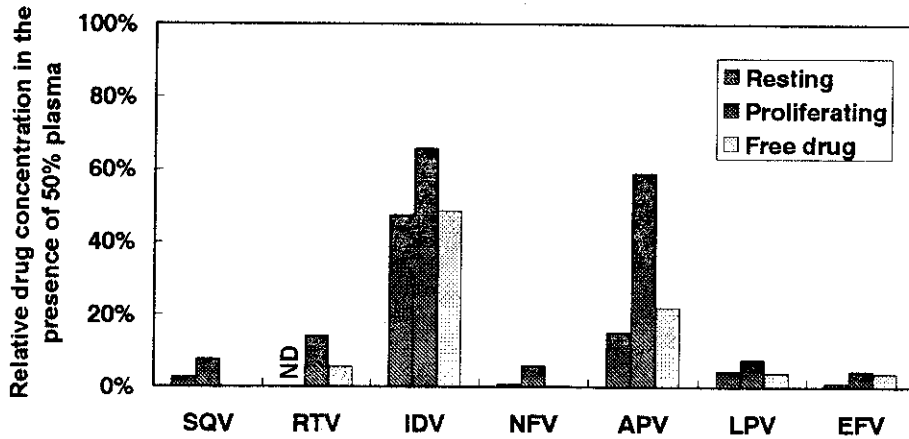


2. Intracellular drug concentrations in resting and proliferating PBMC incubated in medium containing various drugs

Extracellular drug	Resting PBMC		Proliferating PBMC	
	Intracellular conc. (nmol/10 ⁶ cells)		Intracellular conc. (nmol/10 ⁶ cells)	
	(nmol/10 ⁶ cells)	(μM)	(nmol/10 ⁶ cells)	(μM)
10 μM SQV	0.164 ± 0.141	605 ± 521	0.401 ± 0.042	595 ± 62
10 μM RTV	0.044 ± 0.017	161 ± 61	0.098 ± 0.009	146 ± 13
100 μM IDV	0.427 ± 0.125	1577 ± 461	0.244 ± 0.056	361 ± 83
10 μM NFV	0.886 ± 0.362	3270 ± 1337	0.715 ± 0.183	1062 ± 271
100 μM APV	0.031 ± 0.023	114 ± 84	0.138 ± 0.012	205 ± 18
10 μM LPV	0.116 ± 0.032	428 ± 120	0.246 ± 0.118	366 ± 176
100 μM NVP	<0.01	<40	<0.01	<40
10 μM EFV	0.272 ± 0.179	1006 ± 661	0.584 ± 0.282	867 ± 419

3. Effect of 50% plasma on the intracellular drug concentration



4. Interaction between SQV and RTV for intracellular accumulation in proliferating PBMC: RTV concentration is constant at 10 μ M.

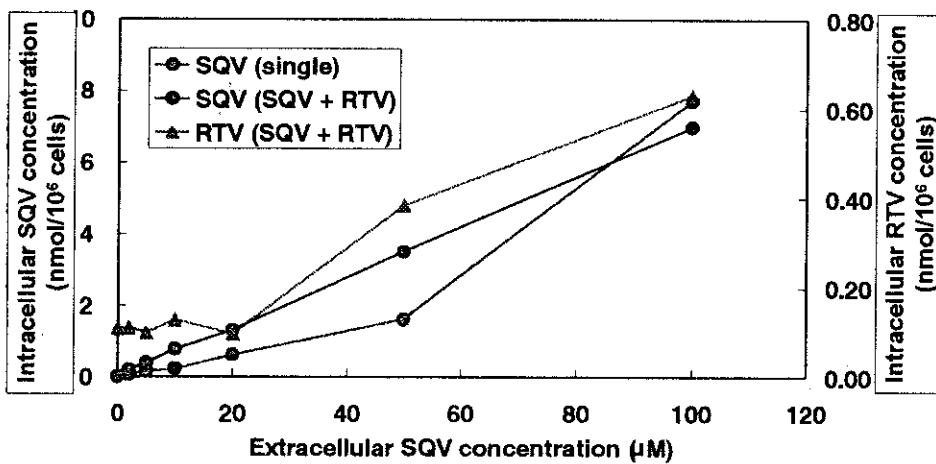


Figure 5. IC₅₀ of PIs in MOLT-4/LAI cells when drug was removed from medium

Drug	IC ₅₀ (nM)	
	Drug in medium	Drug removed
IDV	86	4950
SQV	21	24
RTV	39	130
NFV	27	140
APV	77	4650
LPV	13	23

Figure 6. Intracellular drug concentrations in resting and proliferating PBMC incubated in medium containing AZT

PBMC	Extracellular conc. (μM)	Plasma (%)	Intracellular conc. (μM)			
			AZT	AZTMP	AZTDP	AZTTP
Resting	10	0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
	10	50	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
	100	0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
	100	50	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
Proliferating	10	0	3.4	244.0	<2.0	<2.0
	10	50	2.5	425.9	<2.0	<2.0
	100	0	34.2	425.1	<2.0	<2.0
	100	50	20.6	652.4	<2.0	<2.0

厚生労働科学研究費補助金 エイズ対策研究事業

分担研究報告書

「HPLC を用いない抗 HIV 薬の血中濃度と治療効果の関連の検討」

～カレトラRとエファビレンツの血中濃度同時測定法の確立およびその臨床的有用性～

分担研究者 金田次弘・宇佐美好子

国立名古屋病院 臨床研究センター

協力研究者 大木 剛

国立名古屋病院 薬剤科

研究要旨

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、プロテアーゼ阻害剤ロピナビルとリトナビルおよび非核酸系逆転写酵素阻害剤エファビレンツ、3 剤の血中濃度を同時に測定する方法を確立した。これを臨床に適用して、カレトラRとエファビレンツ併用患者のエファビレンツ血中濃度の高値を検出、エファビレンツの投与量を適正化し、副作用を改善させることができた。

A. 研究目的

HIV プロテアーゼ阻害剤であるカレトラR、すなわちロピナビル (LPV) とリトナビル (RTV)、および非核酸系逆転写酵素阻害剤であるエファビレンツ (EFV) の併用は強力な効果を有することから、その使用の増加が予想される。これら薬剤はいずれも、主に肝臓の薬物代謝酵素、チトクローム P-450 (CYP) 3A4 で代謝されることから、これらを併用すると EFV による CYP3A4 誘導のため、カレトラRの有効成分である LPV の血中濃度が低下すると海外では報告されている¹⁾。この問題に関して日本人のデータはなく、現在臨床試験が検討されている。この臨床試験において、これら 3 剤を同時に測定する方法は必須であるため、その測定法の確立を試みた。そしてこの測定法を用い、副作用を訴えるカレトラRとエファビレンツ併用患者の血中薬物濃度をモニタリングしながら、投与量の適正化を試みた。

