

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：2019-C16

課題名：小児における移植後シクロホスファミド及び活性代謝物の薬物動態に関する基礎的研究

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター
(所属・職名 氏名) 薬剤部・薬剤師 歌野智之

(研究成果の要約) 本研究によりシクロホスファミド及び活性代謝物の 4-hydroxycyclophosphamide の血中濃度測定に必要な血液処理方法や検量線作成等の測定法を HPLC-MS/MS を用いて確立した。また、シクロホスファミドの薬物動態に影響する可能性のある遺伝子である CYP2B6 や CYP2C9 の遺伝子解析を行い、遺伝子多型の有無を確認する方法を確立した。この研究結果により、小児造血幹細胞移植後において移植後にシクロホスファミドを投与する post-transplant cyclophosphamide (PTCY) におけるシクロホスファミド及び活性代謝物の血中濃度を測定し、薬物動態に及ぼす因子を明らかにし、より適切な PTCY 投与設計を行うための研究を行う事が可能となる。

1.

研究目的

本研究の目的は、小児造血幹細胞移植において移植後にシクロホスファミドを投与する post-transplant cyclophosphamide (PTCY) におけるシクロホスファミド及び活性代謝物の薬物動態に及ぼす因子を明らかにし、より適切な PTCY 投与設計を確立するために、シクロホスファミド及び活性代謝物の HPLC-MS/MS による測定法及びシクロホスファミドの代謝に関連する遺伝子の解析法を確立することである。

2. 研究組織

研究者	所属施設
歌野 智之	国立成育医療研究センター
加藤 元博	国立成育医療研究センター

3. 研究成果

本年度の研究は、成育医療研究センター研究所にある HPLC-MS/MS を用いて、シクロホスファミド (CY) 及び活性代謝物である 4-hydroxycyclophosphamide (HCY) の血中濃度を同時に測定する方法を確立した。また、CY の代謝に関する遺伝子解析に関しては、CYP2B6 及び CYP2C9 の遺伝子多型の有無をダイレクトシーケンス法にて解析する方法を確立した。

これにより、今後は臨床検体を用いて CY 及び活性代謝物 HCY の薬物動態に影響を及ぼす因子を明らかにする研究が実施可能となり、適切な PTCY 投与設計を確立するための研究を行う事が可能となった。

1) CY 及び HCY の HPLC-MS/MS による測定法
各物質のマストランジションは CY (m/z 260.9→140.1)、HCY (m/z 367.1→147.3)、内標準物質:D4-CY (m/z 265.1→140.1) であった。検量線の範囲は CY 50-40,000 ng/mL、HCY 30-4,000 ng/mL であり、各検量線の真度は±15%以内の逸脱、精度は相対標準偏差が15%以下である事を確認した。

測定系が確立できたことから、当院で実施している移植後シクロホスファミドの使用例を対象として、この測定系を用いて血中代謝産物を測定し臨床経過と比較するための研究計画書を作成した。

2) CYP2B6 及び CYP2C9 の遺伝子解析
CYP2B6 は*2(C64T)及び*6(G516T)の一塩基多型解析を行い、CYP2C9 は*3(A1075C)及び*4(T1076C)の一塩基多型解析を行った。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究は、人を対象とする医学系倫理に関する倫理指針および独立行政法人等個人情報保護法、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針を遵守して行った。