

全自動ELISAシステムによるゾニサミドおよび八口ペリドールの血漿中濃度測定

著者	石崎 純子, 横川 弘一, 中島 恵美, 古田 壽一, 越野 好文, 関 秀俊, 谷口 昂, 長谷川 光広, 山下 純宏, 市村 藤雄
雑誌名	病院薬学
巻	23
号	4
ページ	358-363
発行年	1997-08-10
URL	http://hdl.handle.net/2297/6254

(Jpn. J. Hosp. Pharm.)
技 術 報 告
23(4) 358 - 363 (1997)

全自動 ELISA システムによるゾニサミドおよび ハロペリドールの血漿中濃度測定†¹

石崎純子†², 横川弘一†³, 中島恵美†², 古田壽一†⁴, 越野好文†⁴,
関 秀俊†⁵, 谷口 昂†⁵, 長谷川光広†⁶, 山下純宏†⁶, 市村藤雄*†²

金沢大学医学部附属病院薬剤部†²

金沢大学大学院自然科学研究科医療薬剤学講座†³

金沢大学医学部神経科精神科†⁴, 同小児科†⁵, 同脳神経外科†⁶

Determination of Zonisamide and Haloperidol in Plasma by Using a Fully Automated ELISA System†¹

JUNKO ISHIZAKI†², KOICHI YOKOGAWA†³, EMI NAKASHIMA†², HISAKAZU FURUTA†⁴,

YOSHIFUMI KOSHINO†⁴, HIDETOSHI SEKI†⁵, NOBORU TANIGUCHI†⁵,

MITSUHIRO HASEGAWA†⁶, JUNKOH YAMASHITA†⁶ and FUJIO ICHIMURA*†²

Hospital Pharmacy†², Department of Clinical Pharmaceutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences†³,

Department of Neuropsychiatry†⁴, Department of Pediatrics†⁵, Department of Neurosurgery†⁶,

School of Medicine, Kanazawa University

(Received November 22, 1996)
(Accepted March 7, 1997)

A fully automated enzyme immunoassay system, Omni (BIO-TEK Co.) (ELISA system), using Markit-M Excegran and Markit-M Haloperidol (Dainippon Pharmaceutical Co.) was evaluated to determine the concentrations of zonisamide (ZNS) and haloperidol (HP) in human plasma. At first, the within-run (ZNS: n=8, HP: n=10) and the between-run (4 days) precisions of ZNS and HP were examined.

The coefficient of the variations in both the within-run and the between-run precisions of HP were below 5.0 and 7.0%, respectively. In contrast, the some values of ZNS were below 6.5 and 8.4%, respectively. A good correlation was observed between this ELISA system and HPLC ($r=0.917$), which was used to determine the plasma ZNS concentration. In the case of HP, a good correlation was seen between this ELISA system and the manual ELISA method ($r=0.978$).

This method was thus used to monitor the serum levels in patients receiving ZNS or HP therapy. The relationship was observed between the daily dose (mg/kg) and the plasma concentration of the trough level for ZNS and HP, respectively ($r=0.750$ $p<0.001$, $r=0.669$ $p<0.001$). However, the ratio of the plasma concentration of ZNS and the daily dose increased significantly with aging.

Key words— zonisamide, haloperidol, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), plasma concentration

緒 言

個々の患者への投与設計のためには、薬物濃度測定の正確さと迅速さが要求される。更に投与量と血漿中薬物濃度との関係を明確にするために、多くのデータ集積による薬物速度論的解析が必要であり、薬剤師による簡便な血漿中薬物濃度の測定が望まれる。

現在、ゾニサミド (ZNS) およびハロペリドール (HP) の血漿中薬物濃度測定に用いられている、高速液体クロマトグラフ法 (HPLC)、ガスクロマトグラフ法あるいは酵素免疫測定法 (ELISA) は、蛍光偏光免疫測定法に比較して操作が煩雑なため当院では院外にて測定されている。これらの薬剤の治療濃度範囲や中毒発現濃度に関しては、すでに報告があり¹⁻⁴⁾、TDM が有効であることは一部証明されている。

