

添付資料 図表

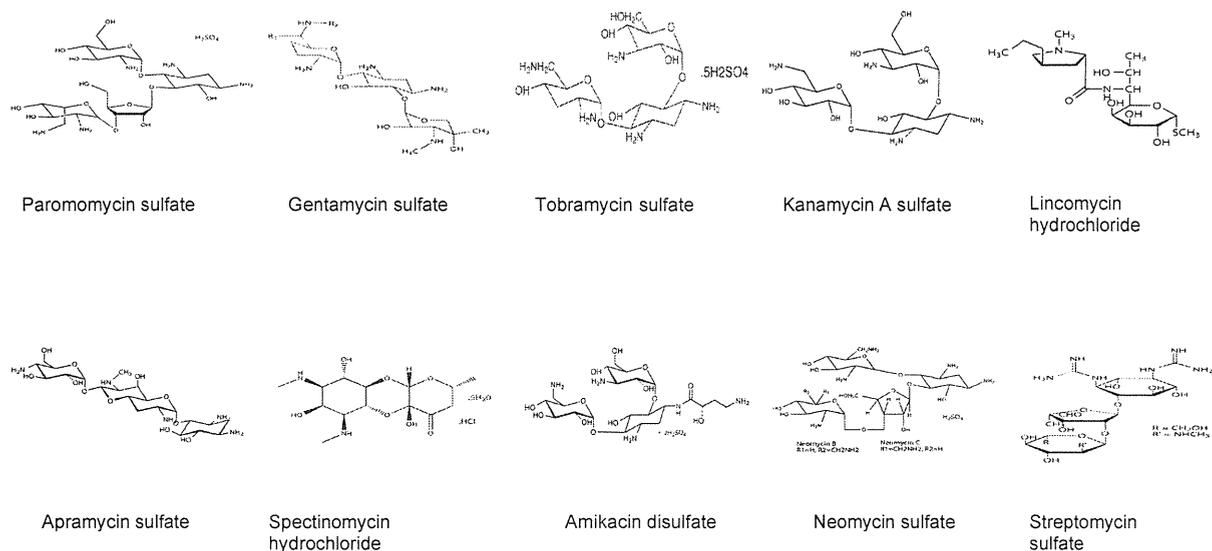


図1 アミノグリコシドの化学構造

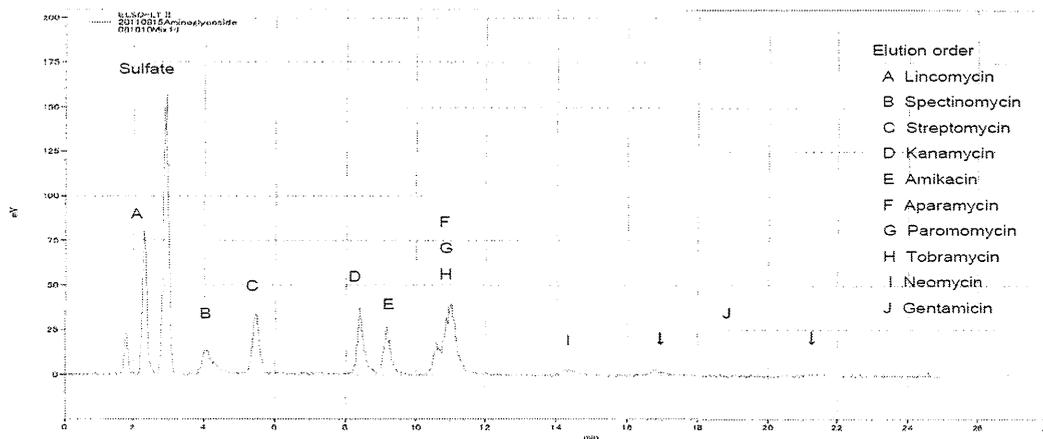


図2 Atlantis HILIC (50 mm x 4.6 mm I.D., 3µm particle size) のクロマトグラム

Mobile phase: A: Acetonitrile

B: 1% formic acid + 150 mM ammonium acetate

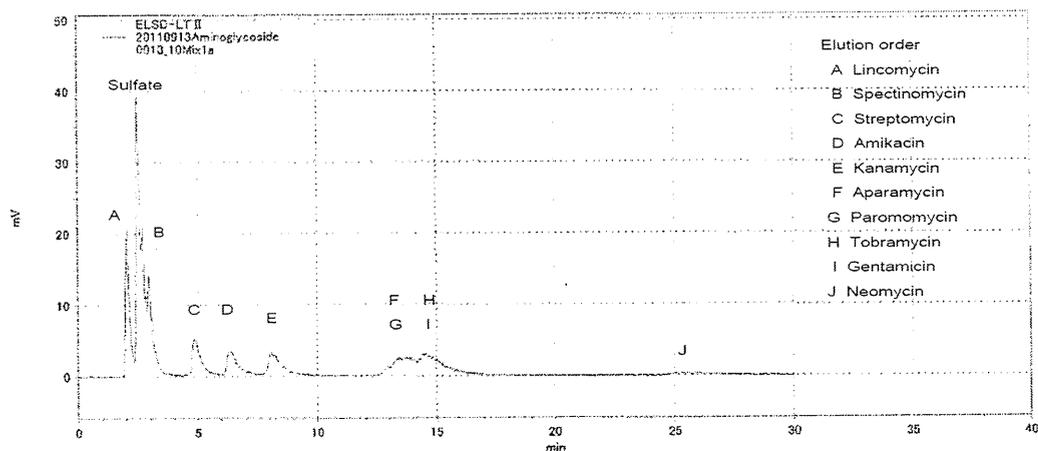
Gradient condition:

35% (0 min) → 40% (0.5 min) → 40% (20 min) → 35% (22 min) →

35% (25 min)

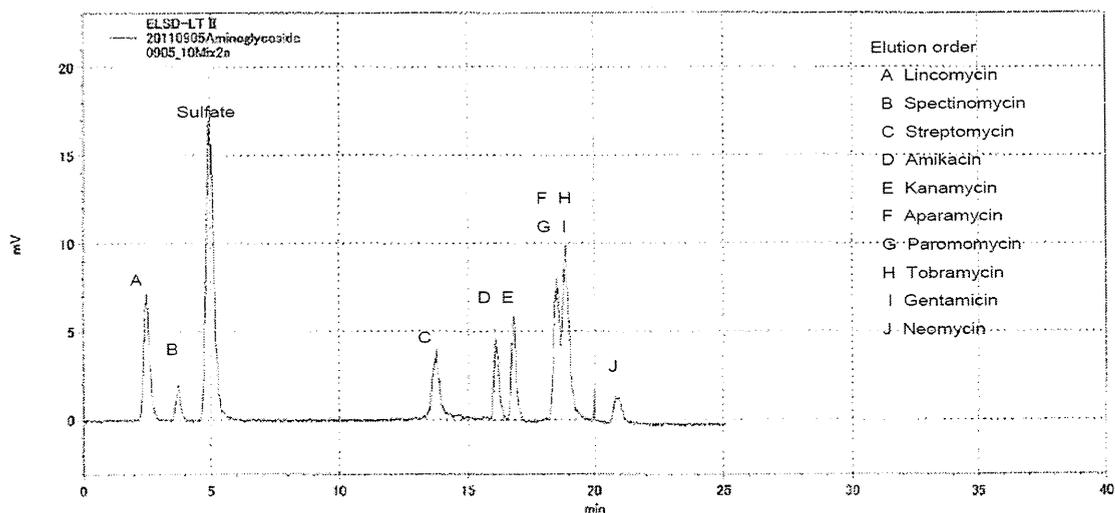
Flow rate: 0.5 mL/min

Column Oven: 40 °C



☒ 3 ZIC-HILIC (150 x 4.6 mm I.D., 3.5µm particle size) のクロマトグラム

Mobile phase: Acetonitrile/1% formic acid + 150 mM ammonium acetate (35/65, v/v)
Flow rate: 0.8 mL/min
Column Oven: 40 °C



