

《ノート》

Radioimmunoassay による血中ジゴキシン濃度の測定 —SPAC DIGOXIN Kit による検討—

Fundamental and Clinical Evaluation of Serum Digoxin Measurement
by SPAC DIGOXIN Kit

西村 圭弘* 林 真* 西村 宏美* 本杉 伸*
岡 千津子* 佐合 正義* 西村 恒彦*

Yoshihiro NISHIMURA*, Makoto HAYASHI*, Hiromi NISHIMURA*, Shin MOTOSUGI*,
Chizuko OKA*, Masayoshi SAGOH*, and Tunehiko NISHIMURA*

**Department of Radiology, National Cardiovascular Center*

I. はじめに

心疾患の治療上不可欠な薬剤であるジキタリス剤は、その使用に当たっては、常にその副作用、すなわちジキタリス中毒の出現に留意を必要とする。したがって、血中ジゴキシン濃度の測定が必要であり、radioimmunoassay (RIA) 法が注目されている。そこで、今回、われわれは試験管固相法によるスペック・ジゴキシン・キット（マリンクロット社）を使用する機会を得たので、血中ジゴキシン濃度測定について、基礎的ならびに臨床的検討を行いその有用性を検討したので報告する。

II. 方法ならびに対象

スペック・ジゴキシン・キットの測定方法は Table 1 に示すように、標準血清または患者血清 100 μl を抗体がコーティングされているチューブに入れ、次に、 ^{125}I -ジゴキシン入り緩衡液 1 mL を加え、37°C、1 時間のインキュベーションを行う。B-F 分離は、チューブ固相法で行い、洗浄

およびアスピレートにより、反応液除去後、ガスマーカウンターにて測定した。

健常 5 症例にて、ジゴキシン 0.25 mg を初回経口投与し、経時的に採血を行いジゴキシンの代謝を測定した。また、臨床例では、各種心疾患 25 症例で、経口ジゴキシン使用中の患者について、血中ジゴキシン濃度を測定した。

III. 検討項目

Table 1 の測定方法にしたがい、以下の項目について検討を加えた。

1. 基礎的検討

- 1) インキュベーションの温度と時間の影響
- 2) 精度 (intra-assay variation) と再現性 (inter-assay variation)
- 3) 回収率試験
- 4) 希釈試験
- 5) 他キットとの相関

2. 臨床的検討

- 1) 正常者における血中ジゴキシン濃度の経時的变化
- 2) 投与量に対する血中ジゴキシン濃度

Key words: Radioimmunoassay, Serum Digoxin Level, Solid Phase Method.

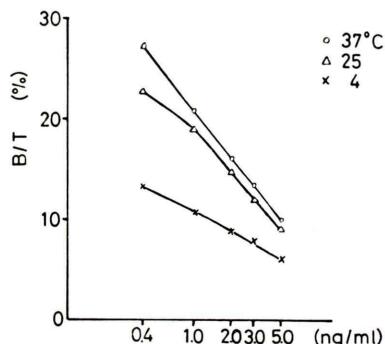
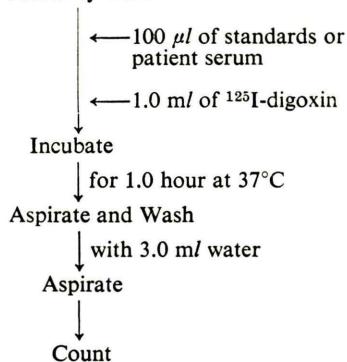
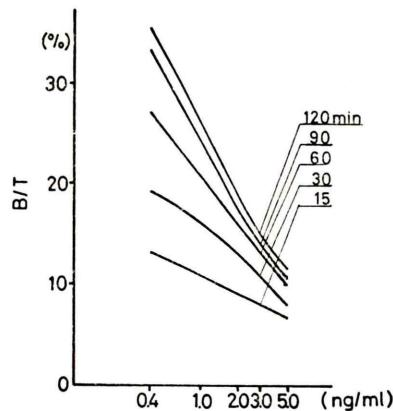
* 国立循環器病センター放診部

受付：56年11月9日

最終稿受付：57年1月26日

別刷請求先：吹田市藤白台 5-125 (番 565)

西 村 圭 弘

Table 1 Assay Procedure**Antibody Tube****Fig. 1 Effect of incubation temperature.****Fig. 2 Effect of incubation time.**

3) ジゴキシン維持治療患者の血中ジゴキシン濃度

IV. 結 果**1. 基礎的検討****(1) インキュベーション温度の影響 (Fig. 1)**

インキュベーション時間を1時間と一定にし、インキュベーション温度を4°C, 25°C, 37°Cの3段階で行った場合の標準曲線の変化をFig. 1に示した。37°Cにおいて、もっとも感度の良い標準曲線が得られた。

