

定量的マイクロシステム (QMS) に関する本添付文書をよく読んでから使用してください。添付文書に記載された指示に従ってください。本添付文書に記載された指示に従っていない場合は、測定結果の信頼性を保証しかねます。

使用目的

本 QMS タクロリムス イムノアッセイは、自動臨床化学分析装置でヒト全血中のタクロリムスを定量的に測定するためのものです。測定結果は、腎臓、肝臓、心臓の移植手術に伴いタクロリムス療法を受ける患者の管理で役立ちます。本体外診断用機器は臨床検査室のみで使用されることを目的としています。

測定の概要および説明

タクロリムス (FK506、プログラフ[®]) は、腎臓および肝臓の移植患者に処方される強力な免疫抑制機能を持つ、真菌ストレプトミセス ツクバエンシス由来のマクロライド系抗生物質です。¹ タクロリムスは、T 細胞の増殖を活性化させるカルシニューリン (本質的にはホスファターゼ) の阻害剤です。^{2~4} 細胞的事象では、タクロリムスは FKBP (FK506 結合タンパク質) と呼ばれる結合タンパク質ファミリーに結合した後に、タクロリムス、FKBP、カルシニューリン A および B、カルモジュリンを含む五量体複合体を形成します。^{2~5} 五量体の形成によって、細胞核内への移動の転写因子の活性化に必要なカルシニューリンのホスファターゼ活性が阻害されます。したがって、特に IL-2 などのサイトカインで T リンパ球の遺伝子発現が損なわれ、その結果、患者における免疫抑制効果が生じます。^{2~5}

全血および血漿におけるタクロリムスの分布は、ヘマトクリット、薬物濃度、血漿タンパク質濃度などいくつかの因子に依存します。全血中濃度と血漿中濃度の比は、平均して 35 (範囲は 12 ~ 67) です。^{6~7} タクロリムスは、シトクロム P-450 系 (主に CYP3A) によって広範囲に代謝されます。^{8~11} 脱メチル化および水酸化により、少なくとも 8 つの代謝物 (M-I ~ M-VIII) に代謝されます。¹² 生体内タクロリムスの半減期の平均は 48 時間と推定されます。^{8~11} 全血中のタクロリムス濃度には患者間および一患者内で大きなばらつきがあったことも報告されています。¹³ 慎重かつ頻りにタクロリムスをモニタリングすることを推奨します。¹⁴

測定原理

本 QMS タクロリムス イムノアッセイは、均質粒子強化免疫比濁法です。試料中の薬物と、タクロリムス抗体試薬の抗体結合部位の微粒子にコーティングされている薬物との競合作用に基づいています。タクロリムスにコーティングした微粒子試薬は、抗タクロリムス抗体試薬の存在下かつ試料中の競合薬物の非存在下で、急速に凝集します。吸光変化率を 700 nm で測定します。タクロリムスを含有する試料を添加すると、凝集反応は部分的に阻害され、吸光変化率が低下します。濃度依存性の標準凝集阻害曲線を得ることができ、タクロリムスが最低濃度である場合には凝集速度が最大、タクロリムスが最高濃度である場合には凝集速度が最低となります。

試薬

試薬キット

QMS タクロリムス REF (10015556) はそのまま使用できる液状試薬キットであり、以下の 3 種類の試薬で構成されます。

REAGENT 1 1 x 18 mL

REAGENT 2 1 x 12 mL

EXT 抽出試薬 1 x 50 mL (作用溶液が必要です。「抽出溶液の準備」の 2 ページを参照してください。)

反応成分

| INGRED | 成分 | 濃度 |
|-----------|------------------------------------|------------------|
| REAGENT 1 | 抗タクロリムスモノクローナル抗体 (ウサギ) アジ化ナトリウム | 1.0% 未満 0.09% |
| REAGENT 2 | タクロリムスコーティング微粒子 アジ化ナトリウム | 0.3% 未満 0.09% |
| EXT | アジ化ナトリウム | 0.09% |

試薬の取り扱いおよび保管

- REAGENT 1、REAGENT 2、および EXT (抽出試薬) はそのまま使用できます
- 気泡の形成を防ぐため、数回反転させてから使用してください。
- 試薬カートリッジ内に気泡がある場合は取り除いてください。または、気泡が消失するまで、試薬を適切な保存温度で保管してください。容量の減少を最小限に抑えるため、ホールピペットを使用して気泡を取り除かないでください。

- REAGENT 1 または REAGENT 2 のいずれかの試薬カートリッジが空になった場合は、両方のカートリッジを取り替え、ラボ内の所定の品質管理要件に従って、各レベルの対照につき 1 つ以上の試料を用いてキャリブレーションを行ってください。対照での結果が許容範囲外であった場合は、再キャリブレーションを行う必要があります。
- システム固有の情報については、使用する装置のアッセイ システム パラメーターシートを参照してください。
- 流出した場合は、ラボの標準業務手順書、地域、および都道府県の規定事項に従って浄化し廃棄してください。
- 入荷時にパッケージが破損していた場合は、テクニカルサポートの担当者にお問い合わせください (本添付文書の裏面を参照してください)。

