

〔研究〕

ラテックスイムノアッセイ(LIA)による血中ならびに尿中の
 β_2 -マイクログロブリン(β_2 -m)の測定に関する基礎的検討
 —自動分析装置 TBA-60 R を使用して—

日本赤十字社医療センター中央検査部

杉谷輝男 喜島康雄 福島わか子
 船越成人 宮域芳得

β_2 -マイクログロブリン(以下 β_2 -mと略す)はアミノ酸残基 100 個から成る分子量約 11800 の単鎖ポリペプチドである。生体内ではリンパ球をはじめほとんどの有核細胞で合成された血液、尿、髄液中などに微量に存在する。 β_2 -m は低分子蛋白であるため腎糸球体で容易に濾過され、尿細管でほとんど再吸収され異化される。血清中 β_2 -m が高値を示す疾患として急性、慢性糸球体腎炎、ネフローゼ症候群など腎疾患、SLE、自己免疫性溶血性貧血などの免疫疾患、原発性肝癌、慢性リンパ性白血病などの悪性腫瘍があり、また尿中における β_2 -m の増加は腎尿細管障害の病変程度を知る上での極めて重要な臨床的意義をもっている^{1,2)}。

β_2 -m の測定には Single radial immunodiffusion (SRID)法, Radio immunoassay (RIA), Enzyme immunoassay (EIA), Latex immuno assay (LIA), Fluoroimmunoassay などがあるが、今回われわれは LIA で東芝自動分析装置 TBA-60 R を用い血清中、尿中の β_2 -m の測定に関してその基礎的検討を行い若干の知見を得たので報告する。

I 測定法

1 測定原理(LIA)

試料とラテックス試薬を作用させると、試料中の β_2 -m 抗ヒト β_2 抗体をラベルしたラテックスと特異的な抗原抗体反応を起し、混濁を生じる。この濁度は試料中の β_2 -m に比例するので、

これを近赤外光で測定することにより試料中の β_2 -m 濃度を求める。

2 試薬

LIA 法によるイアトロメイト β_2 -m(ヤトロン社)試薬を使用した。本キットの構成はつぎのとおりである。

- β_2 -m R-1(安定化液); トリス緩衝液
- β_2 -m R-2(ラテックス試薬); 1 瓶中抗ヒト β_2 -m 抗体感作ラテックス懸濁液
- β_2 -m 測定用希釈液
- Standard; β_2 -m 標準液 1 瓶を 1 ml の蒸留水で溶解させ表示濃度として用いる。

3 測定機器

東芝自動分析装置 TBA-60 R を用いた。測定パラメータは表 1 に示す。

4 試料

血清試料についてはすべて当日検体かまたは当日検体を凍結保存し 3 日以内のものをあらかじめ β_2 -m 希釈液で 15 倍に希釈してそれぞれ測定した。

尿試料についてはすべて pH 6.0 以上の随時尿で当日のものかまたは当日検体を凍結保存し 3 日以内に測定した。

II 実験と結果

1 直線性

図 1 に高濃度域における直線性を示す。やや高値の血清を、 β_2 -m 希釈液を用い図に示すように希釈系列を作り各々を測定した。少なくとも

表 1 TBA-60R による β_2 -m の測定パラメーター

項目名: β_2 -m					
1	TYPE	: RATE	17	S RINSE	: 50
2	COLOR. WL-1	: 700	18	REAGENT-1	: 260
3	WL-2	: 0	19	R 1 RINSE	: 0
4	FLUOR. Lx/Lm	: 0	20	REAGENT-2	: 120
5	PHOTOMUL. V	:	21	R 2 RINSE	: 0
6	UNITS	: $\mu\text{g/l}$	22	REAGENT-3	: 0
7	DATA FORM	: NUMERAL	23	R 3 RINSE	: 0
8	DECL. POINT	: 0	24	R 3 ADD TIME	: 0
9	FACTOR	: 0	25	M. READ START	: 40
10	STD # 1	: STD 値	26	END	: 70
11	# 2	: 0.000	27	ABS LIMIT LOW	: 0.0000
12	STD # 3	: 0.000	28	HIGH	: 2.0000
13	# 4	: 0.000	29	LINEAR CHECK M	: 30
14	# 5	: 0.000	30	MONITOR SPAN	: 2.000
15	# 6	: 0.000	31	0 LEVEL POINT	: 0
16	SAMPLE VOL	: 5	32	CORRELATION A	: 1.000
			33	B	: 0.000