インキュベーション時間の影響 (Fig. 2)

次にインキュベーション時間を15分, 30分, 60分, 90分, 120分の5段階で行ったところ、標準曲線は、30分から120分までRIAとして使用可能と考えられた。

(2) 精度および再現性

本法による測定内および測定間変動係数を濃度の異なる3種類の患者血清を用いて測定を行ったところ、Table 2に示すように、測定内変動係数(C.V.)は、3.4%~7.6%であり、測定間変動係数(C.V.)は、5.2%~7.3%と良好であった。

(3) 回収率試験

既知濃度の血清試料に、標準血清0, 0.4, 1.0, 2.0, 3.0および5.0 ng/mlを等量添加し測定した結果をTable 3に示すが、平均109.1%と良好な回収率を示した。

Table 2 Reproducibility of the assay

Intra-assay			
Serum	D	E	F
n	10	10	10
\bar{x}	0.44	1.59	2.77
SD	0.03	0.06	0.10
C.V. %	7.58	3.92	3.44
Inter-assay			
Serum	A	B	C
n	3	3	3
\bar{x}	0.35	2.14	3.06
SD	0.03	0.15	0.16
C.V. %	7.26	7.04	5.19

Table 3 Recovery test

Serum (μ l)	Added digoxin (μ l of ng/ml)	Measured (ng/ml)	Recovered (ng/ml)	Recovery (%)
100	0		3.11	
50	50 of 0.0	1.56	1.56	100.0
50	50 of 0.4	1.76	1.78	101.1
50	50 of 1.0	2.06	2.08	101.0
50	50 of 2.0	2.56	2.18	85.2
50	50 of 3.0	3.06	3.36	109.8
50	50 of 5.0	4.06	5.10	125.6
100	0		2.68	
50	50 of 0.0	1.34	1.40	104.5
50	50 of 0.4	1.54	1.83	118.8
50	50 of 1.0	1.84	2.17	117.9
50	50 of 2.0	2.34	2.35	100.4
50	50 of 3.0	2.84	2.84	100.0
50	50 of 5.0	3.84	4.34	113.0

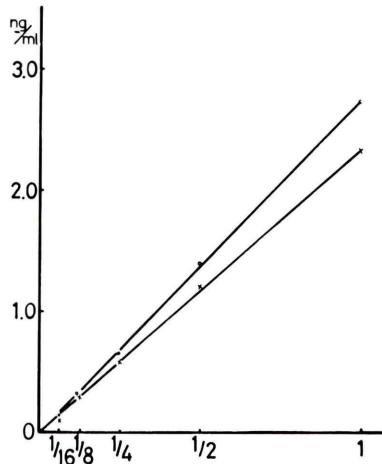


Fig. 3 Dilution Test of Serum Digoxin.

(4) 希釈試験 (Fig. 3)

濃度の異なる2検体において、キット添付の0濃度の標準液で、2倍から16倍まで希釈を行った。

その測定値は、ほぼ原点を通る直線上にプロットできるが、16倍希釈時において、少し直線からはずれた結果を示した。これは、0.2 ng/ml以下の低濃度であるため、測定誤差が大きいと考えられる。

(5) 他キットとの比較 (Fig. 4)

本法とポリエチレン・グリコール法 (PEG 法)

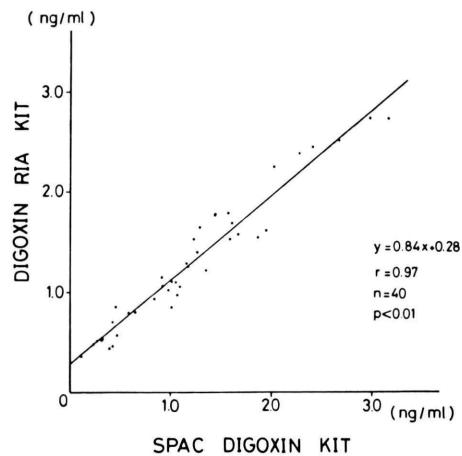


Fig. 4 Correlation between SPAC DIGOXIN KIT and DIGOXIN RIA KIT.

