

【目的】 薬物の使用により副作用が発現すると、治療の継続が困難になったり、後遺症が残ったり、死に至るケースがある。そのため医療従事者は、副作用の発現を最小限に抑えるため、患者状態、臨床検査値等をモニタリングし、副作用の早期発見に努める必要がある。しかし既存の臨床検査値では、組織障害が発現してから指標の数値が変動するまで、タイムラグがあり、副作用の早期発見に繋がらないケースがある。近年、疾患と蛋白質断片（ペプチド）の発現や濃度変動、または、アミノ酸の濃度変動との関係が検討され、疾患の biomarker として、ペプチドやアミノ酸が注目されている。これらのペプチドは、様々な疾患で特徴的に増減することから、疾患の有無や進行度の判断、治療効果の判定における biomarker として期待されている。しかし、薬物による副作用の判定に、ペプチドやアミノ酸を biomarker として検討されている研究はない。そこで、薬物の副作用の早期発見を目指して、既存の指標よりも迅速かつ正確な biomarker（ペプチド、アミノ酸）を探索することを目的として研究を実施する。薬物は、臨床での使用頻度、ならびに、副作用の発現頻度が高いアゾール系抗真菌薬による肝障害、アミノグリコシド系抗菌薬による腎障害、ダプトマイシンによる横紋筋融解症、ニューキノロン系抗菌薬による血糖異常をターゲットにペプチドの発現、濃度変動、アミノ酸の濃度変動を調査する。さらに、薬物の投与前のペプチドやアミノ酸濃度と副作用発現の関係を検討し、副作用発現のリスクファクターとなるペプチドやアミノ酸を同定する。また、薬物の副作用発現に関わるペプチドから蛋白質を同定し、副作用の発現機序ならびに副作用の発現を予防できる薬物の開発に繋がりたいと考えている。

【方法】 アミノ酸の測定は、蛍光誘導体化試薬である DBD-PyNCS を用いた検出方法を用いた。アミノ酸を DBD-PyNCS により誘導体化し、液体クロマトグラフ質量分析法 (LC-MS) による各アミノ酸の検出を行った。動物実験モデルとしては急性腎障害モデルラットを用いた。ラットに、アミノグリコシド系抗菌薬であるゲンタマイシンを 120 mg/kg で腹腔内投与し、急性腎障害モデルラットを作製した。モデル作製の指標には既存の臨床検査値として血清クレアチニン (sCr)、血中尿素窒素 (BUN) を用いた。薬物投与後、経時的に採血を行い、各種アミノ酸を LC-MS により測定した。既存の臨床検査値と各種アミノ酸の相関関係を確認し、biomarker の候補を探索するとともに既存の腎障害マーカーよりも早期から診断可能な biomarker について検討した。

【結果】 LC-MS を用いたアミノ酸の同時検出方法について検討した結果、高感度に検出が可能なアミノ酸はプロリン、メチオニン、フェニルアラニン、アラニン、グリシン、チロシンの 6 種類であった。次に薬剤性の副作用モデルとして、ゲンタマイシン誘発急性腎障害モデルラットを作製し、既存の腎障害マーカーである sCr、BUN との比較検討を行った。ラットにゲンタマイシンを 120 mg/kg で連日腹腔内投与した結果、sCr、BUN は投与 5 日目まではコントロール群と比較して差はみられないものの、8 日目において有意に上昇した。投与 8 日目において、既存の腎障害マーカーの上昇がみられたため、ゲンタマイシン投与 8 日目における血中アミノ酸濃度変動について検討した結果、グリシンについては control 群と比較して有意に上昇していることが確認された。そこで、これら既存の腎障害マーカーによる腎障害が認められない、ゲンタマイシン投与 3 日目以前における血中アミノ酸濃度変動について検討した結果、これらアミノ酸の変動は認められなかった。今後、さらに検出条件を検討し、他のアミノ酸変動について解析を行うとともに、ペプチドや他のアミノ酸関連代謝物の変動についても解析を進める予定である。

ゲンタマイシン誘発腎障害モデルラットにおけるアミノ酸変動

