〔第35回総会シンポジウム〕

II. 測定に影響をおよぼす諸要因について

岡山済生会総合病院 放射線科核医学検査センター

宇 佐 美 政 栄

PRECISION OF MEASUREMENT OF RADIOISOTOPE SAMPLES
CAUSES OF DEVIATIONS OF MEASUREMENT

By MASAAEI USAMI

Nuclear Medicine Clinical Laboratory
Faculty of Radiology Okayama Saiseikai
General Hospital

Summary

In vitro examination in the nuclear medicine field, because of its high sensitivity, splendid reproducibility and simple, easy operation procedure, is indispensable for the measurement of microsubstances such as hormone in the blood, etc. Its application extends over a wide range of medical study.

This time, we focused on the investigation of several themes of radioimmunoassay which seems most influential and most important. And, we want to keep detailed investigation or description on the entire field of nuclear medicine for another occasion.

1. はじめに

核医学 in vitro 検査は感度がよく、再現性にすぐれ取り扱いも簡単なことから血中 Hormone 等の微量物質の測定には欠かせぬものとなり広く応用されている。in vitro 検査と言っても非常に広範囲なためその全てについての検討は次の機会にゆずり、此の度は Radioimmunoassay (以下 RIA) に的をしぼり、最も影響を受け易いと思われるいくつかの問題点をえらび検討したので報告する。

2. 検討項目

検討は Table 1 のように5つの group にわけ次の条件のもとで行なった。(1) 測定値は今までに測定してきた pool および control serum 値の $\pm 2SD$ に入るか否かで判定した、(2) 検討に供した検体数は特に記入のない限り10検体である、(3) incubation 温度で室温と指定の

あるものは25℃, rotator の関係で25℃を守れないものについては23℃~28℃, 低温の場合は4℃で行なった、(4) 試薬については信用のおけるものとして検討を割愛し、その選定は次によった。(イ) 最も普及していると思われる Kit, (ロ) 操作如何によっては影響を受け易いと思われる Kit, (ハ) Bound と Free の分離方法 (以下 B-F 分離法) の違い等を勘案し次の9種類をえらんだ。・ T_3 RSU (^{131}I -トリヨードサイロニン, レジンスポンジ摂取率) ・ T_3 U (^{125}I -トリヨードチロニン摂取率, 固相法) ・ T_3 -RIA Kit II (Triiodothyronine の測定, Polyethylene glycol 法, 以下 PEG 法) ・TSH (Thyroid Stimulating Hormone の測定, 2抗体法) ・IRI (immuno reactive insulin の測定, セフデックス法) ・AFP (α -feto protein の測定, 2抗体法) ・CEA (Carcino embryonic antigen の測定, 固相法) ・Gastrin (gastrin の測定, Dextran-charcol 法, 以下 DCC 法) ・Plasma renin activity (以下 PRA, DCC 法), (5) 試薬および検体

Table 1 Items of investigation.

1. 検体に関すること
 - 1) 検体の採取, 保存に関すること
 - 2) Pool serum. Control serum について
 - 3) 溶血の影響
2. 試薬に関すること
 - 1) 試薬溶解後の保存期間の問題
 - 2) 抗血清希釈倍数の影響
3. 術者に関すること
 - 1) 経験者, 未経験者の比較
4. 操作に関すること
 - 1) incubation 温度, 時間の影響
 - 2) ローテーターの回転数の影響
 - 3) 検体相互間の Contamination
 - 4) 遠心加速度の影響
 - 5) 洗滌回数の影響
 - 6) Aspiration と Decantation
5. 機器 (材) に関すること
 - 1) Pipette について
 - 2) 試験管について
 - 3) 測定器について