☒ 4 Atlantis HILIC (50 mm x 2.1 mm I.D., 3µm particle size) のクロマトグラム

Mobile phase: A: Acetonitrile
B: 1% formic acid + 150 mM ammonium acetate
Gradient condition:
35% (0 min) → 45% (0.5 min) → 95% (1.0 min) → 95% (15 min) →
80% (15.5 min) → 35% (20.5 min) → 35% (30 min)
Flow rate: 0.2 mL/min
Column Oven: 40 °C

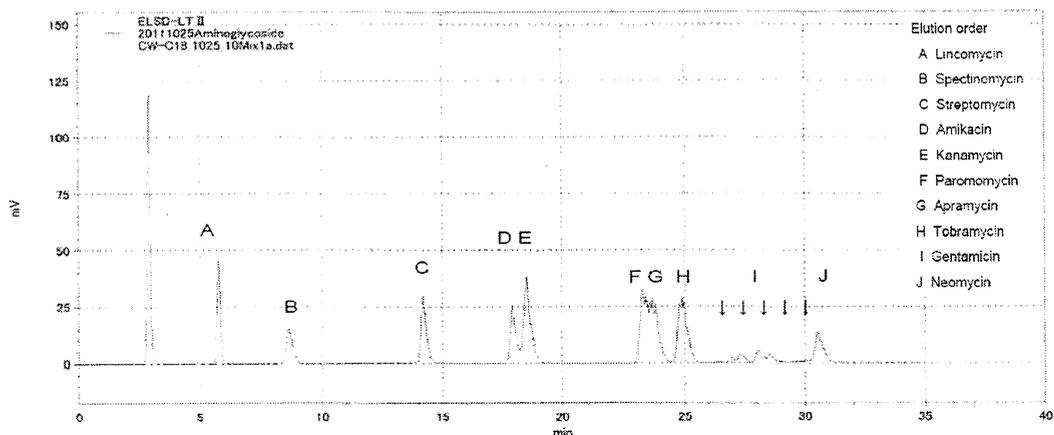


図 5 Cadenza CW-C₁₈ (250 mm x 3 mm I.D., 3 μm particle size) のクロマトグラム

Ion-pair reagent: PFFA-8 (Pentadecafluorooctanoic acid)

Mobile phase: A: Acetonitrile

B: 5 mM PFFA-8 (aqueous solution)

Gradient condition:

60 % (0 min) → 54 % (3 min) → 43 % (27 min) → 60 % (30 min)

Flow rate: 0.4 mL/min

Column Oven: 40 °C

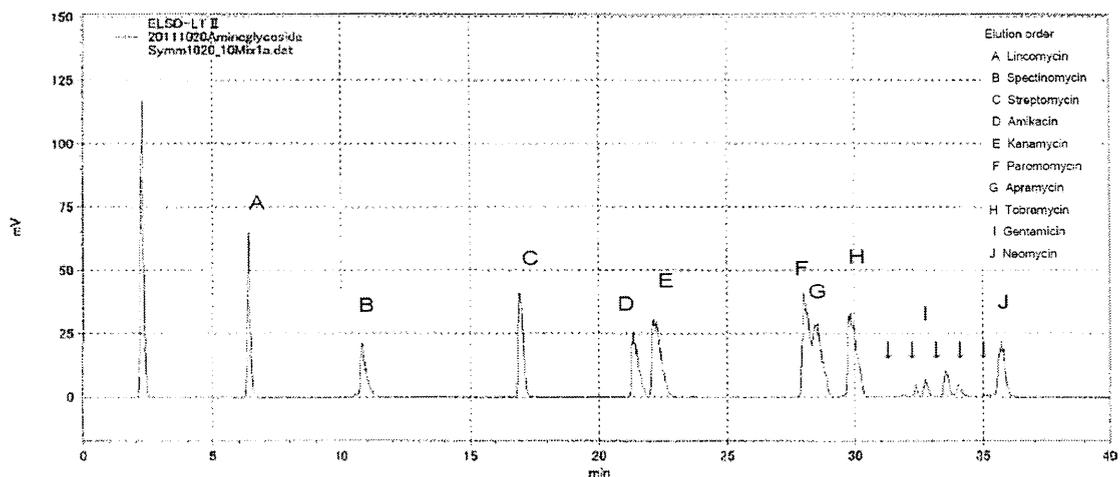


図 6 Cadenza CL-C₁₈ (250 mm x 3 mm I.D., 3 μm particle size) のクロマトグラム

Ion-pair reagent: PFFA-8 (Pentadecafluorooctanoic acid)

Mobile phase: A: Acetonitrile

B: 5 mM PFFA-8 (aqueous solution)

Gradient condition:

60 % (0 min) → 54 % (3 min) → 43 % (27 min) → 60 % (30 min)

Flow rate: 0.4 mL/min

Column Oven: 40 °C

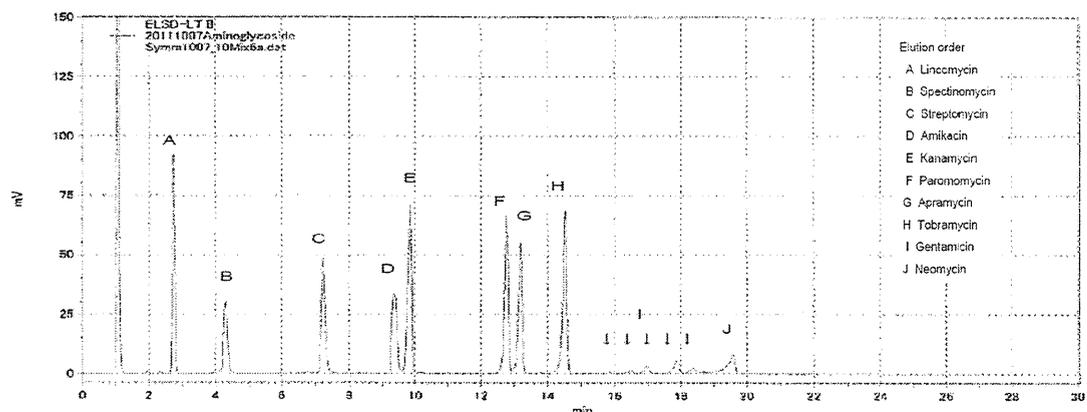


図7 Symmetry C₁₈ (150 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm particle size) のクロマトグラム

Ion-pair reagent: PFFA-8 (Pentadecafluorooctanoic acid)

Mobile phase: A: Acetonitrile

B: 5 mM PFFA-8 (aqueous solution)

Gradient condition:

60 % (0 min) → 54% (3 min) → 43 % (27 min) → 60 % (30 min)

