

# AIA-21 用免疫反応試薬「AIA-PACK Myoglobin」の開発

五十嵐 浩 二  
丸 尾 直 子  
川 口 成 治  
井 上 益 男

## Development of "AIA-PACK Myoglobin" for a New Enzyme Immunoassay Analyzer AIA-21

Koji IGARASHI  
Naoko MARUO  
Seiji KAWAGUCHI  
Masuo INOUE

A new myoglobin immunoassay on AIA-21 analyzer (Tosoh Corp.) has been developed, which is rapid and remarkably sensitive and can be utilized for both serum and plasma. Within-run and between-run CVs were <2.82% and <4.48%, respectively. The assay shows a good linearity between 0.221 and 905  $\mu\text{g/L}$ , being free from interference by hemoglobin, triglycerides, bilirubin, rheumatoid factor, ascorbic acid, EDTA, heparin, and human serum albumin. Results ( $y$ ) obtained using this method correlate well with those by Access Myoglobin immunoassay ( $y=1.251x+2.705 \mu\text{g/L}$ ;  $n=61$ ;  $r=0.992$ ) and Daiichi Myoglobin radioimmunoassay ( $y=0.984x-2.276 \mu\text{g/L}$ ;  $n=63$ ;  $r=0.984$ ). In a typical acute myocardial infarction, the serum myoglobin concentration was above the normal range in the first determination after the onset of chest pain (101  $\mu\text{g/L}$ ). The myoglobin values in chronic renal failure subjects ( $n=50$ ) ranged from 76.9 to 725  $\mu\text{g/L}$  and were apparently distinguishable from healthy individuals (11.6–73.0  $\mu\text{g/L}$ ). For this subject, a weakly positive correlation was observed between myoglobin values and creatinine values.

### 1. はじめに

ミオグロビン (Mb) は心筋および骨格筋細胞の細胞質内に豊富に存在する低分子 (分子量17,200) ヘム蛋白質で酸素の貯蔵体として働いており<sup>1)</sup>、Mbはこれら筋細胞の壊死に伴い速やかに血中に流出し血中濃度が上昇する。心筋梗塞等の心疾患の診断は、心電図等の生理学的検査と共に生化学的検査が行われており、狭心症、心筋梗塞の判別はその治療方法が根本的に異

なるため、過去の心筋梗塞の既往や心電図異常に影響されず心筋壊死の有無とその程度を反映する生化学検査は優れた診断法として必要不可欠となっている。現在、Mbを含め心疾患の診断に用いられる生化学検査 (心筋マーカー) 法は、10以上を数えるが各々の心筋マーカーで長所、短所を有しており、実際いくつかを組み合わせて測定が行われている。心筋梗塞は早期治療が延命率に大きく影響する疾患であるため、可能な限り早期に診断結果を得る必要がある。Mbはこの点

から心筋梗塞発生から1～3時間で血中濃度が有意に上昇するため早期診断のための優れた心筋マーカーであり<sup>2-6)</sup>、心痛発生後3時間以上経過した後に正常値を示せば心筋壊死をほぼ否定できる。また、心筋梗塞の際Mb濃度をモニターすることにより梗塞部の再疎通あるいは再閉塞の診断にも有用である<sup>7)</sup>。ただし、欠点としてMbは心筋特異性が低く骨格筋由来の物と区別不可能であるため、激しい運動等による骨格筋障害<sup>8)</sup>、あるいは腎疾患による代謝不良などにより血清中で高値を示すことが知られている<sup>9)</sup>。一方、クレアチニンキナーゼMB (CKMB)<sup>10)</sup> やトロポニン<sup>11)</sup>等は心筋特異性に優れるという長所を有しているが、心筋壊死後血中濃度が上昇するまでに要する時間がMbより遅いことが短所である。これら長所をあわせ持つ心筋マーカーは現在無く、数種的心筋マーカーが組み合わせられ生化学検査が行われている。自動免疫測定装置AIAシリーズ(東ソー社製)において、後者に相当する既存項目CKMBを補うべく、前者に相当する早期診断項目としてMb測定試薬「AIA-PACK Myoglobin」の開発を行った。

## 2. 目標仕様

心筋梗塞は前述の通り早期診断が要求されるため、

診断薬としてもその測定に要する時間は短時間であることが望まれる。昨年、発売された自動免疫測定装置AIA-21(東ソー社製)は従来機種での測定時間(40分)に加え、10分という短時間測定が可能な装置である。そこで、本装置の短時間測定に適合したMb測定用免疫反応試薬キットの開発を試みた。

## 3. 測定原理と材料

AIA-PACK Myoglobinは抗原抗体反応を利用し、その反応に関与する全ての物質を容量約1mLのカップ内に凍結乾燥、密封した測定試薬である。すなわち、試薬カップ内にはMbと反応性を有する2種のモノクローナル抗体(MYO 7 F14, MYO 7 F7; DAKO社製)、反応環境を安定化される緩衝剤トリス塩酸、試薬の剤形の安定化剤、保存安定化剤として牛血清アルブミン(BSA)、サッカロース等を含む。本測定原理はいわゆるワンステップ・サンドイッチ法であり試薬カップに含まれる2種のモノクローナル抗体は各々Mb上の異なる部位(エピトープ)を特異的に認識し結合する事により免疫複合体(磁性担体結合抗体-Mb抗原-標識抗体)を形成する。一方のモノクローナル抗体は磁性化担体に保持されており、他方はアルカリ性フォスファターゼにより標識されている。測定