の保存は 4℃ または -35℃ である。

3. 検体に関すること

RIA に使用される検体は尿, 腹水等の体液を用いることもあるが, 一般には血液を用いる。血液成分は食事や運動 etc. により変わり, 精神的な stress 等で Hormone の分泌は影響される。また HGH, ACTH etc. のように日内変動のある物質もある¹⁾ ので, 採血場に検査項目別の注意書きを掲示するなどして, 採血の条件を一定に保てるよう工夫すべきである。Fig. 1 は採血してから凍結保存までの室温放置時間の影響を T_3U , T_3 -RIA, IRI について検討したものである。方法は 70 ml 程度採血し血液の放置を 4 通り (Fig. 1 破線より右側), 血清の放置を 6 通り (Fig. 1 破線より左側), 計 10 通りの試料によった。上下 2 本の直線は基準値即ち, 血清分離後直ちに凍結保存した値の $\pm 2SD$ を示す (以下 Fig. の上下 2 本の直線は基準値の $\pm 2SD$ を示す), T_3U への影響は比較的少ないが, 時間の経過と共に低くなる傾向にあり, 特に IRI 血液放置が著しい。また, 血清 1 時間放置は少し高めになる傾向にあり, 測定項目によっても影響が異なるので, できるだけ早く処理し凍結保存すべきと考える。血液中には 200 種類以上もの成分が混じりあい, これらがお互いにバランスを保っている²⁾。血液成分の不安定の原因は³⁾空気中の酸素による酸化, 光による分解,

Fig. 1 Influence of the length of time of letting the sample stand still at room temperature.

	室温処理 (23~28℃)	低温処理 (4℃以下)
平均	3.19 %/hr	2.86 %/hr
CV	5.79	5.70
R	3.65 ~ 2.95 %/hr	3.18 ~ 2.54 %/hr

Fig. 2 Influence of the operation temperature of the sample (renin activity).

温度による蛋白質の変性, 更に血液成分中の酵素自体による分解 (IRI, FSH, LH 等は特に破壊されやすい) 保存容器を汚染している細菌や落下菌による分解など, 不安定材料にはことかかないので, 測定前にこれらの因子による変性があってはならない。Fig. 2 は PRA について, 採血後直ちに 2 分割し, 一方は 4℃ 以下の低温処理, 一方は室温処理 (採血から凍結保存まで約 40 分) し比較したものである。室温処理では 0.33 ng/ml/hr 高い値を示した。冷却遠心機のない施設では, 採血後直ちに血漿を分離すれば, 室温処理でも問題はないと思うが, どんな factor が入るか予想できないので, 低温処理を原則とすべきである。演者は, 冷却遠心機がなかった時には, dryice で遠心機を冷却し処理した経験もあり, 工夫次第でなんとかできると考えている。その他, ACTH, β -TG 等が低温処理を必要とする, Fig. 3 は PRA, IRI, AFP

〔第35回総会シンポジウム〕 ラジオアイソトープ試料測定における精度について (宇佐美)

について溶血の影響を検討した結果である。RIA では、溶血々清（漿）の使用はさけなければならないが、現実にはさけて通ることはできないと思う。検討は採血後直ちに2分割し一方を凍結（1回）溶血させ測定したもので、何れの Kit も低い値を示した。溶血により IRI が低値となる機序⁴⁾は赤血球の崩壊により赤血球内の酵素が溶出（glutathion 依存 insulin 変性酵素）し、そのため insulin はA環とB環に分解されるためである。一般の

	P.R.A. $\mu\text{g}/\text{dl}$		I.R.I. $\mu\text{U}/\text{ml}$		A.F.P. $\mu\text{g}/\text{ml}$	
	非溶血	溶血	非溶血	溶血	非溶血	溶血
$\bar{x}$	2.4	0.5	40.6	29.3	31.3	18.2
CV	4.6	8.2	7.9	7.8	5.8	9.7
R	2.60 2.25	0.58 0.23	47.0 36.0	32.0 25.0	34.5 29.0	27.0 25.5

Fig. 3 Influence of hemolysis.

Fig. 4 Influence of the storage conditions of pooled sera.

