

要代謝経路において、活性代謝物であるデスメチルクロバザム (desmethylclobazam、以下 DCLB) に脱メチル化され、DCLB は主に CYP2C19 により水酸化を受け不活性化される。DCLB の血中濃度は CYP2C19 の遺伝子多型により影響を受けることが知られているが<sup>4)</sup>、CYP2C19 阻害薬併用時の検討に関する報告はまだない。

STP 併用による DCLB 濃度の変動と CYP2C19 の遺伝子多型の関連について 4 症例における検討を行ったので報告する。

## 方 法

CLB 服用中に STP を追加投与した SMEI 患者において、CYP2C19 の活性の高いホモ型 homozygous extensive metabolizer (hmEM)、活性が中間であるヘテロ型 heterozygous extensive metabolizer (htEM)、活性が欠損している型 poor metabolizer (PM) に基づいて、STP 併用および非併用時における DCLB の血中濃度投与量比 (level-to-dose-ratio、以下 LDR) を調査した。STP 併用および非併用時において DCLB の血中濃度測定がおこなわれていた症例は、hmEM (CYP2C19\*1/\*1: 2 症例)、htEM (CYP2C19\*1/\*2: 1 症例)、PM (CYP2C19\*2/\*2: 1 症例) であり、それぞれの症例において検討を行った。LDR は CLB の投与量から計算した。血中濃度は、定常状態に達する期間を考慮して、STP、CLB の投与量を変更してから 1 カ月以上経過した後に測定した値を採用した。採血時間は一定ではなかったが DCLB は半減期が長いことから採血時間の違いによる血中濃度の変動はほとんどないと考えられる。

なお、STP は SMEI の治療のため倫理委員会の承認を経て compassionate use として患者・家族の同意のもとに使用した。1 剤以上の抗てんかん薬を服用している患児に 1 日量として 50 mg/kg (体重 20 kg 以上の場合は 1,000 mg) を追加投与し、4 週間の固定期 (使用前の 4 週間の状態と比較) ののち、必要に応じて最高 100 mg/kg (体重 20 kg 以上の場合は 4,000 mg) まで増量した。CYP2C19 の遺伝子多型測定は、院内倫理委員会の承認を経て、説明同意を得た上で行った。いずれも厚生労働省の臨床研究倫理指針に従った。

## 結 果

○CYP2C19 遺伝子型: hmEM (CYP2C19\*1/\*1) (Fig. 1)

### 症例 1

5 歳、男児。6 カ月に一側ないし両側の間代・強直間代発作で発症。週単位で反復した。1 歳よりミオクロニー発作も出現。諸種薬物に難治に経過。STP により重積が減少し、持続もやや短くなった。5 歳時の DQ は 57。

STP 未投与時の CLB 投与量 20 mg/day における DCLB の LDR は 558 (ng/ml)/(mg/kg) であった。STP 投与量 1,000 mg/day、CLB 投与量 5 mg/day における LDR は 6,203 (ng/ml)/(mg/kg) であり、STP 非併用時に比べ LDR は 11 倍に増加した。STP 開始後、失調歩行、多動が出現した。CLB の減量を行い、これらは消失した。

### 症例 2

3 歳、女児。5 カ月より一側ないし両側の間代・強直間代発作が発症。月単位で反復した。重積になることもあった。諸種薬物に難治に経過。STP により発作は半減ないし持続が短縮し、発達にも改善がみられた。ナトリウムチャンネル SCN1A に変異あり。DQ は 70。

STP 未投与時の CLB 投与量 2 mg/day における DCLB の LDR は 2,423 (ng/ml)/(mg/kg) であった。STP 投与量 750 mg/day、CLB 投与量 2 mg/day における LDR は 4,356 (ng/ml)/(mg/kg) であり、STP 非併用時に比べ LDR は 1.8 倍に増加した。STP 開始後食欲不振、眠気が出現したが薬剤を減量することなく、数カ月以内に改善した。

○CYP2C19 遺伝子型: htEM (CYP2C19\*1/\*2) (Fig. 2)

### 症例 3

3 歳、男児。2 カ月より、一側性ないし両側性の間代、強直間代発作が週単位で反復した。6 カ月よりミオクロニー発作、2 歳より部分発作も出現。諸種薬物に難治であったが、STP により発作が若干減少し、表情・行動が改善している。SCN1A に変異あり。DQ は 37。

STP 未投与時の CLB 投与量 3 mg/day における DCLB の LDR は 861 (ng/ml)/(mg/kg) であっ

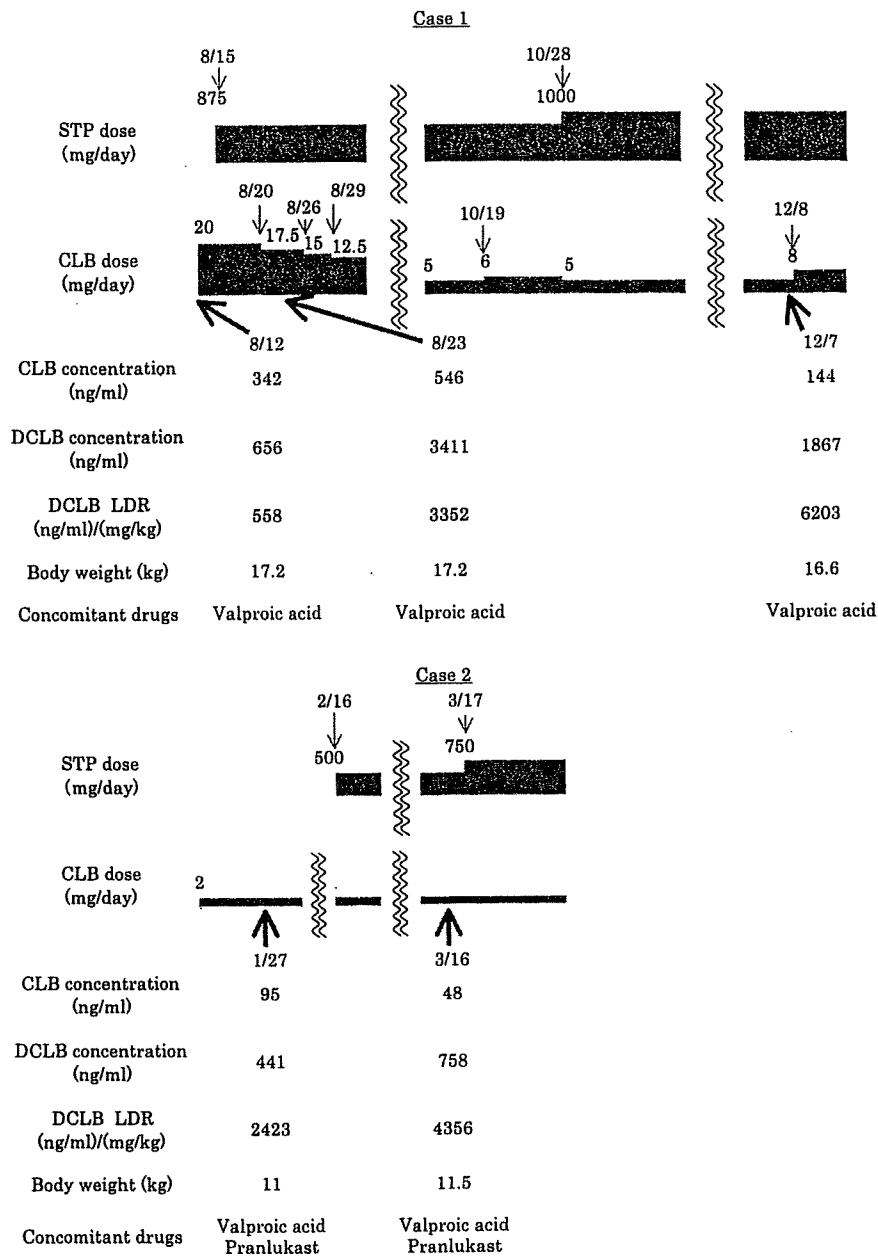


Fig. 1 LDR of DCLB and other profiles in the two CYP2C19 hmEM patients  
LDR, level-dose-ration = (ng/ml)/(mg/kg); DCLB, desmethylclobazam; STP, sti-ripentol; CLB, clobazam; hmEM, homo extensive metabolizer; htEM, hetero exten- sive metabolizer; PM, poor metabolizer

た。STP 投与量 750 mg/day、CLB 投与量 3 mg/day における LDR は 4,170 (ng/ml)/(mg/kg) であり、STP 非併用時に比べ LDR は 4.8 倍に増加した。STP 開始後から 750 mg/day まで増量する間に副作用はみられなかった。

○CYP2C19 遺 伝 子 型 : PM (CYP2C19\*2/\*2) (Fig. 3)

症例 4

4 歳 女 児。7 カ 月 より 強 直 間 代 発 作 が 発 症。9

カ 月 より ミ オ ク ロ ニ ー 発 作 も 出 現。強 直 間 代 発 作 は 週 単 位、ミ オ ク ロ ニ ー 発 作 は 日 単 位 で 反 復 した。諸 種 薬 物 に 難 治 で あり、STP 80 mg/kg まで 使 用 した が、強 直 間 代 発 作 は 若 干 減 少 した も の の、ミ オ ク ロ ニ ー 発 作 の 増 加 が み ら れ た た め、中 止 した。IQ は 54。

STP 投 与 量 700 mg/day にお け る DCLB の LDR は 9,114 (ng/ml)/(mg/kg) で あ っ た。STP 投 与 中 止 後 の CLB 投 与 量 6 mg/day にお け る

