

1. 全自動血清蛋白分画装置 オリンパスAES-200の検討

八戸赤十字病院

○畑山准一 田口俊彦 掛端友子
藤井睦子 眞柄 武

I 目的

当院に於ける蛋白分画の依頼件数は、最近になり著しい伸びをみせ、一日平均100件前後に及ぶに至って、用手法から自動化への転換を検討していた。この度全自動血清蛋白分画装置 オリンパスAES-200が本年2月に導入されたので、本器使用に際し再現性や使用上の問題点、更には健常値設定等、若干の検討を行なったので報告する。

II 方法

AES-200

AESセバラックスを用いた緩衝液 PH8.6、イオン強度0.06他は使用書に従った。

用手法

オキシド膜を用い標準操作法に準拠して行なった。アタゴデンシトメータで測定。

III 成績

①同時再現性

①. ブール血清、②. 高 α_2 グロブリン血清、
③. 高 γ グロブリン血清、の3種類を10回測定した。各Mean・SD・CVは表1に示した。全体として良好な再現性を得られたが、②で高 α_2 グロブリンの両隣り α_1 、 β 、のCVがバラツキていた。

②日差再現性

ブール血清を用いて10日間行なった、Mean・SD・CVは表2に示した。 α_1 でややバラツキがある他は良好な再現性が得られた。

③健常値の設定

職員健診により採取された特に異常のない血清男女430件についてプロビット方式により設定した。従来の設定値と併せてその各範囲を表3に示した。AES200ではAlbがやや高値

の傾向をみせ、そのぶん α_1 、 α_2 、 β が抑えられている。又変動幅も小さく精度が良ことが解る

④泳動槽、血清塗布順序、時間帯による影響。

AES200には①、②と2つの泳動槽があり交互に10検体ずつ同時処理する。塗布順1番目と10番目の同一血清での再現性は①の1番目で α_1 のCVが午前6.43、午後5.06となりバラツキを示したがその原因は現在追試中である。その他は槽の違い、塗布順序、時間帯等、特に問題点はないと思われる。

IV まとめ

再現性、日差変動が極めて良好であり、本器導入により省力化が可能になった。又全自動システムである為特に熟練者でなくとも常に一定の精度保持が出来る等血清蛋白の異常スクリーニングの機器として満足出来るものと考える。

表1 同時再現性

	Alb	α_1	α_2	β	γ	A/G
①	Mean 61.0	3.8	9.9	8.9	16.4	1.56
	SD 0.62	0.07	0.14	0.20	0.47	0.04
	CV 1.03	1.98	1.44	2.29	2.85	2.63
②	Mean 39.8	4.2	2.93	1.40	1.27	0.66
	SD 0.58	0.17	0.34	0.61	0.53	0.02
	CV 1.45	4.21	1.18	4.33	4.18	2.61
③	Mean 39.5	3.4	7.2	5.5	4.45	0.65
	SD 1.12	0.09	0.21	0.16	1.08	0.03
	CV 2.84	2.73	2.89	2.87	2.44	4.33

表2 日差再現性

	Alb	α_1	α_2	β	γ	A/G
ブール血清	Mean 61.1	3.6	9.9	8.9	16.5	1.57
	SD 0.48	0.12	0.21	0.15	0.25	0.03
	CV 0.78	3.22	2.12	1.66	1.53	2.01

表3 設定健常値

	Alb	α_1	α_2	β	γ	A/G
用手法	58.0(男) 69.6	3.1(男) 6.6	5.2(男) 10.2	6.1(男) 12.0	10.3(男) 19.6	1.38(男) 1.96
AES 200	61.3 72.4	2.5 4.3	6.3 10.7	5.8 9.7	9.3 20.0	1.58 2.62

連絡先 0178-27-3111

2. GOD酸素電極法を用いた自動血糖分析機 (グルコローダーS)の検討とその緊急対応性

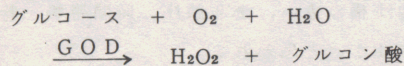
大津赤十字病院 中検 古川武義 遠藤陽子 築田広美
高木富紗子 岸本茂己 丸本 勤

はじめに

血糖値の測定は、ルーチン検査はもとより緊急検査においても臨床側から最も頻繁に依頼される検査項目の一つである。

今回我々は、GOD酸素電極法を用いたグルコローダーSについて検討・考察をした。

反応原理



グルコースがGODによりグルコン酸に変化する時、グルコースの消費量に比例して O_2 が消費される。

測定原理

消費される O_2 を酸素電極により測定する最大酸素消費加速度分析法。

緊急対応性

- 1) 検体処理能力： 130～150検体/時間
- 2) 緊急対応性： 常時割込み可能。サンプリングからプリントアウトまで約30秒。(反応時間は5～6秒)
- 3) 検体必要量： 必要最低量は約100 μl 。(採取検体量は25～40 μl 、反応使用量は5～20 μl)

成績

- 1) 同時再現性・正確性： 標準液、コントロール血清、POOL血清を用いて測定したところ、再現性はCV 0.470～0.989%であり、正確性についても良好な結果を得た。
- 2) 日差変動： 同様に日差変動はCV 0.688～1.394%であった。
- 3) 直線性： 標準液の直線性について検討したところ、1500 mg/dlまでは原点を通過する直線性が認められた。

4) 添加回収試験： POOL血清に50、100、150、200 mg/dlのブドウ糖標準液を添加し、回収率を検討した結果、98.1～98.8% (平均98.5%)と良好な回収率を得た。

5) アスコルビン酸添加試験： 200 mg/dlのアスコルビン酸添加濃度までは全く影響がみられなかった。

6) 相関と回帰： 現在本院中検でルーチン検査として実施している酵素比色法S社(HITACHI・M500)との相関を536例について検討した結果、 $\gamma = 0.989$ 、 $y = 1.12x - 8.47$ と極めて良好な相関関係が得られた。

