

バルプロ酸による高アンモニア血症および肝障害の発現機序 —バルプロ酸不飽和代謝産物との関連について—

The Mechanisms of Valproate-induced Hyperammonemia and Hepatic Injury : with Reference to Unsaturated Metabolites of Valproate

大谷 浩一* 近藤 毅* 兼子 直*
平野 敬之* 福島 裕* 村中 秀樹**
小出 信雄** 横山 雄** 中田 伸一***

要旨：バルプロ酸(VPA)による肝障害の発現機序を解明するため、VPA服用中のてんかん患者106例について、危険因子とされる「若年」、「多剤併用」、「高VPA血清濃度」がVPAから2-en-VPA(2-en)、3-en-VPA(3-en)、4-en-VPA(4-en)の三つの不飽和代謝産物への代謝に与える影響を検討した。また上記の3因子および不飽和代謝産物の血清濃度と血漿アンモニア濃度の関係も検討した。単剤群で4-en/VPA比は年齢と有意な負の相関、VPA濃度と有意な正の相関を示した。11歳以上で多剤併用群は単剤群に比較し、4-en/VPA比は有意に高値を、2-en/VPA比は有意に低値を示した。血漿アンモニア濃度は多剤併用群で単剤群より有意に高値を示した。上記の3因子はVPAから最も肝毒性の強い4-enへの代謝を促進することにより肝障害を惹起し、多剤併用は β 酸化を抑制することにより高アンモニア血症を惹起する可能性が考えられた。

てんかん治療研究振興財団研究年報 1991 ; 3 : 99-105

Key Words : valproate, hepatic injury, hyperammonemia, valproate metabolism, unsaturated metabolites.

序 論

バルプロ酸(VPA)はその広い治療スペクトラムのため、てんかんの治療に汎用されている。しかし、稀ではあるがVPAによる致死性肝障害の報告がある^{2, 22)}。本副作用の危険因子として若年と多剤併用が指摘されているが^{2, 22)}、VPAの肝毒性が用量依存性であるという報告⁸⁾もある。また、VPAによる著しい肝障害を伴わない高アンモニア血症でも多剤併用^{3, 15)}、高VPA血清濃

度^{3, 16)}が関係している可能性がある。

一方、VPAの不飽和代謝産物、中でも4-en-VPA(4-en)が強い肝毒性を示すことが知られているが⁷⁾、多剤併用がVPAから4-enへの代謝を促進するという報告¹²⁾もある。したがって、多剤併用はVPAの代謝を変化させることにより肝障害の発生を助長する可能性があり、実際にVPAによる致死性肝障害の症例で異常なVPA代謝が報告されている^{10, 13)}。そこで、本研究ではVPAによる肝障害の発現機序を解明する目的

*弘前大学神経精神科, **弘前大学小児科, ***弘前大学付属病院中央検査部
(〒036 弘前市本町53)

Koichi Otani*, Tsuyoshi Kondo*, Sunao Kaneko*, Takayuki Hirano*, Yutaka Fukushima*, Hideki Muranaka**, Nobuo Koide**, Masaru Yokoyama** and Shinichi Nakata***

*Department of Neuropsychiatry, **Pediatrics and ***Central Laboratory, Hirosaki University Hospital.

で若年, 多剤併用, 高 VPA 血清濃度の 3 因子が VPA から不飽和代謝産物への代謝に与える影響を検討した。さらに, 上記の 3 因子と不飽和代謝産物の血清濃度が血漿アンモニア濃度に与える影響も検討した。

方 法

対象は本研究に対して同意の得られた106例(男性57例, 女性49例)のてんかん患者で, 年齢, VPA 治療期間, VPA 投与量はそれぞれ0~62歳(平均±S.D.: 22.2±15.5), 1~172ヵ月(60.7±50.1), 2.7~50.6mg/kg/日(19.4 ± 10.1)であった。対象を VPA 単剤群56例と多剤併用群50例の 2 群に分けたが, 併用薬としては, 10歳以下では 1 剤(半数でベンゾジアゼピン)のみが多く, 11歳以上では 2 剤以上をより多量に服用している症例が多かった(Table 1)。単剤群と多剤併用群を比較した場合に, 年齢, VPA 治療期間, VPA 投与量に有意差は認められなかった。

