

(Jpn. J. Hosp. Pharm.)
 23 6 491 — 496 (1997)

顆粒球コロニー刺激因子（ナルトグラスチム）の輸液容器への吸着とその防止法の検討†¹

倉本加代†², 青山隆夫†³, 中島克佳†³, 中村幸一†³, 小滝 一†³, 伊賀立 三†³

郵政省医務室†²

東京大学医学部附属病院薬剤部†³

The Adsorption of Granulocyte-Colony Stimulating Factor (Nartograstim) to Infusion Containers and a Preventive Method of Adsorption†¹

KAYO KURAMOTO†², TAKAO AOYAMA†³, KATSUYOSHI NAKAJIMA†³,

KOICHI NAKAMURA†³, HAJIME KOTAKI†³ and TATSUJI IGA†³

Health Care Administration Office, The Ministry of Posts and Telecommunications†²

Department of Pharmacy, The University of Tokyo Hospital, Faculty of Medicine, University of Tokyo†³

(Received January 24, 1997)
 (Accepted August 11, 1997)

We studied the effects of various infusion containers materials on the fluid volumes, different infusion fluids and fluid concentrations of nartograstim (NT), a recombinant human granulocyte colony stimulating factor, on the adsorption of NT to containers, after adding NT preparations (Neu-up® for injection 100) into infusion fluids. The NT concentrations in the infusion fluids after adding NT to containers were determined by a high-performance liquid chromatographic method or bioassay. When 1000 ng of NT was added to 500 ml physiological saline in glass containers (final concentration : 200 ng/ml), the residual rates in the fluids was to 89.5% immediately after addition, and thereafter decreased 73.3% at 6 hr and 59.1% at 24 hr. Similarly, when NT was added to the same solution in polypropylene containers, the residual rates was 74.2% immediately after adding, and 37.5% at 6 hr, and 27.8% at 24 hr. The results in the ethylenvinyl acetate and polyethylene containers were also similar to those in the polypropylene containers. No influence of the volumes (100 and 250 ml) or the kinds of fluids (physiological saline, 5% glucose solution and ringer lactate solution) on the residual rates of NT in fluids was observed. As the fluid concentrations of NT were higher, the residual rates were found to be larger within the range of 100-1200 ng/ml. These decreases in the NT concentrations in the infusion fluids could be prevented almost completely by adding commercially available total-vitamin injections containing polysorbate surfactants.

Key words — granulocyte-colony stimulating factors, nartograstim, adsorption, infusion containers, vitamin injections, adsorption prevention

緒 言

顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte-Colony Stimulating Factor; G-CSF) は、顆粒球系前駆細胞に作用して成熟好中球への分化・増殖を促進するため^{1,2)}、骨髄移植時の好中球数の増加促進を目的として、およびがん化学療法による好中球減少症などに対して使用される³⁻⁵⁾。临床上、G-CSF は主に皮下注射されるが、輸液に混合して点滴静注する場合も少なくない⁶⁾。一方、G-CSF が輸液セットあるいはフィルターに吸着することが報告されている⁷⁻¹⁰⁾。G-CSF は微量で使用されることから、この吸着が治療効果に影響を及ぼすことが予想される。しかし、輸液セットやフィルターへの吸着以前に輸液容器への吸着も予想されるが、その程度に関する詳細な検討はなされていない。

そこで、本研究では、G-CSF 製剤であるナルトグラスチム (NT) の輸液容器への吸着に及ぼす、容器の材質、輸液の容量と種類、および輸液中 NT 濃度の影響について検討した。さらに、経中心静脈栄養補給時に用いられる総合ビタミン剤の添加による吸着防止効果について検討を加えた。

実験方法

1. 試料

NT を含有する G-CSF 製剤はノイアップ注100 (協和発酵工業株式会社, Lot No. 104BDG, 114 AEC, 121AEK, 113A) を使用した。本剤は1瓶中に NT 100 μ g, ポリソルベート80 を 10 μ g および乳糖20mg を含有する用時溶解して用いる注射製剤 (凍結乾燥製剤) である。輸液は、生理食塩液としてポリプロピレン (PP) 製 500ml ボトル (大塚製薬株式会社, Lot No. K5A73, 5F77N)、ガラ