注意: 試薬中に気泡があると、カートリッジ内の試薬のレベルを正しく検出することができず、試薬の吸引量が不十分となって、結果に影響を及ぼす可能性があります。

未開封の試薬は、使用期限内であれば、2 ~ 8 °C で保存されている限り安定しています。

試薬を凍結させたり、32 °C を超える場所に置いたりしないでください。

警告および使用上の注意

- 体外診断用。ラボで試薬を取り扱うために必要とされる通常の予防措置をすべて実施してください。
- ロット番号の異なるキットの物質を混合しないでください。
- 使用期限を過ぎた試薬キットは使用しないでください。

危険: QMS タクロリムス イムノアッセイは 3.0% 以下のヒト血清アルブミン (HSA)、および 1.0% 以下の薬物特異的抗体 (ウサギ) を含有しています。QMS タクロリムス抽出試薬は 9.0% 以下の硫酸亜鉛 (ZnSO₄) を含有しています。H317 - アレルギー性皮膚反応を引き起こすおそれ
H334 - 吸入すると、アレルギー症状、ぜんそく症状、または呼吸困難を起こすおそれ

H318 - 重度の眼の損傷

H411 - 長期的影響により水生生物に毒性

ミストまたは蒸気の吸入を避けること。汚染された作業着を作業場から出さないこと。保護手袋、保護眼鏡、保護面を着用すること。換気が不十分な場合は、呼吸器保護具を着用すること。皮膚に付着した場合は、多量の石鹸と水で洗うこと。吸入した場合は、呼吸が困難な場合は、空気の新鮮な場所に移し、呼吸しやすい姿勢で休息させること。皮膚刺激または発疹が現れた場合は、医師の助言または診察を受けること。呼吸器症状が現れた場合は、日本中毒情報センターまたは医師に連絡すること。汚染された衣類を再使用する場合には洗濯すること。内容物や容器を廃棄する場合は、地域、地方、国内、および国際規制に従うこと。

環境への放出を避けること。保護手袋、保護眼鏡、保護面を着用すること。眼に入った場合は、水で数分間注意深く洗うこと。コンタクトレンズを装着していて、簡単に行える場合は外すこと。継続的にすすいでください。直ちに日本中毒情報センターまたは医師に連絡すること。流出したものを回収すること。内容物や容器を廃棄する場合は、地域、地方、国内、および国際規制に従うこと。

注意: ヒト由来の資材に FDA 承認の方法で HIV1、HIV2、B 型肝炎および C 型肝炎の試験を実施し、所見は陰性でした。ただし、確実に潜在的な感染のリスクを排除できる試験法はないため、患者試料と同様に本資材は慎重に取り扱う必要があります。曝露事象が発生した場合は、管轄保健機関の指示に従ってください。

アッセイ成分に使用される試薬は 0.09% 以下のアジ化ナトリウムを含有しています。皮膚や粘膜に触れないようにしてください。追加の予防措置、取り扱い指示書、および誤って曝露した時の処置については、SDS を参照してください。

検体の採取および取り扱い

- EDTA 管に採取した全血検体のみを使用します。採取管の処理については、製造元の指示に従ってください。採取時からアッセイの実施まで、検体の完全性を維持するように注意してください。検体は、血液採取時と薬物の最終投与時の両方でラベルを貼る必要があります。
- 検体は蓋をして、2 ~ 8 °C で保存する場合は 7 日以内、-20 °C 以下で保存する場合は 6 か月以内に測定を行ってください。^{6,10~11} 凍結と解凍を繰り返して行わないでください。試料に気泡が形成されないようにしてください。

手順

提供される資材

- QMS タクロリムス試薬キット、[\[REF\]](#) 10015556

必要であるが提供されない資材

- QMS タクロリムス キャリブレーター、[\[REF\]](#) 10015573, CAL A: 1 x 4 mL、CAL B-F: 各 1 x 2 mL
- 品質管理用製品
推奨される資材は次のとおりです。
 - MORE Diagnostics Rap/Tac/CsA Controls、
低、280-0: 各 4 x 4 mL
中、280-1: 各 4 x 4 mL
高、280-2: 各 4 x 4 mL
 - 他の市販の品質管理用製品については、Thermo Fisher Scientific テクニカル サポートにお問い合わせください。
- メタノール、HPLC グレード (純度 99.8% 以上)
- 丸底の微量遠心管
- 自動臨床化学分析装置

試料の準備

注: 対照については、パッケージに同梱されている製造元の指示書および取り扱いの推奨事項がある場合は、それに従ってください。

抽出する前に、キャリブレーターと患者検体を室温に戻します。ご使用前に室温でキャリブレーターを 15 ~ 20 分以上混合し、患者検体を十分に混合してください。キャリブレーターと患者検体をゆるやかに反転させて混和します (できればロッカーを使用してください)。気泡を形成させないようにします。

抽出溶液の準備

1. 室温に戻した抽出試薬 10 mL を清潔で乾燥した気密瓶に入れます。
2. HPLC グレードのメタノール (純度 99.8% 以上) 40 mL を瓶に加え、ゆるやかに混和します。瓶に「タクロリムス作用抽出溶液」というラベルを貼ります。ラベルに現在の日付および有効期限 (調査日から 2 週間) を記入します。室温で保存します。

