

COVID-19 治療薬Remdesivirの分析法の開発

- 特殊な背景を持つ患者への適正使用へ向けて -

米澤 淳¹、井本 英志²、早川 禎宏²

¹ 京都大学大学院薬学研究科、医学部附属病院薬剤部

² 島津製作所



Pharmaceutical

■ 要旨

RemdesivirはCOVID-19の治療薬として、日本では2020年5月に特例承認された抗ウイルス薬です。しかし、全世界においても使用経験が乏しいため、特に、腎機能障害などの併存疾患等を持つ患者での薬物動態に関する情報は不足しています。今回、質量分析計を用いたCOVID-19治療薬Remdesivirの活性代謝物（GS-441524）の分析法を確立しました。様々な患者の血中濃度測定を実施して、母集団薬物動態解析を行い、腎機能に応じた投与量設計モデルを構築しました。必ずしも診療報酬上で薬物血中濃度モニタリングの対象となっていない医薬品においても、薬物血中濃度測定は特殊な背景を持つ患者の薬物治療に大きく貢献すると言えます。

1. はじめに

2022年2月時点で、日本のCOVID-19感染症患者の累計は400万人、死者数も2万人を超えました。3回目のワクチン接種がまだ進まず、オミクロン株による第6波が猛威を奮っています。RemdesivirはCOVID-19治療薬として日本では2020年5月に特例承認された抗ウイルス薬です。しかし、全世界においても使用経験が乏しいため、特に、腎機能障害などの併存疾患等を持つ患者での薬物動態に関する情報は不足しています。今回、質量分析計を用いた分析法を確立し、様々なCOVID-19感染症患者の血中濃度を測定しました¹⁾。さらに、母集団薬物動態解析を行い、腎機能に応じた投与量設計を行いました。

2. COVID-19治療薬の開発

医薬品の開発においては、Phase IからPhase IIIの臨床試験（治験）で有効性および安全性が評価されます。さらに、必要に応じて、薬物相互作用試験や特殊な背景を持つ患者での体内動態試験などが実施され、発売されるまでに様々な医薬品情報が収集されます。治験に参加する患者は限られるため、実臨床ではこれらの情報をもとに、適切な使用方法が検討されます。このような通常のステップを踏まずに薬が特例承認されるケースがあります。薬機法では、以下のいずれにも該当する医薬品に対して、特例の承認を与えとしています。

（一）国民の生命及び健康に重大な影響を与えるおそれがある疾病のまん延その他の健康被害の拡大を防止するため緊急に使用されることが必要な医薬品であり、かつ、当該医薬品の使用以外に適当な方法がないこと。

（二）その用途に関し、外国（医薬品の品質、有効性及び安全性を確保する上で我が国と同等の水準にあると認められる医薬品の製造販売の承認の制度又はこれに相当する制度を有している国として政令で定めるものに限る。）において、販売し、授与し、又は販売若しくは授与の目的で貯蔵し、若しくは陳列することが認められている医薬品であること。

3. COVID-19治療薬 ベクルリー

COVID-19の治療薬ベクルリー（Remdesivir）は、新型インフルエンザのワクチン2品目（2010年）に続いて、3品目の特例承認を受けました。待望のCOVID-19抗ウイルス薬です。しかし、特例承認された医薬品は治験で十分な知見が得られずに、限られた医薬品情報を用いて臨床使用されています。Remdesivirは、腎排泄型の薬剤ですが、腎機能低下患者における体内動態は評価されておらず、eGFRが30 mL/min未満の患者には投与が推奨されていません。しかし、大学病院などでは、リスクとベネフィットを考慮して、投与を判断する場合があります。そのため、腎機能が低下した患者においてRemdesivirの血中濃度を知ることは、限られた治療薬しかないCOVID-19治療においては大変重要となります。また、腎機能低下患者における体内動態エビデンスの創出も求められます。

4. Remdesivir活性代謝物GS-441524分析法

Remdesivirはアデノシンヌクレオシド類似体のプロドラッグです。Remdesivirは、細胞内に分布し、加水分解による代謝を経て、最終的にリン酸化されて薬理的に活性を有するヌクレオシド三リン酸型の活性代謝物を生成します。活性代謝物はアデノシン三リン酸(ATP)の類似体として、SARS-CoV-2 RNA依存性RNAポリメラーゼによって新たに合成されるRNA鎖に天然基質ATPと競合して取り込まれ、ウイルスの複製におけるRNA鎖の伸長反応を取り込みから少し遅れて停止させます。ヌクレオシド三リン酸型の活性代謝物は細胞内で産生され、血中ではほとんど検出できないことから、ヌクレオシド類似体（GS-441524）の体内動態解析を実施します。以下に測定法を記します。