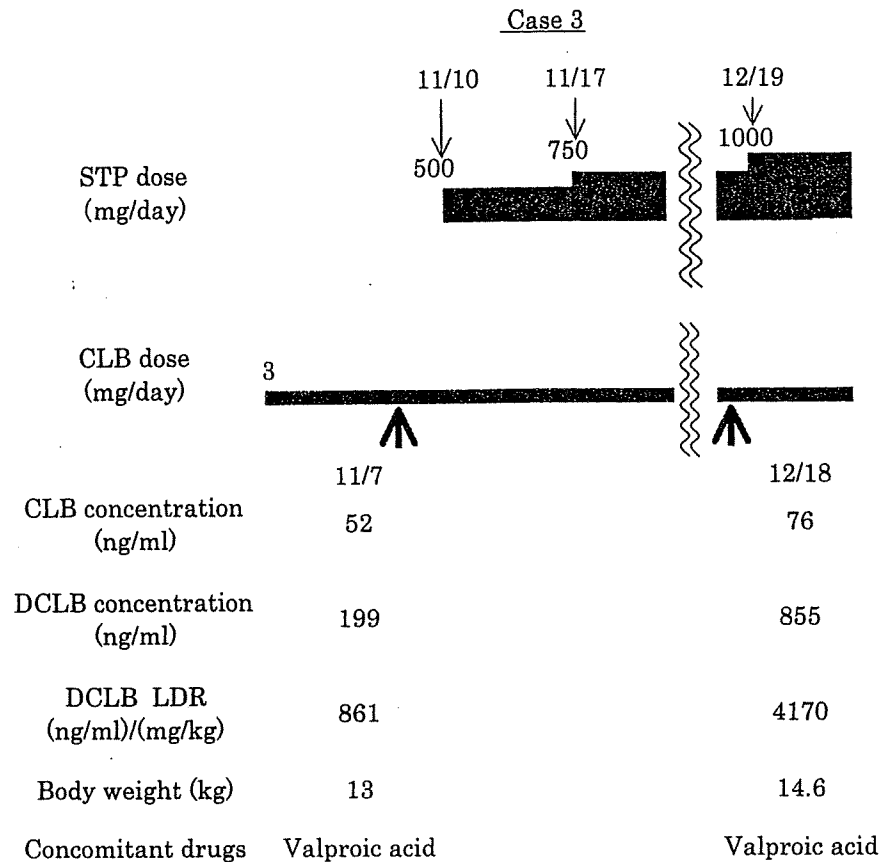


Fig. 2 LDR of DCLB and other profiles in the CYP2C19 htEM patient  
 LDR, level-dose-ratio = (ng/ml)/(mg/kg); DCLB, desmethylclobazam; STP; stiripentol; CLB, clobazam; hmEM, homo extensive metabolizer; htEM, hetero extensive metabolizer; PM, poor metabolizer

LDR は 14,973 (ng/ml)/(mg/kg) であり、STP 併用時には非併用時に比べて LDR が 0.6 倍に減少した。STP 導入前の DCLB 濃度測定が行われておらず、STP 投与中と STP 投与中止後において LDR の比較を行った。STP 開始から数カ月間は副作用の出現がなかった。

上記 4 症例のいずれも AST、ALT などの肝酵素は正常で、薬物代謝に影響を与えるような、肝機能異常は存在しなかった。

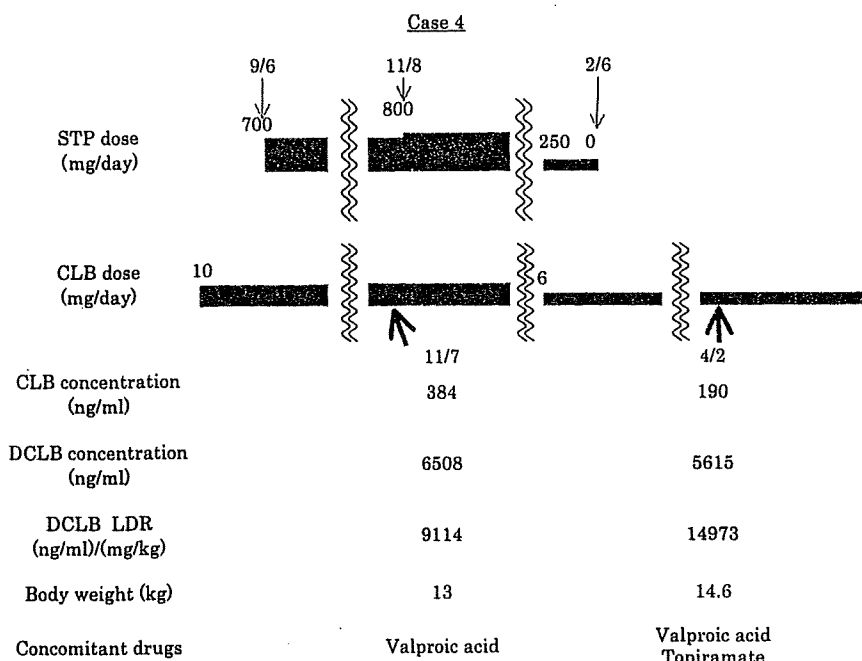
### 考 察

hmEM と htEM では、STP 併用により、DCLB の LDR が大きく上昇した。この現象は STP による CYP2C19 の阻害作用と考えられ、これまでの報告と一致した<sup>2)</sup>。反対に PM の LDR は減少しており、STP の阻害効果はみられなかった。

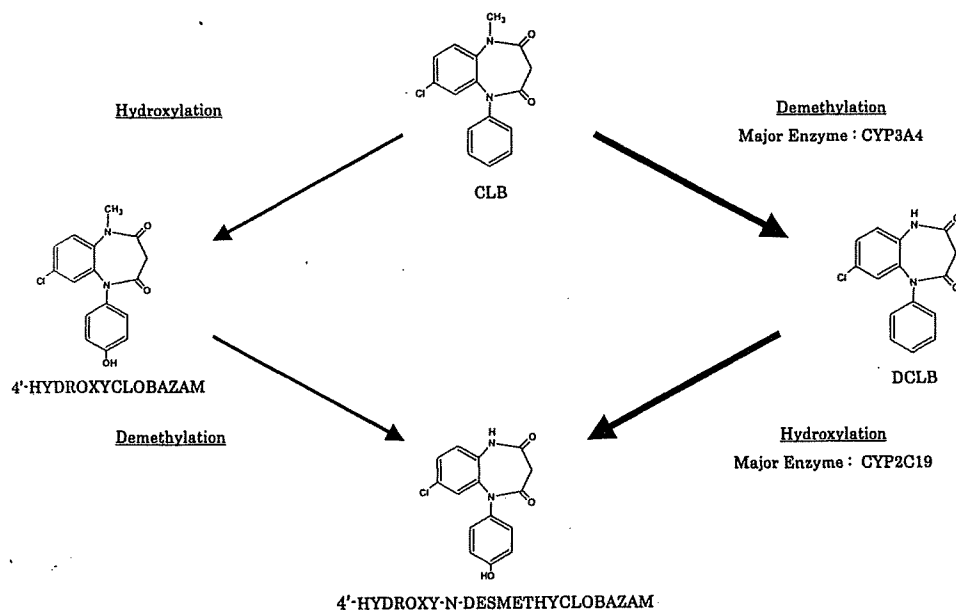
CLB の代謝には、脱メチル化による経路 (主要代謝経路) と水酸化による経路の 2 つが存在する

(Fig. 4)。脱メチル化の代謝酵素は CYP3A4、CYP2C19 で、CYP3A4 が主要代謝酵素である。一方、水酸化の代謝酵素は CYP2C19、CYP2C18 で、CYP2C19 が主要代謝酵素である。変異を 2 個有する PM においては CYP2C19 が不活性化されているため、STP による DCLB の代謝阻害が起こらないと考えられる。STP による CYP3A4 の阻害により、CLB の脱メチル化が阻害され DCLB の生成が減少し、CYP2C18 による水酸化経路の割合が増加した可能性が考えられ、このことが PM において DCLB の LDR 減少が起こった要因の 1 つとして推測される。今後の症例を増やして検討する必要がある。

症例 1、2、3 において発作の減少が見られたのに対し、症例 4 はミオクロニー発作の増加による投与中止に至っている。症例 4 において DCLB の LDR 低下がミオクロニー発作の増加の原因となった可能性も考えられる。また、DCLB の LDR



**Fig. 3** LDR of DCLB and other profiles in the CYP2C19 PM patient  
 LDR, level-dose-ratio = (ng/ml)/(mg/kg); DCLB, desmethylclobazam; STP, sti-  
 ripentol; CLB, clobazam; hmEM, homo extensive metabolizer; htEM, hetero exten-  
 sive metabolizer; PM, poor metabolizer



**Fig. 4** Enzyme pathways in the metabolism of CLB  
 CLB, clobazam; DCLB, desmethylclobazam; CYP, cytochrome P450

が 11 倍と大きく増加した症例 1 においては、STP 開始後から失調歩行、多動が出現し、CLB の減量が必要となっている。CLB 服用時の STP 追加において、PM の場合は DCLB 濃度の低下による発作症状の悪化の可能性を、hmEM と htEM の場合

は、DCLB 濃度上昇による副作用発現の可能性を考慮に入れる必要があると考えられる。

CYP2C19 は DCLB の他に、抗てんかん薬としてフェニトイン、フェノバルビタール、ジアゼパムなどの代謝に関わっており<sup>56)</sup>、また、オメプラゾール

ル、ランソプラゾールなどのプロトンポンプ阻害薬やイミプラミン、セルトラリンなどの抗うつ薬の代謝にも関わっていることが明らかになっている<sup>6)</sup>。日本人における CYP2C19PM の割合は約 20% と頻度が高く<sup>7)</sup>、STP 投与による相互作用が臨床に及ぼす影響を予測する上で、CYP2C19 の遺伝子多型測定は有用と考えられる。

本論文の要旨は第 18 回日本医療薬学会年会 (2008 年 9 月、札幌) において発表した。本研究の一部は、平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金 (医療技術実用化総合研究事業) により行われた。

#### 文 献

- 1) Chiron C. *Stiripentol*. *Neurotherapeutics* 2007; 4: 123-125.
- 2) Giraud C, Tréluyer JM, Rey E, Chiron C, Vincent J,

- Pons G, et al. In vitro and in vivo inhibitory effect of stiripentol on clobazam metabolism. *Drug Metab Dispos* 2006; 34: 608-611.
- 3) Trojnar MK, Wojtal K, Trojnar MP, Czuczwar SJ. *Stiripentol*. A novel antiepileptic drug 2005; 57: 154-160.
- 4) Giraud C, Tran A, Rey E, Vincent J, Tréluyer JM, Pons G. In vitro characterization of clobazam metabolism by recombinant cytochrome P450 enzymes: importance of CYP2C19. *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 1279-1286.
- 5) Löscher W, Klotz U, Zimprich F, Schmidt D. The clinical impact of pharmacogenetics on the treatment of epilepsy. *Epilepsia* 2009; 50: 1-23.
- 6) Gardiner SJ, Begg EJ. Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 521-590.
- 7) Kimura M, Ieiri I, Mamiya K, Urae A, Higuchi S. Genetic polymorphism of cytochrome P450s, CYP2C19, and CYP2C9 in a Japanese population. *Ther Drug Monit* 1998; 20: 243-247.

