[Jpn. J. Hosp. Pharm.]
15(5) 368-372 (1989)

血中メキシレチン濃度測定における蛍光偏光免疫測定法の評価

濱島昌子*¹, 福島昭二*¹, 猪爪信夫*¹, 小川久雄*², 奥村 謙*²,
泰江弘文*², 中野眞汎*¹

熊本大学医学部附属病院薬剤部*¹, 同循環器内科*²

Evaluation of the Fluorescence Polarization Immunoassay Method for Determination of Serum Mexiletine Concentrations

MASAKO HAMASHIMA*¹, SHOJI FUKUSHIMA*¹,
NOBUO INOTSUME*¹, HISAO OGAWA*², KEN OKUMURA*²,
HIROFUMI YASUE*², and MASAHIRO NAKANO*¹

Department of Pharmaceutical Services, Kumamoto University Hospital*¹
Division of Cardiology, Kumamoto University Hospital*²

(Received August 4, 1989)

Keywords—serum mexiletine concentration; fluorescence polarization immunoassay (FPIA);
high-performance liquid chromatography (HPLC)

緒 言

メキシレチンは頻脈性不整脈（心室性）に有効^{1,2)}な、Vaughan-Williams 分類の class I b に属する³⁾ 抗不整脈薬であり、静脈内投与と経口投与が可能である。メキシレチンを経口投与後の吸収は良好であり、bioavailability は83%以上⁴⁾、最高血中薬物濃度は2～4時間で得られ⁴⁾、また半減期は10時間と比較的長い^{4,6)}。このため1日2～3回の投与で有効血中濃度を維持できるとされる⁶⁾。しかし治療域は0.5～2.0 $\mu\text{g/ml}$ ⁷⁾と狭く、2.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上で副作用の発現頻度が増加する⁸⁾。また排泄速度には個人差が大きいことが知られている⁶⁾。このためメキシレチンによる治療では血中濃度モニタリングが必要である。

血中メキシレチン濃度測定は、従来高速液体クロマトグラフ法（HPLC法）で行われてきた⁹⁾が、簡便性、迅速性の点で臨床的な有用性は十分ではなかった。今回著者らは、蛍光偏光免疫測定法（FPIA法）による、新し

く開発された簡便な血中メキシレチン測定キットを試用する機会を得た。そこで本キットの同時測定内再現性、測定間再現性、血中共存物質の影響など、その信頼性を評価し、またHPLC法との相関性について検討したので報告する。

実 験 の 部

1. FPIA 法

TDx 全自動蛍光偏光免疫測定装置（ダイナボット）を用いて測定した。試薬はダイナボット社より提供されたTDx Mexiletine、メキシレチンキャリブレーション、メキシレチンコントロール（低濃度 L; 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 、中濃度 M; 3.0 $\mu\text{g/ml}$ 、高濃度 H; 7.5 $\mu\text{g/ml}$ ）を用いた。1回の測定には50 μl の試料を用いた。

同時測定内再現性、測定間再現性、検量線の安定性、希釈試験、添加回収試験、共存物質（ビリルビン、ヘモグロビン）の影響などについて本法にて検討した。ビリルビンはビリルビンスタンダード（日本商事）を、ヘモグロビンは健康成人より提供された赤血球を溶血させて得たものを使用した。

*^{1,2} 熊本市本荘1-1-1; 1-1-1, Honjo, Kumamoto, 860 Japan

2. HPLC 法

試料調製および測定は坂本⁹⁾の方法を改変して行った。すなわち、血清 0.5ml に内部標準物質水溶液（メチルメキシレチン）0.5ml を加え、さらに 0.5N 水酸化ナトリウム水溶液 0.1ml を加えてアルカリ性とした後、エーテル 5ml で抽出した。得られたエーテル層に 0.05M リン酸水溶液 0.5ml を加えて逆抽出し、水層中に含まれるエーテルを水流エバポレーターで留去した後、50 μ l を HPLC カラムに注入した。装置は島津高速液体クロマトグラフ用オートインジェクタ SIL-9A を装着した島津 LC-6A 型高速液体クロマトグラフを使用した。測定カラムは LiChrospher RP-Select B, 250 $\times$ 4mm（メルク）を 50 $^{\circ}$ C にて使用した。移動相は 0.05M KH_2PO_4 -アセトニトリル（8:2, v/v）を用い、流速は 0.9ml/min とした。検出は UV 検出器を用い、測定波長は 205nm とした。本条件でのクロマトグラムを図 1 に示す。

3. FPIA 法と HPLC 法との相関性

メキシレチン添加血清 25 検体、およびメキシレチン服用患者血清 30 検体について FPIA 法（2 重測定）と HPLC 法で測定し、両測定値の相関性を検討した。