によるジゴキシン・リア・キット (ダイナボット社) との相関を患者血清40例について検討した。その相関は $r=0.97$ ($p<0.01$) と良好であり、回帰直線 $Y=0.84X+0.28$ であった。

2. 臨床的検討

(1) 正常者における血中ジゴキシン濃度の経時的变化 (Fig. 5)

正常者5例において、ジゴキシン 0.25 mg を初回経口投与し、投与前、投与後30分、1時間、2時間、4時間、6時間および12時間の血中ジゴキ

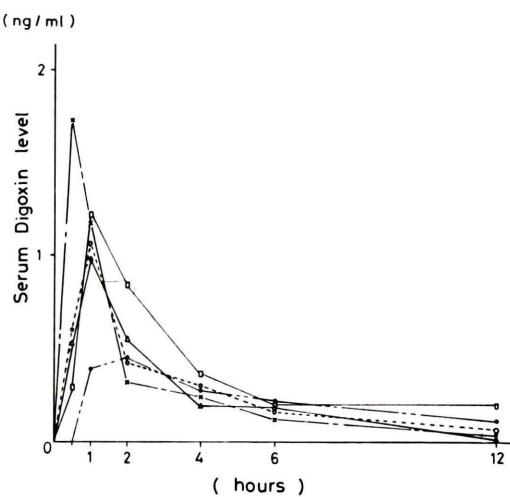


Fig. 5 Serum Digoxin levels in normal subjects after administration of Digoxin (0.25 mg).

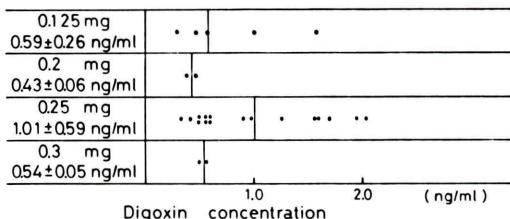


Fig. 6 Correlation of therapeutic dosage with serum concentration of Digoxin (nontoxic cases).

シン濃度の経時的变化をFig. 5に示す。30分から2時間で最高値に達し、以後減少し6時間で0.12~0.22 ng/mlの範囲で安定した値を示した。

(2) 投与量に対する血中ジゴキシン濃度

Fig. 6は、ジゴキシン維持療法中で非中毒である症例の血中濃度を1日の投与量ごとにわけて示したものである。一般的には、投与量と血中濃度には相関がみられるが^{1~3)}、各ジゴキシン投与量と血中濃度の関係は、0.125 mgでは、0.59±0.26 ng/ml (n=5)、0.2 mgでは0.43±0.06 ng/ml (n=2)、0.25 mgでは、1.01±0.59 ng/ml (n=16)、0.3 mgでは、0.54±0.05 ng/ml (n=2)となり、投与量の差に対して各群の血中濃度の平均値には大差がなく、各群での血中濃度のばらつきは大きい。



Fig. 7 Serum Digoxin Concentration.

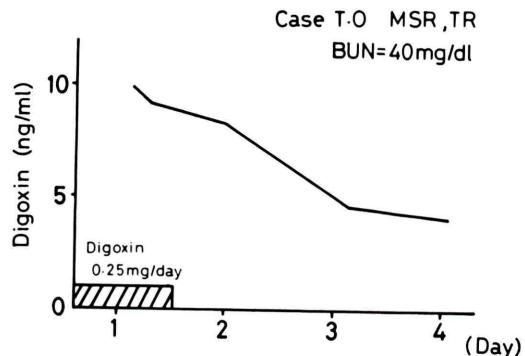


Fig. 8 Serum Digoxin Concentration.

(3) ジゴキシン治療患者における血中ジゴキシン濃度の経時的変化

Fig. 7は、2か月前よりジゴキシン0.25 mg/日経口投与している動脈管開存兼僧帽弁閉鎖不全症例である。腎機能障害はなく、臨床的に中毒症状を呈していない患者である。Fig. 5の健常者同様、ジゴキシン内服後1時間後に、2.22 ng/mlの最高値を示し、その後、ゆるやかに減少し6時間後に1.55 ng/mlを示し、ジゴキシン投与前の1.76 ng/mlと考えあわせ、血中ジゴキシン濃度がよく維持されていることが示される。一方、Fig. 8は、僧帽弁狭窄兼閉鎖不全症例である。血液尿素窒素(BUN)が40 mg/dlと高値を示し、腎機能障害があり、ジゴキシン0.25 mg/日の経口投与中に中毒症状を示した、血中ジゴキシン濃度は、9.8 ng/mlと高値を示し、ただちにジゴキシンを中止した。血中濃度はゆるやかに減少していったが、中止3日後でも4.0 ng/mlと高値を示した。

