

リトドリンの体内動態と母子間移行の定量的評価

平成 25 年度

相 馬 ま ゆ 子

リトドリンの体内動態と母子間移行の定量的評価

本論文は 2013 年北海道薬科大学における博士（薬学）の
学位取得のために提出し受理されたものである。

相 馬 ま ゆ 子

目 次

緒言	1
第 1 章 単胎及び双胎妊娠妊婦におけるリトドリンの体内動態差	12
第 1 節 序論	12
第 2 節 対象および方法	13
1. 対象	13
2. 方法	13
1) 検体の採取	13
2) 血清中リトドリン濃度測定	13
3) 体内動態パラメータの算出	14
4) 分娩転帰	14
5) 統計解析	14
第 3 節 結果	17
1. リトドリン投与量と血清中リトドリン濃度との関係	17
2. 分娩転帰との関連	17
第 4 節 考察	23
第 5 節 小括	26
第 2 章 双胎妊婦におけるリトドリンの母胎児間移行	27
第 1 節 序論	27
第 2 節 対象および方法	28
1. 対象	28
2. 方法	28
1) 検体の採取	28
2) 血清中並びに臍帯血中リトドリン濃度測定	28
3) 統計処理	28
第 3 節 結果	31
第 4 節 考察	33

第 5 節 小括	37
第 3 章 LC-MS/MS による妊婦血清中リトドリン濃度の新規高感度 定量法の評価	38
第 1 節 序論	38
第 2 節 対象および方法	39
1. 内部標準物質	39
2. 抽出方法	39
3. LC-MS/MS の条件	39
4. 検量線	40
5. 測定精度	40
1) 日内再現性	40
2) 日差再現性	40
3) 安定性	41
6. 症例報告	41
第 3 節 結果	43
1. MRM (Multiple Reaction Monitoring) 条件の最適化	43
2. 測定精度	43
3. 症例報告	44
第 4 節 考察	50
第 5 節 小括	52
総括	53
謝辞	55
参考文献	56

本論文は、学術雑誌に掲載された次の論文を基礎とするものである。

- 1) Soma M, Konda A, Yoshida H , Kishimoto S ,Fukushima S, Toda T, Sasaki Y, Hayakawa T, Inotsume N: Maternal-to-fetal transfer of ritodrine in twin pregnancy, *Jpn J Clin Pharmacol Ther*, **43**(5), 339-343 (2012).
- 2) Soma M, Konda A, Fujieda S, Sasaki Y, Takahashi N, Yoshida H, Toda T, Hayakawa T, Fukushima S, Inotsume N: Validation of a novel sensitive method for measuring maternal and neonatal serum ritodrine concentrations, *TDM 研究*, 30(4), 134-141(2013).
- 3) Soma M, Konda A, Fujieda S, Sasaki Y, Watari M, Keira M, Yoshida H , Toda T, Hayakawa T, Kishimoto S ,Fukushima S, Inotsume N: Difference in ritodrine pharmacokinetics between singleton and twin pregnancies, *Jpn J Clin Pharmacol Ther*, **44**(5), 389-394(2013).

緒言

我が国は世界で経験したことの無い速度で高齢化が進行している。一方で、妊娠分娩時の高齢化¹⁻⁵⁾、排卵誘発法の開発、生殖補助医療(assisted reproductive technology: ART)の発展⁶⁾により、不妊症患者でも妊娠を可能とする医療がおこなわれるようになった。厚生労働省の発表によると、わが国の出生数は、1990年に122.2万人であり出生率1.54であったのに対し、2011年では105.1万人となり出生率は1.39⁷⁾と、少子化傾向を示し、長期的に人口を維持するための水準2.07⁷⁾と比較し極めて低い値となっている(Figure 1)。平成8年度厚生省心身障害研究「不妊治療の在り方に関する研究」—不妊治療の実態調査および不妊治療技術の適応に関する研究によると、三胎の89.7%、四胎の97.1%、五胎以上はすべて不妊治療による妊娠であると報告している⁸⁾。多胎妊娠は流産率や早産率が高く母子に重大な危険性を伴うが、排卵誘発剤使用により1周期の排卵卵胞数は増加するため多胎妊娠の割合が高くなる。また、日本産科婦人科学会は、2008年に「生殖補助医療における多胎妊娠防止に関する見解」として「生殖補助医療の胚移植において、移植する胚は原則として単一とする。ただし、35歳以上の女性、または2回以上続けて妊娠不成立であった女性などについては、2胚移植を許容する。」こととしているため多胎妊娠となる場合も多い⁹⁾。

分娩予定日の定義は、妊娠期間を最終正常月経第1日より起算して満280日、すなわち妊娠40週0日である。また、妊娠37週以降42週未満、妊娠22週以降37週未満、妊娠42週以降の出産がそれぞれ「正期産」、「早産」、「過期産」と定義される^{10,11)}。Table 1に分娩時期ごとの出生数の年次推移を示した⁷⁾。

周産期死亡率(対出産1,000)は、胎児数の増加とともに上昇し、双胎は75.0、三胎は75.3、四胎は102.9、五胎は125.0である。出生後、1年以上経過した小児の後遺症は、双胎は4.7%、三胎は3.6%、四胎は10.2%、五胎は30.8%と報告されており、その内訳は、脳性麻痺、精神発育障害、未熟児網膜症である¹²⁾。さらに母体の合併症の罹患率については、胎児数が増加するにしたがって上昇し、双胎は78.1%、三胎は84.1%、四胎は95.0%、五胎は100.0%と報告されている¹²⁾。さらに、母体の身体的、精神的、および経済的負担が大きい

などの問題を抱えている^{13,14)}。Figure 2 に示したように分娩週数が早いほど死亡率や後遺症を残す可能性が高くなるため、正期産である 37 週を目標に、妊娠を継続させることが重要である¹⁵⁾。

早産率の年次推移は 1990 年に 4.52%であったが、2011 年に 5.74%と上昇している⁷⁾(Table 1)。単胎と多胎の出生数の年次推移については、Table 2 に示したように、単胎の出生数は、減少傾向にある。一方、多胎の出生数の推移は約 2 万人と変わらず、妊娠全体の約 2%を占めている¹⁶⁾。

早産のリスク因子は多岐に渡り、社会的背景として、若年妊婦^{17,18)}、高齢妊婦¹⁹⁻²¹⁾、喫煙^{19,20)}、アルコールの多量摂取^{19,20)}、低栄養状態²²⁾、ストレス^{23,24)}、妊娠成立状況として、妊娠前の合併症^{25,26)}、大気汚染²⁷⁾、ART^{28,29)}、既往早産³⁰⁾、妊娠中の変化として、感染症²⁰⁾、出血^{19,20)}、子宮頸管無力症²⁰⁾、子宮頸部円錐切除^{31,32)}などが挙げられる。しかし、特定の原因に限局することはできず、疫学調査の結果からは早産症例の半数程度しか特定できていない。さらに、妊娠 32 週未満では多胎における早産リスクが約 8 倍、32~36 週では約 12 倍に増加し³³⁾(Table 3)、多胎妊娠は早産リスクを高めるとの報告がある³⁴⁾。双胎妊娠の 48~54%が 37 週未満の早産となり、脳性麻痺の発症頻度が高い 1,500 g 未満に相当する 32 週未満の早産は 10~15%と報告されている^{35,36)}。これらの頻度は単胎妊娠の約 10 倍である。さらに三胎以上の多胎は 90%以上が早産で、三胎の平均在胎週数は 32.7 週、四胎では 29.3 週、五胎では 25.0 週である^{12,37)}。

早産にて出生した児は、低出生体重児(2,500 g 未満)の可能性が高く、正期産児に比べ発達予後が不良である。特に超低出生体重児(1,000 g 未満)に起こる脳性麻痺や精神発達遅滞の発症率は正期産児と比較し明らかに高率である³⁸⁻⁴⁰⁾。平成 7 年の日本産科婦人科学会周産期委員会報告によると、胎児数が増加するにしたがって出生体重が減少し、双胎は 2153±703 g、三胎は 1673±485g、四胎は 1203±359 g、五胎は 993±249 g(平均±標準偏差)となっている¹²⁾。

また、Baker による「成人病胎児期発症(起源)説：Fatal Origins of Adult Disease, FOAD」では、出生体重の低下は生活習慣病を含む成人病の発症リスクが高くなる⁴¹⁾といわれ、近年では、妊娠前、妊娠中、新生児期の環境と遺伝子の相互作用が健康・疾病に影響を及ぼすという概念「DOHaD, developmental

origins of health and disease」へ発展している。メタ解析により出生体重 2,500 g 未満の低出生体重児はオッズ比 1.21(95% CI 1.13–1.30)であり、成長後に有意に高血圧を発症すること⁴²⁾や、出生体重が少ないほど収縮期血圧が高くなること⁴³⁾が報告されている。

双胎妊娠は絨毛膜と羊膜の数で分類され、周産期死亡や神経学的後遺症は 1 絨毛膜 1 羊膜(monochorionic monoamniotic: MM)双胎が最も多く、以下、1 絨毛膜 2 羊膜(monochorionic diamniotic: MD)双胎、2 絨毛膜 2 羊膜(dichorionic diamniotic: DD)双胎の順となっている⁴⁴⁾。MM 双胎の周産期死亡率は 20%前後であり、MD 双胎では 4.4~7.5%、DD 双胎の周産期死亡率は 1.7~1.8%である⁴⁵⁻⁴⁷⁾。神経学的後遺症も DD 双胎の 1.7~2.4%に比較し、MD 双胎では 5.5~16.4%と 3~9 倍リスクが上昇する^{45,46)}。

日本産科婦人科学会は、切迫早産の定義を、「妊娠 22 週以降から 37 週未満に下腹痛(10 分に 1 回以上の陣痛)、性器出血、破水などの症状に加えて、外測陣痛計で規則的な子宮収縮があり、内診では、子宮口開大、子宮頸管展退などが認められ、早産の危険性が高い状態」としている⁴⁸⁾。

本邦における切迫早産治療薬としては、リトドリン塩酸塩、イソクスプリン塩酸塩、ピペリドレート塩酸塩(Figure 3)、硫酸マグネシウムがあるが、主にリトドリン塩酸塩が臨床で用いられている。リトドリンは 2 つの不斉炭素を有するが、エリスロ体のラセミ体として臨床使用されている^{49,50)}。

リトドリンは選択的 β_2 作動薬であり、 β_2 受容体に結合後、アデニル酸シクラーゼを活性化、cAMP 含量を増加させ細胞内 Ca^{2+} の貯蔵部位への取り込みを促進し、ミオシン軽鎖キナーゼを不活化することにより子宮平滑筋を弛緩させる⁵¹⁾。

1992 年にカナダの切迫早産研究グループが、無作為に抽出した 708 例の切迫早産症例をリトドリン投与群(352 例)とプラセボ群(356 例)における妊娠延長期間等を検討した大規模臨床試験を報告した⁵²⁾。その結果、妊娠期間、37 週未満の早産数、2,500 g 未満の新生児数、新生児罹病率においてリトドリン投与群とプラセボ群の間には有意差がなかった。しかし、妊娠期間については、治療開始からの経過時間が 24 時間未満、48 時間未満、7 日未満、また、32 週未満の分娩数をリトドリン投与群とプラセボ群で比較した場合、リトドリン投

与群の分娩数が少ない傾向であった。アメリカやカナダでは、この報告に基づいて、新生児呼吸切迫症候群発症予防のためのステロイド投与の効果が現れるまでの 48 時間を子宮収縮抑制薬で妊娠を延長させる治療が行われている。しかし、この研究グループの解析では、リトドリン投与群に、前期破水例、50% 以上の子宮頸管展退例、4 cm 以上の子宮口開大例がプラセボ群より多く含まれており、有意差が認められなかった可能性がある。

このように、欧米では、48 時間の妊娠期間延長を目的とした短期間の早産防止治療(short-term tocolysis)のために子宮収縮抑制薬が用いられているが、本邦においては、比較的長い早産防止治療(long-term tocolysis)が行われており、子宮収縮抑制薬の有用性評価について欧米と本邦の間で単純に比較できない。

本邦では、1,147 名の妊婦を対象とした比較研究により、リトドリン投与群、無治療群に分けて比較した結果が報告されている⁵³⁾。この研究報告では、平均早産防止期間は、リトドリン投与群に無治療群より有意な延長を認めたとされており、リトドリンによる長期治療の有用性を認めているが、リトドリンの薬物動態学的解析は行われていない⁵³⁾。坂元らは、切迫早産におけるリトドリン点滴静注を行った 59 名のうち、44 名(74.6%)が正期産、52 名(88.1%)が新生児体重 2,500 g 以上を達成したと報告している⁵⁴⁾。しかし、切迫早産治療のために長期間にわたりリトドリンが投与された妊婦、特に双胎妊婦における有効性と安全性評価研究は見当たらない。

本邦におけるリトドリンの医薬品添付文書の用法用量の項には「通常、1 アンプル(5 mL)を 5%ブドウ糖注射液または 10%マルトース注射液 500 mL に希釈し、リトドリン塩酸塩として毎分 50 µg から点滴静注を開始し、子宮収縮抑制状況および母体心拍数などを観察しながら適宜増減する。子宮収縮の抑制後は症状を観察しながら漸次減量し、毎分 50 µg 以下の速度を維持して収縮の再発が見られないことが確認された場合には投与を中止すること。通常、有効用量は毎分 50~150 µg である。なお、注入薬量は毎分 200 µg を越えないようにすること。」と記載されているのみであり、詳細な投与方法指針が検討されていない⁵⁵⁾。

血清中リトドリン濃度と子宮収縮抑制頻度とは相関性($y = 4.4 x - 19.6$, $r = 0.84$, $p < 0.001$, $n = 17$)があり、子宮抑制に必要な血清中リトドリン濃度は 15

～45 ng/mL と報告されている⁵⁶⁾。これまでリトドリンの血中濃度測定法については、RIA 法⁵⁷⁻⁶⁰⁾、HPLC 法⁶¹⁻⁷¹⁾の報告があるが、血清を 1 mL 以上必要としていたため、血液採取量の面から新生児における血清中濃度測定が困難であった。最近では LC-MS/MS 法⁷²⁻⁷⁴⁾、TOF-MS/MS 法⁷⁵⁾を用いた微量血液試料での測定法についての報告がある。

妊娠後期には医薬品クリアランスが増加するとの報告が多い⁷⁶⁾。しかし、リトドリンでは、患者によってはむしろ低下するとの結果が得られている⁶¹⁾。リトドリン体内動態の特殊性を明らかにすることもリトドリンの適正使用の観点から必要である。特に、双胎妊婦におけるリトドリンの体内動態と臨床効果との関係についての情報は極めて少ない^{61,77,78)}。

少子化対策の一環として、女性が安心して子供を出産できる医療環境を構築するためには、切迫早産防止作用が認められているリトドリンの合理的な投与方法を構築することが急務である。

以上のことより、本研究では、はじめに、単胎および双胎妊娠妊婦におけるリトドリンの体内動態差について、全身クリアランスと分娩転帰をもとに詳細な検討を行った。次に、2011年11月には医薬品・医療機器等安全性情報 No.285 において、リトドリンの胎児及び新生児に対する心不全の副作用が通知され、妊娠の継続へのリトドリンの適正使用の推進のみならず、分娩後の新生児に対するリトドリンの副作用モニタリングが必須であると注意喚起された⁷⁹⁾。そこで、DD 双胎妊婦における帝王切開時に採取した臍帯血と母体血の血清中リトドリン濃度測定結果から、リトドリンの母胎児間移行について検討を行った。さらに、新生児におけるリトドリン体内動態の評価のため、微量の血液検体を測定することのできる液体クロマトグラフ・タンデム質量分析(LC-MS/MS)法によるリトドリンの高感度定量法を開発し、症例検討を行った。