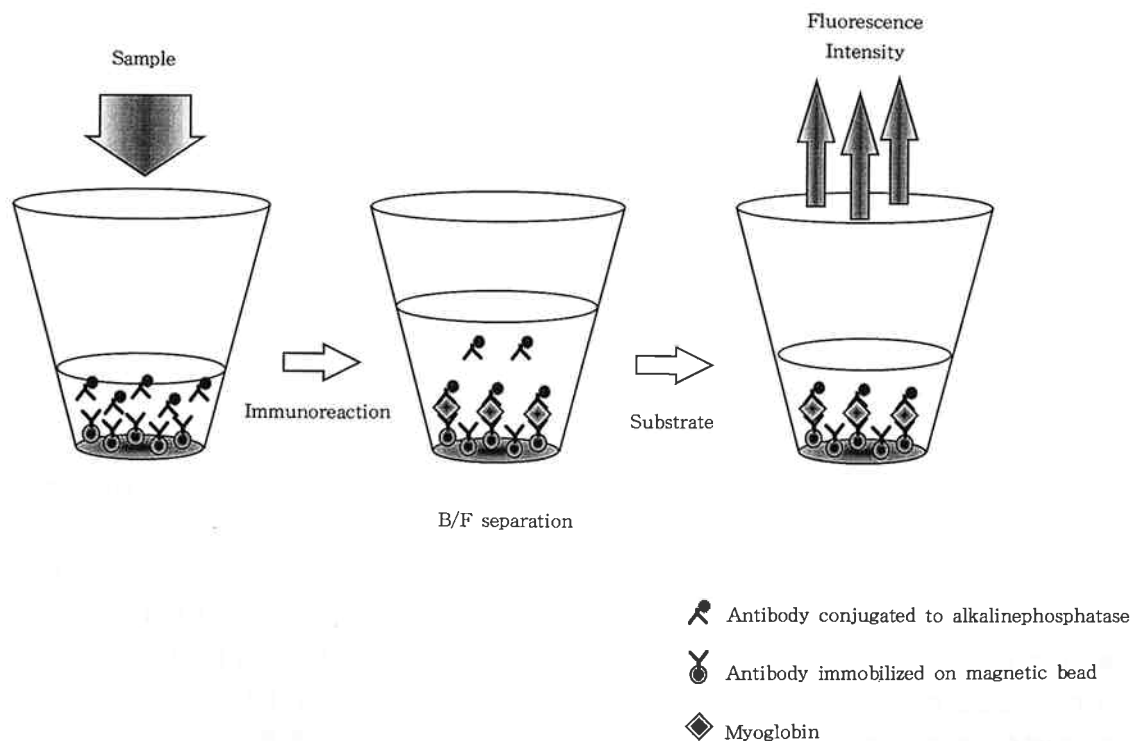


Fig. 1 Principle of AIA-PACK Myoglobin on AIA-21.

はFig. 1 に示す通り、試薬カップにMbを含む検体を分注することにより、凍結乾燥体は溶解し抗原抗体反応が開始する。37℃、10分間の反応後、未反応の抗原および標識抗体をB/F分離により洗浄除去し、アルカリ性フォスファターゼの基質である4-メチルウンベリフェリリン酸塩を分注後、経時的に蛍光強度を測定し単位時間当たりの4-メチルウンベリフェロンの生成量を測定する。基質の蛍光強度がアルカリ性フォスファターゼ量に依存し、さらに本量がMb抗原量に依存することより、蛍光強度はMb量に相関する。従って、あらかじめ既知濃度のMbを含む標準液数点を用いその蛍光強度とMb濃度による標準曲線を作成し、Mb濃度未知の患者検体の蛍光強度に相当するMb濃度を標準曲線より算出することによりMbの定量が可能である。測定の際、検体のカップへの分注、一定条件下での抗原抗体反応、B/F分離、基質分注、蛍光強度の測定はAIA-21内で全て自動で行われる。測定開始から約22分後に最初の結果出力が得られ、その後30秒毎に結果が出力され1時間あたりの検体処理能力は約77検体である。

#### 4. 基本性能評価

測定の際要する標準試薬あるいは検体の容量は10 $\mu$ l (デッド容量150 $\mu$ l) であり、分注水140 $\mu$ lと同時に免疫反応試薬に分注する。検量可能な濃度域は0~1,000 $\mu$ g/Lであり、標準試薬濃度は各々0、40.2、190、369、630および1042 $\mu$ g/Lのものを使用した。

