

血中薬物濃度測定試薬“ナノピア®TDMシリーズ”の性能評価

Performance evaluation of blood drug concentration assay for “Nanopia®TDM series”

後藤大希¹⁾, 金子 結¹⁾, 高根真希¹⁾, 木村茂樹¹⁾, 正司浩規¹⁾, 上野智浩¹⁾, 高原充佳²⁾

Abstract Therapeutic drug monitoring (TDM) is necessary for effective clinical management of patients, since some drugs may cause large inter-individual differences and many adverse effects. The Nanopia®TDM series are able to measure the concentration of these drugs easily and rapidly by using JCA-ZS050 automatic analyzer. In this study, we evaluated the performance of the Nanopia®TDM series and we revealed some problems. It caused the reagent of Phenobarbital degraded over time, resulting in poor reproducibility and the reagents of Phenytoin, Valproic acid and Carbamazepine were affected by rheumatoid factor. Measurements decreased at higher concentrations of rheumatoid factor. On the other hand, the Nanopia®TDM series showed good analytical performance in the correlation test, the correlation coefficient and the regression equation. These results indicate the Nanopia®TDM series may be suitable for routine clinical use.

Key words TDM, Nanopia®TDM, latex agglutination turbidimetric immunoassay, JCA-ZS050, rheumatoid factor,

1. はじめに

治療効果や副作用に関する因子をモニタリングしながら、それぞれの患者に個別化した薬物投与を行うことを治療薬物モニタリング (therapeutic drug monitoring: TDM) という¹⁾。TDMの対象となる薬物は、治療有効濃度域が狭く中毒等の副作用が出やすいこと、血中濃度と薬効が相関すること、同じ投与量であっても血中濃度に個人差が生じるなどの特徴を有する。こうした薬物に対しては、血中濃度をモニタリングしながら、患者への投与設計を行うことが必要である。そのため、速やかに血中薬物濃度を報告することが重要となる。TDM推奨項目の測定には化学発光免疫測定法²⁾、化学発光酵素免疫

測定法³⁾、液体クロマトグラフィー質量分析法⁴⁾などの原理が使用されているが、専用の分析装置が必要であること、操作方法が煩雑であること、測定に時間を要してしまう等の課題点が挙げられる。ナノピア®TDMシリーズはラテックス免疫比濁法⁵⁾やホモジニアスエンザイムイムノアッセイ⁶⁾を原理とするTDM用の測定試薬であり、生化学の汎用自動分析装置を用いて測定を行うことから、迅速かつ簡便に血中薬物濃度を臨床に報告することが可能である。

今回、ナノピア®TDMシリーズのphenobarbital (PB), phenytoin (PHT), valproic acid (VPA), carbamazepine (CBZ), teicoplanin (TEIC), vancomycin (VCM), theophylline (THEO), methotrexate (MTX), digoxin (DIG) の測定試

Received Aug. 22, 2024; Accepted Oct. 23, 2024
Taiki GOTO¹⁾, Yui KANEKO¹⁾, Maki TAKANE¹⁾,
Shigeki KIMURA¹⁾, Hiroki SHOJI¹⁾, Tomohiro
UENO¹⁾, Mitsuyoshi TAKAHARA²⁾

¹⁾大阪大学医学部附属病院医療技術部検査部門
Division of Clinical Laboratory, Department of
Medical Technology, Osaka University Hospital
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-15
2-15, Yamadaoka, Suita, Osaka, 565-0871, Japan

²⁾大阪大学医学部附属病院臨床検査部
Laboratory for Clinical Investigation, Osaka
University Hospital
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-15
2-15, Yamadaoka, Suita, Osaka, 565-0874, Japan
Corresponding author: 後藤大希
TEL: 06-6789-6673
E-mail: gototai@hp-lab.med.osaka-u.ac.jp

薬の性能評価を行ったので報告する。

2. 材料および方法

1) 対象

2022年5月から2022年12月までの間に、大阪大学医学部附属病院においてPB, PHT, VPA, CBZ, TEIC, VCM, THEO, MTX, DIGの血中濃度測定依頼があった残余血漿検体を試料として用いた。本研究は大阪大学医学部附属病院倫理審査委員会の承認を得て行った(承認番号 22051-2)。