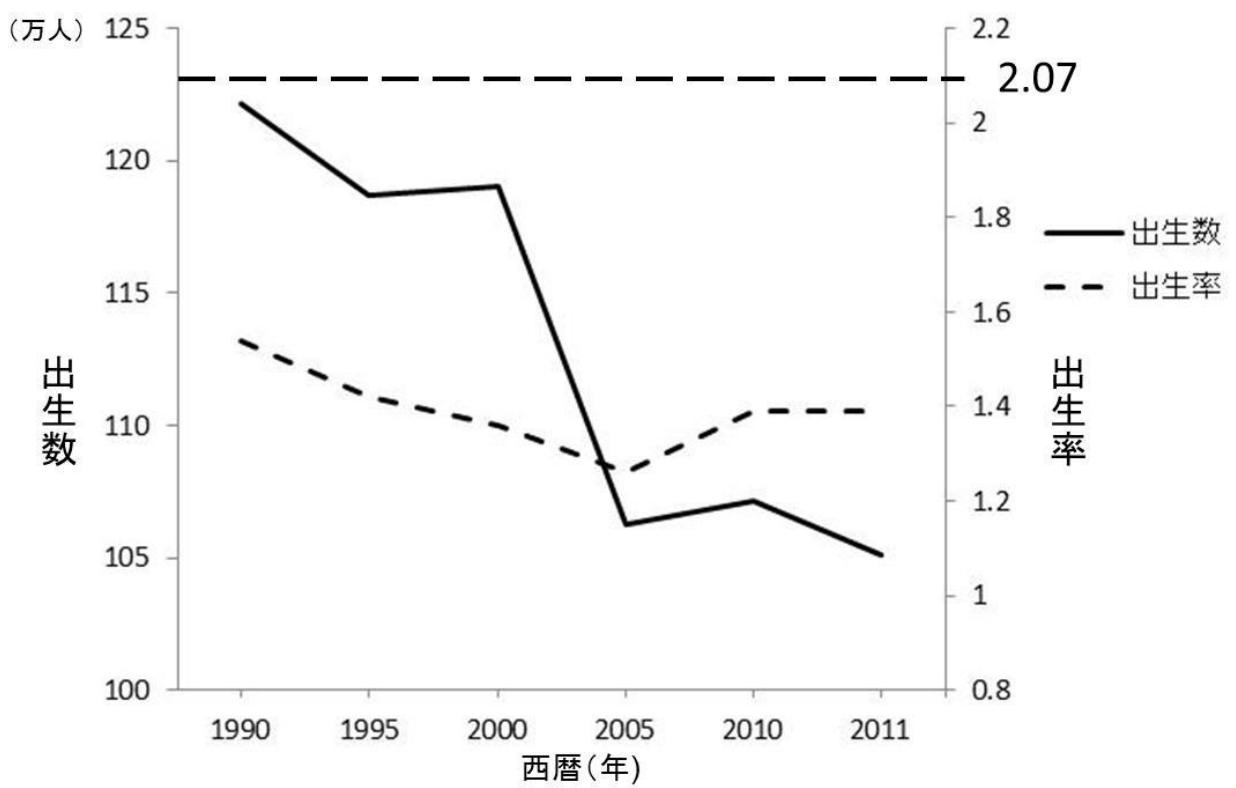


Figure 1. 出生数及び出生率の年次推移

Table 1. 分娩時期の定義と年次推移

分娩時期		1990年	2000年	2011年
早産	妊娠22週以降 37週未満	5.5 (4.52%)	6.4 (5.38%)	6.0 (5.74%)
正期産	妊娠37週以降 42週未満	114.6 (93.80%)	111.6 (93.79%)	98.7 (93.95%)
過期産	妊娠42週以降	2.0 (1.68%)	1.0 (0.83%)	0.3 (0.31%)
合計		122.2 (100.0%)	119.0 (100.0%)	105.1 (100.0%)

単位：万人

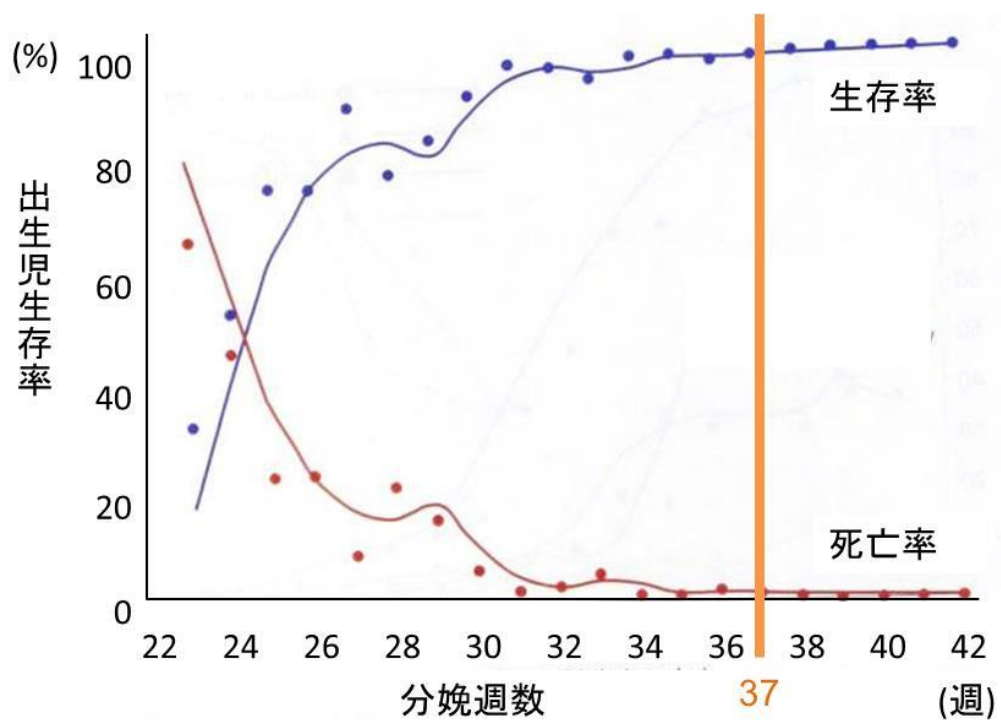


Figure 2. 分娩週数と新生児生存率

Table 2. 単胎と多胎の出生数の年次推移

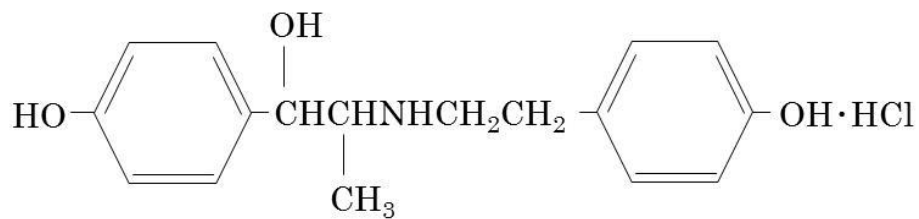
	1990年	2000年	2010年
単胎の出生数	120.5 (98.63%)	116.7 (98.02%)	105.1 (98.11%)
多胎の出生数	1.7 (1.37%)	2.3 (1.98%)	2.0 (1.89%)
全出生数	122.2 (100.0%)	119.0 (100.0%)	107.1 (100.0%)

単位：万人

Table 3. 単胎と比較した多胎における
早産リスクのオッズ比

妊娠週数	早産リスクのオッズ比 (95% CI)
妊娠28週未満	8.10 (7.33-8.96)
妊娠28週以降 32週未満	8.15 (7.51-8.84)
妊娠32週以降 36週未満	11.95 (11.53-12.38)
妊娠36週以降	13.72 (13.26-14.19)

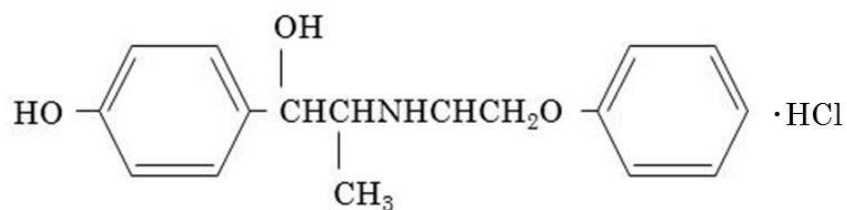
(A)



Ritodrine Hydrochloride

(1*RS*,2*SR*)-1-(4-Hydroxyphenyl)-2-{{2-(4-hydroxyphenyl)ethyl}amino}propan-1-ol monohydrochloride

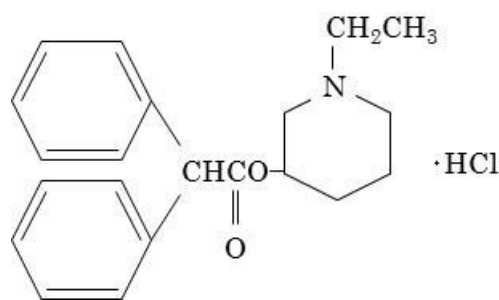
(B)



Isoxsuprine Hydrochloride

(1*RS*,2*SR*)-1-(4-Hydroxyphenyl)-2-{{(2*SR*)-1-phenoxypropan-2-yl}amino}propan-1-ol monohydrochloride

(C)



Piperidolate Hydrochloride

N-ethyl-3-piperidyl diphenylacetate hydrochloride

Figure 3. リトドリン塩酸塩(A)、イソクスプリン塩酸塩(B)、ピペリドレート塩酸塩(C)の構造式

第 1 章 単胎及び双胎妊娠妊婦におけるリトドリンの体内動態差

第 1 節 序論

早産とは妊娠 22 週以降から 37 週未満の分娩とされており、切迫早産は妊娠 22 週以降から 27 週未満に下腹部痛(10 分に 1 回以上の陣痛)、性器出血、破水などの症状に加えて外側陣痛計で規則的な子宮収縮があり、内診で子宮口開大、頸管展退などが認められ、早産の危険性が高い状態とされている⁴⁸⁾。一方、本邦の周産期医療では早産による低出生体重児の未熟性による障害を防ぐため、在胎日数をできるだけ延長させて胎児の成熟度を向上させる long term tocolysis が行われている⁵³⁾。早産を予防するための治療薬としては、妊娠中期から分娩時まで長期にわたり、子宮収縮を抑制する選択的 β_2 作動薬であるリトドリンが臨床で用いられている^{77,78)}。

妊娠期間中は母体の生理機能が大きく変化することから、薬物の体内動態も変化することが知られている⁸⁰⁾。また、母体の循環血量や羊水量などの違いから、単胎妊娠と双胎妊娠では投与された薬物のクリアランスなどに差がみられることが考えられる。リトドリン全身クリアランスの低下は、持続的に静脈投与されている妊婦の血中リトドリン濃度を上昇させることから、副作用の発現に注意しなければならない。

胎児数の薬物体内動態への影響についてはいくつか研究がある。Ballabh らは、ベタメタゾンの半減期が単胎 9.0 ± 2.7 時間であるのに対し、双胎では 7.2 ± 2.7 時間と有意に短いことを報告している⁸¹⁾。さらに Callesen らは、双胎妊娠において、14~27 週の間における 1 週毎のインシュリン使用量は、単胎妊娠と比較して 2 倍に増加していたと報告している⁸²⁾。

我々は、妊娠の継続とともにリトドリン全身クリアランスが著しく低下する双胎妊娠の症例をすでに報告した⁶¹⁾。しかし、リトドリンの体内動態に関する胎児数や分娩転帰を考慮した検討の報告はない。本研究では、単胎妊婦と双胎妊婦においてリトドリン持続注入療法時の定常状態における血清中リトドリン濃度を測定し、体内動態パラメータと分娩転帰などの関連性について比較検討した。

第 2 節 対象および方法

1. 対象

天使病院において、2004 年 11 月から 2010 年 3 月に切迫早産と診断され、リトドリンの持続注入治療を受けた単胎妊婦 67 名、双胎妊婦 38 名の合計 105 名の妊婦である (Table 4)。得られた血清中リトドリン濃度測定点は 395 点であり、そのうち、単胎 67 名での採血点は 213 点、双胎妊婦 38 名での採血点は 182 点であった。

2. 方法

1) 検体の採取

リトドリンの定常状態と考えられる、同一投与量で 24 時間以上経過した時点において静脈より採血を行った⁶¹⁾。本研究は、天使病院倫理委員会の承認を得て、妊婦から書面による試験参加の同意を得た。

2) 血清中リトドリン濃度測定

血清中リトドリン濃度は、蛍光検出器を用いた HPLC 法により測定した。血液は採取後ただちに 3,000 rpm で 5 分間遠心し、得られた血清を -20°C で保存した。血清中リトドリン濃度を 1 週間以内に測定した。血清中リトドリン濃度測定は、我々がすでに開発した HPLC 法により行った (Chart 1)⁶¹⁾。すなわち、血清 1 mL に 0.1 mol/L 炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 9.8) 1 mL を添加し、酢酸エチル 5 mL を加えて 15 分間振とうした。試料を遠心分離して得られた上清 4 mL を 40°C にて 2 時間減圧乾固した。残渣を移動相 100 μL に溶解し、そのうち 50 μL を HPLC に注入した。HPLC 送液ユニットは Hitachi L-2130 (日立、東京) を用いた。カラムは Lichrospher 100 RP-18 (関東化学、東京)、検出器は Hitachi L-2480 蛍光検出器 (日立、東京) を用い、励起波長 280 nm、蛍光波長 305 nm として絶対検量線法により血清中リトドリン濃度を測定した。移動相は 0.04 mol/L リン酸 : アセトニトリル = 89 : 11、カラム温度は 35°C 、流速は 1.0 mL/min とした。リトドリンは約 12 分に溶出し、定量妨害成分は認められなかった。定量の再現性は、Gross らの報告⁶³⁾と同様、日内と日間の変動係

数 CV はそれぞれ 5.0%、10.0%以内であった。

3) 体内動態パラメータの算出

リトドリン全身クリアランス (CL_{tot})は、式(1)のように投与量を血清中リトドリン濃度で除して求めた。

$$\text{CL}_{\text{tot}} (\text{L/h/kg}) = \frac{\text{持続点滴投与量 } (\mu\text{g/min/kg}) \times 60}{\text{血清中リトドリン濃度 } (\text{ng/mL})} \quad \text{式(1)}$$

4) 分娩転帰

分娩記録ならびに診療録より、分娩転帰を調査し、血清中リトドリン濃度との関連を検討した。

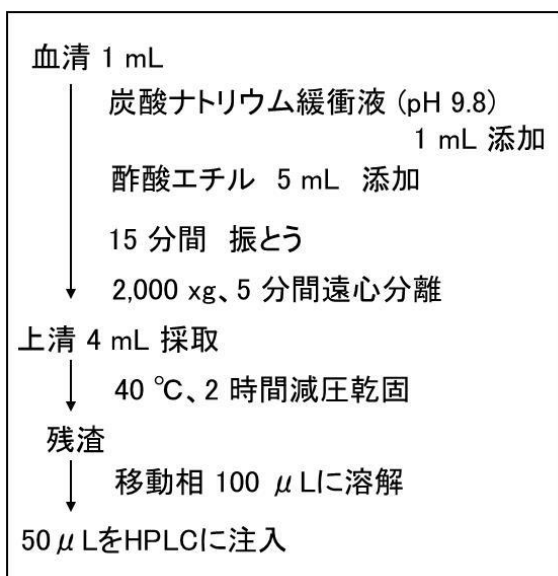
5) 統計解析

血清中リトドリン濃度、リトドリン全身クリアランス、分娩週数の平均値と標準偏差を算出し、t 検定を行った。リトドリン投与量と血清中濃度から得られた回帰直線については共分散分析を行った。統計解析における危険率(p 値)は、有意水準 5%とした。

Table 4 . Characteristics of the patients.