実験開始時に標準曲線を作成し2ヶ月間の実験終了まで用いた。本標準試薬の濃度はLowry蛋白定量法により決定した精製Mb (Scripps Laboratories, San Diego, CA) を用い、BSA、サッカロース、マンニトール、2、2、6、6-テトラメチルピペリジノールを含むHEPES緩衝液に適量添加することにより調製した。

##### (1) 再現性試験

測定内再現性、測定間再現性試験を濃度の異なる3種の検体を用い行った。使用した3検体 (Low control, Middle control, High control) は、1回の測定分づつ小分け分注し使用まで凍結保存した。10重測定にて行った測定内再現性試験の結果、各検体測定値のばらつき係数 (coefficient of variation; CV) は1.60~2.82%の範囲内であった。30回 (6週

Table 1 Precision of AIA-21 Immunoassay for Myoglobin

	mean $\pm$ SD	CV(%)
Within-run (n=10)		
Low control	23.1 $\pm$ 0.369	1.60
Middle control	78.2 $\pm$ 2.17	2.77
High control	665 $\pm$ 18.7	2.82
Between-run (n=30)		
Low control	22.8 $\pm$ 0.958	4.20
Middle control	81.5 $\pm$ 3.32	4.07
High control	670 $\pm$ 30.0	4.48

mean $\pm$ SD=mean $\pm$ standard deviation in  $\mu$ g/L

Table 2 Linearity of Diluted Serum on AIA-21 Immunoassay for Myoglobin

Dilution factor	Expected value ( $\mu$ g/L)	Found value ( $\mu$ g/L)	Recovery <sup>a)</sup> (%)
1	905	905	—
2	453	448	98.9
4	226	230	102
8	113	117	103
16	56.6	60.8	107
32	28.3	29.4	104
64	14.1	15.0	106
128	7.07	7.39	105
256	3.54	3.59	102
512	1.77	1.79	101
1024	0.884	0.902	102
2048	0.442	0.453	103
4096	0.221	0.248	112

a) Recovery(%)=((Found value)/(Expected value))x100

間)の測定を各5重測定にて行った測定間再現性試験の結果、CVは4.07~4.48%の範囲内であった (Table 1)。

#### (2) 希釈直線性試験

希釈直線性試験を濃度の異なる3種の血清検体を用い3重測定にて行った。使用した3検体の濃度は各々113、347、375  $\mu\text{g/L}$ である。各々のサンプルを検体希釈液 (1% BSA、150mM NaClを含むトリス塩酸緩衝液、pH8.0)を用い10、25、50、75、100%の希釈を行い、100%希釈 (未希釈濃度) に対する各測定値の回収率を検討した。その結果、回収率は95.8~103%の範囲にあり本試薬が良好な希釈直線性能を有していることが明らかとなった。更に、高希釈倍率での測定精度を確認するため濃度905  $\mu\text{g/L}$ の検体の2倍希釈系列サンプルを調製し、濃度測定を行った結果、理論濃度と測定値の間に良好な相関関係 ( $r = 0.9999$ ) が認められ、0.221~905  $\mu\text{g/L}$ 間での回収率は98.9~112%と4000倍以上の希釈によっても精度良く測定が可能であることが明らかとなった (Table 2)。

#### (3) 感度試験

0濃度標準品を20重測定、他を10重測定し、標準曲線の作成を行い0標準品測定値+2倍標準偏差 (SD)により最小検出限界濃度 (Minimum detectable concentration; MDC) を算出した結果0.135  $\mu\text{g/L}$ と非常に高感度値を示した。また、さらに低濃度標準試薬を作製し測定した結果、理論濃度0.401、0.795  $\mu\text{g/L}$ に対し、各々の測定値は0.409  $\mu\text{g/L}$  (SD 0.029, CV 7.1%)、0.812 (0.038, 4.7%)  $\mu\text{g/L}$ であり精度良く低濃度域まで測定可能な試薬であることが明らかとなった。

#### (4) 血清、血漿間の測定値の差

血漿は血液凝固を伴わないためサンプル調製に要する時間の短縮、被検体回収量などの点から血清より優れている。そこで、本免疫測定試薬が血漿へ対応可能であるかを検討した。健康人から採取した血清5検体およびヘパリン処理採血から得られた血漿10検体に精製ヒトMbを添加し、添加前後のMb濃度を測定した。

Table 3 Analytical Recovery of AIA-21 Immunoassay for Myoglobin

	Spiked myoglobin concentration measured <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g/L}$ )	Recovery <sup>b)</sup> (%)
Diluent <sup>c)</sup>	244 <sup>d)</sup>	—
Serum 1	229	93.7
Serum 2	242	99.3
Serum 3	252	103
Serum 4	227	93.3
Serum 5	236	96.3
Plasma 1	242	99.0
Plasma 2	237	97.1
Plasma 3	238	97.8
Plasma 4	237	97.3
Plasma 5	249	102
Plasma 6	249	102
Plasma 7	236	96.8
Plasma 8	223	91.5
Plasma 9	231	94.8
Plasma 10	232	95.3

a) Spiked Myoglobin concentration measured = (concentration of specimens after spiking myoglobin) - (concentration of specimens before spiking myoglobin)

b) Recovery (%) = (spiked myoglobin concentration measured) / (concentration of specimens diluted with diluent) x 100

c) Diluent is consistent of 100mM Tris-HCl buffer containing 1% BSA, 150mM NaCl, and 0.1% NaN<sub>3</sub>, pH8.0.

