

《ノート》

急性心筋梗塞症の“early indicator”としての 血中ミオグロビン測定の検討

Early Indicator of Acute Myocardial Infarction
— Radioimmunoassay of Myoglobin —

中井 利昭* 鈴木 一夫* 山田 律爾*
Toshiaki NAKAI*, Kazuo SUZUKI* and Ritsuji YAMADA*

*Department of Clinical Pathology and Metabolism,
Dokkyo University School of Medicine, Bibu, Tochigi 321-02, Japan

1. 緒 言

急性心筋梗塞症の診断は、近年成人病としてますます増加してきた循環器系疾患の1つとして非常に重要である。この診断は、従来はその特徴的な臨床像や心電図所見、さらに検査室では GOT, HBD, CPK, LDH などの血清酵素に基づいてなされてきた。しかし、これらの検査法のみで充分とはいえない症例もあり、他のもっと鋭敏でかつ特異的な検査方法の開発が必要とされてきた。最近心筋梗塞時に心筋の壊死によって血中や尿中に放出される蛋白物質としてミオグロビンが知られるようになった^{1,2)}。ミオグロビンは、分子量約 18,000 のヘム蛋白であり、心臓や骨格筋で合成されているものである。従来はその分子量の小さいことや、血清蛋白に結合されない点よりすぐに血中から消失し、腎を通過し、尿中に排泄されるため、その血中濃度測定は困難であった。しかし、最近のイムノアッセイの進歩によりこれが可能となってきた。

なってきた。

今回、われわれはミオグロビン測定の新しいキットを入手したので、まず、このキットの基礎的検討を行ない、ついで健常者の血中ミオグロビン値の正常値を求めた。さらに、心筋梗塞をおこした患者について、時間を追って血中ミオグロビンの推移を検討し、同時に測定した各種血清酵素 GOT, LDH, CPK, HBD との相関をみた。とくに、LDH, CPK については、そのアイソザイムパターンとミオグロビン値との相関を検索したが、これは従来報告されていはず、われわれが最初の報告である。

最後にミオグロビンの代謝に関連して腎機能の関与をみるため、慢性腎不全患者についてその血中ミオグロビン値を検索した。

II. 対象と方法

1) 血清ミオグロビン測定の myoglobin RIA kit は、Nuclear Medical System Inc. (カリフォルニア、アメリカ) 製のものである。ミオグロビンの測定原理は、二抗体法に基づいたもので、以下のとおりである。

*独協医科大学臨床病理（中検）・代謝科

受付：53年5月19日

最終稿受付：53年7月31日

別刷請求先：栃木県下都賀郡壬生町大字北小林 880
(☎ 321-02)

独協医科大学病院臨床病理・代謝科
中井利昭

Key words: A new diagnostic test, Acute myocardial infarction, Myoglobin.

ミオグロビン標準液対照コントロール被検 血清	100 μ l
盲検(緩衝液)	200 μ l
↓	
盲検以外の試験管にミオグロビン抗体	100 μ l
↓攪拌後、室温15分間放置	
^{125}I 標識ミオグロビン	100 μ l
↓攪拌後、室温30分間放置	
第二抗体	200 μ l
↓攪拌後、室温30分間放置	
3,000 r.p.m. 15 分間遠心分離し、上清を除去し、1 分間ウェルシカウンターで測定	

計算

$$\text{Bound \%} = \frac{\text{CPM (検体又は標準)} - \text{CPM (盲検)}}{\text{CPM (ゼロ標準)} - \text{CPM (盲検)}}$$

まず、このラジオイムノアッセイキットの基礎的検討として、感度、精度としての再現性を求め、また、回収率テスト、希釈テストを行なった。

2) 臨床症状、心電図、胸部レントゲン写真、血清酵素測定で、循環器疾患などの異常がみられず、健常人と思われる20名について、その血中ミオグロビン値の正常値を求めた。