	Singletons		Twins		p
	Mean ± SD (range)		Mean ± SD (range)		
No. of patients	67		38		-
No. of blood samples	213		182		-
Age (yrs)	32.3 ± 5.4	(20–42)	31.8 ± 4.5	(18–42)	n.s.
Weight (kg)	57.9 ± 9.3	(39.2–95.2)	63.0 ± 8.9	(37.0–97.2)	< 0.001
Infusion rate (µg/min/kg)	2.1 ± 1.4	(0.4–7.1)	2.3 ± 1.1	(0.7–4.7)	n.s.
Serum concentration (ng/mL)	73.0 ± 46.7	(18.4–220)	88.2 ± 46.8	(28.4–290)	< 0.01

血清からのリトドリン抽出手順



HPLC 条件

送液ユニット	Hitachi L-2130
カラム	Lichrospher 100 RP-18 250 mm × 4 mm φ 粒子径 5 μm
移動相	0.04 mol/L リン酸 : アセトニトリル =89:11
カラム温度	35 °C
励起波長	280 nm
蛍光波長	305 nm
検出器	Hitachi L-2480 FL detector
流速	1.0 mL/min

Chart 1. リトドリンの抽出手順と HPLC の条件

第3節 結果

1. リトドリン投与量と血清中リトドリン濃度との関係

リトドリン投与速度は、単胎妊婦では $2.1 \pm 1.4 (0.4 - 7.1)$ (平均値 \pm 標準偏差、(範囲)) $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ 、双胎妊婦では $2.3 \pm 1.1 (0.7 - 4.7)$ $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ であった。リトドリン投与速度と血清中リトドリン濃度との関係は、単胎妊婦、双胎妊婦ともに正の相関性がみられ(単胎妊婦, $y = 30.1x + 9.34$, $r = 0.930$; 双胎妊婦, $y = 39.2x - 0.79$, $r = 0.907$)、リトドリンの体内動態は今回の投与量の範囲では線形であった。しかし、投与速度に対応するリトドリンの血清中濃度は双胎妊婦のほうが有意に高い結果($p < 0.01$)であった(Figure 4)。

リトドリン全身クリアランスは、単胎妊婦($1.75 \pm 0.43 (0.69 - 3.65)$ L/h/kg)と比較して、双胎妊婦($1.59 \pm 0.30 (0.83 - 2.47)$ L/h/kg)の方が有意に低かった($p < 0.001$)(Figure 5)。

さらに、単胎妊婦、双胎妊婦における妊娠週数と血清中リトドリン濃度との関係を Figure 6 に示した。単胎妊婦での血清中リトドリン濃度は妊娠週数による変化がみられなかったが、双胎妊婦での血清中リトドリン濃度は妊娠週数の経過に伴い上昇する傾向が認められた。

2. 分娩転帰との関連

対象妊婦 105 名の分娩転帰を調査したところ、早産した単胎妊婦は 20 名、双胎妊婦は 25 名であり、分娩週数に差は認められなかった(単胎妊婦 $33.5 \pm 3.60 (26.4 - 36.9)$ 週; 双胎妊婦 $35.1 \pm 2.35 (26.9 - 36.9)$ 週、n.s.)。早産した単胎妊婦、双胎妊婦における血清中リトドリン濃度(単胎妊婦 49 点、 $97.5 \pm 61.1 (29.2 - 220)$ ng/mL; 双胎妊婦 117 点、 $89.6 \pm 50.4 (28.4 - 290)$ ng/mL、n.s.)に差はなかった。一方、正期産の単胎妊婦は 47 名、双胎妊婦は 13 名であり、双胎妊婦の分娩週数は単胎妊婦よりも短い結果となった(単胎妊婦 $38.1 \pm 1.17 (37.0 - 40.7)$ 週; 双胎妊婦 $37.0 \pm 0.04 (37.0 - 37.1)$ 週、 $p < 0.001$)。血清中リトドリン濃度は、単胎妊婦(164 点、 $65.7 \pm 38.7 (18.4 - 187)$ ng/mL)と比較して、双胎妊婦(65 点、 $85.8 \pm 39.7 (30.4 - 208)$ ng/mL)の方が高い濃度を維持していた($p < 0.001$) (Table 5)。

また単胎妊婦におけるリトドリン全身クリアランスは早産した妊婦と正期産の妊婦では有意差が認められなかったが、(早産 1.77 ± 0.45 (0.69–2.84) L/h/kg; 正期産 1.75 ± 0.43 (0.82–3.65) L/h/kg、n.s.)、双胎妊婦におけるリトドリン全身クリアランスは早産した妊婦よりも正期産の妊婦のほうが有意に大きかった(早産 1.53 ± 0.28 (0.83–2.34) L/h/kg; 正期産 1.69 ± 0.31 (1.14–2.47) L/h/kg、 $p < 0.001$)(Table 5)。

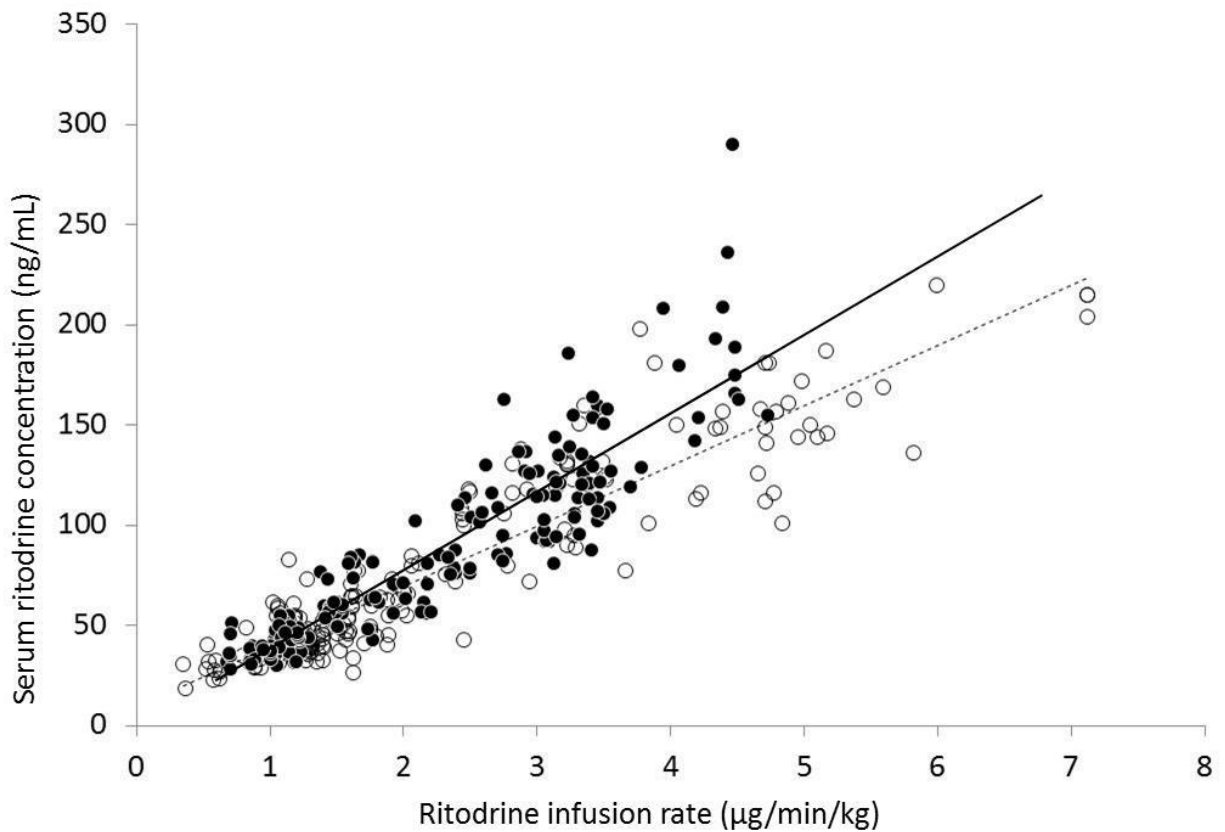


Figure 4. Relationship between ritodrine infusion rate and serum ritodrine concentration in 67 singleton (○, $y = 30.1x + 9.34$, $r = 0.930$) and 38 twin (●, $y = 39.2x - 0.79$, $r = 0.907$) pregnancies.

Regression lines of singleton and twin pregnancies significantly differ ($p < 0.01$).

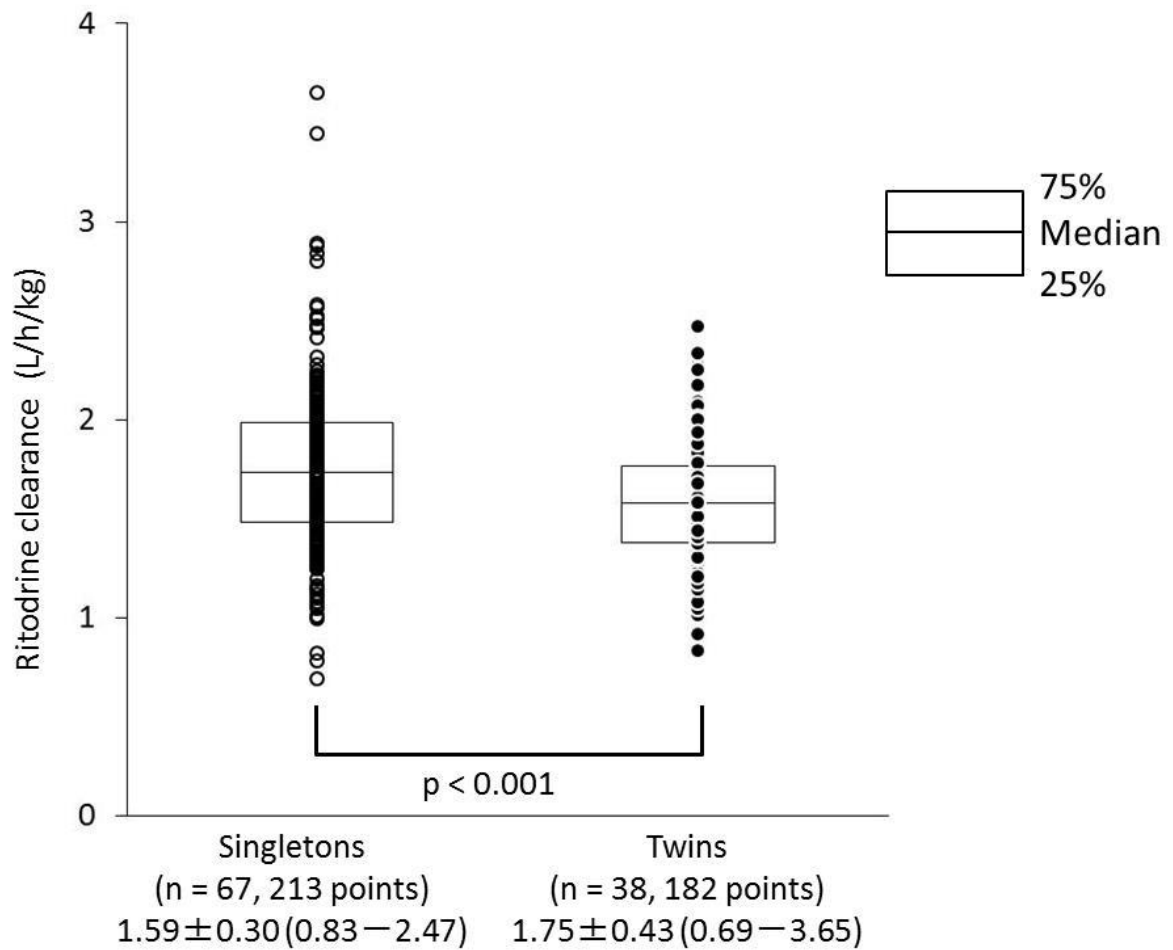


Figure 5. Maternal ritodrine clearance in singleton and twin pregnancies.

Lines within boxes define median; ends of boxes define 25th and 75th percentiles.

Clearance is significantly lower in twin (●, 1.59 ± 0.30 (0.83-2.47)) than singleton (○, 1.75 ± 0.43 (0.69-3.65, L/h/kg); $p < 0.001$) pregnancies.

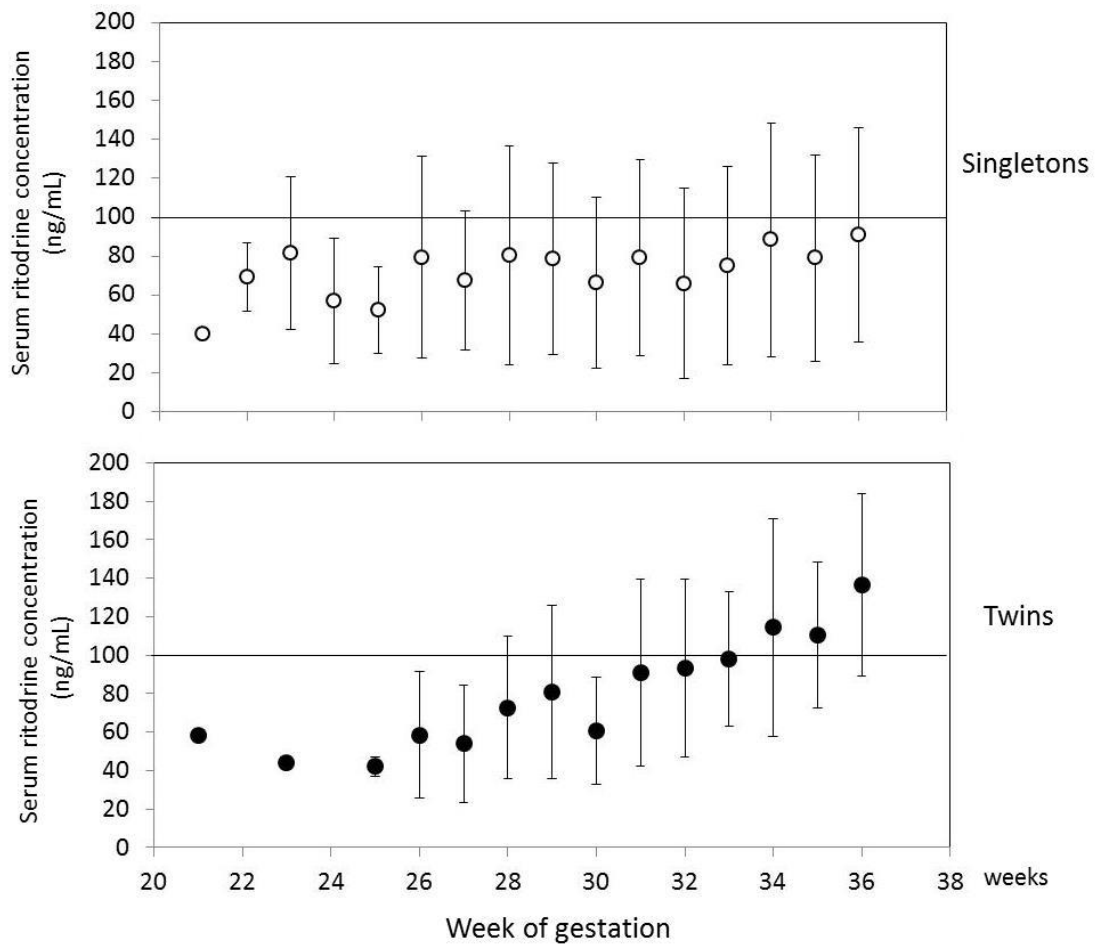


Figure 6. Serum ritodrine concentrations according to gestation week.

Table 7. Delivery outcomes of the patients.

(n = 105)

		Singletons Means \pm SD (range)	Twins Mean \pm SD (range)	p
Premature	No. of patients	20	25	-
	Week of birth	33.5 \pm 3.60 (26.4–36.9)	35.1 \pm 2.35 (26.9–36.9)	n.s.
	Birth weight (g)	2093 \pm 845 (524–3320)	First 2300 \pm 442 (1538–2936)	n.s.
			Second 2115 \pm 533 (1174–3236)	n.s.
	Serum concentration (ng/mL)	49 samples 97.5 \pm 61.1 (29.2–220) *	117 samples 89.6 \pm 50.4 (28.4–290)	n.s.
	Clearance (L/h/kg)	1.77 \pm 0.45 (0.69–2.84)	1.53 \pm 0.28 (0.83–2.34)†	< 0.01
Term	No. of patients	47	13	—
	Week of birth	38.1 \pm 1.17 (37.0–40.7)	37.0 \pm 0.04 (37.0–37.1)	< 0.001
	Birth weight (g)	2932 \pm 440 (1524–4004)	First 2627 \pm 323 (2106–3200)	< 0.05
			Second 2507 \pm 277 (2062–2994)	< 0.05
	Serum concentration (ng/mL)	164 samples 65.7 \pm 38.7 (18.4–187)	65 samples 85.8 \pm 39.7 (30.4–208)	< 0.001
	Clearance (L/h/kg)	1.75 \pm 0.43 (0.82–3.65)	1.69 \pm 0.31 (1.14–2.47)	n.s.

*p<0.01 vs singleton term deliveries; †p<0.05 vs twin term deliveries.

