

学生優秀発表賞受賞者：長浦 淳 演題番号 042

総活性と電気泳動法間の反応性の相違を補正する ALP アイソザイム分析法の検討

長浦 淳^{**§} 金谷 水樹^{*} 工藤 思華^{*}

大野 頑張^{*} 吉村 梨菜^{*} 松下 誠^{*}

I. 研究の概要

自動分析法における酵素の総活性測定と電気泳動法を用いたその酵素のアイソザイム分析には密接な関連性があり、活性測定では各アイソザイムの総和の活性値(U/L)を測定し、またアイソザイム分析では各アイソザイムの分画値(%)が求められる。そして、両者の値を乗ずることにより、それぞれのアイソザイムの活性値(U/L)が算出されることになる。このように総活性と電気泳動法を併用して各アイソザイム活性を算出する場合は、総活性と電気泳動法間で同一の基質を使用し、各アイソザイムに対する反応性が同等となる条件設定をすることが大切となる。しかしながら、総活性測定では分光光度法が利用されるため、水溶性の検出反応となる基質を利用することになり、また電気泳動法では最終的な発色体が支持体に固定される不溶性色素が形成される基質の利用が必要となる。そのため、現在の酵素検査は、LDやCKでは両者で同一基質が利用され、アルカリ性ホスファターゼ(ALP)やアマラーゼでは両者で異なる基質を使用せざるを得ない状況となっている。

特に、ALPは肝型、骨型、小腸型、胎盤型の4つのアイソザイムが存在し、この中で小腸型ALPは、BまたはO型の分泌型の血液型に依存して出

現することから、両血液型グループにおける基準範囲の相違や血液型依存性高ALP血症の出現が問題となっている。また、小腸型ALPは基質の相違により、肝型や骨型ALPとは大きく異なる反応性を示すことが報告されている。本来、電気泳動法は電気泳動法における各アイソザイムの分画値を知るのではなく、自動分析法における各アイソザイムの割合を知るために実施されている。

そこで、今回、ALP検査での自動分析法と電気泳動法の反応性を補正するALPアイソザイム分析法についての検討を行った。試料は健常者の空腹時血清、および脂肪食(1050kcal、脂質63g)摂取6時間後の血清とし、A型の早朝空腹時血清(小腸型ALPは検出されない)とO型で分泌型の人の脂肪食後血清(小腸型ALPが高値)、および両者を等量混合した血清を用いることとした。また、ALP活性は4-ニトロフェニルリン酸を基質とするJSCC標準化対応試薬(LタイプワコーALP・J2)を用いる自動化法(CA-270 plus)、ALPアイソザイム分析は3-インドキシルリン酸を基質とするクイックジェルALPを用いるエパライザ2 Jrを用いる方法で行った。

O型で分泌型の人の脂肪食後血清、および等量混合血清のALP活性(U/L)と両血清のALPアイソザイム分画(%)を用い、連立方程式を作成して両

*埼玉県立大学保健医療福祉学部健康開発学科学専攻 §1419426y@spu.ac.jp

方法の小腸型 ALP/肝骨型 ALP 比を算出したところ、電気泳動法のそれを 1.00 とすると自動分析法のそれは 0.60 となり、電気泳動法では自動分析法に比べ、小腸型 ALP の反応性が高値となった。さらに、この比率を用いて自動分析法の小腸型 ALP の割合 (B%) を電気泳動法の小腸型 ALP 分画値 (A%) から、 $B=60A/(100-0.4A)$ の式を用いて算出したところ、電気泳動法の小腸型 ALP 分画値 50, 40, 30, 20, 10% は、それぞれ自動分析法では 38, 29, 20, 13, 6% に補正され、両者で大きく異なった。これらの結果から、ALP のように基質の相違によりアイソザイムの反応性が大きく異なる場合は、電気泳動法の分画値をそのまま使用するのではなく、自動分析法における分画値に補正することが大切と考えられた。今後、さらに例数を増やして検討を行い、補正係数を検証していくことが必要である。

II. 受賞の感想

この度は、このようなすばらしい賞を賜り、大変光栄に思っております。誠にありがとうございました。

補正係数算出という検討にあたって、つまずき試行錯誤したところもありましたが、最後まで丁寧にご指導いただいた先生をはじめ、さまざまな形で協力してくれた研究室のメンバー、発表の機会を与えて下さったすべてのみなさまに改めて深く感謝申し上げます。

今回は、私にとって初めての学会参加であり、非常に緊張しながらの発表でした。発表の前日もあまりよく眠れなかったことを今でも覚えています。未熟な発表ながら、短い時間の中で分かりやすく検討の内容を伝えるということは特に工夫した点ですので、ご清聴いただいた方々に伝えることができ、ご理解いただけたことは、大変嬉しく感じております。

III. 将来への抱負

今回の検討の趣旨は、現在の ALP 検査における問題点に対して、解決のためのひとつの提案をすることにあります。この度、補正係数の具体的な算出法としては新しい提案と評価をいただくことができ大変嬉しく思っております。しかし今回使用した試料は 2 名分と非常に少なく、臨床の場ですぐに使用できるほどの精度はありません。今後例数を増やし対象者の範囲についてもまた改めて考慮する必要があると考えます。まだ改善の余地を残しておりますが、今回の検討が、補正の方法のひとつとして今後のより良い ALP 検査への貢献となれば幸いです。

また今回の研究を通して、私自身は探究心や研究的視点を鍛える機会を頂いたと思っております。それらを活かして、これからの医療に少しでも貢献してゆける医療人、検査技師として成長できるよう、日々邁進してゆきたいと思っております。