d) Theoretical concentration of myoglobin spiked

添加後濃度から添加前濃度を減じた量、すなわち添加 Mb 量を算出し添加理論量に対する回収率を検定した結果、血清、血漿各々で回収率平均 97.3% (93.3~103%)、97.4% (91.5~102%) (Table 3) であった。また、同一個体から同時に採取した、血清および血漿中の Mb 濃度を測定したところ各々の測定値に明らかな差は認められなかった (Fig. 2)。これらの結果より、本免疫反応試薬は血清、血漿のベースのマトリックスの違いによる測定値の差は認められずいずれの検体にも対応可能な試薬であることが明らかとなった。

(5) 検体の安定性

測定に用いる血清検体の安定性を確認したところ装置内において400分、冷蔵保存 (4℃) にて15日間、明らかな Mb 濃度の変動は認められなかった (濃度変化 5% 以下)。また、凍結保存した検体を 2 回凍結融解した後においても明らかな濃度変化は認められなかった。

(6) 共存物質の影響

検体中に含まれる可能性のある各種物質を高濃度で添加し、測定値への影響を確認した。ヘモグロビン、トリグリセリド、遊離型ビリルビン、結合型ビリルビン、リュウマチ因子、アスコルビン酸、クエン酸、EDTA、ヘパリン、ヒト血清アルブミンを各々最大 4.7g/L、357 μmol/L、390 μmol/L、0.05IU/L、

1.14mmol/L、0.95mmol/L、0.34mmol/L、0.1IU/L、50g/L まで添加し Mb 濃度を測定した結果、未添加に対して測定値は ± 5% 以内の変動であり、これら物質の影響は認められなかった。また、ヘモグロビンとの交差反応性を検討した結果、4.7g/L のヘモグロビンのみの測定値は MDC 以下であり交差反応性は認められなかった。

(7) HOOK 現象

サンドイッチ法を用いた免疫反応試薬において非常に高濃度の検体を測定した際、抗原過剰となり抗原抗体免疫複合体が形成できず、偽低値を示すことが知られている (HOOK 現象)。本現状が認められる限界濃度を検討するため、濃度 9,580~95,800 μg/L のサンプルの測定を行ったところ 9,580~28,700 μg/L まで HOOK 現象は認められなかったが、濃度 38,300 μg/L の検体において濃度換算値 872 μg/L と偽低値を示した (Fig. 3)。従って、本試薬は 28,700 μg/L 以上の濃度の検体は正確に測定できない。ただし、通常心筋梗塞で本値を超えることは極めてまれであると思われる。

(8) 健常人濃度範囲

153 人の健常人血清の Mb 濃度を測定し、健常人参考値範囲を中央 95% の分布より算出した結果、その範囲は 11.6~73.0 μg/L であり、平均 32.0 μg/L であった

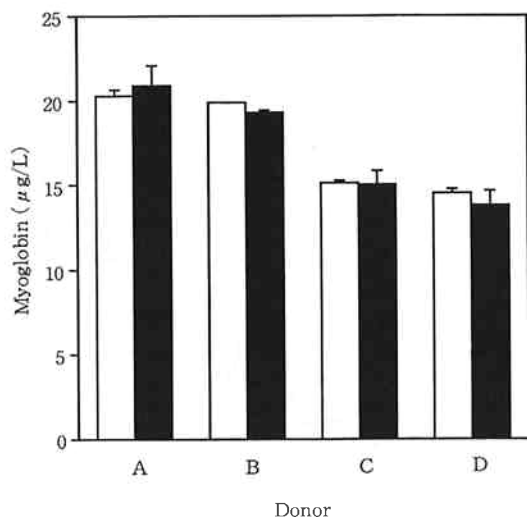


Fig. 2 Difference of the myoglobin concentration between serum and heparin-treated plasma.

Both Serum and heparin-plasma were obtained from four healthy donors at same time. The mean values of myoglobin concentration (mean+standard deviation) represents serum (open bar) and heparin-treated plasma (solid bar).

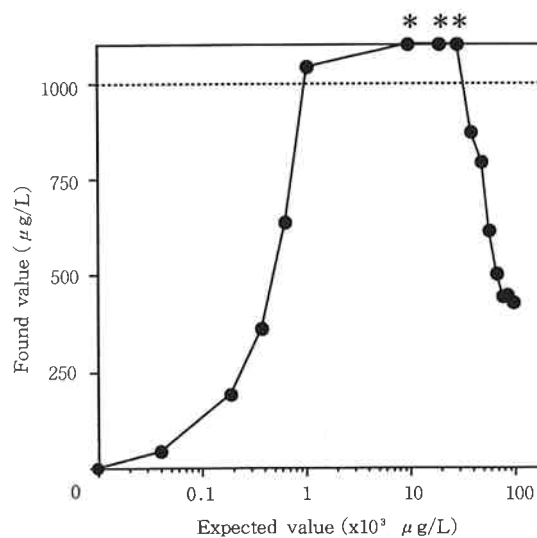


Fig. 3 High-dose hook effect on the myoglobin determination.

