HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Validated LC-MS/MS method for profiling endogenous probes of OATP1B during pregnancy: Simultaneous quantification of plasma bile acid-O-sulfates using a metal-free PEEK column

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2025-12-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 黒澤, 優子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000658

博士（医学）黒澤　優子
論文題目
Validated LC-MS/MS method for profiling endogenous probes of OATP1B during pregnancy: Simultaneous quantification of plasma bile acid-*O*-sulfates using a metal-free PEEK column
（妊娠中における OATP1B 内因性プローブのプロファイリングを目指した LC-MS/MS 法の構築およびバリデーション : メタルフリーPEEK カラムを用いた血漿胆汁酸-*O*-硫酸塩の同時定量）

論文の内容の要旨
［はじめに］
有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B は様々な薬物の肝細胞内への取り込みに関与し、基質薬物の体内動態プロファイルに直接的な影響を与え、さらには基質薬物同士の薬物間相互作用を引き起こす可能性がある。いくつかの薬剤の薬物動態プロファイルは妊娠の進行の影響を受けることが報告されており、その原因として妊婦における代謝酵素およびトランスポーターの活性変化が考えられている。
スタチンは OATP1B 活性の定量評価における標準的な外因性プローブであるが、コレステロール生合成を阻害するため胎児へのリスクがあり、妊婦への使用を禁忌としている国もある。したがって、胎児毒性のある外因性プローブの使用を避けるために、妊娠中の OATP1B 活性評価には OATP1B の内因性プローブの使用が望ましい。
OATP1B の内因性基質であるグリコリトコール酸 3-*O*-硫酸塩（GLCA-S）とグリコケノデオキシコール酸 3-*O*-硫酸塩（GCDCA-S）は主要な胆汁酸-*O*-硫酸塩化合物であり、臨床試験では、これらの血漿中濃度が健常者における OATP1B 活性と相関していることが明らかになっている。しかし、一般的なステンレス製の分析カラムによる測定法では、胆汁酸硫酸塩がカラム由来の金属部分と相互作用しピークテーリングが顕著になる。このような分析化学上の課題が GLCA-S および GCDCA-S の臨床現場におけるルーチン測定を困難としている。
本研究では、メタルフリーカラムを用いて、胎児毒性のある外因性プローブを用いることなく、妊婦および産褥婦における OATP1B 活性を迅速かつ安全に評価する方法の確立を目指した。
［患者ならびに方法］
妊娠中期、後期および産褥期の血漿中 GLCA-S および GCDCA-S 濃度を評価した。浜松医科大学医学部附属病院で妊婦から採血し、液体クロマトグラフィー・タンデム型質量分析（LC-MS/MS）法にて測定した。本研究プロトコルは、浜松医科大学倫理委員会の承認（承認番号 : 19-249）を受け、大学病院医療情報ネッ

トワークに登録した（ID: UMIN000043232）。登録されたすべての参加者は、登録前に書面によるインフォームドコンセントを得た。また、GLCA-S および GCDCA-S の結果を検証するため、OATP1B1 の内因性基質である甲状腺ホルモン（T_3 および T_4）の遊離体血漿中濃度も評価した。甲状腺ホルモンの濃度は、化学発光免疫測定法を用いて測定した。

［結果］

血漿中の GLCA-S および GCDCA-S は、メタルフリーカラムの使用により 10 分以内に良好に分離され、ピークテーリングは見られなかった。検量線はそれぞれ 25～1500 ng/mL の濃度範囲で直線性を示した。すべての分析パラメータは、国際医薬品規制調和会議の M10 ガイドラインを満たしていた。GLCA-S 濃度の中央値は、妊娠中期（95.7 ng/mL）に比較すると、妊娠後期（39.3 ng/mL）および産褥期（44.4 ng/mL）には低下した（$P = 0.05$）。妊娠中期、後期、産褥期の GCDCA-S 濃度の中央値はそれぞれ 38.7 ng/mL、78.1 ng/mL、57.3 ng/mL であった（$P = 0.37$）。妊娠中期、妊娠後期および産褥期における遊離 T_3 濃度の中央値はそれぞれ 2.57 pg/mL、2.55 pg/mL、2.10 pg/mL であり（$P < 0.001$）、遊離 T_4 濃度の中央値はそれぞれ 0.83 ng/dL、0.85 ng/dL、0.78 ng/dL であった（$P = 0.005$）。

［考察］

本研究は、GLCA-S および GCDCA-S を定量するための実用的な LC-MS/MS 法を開発し、妊娠の進行に伴う胆汁酸濃度の経時的変化を明らかにした初めての報告である。PEEK コーティングされたメタルフリーカラムを用いることで 、カラム材質由来の金属イオンと胆汁酸構造中の極性官能基が配位結合することで引き起こされるピークテーリングの問題を解決することができた。本測定法は、スタチン等の胎児毒性のある外因性プローブを使用せずに妊婦における OATP1B 活性を評価するための安全な代替アプローチであり、この集団における OATP1B 活性の簡便なスクリーニング法として臨床応用が可能である。

本研究の結果から、妊娠中の GLCA-S 血漿濃度は産後と比較して上昇していることが明らかになった。また、OATP1B の基質として知られる甲状腺ホルモンの分析においても同様の傾向が観察された。これらの内因性プローブからの結果は、ロスバスタチンを外因性 OATP1B プローブとして用い、妊娠中の OATP1B トランスポーター活性が低下することを明らかにした過去の報告と一致している。スタチンは OATP1B の標準的な外因性プローブであるが、胎児毒性を懸念して妊婦への使用を禁忌とする国もある。本手法は、胎児に健康上のリスクをもたらす可能性のある外因性プローブを用いることなく、妊娠中の OATP1B 活性をモニタリングすることを可能にする。

［結論］

従来、妊娠中の OATP1B の経時的な活性変動については情報が少なかったが、本研究では、内因性プローブである GLCA-S の血漿中濃度が妊婦において上昇

していることを明らかにし、妊娠の進行による OATP1B トランスポーター活性の低下を裏付けた。

本研究の成果は、妊娠中の OATP 基質ホルモンや栄養物質等の内因性物質の変動予測や基質薬物を用いた薬物治療の適正化に寄与するものである。