も $1200 \mu\text{g/l}$ までは試料の希釈の必要はなく原試料のまま測定可能である。図 2 に低濃度域における直線性を示す。添付標準液を用いその希釈系列を作り測定した。下限は少なくとも $20 \mu\text{g/l}$ までは測定可能である。

2 再現性

3 種の濃度の異なる試料について同時再現性をしらべたところ表 2 に示すように非常に低濃度の試料 ($\bar{x}=43.7 \mu\text{g/l}$) においては $CV=5.1\%$ とややバラツキが見られるが他の 2 濃度については満足すべき結果が得られた。日差再現性については表 3 に示す。いずれも満足な結果が得られた。

3 他法との相関性

血清試料 19 例, 尿試料 19 例について RIA (2 抗体法) 法との相関性を検討した。図 3, 4 は血清試料と尿試料でのそれぞれの相関図である。x 軸が RIA, y 軸が本法で $y=1.379-146$, $r=0.996$, $y=1.176x-6.2$, $r=0.955$ といずれも十分満足し得る相関性が得られた。

4 正常参考値

a. 血清

当院健診センター受診者より生化学的検査一般尿検査の正常な 43 名(男 26 名 25~71 歳, 女 17 名 28~59 歳)について測定し, 本測定法によ

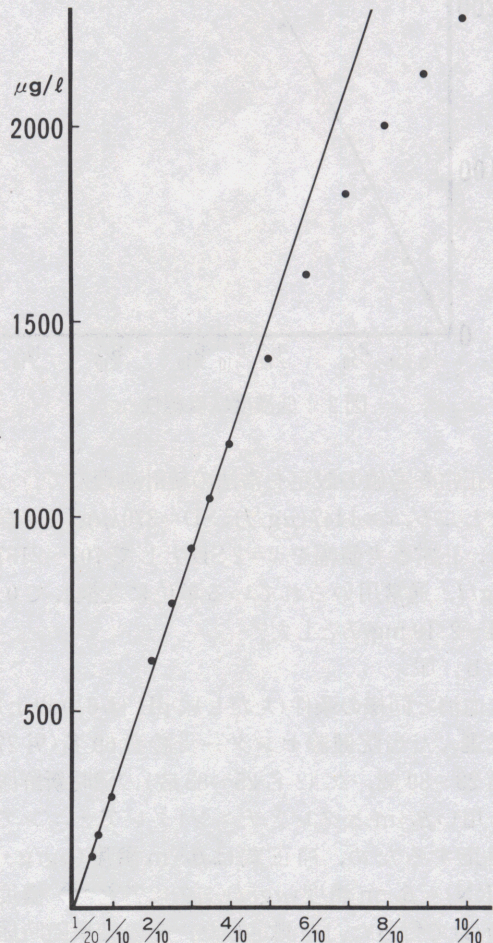


図 1 高濃度域直線性

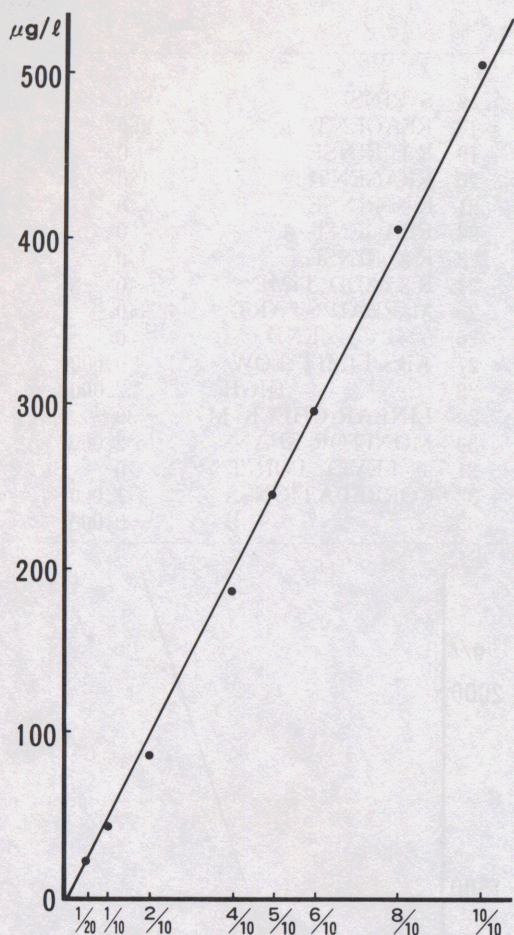


図2 低濃度域直線性

る正常参考値の設定を常法の統計処理にて行ったところ、 $\bar{x}=1447(\mu\text{g}/l)$ 、 $SD=370(\mu\text{g}/l)$ となり、正常参考値幅を $\bar{x}=2SD$ として707~2187 $\mu\text{g}/l$ 、通常用いられている単位に変換して0.71~2.19 mg/l とした。

b. 尿

血清と同様の条件(ただし尿 pH は 6.0 以上)で選んだ当院健診センター受診者 69 名(男 27 名 23~80 歳, 女 42 名 25~83 歳)の随時新鮮尿を用い $\beta_2\text{-m}$ とクレアチニン[クレアチニンで補正するため、補正式は $\beta_2\text{-m}$ 濃度($\mu\text{g}/\text{g}\cdot\text{CRN}$)= $\beta_2\text{-m}$ 濃度($\mu\text{g}/l$) \div クレアチニン濃度(g/l)で行った.]を測定した。その結果随時尿中における $\beta_2\text{-m}$ 濃度は $\bar{x}=94\mu\text{g}/l$ 、 $SD=70$ 、