B. 研究方法

1. 血中濃度測定法

当院で確立した LPV と RTV の同時測定法²⁾をもとに検討を行った。

a. 抽出方法

血漿 0.5 ml に、内部標準物質 (IS) を含む酢酸エチル:n-ヘキサン=1:1 (v/v) 溶液 2 ml、および 0.5 M 炭酸ナトリウム水溶液 1 ml を加えて混和後、遠心分離した。有機層を分取して乾固させた後、HPLC の移動相 100 μ l に溶解し、その 25 μ l を HPLC にインジェクションした。IS と し て 、 (5S,8S,10S,11S)-9-hydroxy-2-cyclopropyl-5-(1-methylethyl)-1-[2-(1-methylethyl)-4-thiazolyl]-3,6-dioxo-8,11-bis(phenylmethyl)-2,4,7,12-tetraazatri-decan-13-oic acid を使用した。

b. HPLC

HPLC システムは、Waters 社のシステムを使用した (ポンプ: 510 HPLC pump、検出器: 484 tunable absorbance detector、データ解析: 741 data module)。カラムは Waters 社の Radial-Pak Nova-Pak C₁₈ (4 μ m, 8 \times 100 mm)、検出波長は 205 nm を使用した。薬物濃度は、内部標準物質に対するピーク面積比から定量した。

2. 患者

a. 経過

39歳、男性。d4T、カレトラR、EFVを服用中。2001年4月21日よりカレトラRとEFVの併用が開始された。これまでに経験した抗HIV薬は、逆転写酵素阻害剤が、AZT、ddI、アバカビル、ネビラピン、プロテアーゼ阻害剤がインジナビル、サキナビル、RTV、ネルフィナビルである。

カレトラRとEFV併用後の経過は以下の通りである。カレトラR 6カプセルとEFV 3カプセルの通常用量で投薬が開始された。海外での報告^{1,3)}に基づき、同年5月にカレトラRが8カプセルに増量された。この頃既に副作用として、胸やけ、眠気を訴えており、以後継続する。同年6月に、軟便、および女性型乳房のため、カレトラRを7カプセルに減量し、1年近くこの量で経過した。ウイルス量は同年10月に50コピー/ml以下になり、その状態を維持していた。2002年5月に自己判断でカレトラRを6カプセルに減量、8月頃より、周囲から集中力の欠如を指摘されるようになった。

b. 採血

カレトラRおよびEFV服用約12時間後に行った。

C. 研究結果

1. 血中濃度測定法

a. 移動相の決定

LPVとRTVの同時測定法で使用する移動相は、アセトニトリル：メタノール：0.1%トリフルオロ酢酸(TFA)を含んだ0.01 M 過塩素酸テトラメチルアンモニウム(TMAP)水溶液=50：5：45 (v/v/v) 溶液であり、流速 1.5 ml/min、室温でHPLCを行う。この条件で、EFVを加えた3剤を同時に測定したところ、EFVはLPVのすぐあとに溶出され、その分離は不十分であった(図1.(a))。そこで、移動相の最適な組成を検討した。

まず、アセトニトリル、メタノール、TFAを含んだTMAP水溶液の比率を45:5:50 (v/v/v)とし、薬剤のカラムへの吸着力を強くした。その分、測定時間が長くなるのを避けるため、流速を1.8 ml/minとした。その結果(図1.(b))、LPVとEFVの溶出順序が逆転し、EFVはLPVに

先立って溶出されるようになったが、分離は不十分なままであった。そこでTFAの濃度のみを0.2%にあげたところ、EFVとLPVの分離は改善されたが、まだ不十分であった(図1.(c))。次に、TFAの濃度は0.1%で、TMAPの濃度を0.02 Mにあげた。EFVとLPVの分離はさらに改善されたが、ISのピークがEFVのピークに近接する結果となった(図1.(d))。そこでTFAを0.2%に、TMAPを0.02 Mにしてみたところ、すべてのピークが完全に分離して溶出された(図1.(e))。

b. カラム温度の検討

ピークの実験にカラム温度が影響する可能性があるため、カラム温度について検討を行った。図2の(a)は良好な分離が得られたときの室温(約26°C)での結果、(b)は30°CでHPLCを行った場合の結果である。カラム温度を上げていくにつれ、EFVとLPVの溶出時間の差は大きくなった。この方法では、室温の変動や移動相組成の微妙な変化、カラムの劣化などがピークの実験に影響を与えると思われるので、30°C以上の温度でHPLCを行うのがよいと考えられた。そこで以後、30°CでHPLCを行うこととした。

2. 測定法のバリデーション

a. 直線性の検討

ブランク血清にLPV、RTV、EFVの標準液を添加して検討した。その結果、LPVは0.06015 µg/mlから24.06 µg/mlの間で、RTVは0.104 µg/mlから4.16 µg/mlの間で、EFVは0.0468 µg/mlから18.72 µg/mlの間で直線性を示した(図3)。

b. 精度の検討

日内変動については各薬物5回ずつ、日差変動については5回ずつ3日間測定を行い、変動係数(CV%)を算出した。LPV(0.06~24.06 µg/ml)、EFV(0.047~18.72 µg/ml)およびRTVの1.04 µg/ml以上の条件下で、いずれも8%以下の値となり、精度は良好であった(表1)。しかし、RTVの0.021 µg/mlおよび0.208 µg/mlでは、日内、日差変動いずれの測定においても10%以上の高い値を示した。

c. 真度の検討

LPVとEFVにおける真度は、表1に示した全

測定濃度領域で $99.3 \pm 4.9\%$ ~ $109.4 \pm 3.5\%$ であり、高い真度で測定できることが示された。しかし、RTV の $0.0208 \mu\text{g/ml}$ 濃度における真度は 146.7% であり、この濃度領域では、やや正確性を欠く測定とならざるを得ない。

d. 回収率

血清からの回収率は、LPV で $77-87\%$ 、RTV で $77-83\%$ 、EFV で $81-91\%$ であった。

3. 患者血中薬物濃度モニタリング

胸やけ、眠気、集中力の欠如を訴える、カレトラと EFV 併用患者の血中薬物濃度モニタリングを行った (図 4)。2002 年 9 月 5 日に初めて測定を行った。この時の血中濃度は、EFV が約 $16 \mu\text{g/ml}$ 、LPV が約 $6 \mu\text{g/ml}$ であった。海外のデータでは、HIV 感染症患者の定常状態での EFV の血中濃度は約 $1.7 \sim 4 \mu\text{g/ml}$ であり¹⁾、当患者の場合はその 4 倍以上であった。従って、9 月 9 日に EFV を 3 から 2 カプセルに減量した。9 月 19 日の来院時には、眠気、だるさ、胸やけが減り、生活しやすくなった、集中力も増してきた、と述べておられた。EFV 減量後 1 カ月の 10 月 8 日の血中濃度測定では、EFV は約 $13.5 \mu\text{g/ml}$ 、10 月 28 日には約 $8 \mu\text{g/ml}$ と低下してきた。それに伴って LPV の血中濃度が上昇してきたことは、EFV による薬物代謝酵素誘導との関係から予想されたことであった。10 月 28 日時点でウイルス量は 50 コピー以下を維持していた。

D. 考察

確立した LPV、RTV、EFV 同時測定法は、患者血清を測定して得られると思われる血中濃度の範囲で直線性を示し、再現性も良好であったことから、これら薬剤の血中濃度測定に有用であることが示された。

血中濃度モニタリングを行った患者については、血中薬物濃度を測定することにより、抗ウイルス効果を保ちつつ薬物を減量して副作用を改善でき、薬物治療における血中濃度測定の重要性を示唆する結果となった。また、海外のデータをそのまま日本人に適用することの危険性を示唆する結果ともなった。

E. 結論

ほとんどの薬物を経験してしまい、次の選択の余地が非常に限られる患者がいる。そのような患者が薬物治療を継続していくためには、抗ウイルス効果を維持しながら、耐性獲得を抑制し、副作用の出現を阻止しなければならない。そのためには血中薬物濃度を有効濃度域に保つことが必須であり、モニタリングは欠かせない。今回開発した簡便な測定法は、病院内部で適宜利用することができる。これにより、患者に応じた治療指針の立案も可能となった。

F. 参考文献

- 1) Clumeck N., Brun S., *et al.*, 8th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, on 4-8 February, 2001.
- 2) 平成 13 年度 厚生科学研究費補助金 エイズ対策研究事業 薬剤耐性のモニタリングに関する技術開発研究 研究報告書.
- 3) Product information, Kaletra (lopinavir/ritonavir), Abbott Laboratories, 2000.
- 4) 医薬品インタビューフォーム ストックリン R (エファビレンツ) カプセル、萬有製薬株式会社、1999.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 金田次弘、和田かおる、萩原智子、永井裕美、白阪琢磨.
プロウイルス DNA 量のマーカーとしての意義.
日本臨床・特集「HIV/AIDS 研究の進歩」60,
694-702 (2002).