結果

- 1) 再現性・正確性・日差変動および回収率とも良好な結果を示した。
- 2) 直線性は酸素消費量が少なくすむため、1500 mg/dlまで測定可能であった。(酵素比色法では500 mg/dlで9.4%の負の誤差を生じた。)
- 3) アスコルビン酸の影響は全くみられなかった。(酵素比色法ではアスコルビン酸2.5 mg/dlで4.4%、10.0 mg/dlで9.7%の負の誤差を生じた。)
- 4) 相関係数は $\gamma = 0.989$ と極めて良好であった。

考察

GOD酸素電極法は酵素比色法に比べて、測定範囲が広く、迅速性、正確性、精密性に優れている。アスコルビン酸の影響はなく、緊急割込みは常時可能で即応性がある。また試薬はリサイクル方式のため経済的である。

3. 生化学自動分析機モニターKDAの精度管理

小松島赤十字病院

杉本記代美, 森 節子, 前川鏡子,
近清裕一

はじめに) 生化学における自動化は進歩し、作業量の約85~90%を処理している。又、改良されていく自動分析装置は処理能力、巾広い分析項目、作業効率、経済性の面からも理想的な分析機へと改良されて来た。データの精度管理の面でも、コンピューターの導入により簡単な操作でリアルタイムに多方面からのデータ処理がされるようになり、精度の高い分析値の管理が出来るようになった。

我々は約2年前より、シーケンシャルマルチ方式の生化学自動分析機モニターKDAを導入使用して来た。モニターKDAはミニコンピューター、フロッピーディスクが内蔵され、検査依頼の段階から受け付け、台帳、ワークシート、分析作業、精度管理、データファイル、統計処理、報告書作成までの業務が一台の機種で出来るシステム化された分析装置である。今回は一連の作業内容と主に精度管理について検討を加えた。

機器構成 モニターKDA (日本モニター社)

1) コンピューター部

コアメモリー: 32KW, 16 bits. CRT.
プリンター. キーボード. カードリーダー.

1 ディスクの記憶容量としては32項目640人分である。各種のモニタリング機能を持ち、試薬の管理・個々の検体の精度管理、コントロール血清の累積精度管理が自動的に行える。

2) 分析装置部

- 試薬・・・冷蔵部分があり、63試薬設置出来る。
- 比色・・・温度コントロール付きフローセルを有し、340nm~750nmの中で光電感度0.0001O.D.である。

3) 受け付け・・・患者番号(検体番号)と検査項目をマークしたATSカードにて入力する。この時コントロール血清番号を毎回同じ番号で入力しておく自動的に累積集計を行う。

4) 報告書・・・各項目の分析値を各患者別に集計し報告書を作成する。

検討) 1) KINETIC反応

各々の患者測定中にグラフの表示される内容は

- STD-DEV・・・多点測定中の各々のバラツキ

- SD-LMT・・・各患者のバラツキのリミット
- AVERAGE・・・各測定点のΔAの平均値を1000倍したもの
- CV・・・STD DEV, AVERAGEより求めた変動係数, これらは各検体測定時に表示され管理出来る。
- WASH・・・使用時の試薬の吸光度を表示劣化等のモニターが出来る。
- CREEP・・・水を検体として測定した時のΔAの合計で試薬の自然崩壊量を示しており、各検体値より引く。

これらの点からKINETICでは各々の患者の各点におけるバラツキ、曲り具合、基質消費、LAG RHASE等が起こっていないか経時的にチェック出来る。

2) END POINT反応

- 毎回スタンダードを測定し、その吸光度を表示する。
- SLOPE・・・二つのスタンダードより求めた係数。
- A-INT・・・吸光度軸への外挿値でその接辺を示す。
- CON-INT・・・濃度軸への外挿値でその接辺を示している。
- MN NORM・・・正常値のみの平均値, これは一種の精度管理として用いる事が出来る。

3) 累積精度管理

コントロール血清は8種類定義が可能で各種類について累積される。そして各検査項目ごとに表示される。集計内容は測定回数, MEAN, 1SD, 2SD, 3SD, CV%値がグラフに表示される。

この累積は消去しない限り行われる。

まとめ) 従来の精度管理はコントロール血清の累積集計で検討し判断していたが、モニターKDAは使用する試薬の管理・標準物質の毎回の吸光度値、従来のコントロール値と毎回の値をグラフ表上で対比させる事が出来る点から、この機種の精度管理は毎回行う反応条件から各検体の測定値についての管理・値に対する良否が経時に判断出来るとともに同時に累積精度管理が簡単に処理される事より精度管理がリアルタイムに判定値に反映させる事が出来る。

4. 遠心方式自動分析機GEMENIのルーチン化への応用

山田赤十字病院

○大西 学 道根慶悟 土屋ゆき子
西井純子 川北明弘

遠心方式自動分析装置「GEMENI」は次の様な特長をもっている。

1. 操作が簡単で、分析項目の切り替えが短時間でできる。
2. 測定方式が多種で、測定カードの挿入で自動的にプログラムされる。
3. 微量のサンプル、試薬で分析が行える。
4. 緊急検査への対応が容易である。
5. 自動診断機能が備っている。
6. 給排水など特別の設備が不要である。

今回我々は、本機を導入しルーチン化への検討を行ったので報告する。

I. 検討項目

GOT, GPT, CPK, BUN, アミラーゼ, クレアチニン(以上緊急検査項目), LDH, ALP, LAP, γ -GTP, グルコース, TGの12項目について検討した。