## Summary

### Stiripentol Changes Serum Concentration of Desmethylclobazam —Four Cases with CYP2C19 Polymorphism—

Yoshinori Noguchi<sup>1)</sup>, Nobuyuki Mishima<sup>1)</sup>, Yukitoshi Takahashi<sup>1)</sup>, Yushi Inoue<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Clinical Research Department, National Epilepsy Center,  
Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders

Stiripentol (STP; unapproved in Japan), a drug for severe myoclonic epilepsy in infancy (SMEI), is a strong inhibitor of cytochrome P450 (CYP) 2C19. We compared the level-to-dose-ratio (LDR) of desmethylclobazam (DCLB) derived from clobazam concomitantly used with STP to that without STP in two cases of homozygous extensive metabolizer (hmEM), one case of heterozygous EM (htEM) and one case of poor metabolizer (PM). In two hmEM cases, the LDR was 11 times and 1.7 times higher when combined with STP than without, respectively. In a htEM case, the LDR was 4.8 times higher with STP. In a PM case, the LDR with STP decreased to 60% compared with that without STP; the inhibitory effect was not observed. Because CYP2C19 is involved in the metabolism of several drugs including antiepileptic drugs and also because the ratio of PM in Japanese is as high as 20%, it is recommended to determine CYP2C19 polymorphism beforehand in order to predict possible interactions when using STP.

**J. Jpn. Epil. Soc. 2009; 27: 39-44**

(received: March 9, 2009, 1st revised: April 22, 2009, 2nd revised: May 7, 2009, accepted: May 7, 2009)

## 抗 NMDA 受容体複合体抗体と 抗グルタミン酸受容体 $\epsilon 2$ 抗体

高橋 幸利\*\*1\*2 高山 留美子\*1 向田 壮一\*1  
池上 真理子\*1 池田 浩子\*1 今井 克美\*1  
久保田 裕子\*1

### 要 旨

NMDA 受容体に対する抗体には、複数のサブユニットからなる NMDA 受容体複合体を抗原として検出するものと、個々のサブユニットを抗原として検出するものがある。前者には [GluR $\zeta$ 1 (NR1) + GluR $\epsilon$ 2 (NR2B)] を発現させた HEK 細胞を抗原とする抗体が、後者には GluR $\epsilon$ 2 全長分子を抗原とする抗体などがある。卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎の 2/3 は、GluR $\epsilon$ 2 の N 末端を認識する抗体を有している。

### グルタミン酸受容体の分類

グルタミン酸受容体 (GluR) は、神経伝達物質であるグルタミン酸の受容体で、イオンチャネル型と代謝型が存在する<sup>1)2)</sup>。イオンチャネル型 GluR は、薬理的に NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型と非 NMDA 型 (AMPA 型, カイニン酸型 = KA 型) に分類される。イオンチャネル型 GluR には 18 種類のサブユニットがあり、分子多様性が存在する (表 1)。マウスの遺伝子解析からの命名とラットの遺伝子解析からの命名があり、

ヒト、マウス、ラットの遺伝子はかなり相同性がある。GluR の生理的機能は多岐にわたり<sup>1)</sup>、さらに中枢神経系疾患の病態にも GluR は深く関与している<sup>3)</sup>。

### NMDA 受容体の構造

NMDA 受容体は、必須となる GluR $\zeta$ 1 (NR1) と、GluR $\epsilon$ 1~4 (NR2A~2D) あるいは GluR $\gamma$ 1~2 (NR3A~3B) といったサブユニットが 4 つ会合した 4 量体 (複合体) 構造をとり (図 1 A)、イオンチャネルとして機能しているが、種々のサブユニットの会合パターンがあるとされている (図 1 B)。個々のサブユニットは、細胞外にある N 末端から 4 つの膜貫通部位を経て、細胞質側に C 末端が存在する共通構造をとっている (図 1 C)。

\*1 国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター

\*\*1 同 臨床研究部長

\*2 岐阜大学医学部 小児病態学

キーワード: NMDA 受容体, GluR $\epsilon$ 2 (NR2B),  
GluR $\zeta$ 1 (NR1), 辺縁系脳炎,  
卵巣奇形腫

表 1 イオンチャンネル型グルタミン酸受容体 (GluR) の多様性と NMDA 型 GluR の機能

サブファミリー	サブユニット		シナプス可塑性* <sup>1</sup>	記憶学習* <sup>2</sup>	神経パターン形成* <sup>3</sup>	自発運動* <sup>4</sup>	発現部位
	マウス	ラット					
AMPA 型 GluR $\alpha$	$\alpha 1 \sim \alpha 4$	GluR1~ GluR4					
カイニン酸型 GluR $\beta$	$\beta 1 \sim \beta 3$	GluR5~ GluR7					
GluR $\gamma$	$\gamma 1, \gamma 2$	KA1, KA2					
NMDA 型 GluR $\epsilon$	$\epsilon 1$	NMDAR2A	○	○			びまん性
	$\epsilon 2$	NMDAR2B	○		○		前脳
	$\epsilon 3$	NMDAR2C					小脳顆粒細胞
	$\epsilon 4$	NMDAR2D				○	視床, 脳幹
GluR $\zeta$	$\zeta 1$	NMDAR1					びまん性
GluR $\chi$	$\chi 1$	NMDAR3A					
	$\chi 2$	NMDAR3B					
GluR $\delta$	$\delta 1$	$\delta 1$					内耳有毛細胞
	$\delta 2$	$\delta 2$					小脳プルキンエ細胞

\*<sup>1</sup> LTP, \*<sup>2</sup> Morris water maze, \*<sup>3</sup> brainstem trigeminal complex, \*<sup>4</sup> open field test

略語：巻末の「今月の略語」参照

#### NMDA 受容体に対する抗体の分類

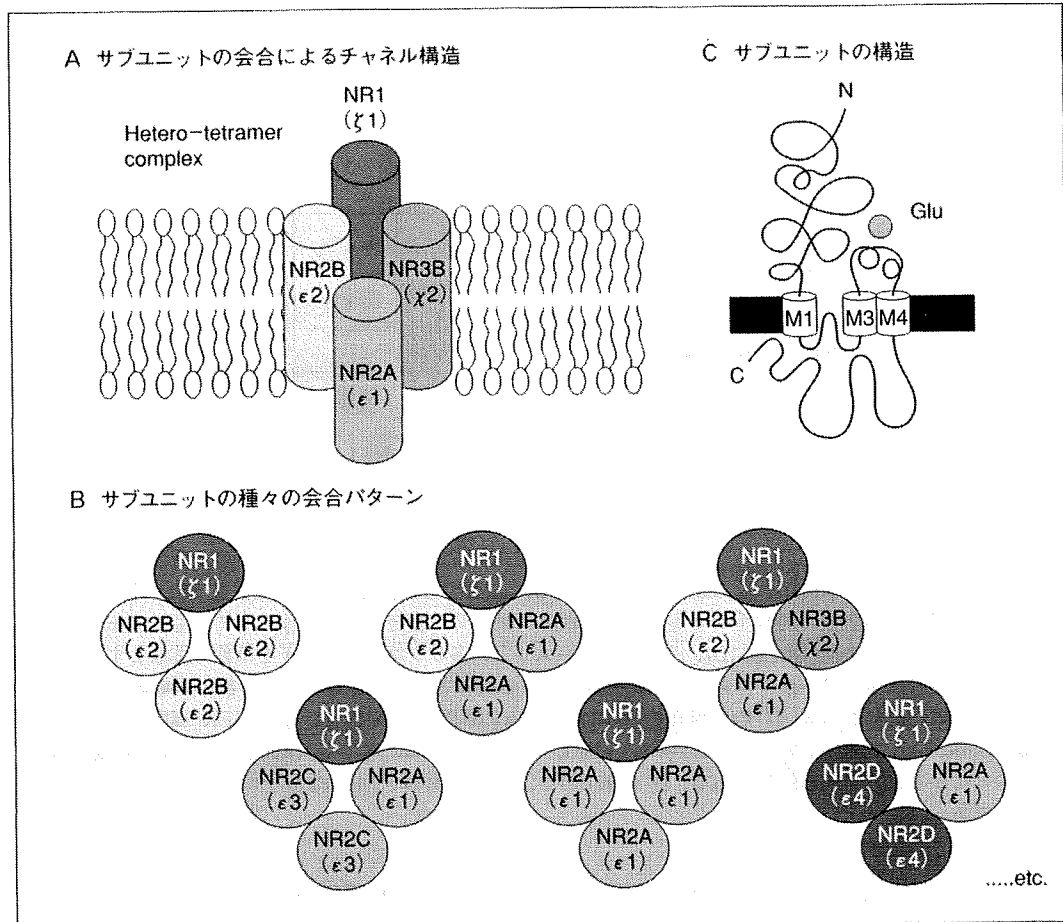
NMDA 受容体が 4 つのサブユニットからなる多様性を有する複合体構造のため、NMDA 受容体に対する抗体という場合、エピトープの異なる多種の抗体が含まれる。抗体検出に用いる抗原から分類すると、2 種以上のサブユニットからなる NMDA 受容体複合体を抗原として検出する抗体 (A)、NMDA 受容体複合体を構成する個々のサブユニットを抗原として検出する抗体 (B) に大別される (図 2)。A は Dalmau らの NMDA 受容体複合体を認識する抗体で<sup>9)</sup>、日本では「抗