第 4 節 考察

低出生体重児の出産や周産期死亡を防止するため、本邦での切迫早産の治療は妊娠期間を延長させることが基本とされ、主にリトドリンの持続静脈投与が行われている。一方、アメリカやカナダでは、カナダの切迫早産研究グループの臨床研究報告に基づき、新生児呼吸切迫症候群発症予防のために投与されるステロイド投与の効果が現れるまでに必要とされる 48 時間について、子宮収縮抑制薬投与により妊娠を延長させる治療が行われている⁵²⁾。そのため、切迫早産防止のための長期間に渡るリトドリン治療を行なっている妊婦の報告は少ない。

リトドリンは、選択的 β_2 受容体刺激薬であるが、単胎妊娠時において、弱い β_1 受容体刺激作用も新生児の頻脈・低血糖症・腸管麻痺症に関与していると報告されている^{83,84)}。血清中リトドリン濃度と子宮収縮抑制頻度とは相関性 ($y = 4.4x - 19.6$, $r = 0.84$, $p < 0.001$, $n = 17$) があり、子宮収縮抑制に必要な血清中リトドリン濃度は、15~45 ng/mL と報告されている⁵⁶⁾。

Table 4、Figure 4 に示すように、単胎妊婦、双胎妊婦において投与速度に違いがないにもかかわらず、投与速度に対応するリトドリンの血中濃度は双胎妊婦のほうが有意に高い結果であった。Gabriel らは、多胎妊婦では、単胎と比較して長時間のリトドリン静脈内投与により母体への有害作用の頻度が劇的に増加したと報告している⁷⁸⁾。さらに、リトドリンは胎盤を通過するため、リトドリンの薬理作用による新生児の頻脈、低血糖症、腸管麻痺が報告されている^{83,84)}。我々はすでにリトドリンの持続的静脈投与が行われた双胎妊婦 14 人を対象とし、リトドリンの母胎児間移行を精査したところ、母児間のリトドリン濃度はほぼ等しいことを明らかとした⁸⁵⁾。したがって今回の結果は、母体の血清中濃度が高いほど胎児にもリトドリンが移行していることを示しており、胎児の発育状況や副作用の状況を注意深く観察し、治療を行う必要があると考えられる。

また Figure 5 に示すように、単胎妊婦と比較して、双胎妊婦のリトドリン全身クリアランスが有意に低い結果となった。さらに Figure 6 に示すように、妊娠週数の経過に伴い、双胎妊婦では血清中リトドリン濃度は上昇する傾向が認

められた。

Table 5 に示すように、対象妊婦の分娩時の出生体重は、早産した妊婦では単胎児、双胎児での体重差はみられなかった。一方、正期産の妊婦では、双胎児の出生体重は単胎児と比較して有意に低かった。母子保健の主なる統計によると平成 18 年に本邦で出生した児の体重について、単胎児の平均は 3.01 kg、複産児の平均は 2.21 kg と報告されており⁸⁶⁾、今回の結果とほぼ同様であった。また、正期産における単胎妊婦と双胎妊婦の分娩週数は、双胎妊婦の方が短かった。天使病院産科では、双胎妊婦の分娩は、最長でも 37 週程度までとし、帝王切開術にて出産することがほとんどのためであると考えられる。

さらに血清中リトドリン濃度は、早産した対象妊婦は単胎妊婦と双胎妊婦では差が認められなかったが、正期産では単胎妊婦と比較して、双胎妊婦の方が高い濃度を維持していた。また単胎妊婦においては、正期産で出産した妊婦よりも、早産の妊婦における血清中リトドリン濃度が高い結果となった。リトドリン全身クリアランスについては、早産した双胎妊婦の値が小さかった。このことは双胎妊娠を維持するためにはより高い血清中濃度が必要と考えられる。以上のことから、胎児数に応じて、血清中リトドリン濃度を調整することで、妊娠を継続させることができる可能性を示している。

今回の結果では、単胎妊婦と双胎妊婦において体内動態が異なる結果が得られ、双胎における母体生理機能について薬物代謝能を含めて明らかにする必要がある。リトドリンの代謝は一般的にはグルクロン酸抱合 38%、硫酸抱合 45%といわれており、硫酸転移酵素(sulfotransferase, **SULT**)のサブタイプである、**SULT1A3** と **SULT1A1** がそれぞれ小腸と肝臓でリトドリンの代謝を主に担っている⁸⁷⁾。リトドリンの代謝活性は、**SULT1A3** に対して **SULT1A1** が 1/5 ~ 1/4 程度とされており、肝臓での **SULT1A1** 活性の個人差が大きいことが報告されている^{87,88)}。胎児でのリトドリン抱合についてもグルクロン酸抱合が 23%、硫酸抱合が 66%と報告されている⁷⁰⁾。また低出生体重児では、肝、腎機能の未熟性によるリトドリンクリアランスの低下が報告されている⁷⁰⁾。そのため胎児の発育による、胎児のリトドリン代謝能が変化していることが考えられる。

本研究で明らかとなったように単胎妊婦と双胎妊婦におけるリトドリン体内動態には違いがあるため、リトドリンの適正使用を行うため、出生した児につ

いてのリトドリン体内動態について臍帯血や静脈血のリトドリン濃度を測定し解析を行うことが有用であると考えられる。

第 5 節 小括

1. リトドリン投与速度と血清中リトドリン濃度には、単胎妊婦、双胎妊婦ともに線形性が認められた。
2. 双胎妊婦の平均リトドリン全身クリアランスは、単胎妊婦より有意に低かった。
3. 分娩転帰を精査した結果、早産妊婦では、単胎妊婦と双胎妊婦間の血清中リトドリン濃度に有意な差が認められなかった。一方、正期産では、双胎妊婦の血清中リトドリン濃度が単胎妊婦より高い濃度に維持されていた。

第 2 章 双胎妊婦におけるリトドリンの母胎児間移行

第 1 節 序論

本邦において切迫早産防止の入院治療が必要な妊婦には、 β_2 受容体刺激作用薬であるリトドリンを持続的に静脈から投与されることが多い。リトドリンは β_2 受容体に結合後、アデニル酸シクラーゼを活性化、cAMP 含量を増加させ細胞内 Ca^{2+} の貯蔵部位への取り込みを促進し、ミオシン軽鎖キナーゼを不活性化することにより子宮平滑筋を弛緩させる⁵¹⁾。我々は、妊娠の継続とともにリトドリン全身クリアランスが著しく低下する双胎妊娠の症例をすでに報告した⁶¹⁾。リトドリン全身クリアランスの低下は、持続的に静脈投与されている妊婦の血中リトドリン濃度を上昇させ、場合によっては副作用の発現に注意しなければならない。また、妊娠を継続するのに必要なリトドリン投与量は、単胎妊婦に比較して双胎妊婦のほうが有意に多く、治療濃度も双胎妊婦は単胎妊婦の約 2 倍の濃度であった⁶⁸⁾。

リトドリンは胎盤を通過し、単胎妊婦において新生児の頻脈、低血糖症、腸管麻痺に関与していると報告されている^{83,84)}。しかし、双胎妊婦における母-双胎児間のリトドリン濃度移行率のデータは現在のところ見当たらない。本研究では、単胎妊婦より高いリトドリン濃度により管理されている双胎妊婦の帝王切開術施行時に得られた母体静脈血ならびに臍帯静脈血より、血清中リトドリン濃度を測定し、双胎妊婦におけるリトドリンの母児間移行率を明らかにする目的で研究を行なった。

第 2 節 対象および方法

1. 対象

2009 年 4 月から 2010 年 3 月までの 1 年間に、切迫早産と診断され、リトドリン持続静脈投与を分娩時まで受けた双胎妊婦 14 人を対象とした (Table 6)。

2. 方法

1) 検体の採取

対象妊婦は 2 絨膜 2 羊膜双胎 (DD 双胎) であり、子宮収縮状況、母体の心不全などの副作用をモニタリングしながらリトドリンによる切迫早産治療を続け、帝王切開術による分娩までに至った。血液採取は、帝王切開術施行日における採血プロトコル (Figure 7) に従って行なわれた。

本研究は、天使病院倫理委員会の承認を得て、妊婦から書面による試験参加の同意を得た。

2) 血清中並びに臍帯血中リトドリン濃度測定

血清中並びに臍帯血中リトドリン濃度測定は、第 1 章と同じ方法で行った⁶¹⁾。

3) 統計処理

母体血清中リトドリン濃度と第 1 子および第 2 子の臍帯血清中リトドリン濃度の平均値、標準偏差を算出し、直線回帰分析、一元配置分散分析を行った。また、それぞれの臍帯血清中濃度と母体血清中濃度の移行率 (臍帯血清中濃度 / 母体血清中濃度) を算出し、t 検定を行った。統計解析における危険率 (p 値) は、有意水準 5% とした。

Table 6. Characteristics of dichorionic twin pregnancies.

Category		Mean ± SD (Range)
Maternal	Subjects	14
	Age (yrs)	34±4 (23–38)
	Weight (kg)	63.1±9.8 (47.6–77.6)
	Week of pregnancy (weeks)	35.7±1.4 (33.0–37.3)
	Ritodrine infusion time (days)	51±26 (23–111)
	Ritodrine infusion rate (µg/min/kg)	2.08±1.33 (0.56–4.20)
	Ritodrine concentration in vein (ng/mL)	58.2±33.9 (21.8–126.0)
	Newborns	Subjects
Weight	First (g)	2355±481 (1836–3517)*
	Second (g)	2167±456 (1420–3160)
Ritodrine concentration in umbilical vein	First (ng/mL)	60.3±36.8 (22.2–129.0)
	Second (ng/mL)	65.3±37.2 (22.6–128.0)

*p<0.05 vs Second newborn

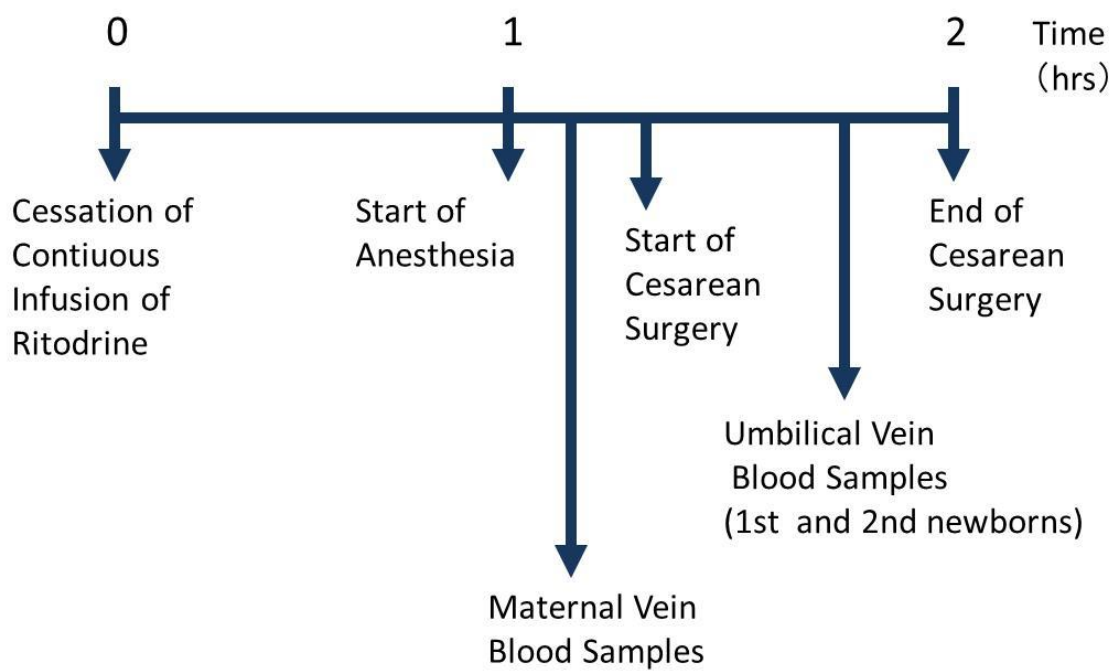


Figure 7. Maternal and umbilical blood sampling protocol.

第3節 結果

本研究に参加した双胎妊婦の妊娠を継続するために必要なリトドリン濃度は、21.8～126.0ng/mLであり、その平均値と標準偏差は 58.2 ± 33.9 ng/mLであった(Table 6)。新生児全員について先天異常はなかった。本研究では、帝王切開施行時に取り出しやすい位置にある児を先に出生させ第1子としたが、第1子は第2子よりも有意に体重が重かった。また、第1子、第2子の臍帯血中リトドリン濃度は、それぞれ 22.2～129.0 ng/mL、22.6～128.0 ng/mLであり、その平均値と標準偏差はそれぞれ 60.3 ± 36.8 ng/mL、 65.3 ± 37.2 ng/mLであった。母体血中、第1子臍帯血中、第2子臍帯血中のリトドリン濃度結果には差が認められなかった。母体から臍帯への移行率は、第1子が 0.65～1.40、第2子が 0.75～1.64の範囲であり、その平均値と標準偏差は、第1子が 1.05 ± 0.23 、第2子が 1.15 ± 0.26 であった。移行率は有意に第2子のほうが移行率が高値を示した。(p<0.05)。母体血清中リトドリン濃度(14点)と臍帯血清中リトドリン濃度(第1子14点、第2子14点)は、第1子 $y = 1.00x + 2.01$ 、 $r = 0.92$ 、 $p < 0.001$ ；第2子 $y = 1.02x + 6.19$ 、 $r = 0.93$ 、 $p < 0.001$ (Figure 8)と直線回帰された。

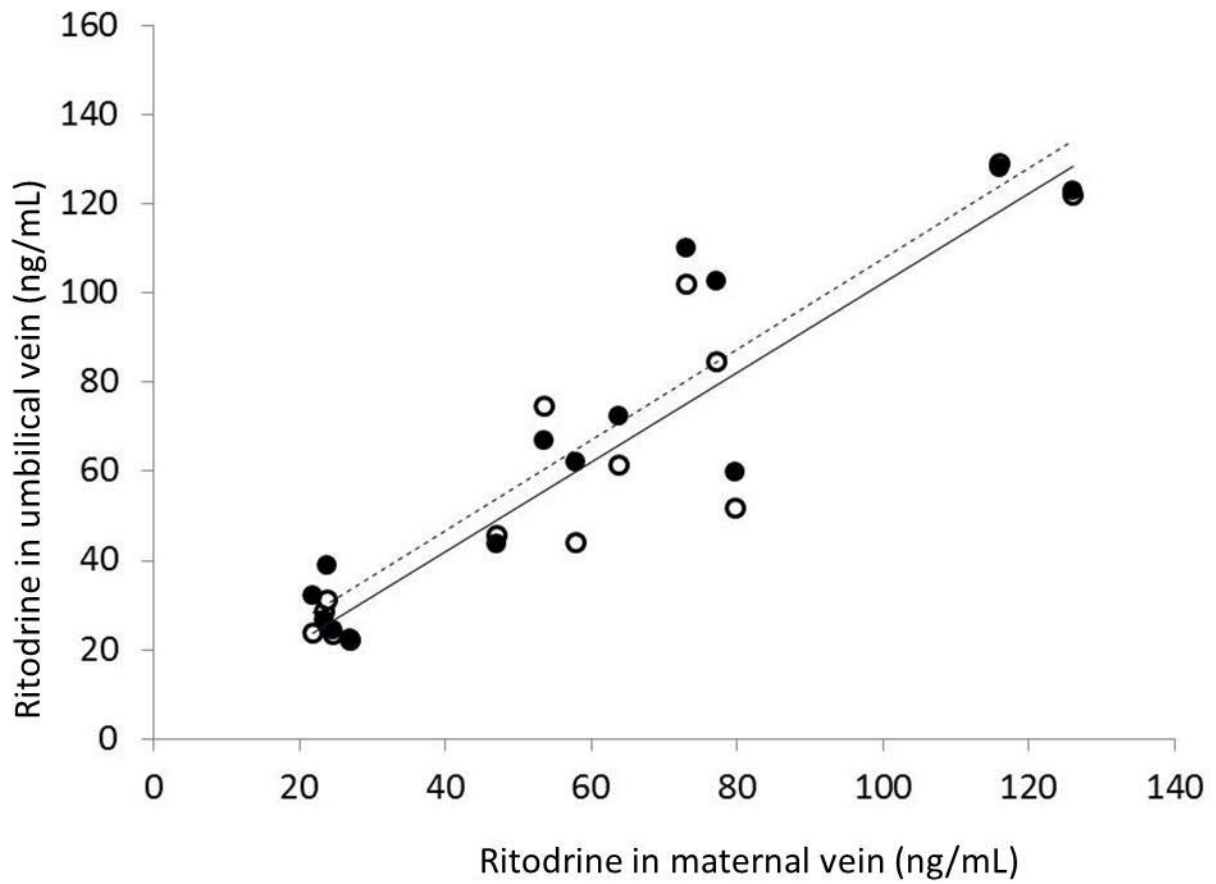


Figure 8. Relationship between umbilical and maternal serum ritodrine concentration in first (●, $y = 1.00x + 2.01$, $r = 0.92$, solid line) and second newborn (○, $y = 1.02x + 6.19$, $r = 0.93$, dashed line), $n = 14$.