Flow rate: 1 mL/min

Column Oven: 40 °C

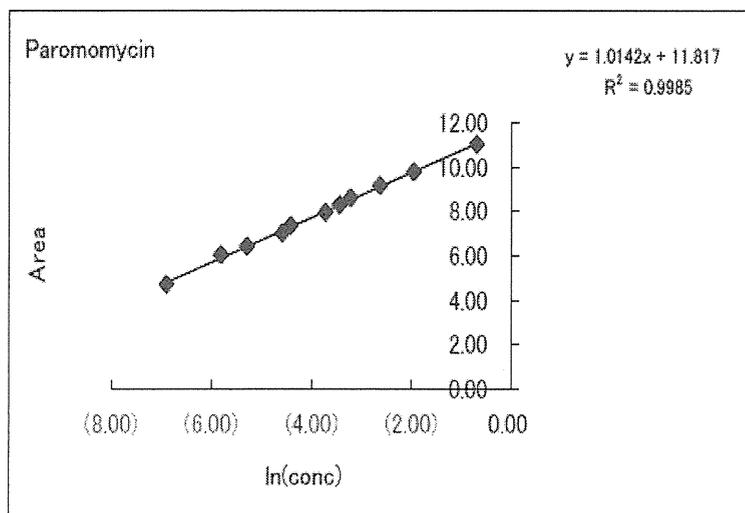


図8 パロモマイシン標準溶液から得たln(濃度) - ln(ピーク面積)の相関

表1 アミノグリコシド類の定量性

Aminoglycoside	Linear range (mg/mL)	Slope a	Intercept b	r ²	LLOQ (μg/mL)	LOD (μg/mL)	RSD ^a (%)
① Paromomycin	0.001 - 0.5	1.014	11.817	0.9985	2.067	1.271	0.21
② Apramycin	0.005 - 1.0	0.974	12.324	0.9987	2.013	1.260	0.33
③ Lincomycin	0.004 - 1.0	1.061	13.606	0.9981	2.152	1.288	0.42
④ Streptomycin	0.004 - 1.0	0.981	13.408	0.9992	1.516	1.147	0.34
⑤ Kanamycin	0.004 - 1.0	0.933	13.942	0.9986	1.934	1.243	0.15
⑥ Spectinomycin	0.019 - 1.67	0.994	11.101	0.9994	1.532	1.151	0.20
⑦ Amikacin	0.012 - 1.67	0.982	11.657	0.9987	1.859	1.227	0.16
⑧ Tobramycin	0.019 - 1.67	1.013	11.954	0.9994	1.456	1.132	0.31
⑨ Neomycin	0.031 - 1.0	1.011	13.001	0.9997	1.060	1.200	0.02

^a 繰り返しデータ (n = 5) の再現性

50 μg/mL (アプラマイシン)、31 μg/mL (ネオマイシン)、28 μg/mL (カナマイシン、トブラマイシン)、
24 μg/mL (パロモマイシン)、22 μg/mL (リンコマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン、アミカシン)
Linearity, Lower Quantitation Limit (LLOQ), Detectability (LOD), Repeatability (RSD)

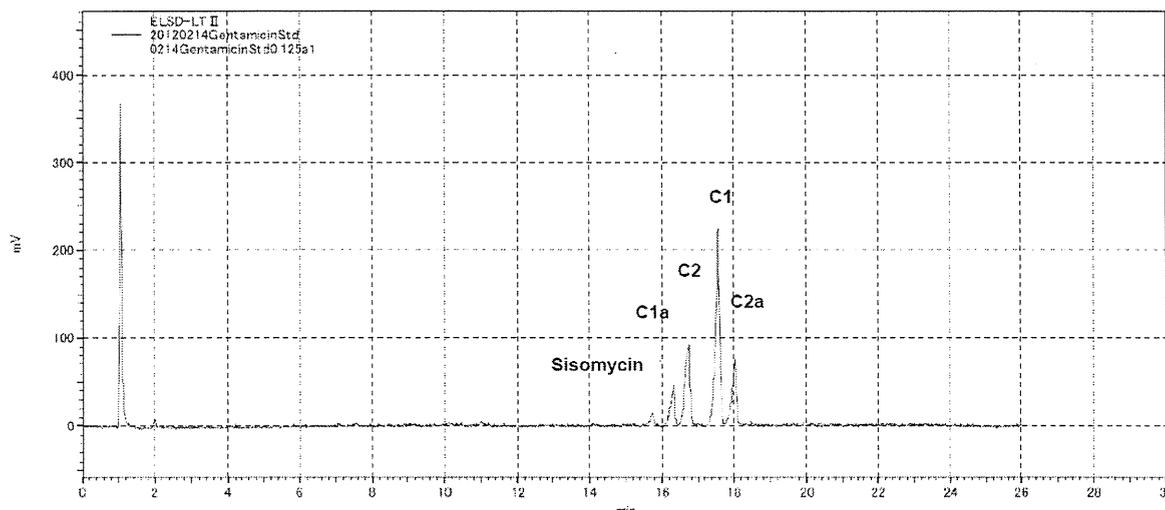


図9 ゲンタマイシンのクロマトグラム

Column: Symmetry C18 (150 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm particle size)

Ion-pair reagent: PFFA-8 (Pentadecafluorooctanoic acid)

Mobile phase: A: Acetonitrile

B: 5 mM PFFA-8 (aqueous solution)

Gradient condition:

60 % (0 min) → 54% (3 min) → 43 % (27 min) → 60 % (30 min)

Flow rate: 1 mL/min

Column Oven: 40 °C

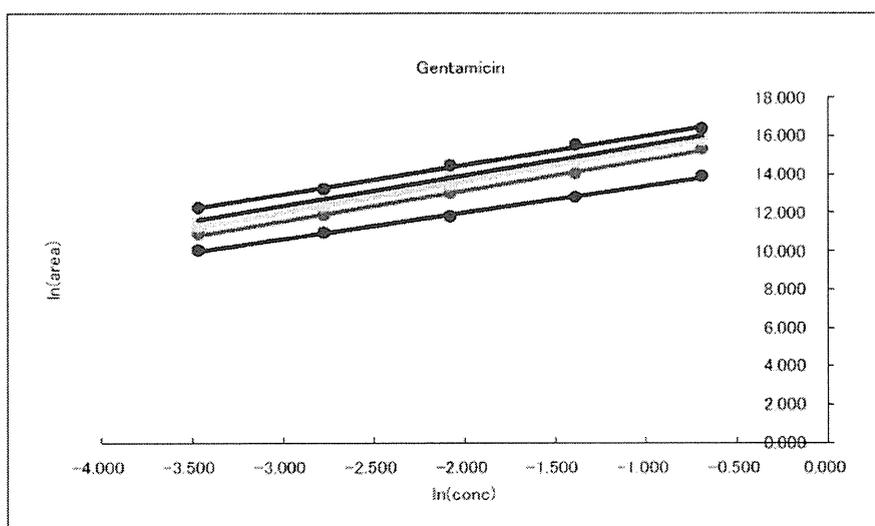


図 10 ゲンタマイシン5成分のln(濃度) - ln(ピーク面積)の相関

外国旅行記録とその成果について

所属先 国立医薬品食品衛生研究所
薬品部
研究者 坂本 知昭

1. 渡航目的

本研究における研究成果の一部を、分析化学及び応用分光学に関するピッツバーグ国際会議にて発表し、参加者らと議論を行う。

2. 旅行日程

日程	出発地	到着地	訪問先
3/12	成田	シカゴ	
3/12	シカゴ	オーランド	
3/12 ～ 3/15			Orange County Convention Center (オレンジカウンティコンベンションセンター)
3/16	オーランド	シカゴ	
3/16	オーランド	機中泊	
3/17	機中泊	成田	