NMDA 受容体抗体」と呼ばれてきたが、複合体ではなく NMDA 受容体サブユニットを認識する抗体 (B) も NMDA 受容体を認識する抗体であり、GluR $\epsilon 2$  (NR2B) 全長タンパク質を抗原とする抗 GluR $\epsilon 2$  抗体も広義の抗 NMDA 受容体抗体であるべきで、A・B 併せて「広義の抗 NMDA 受容体抗体」と呼び、Dalmau の抗体は抗 NMDA 受容体複合体抗体 (狭義の抗 NMDA 受容体抗体) と呼ぶことにする。

#### 抗 NMDA 受容体複合体抗体

2007 年、卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁

図1 NMDA 型 GluR の構造



A : NMDA 型 GluR (NMDAR, NR) は、必須サブユニットである GluR $\zeta$ 1 (NR1) と、GluRe1~4 (NR2A~2D) あるいは GluR $\chi$ 1~2 (NR3A~B) といった可変サブユニットが4つ会合した4量体構造をとっている。  
 B : 4量体構造には、必須サブユニットと可変サブユニットの種々の会合パターンがあるとされている。  
 C : NMDA 受容体のサブユニット構造は、細胞外にあるN末端から4つの膜貫通部位を経て、細胞内側にC末端が存在する共通構造をとっている。

略語：巻末の「今月の略語」参照

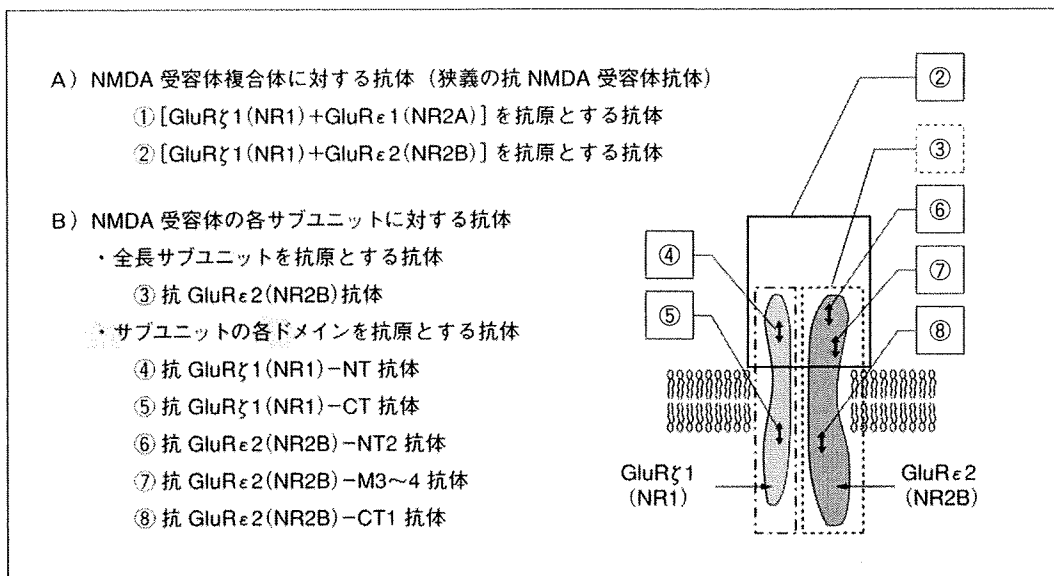
系脳炎 (nonherpetic acute limbic encephalitis with ovarian teratoma : NHALE-OT) 症例 12 例の血清・髄液中に、HEK 細胞に発現させた [NR1+NR2B (NR2A)] の NMDA 受容体複合体とは反応するが、NR1 あるいは NR2B (NR2A) 単独分子とは反応しない抗体が存在することが報告され、antibodies to NR2B- and NR2A-containing heteromers of the NMDAR と記載された<sup>4)</sup>。この抗

NMDA 受容体複合体抗体は、autoimmune NMDAR-related encephalitis の原因とされ、狭義で「抗 NMDA 受容体抗体」と呼ばれてきた。抗 NMDA 受容体複合体抗体検出抗原としては、[GluR $\zeta$ 1 (NR1)+GluRe1 (NR2A)] と、[GluR $\zeta$ 1 (NR1)+GluRe2 (NR2B)] を発現させた HEK 細胞が報告されている (図2の①, ②)。

Dalmau は、この方法によって検出される



図 2 NMDA 型 GluR に対する抗体の分類とその抗原認識部位



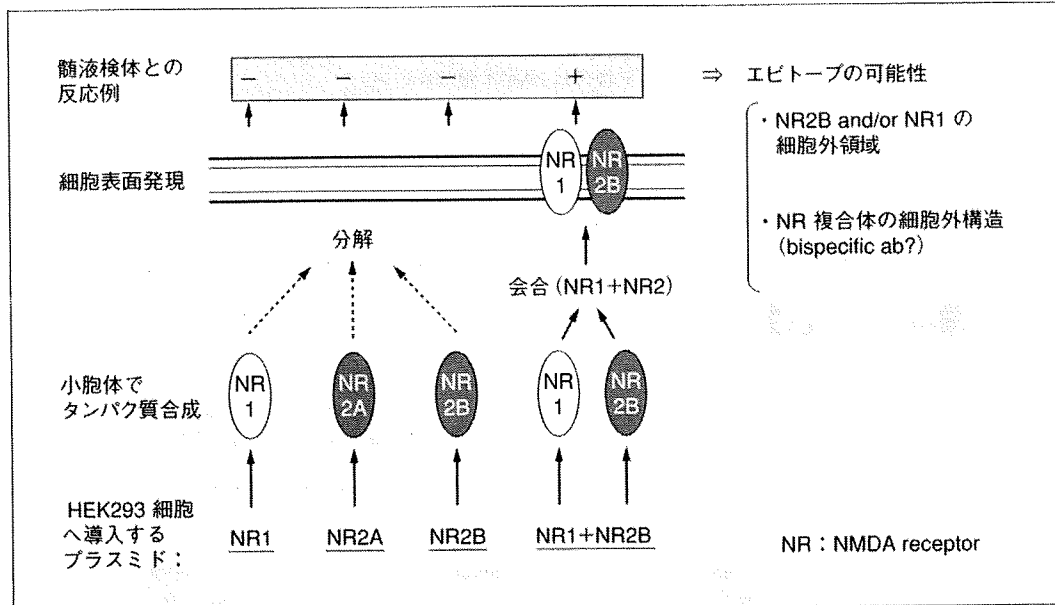
現在測定されている NMDA 型 GluR (NMDAR, NR) に対する抗体と、その抗原認識部位を示す。2 種類のサブユニットを細胞表面に発現させて実際の神経細胞表面と同じ複合体構造を作らせて抗原とする抗 NMDA 受容体複合体抗体 (狭義の抗 NMDA 受容体抗体) (A) と、各サブユニット分子を単独で抗原とする抗体 (B) がある。後者はさらに、サブユニット全長を抗原とする抗体と、サブユニットの一部の領域のペプチドを抗原として用いた抗体がある。②の [GluR $\zeta$ 1(NR1)+GluR $\epsilon$ 2(NR2B)] を発現させた HEK 細胞を抗原とする抗体は、GluR $\zeta$ 1 and/or GluR $\epsilon$ 2 の細胞外領域を抗原とする抗体である。③の抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体は、GluR $\epsilon$ 2 全長分子内のどこかを抗原とする抗体である。⑥の抗 GluR $\epsilon$ 2-NT2 抗体は、GluR $\epsilon$ 2 分子の細胞外 N 末端を抗原とする抗体である。

抗体は GluR $\zeta$ 1 や GluR $\epsilon$ 1 または GluR $\epsilon$ 2 の単独分子とは反応せず、複合体の細胞外立体構造を認識している特殊な bispecific antibody のような抗体を考えていたようであるが、GluR $\epsilon$ 1 または GluR $\epsilon$ 2 の単独分子は HEK 細胞表面に発現できないので<sup>5)</sup>、単独分子発現 HEK 細胞で陰性であっても、その分子をエピトープとしないとは言えない。例えば、GluR $\zeta$ 1 を発現させた HEK 細胞、GluR $\epsilon$ 2 を発現させた HEK 細胞とは反応しないが、[GluR $\zeta$ 1+GluR $\epsilon$ 2] を発現させた HEK 細胞と反応する抗体であれば、GluR $\zeta$ 1 サブユニットあるいは GluR $\epsilon$ 2 サブユニットの細胞外領域を、またはその両方のサブユニットの細胞外領域、または 2 つのサブユニットの複合体構造をエピトープとしている可能性があ

る (図 3)<sup>6)</sup>。よって我々は、抗 NMDA 受容体複合体抗体が複合体の細胞外立体構造を認識する bispecific antibody のような特殊な抗体ではなく、構成するサブユニットの細胞外領域をエピトープとするものであると推定している。このようなことから、複合体で検出する抗 NMDA 受容体複合体抗体も、サブユニット抗体である可能性が示唆される。

複合体を用いた抗体スクリーニングは、2 種類のサブユニットの細胞外領域をエピトープとする抗体を同時に検出できる利点、細胞外領域に対する抗体のみ検出できる利点があるが、エピトープがどちらのサブユニットなのか決められない欠点を有する。

図3 抗 NMDA 受容体複合体抗体の解釈の注意点



Dalmau らの方法によって HEK 細胞に遺伝子導入し、NMDA 受容体の各サブユニットを発現させる場合、GluR $\zeta$ 1 (NR1), GluRe1~4 (NR2A~2D) などの単独サブユニットの遺伝子を導入しても、細胞表面には発現できず細胞内で分解されてしまう。GluR $\zeta$ 1 と GluRe1~4 の遺伝子を同時に導入するとサブユニットが会合し、NMDA 受容体複合体として細胞表面に発現する。例えば髄液などが、図3上段に示すように GluR $\zeta$ 1 を発現させた HEK 細胞、GluRe2 (NR2B) を発現させた HEK 細胞とは免疫細胞化学で反応しないが、[GluR $\zeta$ 1+GluRe2] を発現させた HEK 細胞と反応する抗体であれば、GluR $\zeta$ 1 サブユニットあるいは GluRe2 サブユニットの細胞外領域を、またはその両方のサブユニットの細胞外領域を、または [GluR $\zeta$ 1~GluRe2] の複合体構造をエピトープとしている可能性がある。

