

(Jpn. J. Hosp. Pharm.)
(24(6) 697 — 703 (1998))

rhG-CSF 製剤の各種輸液フィルターに対する吸着性(第2報)

矢後和夫*†¹, 松原 肇†², 尾鳥勝也†¹, 佐久間政彦†², 島田慈彦†²

北里大学東病院薬剤部†¹

北里大学病院薬剤部†²

Adsorption of rhG-CSF to Various Intravenous Filters (2)

KAZUO YAGO*†¹, HAJIME MATSUBARA†², KATSUYA OTORI†¹,

MASAHICO SAKUMA†² and SHIGEHICO SHIMADA†²

Department of Pharmacy, Kitasato University East Hospital†¹

Department of Pharmacy, Kitasato University Hospital†²

(Received September 18, 1997)
(Accepted July 30, 1998)

Recombinant human granulocyte-colony stimulating factor (rhG-CSF) is administered either by i.v. drip infusion or a subcutaneous injection depending on the indications for which it is administered. In the case of i.v. drip infusion, binding to the infusion set and in-line filter has great impact on its efficacy because it is given in very small doses (micrograms). In the present study, we conducted a series of experiments to determine the degree to which rhG-CSF binds to infusion containers, sets, and filters. The Pall PDI Filter with a low protein binding profile was thus found to be the only infusion filter through which commercially available rhG-CSFs could almost be completely recovered regardless of the solvents used.

Key words — cytokines, rhG-CSF, adsorption, intravenous filter, infusion bottle, infusion route

緒 言

顆粒球コロニー形成刺激因子; Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) は, 骨髄の顆粒球系前駆細胞に作用し, 好中球への分化と増殖および成熟化を促す作用を有するとともに, その機能を高めることが報告されている¹⁾.

臨床試験においては, 骨髄移植, 特定の癌種に対する化学療法, あるいは骨髄異形成症候群の原疾患に伴う様々な好中球の減少に対して好中球数の回復促進効果が確認されている. rhG-CSF 製剤の投与経路は, 皮下注または静脈内あるいは点滴静注と対象疾患によって異なる. 同一用量の静脈内投与であれば, 持続投与の方がボラスまたは30分の点滴静注より効果が良いとの報告もある²⁾. しかも, いずれの場合においても, 患者は易感染状態にあり, 点滴静注の際には輸液フィルターの使用が望まれる. しかし, 投与量が μg 単位と微

†¹ 相模原市麻溝台2-1-1; 2-1-1, Asamizo-dai, Sagami-hara-shi, 228-8520 Japan

†² 相模原市北里1-15-1; 1-15-1, Kitasato, Sagami-hara-shi, 228-8520 Japan

量であるため、フィルター、輸液容器あるいは輸液ルートへの吸着が治療上大きな影響を及ぼすことが予想される。

前回著者ら³⁾は、輸液回路における rhG-CSF 製剤の経時的な吸着の変化に着目しその検討を行った。また、前報⁴⁾では、繁用される 2 種類の市販フィルターと新開発の低タンパク吸着特性を有するフィルターを用い、3 種のフィルター間での rhG-CSF 製剤 (グラン注 (キリンビール (株)) の吸着の相違についての比較検討を行った。また併せて、輸液容器および輸液ルートに対する吸着についても検討を行った。その結果、従来から使用されている輸液フィルターでは 20% 以上の吸着が認められたのに対し、新開発輸液フィルター PD 1 ではほとんど吸着が認められなかった。

そこで今回、他の rhG-CSF 製剤 (ノイトロジン注 (中外製薬 (株))、ノイアップ注 (協和醗酵工業 (株)) についても同様の吸着比較試験を行った。さらに、グラン注については、新素材フィルター IVEX-II (ポリエーテルスルホン製) に対する吸着試験を実施した。

実験の部

1. rhG-CSF 製剤

① ノイトロジン注 (中外製薬 (株))

有効成分: レノグラスチム (遺伝子組換え)

添加物: モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン, ヒト血清アルブミン, D-マンニトール

② ノイアップ注 (協和醗酵工業 (株))

有効成分: ナルトグラスチム (遺伝子組換え)

添加物: ポリソルベート 80, 乳糖

③ グラン注 (キリンビール)

有効成分: フィルグラスチム (遺伝子組換え)

