

表 4

GEE estimation analysis between delayed elimination of MTX and polymorphism of MTHFR 677C/T, and RFC1 80G/A

	Toxicity and number of A alleles in RFC1 80G/A			Toxicity and number of T alleles in MTHFR 677C/T		
	OR	95% C.I.	p value	OR	95% C.I.	p value
Delayed elimination of MTX†	0.637	0.358-1.133	0.145	2.020	0.733-5.566	0.136

Abbreviations MTX: methotrexate, MTHFR: methylenetetrahydrofolate reductase, RFC1: reduced folate carrier 1, OR: Odds ratio, 95% C.I.: 95% confidence interval

† The courses in which calciumfolinate rescues were increased because of delayed elimination of MTX

厚生労働科学研究費補助金  
(小児疾患臨床研究：小児疾患臨床研究分野)  
総合研究報告書

ジアゾキシドの血中濃度測定法の確立と薬物動態試験  
分担研究者 長谷川奉延 (慶應義塾大学医学部小児科 助教授)

**研究要旨** 高インスリン血症性低血糖症の治療薬であるジアゾキシドの用法・用量を適正に設定するためには、血中薬物濃度を測定し薬物動態を検討することが必要である。本研究では、  
1.HPLCによるジアゾキシド血中濃度測定法を確立した。2.ジアゾキシドの有効性と安全性を評価するために、多施設共同研究「高インスリン血症性低血糖症を対象としたジアゾキシドの有効性・安全性評価試験」を立ち上げた。3.血中濃度測定施設である当院においてHPLCによるジアゾキシド血中濃度測定法を再検証し、測定方法の信頼性を確認した。4.ジアゾキシド投与中患者において血中濃度測定を行い、薬物動態の検討を開始した。のべ8検体の血中濃度測定を行った。測定値はすべて測定濃度範囲内であった。今後対象数を増やし、母集団薬物動態解析(PPK)により薬物動態を解析すること、および有効性・副作用との関連を解析(PK/PD)し、ジアゾキシドの適正な使用法を明らかにすることが課題である。

**研究協力者**

佐藤 玲子 慶應義塾大学医学部薬剤部 助手  
吉田 理恵 慶應義塾大学医学部小児科 助手  
木津 りか 慶應義塾大学医学部小児科 医師

糖症を対象としたジアゾキシドの有効性・安全性評価試験」を立ち上げる。2. HPLCによるジアゾキシド血中濃度測定法を再検証する。3. ジアゾキシド投与中患者において血中濃度測定及び臨床検査を行い、薬物動態を検討する。

**A. 研究目的**

ジアゾキシドは膵臓のβ細胞からのインスリンの分泌を抑制することにより血糖の上昇を促す薬剤で、高インスリン血症性低血糖症の第一選択薬である<sup>1)3)</sup>。欧米をはじめ世界36カ国で承認され使用されている。しかし、日本では未だ未承認薬剤であり、20年以上にわたり個人輸入の形式で使用されている。患者の多くは新生児と乳幼児であり、低血糖による後遺症は重篤で、適正使用は急務である。ジアゾキシドは、現在まで血中濃度測定が行われず、投与量と血中濃度の関係、さらに血中濃度と有効性・副作用との関係が明らかになっていない。そこで、本研究の目的は以下の3点である。1. ジアゾキシドの有効性と安全性を評価するために、多施設共同研究「高インスリン血症性低血

**B. 研究方法**

① データの収集

多施設共同研究「高インスリン血症性低血糖症を対象としたジアゾキシドの有効性・安全性評価試験」を立案し、ジアゾキシドの治療経験のある85施設の主治医に対し実施計画書、同意説明文書および調査書等を送付した。実施計画書、同意説明文書の概要は以下のとおりである。  
1. 多施設共同研究に関して患者及び/または保護者の同意を得る。2. 調査書を用いて、診断名、ジアゾキシド投与量、体重・身長・血圧、血液検査結果、ジアゾキシド最終内服時刻および採血時刻、服用状況等を確認する。3. ジアゾキシドの血中濃度測定用の血清を回収する。

② 血中濃度測定方法

ジアゾキシドの血中濃度は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて測定した<sup>4)</sup>。

血清試料 100  $\mu$ l に 0.33mol/L 過塩素酸溶液、水メタノール混液 (1:1)、内標準物質溶液 (IS 溶液) であるフェナセチンを加え混合し、蛋白を沈殿させる前処置を行ったのち、遠心分離後上澄を HPLC で測定した。

HPLC の測定条件：移動相 A 液：1ml/L 酢酸含有 0.01mol/LI-ペンタンスルホン酸ナトリウム溶液 / B 液：メタノールを 25 分かけてグラジエントさせて溶出した。

機器条件

カラム：Inertsil ODS3 (5  $\mu$ m) 4.6  $\times$  150mm

検出器：UV270nm

注入量：20  $\mu$ l

濃度計算方法 得られた検量線試料のクロマトグラムから、IS に対する STD (標準物質) のピーク面積比を求め、検量線濃度とピーク面積比との関係から、直線回帰 (Weight=1/X<sup>2</sup>) させ、回帰式及び相関係数 (r) を求めた。また、STD 添加試料のクロマトグラムから IS に対する各成分のピーク面積比を得られた回帰式に代入し、測定濃度を求めた。測定濃度範囲は 0.5-200  $\mu$ g/ml 内部とした。

### C. 研究結果

#### ① データの収集

多施設共同研究「高インスリン血症性低血糖症を対象としたジアゾキシドの有効性・安全性評価試験」は慶應義塾大学病院臨床治験審査委員会 (IRB) で 2004 年 7 月 29 日に承認され、2004 年 8 月から 3 年間の予定で調査を開始した。平成 17 年 3 月現在までに 3 施設 5 名の患者が登録された。(表 1)