全例で早朝空腹時の服薬前に採血し, 副作用を評価した。VPA および 2-en-VPA (2-en), 3-en-VPA (3-en), 4-en-VPA (4-en) の三つの不飽和代謝産物の血清濃度は GC-MS 法 (JEOL DX300) により測定した。対象のうち 98 例 (単剤群 53 例, 多剤併用群 45 例) では, 同時に血漿アンモニア濃度測定とその他の生化学的検査 (GOT, GPT, γ -GTP, ビリルビン濃度) も施行した。統計学的解析は Spearman rank test と Wilcoxon rank sum test により行い, $p < 0.05$ を統計学的に有意とした。

結 果

対象のうち16例(15%)で軽度の眠気, 易疲労感, あるいは吐気が見られたが, 肝性脳症あるいは重篤な肝機能障害を示した症例はなかった。

VPA, 2-en, 3-en, 4-en の血清濃度はそれぞれ $7.8-116.2 \mu\text{g/ml}$ (45.3 ± 24.0), $0.29-7.78 \mu\text{g/ml}$ (2.66 ± 1.67), $0.3-2.92 \mu\text{g/ml}$ (1.18 ± 0.54), $3.8-424.3 \text{ng/ml}$ (89.8 ± 77.6) であった。副作用が見られた群と見られなかった群を比較した際に, これらの濃度に有意差は認められなかった。単剤群で, VPA から不飽和代謝産物への代謝を反映する不飽和代謝産物/VPA 比に与える年齢と血清 VPA 濃度の影響を検討したところ, 4-en/VPA 比と年齢は有意な負の相関を示したが, 2-en/VPA 比と 3-en/VPA 比では相関は有意ではなかった (Fig. 1)。4-en/VPA 比は血清 VPA 濃度と有意な正の相関を示したが, 逆に 2-en/VPA 比と 3-en/VPA 比は血清 VPA 濃度と有意な負の相関を示した (Fig. 2)。11歳以上の症例で, 多剤併用群は単剤群に比較し, 4-en/VPA 比は有意に高値を, 2-en/VPA 比は有意に低値を示した (Table 2)。10歳以下の症例では, 多剤併用群と単剤群を比較して不飽和代謝産物/VPA 比に有意差はなかった。

血漿アンモニア濃度を測定できた98例で, アンモニア濃度は $25-131 \mu\text{g/dl}$ (62.4 ± 23.4) の範囲にあり, 副作用が見られた症例 (16例) と見られなかった症例 (82例) の間に有意差はな

Table 1 Coadministered antiepileptic drugs with VPA in 50 polypharmacy patients

Range of age	Number of cases								Number of AEDs				Drug score/ body weight
	PHT	CBZ	PB	PRM	ESM	ZSM	BZDs	Others	1	2	3	4	
-10 (n=16)	2	2	6	0	1	0	8	0	13	3	0	0	0.082±0.065
11- (n=34)	24	20	8	12	1	4	2	2	11	10	10	3	0.201±0.122
Total (n=50)	26	22	14	12	2	4	10	2	24	13	10	3	0.163±0.121

AED: antiepileptic drug, PHT: phenytoin, CBZ: carbamazepine, PB: phenobarbital, PRM: primidone, ESM: ethosuximide, ZSM: zonisamide, BZDs: benzodiazepines
Drug score was calculated according to the clinical efficacy of AEDs by Kaneko, et al. (1988).
The values of drug score/body weight were expressed as mean ± standard deviation.

