

肺非結核性抗酸菌症患者におけるクロファジミンの薬物動態と安全性・有効性の検討

Pharmacokinetics of Clofazimine and Its Safety and Efficacy in Pulmonary Nontuberculous Mycobacterial Diseases Treatment.

令和 6 年度

論文博士申請者

渡辺史也 (Watanabe, Fumiya)

目次

【緒言】	4
【第一章：クロファジミンの投与量 50 mg/day における薬物動態と安全性 の評価】	9
【第一節：高速液体クロマトグラフィー質量分析法による肺非結核性抗酸 菌症治療薬 5 成分の同時定量法の確立】	9
1. 方法	10
1.1. 試薬	10
1.2. 対象	10
1.3. 標準試料の調製	11
1.4. 検量線及び QC サンプルの調製	11
1.5. 血漿試料の前処理方法	12
1.6. 機器分析条件	12
1.7. 分析法のバリデーション	13
1.8. 血漿サンプルと血清サンプルの比較	14
2. 結果	14
3. 考察	18
【第二節：クロファジミンの投与量 50 mg/day における薬物動態解析、及 び血清中濃度と副作用の関連性評価】	19
1. 方法	19
1.1. 試験デザイン及び研究対象集団	19
1.2. 薬物動態解析	21
1.3. 安全性評価	21
2. 結果	22
2.1. 患者背景	22

2.2. 薬物動態解析	23
2.3. 色素過剰沈着	25
2.4. QTc 間隔のベースラインからの変化量	26
3. 考察	27
【小括】	30
【第二章：クロファジミンの投与量 50～100 mg/day における血清中濃度と 副作用・効果の関連性評価】	31
1. 方法	31
1.1. 試験デザイン及び研究対象集団	31
1.2. 薬物動態解析	32
1.3. 安全性評価	32
1.4. 有効性評価	33
2. 結果	34
2.1. 患者背景	34
2.2. 薬物動態解析	35
2.3. 色素過剰沈着	37
2.4. QTc 間隔のベースラインからの変化量	38
2.5. 喀痰中菌塗抹陰性化効果	39
3. 考察	41
【小括】	44
【総括】	46
【謝辞】	47
【参考文献】	48

【緒言】

肺非結核性抗酸菌（NTM）症は近年世界的に増加している難治性の抗酸菌感染症であり、肺 *Mycobacterium avium–intracellulare complex* (MAC) 症、肺 *Mycobacterium abscessus* (*M. abscessus*) species 症が肺 NTM 症の大多数を占めている¹⁾⁻³⁾。更に *M. abscessus* species 症は *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* (*M. abscessus*) 症、及び肺 *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* (*M. massiliense*) 症に大別され、*M. massiliense* 症の方が、一般的に予後が良好である^{1),2)}。肺 NTM 症は感染経路が明らかになっていないものの、中高年のやせ型の女性に多いことが分かっている^{2),3)}。本疾患は進行が遅く、治療が必要とならない場合がある。比較的軽症の肺 MAC 症患者の予後を調査した報告では、5 年間の観察期間中に治療が導入されたのは 6 割程度であり、2～3 割程度は無治療であっても自然発生的な喀痰中菌培養陰性化が得られたことが報告されている^{4),5)}。しかしながら、自然陰性化が得られた肺 MAC 症患者の 24%以上は再発することに加え⁶⁾、治療によって細菌学的治癒が得られた肺 MAC 症患者の約半数は再発してしまうことが報告されている⁷⁾。肺 *M. abscessus* species 症においても同様に、未治療であっても 25%は自然発生的な喀痰中菌培養陰性化が得られるものの、そのうち 28%は再発することが報告されている⁸⁾。従って肺 NTM 症は生涯に渡る長期的な経過観察が必要とされる。

肺 NTM 症に対する治療開始時期は明確にはされていないが、国際ガイドラインでは、喀痰抗酸菌塗抹陽性あるいは有空洞例には早期に治療を開始することが推奨されている¹⁾。また、軽症から中等症の肺 NTM 症患者を対象とした研究においても、治療開始後に喀痰培養陰性化を達成した患者では有意に死亡率が低下したことが報告されていることから⁹⁾、重症度に関わらず忍容性や患者状態をもとに治療開始の有無が決定される²⁾。

肺 NTM 症治療におけるキードラッグはマクロライド系抗菌薬であり、マクロライド系抗菌薬の薬剤感受性試験の結果が治療効果と強く相関する^{1),2),10)}。マクロライド系抗菌薬に対する耐性化は 23S rRNA 遺伝子の点突然変異に起因し、薬剤感受性試験の結果としてクラリスロマイシンに対する 32 mg/L 以上の最小発育阻止濃度がマクロライド耐性ブレイクポイントとして設定されている¹¹⁾。マクロライド感受性の肺 MAC 症では治療成功率が 68%であり¹²⁾、5 年死亡率が 5.4%と報告されているのに対し¹³⁾、マクロライド耐性肺 MAC 症では喀痰中菌培養陰性化率が 5~15%と低く^{14),15)}、5 年死亡率が 50%と非常に高いことが報告されている¹⁶⁾。肺 *M. abscessus* species 症に対しても同様にマクロライド系抗菌薬の感受性が治療効果と密接に関連している¹⁷⁾。従って、マクロライド系抗菌薬に対する耐性化を防ぐために抗菌薬を複数併用して治療することが推奨されている^{1),10)}。しかしながら肺 NTM 症治療に使用可能な抗菌薬は限定的であることから、副作用などにより使用できない抗菌薬があるとガイドライン治療が継続困難となる。

肺 MAC 症治療の国際ガイドラインでは、マクロライド系抗菌薬、エタンブトール、リファンピシン、アミカシン、及びクロファジミンの中から 3 剤以上、重症例や難治例では 4 剤以上を選択して併用する治療が推奨されており、代替薬の候補がないのが現状である^{1),2)}。肺 *M. abscessus* 及び *M. massiliense* 症では、マクロライド系抗菌薬、クロファジミン、リネゾリド、吸入アミカシンの中から導入期は 2~3 剤を併用して治療する必要がある¹⁾。しかしリネゾリドは日本において肺 NTM 症治療に対して保険診療下で使用することができないため、実質的な選択肢が 1 通りしかない²⁾。そのため副作用等により使用できない薬剤があるとガイドライン治療の継続が困難となる。更に、肺 NTM 症は高齢者に多い疾患であり治療期間が 1

年半以上と長期間であることから^{1),2)}、治療中断に至る副作用が全体の 3 割以上に生じることが知られている^{18),19)}。このように、治療の代替薬がなく副作用発現率が高い現状から、ガイドラン治療の遵守率が低いことが知られている。肺 MAC 症の診療をしている医師にアンケート調査を実施し、ガイドライン治療の遵守率を調べた結果では、ガイドライン遵守率が米国では 13%、日本では 42%、英国では 18%、欧州では 8%以下であったことが報告されている^{20),21)}。副作用によるガイドライン治療からの逸脱はマクロライド系抗菌薬に対する耐性化の明確なリスク因子であり¹⁵⁾、治療失敗の有意なリスク因子であることが報告されている²²⁾。従って、肺 NTM 症治療では抗菌薬の副作用による治療中断が治療効果の減弱や、耐性化リスク増大、及び致死率の増大に繋がるため、副作用を適切に管理してガイドライン治療を継続することが重要である。

クロファジミン (CFZ) は 1960 年代よりハンセン病に対して使用されてきた抗菌薬であり、2021 年より肺 *M. abscessus species* 症、及び多剤耐性結核治療に対する使用が国際的に推奨された¹⁾。CFZ は細胞内酸化還元反応の阻害作用²³⁾、及び細菌膜不安定化作用²⁴⁾などを有していることが報告されているものの、これらは黄色ブドウ球菌及び *Mycobacterium smegmatis* を用いて検討された結果であり、*M. avium* 及び *M. abscessus species* における作用機序は明確にされていない。また、肺 NTM 症治療において CFZ の使用が推奨されたのは、*in vitro* で NTM 菌に対して CFZ がマクロライド系抗菌薬及びアミカシンとの相乗効果を示した報告のみが根拠となっている^{25),26)}。一部の後ろ向き研究において肺 *M. abscessus species* 症患者を対象に、標準治療に対して CFZ を加えたところ、24%の患者において喀痰中菌培養陰性化が達成されたことが報告されたが²⁷⁾、CFZ 非使用のコントロール群が設けられていなかったことから CFZ による治療効果は明らかになって

いない。このように CFZ の安全性や有効性を検証するための前向きランダム化比較試験等の臨床試験は実施されていないのが現状である。肺 MAC 症に対しては CFZ の使用が一次治療薬として推奨されていないが、ガイドライン推奨レジメンのリファンピシンを CFZ に置き換えた方が、有意に喀痰中菌培養陰性化率が高かったことが報告されており²⁸⁾、難治性肺 MAC 症において CFZ の投与を検討することが推奨されている^{1),2)}。本邦においても CFZ は肺 MAC 症に対して保険適応は無いが適応外使用として用いることがある²⁾。しかしながら、肺 MAC 症及び肺 *M. abscessus* species 症のいずれにおいても前向き臨床試験が未実施のまま国内外で使用されることとなったため、CFZ の安全性がほとんど検証されていない。更に、CFZ の推奨用量の設定にも根拠が示されていない。肺 NTM 症治療における CFZ の用量は 100 mg/day が推奨されているが^{1),29)}、ハンセン病に対して使用されてきた用量は 50 mg/day であるため³⁰⁾、100 mg/day を長期間使用する安全性が確立していない。

CFZ の臨床的に問題となりやすい副作用としては色素過剰沈着³¹⁾、及び QTc 間隔の延長がある^{32),33)}。色素過剰沈着は皮膚や汗などが褐色に着色する副作用であり、発現率は 75～100%と報告されているが、軽症例を含めればほぼ必発の副作用である³¹⁾。肺 NTM 症は女性に多い疾患であるため、拒薬につながりやすいと言う点で臨床的に大きく問題視されている³⁴⁾。また、QTc 間隔の延長は致命的な不整脈である心室頻拍や心停止に繋がりやすいため³⁵⁾、臨床的に特に注意が必要な副作用である。CFZ を使用する際にはこれらの副作用に注意をしながら使用する必要があるが、血中濃度と副作用との関連性がこれまで報告されていないため、CFZ を減量することで副作用の程度が減弱するのか、CFZ 100 mg/day 使用時においてどの程度の副作用が想定されるのかといった情報がない。従って CFZ による副作用

の防止や早期発見が難しく、また、副作用が生じた際には CFZ の投与を中止せざるを得ないため、ガイドライン治療の継続が困難であった。

更に CFZ は生物学的利用率、主要消失経路、代謝による消失の有無、血中蛋白結合率等の基本的な薬物動態情報が明らかになっていないため、血中濃度と副作用との関連を評価することが困難であった。ある薬物の効果や副作用の関連指標として血中薬物濃度を使用する場合、血中薬物濃度が対象とする組織中薬物濃度と平衡であるという仮定が必要である³⁶⁾。この仮定が成り立つ状態が定常状態と呼ばれ、半減期の 4～5 倍が経過する時点であることから³⁶⁾、薬物の半減期は重要な情報源となる。Schaad ら³⁷⁾ は 6 名の健康成人ボランティアを対象に CFZ の薬物動態を調査し、半減期が 10.6 日であることを報告した。しかし、薬物の半減期を適切に推定するためには定常状態の血中濃度データ、又は単回投与後の半減期の 4～5 倍の時間が経過した時点の血中濃度データが必要であるが³⁸⁾、Schaad らの報告は半減期と同程度の期間しか血中濃度をモニターしていなかった。従って報告されている 10.6 日という半減期は適切ではない可能性がある。実際に Schaad らの報告に基づくと CFZ は投与中止後 1 ヶ月半程度で生体からほとんど消失する計算になるが、CFZ 誘発性の色素過剰沈着は CFZ 投与中止後にその影響が消えるまで 6 ヶ月かかることが知られており³⁹⁾、薬物動態学的特性との間に矛盾点が存在する。従って CFZ の適切な半減期はこれまで報告されていないと考えられる。

肺 NTM 症は長い治療期間の中で副作用を適切に管理することが非常に重要であることから、CFZ の安全性に関する情報、及び個別最適化に必要な薬物動態情報が欠如している現状は肺 NTM 症治療にとって大きな問題であると考えられる。

以上より、本研究では肺 NTM 症患者を対象として CFZ の薬物動態特性

を明らかにし、更に定常状態の血中濃度と副作用との関連を明らかにすることを目的とした。

【第一章：クロファジミンの投与量 50 mg/day における薬物動態と安全性の評価】

これまで日本人患者を対象に CFZ 100 mg/day を使用した際の安全性が報告されていなかった。そこで、CFZ 50 mg/day を使用した際の血中濃度と副作用との関連性を解析した。