表2 同時再現性 単位 ($\mu\text{g}/l$)

	Low	Mid	High
	46	128	488
	44	127	491
	41	130	489
	39	126	495
	44	125	488
	45	129	486
	45	134	531
	45	123	512
	44	128	500
\bar{x}	43.7	127.8	497.8
CV(%)	5.1	2.5	2.9

したがって正常参考値幅は 234 $\mu\text{g}/l$ 以下, またクレアチニンで補正した場合には $\bar{x}=98(\mu\text{g}/\text{g}\cdot\text{CRN})$ 、 $SD=73$ 、で正常参考値幅は 244 $\mu\text{g}/\text{g}\cdot\text{CRN}$ 以下と設定した。

図5に随時尿におけるクレアチニン補正值と無補正值の相関性を示す。相関は良好とはいえ、随時尿における $\beta_2\text{-m}$ の濃度はクレアチニンによる補正の必要性を示唆している。

III 考 察

$\beta_2\text{-m}$ の測定には従来主にRIA、EIAが行われてきたが、これらは専用の施設と設備を必要としたりまた、操作の煩雑性などによりその臨床的意義は十分に認められていたにもかかわらずそれほど普及に至らなかった。近年ラテックスイムノアッセイ(LIA)が開発され精度的にもRIA、EIAにも劣らずしかも汎用自動分析装置にも容易に使用できることから今後 $\beta_2\text{-m}$ の測定が広く行われるものと思われる。

今回のわれわれは血中、尿中の $\beta_2\text{-m}$ をLIA法(イアトロメイト $\beta_2\text{-m}$ 、ヤトロン社)により自動分析装置TBA-60R(東芝)を用いて測定した。

希釈直線性については低濃度域から高濃度域まで原点を通る直線となり原液で1200 $\mu\text{g}/l$ まで測定可能であった。このことはこれまでの

表 3 日差再現性 単位 (μg/l)

DATE	1	2	3	4	5	6	\bar{x}	CV(%)
Low	43	46	45	49	44	44	45.2	4.7
Mid	122	135	143	143	128	127	133.2	6.6
High	509	513	511	496	498	487	502.3	2.0

(結果は二重測定の平均値)

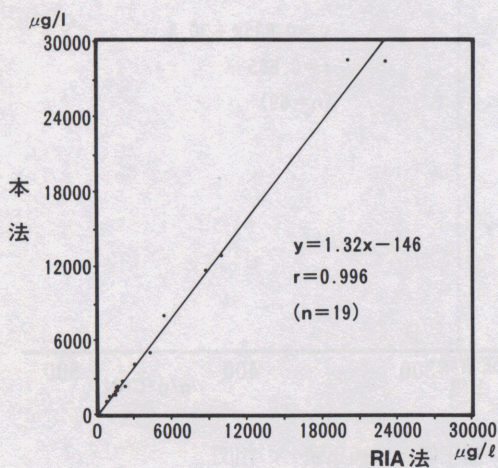


図 3 RIA 法との相関(血清)