図 1. HPLC 法でのクロマトグラム

左：ブランク血清，右：スパイク血清
保持時間：A（メキシレチン，0.5 μ g/ml），
13.3 min

B（I.S.，0.5 μ g/ml），27.3 min

結 果

1. 同時測定内再現性

表 1 に、3 種類の濃度のメキシレチンコントロールを各々同時に 10 回測定した結果を示す。メキシレチンコントロールの L, M, H いずれにおいても、変動係数は 3% 未満を示し、同時測定内での再現性は高い精度であった。

2. 測定間再現性

表 2 に、検量線を作成する毎に 3 種類の濃度のメキシレチンコントロールを 2 重測定し、それを 5 回行った結果を示す。

メキシレチンコントロールの L, M, H いずれにおいても、変動係数は 4% 未満を示し、各測定間においても高い精度の再現性が得られた。

3. 検量線の安定性

表 1. 同時測定内再現性

同時測定 No.	濃度測定値 (μ g/ml)		
	L	M	H
1	0.50	2.55	7.38
2	0.54	2.72	7.14
3	0.53	2.74	7.45
4	0.52	2.65	7.66
5	0.53	2.67	7.36
6	0.51	2.79	7.55
7	0.51	2.80	7.22
8	0.53	2.82	7.40
9	0.51	2.73	7.23
10	0.50	2.68	7.31
平均値	0.52	2.72	7.37
標準偏差	0.01	0.08	0.16
変動係数 (CV%)	1.92	2.94	2.17

表 2. 測定間再現性

測定 No.	濃度測定値 (μ g/ml)		
	L	M	H
1	0.58	2.96	7.15
2	0.55	3.01	7.51
3	0.52	3.02	7.31
4	0.55	3.27	7.55
5	0.54	3.03	7.73
平均値	0.55	3.06	7.45
標準偏差	0.02	0.12	0.22
変動係数 (CV%)	3.64	3.92	2.95

各測定値は 2 重測定の平均値

表3. 検量線の安定性

検量線作成日よりの日数	濃度測定値 ($\mu\text{g/ml}$)		
	L	M	H
0	0.51	2.90	7.57
3	0.56	3.09	8.18
5	0.57	3.02	8.21
7	0.56	2.96	7.65
10	0.53	2.88	7.92
12	0.50	2.72	6.95
14	0.57	2.90	7.56
平均値	0.54	2.92	7.72
標準偏差	0.03	0.12	0.44
変動係数 (CV%)	5.56	4.11	5.70

各測定値は2重測定の平均値

表3に、同一の検量線を使用し、3種類の濃度のメキシレチンコントロールを2週間にわたり計7回、2重測定した結果を示す。

メキシレチンコントロールのL, M, Hいずれにおいても、変動係数は6%未満を示し、検量線は2週間にわたり安定に使用できることがわかった。

4. 希釈試験

図2に、3種類の濃度の異なる患者血清をTDx緩衝液で希釈して測定した際の、希釈率と測定値との関係を

図2. 希釈率と測定値との関係
各ポイントは3重測定の平均値

を示す。

3種類の血清のいずれも、ほぼ原点を通る直線性を示し、相関係数は2種類の検体で0.999以上であり、残りの1種類では0.998であった。このことより、検体を希釈した場合でも正確に測定可能であることがわかった。

5. 添加回収試験

表4に、4種類の濃度の異なる患者血清に一定量のメキシレチンキャリブレータを添加して測定し、得られた結果、および計算された回収率を示す。いずれの検体においても、回収率は92%以上を示した。

6. 共存物質の影響

図3、図4に、3種類の濃度の異なる患者血清にビリ

表4. 添加回収試験

サンプル	添加濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	測定値 ($\mu\text{g/ml}$)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
1	0	0.48	—	94.9
	0.5	0.95	94.0	
	1.25	1.69	96.8	
	2.5	2.83	94.0	
2	0	0.84	—	100.5
	0.5	1.40	112.0	
	1.25	2.05	96.8	
	2.5	3.16	92.8	
3	0	0.26	—	98.0
	0.5	0.79	106.0	
	1.25	1.42	92.8	
	2.5	2.64	95.2	
4	0	0.64	—	92.5
	0.5	1.10	92.0	
	1.25	1.82	94.4	
	2.5	2.92	91.2

図3. 共存ヘモグロビンの測定値への影響
各ポイントは3重測定の実値

図4. 共存ビリルビンの測定値への影響
各ポイントは3重測定の実値

図5. FPIA 法と HPLC 法との相関性

ルビンあるいはヘモグロビンを加えて測定した際の、共存物質の濃度と測定値との関係を示す。ビリルビン、ヘモグロビンいずれも測定値には全く影響を及ぼさないことがわかった。

