

Syringe-dispensed omega-3 lipid injectable emulsions should be stored under airtight refrigeration: a proposal for the efficient supply of unapproved precious lipid resources

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2023-03-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 瀬戸口, 誠 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10232/00032422

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 694 号	学位申請者	瀬戸口 誠
審査委員	主査	武田 泰生	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	橋口 照人	副査 中村 雅之
	副査	大脇 哲洋	副査 出口 尚寿

主査および副査の5名は、令和4年12月27日、学位申請者 瀬戸口 誠 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問 1) 大豆油脂肪乳剤は静脈栄養関連肝障害を引き起こすとあるが、どの程度の因果関係が言われているのか。

(回答) 長期の静脈栄養を受けている乳児で25-60%との報告がある (Nandivada P et al, 2016)。静脈栄養関連肝障害は、未熟性や腸管不全といった患者関連因子や、完全静脈栄養、脂肪乳剤といった静脈栄養因子など、複合的な要因で引き起こされると言われている。

質問 2) マロンジアルデヒド (MDA) assay における TBA 試薬の役割、原理はどのようになっているのか。

(回答) TBA は発色試薬である。TBA 法では、MDA が TBA と複合体を形成して赤色を呈することで、530 - 540nm の吸光度測定により複合体濃度測定が可能となることがその原理である。

質問 3) 粒子径はどの条件でも変わらなかったのか。真空処理や冷所保存は、粒子径に影響しなかったのか。

(回答) どの条件でも変わらなかった。真空処理や冷所保存は粒子径には影響しなかった。

質問 4) 脂肪乳剤が凝集して粒子径が変化する機序はどのように説明されるのか。

(回答) 温度、pH、電解質などが要因で、粒子が不安定になり、脂肪粒子が粒子間引力により集まることで凝集するとされている。

質問 5) Omegaven® と SMOFlipid® における、MDA 濃度のベースラインの違いはどうか。

(回答) 開封直後の MDA 濃度は Omegaven® の方が僅かに高かった。これは Omegaven® は $\omega 3$ 系多価不飽和脂肪酸が豊富な純魚油で精製されており、より酸化しやすいと考えられる。また、製剤開封前も僅かではあるが酸化が始まっていることも考えられ、製剤製造から実験開始までの期間が両者で異なったことも影響している可能性がある。

質問 6) Fish oil で MDA の結果が一番大きかったという点は、予想通りであったのか。

(回答) Omegaven® は3種のうち $\omega 3$ 系脂肪酸の割合が最も高い製剤であり、予想通りの結果であった。

質問 7) Omegaven® と SMOFlipid® を今回の研究方法で使用すると、年間の費用はいくらで済むのか。

(回答) 年間48万円程度と、かなり抑えられる。しかし、それでも毎月4万円の費用は決して安価とは言えない。

質問 8) シリンジのみの保存で MDA は 35 μ M まで増加していたが、これはどの程度の毒性なのか。

(回答) 今回は in vivo の検討はしておらず、実際の毒性は評価していない。今後の検討事項である。MDA は分子量が小さく、半減期が長いため変異原性が知られている。文献では、ヒト細胞に 0.5mM の MDA を添加すると変異原性を認めたという報告がある (Niedernhofer LJ et al, 2003)。

質問 9) MDA 濃度で考えると、冷所に入れるだけでも臨床に十分に應用できるのではないのか。

(回答) 冷所に入れるだけでも酸化劣化抑制は許容できるかもしれないが、実際に在宅静脈栄養患者に供給するには心許ない。真空パック未処理で有意な MDA 増加が見られたこと、自宅へ持ち帰り保存し患児に投与するまでの衛生面も鑑みると、真空パック処理した分注シリンジでの供給が妥当であると総評した。

質問 10) 遮光の効果は冷蔵庫に入れると無くなると思うが、どのような冷蔵庫で実験をしたのか。

(回答) 薬剤部内の大型冷蔵庫で実験を行った。閉じれば光が当たらないため遮光の効果は無かったと考えられる。

質問 11) 遮光の効果の差はどのように考えているのか。

(回答) 室温における、シリンジのみでの保存 vs 遮光包装保存 では酸化劣化抑制効果が見られた。室内光の影響があった。しかし、真空処理してしまうと真空の効果が強く、遮光包装そのものの効果は見られなかったと考えている。実臨床では、払い出しから帰宅まで持ち運び中の環境を鑑みると、遮光包装の意味はあるのではないかと考えている。