2) 金田次弘、白阪琢磨.

「HIV-1 感染症/エイズ治療遂行のためのモニタリング・システムの構築の進展」(シンポジウム記録) 医療 56, 727-728, 2002.

- 3) 浅黄司、伊部史朗、金田次弘、鈴木博義、手塚文明、西村秀一、佐藤功、山崎孝文.
HIV-1 薬剤耐性検査の問題点とその克服.
医療 56, 734-735, 2002.

4) 金田次弘、萩原智子、服部純子、永井裕美、内海眞、和田かおる。
PNA-ISH 法による HIV-1 プロウイルス検出法の開発と応用. 医療 56, 738-740, 2002.

5) 長岡宏一、伊藤洋貴、大木剛、中井正彦、鷺坂昌史、竹田信也、間宮均人、宇佐美好子、金田次弘。
プロテアーゼ阻害剤血中濃度の測定の実際。医療 56, 741-742, 2002.

6) Selection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Variants with an Insertion Mutation in the P6^{gag} and P6^{pol} Genes under Highly Active Antiretroviral Therapy.
S. Ibe, N. Shibata, M. Utsumi and T. Kaneda
Microbiol. Immunol., 47, 71-79 (2003).

2. 学会発表

1) T. Kaneda, T. Hagiwara, J. Hattori and M. Utsumi,
HIV-1 provirus in the peripheral CD4+ T lymphocytes from the HIV-1 infected patients under highly active antiretroviral therapy.
The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

2) H. Nagai, K. Wada, Y. Tawada, T. Morishita, M. Utsumi, Y. Nishiyama and T. Kaneda,
Establishment of quantitative assay for cellular HIV-1 mRNA by real-time PCR.
The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

3) K. Wada, H. Nagai, T. Hagiwara, N. Hotta,
M. Utsumi and T. Kaneda,
Detection and quantification of HIV-1 provirus by real-time PCR and PNA-ISH.
The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

4) T. Asagi, S. Ibe, T. Kaneda, H. Suzuki, F. Tezuka and S. Nishimura,
RT-nested touchdown PCR is an effective method for gene amplification in genotypic analysis of drug-resistant HIV-1.
The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

5) S. Ibe, N. Shibata, M. Utsumi and T. Kaneda,
HIV-1 variants with an insertion mutation in the p6^{gag} and p6^{pol} genes were selected during highly active antiretroviral therapy.
The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

6) 金田次弘、井田節子
HIV-1 プロウイルスの定量法確立に関する研究。
第 57 回国立病院療養所総合医学会シンポジウム、平成 14 年 10 月、福岡。

7) 浅黄司、伊部史朗、金田次弘、鈴木博義、手塚文明、
タッチダウン PCR 法によるプロテアーゼ遺伝子の増殖不可能な原因とその改善策。
第 16 回日本エイズ学会総会、平成 14 年 11 月、名古屋。

8) 伊部史朗、森下高行、佐藤克彦、内海眞、金田次弘、
Gag p6 遺伝子に検出された挿入変異の意義。
第 16 回日本エイズ学会総会、平成 14 年 11 月、名古屋。

9) 伊部史朗、森下高行、竹尾歌、堀田直恵、佐藤克彦、内海眞、金田次弘、
2001 年次に新規受診した未治療 HIV-1 感染症患者の薬剤耐性検査結果。
第 16 回日本エイズ学会総会、平成 14 年 11 月、名古屋。

10) 山本直彦、森下高行、佐藤克彦、大竹徹、

森 治代、川畑拓也、金田次弘、内海 眞、
新規低分子化合物：ペンダント型亜鉛サイクレ
ン錯体の抗HIV活性とその作用機序。
第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、
名古屋。

11) 永井裕美、和田かおる、森下高行、内海 眞、
西山幸廣、金田次弘
高感度リアルタイムPCRによるHIV-1 DNA定量
法の検討。
第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、
名古屋。