試料、キャリブレーターおよび対照の抽出手順

最適な結果を得るために、以下の手順に厳密に従ってください。抽出物は、抽出後すぐに使用してください。

1. 抽出する試料、キャリブレーターおよび対照用に丸底微量遠心管を準備してラベルを貼ります。微量遠心管は、試料ごとに 1 本用意します。
2. ピペットを使用して試料、キャリブレーターおよび対照資材を正確に 200 μ L 測定し、ラベルを貼った微量遠心管に注入します。ピペットで試料を吸引して、試料バイアルの縁でピペットの先端をゆっくりめぐって付着した試料を除去し、微量遠心管の中に試料を注入します。
注: ピペットの先端に気泡が入っていないことを確認してください。先端に気泡が入っていると、測定結果が不正確になる可能性があります。
3. ピペットを使用して、抽出溶液を正確に 200 μ L 測定し、微量遠心管に注入します。複数の試料を準備する場合は、連続分注ピペットで抽出溶液を吸引し、分注することをお勧めします。抽出溶液を注入する前に、ピペット先端の気泡をすべて取り除きます。
4. 微量遠心管に蓋をして、直ちに最高速度で 15 ~ 30 秒間ボルテックス ミキサーにかけます。各管が均一に混合されているかを確認します。よく混ぜていない試料が検出された場合は、混ぜていない部分を取り除き、再度ボルテックス ミキサーにかけます。
5. 微量遠心管内の混合物を室温で 5 ~ 7 分放置します。
6. 微量遠心管を遠心分離機に入れ、15,000 ~ 16,000 xg と同等の RPM で 5 分間遠心分離します。
7. 気泡が形成されないように上澄みを試料カップに静かに注ぎ、試料の蒸発を最小限に抑えるため、直ちに測定します。最後の一滴を注ぐにカップを叩かないでください。沈殿が混ざるおそれがあります。
8. 分析後は抽出物を廃棄します。試料を再検査する場合は、新しい抽出物を使用してください。

メモ: QMS タクロリムス イムノアッセイの試料抽出手順に関する詳細な情報と推奨事項については、Thermo Fisher Scientific テクニカル サポートまでお問い合わせください。

測定手順

測定およびキャリブレーションの詳細な方法については、各測定機器の操作マニュアルを参照してください。

検体希釈手順

QMS タクロリムス CAL A (0.0 ng/mL) を用いて、アッセイの直線性から外れた試料を手動で希釈します。

手動希釈プロトコル

タクロリムス濃度が 30 ng/mL を超えている患者の試料は、手動で希釈してください。その場合、QMS タクロリムス CAL A (0.0 ng/mL) で試料を 1:1 に希釈してから、試料を抽出します。希釈する場合は、希釈後の試験結果が測定感度である 1 ng/mL を超えるように行う必要があります。試料の最終濃度は、希釈前の濃度に手動希釈係数を乗じて算出する必要があります。

試料の最終濃度 = 希釈前の濃度 x 手動希釈係数

手動希釈係数 = (試料の容量 + CAL A の容量) ÷ 試料の容量

キャリブレーション

完全なキャリブレーション (6 ポイント) 手順を用いて、本 QMS タクロリムス イムノアッセイのキャリブレーションを行う必要があります。完全なキャリブレーションでは、QMS タクロリムス キャリブレーター A、B、C、D、E、F の試験を行います。QMS タクロリムス イムノアッセイには、QMS タクロリムス キャリブレーターのみを使用してください。QMS タクロリムス イムノアッセイのキャリブレーションに QMS タクロリムス キャリブレーター セット ([\[REF\]](#) 10015573) 以外を使用すると、タクロリムスの正確な定量的測定が行えません。

新しいロット番号ごとにキャリブレーションが必要です。ラボで確立された品質管理要件に従って、各レベルの対照につき 1 つ以上の試料を用いて、キャリブレーション曲線を確認してください。対照での結果が許容範囲外であった場合は、是正措置を取ってください。

キャリブレーションの頻度

以下の場合には、再キャリブレーションの実行をお勧めします。

- キャリブレーターまたは試薬 (キット) のロット変更後
- 機器の月次保守実行後
- 品質管理手順の後、必要な場合

品質管理

品質管理要件はすべて、地域、県および / または政府の規定事項もしくは認定要件に準拠して実施してください。

追加的な品質管理要件および必要となりうる是正措置については、必要に応じて、ラボの標準業務手順書および / または品質保証計画書を参照してください。

QMS タクロリムス イムノアッセイの推奨管理要件:

- 患者試料が抽出され測定されるたびに、各レベルの対照につき 1 つ以上の試料を測定してください。
- これより短い間隔で対照モニタリングを行う必要がある場合は、ラボで確立された品質管理要件に従ってください。
- 品質管理要件はすべて、地域、県および / または国のガイドラインもしくは認定要件に準拠して実施してください。
- 品質管理についての結果が、ラボで定める許容範囲から外れている場合は、患者の測定値の信頼性に欠けるため、報告しないようにしてください。是正措置を取ってください。

測定値

本 QMS タクロリムス イムノアッセイの測定値の単位は ng/mL です。

測定値の報告: ラボでは、測定値が QMS タクロリムス法により得られたことを報告する必要があります。

測定値のエラーコード:

測定値に測定値エラーコードが含まれている場合があります。エラーコードの内容については、各測定機器の操作マニュアルを参照してください。

測定の限界

- 異なるメーカーのアッセイで測定した場合、特定の検体におけるタクロリムス濃度が異なる可能性があります。これは、分析法および試薬の特異性が異なるためです。1 つのアッセイで一貫したモニタリングを実施することをお勧めします。
- イムノアッセイは、代謝物に対して非特異的応答および交差応答を示します。このため、イムノアッセイではタクロリムス濃度が高く評価される可能性があります (「測定法の比較」のセクションを参照)。タクロリムスが適切に除去されない場合は代謝物がより多く蓄積され、さらに高く評価される可能性があります。このような場合、特定のアッセイ (クロマトグラフ法など) の使用を検討する必要があります。
- 集団では低い頻度ですが、異好性抗体による妨害が発生します。これらの抗体により、結果が不正確になる可能性があります (微粒子試薬の凝集により測定値が誤って低値となる場合を含む)。