II. 使用試薬

主にモノタイプの試薬で、LDH, ALPはSMA 12/60用試薬を、クレアチニン, グルコース, TGは用手法の試薬を調節して使用した。

III. 検討内容

1. 同一ディスク内の精度
2. 同時再現性
3. 直線性
4. 相関性
5. 血漿分析

IV. 結果および考察

1. 同一ディスク内の精度

20point rate assay等, CV 1.0%とほぼ良好でこの使い捨てのディスクも洗浄を十分すれば再利用が可能であった。

2. 同時再現性

管理血清及び患者血清によるCV値は、いずれも3.0%以下で一ディスク $n = 17$ ではあるが満足出来る結果を得た。

3. 直線性

マイクロプロセッサーにより測定値上限があり、それ以上はプリントアウトされない。高濃度の管理血清又は患者血清の10階段希釈を作成し、その直線性を調べた。その結果アミラーゼは $3800 \text{ IU}/\ell$, グルコースは $580 \text{ mg}/\text{d}\ell$ までその他の項目は設定通りの直線性を認めた。

4. 相関性

任意に選択した血清約30本について、日常検査法との相関性を調べた。いずれも相関係数0.99と非常に良好な結果を得た。項目によっては試薬の調整が影響されているものと思われる。

5. 血漿分析

緊急検査項目について、その検査工程のほとんどを占める血清分離工程を短縮して迅速化をはかるため血漿を用いる方法を試みた。抗凝固剤にヘパリンリチウム($143 \text{ usp}\cdot\text{u}/\text{血液}5\text{m}\ell$)を用いた。

① 溶血の影響

$400 \text{ mg}/\text{d}\ell$ で CPK, GOT に差を示した。

② ビリルビンの影響

$20 \text{ mg}/\text{d}\ell$ まで影響は認められなかった。

③ 相関性

血清との相関係数0.98以上で、緊急検査における血漿分析は、非常に有用な方法である。

V. 結語

自動分析装置として最も望まれる反応条件が自由に設定出来ないが、再現性、直線性、相関性に良好で、特長を生かした本機は、ルーチン検査、緊急検査に十分満足の出来るものと考えられる。

5. Rotochem IIa 遠心型自動分析器による 血中薬物（抗てんかん剤）濃度分析法

高槻赤十字病院 中央検査部

○山本裕司 田口道代
松下ゆり 藤原数美

〔目的〕

近年薬物治療適正化の為血中薬物濃度測定の必要性が増しつつあり、測定にも種々の方法がある。

今回第一化学薬品の Homogeneous Enzyme Immuno assay (EMIT) を遠心型自動分析器 Rotochem IIa にて検討する機会を得たので報告する。

〔方法〕

- ① 反応におけるタイムコースを取り条件設定
- ② Rotochem IIa による測定条件の設定
- ③ EMIT シバシステム CP-5000 との比較
 - a 同時再現性 b 直線性 c 回収試験
 - d 相関

〔使用機器〕

- ① Rotochem IIa 遠心型自動分析器
- ② 第一化学シバシステム CP-5000
(ギルフォードステイサーⅢ、シバクリニカルプロセッサ CP-5000、シバピペッターダイリユーター)

〔試薬〕

第一化学薬品 EMIT-aed フェノバルビタール
測定試薬

〔使用血清〕

- ① フェノバルビタール治療患者血清
- ② EMIT 用キャリブレーター
- ③ EMIT 用コントロール血清

〔成績〕

- ① 反応におけるタイムコースは 25 sec~65 sec が最高となる。
- ② 分析プログラムは KI を用い、各々のパラメーターは下記のごとく設定した。

Program type KI
Determination Phenobarbital

Sample Size (μl) 30
Wavelength (nm) 340
Run temp (°C) 30
Lag time (sec) 25
Sample Interval (sec) 3

③

	Rotochem IIa	シバシステム CP-5000
a. 同時再現性	CV = 3.4 (%)	CV = 3.3 (%)
b. 直線性	80 μg/ml	80 μg/ml
c. 回収試験	98.4 (%)	102.4 (%)
d. 相関	r = 0.996 Y = 0.97X + 0.92	

〔結論〕

生化学的原理に基づく EMIT を使用した Rotochem IIa の結果はシバシステム CP-5000 とも相関もよく、より安価に迅速に結果が得られ、日常検査として充分に使用できる結果を得た。

6. 尿中ブドウ糖測定法の検討

—O-TB法を中心に—

岡山赤十字病院検査部

○江田秀之, 久米井稔

小川典子, 文屋誠二

日常一般検査において尿糖の定量はかなりの数量を処理しなければならない。

1941年, Somogyi がアルカリ溶液中における糖の重合性を応用したカラメル化法を報告した。この方法は操作が簡単で試薬代も安く, 1~6 g/dl の範囲でほぼ直線性を示すなどの理由から現在広く利用されている。しかし, 煮沸温度を厳密にしなければ10%近い誤差要因となりうること, 検量線は1.0g/dl 以下においてBeerの法則に従わないこと, 着色尿や環元物質の影響を受けやすいなど多くの問題点が残されている。

当院検査室においても, 従来Somogyi-Na₂CO₃法を用いてきたが, 上述した理由などから1g/dl 以下については, より正確な定量値を得ることが出来なかった。そこで私達は精度も高くかつbilirubinその他の還元物質の影響が少ないとされているO-Toluidine-ホウ酸法(O-TB法)の優れた点に着目し, 良好な結果が得られたので報告する。

(方法) (1) O-TB試薬の調整

コレステロール測定用の特級水酢酸 920 ml に1.5gの特級チオ尿素を溶解し, これに無色の特級O-Tを80ml添加, 混和する。飽和ホウ酸水溶液40 mlを混和し, 褐色ビン中に冷暗所保存する。