Hook samples which contained from 9,580 to 95,800 μg/L myoglobin were measured. Dot line represents the upper assay range (1,000 μg/L) and asterisks indicate the value over the concentration of highest calibrator (1,042 μg/L).

(Fig. 4)。

(9) 他社キットとの相関性試験

AIA-PACK Myoglobinと市販キットであるAccess immunoassay (Sanofi Diagnostics Pasteur, Chaska, MN) およびMyoglobin Kit Daiichi II radioimmunoassay (Daiichi Kagaku, Tokyo, Japan) との相関性試験を行った。市販キット各々の測定可能濃度域は0~1,000 μg/L、0~300 μg/Lであり、測定は、

各々の取扱説明書に従い行った。相関性試験の結果、AIA-21による測定値 (y) は、Access method (y = 1.251x + 2.705 μg/L; n = 61; r = 0.992) およびMyoglobin Kit Daiichi II method (y = 0.922x - 2.276 μg/L; n = 63; r = 0.984) と非常に良好な相関性が認められた (Fig. 5 A, Fig. 5 B)。

5. 臨床上的有用性確認

(1) 急性心筋梗塞患者

典型的な急性心筋梗塞患者のMbおよびCKMB値を経時的に測定した (Fig. 6)。CKMBの測定はEテスト「TOSOH」II (CKMB) を用い行った。Mbの測定値は、心痛後1回目の測定 (0時間) において101 μg/Lと健常域上限を超える値が得られたが、CKMB値は正常範囲内であった (健常人上限4.5 μg/L)。Mb、CKMB各々の最大値を示す時間は各々、3時間、9.5時間であり、Mbが早期診断に有効であることが確認された。

(2) 腎疾患患者

Mbは尿中に速やかに代謝されるため、腎疾患によりその代謝経路が塞がれることにより血液中の濃度は上昇する。そこで、血液透析を受ける慢性腎疾患患者血清のMb濃度および尿代謝マーカーであるクレアチニン濃度の測定を行い、Mb濃度分布およびMb濃度とクレアチニン濃度の相関性を検討した。クレアチニン濃度決定にはクレアチニンテストWAKO (WAKO, Tokyo, Japan) を用いた。検討の結果、腎疾患患者

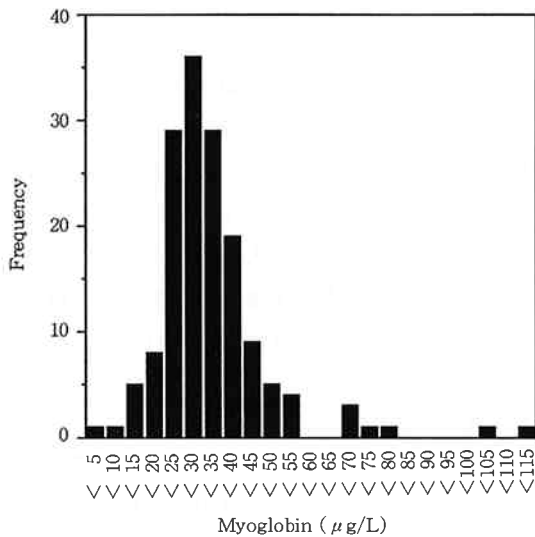


Fig. 4 Distribution of myoglobin value in healthy subjects.

Frequency of 153 healthy subject was shown every five μg/L of myoglobin concentration.

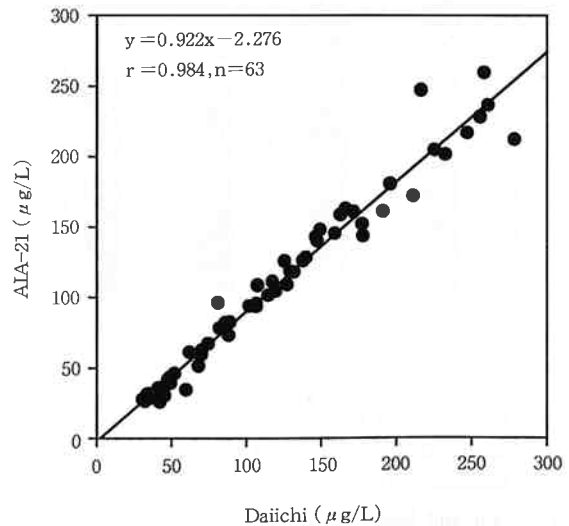
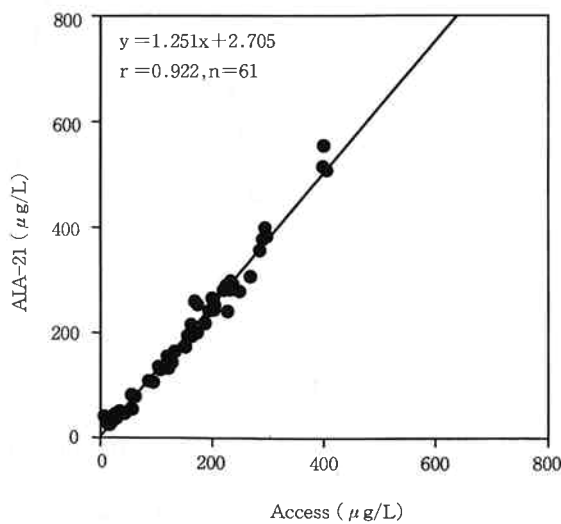