最近、当薬剤部に ELISA 法を全自動化した測定装置オムニ (BIO-TEK 社) が導入され、ZNS および HP の ELISA 測定用キット (マーケット M-エクセグラン、マーケット M-ハロペリドール (大日本製薬)) を用いて、これらの薬剤の血漿中薬物濃度測定について比較評価を行った。

方 法

1. ELISA システムによる血漿中 ZNS および HP の濃度測定

測定装置には ELISA の操作を全自動化したオムニ (BT-9000, BIO-TEK 社) を使用した。測定用試薬にはマーケット M-エクセグランまたはマーケット M-ハロペリドール (大日本製薬) の市販キットを用いた。測定原理はパーオキシダーゼ

標識薬剤と検体中の薬剤が、抗 ZNS 抗体あるいは抗 HP 抗体 (ウサギ由来) (抗体-1) に競合的に結合し、更にウエルに結合している抗ウサギ IgG 抗体 (ヤギ由来) (抗体-2) に結合する二抗体固相法を用いた。結合型標識薬剤のパーオキシダーゼ活性を主波長492nm、副波長620nm で測定し、ZNS あるいは HP の血漿中濃度を算出した。操作手順は、検体および標準溶液を分注したウエルと測定用試液を測定装置にセットするのみで、以後の操作は全自動で測定した。

2. 他の方法による血漿中 ZNS および HP の濃度測定

血漿中 ZNS 濃度は、エスアールエル社で測定された HPLC による測定値を用いた⁵⁾。血漿中 HP 濃度は、エスアールエル社で測定されたマーケット M-ハロペリドール (大日本製薬) を用いたマニュアル操作での ELISA 法による測定値を用いた。

3. 対象患者および採血条件

ZNS 測定は当院の神経科精神科、脳神経外科、小児科で ZNS 単独あるいは他の抗てんかん薬を併用している患者 (年齢10カ月~75歳) を対象とした。HP 測定は当院の神経科精神科で HP 単独あるいは他の薬剤を併用している患者 (年齢16~57歳) を対象とした。いずれの場合も薬剤を2週間以上継続服用し、血漿中 ZNS あるいは HP 濃度がすでに定常状態に達している時点で、薬剤服用直前に採血した。

4. データ解析

データの統計的処理には、Student's t-検定を使用した。

結 果

1. ELISA システムによる再現性

ELISA システムによる ZNS および HP の測定精度を検討するため、2水準の既知濃度の血漿試

†¹ 本報の内容は、日本薬学会第116年会 (金沢、1996年3月) で発表。

†²⁻⁶ 金沢市宝町13-1; 13-1, Takara-machi, Kanazawa, 920 Japan

Table 1. Within-run and Between-run Precision of ZNS and HP on ELISA Method

spiked concentration	within-run precision ¹⁾				between-run precision ²⁾			
	absorbance ³⁾		observed concentration		absorbance ³⁾		observed concentration	
	mean±SD	CV(%)	mean±SD	CV(%)	mean±SD	CV(%)	mean±SD	CV(%)
ZNS								
12 µg/ml	0.854±0.018	2.1	12.7±0.8	6.2 n=8	0.841±0.091	10.9	13.2±1.1	8.4 n=4
24 µg/ml	0.704±0.152	2.2	22.5±1.5	6.5 n=8	0.691±0.063	9.1	24.1±1.3	5.4 n=4
HP								
10 ng/ml	0.596±0.010	1.7	10.1±0.2	2.3 n=10	0.583±0.031	5.3	10.3±0.7	7.0 n=4
20 ng/ml	0.356±0.014	3.9	19.6±1.0	5.0 n=10	0.340±0.019	5.5	20.0±1.0	5.0 n=4

1) Assay was carried on one 96-well plate.

2) Two assay plates were used for the determination.

3) Omni system was used for the determination.