#### 抗 NMDA 受容体サブユニット抗体

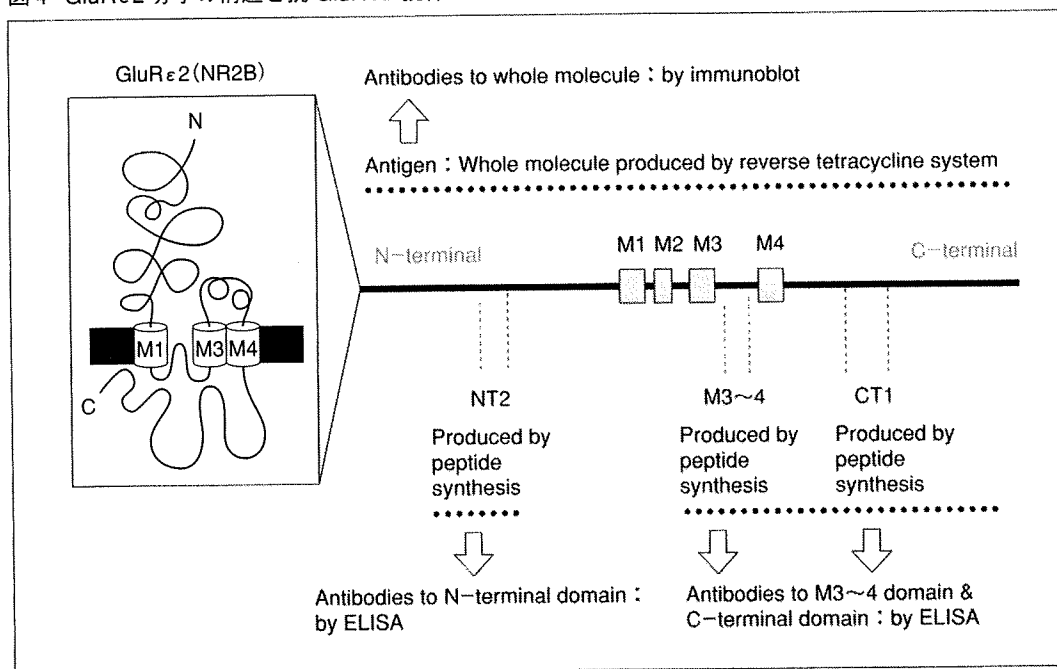
NMDA 受容体のサブユニットを抗原とする抗体には、NMDA 受容体のサブユニットの全長タンパク質を抗原とする抗体（図2の③）と、NMDA 受容体のサブユニットの一部の領域を抗原とする抗体がある（図2の④~⑧）。

NMDA 受容体のサブユニットの全長タンパク質を抗原とする抗体である抗 GluRe2 抗体は我々が開発した方法で、NIH3T3 細胞中に遺伝子組み換えにて発現させた GluRe2 の全長タンパク質を抗原として行っている（図4）<sup>7-9)</sup>。抗原を含む NIH3T3 細胞ホモジネートをポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE) し、

ニトロセルロース膜に転写した。次にニトロセルロース膜を髄液などの検体と反応させた後、二次抗体を用いて抗体の有無を判定する（イムノプロット法）。この方法は1つのサブユニットの幅広い部分に対する抗体を一度に検出できる利点があるが、感度が低く、測定に時間がかかる欠点がある。

NMDA 受容体のサブユニットの一部の領域を抗原とする抗体は、我々は合成ペプチドを用いて ELISA 法で測定している<sup>9)10)</sup>。この方法は、領域ごとの抗体を測れ、半定量化でき、測定に約 24 時間しかかからない点が優れる<sup>9)</sup>。

図 4 GluRε2 分子の構造と抗 GluRε2 抗体



GluRε2 (NR2B) 分子全長を抗原としてイムノブロットで検出している抗 GluRε2 抗体は、いろいろな GluRε2 分子領域をエピトープとする幅広い抗体を検出できるメリットがある。そのため、抗 GluRε2-NT2 抗体 (N 末端をエピトープとする抗体)、抗 GluRε2-M3~4 抗体 (M3~M4 間をエピトープとする抗体)、抗 GluRε2-CT1 抗体 (C 末端をエピトープとする抗体) すべて検出できる。

略語：巻末の「今月の略語」参照

卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎 (NHAE-OT) の抗 NMDA 受容体抗体

我々は、19 例の NHAE-OT の急性期髄液について、NMDA 受容体に関する抗体を検討した。抗 GluRε2 抗体 (図 2 の ③) は 40.0% の症例で陽性、抗 GluRε2-NT2 抗体 (図 2 の ⑥) は 69.2% の症例で陽性、抗 NMDA 受容体複合体抗体 (図 2 の ②) は 90.9% の症例で陽性であった (Dalmau らによる測定)<sup>9)10)</sup>。したがって、NHAE-OT 症例の少なくとも 2/3 は GluRε2 の N 末端を認識する抗体を有しており、抗 NMDA 受容体複合体抗体の多くが GluRε2 の N 末端をエピトープとしていると推測される。抗 NMDA 受容体複合体抗体の陽性率が約 90% と高

いのは、GluRε2 の細胞外領域のみならず、GluRε1 の細胞外領域に対する抗体も検出できるためかもしれない (図 2)。NHAE-OT では、GluRε2 のみならず GluRε1 の細胞外領域をエピトープとする抗体など、複数の抗 NMDA 受容体抗体が存在する可能性がある。

2008 年の 9th International Congress of Neuroimmunology (Fort Worth) での Dalmau 教授の発表では、NHAE-OT の症例において GluRε1 の細胞外領域 (N 末端) をエピトープとする抗体の重要性が報告され、NMDA 受容体複合体に対する抗体というより、GluRε1 サブユニットに対する抗体が重要であるという仮説にシフトしてきている。

## 文 献

- 1) 森 寿: グルタミン酸受容体チャンネルの構造と機能. 生化学 77: 619-629, 2005.
- 2) Groc L, et al: NMDA receptor surface mobility depends on NR2A-2B subunits. Proc Natl Acad Sci USA 103: 18769-18774, 2006.
- 3) 高橋幸利, 他: 小児疾患診療のための病態生理. 30. てんかん. 小児内科増刊号. (印刷中)
- 4) Dalmau J, et al: Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. Ann Neurol 61: 25-36, 2007.
- 5) Wenthold R J, et al: Trafficking of NMDA receptors. Annu Rev Pharmacol Toxicol 43: 335-358, 2003.
- 6) Takahashi Y: Epitope of autoantibodies to NMDA-receptor in paraneoplastic limbic encephalitis. Ann Neurol 64: 110-111, 2008.
- 7) Takahashi Y, et al: Autoantibodies to NMDA receptor in patients with chronic forms of epilepsy partialis continua. Neurology 61: 891-896, 2003.
- 8) 高橋幸利, 他: 3. 抗 GluR 抗体と脳炎. 神経内科 69: 350-358, 2008.
- 9) 高橋幸利, 他: 特集Ⅱ/抗 NMDA 受容体抗体と脳炎. 5. グルタミン酸受容体抗体. 神経内科 70: 87-96, 2009.
- 10) 高橋幸利, 他: 急性辺縁系脳炎・脳症と NMDA 型グルタミン酸受容体. 臨神経 48: 926-929, 2008.

---

Antibodies to NMDA-Type Glutamate Receptor Complex and GluR $\epsilon$ 2

Yukitoshi Takahashi<sup>1,2</sup>, Rumiko Takayama<sup>1</sup>, Souiti Mukaida<sup>1</sup>,  
 Mariko Ikegami<sup>1</sup>, Hiroko Ikeda<sup>1</sup>,  
 Katsumi Imai<sup>1</sup>, Yuko Kubota<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders

<sup>2</sup> Department of Pediatrics, Gifu University School of Medicine

## バルプロ酸服用中のてんかん患者における 高アンモニア血症発生リスクに関する症例対照研究<sup>1</sup>

山本吉章<sup>\*2,3</sup>, 三島信行<sup>2</sup>, 松田一己<sup>3</sup>, 高橋幸利<sup>3</sup>

国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター薬剤科<sup>2</sup>

国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター臨床研究部<sup>3</sup>

### Risk Factors for Hyperammonemia due to Valproic Acid in Patients with Epilepsy: A Case-control Study<sup>1</sup>

Yoshiaki Yamamoto<sup>\*2,3</sup>, Nobuyuki Mishima<sup>2</sup>, Kazumi Matuda<sup>3</sup> and Yukitoshi Tahakashi<sup>3</sup>

*Department of Pharmacy, National Epilepsy Center,*

*Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders<sup>2</sup>*

*Department of Clinical Research, National Epilepsy Center,*

*Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders<sup>3</sup>*

{ Received December 24, 2008 }  
{ Accepted April 21, 2009 }

Hyperammonemia is an adverse effect of valproic acid, though it is rarely associated with fatal encephalopathy or disturbance of consciousness. The purpose of this study was to investigate the clinical risk factors for hyperammonemia in patients with epilepsy undergoing valproic acid therapy.

To do this, we conducted a survey retrospectively from January 2006 to June 2008. We also performed a case-control study in which blood ammonia levels and other data were measured in inpatients and outpatients, defining hyperammonemia as a blood ammonia level exceeding 200  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . There were 90 cases and 450 controls.

Multiple logistic regression analysis was also performed to investigate the risk factors for hyperammonemia, using the cases as a criterion variable. The explanatory variables were factors that showed significance ( $P < 0.05$ ) in univariate analysis.

According to multiple regression analysis, risk factors for hyperammonemia were phenytoin coadministration (odds ratio (OR), 5.89; 95% confidence interval (CI), 3.41 to 10.2;  $p < 0.001$ ), phenobarbital coadministration (OR, 2.30; 95% CI, 1.28 to 4.11;  $p = 0.005$ ), and dose of valproic acid (per  $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ , OR, 1.05; 95% CI, 1.02 to 1.07;  $p < 0.001$ ). However, slow-release valproic acid formulations reduced the risk of hyperammonemia (OR, 0.51; 95% CI, 0.30 to 0.85;  $p = 0.010$ ).

In conclusion, identification of risk factors for hyperammonemia due to valproic acid in epileptic patients can help minimize adverse effects.