添加物: ポリソルベート 80, D-マンニトール

2. 試験液の調製

試験輸液は、rhG-CSF 製剤を 150 μ g/100ml とするよう溶解液 [生理食塩液 100mL プラボトル (大塚製薬工業 (株))], [5% ブドウ糖注射液 100

ml プラボトル (大塚製薬工業 (株))] に溶解し調製した。

3. 輸液回路

輸液セット: テルフュージョン輸液セット TS-A400LK (テルモ社製)

4. 非特異的吸着防止のための前処理⁵⁻⁷⁾

非特異的吸着の防止のため、試験液の溶解、回収を行う容器については、すべてブロックエース (大日本製薬 (株)) を用いて吸着防止処理を行った。

5. 輸液容器および輸液ルートに対する rhG-CSF 製剤の吸着試験 (Fig. 1)

吸着防止処理済みの容器に溶解液 (5% ブドウ糖注射液, 生理食塩液) 100ml を各々加えた。それぞれの溶解液に rhG-CSF 製剤を 150 μ g 加え、十分攪拌した後、試験液とし、100 μ l を採取した (サンプル A)。

残余の各試験液を空の 100ml 容のポリエチレン製容器 (以下輸液容器) へ移し、十分に攪拌 (5 秒間隔で 5 回転倒混和) 後、輸液容器内より試験液 100 μ l を採取した (サンプル B)。

続いて、未使用の輸液セットを輸液容器へ接続し、クランプ全開の状態試験液を通過させ、通過液を吸着防止処理済みの容器に回収した。輸液容器内の試験液が空になった時点でいったん、クランプで輸液回路を閉じ、通過液を再び輸液容器へ戻す。この操作を合計 5 回行い、試験液 100 μ l を採取した (サンプル C)。

6. 輸液フィルター

① ポール輸液フィルター ELD96LL

ポジダイナ・ナイロン 66 膜 (日本ポール)

② IVEX-II*: 大型輸液フィルター TPN522

混合セルロース膜 (東レ・メディカル (株))

③ IVEX-II: 高耐圧フィルター TPN822

ポリエーテルスルホン膜 (東レ・メディカル (株))

④ ポール輸液フィルター PD 1

ポリアミド系膜 (日本ポール)

*IVEX-II は、ろ材が混合セルロース膜からポリエーテルスルホン膜に変更になるため、一部 2 規格について検討を行った。

7. 輸液フィルターに対する rhG-CSF 製剤の吸着試験 (Fig. 1)

各溶解液 (5%ブドウ糖液, 生理食塩液) の入った吸着防止処理済みの輸液容器 (100ml 容) に rhG-CSF 製剤を 150 μ g 加え, 十分攪拌し試験液とした。輸液セットを輸液容器に接続し, 上記 5. の試験と同様に試験液を通過させ, 輸液ルートに対する吸着が飽和した時点で, 輸液セット末端まで試験液を充填し, ろ過前の輸液容器内より 100 μ l 採取した (サンプル D)。フィルターは溶解液を充填した後, 輸液セットに接続した。

輸液セットのクランプを開きフィルター充填容量分 (ELD96LL および PD 1: 2 ml, IVEX-II: 5 ml) を排出した後, 約 1.7ml/min. の初期流速でろ過を行った。ろ液を吸着防止処理済みの容器に回収し, 十分攪拌した後, その 100 μ l を採取した (サンプル E)。

8. rhG-CSF 製剤の吸着率および回収率の測定

輸液容器, 輸液ルートおよび各フィルターに対する吸着試験で採取したサンプル濃度は, G-CSF ELISA System (Amersham) を用いて測定した。各サンプルについては検量線範囲内の濃度になるように希釈を行い, ELISA System の G-CSF スタンダードと同時にマイクロプレートに添加し, 試薬と反応させた。反応後プレートリーダー

(THERMOmax, 和光純薬工業(株)) にて 450nm で OD 値の測定を行い, 解析は Machintosh 上のソフトウェア SOFTmax (和光純薬) にて行った。

輸液容器・輸液ルートに対する rhG-CSF 製剤の吸着率および各輸液フィルターに対する rhG-CSF 製剤の回収率は, 各サンプルの OD 値より求めた濃度をそれぞれ A, B, C, D, E として次式より求めた。