2) 測定試薬

(1) 検討試薬は積水メディカル株式会社のナノピア®TDM フェノバルビタール, ナノピア®TDM フェニトイン, ナノピア®TDM バルプロ酸, ナノピア®TDM カルバマゼピン, ナノピア®TDM テイコプラニン, ナノピア®TDM バンコマイシン, ナノピア®TDM テオフィリン, ナノピア®eTDM メトトレキサート, ナノピア®TDM ジゴキシンをを用いた。

(2) 対照試薬としてコバス®試薬 フェノバルビタールII, コバス®試薬 フェニトインII, コバス®試薬 バルプロ酸II, コバス®試薬 カルバマゼピンIV, コバス®試薬 バンコマイシンIII, コバス®試薬 テオフィリンII (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社), アーキテクト®・ジゴキシシンST(アボットジャパン合同会社)を用いた。TEICとMTXは検討試薬と同製品をcobas専用試薬ボトルへ移し替えて、対照使用した。

(3) その他にメトトレキサート検体希釈液(積水メディカル株式会社), 生理食塩液(株式会社大塚製薬工場), 干渉チェック・Aプラス, 干渉チェック・RFプラス(シスメックス株式会社)を用いた。

3) 測定機器

測定機器は自動分析装置JCA-ZS050(日本電子株式会社)を用いた。対照の測定機器としてcobas®6000 c 501(ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社), ARCHITECT®アナライザー-i1000SR(アボットジャパン合同会社)を用いた。

4) 基礎検討項目

併行精度:精度管理試料を20回測定し, 平均(Mean), 標準偏差(standard deviation: SD), 変動係数(coefficient of variation: CV)を求めた。試料は薬物血中濃度管理用血清オートノルム®・ファルマカリキッド(SERO社)(PB, PHT, VPA, CBZ, VCM, DIG), ナノピア®用テイコプラニンコントロール(積水メディカル株式会社)(TEIC), メトトレキサートコントロール(積水メディカル株式会社)(MTX), リタイチェックTDMコントロ

ール(バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社)(THEO)を用いた。

室内再現精度:THEOは14日間, THEO以外の項目は28日間, 併行精度と同様の試料を使用し二重測定を行いMean, SD, CVを求めた。試薬は転倒混和後に搭載し測定を行った。キャリブレーションは, 試薬を測定機器に搭載後と15日目の測定前に実施した。

希釈直線性:各キャリブレータの最高濃度を段階希釈し, 三重測定を行った。MTXはメトトレキサート検体希釈液を, それ以外の項目は生理食塩液を用いて希釈した。

定量限界(Limit of Quantitation: LoQ):試料は低濃度域のキャリブレータを段階希釈し用いた。各濃度について5日間, 二重測定を行い, precision profile法にてMTXはCVが20%の値を, それ以外の項目はCVが10%の値をLoQとした。

共存物質の影響:患者プール血漿, 精度管理試料および干渉チェック・Aプラス, 干渉チェックRFプラスを用いて, 抱合型ビリルビン, 遊離型ビリルビン, 溶血ヘモグロビン, 乳び, リウマトイド因子(RF)の影響を確認し許容範囲を±5%以内とした。希釈系列調製手順は干渉チェック・Aプラスおよび干渉チェック・RFプラスの添付文書に従った。

相関性:患者血漿を用いて, 対照試薬・機器との相関性を標準主軸回帰法で評価した。

3. 成績

1) 併行精度

CVの範囲はそれぞれPBが4.0-4.9%, PHTが1.8-3.0%, VPAが0.4-0.9%, CBZが0.8-1.4%, TEICが0.5-1.4%, VCMが0.7%, THEOが0.6-1.1%, MTXが1.8-20.0%, DIGが0.9-1.6%であった(Table 1)。

2) 室内再現精度

CVの範囲はそれぞれPBが6.8-7.8%, PHTが3.3%, VPAが1.4-2.0%, CBZが1.8-3.0%, TEICが1.8-3.0%, VCMが1.4-1.6%, THEOが10.4-13.5%, MTXが3.9-14.3%, DIGが1.3-1.9%であった(Table 1)。

3) 希釈直線性

PBは40 µg/mL, VPAは130 µg/mL, TEICは80 µg/mL, MTXは1.00 µmol/Lまで直線性を認め, PHTは40 µg/mL, CBZは20 µg/mL, VCMは100 µg/mL, THEOは40 µg/mL, DIGは5.00 ng/mLまでと各キャリブレータの最高濃度まで直線性を認めた。