**Key words** — hyperammonemia, valproic acid, logistic regression analysis, case-control study

### 緒 言

バルプロ酸(以下, VPA と略す)はてんかんに対する作用として, 欠伸発作や強直・間代発作および部分発作に用いられ, 種々の発作型に第一選択薬として用いられる薬物である。一方, VPA の副作用の一つとして高アンモニア血症が知られており, ときに重篤な意識障害やアンモニア脳症を引き起こす場合があり<sup>1)</sup>, その副作用のモニタリングは重要である。

古くより VPA 服用患者はアンモニア値が高いことが知られている。また, VPA 服用中の高アンモニア血症の危険因子についても比較的早期より指摘されており, 重症心身障害児(者)<sup>2)</sup>, フェニトイン(以下, PHT と略す), フェノバルビタール(以下, PB と略す)など抗てんかん薬の多剤併用<sup>3,4)</sup>, 栄養状態<sup>5)</sup>, 全身性エリテマトーデス<sup>6)</sup>および先天性代謝異常<sup>7)</sup>などのさまざまな報告がある。しかしながら, これら大部分は症例報告または群間比較検討で VPA 服用下における高アンモニア血症発生の危険因子を薬剤疫学的に研究したものはない。また, これ

<sup>1</sup> 本論文の一部は, 第 14 回日本臨床薬理学会(2008, 東京)において発表した。

\* 静岡市葵区漆山 886; 886, Ushiyama, Aoi-ku, Shizuoka-shi, Shizuoka, 420-8688 Japan

までにVPA投与量および血中濃度と血中アンモニア値の関連について数多くの研究が行われてきたが、これら大半の対象患者は50例に満たず、報告により結果が異なっている<sup>9)</sup>。

わが国の抗てんかん薬の開発状況は諸外国に比べ遅れをとっていたが、2006年にガバペンチン(以下、GBPと略す)、2007年にトピラマート(以下、TPMと略す)と新規抗てんかん薬が次々と登場し、てんかんの薬物治療法も変わりつつある。海外報告によるとVPAとTPMの併用はアンモニア値を上昇させるとしている<sup>10)</sup>。また、VPAは躁うつ病の治療に使用されるようになり長期服用患者の発症例<sup>11)</sup>、リスペリドンなど新規抗精神病薬との併用による高アンモニア血症の報告もなされている<sup>12)</sup>。よってVPAによる高アンモニア血症の危険因子に関しては十分な症例数を準備し、最新の治療を含めた検討が必要である。

そこでわれわれは国立病院機構静岡てんかん・神経医療センターでVPAを服用しているてんかん患者を対象とし、高アンモニア血症の危険因子について後方視的に検討したのでここに報告する。

## 方 法

### 1. 対象患者

2006年1月から2008年6月までに国立病院機構静岡てんかん・神経医療センターを受診したVPA服用中のてんかん患者を対象とした。なお、カルテ調査によりコンプライアンス不良と認められた患者は対象から除外した。本研究は疫学研究に関する倫理指針および当センターの研究指針に従い行った。なお、本研究を行うにあ

たっては国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター臨床研究部に研究計画書を提出し、施設長の承認を得た上で行った。また、患者のプライバシー保護についても十分配慮して、患者氏名など個人情報についても特定できない条件下で行った。

### 2. 研究デザインと症例の抽出

高アンモニア血症発生のリスクを高める要因と減少させる要因について検討する症例対照研究とした。調査期間中、血中アンモニア値の測定が行われたVPA服用中のてんかん患者2681例に対し、アンモニア値が $200\mu\text{g/dL}$ 以上を一度でも認めた90例を高アンモニア血症と定義しケース群とした。ケース1例に対し診療区分(入院または外来)およびアンモニア測定日( $\pm 20$ 日)をマッチングさせたコントロール5例を無作為に抽出した(Fig. 1)。

### 3. 調査方法

対象患者の年齢、性別、体重、VPA一日投与量、血中濃度、剤形、併用抗てんかん薬、ならびに臨床検査値をカルテより調査した。なお、静岡てんかん・神経医療センターの血中濃度測定は通常、投与後2時間で採血を行っている。

### 4. 統計解析

ケース群とコントロール群の各因子について単変量解析で比較した。名義変数の比較は $\chi^2$ 検定またはフィッシャーの直接確率計算法、連続変数の表記は平均 $\pm$ 標準偏差を示し、Kolmogorov-Smirnov検定でデータの正規性を調査した後、Mann-WhitneyのU検定または対応

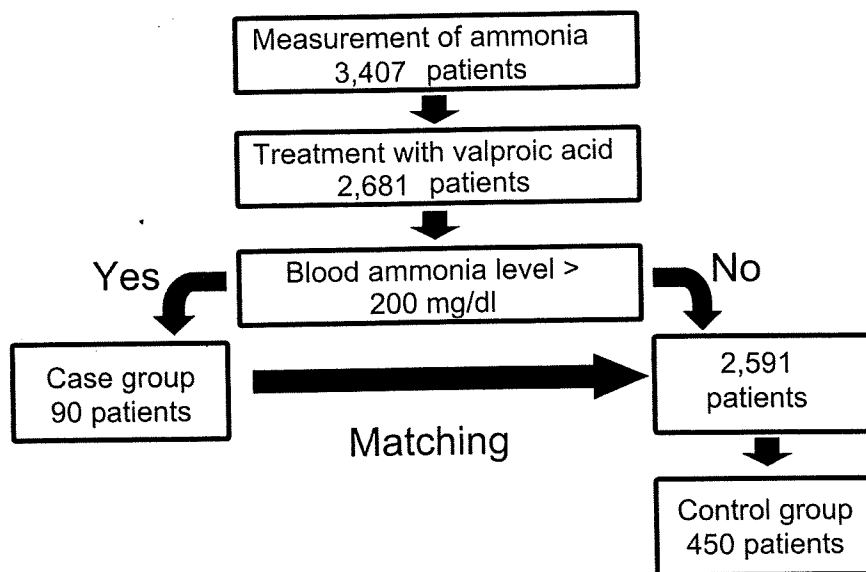


Fig. 1. Study design

のないt検定を用い影響因子の抽出を行った。TPM併用の有無に関しては単変量ロジスティック解析を行い、粗オッズ比を算出した。なお、アンモニア値とVPA投与量および血中濃度の関連についてはSpearmanの順位相関係数を用いた。

多変量解析は高アンモニア血症の発生を目的変数としたロジスティック解析を用い、説明変数は年齢に加え、単変量解析でP値が0.05未満の因子を採用した。統計解析はSPSS 16.0 J for Windowsを用い、 $P < 0.05$ を有意と判定した。

## 結 果

### 1. 血中アンモニア値が200 $\mu\text{g/dL}$ 以上を示した症例

調査期間中、血中アンモニア値の測定は2681例のVPA服用患者に対し11095件行われた。うち、アンモニア値が200  $\mu\text{g/dL}$ 以上を示した患者は90例でその平均値は $242.1 \pm 61.6 \mu\text{g/dL}$ 、最高値は557  $\mu\text{g/dL}$ であった。これらの患者のうち56例は吐き気や食欲不振および失調などの自覚症状を呈し、65例はVPAの減量やカルニチンの投与などの処置が施された。

### 2. 単変量解析による高アンモニア血症に関与する危険因子の検討

ケース群、コントロール群において年齢、性別などの患者背景と臨床検査値の比較をTable 1に示す。年齢、

性別、総タンパク、肝機能(AST, ALT)について有意差はみられなかった。小児患者を各年齢層で名義変数に変更し検定したところ、3歳未満の患者はケース群11例(12.2%)に対しコントロール群32例(7.3%)と有意差は認められないものの、その割合は高かった。

次に体重あたりVPA投与量、血中濃度および剤形の比較についてTable 2に示す。コントロール群に比べケース群は体重あたりVPA投与量、血中濃度の平均値が明らかに高く、有意差が認められた。ケース群はコントロール群と比較すると錠剤および液剤服用患者の割合が高く、逆に徐放錠の服用割合が低かった。徐放錠と徐放性顆粒を徐放製剤と定義し、服用患者の割合を調査したところ、ケース群33例(36.7%)に対し、コントロール群259例(57.6%)と有意差が認められた( $p < 0.001$ )。

Table 3は併用抗てんかん薬の比較を示している。ケース群はPHT併用患者の割合が57例(63.3%)と高率であるのに対し、コントロール群は105例(23.3%)と有意差が認められた。PB、クロバザム(以下、CLBと略す)についても同様な現象が認められ、抗てんかん薬の多剤併用療法は高アンモニア血症の発生リスクを増加させると考えられた。なお、TPM併用に関して粗オッズ比は3.95 [95%信頼区間, 1.34-11.67;  $p = 0.013$ ]と有意差が認められたが、症例数がケース群6例、コントロール群8例と少なく、多変量解析の説明変数に組み込むのを断念した。

Table 1. Comparison of the clinical profile of the case and control groups

	Case	Control	p value
	N=90	N=450	
	Mean $\pm$ SD or number of patients	Mean $\pm$ SD or number of patients	
Ammonia level ( $\mu\text{g/dl}$ )	242.1 $\pm$ 61.6	75.0 $\pm$ 34.0	
Sex Male / Female	50 / 40	234 / 216	0.537
Age	23.6 $\pm$ 15.8	23.2 $\pm$ 16.0	0.716
< 3	11	32	0.102
< 6	14	71	0.958
< 15	32	148	0.624
Total protein (mg/dl)	7.1 $\pm$ 0.5	7.1 $\pm$ 0.7	0.907
AST (IU/L)	27.4 $\pm$ 17.6	25.3 $\pm$ 15.9	0.256
ALT (IU/L)	24.4 $\pm$ 18.0	21.5 $\pm$ 17.2	0.142
Hepatocellular injury*	8	32	0.557

\*Serum aspartate aminotransferase (AST) > 50 U/L or alanine aminotransferase (ALT) > 50 U/L.

Nominal variables were compared by using the  $\chi^2$  test or Fisher's exact test when some of the data sets were less than 5. Quantitative variables were analyzed by using the Kolmogorov-Smirnov test to evaluate normality. Then student's t-test was applied for normally distributed variables, while the Mann-Whitney U test was applied for other variables.