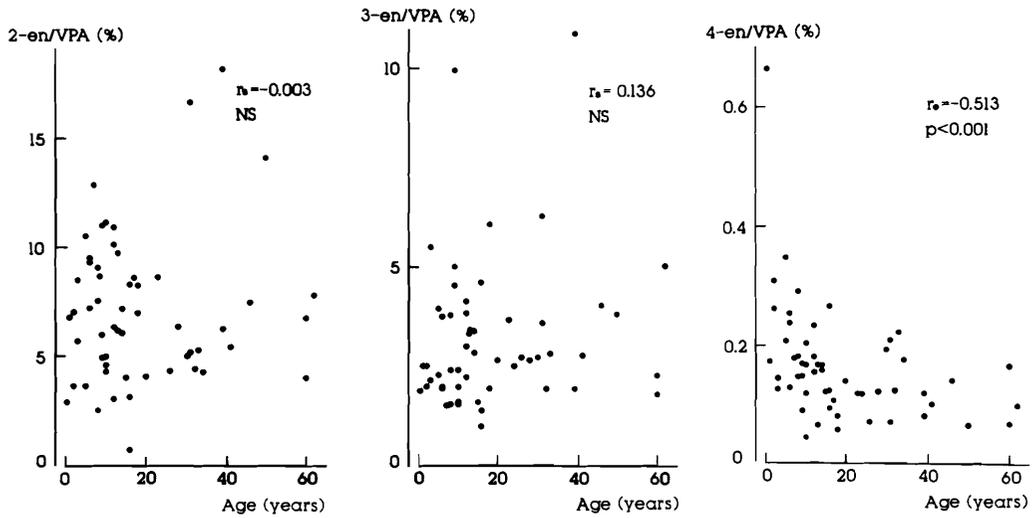


Fig. 1 Correlations between age and the metabolite/VPA ratios in 56 monopharmacy patients. r_s : Spearman rank correlation coefficient

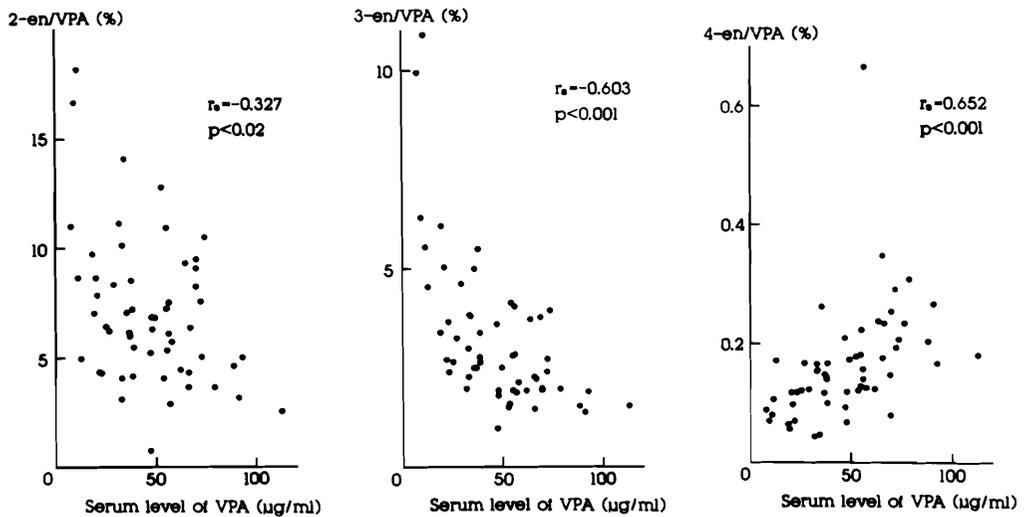


Fig. 2 Correlations between serum level of VPA and the metabolite/VPA ratios in 56 monopharmacy patients. r_s : Spearman rank correlation coefficient

Table 2 The effects of concomitant antiepileptic drugs on the metabolite/VPA ratios

	Serum level of VPA ($\mu\text{g/ml}$)	2-en/VPA (%)	3-en/VPA (%)	4-en/VPA (%)
Monopharmacy group (n=34)	41.0 \pm 19.6	7.10 \pm 3.60	3.35 \pm 1.84	0.133 \pm 0.053
Polypharmacy group (n=34)	37.0 \pm 22.1	5.31 \pm 2.82*	3.46 \pm 2.05	0.188 \pm 0.116*

Subjects consisted of 68 patients older than 11 years.