ス製 500ml ボトル (光製薬株式会社, Lot No. 9510 CS)、エチレン酢酸ビニル (EVA) 製 500ml パック (テルモ株式会社, Lot No. 95D213JA)、ポリエチレン (PE) 製 100ml (大塚製薬株式会社, Lot No. 5C83P, 5J79P, 5L95S, 6B91P) および 250ml ボトル (大塚製薬株式会社, Lot No. 5K77S) を用いた。5%ブドウ糖液は PP 製500ml ボトル (大塚製薬株式会社, Lot No. K4L86, 5F86N)、乳酸リンゲル液は PP 製 500ml ボトル (ラクテック注, 大塚製薬株式会社, Lot No. K5B97, 5K78N) を使用した。ポリソルベート80は試薬特級品 (和光純薬)、市販総合ビタミン剤はネオラミン・マルチ V (日本化薬株式会社, 13種類のビタミンと添加物としてポリソルベート80を60mg, L-塩酸ヒスチジンを50mg 含有) と M.V.I. 注「エスエス」(エスエス製薬株式会社, 9種類のビタミンと添加物としてプロピレングリコールを1.5g, モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタンを80mg 等を含有) を用いた。他の薬品はすべて試薬特級品を用いた。

2. 試験操作法

ノイアップ注100を生理食塩液 2 ml で溶解し、その全量を2.5ml PP 製シリンジを用いて各輸液に注入混和した後、25℃の恒温槽中に放置した。添加直後、添加後3、6および24時間に、試料 500 μ l を 1 ml PP 製シリンジを用いて PP 製サンプルチューブに採取し、混和後、その100 μ l を高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入した。なお、試料採取前に容器を振とうして輸液を混和し、採取用シリンジは試料で1度共洗いをを行った。サンプルチューブには吸着防止剤として10%ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 水溶液 50 μ l を予め添加した。

また、最終試料採取後に輸液100ml あたり10% SDS 水溶液 1 ml を容器に添加して混和した後、試料を採取した。

3. 検討項目

G-CSF の吸着に及ぼす容器の材質の影響については、ガラス、PP および EVA 製500ml 容器を

^{†1} 本報の内容の一部は日本薬学会第116年会 (金沢, 1996年3月) で発表。

^{†2} 東京都千代田区霞が関1-3-2; 1-3-2, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo, 100 Japan

^{†3} 東京都文京区本郷7-3-1; 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

用い、容器の容量の影響については100ml および250ml の PE 製容器を用いて検討した。輸液の種類の影響については生理食塩液、5%ブドウ糖液および乳酸リンゲル液の PP 製500ml 容器を用い、輸液中の NT 濃度については、4種類の異なる濃度(100, 200, 600および1200ng/ml)で検討した。溶液中の G-CSF の残存率は、理論添加濃度に対する溶液中濃度の割合(%)とした。

NTの吸着防止については、ポリソルベート80の60mg、および総合ビタミン剤(ネオラミン・マルチV, M.V.I. 注「エスエス」)1バイアル(5ml)を輸液容器に添加して、その影響について検討した。

4. 輸液中の NT の定量法

輸液中の NT は HPLC 法を用いて定量した。HPLC 装置は、送液ポンプ(島津高速クロマトグラフ LC 9 A) および検出器(島津 UV 検出器 SPD-6A) から構成され、逆相系カラム(TSKgel G3000 SWXL 7.8 ϕ $\times$ 250mm, TSguardcolumn SWXL 6.0 ϕ $\times$ 40mm)を使用した。検出波長は220nmに設定した。移動相は0.1%SDSを含む0.1M NaH₂PO₄水溶液(pH 6.5)を用い、温度25°C、流速1 ml/min で使用した。

これらの条件で測定した各輸液からの NT の分離は良好であり、NT の保持時間は注入後約9分であった(図1)。定量は絶対検量線法により行い、各測定値は2回の平均値とした、定量限界は10ng/mlであった。

なお、ポリソルベート80および総合ビタミンを添加した試料については、HPLC 法では妨害ピークの出現により測定が困難であったため、bioassay^{11, 12)}により測定した、定量限界は2 ng/mlであった。