**Table 2.** Comparison of VPA preparations and dosage between the case and control groups

	Case group	Control group	p value
	N=90	N=450	
	Mean±SD or number of patients	Mean±SD or number of patients	
<b>Valproic acid</b>			
Dose(mg/kg/day)	23.4 ± 9.8	17.8 ± 9.6	<0.001
Level(μg/ml)	73.5 ± 24.4	63.3 ± 28.6	<0.001
<b>Formulations</b>			
Tablets	32	111	0.135
Slow-release tablets	27	201	0.009
Fine granules	11	41	0.143
Slow-release granules	6	58	0.129
Oral solution	14	39	0.019
Slow-release preparations	33	259	<0.001

**Table 3.** Comparison of coadministered anti-epilepsy drugs between the case and control groups

	Case	Control	p value
	N=90	N=450	
	Number of patients	Number of patients	
<b>Coadministered AEDs</b>			
Phenytoin	57	105	<0.001
Phenobarbital	29	69	<0.001
Carbamazepine	23	99	0.462
Zonisamide	12	76	0.404
Clobazam	21	66	0.041
Gabapentin	4	10	0.267
Topiramate	6	8	0.008

AEDs: anti-epilepsy drugs

### 3. VPA 剤形別にみた VPA 投与量と血中アンモニア値の関連

**Table 4** は VPA の剤形別にみた VPA 投与量と血中アンモニアの平均値を示している。徐放錠は通常錠に比べ VPA 投与量が有意に少なく( $p=0.006$ )、アンモニア値が低かった( $p=0.010$ )。一方、徐放性顆粒は細粒および液剤と比較して VPA 投与量に差がないものの、アンモニア値は有意に低かった( $p=0.008$ ,  $p=0.024$ )。

### 4. 多変量解析による高アンモニア血症に關与する危険因子の検討

単変量解析の結果から P 値が 0.05 未満であった因子として PHT, PB, CLB の併用, VPA 投与量および徐放性製剤の服用を説明変数にしたロジスティック解析の結果を **Table 5** に示す。VPA の投与量と血中濃度については正の相関( $r=0.611$ ,  $p<0.001$ )が認められたため、VPA 血中濃度は説明変数として同時に使用しなかった。高アンモニア血症発生の危険因子は PHT の併用 [調整オッズ



**Table 4.** Comparison of VPA dosage and ammonia level by the VPA formulations

Formulations	VPA Dose (mg/kg/day)	Ammonia Level ( $\mu\text{g/ml}$ )
Tablets <sup>1)</sup>	17.9 $\pm$ 9.1 <sup>*</sup>	112.5 $\pm$ 90.3 <sup>**</sup>
Slow-release tablets	15.1 $\pm$ 7.5	89.7 $\pm$ 66.8
Fine granules <sup>2)</sup>	23.5 $\pm$ 10.1	124.8 $\pm$ 68.1 <sup>*</sup>
Slow-release granules	24.6 $\pm$ 11.9	93.8 $\pm$ 54.9
Oral solution <sup>2)</sup>	24.9 $\pm$ 10.0	120.9 $\pm$ 70.5 <sup>**</sup>
Slow-release preparations	17.2 $\pm$ 9.5	90.6 $\pm$ 64.3

<sup>1)</sup>Versus Slow-release tablets \*p<0.01, \*\*p<0.05<sup>2)</sup>Versus Slow-release granule \*p<0.01, \*\*p<0.05**Table 5.** Multiple logistic regression analysis of risk factors for hyperammonemia

	Regression Coefficient	Adjusted OR	95%CI	p value
Age(per year)	-0.01	0.99	0.97 - 1.01	0.281
Váiproic acid (per mg/kg/day)	0.05	1.05	1.02 - 1.07	<0.001
Slow-release preparations	-0.68	0.51	0.30 - 0.85	0.010
Phenytoin coadministration	1.77	5.89	3.41 - 10.2	<0.001
Phenobarbital coadministration	0.83	2.30	1.28 - 4.11	0.005
Clobazam coadministration	0.58	1.79	0.96 - 3.31	0.071

OR, odds ratio; CI, confidence interval.

ズ比(以下, OR と略す)5.89; 95% 信頼区間(以下, 95% CI と略す)3.41-10.2;  $p<0.001$ ], PB の併用 [OR 2.30; 95% CI 1.28-4.11;  $p=0.005$ ] および VPA 投与量(mg/kg/日)[OR 1.05; 95% CI 1.02-1.07;  $p<0.001$ ] であった。一方, VPA 徐放性製剤の服用の OR は 0.51 [95% CI 0.30-0.85;  $p=0.010$ ] と示され高アンモニア血症の発生リスクを低下させた。

## 考 察

国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター(以下, 当センターと略す)で VPA を服用し, 血中アンモニアを測定したてんかん患者 2681 例中, その測定値が 200  $\mu\text{g/dL}$  以上を示した症例をケース群と定義して症例対照研究を行った。当センターの血中アンモニアの正常値は 12~76  $\mu\text{g/dL}$  であるが, 正常範囲を超えても臨床的

になら症状を呈しない場合もある。Murphy ら<sup>13)</sup>によるとアンモニア値が 180  $\mu\text{g/dL}$  くらいまでは自覚症状がないとしている。一方, Colter ら<sup>14)</sup>によると VPA 服用中に意識障害を呈した小児患者のアンモニア値は平均 196  $\mu\text{g/dL}$  であったと報告している。よってアンモニア値が 200  $\mu\text{g/dL}$  以上を示した患者をケース群と定義し, 診療区分およびアンモニア測定日をマッチングさせたコントロール群を無作為に抽出した<sup>14)</sup>。なお, 調査期間中に新規抗てんかん薬(GBP, TPM)が登場し, 抗てんかん薬の選択肢が時期により異なるおそれがあるため, アンモニア測定日でマッチングを行った。母集団から抽出されたコントロール群のばらつきを少なくするため, ケース 1 例に対しコントロール 5 例としたところ母集団とコントロール群の平均アンモニア値±標準偏差はそれぞれ 76.6 $\pm$ 38.7, 75.0 $\pm$ 34.0  $\mu\text{g/dL}$  であった。

Zaccara ら<sup>14)</sup>によると PB, PHT 服用患者に VPA を投与

すると抗てんかん薬非併用患者に比べ著明なアンモニア値の上昇を示したと報告している。また、Haidukewychら<sup>24)</sup>によるとVPA単剤治療患者に比べPHTおよびPB併用患者のアンモニア値は高値であり、抗てんかん薬の血中濃度とアンモニア値間には正の相関がみられたとしている。本研究結果によると高アンモニア血症の発生はPHTの併用により5.9倍、PBの併用2.3倍高まることが示された(Table 5)。VPAにPHT、PBを併用した場合の高アンモニア血症の発生機序に関してはカルニチン濃度の低下に伴うミトコンドリアの障害<sup>25)</sup>、VPAの代謝亢進(4-en-VPAの増加)に伴う尿素回路中のカルバモイルリン酸合成酵素Iの阻害やグルタミン酸合成酵素の阻害<sup>26)</sup>などが考えられている。

一般的にPHT、PBおよびカルバマゼピン(以下、CBZと略す)は薬物代謝酵素を誘導し、VPAの血中濃度を低下させることが知られている。これらの薬剤を併用することによりVPAの濃度が低下し、投与量が増量され、結果的にVPAの代謝物である4-en-VPA濃度が増大する可能性が考えられる。PHT併用・非併用患者のVPA投与量はそれぞれ $19.8 \pm 9.6$ 、 $18.3 \pm 9.9$  mg/kg/日と酵素誘導剤の影響でVPA投与量は増加したが有意差はみられなかった( $p=0.098$ )。PBに関してもそれぞれ $19.3 \pm 9.3$ 、 $18.6 \pm 9.9$  mg/kg/日と有意差は認められなかった( $p=0.292$ )。PHTおよびPBの併用は多変量解析において独立した危険因子と示された。これらの抗てんかん薬はさまざまなメカニズムにより高アンモニア血症を発生させたと考えられ、併用療法を行う際はアンモニア値の上昇に注意する必要があると考えられる。

TPM服用患者はケース群90例中6例に対しコントロール群450例中8例と有意差が認められた。TPMは炭酸脱水素酵素とグルタミン酸合成阻害作用をもちアンモニア濃度を高めると報告されている<sup>27)</sup>。本研究においてVPAとTPM併用による高アンモニア血症の発生の粗オッズ比は $3.95$  [95% CI, 1.34-11.67;  $p=0.013$ ]と算出された。TPMは2007年10月に販売された抗てんかん薬であり、米国の添付文書にはVPA併用による高アンモニア血症発生の記載がなされているが<sup>28)</sup>、日本の添付文書は記載がない<sup>29)</sup>。今回の検討では十分な症例数を集めることができず、多変量解析に組み込めなかった。しかしながら、PHTおよびPBと同様に重要な影響因子と考えられ、今後症例を増やして検討する必要がある。また、臨床の場合においても両剤の併用によるアンモニア値の上昇に注意すべきである。緒言で述べたようにGBP、TPMに続いて2008年12月よりラモトリギンが使用可能となる。抗てんかん薬の選択肢が変化することが高アンモニア血症の発生リスクに影響をおよぼす可能性もあり、今後さらなる検討が必要であると考えられる。

VPA投与量が1 mg/kg増加することによる高アンモニア血症発症のオッズ比は1.05倍と示され、VPA投与量とアンモニア値は正の相関を示した( $r=0.341$ ,  $p <$

$0.001$ )。一方、VPA血中濃度とアンモニア値も投与量と比較するとその関連性は低いものの、正の相関を示した( $r=0.244$ ,  $p < 0.001$ )。これまでにVPA投与量や血中濃度とアンモニア値の関連について数多くの研究がなされてきたが、相関を示せたのは2報<sup>3,15)</sup>のみである<sup>30)</sup>。VPAの投与量が増大すれば代謝物である4-en-VPA濃度も増加し、アンモニア値が上昇すると推察される。相関性と量-反応関係を考慮し<sup>31)</sup>、VPA血中濃度より投与量のほうが高アンモニア血症発生に対する寄与率が大きいと考え、説明変数に採用した。