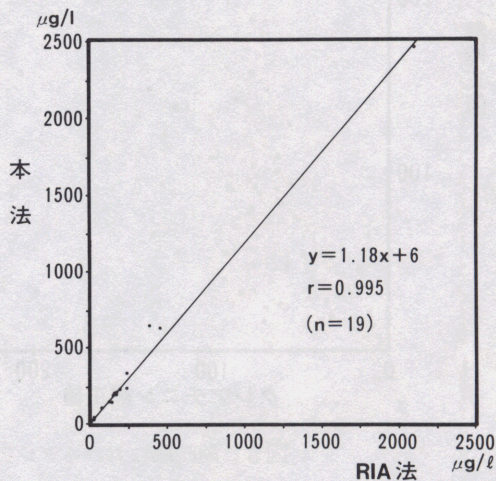


図 4 RIA 法との相関(尿)

800 μg/l まで直線性があるという報告³⁾と比較して良好な結果を示している。これは常法の 15 倍希釈血清で 1800 μg/l (18.00 mg/l) の高濃度まで測定が可能であることを示している。尿においても同様なことが示される。

再現性は極めて低濃度 ($\bar{x}=43.7 \mu\text{g/l}$) ではややバラツキがみられたが他の 2 濃度においては満足すべき結果が得られた。

本法と RIA (2 抗体法) との相関性を血清試料と尿試料とについて別々に検討したところ、相関係数は前者は $r=0.996$ 、後者は $r=0.995$ と極めて良好な相関が得られた。

尿については LIR と RIA の間でかなりの乖離する例がみられるとの報告⁴⁾もあるが今回のわれわれの検討ではそのような例は見当らなかった。しかし β₂-m は pH 5.6 付近以下で短時間

に大幅に分解されるため⁴⁻⁶⁾尿の pH には十分注意しなければならない。

血清 β₂-m の正常参考値について 709~2186 μg/l (0.71~2.19 mg/l) という範囲が得られたが、これは RIA 法で 0.8~2.0 mg/dl²⁾, 0.5~2.0 mg/l⁷⁾, LIA 法で 0.5~2.0 mg/l⁷⁾ と、これまで報告されているものとほぼ同様の値と思われる。

尿については 24 時間尿での測定が望ましいが、外来患者の採尿の容易さを考えて随時尿における正常参考値を検討した。その結果クレアチニンで補正しない場合は <234 μg/l, 補正した場合は <244 μg/g・クレアチニンであった。これは補正しないときの 17~328 μg/l⁷⁾ よりもや低値であり、補正したときの 70.3±22.3 μg/g・クレアチニンの報告⁸⁾に比較すると平均