質問 12) どのような波長の光が MDA を増加させるのか。それに対する遮光袋の効果は、どの程度なのか。

(回答) 波長の短い紫外線が主に酸化を促進すると言われている。本実験で用いた遮光袋は、日常診療で一般に用いられている遮光袋と同様のもので、300 - 500nm の紫外線と可視光線をほとんど遮断する。

質問 13) 車内実験の条件は具体的にどのようであったのか。温度幅が広いが、実験時期での差異は検討しているのか。

(回答) 車内温度は 20.2~85.2 $^{\circ}$ C、平均 38.1 $^{\circ}$ C であった。実験時期での差異は検討していない。

質問 14) Omegaven®, SMOFlipid® の脂肪酸組成はどのようになっているか。どんな $\omega 3$ 系脂肪酸が入っているのか。

(回答) Omegaven® は脂質として 100g 中、 α -リノレン酸 (1.3g)、エイコサペンタエン酸 (20.1g)、ドコサヘキサエン酸 (18.4g) の割合で $\omega 3$ 系脂肪酸が入っている。SMOFlipid® は脂質として 100g 中、 α -リノレン酸 (2.4g)、エイコサペンタエン酸 (2.4g)、ドコサヘキサエン酸 (2.2g) の割合で $\omega 3$ 系脂肪酸が入っている。

質問 15) Omegaven® のみでは必須脂肪酸が不足すると思われるが、実際にはどのように使用しているのか。

(回答) 完全静脈栄養においては、必須脂肪酸の供給を含め栄養管理主体として SMOFlipid® を用いている。胆汁うっ滞性の肝機能悪化 (PNALD) 時には、胆汁うっ滞改善を治療目的として、Omegaven® を適用している。

最終試験の結果の要旨

(694)

質問 16) MDA の前駆物質、ヒドロキシペルオキシド (HPO) は悪さをしないのか。

(回答) 毒性物質である。生体に及ぼす酸化ストレスの主要因は HPO 等のラジカル物質であると考えられている。

質問 17) HPO はどの程度の割合で MDA になるのか。MDA へ分解されるのを抑えている可能性はないのか。

(回答) ラット皮膚細胞において 1-10% との報告があるが (金子孝夫、皮膚機能と老化)、HPO の MDA への分解は反応条件等で異なる。HPO も含め、ラジカルは不安定で一般に実験では測定が難しい。EPO から MDA への分解を低温や遮光がどの程度抑制するかは未詳である。しかし、真空処理による酸素遮断は HPO の生成抑制効果もあると思う。

質問 18) $\omega 3$ 系と $\omega 6$ 系は全て MDA になるのか。

(回答) 全てとは言えないと思う。ヒドロキシヘキサセナル等のアルデヒド、アルコールなどの分解物も産生される。

質問 19) 成人領域にも利があると思うが、Omegaven[®]、SMOFlipid[®] が本邦で上市されない理由は何か。製造工程が難しいからか。

(回答) 魚油の元となる青身魚の安定確保が国内では困難なことが主要因とされる。成人領域にも利のある製剤である。

質問 20) 冷所は 4°C だが、さらに低い温度、つまり脂肪乳剤が凍ってしまうような温度ではどうなるのか。

(回答) 今回は検討していないが、凍ってから液体に戻る過程で分解の可能性はあるが、凝固点降下を考えると脂肪乳剤は家庭用冷蔵庫では凍らないと考えられる。冬季に外気が冷蔵庫内よりも下がる北米では、製剤の凍結-解凍による変化を避けるため冷蔵庫内での保管が推奨されている。

質問 21) 脂肪乳剤等の長期投与で起こる静脈栄養関連肝障害はどのくらいの期間で実際に出現するのか。

(回答) 投与開始後、2 週~1 ヶ月で発症し得る。未熟性が高い程、そのリスクは高い。

質問 22) 静脈栄養関連肝障害の肝臓はどのような変化が起きているのか。それが生命予後悪化につながる case はあるのか。

(回答) 経験症例では AST/ALT が 200-300 IU/L 付近まで上昇し、直接ビリルビンは 10 mg/dL まで上昇したが、Omegaven[®]、SMOFlipid[®] の適用によって肝障害進行を制御可能であった。ただし、胆汁うっ滞の解消は図られるが、一度起きてしまった線維化は解消しない。かつては、肝機能増悪、肝不全・多臓器不全による死亡例が散見されていた。

質問 23) Omegaven[®] と SMOFlipid[®] の投与速度はどのくらいか。側管から投与しているのか。

(回答) 0.5g/kg/day の投与量では 5 時間以上、1.0g/kg/day では 10 時間以上かけての投与を原則としている。実際はさらに、十分な時間をかけての投与を選択している。中心静脈ラインメインルートで側管から投与している。