【第一節：高速液体クロマトグラフィー質量分析法による肺非結核性抗酸菌症治療薬 5 成分の同時定量法の確立】

CFZ の血中濃度と副作用・効果との関連を評価するために、CFZ を含む肺 NTM 症治療に用いられる抗菌薬 5 成分の同時定量法を構築した。測定対象薬物はクラリスロマイシン、アジスロマイシン、エタンブトール、リファンピシン、及び CFZ の 5 成分とした。本研究では CFZ が主たる興味の対象となるが、申請者は肺 NTM 症治療における CFZ 以外の抗菌薬も研究対象としている。肺 NTM 症治療では抗菌薬を複数併用してしまうことから、特に治療効果に関して個々の抗菌薬の血中濃度との関連が評価できないため⁴⁰⁾、肺 NTM 症治療に用いられる抗菌薬の同時定量を行い、効果と血中濃度との関連を多変量に解析する必要があると考えた。これまでに肺 NTM 症治療薬の高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法 (HPLC-MS/MS 法) による定量法は複数報告されている。Hee ら⁴¹⁾は、結核治療の第一選択薬であるリファンピシン、イソニアジド、及びそれらの代謝物の定量法を構築したが、固相抽出操作を含むため実験コストがやや高い方法であった。Gao ら⁴²⁾や Wu ら⁴³⁾は有機溶媒による簡便な除蛋白操

作を用いたヒト血中抗結核薬の定量法を構築し、リファンピシン、エタンブトール、及び CFZ の同時定量を可能としたが、肺 NTM 症治療薬であるマクロライド系抗菌薬の定量をしていなかった。Barrett ら⁴⁴⁾はマクロライド系抗菌薬のヒト血中濃度測定法を報告したが、リファンピシンやエタンブトール、CFZ の同時定量は実施していない。以上のように、これまで肺 NTM 症治療に用いられる抗菌薬の同時定量法は報告されていなかったため、本節ではこれら薬物の濃度を同時定量する方法を構築した。

1. 方法

1.1. 試薬

クラリスロマイシン、リファンピシン、ギ酸、1 mol/L ギ酸アンモニウム、LC/MS グレードメタノール、ジメチルスルホキシド (DMSO) は FUJIFILM Wako 純薬株式会社 (大阪) より購入した。セファドロキシルは Sigma-Aldrich Co. LLC (St. Louis, MO, USA) より購入した。アジスロマイシン二水和物は Tocris Bioscience Co. (Bristol, UK) より購入した。エタンブトール二塩酸塩は LKT Laboratories Inc. (St. Paul, MN, USA) より購入した。CFZ は東京化成工業株式会社 (東京) より購入した。

1.2. 対象

健康成人から採取した血漿をバリデーションにおける品質管理 (QC) 試料の調製に使用した。また、結核予防会複十字病院に外来又は入院治療中の肺 MAC 症患者 5 例を対象として、確立した定量法の臨床適応性を評価した。対象患者の血液は、ルーチンで実施される生化学用検査の血清の残余検体を使用した。肺 MAC 症治療薬を服用後 3~4 時間後に凝固促進フィルムを含む真空採血管 VENOJECT II (TERUMO、日本) に静脈から採血し、

室温で 10～20 分静置後に遠心分離を行った上清を分取し、測定まで-80℃にて保存した。患者情報（性別、体重、年齢）は複十字病院の診療録より抽出した。本研究は複十字病院(承認番号:20005)及び明治薬科大学(202007)の研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。対象者からは事前に説明を行い、文書による同意を取得した。

1.3. 標準試料の調製

クラリスロマイシン、リファンピシンの標準試料は、それぞれの原末約 10 mg を精密に量り取り、メタノールに溶解してそれぞれ正確に全量を 10 mL とした。クロファジミンの標準試料は原末約 10 mg を精密に量り取り、DMSO に溶解して正確に全量を 10 mL とした。アジスロマイシン二水和物は原末を約 10.48 mg 精密に量り取り、メタノールに溶解して正確に全量を 10 mL とした。エタンブトール二塩酸塩は原末約 13.57 mg を精密に量り取り、メタノールに溶解して正確に全量を 10 mL とした。内部標準物質としてセファドロキシルを使用し、セファドロキシルの標準試料は、原末約 10 mg を精密に量り取り、メタノールに溶解して正確に全量を 10 mL とした。これらをストック溶液とし、使用時まで-80℃で保存した。

1.4. 検量線及び QC サンプルの調製

全ての検量線サンプル及び QC サンプルは、クラリスロマイシン、アジスロマイシン、リファンピシン、エタンブトール、CFZ を混合して調製した。検量線サンプルは各ストック溶液からヒト血漿を用いて希釈し、5 つの濃度（表 1）に調製した。QC サンプルは検量線サンプルとは別に検量線サンプルと同じ 5 つの濃度を調製した。内部標準溶液はセファドロキシルのストック溶液を、メタノールを用いて希釈し正確に全量を 5 mg/L とし

た。

表 1 調製した検量線サンプル濃度

	検量線サンプル濃度 (ng/mL)				
	C1	C2	C3	C4	C5
クラリスロマイシン	20	100	250	500	1000
アジスロマイシン	50	100	250	500	1000
リファンピシン	100	200	500	1000	2000
エタンブトール	50	100	250	500	1000
クロファジミン	50	100	250	500	1000

1.5. 血漿試料の前処理方法

検量線サンプルを含む血液試料は、内部標準物質（5 mg/L）を含むメタノールを用いて 5 倍希釈し、ボルテックスによる攪拌後に遠心分離（15,000×g, 4℃, 10 分）した。遠心分離後の上清 100 μL をオートサンプラー用プラスチックバイアルに移した。

1.6. 機器分析条件

島津製作所（京都）の UFLC-HPLC システム及びシングル四重極質量分析計（LCMS2020）を使用した。オートサンプラーは 4℃で使用した。カラムは CAPCELL PAK C₁₈ MGIII（5.0 μm、2.0 mm i.d.×100 mm、株式会社大阪ソーダ、大阪）を 40℃で使用した。移動相の水相には pH を 5.3 に調整した 10 mM ギ酸-ギ酸アンモニウム緩衝液、有機相にはメタノールを使用した。グラジエント条件は 0 分から 5 分まで有機相の割合を 0%から 100%に増加させ、5 分から 8.5 分は有機相の割合を 100%で維持、8.5 分から 9 分にかけて有機相の割合を 100%から 0%に戻し、12.5 分で終了とした。流速は 0.4 mL/min、試料注入量は 2 μL に設定した。

イオン化モードにはエレクトロスプレーイオン化法を用い、ポジティブイオンを測定した。測定した m/z はクラリスロマイシン：748.3、アジスロマイシン：375.1、リファンピシン：823.2、エタンブトール：205.1、CFZ：473.0、セファドロキシル：364.0 とした。

1.7. 分析法のバリデーション

米国食品医薬品局（FDA）のガイダンス⁴⁵⁾に従って定量法のバリデーションを実施した。日内変動性として Accuracy（%）及び Precision（CV%）を評価するため、5 つの濃度の QC サンプルを各濃度あたり 5 回繰り返し測定した。日間変動性として Precision（CV%）を評価するため、5 つの濃度の QC サンプルを独立した 5 日間繰り返し測定した。Accuracy は $(\text{実測濃度} - \text{理論濃度}) \div \text{理論濃度} \times 100\%$ として計算し、変動量の最大値を Accuracy（%）とした。Precision は各測定時点で得られたピーク面積の変動係数%を算出した。回収率は、血漿に添加した QC サンプル及び内部標準物質を除蛋白操作した場合のピーク面積と、血漿を除蛋白処理した後に QC サンプル及び内部標準物質を添加した場合のピーク面積を比較することにより算出した。マトリックス効果は、血漿を除蛋白処理した後に QC サンプル及び内部標準物質を添加した場合のピーク面積と、血漿マトリックス非存在下での QC サンプル及び内部標準物質のピーク面積を比較することにより算出した。希釈妥当性は検量点の最高濃度の 10 倍の濃度のサンプルを 10 倍希釈して除蛋白処理したサンプルと検量線サンプルの最高濃度の除蛋白処理後のピーク面積を比較することにより算出した。回収率及びマトリックス効果の評価には独立した 6 名の健康成人から得られた血漿を使用した。キャリーオーバーに関しては最大濃度の QC サンプルを測定後にブランクを測定し、定量下限値（LLOQ）のピーク面積の 20%を超えるピ

ークが残存しないか検討した。安定性の評価は凍結融解 3 サイクル、及び血漿希釈後の長期安定性（-80℃での 3 ヶ月間及び 6 ヶ月間）を評価し、残存率が 85–115% の場合を安定であると判断した。

1.8. 血漿サンプルと血清サンプルの比較

血中薬物濃度を測定するにあたり、血漿サンプルと血清サンプルで血中薬物濃度に差が生じるかについて検討した。2.5 mg/L の標準溶液の混液 200 µL をガラス試験管に移し、蒸発乾固（40℃、20 分間）した。その後 3 名の健康成人より得られた血液を 4 mL 試験管に入れ、ボルテックス混和後に 2 mL ずつ血漿サンプル及び血清サンプル用に分離した。血清サンプルは凝固促進フィルムを含む真空採血管 VENOJECT II（TERUMO、日本）を用いて入手し、血漿サンプルは EDTA-2Na 含有真空採血管 VENOJECT II（TERUMO、日本）を用いて入手した。遠心分離条件は室温下で 1,200×g にて 15 分間とした。血清サンプルから得られた薬物ピーク面積を血漿サンプルから得られた薬物ピーク面積で除して 85–115% の場合を変化無しと判断した。

2. 結果

本測定条件における各成分の保持時間はクラリスロマイシンが 5.5 分、アジスロマイシンが 4.7 分、リファンピシンが 5.5 分、エタンブトールが 2.4 分、CFZ が 5.8 分、セファドロキシルが 2.7 分であり、血漿及び血清マトリックスの競合ピークは確認されなかった。各薬物の定量下限値におけるクロマトグラムを図 1 に示す。

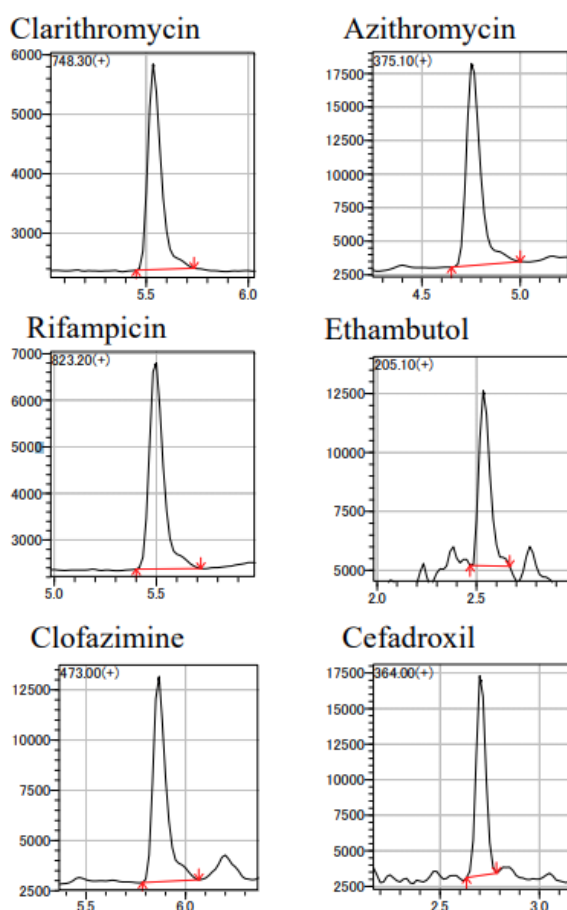


図 1 血漿マトリックス中の各成分の定量下限値におけるクロマトグラム

バリデーションの結果、検量線範囲の相関係数はいずれの成分も 0.999 以上であり、良好な直線性が確認された。各成分の Accuracy (%) 及び Precision (CV%) を表 2 に示す。分析の精度は定量下限値では 10.9%以内であり、その他の全ての濃度では 6.7%以内であった。

表 2 各成分の日内、日間変動

成分	理論濃度 (ng/mL)	日内変動		日間変動
		Precision (CV%)	Accuracy (%)	Precision (CV%)
クラリスロマイシン	20	5.4	4.0	6.4
	100	5.2	-4.0	3.9
	250	5.2	-1.9	1.3
	500	5.3	-1.2	2.1

