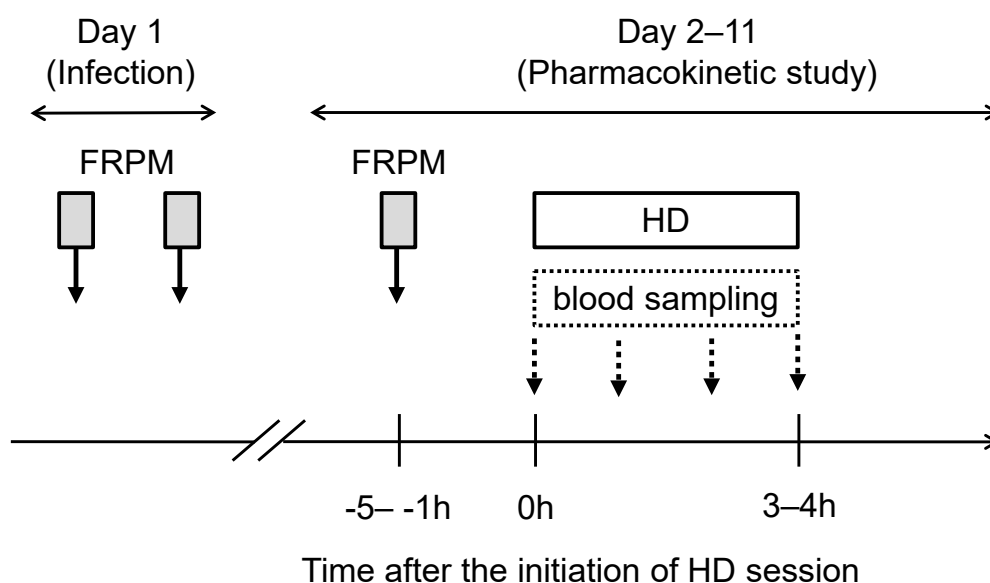


図 1 FRPM 投与と採血のスケジュール

表 2 血液透析の条件

Patient No.	Time to HD starting ^{a)} (min)	Duration of HD session (h)	Blood sampling (h)	Dialyzer surface area (m ²)	Blood flow rate (mL/min)	Kt/V
1	210	4	0, 2, 4	1.5	160	1.32
2	109	4	0, 2, 4	1.5	180	1.37
3	75	4	0, 2, 4	1.6	180	1.45
4	281	4	0, 2, 4	1.6	180	1.64
5	74	4	0, 2, 4	2.1	170–180	1.14
6	185	3	0, 1, 2, 3	1.1	180	1.15
7	147	3.5	0, 2, 3.5	2.1	180	1.51
8	125	4	0, 2, 4	2.1	180	1.27
Mean ± SD	150.8 ± 71.4	3.8 ± 0.4	—	1.7 ± 0.4	176.7 ± 7.1	1.36 ± 0.17

a) Interval between last faropenem (FRPM) dosing and HD starting.

2.2 血漿中 FRPM 濃度の測定

高速液体クロマトグラフィー法 (HPLC) を用いて血漿中 FRPM 濃度を測定した¹⁵⁾。血漿サンプル 100 μ L とアセトニトリル 100 μ L を混和した後、混和液を 20 分間、4°C、12,000 rpm で遠心分離した。上清 100 μ L に 10 mM PBS を 200 μ L 加え、混和物を HPLC システムに注入した。

固定相として 40°C の Inertsil ODS column を用い、移動相は 1.0 mL/min の流速で 20 mM sodium dihydrogen- phosphate (pH 2.0) とアセトニトリル (75 : 25) から組成された。検出器は 318 nm の波長に設定した。また、7 サンプルから検量線を構成した (FRPM 標準品; 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0 μ g/mL)。検量線の相関係数は、 $R^2 > 0.999$ であった。

2.3 透析性の評価

下式の the arterial-venous difference method に従い、FRPM の透析クリアランス

(CL_{HD}) を算出した¹⁶⁾¹⁷⁾。

$$CL_{HD} (mL/min/m^2) = Q_B \times (1 - H_A) \times [C_A - C_V \{1 - (H_V - H_A)/H_V\}] / C_A / S$$

Q_B は血流量、H_A と H_V は動脈側と静脈側の Ht 値、C_A と C_V は動脈側と静脈側の血漿中 FRPM 濃度、S は透析膜の表面積である。また、下式に従い、除去率 (EF_{HD}) も算出した¹⁶⁾¹⁷⁾。

$$EF_{HD} (\%) = 100 \times [1 - C_V \times \{1 - (H_V - H_A)/H_V\} / C_A].$$

3～4 時間の HD による薬物除去量を動脈側と静脈側の血中濃度一時間曲線下面積 (AUC) の差に血流量を乗じて算出した。台形法により、AUC を算出した。HD 終了後の薬物補充の必要性を決定するための指標である、総投与量に対する薬物除去率 (%) を下記の式に従って計算した。

$$\text{総投与量に対する薬物除去率 } (\%) = 100 \times (\text{HD 期間によって除去れた FRPM 量}) / (\text{HD 期間前の FRPM の総投与量})$$

2.4 統計解析

データは、平均値 ± 標準偏差 (Mean ± SD) で示した。統計解析は必要に応じて対応のある t 検定を用いて実施し、有意水準を 0.05 とした。

2.5 結果

全ての被験者は問題なく試験を終了した。また、全ての被験者の症状は回復し、FRPM 投与によって WBC 値と CRP 値は改善した (表 3)。本臨床研究において、全ての被験者で有害反応は観察されなかった。

HD 中の動脈側と静脈側における血漿中 FRPM 濃度の推移を図 2 に示す。HD 中に、両側の薬物濃度は有意に減少した ($P < 0.05$)。HD 開始前 (150.8 ± 71.4 分)

の動脈側の平均血漿中 FRPM 濃度は $4.8 \pm 2.5 \mu\text{g/mL}$ 、HD 終了時は $2.8 \pm 1.0 \mu\text{g/mL}$ であった (表 4)。平均 EF_{HD} と CL_{HD} は、それぞれ $20.4 \pm 9.9\%$ 、 $14.9 \pm 6.8 \text{ mL/min/m}^2$ であった。HD 中に除去された FRPM 量は、 $21.9 \pm 18.6 \text{ mg}$ (総投与量の $1.8 \pm 1.7\%$) であった。血清アルブミン濃度と FRPM 透析クリアランスに有意な相関性は認めなかった ($R = 0.19$)

表 3 FRPM 投与前後の WBC 値と CRP 値

Patient No.	WBC (/ μL)		CRP (mg/dL)	
	Before FRPM dosing	After FRPM dosing	Before FRPM dosing	After FRPM dosing
1	9,500	6,500	5.1	0.3
2	5,200	3,500	6.5	0.6
3	4,500	2,600	3.3	0.2
4	9,500	6,000	2.9	0.1
5	10,500	6,500	3.3	0.2
6	8,100	3,400	3.9	0.1
7	9,800	8,000	2.8	1.0
8	6,800	6,300	2.0	0.7
Mean \pm SD	7988 \pm 2253	5350 \pm 1919*	3.7 \pm 1.4	0.4 \pm 0.3**

* $P < 0.001$ vs. before FRPM dosing. ** $P < 0.01$ vs. before FRPM dosing.