- 患者の病歴、診察結果およびその他の所見と併せて、測定値を評価してください。測定値が臨床的エビデンスと矛盾している場合は、追加試験を実施して測定値を確認してください。
- 併用薬の影響、およびタクロリムス濃度を増減させる可能性がある薬剤については、プログラムのパッケージの添付文書を参照してください。¹⁴

予測される測定値

全血中のタクロリムスの最適治療域は、このアッセイでは確立されていません。タクロリムスの治療域は、臨床的因子および使用される方法論に応じて異なる場合があります。

患者の臨床状態の不均一性を考えると、臨床医は自らの経験および各患者の臨床要件に基づいて、望ましい治療管理範囲を確立する必要があります。タクロリムス値のみに基づいて、治療レジメンを変更しないでください。タクロリムスの免疫抑制作用および腎毒性作用に対する感度の違い、他の免疫抑制剤の併用、移植様式、移植後の経過時間など、さまざまな要因により、タクロリムスの最適な血中濃度の要件は異なります。

最適な範囲は、使用する試験に応じて異なる可能性があり、市販試験ごとに確立される必要があります。別のアッセイ法を用いて得られた値は、方法論と交差反応が異なるため、互換的に使用することはできません。また、補正係数も適用できません。1患者に1種類のアッセイを一貫して使用することを推奨します。

具体的な性能特性

比濁定量分析を用いる市販の自動臨床化学分析装置で得られた、性能についての代表的な結果を以下に示します。特に明記しない限り、アッセイはすべてここに示されるアッセイ手順に従い、Beckman AU680 分析装置を用いて実施しました。各ラボで得られる結果は、これらのデータとは異なる場合があります。分析装置固有の詳細な性能データについては、分析装置固有のアプリケーションプロトコルを参照するか、Thermo Fisher Scientific テクニカル サポートまでお問い合わせください。

報告可能範囲

QMS タクロリムス イムノアッセイの報告可能範囲は、タクロリムス 1 ng/mL (機能感度に基づく最低報告可能値) ~ 30 ng/mL です。

機能感度 (定量限界)

機能感度は、アッセイ間精度 20% CV で測定可能なタクロリムスの最低濃度を表します。試験は、タクロリムス (0.5 ~ 5.0 ng/mL の範囲) を添加した全血検体を使用して、ランごとに1回の測定を1日2回、30日間、合計60データポイントで実施されました。95% 上限信頼限界で、LoQ は 0.9 ng/mL と算出され、アッセイ下限の 1.0 ng/mL を裏付けています。0.9 ng/mL で観察された回収率は 102.0% です。

希釈直線性

高濃度タクロリムス試料を QMS タクロリムス キャリブレーター A で希釈して、アッセイ範囲全般にわたり均一に分散させた各濃度に対して直線性試験を実施しました。測定されたタクロリムス濃度を予測濃度で除算して、回収率を算出しました。予測濃度は、測定された高濃度値に希釈係数を乗じて算出しました。

| 高濃度試料の% | 予測濃度 (ng/mL) | 測定濃度 (ng/mL) | 回収率 (%) |
|---------|--------------|--------------|---------|
| 100.0% | 29.9 | 29.9 | 100.0% |
| 90.0% | 26.9 | 26.0 | 96.8% |
| 80.0% | 23.9 | 22.8 | 95.4% |
| 70.0% | 20.9 | 19.2 | 91.8% |
| 60.0% | 17.9 | 17.2 | 96.1% |
| 50.0% | 14.9 | 14.7 | 98.6% |
| 40.0% | 12.0 | 11.1 | 92.7% |
| 30.0% | 9.0 | 8.6 | 95.7% |
| 20.0% | 6.0 | 6.0 | 100.0% |
| 10.0% | 3.0 | 3.1 | 102.9% |
| 5.0% | 1.5 | 1.5 | 100.4% |
| 3.3% | 1.0 | 1.0 | 101.4% |
| 2.8% | 0.8 | 0.8 | 99.6% |
| 0.0% | 0.0 | 0.0 | N/A |

予測濃度 = 高濃度試料の % x 高濃度測定値

回収率 (%) = (測定濃度 ÷ 予測濃度) x 100

回収率 (%)

アッセイ範囲全般にわたる各濃度で、陰性全血試料に既知量のタクロリムスを添加しました。これらの試料のタクロリムス濃度を LC-MS/MS で検証するとともに、QMS タクロリムス イムノアッセイで試験しました。結果は以下のとおりです。

| 試料 ID | n | 予測濃度 (ng/mL) | 測定濃度 (ng/mL) | 回収率 (%) |
|-------|----|--------------|--------------|---------|
| 試料 1 | 21 | 2.7 | 2.7 | 101.8 |
| 試料 2 | 21 | 9.8 | 10.8 | 109.4 |
| 試料 3 | 21 | 18.0 | 17.7 | 98.2 |
| 試料 4 | 21 | 19.8 | 21.3 | 107.5 |
| 試料 5 | 21 | 27.0 | 27.1 | 100.4 |