第4節 考察

前章の考察でも述べたように、低出生体重児の出産や周産期死亡を防止するため、本邦での切迫早産の治療は、妊娠期間を延長させることが基本とされ、主にリトドリンの持続静脈投与が行われている。一方、アメリカやカナダでは、カナダの切迫早産研究グループの臨床研究報告に基づいて、新生児呼吸切迫症候群発症予防のためのステロイド投与の効果が現れるまでの48時間について子宮収縮抑制薬を投与して妊娠を延長させる治療が行われている⁵²⁾。リトドリンは、選択的 β_2 受容体刺激作用と比べて弱いものの、 β_1 受容体刺激作用もあることが知られており、単胎妊娠時には、新生児の頻脈・低血糖症・腸管麻痺症に関与していると報告されている^{83,84)}。

対象の双胎妊婦へのリトドリン投与期間は、23日から111日であり、妊娠週数の平均は、 35.7 ± 1.4 週であった。リトドリンの半減期は、消失半減期 α 相：0.15、 β 相：4.66時間と報告されており⁵⁵⁾、本研究では定常状態に到達していると考えられる一定投与72時間以降の血液を採取した。リトドリン持続投与中止後、麻酔の導入とほぼ同時に母体の右上腕部の静脈より採血を行ない、帝王切開術後に臍帯静脈血液を得た(Figure 7)。

母体から胎児への薬物移行に関する報告は、ニトラゼパム⁸⁹⁻⁹¹⁾やゾニサミド⁸⁹⁾、フェニトイン^{89,92,93)}、フェノバルビタール⁸⁹⁾、カルバマゼピン^{89,92,94,95)}、バルプロ酸^{92,94,96)}などの抗てんかん薬や、ジゴキシシン^{89,97-100)}について、臍帯血および新生児血清中濃度を測定した報告がある。一方、リトドリンの移行に関しては単胎妊婦における報告がいくつかある^{58-60,65,66)}が、双胎妊婦に関する報告は見当たらない。従来報告はRIA法が多く、リトドリンの臍帯血の測定方法、測定手順が煩雑で、施設間の違いが大きかった。そのため、本研究の測定法であるHPLC法での結果と直接比較はできないとともに、3例の単胎妊婦における症例報告や投与期間が必ずしも定常状態とは認められない報告も含まれている(Table 7)。HPLC法による本研究の測定で得られた移行率は、第1子 1.05 ± 0.23 、第2子 1.15 ± 0.26 であり、この値は他のHPLC法による単胎妊婦での報告とほぼ同様の結果であった。

リトドリンの主な代謝経路は、グルクロン酸抱合(38%)と硫酸抱合(45%)であ

り 70,101-105)、SULT1 ファミリーの活性には遺伝的多型に基づく個体差が認められている¹⁰⁶⁾。Ozawa らはヒト肝上清の p-ニトロフェール硫酸転移酵素活性の分布を調査した結果、SULT 1A3 依存的酵素活性に個体差があることを報告した¹⁰⁷⁾。また、彼らは、SULT 1A3mRNA に異型(Arg213His、Met223Val)を見出し¹⁰⁷⁾、さらに日本人では、検索した 143 検体の中に、対立遺伝子の存在率では²¹³Arg 型が 0.83 の割合であると報告している¹⁰⁸⁾。Raftgianis らは、ヒト血小板の SULT 1A3 依存的活性を²¹³Arg/His 多型との相関をもとに調査したところ、²¹³His 型ホモは、通常 of 血小板酵素活性の 7 分の 1 以下しか示さなかったと報告している¹⁰⁹⁾。我々は、経時的に母体血中リトドリン濃度を測定した単胎妊婦、双胎妊婦において、妊娠週数が経過するにつれリトドリンクリアランスが減少することを報告した⁶¹⁾。本研究により得られた移行率は、第 1 子が 0.65~1.40、第 2 子が 0.75~1.64 と移行率の最小値と最大値に 2 倍以上の差が認められたことは、母体と新生児における代謝能の個体差に関係している可能性が考えられる。

胎盤には、MDR1(multiple-drug resistance protein 1)および MRP (multidrug resistance-associated protein)が発現しており、また、ABC トランスポーターファミリーの ABCP(ABC placenta)が特異的に発現して、薬物の母体側への排泄に関与している¹¹⁰⁻¹¹²⁾。さらに、胎児の肝臓では、比較的早く硫酸抱合活性が発現され、その活性も高いことが報告されている⁷⁰⁾。これらの理由で、胎児の成長していく過程によりリトドリンの移行率に個体差が生じたと考えられた。

同一の母体から出産していても第 2 子のほうが第 1 子よりも移行率が高いことが明らかとなった。このことは、胎児の発育が関与していると考えられるが、詳細な検討が必要である。新生児にリトドリンによる副作用が生じた場合、第 1 子と第 2 子では、異なる対応が必要となる可能性がある。

母体血と臍帯血のリトドリン濃度の関係は、切迫早産の治療濃度内で母体血清中濃度の上昇に伴って臍帯静脈血清中濃度が直線的に上昇した(Figure 8)。この関係は、Gross らの単胎における報告($y = 0.88x + 2.09$, $r = 0.97$)においても認められていた⁷¹⁾が、彼らの報告では、投与期間が短く、また、治療濃度範囲が母体血中濃度で 60 ng/mL 付近までの測定範囲であるため、本研究とは

比較できない。

妊娠時には、妊娠第Ⅰ期、第Ⅱ期、第Ⅲ期と妊娠が継続するに従い、母体の生理的因子(血漿容積、肝血流量、血漿蛋白質)が変動する。双胎妊娠は単胎妊娠と比べて切迫早産、妊娠糖尿病、PIH、HELLP(hemolysis, elevated liver enzyme, Low platelet count)症候群、急性妊娠性脂肪肝などのリスクが高い¹¹³⁾。我々は、妊娠の継続とともにリトドリン全身クリアランスが著しく低下する双胎妊娠の症例を報告した⁶¹⁾。その機序はまだ明らかではないが、リトドリン全身クリアランスの低下は、持続的に静脈投与されている妊婦の血中リトドリン濃度に伴う副作用の発現に注意しなければならない。今回の研究の結果、胎盤を通じて胎児にもほぼ母体と同じ濃度のリトドリンが移行していることから、同様に胎児に対してもリトドリンの副作用の対応を考慮すべきであることが明らかとなった。また、母体に連動して、薬の胎児移行を制限している胎盤の性状も変化してくる。胎児の血液のpHは、一般に母体血液のpHより低いので、酸性薬物の胎児内濃度は低くなるが、リトドリンのような塩基性薬物の胎児内濃度は高い傾向を示す。そのため、出産後に新生児に、Brazyらが新生児イレウス、低血圧、低カルシウム血症を報告し^{83,84)}、また、Epsteinらは低血糖症を報告している¹¹⁴⁾。本研究で明らかとなったように母体からリトドリンが移行しているため、非侵襲での測定が可能な臍帯血中のリトドリン濃度を測定することは有用と考えられる。さらに、新生児におけるリトドリンによる副作用を血清中濃度から評価するために、微量検体を用いた血清中リトドリン濃度の測定法が必要である。

Table 7. Comparison with results of similar studies.

Authors	Measurement method	Subjects	Dose ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Administration Period	Transfer ratio (Umbilical/Maternal)
Lierde et al(1982)	RIA	8	4	2hrs	0.72
Fujimoto et al(1985)	RIA	7	72—149	2.7—5.9hrs	0.26
Gross et al(1985)	HPLC	28	100—350	1—37hrs	1.17
Abe et al (1988)	HPLC	12	25—180	2hrs—19days	0.94
Fujimoto et al (1989)	RIA	3	62—95	35—48days	0.68
This study	HPLC	14	34—200	23—111days	First newborn : 1.05* Second newborn : 1.15*

*: $p < 0.05$

第 5 節 小括

1. 母体血清中リトドリン濃度と臍帯血清中リトドリン濃度はほぼ等しく、リトドリンは容易に胎盤を通過することが示唆されたが、母体間のみならず双胎児間にも差が認められた。
2. 出生した双胎児に対しては、リトドリン移行率を考慮した個別な対応が必要であると考えられる。
3. 臍帯血中のリトドリン濃度を測定することは有用と考えられ、さらに、新生児におけるリトドリンによる副作用を血清中濃度から評価するために、微量検体を用いた血清中リトドリン濃度の測定法が必要である。

第 3 章 LC-MS/MS による妊婦血清中リトドリン濃度の新規高感度定量法の評価

第 1 節 序論

選択的 β_2 作動薬であるリトドリンは、早産防止の治療薬として妊娠中期から分娩時まで長期にわたり用いられている薬物である⁵³⁾。リトドリンは、胎盤を通過し、リトドリンの薬理作用による頻脈、低血糖症、腸管麻痺が新生児において報告されており新生児医療の重大な問題となっている⁷⁹⁾。微量検体からの血清中リトドリン濃度測定方法が確立されていないため、新生児のリトドリンによる副作用を血清中リトドリン濃度から評価した報告は少ない⁸³⁾。我々は、新生児のリトドリン薬物体内動態を検討する目的で分娩後の新生児血清中リトドリン濃度を解析するために、微量血液試料から液体クロマトグラフ・タンデム質量分析(LC-MS/MS)法によるリトドリンの定量法を開発し、この測定法を用いて、予備的な臨床研究を報告した¹¹⁵⁾。本研究では米国薬局方¹¹⁶⁾、FDAの規定¹¹⁷⁾に基づく本測定法の信頼性評価を行った。

これまで、リトドリンの定量法としては、液体高速クロマトグラフ法 high-performance liquid chromatography (HPLC)を用いて電気化学検出器 (electrochemical detector)^{62,64)}や蛍光検出器 (fluorescence detector)^{61,63)}による測定が報告されている。しかし、これらの測定法では検体量として血清または血漿として 1 mL 以上必要であり、新生児ではより感度の高い測定法が求められる。また、これまでの LC-MS/MS 法によるリトドリン測定法の報告^{72,73)}では、内部標準物質にイソクスプリンやサルブタモールを用いており、血液検体からの抽出率の差などを考慮する必要がある。我々は 4 つの重水素で標識したリトドリン-d₄を内部標準物質として用いることにより検体量が少なく、迅速で、再現性に優れているリトドリンの LC-MS/MS 法を開発した。本研究では、この測定法の精度と感度を評価し、天使病院産科においてリトドリンによる切迫早産治療を受けた妊婦と、その新生児の血清中リトドリン濃度を測定し解析した。

第 2 節 対象および方法

1. 内部標準物質

内部標準物質(IS)として用いたリトドリン-d₄(Figure 9)は、和光純薬(大阪)から入手した。リトドリン-d₄の芳香環の水酸基に対する各オルト位の重水素化率は96%以上であり、リトドリン(d₀体)の含有率は0.01%未満であった。リトドリンおよびリトドリン-d₄はメタノールで1 mg/mLの濃度になるように溶解し、その後、水で希釈を行い、リトドリンについては5、10、20、50、100、200 ng/mL、リトドリン-d₄については20 ng/mLの溶液を調製した。血清中リトドリン濃度分析に使用した試薬類はすべて特級品(和光純薬)であり、HPLCにはHPLC用試薬(和光純薬)を用いた。

定量法の開発およびバリデーションに用いたヒト血清は、日本赤十字社北海道支部から研究用譲渡血液として提供された。本研究は天使病院倫理委員会より承認を受け、対象妊婦から書面での同意書を得た。母体の血液は前腕部静脈より採血し、2,000 xgで10分間遠心分離し、また、新生児に関しては生化学検査のため採血された残余血清を用いた。すべての血清は使用するまで-20℃で保存した。

2. 抽出方法

血清100 μLに内部標準物質(最終濃度20 ng/mL)を加え、0.1 mol/L炭酸ナトリウム緩衝液(pH 9.8)100 μL、および酢酸エチル1,000 μLを加えて混和した。13,000 xgで10分間遠心分離後、得られた酢酸エチル相800 μLを40℃にて1時間減圧乾固した。残渣を水100 μLに溶解し、そのうち5 μLをLC-MS/MSに注入した。

3. LC-MS/MS の条件

LC-MS/MSは、API 3200 Qtrap System(AB Sciex, USA)を使用した。カラムは、Ascentis Express C18 (3cm × 2.1mm, 2.7μm, Supelco, USA)を用い、カラム温度を室温とした。移動相は、AcCN / H₂O / HCO₂H = 50 / 50 / 0.1、流速は0.1 mL/minとした。

リトドリンは、Turbo Ion Spray 法を用いて測定し、 nebulizing, 40 psi; Turbo spray, 70 psi; Curtain gas, 35 psi; Turbo gas temperature, 500°C; ESI needle voltage; 5,500 V と設定した。Multiple reaction monitoring (MRM)は トランジション毎に collision gas を窒素とし、 dwell time, 500 msec; Declustering potential, 56 V; Collision Energy, 31 eV; Collision Cell Exit Potential, 4 V; Scan duration, 3,000 msec; Collision gas, 6 psi; Curtain gas, 35 psi と設定した。データ解析は Analyst 1.4.2 software (AB Sciex) を用いた。

4. 検量線

ヒト血清にリトドリンを5、10、20、50、100、200 ng/mL添加して検量線用試料を調製し、これらをLC-MS/MSで測定した(n = 8)。リトドリンの濃度(x)とピーク面積比(y: リトドリンのピーク面積/ISのピーク面積)から線形最小二乗法により直線回帰して回帰式を求めた。なお、最小検出限界(limit of detection, LOD)は、米国薬局方の規定に従いシグナル/ノイズ比(signal to noise ratio (S/N))を3とし、最小定量限界(lower limit of quantification, LLOQ)は、S/Nを10とした¹¹⁶⁾。

5. 測定精度

1) 日内再現性

ブランクヒト血漿にリトドリンを添加し、5、10、100 ng/mLの再現性確認用試料を調製し、定量値(n = 5)を用い、真度および精度を求め、日内再現性を評価した。また回収率を算出した。

2) 日差再現性

ブランクヒト血漿にリトドリンを添加し、5、10、100 ng/mL(n = 5)の再現性確認用試料を調製し、これら試料中リトドリン濃度を定量した。この操作を3日間実施し、得られた定量値の真度および精度を下式に従って算出した。

真度: $RE(\%) = (\text{測定値の平均値} - \text{理論値}) / \text{理論値} \times 100$

精度: $CV(\%) = \text{測定値の標準偏差} / \text{測定値の平均値} \times 100$

3) 安定性

リトドリンの濃度を20 ng/mL、および50 ng/mLに調製した血清試料について-20°Cにおける凍結・融解を3回繰り返した時の安定性、また、室温にて6時間後、24時間後の安定性を検討した。

6. 症例報告

対象は天使病院産科にて切迫早産の治療を受けた 32 歳の双胎妊婦である。本研究は血清中リトドリン濃度測定についての天使病院倫理委員会の承認を受け、また対象妊婦からは書面による同意を得た。リトドリンの静脈内投与妊娠15週より開始され、合計5回の採血を行った。出生した双胎児についてもそれぞれ2点ずつの採血を行った。

定常状態は同一投与量で24時間以上経過した点とし、リトドリン全身クリアランス(CL_{tot})を下記の式で算出した。

$$\text{CL}_{\text{tot}} (\text{L/h/kg}) = \frac{\text{Continuous Infusion Dosage (mg/min/kg)} \times 60}{\text{Serum Ritodrine Concentration (ng/mL)}}$$