質問 24) Omegaven[®] と SMOFlipid[®] の投与時間が長い、デリケートな製剤が変化してしまうリスクはないのか。

(回答) 今回の結果からは、室温で 1 日は変化せず安定していると考えている。臨床上也問題ないと考えている。

質問 25) 海外では Omegaven[®] と SMOFlipid[®] の小児用の小さい規格は販売されていないのか。

(回答) 販売されていない。しかし、先進国では脂肪乳剤を内包した all-in-one システムで患者毎にテイラーメイドに調剤された静脈栄養製剤を個別宅配供給する体制が整っている。

質問 26) pH 低下の話題があったが、小さな新生児・小児の血管への影響は考えなくてよいのか。

(回答) 通常 CV ルートから他の点滴液に希釈されて右房近くに供給されるため、血管への影響はないと考えられる。製剤そのものの pH 低下も 0.1-0.2 の僅かなものであり、酸性物質としての血管への影響はほぼ問題ないと思われる。

質問 27) 今回の光・熱の遮断で HPO の段階でとどまって残っている可能性はないのか。

(回答) 光・熱は反応の促進剤であるので、無くても反応は進むと考えている。保存方法と HPO の関係は未詳である。

質問 28) 酸化劣化を MDA で評価したことの是非をどのように考えているか。

(回答) 酸化劣化には MDA や HPO、4-ヒドロキシヘキサセナル等の評価法があるが、最終分解物である MDA を脂質の酸化劣化指標としている先行報告は多数認められ、評価方法として適切であると考えている。

質問 29) 脂肪乳剤の還元剤の影響は無いのか。

(回答) 未詳である。添加還元剤のビタミン E を製剤中から除去する実験系は非現実的であり、ビタミン E を余分に投与した際の効果はほぼなかったとする先行報告もある。今回の実験結論には、影響のある因子ではないと考えている。

質問 30) 酸化された $\omega 3$ 系脂肪酸を直接測定することはできるのか。

(回答) 高速液体クロマトグラフィーで可能であるが、脂肪酸種類は多様であり、今回は MDA での総評価を選択した。

質問 31) Omegaven[®] と SMOFlipid[®] のコントロールの MDA ベースが異なっている。SMOFlipid[®] は冷所保存だけで Omegaven[®] のベースラインを越えないので冷所保存だけで構わないとも解釈できるが、どのように考えているのか。

(回答) 易酸化性の $\omega 3$ 系脂肪酸を多く含む Omegaven[®] のコントロール値が高かった。SMOFlipid[®] については真空未処理で有意な MDA 増加が認められており、家庭の冷蔵庫保存での衛生面も鑑みると、結論は妥当であると考えている。

質問 32) 無菌性試験が冷所サンプルしか行われていないのはなぜか。

(回答) サンプル量の問題と、臨床で使用する条件で無菌操作の確認をすることが目的であったため冷所のみ実施した。

質問 33) pH の変化が MDA 濃度の変化とリンクしていない印象があるが、この点に微生物の量が影響していた可能性はないのか。

(回答) 未詳である。今回は冷所において微生物は検出されず、微生物の影響は検討できていない。

質問 34) 製剤の 10%、20% というのはどういう意味か。

(回答) 製剤中の脂肪量である。オメガベンは 100ml 中に 10g、SMOF は 100ml 中に 20g の脂肪が含まれている。

質問 35) 14 日間の MDA 濃度が Omegaven[®] で最大 35 μ M、SMOFlipid[®] で最大 13 μ M まで上がっていたが、元の脂肪に対してどの程度の割合なのか。

(回答) 最終産物の物質量と元の脂肪酸量との物質量とはいずれも実測値ではなく、正確な割合関係の解析は困難と考えている。単純に濃度と分子量から算出すると 0.06% (Omegaven[®])、0.043% (SMOFlipid[®]) という割合になるが、実を現した数字とは言えない。今後、遊離脂肪酸・HPO などの定量、MDA 濃度との関係を確認したいと考えている。

質問 36) シリンジの材質は空気を通さないが、酸化するのか。真空バック処理は真空度保持に関し、どのくらいの性能があるのか。

(回答) 分注操作中の酸素接触や、プランジャー側からの混入酸素の影響も考えられる。使用機器の脱気圧は 60.8 - 84.6kPa で低真空 (ISO 区分) であり、一般的には、家庭用ノズル式真空処理機は約 70 - 80% の真空度と推定される。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士 (医学) の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。