3) 心筋梗塞発作で緊急入院した2症例について、入院よりただちに時間経過を追って、発作中の血清ミオグロビン値を測定した。さらに他疾患で入院中にたまたま心筋梗塞発作をおこした2症例についても、発作直後より経時的に血清ミオグロビン値を測定した。なお、同時に採取した血清について、OGT, LDH, CPK, HBD を測定し、さらに CPK, LDH についてはそのアイソザイムパターンを求めた。GOT はライトマンフランケル法で、LDH はウロベルスキー法で、CPK は血清 CPK 測定試薬シノテスト、HBD は HBD セット(ヤトロン)、アイソザイムについては LDH Isosyme 和光、CPK はカラム法を用いた UV 用 Isoenzyme(フジサワ)によって測定した。

4) 透析施行中の慢性腎不全患者11名について、血清ミオグロビン値を求めた。

Table 1 Intraassay variation

	A	B	ng/ml
1	19	218	
2	17	209	
3	21	214	
4	17	195	
5	18	214	
6	19	210	
7	22	220	
8	20	190	
\bar{X}	19.1	208.8	
SD	1.6	10.1	
CV	8.8	4.8	

Table 2 Interassay variation

	A	B	ng/ml
1	40	225	
2	43	236	
3	46	209	
4	41	198	
5	44	207	
\bar{X}	42.8	215	
SD	2.1	13.6	
CV	5.0	6.3	

III. 成 績

1) $B/B_0\%$ で表示した標準曲線は 31.2~250ng/ml の範囲で測定可能な、ほぼ満足すべき曲線が得られた。感度として標準液 31.2 ng/ml の結合型放射能%は、ゼロサンプルのそれに比し低値であるので、少なくとも 31.2 ng/ml までの測定感度が得られるものと推定される。精度として測定内変動係数を求めたところ、Table 1 に示したように、ミオグロビン値 19.1 ng/ml, 208 ng/ml でそれぞれ 8.8% および 4.8% であり、ほぼ満足すべき再現性を示した。測定間変動係数も 42.8 ng/ml, 215 ng/ml で、それぞれ 5.0% および 6.3% で満足できる再現性であった(Table 2)。血清ミオグロビン値の高値を示した患者血清を用いて、血清希釈(生食で希釈)の影響をみたところ、良好な希釈直線を示し、回収率テストも 103.9 ± 6.1

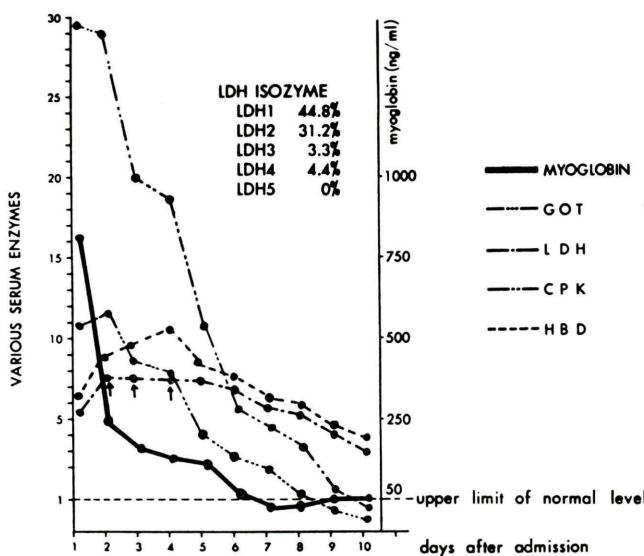


Fig. 1 Serum enzymes and myoglobin in myocardial infarction

%と満足すべき値であった。

2) 健常人20名について血清ミオグロビン値を求めたところ、最初測定感度 31.2 ng/ml 以下か、この値より少し高いものが大部分で、最大値を示したものも 74 ng/ml であった。

3) Fig. 1～4 はいずれも急性心筋梗塞患者の血清ミオグロビン値および各種血清 GOT, LDH, CPK, HBD の経日的変化を追ったパターンである。各種血清酵素の各時点でのレベルは、方法で述べた測定法による健常者の上限を 1 として、算出した値で示してある。したがって、たとえば 10 のレベルは正常上限の 10 倍の血清酵素値である。第 1 例は典型的な急性心筋梗塞症発作で緊急入院してきた患者で、入院直後の血清ミオグロビン値は 800 ng/ml で、2 日目 246 ng/ml, 3 日目 160 ng/ml, 4 日目 133 ng/ml, 5 日目 124 ng/ml と下降し、7 日目で健常人のレベルに戻っている (Fig. 1)。血清酵素については CPK 値が正常上限を 1 として入院時 29.4, 2 日目 29.1, 3 日目 20.2, 4 日目 18.7 と下降してきているが、CPK ではなお 7 日目でも 4.4 と高値を示している。GOT, LDH, HBD も同様に心筋梗塞発作後高値を示すようになるが、ミオグロビン値、CPK 値と異なってそのピーク