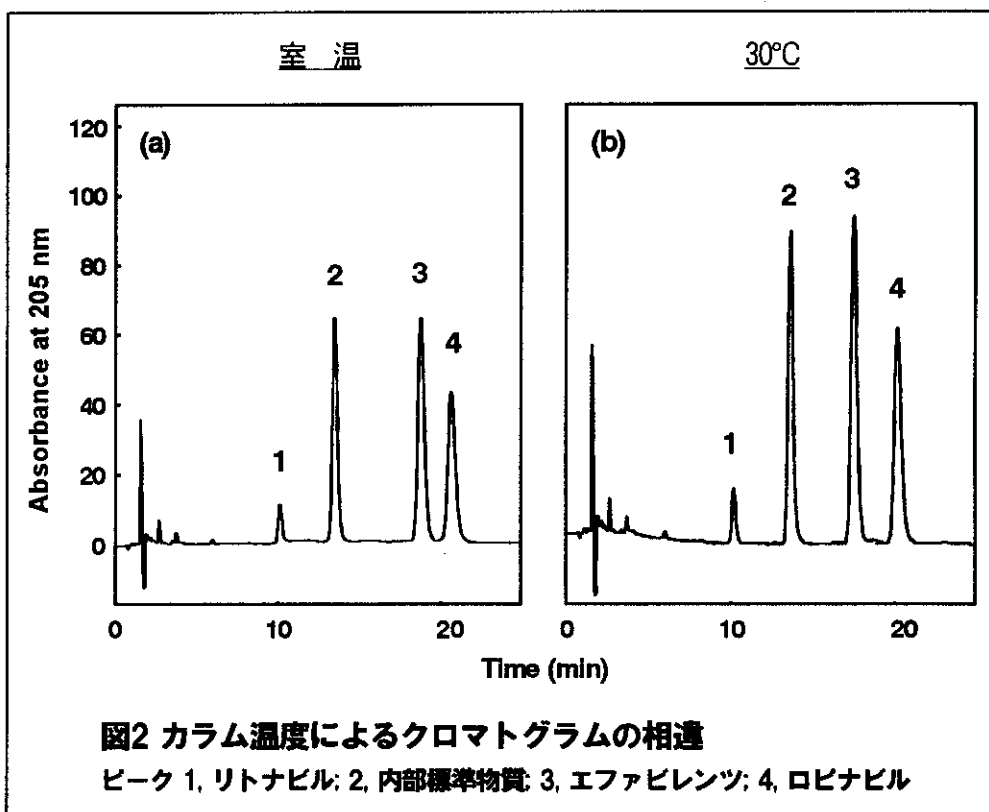
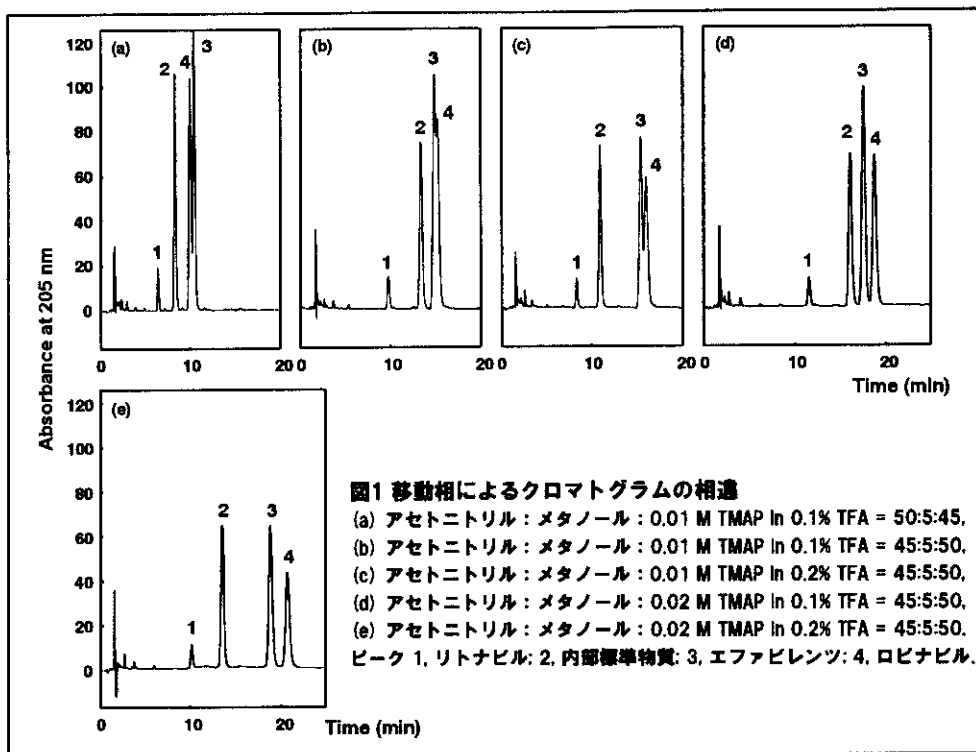
12) 服部純子、萩原智子、内海 眞、金田次弘、
PNA-ISH法で同定されたHIV-1プロウイルス陽
性細胞の表現型の決定。
第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、
名古屋。

13) 金田次弘
HIVプロウイルス測定の意味。
第16回日本エイズ学会総会シンポジウム、平成
14年11月、名古屋。

14) 宇佐美好子、大木剛、長岡宏一、伊藤洋貴、
中井正彦、鷺坂昌史、金田次弘、山中克郎、内
海 眞
抗HIV薬の血中濃度測定法の確立と体内動態。
第16回日本エイズ学会総会シンポジウム、平成
14年11月、名古屋。

H. 研究協力者

内海 眞、山中克郎、間宮均人（国立名古屋病
院・内科）、鷺坂昌史、中井正彦、長岡宏一、
伊藤洋貴、竹田信也（国立名古屋病院・薬剤科）



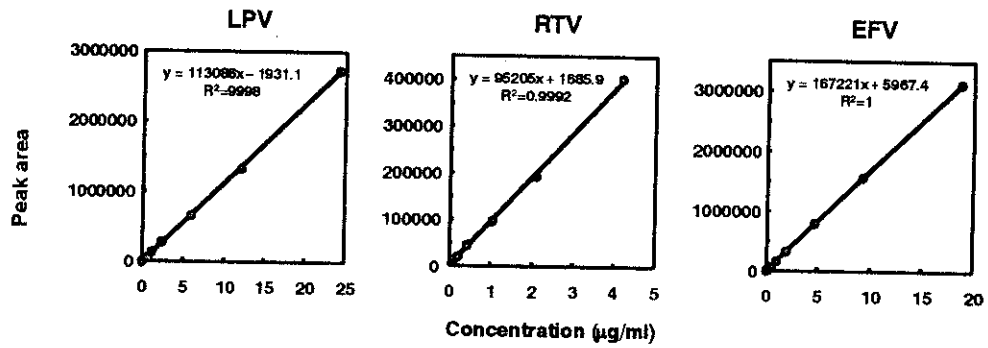
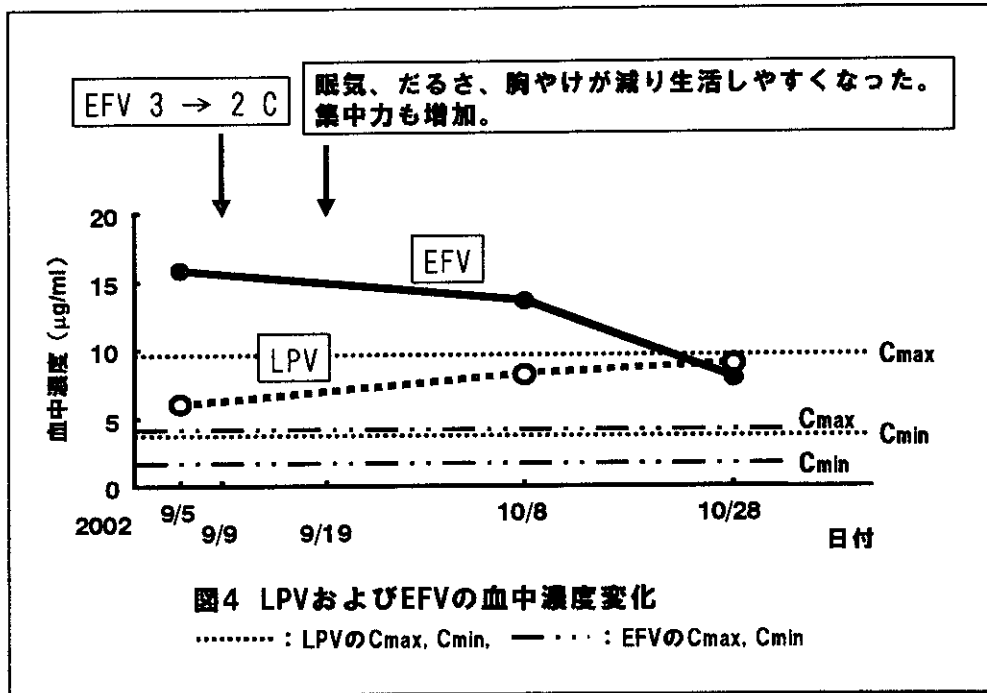