WBC: white blood cell, CRP: C-reactive protein

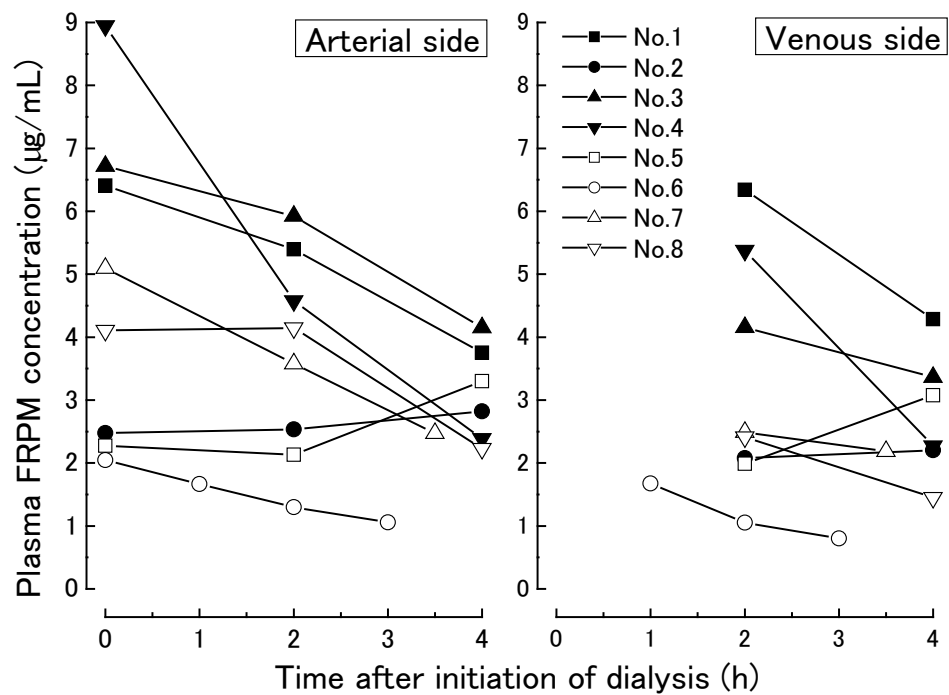


図 2 各被験者における HD 中の血漿中 FRPM 濃度の推移

表 4 HD 期間における FRPM の透析性

Patient No	Duration of FRPM treatment before HD session (day)	Total dose of FRPM before HD session (mg)	Plasma FRPM concentration (μg/mL)		EF (%)	CL (mL/min/m ²)	Amount removed (mg)	Amount removed/total dose (%)
			at the start of HD session	at the end of HD session				
1	8	3,000	6.4	3.8	7.8	5.6	12.0	0.4
2	3	1,000	2.5	2.8	22.5	20.5	19.2	1.9
3	3	1,000	6.7	4.1	18.3	15.0	47.9	4.8
4	3	1,000	8.9	2.4	13.7	9.3	0.5	0.1
5	11	4,200	2.3	3.3	16.1	8.4	12.4	0.3
6	2	600	2.0	1.1	18.1	21.2	5.4	0.9
7	3	1,000	5.1	2.5	25.9	14.7	27.7	2.8

8	4	1,400	4.1	2.2	40.9	24.5	49.8	3.6
Mean	4.6	1,650	4.8	2.8	20.4	14.9	21.9	1.8
± SD	± 3.2	± 1,264	± 2.5	± 1.0 *	± 9.9	± 6.8	± 18.6	± 1.7

HD: hemodialysis, EF: elimination fraction, CL: dialyzer clearance

* $p < 0.05$ vs. at the start of HD session.

2.6 考察

FRPM は、グラム陽性菌及び緑膿菌を除くグラム陰性菌の感染症治療薬として唯一利用できる経口ペネム系抗菌薬である⁵⁾⁶⁾⁷⁾。適応菌種によるが、FRPM の用法・用量は1回 150～300mg、1日3回である。しかし、FRPM は大部分が未変化体として尿中に排泄されるため⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾、腎障害患者ではFRPM の投与量を減量あるいは投与間隔を延長することが推奨されている¹⁸⁾。本臨床研究では、FRPM の過剰投与を防ぐために、透析性を評価する際には1回 200mg、1日2回の用法・用量を選択した。

以前、我々は新規キノロンであるシタフロキサシンの透析クリアランスと除去率がそれぞれ $49.9 \pm 0.9 \text{ mL/min/m}^2$ 、 $53.3 \pm 2.1\%$ であることを報告した¹⁷⁾。さらに、23%の薬物が1回のHDによって体内から除去されることを明らかにした。これらの成績より、適切な薬物濃度を維持するためにはHD終了後にシタフロキサシンの追加投与が必要であるものと考えられた。本臨床研究において、FRPM の透析クリアランスと除去率は、 $14.9 \pm 6.8 \text{ mL/min/m}^2$ 、 $20.4 \pm 9.9\%$ であった。被験者はHD開始前に平均 1,650mg のFRPM を服用したが、約 22mg の薬物（総投与量の 1.8%）が1回のHDで除去された。シタフロキサシとFRPM の透析性は同様のHD条件下で評価されたが、FRPM の変数値はシタフロキサシンに比べて小であった。更に、いずれの被験者も尿量が非常に少なかったため、FRPM の尿排泄は無視できるものと思われる。以上より、HD終了後に薬物の追加投与なしで、適切なFRPM 濃度が維持できるものと考えられる。

FRPM の主要な病原菌に対する 50%最小阻止濃度 (MIC_{50}) は、0.015~2 μ g/mL である¹⁹⁾²⁰⁾。本臨床研究において、動脈側の平均血漿中 FRPM 濃度は、HD 開始前に 4.8 μ g/mL、HD 終了時に 2.8 μ g/mL であった。したがって、FRPM を反復投与中は、血漿中 FRPM 濃度は主要な病原菌に対する MIC_{50} を超えて維持されていた可能性が高い。また、本臨床研究では有害反応は観察されなかった。これらの成績より、現在のレジメン (FRPM を 1 回 200mg、1 日 2 回) は HD を実施している腎不全患者の感染症治療に対し、有効で安全であるものと考えられる。

タンパク結合率の高い薬物に関して、血清アルブミン濃度は薬物の透析クリアランスに影響すると報告されている²¹⁾。FRPM のタンパク結合率は 90%と高いにも関わらず¹¹⁾、本臨床研究において血清アルブミン濃度と透析クリアランスの間に負の相関性は検出されなかった。これには、全ての被験者において低アルブミン症は軽度であり、これが血清アルブミン濃度と FRPM の透析クリアランスとの潜在的な負の相関性を不明瞭にしているかもしれない。この点を明らかにするためには、広範囲の血清アルブミン濃度を有する被験者を対象とした更なる検討が必要である。

FRPM は除去されたが (No.2 は 19.2mg、No.5 は 12.4mg、表 4)、2 名の被験者では血漿中 FRPM 濃度は HD 終了時に僅かに上昇した (No.2 と 5、図 2)。この結果より、これらの被験者では、HD 中に体内の末梢コンパートメントから中枢コンパートメントに十分量の FRPM が移行したものと推測された。

表 2 では、No.6 の被験者の血漿中 FRPM 濃度は、HD 終了後に 1.1 μ g/mL と相対的に低値であった。理由の一つとして、No.6 の被験者の HD 開始前の FRPM 投与期間が 2 日間と短いことが考えられる。

本臨床研究の限界は、以下の通りである。1) arterial-venous difference method は、薬物の透析性を評価し、透析液のクリアランスと比較できるデータを提供する

ために一般的に用いられる。しかし、我々は、その知見を確認するために透析液のクリアランスを測定していない。2) 本臨床研究の被験者が少なく、それが結果に対して第2種の過誤に導く可能性がある。3) 本臨床研究において、我々は各被験者から細菌を単離し、FRPMの抗菌活性を測定していない。そのために、我々は、現在の治療レジメンによる薬物耐性について考察することができなかった。多くの被験者を含む更なる研究が必要である。

2.7 小括

本臨床研究により、FRPMの透析クリアランスと除去率の値は相対的に小さく、総投与薬物の約2%が1回のHDで体内から除去されたことが明らかになった。HD患者において、FRPMの200mg、1日2回投与は、HD終了時に薬物の追加投与なしで有効で安全な投与レジメンであると思われる。

3. In vitro 研究

3.1 方法

3.1.1 使用機器

透析機器として、持続緩除式血液濾過装置 ACH-07S（以下、小スケール）、透析用監視装置 DCS-26 もしくは DCS-27（以下、標準スケール）を用いた。アルブミンを用いた検討では、研究用溶液の粘性を考慮し、標準スケールの DCS-26 もしくは DCS-27 を用いた。

透析膜は、旭化成メディカル株式会社製のポリアクリロニトリル（PAN）膜の PAN-13SF、表面改質セルロース（PC）膜の AM-PC-08、ポリスルフォン（PS）膜の APS-08S を用いた。また、透析液は、小スケールではサブラッド®-B、標準スケールではカーボスター®透析剤 L を用いた。

3.1.2 研究用溶液の調製とサンプルの採取

表 5 に従い、研究用溶液を調製した。

尿毒素の濃度は血液浄化器の性能評価法²²⁾を参考に、また、抗凝固薬（ヘパリン、ナファモスタットメシル酸塩）は一般的な臨床使用量を参考に設定した。

表 5 研究用溶液の調製方法

検討項目	検討用溶液
透析膜の影響	5% FRPM を含有する生理食塩水
pH の影響	5% FRPM を含有する PBS（pH 6.4、7.4、8.4 に調整）もしくはグリシン塩酸緩衝液（pH 3.0）
アルブミンの影響	5% FRPM 及び牛血清アルブミン（1.0、2.0、3.0、4.5 g/dL）を含有する生理食塩水
尿毒素の影響	5% FRPM 及び尿毒素（100 mg/dL 尿素、10 mg/dL クレアチニン）を含有する生理食塩水
抗凝固薬の影響	5% FRPM 及び抗凝固薬（125 U/L ヘパリン、2.92 mg/mL ナファモス