は発作 2 日目である。またいずれの酵素も比較的長く高値を持続しつづけている。第 2 例も同じく急性心筋梗塞発作のため緊急入院した症例であるが、血清ミオグロビン値は入院時 670 ng/ml, 2 日目 440 ng/ml, 3 日目 250 ng/ml, 4 日目 144 ng/ml と下降し、5 日目でわれわれの得た健常人の正常レベル内に戻っている (Fig. 2)。CPK 値は入院直後正常上限を 1 とすると 18.9, 2 日目 17.2, 3 日目 9.2, 4 日目 3.8, 5 日目 1.5 と下降し、6 日目で正常上限値となっている。GOT, LDH, HBD については第 1 例と同じく、発作時ではなく、2 日目にピークを示している。また同じくこれら諸酵素はミオグロビンに比べ高値を長く持続しつづけていた。以上 2 症例は急性心筋梗塞症の発作時間を正確に記載することは困難であるが、少なくとも胸痛などの典型的な症状が現われてから 2 時間以内に救急者として病院に運ばれたものであり、第 1 日目の血清は発作後 2～6 時間のものと推定される。

第 3 例では高血圧で入院中の患者がたまたま入院中に心筋梗塞発作のみられた症例である。たまたま発作前の血清が中検に出されて残っていたため、あとでミオグロビン値を測定した貴重な例

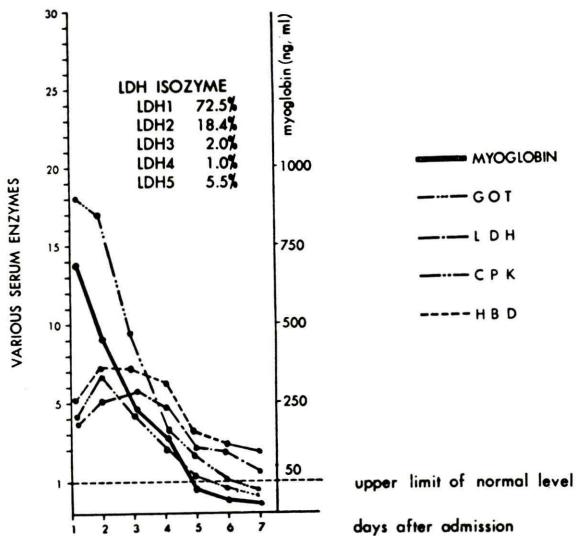


Fig. 2 Serum enzymes and myoglobin in myocardial infarction

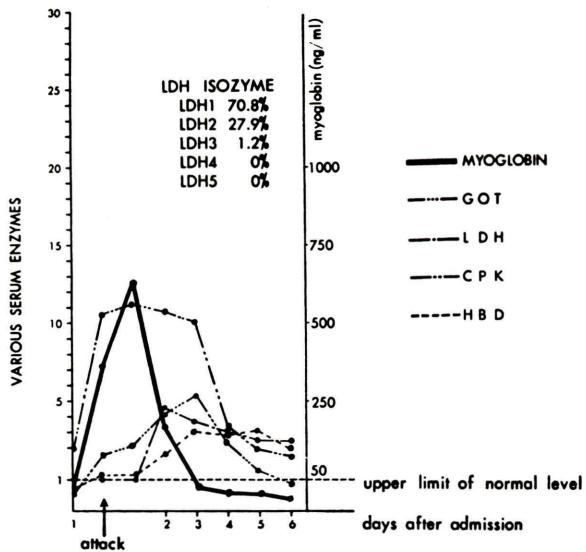


Fig. 3 Serum enzymes and myoglobin in myocardial infarction

である。入院中の発作前日はその血清ミオグロビン値は 31.2 ng/ml 以下で、発作 2 時間後 370 ng/ml を高値を示し、さらに 4 時間後に 610 ng/ml と上昇した (Fig. 3)。2 日目では 149 ng/ml であり、3 日目には 31.2 ng/ml 以下の正常レベルに戻っている。血清 CPK もミオグロビンと同じ経過をと