Fig. 5 Correlation of AIA-21 with Access and Daiichi.

Correlation between the myoglobin values measured by AIA-21 and by Access (A) or Daiichi (B).

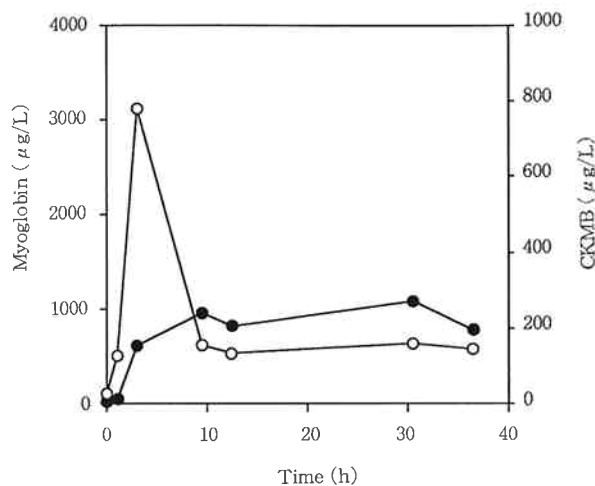


Fig. 6 Pattern of serum level of myoglobin and CK-MB.

In typical AMI patient, myoglobin (open circles) and CK-MB (closed circles) were determined.

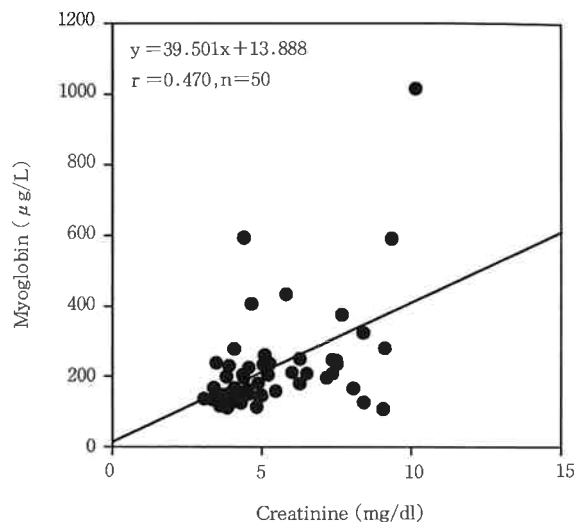


Fig. 8 Correlation between myoglobin and creatinine value in renal failure subject.

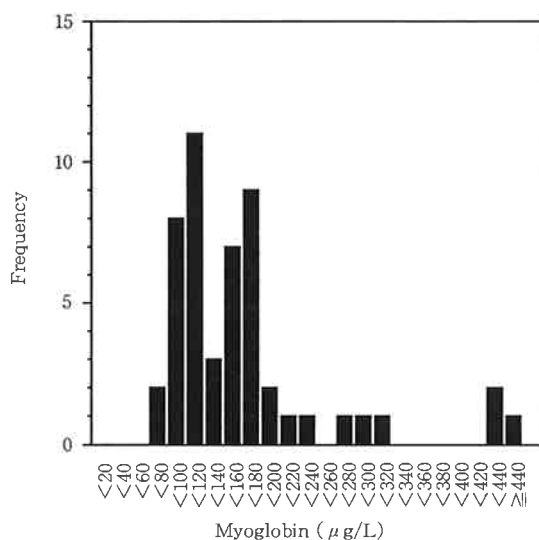


Fig. 7 Distribution of myoglobin value in renal failure subject.

Frequency of 50 renal failure subject who were treated with hemodialysis was shown every 20 μg/L of myoglobin concentration.