4) PBの再評価

PBについて, 最初に用いた試薬ロット(試薬ロ

Table 1 Repeatability and intermediate precision (n=20)

	Level	Repeatability			Intermediate precision		
		Mean ($\mu\text{g/mL}$)	SD ($\mu\text{g/mL}$)	CV (%)	Mean ($\mu\text{g/mL}$)	SD ($\mu\text{g/mL}$)	CV (%)
PB	1	15.5	0.62	4.0	14.7	1.00	6.8
	2	37.6	1.84	4.9	37.0	2.89	7.8
PHT	1	10.6	0.19	1.8	10.4	0.34	3.3
	2	21.7	0.66	3.0	20.9	0.69	3.3
VPA	1	57.3	0.51	0.9	54.4	1.08	2.0
	2	111.4	0.49	0.4	108.2	1.49	1.4
CBZ	1	4.3	0.06	1.4	4.7	0.14	3.0
	2	10.1	0.08	0.8	10.7	0.19	1.8
TEIC	1	11.0	0.09	0.8	10.3	0.31	3.0
	2	37.5	0.19	0.5	35.9	0.66	1.8
	3	78.0	1.11	1.4	74.6	2.1	2.8
VCM	1	10.3	0.07	0.7	10.4	0.15	1.4
	2	66.6	0.48	0.7	65.4	1.03	1.6
THEO	1	6.1	0.07	1.1	5.3	0.55	10.4
	2	13.0	0.09	0.7	10.9	1.33	12.2
	3	22.9	0.14	0.6	18.9	2.55	13.5
		Mean ($\mu\text{mol/L}$)	SD ($\mu\text{mol/L}$)	CV (%)	Mean ($\mu\text{mol/L}$)	SD ($\mu\text{mol/L}$)	CV (%)
MTX	1	0.04	0.008	20.0	0.07	0.010	14.3
	2	0.38	0.010	2.6	0.41	0.016	3.9
	3	0.76	0.014	1.8	0.80	0.035	4.4
		Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	CV (%)	Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	CV (%)
DIG	1	1.77	0.028	1.6	1.68	0.032	1.9
	2	3.33	0.029	0.9	3.26	0.043	1.3

ットAとする)では併行精度のCVが他の項目に比べ高値であり、希釈直線性がキャリブレーションの最高濃度の約半分であったため、別ロット試薬(試薬ロットBとする)で再評価を行った。結果、併行精度はCV 1.4-1.5%となり(Table 2)、希釈直線性はキャリブレーションの最高濃度である80 $\mu\text{g/mL}$ まで直線性を認めた。なお、PBの併行精度、室内再現精度、希釈直線性、LoQ、共存物質の影響の評価では試薬ロットAを、再評価、相関性の評価では試薬ロットBを用いた。

5) THEOの室内再現精度の再評価

THEOは室内再現精度で測定値が低値へトレンドしたため、下記の条件A、Bにて10日間、再評価を実施した。

条件A：毎日試薬を転倒混和してから測定、測定後

Table 2 Repeatability of Phenobarbital (n=20)

	Level	Lot B		
		Mean ($\mu\text{g/mL}$)	SD ($\mu\text{g/mL}$)	CV (%)
PB	1	15.2	0.23	1.5
	2	38.7	0.55	1.4

は冷蔵庫に保存

条件B：2)と同様に試薬を測定機器に搭載し測定その結果、条件AではCVが0.8-1.6%、条件BではCVが8.7-11.1%であった。10日間の測定値を日ごとにプロットしたものをFig. 1に示す。