	1000	5.2	-3.6	1.6
アジスロマイシン	50	6.9	-6.6	5.2
	100	6.7	-6.5	3.5
	250	6.5	-2.0	1.7
	500	5.2	-1.3	3.3
	1000	5.0	-4.7	2.8
リファンピシン	100	7.2	10.9	7.0
	200	6.7	-2.8	2.8
	500	6.5	-4.1	2.3
	1000	5.6	-0.7	0.9
	2000	5.5	-1.7	1.0
エタンブトール	50	6.3	-2.8	5.8
	100	6.6	-6.4	3.5
	250	6.4	-5.4	3.3
	500	6.0	-2.7	4.3
	1000	4.8	-5.1	3.4
クロファジミン	50	5.8	-4.5	4.1
	100	4.8	-5.2	3.3
	250	5.2	-3.0	2.7
	500	5.0	-1.2	3.0
	1000	4.4	-4.5	2.4

回収率は全ての成分において 91.6–106.1%であり良好な回収性が確認された。マトリックス効果はすべての成分において 94.6–113.0%であり血漿マトリックスによるイオン化への影響は観察されなかった。また、希釈妥当性はすべての成分において 99.5–107.7%であり、検量線以上の濃度であっても希釈することにより適切に薬物濃度を測定できることが示された。

凍結融解 3 サイクル後の残存率はいずれの成分においても 88.9–110.5%の範囲内であり、凍結融解処理を 3 回実施しても各成分は安定であることが確認された。長期保存試験では、-80℃で保存した全ての成分において 3

ヶ月までの安定性が 102.6–112.0%の範囲であり、安定であることが確認されたが、-80℃で 6 ヶ月保存した検体中のリファンピシンの残存率が 45.9–61.9%の範囲であり、3 ヶ月以上の保管は出来ないことが判明した。リファンピシン以外は-80℃で 6 ヶ月保存した検体中の残存率が 90.5–100.1%の範囲であり、6 ヶ月間安定に保存できることが確認された。

各成分の血清マトリックスより得られたピーク面積と血漿マトリックスより得られたピーク面積の比は、平均値 ± 標準偏差としてクラリスロマイシンが 90% ± 8%、アジスロマイシンが 63% ± 3%、リファンピシンが 129% ± 11%、エタンブトールが 90% ± 2%、CFZ が 101% ± 1%であった。クラリスロマイシン、エタンブトール、CFZ の 3 成分においては血漿マトリックスと血清マトリックス間に差は認められなかったが、アジスロマイシンは血清を使用した場合、血漿中薬物濃度よりも 4 割程度ピーク面積が小さくなり、リファンピシンは 3 割程度ピーク面積が大きくなる結果となった。

本節において確立した測定法を使用して、肺 MAC 症患者 5 例の血清中薬物濃度を測定した。今回測定した肺 MAC 症患者は全て女性であり、平均値 ± 標準偏差として年齢 64.2 ± 4.5 歳、体重 46.9 ± 11.3 kg であった。肺 MAC 症治療薬は国際ガイドラインに従って投与され、その投与量は、クラリスロマイシンが 400 mg を 1 日 2 回、アジスロマイシンが 250 mg を 1 日 1 回、リファンピシンが 10 mg/kg を 1 日 1 回、エタンブトールが 12.5–15 mg/kg を 1 日 1 回、CFZ が 50 mg を 1 日 1 回であった。肺 MAC 症治療薬投与後 3–4 時間後の平均血中濃度 ± 標準偏差はクラリスロマイシンで 0.3 ± 0.1 mg/L、アジスロマイシンが 0.2 ± 0.1 mg/L、リファンピシンが 2.7 ± 0.7 mg/L、エタンブトールが 3.7 ± 2.0 mg/L、CFZ が 0.2 ± 0.3 mg/L であった。リファンピシンとエタンブトールを除く薬剤の血中濃度は本研究によ

り構築された検量線の範囲内であったが、リファンピシンとエタンブトールは適切に 10 倍希釈することにより検量線の範囲内で測定することが可能であった。

3. 考察

本節では簡便な肺 MAC 症治療薬の同時定量法を確立した。リファンピシンは血液試料中、 -80°C で 6 ヶ月間保存すると残存率が 50%程度に減少した。リファンピシンは通常の大気圧下で自然に酸化分解しやすいことから、血液に酸化防止剤としてアスコルビン酸を添加することで安定性が向上することが報告されている⁴⁶⁾。本研究ではアスコルビン酸の添加を行っていないため、 -80°C で半年間保存すると酸化分解により残存率が低下したものと考えられる。しかしながら -80°C で血液を保存し、3 ヶ月以内に濃度を測定することにより、アスコルビン酸の添加無しでもリファンピシンの血中濃度を測定することが可能であることが示された。

血清マトリックスを用いて得られるピーク面積と血漿マトリックスを用いて得られるピーク面積を比較したところ、アジスロマイシンは血清マトリックス中においてピーク面積が低く、リファンピシンは血清マトリックス中においてピーク面積が高かった。この原因を探るため、健康成人 3 名より新たに血清を採取し、血清のマトリックス効果を調べた。血清を除蛋白処理した後に QC サンプル及び内部標準物質を添加した場合のピーク面積と、血清マトリックス非存在下での QC サンプル及び内部標準物質のピーク面積を比較することにより血清のマトリックス効果を算出した。その結果、アジスロマイシンは血清マトリックスによるマトリックス効果が確認されなかった。従ってアジスロマイシンの血清中ピーク面積が血漿中ピーク面積より小さかった原因はマトリックスの違いによるものではなく、

真空採血管の分離ゲル等への吸着が原因であると考えられた。一方、リファンピシンは血清マトリックスによる 30% のピーク面積増強効果が認められた。しかしながら真空採血管を使用せずに血清（健康成人 3 名より新たに全血液を採取し、室温下で 20 分間放置し、血液凝固が開始された後に遠心分離した上清）を使用した場合には血清マトリックスによるピーク面積増強効果が観察されなかった。従ってリファンピシンの血清中ピーク面積が血漿中ピーク面積よりも大きかったのは血清マトリックスによるイオン化への影響ではなく、凝固促進フィルムを含む真空採血管 VENOJECT II（TERUMO、日本）より漏れ出た未確認物質によるイオン化への影響が原因であることが示唆された。以上より、アジスロマイシン及びリファンピシンの定量の際には血清試料は使用できず、血漿試料のみ利用可能であることが明らかとなった。一方クラリスロマイシン、エタンブトール、クロファジミンは血清試料及び血漿試料いずれの検体も利用可能であることが明らかとなった。

【第二節：クロファジミンの投与量 50 mg/day における薬物動態解析、及び血清中濃度と副作用の関連性評価】

本節では CFZ の薬物動態特性、投与量 50 mg/day における安全性、及び血清中濃度と副作用との関連性を明らかとし、投与量 100 mg/day における安全性を推定することを目的として研究を実施した。

1. 方法

1.1. 試験デザイン及び研究対象集団

複十字病院に入院又は外来治療中の肺 NTM 症患者を対象に単施設、前向き、非侵襲的、観察研究を実施した。患者組入基準は 20 歳以上で CFZ

使用中又は CFZ が開始予定の患者とし、起因菌は MAC、*M. abscessus*、*M. massiliense* のいずれかとした。CFZ 開始日が不明である患者、妊婦、及び医師が不適当と判断した患者は除外した。CFZ はガイドラインにおいて使用が推奨されているが、本邦において保険適応外となるため²⁹⁾、倫理承認を得た上で患者同意を取得して使用した。CFZ の投与法は 1 日 1 回昼食後に 50 mg/day を内服とし、CFZ 以外の肺 NTM 症治療薬は国際ガイドライン¹⁾に基づいて主治医により適切に選択、及び投与量の調節が実施された。血清中 CFZ 濃度測定のための血清は、ルーチン検査で使用する血清の残余検体を使用したため患者への侵襲性は無かった。血清中 CFZ 濃度がトラフになる時間（CFZ 投与開始前 4 時間以内）にルーチン検査の採血を主治医に依頼してもらい、残余検体を濃度測定まで -80℃で保存した。CFZ 濃度のモニターは、新たに CFZ の投与が開始される予定の患者では CFZ 投与開始 1、2、3 週間後の 3 点に加え、血清中 CFZ 濃度が定常状態に到達した時点を含む 2 点（1 ヶ月以上期間を空ける）の合計 5 点をモニターした。既に CFZ が投与されている患者では血清中 CFZ 濃度が定常状態に到達した時点を含む 2 点（1 ヶ月以上期間を空ける）をモニターした。CFZ の濃度測定には第一節で構築した HPLC/MS 法⁴⁰⁾を用いた。患者情報として年齢、性別、身長、体重、併用薬、腎機能、肝機能等の臨床検査値の情報は複十字病院の電子診療録より抽出した。本研究は複十字病院（承認番号：20005）及び明治薬科大学（202007）の研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。対象者からは事前に説明を行い、文書による同意を取得した。更に本研究は事前に臨床試験登録をした（University Hospital Medical Information Network; UMIN 000041053）。

1.2. 薬物動態解析

測定した血清中濃度データには NONMEM version 7.5.0 (ICON Development Solutions, Hanover, MD) を用いて非線形混合効果モデルをあてはめた。線形一次消失 1 コンパートメント持続注入モデルを仮定し、固定効果として見かけのクリアランス (CL/F) 及び見かけの分布容積 (Vd/F) を推定した。変量効果として個体間変動には指数誤差、残差変動には混合誤差構造を使用した。薬物動態予測モデルの妥当性評価には適合度プロット、視覚的性能評価プロット、ブートストラップ法を使用した。グラフ化には R version 4.1.1 の ggplot2 パッケージ及び xpose4 パッケージを使用した。

1.3. 安全性評価

安全性評価項目として色素過剰沈着の程度、及び QTc 間隔のベースラインからの変化量を観察し、副次的な有効性評価項目として喀痰中菌塗抹検査結果を観察した。

色素過剰沈着の程度は血清中 CFZ 濃度が定常状態に到達した時点以降の任意の時点において主治医が 4 段階（無し、軽度、中等度、高度）に視覚的に分類した。本検討では、色素過剰沈着中等度以上の群では軽度以下の群と比較して定常状態の血清中 CFZ 濃度の平均値が高いと仮定した。2 群間の平均値の比較には Student's t-test を用い、有意水準 5%、検出力 80% と仮定した際に、目安となる症例数は 1 群あたり 17 例、計 34 例であると計算された。組み入れられた症例のうち途中で打ち切り又は追跡困難となる場合が 80%あると仮定した場合、目標とする症例数は 45 例が適切であると考えられた。なお、定常状態の血清中 CFZ 濃度の分散に関する情報がないため、色素過剰沈着軽度以下と中等度以上の 2 群間における効果差と

定常状態の血清中 CFZ 濃度の分散が等しいと仮定した。定常状態の血清中 CFZ 濃度は、構築された薬物動態予測モデルにより予測される患者個別の CL/F を用いて算出した。

QTc 間隔データは CFZ 服用開始前及び CFZ 開始後各来院日毎にルーチンに測定した 12 誘導心電図の結果を利用した。QTc 間隔のベースラインからの変化量と血清中 CFZ 濃度との関連性評価には線形混合効果モデルをあてはめて解析した。QTc 間隔測定日における血清中 CFZ 濃度は薬物動態予測モデルによって予測された患者個別予測値を使用した。線形混合効果モデルは、既出のガイダンス⁴⁷⁾に基づき式 1 を使用した。

$$\text{式 1 : } \Delta QTc_{ij} = \theta_1 + (\theta_2 + \eta_{2,i}) \cdot C_{ij} + \theta_3 \cdot (QTc_{i,j=0} - QTc_{0,mean}) + \theta_{covs} \cdot Covs$$

ここで ΔQTc_{ij} は患者 i の時点 j におけるベースラインからの QTc 間隔の変化量、 θ_1 はモデル切片、 θ_2 及び η_2 は血清中 CFZ 濃度に対する傾き及びその個体間変動、 C_{ij} は患者 i の時点 j における血清中 CFZ 濃度、 θ_3 はベースライン QTc 間隔の平均値からのズレに対する傾き、 θ_{covs} は共変量 (covs) に対する傾きをそれぞれ示す。 θ_2 の推定値の 95%信頼区間が 0 を跨いでいなければ、血清中 CFZ 濃度が QTc 間隔のベースラインからの変化量と有意に関連していると判定した。共変量の組み入れ方法は Stepwise 法⁴⁸⁾を用いて検討し、尤度比検定で P 値が 5%未満であった共変量を組み込んだ。

2. 結果

2.1. 患者背景

2020 年 6 月から 2021 年 2 月までの期間に 45 例の肺 NTM 症患者を組み入れた。組み入れられた患者は高齢の痩せ型の女性が多く、肺 NTM 症の母集団の特徴^{1),2)}とよく一致していた (表 3)。45 例中 2 例は主治医の判断により CFZ の投与量 100 mg/day が使用され、残りの 43 例は CFZ の投与量