3. 成果

現在までの研究成果をThe Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy (分析化学・応用分光学に関するピッツバーグ国際会議) で発表して参加者と議論を行うとともに、本研究に関連が深い他の参加者の発表を聴講し今後の研究の方向付けのための議論を行った。

分析化学及び応用分光学に関するピッツバーグ国際会議2012発表要旨

Simultaneous determination of aminoglycosides using high-performance liquid chromatography equipped with ELSD

Tomoaki Sakamoto, Hidetoshi Watanabe, Noriko Katori, Haruhiro Okuda

National Institute of Health Sciences

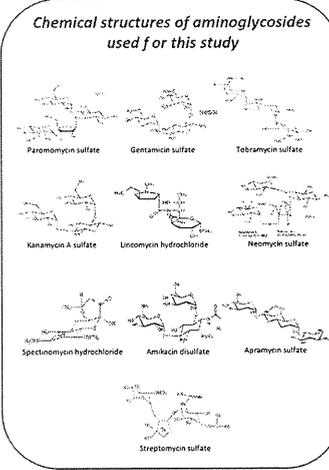
Simultaneous detection methods of 9 kinds of aminoglycosides (lincomycin, spectinomycin, streptomycin, kanamycin, amikacin, paromomycin, tobramycin, apramycin, and gentamicin) by HPLC equipped with ELSD were developed. Two types of stationary phases, HILIC (Atlantis HILIC, 50 mm x 4.6 mm I.D., 3 µm particle size, Waters Co./USA) and ODS (Cadenza CW-C18 and Cadenza CL-C18, 250 mm x 3 mm I.D., 3 µm particle size, Imtakt Co./Japan) were selected for separation. Two solution systems for gradient condition, acetonitrile - 1% of formic acid in 150mM ammonium acetate, and 5mM HFBA/acetonitrile - 5mM HMBA/water, were used as mobile phases for HILIC and ODSs, respectively. The flow rate was set at 0.4 ml/min or 0.5 ml/min. In the case of the HILIC column, aminoglycoside peaks were detected from 4 min (lincomycin) to 14 min (gentamicin). Seven kinds of aminoglycoside peaks were detected separately. The order of detection was lincomycin, spectinomycin, streptomycin, kanamycin, amikacin, paromomycin (or tobramycin, apramycin) and gentamicin. Meanwhile, the CL-C18 column provided enough separation condition among 6 kinds of aminoglycosides. The order of detection using CL-C18 column was spectinomycin, lincomycin (or streptomycin), amikacin, kanamycin, paromomycin (or tobramycin, apramycin) and gentamicin. Alternatively, 6 kinds of aminoglycosides were eluted within 13 min using CW-C18 column. Lincomycin and streptomycin or paromomycin, apramycin and tobramycin were eluted at same retention time, respectively. Also, separation between amikacin and kanamycin was not enough. However, 4 peaks of gentamicin which is a mixture of 5 components (gentamicin C1, C1a, C2, C2a and C2b) were eluted separately by CW-C18 column.



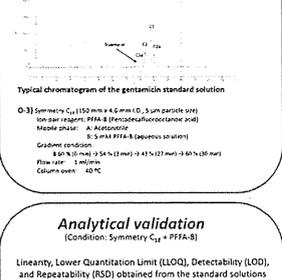
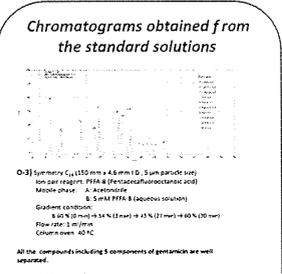
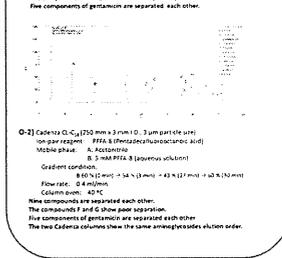
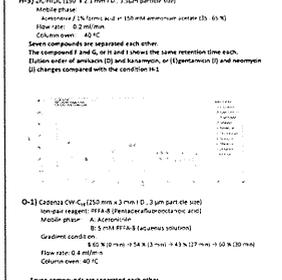
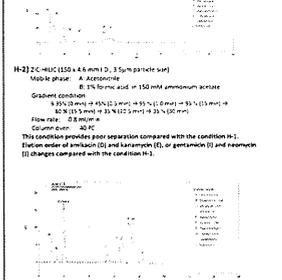
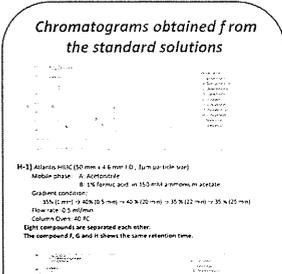
Simultaneous determination of aminoglycosides using high-performance liquid chromatography equipped with ELSD

Tomoaki Sakamoto, Hidetoshi Watanabe, Noriko Katori, Haruhiro Okuda
Division of Drugs, National Institute of Health Sciences, Tokyo 158-8501, Japan

Introduction
Aminoglycosides antibiotics have no functional group which has UV absorption in their chemical structures. Therefore, HPLC-UV with a pre-column derivatization or a mass spectroscopy was usually selected for a qualitative and/or quantitative analysis. In this study, combination of HPLC equipped with an evaporative light-scattering detector (ELSD) which can detect compounds which have no UV absorption, was selected, and 2 separation ways (HILIC, and ODS columns with ion-pair reagents) were examined to develop a simultaneous detection of 10 aminoglycosides.



Instrument and HPLC separation
HPLC: Shimadzu Class VP-10 HPLC system
Detector: Evaporative light-scattering detector
ELSD-LT II (Shimadzu)(Pressure: 350 kPa, Temp.: 55 °C)
Employed analytical columns
HILIC column
H-1) Atlantis HILIC (50 x 4.6 mm, 3 µm, Waters)
H-2) SeQuant ZIC-HILIC (150 x 4.6 mm, 3.5 µm, Merck)
H-3) SeQuant ZIC-HILIC (150 x 2.1 mm, 3.5 µm, Merck)
ODS column with acidic ion-pair reagents
TFA: Trifluoroacetic acid
HFBA: Heptafluorobutyric acid
PFFA-6: Undecafluorohexanoic Acid
PFFA-8: Pentadecafluorooctanoic Acid
O-1) CADENZA CW-C18 (250 x 3 mm, 3 µm, Imtakt)
O-2) CADENZA CL-C18 (250 x 3 mm, 3 µm, Imtakt)
O-3) Symmetry C18 (150 x 4.6 mm, 5 µm, Waters)

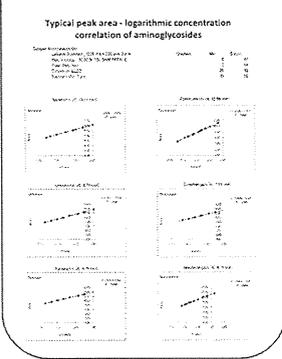


Analytical validation
(Condition: Symmetry C18 + PFFA-8)

Linearity, Lower Quantitation Limit (LOQ), Detectability (LOD), and Reproducibility (RSD) obtained from the standard solutions