料を用いて定量し、その同時再現性および日差再現性を Table 1 に示した。

既知の血漿中 ZNS 濃度 (12, 24 µg/ml) を用いて、同時再現性 (n=8) を検討した結果、各平均濃度は 12.7 および 22.5 µg/ml、各変動係数 (CV) 値は 6.2 および 6.5% であった。また、血漿中 ZNS 濃度の 4 日間の日差再現性 (n=4) を検討した結果、各平均濃度は 13.2 および 24.1 µg/ml、各 CV 値は 8.4 および 5.4% であった。

既知の血漿中 HP 濃度 (10, 20 ng/ml) を用いて、同時再現性 (n=10) を検討した結果、各平均濃度は 10.1 および 19.6 ng/ml、各 CV 値は 2.3 および 5.0% であった。また、血漿中 HP 濃度の 4 日間の日差再現性 (n=4) を検討した結果、各平均濃度は 10.3 および 20.0 ng/ml、各 CV 値は 7.0 および 5.0% であった。

2. ELISA システムと他方法による血漿中薬物濃度の比較

ZNS あるいは HP を継続服用している患者の血漿中薬物濃度について、ELISA システムにより測定した値 (院内測定値) と院外で他の方法により測定した値 (院外測定値) を比較検討した。ZNS 服用患者 (78 名) の血漿中濃度について院内測定値と院外測定値 (HPLC 法) との相関関係を Fig. 1 に示した。この結果、傾き 1.04、切片

1.16、相関係数 0.917 と良好な相関性が認められた。

また、HP 服用患者 (53 名) の血漿中濃度について院内測定値と院外測定値 (ELISA マニュアル操作法) との相関関係を Fig. 2 に示した。この結果、傾き 1.07、切片 -0.23、相関係数 0.978 と良好な相関性が認められた。

3. 血漿中濃度と投与量の関係

HP の服用患者 (48 名) における投与量 (mg/kg/day) と ELISA システムにより測定したトラフレ

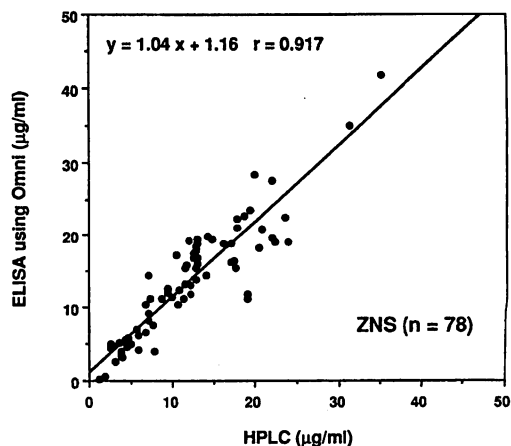


Fig. 1. Correlation of ZNS Concentration in Plasma Determined by ELISA and HPLC

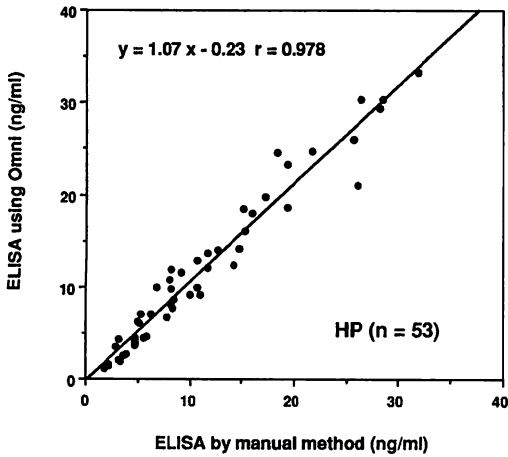


Fig. 2. Correlation of HP Concentration in Plasma between ELISA Using Omni and by Manual Method

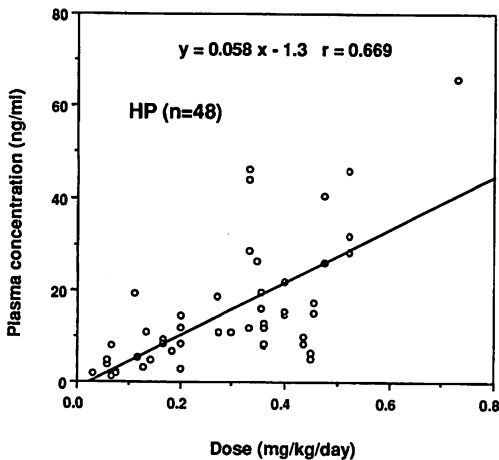


Fig. 3. Relationship between the Dose and Plasma Concentration for HP in Schizophrenic Patients