結 果

1. 輸液容器の材質の影響

3種類の材質の輸液容器に NT を添加した後の残存率の経時変化を図2に示す。ガラス製容器における残存率は、添加直後で平均89.5%、6時

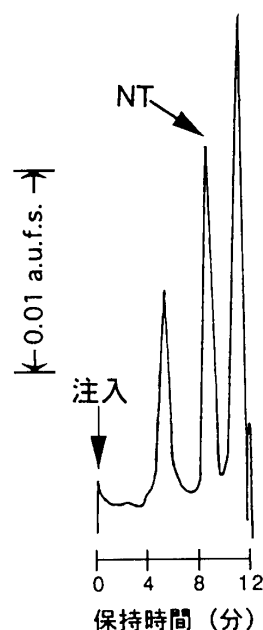


図1. ナルトグラスチム (NT) の生理食塩液溶液を HPLC に注入して得られたクロマトグラム (注入量: NT として100ng)

間後で73.3%と経時的に減少し、24時間後では59.1%であった。一方、PP製では添加直後の74.2%から急激に減少し、6時間後で35.7%、24時間後では27.8%にまで低下した。EVA製ではPP製とほぼ同様に低下した。また、最終試料採取直後に SDS を添加した時、すべての材質の容器において NT の残存率は80~90%に回復した。

2. 輸液容量の影響

100ml および250ml の生理食塩液が入った PE 製容器に、NT 濃度が各々200ng/ml になるように NT を加えた、添加直後の NT の残存率は容量が100ml では平均67.8%、250ml では71.5%であった(図3)。その後、両容量とも経時的に低下し、24時間で各々22.7%と28.2%であり、容量間で差はみられなかった。

3. 輸液の種類の影響

図4に輸液として生理食塩液、5%ブドウ糖液および乳酸リンゲル液を用いたときの輸液中 NT 残存率の経時変化を示す。容器は PP 製の材質を使用した。5%ブドウ糖液および乳酸リンゲル液における NT の残存率は、生理食塩液と同様の減

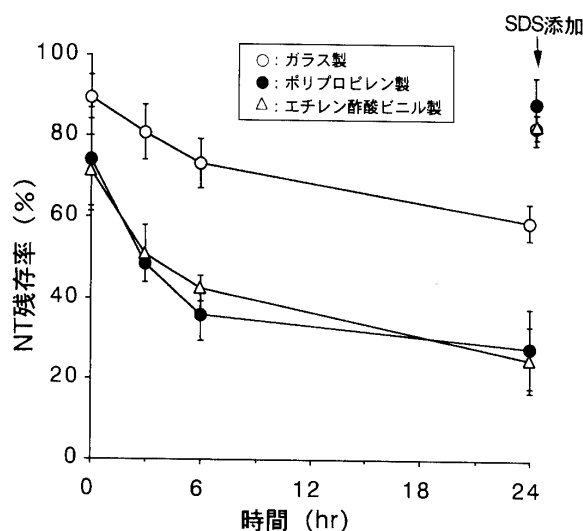


図2. 輸液中 NT の残存率に及ぼす容器の材質の影響 (mean±SD, n=3)
残存率は、理論添加濃度に対する溶液中濃度の割合。
容量: 500ml, 添加 NT 濃度: 200ng/ml, 輸液: 生理食塩液。
最終点は10%SDS 水溶液を 5 ml 添加した。

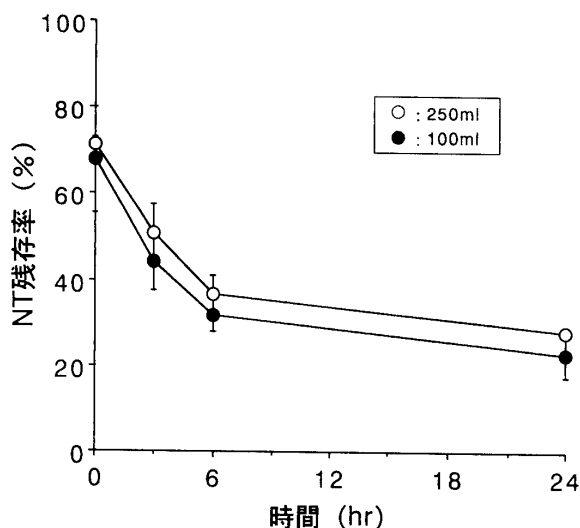


図3. 輸液中 NT の残存率に及ぼす容器の容量の影響 (mean±SD, n=3)
材質: ポリエチレン製, 添加 NT 濃度: 200 ng/ml, 輸液: 生理食塩液。