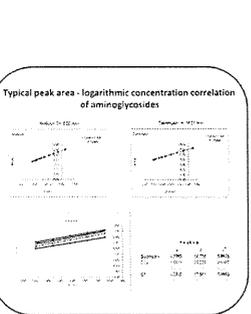
Aminoglycoside	Lower limit (µg/ml)	Upper limit (µg/ml)	Recovery (%)	LOQ (µg/ml)	LOD (µg/ml)	RSD (%)
① Kanamycin	0.005-1.0	0.974	10.374	0.002	0.013	0.33
② Neomycin	0.005-0.5	0.514	11.813	0.002	0.011	0.21
③ Spectinomycin	0.004-1.0	1.061	15.504	0.001	0.009	0.42
④ Streptomycin	0.004-1.0	0.981	13.458	0.002	0.010	0.36
⑤ Apramycin	0.004-1.0	0.981	13.458	0.002	0.010	0.36
⑥ Spectinomycin	0.019-1.7	0.954	11.551	0.004	0.032	0.20
⑦ Amikacin	0.012-1.7	0.981	13.605	0.002	0.010	0.18
⑧ Tobramycin	0.019-1.7	1.513	11.954	0.004	0.032	0.15
⑨ Neomycin	0.021-1.0	1.011	13.501	0.002	0.010	0.22

* n=5 at 50 µg/ml of amikacin, 11 µg/ml of neomycin, 11 µg/ml of spectinomycin, 12 µg/ml of streptomycin, 10 µg/ml of gentamicin, and amikacin.



Conclusions

- Simultaneous detection of 10 aminoglycosides was developed by combination of Symmetry C18 column and a mobile phase which contains an ion-pair reagent (pentadecafluorooctanoic acid).
- Separation of five components of gentamicin was successfully achieved using Symmetry C18 and Cadenza CL-C18 columns with gradient ion-pair HPLC separation.
- Seven aminoglycosides can be separated by an isocratic HPLC-ELSD analysis using ZIC-HILIC column (150 mm column length).



Analysis of commercial products

Injections: Amikacin, Gentamicin
Preparation: diluted with H₂O
Capsules: Kanamycin
Preparation: 9 equal 150 mg/100mL H₂O filtered for 30 min and filtered (0.2 µm pore size)
Cream: Gentamicin
Preparation: 9 equal 1.0 mg + CHCl₃ (10 ml) extracted with H₂O (5 ml) x 2
Injection volume for all sample solutions was set at 20 µl.

Assay results

Current found (µg/ml)	Recovery range (%) against the label amount (mean, %)
Amikacin Injection (Sample solution: 25 µg/ml)	
A	28.8 ± 0.4 109 - 116
B	30.7 ± 0.5 110 - 122
C	28.3 ± 0.5 113 - 124
Kanamycin Capsule (Sample solution: 250 µg/ml)	
D	298.3 ± 7.6 114 - 122
Gentamicin Injection (Sample solution: 20 µg/ml as C1)	
E	C1 48.84
F	C1a 21.93
G	C1 19.69
H	C2a 11.93
Gentamicin Cream (Sample solution: 25 µg/ml as C1)	
F	C1 42.72
G	C1a 21.52
H	C2 27.75
I	C2a 11.09

日本薬学会第132年会発表要旨

HPLC-蒸発光散乱検出器を用いたアミドグリコシド系抗生物質の一斉分析

坂本知昭、渡邊英俊、香取典子、奥田晴宏（国立医薬品食品衛生研究所）

【諸言】アミドグリコシドは UV 吸収がなく、誘導体化による LC-UV 検出又は質量分析による方法が一般に採用されることが多い。本研究では UV 吸収がない化合物でも検出可能な蒸発光散乱検出器に着目し、親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)カラム及びイオンペア試薬法による 3 種類の ODS カラムを用いた 10 種類のアミドグリコシドの HPLC 一斉分析法を開発したので報告する。

【実験】分離は HILIC カラム (Atlantis HILIC, 50 mm x 4.6 mm I.D., 3 µm particle size, Waters Co., USA) 及び ODS カラム (Cadenza CW-C18 及び Cadenza CL-C18, 250 mm x 3 mm I.D., 3 µm particle size, Imtakt Co., Japan、並びに Symmetry C18, 150 mm x 4.6 mm I.D., 5µm particle size, Waters Co., USA) で行い、前者のカラムには acetonitrile・1% of formic acid in 150mM ammonium acetate を、後者には methanol あるいは acetonitrile とアルキル鎖の長さが異なる 4 種類のイオン対試薬を含む水溶液を移動相としたグラジェントモードを採用した。流速はそれぞれ 0.4 ml/min (HILIC カラム)、0.5 ml/min または 1.0 ml/min (ODS カラム) に設定した。

【結果及び考察】HILIC カラムでは約 14 分以内に溶出し、7 種類のアミドグリコシドが分離可能であった。ODS カラムでは用いるイオン対試薬のアルキル鎖が長くなるほど分離が良くなり、アルキル鎖の一番長い PFFA-8 を用いることにより CW-C18 及び CL-C18 カラムでは 9 種類のアミドグリコシドが分離可能であり、Symmetry-C18 カラムでは約 22 分で 10 種類の分離に成功した。

【謝辞】本研究は厚生労働科学研究費補助金創薬基盤推進研究事業 (H22-政策創薬-一般-003) の一部として行ったものである。

熱帯病流行地における治療薬使用状況と問題点

研究分担者 大前比呂思 国立感染症研究所・寄生動物部 室長

研究要旨 プラジカンテルは、住血吸虫症をはじめとする寄生蠕虫症の治療に、世界的に広く使われているが、最近、感受性低下の疑われる住血吸虫株の存在が、アフリカを中心に幾つかの国で報告されている。そこで、昨年に引き続き、プラジカンテル集団治療の効果減少が疑われるカンボジアのメコン住血吸虫症有病地で、プラジカンテルや他の抗寄生蠕虫薬の治療効果について検討した。毎年3～5月に行われるプラジカンテル集団治療（投与量 40mg/kg での1回投与）後も、メコン住血吸虫卵が陽性を示した3例について、再治療（1日投与量 40mg/kg での2回投与）を行ったところ、3例とも虫卵陰性となった。また、調査時期に採取された感染媒介貝から得られたメコン住血吸虫セルカリアをマウスに感染して得た成虫を用い、*in vitro* 検査によるプラジカンテル耐性の検証を行った結果は、マンソン住血吸虫（プエル・トリコ株）や日本住血吸虫（山梨株）と比して違いはなかった。また、メベンダゾール集団治療（投与量 500mg での1回投与）後に、鉤虫卵陽性だった72人と鞭虫卵陽性だった3名について、アルベンダゾールによる再治療（投与量 400mg での1回投与）を行ったところ、全例で虫卵陰性となった。現在、カンボジアにおけるプラジカンテルやベンズイミダゾール系薬剤に耐性ないし抵抗性の寄生蠕虫株の存在は否定的で、少なくとも、これらの抗寄生蠕虫薬の臨床的有用性に制限を加えるようなものではないと思われた。

A 研究目的

WHO の Essential Drug List にも記載されているプラジカンテルは、吸虫のみならず消化管に寄生する条虫にも効果がある。また、副作用が問題となることも少なく乳幼児への投薬にも制限が少ないので、住血吸虫症対策を中心に、流行地の住民を対象にした集団治療に広く使われてきた。集団治療の場合は、内服法の容易さから 40mg/kg の1回内服法が選択されることが多いが、最近、この標準的なプラジカンテル治療を行っても、完全に治療できない例があることが指摘されるようになった。昨年は、用量 40mg/kg の1回内服での治療を基本としており、近年プラジカンテル