ベルでの血漿中 HP 濃度の関係を Fig. 3 に示した。投与量は 0.032~0.73 mg/kg/day と患者間で大きく異なっており、血漿中 HP 濃度も 1.9~66.0 ng/ml と広い濃度範囲にあった。両者の関係にはばらつきはあるものの相関性が認められた ($r=0.669$, $p<0.001$)。また、血漿中 HP 濃度 (ng/ml) と投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) との比 (L/D) の平

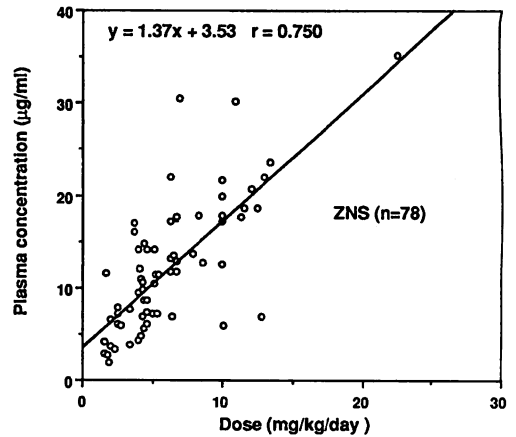


Fig. 4. Relationship between the Dose and Plasma Concentration for ZNS in Epileptic Patients

均値は 0.0545 ± 0.0344 (mean \pm SD) であり、CV 値は 62.2% と患者間での個体差が大きいことがわかった。

ZNS の服用患者 (78 名) における投与量 (mg/kg/day) とトラフレベルの血漿中 ZNS 濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) の関係を Fig. 4 に示した。ZNS の投与量は HP の場合と同様に、1.6~22.5 mg/kg/day と患者間で大きく異なっており、血漿中 ZNS 濃度も 2~35.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と広い濃度範囲にあった。両者の関係には、ばらつきはあるものの相関性が認められた ($r=0.750$, $p<0.001$)。また、ZNS の L/D 平均値は 2.11 ± 0.98 (mean \pm SD) であり、CV 値は 46.4% と患者間での個体差が大きいことがわかった。

ZNS 服用患者を年齢ごとに、0~9 (n=26)、10~19 (n=13)、および 20 歳以上 (n=39) の 3 群に分け、L/D 値と加齢の関係を Fig. 5 に示した。この結果、各 L/D 平均値は、それぞれ 1.49 ± 0.45 , 1.89 ± 0.54 , および 2.59 ± 1.12 (mean \pm SD) であり、加齢に伴い有意に上昇することがわかった。

考 察

ZNS および HP の過去半年間の院外での薬物濃度測定実施状況を、TDM の必要性の高いフェニトイン (PHT) と比較した。対象科は神経科精神

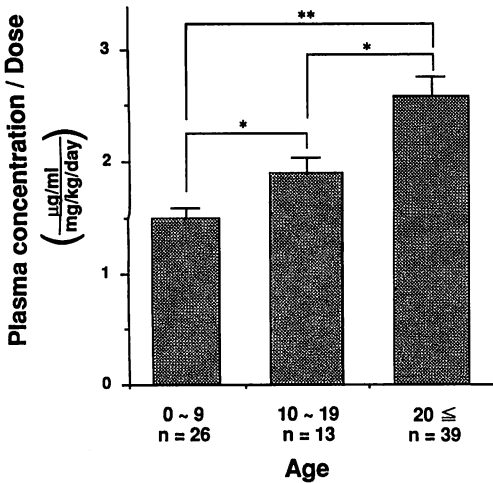


Fig. 5. Relationship between the ZNS Plasma Concentration-to-dose Ratio and Age
Each data point represents the mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

科, 脳神経外科および小児科とした. 対象患者数および測定実施率は, PHTでは197名, 70%, ZNSでは83名, 80%であり, ZNSの対象患者数はPHTの1/2以下と少ないものの, 測定実施率は上回っていた. すなわち, ZNSはPHTと同様にTDMの必要性の高いことがわかった. 一方, HPは神経科精神科でのみ用いられており, 測定実施率は10%と低かった. しかし, 対象患者数は535名と, PHTやZNSの2.5~6.5倍と多く, 迅速な測定が可能となれば, HPのTDMの普及や効果的な薬物療法の実践の一助となると考えられた.