輸液容器に対する吸着率 (%)

$$= (A - B) / A \times 100$$

輸液ルートに対する吸着率 (%)

$$= (B - C) / B \times 100$$

輸液フィルターに対する回収率 (%)

$$= E / D \times 100$$

試験はそれぞれの条件について 3 回ずつ実施し, 吸着率および回収率の平均値, 標準偏差を求めた。また結果には示していないが, 吸着率, 回収率について, 溶解液, 薬剤, 回路およびフィルターによる差異を検討するために Student's t-test を実施し $P < 0.05$ を有意差として検討した。

結 果

1. 輸液容器, 輸液ルートに対する rhG-CSF 製剤の吸着特性

輸液容器, 輸液ルートに対する rhG-CSF 製剤の吸着試験結果を Table 1 に示す。

輸液容器に対しては, 生理食塩液, 5%ブドウ糖注射液を溶解液として使用した場合, ノイトロジンでは各々 10%, 8%, ノイアップでは各々 9%, 19% の吸着率であった。また, 輸液ルートに対しては, 生理食塩液, 5%ブドウ糖注射液を溶解液として使用した場合, ノイトロジンでは各々 16%, 23%, ノイアップでは各々 13%, 29% の吸着率を示した。この結果投与量の 1/4 量以上が投与される以前に容器やルートに吸着されていることになる。

2. フィルターに対する rhG-CSF 製剤の吸着特性

各フィルター通過後の濃度回収率の結果を Ta-

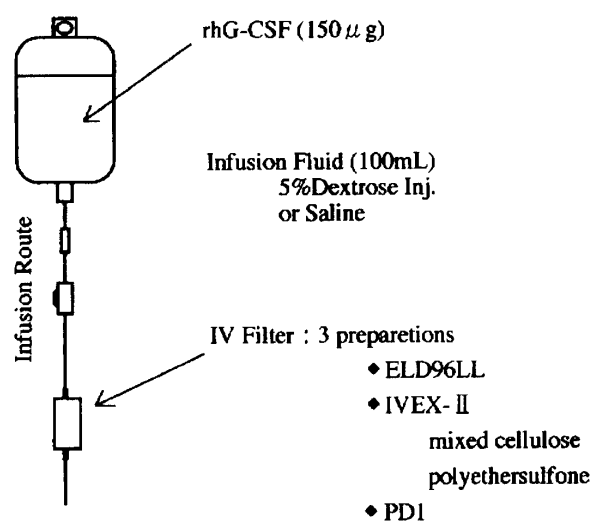


Fig. 1. Schematic View of Experimental Method

Table 1. The Ratio of Adsorption to Infusion Bottle and Infusion Route

	Infusion Fluid		n	Infusion Bottle (100ml) (Adsorption %)			Infusion Route (Adsorption %)			Bottle+Route (Adsorption %)		
Neutrogin	Saline	mean±SD	3	10±4			16±7			24±9		
		each data		8	7	14	9	17	22	16	23	33
	5% Dextrose Inj.	mean±SD	3	8±9			23±16			30±11		
		each data		13	13	-3	5	30	34	17	40	32
Neu-up	Saline	mean±SD	3	9±9			13±8			22±3		
		each data		3	5	20	16	19	5	19	23	23
	5% Dextrose Inj.	mean±SD	3	19±1			29±3			42±3		
		each data		17	19	19	26	28	32	39	42	45
Gran	Saline	mean±SD	3	14±13 ^o			23±25			33±22 ^o		
		each data		1	28	13	3	15	50	4	39	57
	5% Dextrose Inj.	mean±SD	3	-4±4 ^o			15±2			11±4 ^o		
		each data		-9	-2	-2	14	18	13	6	16	11

ble 2 及び Fig. 2 に示す。

ELD96LL フィルターでは、ノイトロジンの回収率は、62% (生理食塩液), 2% (5%ブドウ糖注射液), ノイアップ注の回収率は、32% (生理食塩液), 75% (5%ブドウ糖注射液) であった。

ポリエーテルスルホン膜の IVEX-II フィルターは ELD96LL フィルターより回収率は高く、ノイトロジン注の回収率は94% (生理食塩液), 42% (5%ブドウ糖注射液), ノイアップ注の回収率は96% (生理食塩液), 78% (5%ブドウ糖注射液) であった。

一方、低吸着特性を持つ PD1 フィルターでは、ノイトロジン注の回収率は106% (生理食塩液), 102% (5%ブドウ糖注射液), ノイアップ注の回収率は96% (生理食塩液), 121% (5%ブドウ糖注射液) と良好であり、rhG-CSF 製剤の吸着はほとんど認められなかった。