が 50 mg/day であった。組み入れ時点において既に CFZ を使用していた患者は 14 例おり、CFZ 使用期間の平均値 \pm 標準偏差は 304.1 ± 124.3 日であった。

表 3 組み入れられた 45 例の患者背景

患者特性	年齢 (歳)	65.1 \pm 9.0
	体重 (kg)	45.3 \pm 9.2
	BMI (kg/m ²)	18.1 \pm 3.4
	女性	39 (86.7%)
CFZ の投与量	50 mg/day	43 (95.6%)
	100 mg/day	2 (4.4%)
起因菌	MAC	26 (57.8%)
	<i>M. abscessus</i>	13 (28.9%)
	<i>M. massiliense</i>	6 (13.3%)
併用薬	マクロライド系抗菌薬	32 (71.1%)
	エタンブトール	24 (53.3%)
	リファンピシン	22 (48.9%)
	リファブチン	5 (11.1%)
	アミカシン	43 (95.6%)
	シタフロキサシン	18 (40.0%)
	ファロペネム	8 (17.8%)
	イミペネム	14 (31.1%)

連続変数は平均値 \pm 標準偏差、不連続変数は N 数 (割合%) で示した。

2.2. 薬物動態解析

組み入れられた 45 例の患者から合計 144 点の血清中 CFZ 濃度データが得られた。測定された血清中 CFZ 濃度は全て定量下限値を上回った。得られた血清中 CFZ 濃度に対して非線形混合効果モデルをあてはめた結果、推定された CL/F 及び Vd/F の平均値 (95%信頼区間) はそれぞれ 57.8 (50.6–

66.0) L/day 及び 2960 (2558–3263) L であり、CL/F 及び Vd/F の個体間変動の平均値 (95%信頼区間) は、変動係数として 28.9 (16.9–36.7) %及び 24.8 (8.1–33.9) %であった。信頼区間はブートストラップ法 (1000 回) により求めた。ブートストラップ法の正常終了率は 99.4%であった。本モデルの視覚的モデル予測性能評価プロット及び適合度プロットを図 2、及び図 3 に示した。本節において構築した薬物動態予測モデルは実測値を良好に予測できていることが示された。本モデルにより推定された CFZ の半減期は 36 日であり、定常状態に到達するまで 144 日以上必要であることが明らかとなった。そこで CFZ による色素過剰沈着の評価日を CFZ 投与開始後 150 日以上が経過した任意の日として設定した。

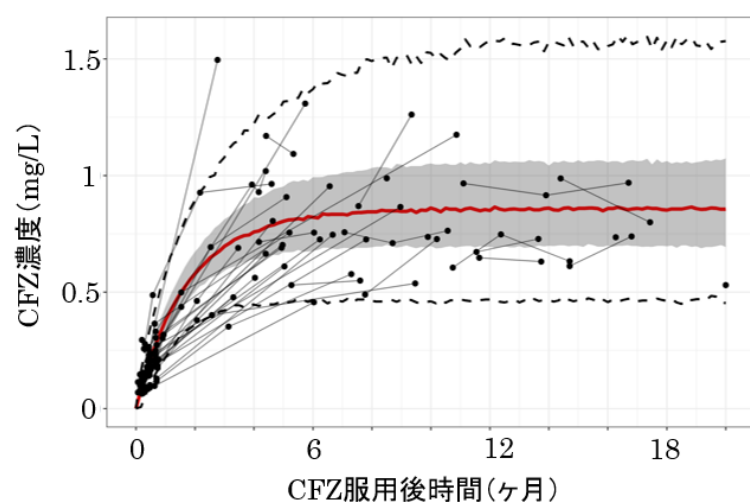


図 2 CFZ 50 mg/day 投与における薬物動態予測モデルの視覚的予測性能評価プロット

赤線：モデルによって予測される CFZ の平均血清中濃度推移、灰色範囲：モデルによって予測される血清中 CFZ 濃度推移の 50 パーセンタイル、点線範囲：モデルによって予測される CFZ の 95 パーセンタイル、黒点：実測の血清中 CFZ 濃度

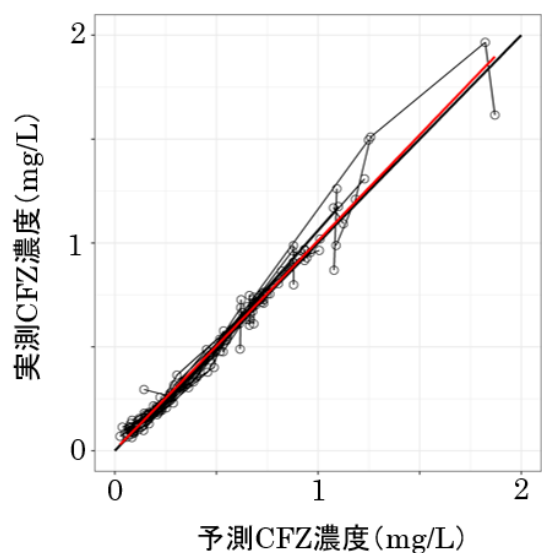


図 3 CFZ 50 mg/day 投与における薬物動態予測モデルの適合度プロット
x 軸はモデルによって予測される患者個別血清中 CFZ 濃度、黒線は $y=x$ の直線、赤線は局所回帰曲線を示す。決定係数は 0.99 であった。

2.3. 色素過剰沈着

本節において組み入れられた 45 例の患者のうち、色素過剰沈着の評価時点 (CFZ 投与開始後 150 日以上) まで継続できた症例は 40 例であった。1 例は追跡不能となり、4 例は CFZ 投与開始後 150 日以内に CFZ を自己中断した。色素過剰沈着の程度が評価できた 40 例のうち、3 例は無し、23 例は軽度、14 例は中等度に分類され、高度に分類された症例は無かった。色素過剰沈着軽度以下の群と中等度以上の 2 群間で定常状態の血清中 CFZ 濃度の平均値を比較すると、統計的な有意差は観察されなかった (図 4)。

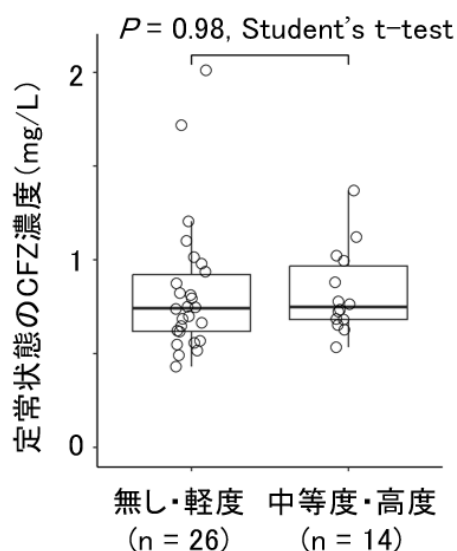


図 4 CFZ 50 mg/day 投与における定常状態の血清中 CFZ 濃度と色素過剰沈着の程度の関係

2.4. QTc 間隔のベースラインからの変化量

本節において組み入れられた 45 例の患者のうち、CFZ 開始前及び CFZ 開始後に 12 誘導心電図が測定された患者は 42 例であり、ベースライン測定値を除き合計 246 点の心電図データが得られた。得られたデータに対して線形混合効果モデル解析を実施したところ、血清中 CFZ 濃度に対する傾きの推定値が $14.6 \text{ ms} \cdot \text{L/mg}$ (95%信頼区間：4.1–25.1 $\text{ms} \cdot \text{L/mg}$) であったため、統計的に有意に CFZ の濃度上昇が QTc 間隔のベースラインからの延長量と関連していることが示された (表 4)。今回、Stepwise 法により組み入れられた共変量は無かった。線形混合効果モデルの視覚的モデル予測性能評価プロットを図 5 に示す。本節において観察された血清中 CFZ 濃度範囲において、薬剤の投与中止基準であるベースラインから 60 ms 以上の QTc 間隔の延長カットオフ値⁴⁹⁾を常に下回ることが示された。

表 4 線形混合効果モデル解析のパラメータ推定値

	平均値	95%信頼区間	個体間変動 (CV%)
切片 [ms]	4.0	-2.5 to 10.5	
血清中 CFZ 濃度 [mg/L]	14.6	4.1 to 25.0	71.8%
ベースライン QTc 間隔 [ms]	-0.3	-0.5 to -0.2	

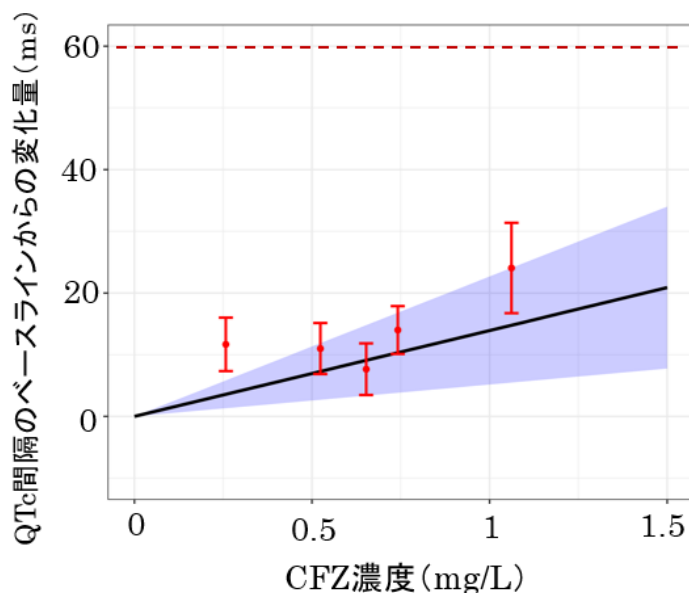


図 5 CFZ 50 mg/day 投与における線形混合効果モデルの視覚的予測性能評価プロット

x 軸はモデルによって予測される患者個別血清中 CFZ 濃度、赤点及びエラーバーは実測値を 5 つの区画に区切ったそれぞれの区画における平均値と 95%信頼区間、黒線及び青範囲はモデル予測の平均値及び 95%信頼区間を示す。赤い点線はベースラインから 60 ms の QTc 間隔延長を示す。

3. 考察

本研究では、経口投与製剤である CFZ の血清中濃度に対し、線形一次消失 1 コンパートメント持続注入モデルをあてはめた。CFZ は組織移行性が高く、その薬物動態特性は 2 コンパートメントモデルの挙動を示すことが報告されている⁵⁰⁾。しかし、薬物の投与間隔が半減期の 1/3 以下である場合、投与間隔中における薬物濃度の変動が 10%以内に収まるため、持続注入モデルで近似できる³⁶⁾。従って本研究で使用した薬物動態予測モデルは適切であったと考えられる。今回構築した薬物動態予測モデルにより予測

される CFZ の生体における半減期は約 1 ヶ月であった。一方、Schaad ら³⁷⁾は CFZ の半減期が 10.6 日であると報告しているが、その観察期間は約 10 日間であり、消失相のデータを含んでいなかったことから、その半減期の推定は正確ではなかった可能性が高いと考えられる。対称的に本研究ではほぼ全ての患者において、定常状態の血清中 CFZ 濃度データを 1 人 1 点以上含んでいるため、より正確な半減期の推定が達成できたと考えられる。また、本研究により CFZ が生体中からほぼ消失する期間が約半年程度であると推定された。これは、CFZ 誘発性の色素過剰沈着の副作用は CFZ 投与終了後、約半年間でその影響が消失するという報告³⁹⁾と一致していた。従って、本研究で推定された薬物動態パラメータは妥当であると考えられた。

色素過剰沈着の程度と定常状態の血清中 CFZ 濃度との関連を解析した結果、統計的な関連性は確認されなかった。本研究では色素過剰沈着の評価日を、CFZ 投与開始後 150 日以上が経過した任意の時点として設定したため、患者ごとに評価日が大きく異なっていた。特に本研究参加時点において既に CFZ による治療が開始されていた患者は平均 300 日以上 CFZ を使用していたため、CFZ 服用期間が色素過剰沈着評価結果に影響を及ぼしていた可能性が考えられた。そこで色素過剰沈着の程度と CFZ 服用期間との関連を比較検討したが、CFZ 服用期間が長いほど色素過剰沈着の程度が増悪する傾向は観察されなかった（図 6）。また、本解析では定常状態の血清中 CFZ 濃度は正規分布すると仮定して解析している。しかしながら、確認のため色素過剰沈着軽度以下と中等度以上の 2 群間の CFZ 濃度の比較に Mann-Whitney U-test を実施しても有意性は変化しなかった（ $P = 0.57$ ）。従って、本研究では色素過剰沈着の程度と定常状態の血清中 CFZ 濃度との間に有意な関連は無いと結論付けた。薬物動態解析の結果、CFZ のクリアランスの個体間変動は 29%と推定されたため、定常状態の血清中濃度も個