6) LoQ

LoQはPBが3.0 $\mu\text{g/mL}$ 、PHTが1.2 $\mu\text{g/mL}$ 、

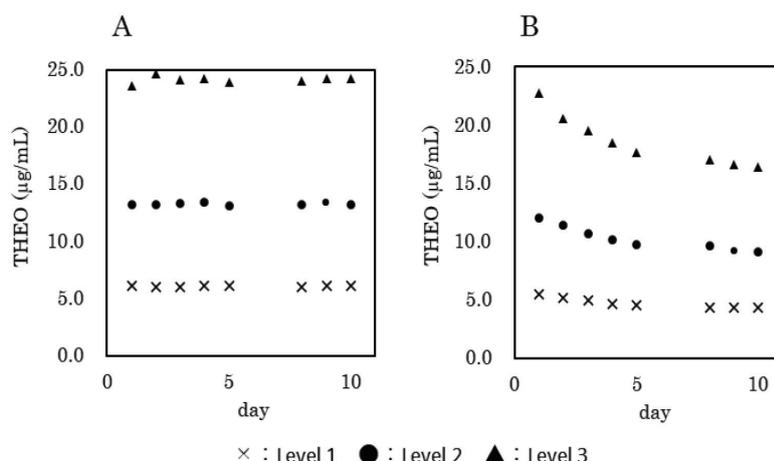


Fig. 1 Re-evaluation of intermediate precision for theophylline concentration measurements under different pre-treatment conditions. Theophylline levels were measured using Nanopia[®]TDM Theophylline reagent. Two experimental conditions were compared: (A) with reagent pre-mixed before measurement and (B) without pre-mixing. While theophylline levels for condition A show no significant change, those for condition B exhibit a gradual over time.

VPAが $2.9 \mu\text{g/mL}$, CBZが $0.4 \mu\text{g/mL}$, TEICが $1.7 \mu\text{g/mL}$, VCMが $1.0 \mu\text{g/mL}$, THEOが $1.3 \mu\text{g/mL}$, MTXが $0.03 \mu\text{mol/L}$, DIGが 0.28 ng/mL であった。

7) 共存物質の影響

PB, PHT, VPA, CBZは抱合型ビリルビンが 19.6 mg/dL , 遊離型ビリルビンは 20.5 mg/dL , 溶血ヘモグロビンは 520 mg/dL , 乳びは 1700 FTU まで影響を認めなかった。また, TEIC, VMC, THEO, MTX, DIGは抱合型ビリルビンが 19.5 mg/dL , 遊離型ビリルビンは 20.4 mg/dL , 溶血ヘモグロビンは 480 mg/dL , 乳びは 1700 FTU まで影響を認めなかった。PB, TEIC, VCM, THEO, MTX, DIGはRF濃度 450 IU/mL まで影響を認めなかった。しかしPHT, VPA, CBZは濃度依存的に測定値の低下を認め, RFが 450 IU/mL では測定値がそれぞれ55%, 25%, 63%の低下を認めた。

8) RFの影響

PHT, VPA, CBZでRFによる影響を認めたため, RF高値の患者検体を用い影響を確認した。結果, 7)の結果と同様にRF濃度が高値になると濃度依存的に測定値は低下し, RF濃度が 486 IU/mL で, PHTは81%, VPAは53%, CBZは72%の低下を認めた。

9) 相関性

対象試薬・対象機器との相関性を(y)軸に検討試薬, (x)軸に対照試薬として評価した結果, 得られた回帰式はPBが $y=1.03x+0.64$ ($n=38$, $r=0.99$), PHTは $y=1.08x-0.83$ ($n=50$, $r=0.99$), VPAが

$y=1.16x-2.61$ ($n=50$, $r=0.99$), CBZが $y=1.07x+0.24$ ($n=50$, $r=0.99$), TEICが $y=0.96x+2.21$ ($n=50$, $r=0.95$), VCMが $y=1.15x-1.30$ ($n=50$, $r=0.99$), THEOが $y=1.02x-1.51$ ($n=46$, $r=0.99$), MTXが $y=1.02x-0.03$ ($n=50$, $r=0.99$), DIGが $y=1.11x+0.05$ ($n=50$, $r=0.98$)であった (**Fig. 2**)。

4. 考察

MTXの併行精度と室内再現精度において, Level 1はCVが高値となったが, 各測定値の範囲は $\text{Mean} \pm 3\text{SD}$ の範囲内におさまっており許容範囲と考えられる。PBは併行精度と希釈直線性について初回の評価では十分な性能を確認できなかったため, 別ロット試薬で再評価を行い, 良好な結果を確認できた。この原因を考察するため, 積水メディカル株式会社より二種類のロットにおける3月と8月のキャリブレーション曲線データと最新ロットの8月のキャリブレーション曲線データを入手し, 比較した (**Fig. 3**)。比較したロットは生産が古いものから順に①, ②, ③とした。その結果, ロットによって再現性や希釈直線性が変化した原因として, 試薬が古くなるにつれキャリブレーション時の吸光度変化量が減少し, PBの試薬が時間経過によって劣化した可能性が示唆された。検討時のロットAとBの最低濃度と最高濃度の吸光度の差はそれぞれ0.17と0.42Abs.であり, この吸光度変化量の差が再現性や希釈直線性の低下につながったと考えられる。以上