臨床検査の分野では、溶血のために何%の変動があるかを見積る公式⁵⁾ $P=3 \times (\text{PHb}) \times ((E)/(S)-1)$ がある。RIA でも補正の方法があるかどうか検討の必要があると考える。Fig. 4は pool serum 1 濃度を T_3 -RIA, TSH, IRI について、(1) 分注凍結保存（基準試料）、(2) 測定毎に凍結溶解のくりかえし、(3) 4°C 、(4) 室温保存の4通りの保存方法についてその影響を検討したものである。室温保存での1週間目には悪臭を放つ、測定できるかどうかたがわしい状態であった。 T_3 -RIAは保存方法による影響は最も少なく、低値となる傾向はあるが4～5週間は測定可能である。TSH, IRIは1～2週間が限度である。Fig. 5は、4種の Control serum につき、Pool serumと同じ保存方法で、IRIについてその影響を検討した結果である。モニター IIxは何れの保存方法でも3週間程度は測定できるが、他については2週間が限度である。特に室温保存のトライラック3濃度は2週目に、ファデバスでは5週目に $320 \mu\text{U}/\text{ml}$ 以上となった。一方 T_3 -RIA についての検討ではファデバスは最も影響が少なく4～5週間は測定でき、NMS IIaは

Fig. 5 Influence of the storage conditions of control sera.

3～4週間、トライラック3濃度、モニターIIxは2～3週間以内であれば測定可能である。このように同一試料、同一保存方法でも試薬の種類により、測定可能な期間は変わってくるので定められた保存方法に従うべきである。Pool serum, Control serum その何れをえらぶかはむづかしい問題と思うが、実験結果では pool serum が長期保存に耐える (いろんな条件の下で) 結果となっており、演者は pool serum をもっぱら使用している。

4. 試薬に関すること

溶解した試薬を1回で使いきれなかった場合、また、溶解してから急用などのために測定できなかった場合を想定して、溶解後どれくらい保存できるかを T_3 -RIA, TSH, IRI, AFP について検討した結果が Fig. 6 である。 T_3 -RIA は4℃および測定毎に凍結と溶解のくりかえし、他は4℃保存である。4℃保存では各試薬とも7～10日間は測定できる。 T_3 -RIA の凍結溶解のくりかえしは2回が限度のようである。IRI を溶解してからの保存可能期間⁶⁾は、2～8℃において緩衝液、セファデックスは共に4カ月、標準 insulin, ^{125}I insulin は7日間となっており実験結果とよく一致する。

Fig. 6 Influence of the storage method of dissolved reagents upon the measured values.

Fig. 7 Comparison of the measured values between experienced and unexperienced operators.

5. 術者に関すること

経験者、未経験者について micro pipette (以下 Pipette) の操作および IRI, AFP の測定について比較した。未経験者とは、県内の臨床検査技師学生で Radio isotope (以下 RI) の取り扱いとは勿論、Pipette 操作もはじめての者である。作業をはじめる前に取り扱い説明書を熟読させ且つ、作業内容をよく説明した後、諸条件を全て一定にして測定した結果が Fig. 7 (IRI) である。一方 AFP についての測定値および Coefficient of Variation (以下 CV) は経験者 63.9 ng/ml 4.33%, 未経験者 A 68.95 ng/ml 13.87%, 同じく B 66.50 ng/ml 10.00% であった。全ての条件を一定にしたにもかかわらず結果に大きな差の出たことは、(1) 作業内容を理解してなかった、(2) Pipette 操作の不慣れ、(3) RI ときいて特別なものでも取り扱う気になった、(4) 気負いすぎ等が考えられる。誰が assay しても同じような値を出さねばならないが、現実には差がみられるので、(1) 作業内容の理解を高める、(2) Pipette 操作の練習、(3) 比較的やさしい Kit から取り扱いさせる等の配慮が必要と考える。尚 Pipette 操作については、Pipette の項でのべる。

6. 操作に関すること

最近室温で incubation できる試薬がふえている、IRI 30℃をこえない、CEA 1～30℃⁷⁾、AFP 20～30℃⁸⁾ etc である。日本薬局方⁹⁾ による室温とは 1～30℃をさし大きな幅がある。incubation 温度の検討は AFP について温度を、(1) 4℃、(2) 15℃、(3) 25℃ (基準値)、(4) 35

〔第35回総会シンポジウム〕 ラジオアイソトープ試料測定における精度について (宇佐美)

Fig. 8 Influence of incubation temperature.