少パターンを示し、輸液間で有意差は認められなかった。

4. 輸液中の NT 濃度の影響

NT を生理食塩液100ml に添加して 4 種類の異

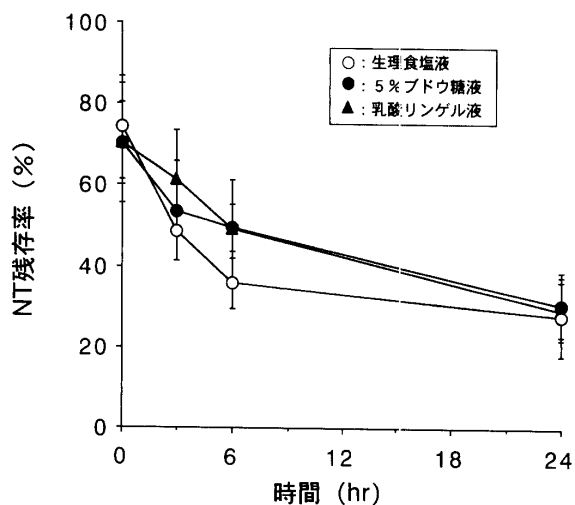


図4. 輸液中 NT の残存率に及ぼす輸液の種類の影響 (mean±SD, n=3)
材質: ポリプロピレン製, 容量: 500ml, 添加 NT 濃度: 200ng/ml。

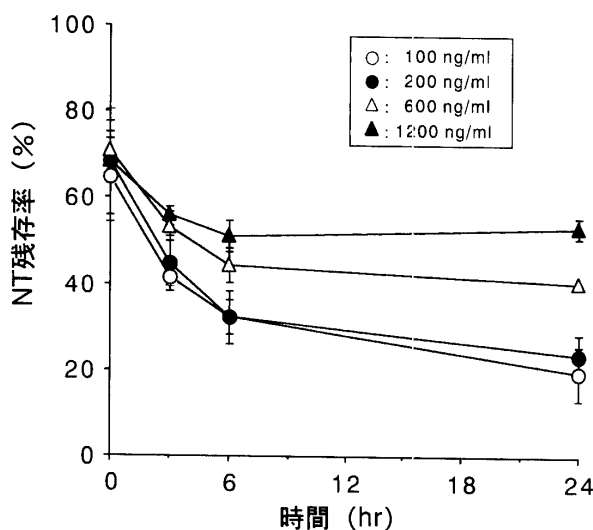


図5. 輸液中 NT の残存率に及ぼす NT 濃度の影響 (mean±SD, n=3)
材質: ポリエチレン製, 容量: 100ml, 輸液: 生理食塩液。

なる NT 濃度を調製し検討した。NT の添加直後の残存率は、いずれの濃度においても64~70%であり、添加濃度間に差は認められなかったが、3時間で41~55%、6時間で31~50%と濃度間で差が広がり、NT 濃度が低いほど残存率の低下の程度が大きかった (図5)。高濃度の600と1200ng/ml では、6時間でほぼ平衡に達した。24時間の最終

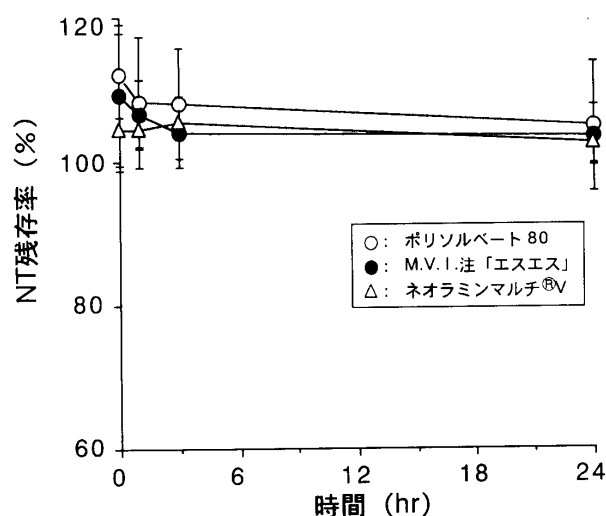


図6. 輸液中 NT の残存率に及ぼすポリソルベート 80 (60mg) および総合ビタミン添加の影響 (mean±SD, n=3)