人ごとに変動係数として 3 割程度のばらつきだったと推定された。これは色素過剰沈着の程度の差を検討するには十分なばらつき幅ではなかった可能性があり、今後 CFZ の投与量 100 mg/day の患者を組み入れ、血清中 CFZ 濃度と色素過剰沈着の程度との関連性をより詳細に解析する必要がある。

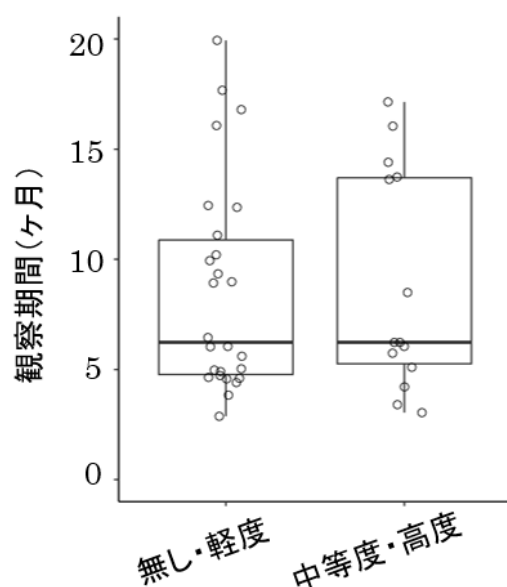


図 6 CFZ 50 mg/day 投与における観察期間と色素過剰沈着の関係

本研究において、血清中 CFZ 濃度が高いほど QTc 間隔が延長しやすいことが示されたが、血清中 CFZ 濃度に対する傾きの推定値の 95%信頼区間の幅 (4.1–25.0 ms・L/mg) が比較的広い結果となった。一般的に心電図検査は、検査手技による測定誤差が大きいことが知られている⁴⁷⁾。そのため、血清中 CFZ 濃度と QTc 間隔の解析方法についてまとめられている Scientific white paper では、心電図検査は 3 回実施し、その平均値を解析に用いることを推奨している⁴⁷⁾。しかしながら、本研究では各来院日毎に 1 回のみ心電図検査を実施し、その測定値を解析に使用したため、心電図検査の測定誤差が推定値の推定精度低下の原因であると考えられた。これにより線形混合効果モデル解析により共変量を特定できなかったと考えられる。しかし、血清中 CFZ 濃度に対する推定値の 95%信頼区間が 0 を含んで

いなかったことから、QTc 間隔のベースラインからの増加量が血清中 CFZ 濃度に関連するという本研究の新規知見を制限しないと結論付けた。線形混合効果モデルにより推定された血清 CFZ 濃度に対する傾きは $14.6 \text{ ms} \cdot \text{L/mg}$ であり、これは血清 CFZ 濃度が 1 mg/L のときに 14.6 ms の QTc 間隔の延長が予測されることを意味している。従って CFZ を 100 mg/day の投与量で使用した際の定常状態における血清中 CFZ 濃度が判明すれば QTc 間隔のベースラインからの延長量を予測することが可能となる。本研究で推定された CFZ 50 mg/day における定常状態の平均血清中濃度が 0.86 mg/L であり、CFZ 100 mg/day を使用しても薬物動態パラメータ、及び血清中濃度と QTc 間隔との関係が変化しないと仮定すると、 100 mg/day 使用時の定常状態における QTc 間隔のベースラインからの増加量は 24 ms (95%CI; $7-43 \text{ ms}$) であると予測された。これは推定値のばらつきを考慮しても薬剤性 QTc 延長症候群として投与を中止する基準である 60 ms 以上の延長カットオフ値を下回ることから、QTc 間隔の延長という観点からは、CFZ 100 mg/day は安全に使用できると考えられた。

【小括】

CFZ の半減期はおよそ 1 ヶ月であり、定常状態に到達するまで半年程度かかることが初めて明らかとなった。血清中 CFZ 濃度と色素過剰沈着の程度との間に関連は認められなかった。また、血清中 CFZ 濃度と QTc 間隔のベースラインからの変化量は有意に関連していたが、その変化量は臨床的に許容される範囲内であった。更に CFZ 100 mg/day を使用しても QTc 間隔の延長量は臨床的に許容される範囲内であると推定され、CFZ 100 mg/day は安全に使用できると考えられた。

【第二章：クロファジミンの投与量 50～100 mg/day における血清中濃度と副作用・効果の関連性評価】

第一章において CFZ 100 mg/day は安全に使用できると推測されたため、本章では CFZ 50～100 mg/day における安全性を検証することを目的とした。更に、CFZ の血清中濃度と有効性との関連を併せて評価した。

1. 方法

1.1. 試験デザイン及び研究対象集団

本研究では第一章第二節において CFZ 50 mg/day が投与された患者のうち、CFZ が 6 ヶ月以上継続できた症例のデータを後ろ向きに組み入れた。更に CFZ 100 mg/day が使用された肺 NTM 症患者を新たに組み入れた。患者組入基準は 20 歳以上で、起因菌は MAC, *M. abscessus*, *M. massiliense* のいずれかとした。CFZ 開始日が不明である患者、妊婦、CFZ が 6 ヶ月以上継続できなかった患者、及び医師が不適当と判断した患者は除外した。CFZ は 1 日 1 回昼食後に 100 mg/day が投与され、CFZ 以外の肺 NTM 症治療薬は国際ガイドライン¹⁾に基づいて主治医により適切に選択、及び投与量の調節が実施された。血清中 CFZ 濃度測定のための血液は、ルーチン検査で使用する血清の残余検体を使用したため患者への侵襲性は無かった。血清中 CFZ 濃度がトラフになる時間（CFZ 投与開始前 4 時間以内）にルーチン検査の採血を主治医に依頼してもらい、残余検体を濃度測定まで -80℃で保存した。CFZ 濃度のモニターは、CFZ 開始後 150 日以降に 2 点（1 ヶ月以上期間を空ける）をモニターした。CFZ の濃度測定は第一章第二節と同様に行った。本研究は複十字病院（承認番号：20005, 22013）及び明治薬科大学（202007）の研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。対象者からは事前に説明を行い、文書による同意を取得した。更に本研究は事前に臨

床試験登録（University Hospital Medical Information Network; UMIN 000041053）を実施した。

1.2. 薬物動態解析

測定した血清中濃度データには、第一章第二節と同様に NONMEM version 7.5.0（ICON Development Solutions, Hanover, MD）を用いて非線形混合効果モデルをあてはめた。線形一次消失 1 コンパートメント持続注入モデルを仮定し、固定効果として見かけのクリアランス（CL/F）及び見かけの分布容積（Vd/F）を推定した。変量効果として個体間変動には指数誤差、残差変動には混合誤差構造を使用した。また、本章では薬物動態パラメータに対する共変量の影響を、Stepwise 法⁴⁸⁾を用いて検討した。共変量の組み入れはべき乗モデルを使用した。検討した共変量は体重、BMI、年齢、性別、併用薬の有無とし、尤度比検定で P 値が 5%未満であった共変量を組み込んだ。薬物動態予測モデルの妥当性評価には適合度プロット、視覚的性能評価プロット、ブートストラップ法を使用した。グラフ化には R version 4.1.1 の ggplot2 パッケージ及び xpose4 パッケージを使用した。

1.3. 安全性評価

第一章と同様に、安全性評価項目として色素過剰沈着の程度、及び QTc 間隔のベースラインからの変化量を観察した。

色素過剰沈着の程度は血清中 CFZ 濃度が定常状態に到達した時点以降の任意の時点において主治医が 4 段階（無し、軽度、中等度、高度）に視覚的に分類した。本検討では、色素過剰沈着中等度以上の群では軽度以下の群と比較して定常状態の血清中 CFZ 濃度の平均値が高いと仮定した。定常状態の血清中 CFZ 濃度は、構築された薬物動態予測モデルにより予測さ

れる患者個別の CL/F を用いて算出した。

QTc 間隔データは CFZ 服用開始前及び CFZ 開始後各来院日毎にルーチンに測定した 12 誘導心電図の結果を利用した。QTc 間隔のベースラインからの変化量と血清中 CFZ 濃度との関連性評価には線形混合効果モデルをあてはめて解析した。QTc 間隔測定日における血清中 CFZ 濃度は薬物動態予測モデルによって予測された患者個別予測値を使用した。線形混合効果モデルは、既出のガイダンス⁴⁷⁾に基づき式 1 を使用した。

$$\text{式 1 : } \Delta QTc_{ij} = \theta_1 + (\theta_2 + \eta_{2,i}) \cdot C_{ij} + \theta_3 \cdot (QTc_{i,j=0} - QTc_{0,mean}) + \theta_{covs} \cdot Covs$$

ここで ΔQTc_{ij} は患者 i の時点 j におけるベースラインからの QTc 間隔の変化量、 θ_1 はモデル切片、 θ_2 及び η_2 は血清中 CFZ 濃度に対する傾き及びその個体間変動、 C_{ij} は患者 i の時点 j における血清中 CFZ 濃度、 θ_3 はベースライン QTc 間隔の平均値からのズレに対する傾き、 θ_{covs} は共変量 (covs) に対する傾きをそれぞれ示す。 θ_2 の推定値の 95%信頼区間が 0 を跨いでいなければ、血清中 CFZ 濃度が QTc 間隔のベースラインからの変化量と有意に関連していると判定した。共変量の組み入れ方法は Stepwise 法⁴⁸⁾を用いて検討し、尤度比検定で P 値が 5%未満であった共変量を組み込んだ。

1.4. 有効性評価

本研究では副次的評価項目として有効性を評価した。有効性の指標は喀痰中菌培養陰性化を使用した。喀痰中菌培養陰性化の基準は国際的にコンセンサスの得られた基準を使用し⁵¹⁾、1 ヶ月以上間隔を空けて採取された喀痰サンプルを用いた培養検査が 3 回連続して陰性化した状態とした。CFZ 治療開始前の最小発育阻止濃度 (MIC) 値は Clinical & Laboratory Standards Institute M24 third edition に従い、液体培地微量 2 倍希釈法¹¹⁾を

用いて測定した。液体培地には Cation-adjusted (pH7.4) Mueller-Hinton Broth を用い、MAC の MIC 値測定には Oleic albumin dextrose catalase (5%)を加えた。評価した MIC 値範囲はクラリスロマイシンが 0.25–64 mg/L、アミカシンが 4–128 mg/L、CFZ が 0.06–1 mg/L であった。マクロライド系抗菌薬に対する耐性化基準は MAC がクラリスロマイシンの MIC \geq 32 mg/L とし、*M. abscessus* 及び *M. massiliense* はクラリスロマイシンの MIC \geq 8 mg/L とした¹¹⁾。喀痰中菌培養陰性化の予測因子を明らかにするため、ロジスティック回帰分析を実施した。単変量ロジスティック回帰分析において有意水準 5%未満であった因子を全て多変量ロジスティック回帰モデルに組み入れ、調整オッズ比を算出した。検討した項目は、年齢、性別、起因菌、定常状態の血清中 CFZ 濃度の他に、喀痰中菌培養陰性化との関連性が報告されている外科的病変切除の有無¹⁾、肺空洞病変の有無⁵²⁾、マクロライド系抗菌薬に対する耐性化の有無¹⁰⁾⁻¹⁵⁾、及び CFZ 開始前の CFZ の MIC 値（カットオフ値：0.25 mg/L）⁵³⁾とした。

2. 結果

2.1. 患者背景

本研究では 71 例の肺 NTM 症患者が組み入れられた。71 例中 7 例は CFZ 投与開始後 2 ヶ月以内に副作用等により投与が中断されたため、残りの 64 例が解析対象集団となった。解析対象集団 64 例の患者背景を表 5 に示す。組み入れられた患者は高齢の痩せ型の女性が多く、肺 NTM 症の母集団の特徴とよく一致していた。

表 5 解析対象となった 64 例の患者背景

	MAC (n = 34)	<i>M. abscessus</i> (n = 19)	<i>M. massiliense</i> (n = 11)
年齢 (歳)	64.3 ± 7.8	63.5 ± 13.1	58.5 ± 12.1
体重 (kg)	46.5 ± 6.5	47.7 ± 13.1	50.0 ± 11.2
BMI (kg/m ²)	18.3 ± 2.2	19.5 ± 2.7	18.8 ± 3.5
女性	29 (85.3%)	15 (78.9%)	9 (81.8%)
CFZ の投与量			
50 (mg/day)	22 (64.7%)	9 (47.4%)	4 (36.4%)
100 (mg/day)	12 (35.3%)	10 (52.6%)	7 (63.6%)
マクロライド耐性	17 (50%)	19 (100%)	3 (27.3%)
手術による病変切除	23 (67.6%)	5 (26.3%)	0
観察期間 (ヶ月)	15.9 [12.0–23.3]	20.5 [11.1–27.6]	14.7 [11.0–26.6]
CFZ 使用期間 (ヶ月)	15.0 [10.5–24.8]	12.9 [10.3–23.8]	12.4 [10.8–16.5]