(mean \pm S.D.)

*: significantly different from monopharmacy group ($p < 0.05$)

かった。単剤群で血漿アンモニア濃度と年齢、血清VPA濃度の間に有意な相関はなかった (Fig. 3)。2-en ($r_s = -0.233$, NS) と3-en ($r_s = -0.107$, NS) の血清濃度は血漿アンモニア濃度と有意な相関を示さず、4-en は有意な負の相関を示した (Fig. 3)。多剤併用群では年齢、VPA および不飽和代謝産物の血清濃度と血漿アンモニア濃度の間に有意な相関はなかった。多剤併用群は単剤群と比較し、血漿アンモニア濃度、GPT、 γ -GTP は有意に高値を示し、ビリルビン濃度は有意に低値を示した (Table 3)。

考 察

VPAによる致死性肝障害の最も特徴的な組織所見は細脂肪滴であると報告されているが^{2, 22)}、動物実験において4-enは脂肪酸の β 酸化を抑制し^{1, 7)}、細脂肪滴を発生させることが知られ

ている⁷⁾。

ところで、VPAは脂肪酸の一つであり、2-enはミトコンドリアでの β 酸化により生成され、3-enは2-enの異性化により生成されると報告されている¹⁸⁾。これに対して、4-enの生成は肝ミクロゾームのチトクロームP-450酵素に依存する¹⁹⁾。

ZimmermanとIshak²²⁾、Dreifussら²¹⁾はVPAによる致死性肝障害の症例を概観し、若年が危険因子の一つであると指摘している。本研究では、VPAから4-enへの代謝は若年者ほど高かった。さらに、VPA治療中のてんかんの母親から出生した新生児において4-enの排泄が遅延しているという報告¹¹⁾がある。したがって、若年者では4-enの生成が多く、しかも排泄が遅延しているため、肝障害の発生率が高いものと推定される。

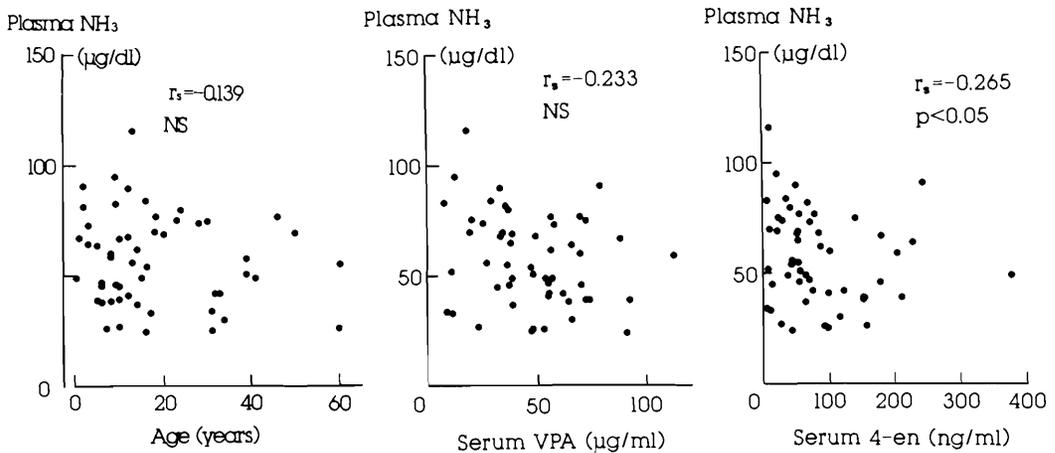


Fig. 3 The effects of age, serum levels of VPA and 4-en on plasma ammonia level in 53 monopharmacy patients. r_s : Spearman rank correlation coefficient

Table 3 The effects of concomitant antiepileptic drugs on plasma ammonia level and other biochemical parameters

	Ammonia ($\mu\text{g/dl}$)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	γ -GTP (U/l)	Bilirubin (mg/dl)
Monopharmacy group (n=53)	57.4 \pm 20.7	29.2 \pm 8.0	21.4 \pm 8.0	16.2 \pm 37.3	0.60 \pm 0.26
Polypharmacy group (n=45)	68.4 \pm 24.9*	27.0 \pm 11.9	28.0 \pm 17.0*	102.5 \pm 184.0**	0.47 \pm 0.22**

*: significantly different from monopharmacy group ($p < 0.05$)
 **: significantly different from monopharmacy group ($p < 0.01$) (mean \pm S.D.)