図3 測定法の直線性

表1 測定法のバリデーション

Expected (µg/ml)	Intraday (n=5)		Interday (n=15)		Accuracy (%)	Recovery (%)
	Measured (µg/ml)	CV (%)	Measured (µg/ml)	CV (%)		
LPV						
0.060	0.064 ± 0.002	2.8	0.066 ± 0.002	3.2	109.4 ± 3.5	77.6 ± 1.9
0.120	0.129 ± 0.002	1.3	0.128 ± 0.004	3.0	106.0 ± 3.1	86.4 ± 0.7
1.203	1.240 ± 0.038	3.1	1.258 ± 0.029	2.3	104.6 ± 2.4	78.8 ± 0.5
6.015	6.068 ± 0.138	2.3	6.314 ± 0.250	4.0	105.0 ± 4.2	81.2 ± 2.1
24.060	23.331 ± 0.351	1.5	24.288 ± 0.837	3.4	100.9 ± 3.5	84.5 ± 3.3
RTV						
0.021	0.034 ± 0.004	11.7	0.031 ± 0.005	16.8	146.7 ± 24.7	83.0 ± 9.6
0.208	0.253 ± 0.032	12.5	0.240 ± 0.024	10.0	115.4 ± 11.6	77.8 ± 2.5
1.040	1.050 ± 0.037	3.5	1.058 ± 0.033	3.1	101.8 ± 3.2	77.2 ± 2.3
4.160	4.136 ± 0.102	2.5	4.218 ± 0.119	2.8	101.4 ± 2.6	82.8 ± 0.6
EFV						
0.047	0.048 ± 0.002	4.0	0.049 ± 0.004	7.7	105.2 ± 8.1	86.3 ± 3.9
0.094	0.095 ± 0.004	4.2	0.097 ± 0.006	5.9	103.7 ± 6.1	90.8 ± 1.0
0.936	0.966 ± 0.036	3.7	0.991 ± 0.033	3.4	105.9 ± 3.6	87.3 ± 2.2
4.680	4.669 ± 0.115	2.5	4.951 ± 0.265	5.4	105.8 ± 5.7	81.6 ± 2.3
18.720	17.389 ± 0.167	1.0	18.595 ± 0.917	4.9	99.3 ± 4.9	84.6 ± 2.6



厚生労働科学研究費補助金 エイズ対策研究事業

分担研究報告書

「HPLC を用いない抗 HIV 薬の血中濃度と治療効果の関連の検討」
～ロピナビルの日本人健常人での体内動態と食事の影響について～

分担研究者 金田次弘・宇佐美好子

国立名古屋病院 臨床研究センター

協力研究者 大木剛・中井正彦・鷺坂昌史

国立名古屋病院 薬剤科

研究要旨

新しいプロテアーゼインヒビターであるカレトラTMの成分、Lopinavir(LPV)と Ritonavir(RTV)の日本人における体内動態とそれに及ぼす食事の影響を知るため、健常人 8 名において投与試験を行い、薬物動態パラメータを求めた。空腹時服薬後 12 時間までの LPV の動態は、承認時外国人データと比べて、AUC では 1.6 倍、C_{max} では 1.3 倍高い値を示した。各種パラメータへの摂食の影響については、外国人データでは C_{max}、T_{max}、AUC に影響があると報告されていたが、日本人では C_{max}、AUC には影響は認められなかった。T_{max} の延長は日本人でも認められた。それは服用後に血中に薬物が出現するまでの時間の延長 (ラグタイムの延長) によるものであった。

A. 研究目的

プロテアーゼインヒビターであるカレトラTMは有効成分である LPV に、その代謝阻害剤として RTV を配合した薬剤である。LPV の作用は RTV の投与量に依存することが動物実験で分かっている¹⁾。承認の迅速性が求められた結果、カレトラTMの体内動態に関して日本人を対象とした臨床試験は行われず、従って現在得られるヒトの薬物動態に関するデータは外国人を対象としたものである。また RTV がどの程度 LPV の動態に影響を与えるかも明らかにされていない。

今回日本人健常人での LPV と RTV の血中動態に関する各種パラメータを求めるため、ボランティアを募り、空腹時と摂食後においてカレトラTM単回投与試験を実施した。

B. 研究方法

I. 健常人被験者の抽出条件及び採血時間

健常人における LPV と RTV の経時的な血中濃度変化を測定するためにボランティアを募った。本人より直接同意を得られた者を被験者とした。貧血の者、薬物代謝に影響を及ぼすと思われる食品の常用者、薬物を服用中の者は除外し、カレトラソフトカプセルTM 3 カプセルを空腹時、及び摂食後 30 分で投与した。なお空腹時試験と摂食後試験の間には 1 ヶ月以上の間隔を空けた。

投与後 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 30 時間に採血を行い、可能であれば 18 時間後の採血を追加した。

II. 食事の条件

空腹時試験では、前日 21 時より絶食とし、12 時間以上空腹状態での服薬とした。摂食後試験では、総カロリー約 530 kcal、脂質量約

試験では、総カロリー約 530 kcal, 脂質量約 20 g の統一メニューとし、食事の 30 分後に服薬した。

III. 検体保存、測定、及び解析方法

採血後直ちに遠心分離(2,800×g, 5 分間)し、血漿を-80°Cで保存した。LPV と RTV 血中濃度測定は、すでに報告した HPLC による方法³⁾を使用し、いずれも 2 回ずつ測定を行った。データ解析については、山岡らの非線形最小二乗法プログラム MULTI を用いて各種パラメータを算出した。⁴⁾

C. 研究結果

今回の試験に参加したボランティアのプロフィールを表 1 に示す。男性 6 名、女性 2 名の計 8 名、年齢は 28 才から 52 才、平均体重は 61.8±6.0 kg で、特筆するような肥満や痩せの方の参加はなかった。なお、被験者 A については空腹時試験直前の検査で軽微な肝機能値の上昇がみられた。

図 1 に空腹時投与における LPV と RTV の血中濃度推移を示す。LPV は服用後 1 時間で血中に出現、2 時間から 4 時間の間に最高血中濃度(C_{max})を示し、その後約 10 時間の半減期で経時的に血中より消失した。30 時間後には 3 例(被験者 A, C, E)において測定下限界の 0.1 µg/ml 以下に達した。また、12 時間または 18 時間以降の薬物の減少はそれまでの減少より急であった。一方、RTV は服薬後 2~4 時間で C_{max} に達したが、6 時間後には測定下限界以下となる例もあり、被験者間での吸収・排泄に大きな差が見られた。

図 2 に、摂食後投与における LPV と RTV の血中濃度推移を示す。服薬後 1 時間で血中に LPV が出現した例は 1 例のみで、血中濃度-時間曲線は全体的に空腹時の結果より右方にシフトしていた。しかし、30 時間後にはすべて

の症例で 0.1 µg/ml の測定下限界以下となり、24 時間以降は急速な LPV の血中からの消失が観察された。一方 RTV も LPV 同様、空腹時に比べその血中濃度-時間曲線は右方にシフトした。

図 3 に各時間の血中濃度の平均値と標準偏差値を示す。LPV は空腹時及び摂食時ともに服薬後 12 時間を境に血中からの消失が加速した。これは RTV が血中に存在する間、その肝代謝阻害作用により LPV の代謝が延長されるが、RTV の消失とともに LPV 単独投与時の消失速度で血中より消失するためであると考えられた。従って、服薬後 12 時間までの測定結果より、カレトラTM 単回投与時の LPV に関する薬物動態パラメータを算出する事とした。これはカレトラTM が通常 1 日 2 回投与であることを考えると理にかなっている。

各被験者における吸収速度定数 k_a、消失速度定数 k_e 等の各パラメータ算定のためのモデルを MULTI を用いて検討した結果、式

$$pconc = [e^{-k_e \cdot (t - \text{Lag time})} - e^{-k_a \cdot (t - \text{Lag time})}] \cdot F \cdot D / V_d$$