RemdesivirおよびGS-441524の標準物質、その安定同位体標識化合物である $[^{13}\text{C}_6]$ -Remdesivirおよび $[^{13}\text{C}_5]$ -GS-441524は、いずれも島津製作所グループ会社Salsachim社から購入しました。メタノールを用いて $[^{13}\text{C}_6]$ -Remdesivir (2.5 $\mu\text{g/mL}$)、および $[^{13}\text{C}_5]$ -GS-441524 (0.25 $\mu\text{g/mL}$)の混合溶液を作製し、内部標準物質（ISTD）として用いました。市販されているEDTA 2K処理したヒト血漿に対して、RemdesivirとGS-441524を添加し、検量線およびQCサンプルを作製しました。検量線範囲はRemdesivir：100-5000 ng/mL、GS-441524：5-500 ng/mLとしました。前処理は75%IPA20 μL 、血漿50 μL 、ISTD10 μL 、アセトニトリル100 μL を添加し、十分に攪拌を行った後、遠心分離で得られた上清を測定しました。

高速液体クロマトグラフおよび液体クロマトグラフ質量分析計には、島津製作所製Nexera™ X2（2液高压グラジエント）およびLCMS™-8060を用いました。LC分析条件を表1に、MS分析条件を表2に示します。測定対象化合物の分離分析にはShim-pack Scepter™ C18-120 (50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm)を用い、カラムオーブンは40℃としました。移動相には移動相A: 0.05%ギ酸含む水、移動相B: 0.05%ギ酸含むアセトニトリルを調製し、流速0.4 mL/minでグラジエント分析を実施しました。MRMトランジションを表3に示します。

上記条件で分析した結果、図1のRemdesivir、 $[U\text{-Ring-}^{13}\text{C}_6]$ -Remdesivir、GS-441524、および $[^{13}\text{C}_5]$ -GS-441524のクロマトグラムを得ました。また、Remdesivirの検量線範囲を100 - 5000 ng/mLに、GS-441524の検量線範囲を5 - 250 ng/mLに設定し、検量線を作成しました。それぞれの検量線結果を図2および図3に示します。RemdesivirおよびGS-441524の検量線の決定係数 (R^2) >0.999と良好な結果を得ました。

表1 LC条件

Liquid chromatograph	
System	: Nexera X2
Column	: Shim-pack Scepter C18-120 (50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm)
Temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2.0 μL (Co-injection 20 μL water)
Mobile phases A	: 0.05% formic acid in water
Mobile phases B	: 0.05% formic acid in acetonitrile
Gradient Program (B conc%)	: 5% (0 - 0.30 min) → 30% (0.35 min) → 70% (1.50 min) → 90% (1.80 - 2.80 min) → 5% (2.90 - 4.50 min)
Flow rate	: 0.4 mL/min

表2 MS条件

Mass spectrometer	
System	: LCMS-8060
Ionization	: ESI(+)
Nebulizing gas	: 3 L/min
Drying gas	: 10 L/min
Heating gas	: 10 L/min
DL temp	: 200 °C
Heat block temp	: 400 °C
Interface temp	: 300 °C

表3 Remdesivir、GS-441524および安定同位体標識化合物のMRMトランジション

Compound	Precursor Ion (m/z)	Product Ion (m/z)
Remdesivir	603.05	272.10
	603.05	229.00
$[^{13}\text{C}_6]$ -Remdesivir	609.05	278.20
	609.05	229.15
GS-441524	291.90	163.05
	291.90	173.05
$[^{13}\text{C}_5]$ -GS-441524	296.90	164.10
	296.90	174.10

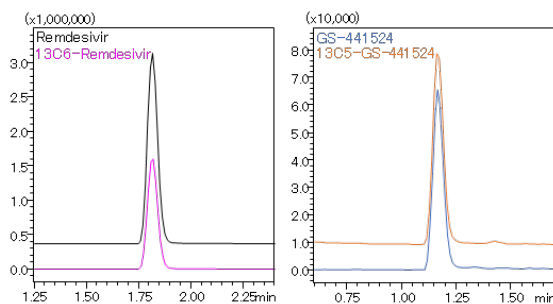


図1 Remdesivir、 $[U\text{-Ring-}^{13}\text{C}_6]$ -Remdesivir (左) および GS-441524、 $[^{13}\text{C}_5]$ -GS-441524 (右) のクロマトグラム