	タットメシル酸塩) を含有する生理食塩水
疑似 HD 状態での影響	5% FRPM、牛血清アルブミン (3.0 g/dL)、尿素素及び抗凝固薬を含有する生理食塩水

研究用溶液を循環せずに 1 方向 (Single pass) に流出させ、流出 5 分後から 1 分毎に透析膜前 (C_{in}) 及び透析膜後 (C_{out}) から FRPM 濃度測定用サンプルを採取し、1 検体とした (図 3)。

血流量 (Q_B) 及び透析液量 (Q_D) は、小スケールでは 100 mL/min 及び 5 L/h、標準スケールでは 200 mL/min 及び 500 mL/min と設定した。

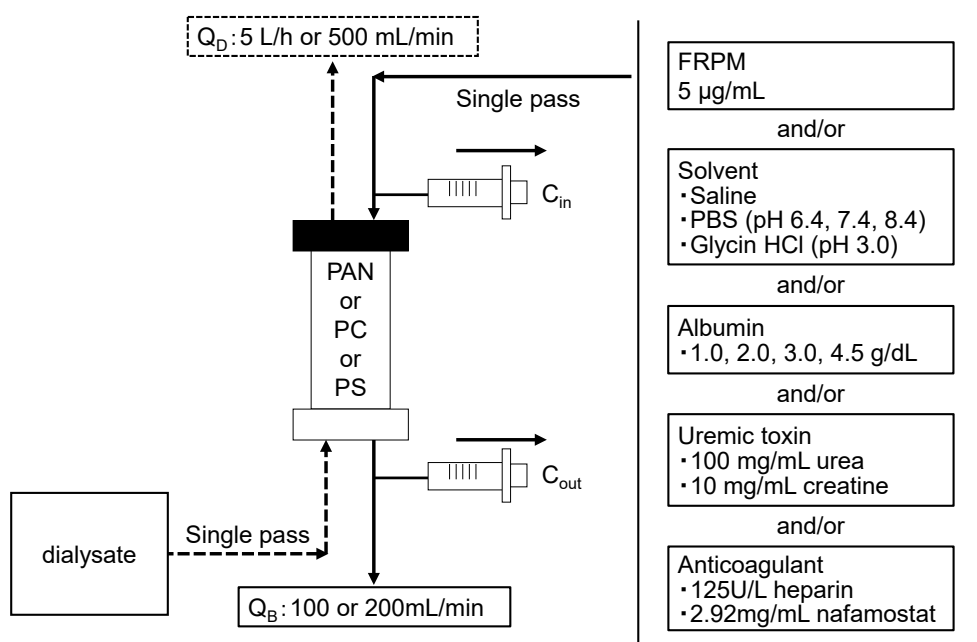


図 3 サンプルの採取方法

3.1.3 FRPM 濃度の測定

HPLC を用いてサンプル中の FRPM 濃度を測定した¹⁵⁾。FRPM 濃度測定用サンプル 100 μ L とアセトニトリル 100 μ L を混和した後、混和液を 20 分間、4 $^{\circ}$ C、12,000 rpm で遠心分離した。上清 300 μ L に 10 mM PBS を 600 μ L 加え、混和液

100 μ L を HPLC システムに注入した。

固定相として、40℃の Inertsil ODS column を用い、移動相は 1.0 mL/min の流速で 20 mM sodium dihydrogen- phosphate (pH 2.0) とアセトニトリル (75 : 25) から組成された。検出器は 318 nm の波長に設定した。また、7 サンプルから検量線を構成した (FRPM 標準品; 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0 μ g/mL)。検量線の相関係数は、 $R^2 > 0.999$ であった。

3.1.4 FRPM タンパク結合率の測定

5% FRPM 及び牛血清アルブミン (1.0、2.0、3.0、4.5 g/dL) を含有する生理食塩水を調製した。調整したサンプル 100 μ L に PBS 100 μ L を混和し、MICROCON[®] (Ultracel YM-100 membrane) に充填した。その後、30 分間、25℃、12,000 rpm で遠心分離し、ろ過した。MICROCON[®]により、95%のアルブミンが除去された。アルブミンが 95%除去されたろ過液 200 μ L に 10 mM PBS を 400 μ L 加え、混和液 100 μ L を HPLC システムに注入し、上記 3.1.3 と同様の HPLC 条件で FRPM 濃度を測定し¹⁵⁾、その濃度を「遊離 FRPM 濃度」とした。また、調整したサンプル 100 μ L にアセトニトリル 100 μ L を混和し、30 分間、25℃、12,000 rpm で遠心分離し、ろ過した。ろ過液 200 μ L に 10 mM PBS を 400 μ L 加え、混和液 100 μ L を HPLC システムに注入し、上記 3.1.3 と同様の HPLC 条件で FRPM 濃度を測定し¹⁵⁾、その濃度を「総 FRPM 濃度」とした。

3.1.5 透析性の評価

下記の式に従い、FRPM の透析クリアランス (CL) を算出した。

$$CL(\text{mL}/\text{min}/\text{m}^2) = (C_{\text{in}} - C_{\text{out}}) / C_{\text{in}} \times Q_B / S$$

Q_B は血流量、 C_{in} と C_{out} は透析膜前と透析膜後の FRPM 濃度、 S は透析膜の表

面積である。

また、下記の式に従い、タンパク結合率を算出した。

$$\text{タンパク結合率 (\%)} = (\text{総 FRPM 濃度} - \text{遊離 FRPM 濃度}) / \text{総 FRPM 濃度} \times 100$$

3.1.6 統計解析

データは、平均値 \pm 標準偏差 (Mean \pm SD) で示した。統計解析は、必要に応じて対応のある t 検定、多重比較検定として Tukey 検定を行い、有意水準を 0.05 とした。

3.2 結果

3.2.1 透析膜の影響（小スケール及び標準スケール）

FRPM の透析性に対する透析膜の影響を検討した（図 4、図 5）。

その結果、小スケールにおける PAN 膜、PC 膜及び PS 膜の FRPM 透析クリアランスは、 51.5 ± 5.9 、 60.6 ± 2.2 及び 70.4 ± 6.3 mL/min/m² となり、PAN 膜、PC 膜、PS 膜の順に FRPM 透析クリアランスは有意に増加した。

また、標準スケールにおいても、PAN 膜、PC 膜及び PS 膜の FRPM 透析クリアランスは、 85.9 ± 0.6 、 114.3 ± 1.2 、 222.6 ± 0.6 mL/min/m² となり、PAN 膜、PC 膜、PS 膜の順に FRPM 透析クリアランスは有意に増加した。