(2) 測定方法 原尿または10倍希釈した尿 0.02 ml とO-TB試薬 2.0 mlを混和して100℃の煮沸浴中で正確に8分間加熱して冷流水中で約3分間冷却してから, O-TB試薬を対照液として635nmで吸光度測定をする。予め作製した検量線から尿糖値を求める。

(結果および考察) (1) 吸収曲線および検量線 (スライド) 発色後の吸収曲線は標準液, 検体共630~640 nm付近に最大吸収を有する曲

線を得た。しかし不純なO-TB試薬, 加温過剰の場合, bilirubin存在下では500 nm付近から短波長側の吸収が増大した。(2) 加熱時間と発色との関係および呈色の安定性 私達を使用したO-TB試薬では5分位で最大発色に達し, 以後発色が減弱していったが, 反応呈色後, 流水中で冷却放置した場合は30分までは, その減少はほとんど無視できた。O-T濃度を10%, 20%と濃度を高くすると発色が早く最大に達し, 発色も強かったが, 逆に退色の度合も著しかった。さらにこの退色は室温(27℃)ではかなり著しかったが, 流水中で冷却した場合はかなり防ぐことができた。(スライド) (3) 再現性について 同時再現性はn=20, CV=1.5%と良好な結果を得た。(4) 相関について O-TB法とHexokinase法, O-TB法とSomogyi-Na₂CO₃法の相関を150例について検討した。本法とHexokinase法では $y=0.965x+0.02$ $r=0.99$

本法とSomogyi-Na₂CO₃法では $y=0.933x+0.32$ $r=0.16$ となった。

Hexokinase法とは高い相関を示したが, Somogyi-Na₂CO₃法とは $r=0.16$ と相関がみられなかった。これは低濃度域, 1g/dl以下の検体について相関とつたため, Somogyi-Na₂CO₃法では1g/dl以下については検量線が曲線となること, 感度が低いこと, 干渉物質の影響を受けやすいなど, 多くの因子によるのではないと思われる。(結語) O-TB法による尿糖測定について基礎的検討をおこなったところ, 本法は再現性もよく, Glucose測定の標準法であるHexokinase法との相関も良好であった。現在, 本法とSomogyi-Na₂CO₃との相関がみられなかった原因究明と尿中の干渉物質について検討中である。

7. 自動分析による尿素窒素測定法の基礎的な検討

京都第二赤十字病院
中検 同内科[※] ○戸倉弘子, 菊池鈴子, 西畑 豊
西川美年子, 林 英夫[※], 小関忠尚[※]

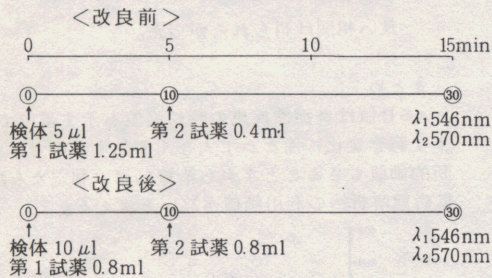
【 目 的 】

私達は自動分析装置を用いて、ウレアーゼインドフェノール法による尿素窒素の測定を行ってきたが、溶血、アミノ酸、タンパク質などの影響により、正あるいは負の誤差を受け問題点が多かった。今回、栄研化学より改良された試薬について、基礎的な検討を行なった結果、若干の知見を得たので報告する。

【 試薬および方法 】

I 試薬；栄研化学（改良前，改良後） II 機器；日立 716 自動分析装置

III 測定条件



【 検 討 内 容 】

1) 同時再現性 2) 直線性 3) 共存物質(ヘモグロビン, タンパク質, ビリルビン)の影響
4) 相関

【 成 績 】

1) 同時再現性；改良前の試薬は、 $\bar{X} = 17.79$
SD = 0.41 CV = 2.30 n = 30 改良後の試薬は、 $\bar{X} = 17.09$ SD = 0.07 CV = 0.40 n = 30 と、ともに良好な結果であった。

2) 直線性；改良前は 100 mg/dl までであったが、改良後は、170 mg/dl まで原点を通る直線が得られた。

3) 共存物質の影響；A) ヘモグロビン；改良

前は Hb 濃度 200 mg/dl で 50 % の負の誤差を認めたが、改良後は誤差を認めなかった。B) タンパク質；改良前はタンパク質 1.0 g/dl で約 0.35 mg/dl の負の誤差を認めたが、改良後はほとんど誤差を認めなかった。C) ビリルビン；DADE のビリルビンを用いて添加実験をおこなったところ、ビリルビン濃度 20 mg/dl で、改良前 46 % 改良後 24 % の正誤差を認めた。

4) 相関 改良前と改良後の相関は $r = 0.99$
 $y = 0.97x + 0.56$, $\text{バイアス } 0.13$, $n = 135$, t 検定 ($P = 0.05$) で有意差を認めなかった。

【 総 括 】

改良後の試薬は、高値検体が測定可能となり、溶血、タンパク質の影響をほとんどうけず、日常検査に有用であることを認めた。

また、ビリルビンの影響については、用いるビリルビン標準物質の違いにより、異なった正負の誤差を示すため、今後さらに追加検討を加え報告したい。

8. 血清ムコ蛋白 (ASP) 値と他のパラメーターとの相関

小松島赤十字病院

○近清裕一, 杉本記代美, 吉川和彦,
前田芳香

はじめに) 血清ムコ蛋白は1948年Winzlerにより測定法が確立され, 炎症性疾患や悪性腫瘍において著明に増加することが報告されて以来, その臨床的意義が広く検討され, それと共に測定法の改良がされて来た。

最近新しいムコ蛋白測定法がキット化され, ASPRO-GP (大塚アッセイ) として市販されたのでそのキットを用い, 炎症性疾患のマーカーとなる項目との相関関係について検討を加えたので報告する。