リトドリン消失半減期は、母体は分娩時と24時間後の2点、ならびに双胎児は分娩時の臍帯血と20時間後の2点より算出した。

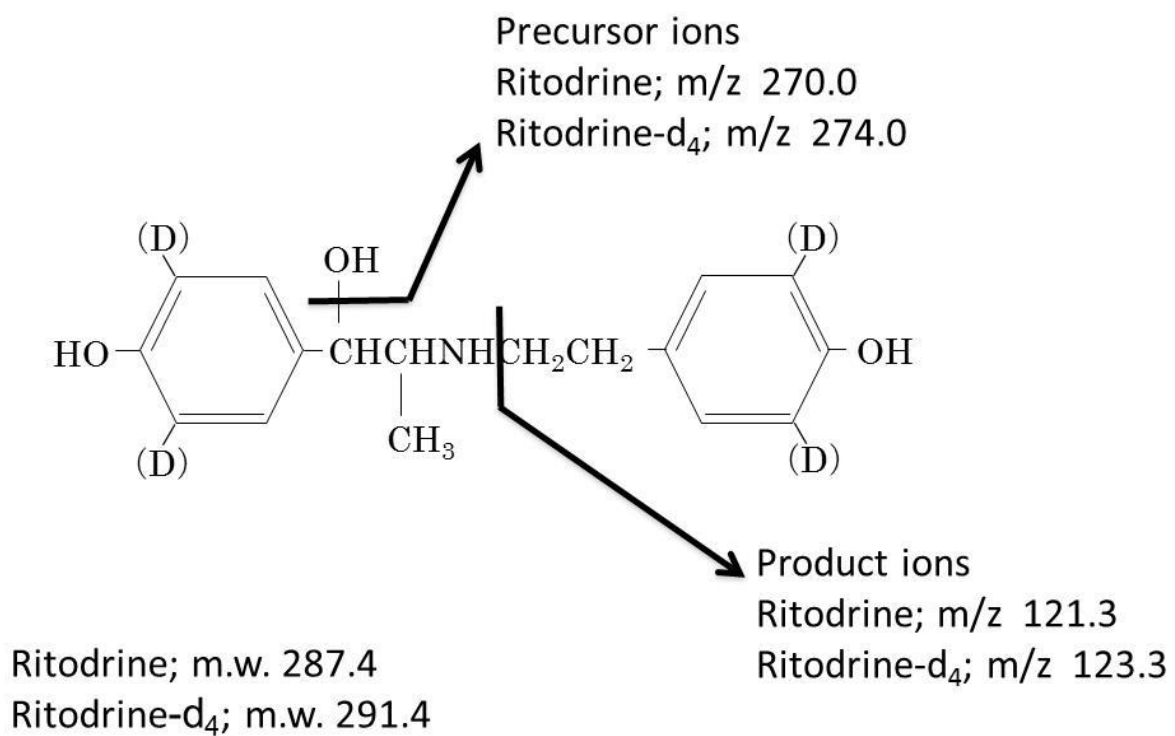


Figure 9. Proposed structures of ritodrine fragments.

第3節 結果

1. MRM(Multiple Reaction Monitoring)条件の最適化

リトドリンおよびリトドリン-d₄を用い、LC-MS/MSの測定条件の検討を行った結果、測定パラメータの設定値は、Probe temperature, 500°C; Ionization voltage, 5,500 V; Declustering voltage, 56.0V; Collision energy, 31 eV; Scan time, 3,000 msec; Collision gas, 6 psi; Curtain gas, 35 psi. が最適であった。

リトドリン、リトドリン-d₄をESI positive ion modeで分析したとき、リトドリン：*m/z* 270.0、リトドリン-d₄：*m/z* 274.0、いずれもプロトン化後脱水したイオンがベースピークとして検出された。次にそれぞれをプレカーサーイオンに設定し、MS/MSスペクトルを測定した(Figure 9)。リトドリンでは*m/z* : 121.3、リトドリン-d₄では*m/z* : 123.3が強度の高いピークとして認められた。

2. 測定精度

検量線は、5~200 ng/mLの間において原点を通る直線 $y = 0.555x + 0.093$ が得られ、相関係数は、 $r = 0.998$ であった。LODは0.1 ng/mLであり、LLOQは0.3 ng/mLであった(Figure 10)。また、Figure 10に示したように安定同位体を用いたため、標準物質と内部標準物質の保持時間が同じ約1.1分に検出された。

Table 8に3つの濃度における日内再現性と回収率、ならびに日間再現性を示す。日内再現性の変動係数は、5、10、100 ng/mLにおいて、おのこの4.7%、5.6%、6.5%であり、また、LLOQ値の日内再現性の変動係数は8.3%であり、回収率は116.7%であった。回収率は、おのこの96.0%、99.6%、102.0%であった。日間再現性の変動係数は、5、10、100 ng/mLにおいて、おのこの5.6~7.2%、6.0~9.4%、3.5~9.1%であった。Figure 11に母体と双胎児のMRMクロマトグラムを示す。本定量法において、血清中リトドリン濃度を測定する際の妨害物質は認められなかった。

Table 9にリトドリンの濃度を20 ng/mL、および50 ng/mLに調製した血清試料について-20°Cにおける凍結・融解を3回繰り返した時の安定性、また、室温にて6時間後、24時間後の安定性を検討した結果を示した。いずれの条件で

も安定であった。

3. 症例報告

妊娠回数 2 回、出産回数 1 回の 32 歳の妊婦(体重 59.3 kg)の症例を Table 10 に示した。他院より紹介され切迫早産と診断された MD 双胎妊婦である。リトドリンの治療は、15 週 0 日より開始され 36 週 0 日に 2 児を出産した。母体並びに新生児(第 1 児体重 2,280 g、第 2 児体重 2,166 g)のリトドリンのデータを Table 10 に示した。

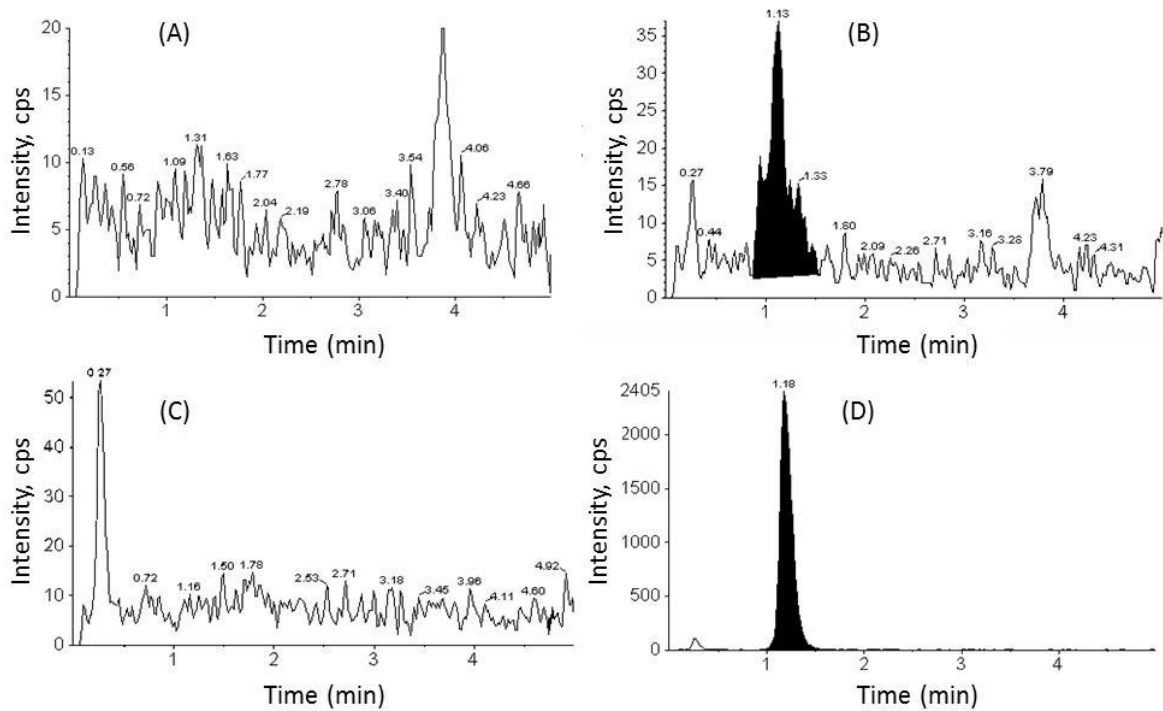


Figure 10. MRM chromatograms of ritodrine and ritodrine-d₄.

- (A) Blank serum (m/z:270.0/121.3)
- (B) Serum spiked with ritodrine 0.1 ng/mL (LOD) (m/z:270.0/121.3)
- (C) Blank serum (m/z:274.0/123.3)
- (D) Serum spiked with ritodrine-d₄, 10 ng/mL (m/z:274.0/123.3)

Table 8. Intra- and inter-day precision and accuracy of ritodrine.

Intra-day (n = 5)	Spiked concentration (ng/mL)	RE (%) [*]	CV (%) [†]	Recovery (%)
	LLOQ ^{**} (0.30)		14.2	8.3
	5	-4.0	4.7	96.0
	10	-0.38	5.6	99.6
	100	2.0	6.5	102.0

Inter-day (n = 5)	Spiked concentration (ng/mL)	Day	RE (%) [*]	CV (%) [†]
	5		1	-6.0
2			-0.4	5.6
3			2.0	6.5
10		1	-9.4	6.0
		2	-7.0	9.4
		3	3.6	6.3
100		1	-2.1	9.1
		2	-2.5	3.5
		3	6.9	4.0

^{*}Relative error [†] Coefficient of variation ^{**} Lower Limit of Quantification

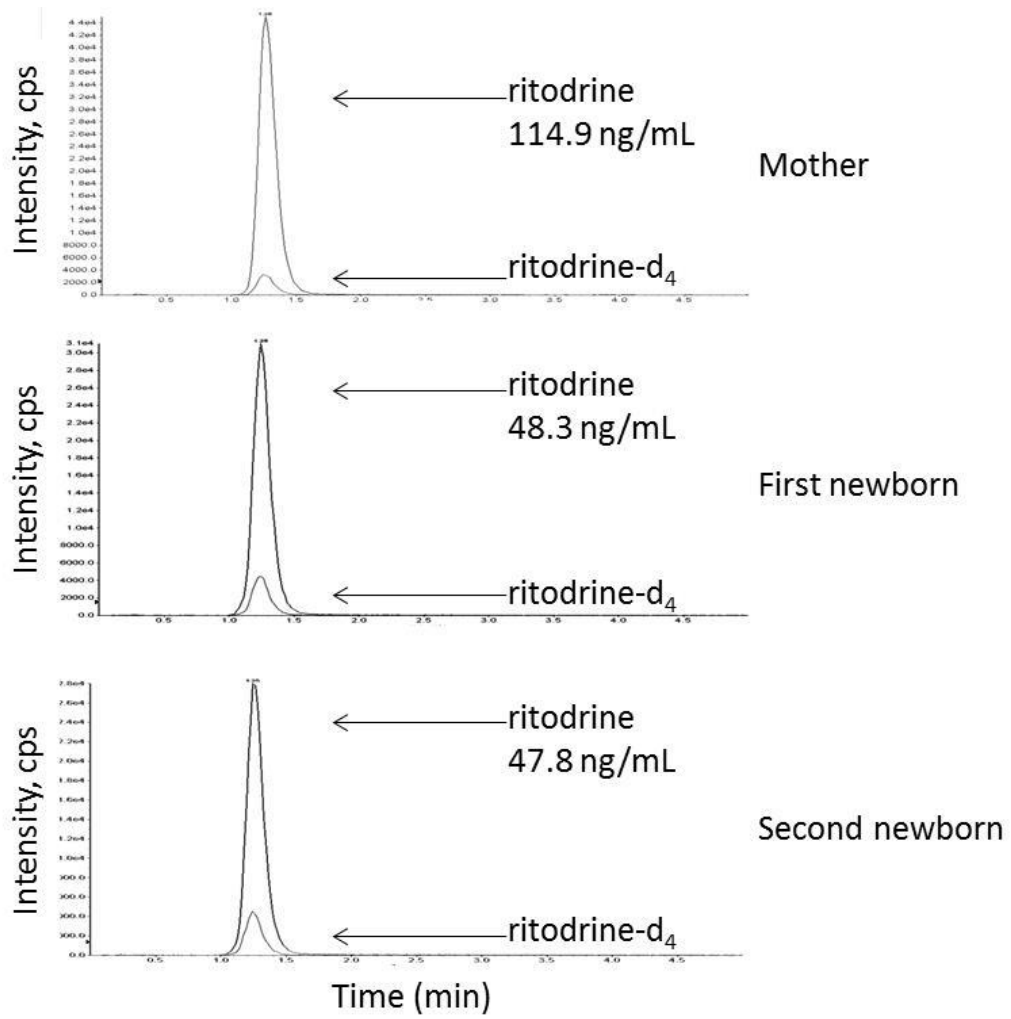


Figure 11. Typical MRM chromatograms of serum ritodrine in mother and newborns.

Table 9. Stability of ritodrine in human serum (100 µL).

Spiked Concentration (ng/mL)	Measured (ng/mL)	SD	CV (%)	Recovery (%)
Three freeze/thaw cycles (n = 6)				
20	19.3	1.4	7.3	95.1
50	49.0	2.5	5.1	98.0
Post-preparation stability (n = 5)				
6 h				
20	19.5	0.6	3.2	97.3
50	51.3	1.9	3.6	102.6
24 h				
20	16.1	0.9	5.5	80.3
50	44.3	0.8	1.9	88.5

Table 10. Ritodrine pharmacokinetics.

Mother	Gestation period Week	Ritodrine dose ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$)	Serum concentration (ng/mL)	Total body clearance (L/h/kg)	$t_{1/2}$ (h)
	35.0	2.22	100.5	1.34	
			114.9 (Cesarean Surgery)	-	4.7
			3.3 (24 h after delivery)	-	
Neonates					
		Sex	Ritodrine in umbilical vein (ng/mL)	Serum ritodrine 20 h after delivery (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)
First newborn (2280 g) Apgar score (1→5 min) 8 → 9		Female	48.3	9.9	8.7
Second newborn (2166 g) Apgar score (1→ 5 min) 8 → 9		Female	47.8	9.3	8.5

第 4 節 考察

リトドリン塩酸塩は選択性の高い β_2 刺激薬であり、本邦では 1986 年から第一選択薬として切迫早産の治療に使用されている薬物である。リトドリンの添付文書では投与量に関して、至適血清中濃度などの指標は用いられておらず、有効投与量は 50~150 $\mu\text{g}/\text{min}$ とされ 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ を上限として症状・所見に合わせて使用されると記載されている。そのため、臨床においてリトドリンの血清中濃度を指標とした投与量設定の指針を構築することは重要と考えられる。

2011 年 11 月に厚生労働省医薬食品局から医薬品・医療機器等安全情報 (Pharmaceuticals and Medical Devices Safety Information) No.285 「重要な副作用等に関する情報」⁷⁹⁾においてリトドリンの胎児及び新生児に対する心不全の副作用が通知された。これは、リトドリンの使用には、妊娠を継続することに対する適正使用の推進のみならず、分娩後、新生児への適切な診断が必須であることを示している。そのため、臨床において、少ない検体量による、簡便で定量感度および特異性に優れたリトドリンの高感度定量法が必要である。

実際の臨床検体測定の前に行うバリデーション試験については、血清をはじめとする生体試料中薬物の定量法バリデーションの実施項目、実施方法ならびに合否の判定基準方法の指針として 2001 年に FDA が発行したガイダンス「Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation (2001)」に準拠した¹¹⁷⁾。

Ohmori らは、イソクスプリンを内部標準物質とした LC-MS/MS 法を開発し、リトドリン、イソクスプリンの検出時間をそれぞれ 2.8 分、1.3 分として、LLOQ は 0.39 ng/mL と報告している⁷²⁾。彼らは固相法を用いて血液からリトドリンを抽出しており、この方法では、リトドリンの硫酸抱合体、グルクロン酸抱合体の抽出過程における損失が課題であるとしている。また、Liu らは、本研究と同じく液-液抽出法を用いているが、内部標準物質にサルブタモールを使用している。また、検体量が 2 mL と多く、リトドリン、サルブタモールの検出時間はそれぞれ 3.6 分、2.9 分として、LLOQ は 0.39 ng/mL と報告している⁷³⁾。