データは連続変数の場合、mean ± SD 又は median [interquartile range]、不連続変数の場合、n (%)で示した。

2.2. 薬物動態解析

64 例の患者から合計 178 点の血清中 CFZ 濃度データが得られ、定量下限値以下のデータは無かった。得られた血清中 CFZ 濃度データに対し、非線形混合効果モデルをあてはめた結果、表 6 に示す推定値が得られた。本解析では CL/F に対する共変量として年齢、V/F に対する共変量として BMI が特定された。解析による平均値とブートストラップ法による平均値が良好に一致しており、ブートストラップ法による解析の正常終了率が 100% であったことからモデルの頑健性は良好であった。薬物動態予測モデルの予測性能評価プロット (図 7)、及び実測値対予測値プロット (図 8) において、今回構築したモデルが実測値を良好に予測できていることが示された。更に、CFZ は 50 mg/day から 100 mg/day にかけて曝露量が 2 倍になっていることから、用量比例性の薬物動態特性を有していることが明らかとなった。

表 6 薬物動態予測モデルによる各パラメータ推定値

	平均値	相対標準誤差	Shrinkage	Bootstrap (n = 1000)	
				平均値	95%信頼区間
固定効果パラメータ					
CL/F (L/day)	70.6	4.6%		70.5	63.7 to 77.3
Vd/F (L)	3360	5.9%		3347	2986 to 3787
Age on CL/F	-0.6	32.4%		-0.6	-0.2 to -1.1
BMI on V/F	1.6	19.6%		1.6	0.9 to 2.3
変量効果パラメータ					
IIV of CL/F	32.6%	23.7%	8.2%	31.7%	24.4 to 39.8%
IIV of Vd/F	24.6%	35.0%	47.8%	23.3%	12.8 to 31.7%
Eta 1 (mg/L)	0.03	13.3%	22.2%	0.03	0.02 to 0.04
Eta 2 (CV%)	34.5%	9.2%		34.4%	31.2 to 37.3%

IIV は個体間変動、Eta は残差変動を示す。

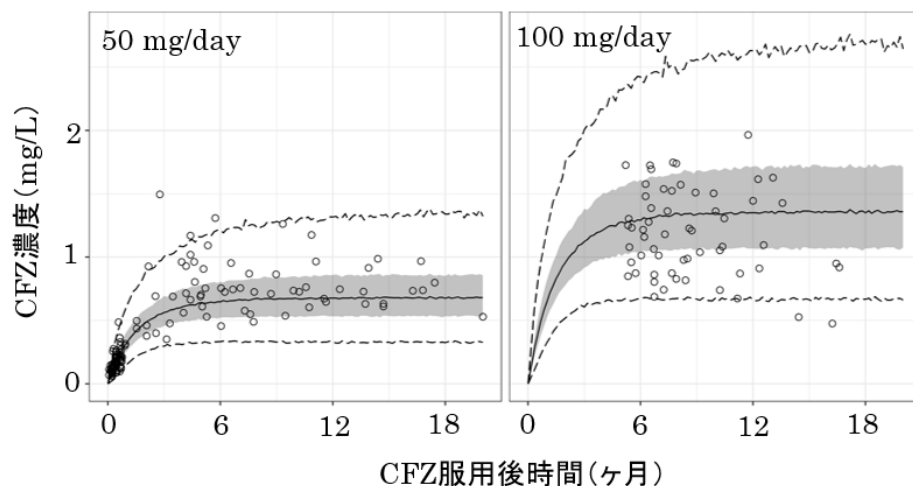


図 7 薬物動態予測モデルによる視覚的モデル予測性能評価プロット

黒太線：モデルによって予測される CFZ の平均血清中濃度推移、灰色範囲：モデルによって予測される血清中 CFZ 濃度推移の 50 パーセンタイル、点線範囲：モデルによって予測される CFZ の 95 パーセンタイル、黒点：実測の血清中 CFZ 濃度

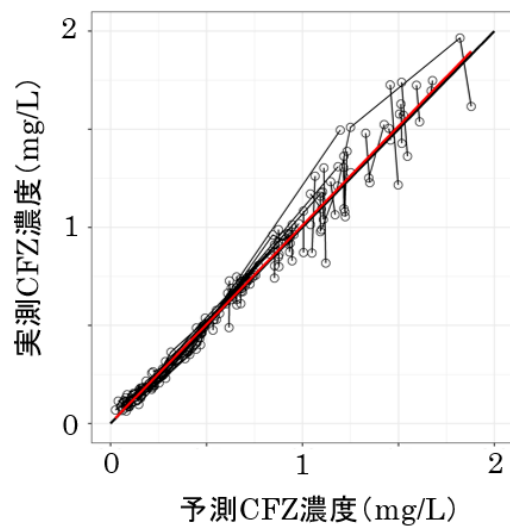


図 8 薬物動態予測モデルによる実測値対予測値プロット

x 軸はモデルによって予測される患者個別血清中 CFZ 濃度、黒線は $y=x$ の直線、赤線は局所回帰曲線を示す。決定係数は 0.99 であった。

2.3. 色素過剰沈着

解析対象集団 64 例中、色素過剰沈着無しが 3 例、軽度が 25 例、中等度が 32 例、高度が 4 例であった。色素過剰沈着中等度以上の群では軽度以下の群と比較して定常状態の血清中 CFZ 濃度の平均値が有意に高かった (図 9)。なお、定常状態の血清中 CFZ 濃度に対する Shapiro-Wilk 検定の結果、色素過剰沈着軽度以下の群では P 値が 0.20 であり、中等度以上の群では P 値が 0.12 であったことから正規性は棄却されなかった。

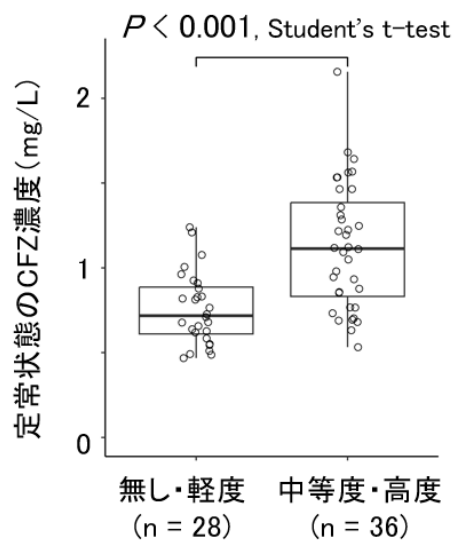


図 9 定常状態の血清中 CFZ 濃度と色素過剰沈着の関係

2.4. QTc 間隔のベースラインからの変化量

解析対象集団 64 例から合計 335 点の心電図データが得られ、線形混合効果モデルをあてはめた。線形混合効果モデルより得られたパラメータ推定値を表 7 に示す。血清中 CFZ 濃度に対する傾きは $17.3 \text{ ms} \cdot \text{L}/\text{mg}$ と推定され、95%信頼区間が 0 を跨いでいないことから、CFZ 100 mg/day 使用患者のデータを加えても統計的に有意に CFZ 濃度上昇が QTc 間隔延長のリスク因子であったことが示された。しかしその延長量は、今回観察された全ての濃度域において、薬剤投与中止基準であるベースラインから 60 ms の延長⁴⁹⁾を下回った (図 10)。また、共変量として女性は男性と比較して有意に QTc 間隔が延長しやすいことが特定された。シタフロキサシンの併用は QTc 間隔を延長する傾向が示されたが、95%信頼区間の下限値が 0 をやや下回ったため統計的な有意差は確認されなかった。

表 7 線形混合効果モデル解析のパラメータ推定値

	平均値	95%信頼区間	個体間変動 (CV%)
切片 [ms]	1.7	-4.9 to 8.2	

血清中 CFZ 濃度 [ms・L/mg]	17.3	3.9 to 25.4	68.8%
ベースライン QTc 間隔 [ms]	-0.3	-0.5 to -0.1	
女性 [ms]	4.8	0.5 to 16.0	
シタフロキサシン併用 [ms]	8.3	-0.8 to 10.3	

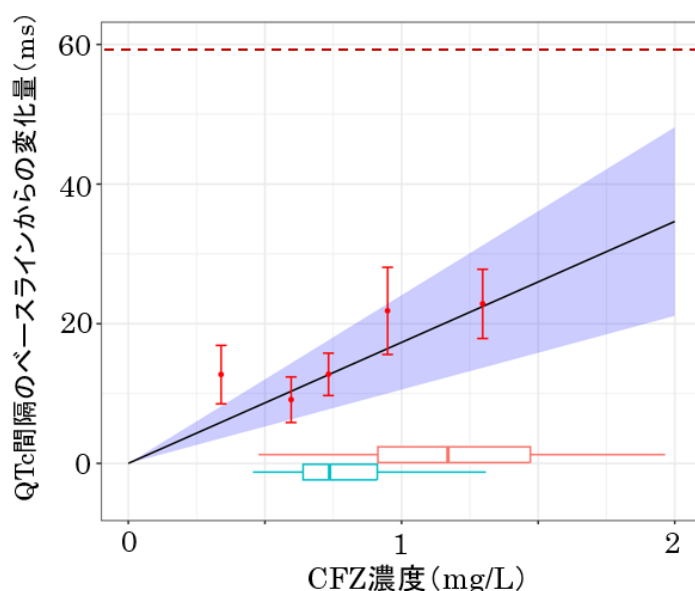


図 10 線形混合効果モデル解析の視覚的予測性能評価プロット

x 軸はモデルによって予測される患者個別血清中 CFZ 濃度、赤点及びエラーバーは実測値を 5 つの区画に区切ったそれぞれの区画における平均値と 95%信頼区間、黒線及び青範囲はモデル予測の平均値及び 95%信頼区間を示す。青い箱ひげ図は 50 mg/day における定常状態の血清中濃度域、赤い箱ひげ図は 100 mg/day における定常状態の血清中濃度域を示す。赤い点線はベースラインから 60 ms の QTc 間隔延長を示す。

2.5. 喀痰中菌塗抹陰性化効果

本研究では 64 例中 33 例 (51.6%) で喀痰中菌培養陰性化が得られた。陰性化までの期間の中央値は 2.5 ヶ月 (四分位範囲が 1.8–2.5 ヶ月) であった。起因菌ごとの喀痰中菌培養陰性化率は肺 MAC 症で 34 例中 14 例 (41.2%)、肺 *M. abscessus* 症が 19 例中 11 例 (58.0%)、肺 *M. massiliense* 症が 11 例中 8 例 (72.7%) であった。CFZ 治療開始前の MIC 値と喀痰中菌培養陰性化の有無との間に関連性は認められなかった (図 11)。ロジスティック回帰分析による解析結果を表 8 に示す。本研究では病変部外科的切除