血清ASP値と他のパラメーターとの相関

1) セロムコイド (Winzler 法) との相関

$$r=0.96 \quad Y=1.6X-8.4 \quad n=100$$

ASPROで得た値がWinzler法の約1.6倍の高値を示した。この理由としては, 標準物質の異なりと抽出精製の過程が異なる為と考える。

2) α_1 -グロブリン, α_2 -グロブリン (蛋白分画値と総蛋白量より算定) との相関

$$\alpha_1-G. \quad r=0.73 \quad Y=0.6X-39.1 \quad n=100$$

$$\alpha_2-G. \quad r=0.54 \quad Y=0.2X+2.1 \quad n=100$$

3) α_1 -酸性糖蛋白, α_1 -アンチトリプシン, ハプトグロビン (レーザーネフロメーター, ハイランドK.K.) との相関

$$\alpha_1-AG. \quad r=0.89 \quad Y=1.3X-40.6 \quad n=50$$

$$\alpha_1-AT. \quad r=0.84 \quad Y=1.3X-275.9 \quad n=47$$

$$\text{ハプト.} \quad r=0.79 \quad Y=1.3X+22.8 \quad n=50$$

血清ムコ蛋白はSDS電気泳動により分析すると, 4~7万の分子量の位置に数種あり, それらの蛋白をSingle radial immunodiffusion法により同定すると α_1 -酸性糖蛋白が50~60%, その他 α_1 -アンチトリプシン, ハプトグロビンが確認され, それらとの相関も良い結果を得た。

4) シアル酸 (極東化学K.K.) との相関

$$r=0.87 \quad Y=2.7X-59.3 \quad n=100$$

血清ムコ蛋白の一部であるシアル酸とよい相関を得た。(図1)

5) 赤沈値 (1時間値mm) との相関

$$r=0.63 \quad Y=1.2X+95.0 \quad n=100$$

相関あまり良くないが, 病態の治療経過における両者は同じ推移を表現している。

6) 白血球数との相関

両者の相関はほとんどないが, 病態経過の推移を見ると病気の種類によってはバラレルに移動するもの, 鏡像の関係にあるもの, 全く相関しないものがある。

7) CRP (免疫沈降法・協和工業K.K.)

よく相関したが, 一部の症例で解離がみられた。(図2)

8) 免疫抑制酸性糖蛋白: IAP (細菌化学研究所) との相関

$$r=0.88 \quad Y=2.1X+10.0 \quad n=100$$

細胞性免疫能との間に密接な関係が考えられ, 悪性腫瘍の治療の一指標となりうると考える。

9) CEA (ロッシュ), AFP (ダイナボット) との相関

良い相関は得られなかった。

まとめ

ASP値は炎症性疾患の時に高値を示す蛋白であり, 病態変化に伴って大きく変動するので, 診断的価値もさることながら治療効果の判定ならびに病態解析への利用価値が高いと考える。

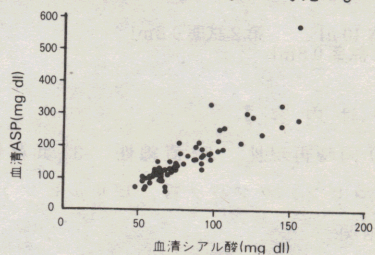


図1) 血清ASPと血清シアル酸との相関

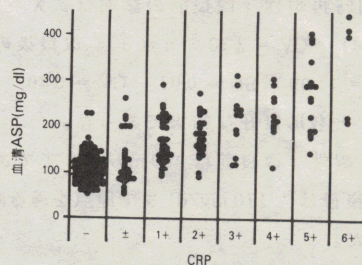


図2) 血清ASPとCRPとの相関

9. 血清中性脂肪測定について

—遊離グリセロールの動態を含めて—

京都第二赤十字病院 中検 ○西畑 豊, 戸倉弘子, 佐野 守, 菊池鈴子
同 内科* 林 英夫*, 小関忠尚*

I. 目的 酵素法による中性脂肪(TG)の測定原理は, LPLの加水分解により生じたグリセロールをUV法または比色法などによって測定することにある。しかし酵素法は同時に遊離グリセロール(FG)をも測り込むためにいくつかの問題が指摘されていた。今回私達はFGの測定とFGの消去によるTG測定のを得たので報告し, 併せて, FGの動態について若干の知見を述べる。

II. 使用試薬及び方法 TG測定: TG-E (GPO) (国際), デタミナー-TG (協和)。FG消去法: デタミナー-TG-S (協和)。測定方法: 日立716にこれらの試薬のダイアグラムを設定し, 実験成績は患者血清を対象に4項目同時測定にて求めた。

III. 成績

1) 同時再現性: TG-E, TG, TG-S, FGともにSD=0.78, CV=0.79以下で極めて良好であった。2) 直線性: TG-E, TG, TG-Sは1200 mg/dl, FGは300 mg/dlまで確認できた。3) グリセロールの消去: グリセロール希釈系列をTG-Sにて求めた結果, 800 mg/dlまでの消去を認めたが, いずれの系列においてもトリオレイン換算値として1~3 mg/dl検出された。4) 血清保存法による影響: プール血清を室温, 4℃, -20℃の条件下に保存し, TG, TG-S, FGの変化を72時間まで検討した。室温放置におけるTGはやや高値になる傾向を認めた。TG-Sについては有意な変化はみられなかった。しかしFGは72時間後-20℃保存で6 mg/dlとなり, これに比較して室温で15 mg/dl, 4℃にて10 mg/dlと夫々やや増加した。この現象は血清中のリパーゼの作用により水解が起り, 室温放置で

