

〔 研 究 〕

〔試薬と機器〕

汎用自動分析機による
HDL-C 直接法の基礎的検討

岡山赤十字病院 検査部

樋口 信久 川西 孝 豊田ミツエ
千田 早苗 久保木隆子 下宮 栄子

【 は じ め に 】

高比重リポ蛋白コレステロール (HDL-C) の測定法には、超遠心法、電気泳動法、高速液体クロマトグラフィー法、沈殿法などがある。日常検査としては、リントングステン酸・デキストラン硫酸・ヘパリンなどのポリアニオンと2価陽イオン (Mg^{2+} , Ca^{2+} など) による沈殿法が普及しているが、遠心分離操作の煩雑な前処理が必要であった。

今回、われわれは前処理を必要としない HDL-C 直接測定法の基礎的検討ならびに自動分析機への適用性について検討を行ったので報告する。

【 対 象 】

対象は、当院人間ドック受診者血清 (健常者血清)、外来患者血清とした。

【 方 法 】

HDL-C 直接測定法の試薬は、デタミナー HDL-C (協和メデックス) を使用し、沈殿法の試薬は、分画剤 (デキストラン硫酸・リントングステン酸・マグネシウム法)、オート A「ミズホ」TC-540 を使用した。

標準血清には総コレステロール/HDL-C 標準血清 (化学品検査協会) を使用した。

各分析機のパラメーターは、各説明書に従った。

自動分析機には、日本電子RX20 (RX)、日本ロシュコーバスマイラS (ミラS)、日立7150 (H7150) を使用し、精度、共存物質の影響、沈殿法との相関などについて検討を行った。

原 理：第一反応では硫酸シクロデキストリンがVLDL、LDL-C、カイロミクロンと非沈殿物の複合体を形成し、第2反応ではVLDL、LDL-C、カイロミクロンに対しての反応性を低下させた化学修飾コレステロールエステラーゼとコレステロールオキシダーゼを用いることによりHDL-Cを選択的に測定する。

【 成 績 】

(1) タイムコース

標準物質、生理食塩水、2濃度の患者血清を用いた結果、各分析機共に同じ形状を示し、エンドポイントまでに反応が完全に終了していなかった。(図1)