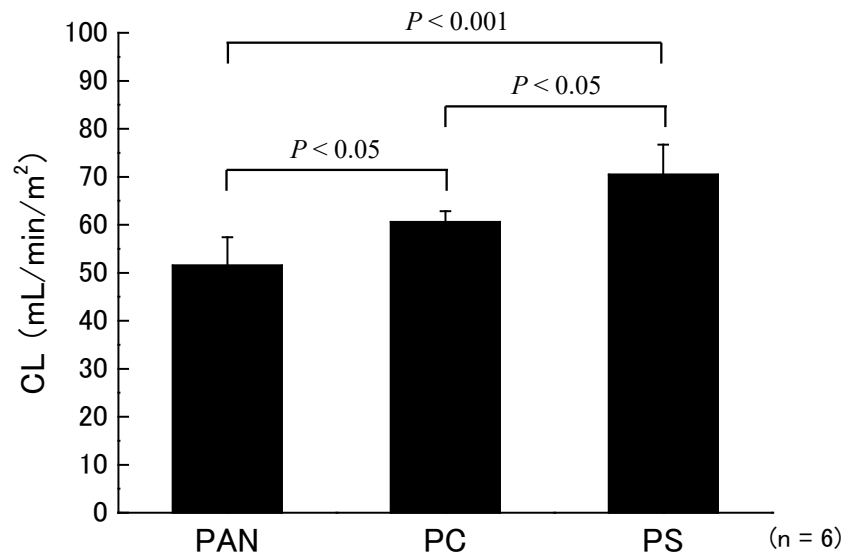


図 4 FRPM の透析クリアランスに対する透析膜の影響（小スケール）

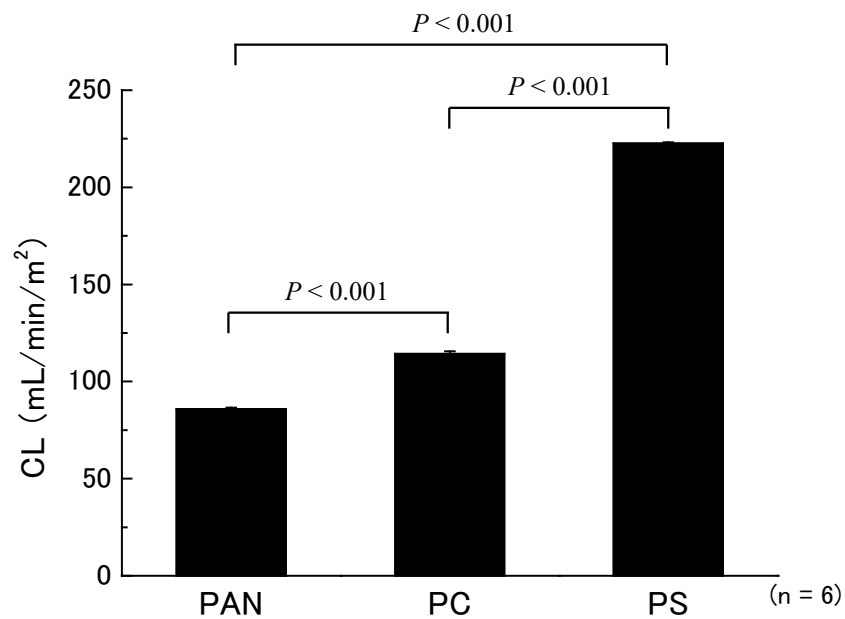


図 5 FRPM の透析クリアランスに対する透析膜の影響（標準スケール）

3.2.2 pH の影響（小スケール）

FRPM の透析性に対する pH の影響を検討した（図 6）。

その結果、PAN 膜の pH 3.0、6.4、7.4 及び 8.4 群の FRPM 透析クリアランスは 48.8 ± 3.5 、 53.0 ± 2.4 、 53.3 ± 1.8 及び 53.0 ± 1.8 mL/min/m² であった。また、PC 膜では、それぞれ 64.0 ± 2.0 、 59.6 ± 1.4 、 60.8 ± 6.2 及び 60.0 ± 4.3 mL/min/m²、PS 膜では、それぞれ 71.8 ± 6.3 、 72.5 ± 2.9 、 72.0 ± 3.2 及び 70.3 ± 3.1 mL/min/m² であった。

PAN 膜において、pH 3.0 群の FRPM 透析クリアランスは他の群に比べて有意に小であった。

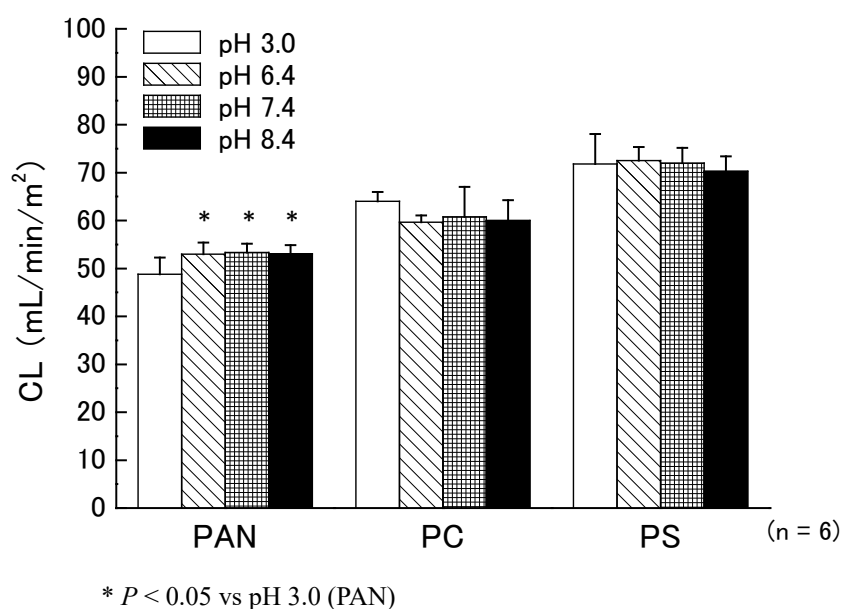
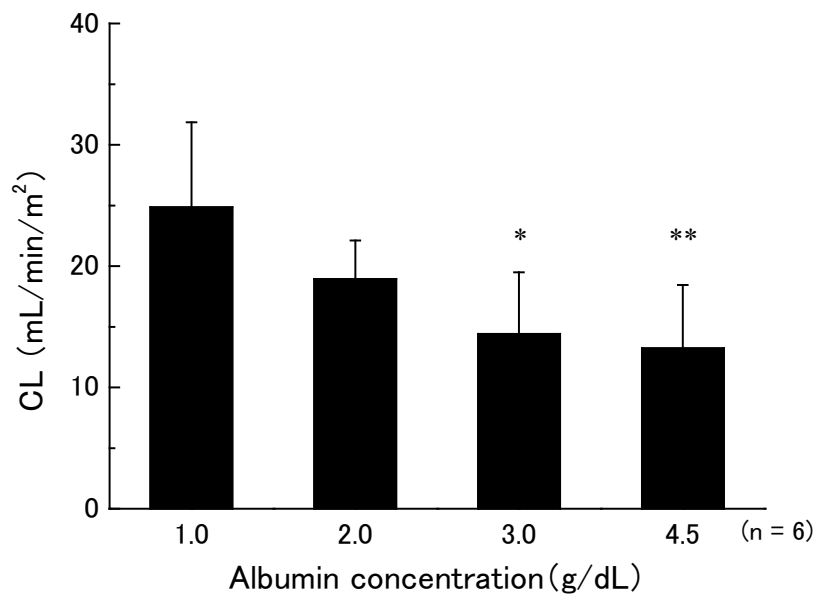


図 6 FRPM の透析クリアランスに対する pH の影響（小スケール）

3.2.3 アルブミンの影響（標準スケール）

PS 膜における FRPM の透析性に対するアルブミンの影響を検討した（図 7）。

その結果、1.0、2.0、3.0 及び 4.5 g/dL 群の FRPM 透析クリアランスは、それぞれ 24.9 ± 7.0 、 18.9 ± 3.2 、 14.4 ± 5.1 及び 13.2 ± 5.2 mL/min/m² であった。FRPM 透析クリアランスはアルブミン濃度依存的に低下し、3.0 及び 4.5g/dL 群の FRPM 透析クリアランスは、1.0g/dL 群に比べて有意に低値であった。



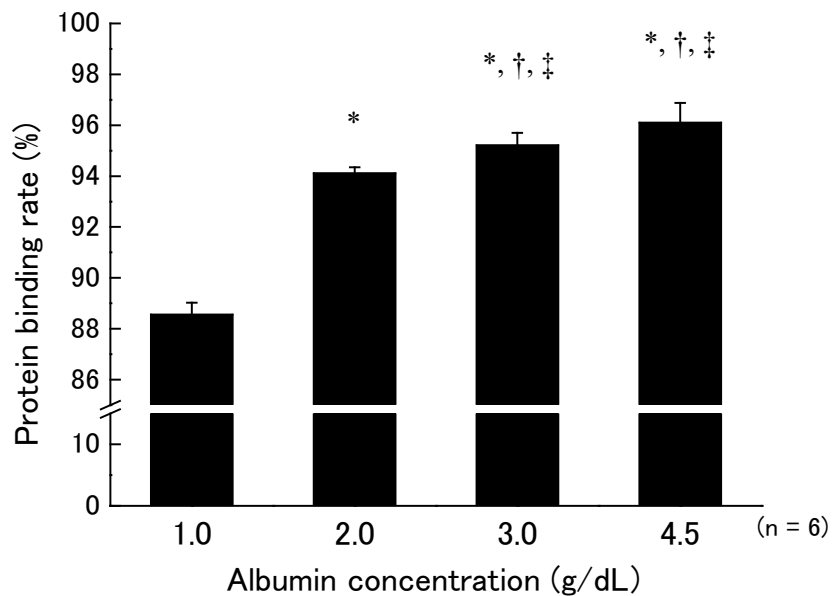
* $P < 0.05$ vs. 1.0 g/dL albumin, ** $P < 0.01$ vs. 1.0 g/dL albumin

図 7 FRPM の透析クリアランスに対するアルブミンの影響（標準スケール）

同時に FRPM のタンパク結合率を検討した（図 8）。

その結果、1.0、2.0、3.0 及び 4.5 g/dL 群における FRPM のタンパク結合率は、 88.6 ± 0.5 、 94.1 ± 0.2 、 95.2 ± 0.5 及び $96.1 \pm 0.8\%$ となり、アルブミン濃度依存的に FRPM タンパク結合率は有意に増加した。