多剤併用も VPA による肝障害の危険因子の一つと考えられており^{2, 22)}, Sugimoto らの動物実験でもフェノバルビタール併用時に VPA の肝毒性が高まることが示されている²¹⁾。本研究では、11歳以上の症例でわれわれの以前の研究の結果と一致して¹²⁾, 多剤併用は VPA から 4-en への代謝を促進し、逆に 2-en への代謝は抑制したが、10歳以下の症例ではこのような効果はなかった。11歳以上ではフェニトイン、カルバマゼピン、フェノバルビタール、プリミドンなどのチトクローム P-450 酵素を誘導する抗てんかん薬¹⁷⁾の 2 剤以上の併用が多く、10歳以下ではベンゾジアゼピン 1 剤のみの併用が多かった。したがって、酵素誘導作用を有する抗てんかん薬を多種、多量に併用すればするほど 4-en の生成が増加するものと考えられる。多剤併用による 2-en の代謝の抑制、すなわち β 酸化の抑制には 4-en の増加、脂肪酸の β 酸化に深くかかわるカルニチンの低下^{14, 21)}などが関係している可能性がある。

VPA の肝毒性が用量依存性であるとの報告⁸⁾があるが、本研究では血清 VPA 濃度が増加するにつれて 4-en への代謝は促進し、逆に 2-en と 3-en への代謝は低下していた。VPA, 4-en ともに β 酸化を抑制することが知られているので¹⁾, これらの増加により β 酸化による代謝経路が抑制されるものと推定される。したがって、高 VPA 血清濃度は著しい 4-en 増加と β 酸化抑制につながるものと考えられる。

以上の若年、多剤併用、高 VPA 血清濃度が VPA 代謝に与える影響をまとめながら、VPA による肝障害の発現機序を推定してみよう。まずこれらの因子は 4-en への代謝を促進し、増加した 4-en は VPA の β 酸化を抑制するが、多剤併用の際にはカルニチン低下を介する β 酸化抑制、高 VPA 濃度の際には VPA 自身による β 酸化抑制も加わる。 β 酸化による代謝経路が抑制されると、肝ミクロゾームの P-450 酵素に依存する 4-en への代謝の比重がさらに高まり、4-en の生成がますます増加する、という悪循環が形成される可能性が考えられる。Kingsley らの *in vitro* の研究の結果は 4-en の肝毒性が用量依存

性であることを示唆しているので⁹⁾, 4-en の増加に比例して脂肪酸の代謝障害も強まり、ついには致死性肝障害が発生するものと推定される。また、これらの VPA 代謝の変化は、致死性肝障害の症例で報告されている VPA 代謝異常と類似しており^{10, 13)}, この事実もわれわれの推定を裏づけるものといえる。

若年は高アンモニア血症を伴う致死性肝障害の危険因子の一つといわれているが²²⁾。本研究では年齢と血漿アンモニア濃度との間に有意な関係は見られなかった。したがって、著しい肝障害や脳症を伴わない高アンモニア血症に関する限り、年齢因子は重要ではないものと考えられる。

これまでに、VPA 治療中の血漿アンモニア濃度が血清 VPA 濃度に依存するとの報告^{3, 16)}があるが、本研究では血清 VPA 濃度も血漿アンモニア濃度に影響を与えなかった。したがって、VPA による尿素サイクル抑制には個人差が存在する可能性や、血清 VPA 濃度が治療域あるいはそれ以下の場合には血漿アンモニア濃度に対する影響が濃度依存性ではない可能性もある。したがって、今後治療域以上も含めて広範囲の血清 VPA 濃度が血漿アンモニア濃度に与える影響を各症例ごとに検討する必要がある。