男女比=4:1、年齢 11 ヶ月から 9 歳 9 ヶ月、発症は日齢 1 から 3 歳 2 ヶ月、現在の内服になってからの期間は 24 日間から 6 年 6 ヶ月であった。

#### ② HPLC によるジアゾキシドの血中濃度測定法

#### の再検証

HPLC によるジアゾキシドの血中濃度測定法を、測定施設である当院で再検証した。確認項目である、特異性<sup>4)</sup> (表 2)、検量線の濃度範囲と直線性<sup>4)</sup> (表 3-①及び②)、同時再現性<sup>4)</sup> (表 4)、回収率<sup>4)</sup> (表 5)、分析中の 48 時間安定性<sup>4)</sup> の測定結果 (表 6) は、すべて許容範囲内であった。以上のように当院でのヒト血清中ジアゾキシドの HPLC による濃度測定は信頼できることを確認した。

#### ③ ジアゾキシドの血中濃度測定結果

現在までに 5 名の患者が登録され、のべ 8 検体の血中濃度測定を行った。(表 7)

#### D. 考察

今回測定したジアゾキシドの血中濃度は 5.60 ~ 43.85 ( $\mu$ g/ml) であり、すべて測定濃度範囲内 (0.5-200 [ $\mu$ g/ml]) であり、濃度範囲設定は妥当と考えた。また、これらの測定値は、1974 年 Pruitt ら<sup>5)</sup> の報告結果と相違しなかった。Pruitt らの報告では、3 人の小児のジアゾキシドの血中濃度は維持量内服で 15-50  $\mu$ g/ml であった。

また、case2 で、最終内服から採血時刻までの時間をほぼ統一して 3 回血中濃度を測定したところ、ほぼ同じ値を得た (表 8)。ジアゾキシドの薬物動態<sup>8)</sup> は十分に解明されていないため、ほぼ同じ血中濃度であった結果を 2 通りに解釈可能である。第 1 は“長期投与中の患者において血中濃度の日内変動はない”可能性、第 2 は“長期投与中の患者においても血中濃度の日内変動は存在する”可能性である。ジアゾキシドの半減期は 28  $\pm$  8.3 時間<sup>5) 9) 10)</sup> であることは第 1 の可能性を示唆する。しかし上記 2 つの可能性を鑑別するために、対象数を増やすこと、および最終内服から採血時刻までの時間をばらつかせて検討すべきである。最終的には母集団薬物動態解析 (PPK) により薬物動態を解析し、適切な投与回数や用量を検討したい。

さらに、ジアゾキシドの血中濃度と血糖値、IRI、

GA または HbA1c との関係及び、副作用との関連を解析 (PK/PD) し、ジアゾキシドの適正な使用法を明らかにしたい。なお、1974 年 Pruitt ら<sup>5)</sup>はジアゾキシド中毒量 (30mg/kg/day) 内服時の血中濃度を 120 µg/ml と報告した。小児のジアゾキシドの副作用の多くは多毛、少数は水分貯留である<sup>6)</sup>。田中ら<sup>6)</sup>は治療を中止する副作用はなかったと報告した。一方 Silvani ら<sup>7)</sup>は、日齢 43 の高インスリン血症性低血糖症の乳児にジアゾキシド (17mg/kg/day) を開始したところ、数日で肝腫大、著明な水分貯留と全身性の浮腫、心不全、呼吸不全、肺高血圧を生じ、投与後 12 日にジアゾキシドの投与を中止した、と報告した。ジアゾキシドの投与量は一般に 3~15mg/kg/day<sup>8)</sup>と個人差・年齢差を認める。今後は投与量・血中濃度と副作用の関係を解析し、副作用の軽減と予防を目指している。

#### E. 結論

HPLCによる血清中ジアゾキシド濃度測定法は信頼できることを確認した。多施設共同研究を立ち上げ、実際にジアゾキシド血中濃度測定を開始した。今後の課題は、対象数を増やした上でPPK及びPK/PD解析を行い、ジアゾキシドの適正な使用法を明らかにすることである。

#### F. 健康危険情報

該当する内容はない。

#### G. 研究発表

本研究課題に関する発表はない。

#### H. 参考資料

- 1) Nelson textbook of pediatrics 17th ed, Saunders, 2004
- 2) Pediatric endocrinology: physiology pathophysiology and clinical aspects 2nd ed, Williams & Wilkins, 1993
- 3) Current Therapy in Endocrinology &

Metabolism 5th edition Mosby 1994

- 4) 効果的医療技術の確立推進事業 平成15年度 研究報告書 2004年4月, 28-41
- 5) Pruitt AW et al., Disposition of diazoxide in children. Clin. Pharmacol. Ther. 1974; 14: 73-82
- 6) 田中敏章他,高インスリン血症性低血糖症に対する Diazoxide の有効性と安全性. 日児誌.2003;107:29-34
- 7) P. Silvani et al., A case of severe diazoxide toxicity Pediatric Anesthesia. 2004;14: 607-609
- 8) Drug information for the health care professional USP-DI 19th Ed, 1999
- 9) Pruitt AW et al., Metabolism of diazoxide in man and experimental animals. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1974; 188:248-256
- 10) Ogilvie RI. Diazoxide disposition and effect on vascular resistance and compliance in dogs. Hypertension. 1981; 3: 225-32.