本研究では、内部標準物質として同じ物理化学的性質を有する安定同位体リトドリン- d_4 を用い、血清 100 μL 用いた液-液抽出法であり、操作が簡便であ

る。また、有機溶媒の使用量も少ないこととの利点がある。さらに、分離用カラムとして Ascentis Express C18 (3cm × 2.1mm, 2.7µm)を用いることにより、リトドリンの保持時間を約 1 分とした分析を可能にした。リトドリンの有効血中濃度域は、15~45 ng/mL と報告されている⁵⁶⁾。本法の検量線は有効濃度範囲で直線性が得られ、LLOQ は 0.3 ng/mL であった。したがって、従来法 (LLOQ 5.0 ng/mL)⁶¹⁾よりも十分な精度と感度を得られたと考えられる。

本測定法を用いて血清中リトドリン濃度を測定した双胎妊婦の症例を Table10 に示した。多胎妊娠では早産が高頻度にみられており、双胎では 22~39%と報告されている¹¹⁸⁾。リトドリンは、単胎同様に双胎においても早産予防効果が認められている薬物である⁷⁸⁾。本邦では比較的早期から双胎妊娠患者に対してリトドリンによる切迫早産管理が行なわれている⁵³⁾。しかし、双胎妊娠時におけるリトドリン投与方法、投与期間等の臨床評価は確立されていない。また、リトドリン体内動態の多くの報告は、リトドリン投与 48 時間後を基準として投与された値を用いている。たとえば、Caritis ら^{77,119,120)}は、リトドリンの投与量と投与方法として初回 50 µg/min から開始して最大投与量を 350 µg/min までとし、切迫症状の改善とともに投与量を減少させることとした。そのときの血清中リトドリン濃度は、15~112 ng/mL であり、リトドリン全身クリアランスは、 $1.86 \pm 0.66(1.02 \sim 3.12)$ L/h/kg と報告している。本測定法を用いて血清中リトドリン濃度を測定した症例では、Table10 に示したように母体のリトドリン全身クリアランス値(1.34 L/h/kg)はほぼ同じであった。一方、新生児は、母体のリトドリン半減期(4.6 h)よりも第 1 子 8.7 h、第 2 子 8.5 h と約 2 倍も異なり、さらに、新生児の分娩直後のブドウ糖濃度値は第 1 子 19 mg/dL、第 2 子 20 mg/dL と低血糖(60 mg/dL 以下)であった。これらのことから、リトドリン治療が行われた妊婦が分娩に至った際、新生児については血清中リトドリン濃度による副作用モニタリングが必要と考えられた。

以上の結果から、本測定法は血清中リトドリン濃度の測定法として十分信頼できることが確認された。また、この測定法において血清中濃度を指標とした有効で安全なリトドリン治療法の詳細な検討が可能となる。

第 5 節 小括

1. 微量検体量の血清中リトドリン濃度を測定するため、内標準物質にリトドリン-d₄を用いた LC-MS/MS 定量法を開発した。本定量法の精度を FDA の基準により評価したところ、臨床応用に十分可能であることが示された。
2. 本定量法を用いて母体と新生児の血清中リトドリン濃度を測定したところ、その濃度には差があり、同じ母体から出生した新生児の血清中リトドリン濃度と半減期にも差があることが示された。

総括

天使病院において切迫早産と診断された単胎および双胎妊婦について、リトドリンの体内動態パラメータの検討、ならびに母胎間移行について検討した。

リトドリンの持続注入治療を受けた単胎妊婦と双胎妊婦の血清中リトドリン濃度を、蛍光検出器を用いた HPLC 法により測定し、双胎妊婦のリトドリン全身クリアランスは単胎妊婦よりも有意に低い結果であった。早産した単胎妊婦と双胎妊婦では、血清中リトドリン濃度に有意な差は認められず、正期産では双胎妊婦の血清中リトドリン濃度は単胎妊婦に比較して有意に高い濃度に維持されていた。また、早産となった双胎妊婦では、ほかの妊婦よりもリトドリンクリアランスが低く、妊娠を継続するために、リトドリン投与量を増量すると、思わぬ血清中濃度の上昇が起こる危険性があると考えられる。さらに、リトドリンが胎盤を通過する量が増加するため、胎児への副作用を考慮する必要がある、双胎妊娠におけるリトドリンの体内動態について、さらに詳細な検討を行う必要があることが示唆された。

次に、リトドリンによる切迫早産治療中の 2 絨膜 2 羊膜双胎妊婦の帝王切開術施行時の母体血と臍帯血の血清中リトドリン濃度から母児間の移行率は、第 1 子が 0.65–1.40 (1.05±0.23)、第 2 子が 0.75–1.64 (1.15±0.26) の範囲であった。母児間の血清中リトドリン濃度は平均値としてほぼ等しいが、個人差が約 2–3 倍との結果であった。

さらに新生児のリトドリン血清中濃度を測定するため、LC-MS/MS を用いた高感度定量法を開発した。内部標準物質として、リトドリンに 4 つの重水素を導入したリトドリン-d₄ を使用し、MRM 測定を行った。定量時における妨害ピークは認められず、血清 100 μL を用いたときの検量線は直線 $y = 0.555x + 0.093$ が得られ、相関係数は、 $r = 0.998$ であった。検出限界は 0.1 ng/mL であり、最小定量限界は 0.3 ng/mL であった。日内再現性ならびに日間再現性は FDA バリデーションの基準範囲内であり、リトドリンの体内動態研究を行なうことが可能な精度と感度を有する測定法であることが示唆された。本測定法によりリトドリン治療中の 32 才の双胎妊婦および新生児の血清を測定した。HPLC 法で求めたリトドリンの母子間移行率と同じように、LC-MS/MS 法によ

っても母体と新生児の血清中リトドリン濃度には差があり、同じ母体から出生した新生児の血清中リトドリン濃度と半減期にも差があることが示された。

これまでリトドリンの母子間移行率についての報告はほとんどなく、特に双胎間における移行率の差異については本研究結果が初めてである。今後、単胎妊婦、双胎妊婦におけるリトドリンによる切迫早産治療方法を構築し、妊婦と胎児、さらには新生児におけるリトドリンの体内動態について臨床効果と副作用との関連を解析することが必要であり、その際には、新規に開発した高感度 LC-MS/MS 法が有用と考えられる。

謝辞

本研究をまとめるにあたり、終始懇切なるご指導、ご鞭撻を賜りました北海道薬科大学臨床薬理学分野 猪爪信夫 教授に厚く御礼申し上げます。また、有益なるご助言を頂きました北海道薬科大学薬物治療学分野 早川 達 教授、北海道薬科大学臨床薬理学分野 戸田貴大 教授、北海道薬科大学臨床薬理学分野 今田愛也 准教授に感謝いたします。

また、本研究に対して、終始懇切なるご指導を賜りました天使病院周産期母子医療センター 吉田 博 センター長に深謝いたします。さらに、ご支援を賜りました天使病院薬剤科 佐々木洋一 科長に御礼申し上げます。

最後に、研究にご協力いただいた天使病院薬剤科の諸先生に感謝いたします。

参考文献

- 1) 橋本雅, 中村幸夫, 箕浦茂樹, 中江華子, 後藤濬二, 北岡有喜, 左右田裕生, 内藤博之, 吉里俊幸: 高年齢妊娠にともなう妊娠合併症の増加について, *IRYO*, **57**, 476-480(2003).
- 2) 竹田佳彦: 母子保健に関する研究, 厚生省心身障害研究「ハイリスク妊娠に関する研究」平成3年度研究報告書, 厚生省, 東京, 1992.
- 3) 竹田佳彦: 母子保健に関する研究, 厚生省心身障害研究「ハイリスク妊娠に関する研究」平成4年度研究報告書, 厚生省, 東京, 1993.
- 4) 星信彦, 藤本征一郎: リプロダクティブ・ヘルス高齢出産, *医のあゆみ*, 別冊リプロダクティブ・ヘルス, 49-56(1997).
- 5) 佐藤章, 遠藤力, 安達久美子: 周産期医療におけるカウンセリング高齢妊婦に対するカウンセリング, *ペリネイタルケア*, **14**, 505-513(1995).
- 6) 鈴木達也, 柴原浩章, 島田和彦, 平野由紀, 高見澤聡, 鈴木光明: 多胎妊娠とその予防, *婦人科治療*, **96**, 595-600(2008).
- 7) 財団法人母子衛生研究会: 母子保健の主なる統計-平成24年度刊行-, 母子健康事業団, 東京, 2013.
- 8) 矢内原巧, 田原隆三, 藤間芳郎: 不妊治療の実態調査及び不妊治療技術の適応に関する研究, 厚生省心身障害研究「不妊治療のあり方に関する研究」平成8年度研究報告書, 厚生省, 東京,

- 1997.
- 9) 日本産科婦人科学会「生殖補助医療における多胎妊娠防止に関する見解」平成20年4月12日改訂
[http://www.jsog.or.jp/ethic/H20_4_tataininshin.html]
(accessed 2013-10-17).
 - 10) 荒木勤：最新産科学正常編改訂第22版，文光堂，東京，2008.
 - 11) 高橋克幸，明城光三：女性の健康と児の成育からみた妊娠分娩産褥における母子の保健・医療に関する研究，厚生省心身障害研究「妊娠初期の経膈超音波断層法により妊娠週数を補正した結果による過期産と陣痛誘発促進の頻度に関する研究」平成7年度研究報告書，厚生省，東京，1996.
 - 12) 平成7年日本産科婦人科学会周産期委員会報告「多胎・減数手術について」
[<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/04/s04285d.html>]
(accessed 2013-10-17).
 - 13) 厚生労働省監修：低出生体重児，双胎・多胎児の妊娠，出産，育児の支援に関する検討委員会編：ふたごの育児-ふたご・みつごの赤ちゃんを育てるために第2版，母子保健事業団，東京，50-53(2001).
 - 14) 横山美江：単胎児家庭の比較からみた双子家庭における育児問題の分析，*日本公衆衛生雑誌*，**49**，229-235(2002).
 - 15) 大槻克文，大場智洋，徳中真由美：妊婦健診の要点，*臨床婦人科産科*，**65**，1428-1436(2011).

- 16) 今泉洋子, 野中浩一: 多胎妊娠の疫学, 厚生省心身障害研究「不妊治療のあり方に関する研究」平成8年度研究報告書, 厚生省, 東京, 1997.
- 17) Norwitz ER, Robinson JN: A systematic approach to the management of preterm labor, *Semin Perinatol*, **25**, 223-235 (2001).
- 18) Eure CR, Lindsay MK, Graves WL: Risk of adverse pregnancy outcomes in young adolescent parturients in an inner-city hospital, *Am J Obstet Gynecol*, **186**,918-920(2002).
- 19) Goffinet F: Primary predictors of preterm labour, *BJOG*, 38-47(2005).
- 20) Haram K, Mortensen JH, Wollen AL: Preterm delivery, *Acta Obstet Gynecol Scand*, **82**, 687-704(2003).
- 21) 朝倉啓文:帝王切開の増加と対策, *日本医師会雑誌*, **139**, 2105-2109(2010).
- 22) Hendler I, Goldenberg RL, Mercer BM, Iams JD, Meis PJ, Moawad AH, MacPherson CA, Caritis SN, Miodovnik M, Menard KM, Thurnau GR, Sorokin Y: The Preterm Prediction Study: association between maternal body mass index and spontaneous and indicated preterm birth, *Am J Obstet Gynecol*, **192**,882-886(2005).
- 23) Dole N, Savitz DA, Hertz-Picciotto I, Siega-Riz AM,

- McMahon MJ, Buekens P: Maternal stress and preterm birth, *Am J Epidemiol*, **157**, 14-24(2003).
- 24) Dayan J, Creveuil C, Herlicoviez M, Herbel C, Baranger E, Savoye C, Thouin A: Role of anxiety and depression in the onset of spontaneous preterm labor, *Am J Epidemiol*, **155**, 293-301(2002).
- 25) Haas JS, Fuentes-Afflick E, Stewart AL, Jackson RA, Dean ML, Brawarsky P, Escobar GJ: Prepregnancy health status and the risk of preterm delivery, *Arch Pediatr Adolesc Med*, **159**, 58-63(2005).
- 26) Donders G, Bellen G, Rezeberga D: Aerobic vaginitis in pregnancy, *BJOG*, **118**, 1163-1170(2011).
- 27) Ritz B, Wilhelm M, Hoggatt KJ, Ghosh JK: Ambient air pollution and preterm birth in the environment and pregnancy outcomes study at the University of California, Los Angeles, *Am J Epidemiol*, **166**, 1045-1052(2007).
- 28) 岩下光利: ART と早産, *産婦の実際*, **53**, 1827-1837(2004).
- 29) 藤森敬也, 高橋秀憲, 菅沼亮太: 不妊治療症例の周産期予後調査 (日産婦周産期登録データベースを用いて), *産婦の実際*, **60**, 1063-1069(2011).
- 30) Bloom SL, Yost NP, McIntire DD, Leveno KJ: Recurrence of preterm birth in singleton and twin pregnancies, *Obstet Gynecol*, **98**, 379-385(2001).

- 31) Sadler L, Saftlas A, Wang W, Exeter M, Whittaker J, McCowan L: Treatment for cervical intraepithelial neoplasia and risk of preterm delivery, *JAMA*, **291**, 2100-2106(2004).
- 32) Berghella V, Pereira L, Gariepy A, Simonazzi G: Prior cone biopsy: prediction of preterm birth by cervical ultrasound, *Am J Obstet Gynecol*, **191**, 1393-1397(2004).
- 33) Jakobsson M: The incidence of preterm deliveries decreases in Finland, *BJOG*, **115**, 38-43(2008).
- 34) 朝倉啓文: 早産のリスク因子, *臨床婦人科産科*, **65**, 1422-1427(2011).
- 35) Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC, Hankins GDV, Clark SL: Williams Obstetrics, 20th ed, Stamford, Appleton and Lange, Connecticut, 1997.
- 36) 村越毅: 周産期におよぼす ART (assisted reproductive technology)の光と影: 多胎妊娠～ARTによる多胎妊娠の管理～, *産婦の実際*, **53**, 1849-1857(2004).
- 37) 武田佳彦: 多胎妊娠調査(1990年～1992年), *日産婦誌*, **47**, 593-603(1995).
- 38) 木原秀樹: 入院時から退院後へのフォローアップ, *周産期新生児誌*, **43**, 1021-1024(2007).
- 39) 上野良行, 大野勉, 三科潤, 多田裕, 中村肇, 厚生労働科学研究

「周産期医療水準の評価と向上のための環境整備に関する研究」
班:超早産児の長期予後, *周産期新生児誌*, **40**, 763-767(2004).

- 40) 中村肇, 上谷義之: 1995年出生の超低出生体重児6歳児予後の全校調査集計結果, 厚生労働科学研究「周産期医療水準の評価と向上のための環境整備に関する研究」平成14年度研究報告書, 厚生省, 東京, 2003年.
- 41) Barker DJ, Osmond C: Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales, *Lancet*, **1**(8489), 1077-1081(1986).
- 42) Huxley R, Neil A, Collins R: Unravelling the fetal origins hypothesis: is there really an inverse association between birth weight and subsequent blood pressure? *Lancet*, **360** (9334), 659-665(2002).
- 43) Law CM, de Swiet M, Osmond C, Fayers PM, Barker DJ, Cruddas AM, Fall CH: Initiation of hypertension in utero and its amplification throughout life, *BMJ*, **306**(6869), 24-27(1993).
- 44) 荒木勤: 最新産科学異常編改訂第22版, 文光堂, 東京, 2008.
- 45) Minakami H, Honma Y, Matsubara S, Uchida A, Shiraishi H, Sato I: Effects of placental chorionicity on outcome in twin pregnancies. A cohort study, *J Reprod Med*, **44**, 595-600(1999).
- 46) 村越毅, 上田敏子, 松本美奈子, 神農隆, 安達博, 渋谷伸一, 成

瀬寛夫，鳥居裕一：多胎妊娠の短期および長期予後の検討，*日本周産期・新生児医学会雑誌*，**41**，750-755(2005)。

- 47) Heyborne KD, Porreco RP, Garite TJ, Phair K, Abril D : Improved perinatal survival of monoamniotic twins with intensive inpatient monitoring, *Am J Obstet Gynecol*, **192**, 96-101(2005).
- 48) 日本産科婦人科学会：産科婦人科用語集・用語解説集 改訂第2版，金原出版，東京，2008。
- 49) Deñola NL, Quiming NS, Catabay AP, Saito Y, Jinno K: Optimization of capillary electrophoretic enantioseparation for basic drugs with native beta-CD as a chiral selector, *Electrophoresis*, **27**, 2367-2375(2006).
- 50) de Boer T, Bijma R, Ensing K: Modelling of conditions for the enantiomeric separation of beta2-adrenergic sympathicomimetics by capillary electrophoresis using cyclodextrins as chiral selectors in a polyethylene glycol gel, *J Pharm Biomed Anal*, **19**, 529-537(1999).
- 51) Simhan HN, Caritis SN: Prevention of preterm delivery, *N Engl J Med*, **357**, 477-487(2007).
- 52) The Canadian Preterm Labor Investigators Group: Treatment of preterm labor with the beta-adrenergic agonist ritodrine, *N Engl J Med*, **327**, 308-312(1992).
- 53) Takagi K, Satoh T: Multicentre Premature Labour Study

Group : Is long-term tocolysis effective for threatened premature labour? *J Int Med Res*, **37**, 227-239(2009).