による集団治療の効果が、低下する傾向が指摘されているカンボジアのメコン住血吸虫症に対し、総投与量を 1.5 倍に増やした分割投与方法であれば、確実な駆虫効果が得られることがわかった。そこで、本年度は、総用量が同量での分割投与方法について、その効果を検討するとともに、感染媒介貝から得られたメコン住血吸虫成虫に対する *in vitro* 薬剤耐性検査を試みて、マンソン住血吸虫や日本住血吸虫の標準株と比較し、同地域におけるプラジカンテル耐性株蔓延の可能性について検討した。また、鉤虫や鞭虫といった消化管寄生線虫に対するメベンダゾール集団治療（用量 500mg での1回投与）の効果についても、糞便

中の虫卵検査で検証し、ベンズイミダゾール系薬剤による集団治療に対する線虫の感受性についても検討した。

B 研究方法

2011年3～5月にかけて、カンボジア王国、クラチエ省のメコン住血吸虫症の浸淫地で、全住民を対象とした寄生蠕虫症対策とした、プラジカンテル（用量40mg/kgの1回投与）とメベンダゾール（用量500mgの1回投与）による集団治療が行われた。その効果判定のため、集団治療が行われた地域の6つの小学校で、治療後4～6週間で、計751人の児童を対象としたKato-katz法（3日間連続）による糞便検査を行った。その検査で陽性を示した例に対して、集団治療時の他の薬剤の服用状況について確認するとともに、総量40mg/kg/日で2分割投与とする方法でのプラジカンテル再投与、もしくは、400mgの1回投与法でのアルベンダゾール投与を行った。そして、やはり4～6週間後に、治療効果の判定をKato-katz法（3日間連続）にて行った。

さらに、同地域で同時期に採取したメコン住血吸虫感染 *Neotricula aperuta* からの遊出で得られたセルカリアを、マウスに経皮感染させ、8週間後にメコン住血吸虫成虫を得た。このメコン住血吸虫雄成虫を5ずつ、8µg/mlもしくは80µg/mlの濃度に調整したプラジカンテル注射液（ドロンシット注射液）中に3時間浸した。同じように、 Manson 住血吸虫（プエル・トリコ株）や日本住血吸虫（山梨株）もプラジカンテル溶液中に浸し、24時間後に運動能と虫体の損傷を肉眼及び実態顕微鏡で確認して比較した。

なお、臨床研究は、全てカンボジア王国保健省が行う寄生蠕虫症対策事業の一環として行われ、被検者の健康増進に利するよう検査結果を個別

に伝えると同時に、検査結果の研究への利用については、保護者より書面での同意を得た。

C 結果

751人のうち、プラジカンテル投与（用量40mg/kgの1回投与）後も、各々3人、4人の児童からメコン住血吸虫とタイ肝吸虫の虫卵が検出された。また、メベンダゾール500mgを1回投与したにも関わらず、3人から鞭虫卵が、63人から鉤虫卵が検出された（表1）。

メコン住血吸虫とタイ肝吸虫については、同一村落で複数の感染者が見つかったが、別の児童が感染しており、特に感染者が同一人物に集積する傾向はみられなかった。最も感染者が多かった鉤虫卵の陽性者についても、メコン住血吸虫、タイ肝吸虫など他の寄生吸虫卵検査で陽性を示した例はなかった（表2）。一方、鞭虫卵の陽性者は、鉤虫卵の陽性者で3人みられた。

また、プラジカンテル再投与（用量40mg/kg/日で2分割投与）後の検査では、メコン住血吸虫卵、タイ肝吸虫卵とも陰性であった。さらに、アルベンダゾール400mg1回を投与した例でも、2週間の虫卵検査で全例陰性となった。

さらに、in vitro 検査でのプラジカンテル感受性のチェックでは、濃度8µg/mlの場合、 Manson・日本住血吸虫のみならず、対象となったメコン住血吸虫でも、雄成虫の運動能や表面構造に違いはみられなかった（表3）。一方、80µg/mlの濃度に調整したプラジカンテル注射液に浸すと、3種類の住血吸虫とも運動が静止し、表面構造が変化し、体長が著しく、短縮化したことがわかった。

D 考察

プラジカンテルは、日本国内ではビルトリシド

として市販されており、添付文書では、肝吸虫症と肺吸虫症で、総量 80mg/kg (1 回 20mg/kg を 1 日 2 回 2 日間)、横川吸虫症で、総量 20~40 mg/kg (1 回 20mg/kg を 1 日 1~2 回) による内服法が、適当な例としてあげられている。国内での感染例がない住血吸虫症は、保険適応疾患として記載されていないのが、国内で入手しやすい治療指針では、1 日に複数回の投与で、2 日以上での投与期間を推奨するものが多い。プラジカンテルによる治療効果の減弱は、1990 年代からアフリカのマンソン住血吸虫症でよく知られており、最近では中国の日本住血吸虫症でも疑われているが、いずれも 40mg/kg の用量で 1 回投与した例での報告である。カンボジアのメコン住血吸虫症有病地での調査では、プラジカンテルを 40mg/kg の用量とする集団治療後、メコン住血吸虫、タイ肝吸虫何例かで、糞便検査で虫卵が陽性となったが、プラジカンテルを総量 40mg/kg/日で 2 分割という内服法で再投与したところ、全例で治癒が確認された。日本では、従来から国際標準からすれば、やや多い量での複数回投与が推奨されているおり、現在使用されている指針で問題ないと思われる。

一方、国内では、鉤虫症には、ピランテル・パモエイト、鞭虫症にはメベンダゾールが保険適応となっているが、国際的には、消化管寄生線虫にはメベンダゾールやアルベンダゾールなど、ベンズイミダゾール系薬剤が第 1 選択となることが多い。集団治療後の検査でも、鉤虫卵が陽性となる例が多かったが、鉤虫への効果は、メベンダゾールよりも、アルベンダゾールの方が優れているとする報告もある。今回の調査結果をもって、メベンダゾールに対する耐性株の蔓延を疑うのは、早計であろう。また、ピランテル・パモエイトの効果は、鉤虫症では乏しいことは従来から指摘

されていることであり、日本国内において、鉤虫症治療の保険適応が、ピランテル・パモエイトだけに限られ、ベンズイミダゾール系薬剤が除かれているのは、妥当ではないと思われる。

E 結論

プラジカンテルに対する感受性低下は、メコン住血吸虫症では確認されず、日本国内で一般的となっている、プラジカンテルの投与量と投与方法であれば、アジアの住血吸虫症で、治療に失敗することは考えにくい。また、世界的に腸管寄生線虫の集団治療に第 1 選択となることが多いベンズイミダゾール系薬剤のうち、アルベンダゾールの効果の方が、メベンダゾールの効果にまさる可能性が示された。日本国内で、鉤虫症治療の保険適応のあるピランテル・パモエイトは、従来から治療失敗例の報告が多く、今後は、日本国内においても、ベンズイミダゾール系薬剤の適応が拡大されるべきである。

F 研究発表

1 誌上発表

A 書籍

大前比呂思 鞭虫症 243-244, 今日の治療指針 (2012 年版) 医学書院 2011 年 12 月 東京

B 論文

大前比呂思, 千種雄一, 桐木雅史, Muth Sinuon, Duong Socheat 住血吸虫症に対するプラジカンテル投与方法に関する考察 -1 回投与か分割複数回投与か- *Clinical Parasitology* 22 ; 54-58, 2011

