

抗てんかん薬簡易分析法の確立と多剤併用小児てんかん患者への応用

Establishment of Simple Determination Methods of Antiepileptic Drugs and Application to Therapeutic Drug Monitoring of Infant Patients with Epilepsy Undergoing Polypharmacy

平成 27 年度 論文博士申請者 高橋 良平 (Takahashi, Ryohei)

指導教員 吉田 久博

てんかんは種々の成因によってもたらされる慢性の脳疾患で、その多くが新生児期から幼児期に発病する小児特有の疾病である。また抗てんかん薬は、薬剤管理指導料が算定できる「特に安全管理が必要な医薬品」に該当し、血中濃度を測定することにより保険請求ができる。しかし、保険請求回数に上限があり、頻回測定を要する患者に対応するためには、安価で臨床応用可能な簡易分析法を開発する必要がある。また小児は成人と異なり成長過程にあり、身長、体重および薬物動態も年齢に伴い変化していることから、至適薬物療法を遂行するためには患者ごとの血中濃度測定は極めて重要であり、小児科領域において抗てんかん薬の血中濃度管理に薬剤師による積極的な参画が切望されている。

一方、小児において採血自体が大きな負担となることから、医薬品の臨床試験に関するガイダンス、ならびに欧州の基準にも小児集団に対して採血量を少なくするように記載されており、より少量の試料で測定できる高感度分析法の確立が望まれている。

本研究では、難治性小児てんかん患者に用いられる 3 種の抗てんか

ん薬、トピラマート¹⁾、ラモトリギン²⁾およびスチリペントール³⁾の血中濃度を簡便かつ迅速に微量サンプルで測定できる分析法の開発を行うとともに、これを小児てんかん患者に適用し、至適薬物療法を遂行するためのツールとしての有用性について評価した。

【分析方法】 トピラマートは、特異的な UV 吸収がなく蛍光発光もしないことから、一般に LC/MS 法または蛍光ラベル化剤を用いた HPLC 法にて測定されている。しかし前者は装置が高価で医療現場に普及しておらず、容易に血中濃度が測定できないこと、また後者はサンプル量が多く小児患者の濃度測定には適していないことから、新規ラベル化剤による簡便かつ高感度な微量分析法の開発を行った。すなわち、血漿試料に除タンパク操作を加え、酸性条件下、有機溶媒にて抽出し、有機層を蒸発乾固した後、残渣を水に溶解しアルカリ性下、アミノ基蛍光ラベル化剤 (4-chloro-7-nitrobenzofurazan) を加え、加熱処理して測定試料とし、逆相カラム HPLC にて蛍光分析を行った。

ラモトリギンは、UV 吸収に基づく HPLC 測定が可能であるが、併用薬剤の影響を避けるため、固相抽出法による前処理や多波長検出器による分離分析が行われている。今回、除タンパク法ならびに移動相を改変することにより簡便かつ容易に測定できる測定法を開発した。すなわち、AcCN にて除タンパクした後、テーリングを抑制するため上清に精製水を加えて測定試料とした。逆相カラム HPLC の移動相に 25 mM リン酸緩衝液 (pH4.6) と CH₃OH:AcCN 混液 (4:3) の濃度勾配溶液を使用することにより薬剤分離を促進した。

スチリペントールもラモトリギンと同様に UV 吸収に基づく HPLC 測定が可能であるが、併用薬剤の影響を受けやすいことから、高感度で微量分析可能な蛍光分析法の開発を行った。すなわち血漿試料を

AcCN(含 I.S.) にて除タンパク操作を行ない、上清を測定試料とした。薬物定量には逆相カラム HPLC 法を使用し、検出には蛍光検出器 (Ex:210nm, Em:400 nm) を、移動相には 25 mM リン酸緩衝液 (pH 2.6) /AcCN (43:57, v/v) を使用して分析を行った。

【定量性評価】 トピラマート、ラモトリギンおよびスチリペントールの各測定法の定量性について検討した結果、いずれの薬物も検量線はほぼ原点を通る直線を示し、治療濃度範囲内での定量測定に支障のないことを認めた。日内変動および日間変動は、全ての測定濃度において変動係数 10%以下であり、再現性の優れた測定法であることを認めた。併用薬による特異性試験についても、共存薬物の影響は認められず、標的薬物を良好かつ高精度で分離定量できることを認めた。