表1 最小検出感度

日本電子RX20	2.4 mg/dl
コバスMIRAS	0.6 mg/dl
日立7150	1.2 mg/dl

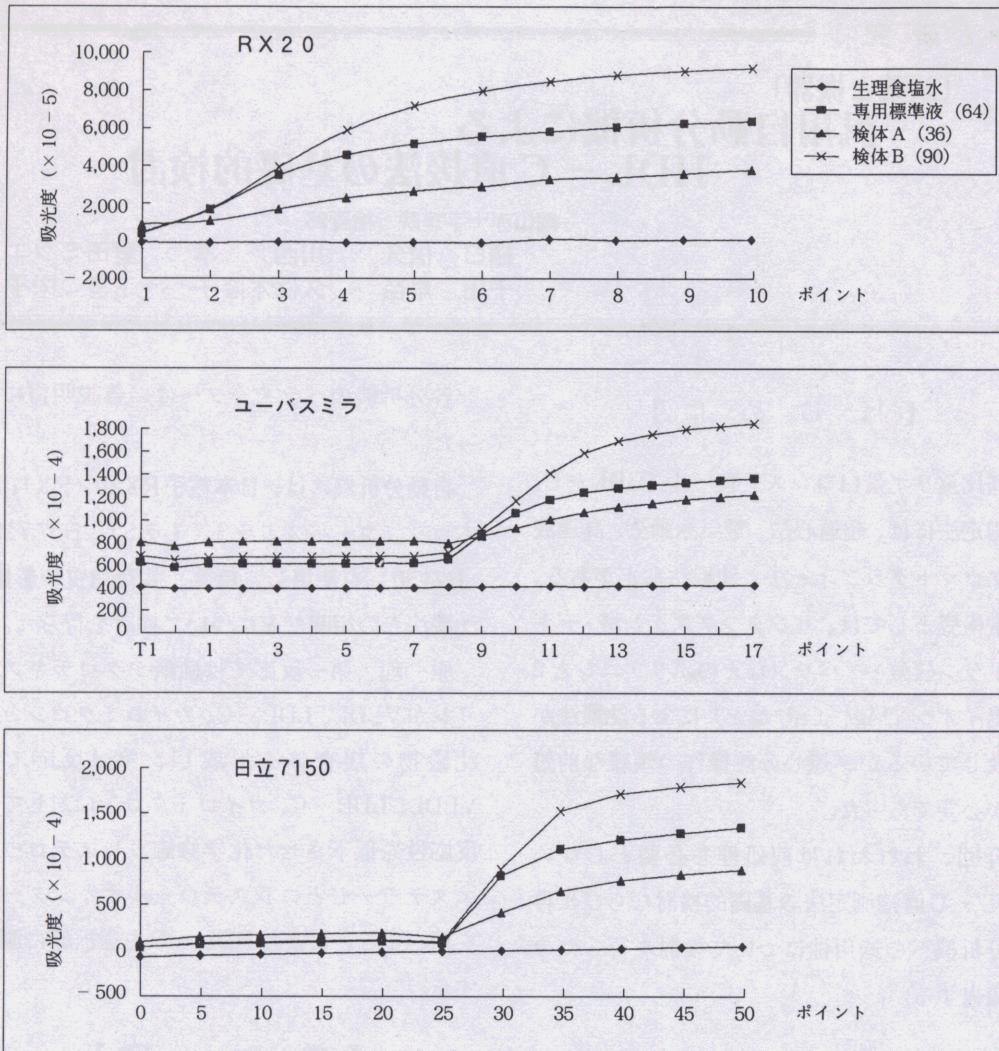


図-1 タイムコース

(2) 最小検出感度

標準物質を段階希釈しその各5重測定のバラツキ(2SD法)により求めた結果、1~2mg/dl前後となった。(表1)

(3) 再現性

3濃度の患者血清を用い10回測定した同時再現性は、RX 0.9~2.1%、ミラS 0.9~1.2%、H7150 0.8~1.6%のCVとなった。

3濃度のプール血清と2濃度の市販コントロール血清を用いて7日間測定した日差再現性はRX 1.1~3.4%、ミラS 1.1~2.4%、

H7150 2.7~3.7%のCVとなった。

(4) 希釈直線性

希釈液に生理食塩水を用いた結果、少なくともミラSとH7150では120mg/dl、RX20では110mg/dlまで直線性が認められたが、RX20では切片が約-8mg/dlと原点を通らなかった。希釈液に5%アルブミン液を用いた場合でも生理食塩水の場合と同様の結果となり、以後の希釈には生理食塩水を用いることとした。