考 察

医薬品を点滴静注する際の、輸液容器、輸液ルートさらに輸液フィルターを使用した際のフィルターへの薬物の吸着は臨床上大きな問題である⁸⁻¹⁷⁾。

rhG-CSF 製剤の吸着についての報告は比較的新

しく、我々が1993年に日本臨床血液学会に発表³⁾したものが最初であると思われる。その後、1994年には八木ら¹⁸⁾により rhG-CSF 製剤の点滴静注時における輸液フィルターへの吸着の検討がなされ、さらに1995年には中島ら⁵⁾により輸液フィルターへの吸着実験が行われている。これらの結果から、フィルター間での吸着量に差は認められるものの、rhG-CSF 製剤の吸着は避けられない現象と考えられる。

前報同様⁴⁾、rhG-CSF 製剤用量を、低用量ではあるが繁用量である150 µg/100ml と設定し、輸液フィルターへの吸着実験を実施した。流速については、より臨床使用時に近い流速、すなわち150 µg(100ml) を1時間で点滴静注するケースを想定し初期流速1.7ml/min. (100ml/60min.) に設定した。一方、通常臨床ではポンプを使用しているため、液量の変化による流速の低下の補正は行わなかった。

まず、輸液容器への吸着については、生理食塩液を溶解液として用いた場合には、ノイトロジン注、ノイアップ注両製剤ともグラン注とほぼ同様の約10%の吸着率⁴⁾を示した。一方、5%ブドウ糖注射液を溶解液として使用した場合は、生理食塩液の場合と異なり、グラン注では吸着が認めら

Table 2. Recovery of rhG-CSF from Intravenous Filters

	Infusion Fluid		n	ELD96LL (Recovery %)	IVEX-II (polyethersulfone) (Recovery %)	IVEX-II (mixed cellulose) (Recovery %)	PD 1 (Recovery %)
Neutrogin	Saline	mean±SD	3	62±13	94±15	NA	106±18
		each data		47 70 70	83 111 86		122 109 87
	5% Dextrose Inj.	mean±SD	3	2±8	42±13	NA	102±9
		each data		2 2 1	29 42 55		108 106 91
Neu-up	Saline	mean±SD	3	32±9	96±5	67±4	96±3
		each data		35 39 23	91 98 99	69 63 69	96 99 94
	5% Dextrose Inj.	mean±SD	3	75±6	78±10	23±10	121±19
		each data		73 71 82	66 85 83	16 20 34	133 131 100
Gran	Saline	mean±SD	3	8±5 ⁴⁾	95±2	80±10 ⁴⁾	102±3 ⁴⁾
		each data		12 2 9 11	93 96 96	81 67 92 79	100 104
	5% Dextrose Inj.	mean±SD	3	3±1 ⁴⁾	43±5	35±14 ⁴⁾	102±4 ⁴⁾
		each data		2 3 3	37 45 47	56 32 30 24	105 100