って急上昇しピークとなっているが、3 日目、4 日目とも高値を持続していた。GOT, LDH, HBD は以上の二者と異なり、2 日目から 3 日目にピーク値を示した。

第 4 例は同じく非常に貴重な症例で、糖尿病で入院中にたまたま心筋梗塞発作をおこした症例で、

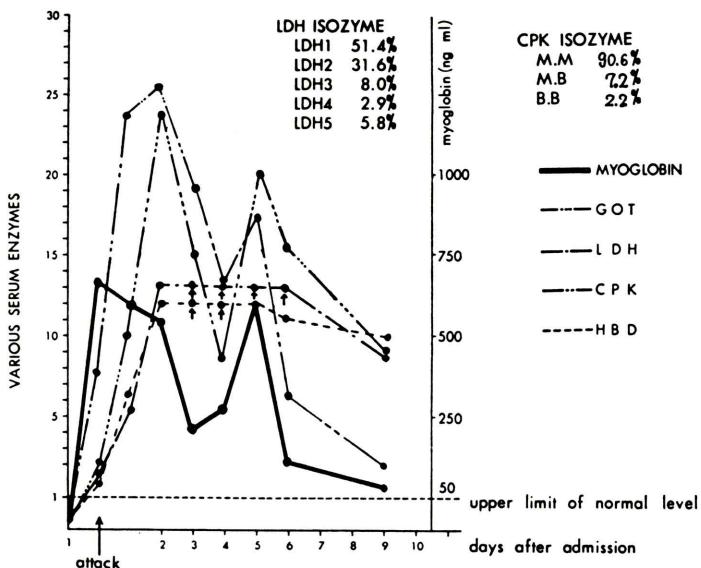


Fig. 4 Serum enzymes and myoglobin in myocardial infarction

しかもその数時間前の血清が他の検査依頼のため中検に出されていたため測定した症例である。入院時のそのミオグロビン値は 31.2 ng/ml 以下で、その後発作がみられ 675 ng/ml と上昇し、2日目で 630 ng/ml 、3日目で 570 ng/ml 、4日目で 220 ng/ml と下降したが、この後再発作がみられ5日目で 610 ng/ml とピーク値を示し、6日目で 115 ng/ml 、9日目で 90 ng/ml となり死亡にいたった症例である (Fig. 4)。CPK もミオグロビンと同じく発作後、再発作後と 2 つのピーク値を示している。GOT, LDH, HBD はいずれもミオグロビン、CPK に遅れてピーク値を示している。各症例のミオグロビンのピーク時の LDH のアイソザイムパターンを各 Fig. に示してあるが、第 1 例では LDH₁, 44.8%, LDH₂ 31.2%, 第 2 例で LDH₁, 72.5%, LDH₂ 18.4%, 第 3 例で LDH₁, 70.8%, LDH₂ 27.9%, 第 4 例で LDH₁ 51.4%, LDH₂ 31.6% といずれも心筋由来のアイソザイム分画が非常な高値を示した。しかし、各アイソザイムパターンと血清ミオグロビン値の高値の程度とはよくに相関はみられなかった。CPK アイソザイムも測定したのは症例 4 のみであるが、MM 90.6%, MB 7.2% と MB 分画の有意な高値がみ

られた。

最後に慢性腎不全患者 11 例のミオグロビン値を健常者と比べて示したのが Fig. 5 である。どの症例でも高値を示したが、とくに腎不全の程度や血中クレアチニン値、尿素窒素値との相関はみられなかった。