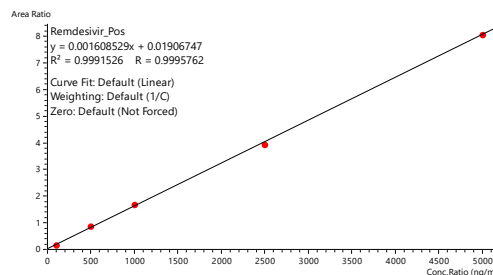


図2 Remdesivirの検量線
検量線範囲：100 - 5000 ng/mL

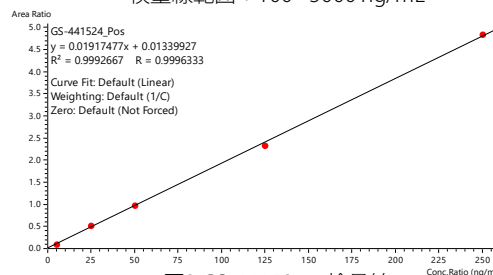


図3 GS-441524の検量線
検量線範囲：5 - 250 ng/mL

5.臨床検体分析への応用

京都大学医学部附属病院と島津製作所との共同研究で、腎障害などを有する患者において、GS-441524の血中濃度を測定し、体内動態の個体間変動へ影響を与える因子の解明を試みました。京都大学医学部附属病院でRemdesivirが投与された37名の患者の血液を採取し、GS-441524の血中濃度を測定しました。その結果、腎機能障害患者では腎機能正常患者と比較して、GS-441524の血中濃度が高いことが判明しました。図4に腎機能障害患者におけるGS-441524の血中濃度を示します¹⁾。さらに、収集した血中濃度データから母集団薬物動態解析を行い、GS-441524のクリアランスに影響を与える因子として推定糸球体濾過量を同定し、推定糸球体濾過量からGS-441524の血中濃度を予測するモデルを式(1)に示します。高い血中濃度は副作用のリスクとなりうることから、そのモデルを用いてシミュレーションを行い、腎機能に応じた投与量設計を行ないました。なお、本研究は、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会の承認を得て行いました(承認番号 R2768)。

ベクルリー (Remdesivir) の医薬品添付文書では、重度の腎機能障害患者に対するRemdesivirの投与は治療上の有益性が危険性を上回る場合を除いて推奨されていません。本研究で確立したモデルに基づく投与量設計により、Remdesivirを使用せざるを得ない重度の腎機能障害患者において、より安全にRemdesivirを投与できる可能性が示唆されました。腎機能の指標である推定糸球体濾過量を組み込んだモデルの確立は世界で初めてであり、今後、腎機能障害など特殊な背景を持つ患者に対するRemdesivirの最適な個別化治療に繋がることが期待されます。しかしながら、本研究結果を解釈する上で現時点ではいくつかの注意点がありません。まず、Remdesivirの他の代謝物や腎障害のリスクとなる添加剤の血中濃度を測定できていません。また、検討した症例数、特に重度腎機能障害患者やECMO挿入患者の数が少なく、多数例でのさらなる検討が必要であると考えています。

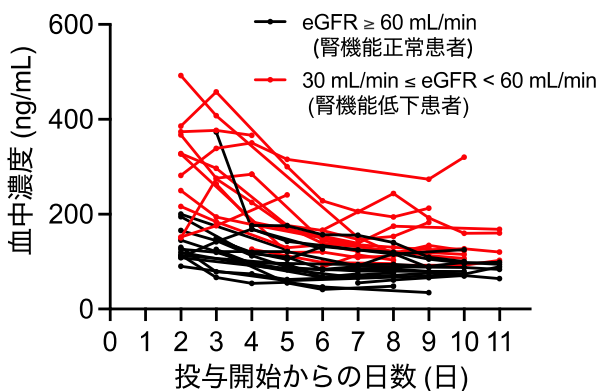


図4 腎機能障害患者におけるGS-441524の血中濃度

母集団薬物動態解析モデル

$$CL (L/h) = 11.8 \times (eGFR_{\text{non-indexed}}/74.7)^{1.09} \quad \dots (1)$$

$$Vd (L) = 382 \times (1 - 0.429 \times AGE_{\geq 75, V})$$

6.おわりに

日本は超高齢化社会となり、医療のあり方も大きく変わっています。これまでの単一の疾患を治療する時代から、併存疾患を含めて包括的に治療する時代となっています。医薬品開発においては、基本的に単一疾患患者を対象として臨床試験が実施されることから、併存疾患があたりまえの実臨床では、薬物の体内動態が異なる可能性があります。特に、特定機能病院などでは、情報が少ないにもかかわらず特殊な背景を有する患者において、薬物投与を必要とする場合があります。必ずしも診療報酬上で薬物血中濃度モニタリング (TDM) の対象となっていない医薬品においても、薬物血中濃度測定は特殊な背景を持つ患者の薬物治療に大きく貢献します。今後、実臨床における質量分析計の更なる活用が期待されます。

謝辞

本研究にご支援いただいた京都大学医学部附属病院の関係各位、並びに検体提供にご協力いただいた患者さんに御礼申し上げます。

<参考文献>

- 1) Sukeishi A, Itoharu K, Yonezawa A, Sato Y, Matsumura K, Katada Y, Nakagawa T, Hamada S, Tanabe N, Imoto E, Kai S, Hirai T, Yanagita M, Ohtsuru S, Terada T, Ito I. Population pharmacokinetic modeling of GS-441524, the active metabolite of remdesivir, in Japanese COVID-19 patients with renal dysfunction. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 11(1):94-103, 2022 doi: 10.1002/psp4.12736.

LCMS、Nexera、Shim-pack Scepterは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器として承認を受けておりません。治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著作者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。
<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>
会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録いただけますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。
新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。