

汎用自動分析装置によるインドシアニングリーン測定の見直し

◎島崎 朋之¹⁾、小林 宏正¹⁾、丸山 弓子¹⁾、柴草 裕¹⁾、下田 恵美¹⁾、花岡 愛¹⁾、櫻井 博文¹⁾
地方独立行政法人 長野市民病院¹⁾

【はじめに】インドシアニンググリーン(ICG)は血清中で805nmに最大吸収波長をもつ色素であり、血液中に投与後、肝臓で吸収されて胆汁として体外へ排出される性質を持つため、肝機能検査に利用されてきた。ICG測定は主に専用測定機が使用されてきたが、操作が煩雑であったり、結果を手入力する必要があったりと問題もあった。今回我々は汎用自動分析装置でのICG測定を見直したので報告する。

【測定条件】使用機器：TBA-25FR(東芝メディカル)、主波長：804 nm、測光点：35-37、試薬：生理食塩水、サンプル量：15 μ L、試薬量：105 μ L、検量線：5点リニア。

【方法】1) 同時再現性：プール血清にICGを添加して2濃度の試料を作製し、10回測定した。2) 日差再現性：同時再現性と同様に作製した試料を10日間測定した。3) 直線性：プール血清にICGを添加して作製した高濃度試料を使用した。4) 最小検出感度：ICG低値試料を段階希釈したものを10回測定し、2.6SD法を用いて求めた。5) 干渉物質の影響：干渉チェック(シスメックス)を添付書に添って使用して確認した。6) 相関性：当院で2015年7月～

2015年8月にICGの測定があった14件を用いてICGメータA-30(府中技研)と比較した。7) 乳び検体での見直し：干渉物質で使用した試料にNaClOを5%添加し、ICGを脱色後に測定したものを脱色前から減算してICG濃度を求めた。

【結果】1) 同時再現性のCVは低値試料で1.7%であった。2) 日差再現性のCVは低値試料で5.7%であった。3) 直線性は100%まで認められた。4) 最小検出感度は0.4%であった。5) 干渉物質の影響はBil-FとBil-Cに認められず、Hbは高値傾向、乳びは高値となった。6) 相関性は $Y=0.978X+1.426, r=0.993$ であった。7) 乳び検体は脱色後の値を減算する事で乳び前と同様の値を得ることができた。

【考察】汎用自動分析装置によるICGの測定は良好な性能であった。測定が自動化することで、客観的な測定値を得ることができることや、検査システムとオンライン化が可能な事など利点も多いと考えられる。また、1波長のみであることによる乳びの影響はICGを脱色して測定し、ブランクとすることで影響を抑える事ができるのではないかと考えられた。連絡先 026-295-1199 (内線 2212)

H-FABP 測定試薬の比較検討

◎中島 昌哉¹⁾、岡村 邦彦¹⁾、佐々木 泰信¹⁾、後藤 文彦¹⁾、荒井 政和¹⁾、堀内 啓¹⁾
N T T 東日本関東病院¹⁾

【はじめに】Heart type fatty acid-binding protein（以下、H-FABP）は、急性冠症候群発症の2時間以内に血中濃度が上昇すると言われている。今回我々は、H-FABP 測定試薬（既承認品）である4試薬の比較検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

【対象】試料は、当院検査部へ提出された患者検体を当院倫理委員会承認の下、連結不可能匿名化して用いた。試薬及び測定装置は、定性試薬はラピチェック H-FABP（以下、ラピチェック：DS ファーマバイオメディカル）を用いた。定量試薬のリブリア H-FABP（以下、リブリア：DS ファーマバイオメディカル）、ラテックス H-FABP キット「ヤマサ」（以下、ヤマサ：ヤマサ醤油）は7180形日立自動分析装置（日立ハイテクノロジー）を用いた。ラピッドチップ H-FABP（以下、ラピッドチップ：積水メディカル）はラピッドピア（積水メディカル）を用いた。

【方法および結果】ラピチェックと各定量試薬の判定一致率（n=83）は、リブリアが84%、ヤマサが63%、ラピッドチップが88%であった。定量試薬の相関性試験では、リブ

リアとヤマサの比較（n=57）は、 $y = 0.845x - 5.56$ 、 $r = 0.946$ であった。リブリアとラピッドチップの比較（n=91）は、 $y = 0.941x - 0.44$ 、 $r = 0.970$ であった。ラピッドチップとヤマサの比較（n=57）は、 $y = 0.881x - 4.57$ 、 $r = 0.981$ であった。相関性試験で3件の解離検体（3件とも同一患者検体）が認められたのでリブリアを用いて解離検体の解析を免疫沈降試験で行った結果、IgA 除去で回収率が37%と低下を示したことから患者血液中にIgA 型異好抗体の存在が示唆された。