- 54) 坂元正一, 木川源則, 一戸喜兵衛: 切迫早産に対する塩酸リトドリンの臨床使用経験(その1)点滴静注治療, *周産期医学*, **13**, 1157-1166(1983).
- 55) ウテメリン注 50mg, キッセイ薬品工業株式会社, 日本, 1986.
- 56) Caritis SN, Lin LS, Toig G, Wong LK: Pharmacodynamics of ritodrine in pregnant women during preterm labor, *Am J Obstet Gynecol*, **147**, 752-759(1983).
- 57) Gandar R, de Zoeten LW, van der SchootJB: Serum level of ritodrine in man, *Eur J Clin Pharmacol*, **17**, 117-122(1980).
- 58) van Lierde M, Thomas K: Ritodrine concentrations in maternal and fetal serum and amniotic fluid, *J Perinat Med*, **10**, 119-124(1982).
- 59) Fujimoto S, Akahane M, Sakai A: Concentrations of ritodrine hydrochloride in maternal and fetal serum and amniotic fluid following intravenous administration in late pregnancy, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, **23**, 145-152 (1986).
- 60) Fujimoto S, Akahane M, Tanaka T, Hanatani K: Pharmacokinetics and materno-fetal influence of ritodrine hydrochloride during the continuous treatment of threatened premature labor, *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*, **41**, 321-327(1989).

- 61) Konda A, Nodai A, Soma M, Koga Y, Yoshida H, Toda T, Hayakawa T, Inotsume N: Ritodrine pharmacokinetics in twin pregnancy patients, *Eur J Clin Pharmacol*, **64**, 399-404 (2008).
- 62) Kuhnert BR, Gross TL, Kuhnert PM, Erhard P, Brashar WT: Ritodrine pharmacokinetics, *Clin Pharmacol Ther*, **40**, 656-664 (1986).
- 63) Gross AS, Brown KF, Baird-Lambert JA, Nation RL: Determination of ritodrine in blood and plasma by high performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J Chromatogr*, **15**, 400-408(1987).
- 64) Lin LS, Caritis SN, Wong LK: Analysis of ritodrine in serum by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, *J Pharm Sci*, **73**, 131-133(1984).
- 65) Gross TL, Kuhnert BR, Kuhnert PM, Rosen MG, Kazzi NJ: Maternal and fetal plasma concentrations of ritodrine, *Obstet Gynecol*, **65**, 793-797(1985).
- 66) 阿部史朗, 小倉陽二, 青山真一, 園信義, 宮沢豊, 猪俣吉広, 東信彦, 岡田清: 子宮収縮抑制剤 (Ritodrine) の代謝および母児にたいする影響について, *日本産科婦人科学会関東連合地方部会会報*, **50**, 82-82(1989).
- 67) Konda A, Soma M, Ito T, Takeuchi Y, Toda T, Hayakawa T, Inotsume N: Stereoselective analysis of ritodrine

diastereomers in human serum using HPLC, *J Chromatogr Sci*, **48**, 503-506(2010).

- 68) Konda A, Ito T, Yoshida H, Toda T, Hayakawa T, Inotsume N: Pharmacokinetics of ritodrine diastereomers in patients pregnant with singletons and twins, *Eur J Clin Pharmacol*, **65**, 913-917(2009).
- 69) Caritis SN, Venkataramanan R, Cotroneo M, Smith M, Chiao JP, Habucky K: Pharmacokinetics and pharmaco-dynamics of ritodrine after intramuscular administration to pregnant women, *Am J Obstet Gynecol*, **162**, 1215-1219(1990).
- 70) Hayashi E, Kishimoto Y, Tada K, Kudo T, Sekiba K: Fetal and neonatal excretion of free and conjugated ritodrine, *Acta Med Okayama*, **46**, 443-448(1992).
- 71) Caritis SN, Lin LS, Wong LK: Related Articles: Evaluation of the pharmacodynamics and pharmacokinetics of ritodrine when administered as a loading dose. On establishing a potentially useful drug administration regimen in cases of fetal distress, *Am J Obstet Gynecol*, **152**, 1026-1031(1985).
- 72) Ohmori T, Nakamura M, Tada S, Sugiyama T, Itoh Y, Udagawa Y, Hirano K: A highly sensitive assay for ritodrine in human serum by hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, **861**, 95-100(2008).

- 73) Liu A, Liu F, Xu Y, Xu F, Hu W, Guo Q: Determination of ritodrine in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 144-148(2008).
- 74) Marzo A, Coa K, Fontana E, Tavazzi S, Bo LD, Ismaili S, Zava D, Cantoni V, Bertolini A: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ritodrine hydrochloride administered orally and intramuscularly to female healthy volunteers, *Arzneim -Forsch*, **60**, 510-518(2010).
- 75) Marin SJ, Metcalf A, Krasowski MD, Linert BS, Clark CJ, Strathmann FG, McMillin GA: Detection of Neonatal Drug Exposure Using Umbilical Cord Tissue and Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry, *The Drug Monit*, 2013 Sep 20, [Epub ahead of print].
- 76) Boskovic R, Klein J, Woodland C, Karaskov T, Koren G: The role of the placenta in variability of fetal exposure to cocaine and cannabinoids: a twin study, *Can J Physiol Pharmacol*, **49**, 942-945(2001).
- 77) Rayburn W, Piehl E, Schork MA, Kirscht J: Intravenous ritodrine therapy: a comparison between twin and singleton gestations, *Obstet Gynecol*, **67**, 243-248(1986).
- 78) Gabriel R, Harika G, Saniez D, Durot S, Quereux C, Wahl P: Prolonged intravenous ritodrine therapy: a comparison between multiple and singleton pregnancies, *Eur J Obstet*

Gynecol, **57**, 65-71(1994).

- 79) 厚生労働省医薬食品局：平成 23 年 11 月 30 日医薬品・医療機器等安全性情報 285 号，2011.
- 80) 武谷雄二：妊娠・分娩・産褥の生理と異常，新女性医学体系第 2 卷，中川書店，東京，2001.
- 81) Ballabh P, Lo ES, Kumari J, Cooper TB, Zervoudakis I, Auld PAM, Krauss AN: Pharmacokinetics of betamethasone in twin and singleton pregnancy, *Clin Pharmacol Ther*, **71**, 39-45(2002).
- 82) Callesen NF, Ringholm L, Stage E, Damm P, Mathiesen ER: Insulin requirements in type 1 diabetic pregnancy: do twin pregnant women require twice as much insulin as singleton pregnant women? *Diabetes Care*, **35**, 1246-1248 (2012).
- 83) Cotton DB, Strassner HT, Lipson LG, Goldstein DA: The effects of terbutaline on acid base, serum electrolytes, and glucose homeostasis during the management of preterm labor, *Am J Obstet Gynecol*, **141**, 617-624(1981).
- 84) Brazy JE, Little V, Grimm J: Isoxsuprine in the perinatal period. II. Relationships between neonatal symptoms, drug exposure, and drug concentration at the time of birth, *J Pediatr*, **98**, 146-151(1981).
- 85) Soma M, Konda A, Yoshida H, Kishimoto S, Fukushima S, Toda T, Sasaki Y, Hayakawa T, Inotsume N: Maternal-to-

fetal transfer of ritodrine in twin pregnancy, *Jpn J Clin Pharmacol Ther*, **43**, 339-343(2012).

- 86) 財団法人母子衛生研究会：母子保健の主なる統計-平成 20 年度刊行-, 母子健康事業団, 東京, 2009.
- 87) Nishimura H, Tsujimoto M, Ogura K, Hiratsuka A, Ohtani H, Sawada Y: Inhibitory effects of various beverages on ritodrine sulfation by recombinant human sulfotransferase isoforms SULT1A1 and SULT1A3, *Pharm Res*, **22**, 1406-1410 (2005).
- 88) Pacifici GM, Temellini A, Castiglioni M, D'Alessandro C, Ducci A, Giuliani L: Interindividual variability of the human hepatic sulphotransferases, *Chem Biol Interact*, **92**, 219-231 (1994).
- 89) 豊口禎子, 本田麻子, 富永綾, 細谷順, 白石正: 臍帯血中薬物濃度による妊婦薬物療法の胎児への影響の検討, *TDM 研究*, **25**, 187-190(2008).
- 90) Kangas L, Kanto J, Erkkola R: Transfer of nitrazepam across the human placenta, *Eur J ClinPharmacol*, **12**, 355-357(1977).
- 91) 町田浩通, 植賀正章, 安西重明, 岡田紀三男, 小畑英介, 谷藤泰正, 小林健一: Nitrazepam の胎盤通過性について, *産科と婦人科*, **48**, 49-52(1981).

- 92) 田中久, 武田明夫, 泉雅之, 岡田久, 石川作和夫: てんかん患者の出産とその児におよぼす抗てんかん薬の影響—バルプロ酸, フェニトイン, カルバマゼピン, フェノバルビタール単剤治療時の薬剤別検討, *臨床神経学*, **31**, 266-269(1991).
- 93) 横地健治, 山口正司, 千葉寛, 田淵通, 我妻堯: 抗けいれん剤 (phenobarbital, phenytoin, valproic acid) の胎盤移行および新生児における薬物動態, *日本新生児学会雑誌*, **17**, 325-332(1981).
- 94) Bardy AH, Hiilesmaa VK, Teramo K, Neuvonen PJ: Protein binding of antiepileptic drugs during pregnancy, labor and puerperium, *The Drug Monit*, **12**, 40-46(1990).
- 95) Froescher W, Eichelbaum M, Niesen M, Dietrich K, Rausch P: Carbamazepine levels in breast milk, *The Drug Monit*, **6**, 266-271(1984).
- 96) Koerner M, Yerby M, Friel P, McCormick K: Valproic acid disposition and protein binding in pregnancy, *The Drug Monit*, **11**, 118-230(1989).
- 97) Chan V, Tse TF, Wong V: Transfer digoxin across the placenta and into breast milk, *Br J Obstet Gynecol*, **85**, 605-609(1978).
- 98) 榊原繁樹, 宇津正二, 石田宗彦: ジギタリス製剤の胎児循環への効果について, *産婦人科の進歩*, **36**, 386-387(1984).

- 99) Harrigan JT, Kangos JJ, Sikka A, Spisso KR, Natarajan N, Rosenfeld D, Leiman S, Korn D: Successful treatment of fetal congestive heart failure secondary to tachycardia, *N Engl J Med*, **304**, 1527-1529(1981).
- 100) 平田克彦, 吉岡史夫, 加藤裕久, 松永隆元, 石松順嗣, 浜田悌二: 胎児心房粗動に対する経胎盤的治療, *医学のあゆみ*, **130**, 421-422(1984).
- 101) Brashear WT, Kuhnert BR, Wei R: Maternal and neonatal urinary excretion of sulfate and glucuronide ritodrine conjugates, *Clin Pharmacol Ther*, **44**, 634-641(1988).
- 102) Pacifici GM, Quilici MC, Giulianetti B, Spisni R, Nervi M, Giuliani L, Gomeni R: Ritodrine sulphation in the human liver and duodenal mucosa: interindividual variability, *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, **23**, 67-74(1998).
- 103) Brashear WT, Kuhnert BR, Wei R: Structural determination of the conjugated metabolites of ritodrine, *Drug Metab Dispos*, **18**, 488-493(1990).
- 104) Davies MH, Ngong JM, Yucesoy M, Acharya SK, Mills CO, Weaver JB, Waring RH, Elias E: The adverse influence of pregnancy upon sulphation: a clue to the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy? *J Hepatol*, **21**, 1127-1134(1994).

- 105) Pacifici GM, Kubrich M, Giuliani L, de Vries M, Rane A:
Sulphation and glucuronidation of ritodrine in human foetal
and adult tissues, *Eur J Clin Pharmacol*, **44**, 259-264(1993).
- 106) Van Loon J, Weinshilboum RM: Human platelet phenol
sulfotransferase: familial variation in thermal stability of
the TS form, *Biochem Genet*, **22**, 997-1014(1984).
- 107) Ozawa S, Tang YM, Yamazoe Y, Kato R, Lang NP, Kadlubar
FF: Genetic polymorphisms in human liver phenol
sulfotransferases involved in the bioactivation of N-hydroxy
derivatives of carcinogenic arylamines and heterocyclic
amines, *Chem Biol Interact*, **20**, 237-248(1998).
- 108) Ozawa S, Shimizu M, Katoh T, Miyajima A, Ohno Y,
Matsumoto Y, Fukuoka M, Tang YM, Lang NP, Kadlubar FF:
Sulfating-activity and stability of cDNA-expressed
allozymes of human phenol sulfotransferase, ST1A3*1 ((213)
Arg) and ST1A3*2 ((213)His), both of which exist in
Japanese as well as Caucasians, *J Biochem*, **126**, 271-
277(1999).
- 109) Raftogianis RB, Wood TC, Otterness DM, Van Loon JA,
Weinshilboum RM: Phenol sulfotransferase
pharmacogenetics in humans: association of common
SULT1A1 alleles with TS PST phenotype, *Biochem Biophys
Res Commun*, **239**, 298-304(1997).

- 110) Parry S, Zhang J: Multidrug resistance proteins affect drug transmission across the placenta, *Am J Obstet Gynecol*, **196**, 476.e1-6(2007).
- 111) Hemauer SJ, Nanovskaya TN, Abdel-Rahman SZ, Patrikeeva SL, Hankins GD, Ahmed MS: Modulation of human placental P-glycoprotein expression and activity by MDR1 gene polymorphisms, *Biochem Pharmacol*, **79**, 921-5(2010)
- 112) Ieiri I: Functional significance of genetic polymorphisms in P-glycoprotein (MDR1, ABCB1) and breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2), *Drug Metab Pharmacokinet*, **27**, 85-105(2012)
- 113) 村越毅: 多胎(妊娠後期)診断と対応のポイント, *産科と婦人科*, **76**, 581-586(2009).
- 114) Epstein MF, Nicholls E, Stubblefield PG: Neonatal hypoglycemia after beta-sympathomimetic tocolytic therapy, *J Pediatr*, **94**, 449-453(1979).
- 115) 藤枝聡子, 相馬まゆ子, 今田愛也, 渡利道子, 計良光昭, 吉田博, 高橋伸浩, 佐々木洋一, 福島昭二, 猪爪信夫: 新規高感度測定法による双胎妊婦と新生児における血清中リトドリン濃度, *北海道産科婦人科学会会誌*, **57**, 51-56(2013).
- 116) Validation of compendial procedures in The United States Pharmacopeia, 30th ed, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, 2007.

- 117) Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2001.
- 118) Eden RD, Boehm FH: Assessment & care of the fetus, Physiological clinical and medicolegal principles, Appleton & Lange, Connecticut, 1990.
- 119) Caritis SN, Venkataramanan R, Darby MJ, Chiao JP, Krew M: Pharmacokinetics of ritodrine administered intravenously: recommendations for changes in the current regimen, *Am J Obstet Gynecol*, **162**, 429-437(1990).
- 120) Caritis SN: A pharmacologic approach to the infusion of ritodrine, *Am J Obstet Gynecol*, **158**, 380-384(1988).