(F:吸収率, D:投与量, V_d:分布容積)

により半減期(T_{1/2})や T_{max}, C_{max} 等を計算できることが判明した。なお、血中濃度曲線下面積(AUC)は台形法により 0→24 時間値として算出した。こうして算出した各被験者の LPV に関する各パラメータを表 2 に示す。

LPV の空腹時投与における T_{max} は平均 3.4 ± 0.9 hr、C_{max} は平均 7.3 ± 1.6 µg/ml、T_{1/2} は平均 10.7 ± 3.5 hr、血中に薬剤が検出されるまでの服用後遅延時間(ラグタイム)は平均 0.82 ± 0.14 hr であった。また、台形法により求められた AUC_{0→24} は平均 92.5 ± 22.3 µg · hr/ml であった。一方、摂食後投与における T_{max} は平均 5.6 ± 2.0 hr、C_{max} は平均 7.6 ± 1.8 µg/ml、T_{1/2} は平均 16.7 ± 7.1 hr、ラグタ

イムは平均 2.35 ± 0.78 hr であった。また、 $AUC_{0 \rightarrow 24}$ は平均 102.1 ± 31.0 $\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$ であった。求めた各パラメータの値について空腹時と摂食後で比較し、図4に示す。左側が空腹時投与の値、右側が摂食後投与の値であり、その平均値を太線で示した。Cmax、AUC については有意差は見られなかった。T_{1/2} については摂食により2例で減少が認められ、5例で増加が認められた。全体では延長する傾向がみられた ($0.05 < p < 0.1$)。ラグタイムはすべての例で摂食により延長し ($p < 0.01$)、これが Tmax 延長の原因と考えられる ($p < 0.05$)。以上の結果より、LPV の吸収は摂食により遅れることが判明した。

D. 考察

日本人健常人8名について空腹時及び摂食後にカレトラTM 単回投与を行い、得られたデータより薬物動態パラメータ及び食事の影響を検討した。

服薬後12時間までのLPVの薬物動態は、承認時における外国人データ²⁾と比較すると、空腹時投与においてAUCは1.6倍、Cmaxは1.3倍高い値を示した。これは日本人と外国人の体格差によるものであると考えられた。

各種パラメータへの摂食の影響は、Cmax、T_{1/2}、AUCでは認められなかったが、ラグタイムは延長し、それに伴ってTmaxの延長が認められた。外国人では摂食による影響がTmax、Cmax、AUCに現れるが、平均的な日本人の食事ではTmaxにのみ現れるため、服薬に食事の影響をあまり考える必要はないのではないかと考えられた。食事時間にあわせて服薬するのではなく、食事に関係なく12時間ごとの服薬でも問題ないと思われる。

E. 結論

日本人健常人で空腹時及び摂食後投与におけるLPVの血中濃度推移から各種パラメータを求めたところ、空腹時AUC、Cmax及び摂食によるCmax、AUCへの影響という点で、承認時外国人データと異なる結果が得られた。これは人種差によるものと考えられた。

今回は単回投与の結果であり、今後連続投与による定常状態での薬物動態の検討が必要となろう。その条件下で各種パラメータを求めることができれば、投与量の検討とカレトラTM服用HIV-1感染症患者の血中濃度データの評価に利用することが可能となる。

F. 参考文献

- 1) ABT-378, a Highly Potent Inhibitor of the Human Immunodeficiency Virus Protease : Hing Sham *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, Vol.42, 3218-3224 (1998)
- 2) ダイナボット株式会社、医薬品インタビューフォーム-カレトラソフトカプセル・リキッド新しいプロテアーゼ阻害剤ロピナビルの血中濃度測定法の確立及びその動態:中井正彦
- 3) 平成13年度厚生科学研究費補助金エイズ対策研究事業 薬剤耐性のモニタリングに関する技術開発研究報告書
- 4) マイコンによる薬物速度論入門:山岡清, 谷川祐介, 南光堂

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 金田次弘、和田かおる、萩原智子、永井裕美、白阪琢磨。
ブrouウイルス DNA 量のマーカーとしての意義。日本臨牀・特集「HIV/AIDS 研究の進歩」60, 694-702 (2002)。

2) 金田次弘、白阪琢磨.

「HIV-1 感染症/エイズ治療遂行のためのモニタリング・システムの構築の進展」(シンポジウム記録) 医療 56, 727-728, 2002.

3) 浅黄司、伊部史朗、金田次弘、鈴木博義、手塚文明、西村秀一、佐藤功、山崎孝文.

4) HIV-1 薬剤耐性検査の問題点とその克服.

5) 医療 56, 734-735, 2002.

6) 金田次弘、萩原智子、服部純子、永井裕美、内海眞、和田かおる.

7) PNA-ISH 法による HIV-1 プロウイルス検出法の開発と応用.

医療 56, 738-740, 2002.

8) 長岡宏一、伊藤洋貴、大木剛、中井正彦、鷺坂昌史、竹田信也、間宮均人、宇佐美好子、金田次弘.

プロテアーゼ阻害剤血中濃度の測定の実際.

医療 56, 741-742, 2002.

9) Selection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Variants with an Insertion Mutation in the P6^{gag} and P6^{pol} Genes under Highly Active Antiretroviral Therapy.

S. Ibe, N. Shibata, M. Utsumi and T. Kaneda

Microbiol. Immunol., 47, 71-79 (2003).

2. 学会発表

1) T. Kaneda, T. Hagiwara, J. Hattori and M. Utsumi,

HIV-1 provirus in the peripheral CD4+ T lymphocytes from the HIV-1 infected patients under highly active antiretroviral therapy.

The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

2) H. Nagai, K. Wada, Y. Tawada, T. Morishita, M. Utsumi, Y. Nishiyama and T. Kaneda,

Establishment of quantitative assay for cellular HIV-1 mRNA by real-time PCR.

The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

3) K. Wada, H. Nagai, T. Hagiwara, N. Hotta, M. Utsumi and T. Kaneda,

Detection and quantification of HIV-1 provirus by real-time PCR and PNA-ISH.

The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

4) T. Asagi, S. Ibe, T. Kaneda, H. Suzuki, F. Tezuka and S. Nishimura,

RT-nested touchdown PCR is an effective method for gene amplification in genotypic analysis of drug-resistant HIV-1.

The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

5) S. Ibe, N. Shibata, M. Utsumi and T. Kaneda,

HIV-1 variants with an insertion mutation in the p6^{gag} and p6^{pol} genes were selected during highly active antiretroviral therapy.

The 14th International AIDS Conference,
July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.

6) 金田次弘、井田節子

HIV-1 プロウイルスの定量法確立に関する研究.

第57回国立病院療養所総合医学会シンポジウム、平成14年10月、福岡.

7) 浅黄司、伊部史朗、金田次弘、鈴木博義、手塚文明、

タッチダウン PCR 法によるプロテアーゼ遺伝子の増殖不可能な原因とその改善策.

第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、名古屋.

8) 伊部史朗、森下高行、佐藤克彦、内海 眞、金田次弘、

Gag p6 遺伝子に検出された挿入変異の意義.
第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、名古屋.

9) 伊部史朗、森下高行、竹尾 歌、堀田直恵、佐藤克彦、内海 眞、金田次弘、

2001年次に新規受診した未治療HIV-1感染症患者の薬剤耐性検査結果.
第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、名古屋.