【考察】今回の検討の結果、ラピチェックとの判定一致率はラピッドチップが最も高かった。定量試薬の相関性試験ではリブリアとラピッドチップの相関性が良好であった。ヤマサとリブリア及びラピッドチップの比較では測定値に差がみられた。また、ラピッドチップとヤマサは患者検体中のIgA 型異好抗体による影響は受けなかった。

【結語】H-FABP 測定方法は標準化されておらず、各社の試薬間で判定及び測定値に相違がみられた。

連絡先:03-3448-6421

尿中 L-FABP の基礎的検討及び糖尿病性腎症への有用性

◎濱 暢之¹⁾、古屋 良太¹⁾、道林 智之¹⁾、清水 由美¹⁾
 公益財団法人 山梨厚生会 山梨厚生病院¹⁾

【はじめに】L型脂肪酸結合蛋白（Liver-type Fatty Acid Binding Protein）以下 L-FABP は、近位尿細管の細胞質に局在する 14kDa の可溶性蛋白であり、エネルギー代謝や脂質代謝に重要な役割を持つ。また、虚血や酸化ストレスなどの負荷を受けることで発現が増強し尿中への排泄が増加するため L-FABP は組織障害が進行する前のストレスの程度を反映する新しいマーカーとされている。今回、糖尿病性腎症における L-FABP の有用性を検討したので報告する。

【測定機器】：TBA-8000、東芝メディカルシステムズ

【測定試薬】：ノルディア L-FABP、積水メディカル株式会社

【検討内容】①同時再現性 ②日差再現性 ③希釈直線性
 ④検出限界 ⑤検体安定性：患者検体を常温放置（25～27℃）し、採尿直後の測定値を 100%として 1,2,3 時間ごとの平均値を比較した⑥健常群と患者群との比較：当院人間ドック受診者 112 名を健常群、当院糖尿病外来受診者 149 名を患者群とし L-FABP と尿中 Alb、eGFR、HbA1c、Glu との比較検討を行った。患者群を更に糖尿病性腎症分類に基づき測定値のみで振り分けをし、各ステージの差に

ついて考察を行った。

【結果および考察】①②③④共に良好であった。

⑤1h 後 113.2%、2h 後 121.6%、3h 後 130.6%と常温では全ての検体で上昇傾向となった⑥健常群(N=112) L-FABP 1.38±1.23μg/gCr 尿中 Alb 16.4±48.1mg/g.cre 患者群(N=149)L-FABP 3.77±6.21μg/gCr 尿中 Alb 82.6±196.9mg/g.cre であり、糖尿病患者群は有意に高値を示した。更に L-FABP がカットオフ値(8.4μg/gCr)を越えた割合を病期別にみると腎症 1 期相当 3.3% (N=92) 腎症 2 期相当 17.8% (N=45) 腎症 3 期相当 54.5% (N=11)となり、病期の進行と共に変動がみられた。L-FABP と他項目間には相関性は認められず独立したマーカーとして存在することが示唆された。

【まとめ】L-FABP は糖尿病性腎症の早期発見に有用な独立した腎ストレスマーカーであり、尿中 Alb と同時測定することにより、より精度の高い早期腎症の評価が期待される。
 連絡先 0553-23-1311 内線 1213

血糖が採血後に短時間で急速に低下した一例

◎汐谷 陽子¹⁾、細矢 睦子¹⁾、長谷川 静夏¹⁾、清水 翔太¹⁾、小林 仁¹⁾
東京都立墨東病院¹⁾

【はじめに】血糖は採血後、約 7mg/dL/時で低下すると言われている。NaF 添加でも採血 2 時間後までは同様である。私達は、採血後に短時間で急速に血糖が低下した症例を経験したので報告する。

【症例】70 代男性。現病歴は慢性好中球性白血病で当院に受診し、内服加療を行っていた。両鼻出血を断続的に認め、止血困難で救急搬送され入院となった。入院時の血液検査は WBC: $188.6 \times 10^3/\mu\text{L}$ 、RBC: $174 \times 10^4/\mu\text{L}$ 、PLT: $3.5 \times 10^4/\mu\text{L}$ であり、生化学検査で基準範囲外となったのは TP:5.9g/dL、ALB:3.5g/dL、LDH:996U/L、ALP:1654U/L、CRP:9.97mg/dL であり、血糖は 85mg/dL で範囲内だった。

【使用機器・試薬】

- ① BM6050 (日本電子) / シリキット[®] GLU J (関東化学)
- ② ABL800FLEX (ラジオメーター)
- ③ 富士ドライケム 4000 (富士フィルム)

