

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 山田 瑛子
学位 博士 (歯学)
学位記番号 新大院博 (歯) 第318号
学位授与の日付 平成27年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Relationship between concentrations of antiretroviral drugs in plasma and saliva of HIV-1 infected individuals
(HIV-1 患者における血中と唾液中の抗 HIV 薬濃度の関係)

論文審査委員 主査 教授 寺尾 豊
副査 教授 織田 公光
副査 教授 高木 律男

博士論文の要旨

抗 HIV 薬の血中濃度測定は薬物動態や治療効果の把握に重要であるが、薬物動態試験は頻回な採血を必要とする。しかし採血は、医療スタッフの針刺し事故の危険性や被験者の痛みを伴うほか、時間、場所及び器具などの制約も受ける。一方、唾液は非侵襲的に、かつ自身で自宅においても採取が可能である。

そこで、抗 HIV 薬の唾液中の薬剤濃度を測定し血中の薬剤濃度と比較することで、唾液を用いた薬物動態試験の可能性について検討することとした。抗 HIV 薬は現在のガイドラインにて推奨され、臨床の場にて用いられることの多いアバカビル (ABC)、テノホビル (TFV)、ダルナビル (DRV)、ラルテグラビル (RAL) の 4 剤を選択した。

まず、これら 4 剤の液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた血中と唾液中の薬剤濃度の測定系を作成し検証を行った。直線性は 4 剤全てにおいて 1-10,000 ng/mL の範囲で得られたが、これは 4 剤の血中薬剤濃度を十分カバーできる範囲であった。within-run と between-run における accuracy、precision、recovery はそれぞれ 14.5-18.1%、1.2-13.1%、86.0-111.1%であり、血中と唾液中の薬剤濃度を測定するために十分な感度と正確性をもつ測定系が得られた。

次に、ABC、TFV のプロドラッグであるテノホビルジソプロキシルフマル酸塩 (TDF)、DRV、RAL のいずれかを 1 か月以上内服しており、同意の得られた患者 30 名から血液と自然流出唾液をほぼ同時に採取した。薬剤別患者数は ABC が 16 名、TDF が 13 名、DRV が 8 名、RAL が 9 名であった。血液を遠心して得られた上清を血漿検体とした。また、その一部は限外濾過ユニット centrifree (メルクミリポア社) を用いてタンパク質結合型薬剤を除去し、除タンパク質血漿を得た。血漿中、除タンパク質血漿中、唾液中の抗 HIV 薬濃度は LC-MS/MS を用いて上記の測定系にて測定した。

血漿中と除タンパク質血漿中薬剤濃度の測定結果から得られた各薬剤の血漿タンパク質結合率は ABC が $58.3 \pm 15.2\%$ 、TFV が 10.9%未満、DRV が $74.9 \pm 6.0\%$ 、RAL が $44.4 \pm 20.1\%$ であった。唾液中薬剤濃度の血漿中と除タンパク質血漿中に対する薬剤濃度の比はそれぞれ、ABC が $62.3 \pm 19.2\%$ と $164.5 \pm 60.7\%$ 、TFV が $2.4 \pm 1.8\%$ と $2.2 \pm 1.7\%$ 、DRV が $6.5 \pm 3.4\%$ と $27.3 \pm 15.5\%$ 、RAL が $13.5 \pm 5.7\%$ と $26.0 \pm 11.7\%$ であった。それぞれの薬剤濃度の関係では、DRV、RAL、ABC の 3 剤に血漿中と唾液中の薬剤濃度に有意な相関関係がみられたことから、唾液を用いた薬物動態試験の可能性が示唆された。また、唾液中の薬剤濃度は、血漿中より除タンパク質血漿中の薬剤濃度と高い相関係数が得られたことから、タンパク質に結合していない遊離型薬剤の方が血液から唾液に分泌されやすいと考えられた。一方 TFV は唾液中薬

剤濃度が最も低く、血漿中と唾液中薬剤濃度に相関関係がみられなかった。

なお、ABCは最も唾液中薬剤濃度が高く、被験者のうち半数に50%阻害濃度を超える唾液中薬剤濃度がみられたことから、ABCを含む抗HIV薬投与が非感染者の口腔内（唾液）を介したHIV感染予防に有効であると考えられた。

以上より、この研究は、HIV感染症にて抗HIV薬治療を受けている患者に対し、唾液を血液の代用検体として薬物動態試験に用いることの可能性を広げた。

審査結果の要旨

申請者はHIV感染者において繰り返し必要となる血中薬剤濃度モニタリングをより簡便で実用上十分な精度が得られ、低侵襲・低コストかつ在宅でも実施可能な唾液薬剤濃度測定によって行うことの可能性を広げた。この測定系のヴァリデーションにおける検証実験では、FDAガイドラインに沿った必要十分な実験が綿密に行われており、測定系の信頼性を高めている。さらに、この測定方法は1回の測定時間が6分と極めて短時間でありランニングコストの削減が望める点や、測定における検体量が少量で済むこと、検体調整の過程がシンプルであること、さらには測定限界濃度が1ng/mLと低濃度まで測定可能である特徴は強調すべきである。

また、国内ガイドラインにて推奨されている4剤（キードラック2剤+バックボンドラック2剤）を選定し、同時に内服する可能性の低いキードラック同士またはバックボンドラック同士の2剤をペアとして、各測定系の内部標準として設定したことは、新たな着眼点であり、測定時における内部標準のための使用薬剤を最小にできるという利点も兼ね備えている。

唾液の採取方法について、自然流出唾液を用いているが、その理由は自宅や物資の少ない地域（主にアフリカ、東南アジアなどのHIV/AIDS患者が多いとされる地域での検査を想定）での採取を考慮し、採取方法を簡便にしたいことや、酸などで刺激した場合唾液検体が酸性に傾き、イオンを検出するLC-MS/MSでの測定に影響すると予想されたためであると説明があった。しかし唾液採取時の口腔内の状態や、唾液の性状を考慮し、刺激時唾液や唾液採取時の条件による違いを確認しておくことも重要と思われる。

今回測定した4剤のうち、1剤では血漿中や除タンパク質血漿中と唾液中薬剤濃度の間に相関関係が認められなかった。この理由について、この1剤が唾液への移行率がきわめて低く、さらに親水性であるため細胞膜の透過性が悪く唾液腺から唾液中への移行が難しいためと考察している。

この論文では、4剤中3剤の抗HIV薬では血中の薬剤濃度を唾液中の薬剤濃度から評価できる可能性が示唆された。しかし、問題点として今回の研究では、内服後のランダムな1点での血中と唾液中の薬剤濃度を調べていることがあげられる。この点に関しては、すでに経時的に同時採取した血中と唾液中薬剤濃度測定も開始しており、今後の結果が期待される。

以上、血液媒介感染症として現状でも増加傾向にあるHIV感染症を題材として、臨床的に非常に有用な情報を提供しており、今後益々の発展の可能性を示すだけの基礎データとしての意義は大きいと判断され、学位論文としての価値を認める。