表1 患者背景

case	sex	age	発症年齢	現在の投与量の内服期間
1	male	9:09	3:02	6:06
2	male	5:08	0:06	2:05
3	female	5:08	0:08	0:07
4	male	0:11	day3	24days
5	male	4:08	day1	0:07

(year:month)

表2 ジアゾキシド及び IS 溶出位置に検出されたピーク面積と STD 0.5 のジアゾキシドあるいは IS ピークに対するレスポンス面積比

測定試料 (略号)	ジアゾキシド		IS			
	溶出位置の 夾雑 ピーク面積	LOQ (STD0.5)の ジアゾキシド ピーク面積	LOQ に対する レスポンス (ピーク) 面積比	溶出位置の 夾雑 ピーク面積	LOQ (STD0.5)の IS ピーク面積	LOQ に対する レスポンス (ピーク) 面積比
SP1	0		0.0	0		0.0
SP2	0		0.0	0		0.0
SP3	0		0.0	0		0.0
SP4	0		0.0	0		0.0
SP5	0		0.0	0		0.0
SP6	0	6873	0.0	0	445827	0.0

判定基準：LOQ（定量下限）に対するレスポンス面積比 20%以下

表3 検量線の濃度範囲と直線性(血清0.5~200 $\mu$ g/ml)

①検量線の回帰式と相関係数

回帰式	相関係数 ( $r^2$ )	相関係数 (r)
$Y=0.02094995X-0.005337552$	0.992118	0.996
$Y=0.02141302X-0.004820784$	0.991064	0.996

判定基準：相関係数： $r \geq 0.990$

②検量線の各濃度ポイントでの真度

(RE 値)

測定試料 (略号)	調製濃度 [ $\mu$ g/ml]	ジアゾキシド area	IS area	測定濃度 [ $\mu$ g/ml]	相対誤差 (RE) [%]
STD 0.5	0.51	7131	452888	0.50	-2.4
STD 2.5	2.55	27725	444846	2.72	6.8
STD 5	5.09	55703	443878	5.74	12.6
STD 25	25.46	221830	445858	23.49	-7.7
STD 50	50.93	490830	462005	50.46	-0.9
STD 200	203.70	1755884	448365	186.68	-8.4
STD 0.5	0.51	6873	445827	0.49	-2.8
STD 2.5	2.55	28435	443828	2.77	8.7
STD 5	5.09	56931	443302	5.77	13.4
STD 25	25.46	224471	443814	23.39	-8.1
STD 50	50.93	458786	444558	47.97	-5.8
STD 200	203.70	1786508	431804	192.99	-5.3

表4 同時再現性測定結果

測定試料 (略号)	調製濃度 [μg/ml]	測定濃度 [μg/ml]	測定濃度 平均値 [μg/ml]	相対誤 差 (RE) [%]	標準偏差 (SD) [μg/ml]	変動係数 (CV) [%]
AP0.5-1	0.51	0.52	0.51	0.0	0.01	2.0
AP0.5-2		0.53				
AP0.5-3		0.50				
AP0.5-4		0.50				
AP0.5-5		0.50				
AP25-1	25.46	23.48	23.95	5.9	0.30	1.3
AP25-2		23.93				
AP25-3		24.06				
AP25-4		23.99				
AP25-5		24.29				
AP200-1	203.70	189.89	190.34	6.6	1.32	0.7
AP200-2		189.68				
AP200-3		191.51				
AP200-4		188.74				
AP200-5		191.89				

真度：|RE 値| ≤ 15% (LOQ では 20%)

精度：CV 値 ≤ 15% (LOQ では 20%)

真度 (RE) % = (測定濃度 - 調製濃度) / 調製濃度 × 100

CV 値 (%) = 測定濃度の標準偏差 / 測定濃度の平均値 × 100

表 5 回収率測定結果

ジアゾキシド									
分析日	基準値			前処理値		回収率			
	測定試料 (略号)	面積値	面積 平均値	測定試料 (略号)	面積値	回収率 [%]	回収率 平均値 [%]	回収率 標準偏差 (SD)	回収率 変動係数 (CV) [%]
50308	RC0. 5-1	9582	10375	AP0. 5-1	7414	71. 5	70. 7	1. 3	1. 8
	RC0. 5-2	1198		AP0. 5-2	7413	71. 5			
	RC0. 5-3	9645		AP0. 5-3	7179	69. 2			
	RC200-1	2095005	2087679	AP200-1	1759506	84. 3	84. 5	0. 7	0. 9
	RC200-2	2047056		AP200-2	1751605	83. 9			
	RC200-3	2120977		AP200-3	1781666	85. 3			

IS									
分析日	基準値			前処理値		回収率			
	測定試料 (略号)	面積値	面積 平均値	測定試料 (略号)	面積値	回収率 [%]	回収率 平均値 [%]	回収率 標準偏差 (SD)	回収率 変動係数 (CV) [%]
50308	RC0. 5-1	486102	484591	AP0. 5-1	454053	93. 7	92. 3	1. 3	1. 4
	RC0. 5-2	488845		AP0. 5-2	452792	93. 4			
	RC0. 5-3	479625		AP0. 5-3	452723	93. 4			
	RC200-1	475628		AP200-1	441704	91. 1			
	RC200-2	493497		AP200-2	440196	90. 8			
	RC200-3	483851		AP200-3	443487	91. 5			

判定基準：回収率変動係数 CV ≤ 20%

回収率 (%) = 標準添加試料の測定結果 / 回収率 Reference 試料の測定結果の平均値 × 100

CV 値 (%) = 回収率の標準偏差 / 回収率の平均値 × 100



表 6 分析中の 24 及び 48 時間安定性測定結果

分析日	測定試料 (略号)	ジアゾキシド ピーク 面積値	IS ピーク 面積値	ピーク 面積値比	ピーク 面積比 平均値	標準偏差 (SD)	変動係数 (CV) [%]	残存率 [%]
50308	AP0. 5-1	7414	454053	0. 0163	0. 0162	0. 0003	1. 8	-
	AP0. 5-2	7413	452792	0. 0164				
	AP0. 5-3	7179	452723	0. 0159				
50310	AP0. 5-6	6889	456726	0. 0151	0. 0162	0. 0010	6. 1	99. 9
	AP0. 5-7	7394	450801	0. 0164				
	AP0. 5-8	7713	453183	0. 0170				
50308	AP200-1	1759506	441704	3. 9835	3. 9933	0. 0210	0. 5	-
	AP200-2	1751605	440196	3. 9791				
	AP200-3	1781666	443487	4. 0174				
50310	AP200-6	1802587	442966	4. 0694	4. 1060	0. 0431	1. 0	102. 8
	AP200-7	1819451	444298	4. 0951				
	AP200-8	1854121	446406	4. 1534				

