

ラテックス免疫比濁法による尿中 β 2-ミクログロブリン測定の基礎的検討

花井 潤師 米森 宏子 福士 勝 清水 良夫
菊地由生子 堀野 清孝¹ 向山 一郎²

要 旨

腎尿路系疾患の尿中指標として有用な尿中 β 2-ミクログロブリンの生化学自動分析装置を用いたラテックス免疫比濁法による迅速・簡便な定量法を検討した。その結果、従来法として知られているELISA法との相関性や測定値の再現性も良好であった。また、1時間あたり、50検体の β 2-ミクログロブリンとクレアチニンの同時測定が可能であり、大量検体処理の必要なマス・スクリーニングのための測定法として優れていることが確認された。

1. 緒 言

学校集団検尿の普及により、慢性糸球体腎炎の早期発見・管理が行われ、小児の腎不全防止に大きく寄与してきた。一方で、全国の9割の自治体で実施されている試験紙を用いた3歳児検尿では、大部分の慢性糸球体腎炎は発見されず、また、先天性の腎尿路系疾患の発見についても十分な成果を挙げているとは言い難い¹⁾。

近年、腎尿路系疾患の有効な指標と考えられている尿中 β 2-ミクログロブリン(以下B2M)測定による腎尿路系疾患のスクリーニングの有用性が検討されており、1歳6カ月児や3歳児を対象にしてパイロットスクリーニングが実施されている^{2,3)}。

今回、迅速・簡便・大量処理可能な定量法として、生化学自動分析装置を用いたラテックス免疫比濁法(以下LA法)による尿中B2M測定法を検討し、小児の尿中B2Mに関する基礎的検討を行ったので報告する。

2. 対象及び方法

対象は札幌市乳幼児園医会協議会で検診を実施した市内12カ所の保育園の生後3歳から7歳の園児で、試料は尿検後の尿を用い、pH調整のため尿1.5mlに対して、10%Na₂CO₃溶液100 μ lを加え、-40°Cで保存した。また、ろ紙尿については、東洋ろ紙No.327を用い、中性尿を滴下し、乾燥後冷蔵保存した。

尿中B2M測定は、苫小牧臨床検査センターで開発

されたLA法による尿ろ紙中B2M測定用キットを用い、生化学自動分析装置・CIBA CORNING 550 EXPRESS(以下550EX)により定量した。すなわち、試料30 μ l、第1試薬(緩衝液)、第2試薬(抗ヒトB2M抗体感作ラテックス懸濁液)各150 μ lを加え、150秒間隔、2点の570nmの吸光度差を測定することにより行った。

なお、尿中クレアチニン(以下、CRE)はCIBA-CORNING・CRE測定キットを用いて同時に測定した。

3. 結 果

3-1 測定条件の検討

LA法の測定範囲は0ng/ml~80ng/mlであったが、尿の希釈試験の結果、定量限界は2.5ng/mlであった(図1)。また、20,000ng/ml以上の濃度において、プロゾーン現象が認められた(図2)。

なお、尿試料の測定は、原尿では0.05Mリン酸塩緩衝液(pH7.2, 0.01%Triton x 100含有、以下PBS)で5倍希釈後、ろ紙尿においては5mmディスク3枚を小児用カップに入れPBS300 μ lを加えて、30分間超音波抽出後、550EXにより測定した。