のみが統計的に有意な説明変数であったため、多変量ロジスティック回帰分析は実施しなかった。

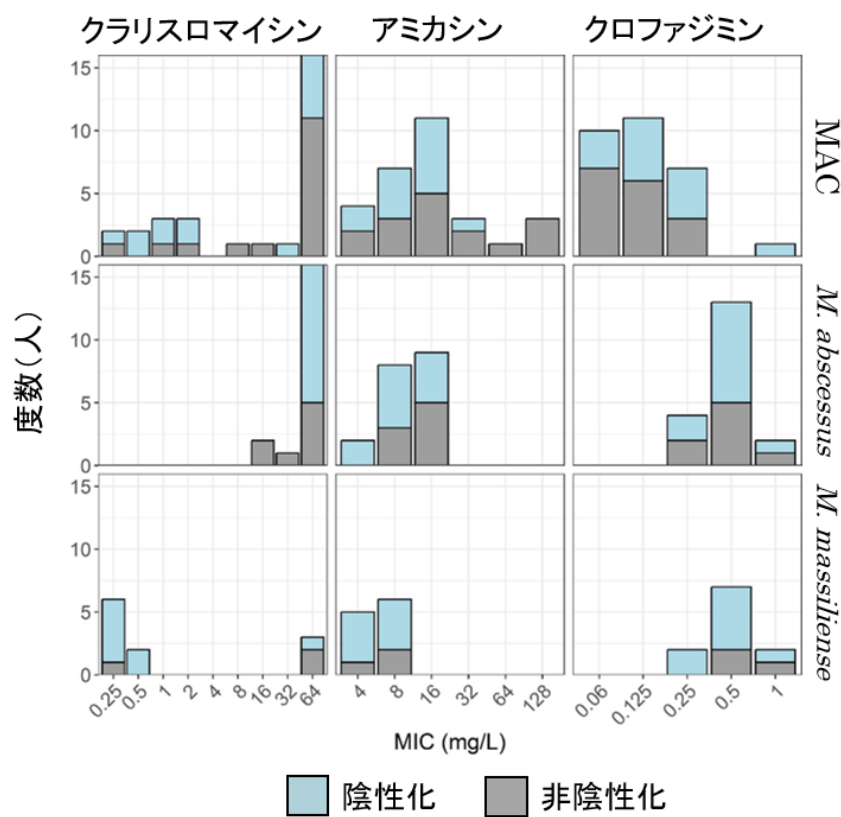


図 11 喀痰中菌培養陰性化の有無と MIC 値の関係

MIC 値は CFZ 治療開始前に測定された。陰性化は喀痰中菌培養陰性化が得られた症例を示し、非陰性化は喀痰中菌培養陰性化が得られなかった症例を示す。

表 8 喀痰中菌培養陰性化と関連する因子の検討

	陰性化 (N = 33)	非陰性化 (N = 31)	単変量ロジスティック回帰分析 P 値
年齢 (歳)	61.1 ± 11.8	65.2 ± 8.4	0.116
男性	7 (21.2%)	4 (12.9%)	0.383
喀痰塗抹陽性	16 (48.5%)	21 (67.7%)	0.122
肺 MAC 症	14 (42.4%)	20 (64.5%)	0.079
肺 <i>M. abscessus</i> 症	11 (33.3%)	8 (25.8%)	0.511
肺 <i>M. massiliense</i> 症	10 (30.3%)	3 (9.7%)	0.051
空洞病変	20 (60.6%)	23 (74.2%)	0.250
病変部の外科的切除	9 (27.3%)	2 (6.5%)	0.041

マクロライド系抗菌薬に対する耐性	18 (54.5%)	21 (67.7%)	0.281
CFZ の MIC 値が 0.25 mg/L 以下	16 (48.5%)	18 (58.1%)	0.200
定常状態の血清中 CFZ 濃度 (mg/L)	1.0 ± 0.4	0.9 ± 0.3	0.129

陰性化は喀痰中菌培養陰性化が得られた患者、非陰性化は喀痰中菌培養陰性化が得られなかった患者を示す。単変量ロジスティック回帰分析において統計的に有意だった説明変数は1つのみだったため、多変量ロジスティック回帰分析は実施しなかった。

3. 考察

これまで CFZ は 50 mg/day から 100 mg/day の投与量において用量比例性があるか報告されていなかった。本研究では CFZ 50 mg/day 使用時、及び 100 mg/day 使用時の血清中濃度データを解析し、その血清中濃度が投与量に概ね比例していることが示され、用量比例性の関係が初めて明らかとなった。これは、CFZ の投与量を 100 mg/day から 50 mg/day に検量することで、その生体中における曝露量を半分に減らすことができることを意味し、臨床的に有用な情報源となる。

第一章第二節において CFZ 50 mg/day 使用患者を対象に血清中 CFZ 濃度と色素過剰沈着の程度との関連を評価したところ、統計的な有意差は確認されなかったが、本章において CFZ 100 mg/day 使用患者のデータを追加したことで統計的な有意差が確認された。これは、同じ投与量中での血清中濃度の変動の範囲（変動係数として 30%程度）であれば色素過剰沈着の程度に差は見られないが、CFZ を倍量投与すると平均的に色素過剰沈着の程度が重くなりやすいことを意味する。しかし色素過剰沈着の評価は主治医が主観的に評価したためバイアスが入る余地がある。本研究において血清中 CFZ 濃度測定値は医師に対して盲検化されていたが、CFZ の投与量は盲検化されていなかったため、投与量が色素過剰沈着の程度の評価に影響を与えた可能性がある。しかし近年、CFZ 使用患者において色素量を機械的に評価した研究が実施され、CFZ の暴露量を減じることで皮膚色素量を減

少させられることが報告された⁵⁴⁾。従って、CFZ 誘発性の色素過剰沈着の副作用は CFZ の投与量を減量することでその程度を減弱させられると結論付けた。

QTc 間隔のベースラインからの変化量に対し線形混合効果モデルをあてはめた結果、血清中 CFZ 濃度に対する傾きの推定値が 17.3 ms (95%信頼区間：3.9–25.4 ms) であった。また、本章において推定された定常状態の血清中 CFZ 濃度は 50 mg/day 投与時は 0.71 mg/L であり、100 mg/day 投与時は 1.42 mg/L であった。従って、定常状態の平均血清中濃度において想定される QTc 間隔の延長量は、CFZ 50 mg/day 投与時は 12 ms (95%信頼区間：3–18 ms)、100 mg/day 投与時は 24 ms (95%信頼区間：6–36 ms) であった。更に、本研究において観察された CFZ の全ての濃度域において薬剤投与中止基準であるベースラインからの 60 ms 以上の QTc 間隔の延長⁴⁹⁾を超えることはなかった (図 10)。従って、CFZ 自体が有する QTc 間隔延長リスクは臨床的に許容される範囲内であると考えられた。しかしながら QTc 間隔延長のリスク因子として、低カリウム血症、女性、マクロライド系抗菌薬やキノロン系抗菌薬の併用が報告されており⁴⁹⁾、肺 NTM 症患者はこれらのリスク因子を多く有するため、CFZ 使用中の患者では QTc 間隔に注意が必要であると考えられる。本章においても女性患者は男性患者と比較して 5 ms 程度 QTc 間隔が延長しやすい結果となった (表 7)。また、シタフロキサシンの併用では統計的な有意差が確認されなかったが、非併用患者と比較して QTc 間隔が延長しやすいことが観察された (表 7)。一方、血清カリウム値やマクロライド系抗菌薬の併用は QTc 間隔のベースラインからの変化量に対する有意な共変量にはならなかった。しかしながら、これは下記に示す本研究の解析上の限界により共変量として特定できなかったためであると考えられる。マクロライド系抗菌薬は肺 NTM 症治療に

おけるキードラッグであるため^{1),2)}、CFZ 投与開始時（ベースライン時）から併用されている患者では、その後も一貫して併用されていた。従って QTc 間隔のベースラインからの変化量を解析対象とした本研究ではその影響を評価できなかったと考えられる。また、肺 NTM 症患者の多くは症状が安定しており、外来で治療を受けているため、異常な低カリウム血症患者はほとんど含まれていなかった。従って血清カリウム値が QTc 間隔へ及ぼす影響も評価が困難であったと考えられる。以上より、CFZ 自体が有する QTc 間隔延長リスクは臨床的に許容される範囲内であるが、肺 NTM 症患者は高齢の痩せ型の女性に多く、マクロライド系抗菌薬やキノロン系抗菌薬が併用されやすいことから、心電図に注意を払いながら使用する必要があると考えられた。

本章において、治療効果の指標として喀痰中菌培養陰性化を評価し、定常状態の血清中 CFZ 濃度との関連を解析した。しかしながら、肺 NTM 症の治療効果には様々な宿主要因や環境要因が影響するため、薬剤の効果との関連性が評価しにくいことが知られている。比較的軽症の肺 MAC 症患者では約 2～3 割程度^{4),5)}、肺 *M. abscessus* species 症においても 3 割程度⁸⁾は抗菌化学療法を実施しなくても自然発生的な喀痰中菌培養陰性化が得られることが報告されていることから、宿主の免疫状態が重要な交絡要因と考えられる。また、肺 NTM 症の起因菌は水系や土系など様々な自然環境に存在する菌であるため日和見感染することが知られている⁵⁵⁾。12 ヶ月以上治療しても喀痰中菌培養陰性化が得られなかった肺 MAC 症患者 72 例を調査した研究では、約半数で治療中の菌株の遺伝子型が治療開始前の菌株の遺伝子型と異なっていたことが報告され、治療中の持続感染の可能性が示唆されている⁵⁶⁾。このように、日常的に計測することが困難である宿主・環境要因が治療効果に対する重大な交絡要因になると考えられる。実

際にこれまで肺 NTM 症に用いられる抗菌薬の血中濃度と治療効果との関連性を評価した報告では、キードラッグであるマクロライド系抗菌薬を含めて、いずれの報告においても有意な関連性は認められていない^{57),58)}。一方 Zweijpfenning ら⁵⁸⁾は肺 MAC 症患者を対象として CFZ、マクロライド系抗菌薬、エタンブトール、リファンピシンの血中濃度と治療効果との関係性を評価したところ、喀痰中菌培養陰性化が得られた群において有意に CFZ の血中濃度が高かったことを報告した。しかし、CFZ が使用された患者は 21 例と少なく、統計検定の回数の多さから第一種の過誤があった可能性を筆者は議論している⁵⁸⁾。また、Lee ら⁵⁹⁾は重症の肺 MAC 症患者 170 例を対象に喀痰中菌培養陰性化の予測因子を検討したが、CFZ の投与量 (50 mg/day 及び 100 mg/day) は喀痰中菌培養陰性化とは関連していなかったことを報告した。従って、これまで肺 NTM 症の治療効果と、CFZ の曝露量との関連性については一致した見解が得られていないのが現状である。本研究においても定常状態の血清中 CFZ 濃度と喀痰中菌培養陰性化効果との関連は確認されなかった (表 8)。この点を明らかにするためには、大規模な臨床試験を実施し、宿主・環境要因を同時に評価する必要があると考えられた。

【小括】

CFZ の薬物動態学的特性は 50 mg/day から 100 mg/day にかけて用量比例性の関係にあることが初めて明らかとなった。色素過剰沈着の程度が中等度以上の患者では、軽度以下の患者と比較して定常状態の血清中 CFZ 濃度が有意に高いことが明らかとなった。また、CFZ の血清中濃度と QTc 間隔のベースラインからの変化量は有意に関連しており、100 mg/day 使用時において 6–36 ms 程度の QTc 間隔の延長が見積もられた。一方、喀痰中菌培

養陰性化との関連性は観察されなかった。以上の結果から、CFZ 100 mg/day は肺 NTM 症患者に対して比較的安全に投与することが可能であることが示され、更に CFZ の投与量を減量することで CFZ 誘発性の色素過剰沈着及び QTc 間隔延長の副作用の程度を減弱することが可能であることが示された。

【総括】

本研究は、CFZ の薬物動態特性、及び CFZ の安全性を明らかにした初めての研究である。肺 NTM 症治療は長期間の治療継続が必要であるが、本研究で得られた知見に基づき、下記 4 点を通じて、CFZ 誘発性の副作用を適切に管理し、肺 NTM 症治療の安全性の向上、及び治療継続による治療効果増大に資すると考えられる。

- CFZ 誘発性の色素過剰沈着は CFZ の投与量を減量することで、その程度を減弱させることが可能である。従って、より軽度の色素過剰沈着の副作用であれば治療継続が可能な肺 NTM 症患者に対し、CFZ を減量することで治療が継続可能になる
- CFZ の半減期は約 1 ヶ月間であることから、CFZ の投与量を半分に減量する際に、1 ヶ月間投与を休止してから半量を再開することで、速やかに半量の定常状態へ移行させることが可能になる
- CFZ 100 mg/day 使用時の QTc 間隔の延長量は、ベースライン時と比較して 6–36 ms であると見積もられたことから、この延長量が許容できない肺 NTM 症患者に対して CFZ の投与量を予め減じて投与するなどの投与設計が可能になる
- CFZ 誘発性の副作用は血清中 CFZ 濃度と関連しており、更に、血清中 CFZ 濃度は投与開始後半年間上昇し続けることから、CFZ 投与開始後半年間は経過観察を強化することで副作用の早期発見に繋がることが期待される

これらの知見は、肺 NTM 症における CFZ の用量設定、及び適正使用の一助になり得ると考えられる。

【謝辞】

本研究遂行にあたり、終始多大なるご指導ご鞭撻を賜りました明治薬科大学 薬物動態学研究室 花田和彦教授に厚く御礼申し上げます。

本論文の執筆に際し、多大なる有益なご助言とご指導を賜りました明治薬科大学 医療分子解析学研究室 植沢芳広教授、同大学 微生物学研究室 松本靖彦准教授、同大学 薬理学研究室 野澤玲子准教授に心より感謝致します。

本研究の遂行に際し、終始多大なるご協力と貴重なご助言を賜りました公益財団法人 結核予防会 複十字病院 呼吸器内科 森本耕三医師、古内浩司医師、藤原啓司医師、伊藤優志医師、児玉達哉医師、倉島篤行医師、吉山崇医師、及び公益財団法人 結核予防会 結核研究所 抗酸菌部 御手洗聡教授、青野昭男博士に深く感謝致します。