判定基準：残存率≥80%

残存率 (%) = 保存後の Peak area ratio の平均値 / 保存前の Peak area ratio の平均値 × 100

表7 ジアゾキシド血中濃度

case	age	血中濃度	投与量	1日投与回数	採血までの時間
1	9:09	5.60	4.17	1	17:50
2	5:08	21.95	6.71	4	03:17
	5:09	20.50	6.67	4	03:10
	5:10	20.76	6.45	4	02:45
3	5:08	43.85	6.28	3	00:15
	5:10	33.67	5.87	3	05:00
4	0:11	34.46	8.86	3	01:14
5	4:08	39.88	4.61	2	07:00

(year:month) ( $\mu\text{g/ml}$ ) (mg/kg/day) (hr:min)

表8 case2 のジアゾキシドの血中濃度

	血中濃度	採血までの時間
第1回目	21.95	03:17
第2回目	20.50	03:10
第3回目	20.76	02:45

( $\mu\text{g/ml}$ ) (hr:min)

# 測定分析結果報告書

発行年月日:平成16年3月26日

受注番号:108219

ご報告先:慶應義塾大学 御中



株式会社

島津 研 究 セ ン タ ー

〒604-8486 東京都中央区西京下合町1番地

TEL (075)811-3181

FAX (075)821-7837

測定分析結果を下記のとおり報告致します。

件名 ヒト血清中の薬物濃度測定法バリデーション

ご依頼者: 慶應義塾大学医学部小児科  
測定方法: HPLC法  
測定分析結果:

## 確認項目

- 特異性(6個体)  
SP1~6
- 検量線の濃度範囲と直線性(ダブルブランク, IS入りブランク及び血清中濃度0.5~200  $\mu$ g/mL)  
BL, ISBL, STD0.5~200
- 同時再現性(血清中濃度0.5, 25及び200  $\mu$ g/mL相当)における真度及び精度(n=5)  
AP(0.5, 25及び200)-1~5
- 日間再現性(血清中濃度0.5, 25及び200  $\mu$ g/mL相当)における真度及び精度(n=3)  
AP(0.5, 25及び200)-1, 6及び7
- 回収率(血清中濃度0.5及び200  $\mu$ g/mL相当)(n=3)  
AP(0.5及び200)-1~3及びRC(0.5及び200)-1~3
- 分析中の24及び48時間安定性(血清中濃度0.5及び200  $\mu$ g/mL相当)(n=3)  
AP(0.5及び200)-1~3, 8~10及び11~13  
(凍結融解・長期保存安定性は, 実施中)

以上

承認	確認	作成

SHIMADZU TECHNO-RESEARCH, INC.

1.測定結果及び考察

1.1. 特異性

SP1～6の測定クロマトグラム上、ジアゾキンド及びIS溶出位置に夾雑ピークは検出されなかった。この結果から、本法によるジアゾキンド測定は、特異性が認められた。(Table 1, Fig.1-1～7)

Table 1 ジアゾキンド及び IS 溶出位置に検出されたピーク面積と  
STD 0.5 のジアゾキンドあるいは IS ピークに対するレスポンス面積比

分析日	測定試料 (略号)	ジアゾキンド			IS		
		溶出位置の 夾雑 ピーク面積	LOQ (STD0.5)の ジアゾキンド ピーク面積	LOQ に対する レスポンス (ピーク) 面積比	溶出位置の 夾雑 ピーク面積	LOQ (STD0.5)の IS ピーク面積	LOQ に対する レスポンス (ピーク) 面積比
2004.03.24	SP 1	0	3865	0.0	0	437766	0.0
	SP 2	0		0.0	0		0.0
	SP 3	0		0.0	0		0.0
	SP 4	0		0.0	0		0.0
	SP 5	0		0.0	0		0.0
	SP 6	0		0.0	0		0.0