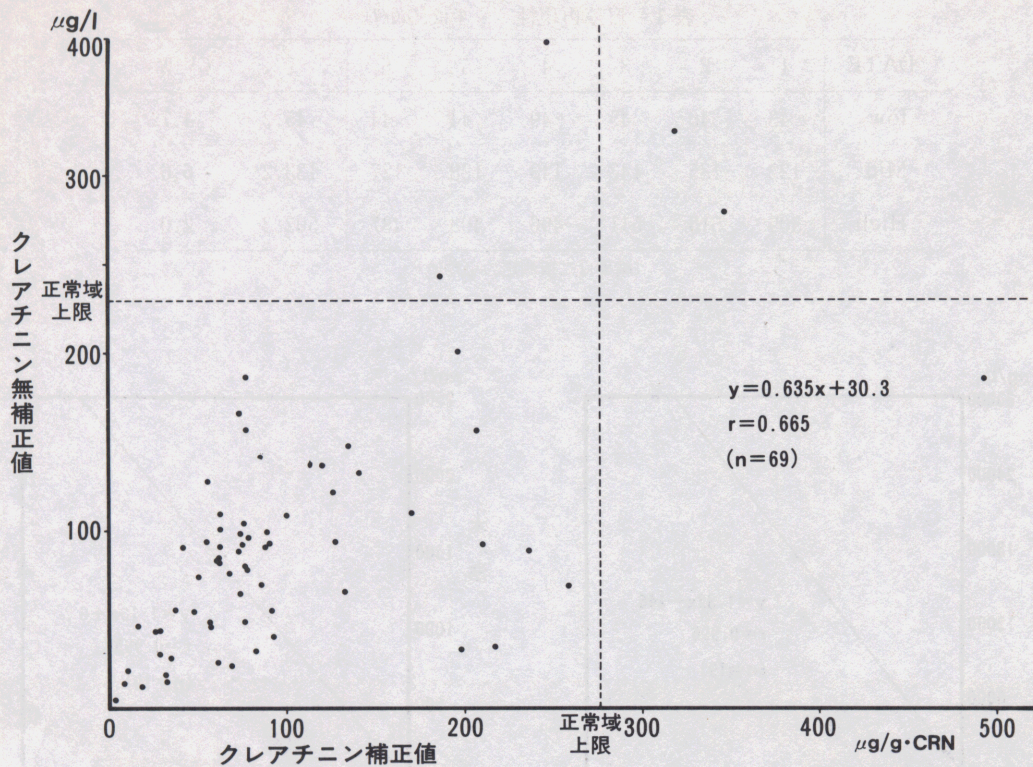


図5 随時尿におけるクレアチニン補正值と無補正值との相関

値はほとんど変わらないが設定幅がかなり広がっている。

図5に随時尿69例についてのクレアチニン補正值と、無補正值の相関図を示したが、その相関性は良好とはいえない。さらに双方の正常参考値範囲で正常、異常が一致しない例が3例あった。そのうちの1例は補正しない場合は全くの正常参考値を示したが、クレアチニン補正を行うと極端な異常高値を示した。これらのことから随時尿における $\beta_2\text{-m}$ の測定はクレアチニンによる補正の必要性が示される。

IV 結 語

自動分析装置TBA-60R(東芝)を用いLIA法(イアトロメイト $\beta_2\text{-m}$, ヤトロン)による血清、尿中 $\beta_2\text{-m}$ の測定に関する基礎的検討を行

った。直線性、再現性、他法(RIA)との相関性は良好であった。正常参考値は血清で $0.71\sim 2.19\text{ mg/l}$ 、尿で $<234\text{ }\mu\text{g/l}$ (クレアチニン無補正)、 $<244\text{ }\mu\text{g/g}\cdot\text{CRN}$ (クレアチニン補正)が得られた。

本法は迅速、正確性等が優れており、TBA-60Rを用いても日常検査に十分適用出来るものと思われる。

文 献

- 1) 金 衡仁, 河合 忠: β_2 -マイクログロブリン, 日本臨牀(秋季臨時増刊号), 43: 112~115, 1985
- 2) 金 衡仁: 尿中 β_2 -マイクログロブリンの定量, 検査と技術, 13: 169~174, 1985
- 3) ヤトロン社資料, 未発表
- 4) 榎本博光, 伊藤喜久: 測定法変更による尿中 β_2

- ミクログロブリン値の変化, 臨床検査, 31 : 1518~1521, 1987
- 5) P.G. Davey, P. Gosling : β_2 -microglobulin instability in pathological urine. Clin. Chem., 28 : 1330~1333, 1982
- 6) M.D. Bastable : β_2 -Microglobulin in urine : Not suitable for assessing renal tubular Function. *ibid*, 29 : 996~997, 1983
- 7) 石川兵衛, 金内雅夫 : β_2 -ミクログロブリン, 臨床化学, 24 : 1477~1480, 1989
- 8) 橋本儀一ほか : ラテックス比濁法を用いた正常人および糖尿病患者の尿中 β_2 -ミクログロブリンの測定, 機器・試薬, 9 : 613~619, 1986

保険適用
350点

**凝固活性化の有力な指標、
血栓準備状態を迅速に捉えます。**

血漿中のトロンビン・アンチトロンビンIII複合体(TAT)測定キット

エンザイグノスト® TAT

体外診断用医薬品

●用法・用量及び使用上の注意等については、添付文書をご参照ください。
 ●お問い合わせ及び資料請求はヘキストジャパン株式会社医薬営業本部診断薬部までお願いいたします。

●ベーリングベルケ社の製品は
 ヘキストジャパン株式会社より販売されています。

ヘキストジャパン株式会社
 東京都港区赤坂八丁目10-16 107

BEHRING
Behring