2 学会発表

- Hiroshi Ohmae. Newly found endemic foci of Asian schistosomiasis, 11th Regional Network on Asian schistosomiasis, Shemuriap, Cambodia Oct. 2011.
- 大前比呂思. 人獣寄生虫症の病態・診断と対策, 第 153 回日本獣医学会シンポジウム, 東京, 2012 年 (3 月)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1 特許取得

なし
 1. 実用新案登録
 なし

2. その他
 なし

表 1 カンボジア クラチエ省のメコン住血吸虫症有病地における集団治療
 (プラジカンテル+メベンダゾール) 1ヶ月後の糞便検査 -2011年3~5月-

陽性者数 (%)

村落 学校名	検査検体数 被検者数	メコン 住血吸虫	タイ 肝吸虫	回虫	鞭虫	鉤虫
Rokakandal	104	0	0	0	0	10 (9.6)
Sambox	112	0	0	0	0	7 (6.3)
Sre Khoeun	88	2 (2.3)	2 (2.3)	0	0	8 (9.1)
Chartnol	120	0	0	0	0	9 (7.5)
Sambo	122	0	2(1.6)	0	2(1.6)	12 (9.8)
K. Krabei	96	0	0	0	1 (1.0.)	8 (13.2)
Achen	109	1 (0.9)	0	1(0.9)	0	9 (8.3)
合計	751	3 (0.4)	4 (0.5)	1(0.1)	3(0.4)	63 (8.4)

表 2 鉤虫卵陽性者における他の寄生蠕虫卵の検出状況

	鉤虫陽性例 (65例)	鉤虫陰性例 (686例)	合計 (751例)
メコン住血吸虫	0	3	3
タイ肝吸虫	0	4	4
鞭虫	0	3	3
回虫	0	1	1
寄生蠕虫卵 陰性例	65	675	740

表 3 プラジカンテル in vitro 薬剤耐性検査, 各群 5 でみられた変化, 数 (変化)

	プラジカンテル溶液 8 µg/ml		プラジカンテル溶液 80µg/ml	
	形態	運動能	形態	運動能
メコン住血吸虫 (カンボジア, クラチエ)	変化なし	1 (-)	5 (短縮)	5 (-)
マンソン住血吸虫 (プエル・トリコ株)	変化なし	2 (-)	5 (短縮)	5 (-)
日本住血吸虫 (山梨株)	変化なし	1 (-)	5 (短縮)	5 (-)

最新の治療情報の収集・解析と還元

研究分担者 加藤 康幸 国立国際医療研究センター国際医療支援室医長

研究要旨 本研究班の未承認薬情報について、研究班ホームページの内容を改訂した。また、本研究班のリン酸プリマキンについて、国立国際医療研究センター病院におけるマラリア症例（18例）を解析した。標準量（15 mg/日・14日間）と高用量（30 mg/日・14日間）を使用された症例数は同じ（9例）であった。標準量が使用された三日熱マラリア1例（推定感染地ブラジル）で再発を認めた。副作用はとくに認められなかった。プリマキン使用後に再発が報告されている地域が大洋州以外でも認められるため、三日熱マラリアでは推定感染地に関わらず、プリマキンの高用量の使用が推奨される。

A. 研究目的

本研究班が保管する薬剤は稀少疾患薬であり、薬剤使用機関においても、それぞれの薬剤については使用経験が少ないのが現状である。薬剤を初めて使用する際にも、必要十分な情報が担当医に伝わるよう、適切な薬剤情報を提供することが本研究班に求められている。

本研究班では、これまでホームページ、および寄生虫症薬物治療の手引き（3年毎に改訂）により、保管薬の情報を提供している。ホームページの薬剤情報は、更新の機会が少なく、充実、改訂が望まれていた。

今年度から追加された本分担研究では、最新の薬剤情報を収集し、ホームページを通じてこれらの情報を還元することを目的とした。また、国立国際医療研究センター病院などでの薬剤使用例の解析も併せて行うこととした。

B. 研究方法

研究班ホームページ薬剤情報の充実

ホームページ薬剤情報の充実にあたっては、次のような手順をふむこととした。

- ① 研究分担者・協力者（寄生虫学、熱帯医学、公衆衛生学で修士、博士号を有する内科医4名が中心）により、現行の内容を批判的に分

析（6月）

- ② 研究分担者・協力者が、文献検索、流行地調査などを行い、①で得られた結果を反映させるように新しい薬剤情報の原稿を作成（8月まで）
- ③ 研究分担者・協力者による会議で原稿内容を批判的に検討（9月）
- ④ 班会議（11月）で研究代表者・研究分担者・全国の薬剤使用機関責任者に、③をふまえて改訂した原稿を配布し、意見を収集
- ⑤ 原稿の最終版を作成し、研究代表者・研究分担者が査読（3月まで）

自験例の解析

1. リン酸プリマキン使用症例

2007年4月から2011年9月に、国立国際医療研究センター病院において、三日熱マラリアまたは卵形マラリアの根治療法として本研究班のリン酸プリマキン錠（Durbin PLC社）が使用された日本人患者について、診療録を用いて後方視的検討を行った。マラリアの診断は、末梢血塗抹標本の鏡検に加え、PCRが補完的に用いられた。

年齢、性別、体重、渡航先、原虫種、寄生原虫数、急性期治療薬、急性期治療終了からプリマキン開始までの期間、プリマキンの用量、G6PD活性、副作用、再発の有無について検討した。

2. 抗トキソプラズマ薬使用症例

2006年以降に診断されたトキソプラズマ症例について、多施設で、年齢、性別、体重、基礎疾患、免疫状態、診断法、治療薬、副作用を検討することとした。

C. 研究結果

研究班ホームページ薬剤情報の充実

別添の通り、使用頻度の比較的高い、プリマキン、抗トキソプラズマ薬（ピリメタミン、スルファジアジン）、静注用メトロニダゾールについて、改訂原稿を作成した。

自験例の解析

1. リン酸プリマキン使用症例

解析対象症例は18例で（男性14例、女性4例）、年齢は20から62歳、体重は46から86kgに分布した。三日熱マラリア13例、卵形マラリアが5例であった。渡航先は、インド、パプアニューギニア、ウガンダ、インドネシア、ブラジル、ガーナなどであった。急性期治療薬は、クロロキン、メフロキンが主に使用された（表1）。

表1. 成人日本人マラリア患者におけるプリマキン使用例の背景 (n=18)

性別	男/女	14/4
年齢（中央値）	25 (20-62)	
体重 (kg)	62.25 (46-86)	
推定感染地	インド	4
	パプアニューギニア、ウガンダ	3
	インドネシア、ブラジル、ガーナ	2
	マレーシア、仏領ギアナ	1
原虫種	<i>P. vivax</i>	13
	<i>P. ovale</i>	5
寄生原虫数 (μL)	7,315 (50-32,000)	
急性期治療薬	クロロキン	9
	メフロキン	7

	アーテメター・ルメファントリン合剤	1
	アトバコン・プログアニル合剤	1

急性期治療終了からプリマキン開始までの期間の中央値は2.5日で、急性期治療と同時に開始した症例から、薬剤の供給の問題から47日後に開始した症例まで見られた。プリマキン使用前に再発を来した症例はなかった。当初から高用量（30 mg/日・14日間）を選択した9例は、パプアニューギニア、インド、インドネシア、マレーシアで感染した症例であった。G6PD活性を測定した16例は全員が正常で、副作用を呈した症例は確認されなかった。6ヶ月以上の経過観察中、17例で再発を認めなかったが、標準量を用いたブラジル帰国後の1例で再発を認めた（表2）。