判定基準:LOQに対するレスポンス面積比20%以下

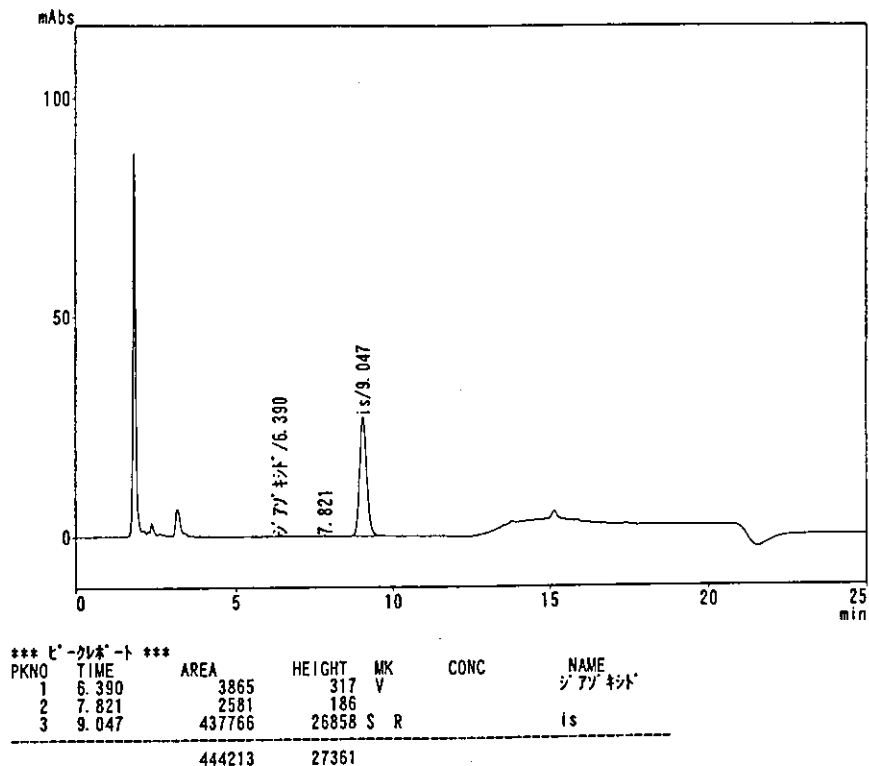


Fig. 1-1 STD0.5 (LOQ) のクロマトグラム

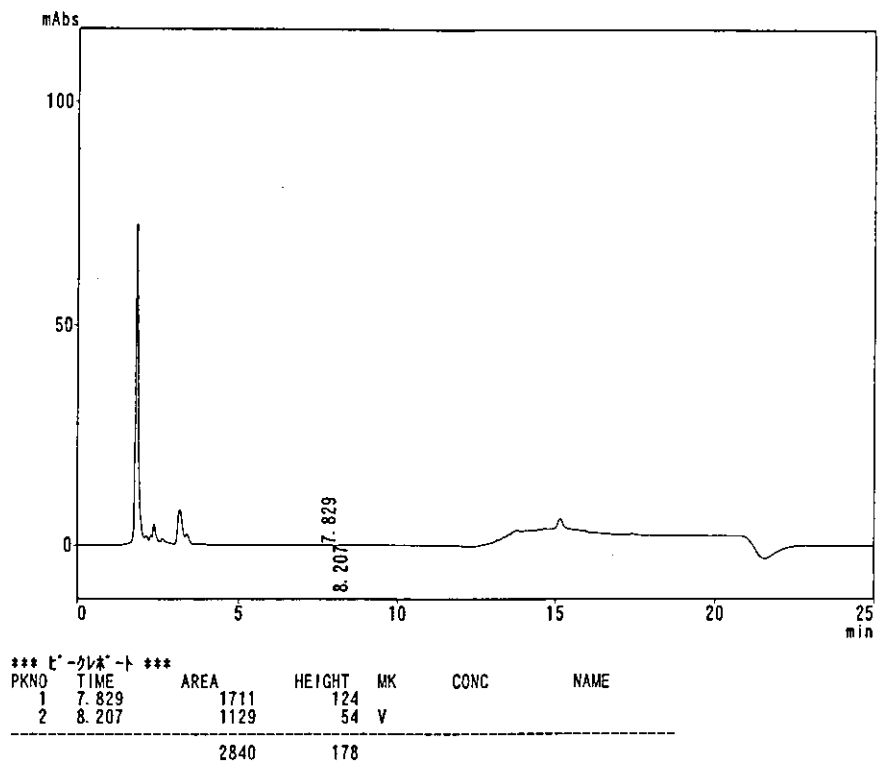


Fig. 1-2 SP 1 のクロマトグラム

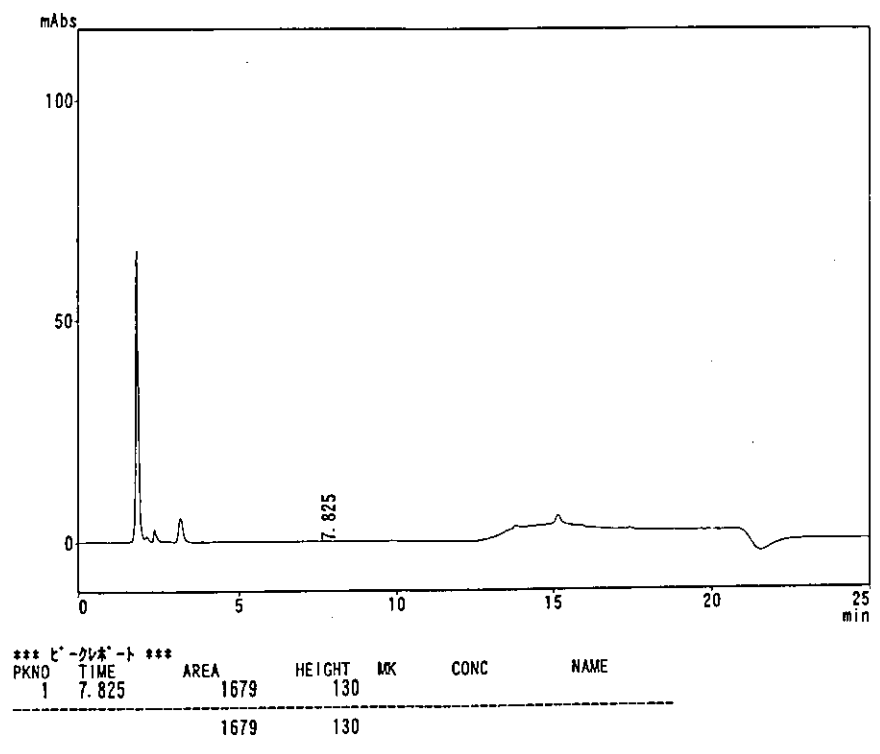


Fig. 1-3 SP 2 のクロマトグラム

SHIMADZU TECHNO-RESEARCH, INC.