材質: ポリプロピレン製, 容量: 500ml, 添加 NT 濃度: 200ng/ml, 輸液: 生理食塩液, 測定法: bioassay.

試料採取後に SDS を添加した際の残存率は, NT 濃度の低い順から各々平均 53.5, 72.0, 84.8, 85.2%であった.

5. 吸着防止の検討

生理食塩液 500ml の PP 製容器に, 製剤原料に用いられる界面活性剤のポリソルベート 80 を 60 mg, 次いで NT を 200ng/ml の濃度に添加した後の NT の残存率の経時変化を図 6 に示す. 添加後 24 時間まで, 残存率の低下はほとんど認められず (図 6), ポリソルベート 80 により吸着が防止されることが示唆された. さらに, ポリソルベート系の界面活性剤が含まれる市販の総合ビタミン注射液の添加による吸着防止効果について検討した. ネオラミン・マルチ V 注および M.V.I. 注「エスエス」の添加により NT 残存率はいずれも 24 時間までほぼ 100% を維持した (図 6).

考 察

本研究では, G-CSF の一つである NT の種々の条件における輸液容器への吸着について検討を行った.

輸液中 NT の残存率 (図 2) は, 本研究で利用したすべての材質で添加直後の短時間で 10~30% の残存率の低下が認められ, 24 時間まで経時的に減少したが, その程度はガラス製の方が PP や EVA の合成樹脂製容器よりも小さいことがわかった. したがって, 合成樹脂製の方がガラス製に比べて取扱いにおける利便性は高いが, NT の残存率の低下の面からはガラス製の方がより優れていると思われる. 最終試料採取後に容器に SDS を添加した場合に残存率が増加したこと (図 2), および生理食塩液の pH は 6 前後であり NT は pH 7 以下で安定であると報告されていることから¹³⁾, これらの残存率の低下は, NT の分解ではなく, 主に容器への吸着と考えられる. 一般的に, 水溶液中でのペプチドのガラス容器や合成樹脂への吸着は, イオンの吸着と疎水的吸着が関与している^{14, 15)} といわれているが, NT 添加後, 直ちに残存率が平衡に達していないこと, SDS 添加後の残存率が 80~90% と完全に回復しなかったことから, NT 残存率の低下は, 塩酸ニカルジピンなどの薬物で報告¹⁶⁻¹⁸⁾ されているように, 合成樹脂製の容器内表面への吸着だけでなく, その内部にまで吸収される収着も関与している可能性が推察される. しかし, 高分子である G-CSF がガラス容器に収着することは考え難いため, 今後, 詳細な検討が必要であると思われる.

100ml と 250ml 生理食塩液入りの PE 製容器で検討した NT の残存率は, 容量間でほとんど差が認められなかった. これは, 単位薬液あたりの容器内壁の面積が両容器間ではほぼ同じであったためと考えられる. また, 500ml の PP 製および EVA 製容器とも大きな差はなく (図 2), 残存率の低下に対して合成樹脂の種類の影響は少ないと思われる. NT を混合する輸液の種類は, NT の添付文書には点滴静注による適用の記載がないが, 他の製薬会社の G-CSF 製剤には点滴静注に際しては生理食塩液, 5%ブドウ糖液等に混和すると記載がある. 本研究においても生理食塩液, 5%ブドウ糖液および乳酸リンゲル液間では輸液の種類に

よる NT の吸着に大きな差は認められず、したがって、混合可能と考えられる (図 4)。輸液中の NT 濃度の吸着に及ぼす影響についての検討において、低濃度の方が低い残存率を示し、平衡に達する時間も遅かったことから、低濃度における使用は特に危険性が高いといえる。

