

## 〔 研究 〕

## 尿蛋白測定法の標準物質の検討

大宮赤十字病院 検査部

江原 進 森田 淑子  
清水 和美 足立 京子

## はじめに

尿蛋白定量法であるKingsbury-Clark (以下KCと略す)法<sup>1)</sup>の問題点の一つとして、アルブミンとグロブリンとの反応性が異なる<sup>2)</sup>ことがあげられる。この点を改善した定量法として、Meulemans (以下Mと略す)法<sup>3)</sup>、Benzethonium chloride (以下BCと略す)法<sup>4)</sup>、Coomassie brilliant blue G-250 (以下CBBと略す)法<sup>5)</sup>、Pyrogallol red (以下PRと略す)法<sup>6)</sup>等がある。

尿蛋白量が正確に測定されるには、尿中の種々の蛋白との反応性が同程度である必要がある。また、標準物質がその定量法に適するかどうか確認する必要がある。

筆者らは、代表的な定量法KC法、M法、BC法、CBB法およびPR法と標準物質人アルブミン、牛アルブミンおよび人血清を用いて尿蛋白量の測定値の比較をした。その結果を報告する。

## I 方 法

## 1 定 量 法

KC法、M法、BC法、およびCBB法は文献に従って、試薬を調整し測定した。

PR法は、マイクロTP-テストワコー (和光純薬) を用いて測定した。測定操作は、サンプル量を50 $\mu$ l、反応温度を室温とした。他

の操作は使用説明書に従った。

## 2 標 準 物 質

人アルブミン(シグマ社)および牛アルブミン(シグマ社)は、生理的食塩水で70mg/dlに調整した。調整した溶液を、それぞれHA、BAと略す。

人血清は、患者血清40検体を用いた。これらを生理的食塩水で100倍希釈した。蛋白量は、人アルブミンを標準物質として、Microbiuret法<sup>7)</sup>で測定した。調整した溶液をHSと略す。

## II 結果および考察

TCA-Biuret (以下TCA-Bと略す)法で測定した蛋白量76mg/dlの尿蛋白を、それぞれの標準物質を用いて、各定量法で測定した。その結果を図1に示した。図1の□は、HAを用いた測定値である。+は、BAを用いた測定値である。◆は、40検体のHSで測定した測定値のうち、最も高い値を示し、▲は、最も低い値を示す。

KC法は、BAおよびHAでの測定値が、TCA-B法の測定値よりも低い値を示し、HSでは、高い値を示した。

M法は、BAの値がTCA-B法の値より低く、HAでの値は、近似していた。HSでは、TCA-B法に近似した値を示すものもあるが、多くのものが高い値を示した。



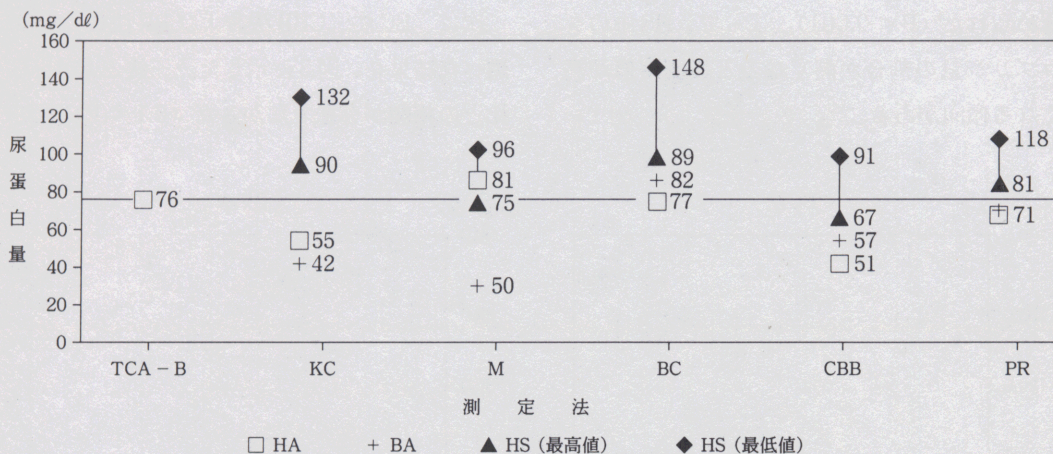


図1 測定法と標準物質による尿蛋白量の比較

BC法は、HAおよびBAでの値が、TCA-B法の値と近似していた。HSでは、高い値を示した。

CBB法は、HAとBAとの値が近似した。また、HAとBAの値は、両者ともTCA-B法の値よりも低くなった。HSでの値は、TCA-B法の値に近似するものがあるが、低い値または高い値を示すものがあった。