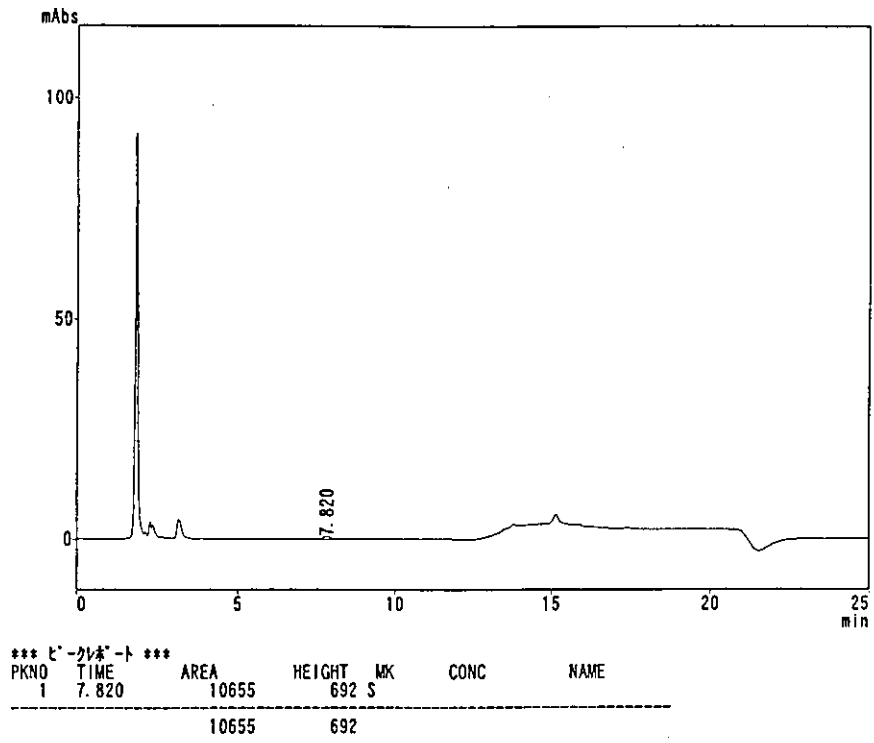


Fig. 1-4 SP 3 のクロマトグラム

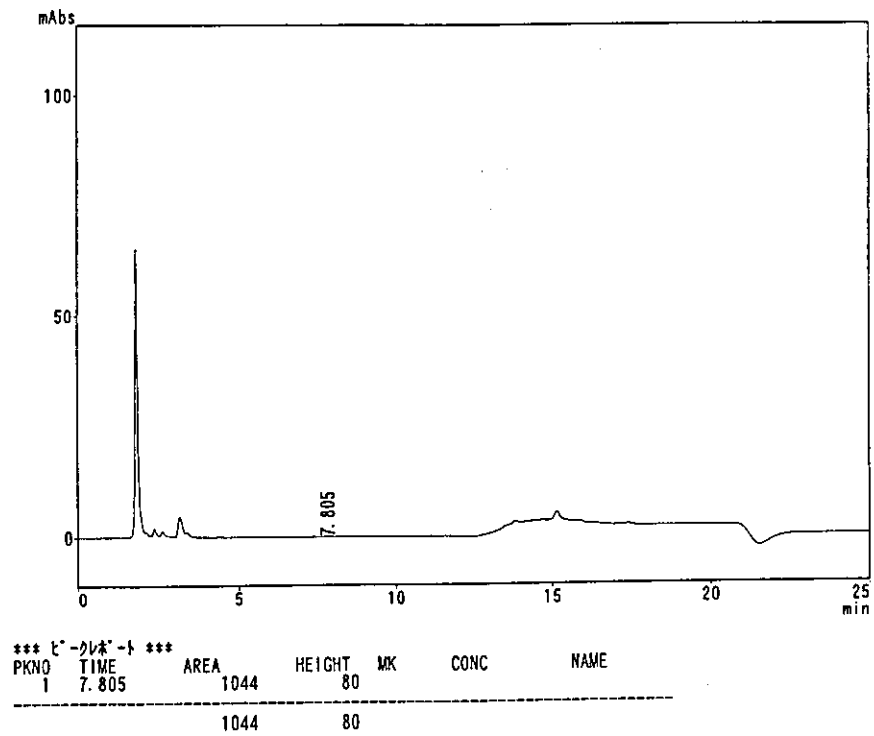


Fig. 1-5 SP 4 のクロマトグラム

SHIMADZU TECHNO-RESEARCH, INC.