また、アルブミン濃度と FRPM の透析クリアランスとの間に負の相関性（ $R = 0.64$ ）が認められた。



* $P < 0.001$ vs. 1.0 g/dL Alb, † $P < 0.01$ vs. 2.0 g/dL Alb, ‡ $P < 0.05$ vs. 3.0 g/dL Alb

図 8 アルブミン濃度と FRPM のタンパク結合率

3.2.4 尿毒素の影響（小スケール）

FRPM の透析性に対する尿毒素の影響を検討した（図 9）。

その結果、PAN 膜、PC 膜及び PS 膜の尿毒素添加及び尿毒未添加群の FRPM 透析クリアランスは 48.1 ± 2.7 及び 51.5 ± 5.9 、 60.6 ± 1.9 及び 60.6 ± 2.2 、 71.2 ± 5.6 及び 70.4 ± 6.3 mL/min/m² であった。各群間で FRPM 透析クリアランスの有意な差は認められなかった。

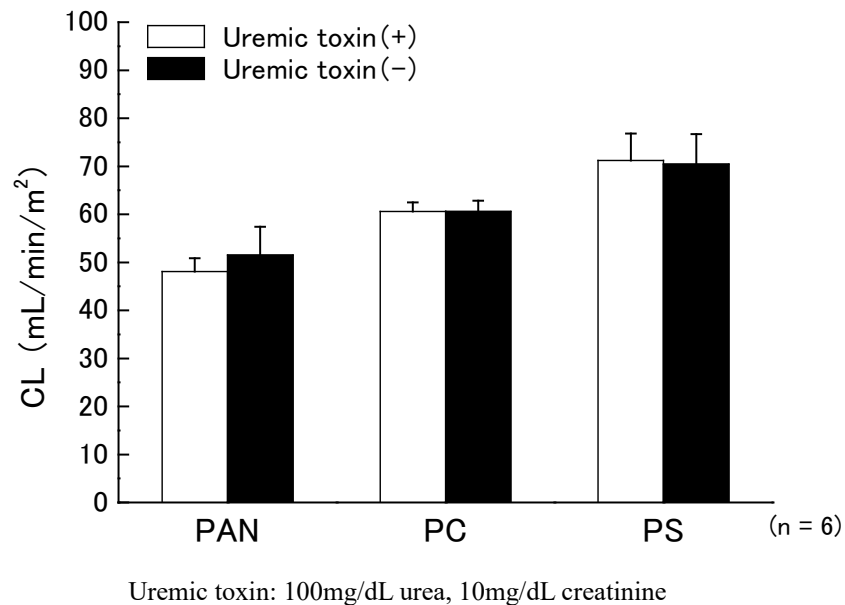


図 9 FRPM の透析クリアランスに対する尿毒度の影響（小スケール）

3.2.5 抗凝固薬の影響（小スケール）

FRPM の透析性に対する抗凝固薬の影響を検討した（図 10）。

その結果、PAN 膜のヘパリン添加、ナファモスタット添加及び抗凝固薬未添加の FRPM 透析クリアランスは 49.5 ± 4.7 、 52.0 ± 3.5 及び 51.5 ± 5.9 mL/min/m² であった。また、PC 膜では、それぞれ 62.1 ± 2.8 、 62.7 ± 2.3 及び 60.6 ± 2.2 、PS 膜では、それぞれ 75.6 ± 3.4 、 75.6 ± 2.8 及び 70.4 ± 6.3 mL/min/m² であった。各群間で FRPM 透析クリアランスの有意な差は認めなかった。

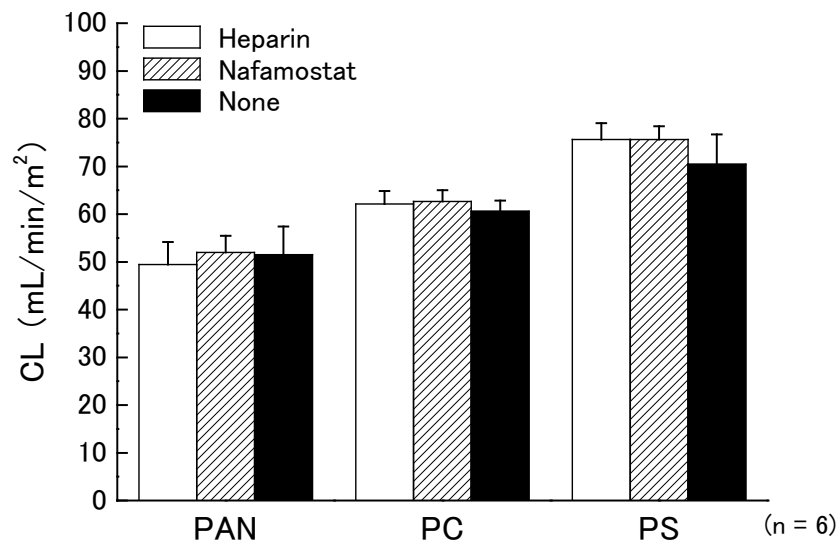


図 10 FRPM の透析クリアランスに対する抗凝固薬の影響（小スケール）

3.2.6 疑似 HD 状態での影響（標準スケール）

PS 膜における疑似 HD 状態（アルブミン、尿毒素及び抗凝固薬の添加）での FRPM の透析性について検討した（図 11）。

その結果、①アルブミン添加、②アルブミン及び尿毒素添加、③アルブミン、尿毒素及びヘパリン添加、④アルブミン、尿毒素及びナファモスタット添加群の FRPM 透析クリアランスは① 15.2 ± 4.9 、② 17.8 ± 3.9 、③ 16.4 ± 4.4 及び④ 13.4 ± 4.6 mL/min/m² であり、FRPM 透析クリアランスの有意な差は認めなかった。

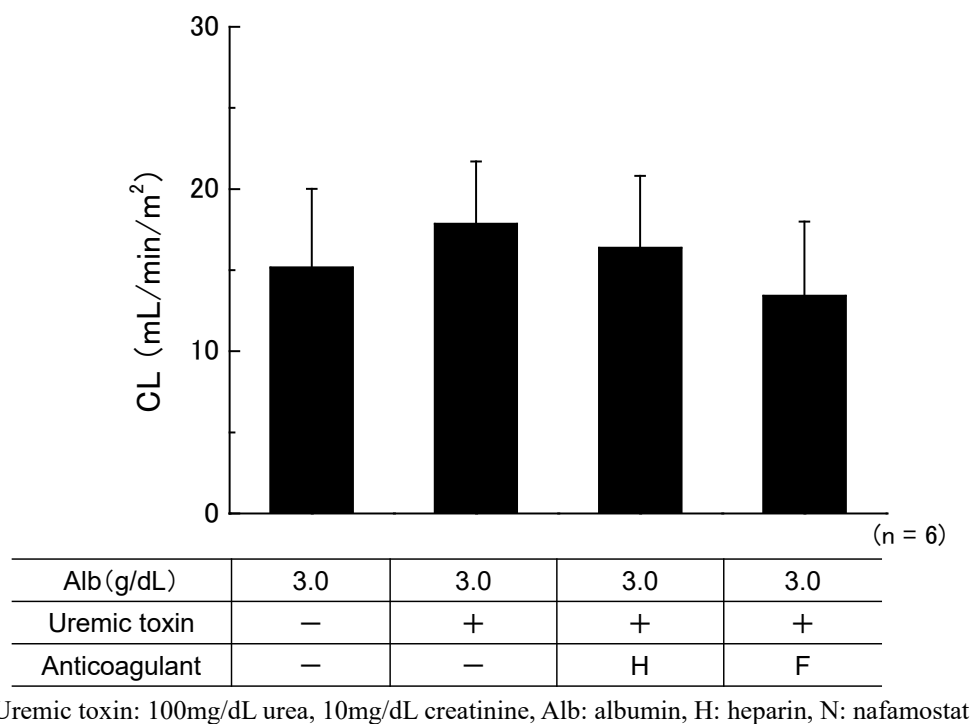
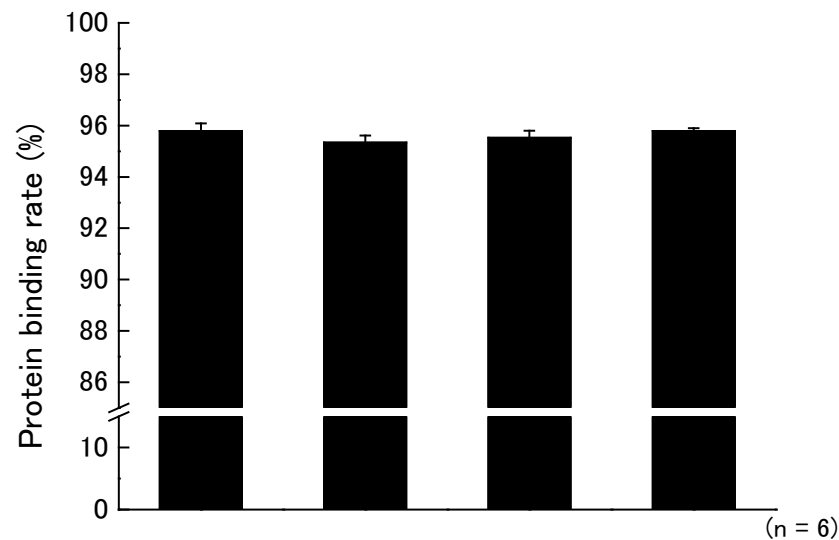