TGは遊離脂肪酸とグリセロールに分解されるためと考えられた。5) FGの分布: (i)外来, (ii)入院, (iii)糖尿病外来患者の3群で, 平均値と分散は(i)n=38, $\bar{X}=7.34$, SD=3.64, (ii)n=47, $\bar{X}=7.00$, SD=8.88, (iii)n=200, $\bar{X}=6.37$, SD=4.52であった。平均値はいずれの比較においてもt検定(P=0.05)で有意差は認めなかった。しかし分散の比較ではF検定(P=0.05)でいずれも有意差を認め, 特に入院患者(ii)の分布の広がり大きく, 脳圧降下剤, 血液凝固阻止剤等使用された薬剤の影響を受けているためと思われる。6) 相関: ルーチン法としてのTG-EとTGとの相関はn=99, $r=0.99$, $y=0.96x+4.78$ と良好であった。TGとTG-Sはn=102, $r=0.99$, $y=0.97x-4.14$, bias 7.17, TG-FGとTG-Sはn=102, $r=0.99$, $y=0.97x+1.98$, bias 0.98と良好であり, biasはFG値と一致した。TG-SとFG間には相関は見られなかった。しかし, 糖負荷試験を受けた8例においてTG-SとFGの相関をみると, 3例に $r=0.84$ 以上の相関係数を示す興味ある結果を得た。

IV. 総括 酵素法によるTG測定はFGの取り扱い方が問題であるが, 今後の方向としては消去法により求める方法とTGとFGを並行記載して行く方法がある。糖負荷試験でみられたFGの動態と併せて, FGの臨床的意義を見出ししていくには, 私達は後者を採用していきたい。

10. リパーゼ測定 (紫外濁度) 法の検討

小松島赤十字病院

○杉本記代美, 森 京子, 森 節子,
米津静代, 近清裕一

目的) 血清リパーゼ活性値は脾疾患の診断指標として、価値が高いと考えられているにもかかわらず、臨床の場では広く用いられていないのが現状である。その理由として、感度的に又、再現性の面で良い結果が得られず、自動化が出来にくいという欠点があった。

従来、血清リパーゼ測定はオリブを基質としたアルカリ滴定法、比濁法、酸素拡散法、人工基質のBALB法などが用いられている。

最近、トリオレインを基質とした比濁法による血清リパーゼ活性測定用キット「オートバック・リパーゼ」(BMY社)が市販された。このキットを用い、アボットVPによる自動分析より多量処理を行い、リパーゼの臨床的意義より緊急性が必要な点から少数検体の処理としてRABA-SUPERを用いた2方法を検討したので報告する。

方法) 1) 試薬: オートバックリパーゼ

(BMY社)の指示通り調整して用いた。

2) 測定条件: ①アボットVPはSTD法と

FACTOR法の2法で検討を行った。

METHD STD法 (FACTOR法)

NAME 28(28) LD 200(-)

TEMP 30°C(30°C) RE-BLANK -(Y)

F-ID 12(12) A-FACTOR -(7900)

UNIT 11(11) E-POINT N(N)

DILUTE 26(26) B-P-R 3(3)

R-TIME 3(3) P-PEVS -(1)

AUX-D N(N) INT-LIMIT N(N)

FRR N(N) UP-LIMIT N(N)

REACT-UP N(N) SUBS-DEP 0.35(0.35)

STD Y(N) REAG-DGR 10(10)

HI 200(-)

②RABA-SUPER (中外)法

血清 0.1 mlに試薬 2.5 mlを加え、3分加温後次の条件で測定した。

CODE 98 (4分間RATE)

FILTER 366 TEMP 37°C

FACTOR 5000

成績) 1) 経時変化

アボットUP法は30°C, 37°Cを検討したが、有意差はなく、また単位400U/L, 100U/L, 30U/Lの検体について経時変化を見たが、△吸光度の変化値は小さい、しかし15分まで一定な減少傾向を示す。R-S法は血清と試薬の比率は自由に取れるが検討の結果、添付説明書通り1:25の比率を用いた。ラグタイムとして30秒が必要であり、30秒後から15分間までは一定の吸光度減少を

示したので、3分後から7分後までの4分間RATEとした。

2) 再現性

測定法	同時再現性			日差変動		
	XU/L	SD	CV%	XU/L	SD	CV%
UP法	480	15.4	3.2	475	19.0	4.0
	261	8.9	3.4	265	11.7	4.4
	30	4.3	14.3	34	5.8	17.1
R-S法	485	16.0	3.3	479	17.7	3.7
	265	9.0	3.4	265	9.8	3.7
	35	5.3	15.1	37	6.6	17.8

3) 直線性 VP法, P-S法とも、750U/Lまで直線性を確認した。

4) ネフエロテックTM及びVPとR-S法の相関
ネフエロテックTMとVP法

$$Y=0.48X+9.6 \text{ 相関係数 } 0.86$$

ネフエロテックTM法とR-S法

$$Y=0.54X+16.2 \text{ 相関係数 } 0.67$$

VPとR-S法

$$Y=0.83X+19.9 \text{ 相関係数 } 0.98$$

5) 試薬安定性 溶解後、冷蔵庫保存で7日間は安定であった。

6) 健常値 当院職員及び健常者400人を測定した結果、185U/L以下であった。

結論) RABA-SUPER法はVP法とほぼ同じ値で、両者の相関もよく、ルーチン検査として用いることが出来る。多量処理としてVPを用い、緊急検体や少数検体の処理としてR-S法を用いる事により、作業能率、経済性の面から臨床病院の検査として有用である。

病態変化時におけるリパーゼ活性の上昇はアミラーゼ活性より高く、また持続性がある。また、ある種の疾患に対してアミラーゼ、リパーゼ活性値が解離する事があり、診断、経過観察には両者の同時測定が重要であると考ええる。