7. FPIA 法と HPLC 法の相関性

図5に FPIA 法と HPLC 法の相関性を示す。回帰式 $y=1.094x+0.00055$ 、相関係数 $r=0.9993$ が得られ、極めて高い相関性が見られた。

考 察

FPIA 法による簡便・迅速な薬物血中濃度測定法は、臨床的に有用な方法として高く評価されており、多数の薬物について測定キットが市販されている。しかし、さらに多数の薬物について血中濃度モニタリングの必要性が指摘されており、FPIA 法による測定キットの開発が望まれている。

メキシレチンも血中濃度モニタリングが必要とされる薬物であるが、従来は HPLC 法で測定が行われてきた。HPLC 法では同時に多数の薬物の測定ができ、また測定に要する費用が少ないなどの利点はあるが、迅速性、簡便性の点で臨床的には十分有用な方法ではない。

今回開発された FPIA 法によるメキシレチン測定キットは、同時測定内再現性での変動係数が3%未満、測定間再現性での変動係数が4%未満と優れた精度を示しており、また検量線は2週間以上にわたり安定であり、希釈試験、添加回収試験でも精度の高い結果を示した。また、ビリルビンおよびヘモグロビンが共存しても測定値に影響はないことから、溶血血清や黄疸血清でも信頼性の高い測定値が得られるものと考えられる。さらに FPIA 法と HPLC 法は相関係数 $r=0.999$ という極めて高い相関性を示した。これらのことより、FPIA 法によるメキシレチン測定キットは信頼性が高く、さらに簡便、迅速であることから臨床的に十分有用なものであると考えられる。

謝辞 本研究に際し、メキシレチン測定キットをご提供いただいたダイナボット株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) 山田和生, 外山淳治, 渡辺 務, 村上英二, 元田 憲, 伊藤裕康, 下村克明, 杉本恒朗, 藤浪隆夫, 外畑 巖, 小川宏一, 神戸 忠, 水野 康, 山崎 昇, 竹沢英朗, 心電図, 3, 231-250 (1983).
- 2) 加藤和三, 早川弘一, 長田洋文, 松尾博司, 笠賀 宏, 木村栄一, 小川暢也, 臨床と研究, 61, 2693-2704 (1984).
- 3) E.M. Vaughan Williams, *J. Clin. Pharmacol.*, 24, 129-147 (1984).
- 4) K. Ohashi, A. Ebihara, T. Hashimoto, S. Hōsōda, K. Kondo, and T. Oka, *Arzneimittelforschung*, 34, 503-507 (1984).

- 5) 加藤林也, 外畑 敏, 林 博史, 横田充弘, 山内一信, 都築美紀, 棚橋淑文, 臨床薬理, 13, 505-513 (1982).
- 6) 越前宏俊, 辻本豪三, 石崎高志, “薬物投与計画マニュアル, TDM による至適治療へのアプローチ”, 医学書院, 東京, 1986, pp.76-80.
- 7) 加藤林也, 稻垣春夫, 近藤照夫, 石川富久, 石部義隆, 市江良康, 棚橋淑文, 横田充弘, 林 博史, 外畑 敏, 長倉明人, 臨床薬理, 11, 363-364 (1980).
- 8) 山田和生, 外山淳治, 小川宏一, 神戸 忠, 元田憲, 下村克明, 杉本恒朗, 外畑 敏, 竹沢英朗, 伊藤裕康, 藤浪隆夫, 水野 康, 村上英二, 山崎昇, 渡辺 務, 薬理と治療, 11, 695-708(1983).
- 9) 坂本伸哉, 太田 哲郎, TDM 研究, 3, 126-128 (1986).

健康社会への
創造に奉仕する...

菱山の医薬品

薬価基準収載

循環系障害改善剤

カルニアチンS錠

(1錠中カリジノゲナーゼ25国際単位含有)

筋緊張性疼痛疾患治療剤

ゴリスパー錠

(1錠中カルバミン酸クロルフェネシン250mg含有)

ビタミンB₁誘導体制剤

ダイヤビタン注

(1管20ml中フルスルチアミン50mg含有)

抗炎症性含嗽剤

含嗽用AZ細粒
ヒシヤマ

(1包2g中アズレンスルホン酸ナトリウム2mg含有)

★効能・効果、用法・用量、使用上の注意等は添付文書をご参照下さい

★資料請求先：菱山製薬株式会社 學術部(住所：下記)

21世紀に向けて躍動する
菱山製薬株式会社

〒541 大阪市中央区道修町2丁目2番7号