10) 山本直彦、森下高行、佐藤克彦、大竹 徹、森 治代、川畑拓也、金田次弘、内海 眞、新規低分子化合物：ペンダント型亜鉛サイクレン錯体の抗HIV活性とその作用機序.

第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、名古屋.

11) 永井裕美、和田かおる、森下高行、内海 眞、西山幸廣、金田次弘

高感度リアルタイムPCRによるHIV-1 DNA定量法の検討.

第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、名古屋.

12) 服部純子、萩原智子、内海 眞、金田次弘、PNA-ISH法で同定されたHIV-1プロウイルス陽性細胞の表現型の決定.

第16回日本エイズ学会総会、平成14年11月、名古屋.

13) 金田次弘

HIVプロウイルス測定の意味.

第16回日本エイズ学会総会シンポジウム、平成14年11月、名古屋.

14) 宇佐美好子、大木剛、長岡宏一、伊藤洋貴、中井正彦、鷺坂昌史、金田次弘、山中克郎、内海 眞

抗HIV薬の血中濃度測定法の確立と体内動態.
第16回日本エイズ学会総会シンポジウム、平成14年11月、名古屋.

H. 研究協力者

内海 眞、山中克郎、間宮均人（国立名古屋病院・内科）、奥村直哉、長岡宏一、伊藤洋貴、竹田信也（国立名古屋病院・薬剤科）

表1 ボランティア背景

被験者	性別	年齢	体重(kg)
A	M	52	62
B	M	42	57
C	M	43	63
D	M	40	66
E	F	43	59
F	M	28	66
G	M	35	70
H	F	35	51
平均		39.8	61.8±6.0