11. アミラーゼインヒビターによるアイソザイム

長岡赤十字病院

○柳田 良子、小林 幸子、岩本 洋子
丸山 千恵子、永井 久美子、星 周一郎
関野 千賀子、高橋 壮一郎 (内科)

「目的」アミラーゼアイソザイムの測定には、現在電気泳動法が一般に普及しておりますが、血清保存条件による変化、高活性時におけるデンストメトリーでの分離能の悪さなど判別に難を要す点が多々あります。又、急性膵炎のように緊急を要する時に、それに対応できる即時性にも、やや劣ります。しかし、近年、インヒビター法によるアイソザイムの分離が可能になりました。今回フアデバスアミラーゼインヒビター試薬を用いてアミラーゼアイソザイムの検討を行ないましたので御報告いたします。

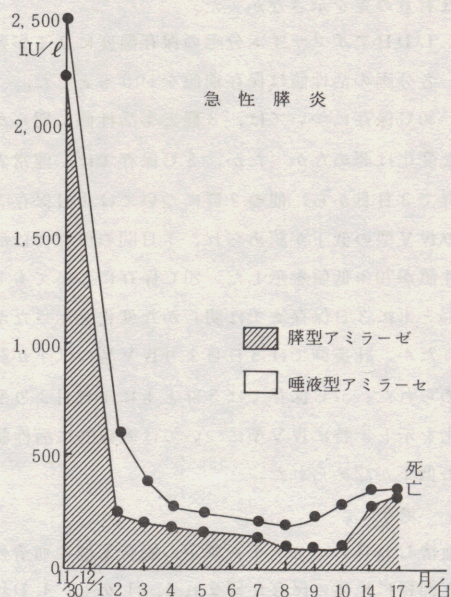
「方法」一つの血清についてインヒビター添加のものと未添加(総アミラーゼ)のアミラーゼ活性値をブルースターチ法(シオノギ)にて測定し、その比をあらかじめ作成した $\frac{P}{S}$ 比検量線にあてはめ $\frac{P}{S}$ 比を算出。計算にて膵型、唾液型活性値を求めます。電気泳動法はセルロース・アセテート膜(TITAN-III-LIPO)を使用し、緩衝液にはペロナール緩衝液とトリス緩衝液との不連続系を用いました。

「成績」変動係数は膵型アミラーゼ2.6%、唾液型アミラーゼ3.5%、日差変動は膵型アミラーゼ5.8%、唾液型4.4%と安定しており、冷蔵、氷室における保存の影響も少なくとも安定しております。電気泳動法との相関も膵型アミラーゼ0.95、唾液型アミラーゼ0.97と良好な結果が得られました。正常値(当院職員75名、早朝空腹時)は膵型アミラーゼ $45-145 \frac{IU}{\ell}$ 、唾液型アミラーゼ $35-260 \frac{IU}{\ell}$ 、総アミラーゼ $105-360 \frac{IU}{\ell}$ となりました。

各疾患別の有用性についてみますと急性膵炎では血清、尿ともに総活性は異常高値

を示し $\frac{P}{S}$ 比8.0以上、膵癌では総アミラーゼ、膵型アミラーゼ共に低値で唾液型アミラーゼは正常範囲に入り、耳下腺炎では、血清、尿ともに $\frac{P}{S}$ 比0.1以下、腎疾患、糖尿病では $\frac{P}{S}$ 比正常であり、胆道系疾患では総アミラーゼが正常範囲にはいっても $\frac{P}{S}$ 比は高いという結果が得られました。又、術後膵炎検索のため術前から術後10日目頃まで追跡できたもののアイソザイムを測定したところ23例中2例に何らかの形で膵炎を併発したのがみつけられました。

「結語」以上のようにインヒビター法は簡単にしかも迅速に定量分析でき、経過の観察もみることが出来ます。一方、マクロアミラーゼなど電気泳動法によって判別が一見でつくというものもあり両者の利点を利用してアミラーゼアイソザイムの分析を行なうことが必要と思われれます。



12. 血清LDHアイソザイムの安定性について

福島赤十字病院臨床検査部

○中村郁夫, 富田 博, 阿部美代子
星 岩雄, 同内科 野口 尚一

目的

血清LDHアイソザイムの安定性については、さまざまな報告がある。今回我々は、保存温度によるLDHアイソザイム分画への影響について検討を加えたので報告する。

検査対象と方法

健常者5例、心筋硬塞3例、肝炎5例について3群に分け、血清の保存はプラスチック栓付滅菌小試験管に0.5 ml分注し、検体保存温度として-30・5・20・37℃とし、その各温度で1・3・5・7日間保存した。LDHアイソザイムは和光のキットを使用した。

結果

- 1) LDH総活性値は血清保存前値を100%として、-30・5・20・37℃に保存した場合の酵素活性の経日変化は、各保存温度により、経日的に活性値は低下傾向を示したが、-30・20℃7日間保存では有意の差を示さなかった。
- 2) LDHアイソザイム分画の保存温度による影響
各分画の活性値は保存前値を100%とした。
-30℃保存については、3群とも活性値に明らかな変化は認めなかったが、5℃保存では、健常者群で3日目から、他の2群については1日保存よりIV型V型の低下が認められ、7日間の保存では活性値が70%低値を示した。20℃保存についても3群ともに3日保存までは明らかな変化を示さなかったが、肝炎群では5日目よりIV型V型の低下が認められた。37℃保存では3群ともに1日目より変化を示し、特にIV型については直線的に活性値の低下が認められた。