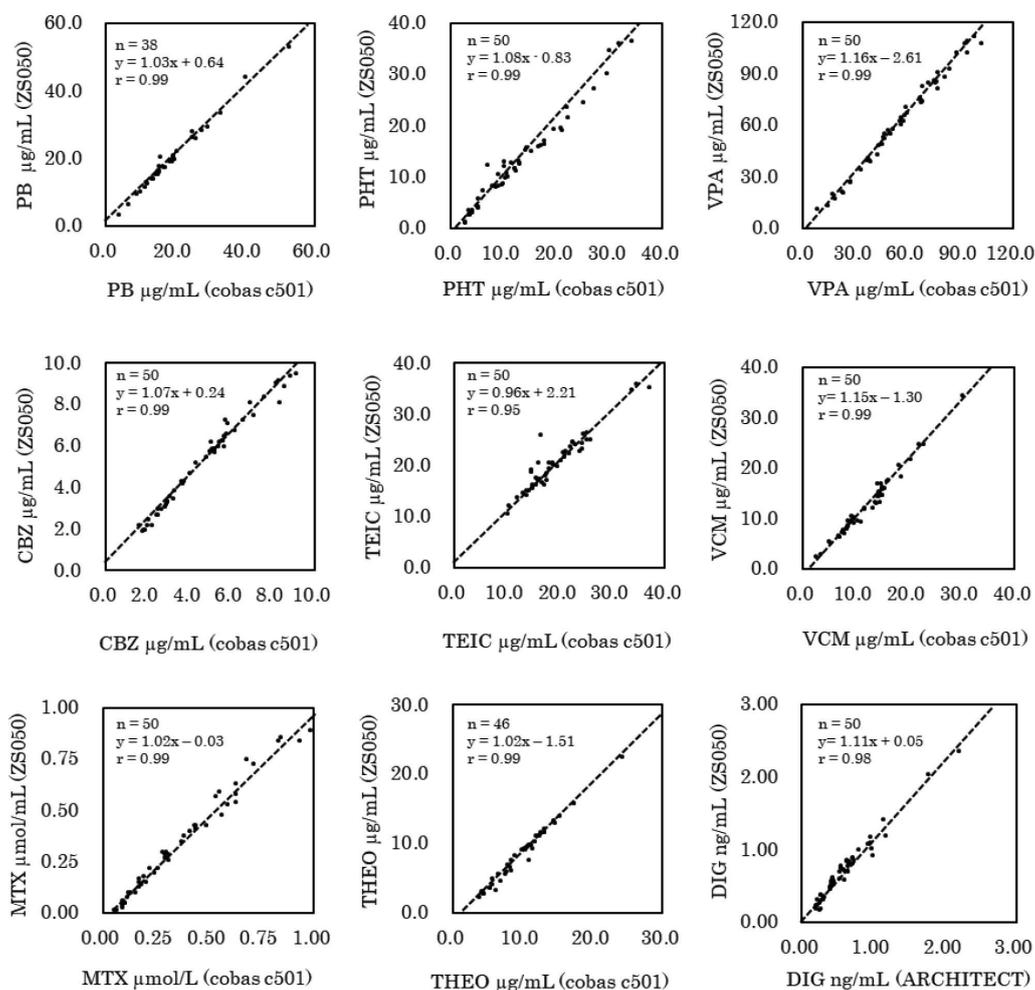


Fig. 2 Evaluation of correlation between the Nanopia®TDM series and contrast reagent