Mb濃度の中央値95%の分布は76.9~725 μg/Lであり、健常人上限73.0 μg/Lを超える分布を示した (Fig. 7)。クレアチニン濃度は、全検体で健常人上限1.2mg/dLを超える値を示し各々の検体のMb、クレアチニン値は弱い相関性を示した (r = 0.470) (Fig. 8)。

## 6. 考 察

血液中のMb濃度の測定は心筋梗塞において早期診

断あるいはそのモニターに有用なマーカーとして認知されている<sup>2-6)</sup>。これまでに検査センター等でのMbの測定はラジオイムノアッセイ<sup>12, 13)</sup>やimmuno-nephelometry<sup>14)</sup>で行われていたが、これら方法は感度が良好なもの多くの時間を要し緊急検査には適さないものであった。一方、ラテックス凝集法<sup>6, 15)</sup>は半定量試薬であり感度も十分でなかった。最近になり、Immunturbidimetry<sup>16)</sup>およびradial partition fluorometric immunoassay<sup>17)</sup>が開発、評価されこれらの方法が短時間測定、高感度試薬であることが示されている。このように幾つかのMb定量試薬が開発市販されているが、これらのほとんどが測定に多くの時間を要したり、対応検体が血清のみであったり、多くの検体容量を必要としたりなど心疾患緊急検査に必ずしも適さないものが多かった。今回開発を行ったAIA-PACK Myoglobin免疫反応試薬は、測定内、測定間再現性が各々<2.82%、<4.48%と非常に良好であり、検体の希釈直線性、感度も非常に優れたものであることが証明された。本試薬はヘモグロビン、ビリルビン、トリグリセリド、リュウマチ因子、アルブミン、ヘモグロビン等の血清中因子の影響を高濃度まで受けず、さらに外来因子であるクエン酸、ヘパリン、EDTA等の影響も受けない。ヘモグロビンのみを測定した結果において測定値がMDC以下であり本試薬はヘモグロビンとの交差反応性を有さず、本試薬が各種物質の影響を受けることなくMb濃度を精度良く測定できる試薬であることが明らかとなった。

Mb測定試薬開発にあたり、本項目が緊急検査とな

るため被検体が血漿である可能性が高いことより血清、血漿両検体に対応した試薬開発を試みた。同一個体から採取した血清、血液で同濃度値を示し (Fig. 2)、さらに、抗原添加試験においても同等の反応性を示したこと (Table 3) より本試薬は両検体に対応することが明らかとなった。

他社キットとの相関性試験において、本試薬は Access immunoassay および Myoglobin Kit Daiichi II radioimmunoassay と良好な相関性を示した。また、我々の予備実験では Stratus (Dade Baxter, Miami, FL) との相関性試験においても AIA-21 = 1.091 Staratus + 7.57,  $r = 0.978$ ,  $n = 10$  と測定数は少ないものの良好な相関性を有していた。これら、相関性試験において y 切片は極めて小さい値を示したが、傾きに関しては明らかに各々異なる値を示した。これら現象は、他の試薬間でも報告されており、Opus Plus, Nephelometer, Turbitime (Behring Diagnostic, Westwood, MA) および Stratus 間で大きく異なった値を示している<sup>18)</sup>。実際それらの傾き、切片の値は各々 1.02~1.71, -27.2~31.4  $\mu\text{g/L}$  の範囲に分布しており、キットにより Mb 濃度の測定値は大きく異なる。ただし、相関性に関しては各々非常に良好であることが示されている ( $r > 0.968$ )。これら結果は、各々の測定試薬に用いられている抗体の特異性の違い、試薬のマトリックスの影響など幾つかの因子によるものであると思われるが、最大の要因は WHO 標準品等の絶対的標準物質が現在ないことによる所が大きいと考えられる。

本試薬の健常人参考値上限は、他試薬に比較して高値を示している。他試薬の値は、各々 Opus Plus (23.7  $\mu\text{g/L}$ ), Nephelometer (35.9  $\mu\text{g/L}$ ), Stratus (46.8  $\mu\text{g/L}$ )<sup>18)</sup>, Turbitime method (57.9  $\mu\text{g/L}$ ) である<sup>19)</sup>。この測定値の差は、前記の原因と合わせ、測定に使用した被検体の集合の違い (男女間、年齢など) によるものであると考えられる。

本試薬の臨床上的有用性を確認するため、典型的急性心筋梗塞患者の Mb および CKMB 値の測定を行ったところ、心痛後最初の測定において CKMB 値が健常値であるにもかかわらず Mb 値は異常値を示し、早期診断に Mb が有用であることが確認された。また、Mb、CKMB の最大値を示す時間が、各々 3、9.5 時間と Mb が速やかに血中に流出することも確認された。

血液透析を受ける慢性腎疾患患者においては、Mb 値は健常値を超える分布を示した (Fig. 7) が、Mb

値とクレアチニン値の間には弱い相関性 ( $r = 0.470$ ) しか認められず、Mb とクレアチニンの代謝は必ずしも同一の挙動を示さない。本結果は、先に報告されたこれらの相関性試験の結果を反映するものであった ( $r = 0.63$ )<sup>20)</sup>。Wu とその研究者らは急性の筋組織障害患者の Mb とクレアチニン値を測定した結果、Mb の低代謝が腎障害の可能性が高い事、腎不全の早期マーカーとなること等を示唆している<sup>18)</sup>。この様に、更なる知見は必要であるが Mb 測定は心筋梗塞のみならず今後腎機能の診断マーカーとしての有用性も指摘されている。

今回、我々は AIA-21 に対応した Mb 短時間測定試薬を開発し、その性能は極めて良好なものであった。加えて、本試薬は血漿にも対応可能であり急性心筋梗塞の早期診断など緊急検査に対し貢献する事を期待する。

