



LC-MS/MS method for denosumab quantitation in human serum with rapid protein digestion using immobilized trypsin

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-03-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 志田, 拓顕 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003534

論文審査の結果の要旨

骨粗鬆症の治療やがん骨転移による骨関連事象の抑制に用いられるデノスマブはヒト型抗 receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) 抗体であるが、その有効性の反面、低カルシウム血症や顎骨壊死などの有害作用を引き起こす。しかしながら、日常的に使用可能なヒト血清中デノスマブ濃度の定量法が確立されておらず、これらと血清中濃度との関係は不明である。抗体医薬の血清中濃度自体を測定するためには質量分析計を用いた抗体医薬の定量法が有効であると考えられるが、抗体医薬由来ペプチドの適切な選択や時間の短縮等の問題点がある。そこで申請者らは、ヒト血清中デノスマブの質量分析計による定量法を確立し、臨床に適用することを目的とした。

まずプロテイン G 固相化カラムを用いて血清から免疫グロブリン画分を抽出し、前処置後、トリプシン固相化カラムで処理してペプチド断片化した。前処理したサンプルをフーリエ変換型質量分析計で分析し、デノスマブ由来のペプチド断片を同定することで、測定に用いるデノスマブに特異的に由来するシグネチャーペプチドを見出した。また、直線性・選択性・真度・精度などの分析法バリデーションを行い米国 FDA ガイドラインに適合する事を確認し、分析法として確立した。次いでこれを用いてデノスマブの投与を受けている患者 15 名の血清に本測定法を適用したところ、その濃度範囲は 7.5-67.5 µg/mL であり、全ての患者が本測定法の検量線範囲内にある事を確認した。

審査委員会では、固相化トリプシンを用いて作業を効率化し、ヒト血清中デノスマブの日常的定量法を質量分析計により初めて確立したことを高く評価した。

以上により、本論文は博士（医学）の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 間賀田 泰寛

副査 瀬藤 光利

副査 細川 誠二