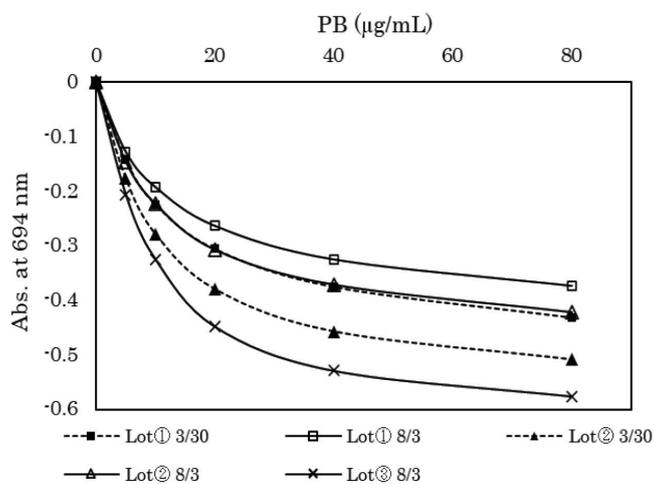


Fig. 3 Comparison of calibration curves for Phenobarbital concentration measurement using three different reagent lots on different days. The absorbances of the calibration curves decrease over time. Data provided by SEKISUI MEDICAL CO., LTD.

のことから、精度管理だけでなく、キャリブレーションを行った際に吸光度変化量の確認が必要であり、本検討の結果から、最低濃度と最高濃度の吸光度の差が0.2Abs. 程度であれば、新しい試薬ロットの使用も考慮すべきと考える。次に、室内再現精度の評価において、THEOは、測定値が経時的に低下していた。そこで測定前に試薬を転倒混和し再評価すると測定値は変化せず、改善を認めた。試薬を装置に搭載し続けると、試薬に含まれるラテックス粒子に濃度勾配が徐々に生じ、測定値が経時的に低下したと考えられる。今回評価を行った試薬はMTX以外ラテックス免疫比濁法を測定原理としている。ラテックスを含む試薬は転倒混和し搭載することが必要であるが、THEOは搭載前だけではなく、測定前の試薬の転倒混和も必要であると考え。共存物質の影響では、PHT, VPA, CBZでRFの濃度依存的に測定値が低下した。TDM項目は測定原理に免疫学的測定法が用いられることが多く、偽高値や偽低値が生じる可能性を考慮する必要がある⁷⁾。RFは免疫学的分析法での非特異反応を引き起こす可能性がある物質である⁸⁾。本試薬はラテックスを用いた抗原抗体反応を測定原理とし、RFが非特異反応を起こした可能性がある。RFが高値の症例ではKinetic Interaction of Microparticles in a Solution (KIMS)⁹⁾等の異なる原理を用いて測定する必要があると考える。相関性の評価では、患者検体にRFが高値の検体はなく、いずれの項目も強い相関を確認することができた。

今回行った性能評価より、多くの評価項目において良好な結果を得ることができた。その中で再現性不良や共存物質の影響を受ける試薬ロットも存在したことから、運用方法を工夫する必要がある。また、試薬製造元には長期にわたり安定使用可能であり、RFの影響を受けない試薬の改良を望む。以上のことから、汎用自動分析装置に搭載でき、迅速かつ簡便にTDM項目を測定可能であることは大きなメリットであり、ナノピア®TDMシリーズは有用であると考え。

5. 結論

ナノピア®TDMシリーズは適切な条件下において良好な性能を示し、TDM項目測定試薬として有用であると考え。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) 森川剛, 汲町美穂, 田村和季, ほか。多品目の薬物を対象とする病院内での血中濃度測定のための実用的なHPLC分析法の開発。BUNSEKI KAGAKU 2019;68:473-481.
- 2) アーキテクト・ジゴキシン 添付文書。アボットジャパン合同会社 2019;7.
- 3) ルミパルスプレスト メトトレキサート 添付文書。富士レビオ株式会社 2022;1.
- 4) Jaewan Jung, Kyunghoon Lee, Jongwon Oh, et al. Therapeutic drug monitoring of teicoplanin using an LC-MS/MS method: Analysis of 421 measurements in a naturalistic clinical setting. J Pharm Biomed Anal 2019;167:161-165.
- 5) ナノピア®TDM フェニトイン 添付文書。積水メディカル株式会社 2020;8.
- 6) ナノピア®eTDM メトトレキサート 添付文書。積水メディカル株式会社 2017;5.
- 7) 田口和明, 猿渡淳二, 平田憲史郎, ほか。TDMの落とし穴～偽陽性と偽陰性～。医療薬学 2015;41:215-222.
- 8) Bolstad N, Warren DJ, Nustad K. Heterophilic antibody interference in immunometric assays. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2013; 27:647-661.
- 9) コバス®試薬 フェノバルビタールII 添付文書。ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社 2017;7.