## 文 献

- 1) Kagen LJ. Extension of myocardial infarction and serum myoglobin. *In J Cardiol*, 6, 337-339 (1984)
- 2) Kagen LJ. Myoglobin: methods and diagnostic uses. *Crit Rev Sci*, 9, 273-302 (1978)
- 3) Cairns J, Missirlis E, Walker W. Usefulness of serial determinations of myoglobin and creatinine kinase in serum compared for assessment of acute myocardial infarction. *Clin Chem*, 29, 469-473 (1983)
- 4) McComb JM, McMaster EA, Adgey AAJ. Myoglobin in the very early phase of acute myocardial infarction. *Ann Clin Biochem*, 22, 152-155 (1985)
- 5) Roxin L, Cullhed I, Croth T, Hallgren T, Venge P. The value of serum myoglobin determinations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Acta Med Scand*, 215, 417-425 (1984)
- 6) Ohman EM, Casey C, Bengtson JR, Pryor D, Tormey W, Horgan JH. Early detection of acute myocardial infarction: additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevation. *Br Heart J*, 63, 335-338 (1990)



- 7) Ellis AK, Little T, Masud ARZ, Liberman HA, Morris DC, Klocke FJ. Early noninvasive detection of successful reperfusion in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, **78**, 1352-1357 (1988)
- 8) Neumeier D. Herz- und Skelettmuskulatur. In : *Lerbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 1<sup>st</sup> edn. (Greiling H and Gressner AM eds.) *Schattauer, Stuttgart*, 605-634 (1987)
- 9) Hallgren Karlsson FA, Roxin L-E, Venge P. Myoglobin turnover-Influence of renal and external factors. *Scand J Lab Clin Med*, **91**, 246-254 (1978)
- 10) Puleo PR, Meyer D, Wathen C, Tawa CB, Wheeler S, Hamburg RJ, Ali N, Obermueller SD, Triana JF, Zimmerman JL. Use of a rapid assay of subforms of creatine kinase-MB to diagnose or rule out acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, **331**, 561-566 (1994)
- 11) Cummins B, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J*, **113**, 1333-1334 (1987)
- 12) Roxin L-E, Venge P, Wide L. A first and sensitive radioimmunoassay of human myoglobin for use in the early diagnosis of heart infarction. *Clin Chem Acta*, **107**, 129-134 (1980)
- 13) Honda H, Katayama T. Detection of myocardial infarction extension or reattack by serum myoglobin radioimmunoassay. *Int J Cardiol*, **6**, 325-335 (1984)
- 14) Delanghe JR, Chapelle J-P, Vanderschueren. Quantitative nephelometric assay for determining myoglobin evaluated. *Clin Chem*, **36**, 1675-1688 (1990)
- 15) Toft E, Stentoft J, Andersen P. False-negative latex agglutination test for myoglobin owing to antigen excess [letter]. *Clin Chem*, **34**, 177 (1988)
- 16) Baum H, Booksteegers P, Steinbeck G, Neumeier D. A rapid assay for the quantification of myoglobin: Evaluation and diagnostic relevance in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, **34**, 853-858 (1994)
- 17) Chapell J-P, Lemache K, Allaf ME, Allaf DE, Pierard L. Fast determination of myoglobin in serum using a new radial partition immunoassay. *Clin Biochem*, **24**, 423-428 (1994)
- 18) Wu AHB, Laios I, Green S, Gornet TG, Wong SS, Parmley L, Tonnesen AS, Plaisier B, Orlando R. Immunoassay for serum and urine myoglobin: Myoglobin clearance assessed as a risk factor for acute renal failure. *Clin Chem*, **40**, 796-802 (1994)
- 19) Bakker AJ, Boymans DAG, Dijkstra D, Gorgels JPMC, Lerk R. Rapid determination of serum myoglobin with a routine chemistry analyzer. *Clin Chem*, **39**, 653-658 (1993)
- 20) Flamenbaum W, Gehr M, Gross M, Kaufman J, Hamburger R. Acute renal failure associated with myoglobinuria and hemobinuria. In : Brenner BM, Lazarus JM, eds. *Acute renal failure. Philadelphia: Saunders*, 539-543 (1983)



## 著者

氏名 五十嵐 浩二  
Koji IGARASHI  
入社 昭和61年4月1日  
所属 科学計測事業部  
開発部  
試薬開発グループ  
研究員



## 著者

氏名 丸尾 直子  
Naoko MARUO  
入社 昭和61年4月1日  
所属 科学計測事業部  
開発部  
試薬開発グループ  
主任研究員



## 著者

氏名 川口 成治  
Seiji KAWAGUCHI  
入社 昭和61年11月1日  
所属 科学計測事業部  
開発部  
試薬開発グループ  
主任研究員



## 著者

氏名 井上 益男  
Masuo INOUE  
入社 昭和59年9月16日  
所属 科学計測事業部  
開発部  
試薬開発グループ  
主席研究員