Fig. 9 Influence of the length of time of letting the sample stand still at room temperature after addition of PEG.

℃ (夏期の窓ぎわでの incubation を想定), (5) 45℃ (参考), (6) 25℃→4℃ (5時～翌朝9時まで)→25℃ (冬期夜間における 温度下降を想定) の6段階に設定し検討した結果が Fig. 8 で, 温度の影響は意外に大きい結果となった. 室温 incubation と言ってもある定まった, できるだけ変化の少ない温度範囲を守るべきである. 特に冬期夜間, および夏期夜間における温度下降, または上昇には充分な対策が必要である. 冷蔵庫で incubation している施設では他との共用はさけ, 専用のものを使用すべきである. Fig. 9 は T₃-RIA について PEG を分注してからの室温放置時間を, (1) 5分以内 (基

Fig. 10 Influence of the number of revolution of the rotator.

準値), (2) 10分, (3) 20分, (4) 30分, (5) 45分, (6) 60分とし, その影響をみたもので10分以内には B-F 分離操作に入る必要がある. 60分放置では検量線はきれいに画けているが, 試料の測定値は 0 ng/ml 以下と測定不能であった. 原因は標準物質と, 試料の構成成分の違いによるものであろう. 尚低温放置は未検討である. PEG¹⁰⁾は一定品質のものが安定して得られ且つ, B-F 分離がほぼ完全に行ないうる etc の長所もあるが, γ -Globulin の濃度により 測定値は左右されることもあるので, よくわきまえて使用すべきである. Fig. 10 は, IRI についてローテータの回転数を 0, 10, 24 (基準値) 38回転/min に設定しその影響を検討したものである. 24回転/min をさかいにそれより回転数が多くとも, 少なくとも測定値は低くなる傾向にあり20~30回転を守るべきである. CEA (one step 法) については振動数を 0, 60, 120回/min (基準値) とし検討したが, 振動数が少なくなるに従い検量線は右側に平行移動した測定値及び CV は, 振動数 (—) では 15.84 ng/ml, 11.34%, 60回 12.00 ng/ml, 10.15%, 120回 12.74 ng/ml, 6.93%と振動数が多くなるに従いバラツキは少なくなった. 少なくとも80回以上の振動数は確保したい. 尚 two step 法については, 例数が少ないのではっきりとは言えませんが, ほぼ同じ傾向にある. Fig. 11 は T₃-RIA について光度の影響を暗室 (基準値), 2700および 5400 Candela のもとで, incubation をし比較したものである. 抗血清中に加えてある ANS (8-Aniline-1-naphthalene-sulfonic acid) により血中の T₃ 結合蛋白と T₃ との結合が阻害されるので, 血中から T₃ を抽出することなく, 血清を直接検体として使用できる利点はあるが, 2000 Lx 以上の明るさでは分解されると言われる¹¹⁾. 光源は東芝 spot light

Fig. 11 Influence of the intensity of light.

Table 2 Problem of cross contamination of samples.

1 使用検体のAFP濃度

- 1) 5.3 ng/ml. 2) 32.0 ng/ml. 3) 80.5 ng/ml.
4) 123.8 ng/ml. 5) 603.8 ng/ml.

2 $\bar{x} = 603.8 \text{ ng/ml}$ の次に tip をかえずに $\bar{x} = 5.3 \text{ ng/ml}$ を分注.