回収率 (%) = (測定濃度 ÷ 予測濃度) x 100

精度

プールされた患者の全血および添加試料を用いて精度を評価しました。CLSI プロトコル EP5-A2 の記載に従って試験を実施しました。¹⁵ 各試料を各ランで2回ずつ、1日2回、20日間測定しました。平均値ならびにラン内/合計ラン SD および %CV を算出しました。代表的な結果を以下に示します。

| 試料 | n | 平均 (ng/mL) | ラン内 | | 合計ラン | |
|--------|----|------------|-----|------|------|------|
| | | | SD | %CV | SD | %CV |
| 添加試料 A | 80 | 3.0 | 0.2 | 4.9% | 0.2 | 7.1% |
| 添加試料 B | 80 | 10.0 | 0.2 | 1.9% | 0.4 | 3.6% |
| 添加試料 C | 80 | 20.9 | 0.4 | 1.9% | 1.1 | 5.0% |
| 患者試料 A | 80 | 3.2 | 0.1 | 4.1% | 0.2 | 6.2% |
| 患者試料 B | 80 | 10.4 | 0.2 | 2.2% | 0.4 | 3.6% |
| 患者試料 C | 80 | 24.2 | 0.5 | 2.1% | 1.1 | 4.6% |

測定法の比較

本 QMS タクロリムス イムノアッセイと2種類の LC-MS/MS 法 (システム 1 およびシステム 2) および Abbott ARCHITECT® タクロリムス アッセイを比較して、相関性試験を実施しました。試験では、タクロリムスを投与している腎臓、肝臓、心臓の移植患者から得られたヒト全血 EDTA 検体を使用しました。試験検体はすべて、移植後約9か月超の患者 (主に成人患者) から得られたトラフ試料を使用しました。試験患者は、タクロリムスを単独投与、またはミコフェノール酸モフェチル (MMF)、ミコフェノール酸 (MPA)、コルチコステロイドなど、他の免疫抑制剤を併用投与していました。測定法間のデミング回帰分析¹⁶ の結果を以下の表に示します。

| 比較した測定法 | n | 傾き (95% CI*) | 切片 (95% CI) | 相関係数 (R) |
|---------------------------------|-----|--------------------------|-------------------------|----------|
| LC-MS/MS システム 1 | 383 | 1.111 (1.084 ~ 1.137) | 0.53 (0.31 ~ 0.76) | 0.972 |
| LC-MS/MS システム 2 | 232 | 1.130 (1.092 ~ 1.167) | 0.71 (0.42 ~ 1.01) | 0.967 |
| Abbott ARCHITECT タクロリムス アッセイ | 208 | 1.126 (1.071 ~ 1.181) | -0.03 (-0.63 ~ 0.56) | 0.937 |

*信頼区間 (CI)

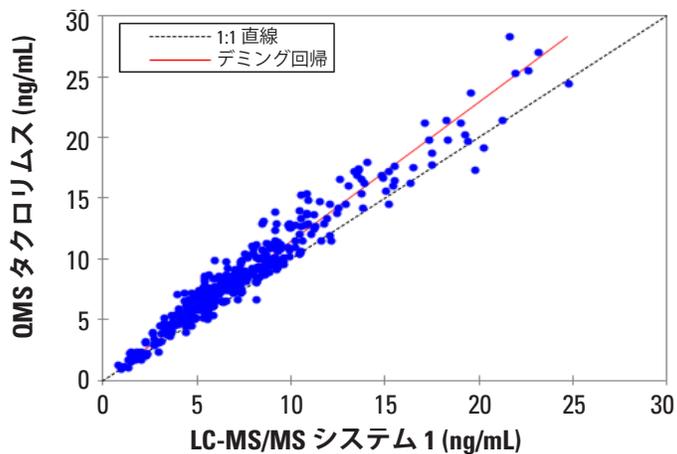
QMS タクロリムス検体範囲: 1.0 ~ 30.8 ng/mL

LC-MS/MS 検体範囲: 0.8 ~ 29.5 ng/mL

ARCHITECT タクロリムス検体範囲: 2.4 ~ 28.1 ng/mL

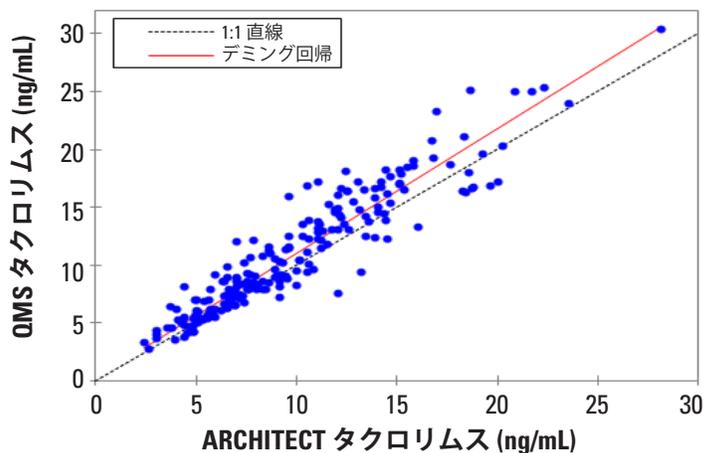
腎臓、肝臓、心臓の移植患者の試料を組み合わせ使用し、QMS タクロリムス法と LC-MS/MS システム 1 を比較した散布図。