図 11 疑似 HD 状態における FRPM の透析クリアランス（標準スケール）

同時に FRPM のタンパク結合率を検討した（図 12）。

その結果、①～④の FRPM タンパク結合率は、① 95.8 ± 0.3 、② 95.3 ± 0.3 、③ 95.5 ± 0.3 及び④ $95.8 \pm 0.1\%$ であった。統計的には有意な差が認められた群もあったが、いずれの群でも大きな違いは認められなかった。



Alb (g/dL)	3.0	3.0	3.0	3.0
Uremic toxin	—	+	+	+
Anticoagulant	—	—	H	F

Uremic toxin: 100mg/dL urea, 10mg/dL creatinine, Alb: albumin, H: heparin, N: nafamostat
 * $P < 0.05$ vs. 3.0 g/dL albumin + Uremic toxin

図 12 疑似 HD 状態における FRPM のタンパク結合率

3.3 考察

多くの HD 患者では尿毒素や酸の尿中排泄が低下しているため、血液中の尿毒素は増加し代謝性アシドーシスの状態にある¹³⁾。また、低栄養や体液量増加のために低アルブミン血症であることが多い¹³⁾。加えて、HD 時の透析膜や抗凝固薬も患者によって異なる。これらの因子は、薬物の透析性に影響を及ぼす可能性がある¹⁴⁾。

透析膜の種類により、薬物の透析性が異なることが知られている。特にハイパフォーマンス膜である PS 膜は、臨床現場で最も使用されおり、他の膜に比べて中分子薬物～低分子タンパクの除去が優れている一方、アルブミンの漏出率が高い¹³⁾。そこで、各透析膜を用いて FRPM 透析クリアランスを評価した結果、PAN 膜、PC 膜、PS 膜の順に FRPM 透析クリアランスは増加した。本臨床研究

では、全ての被験者は PS 膜を使用しており、PAN 膜や PC 膜での FRPM 透析クリアランスを評価することができなかった。しかし、今回の *In vitro* 研究の結果から、PAN 膜や PC 膜を用いた場合は、PS 膜を用いた場合に比べて FRPM が除去されにくい可能性が示唆された。

陰性電荷膜である PAN 膜（特にローヌ・プラン社製の AN69 膜）は、陽性電荷薬物を吸着しやすいことが報告されている²³⁾²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾。FRPM の pKa は、3.5 であり²⁷⁾、多くの HD 患者は種々の要因から代謝性アシドーシスの状態である¹³⁾。そのため、pH が異なる研究用溶液を調製し、FRPM のイオン型／非イオン型の比率を変化させた際の FRPM の透析性について評価した。その結果、PAN 膜において、pH 3.0 群の FRPM 透析クリアランスは他の群に比べて統計的には有意に小であったが、臨床上 pH が 3.0 になる可能性は小さく、pH 6.4～8.4 では有意な差は認めなかった。そのため、いずれの透析膜を用いても、pH の FRPM の透析性に対する影響は小さいと考えられた。

多くの HD 患者は、低栄養や体液量増加のために血清アルブミン濃度が低い状態である¹³⁾。一般的にアルブミンに結合する薬物は、アルブミン値が低下するとタンパク結合率が低下し、透析されやすくなる²¹⁾。FRPM は主にアルブミンに結合し、タンパク結合率は約 90%と比較的高い¹¹⁾。そこで、アルブミン濃度による FRPM 透析クリアランスの影響を評価した結果、アルブミン濃度と FRPM 透析クリアランスとの間に有意な負の相関性 ($R = 0.64$ 、 $P < 0.001$) が認められた。本臨床研究に参加した被験者の血清アルブミン値は、3.4～4.2 g/dL と低アルブミン症は軽度であったため、アルブミン濃度と FRPM 透析クリアランスとの相関性を正確に評価することができなかった。しかし、本 *in vitro* 研究の結果から血清アルブミン濃度が低下すると、FRPM が除去されやすくなる可能性が示唆された。

インドキシ硫酸を含む尿毒素物質は、薬物とアルブミンの結合を阻害し、薬物は透析されやすくなる²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾³²⁾。また、ヘパリンはリパーゼを活性化し、血液中の遊離脂肪酸濃度が上昇してアルブミンと結合するため遊離型薬物が増加し³³⁾、透析されやすくなる。そこで、疑似 HD 状態を作り、その際の FRPM の透析性について検討した結果、アルブミン、尿毒素及び抗凝固薬間の相互作用はなく、FRPM 透析クリアランスに対する影響はなかった。その理由としては、疑似 HD 状態を作ったが、添加した尿毒素物質が尿素とクレアチニンに限られ、さらに牛由来アルブミンを用いたため、生体内を再現することに限界があったためと考えられる。

本 *in vitro* 研究によって、透析膜や血清アルブミン濃度が FRPM 透析クリアランスに影響を及ぼす可能性が示唆されたが、今後、種々の HD 患者を対象に臨床研究を実施し、ヒトで評価する必要がある。

3.4 小括

本 *in vitro* 研究の結果から、PAN 膜及び PC 膜を用いた HD 患者では、PS 膜に比べて FRPM が除去されにくい可能性が示唆された。また、血清アルブミン濃度が低い患者ほど、FRPM が除去されやすい可能性が示唆された。

4. イヌ血漿を用いた検討

4.1 方法

4.1.1 動物種

10kg 以上の 15 歳齢の雄ビーグル犬を用いた。

4.1.2 腎不全イヌ血漿の作製

下記の方法で腎不全イヌ血漿を作製した³⁴⁾。

雄ビーグル犬にイオキシラン 20g I/kg（イマジニール®300 注）を約 10mL/min の速度で静脈内投与した。投与 24 時間後にビーグル犬から採血を行い、遠心分離によって血漿を分離した（腎不全イヌ血漿）。同様に無処置のビーグル犬からも採血を行い、遠心分離によって血漿を分離した（正常イヌ血漿）。

得られた血液から臨床検査を実施し、腎不全イヌの BUN 及び Cr 値は、正常イヌに比べて有意に高値であることを確認した（表 6）。

表 6 正常イヌ及び腎不全イヌの検査値

No.	Dog	BW (kg)	Alb (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Cr (mg/dL)	Plasma volume (mL)
1	Normal	12.0	2.6	11.8	0.7	350
2	Normal	13.5	3.0	18.5	0.9	360
3	Normal	11.3	3.1	7.8	0.6	150
4	Normal	11.8	2.8	10.2	0.9	150
5	Normal	12.0	2.6	12.2	0.9	500
	Mean ± SD	12.1 ± 0.8	2.8 ± 0.2	12.1 ± 4.0	0.8 ± 0.2	-
6	Renal failure	11.2	2.4	48.9	3.2	350
7	Renal failure	13.0	2.1	60.8	2.9	450
8	Renal failure	12.3	3.2	87.8	4.2	225
9	Renal failure	10.0	3.3	68.6	3.6	300
	Mean ± SD	12.2 ± 0.8	2.8 ± 0.6	66.5 ± 16.3*	3.5 ± 0.5*	-

* $P < 0.001$ vs. Normal.