3 同じようにして分注した結果

- 1) 123.8 ng/ml. → 5.3 ng/ml. → 6.8 ng/ml. 高値と一致.
2) 123.8 ng/ml. → 80.4 ng/ml. → 5.9 ng/ml. 高値と一致.
3) 80.5 ng/ml. → 5.3 ng/ml. → 8.1 ng/ml. 高値と一致.
4) 32.0 ng/ml. → 5.3 ng/ml. → 2.4 ng/ml. 高値と一致.

2700 Candela, 色温度 5,500°K のものを使用した. 明るさが増すに従い高値となる傾向を示す. 従って極度に明るい窓ぎわでの incubation はさけるべきである. 他に, 紫外線により Hormone の分解や, ハロゲン化合物の分解も促進されるので¹²⁾光の質にも充分な注意が必要である. Table 2 は, pipette の tip をかえずに検体を分注した場合, 検体相互間の汚染の有無を 5 濃度の検体をえらび, 1 濃度の検討毎に 0.5 ml 分注したものを 10 本用意し, AFP について検討した結果である. Table 2 の 2 は 603.6 ng/ml の次に tip をかえずに 5.3 ng/ml を分注終

って tip と検体をかえて同じように分注を行なう. このような分注操作を 10 回くりかえし, その平均をとってある. 濃度 5.3 ng/ml のものが 57.3 ng/ml となった. 同一 tip で分注した場合, 検体相互間の汚染は無視できないので検体毎に tip をかえることは絶対必要である.

Fig. 12 は AFP, Gastlin について, B-F 分離時の遠心加速度を 2,000×G (基準値) および 1,000×G に設定し, 比較検討したものである. 遠心機は日立冷却遠心機 5-PR 型, 4℃で遠沈した. 1,000×G の場合, AFP の測定値は 0.4 ng/ml 低く, CV は 2.42% 高い値を示した. 一方 gastlin の測定値は 1.5 pg/ml 低く, CV は 2.34% 高い結果となった. 回転力が弱いと測定値は低く, CV は大きくなりますので 1,500×G 以上の遠心加速度は確保したい. Fig. 13 は IRI の B-F 分離時の洗浄回数を 0 回, 1 回, 2 回, 3 回 (基準値) 4 回, 5 回とし, その影響をみたものである. 各洗浄回数における B_0/T は, 洗浄

Fig. 12 Influence of centrifugal acceleration.

Fig. 13 Problem of the frequency of rinsing (IRI).

〔第35回総会シンポジウム〕 ラジオアイソトープ試料測定における精度について (宇佐美)

Table 3 Aspiration and decantation.

	A.F.P. $n=41$		T_3 -RIA-II $n=30$	
	吸引	デカント	吸引	デカント
$\bar{x}$	37.82 $\mu\text{g/ml}$	37.80 $\mu\text{g/ml}$	2.38 $\mu\text{g/ml}$	2.36 $\mu\text{g/ml}$
CV	6.64 %	5.93 %	4.33 %	4.02 %
R	43.5 32.5	43.0 34.0	2.67 2.24	2.58 2.21
B_0/T	72.70 %	74.20 %	12.50 %	12.20 %
0~最高 濃度の差	58.40 %	59.70 %	60.00 %	60.20 %

Fig. 14 Comparison of measured values between the aspiration procedure only and that with the wipe of the inner walls of the test tubes after the aspiration.