QMS タクロリムスと LC-MS/MS システム 1



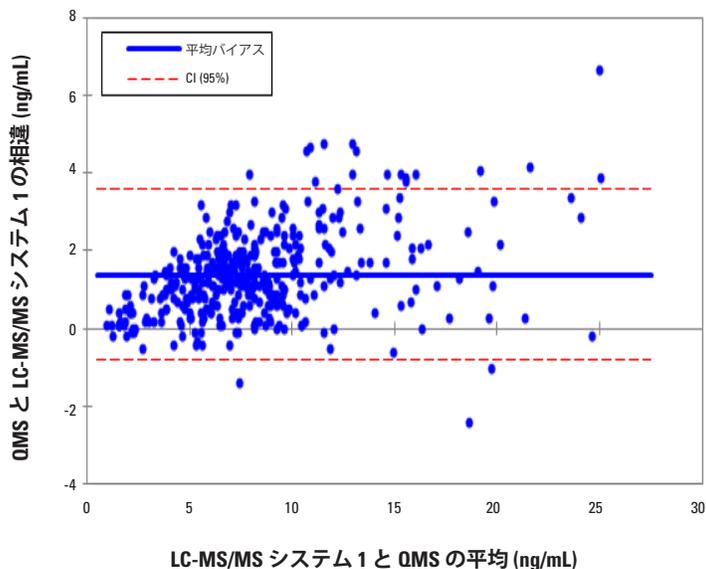
腎臓および肝臓の移植患者の試料を組み合わせ使用し、QMS タクロリムス法と Abbott ARCHITECT タクロリムス法を比較した散布図。

QMS タクロリムスと ARCHITECT タクロリムス



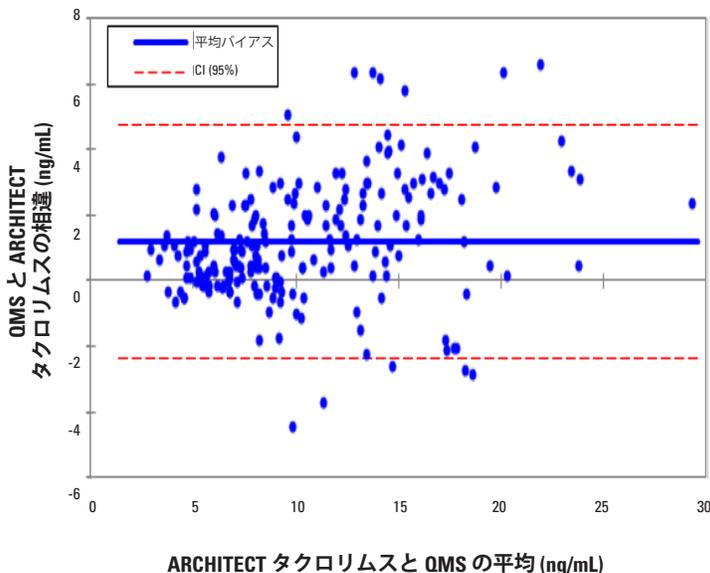
腎臓、肝臓、心臓の移植患者の試料を組み合わせ使用し、QMS タクロリムス法と LC-MS/MS システム 1 を比較した Bland - Altman バイアス プロット。¹⁷ 平均バイアスは、QMS タクロリムス イムノアッセイおよび LC-MS/MS システム 1 の測定値間の平均差として算出されます。

QMS タクロリムスと LC-MS/MS の相違



腎臓および肝臓の移植患者の試料を組み合わせ使用し、QMS タクロリムス法と Abbott ARCHITECT タクロリムス アッセイを比較した Bland - Altman バイアス プロット。¹⁷ 平均バイアスは、QMS タクロリムス イムノアッセイおよび ARCHITECT タクロリムス法の測定値間の平均差として算出されます。

QMS タクロリムスと ARCHITECT タクロリムスの相違



特異性

CLSI プロトコル EP7-A2 をガイドラインとして用いて、特異性試験を実施しました。¹⁸ タクロリムスの主要な有効代謝物について交差反応を調べました。また、日常的にタクロリムスと併用される薬剤についても、本 QMS タクロリムス イムノアッセイを用いたタクロリムスの定量において、これらの薬剤が影響を及ぼすかどうかを調べました。

以下の式を用いて、代謝物の交差反応率を算出しました。

$$\text{交差反応 (\%)} = \frac{\text{測定濃度} - \text{予測濃度}}{\text{交差反応物質の濃度}} \times 100$$

タクロリムス代謝物との交差反応

QMS タクロリムス イムノアッセイのタクロリムス主要代謝物に対する交差反応を以下の表に示します。2種類の濃度のタクロリムス薬剤を含有するヒト全血試料に、試験化合物を添加して、3回ずつ測定しました。交差反応率が算出されました。