V. 考 察

ジゴキシン投与患者における血中ジゴキシン濃度の測定は、中毒の早期発見に有力な指標となるが、血中ジゴキシン測定が緊急を要する場合が多いことから、その測定が簡単かつ迅速な測定が望まれる。この点、今回検討したスパック・ジゴキシン・キットは、各アッセイごとに試薬を調整する必要がなく、室温にもどすだけで、ただちに測定可能である。本法は固相法であるため、これまで開発されたキットが B-F 分離に PEG や Dextra-Charcoal (D-C) を用いる際に、PEG 法では検体血清中のタンパク濃度に影響を受ける点、D-C 法では B-F 分離の際における Charcoal との接触時間の差に影響を受けるなどの欠点はない。すなわち、本法は遠心分離操作を必要とせず、Free の吸引除去、および洗浄という操作だけで測定でき、本キットの操作法はきわめて簡便である。

基礎的検討では、インキュベーション温度は 37°C ならびに室温 (25°C) いずれにおいても測定可能であるが、37°C・1 時間の条件はきわめて良好であった。次にインキュベーション時間の検討では、30 分以上、120 分まで測定可能な標準曲線が描かれ、各インキュベーション時間における検体の測定値も安定しており、短時間でも測定可能であることを示しているが、多数の検体を測定する場合、操作時間のズレが生ずるためインキュベーション時間は 60 分以上の方が測定精度が高く、安定した測定値となると考える。さらに、希釈試験、回収率試験ならびに精度についても満足すべき結果と考える。

次に臨床的検討であるが、ジゴキシン経口投与による血中ジゴキシン濃度の経時的变化は、従来報告されてきたように、吸収と体内各組織間で平衡状態に達するには 6 時間を要する⁴⁾。正常者 5 例において、ジゴキシン初回投与後 1 ~ 2 時間でピーク値を示し、以後減少し 6 時間でプラトーに達した。したがって、ジキタリス効果の指標として血中濃度を測定するときには、採血をジゴキシン投与後 6 時間以後に行った。

ジゴキシン投与量と血中濃度の関係には、比例関係が存在することが報告されているが、著者らがおこなった腎機能障害のない症例について、症例数が少ないためもあるが、ジゴキシン投与量と血中濃度には比例関係がみられず、各濃度での S.D. は大きい。これは、各群での血中濃度が非中毒の平均的な血中濃度を示しており、各濃度での S.D. が大きいことは、各症例ごとに、吸収率、代謝排泄の速さ、ジキタリス効果に差があり、画一的な投与量決定は困難であることを示している。

ジゴキシン治療計画をたてるには、腎機能、電解質異常、疾患、年齢など、いくつかの因子が存在する^{5,6)}。したがって、各症例ごとの治療計画をたてるのは困難であるが、血中ジゴキシン濃度は経時に測定すれば、代謝排泄の速さを知ることができ、各症例ごとに必要とする投与量をコントロールすることができる。

このように、ジゴキシンによる治療計画をたてる上で、血中ジゴキシン濃度の測定は臨床所見や心電図変化の観察に加えて、治療の際の 1 つの指標となり、維持量のコントロールなど各症例にあった投与量を決定するのに非常に有用であることが示唆された。

VI. おわりに

マリンクロット社ジゴキシン・キットの基礎的検討を行った結果、精度、再現性、希釈・回収率試験は良好な結果を得た。インキュベーション時間は、30 分から 120 分まで比較的短時間で測定可能で臨床の緊急性に対して適している。

また、臨床的検討から血中ジゴキシン濃度の経時的变化は、臨床病態を反映しており、臨床所見や心電図変化の観察に血中ジゴキシン濃度の測定を加えれば、病態生理に基づいた安全かつ有効な治療が行えることが示唆された。

本キットを提供していただいた、第 1 ラジオアイソotope 研究所に深謝致します。また、本キットの測定に際して御協力いただいた心臓外科、小阪井嘉夫先生、放診部、小塙隆弘先生に深謝致します。

文 献

- 1) Smith TW, et al: Determination of therapeutic and toxic serum digoxin concentrations by radioimmunoassay. *New Engl J Med* **281**: 1212, 1969
- 2) 池田精宏, 他: 臨床成人病 **7**: 1587, 1977
- 3) 山田 浩, 他: 臨床と研究 **54**: 2778, 1977
- 4) Doherty JE, Perkins WH, Mitchell GK, Mitchell GK: Tritiated digoxin studies in human subjects. *Arch Intern Med* **108**: 531, 1961
- 5) Fuisz RE, et al: Physician, edited by Laufer, D. P. et al., Searle & Co., San Juan, 1972
- 6) 安田寿一, 南 勝, 野村憲和: 強心配糖体の動的薬理学, **28**: 29, 1979