

(様式4)

学位論文の内容の要旨

関崎 直人 印

(学位論文のタイトル)

Simple and rapid method for determination of abemaciclib in human serum
using supported liquid extraction pretreatment and LC-MS/MS analysis
(SLEおよびLC-MS/MSを用いた簡便かつ迅速なヒト血清中アベマシクリブ濃度測定系の確立)

(学位論文の要旨)

乳癌患者は年々増加の一途をたどり、本邦では年間10万人以上の初発患者が発生しているとされている。乳癌治療における薬物療法は実施のタイミングで目的が異なり、術前では腫瘍の縮小を目的に実施し、術後では癌の再発予防のために実施する。遠隔再発後は、薬物治療は生存期間の延長と QOL の維持・改善を目的に実施される。

アベマシクリブはサイクリン依存性キナーゼ (cyclin-dependent kinase: CDK) 4 および CDK6 に対する選択的阻害作用を有する経口投与可能な小分子化合物であり、ホルモン受容体陽性かつヒト上皮増殖因子受容体 2 型 (human epidermal growth factor receptor type2: HER2) 陰性の手術不能または再発乳癌に対する新しい作用機序の分子標的薬である。これまで、ホルモン受容体陽性かつ HER2 陰性の再発乳癌に対する初回治療は内分泌療法が基本であったが、CDK4/6 阻害薬の登場後は、再発乳癌に対する一次療法として CDK4/6 阻害薬と内分泌療法の併用療法が強く推奨されている。一方で、臨床試験では 75%以上の頻度で下痢が認められており、悪心や倦怠感などの副作用も比較的高頻度に認められている。骨髄抑制など一部の副作用については血液中アベマシクリブ濃度が大きく影響すると報告されているが、血液中アベマシクリブ濃度には大きな個人差があることが報告されている。このように、アベマシクリブを用いた治療においては、血液中アベマシクリブ濃度解析に基づく投与設計が有用であると考えられているが、これまでに臨床応用可能な血液中アベマシクリブの正確な分析方法は報告されていない。そこで、アベマシクリブの適切な投与設計法を検討するため、臨床検体を対象としたアベマシクリブの分析法を構築することとした。

血液試料には、タンパク質、脂質、塩類などが測定対象物質よりはるかに高濃度に存在する。このような試料中の混在物 (夾雑物) は成分分離や検出精度に影響を与えうることが知られており、臨床検体の分析においてはしばしば大きな影響を及ぼすことも知られている。特に質量分析計を用いた分析においては、夾雑物質が目的成分のイオン化効率に影響を及ぼす (マトリックス効果) ことで、定量分析に影響を与えることが知られており、臨床検体の分析において大きな問題となる。マトリックス効果を解消するためには、試料の精製を行う必要があり、その方法として、除タンパク法、液液抽出 (liquid-liquid extraction: LLE) 法、固相抽出 (solid phase extraction: SPE) 法など多様な方法が存在する。血液中薬物濃度を測定するための前処理として、LLE 法は広く使用されている方法であるが、試料を処理する際のエマルジョン生成がその後の抽出操作の妨害となっていた。近年、LLE 法に代わる新たな方法として、珪藻土カラムを使用した

保持型液液抽出 (supported liquid extraction: SLE) 法が開発され、各種血液中薬物濃度の測定に応用されている。SLE 法は LLE 法や SPE 法と比較するとエマルジョンが形成されにくく、また、少量の抽出溶媒による溶出が可能のため分析対象物質の損失リスクを減らすことができる。加えて、抽出に必要なプロセス数が少なく、作業者の習熟度の影響を受けにくいことから、臨床応用しやすい方法として注目されている。そこで本研究では、SLE 法を用いることで、迅速かつ簡便な分析法を構築することとした。

血清試料の前処理には ISOLUUTE SLE+ を使用し、メチルtert-ブチルエーテルを用い目的物を溶出した。測定機器には超高速液体クロマトグラフィーおよび四重極飛行時間型質量分析計 (quadrupole time-of-flight liquid chromatograph mass spectrometer: LC-QTOF MS) を用いた。イオン化法はESI (electrospray ionization) positive 法とした。分離カラムには ACQUITY UPLC BEH130 C18 を使用し、0.1%ギ酸溶液とアセトニトリルを用いたグラジエント分析を行った。

アベマシクリブ濃度が20、50、100、200、500および1,000 ng/mLの血清試料について、内部標準法により検量線を作成した結果、20–1,000 ng/mLの範囲で良好な直線性を示し、相関係数は0.999以上であった。6濃度 (20、50、100、200、500、1,000 ng/mL) に調整した血液サンプルを用い、日内および日間変動について検討した結果、真度および精度はそれぞれ -4.3–1.7%および 0.90–6.19%の範囲であり、良好な結果が得られた。また、本分析方法における回収率は $87.7 \pm 4.3\%$ であり、マトリックスファクターは、 1.00 ± 0.083 であった。

本研究により得られた結果はすべてバリデーションガイドライン規定を満たしたことから、本測定方法は、ヒト血清中アベマシクリブ濃度測定方法として臨床応用可能な初めての測定方法であることが示された。

本研究により確立された測定方法を応用し、薬物血中モニタリングの実施によるあるいは患者状態に合わせたアベマシクリブの投与量調整が可能となれば、乳癌患者のアベマシクリブによる治療と QOL の改善ならびに副作用の早期発見に大きく貢献できると考えられる。