表2. 成人日本人マラリア患者におけるプリマキン使用例の治療内容 (n=18)

急性期治療終了からプリマキン開始までの日数（中央値）	2.5 (-2*-47)	
用量	30 mg/日	9
	15 mg/日	9
使用日数	14	18
G6PD 活性	検査を実施した16例ですべて正常範囲	
副反応	0	
再発	1	

* 2症例でクロロキンとプリマキンが同時に使用された。

2. 抗トキソプラズマ薬使用症例

防衛医科大学校病院、がん・感染症センター都立駒込病院、都立墨東病院において、倫理審査で承認されたため、13例の情報を解析中である。

D. 考察

研究班ホームページ薬剤情報の充実

現行のホームページにおける薬剤情報は、使用にあたり必要な用法、用量や副反応について簡潔にまとめられているものの、問題点として、次のようなものがあげられた。

- ・ 情報を提供する対象者が不明確
- ・ 情報の不足（とくに添付文書情報、本研究班の薬剤使用実績）
- ・ 図表の不足

今回の改訂では、実際に保管薬剤を使用する医師を対象とし、添付文書情報（和訳付き）と本邦における薬剤使用症例の論文リストも追加し、利用者の便宜を図ることとした。また、既存の承認薬がある疾患では、本研究班が保管薬剤を選択する場合のアルゴリズムなど、ホームページの特性である図表の活用を積極的に図るべきであると考えた。

自験例の解析

1. リン酸プリマキン使用症例

リン酸プリマキンは 8-アミノキノリン化合物で、ミトコンドリアの働きや DNA の結合を阻害することで、三日熱マラリアと卵形マラリアの休眠体を殺滅する。クロロキンなどによる急性期治療の後に、再発予防のための根治療法として用いる。副作用として、G6PD 欠損症患者における溶血発作や空腹時に内服した際の腹痛、高用量を用いた際の悪心と嘔吐、メトヘモグロビン血症などがある。

15 mg/日・14 日間が標準療法とされるが、東南アジアやパプアニューギニアなどの三日熱マラリアに対して標準量のプリマキンをを用いても再発を繰り返すことが多く、同地域で感染した三日熱マラリアに対して、再発率を減らすために高用量（30 mg/日・14 日間）のプリマキン投与が推奨されてきた。しかし、近年、同地域外からも標準療法後の再発例が報告され、英国健康危機管理庁（HPA）や米国疾病管理センター（CDC）は、全ての地域の三日熱マラリアに対して高用量を推奨している。

現在までに、インド、アフガニスタン、ブラジルなど世界中で、標準量のプリマキンを投与した後に再発する症例が報告されている。今回、我々

が経験したブラジルでの再発率は 6.5-14%と報告されている。再発率に影響する因子として、各地域における原虫株のプリマキン感受性の他に、原虫寄生率、患者体重などが指摘されている。

嘔気や腹痛といった消化器系の副作用は用量依存性とされ、消化器症状は食後内服により軽減し、30 mg/日までは忍容可能と考えられている。また、高用量でより重篤な溶血発作を引き起こしやすい G6PD 欠損症患者は、日本人では 0.1-0.5% と非常にまれであり、あっても軽症または中等症であることが知られている。実際に今回の自験例でも、これらの副作用を呈した患者は見られなかった。

しかしながら、我が国におけるプリマキンの使用経験についての報告は少なく、日本人における高用量のプリマキン使用例の報告も少ないことから、今後も症例を集積し、安全性を確認する必要がある。

E. 結論

研究班ホームページの治療情報の充実を図るため、内容の改訂を行った。

日本人におけるプリマキンの副作用は、高用量でもまれであると考えられた。我が国においても、三日熱マラリアの根治療法として、高用量のプリマキンが推奨されるべきである。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・ 加藤康幸. 新たに 4 類感染症に追加されたチクングニア熱. *Medical Technology* 2012;39:647-8.
- ・ 加藤康幸, 狩野繁之. 感染症サーベイランス-その役割と展望-それぞれの医療機関が果たす役割. *医療機関. 臨床と微生物* 2012;38:317-20.
- ・ MacDonald S, Kato Y, Wilder-Smith A. Eastern Asia:139-154. *Infectious diseases: a geographic guide*. Wiley, 2011.

2. 学会発表

- ・ 加藤康幸. 一類感染症への対応を視野に入れた輸入マラリアの臨床研究. 第 85 回日本感染症学会学術講演会, 東京, 2011 年(4 月)

- 水野泰孝, 加藤康幸, 竹下望, 氏家無限, 金川修造, 工藤宏一郎, 狩野繁之. 最近5年間の輸入マラリア50例の検討. 第85回日本感染症学会学術講演会, 東京, 2011年(4月)
- 小林泰一郎, 加藤康幸, 山内悠子, 氏家無限, 竹下望, 水野泰孝, 金川修造, 狩野繁之, 工藤宏一郎. リン酸プリマキンの日本人18例に対する使用経験-標準療法後に再発したブラジル帰国後の三日熱マラリアの1例を含めて-. 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会,

山形, 2011年(10月)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

保管薬剤情報（プリマキン）

1. 薬剤情報本文
2. 諸外国の承認状況
3. 添付文書（原本）
4. 添付文書（和訳）
5. 保管薬剤を使用した本邦の症例報告
6. 参考文献

1. 薬剤情報本文

リン酸プリマキン primaquine phosphate 錠（販売名 Primaquine）

〈作用機序〉

8-アミノキノリン化合物であり、ミトコンドリアの働きを阻害し、マラリア原虫の DNA と結合することで、肝臓内に寄生する形態時期の全てのマラリア原虫に対して治療効果があると考えられている。特に、三日熱マラリア、卵形マラリアで肝細胞に潜伏する休眠原虫（ヒプノゾイト）を殺滅して、再発予防を行う目的に使用される（根治療法薬）。また、熱帯熱マラリア原虫生殖母体を殺滅する。従来この薬剤は治療濃度域が狭く、毒性が問題とされてきた。しかし最近、マラリア予防薬として長期間使用されるようにもなり、毒性に関して見直されている。ただし、ここでは予防薬としては対象としない。

〈耐性〉

マラリア根治療法において、リン酸プリマキンに対する感受性の基準や耐性の定義は確立されていない。一方で古くから、南太平洋及び東南アジア地域ではプリマキン標準療法が不成功に終わり、高用量による治療で成功する例が多いことが知られている[1-3]。

〈薬物動態〉

プリマキンは内服後直ちに腸管から約 96%が吸収され、1-2 時間で血中濃度はピークとなる。半減期は 3-6 時間とされる[4-5]。組織移行性は良好であり、肝臓で速やかに代謝される。腎臓からの排泄率は約 1%とされる[6-8]。

〈適応〉

- 1) 三日熱マラリア、卵形マラリアで、クロロキンなどの急性期治療薬を用いて血中の原虫殺滅を行った後、再発予防の目的に用いる[9-13]。
- 2) 熱帯熱マラリアの治療で、無性原虫が消失した後も生殖母体が長期間残存し、貧血に関係しているか、流行地で感染源としての問題がある場合などに用いる[12-13]。
遺伝的赤血球 G6PD 欠損で、特に薬剤による溶血を起こしやすいタイプでは禁忌となる