PR法は、HAとBAとの値は近似し、また両者ともTCA-B法との値に近似した。HSでは、TCA-B法に近似した値を示すものもある

が、多くのものが高い値を示した。

KC法およびCBB法は、標準物質にHAを用いた場合、TCA-Bとの回帰分析で、他の定量法よりも系統的誤差が認められる<sup>7)</sup>ことが報告されている。その要因として、今回検討した結果から、蛋白量が低く測定されることが考えられる。

次に、HS (N = 40) で測定した各測定法の値とHSのA/G比との相関を調べた。KC法およびM法について調べた結果を、図2に示した。両者ともA/G比と有意の負の相関が

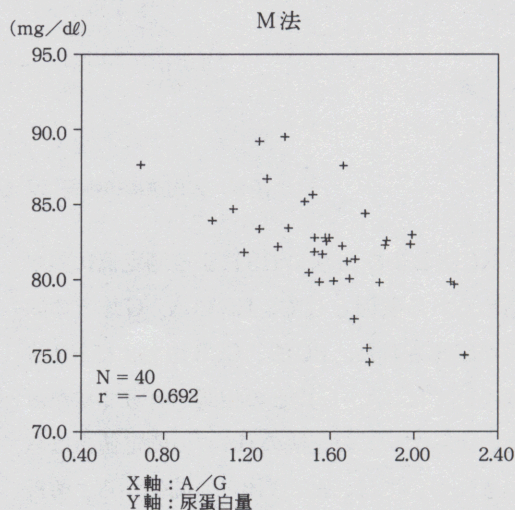
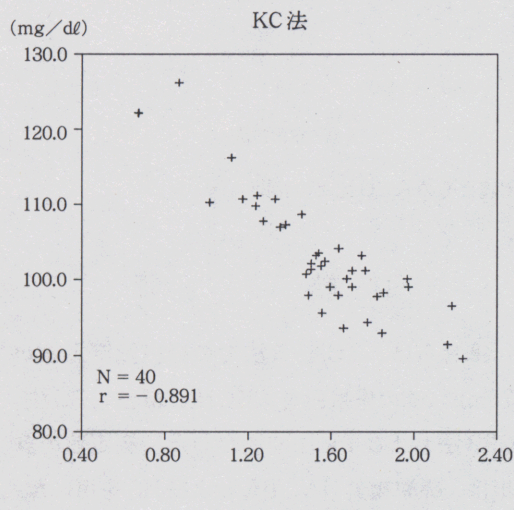