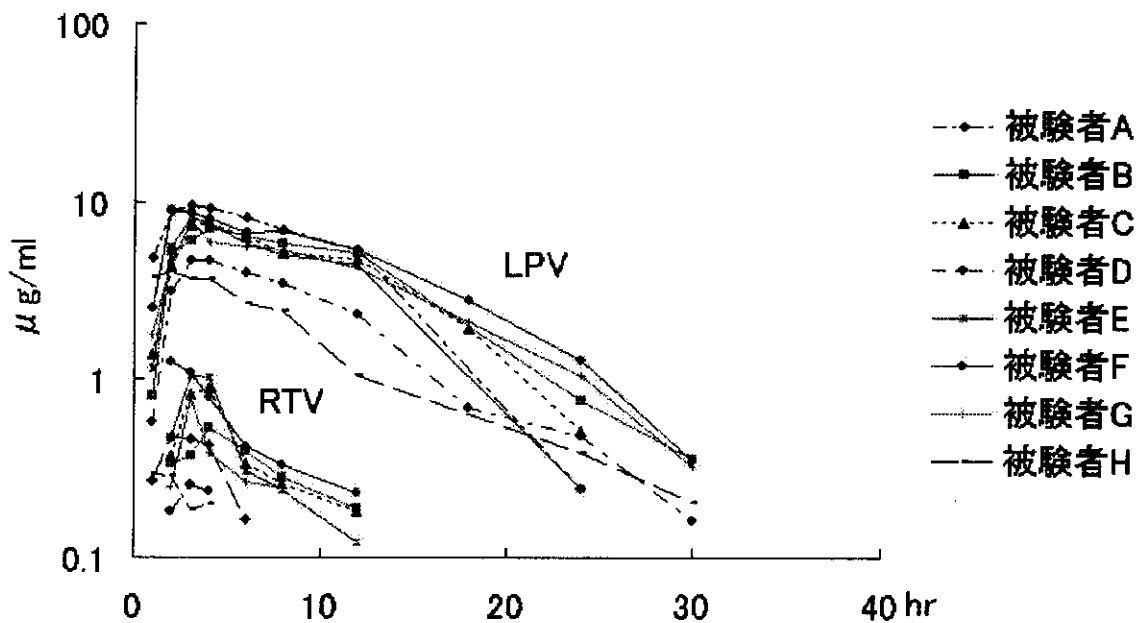


図1. 空腹時投与におけるLPV, RTV血中濃度の時間推移

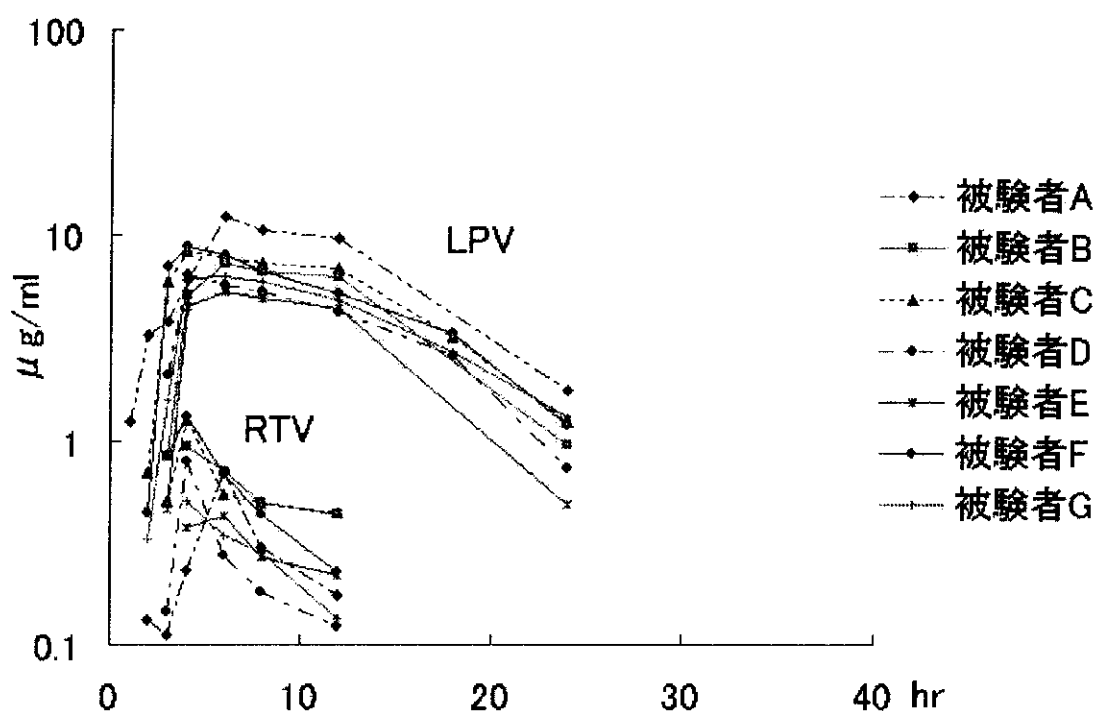


図2. 摂食後投与におけるLPV, RTV血中濃度の時間推移

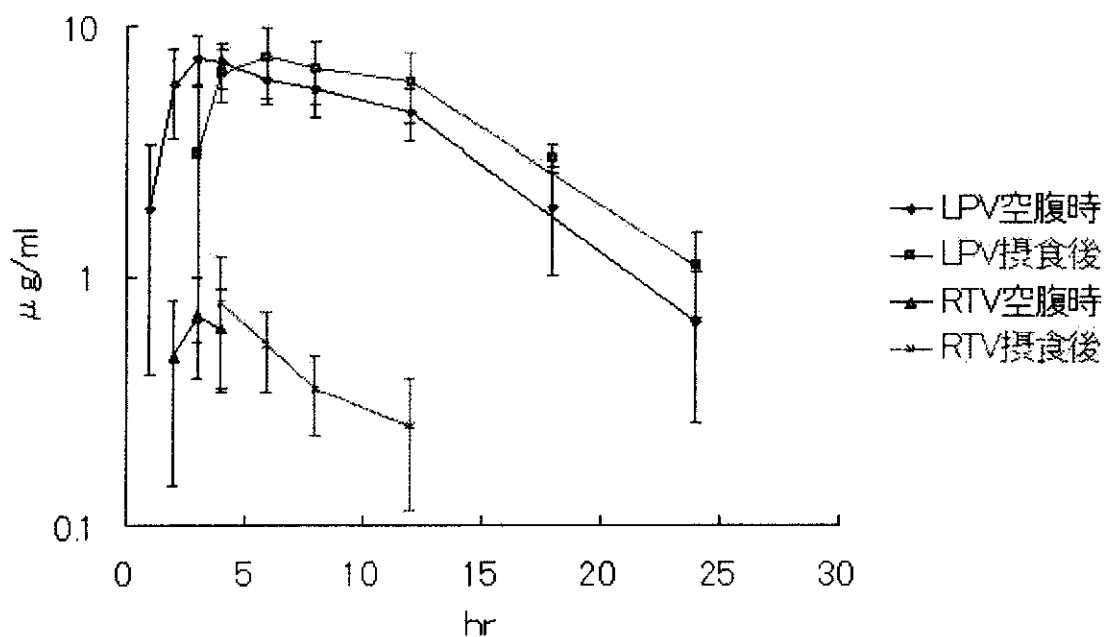


図3. カレトラ単回投与時のLPV,RTVの血中濃度 平均値の推移

表2. カレトラ単回投与における LPV の各種パラメータの比較

	空腹時投与					摂食後投与				
	Tmax (hr)	Cmax ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	T _{1/2} (hr)	ラグタイム (hr)	AUC ₀₋₂₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	Tmax (hr)	Cmax ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	T _{1/2} (hr)	ラグタイム (hr)	AUC ₀₋₂₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)
A	2.9	9.5	10.0	0.55	118.8	9.6	10.8	7.2	0.91	162.1
B	4.1	6.7	17.0	0.89	98.7	6.4	7.1	24.0	2.89	99.2
C	4.2	7.1	9.0	0.82	89.5	5.1	8.1	24.3	1.94	114.8
D	4.0	4.7	6.3	0.88	50.5	3.5	6.5	14.1	2.96	74.2
E	3.4	7.4	8.0	0.89	89.1	5.6	5.3	22.2	2.94	71.2
F	1.6	9.1	13.2	0.96	113.7	4.3	8.6	9.1	1.97	106.6
G	3.7	6.5	11.1	0.76	87.3	4.9	6.6	15.7	2.87	86.4
H	1.9	4.1	5.7	0.00	40.3	参加せず				
mean(n=7)	3.4	7.3	10.7	0.82	92.5	5.6	7.6	16.7	2.35	102.1
S.D.	0.9	1.6	3.6	0.14	22.3	2.0	1.8	7.0	0.78	31.0
インタビューフォーム の値(mean)	3.5	5.5	2.7	記載なし	56.5	5.6	7.6	3.0	記載なし	97.0
S.D.	0.9	2.0	0.6	記載なし	27.8	1.4	1.6	0.6	記載なし	33.0

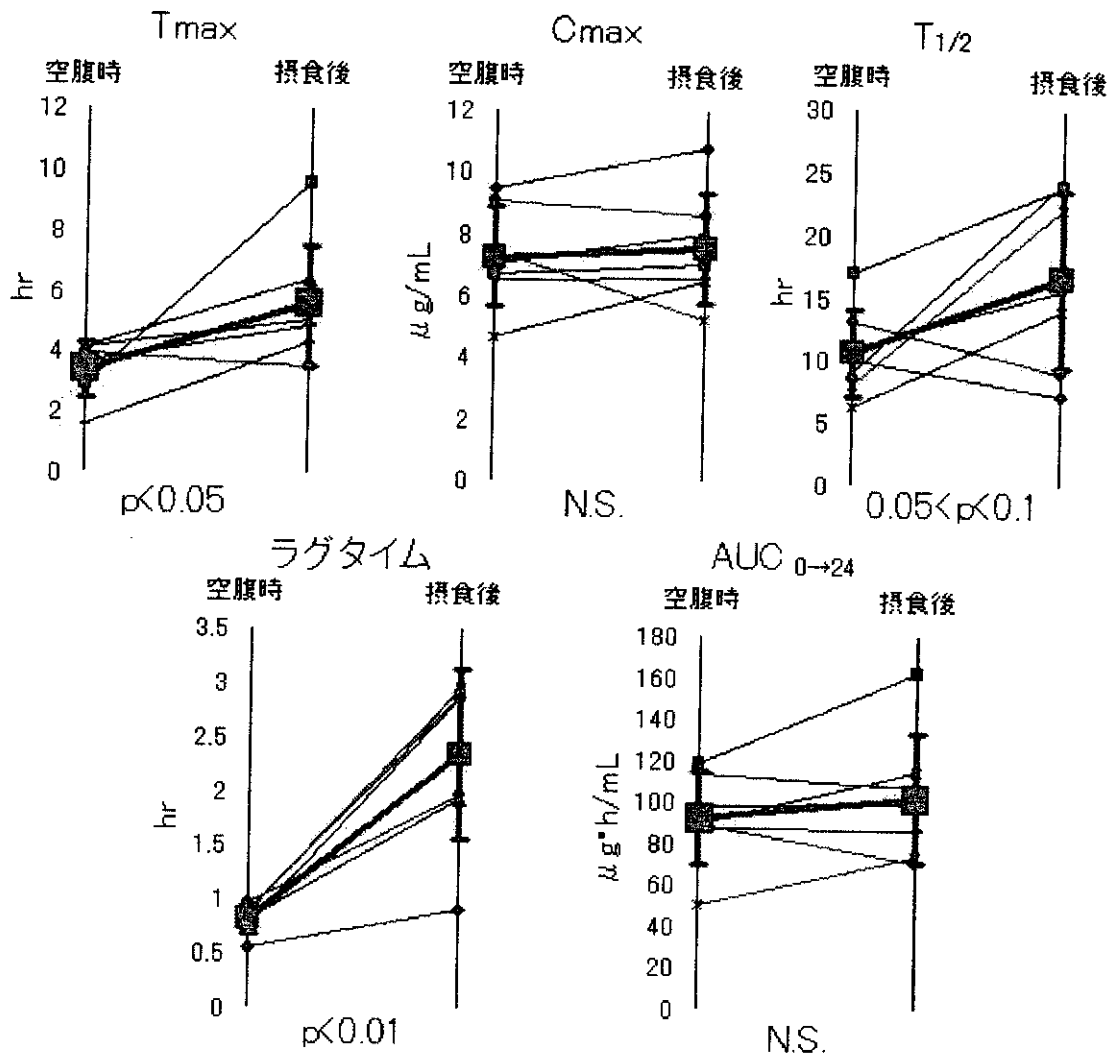


図4. 摂食によるLPV各種パラメータの変化

太いラインが平均値