われわれの予想に反して、血清 4-en 濃度は血漿アンモニア濃度と負の相関を示した。したがって、4-en 自身が高アンモニア血症を惹起するとは考えがたいが、4-en の代謝産物が関係している可能性は完全には否定できない。

本研究ではこれまでの報告と同様³⁾, 多剤併用群では単剤群より血漿アンモニア濃度が高値であった。多剤併用群ではミトコンドリアの β 酸化抑制を示唆する所見が見られたが、兼子は脂肪酸の β 酸化抑制はアセチル CoA, N-アセチルグルタミン酸の低下、カルバミールリン酸合成酵素 I の抑制を介して尿素サイクル抑制につながると指摘している⁶⁾。したがって、多剤併用は β 酸化を抑制し、高アンモニア血症を惹起する可能性が考えられる。

その他の生化学的検査の結果に関する多剤併用群と単剤群の差異は、併用薬の酵素誘導作用

によるものと考えられる^{4,20)}。

以上をまとめると、若年、酵素誘導作用を有する抗てんかん薬の併用、高VPA血清濃度はVPAから肝毒性の強い4-enへの代謝を促進することにより、VPAの肝毒性を助長するものと推定される。一方、多剤併用は β 酸化を抑制することにより高アンモニア血症を惹起する可能性があると考えられた。

文 献

- 1) Bjorge, S. M. and Baillie, T. A. (1985) Inhibition of medium-chain fatty acid β -oxidation in vitro by valproic acid and its unsaturated metabolite, 2-n-propyl-4-pentenoic acid. *Biochem Biophys Res Commun* **132**, 245-252.
- 2) Dreifuss, F. E., Santilli, N., Langer, D. H., Sweeney, K. P., Moline, K. A. and Menander, K. B. (1987) Valproic acid hepatic fatalities : A retrospective review. *Neurology* **37**, 379-385.
- 3) Haidukewych, D., John, G., Zielenski, J. J. and Rodin, E. A. (1985) Chronic valproic acid therapy and incidence of increases in venous plasma ammonia. *Ther Drug Monit* **7**, 290-294.
- 4) Haidukewych, D. and John, G. (1986) Chronic valproic acid and coantiepileptic drug therapy and incidence of increases in serum liver enzymes. *Ther Drug Monit* **8**, 407-410.
- 5) Kaneko, S., Otani, K., Fukushima, Y., et al. (1988) Teratogenicity of antiepileptic drugs : analysis of possible risk factors. *Epilepsia* **24**, 459-467.
- 6) 兼子 直 (1991) VPAの代謝系への影響および致死性肝障害. てんかん学の進歩No.2-1991 (秋元波留夫, 山内俊雄, 編), 110-114, 岩崎学術出版, 東京.
- 7) Kestersen, J. W., Granneman, G. R. and Machinist, J. M. (1984) The hepatotoxicity of valproic acid and its metabolites in rats. I. Toxicologic, biochemical and histopathologic studies. *Hepatology* **4**, 1143-1152.
- 8) Kingsley, E., Tweedale, R. and Tolman, K. G. (1980) Hepatotoxicity of sodium valproate and other anticonvulsants in rat hepatocyte cultures. *Epilepsia* **21**, 699-704.
- 9) Kingsley, E. D., Gray, P., Tolman, K. G. and Tweedale, R. (1983) The hepatotoxicity of metabolites of sodium valproate in cultured hepatocytes. *J Clin Pharmacol* **23**, 178-185.
- 10) Kochen, W., Schneider, A. and Ritz, A. (1983) Abnormal metabolism of valproic acid in fatal hepatic failure. *Eur J Pediatr* **141**, 30-35.
- 11) Kondo, T., Otani, K., Hirano, T. and Kaneko, S. (1987) Placental transfer and neonatal elimination of mono-unsaturated metabolites of valproic acid. *Br J Clin Pharmacol* **24**, 401-403.
- 12) Kondo, T., Otani, K., Hirano, T., Kaneko, S. and Fukushima, Y. (1990) The effects of phenytoin and carbamazepine on serum concentrations of mono-unsaturated metabolites of valproic acid. *Br J Clin Pharmacol* **29**, 116-119.
- 13) Kuhara, T., Inoue, Y., Matsumoto, M., Shinka, T., Matsumoto, I., Kawahara, N. and Sakura, N. (1990) Markedly increased ω -oxidation of valproate in fulminant hepatic failure. *Epilepsia* **31**, 214-217.
- 14) Laub, M. C., Paetzke-Brunner, I. and Jaeger, G. (1986) Serum carnitine during valproic acid therapy. *Epilepsia* **27**, 559-562.
- 15) Murphy, J. V. and Marquardt, K. (1982) Asymptomatic hyperammonemia in patients receiving valproic acid. *Arch Neurol* **39**, 591-592.
- 16) Ohtani, Y., Endo, F. and Matsuda, I. (1982) Carnitine deficiency and hyperammonemia associated with valproic acid therapy. *J Pediatr* **101**, 782-785.
- 17) Perucca, E., Hedges, A., Makki, K. A., Ruprah, M., Wilson, J. F. and Richens, A. (1984) A comparative study of the relative enzyme inducing properties of anticonvulsant drugs in epileptic patients. *Br J Clin Pharmacol* **18**, 401-410.
- 18) Rettenmeier, A. W., Gordon, W. P., Barnes, H. and Baillie, T. A. (1987) Studies on the metabolic fate of valproic acid in the rat using stable isotope techniques. *Xenobiotica* **17**, 1147-1157.
- 19) Rettie, A. E., Rettenmeier, A. W., Howald, W. N. and Baillie, T. A. (1987) Cytochrome P-450-catalyzed formation of Δ^4 -VPA, a toxic metabolite of valproic acid. *Science* **235**, 890-893.
- 20) Rosalki, S. B. (1976) Plasma enzyme changes and their interpretation in patients receiving anticonvulsant and enzyme-inducing drugs. In : *Anticonvulsant drugs and enzyme induction* (Richens, A., Woodford, F. P., eds.), 27-35, Elsevier, Amsterdam.
- 21) Sugimoto, T., Woo, M., Nishida, N., Takeuchi, T., Sakane, Y. and Kobayashi, Y. (1987) He-