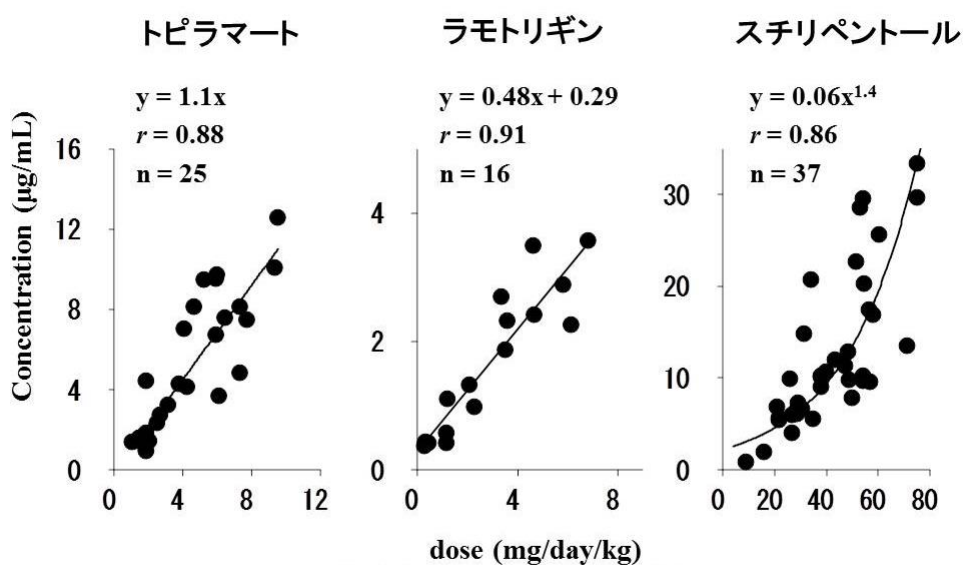


図1. 投与量と血中濃度の関係

【患者血中濃度測定と動態特性】 いずれの薬物も半減期が長く、投与 2 時間後にピーク濃度に到達し 2-4 時間ほぼ一定なことから、各薬剤について反復投与時の体重当たりの投与量 (D) とピーク近傍濃度 (C) との関係について比較検討した。その結果、トピラマートおよびラモトリギンについては、D と C との間に良好な直線関係を認めた。一方、スチリペントールについては投与量とピーク濃度の間に非

線形性を認めた。ミカエリス・メンテンの改変式を用いて解析した結果、 K_m 3.0 mg/L, V_{max} 54.5 mg/day/kg を得た。トピラマートはタンパク結合率 15%、尿中未変化体排泄率 85%の腎排型の薬物、ラモトリギンは主に UGT で代謝されタンパク結合率 53%、尿中未変化体排泄率 10%、肝抽出率 0.3 以下の肝代謝能依存型の薬物、またスチリペンツールは CYP2C19 などによって代謝され、タンパク結合率 99%、肝抽出率 0.3 以下のタンパク結合依存性肝代謝能依存型の薬物と判断された。そこでトピラマートの変動要因について精査した結果、各薬物共に C/D 比と年齢及び体重との間に弱い相関を認めた。成長に伴う骨格筋量の増加がクリアランスに影響しているものであると推察された。

【薬物相互作用】 トピラマートは、一部 CYP3A4 により代謝されることから、CYP3A4 誘導剤による薬物動態への影響を明らかにするため、誘導剤併用の有無による C/D 比の変動について検討した (表 1)。その結果、フェノバルビタール併用群において著明に低下し、酵素誘導効果を認めた。カルバマゼピンについては症例数が少なく有意差を得ることができなかった。

表1. トピラマートの血中濃度、投与量およびC/D比

Treatment group	n	Concentration (µg/mL)	Dose (mg/day/kg)	C/D ratio
topiramate + Other AEDs	26	5.5 ± 3.4	4.9 ± 3.0	1.2 ± 0.4
topiramate + phenobarbital + Other AEDs	9	4.7 ± 3.0	8.8 ± 6.0	0.6 ± 0.3*
topiramate + carbamazepine + Other AEDs	6	4.5 ± 2.6	4.0 ± 2.2	1.2 ± 0.5

Values are means ± S.D. .

C/D ratio = Concentration (µg/mL) / Dose (mg/day/kg). topiramate + Other AEDs.

