

## (様式6-A) A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

永野 大輔 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目 Determination of Intracellular Darunavir by Liquid Chromatography Coupled with Fluorescence Detection  
(蛍光検出器を用いた液体クロマトグラフィーによる細胞内ダルナビル の定量法)

雑誌名 Journal of Chromatographic Science 第52巻:1021頁 ~ 1025頁、2014年  
Daisuke Nagano, Takuya Araki, Tomonori Nakamura and Koujirou Yamamoto

## 論文の要旨及び判定理由

プロテアーゼ阻害薬の一種であるダルナビル(DRV)は、他の治療薬に抵抗性のHIVウイルスに対して有効な薬剤であり、その薬理活性発現部位である末梢血単核球細胞(PBMC)中濃度が、患者の臨床症状や薬剤耐性ウイルスの出現に影響を与えると報告されている。本研究では、ヒトPBMC中のDRV濃度を簡便かつ高感度に分析できる、蛍光検出器を用いた高速液体クロマトグラフィー法(HPLC)による測定法を構築することを目的とした。

ヒト全血8 mLから、密度勾配遠心分離法を用い、PBMCを単離した。単離したPBMCを熱処理により細胞膜を破壊した後、有機溶媒として酢酸エチルを用いた液相分配抽出を行った。熱処理と有機溶媒による抽出を行うことで、PBMCの細胞膜をほぼ完全に破壊できたと考えられる。HPLCの固定相をYMC-Pack Pro C<sub>18</sub>とし、移動相(リン酸緩衝溶液:アセトニトリル=57:43)を流速1.0 mLで送液し、溶離したDRVを蛍光検出器(励起波長:235 nm、蛍光波長:337 nm)で検出した。本研究で開発した測定法によるPBMC中DRVの定量下限濃度は5 ng/10<sup>6</sup>cellsであり、5-100 ng/10<sup>6</sup>cellsの濃度範囲において良好な直線性を確認できた。また、液相分配抽出率は86.3%であり、測定値の日内変動および日間変動は15%以下であった。本測定法により、LC-MS/MS等の高価な分析機器を使用することなく、一般に普及しているHPLCを用いて、LC-MS/MSと同程度の感度でDRVを分析可能とした。本手法は、DRVの薬物動態学的研究や薬物血中濃度モニタリングの発展に貢献でき、DRV服用患者の有効で安全な薬物療法に貢献できると認められ、博士(医学)の学位に値するものと判定した。

平成30年2月15日

## 審査委員

主査	群馬大学教授(医学系研究科) 臨床検査医学分野担任	村上 正巳	印
副査	群馬大学教授(医学系研究科) 法医学分野担任	小湊 慶彦	印
副査	群馬大学教授(医学系研究科) 麻酔神経科学分野担任	齋藤 繁	印