
演題名 スルホサリチル酸-Triton X-100 比濁法を用いた髄液 γ グロブリン定量法

氏名 ○渭原博¹ 難波俊二² 鈴木優治³

所属 ¹東邦大学医療センター大橋病院臨床検査部 ²大森病院臨床検査部 ³埼玉県立大学健康開発学科

【目的】神経系内炎症では髄液中のIgGが測定されるが、IgG測定を実施できない施設ではNonne-Apelt反応などのグロブリン反応で代用される。しかしNonne-Apelt反応は半定量法のため、髄液 γ グロブリンの定量法を考案した。

【方法】我々が開発した血清総グロブリン測定試薬 (Suzuki Y., J Anal Bio-Sci, 22:439, 1999) を用いた。原法の試薬組成は、30 g/L スルホサリチル酸, 15 g/L Triton X-100であるが、髄液の測定にはTriton X-100濃度を60 g/Lとした。髄液0.2 mL, 蒸留水0.3 mLに試薬1.5 mLを加え、混和、室温放置30分後に、蒸留水を対照に660 nmの吸光度を測定する。標準物質は、シグマ社のヒト γ グロブリン (電気泳動で99%純度) に少量の0.1 mol/L-HClを加え蒸留水で溶解する。280 nmで γ グロブリン濃度を検定して用いた。

【結果】①Triton X-100濃度:60 g/L濃度では、100 mg/dL-ヒトアルブミンと1%反応、100 mg/dL-シグマ Cohn fraction IV (α , β グロブリン)と9%反応、100 mg/dL- γ グロブリンと100%の反応性にある。

②反応時間は37°Cでは15分で安定(100%反応)するが、室温(27°C)15分では96%反応であった。

③直線性 (mean \pm 2SDが重ならない範囲): γ グロブリンに対し3-100 mg/dLまでの直線性を示した。

④同時再現性:プールした髄液試料20回の再現性は低濃度(5.9 \pm 0.4 mg/dL)でCV, 6%, 高濃度(19.4 \pm 0.8)でCV, 4%であった。

⑤日差再現性:プールした髄液試料20日間の再現性は低濃度(5.8 \pm 0.4 mg/dL)でCV, 7%, 高濃度(18.1 \pm 0.7)でCV, 4%であった。

⑥回収率: γ グロブリンの回収率は100から

103%にあった。

⑦共存物質の影響:100 mg/dL-ヒトヘモグロビンと14%の反応性にある。分光学的にはキサントクロミーの影響を受けない。非抱合ビリルビンは、1.0 mg/dL濃度まで影響を与えない。

⑧相関性:髄液113試料について、ネフェロメトリー法(BNプロスペック)でのIgG濃度との相関性を調べた。Y(本法 γ グロブリン濃度:mg/dL)=2.9(ネフェロメトリーIgG濃度:mg/dL)+2.3, r=0.954と、本法での γ グロブリン濃度は、ネフェロメトリーでのIgG濃度の3倍の値にあった。

【考察】スルホサリチル酸法は海外では430 nmで測定されている。430 nmでの感度は660 nmの3倍程にあるが、キサントクロミーの影響を受けるので、測定波長は660 nmとした。

原法は血清総グロブリン測定試薬のためTriton X-100濃度は15 g/Lである。この濃度では、100 mg/dL-シグマ Cohn fraction IV (α , β グロブリン)と62%の反応性にある。髄液の測定では、 γ グロブリンへの特異性を高めるために、Triton X-100濃度は60 g/Lとした。髄液量が少ない時には、髄液0.1 mL, 蒸留水0.4 mLに試薬1.5 mLを加えての測定が可能である。

【結語】試薬代金は3円/testであり、標準物質を含めても5円/testと安価である。分光光度計があれば簡便に測定でき、髄液中IgG測定を代替する検査として用いられよう。