*p < 0.05

ラモトリギンは、グルクロン酸抱合により代謝されることから、グルクロン酸抱合が主代謝経路であるバルプロ酸の併用の有無によるラモトリギンの C/D 比の変動について検討した (表 2)。その結果、バ

ルプロ酸併用群では C/D 比が高く、小児にラモトリギンを投与する際にも、併用薬の代謝酵素に注意する必要があることを認めた。

表2. ラモトリギンの血中濃度、投与量およびC/D比

Treatment group	n	Concentration (µg/mL)	Dose (mg/day/kg)	C/D ratio
lamotrigine + valproic acid	20	3.7 ± 3.0	1.5 ± 0.9	2.5 ± 1.1
lamotrigine + valproic acid + inducers	15	3.8 ± 3.2	4.5 ± 2.8*	0.9 ± 0.5*
lamotrigine + inducers	16	3.5 ± 2.1	5.7 ± 3.0*	0.7 ± 0.3*

Values are means ± S.D. ; inducers are carbamazepine, phenytoin, phenobarbital, or primidone.

C/D ratio = Concentration (µg/mL) / Dose (mg/day/kg).

*p < 0.05

【臨床応用】 トピラマート血中濃度が 0.7 µg/mL と低値を示す患児 (2 歳 10 ヶ月、女児、12.0 kg) に TDM 介入を行った。肝機能、腎機能および臨床検査値に異常が認められないことから、体重を考慮した動態特性結果より、有効血中濃度を 5.0 µg/mL にするには投薬量を 1.5 mg/kg から 4.9 mg/kg にする必要があると推察された。しかし、臨床医は代謝性アシドーシスの発症を懸念し、2 段階での増量を実施した。すなわち、一旦 3.0 mg/kg に増量した結果、血中濃度が 2.8 µg/mL に上昇するも副作用が発現しないことから、さらに投与量を 6.0 mg/kg に増量し、血中濃度を 6.0 µg/mL で維持した。現在、発作症状もなく良好に経過している。

ラモトリギンとバルプロ酸の併用投与患児 (14 歳 10 ヶ月、女児、49.3 kg) 。肝機能、腎機能および臨床検査値に異常が認められず、てんかん発作も消失しており、妊娠可能年齢に達したことから、有効性の低いバルプロ酸の投与中止を目標に TDM 介入を行った。バルプロ酸併用時のラモトリギン血中濃度は 9.1 µg/mL であったが、併用中止した場合、血中濃度が低下することから投与量を増やす必要があると

判断された。ラモトリギンは急激な増量により致死的な皮膚障害などの副作用を発症することから、バルプロ酸中止後の血中濃度を確認してから投与設計することにした。ラモトリギンの血中濃度は、バルプロ酸中止に伴い 3.4 µg/mL に低下したが、投与量を 6.0 mg/kg に増量した結果、5.4 µg/mL に上昇した。

【総括】 小児てんかん患者に至適薬物療法を遂行するためには微量試料で迅速かつ的確に薬物血中濃度をモニタリングできる測定法を確立ことは極めて重要である。今回 3 種の抗てんかん薬について、HPLC による微量試料を用いた簡易高感度分析法を開発し、臨床応用した。その結果、いずれの分析法も極めて特異性に優れ、共存薬物の影響を受けることなく良好に分離定量することができた。また一部の患者に治療的薬物濃度管理を実施した結果、血中薬物濃度を良好にコントロールすることができた。これらの成績は、今回開発した分析方法が抗てんかん薬の血中濃度モニタリングに極めて有用であり、有効かつ安全な薬物療法を遂行する上で有益なツールとなり得ることを示唆している。

《参考文献》

1. 高橋良平, 今井浩一, 吉田栄充, 田中 学, 浜野晋一郎, 新井康俊, 医療薬学, **36**, 486-492 (2010).
2. 高橋良平, 今井浩一, 吉田栄充, 中村益美, 中島絵梨花, 松浦隆樹, 菅谷ことこ, 菊池健二郎, 田中 学, 南谷幹之, 浜野晋一郎, 新井康俊, 医療薬学, **37**, 217-224 (2011).
3. Takahashi R., Iimai K., Yamamoto Y., Takahashi Y., Hamano S., Yoshida H., *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **41**, 643-650 (2015).