【血糖低下の現象】

入院翌朝の採血で血糖:58mg/dL (NaF 添加)、異なる採血

管 (NaF 無添加) での再検査は血糖:2mg/dL だった。3 機種で測定を行ったが、同様の結果であった。

【検討方法】ヘパリンリチウム入り採血管で採血を行い、全血室温の状態です直後から 5 分毎に血糖(mg/dL)とラクテート(mmol/L)を ABL8000FLEX で測定した。

【結果】

経過時間	直後	5 分	10 分	15 分	20 分	25 分
血糖	76	56	33	14	1	1
Lac		8	9.3	10.6	11.3	11.6

【考察】

複数の測定機器を用いたが、結果に差はなく、測定の問題ではないと考えた。血球と血漿を分離すると血糖の低下は止まった。また血糖低下に伴い、ラクテートが上昇することから、採血管内で通常よりも血球の代謝が促進された状態であり、急速に解糖が進んだものとする。その要因としては異常増多している白血球によるものと推測されるが、これが好中球増多によるものなのか、リンパ球増多でも同様の現象が確認できるかは今後の検討課題としたい。

若年健康成人における体成分分析からみた5-アミノレブリン酸の摂取効果

©林 美早紀、伊藤 里彩¹⁾、早山 夕加里¹⁾、新井 智子¹⁾
埼玉県立大学 保健医療福祉学部 健康開発学科 検査技術科学専攻¹⁾

【目的】5-アミノレブリン酸(5-ALA)は、動物体内に存在する天然アミノ酸で、体内でポルフィリン前駆体として機能し、鉄と結合すると、ミトコンドリアの電子伝達系の構成要素となるヘムを形成することが知られている。近年、5-ALAの発酵法による製造が可能となったことから、サプリメントとして市販されており、代謝機能の改善効果が期待されている。

そこで本研究では、5-ALAの経口摂取による代謝改善効果を検証する目的で、体成分の変動に着目して解析した。

【対象】非喫煙者で、食物アレルギーおよびその既往がなく、循環器系の異常を認めない女子学生10名を対象とし、本学倫理委員会の承認取得後に、同意を取得して実施した。

【方法】1) 体組成分析：5-ALAの摂取開始前と摂取終了日の計2回、体成分分析装置InBody(インボディ社)による体成分分析を実施した。2) 5-ALAの摂取：5-ALAサプリメントは、SBIアラプロモ社から市販されているアラプラス(5-ALAリン酸塩5mg/錠)を1回3錠、1日2回、計7.5日間、食後に摂取した。

【結果】1) 5-ALA摂取後は摂取前と比較して、体重やBMIに変動傾向は認められなかった。2) 5-ALA摂取後には、基礎代謝量・筋肉量・骨格筋量・体水分量が増加する傾向を認め、体脂肪量・体脂肪率が低下する傾向を認めた(有意差はなし)。3) 体水分量を細胞内水分量と細胞外水分量に分けて、体水分量に占める割合で解析した結果、5-ALA摂取後には、細胞外水分割合が有意に上昇し、細胞内水分割合が有意に低下していた。

【考察】1) 5-ALA摂取後には、脂肪が減少して筋肉が増加することで、基礎代謝量が増加するという一連の傾向が認められたことから、5-ALAの摂取量を増やしたり、対象者を高齢者とするすることで、より顕著な結果が出る可能性が考えられる。2) 体水分量については、ミトコンドリアで電子伝達系の活性化が起こると、代謝水が産生されることから、細胞内水分量の割合が増加することが考えられるが、5-ALA摂取後に有意に細胞内水分量割合が低下する結果となっており、その原因は現時点では不明である。

連絡先 048-973-4767

5-アミノレブリン酸の摂取は血中酸化ストレスレベルに影響を及ぼすか

◎ 早山 夕加里、伊藤 里彩¹⁾、林 美早紀¹⁾、新井 智子¹⁾
埼玉県立大学 保健医療福祉学部 健康開発学科 検査技術科学専攻¹⁾

【目的】5-アミノレブリン酸(5-ALA)は、ミトコンドリアで生合成される天然アミノ酸で、ミトコンドリアの電子伝達系を活性化することが報告されている。電子伝達系は、生体内活性酸素の約9割の発生源であり、ミトコンドリアの活性化は、代謝亢進作用の反面、生体内の酸化ストレスを亢進させてしまう可能性も考えられる。