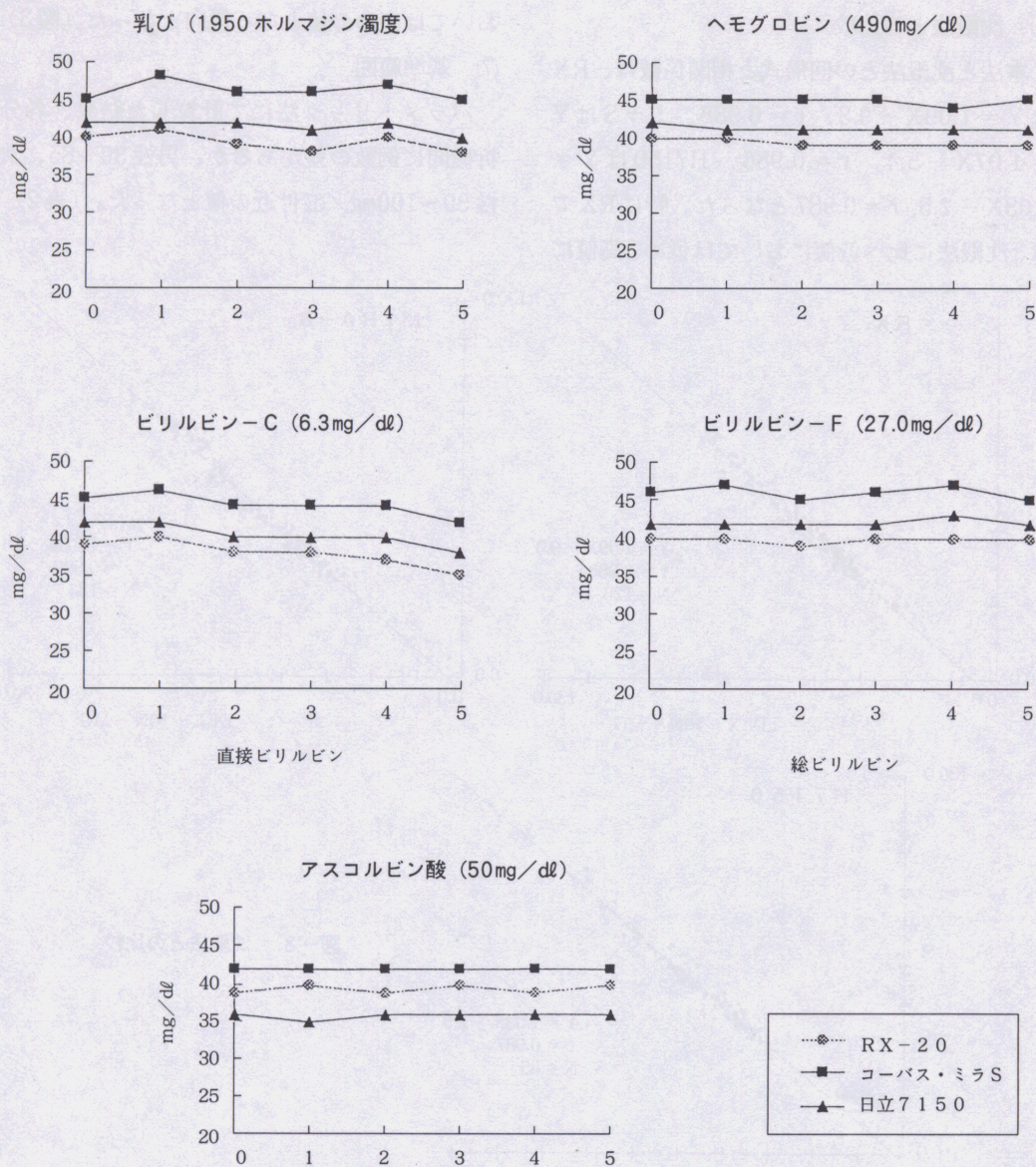


図-2 共存物質の影響

(5) 干渉チェックAプラス (国際試薬) などを用いた乳び、溶血、ビリルビン、アスコルビン酸については、抱合型ビリルビンで負の減少傾向が認められたが、他の項目では各最高濃度まで影響が認められなかった。(図2)

高トリグリセリドの影響では、トリグリセリド500mg/dL以上の患者血清11例について原血清と2倍または3倍希釈血清との比較を行

った結果、両者には差は認められなかった ($P < 0.05$)。

また、低トリグリセリドの検体と高トリグリセリドの検体を混和しトリグリセリドの濃度を変えてHDL-Cの回収試験を行った結果、回収率は94.0~96.6となり影響は認められなかった。

(6) 沈殿法との比較

本法と沈殿法との回帰式と相関係数は、RXは $Y = 1.09X - 9.3$, $r = 0.988$, ミラスは $Y = 1.07X - 5.4$, $r = 0.986$, H7150は $Y = 1.03X - 2.5$, $r = 0.987$ となった。特にRXでは、沈殿法に比べ低値においては低め、高値に

おいては高めの値となる傾向となった。(図3)

(7) 基準範囲

パラメトリック法にて計算した結果、各分析機間に例数の差があるが、男性30~85、女性30~100mg/dl付近の値となった。(表2)