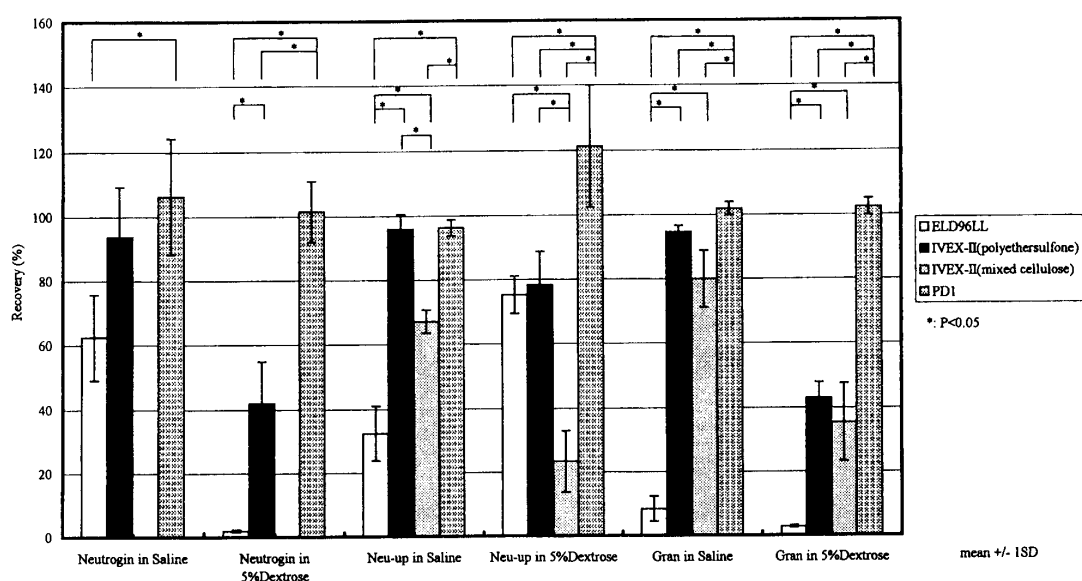


Fig. 2. Difference of rhG-CSF Recovery by IV Filters

れなかった（ほぼ0%）のに対し、ノイトロジン注、ノイアップ注では、それぞれ8%、19%の吸着率を示した（ノイアップ注に対して有意差あり）。輸液容器に対して吸着が認められなかったのは、溶解液に5%ブドウ糖注射液を用いた場合のみであった。

また、輸液ルートに対しては、ノイトロジン注、ノイアップともグラン注同様にいずれの溶解液を

用いた場合も吸着が認められた。ノイアップ注は5%ブドウ糖注射液に溶解した条件でグラン注よりも有意に吸着率が高かった。

いずれの製剤も、輸液ルートへの吸着は10—30%あり、輸液ルートを長くすることにより、最終投与量が著しく減少すると考えられる。したがって、輸液ルートは可能な限り短くすることが必要であろう。

各社輸液フィルターの回収率では ELD96LL フィルターで吸着率に差があるものの、rhG-CSF 製剤すべてに吸着が認められた。ノイトロジン注については、生理食塩液を溶解液に用いた場合、比較的高い回収率62%であるのに対し、5%ブドウ糖注射液では有意に低い2%を示した。逆にノイアップ注では、5%ブドウ糖注射液を用いた場合に比較的高い75%の回収率で、生理食塩液では有意に低い32%を示した。前報にて報告したグラン注においては、両溶解液ともに回収率10%未満の低値を示した。このように回収率が大きくばらついた理由として、ELD96LL フィルター膜の特性が考えられる。ELD96LL フィルターは細菌除去の機能に加え、エンドトキシンを吸着除去する特徴を持ち、水溶液中でフィルター膜が正のゼータ電位を有する。回収率の著しく悪かった rhG-CSF 製剤と溶解液の組み合わせでは、ゼータ電位による静電的な作用を受け、rhG-CSF がフィルター膜に吸着されたことも推測できる。いずれにしても、薬剤による特性の違いが回収率に大きく影響することが示唆される。

ポリエーテルスルホン膜の IVEX-II フィルターについては、生理食塩液を溶解液に用いた場合は、いずれの rhG-CSF 製剤においてもほぼ100%の高い回収率が認められた。しかし5%ブドウ糖注射液を溶解液とした場合、ノイトロジン注とグラン注ではそれぞれ42、43%と50%未満の回収率であった。ノイアップの場合も78%と100%に近い回収率は得られなかった。ポリエーテルスルホン膜の IVEX-II では、すべての rhG-CSF 製剤に対して、生理食塩液を溶解液とした場合の方が5%ブドウ糖注射液を溶解液とした場合よりも回収率に高い傾向が見られた（ノイアップ注を用いたポリエーテルスルホン膜の IVEX-II [P<0.05] 以外は生理食塩液と5%ブドウ糖注射液の間で有意差あり [P<0.05]）。

混合セルロース膜の IVEX-II フィルターはポリエーテルスルホン膜のフィルターと比べ、グラン、ノイアップ注ともに回収率の低い傾向にあ

り、ノイアップ注では両溶解液とも有意に (P<0.05) 低かった。また材質自体の違いに関わらず、混合セルロース膜の IVEX-II においても、グラン注、ノイアップ注ともに生理食塩液を溶解液とした場合の方が5%ブドウ糖注射液を溶解液とした場合よりも有意に (P<0.05) 回収率が高かった。

上記3種のフィルターにおいては、rhG-CSF の回収率は各種薬剤と溶解液の組み合わせによって低い回収率を示した。しかし、低タンパク吸着特性を有する PD1 フィルターでは、グラン同様、ノイトロジン注、ノイアップ注についても吸着はほとんど認められず良好な回収率が得られた。5%ブドウ糖液に溶解したノイアップにおいては見かけ上120%を超える回収率となったが、生理食塩液の結果に対して有意差はなく測定誤差範囲と思われた。この結果から、今回試験に用いたフィルターのうち PD1 フィルターは、溶解液の種類に関わらず、グラン注、ノイトロジン注、ノイアップ注のすべての製剤をほとんど吸着することなくろ過することができる唯一の輸液フィルターであることが示唆された。