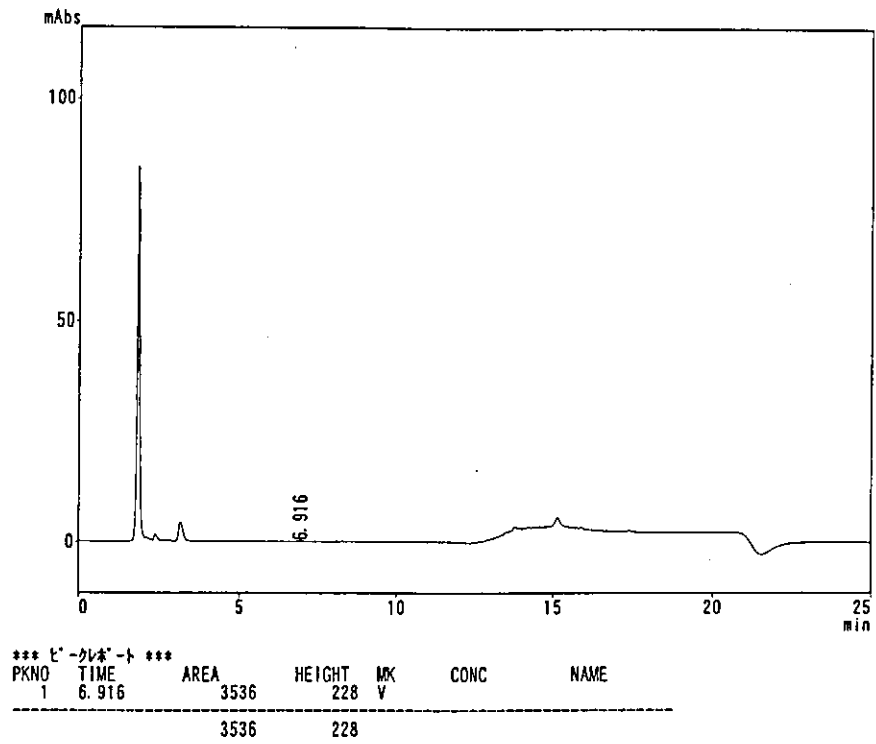


Fig. 1-6 SP 5 のクロマトグラム

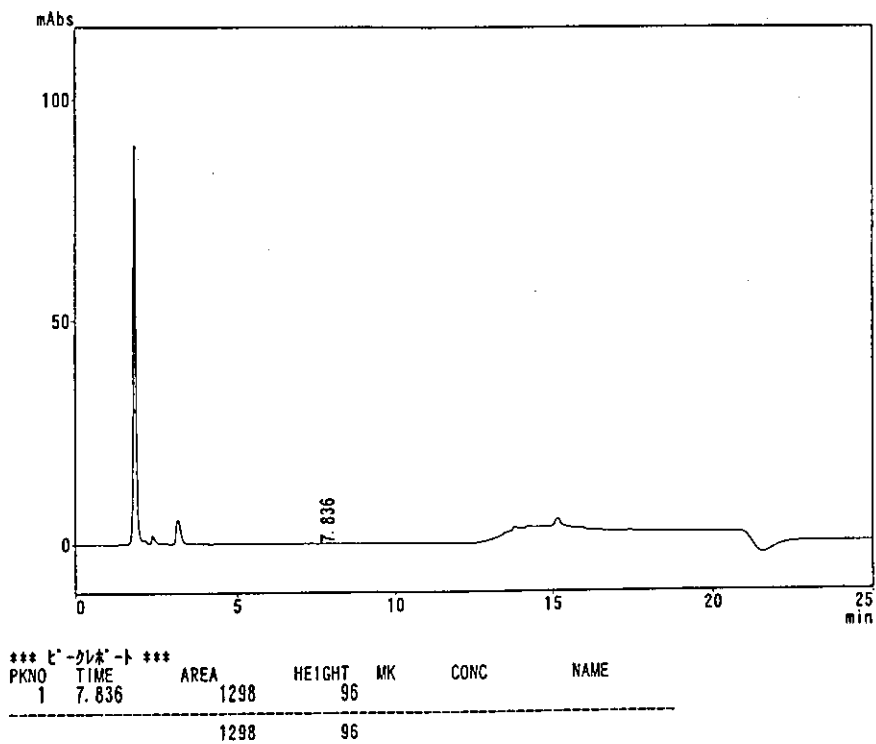


Fig. 1-7 SP 6 のクロマトグラム

SHIMADZU TECHNO-RESEARCH, INC.

1.2. 検量線の濃度範囲と直線性(血清中濃度0.5~200  $\mu$ g/mL)

各測定日における検量線試料(STD0.5~200)の測定結果から求めた検量線の相関係数(r)はすべて1.000であった。(Table 2-1) また、LOQを除く各濃度ポイントでの真度(RE値)は、-4.8~0.6、LOQでは、0.0~4.9で、いずれも許容範囲内であり(Table 2-2)、良好な直線性が得られた。(Fig. 2)

Table 2-1 検量線の回帰式と相関係数

分析日	回帰式	相関係数(r)	相関係数(r)
2004.03.23	$y=0.0180677x-0.000181184$	0.999974	1.000
2004.03.24	$y=0.0177437x-0.000223757$	0.999998	1.000
2004.03.25	$y=0.018028x-0.000808531$	0.999928	1.000

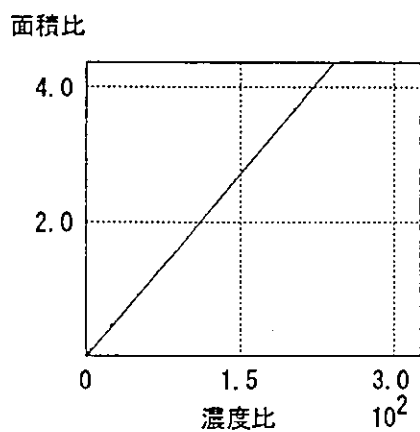
判定基準:相関係数: $r \geq 0.990$

Table 2-2 検量線の各濃度ポイントでの真度(RE 値)

分析日	測定試料 (略号)	調製濃度 [ $\mu$ g/mL]	シアラキシン ピーク area	[S] area	測定濃度 [ $\mu$ g/mL]	相対誤差 (RE) (%)
2004.03.23	STD0.5	0.51	4212	444215	0.53	4.9
	STD2.5	2.53	18982	438055	2.41	-4.8
	STD5	5.06	39163	430282	5.05	-0.2
	STD25	25.29	187710	410869	25.30	0.0
	STD50	50.58	399468	436505	50.66	0.2
	STD200	202.30	1542900	422098	202.32	0.0
2004.03.24	STD0.5	0.51	3865	437766	0.51	0.0
	STD2.5	2.53	19699	443229	2.52	-0.5
	STD5	5.06	39058	433488	5.09	0.6
	STD25	25.29	199053	443621	25.30	0.0
	STD50	50.58	407872	455632	50.46	-0.2
	STD200	202.30	1637666	456062	202.39	0.0
2004.03.25	STD0.5	0.51	3768	428224	0.53	4.5
	STD2.5	2.53	19679	449461	2.47	-2.2
	STD5	5.06	39333	435152	5.06	0.0
	STD25	25.29	196095	438419	24.86	-1.7
	STD50	50.58	410482	455102	50.08	-1.0
	STD200	202.30	1642424	448281	203.27	0.5



\*\* 検量線 \*\*



IDNO: 2  
 NAME: ジアゾキッド  
 TIME: 6.36

	濃度比	面積比
(1)	0.51	0.00948099
(2)	2.53	0.0433327
(3)	5.06	0.091016
(4)	25.29	0.456862
(5)	50.58	0.91515
(6)	202.3	3.65531