そこで本研究では、5-ALAの経口摂取による血中酸化ストレスレベルへの影響の有無を調べることを目的とした。

【対象】非喫煙者で、食物アレルギーおよびその既往がなく、循環器系の異常を認めない女子学生10名を対象とし、本学倫理委員会の承認取得後に、同意を取得して実施した。

【方法】5-ALAサプリメントは、SBI アラプロモ社から市販されているアラプラス(5-ALAリン酸塩5mg/錠)を1回3錠、1日2回、計7.5日間、食後に摂取した。

5-ALAの摂取開始前と最終摂取日の2回、トレッドミル運動負荷試験をBruce法のstage4まで12分間実施し、①安静時、②負荷直後、③負荷3時間後に指頭穿刺採血を行い、ウイスマー社試薬を用いてd-ROMs(酸化度)とBAP(抗

酸化能)を測定して血中酸化ストレスレベルを評価した。

【結果】1) 5-ALA摂取の有無に関わらず、d-ROMsとBAPともに、運動負荷直後に有意に上昇し、負荷3時間後に有意に低下する山型の変動を示した。2) d-ROMs・BAP・酸化ストレスインデックス(OSI: $8.85 \times d-ROMs/BAP$)について、5-ALAの摂取前後を比較して、有意に変動する項目は認められなかったが、3) 安静時のBAPについて、5-ALA摂取後に値が上昇する傾向を認め、4) 安静時を基準とした運動負荷直後のd-ROMsとBAPの上昇率について、共に5-ALA摂取後に低下する傾向を認めた。

【考察】5-ALA摂取後には、d-ROMsとBAPのいずれも、安静時を基準とした運動負荷直後における測定値の上昇率が抑制される傾向を示し、その傾向はBAPよりもd-ROMsにおいてより強く認められたことから、5-ALAの摂取は、運動時の酸化度の上昇抑制効果をもつ可能性が考えられる。抗酸化能は酸化度と呼応した変動を示すことから、抗酸化能で認められた上昇率の抑制傾向は、酸化度の上昇抑制に呼応した結果ではないかと考える。連絡先—048-973-4767

ピルビン酸・乳酸濃度に着目した5-アミノレブリン酸の摂取効果

◎伊藤 里彩¹⁾、林 美早紀¹⁾、早山 夕加里¹⁾、新井 智子¹⁾
埼玉県立大学 保健医療福祉学部 健康開発学科 検査技術科学専攻¹⁾

【目的】5-アミノレブリン酸(5-ALA)は、プロトポルフィリンを経てヘムやシトクロムに代謝され、ミトコンドリアの電子伝達系複合体Ⅱ,Ⅲ,Ⅳで電子伝達の役割を担うことが知られている。ミトコンドリアの電子伝達系では生命維持に必要なATPが産生されていることから、5-ALAの摂取によってエネルギー代謝が亢進することが期待される。

そこで本研究では、解糖系代謝産物であるピルビン酸と乳酸に着目し、5-ALAの経口摂取が人体の代謝機能に及ぼす影響について解析することを目的とした。

【対象】喫煙習慣のない健康成人女子学生10名を対象とし、本学倫理審査委員会承認後に、同意を取得して実施した。

【方法】5-ALAサプリメントは、SBIアラプロモ社から市販されているアラプラス(5-ALAリン酸塩5mg/錠)を1回3錠、1日2回、計7.5日間、食後に摂取した。

5-ALAの摂取開始前と最終摂取日の2回、トレッドミル運動負荷試験をBruce法のstage4まで12分間実施し、①安静時、②負荷直後、③負荷3時間後に指頭穿刺採血を行った。得られた血液の除蛋白後の上清を試料とし、データ

ミナーPA, LA(協和メディックス社)を用いて乳酸とピルビン酸の濃度を測定した。

【結果】1)安静時のピルビン酸・乳酸濃度について、5-ALA摂取後に摂取前より高値となる傾向が認められた。2)運動負荷によって、ピルビン酸・乳酸濃度はいずれも有意に高値となり、負荷3時間後に低下する山型の変動を示したが、負荷直後のピルビン酸・乳酸濃度の上昇率は、5-ALA摂取後に摂取前より低下する傾向が認められた。

【考察】1)5-ALA摂取後に、安静時のピルビン酸・乳酸濃度が摂取前よりも高値傾向を示したことから、5-ALA摂取によって安静時の解糖系代謝が亢進している可能性が考えられる。2)ピルビン酸・乳酸は共にミトコンドリアのエネルギー基質として利用されるという乳酸シャトル説が提唱されており、5-ALA摂取後に認められた運動負荷時のピルビン酸・乳酸濃度の上昇率抑制傾向は、5-ALAの摂取によってミトコンドリア電子伝達系代謝が亢進した可能性を示唆するものと考えられる。連絡先：048-973-4767