| タクロリムス代謝物 | 代謝物の濃度 (ng/mL) | 予測濃度 (ng/mL) | 測定濃度 (ng/mL) | 回収率 (%) | 交差反応 (%) |
|--|----------------|--------------|--------------|---------|----------|
| M-I (13-0- デメチル) | 20 | 5.8 | 7.6 | 131.0 | 9.2 |
| | 20 | 13.3 | 14.8 | 111.3 | 7.7 |
| M-II (31-0- デメチル) | 20 | 5.7 | 5.9 | 103.5 | 0.7 |
| | 20 | 13.2 | 13.1 | 99.2 | -0.5 |
| M-III (15-0- デメチル) | 20 | 5.3 | 6.0 | 113.2 | 3.8 |
| | 20 | 12.4 | 13.0 | 104.8 | 2.7 |
| M-IV (12- ヒドロキシ) | 3.5 | 14.6 | 18.7 | 128.1 | 117.1 |
| | 3.3 | 21.2 | 27.0 | 127.4 | 174.8 |
| | 20 | 5.0 | 6.1 | 122.0 | 5.7 |
| | 20 | 12.0 | 14.1 | 117.5 | 10.5 |
| M-VII (13,15-0- ジデメチル) | 20 | 5.4 | 7.3 | 135.2 | 9.3 |
| | 20 | 13.4 | 14.7 | 109.7 | 6.7 |
| M-VII (13,15-0- ジデメチル) + M-VI (13,31-0- ジデメチル) | 20 | 5.4 | 5.8 | 107.4 | 2.2 |
| | 20 | 13.4 | 13.8 | 103.0 | 2.0 |

回収率 (%) = (測定濃度 ÷ 予測濃度) x 100

タクロリムス代謝物 M-IV で観察された交差反応は、174.8% 以下でした。タクロリムス代謝物 M-V と M-VIII の交差反応は評価されていません。

タクロリムスの患者試料に含まれるタクロリムス代謝物の濃度は、親化合物に比べて低く、M-I 約 6%、M-II 約 15%、M-III 約 6% で、M-IV はほとんど検出不能でした。^{9,12,19}

妨害物質

CLSI プロトコル EP7-A2 をガイドラインとして用いて、妨害試験を実施しました。¹⁸ 潜在的妨害があるかどうかを確認するために、タクロリムス併用薬や普通薬を使用して QMS タクロリムス イムノアッセイを試験しました。約 5 および 12 ng/mL のタクロリムス薬剤を含有するヒト全血試料に、試験化合物を添加し、QMS タクロリムス イムノアッセイを用いて測定しました。タクロリムス濃度の回収率の誤差が 10% を超える場合はアッセイの妨害があるとみなしました。次の表に記載された濃度で試験を実施した化合物では、アッセイの妨害はありません。タクロリムスの平均回収率は 91 ~ 109% の範囲でした。

| 化合物 | 濃度 (ng/mL) | 化合物 | 濃度 (ng/mL) |
|--------------------------------------|------------|--------------|------------|
| アセトアミノフェン | 200,000 | カナマイシン B 硫酸塩 | 100,000 |
| アシクロガアニシン / アシクロビル | 1,000,000 | ケトコナゾール | 100,000 |
| アロプリノール | 50,000 | ラベタロール | 17,100 |
| アミカシン硫酸塩 | 150,000 | リドカイン | 100,000 |
| アムホテリシン B | 100,000 | リチウム | 35,000 |
| アンピシリン | 100,000 | ロバスタチン | 20,000 |
| アブレゾリン / ヒドララジン | 100,000 | メチルプレドニゾロン | 100,000 |
| アテノロール | 40,000 | メトクロプラミド | 100,000 |
| アザチオプリン | 100,000 | ミノキシジル | 60,000 |
| アジスロマイシン | 5,000 | モルヒネ硫酸塩 | 100,000 |
| プロモクリプテン / 2-プロモ- α -エルゴクリプテン | 8,000 | ミコフェノール酸 | 100,000 |

表の続き

| 化合物 | 濃度 (ng/mL) | 化合物 | 濃度 (ng/mL) |
|---------------------|------------|------------------|------------|
| カルバマゼピン | 120,000 | N-アセチルプロカインアミド | 120,000 |
| セファゾリン | 150,000 | ナドロール | 1,200 |
| セフトリアキソン | 500,000 | ナプロキセン | 100,000 |
| セファロスポリン C | 100,000 | ニカルジピン | 500 |
| クロルプロマジン | 50,000 | ニコチン | 20,000 |
| クロラムフェニコール | 250,000 | ニフェジピン | 100,000 |
| クオルジアゼボキシド | 20,000 | ペニシリン G | 100,000 |
| クロロキン | 1,500 | ペントバルビタール | 100,000 |
| シメチジン | 100,000 | フェノバルビタール | 150,000 |
| シプロフロキサシン | 7,400 | フェニトイン | 100,000 |
| クラリスロマイシン | 5,000 | プラゾシン | 100,000 |
| クロニジン | 100 | プレドニゾロン | 100,000 |
| コルヒチン | 90 | プレドニゾン | 100,000 |
| コルチゾン | 1,200 | プリミドン | 100,000 |
| シクロスポリン / シクロスポリン A | 10,000 | プロブコール | 600,000 |
| ジアゼパム | 20,000 | プロカインアミド | 100,000 |
| ジギトキシン | 100,000 | プロポキシフェン | 4,000 |
| ジゴキシン | 10,000 | プロプラノロール | 40,000 |
| ジルチアゼム | 60,000 | キニジン | 100,000 |
| ジソピラミド | 100,000 | ラニチジン | 200,000 |
| エリスロマイシン | 200,000 | リファンピン / リファンピシン | 100,000 |
| エトスクシミド | 300,000 | サリチル酸 | 500,000 |
| エベロリムス | 100 | シロリムス (ラパマイシン) | 300 |
| ファモチジン | 10,000 | スペクチノマイシン | 100,000 |
| フルコナゾール | 100,000 | ストレプトマイシン | 100,000 |
| フルシトシン / 5-フルオロシトシン | 40,000 | スルファメトキサゾール | 150,000 |
| フロセミド | 100,000 | テオフィリン | 250,000 |
| ガンシクロビル | 1,000,000 | チクロピジン | 150,000 |
| ゲムフィブロジル | 100,000 | トブラマイシン | 100,000 |
| ゲンタマイシン | 120,000 | トリアムテレン | 100,000 |
| ヒドロクロロチアジド | 40,000 | トリメトプリム | 40,000 |
| ヒドロコルチゾール | 100,000 | バルプロ酸 | 500,000 |
| イブプロフェン | 400,000 | バンコマイシン | 100,000 |
| イトラコナゾール | 100,000 | ベラパミル | 100,000 |
| カナマイシン A 硫酸塩 | 100,000 | | |