(一) では81.6%, 1回48.6%, 2回34.1%, 3回29.5%, 4回27.0%, 5回26.7%であった。3回洗浄でも充分測定できるが4回洗浄がほしいと考える。4回と5回洗浄の差はない。次に, T_3 -RSU の sponge の洗浄回数
の検討では, 2回洗浄の測定値26.7%, CV 4.6%, 3回
26.9% CV は3.6%であった。従って, ていねいに2回洗
浄すれば問題はない。Table 3 は, AFP, T_3 -RIA につい
て Decantation (基準値) と aspiration を比較したもの

である。検量線および測定値は両者殆ど差はなく, CV
はわずかに AFP で0.71%, T_3 -RIA で0.31%デカント
がよい結果となった。この理由は, (1) 吸引力の問題,
(2) 術者の慣れなどが考えられる。ただデカントで気にな
る点は, 試験管を倒立させることによりポリエチレン
濾紙に附着する RI は, AFP $n=41$, 681~2,688 cpm 平
均1,178 cpm, T_3 -RIA $n=30$, 513~1,367 cpm, 平均818
cpm と意外に多い点である。試験管口の汚染も当然ある
ので, デカントでは汚染の広がりにより充分注意が必要で
ある。吸引器は, ヤマト科学製ミニバック PS-05 型, 吐
出圧力 0.4 kg/cm², 排気量 6 l/min 60 Hz, 回転数 1,700
rpm 60 Hz のものを使用した。Fig. 14 は同じ DCC 法で
ある PRA と gastlin について, 吸引のみで測定したも
のと, 吸引後試験管を倒立 (5~10分) させ内壁に附着
している RI を拭き取った後測定したものを比較したも
のである。PRA は丁寧に吸引し測定する方が精度よく
測定できる。試験管の倒立はさけるべきと考える。gast-

Table 4 Pipettes used for the assay.

- 容量固定式
 - 0.01 ml スミマイクロピペット B-10
 - 0.1 ml エッペンドルフ, オックスフォード, 硝子
 - 0.2 ml オックスフォード, 硝子
 - 0.3 ml オックスフォード, 硝子
 - 0.4 ml スミマイクロピペット
 - 0.5 ml エッペンドルフ, オックスフォード, 硝子
 - 1.0 ml エッペンドルフ
- 容量可変式 (段階式)
 - ジャスター V-50 0.01~0.05 ml 6段階
 - ジャスター V-500 0.1~0.5 ml 6 "
 - エクセル 0.05~0.2 ml 3 "
 - バーサペット 0.3~1.0 ml 3 "
- 容量可変式 (無段階式)
 - ピペットマン P-200 0~0.2 ml
 - ピペットマン P-1000 0~2.0 ml
- 容量固定式連続分注器
 - ハミルトン 0.1 ml 50回連続分注可能
 - マイクロドサー 0.1 ml 25回 "
- 容量無段階可変式連続分注器
 - テーハー式 0~2.0 ml
 - テーハー式 0~5.0 ml
 - 日量デスベット 0~5.0 ml
 - 日量デスベット 0~10.0 ml
- フローピペット
 - オリオンフローピペット 0.1 ml
 - サンズピペット 0.1 ml

lin はどちらでも大差ないと思うが、内壁を清拭した方が精度よく測定できる。同じ DCC 法でもこのように異なりますので他の Kit についても十分な検討が必要と考える。尚試験管に附着している RI 量は、PRA (n=50) 182~1,682 cpm 平均 965 cpm, gastlin (n=50) 21~105 cpm 平均 61 cpm であった。

7. 機器 (材) について

Table 4 は検討の対象とした Pipette で 6 方式, 27 種類について絶対容量 (正確度) および再現性 (精度) を蒸留水による重量検定法で実施した (島津化学天秤 BL-200 型)。Fig. 15 は主な 0.1 ml, 1.0 ml の Pipette についての正確度の検討結果である。Pipette は多数の人が使用するものであるから、5 名について tip をかえずに 1 人 1 回、5 名で計 5 回測定した平均をしめしてある。0.1 ml の容量の平均は各 Pipette 共大差はないが、CV では、ハミルトン、オックスフォード、エッペンドルフ等がよい値を出している。1.0 ml では、エッペンドルフ、ピペットマン、バーサペットが容量、CV 共によい。テーハー式 (最大容量 5 ml) は無段階可変方式の分注器で精度は勿論重要であるが、この種のものは分注速度が生命でありよい結果と考えてさしつかえなく、分注目的により Pipette をえらぶべきことを示唆しているとかなが

Fig. 15 Assay on the absolute volume of main 0.1 ml pipettes.