図2 人血清標準物質による測定値とそのA/G比との相関



認められた ( $P < 0.001$ )。よって、HS中のグロブリン量の割合が高くなると、測定値が高くなる傾向がある。

次に、BC法、CBB法およびPR法について調べた結果を、図3に示した。三法ともA/G比との相関が有意でなかった ( $0.1 < P$ )。

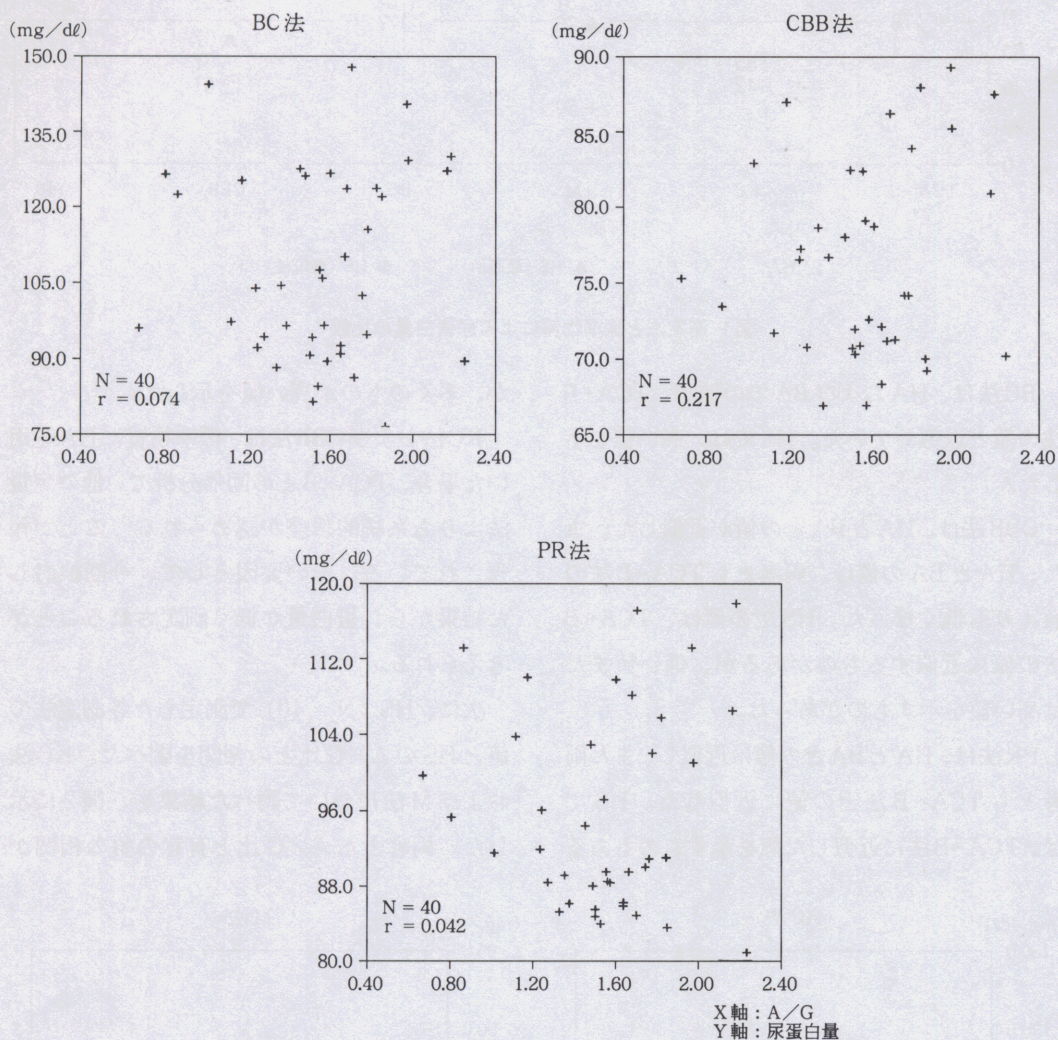


図3 人血清標準物質による測定値とそのA/G比との相関

KC法およびM法のHSによる測定値に差が認められる要因として、HSのA/G比との関係が確認された。BC法、CBB法およびPR法については、A/G比との相関が有意でなかった。よって、この三法のHSでの測定値のばらつきについては、A/G比との関係から、解析できなかった。

### III 結 語

筆者らは、TCA-B法での蛋白量測定値が76mg/dLの尿蛋白を、KC法、M法、BC法、CBB法およびPR法で測定した。測定値の算出は、標準物質HA、BAおよびHSを用いた。その測定値とTCA-B法での測定値と比較し



た。また、HSでの測定値とHSのA/G比との関係についても調べた。

その結果、次のことが確認された。

- 1) M法、BC法およびPR法の測定値がTCA-B法の値と近似する標準物質は、それぞれHA、HAまたはBA、HAまたはBAであった。HSではいずれの測定法もTCA-B法より、高めの値を示した。
- 2) KC法は、今回検討した標準物質では、TCA-Bの値に近似しなかった。
- 3) CBB法は、HSでTCA-B法の値に近似するものもあるが、低い値または高い値を示すものがあった。HAおよびBAでは低い値を示した。
- 4) HSでの測定値は、KC法およびM法で、そのHSのA/G比が低くなると測定値が高くなる傾向があった。BC法、CBB法およびPR法は、A/G比との関係が認められなかった。よって、BC法、CBB法およびPR法のHSでの測定値のばらつきの要因については、A/G比との関係から説明できなかった。

(本稿の主旨は、第25回埼玉県臨床衛生検査学会において発表した。)

## 文 献

- 1) Kingsbury, F. B., et al: The rapid determination of albumin in urine. *J. Lab. Clin. Med.*, 11: 981~989, 1926
- 2) 江原 進、鈴木優治: 尿中総たん白測定法6法の測定値の比較、*衛生検査*, 39: 68~72, 1990
- 3) Meulemans, O.: Determination of total protein in spinal fluid with sulfosalicylic acid and trichloroacetic acid. *Clin. Chim. Acta*, 5: 757~761, 1960
- 4) 岩田治平、西風 脩: 髄液および尿中蛋白の新微量定量法。*臨床病理*, 29: 497~501, 1981
- 5) Bradford, M. M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248~254, 1976
- 6) Fujita, Y. et al.: Color reaction between pyrogallol red-molybdenum(VI) complex and protein. *Bunseki Kagaku*, 32, E379~E386, 1983
- 7) 日本生化学会編: 生化学実験講座1、タンパク質の化学2、21、東京化学同人、1976