3-2 再現性

測定値の再現性について、2種類の異なる濃度の尿試料の多重測定により行った結果、極めて良好なデータの再現性を示した(表1)。

¹NTT札幌病院小児科(札幌市乳幼児園医協議会) ²苫小牧臨床検査センター

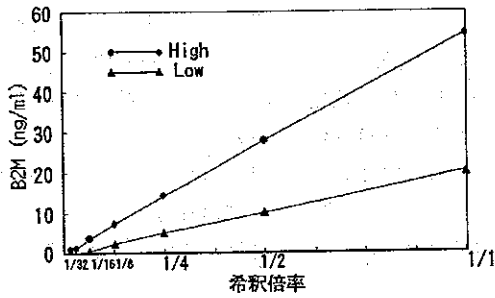


図1 希釈試験

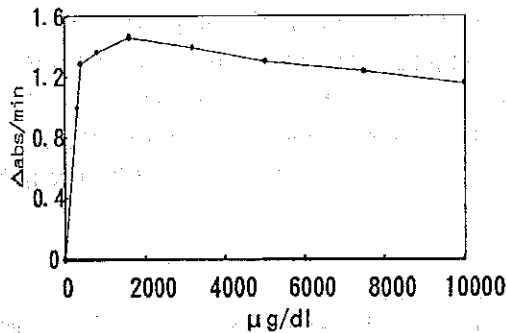


図2 プロゾーン試験

表1 再現性

試料	mean±SD (ng/ml)	CV (%)
測定内変動 (n=10)		
L	13.65±0.21	1.6%
H	54.64±0.30	0.5%
測定間変動 (n=5)		
L	12.39±0.17	1.4%
H	48.07±0.72	1.5%

3-3 ELISA 法との比較

園児のろ紙尿 79 検体について、LA 法及び ELISA 法での B2M 測定を行った結果、LA 法と ELISA 法での B2M 濃度は良好な相関関係を示した(図 3)。なお、LA 法においては、ろ紙尿抽出液あたりの B2M 濃度を示している。

3-4 ろ紙尿と原尿での測定値の比較

園児尿 118 例について、ろ紙尿及び原尿中の B2M 濃度を LA 法により測定した結果、両者は良好な相関関係を示した(図 4)。

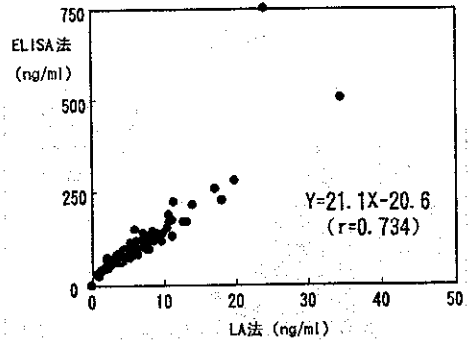


図3 ろ紙尿中 B2M の LA 法と ELISA 法との相関

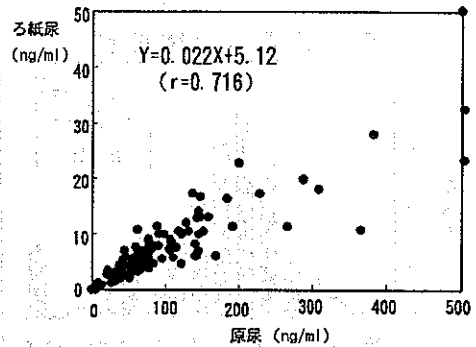


図4 原尿及びろ紙尿中 B2M の相関

3-5 小児の B2M 正常値

生後 3 歳から 6 歳の保育園児 440 例について、尿中 B2M を測定した結果、尿中濃度範囲は 3.0~617.5 ng/ml であり(図 5)、CRE 補正値は 0.15±0.13 (mean±SD) μg/mg CRE であった(図 6)。

4. 考 察

学童を対象にした試験紙による検尿システムは慢性糸球体疾患の早期発見に大きく寄与しているが、3 歳児検尿においては慢性糸球体疾患の頻度は低く、むしろ腎尿路系疾患を原因とした慢性尿路感染症の頻度が高いことから、この時期におけるスクリーニングの標的疾患は腎尿路系疾患となっている。

一方、試験紙法によるスクリーニングの欠点を補う方法として、尿中 B2M 測定や腎の超音波検査などの導入が検討されているが⁴⁾、現時点では、試料の採取の容易な尿を用いる B2M 測定による生化学的診断がマ