Fig. 16 Assay on the reproducibilities of main 0.1 ml pipettes. (Comparison between experienced and inexperienced operators)

える。Fig. 16 は 0.1 ml の主な Pipette について経験者 5 名 (A~E), 未経験者 5 名 (F~J) をえらび 1 回毎に tip をかえ 1 人 2 回、5 名で計 10 回測定し再現性をみたものである。個々については、未経験者でも素晴らしい値を出した者もいるが、これが 2 回と続かず、平均では (Fig. 16 破線より右側) 経験者がよい結果となった。エッペンドルフ、ピペットマン、オックスフォードがよい、未経験者でエッペンドルフの悪いのは、精度をあげるために使用している flexible tube に蒸留水が吸い上げられたためと考える。各種の Pipette を検討した結果エッペンドルフ、ピペットマン、ハミルトン等が常に安定した値を出していた。またサンズ等のフローピペットも非常によい値を出す、RIA には不適と考える。Pipette はいつもスムーズな動きができるよう充分な手入れが必要であり、また、分注する各試料に温度差があってはならず、Pipette を垂直に持ち、普通の Pipette より 20~30% 多くの時間をかけ操作するときは、CV を 1% 以下

〔第35回総会シンポジウム〕 ラジオアイントープ試料測定における精度について (宇佐美)

Fig. 17 Measurement of variation according to the different weights of various test tubes.

におさえることは容易である。Fig. 17 はポリスチレン製3種類(以下ポリ製)、硝子製3種類の試験管の重量を化学天秤(島津 BL-200 型)で測定した結果であるが、ポリ製のバラツキは非常に少ない。試験管の材質の違いによる RI の吸収は、液量を 1.0 ml、栄研チューブの計数値を100%とした場合、第1チューブ97.72%、ベノジエクト真空採血管 10 ml (VT-100P) 82.70%、柴田化学器機工業純硬質試験管 (Baial) 15×105 m/m 80.98%、日電理化硝子、強化硬質全自動試験管 (NE) 15×105 m/m 78.92% とポリ製にくらべ、硝子製は20%程度計数値は少ない結果となった。RIA は非常に少ない計数値で測定する機会が比較的多いので、ポリ製は断然有利である。尚 ^{125}I における硝子とポリの γ 線の吸収の割合¹³⁾は Fig 17 のとおりである。その他ポリ製は蛋白の吸着が少ない、破損しにくい等の利点もあり、RIA ではポリ製を使用すべきと考える。RI に汚染された硝子試験管の洗浄効果は、予稿集 Table 2 のとおりであるが、硝子試験管を使用している施設では、洗剤に滲せきする時間、洗浄方法の違いによる洗浄時間を検討した上で行う必要がある。Fig. 18 は測定器の安定に要する時間の検討で、switch on 直後から1時間毎に5時間まで ^{137}Cs 標準線源 (Lot No. 238) を用い毎週月曜日に1回、10週間にわたり測定した結果である。測定器は島津 Auto AL-201 型 Scintillator 2 吋、および Manual の Well Counter の2機種を用いた。Switch を入れ1時間位までは安定が悪い結果となっているが、機種により差があると考えられるので自分の施設の測定器を一度検討しておくべきである。試料容積の影響 (1.0 ml の計数値を100%) については予稿集 Fig. 3 のとおりであるが、0.1 ml の計数値を100%にした場合は 0.5 ml (RI 0.1 ml + 蒸留水 0.4 ml) では

Fig. 18 Time required for operating measuring apparatuses.

年度	1976	1977	1978
平均	16547 cpm	16672 cpm	16916 cpm
CV	5.45 %	4.79 %	4.20 %
R	18167 ~14304 cpm	18167 ~14720 cpm	18317 ~15521 cpm
使用Kit	51 kit	50 kit	53 kit

Fig. 19 Control of the measuring apparatuses by means of the total count of T_3 RIA Kit.