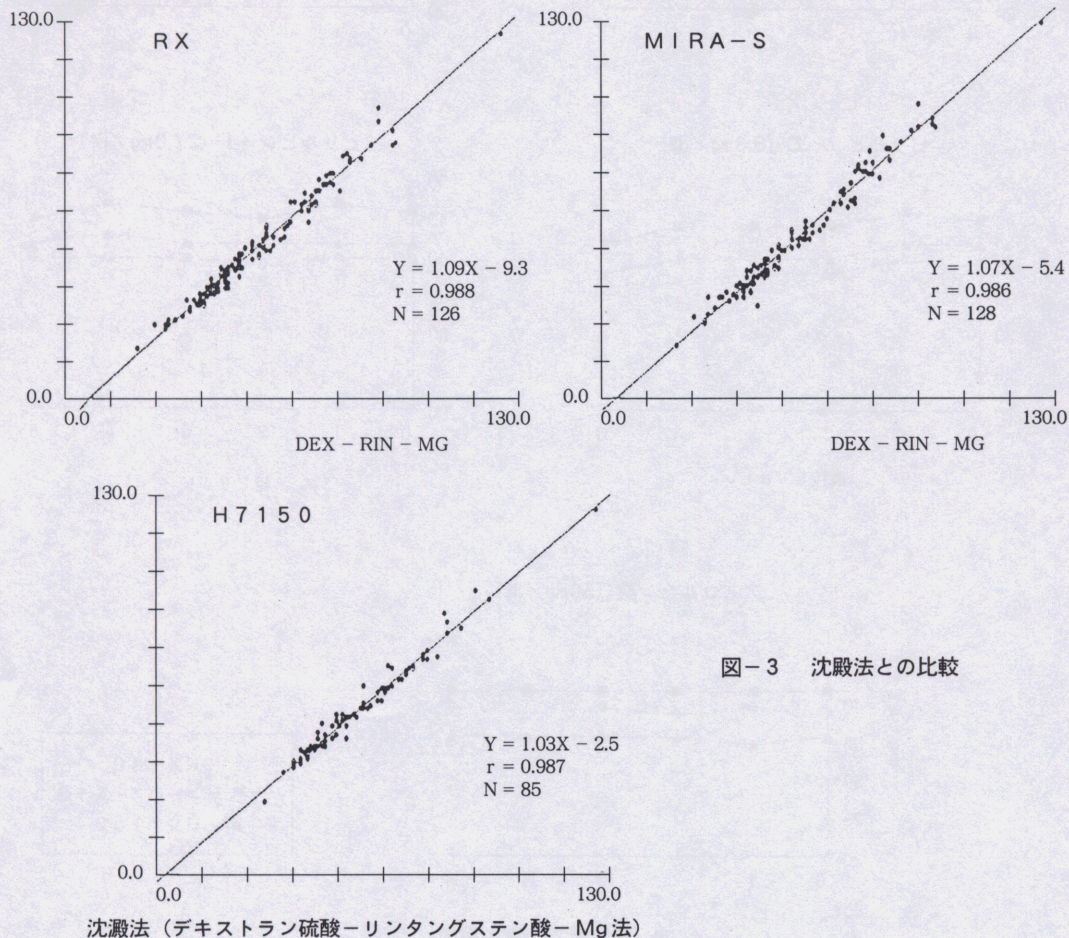


図-3 沈殿法との比較

沈殿法 (デキストラン硫酸-リンタンゲステン酸-Mg法)

表2

基 準 範 囲

	全 体	男 性	女 性
日本電子RX20	28.7~101.3 (85)	27.4~83.1 (54)	38.5~95.5 (30)
コバス MIRAS	30.7~101.5 (86)	29.9~83.6 (55)	38.7~100.0 (30)
日立7150	29.8~92.5 (196)	29.8~81.5 (128)	28.6~92.8 (68)
沈殿法	34.6~97.9 (86)	32.8~82.8 (55)	45.5~93.3 (30)
[参考当院基準値]		[30~93]	[36~92]

単位:mg/dl (): 例数

【 考 察 】

抱合型ビリルビンの影響は、ビリルビンの還元作用によるものと思われる¹⁾。

沈殿法との相関においてRXの切片が-9と他の方法に比べて低値となった原因としては、RXの攪拌方法が他の分析機に比べ特殊な縦形転倒混和方式であることと、試薬槽から反応管までの距離が長いこと、また、本法の反応タイムコースが完全に終了していない特徴が認められていることから反応時間の差の影響があることなどが考えられる。

タイムコースが完全に終了していない原因については、硫酸シクロデキストリンによって完全にはブロックできないVLDL、LDL-Cに対する酵素反応が穏やかに起こっているか、所定の時間でHDL-Cの反応が不完全なためではないかと思われる²⁾。

説明書に記載してある高TG検体(200mg/dl以上)での影響については、生理食塩水にて希釈した測定値を用いたため、沈殿法との比較においても大きな不一致例は認められなかった。

【 結 語 】

- (1) 本法は、以上の結果から全自動化により迅速に精度良くHDL-Cの測定が可能のために日常検査に有用と思われる。
- (2) 当院では分析機の攪拌能力に優れているH7150を用いてHDL-Cの測定を行っている。
- (3) 最近では直接法の改良型も開発され、今後この試薬についても検討を加えたいと思う。

【 文 献 】

- 1) 宮本恵子ら：PEG修飾酵素／硫酸シクロデキストリン複合系を用いたHDLコレステロールの直接測定法の検討。臨床検査機器、試薬18：613～620、1995
- 2) 永瀬昌史ら：修飾酵素と硫酸デキストリンを用いた直接測定法によるHDLコレステロール測定に関する検討。医学検査45：1,139～1,142、1996