4.1.3 研究機器

透析機器は、透析用監視装置 DCS-26 もしくは DCS-27 を用いた。透析膜は、旭化成メディカル株式会社製のポリスルフォン（PS）膜の APS-08S を用いた。透析液は、カーボスター®透析剤 L を用いた。

4.1.4 研究用溶液の調製とサンプルの採取

得られた各正常イヌもしくは各腎不全イヌの血漿を混和し、混和した血漿を生理食塩水で希釈し（血漿：生理食塩水＝1：2.5）、5% FRPM を含有する溶液を研究用溶液とした。

研究用溶液を循環せずに 1 方向（Single pass）に流出させ、流出 5 分後から 1 分毎に透析膜前（ C_{in} ）及び透析膜後（ C_{out} ）から FRPM 濃度測定用サンプルを採取し、1 検体とした（図 13）。

血流量（ Q_B ）及び透析液量（ Q_D ）は、200 mL/min 及び 500 mL/min と設定した。

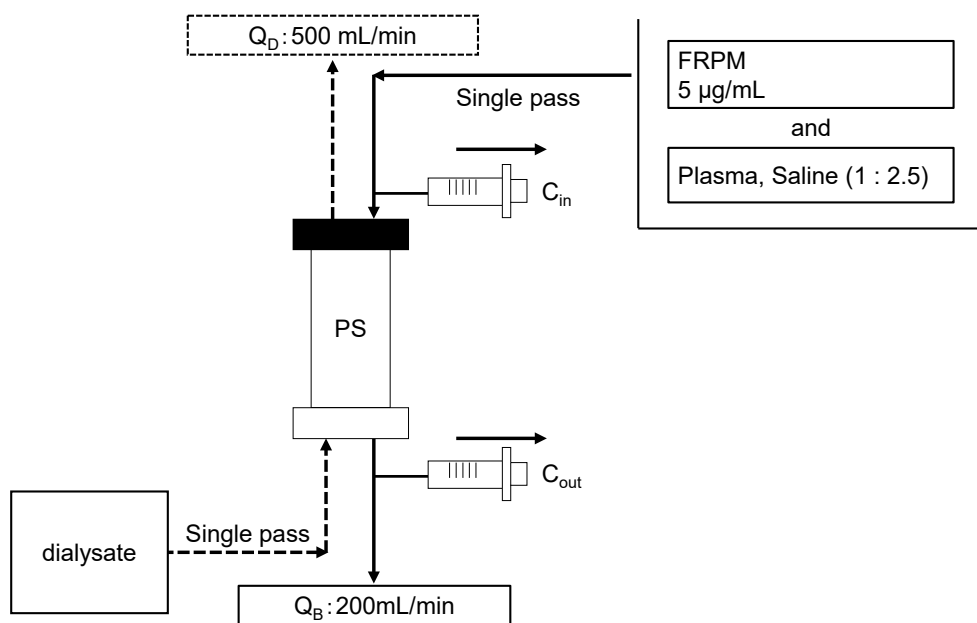


図 13 サンプルの採取

4.1.5 FRPM 濃度の測定

HPLC を用いて血漿中 FRPM 濃度を測定した。FRPM 濃度測定用サンプル 200 μL とアセトニトリル 100 μL を混和した後、混和液を 20 分間、4 $^{\circ}\text{C}$ 、12,000 rpm で遠心分離した。上清 300 μL に 10 mM PBS を 600 μL 加え、混和液 100 μL を HPLC システムに注入した。

固定相として、40 $^{\circ}\text{C}$ の Inertsil ODS column を用い、移動相は 1.0 mL/min の流速で 20 mM sodium dihydrogen- phosphate (pH 2.0) とアセトニトリル (75 : 25) から組成された。検出器は、318 nm の波長に設定した。また、7 サンプルから検量線を構成した (FRPM 標準品; 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0 $\mu\text{g/mL}$)。検量線の相関係数は、 $R^2 > 0.999$ であった。

4.1.6 透析性の評価

下記の式に従い、FRPM の透析クリアランス (CL) を算出した。

$$\text{CL (mL/min/m}^2\text{)} = (C_{\text{in}} - C_{\text{out}}) / C_{\text{in}} \times Q_{\text{B}} / S$$

Q_B は血流量、 C_{in} と C_{out} は透析膜前と透析膜後の FRPM 濃度、 S は透析膜の表面積である。

4.1.7 統計解析

データは、平均値 \pm 標準偏差 (Mean \pm SD) で示した。統計解析は、対応しない t 検定を行い、有意水準を 0.05 とした。

4.2 結果

正常イヌ及び腎不全イヌ血漿における FRPM の透析性を評価した。

その結果、正常イヌ群及び腎不全イヌ血漿群の FRPM 透析クリアランスは、 24.3 ± 10.5 及び 44.8 ± 7.5 mL/min/m² であり、腎不全イヌ血漿群の FRPM 透析クリアランスは正常イヌ血漿群に比べて有意に大であった (図 14)。

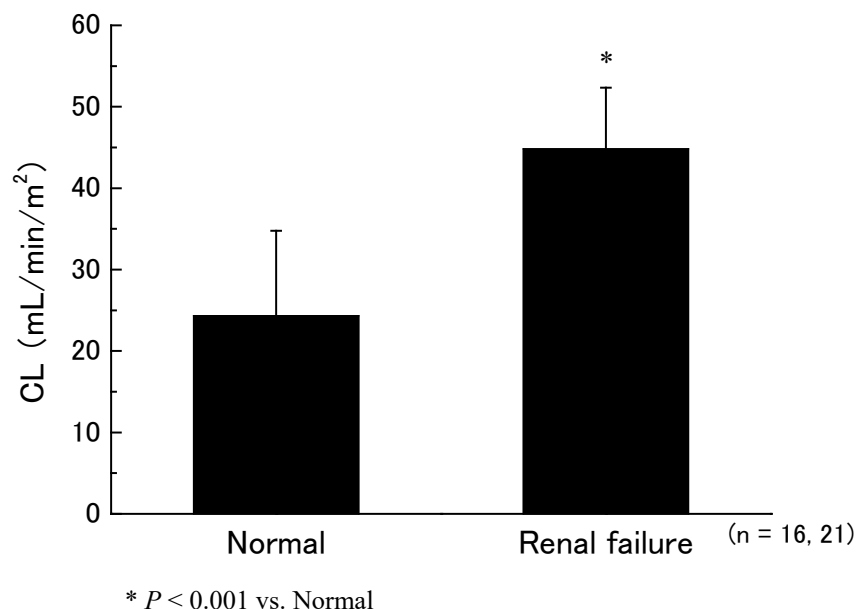


図 14 正常及び腎不全イヌ血漿における FRPM の透析クリアランスの比較

4.3 考察

インドキシ硫酸を含む尿毒素物質は薬物とアルブミンの結合を阻害するために、薬物は透析されやすくなるとされる²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾³²⁾。本 *in vitro* 研究により、FRPM 透析クリアランスに対する尿毒素及びアルブミンの影響を検討したが、添加した尿毒素が BUN 及び Cr に限られており、尿毒素の影響を正確に評価することはできなかった。

そこで、イオキシランを静脈内注射して急性の腎不全イヌ血漿を作製し³⁴⁾、イヌの血漿を用いて FRPM の透析性に影響を及ぼす因子について検討した。その結果、腎不全イヌ血漿群の FRPM 透析クリアランスは正常イヌ血漿群に比べて有意に大であったが、血清アルブミン濃度は両群で差は認めなかった。BUN 及び Cr 以外の尿毒素濃度を測定していないが、BUN 及び Cr と同様に他の尿毒素も増加している可能性が推測される。また、血漿を生理食塩水で希釈したため、FRPM のタンパク結合率も測定しなかった。他の尿毒素濃度や FRPM のタンパク結合率も測定していないが、腎不全イヌ血漿における FRPM 透析クリアランスの増加は、インドキシ硫酸等の尿毒素物質が増加し、FRPM のアルブミンとの結合を阻害することによって生じた可能性が示唆された。

4.4 小括

本イヌ血漿を用いた検討結果から、尿毒素物質は FRPM 透析クリアランスに影響を及ぼす可能性が示唆された。

5. 総括

本臨床研究によって、FRPM の透析クリアランス値と除去率は相対的に小さく、総投与薬物の約 2% が 1 回の HD で体内から除去されることが明らかになった。HD 患者において、FRPM の 200mg、1 日 2 回投与は HD 終了後に薬物の追加投与なしで有効で安全な投与レジメンであると考えられる。

本 *in vitro* 研究より、PAN 膜及び PC 膜を用いた HD 患者では、PS 膜に比べて FRPM が除去されにくい可能性が示唆された。また、血清アルブミン濃度が低い患者ほど、FRPM が除去されやすい可能性がある。