96.6%, 1.0 ml 95.7%, 1.5 ml 93.1%, 2.0 ml 85.6% であった。Fig. 19 は、当施設で行なっている測定器の状態を知る一方法である。毎週月曜日に測定している。 T_3 -RIA の Total Count によるもので1976年から1979年までの3年間の測定結果である。毎年 50 Kit 程度の使用であるが、年間の CV は4~5%、平均の計数値は16000 cpm 台であり、簡単ではあるが、測定器の状態を知る1つの指標にはなると考える。このような指標を定めておくことは、異常計数の場合の対応が早い、その他、バックグラウンドの測定、標準線源によるチェック等を行なっておれば、まず問題はない。尚新たに測定器を購入した時は、使用前のバックグラウンドおよび、標準線

源の測定を忘れてはならない。

8. ま と め

夫々10検体についての検討であり、傾向を示したにすぎませんが、特に強く感じた点は、相当に悪い条件下で、incubation をしても、標準物質への影響は比較的少なく、検体への影響は大きい点である。このことは毎日の assay においても、検量線がよく画けているからその assay は成功したとは必ずしも言いきれないことを示唆している。種々な原因はあると思うが、標準物質と、検体の成分の違いが最大の原因と思う。我々はこの点をよくわきまえ assay すべきである。その他に、(1) 検査を日常化する前には Kit についての検討は絶対必要である、(2) Assay における諸条件は常に一定の範囲内におさまるようにすべきである、(3) 術者の教育訓練の3点を強調したい。Control survey の結果をみても施設により大きな差がみられます。RIA をとりまく諸条件は施設により異なりますが、その施設の実状にあった最良の方法を選ぶべきであります。どの施設でも、誰が assay してもほぼ同じ結果が得られるよう我々は技術の Level up につとめねばならない。尚メーカーには、更に使い易い試薬の提供をおねがいする。

おわりに、今回の発表の機会をおあたえ下さいました橋本学会長、金尾座長はじめ学会関係の諸先生ならびに、種々御協力下さいました当院核医学検査センター職員はじめ、関係者の皆様に厚く御礼を申しのべて、総花的になりましたが報告を終わります。

文 献

- 1) 井村裕夫, 他: 人体成分のサンプリング “ホルモン”, 講談社 (1974).
- 2) 北村元仕, 他: 臨床化学分析 I, 総論日本分析化学会編, 6-p, 東京化学同人 (1973).
- 3) 佐々木匡秀, 他: 人体成分のサンプリング “血液”, 35-p, 講談社 (1978).
- 4) Mziegler 他: インスリンラジオイムノアッセイにおける溶血の影響および抗インスリン血清との Pre-Incubation によるその防止, JCE & M, **35** (1), 317 (1972).
- 5) 坂岸良克, 他: 臨床検査講座14, 臨床化学, 放射性同位元素臨床検査技術, 29-p, 医歯薬出版 (1975).
- 6) シオノギ製薬株式会社: IRI テスト説明書.
- 7) ダイナボット RI 研究所: CEA RIA KIT 説明書.
- 8) 栄研イムノケミカル研究所: α -フェトプロテイン (AFP) 栄研, 説明書.
- 9) 石館守三監修: 日本公定書協会, 第八改正日本薬局方, 通則 A-32, 広川書店 (1971).
- 10) 吉川高子: 誌上講座, ラジオイムノアッセイ (5) B-F 分離 (F), 日放技師誌, 第306号, **26** (2), 45, (1979).
- 11) ダイナボット RI 研究所: T_3 -RIA KIT II 説明書.
- 12) 高木康夫: 検査の精度管理 (1975) (テキスト).
- 13) 井上英雄: RI サンプル測定装置, 第10回核医学機器講習会テキスト, 7-p, (1974).