濃度

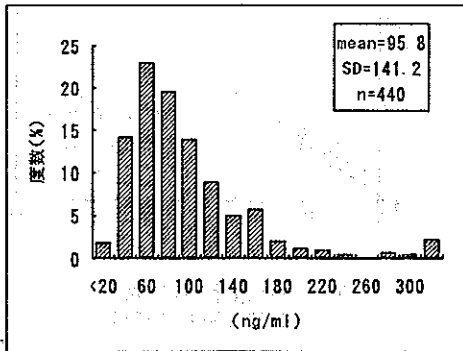


図5 小児のB2M濃度

クレアチニン補正值

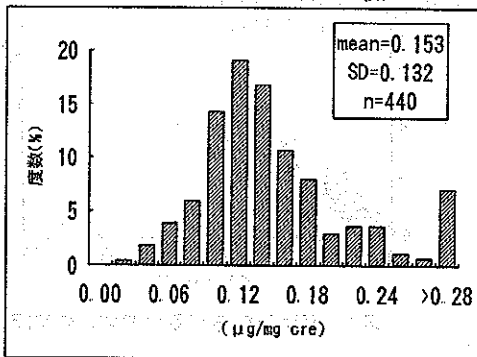


図6 小児のB2M値

ス・スクリーニング検査法として最も適当と考える。現在、最も広く行われているB2M測定法はELISAを利用したものであるが²⁾、大量検体を扱うマス・スクリーニングにおいては操作性・迅速性にやや劣る。

今回開発したLA法は操作性・迅速性・簡便性とも

にマス・スクリーニングの検査法として優れていると考える。さらに、この自動分析計を利用した他の物質の測定系を開発することにより、同一検体を用いた種々の指標の同時測定による複数の同時マス・スクリーニングの可能性も考えられる。

今後、ろ紙尿によるスクリーニングシステムを検討し、カットオフ値、指標としての有用性、スクリーニング時期やフォローアップ体制の整備等を検討する必要がある。

5. 結 語

LA法による尿中B2M測定法を検討した結果、測定値の再現性及びELISA法との相関関係ともに良好であり、尿中B2M測定法として有用であることが確認された。また、LA法は1時間あたり50検体のB2M及びCREの同時測定が可能であり、大量検体処理の必要なマス・スクリーニングのための測定法として有効であると考えられる。

6. 文 献

- 1) 山下文雄：乳幼児腎臓検診システム化の現状と問題点，乳幼児腎臓検診マニュアル，3-4，1992。
- 2) 松谷秀智：濾紙尿中 β 2ミクログロブリン測定による乳児期腎疾患スクリーニング，小児科，23，789-793，1991。
- 3) 川勝秀一，他：1歳6カ月乳児の尿 β 2-ミクログロブリンスクリーニングの検討，小児保健研究，52，397-400，1993。
- 4) 板垣明味：3歳児の腎尿路系疾患のスクリーニング-問診，多項目尿試験紙法，腎超音波検査，尿 β 2-ミクログロブリン測定の有用性-，日本小児科学会誌，96，1711-1716，1992。

Measurement of Urinary β 2-Microglobulin using Latex Agglutination Immunoassay

Junji Hanai, Hiroko Yonemori, Masaru Fukushi, Yoshio Shimizu,
Yuko Kikuchi, Kiyotaka Horino* and Ichiro Mukaiyama**

Urinary β 2-microglobulin (B2M) in children attending 12 nursery schools was measured by Latex Agglutination Immunoassay (LA) using a clinical chemistry autoanalyzer. The method was rapid and simple enough to assay urinary B2M in a large number of samples. Urinary B2M and creatinine in 50 samples could be measured in less than an hour. Moreover, the method was of high sensitivity, accuracy and reproducibility. There was a good correlation between the results obtained by LA and those obtained by ELISA. Urinary concentration of B2M was 95.8 ± 141.2 ng/ml (mean \pm SD) and 0.153 ± 0.132 μ g/mg creatinine in 440 children aged 3 to 7 years. We conclude that the present method can be applied to the measurement of urinary B2M in mass screening for renal tubular disease.

*Department of pediatrics, NTT Sapporo Hospital
**Tomakomai Clinical Laboratories, Co., Ltd