高アンモニア血症発症の時期は症例によって異なり一定の傾向を得ていない<sup>32)</sup>。しかしながら、Warterら<sup>21)</sup>はVPA服用前と服用4日後の血中アンモニア値を比較したところ、その値は有意に上昇したとしている。追跡できる範囲でVPAの服用期間を調査したところ、VPA服用期間が3カ月未満の患者はケース群7例、コントロール群9例と有意差が認められた( $p=0.031$ )。しかしながら、全症例の30%以上に欠損値を生じているため、因果関係を明らかにするには致らなかった。

VPAのクリアランスは小児で高く、成長・発育に伴い低下することが知られている。また、小児患者の場合、PB併用で10%、CBZ併用で15~50%クリアランスが上昇することが報告されている<sup>33)</sup>。単変量解析において年齢は高アンモニア血症の発生リスクに影響をおよぼす因子でなかったが、VPA投与量、併用抗てんかん薬に影響を与える因子であるため、ロジスティック解析に組み入れて調整オッズ比を算出した。

本研究でVPA徐放性製剤服用による高アンモニア血症発症のオッズ比0.51倍と示され、徐放性製剤の使用は高アンモニア血症の発生リスクを約1/2に低下させることが示唆された。

徐放性製剤および通常製剤服用患者のうちPHTを併用していたのはそれぞれ84名(28.8%)、78名(31.5%)で有意差は認められなかった( $p=0.511$ )。一方、PB併用例は徐放性製剤46名(15.8%)に対し、通常製剤52名(21.0%)で、有意差はみられなかった( $p=0.117$ )。剤形別にみると徐放錠は通常錠に比べVPA投与量が少なく、アンモニア値が低かった(Table 4)。Wassefら<sup>34)</sup>によると徐放錠は通常錠に比べ投与量を14~20%減量でき、副作用の発生率を低下させると報告している。今回の検討においても同様の現象がみられ、この投与量の相違がアンモニア値に影響を与えていると考えられた。一方、徐放性顆粒は細粒および液剤とVPA投与量に差がないが、アンモニア値が低かった。

浜田ら<sup>35)</sup>は小児てんかん患者に対しVPA速放製剤から徐放性顆粒へ切り替えたところ、血中アンモニア値が低下したと報告しており、本結果と一致した。したがって、小児てんかん患者の場合、VPA投与量が同じであっても剤形により異なったアンモニア値を示す可能性が示唆された。Zaccaraら<sup>36)</sup>はVPA未服用のてんかん患者に

VPAの負荷投与を行い1時間ごとにアンモニア値とVPA血中濃度を測定したところ経時的に上昇したと報告している。徐放性製剤服用患者の服薬回数は $2.0 \pm 0.33$ 回に対し、錠剤、細粒および液剤服用患者は $2.21 \pm 0.38$ 回であった( $p < 0.001$ )。服用回数が多く血中濃度の変動が大きい通常製剤に比べ、濃度の変動が緩徐である徐放性製剤はアンモニア値が上昇しにくいいため、高アンモニア血症の発生リスクを低下させたのではないかと考える。なお、本研究におけるVPAの血中濃度測定のおよそ半分は服用2時間値である。一般的にVPAは剤形の違いにより、最高血中濃度到達時間は大きく異なるため、ピークおよびトラフ値と血中アンモニア値と関連性については今後の検討課題と考える。

本研究の限界として施設バイアスがあげられる<sup>25)</sup>。当センターはてんかん専門病院という特色からセカンドオピニオンにて難治性のてんかん患者が集まる傾向にある。その反面、従来の報告と比べ症例数も多くそれぞれの危険因子について十分な検出力が得られている。一般的に抗てんかん薬による薬物治療は患者個々に決定されるため、主治医の裁量に委ねられやすい。しかし、540名の対象患者は37名のてんかん専門医の診察を受けていた点と、当センターは市販されているすべての抗てんかん薬が処方可能である観点から処方バイアスが問題とならない。今後、てんかん患者の観察集団をより適正化するためには他施設共同研究が必須であると考えられる。

アンモニア値が $200 \mu\text{g}/\text{dL}$ 以上を示した症例を高アンモニア血症と定義して症例対照研究を行った。VPA投与量に依存してアンモニア値は上昇すると考えられ、副作用発生に注意する必要がある。また、VPAに加えPHT、PBを併用する患者は高アンモニア血症をきたしやすいため、定期的な測定を行い副作用のモニタリングを行う必要がある。一方、高アンモニア血症を回避する上でVPA徐放性製剤の使用が有用である可能性が示唆された。

## 引用文献

- 1) S.W. Brusilow, Hyperammonemic encephalopathy, *Medicine (Baltimore)*, **81**, 240-249 (2002).
- 2) 郷間英世, 西村理, 青木修一郎, 光藤伸人, 松下弘二, 小児の神経疾患抗痙攣剤服用の重症心身障害児にみられた高アンモニア血症, *小児科診療*, **54**, 341-347 (1991).
- 3) D. Haidukewych, G. John, Chronic valproic acid and coantiepileptic drug therapy and incidence of increases in serum liver enzymes, *Ther. Drug Monit.*, **8**, 407-410 (1986).
- 4) G. Zaccara, R. Camprostrini, M. Paganini, F. Moroni, T. Valenza, G. Targioni, G. Arnetoli, R. Zappoli, A. Baruzzi, Acute changes of blood ammonia may predict short-term adverse effects of valproic acid, *Neurology*, **34**, 1519-1521 (1984).
- 5) 松井潔, 岩本弘子, 大槻規行, 小林拓也, 三宅捷太, 山田美智子, 重症心身障害児(者)におけるバルプロ酸投与の問題点高アンモニア血症と低カルニチン血症について, *脳と発達*, **23**, 32-38 (1991).
- 6) H. Ichikawa, T. Amano, K. Kawabata, M. Kushiro, J. Wada, Y. Nagake, H. Makino, Fatal hyperammonemia in a patient with systemic lupus erythematosus, *Intern. Med.*, **37**, 700-703 (1998).
- 7) 三宅進, 井本耕二, 三宅陽子, 村尾正治, 高橋龍太郎, 小林圭子, 佐伯武頼, バルプロ酸で治療中高アンモニア血症を呈したアルギニノコハク酸尿症の1例, *小児科臨床*, **51**, 454-458 (1998).
- 8) A.V. Chicharro, A.J. de Marinis, A.M. Kanner, The measurement of ammonia blood levels in patients taking valproic acid: looking for problems where they do not exist? *Epilepsy Behav.*, **11**, 361-366 (2007).
- 9) H.M. Hamer, S. Knake, U. Schomburg, F. Rosenow, Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy in the presence of topiramate, *Neurology*, **54**, 230-232 (2000).
- 10) R.J. Kimmel, S.A. Irwin, J.M. Meyer, Valproic acid-associated hyperammonemic encephalopathy: a case report from the psychiatric setting, *Int. Clin. Psychopharmacol.*, **20**, 57-58 (2005).
- 11) T. Carlson, C.A. Reynolds, R. Caplan, Case report: valproic Acid and risperidone treatment leading to development of hyperammonemia and mania, *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*, **46**, 356-361 (2007).
- 12) J.V. Murphy, K. Marquardt, Asymptomatic hyperammonemia in patients receiving valproic acid, *Arch. Neurol.*, **39**, 591-592 (1982).
- 13) D.L. Coulter, R.J. Allen, Hyperammonemia with valproic acid therapy, *J. Pediatr.*, **99**, 317-319 (1981).
- 14) J.B. Cologne, Y. Shibata, Optimal case-control matching in practice, *Epidemiology*, **6**, 271-275 (1995).
- 15) A. Verrotti, R. Greco, G. Morgese, F. Chiarelli, Carnitine deficiency and hyperammonemia in children receiving valproic acid with and without other anticonvulsant drugs, *Int. J. Clin. Lab. Res.*, **29**, 36-40 (1999).
- 16) N. Segura-Bruna, A. Rodriguez-Campello, V. Puente, J. Roquer, Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy, *Acta Neurol. Scand.*, **114**, 1-7 (2006).
- 17) TOPAMAX<sup>®</sup>添付文書 Ortho-Mcneil-Janssen-Pharmaceuticals, Inc. Revised April 2008.
- 18) トピナ<sup>®</sup>錠添付文書, 協和発酵キリン株式会社 2007年9月改訂.
- 19) S. B. Hulley, “医学的研究のデザイナー—研究の質を高める疫学的アプローチ”, 木原雅子, 木原正博(翻訳), *メディカル・サイエンス・インターナショナル*, 2007, pp 136-137.
- 20) R. B. Carr, K. Shrewsbury, Hyperammonemia due to valproic acid in the psychiatric setting, *Am. J. Psychiatry.*, **164**, 1020-1027 (2007).
- 21) J. M. Warter, C. Brandt, C. Marescaux, L. Rumbach, G. Micheletti, G. Chabrier, J. Krieger, M. Imler, The renal origin of sodium valproate-induced hyperammonemia in fasting humans, *Neurology*, **33**, 1136-1140 (1983).

- 22) E. Yukawa, H. To, S. Ohdo, S. Higuchi, T. Aoyama, Population-based investigation of valproic acid relative clearance using nonlinear mixed effects modeling : influence of drug-drug interaction and patient characteristics, *J. Clin. Pharmacol.*, **37**, 1160-1167 (1997).
- 23) A. A. Wassef, D. E. Winkler, A.L. Roache, V. B. Abobo, L. M. Lopez, J. P. Averill, A. I. Mian, J. E. Overall. Lower effectiveness of divalproex versus valproic acid in a prospective, quasi-experimental clinical trial involving 9,260 psychiatric admissions, *Am. J. Psychiatry.*, **162**, 330-339 (2005).
- 24) 浜田文彦, 吉村加与子, 倉繁隆信, 徐放性バルプロ酸Na製剤・セレンカR顆粒の小児てんかんに対する臨床評価, *小児科臨床*, **48**, 1389-1393 (1995).
- 25) D.L. Sacket, Bias in analytic research, *J. Chron. Dis.*, **32**, 51-63 (1979).