以下の潜在的な内因性妨害物質について、QMS タクロリムス イムノアッセイを用いて以下の濃度で試験を行ったところ、92 ~ 108% の回収率を示しました。

| 潜在的な妨害物質 | 濃度 |
|--------------------|-------------|
| アルブミン | 12 g/dL |
| ビリルビン | 60 mg/dL |
| コレステロール | 500 mg/dL |
| クレアチニン | 5 mg/dL |
| トリグリセリド | 1,500 mg/dL |
| 尿酸 | 20 mg/dL |
| IgG γ グロブリン | 12 g/dL |
| リウマチ因子 | 500 IU/mL |
| HAMA* | 400 ng/mL |
| ヘマトクリット | 12 ~ 64% |

*HAMA = ヒト抗マウス抗体

引用文献

1. Kino T, Hatanaka H, Miyata S, et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a streptomyces II. Immunosuppressive effect of FK-506 *in vitro*. *J Antibiotics* 1987; 40:1256-1265.
2. Bierer BE, Jin YJ, Fruman DA, et al. FK506 and rapamycin: molecular probes of T-lymphocyte activation. *Transplant Proc* 1991;23:2850-2855.
3. Schreiber SL. Chemistry and biology of the immunophilins and their immunosuppressive ligands. *Science* 1991;251:283-287.
4. Thomson AW, Bonham CA, and Zeevi A. Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. *Ther Drug Monit* 1995;17:584-591.
5. Griffith JP, Kim JL, Kim EE, et al. X-ray structure of calcineurin inhibited by the immunophilin-immunosuppressant FKBP12-FK506 complex. *Cell* 1995;82:507-522.
6. Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus document; therapeutic monitoring of tacrolimus (FK-506). *Ther Drug Monit* 1995;17:606-614.
7. Physicians' Desk Reference, 58th ed. Thomson PDR at Montvale, NJ. 2004; PROGRAF®: 1323-1327.
8. Lhoest GJ, Maton N, Latinne D, et al. 15-desmethyl FK-506 and 15,31-desmethyl FK-506 from human liver microsomes: isolation, identification (by fast atom bombardment mass spectrometry and NMR), and evaluation of *in vitro* immunosuppressive activity. *Clin chem.* 1994;40:740-744.
9. Gonschior AK, Christians U, Winkler M, et al. Tacrolimus (FK506) metabolite patterns in blood from liver and kidney transplant patients. *Clin Chem.* 1996;42:1426-1432.
10. Alak AM. Measurement of tacrolimus (FK506) and its metabolites: a review of assay development and application in therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. *Ther Drug Monit.* 1997;19:338-351.
11. Jusko WJ. Analysis of tacrolimus (FK506) in relation to therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit.* 1995;17:596-601.
12. Christians U, Pokaiyavanichkul T, Chan L, Tacrolimus, Applied Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Principals of Therapeutic Drug Monitoring. 4th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA 2005: 529-562.
13. Staatz CE, Willis C, Taylor PJ, and Tett SE. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther.* 2002;72:660-669.
14. PROGRAF® [package insert]. Deerfield, IL: Astellas Pharma US, Inc.; 2012.
15. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2 [ISBN 1-56238-542-9]. NCCLS, Wayne, PA, 2004.
16. Deming WE. Statistical adjustment of data. New York: Wiley, 1943. (Dover Publications edition, 1985; Dover Publications, New York)
17. Bland JM, Altman DG. "Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement". *Lancet* 327 (8476) 1986: 307-310.
18. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP7-A2 [ISBN 1-56238-584-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2005.
19. Mancinelli LM, Frassetto L, Floren LC, Dressler D, Carrier S, Bekersky I, Benet L, and Christians U. The pharmacokinetics and metabolic disposition of tacrolimus: A comparison across ethnic groups. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69:24-31.

用語集：

<http://www.thermofisher.com/symbols-glossary>



製造元：

Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
米国フリーダイヤル：800-626-0690



Authorized Representative in E.U.:
B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

カスタマー サービス

米国フリーダイヤル：1-800-232-3342
上記以外の国の場合：お住まいの地域の Microgenics の担当者にご連絡ください。

Bio-Rad Lyphocheck® は Bio-Rad® の登録商標です。
MORE Diagnostics Controls は MORE Diagnostics, Inc. の所有物です。
ARCHITECT は Abbott Laboratories® の登録商標です。
その他の商標はすべて、Thermo Fisher Scientific Inc. およびその子会社の所有物です。
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.



添付文書改訂版の閲覧先：
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-11-JA
2020 10

thermo
scientific