また、博士課程在学時に日本薬学会長井記念薬学研究奨励金にご支援を頂きましたことで研究に集中することが出来ましたので厚く感謝申し上げます。

最後に、日々の研究生活において、常に支え励ましてくれた家族に心から感謝致します。

【参考文献】

- 1) Daley C. L., Iaccarino J. M., Lange C., Cambau E., Wallace R. J. Jr., Andrejak C., Böttger E. C., Brozek J., Griffith D. E., Guglielmetti L., Huitt G. A., Knight S. L., Leitman P., Marras T. K., Olivier K. N., Santin M., Stout J. E., Tortoli E., van Ingen J., Wagner D., Winthrop K. L., *Eur Respir J.*, **56**, 2000535 (2020).
- 2) 日本結核・非結核性抗酸菌症学会 非結核性抗酸菌症対策委員会, 日本呼吸器学会 感染症・結核学術部会, 成人肺非結核性抗酸菌症化学療法に関する見解—2023 年改定—, *kekkaku*, **98**, 1-11 (2023).
- 3) Jeon D., *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. **82**, 94-101 (2019).
- 4) Hwang J. A., Kim S., Jo K. W., Shim T. S. *Eur Respir J.*, **49**, 1600537 (2017).
- 5) Moon S. M., Jhun B. W., Baek S. Y., Kim S., Jeon K., Ko R. E., Shin S. H., Lee H., Kwon O. J., Huh H. J., Ki C. S., Lee N. Y., Chung M. J., Lee K. S., Shin S. J., Daley C. L., Koh W. J., *Respir Med.*, **151**, 1-7 (2019)
- 6) Kim O. H., Chong Y. P., Shim T. S., Jo K. W., *J Infect Chemother.*, **27**, 1156-1161 (2021).
- 7) Wallace R. J. Jr., Brown-Elliott B. A., McNulty S., Philley J. V., Killingley J., Wilson R. W., York D. S., Shepherd S., Griffith D. E., *Chest.*, **146**, 276-282 (2014).
- 8) Jo K. W., Park Y. E., Chong Y. P., Shim T. S., *PLoS One.*, **15**, e0232161 (2020).
- 9) Im Y., Hwang N. Y., Kim K., Kim H., Kwon O. J., Jhun B. W., *Chest.*, **161**, 1192-1200 (2022).
- 10) Chaisson R. E., Benson C. A., Dube M. P., Heifets L. B., Korvick J. A., Elkin S., Smith T., Craft J. C., Sattler F. R., *Ann Intern Med.*, **121**, 905-911 (1994).
- 11) Clinical and Laboratory Standards Institute, *M24*, 3rd ed., Wayne, PA: CLSI,

2018.

- 12) Nasiri M. J., Ebrahimi G., Arefzadeh S., Zamani S., Nikpor Z., Mirsaeidi M.,
Expert Rev Anti Infect Ther. **18**, 263-273 (2020).
- 13) Hayashi M., Takayanagi N., Kanauchi T., Miyahara Y., Yanagisawa T., Sugita Y.,
Am J Respir Crit Care Med., **185**, 575-583 (2012).
- 14) Griffith D. E., Brown-Elliott B. A., Langsjoen B., Zhang Y., Pan X., Girard W., Nelson K., Caccitolo J., Alvarez J., Shepherd S., Wilson R., Graviss E. A., Wallace R. J. Jr.,
Am J Respir Crit Care Med., **174**, 928-934 (2006).
- 15) Morimoto K., Namkoong H., Hasegawa N., Nakagawa T., Morino E., Shiraishi Y., Ogawa K., Izumi K., Takasaki J., Yoshiyama T., Hoshino Y., Matsuda S., Hayashi Y., Sasaki Y., Ishii M., Kurashima A., Nishimura T., Betsuyaku T., Goto H.,
Ann Am Thorac Soc., **13**, 1904-1911 (2016).
- 16) Moon S. M., Park H. Y., Kim S. Y., Jhun B. W., Lee H., Jeon K., Kim D. H., Huh H. J., Ki C. S., Lee N. Y., Kim H. K., Choi Y. S., Kim J., Lee S. H., Kim C. K., Shin S. J., Daley C. L., Koh W. J.,
Antimicrob Agents Chemother., **60**, 6758-6765 (2016).
- 17) Weng Y. W., Huang C. K., Sy C. L., Wu K. S., Tsai H. C., Lee S. S.,
J Formos Med Assoc., **119**, S58-S66 (2020).
- 18) Kim J. Y., Kim N. Y., Jung H. W., Yim J. J., Kwak N.,
BMC Pulm Med. **22**, 269 (2022).
- 19) Ichiki H., Watanabe A., Ueda S., Sato C., Abe M.,
Kekkaku., **87**, 487-90 (2012).
- 20) Adjemian J., Prevots D. R., Gallagher J., Heap K., Gupta R., Griffith D.,
Ann Am Thorac Soc., **11**, 9-16 (2014).
- 21) van I. J., Wagner D., Gallagher J., Morimoto K., Lange C., Haworth C. S.,

- Floto R. A., Adjemian J., Prevots D. R., Griffith D. E.; NTM-NET., *Eur Respir J.*, **49**, 1601855 (2017).
- 22) Kwon Y. S., Kwon B. S., Kim O. H., Park Y. E., Shim T. S., Chong Y. P., Jo K. W., *J Korean Med Sci.*, **35**, e59 (2020).
- 23) Yano T., Kassovska-Bratinova S., Teh J. S., Winkler J., Sullivan K., Isaacs A., Schechter N. M., Rubin H., *J Biol Chem.* **286**, 10276-10287 (2011).
- 24) Oliva B., O'Neill A. J., Miller K., Stubbings W., Chopra I., *J Antimicrob Chemother.*, **53**, 435-440 (2004).
- 25) van Ingen J., Totten S. E., Helstrom N. K., Heifets L. B., Boeree M. J., Daley C. L., *Antimicrob Agents Chemother.*, **56**, 6324-6327 (2012).
- 26) Ferro B. E., Meletiadiis J., Wattenberg M., de Jong A., van Soolingen D., Mouton J. W., van Ingen J., *Antimicrob Agents Chemother.*, **60**, 1097-1105 (2015).
- 27) Yang B., Jhun B. W., Moon S. M., Lee H, Park H. Y., Jeon K., Kim D. H., Kim S. Y., Shin S. J., Daley C. L., Koh W. J., *Antimicrob Agents Chemother.*, **61**, e02052-16 (2017).
- 28) Jarand J., Davis J. P., Cowie R. L., Field S. K., Fisher D. A., *Chest.*, **149**, 1285-1293 (2016).
- 29) 第 25 次審査情報提供事例（医科），令和 3 年 9 月 27 日提供分，社会保険診療報酬支払基金.
- 30) World Health Organization, Regional Office for South-East Asia: guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of leprosy. New Delhi, 2017.
- 31) Moore V. J., *Lepr Rev.* **54**, 327-335 (1983).
- 32) Pym A. S., Diacon A. H., Tang S. J., Conradie F., Danilovits M., Chuchottaworn C., Vasilyeva I., Andries K., Bakare N., De Marez T., Haxaire-

- Theeuwes M., Lounis N., Meyvisch P., Van Baelen B., van Heeswijk R. P., Dannemann B., *Eur Respir J.*, **47**, 564-574 (2016).
- 33) Radtke K. K., Hesselning A. C., Winckler J. L., Draper H. R., Solans B. P., Thee S., Wiesner L., van der Laan L. E., Fourie B., Nielsen J., Schaaf H. S., Savic R. M., Garcia-Prats A. J., *Clin Infect Dis.*, **74**, 1372-1381 (2022).
- 34) 渡辺史也, 古内浩司, 藤原啓司, 上杉夫彌子, 南宮湖, 倉島篤行, 長谷川直樹, 花田和彦, 森本耕三. 肺非結核性抗酸菌症におけるクロファジミンの使用について. *Kekkaku.*, **97**, 111-119 (2022).
- 35) Roden D. M., *J Physiol.*, **594**, 2459-2468 (2016).
- 36) Rowland M., Tozer T. N., 2010. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics, 4th ed. Lippincott: Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
- 37) Schaad-Lanyi Z., Dieterle W., Dubois J. P., Theobald W., Vischer W., *Int J Lepr Other Mycobact Dis.*, **55**, 9-15 (1987)
- 38) Tsuchiwata S., Mihara K., Yafune A., Ogata H., *Ther Drug Monit.*, **27**, 18-24 (2005).
- 39) World Health Organization, The final push strategy to eliminate leprosy as a public health problem: questions and answers, (2018).
- 40) Watanabe F., Morimoto K., Hanada K., *Japan J of Ther Drug Monit.*, **39**, 17-24 (2022).
- 41) Hee K. H., Seo J. J., Lee L. S., *J Pharm Biomed Anal.*, **102**, 253-260 (2015)
- 42) Gao S., Wang Z., Xie X., You C., Yang Y., Xi Y., Chen W., *Tuberculosis (Edinb)*. **109**, 28-34 (2018).
- 43) Wu S., Lan L., Jiang J., Ding X., Ho C. M., Lou Y., Fan G., *J Pharm Biomed Anal.*, **168**, 44-54 (2019).
- 44) Barrett B., Borek-Dohalský V., Fejt P., Vaingátová S., Huclová J., Nemec B.,

- Jelínek I., *Anal Bioanal Chem.* **383**, 210-217 (2005).
- 45) Bioanalytical method validation guidance for industry. U. S. Food and Drug Administration, (2018).
 - 46) Le Guellec C., Gaudet M. L., Lamanetre S., Breteau M., *Ther Drug Monit.*, **19**, 669-674 (1997).
 - 47) Garnett C., Bonate P. L., Dang Q., Ferber G., Huang D., Liu J., Mehrotra D., Riley S., Sager P., Tornoe C., Wang Y., *J Pharmacokinet Pharmacodyn.*, **45**, 383-397 (2018).
 - 48) Byon W., Smith M. K., Chan P., Tortorici M. A., Riley S., Dai H., Dong J., Ruiz-Garcia A., Sweeney K., Cronenberger C., *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* **2**, e51 (2013).
 - 49) Tisdale J. E., *Can Pharm J (Ott).*, **149**, 139-152 (2016).
 - 50) Abdelwahab M. T., Wasserman S., Brust J. C. M., Gandhi N. R., Meintjes G., Everitt D., Diacon A., Dawson R., Wiesner L., Svensson E. M., Maartens G., Denti P., *J Antimicrob Chemother.*, **75**, 3269-3277 (2020).
 - 51) van Ingen J., Aksamit T., Andrejak C., Böttger E. C., Cambau E., Daley C. L., Griffith D. E., Guglielmetti L., Holland S. M., Huitt G. A., Koh W. J., Lange C., Leitman P., Marras T. K., Morimoto K., Olivier K. N., Santin M., Stout J. E., Thomson R., Tortoli E., Wallace R. J. Jr, Winthrop K. L., Wagner D.; for NTM-NET., *Eur Respir J.*, **51**, 1800170 (2018).
 - 52) Ito Y, Hirai T, Maekawa K, Fujita K, Imai S, Tatsumi S, Handa T, Matsumoto H, Muro S, Niimi A, Mishima M., *Int J Tuberc Lung Dis.*, **16**, 408-411 (2012).
 - 53) Kwak N., Whang J., Yang J. S., Kim T. S., Kim S. A., Yim J. J., *Chest.*, **159**, 517-523 (2021).
 - 54) Ito M., Watanabe F., Furuuchi K., Fujiwara K., Kodama T., Ohe T., Tanaka Y.,

Yoshiyama T., Ohta K., Morimoto K., *Intern Med.*, *in press*.

55) Sharma S. K., Upadhyay V., *Indian J Med Res.*, **152**, 185-226 (2020).

56) Jhun B. W., Kim S. Y., Moon S. M., Jeon K., Kwon O. J., Huh H. J., Ki C. S.,
Lee N. Y., Shin S. J., Daley C. L., Koh W. J., *Am J Respir Crit Care Med.*,
198, 1322-1330 (2018).

57) Koh W. J., Jeong B. H., Jeon K., Lee S. Y., Shin S. J., *Am J Respir Crit Care Med.*, **186**, 797-802 (2012).

58) Zweijpfenning S. M. H., Aarnoutse R., Boeree M. J., Magis-Escurra C.,
Stemkens R., Geurts B., van Ingen J., Hoefsloot W., *Chest.*, **165**, 1082-1092
(2024).

59) Lee I., Hwang E. J., Kim J. Y., Yim J. J., Kwak N., *Open Forum Infect Dis.*,
11, ofad682 (2023).