考察

血清LDHアイソザイム測定の場合も他の血清検査と同様に検体の保存が望まれる。しかし、LDH

アイソザイム(LDH₄, LDH₅)の安定性を考えて、低温では不安定であるため室温あるいは-80℃が最も安定とする報告と、4℃3日以内、-20℃~-25℃保存で少なくとも1週間は安定とする報告もあり、それらの報告を追認した報告も数多く認められるが、不明な点が多い。今回著者らは、各保存温度による血清LDH活性、アイソザイムについて2・3の検討を加えたが、-30℃7日間保存でもLDH活性平均値で15%、5℃保存では30%の失活をみることから、血清LDHの検体保存は20℃で3日、-30℃で5日以内に測定すべきと考える。

血清LDHアイソザイム分画の保存温度による活性値の変化では、健常者群で-30℃7日間保存することにより、保存前値との間には5%の危険率で有意の差は認めなかったが、5℃保存では1日目よりIV型、3日目よりV型の失活が認められ、5℃による検体の保存は不相当と考える。又室温保存は細菌の汚染が考えられるとの報告もあるが、著者らの実験では37℃7日間保存した検体について、血液寒天培地・BTB培地に細菌の発育は認めなかったことより、室温で3日目までは安定と思われる。

まとめ

- 1) 血清LDH測定血清の保存は、室温で3日間、-30℃保存では7日間は安定であった。
- 2) LDHアイソザイム分画の血清保存による影響は、3群ともに室温で3日間-30℃では5日間までは保存の影響を受けなかった。
- 3) 5℃、37℃保存では、3群ともにIV型V型の分画に大きな影響が認められた。

13. 医療センターにおける穿刺吸引細胞診

—特に乳腺吸引細胞診について—

日赤医療センター
中央検査部細胞診・病理

○村田松雄, 野口泰子, 橋本昭一,
関口 進

今日穿刺吸引細胞診の応用範囲はますます拡大され細胞診断学の主要分野の一つとなっている。医療センターでは昭和54年8月より千葉大ー外科式穿刺吸引ピストルを採用し、乳腺、リンパ節、甲状腺、体表腫瘍、etc.について施行してきた。その内訳は以上の図表のごとくであり、穿刺吸引細胞診の全検体数からの比率は昭和54年0.9%、昭和55年1.4%、昭和56年1.7%と増加している。(表1)

今回我々は医療センターで日常行なっている穿刺細胞診用吸引ピストルによる細胞採集方法から塗抹染色法を紹介し、最近特に著しく増加している乳腺穿刺細胞診にSpotをあてPAP分類と細胞像、細胞診と組織診との一致例、不一致例の検討、昭和56年度より採用した判定保留の報告、についても考えてみたい。

以下は過去3年間の乳腺細胞診で診断し得た症例の図表である。(表2)

(表1)

検査材料	Class	I	I~II	II	IIIa	III	IIIb	IV	V	判定保留	合計
	年度										
乳腺穿刺物	54	10	0	5	5	4	3	2	8		37
	55	43	0	16	39	16	4	2	30		150
	56	39	8	61	71	13	4	3	34	8	241
リンパ節穿刺物	54	1	0	0	0	0	0	0	0		1
	55	9	0	1	1	1	0	1	0		13
甲状腺穿刺物	56	13	0	0	0	0	0	0	6		19
	54	14	2	3	2	2	0	0	2		25
	55	8	0	2	3	2	1	0	4		20
腫瘍穿刺物	56	5	0	3	1	0	1	0	2		12
	54	6	0	0	0	0	0	1	0		7
	55	7	0	3	0	3	0	1	8		22
乳腺分泌物	56	9	0	1	1	4	3	0	14	1	33
	54	29	1	9	5	2	0	1	1		48
	55	33	0	5	1	0	0	0	2		41
	56	24	0	7	2	0	0	1	6		40

(表2)

Class	Class	IIIb以上	組織診にてCa, 手術例	全件数よりみた悪性の比率
年度				
54	分泌物 穿刺物	4 9	13	11 85%
55	分泌物 穿刺物	2 34	36	24 67%
56	分泌物 穿刺物	6 35	41	31 76%

14. Arias-stella細胞の検出で子宮外妊娠を推定した一症例

大田原赤十字病院 検査部 産婦人科※ o杉江和明 渡辺ウメ 鈴木頼之助 ※※
慶応医学部 婦人科※※ 伊藤茂夫 小林 徹 長谷川寿彦

子宮外妊娠の診断には、血清学的妊娠反応、
ダグラスカ穿刺、内膜細胞診等の検査がありま
す。さて、我々は、最近子宮外妊娠の疑いで、
子宮内膜スメアにて、Arias-stellaの細胞を
認め、子宮外妊娠と診断した症例を経験したの
で報告する。

〔症例〕36才 女性 5回経妊2回経産（流産
1回、中絶2回）今回妊婦の最終月経は、昭和
57年1月9日から7日間、2月9日ごろ出血
があり、22日現在まで出血継続し、2月15日
下腹部痛開始、2月15日 下腹部痛増強、某開業
医にて受断し、様子をみたが出血止まらず、子
宮外妊娠の疑いにて、2月22日入院、妊娠反応
陽性、ダグラスカ穿刺にて血液成分を認める。
子宮内膜スメアで、Arias-stella細胞が検出
され、子宮外妊娠を推定し、手術を施行、右側
卵管妊娠破裂と診断した。

〔細胞所見〕標本は、多数の赤血球を背景とし
て、やや細胞境界不明瞭な合胞状配列で、一部
重積性を示す集団が見られる。細胞質はライト
グリーンで、核は偏在も、やや過染性で大小不
同は著明でなく、核小体は認められ、核縁は均
一である、一見腺性の異型細胞と思わせる脱落
膜細胞が見られ、この細胞は、Arias-stella
細胞と思われる。

〔組織所見〕内膜組織像には、Arias-stella
反応が認められる。