本研究で導入した新しいELISAシステムでは, ZNSおよびHPの血漿中濃度測定の同時再現性および日差再現性でのCV値が, それぞれ6.5および8.4%以下であり (Table 1), この方法は日常TDMを実施する上で信頼性に問題ないものと考えられた. また, 院外の方法で測定された血漿中ZNSおよびHP濃度の測定値と本ELISAシステムによる測定値との間に良好な相関関係が認められた (Fig. 1, 2). また, 本システムによる検体数96件の測定所要時間は約110分であった. そのうち実際に定量の準備に要した操作は, 検体

および標準溶液のウエルへの分注と試薬のセットのみで, 所要時間は約20分と全自動装置の利点と有用性が確認できた.

HPの連続服用患者において, 定常状態時の血漿中濃度と投与量との関係は, 相関する⁶⁾あるいは相関しない⁷⁾との報告があり, 一定した見解が得られていない. 著者らの結果では相関性が認められたものの患者間個体差が大きかった (Fig. 3). しかし, HPのL/D値は, 0.0545であり報告値0.065⁶⁾とほぼ同等の結果が得られた.

一方, ZNSの薬物動態は非線形性を示すとの報告^{2,8)}が数多くなされているが, 著者らの結果からは, 相関性は認められたものの患者間個体差が大きく, 投与量と血漿中濃度との関係から投与量依存性は明らかにできなかった (Fig. 4). しかし, ZNSの薬物動態の変動要因として加齢が挙げられており, 小児におけるZNSのtotal clearanceは成人に比較して大きいことが報告されている⁹⁾. このことは, 加齢によりL/D値が上昇したことと一致している (Fig. 5).

HPおよびZNSの有効血漿中濃度は8~18 ng/ml¹⁾および10~30 µg/ml³⁾と報告されているが, 今回得られた血漿中濃度は, いずれの場合も1.9~66.0 ng/mlおよび2~35.2 µg/mlと, それらより広い濃度範囲にあった. このことよりZNS, HPについてもTDMを充実させ, 投与量や血漿中濃度と臨床効果の関係を明確にする必要性が示唆された. また, 今回はHPあるいはZNS服用患者の併用薬の影響について考慮しなかったが, 今後の検討課題である.

謝辞 本研究にあたり, 御協力いただいた大日本製薬株式会社に深謝いたします.

引用文献

- 1) A. J. Wilensky, P. N. Friel and L. M. Ojje-mann, *Epilepsia*, **26**, 212-220 (1985).
- 2) J. G. Wagner, J. C. Sackellares and P. D. Donofrio, *Ther. Drug. Monit.*, **6**, 277-283

- (1984).
- 3) 山口成良, 木戸日出喜, 日本医事新報, **3648**, 10-13 (1990).
 - 4) P. L. Morselli, G. Bianchetti and G. Durand, *Ther. Drug Monit.*, **1**, 35-46 (1979).
 - 5) 野口秀人, 富田直美, 吉田耕治, 前田忠男, 荒河敏, 百々秀夫, 成戸俊介, 薬理と治療, **16**, 4805-4811 (1988).
 - 6) P. L. Morelli, E. Zarifian, H. Cuhe, "Adv. Biochem. Psychopharmacol.", 24 Raven Press, New York, 1980, pp.529-536.
 - 7) 八木剛平, 立山万里, 藤井康男, 精神医学, **22**, 1149-1157 (1980).
 - 8) J. C. Sackellares and P. D. Wagner, *Epilepsia*, **26**, 206-2110 (1985).
 - 9) 西口工司, 大西憲明, 岩川精吾, TDM 研究, **7**, 173-178 (1990).