輸液容器等への吸着防止をするために、同じペプチド製剤であるインシュリンにおいて、アルブミンや総合ビタミン剤を添加することによって回収率が改善した報告がある¹⁹⁾。G-CSF 製剤については Amgen 社のフィルグラスチムの添付文書には HSA (ヒトアルブミン) の添加の指示がある²⁰⁾。本研究では、輸液容器の疎水部分への吸着において NT と競合する界面活性剤のポリソルベート 80 およびこれらを添加剤として含む総合ビタミン剤を輸液に添加することによって、NT の吸着および収着を防止することが可能であることを示した。

G-CSF は微量で臨床使用されることから、輸液容器への吸着が治療効果に大きく影響を与えると考えられる。さらに高価であるため経済的な面からも問題である。NT 添加後の残存率の低下が、合成樹脂製に比べて少ないガラス製容器においても無視できない残存率の減少を示したことから、NT を点滴静注する場合は、総合ビタミン剤を添加して、輸液中 NT 濃度の低下を防止することが必要であると考ええる。今後、ビタミン剤の至適添加量、および輸液セットと輸液フィルターを併せた総合的な NT 濃度低下の防止法を構築する必要がある。

謝辞 本研究にあたり、G-CSF の bioassay による定量にご協力いただいた協和発酵工業株式会社に感謝いたします。

引用文献

- 1) D. Metcalf, *Blood*, **67**, 257-267 (1986).
- 2) S.C. Clark, R. Kamen, *Science*, **236**, 1229-1237 (1987).
- 3) 正岡徹, 溝口英昭, 加藤俊一, 小寺良尚, 大橋靖雄, 高久史鷹, 今日の移植, **4**, 651-658 (1991).
- 4) 矢部普正, 加藤俊一, 正岡徹, 溝口英昭, 小寺良尚, 大橋靖雄, 高久史鷹, 今日の移植, **5**, 185-189 (1992).
- 5) 小川一誠, 溝口英昭, 正岡徹, 加納康彦, 松田保, 白川茂, 吉田豊, 高久史鷹, 富永祐民, 大橋靖雄, *Biotherapy*, **6**, 95-103 (1992).
- 6) 迫正廣, 中西康詞, 小西省三郎, *Biotherapy*, **7**, 1218-1223 (1993).
- 7) 八木啓子, 河敬世, *Biotherapy*, **8**, 1315-1320 (1994).
- 8) 中島克佳, 青山隆夫, 小滝一, 伊賀立二, *Progress in Medicine*, **15**, 1770-1773 (1995).
- 9) 富岡佳久, 佐藤秀昭, 片山潤, 水柿道直, 病院薬学, **22**, 230-234 (1996).
- 10) 矢後和夫, 松原肇, 佐久間政彦, 尾島勝也, 島田慈彦, 病院薬学, **22**, 359-363 (1996).
- 11) 浅野誠, 五味克成, 岡部正実, 薬理と治療, **19**, 2767-2773 (1991).
- 12) 山本由佳, 栗原隆, 奥村修造, 小林智, 平田正, 薬物動態, **7**, 3-14 (1992).
- 13) 「ノイアップ®注50, 100, 250」インタビューフォーム, 協和発酵工業株式会社 (1996).
- 14) 中島新一郎, 河野健治, 中澤一純, 薬理学, **45**, 285-290 (1985).
- 15) 浅川直樹, 津野昌紀, 佐伯保治, 柿本文雄, 服部禎一, 上山政吾, 篠田愛信, 三宅康夫, 薬学雑誌, **103**, 518-523 (1983).
- 16) R.A. Messing, *J. Non-Cryst. Solids*, **19**, 277-28 (1975).
- 17) 中島新一郎, 河野健治, 中澤一純, 名執葉子, 病院薬学, **14**, 49-54 (1989).
- 18) 河野健治, 井上理恵子, 小松礼佳, 中島新一郎, 病院薬学, **18**, 182-186 (1992).
- 19) 丹下マリ子, 柴部敏, 近藤俊夫, 尾山秀樹, 医薬ジャーナル, **1**, 392-397 (1995).
- 20) "Physicians' Desk Reference". 49 th, Medical Economics Data, U.S.A. 1995.