本試験では、Table 1, 2 に示したとおり、吸着率、回収率の誤差は比較的大きく、PD1 フィルターでは数値上100%を超える回収率も示された。この原因として次の2点が考えられる。1つには ELISA キットの測定誤差で、添付文書によると約5—10%の誤差が認められるとある。また、希釈倍率の問題がある。今回使用した ELISA キットは、本来臨床濃度の G-CSF 濃度を測定するもので pg/ml オーダーの G-CSF を検出可能である。一方、薬剤投与量としての G-CSF 製剤は1.5 μ g/ml で、測定の際は定量範囲に収めるため、最高で1万倍までの希釈を必要とした。わずかな希釈による誤差も希釈により増幅されるため、回収率で表現した場合、大きく現れてしまったものと思われる。今回は入手可能な市販キットを用いたが、測定誤差が大きい感は否めず測定法については別の方法を検討する必要があると思われる。しかしながら、3回の試験を行うことに

より一定の傾向を得ることができたと考える。

前報のグラン注に続き、ノイトロジン注、ノイアップ注について輸液容器、輸液ルートおよび輸液フィルターへの吸着性を検討した。今回の試験の結果、同じ rhG-CSF 製剤であっても製剤の違いにより吸着性に差異があることが明らかとなった。吸着率は、薬剤、溶解液、輸液回路または輸液フィルターといった条件では様々であった。また輸液フィルターに関しては、ELD96LL フィルターでは5%ブドウ糖注射液が回収率が低い傾向にあった。これに対し、PD1 フィルターは溶解液の種類に関わらず、グラン注、ノイトロジン注、ノイアップ注のすべての製剤を、ほとんど吸着することなくろ過することができる唯一のフィルターであった。

引用文献

- 1) S. Asano and M. Ono, *Acta Haematol. jpn.*, **50**, 1550-1556 (1987)
- 2) M.H. Bronchud, *Br. J. Cancer*, **60**, 121-125 (1989).
- 3) 矢後和夫, 佐久間政彦, 松原肇, 尾鳥勝也, 朝長文弥, 栗野文剛, 佐藤宏, 臨床血液 (学会要旨), **34**, 1309 (1993).
- 4) 矢後和夫, 松原肇, 佐久間政彦, 尾鳥勝也, 島田慈彦, 病院薬学, **22**, 359-363 (1996).
- 5) 中島克佳, 青山隆夫, 小瀧一, 伊賀立二, *Prog. Med.*, **15**, 1770-1773 (1995).
- 6) 白幡聡, 白川嘉継, *Prog. Med.*, **15**, 1774-1777 (1995).
- 7) 藤原大美, 淀井淳司, “免疫研究ハンドブック”, 中外医学社, 1992.
- 8) 菅谷量俊, *Pharm Tech Japan*, **9**, 69-74 (1993).
- 9) N.J.Goldberg, and S.R.Levin, *New England J. Medicine*, **29**, 1480 (1978).
- 10) S.S.Weber, W.A.Wood, and E.A.Jacson, *Am.J. Hosp.Parm.*, **34**, 353-357 (1977).
- 11) S.Rusmin, S.Welton, P.Deluca and P.P.Deluca, *Am.J.Hosp.Pharm.*, **34**, 1071-1074 (1977).
- 12) L.D.Butler, J.M.Munson, and P.P.Deluca, *Am. J.Hosp.Pharm.*, **37**, 935-941 (1980).
- 13) T.D. Wingert and S.R. Levin, *Am. J. Hosp. Pharm.*, **38**, 382-383 (1981).
- 14) 吉田浩幸, 内藤重穂, 田中彦衛, 医薬ジャーナル, **24**, 1031-1945 (1988).
- 15) 幸保文治, 医薬ジャーナル, **24**, 2257-2265 (1988).
- 16) 丹下マリ子, 柴部敏, 近藤俊夫, 尾山秀樹, 医薬ジャーナル, **31**, 392-397 (1995).
- 17) 富岡佳久, 佐藤秀明, 片山潤, 水柿道直, 病院薬学, **22**, 230-234 (1996).
- 18) 八木啓子, 河敬世, *Biotherapy*, **8**, 1315-1320 (1994).