F1 0.0180677 F2 -0.000181184  
 (1)

r2 = 0.999974

Fig. 2 ジアゾキッド検量線の一例(2004.03.23 測定)  
 (回帰式:  $y=0.0180677x-0.000181184$ , 相関係数( $r$ )=1.000)

1.3. 同時再現性における真度及び精度(n=5)

血清中濃度25及び200  $\mu\text{g/mL}$ 相当の各標準添加試料の測定結果から得られたRE値は、0.4~1.0%であり、変動係数(CV値)は、0.7%であった。また、LOQ(血清中濃度 0.5  $\mu\text{g/mL}$ )の標準添加試料(AP0.5-1~5)のRE値は、2.0%、変動係数(CV値)は、1.9%であり、いずれも許容範囲内で、良好な真度及び精度が得られた。(Table 3)

Table 3 同時再現性測定結果

分析日	測定試料 (略号)	調製濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	測定濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	測定濃度 平均値 ( $\mu\text{g/mL}$ )	相対誤差 (RE) (%)	標準偏差 (SD) ( $\mu\text{g/mL}$ )	変動係数 (CV) (%)
2004.03.23	AP 0.5-1	0.51	0.52	0.52	2.0	0.01	1.9
	AP 0.5-2		0.53				
	AP 0.5-3		0.52				
	AP 0.5-4		0.53				
	AP 0.5-5		0.52				
	AP 25-1	25.29	25.64	25.55	1.0	0.18	0.7
	AP 25-2		25.54				
	AP 25-3		25.60				
	AP 25-4		25.71				
	AP 25-5		25.25				
	AP 200-1	202.30	200.45	203.09	0.4	1.51	0.7
	AP 200-2		203.49				
	AP 200-3		203.88				
	AP 200-4		203.38				
	AP 200-5		204.24				

真度: |RE値| ≤ 15% (LOQでは20%)  
 精度: CV値 ≤ 15% (LOQでは20%)

1.4. 日間再現性における真度及び精度(n=3)

血清中濃度25及び200  $\mu\text{g/mL}$ 相当の各標準添加試料の測定結果から得られたRE値は、-0.6~0.5%であり、変動係数(CV値)は、0.7~1.2%であった。また、LOQ(血清中濃度 0.5  $\mu\text{g/mL}$ )の標準添加試料(AP0.5-1, 6, 7) のRE値は、2.0%、変動係数(CV値)は、1.9%であり、いずれも許容範囲内で、良好な真度及び精度が得られた。(Table 4)

Table 4 日間再現性測定結果

分析日	測定試料 (略号)	調製濃度 [ $\mu\text{g/mL}$ ]	測定濃度 [ $\mu\text{g/mL}$ ]	測定濃度 平均値 [ $\mu\text{g/mL}$ ]	相対誤差 (RE) [%]	標準偏差 (SD) [ $\mu\text{g/mL}$ ]	変動係数 (CV) [%]
2004.03.23	AP 0.5-1	0.51	0.52	0.52	2.0	0.01	1.9
2004.03.24	AP 0.5-6		0.52				
2004.03.25	AP 0.5-7		0.53				
2004.03.23	AP 25-1	25.29	25.64	25.42	0.5	0.30	1.2
2004.03.24	AP 25-6		25.53				
2004.03.25	AP 25-7		25.07				
2004.03.23	AP 200-1	202.30	200.45	201.15	-0.6	1.42	0.7
2004.03.24	AP 200-6		202.79				
2004.03.25	AP 200-7		200.23				

判定基準: 真度: RE値  $\leq 15\%$  (LOQでは20%)  
 精度: CV値  $\leq 15\%$  (LOQでは20%)

1.5. 回収率(血清中濃度 0.5 及び 200  $\mu\text{g/mL}$  相当)(n=3)

血清中濃度0.5及び200  $\mu\text{g/mL}$ 相当の標準添加試料と回収率測定用リファレンス試料(RC0.5及び200-1~3)の各測定結果からピーク面積より算出したジアノキシド及びISの回収率平均値は78.3%以上であった。また、これら各回収率のCV値は、4.9%以内で、いずれも許容範囲内であり、安定した回収率が得られた。(Table 5)

Table 5 回収率測定結果

分析日	基準値			前処理値		回収率			
	測定試料(略号)	面積値	面積平均値	測定試料(略号)	面積値	回収率[%]	回収率平均値[%]	回収率標準偏差(SD)	回収率変動係数(CV)[%]
2004.03.23	RC 0.5-1	4892	4873	AP 0.5-1	4003	82.1	78.3	3.3	4.2
	RC 0.5-2	4892		AP 0.5-2	3756	77.1			
	RC 0.5-3	4834		AP 0.5-3	3692	75.8			
	RC 200-1	1997131	2011015	AP 200-1	1607053	79.9	80.4	0.9	1.1
	RC 200-2	2016587		AP 200-2	1605546	79.8			
	RC 200-3	2019327		AP 200-3	1637508	81.4			

IS									
分析日	基準値			前処理値		回収率			
	測定試料(略号)	面積値	面積平均値	測定試料(略号)	面積値	回収率[%]	回収率平均値[%]	回収率標準偏差(SD)	回収率変動係数(CV)[%]
2004.03.23	RC 0.5-1	484049	485589	AP 0.5-1	432471	89.1	87.8	4.3	4.9
	RC 0.5-2	479607		AP 0.5-2	397432	81.8			
	RC 0.5-3	489583		AP 0.5-3	403745	83.1			
	RC 200-1	486066	485589	AP 200-1	443757	91.4	87.8	4.3	4.9
	RC 200-2	486829		AP 200-2	436711	89.9			
	RC 200-3	487401		AP 200-3	444567	91.6			

判定基準: 回収率変動係数CV $\leq$ 20%