また、本イヌ血漿を用いた研究結果から、尿毒素物質は FRPM 透析クリアランスに影響を及ぼす可能性が示唆された。

6. 引用文献

- 1) United States Renal Data System. 2015 USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2015.
- 2) Masakane I, Nakai S, Ogata S, Kimata N, Hanafusa N, Hamano T, Wakai K, Wada A, Nitta K. An Overview of Regular Dialysis Treatment in Japan (As of 31 December 2013). *Ther Apher Dial*. 19(6): p540-574, 2015.
- 3) 井上 栄子, 三橋 進. 新規経口ペネム薬 SY5555 の細菌学的検討. *日本化学療法学会誌*. 42(S-1): p1-12, 1994.
- 4) 永平 和広, 加藤 直樹, 田中 香お里, 渡辺 邦友, 上野 一恵. SY5555 の嫌気性菌に対する抗菌作用. *日本化学療法学会誌*. 42(S-1): p38-50, 1994.
- 5) 横田 健, 神田 佳代子, 舘田(鈴木) 映子, 春山 宗忠, 坂之上 佐和子. SY5555 の試験管内抗菌力と生物学的安定性. *日本化学療法学会誌*. 42(S-1): p13-24, 1994.
- 6) 那須 孝昭, 本寄 亜佐子, 宮崎 修一, 辻 明良, 山口 恵三, 五島 瑳智子. 新規経口ペネム薬 SY5555 の細菌学的評価. *日本化学療法学会誌*. 42(S-1): p25-37, 1994.
- 7) 西野 武志, 岡本 清美, 岩尾 佳世, 大槻 雅子. SY5555 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力. *日本化学療法学会誌*. 42(S-1): p51-71, 1994.
- 8) 中島 光好, 植松 俊彦, 吉長 孝二, 末吉 俊幸, 菊地 康博, 平林 隆, 和田 徹, 杉田 修. 新規ペネム系経口抗生物質 SY5555 の第 I 相臨床試験. *日本化学療法学会誌*. 41(12): p1277-1292, 1993.
- 9) 中島 光好, 大西 明弘, 吉長 孝二, 大村 和伸, 菊地 康博. 新規経口ペネム系抗生物質 SY5555 の反復投与試験. *日本化学療法学会誌*. 41(12): p1293-

1299, 1993.

- 10) 金井 靖, 諸住 なおみ, 大沼 規男. ラットにおけるファロペネムナトリウムの体内動態に及ぼす Cilastatin の影響. *薬理と治療*. 25(9): p2343-2346, 1997.
- 11) 金井 靖, 諸住 なおみ, 米本 儀之, 杉田 修, 大沼 規男, 安達 栄樹, 菊地 康博. SY5555 の実験動物における体内動態. *日本化学療法学会誌*. 42(S-1): p243-253, 1994.
- 12) Fujimura A, Kajiyama H, Ebihara A. The influence of fever on the pharmacokinetics of pranoprofen in elderly subjects. *J Clin Pharmacol*. 29(6): p500-503, 1989.
- 13) 透析療法合同専門委員会. 血液浄化療法ハンドブック [2017]. 透析療法合同専門委員会編集委員会編集. 株式会社協同医書出版社 第1刷, 2017年.
- 14) 平田 純生, 金 昌雄, 上野 和行, 田中 一彦. 薬物の透析性. *TDM 研究*. 14: p277-287, 1997.
- 15) 菊地 康博, 北崎 知子, 斉藤 秀之, 柴沼 忠夫, 諸住 なおみ, 金井 靖, 米本 儀之, 杉田 修, 大沼 規男. 新規経口ペネム薬 SY5555 の体液内濃度測定法. *日本化学療法学会誌*. 42(S-1): p227-234, 1994.
- 16) Gabutti L, Taminelli-Beltraminelli L, Marone C. Clearance of ceftriaxone during haemodialysis using cuprophane, haemophane and polysulfone dialysers. *Eur J Clin Pharmacol*. 53(2): p123-126, 1997.
- 17) Tsuruoka S, Yokota N, Hayasaka T, Saito T, Yamagata K. Dialyzability and pharmacokinetics of sitafloxacin following multiple oral dosing in infected hemodialysis patients. *Ther Apher Dial*. 17(3): p319-324, 2013.
- 18) 松本 文夫, 今井 健郎, 石田 裕一郎, 桜井 磐, 高橋 孝行, 森田 雅之. SY5555 に関する基礎的・臨床的検討. *日本化学療法学会誌*. 42(S-1): p339-344, 1994.
- 19) 小林 寅てつ, 中川 直子, ト部 恵理子, 松崎 薫, 佐藤 弓枝, 砂川 慶介. フ

- アロペネムおよび経口抗菌薬の各種臨床分離株に対する抗菌活性の比較.
化学療法領域. 23(11): p75-88, 2007.
- 20) 山田 恵子, 菅野 利恵, 馬場 信吉, 高山 吉弘, 三國谷 雄, 前橋 一紀.
Tebipenem の *in vitro* 抗菌活性. *日本化学療法学会誌*. 57(S-1): p1-14, 2009.
- 21) Lam YW, Banerji S, Hatfield C, Talbert RL. Principles of drug administration in renal insufficiency. *Clin Pharmacokinet*. 32(1): p30-57, 1997.
- 22) 佐藤 威, 日本透析医学会学術委員会血液浄化器の機能検討小委員 斎藤 明, 内藤 秀宗, 鈴木 正司, 秋澤 忠男, 篠田 俊雄, 峰島 三千男, 金 成泰, 秋葉 隆. 各種の血液浄化法の機能と適応-血液浄化器の性能評価法と機能分類.
日本透析医学会雑誌. 29(8): p1231-1245, 1996.
- 23) Inagaki O, Nishian Y, Iwaki R, Nakagawa K, Takamitsu Y, Fujita Y. Adsorption of nafamostat mesilate by hemodialysis membranes. *Artif Organs*. 16(6): p553-558, 1992.
- 24) 高木 賢太郎, 平田 純生, 古久保 拓, 上西 幸治, 和泉 智, 太田 美由希, 安達 真美, 金 昌雄, 高良 恒史, 大西 憲明, 横山 照由. 血液透析膜への TDM 対象薬剤の吸着性に関する基礎的検討. *TDM 研究*. 20(3): p268-273, 2003.
- 25) Motoki U, Sumio H, Satoshi I, Taku F, Miyuki O, Minori F, Tomoyuki Y, Kazuhiko T. Adsorption of Arbekacin onto Dialysis Membranes in vitro. *Jpn J Ther Drug Monitor*. 21(3): p273 -279, 2004.
- 26) Tian Q, Gomersall CD, Leung PP, Choi GY, Joynt GM, Tan PE, Wong AS. The adsorption of vancomycin by polyacrylonitrile, polyamide, and polysulfone hemofilters. *Artif Organs*. 32(1): p81-84, 2008.
- 27) ファロム錠 150mg, ファロム錠 200mg, ファロムドライシロップ小児用 10% インタビューフォーム. 第 2 版. マルホ株式会社. 2017.

- 28) 辻本 雅之, 平田 純生, 和泉 智, 太田 美由希, 安達 真美, 高良 恒史, 大西 憲明, 横山 照由, 田中 一彦. 尿毒症血清中の蛋白結合阻害因子の影響. *TDM 研究*. 19(2): p127-128, 2002.
- 29) Dhondt A, Vanholder R, Van Biesen W, Lameire N. The removal of uremic toxins. *Kidney Int Suppl*. 76: pS47-59, 2000.
- 30) Niwa T. Organic acids and the uremic syndrome: protein metabolite hypothesis in the progression of chronic renal failure. *Semin Nephrol*. 16(3): p167-182, 1996.
- 31) 佐中 孜, 葛西 浩美, 川島 洋一郎, 高橋 文男, 早坂 勇太郎, 太田 和夫, 杉野 信博, 遠藤 汎, 西村 寧. 尿症患者における蛋白結合阻害因子の生化学的同定. *腎と透析*. 14: p207-213, 1983.
- 32) 馬淵 非砂夫, 丸山 圭史, 垣内 孟, 青木 正, 中橋 弥光. 慢性腎不全血清中のアルブミン結合物質の分析. *日本透析療法学会雑誌*. 24(3): p295-299, 1991.
- 33) 黒山 政一, 熊野 和雄, 村瀬 勢津子, 朝長 文弥, 酒井 糾. Hemodialysis 施行時におけるセフェム系抗生剤の蛋白結合率に関する研究 -特に抗血液凝固剤の影響-. *日本透析療法学会雑誌*. 26 (4): p525-532, 1993.
- 34) 鶴川 幸一, 保科 京子, 松沢 陽子, 古野 徹, 堀内 美保, 吉野 由紀子, 肥後 伸一郎, 原 英明, 本間 憲夫. Ioxilan の単回静脈内投与毒性試験. *薬理と治療*. 21(S-6): p1451-1462, 1993.

以上