- patotoxicity in rat following administration of valproic acid. *Epilepsia* 28, 142-146.
- 22) Zimmerman, H. J. and Ishak, K. G. (1982) Valproate-induced hepatic injury : analyses of 23 fatal cases. *Hepatology* 2, 591-597.

Summary

The Mechanisms of Valproate-induced Hyperammonemia and Hepatic Injury : with Reference to Unsaturated Metabolites of Valproate

Koichi Otani, Tsuyoshi Kondo, Sunao Kaneko,
Takayuki Hirano, Yutaka Fukushima, Hideki Muranaka,
Nobuo Koide, Masaru Yokoyama and Shinichi Nakata

To clarify the mechanism of valproate (VPA)-induced hepatic injury, the effects of young age, high serum VPA levels, and coadministrations of other antiepileptic drugs on the metabolism of VPA to its unsaturated metabolites, 2-en-VPA (2-en), 3-en-VPA (3-en), and 4-en-VPA (4-en) were studied in 106 epileptics on VPA. The associations of the three risk factors mentioned above and serum levels of mono-unsaturated metabolites with plasma ammonia levels were also studied. In the monopharmacy group, the 4-en/VPA ratio showed a significant negative correlation with age, and a positive correlation with serum VPA levels. In patients older than 11 years, the polypharmacy group showed significantly higher 4-en/VPA ratio, and lower 2-en/VPA ratio than the monopharmacy group. Plasma ammonia levels were significantly higher in the polypharmacy group than in the monopharmacy group. The present study suggests that young age, high serum VPA levels, and polypharmacy enhance the hepatotoxicity of VPA by accelerating the metabolism of VPA to 4-en, the most hepatotoxic metabolite. It also suggests that polypharmacy induces hyperammonemia by inhibiting β -oxidation in mitochondria.

Ann. Rep. Jpn. Epil. Res. Found. 1991 ; 3 : 99-105