第3回 日本臨床薬理学会 1982年12月3～4日 浜松

限外濾過法 (EMIT® FreeLevel™) による
血清中遊離 Carbamazepin および Valproic
Acid のモニタリング上 能 伊 公 雄*¹ R. H. LEVY*² K. KOCH*²L. M. LINTHICUM*² V. A. RAISYS*² P. N. FRIEL*²A. J. WILENSKY*² N. R. TEMKIN*² and L. COLIN*³

はじめに 薬物の生物学的活性は血清中の蛋白と結合していない遊離型薬物の濃度に依存することがよく知られている。この濃度のモニタリングは临床上重要な意味を持ち、その実施に際し遊離型薬物を正確に、再現性よく試料から分離することがまず必要である。この目的のために、米国 Syva 社により限外濾過法の一つとして EMIT® FreeLevel™ (FL) が開発された。

今回、抗てんかん薬として繁用されている carbamazepine (CBZ) と valproic acid (VPA) を用いて、FL の評価を行うべく従来の平衡透析 (ED) 法と比較検討した。

対象・方法 CBZ においては、米国ワシントン大学 (シアトル市) てんかん病センターの外来患者 61 名からの血清を試料とした。24 名はその単独を、残りは他剤の併用を受けていた。VPA の場合には、同センターの患者 50 名から血清試料を得た。すべての患者は他剤を併用していた。

薬物の血清蛋白への結合は室温 (20-25 °C) にて FL および ED (24 時間透析) 両法で行い、遊離型薬物比 (f_p) は次のように計算した。FL 法では $f_p = \text{濾液中薬物濃度} / \text{血清中総薬物濃度}$

(C_T)、ED 法においては $f_p = \text{透析液側薬物濃度} (C_d) / \text{血清蛋白側薬物濃度} (C_R)$ 。ED 法を用いての遊離型薬物濃度 (C_i) は $f_p \times C_T$ として求めた。これは透析中に C_T の濃度が希釈され、 C_d が直接に遊離型濃度を反映しないことによる。FL 法では濾液中薬物濃度をもって C_i とした。ED 法の血清蛋白側をさらに FL の使用により濾過し、この濃度と C_i とを比較して FL の一つの評価とした。各薬物の分析法として EMIT (両薬物)、GC (VPA) および GC-MASS (CBZ) を用いた。

結果・考察 CBZ : 61 名中 28 名の試料について EMIT 法と GC-MASS 法で分析し、残りは EMIT 法で実施した。FL, ED 両法の C_i 間には良好な相関が得られ、また両値には有意な差は認められなかった (EMIT 法による平均値 $\pm$ S. D. は 1.74 ± 0.62 (FL 法), 1.77 ± 0.67 mg/L (ED 法))。しかし、EMIT 法による C_i は GC-MASS 法に比較して 16% 高い値を示した。CBZ の C_T においてもこれと同様の結果が得られ、その平均値 $\pm$ S. D. はそれぞれ 6.95 ± 2.57 (EMIT 法), 6.12 ± 2.48 mg/L (GC-MASS 法) であった ($p < 0.001$, paired t-test)。さらに、CBZ の主な代謝物の一つである CBZ-10, 11-epoxide (epoxide) と CBZ の f_p 、あるいは血清中総濃度との間にそれぞれ有意な正の相関を得た ($r = 0.64$ (f_p), 血清中総濃度では $r = 0.59$, 各 $p <$

*¹ 京大医学部附属病院薬剤部

〒606 京都市左京区聖護院川原町 54

*² University of Washington, Seattle, WA.*³ Syva Co.

0.001). 先に, EMIT 法で epoxide が cross-reaction を起こすことが報告されており¹⁾, これが分析値に高値を与えた結果と考えられた.

一方, 蛋白結合実験法や分析法の相違にかかわらず, CBZ の fp 値には有意な差は認められなかった (fp 値は 0.24-0.26). また, ED 法で得た血清蛋白側を FL で濾過した濾液中濃度は C_d と一致した. これらのことから, EMIT 法で得られた C_i , C_T の高値は fp の算出時に互いに消去されること, CBZ の FL への吸着はないことが示唆された.

VPA: C_T を EMIT 法および GC 法で測定した結果, 両者間に有意な差は認められなかった (平均値 $\pm$ S. D., 48.2 ± 25.4 (EMIT 法), および 47.8 ± 25.0 mg/L (GC 法)). このことから, 以下の分析は EMIT 法でのみ行った. FL, ED 法により得た C_i の間には, 図に示したように良好な相関性が認められた ($r=0.97$). また, fp に関しても同様な関係が得られた ($r=0.89$).

ED 法に比較し FL 法では, C_i および fp ともに 6~7% 高い値を示した (C_i では 4.63 ± 3.32 (FL 法), 4.38 ± 3.26 mg/L (ED 法), $p=0.023$; fp においては 0.088 ± 0.027 (FL 法),

0.082 ± 0.029 (ED 法), $p=0.002$; 平均値 $\pm$ S. D.). さらに, VPA の蛋白結合は濃度依存性を示し, C_T の増加に伴って C_i の増加が報告されている²⁾. 本実験においても, fp 値は濃度依存性を示したこと, ED 法の血清蛋白側試料の FL による濾液中薬物濃度と C_d とが一致 (3.82 ± 2.81 と 3.84 ± 2.87 mg/L (C_d)) したことから, ED 法で透析中 C_T が C_R に希釈されることがその主な原因と考えられた. また, FL は VPA の蛋白結合実験法の一つとして, CBZ の場合と同様満足すべきものであることが明らかとなった.

一方, CBZ や VPA の蛋白結合は温度に影響されることが認められている^{3,4)}. すなわち, 22~37°C に試験温度が上昇することにより, fp は約 50% 増加した. 本研究の条件である室温で得られた C_i および fp は, in vivo でのそれらに比較して低い値を呈するものと考えられた. このことは, 正確かつ再現性の良好な C_i ならびに fp を得るため, 遠心時の温度制御が重要であることを示唆するものである.

結論 FL 法は ED 法と同様有用なので, その特徴として迅速性があげられる. また, 蛋白結合に濃度依存性を示す VPA にはより有用なことが示唆された. さらに, 蛋白結合実験の実施に際し, 定量法も含めて種々の観点からの検討が必要と考える.

文 献

- 1) Monaco, F. and Piredda, S.: Carbamazepine-10,11-epoxide determined by EMIT carbamazepine reagent. *Epilepsia*, 21: 475-477 (1980).
- 2) Bowdle, T. A., Patel, I. H., Levy, R. H., et al.: Valproic acid dosage and plasma protein binding and clearance. *Clin Pharmacol. Ther.*, 28: 486-492 (1980).
- 3) Hooper, W. D., Dubetz, D. K., Bochner, F., et al.: Plasma protein binding of carbamazepine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 17: 433-440 (1975).
- 4) Gugler, R. and Mueller, G.: Plasma protein binding of valproic acid in healthy subjects and patients with renal disease. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 5: 441-446 (1978).