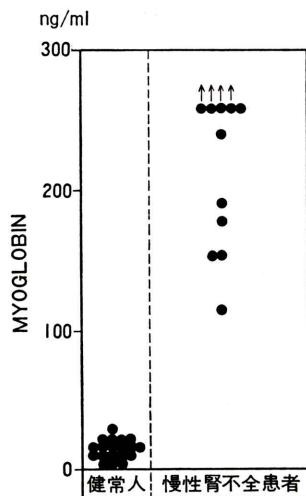


Fig. 5 健常人および慢性腎不全患者の Myoglobin 値

IV. 考 案

ミオグロビンは心筋と骨格筋のみに存在する特殊なヘム蛋白であるので、これを測定することは急性心筋梗塞症の心筋障害の程度を推定するのに有用な検査法になると考えられる。ミオグロビンは今までいろいろな方法で測定が試みられてきた。Strausser ら³は沈降反応を用いて急性心筋梗塞患者でミオグロビン尿を証明している。しかし、健常人や肝疾患や癌の患者でも同じようなミオグロビン尿が証明される点より、このデータの解釈は困難であった。Adams と Elliot⁴ は赤血球凝集阻止反応で検索し、急性心筋梗塞患者44例の中35例で尿中ミオグロビンを証明している。Levine⁵ らも同様な方法で急性心筋梗塞患者37例中34例でミオグロビン尿を証明している。

しかし、今回入手したミオグロビン RIA kit は、血中ミオグロビン値を測定するものであり、より鋭敏に心筋障害を反映していると想定されるので、まず、このキットの基礎的検討を行なった。その結果このキットは精度、感度でもすぐれたキットであることがわかったので、ついで健常者20人について正常値を求めたところ、大部分が測定最小感度以下のものが多く、最も高いものでも 74 ng/ml であった。

つぎに急性心筋梗塞患者 4 例について、経日的に血中ミオグロビン値の経過を追ったところ、発作 1 日目で発作後推定 2~6 時間で健常者レベルの 10 倍程度の急激な高値を示した。この中の 2 例はたまたま他の疾患で入院中の患者で、急性心筋梗塞発作をおこしたものであるが、この発作前の血清を入手し、血清ミオグロビン値を測定した貴重な症例である。いずれも発作前のミオグロビンレベルに比べ、発作後 10 倍以上の高値を示している。ミオグロビンと同時測定した酵素で GOT, LDH, HBD に関してはいずれもミオグロビン値より数時間遅れて高値を示し、少なくとも発作日にはまだ高値はみられなかった。CPK はミオグロビンに一致して早期に高値を示していたが、GOT, LDH, HBD と同じく高値の持続が長く続

いた。したがってミオグロビンは発作日に急上昇して高値を示し、また、その下降もすみやかである点、血清酵素に比べ特異性が高いことがわかる。ミオグロビン高値時の LDH, CPK アイソザイムパターンはいずれも心筋梗塞に特有なパターンであったが、とくにミオグロビン値との相関はみられなかった。しかし、アイソザイムパターンとミオグロビン値との両者の関係を明らかにした点有意義と思われる。

以上、この 4 例の症例の分析の結果いえることは、

- 1) 少なくとも心筋梗塞発作開始 2 時間~6 時間以内でミオグロビン値は高値を示していく。
- 2) また、この高値はわれわれの得た健常人の正常範囲の上限に比べて 10 倍以上と増加率がきわめて高く、測定値の信頼度が高い。
- 3) CPK を除いて他の血清酵素である GOT, LDH, HBD と比べて早期に高値を示している。すなわち、心筋梗塞症の “early indicator”（早期診断検査）となりうる。
- 4) CPK を含めた他の酵素に比べ、そのピークよりの下降が早く、きわめて特異的に心筋障害を反映している。

以上の 4 点に要約されよう。ヒトはその心筋梗塞発作時間を正確に決めるることは困難であるが、動物実験で犬の冠動脈を閉塞すると、2 時間以内に血中ミオグロビン値の上昇がみられ、6 時間までに最大のピークになるという報告⁴ がされている。以上より、血中ミオグロビン測定は急性心筋梗塞症の “early indicator” として非常に重要な検査法の位置を占めるようになるのは、すぐ近い将来と考えられよう。なお、腎不全患者ではミオグロビン値が高値を示すこともわかり、このことはミオグロビンの代謝に関しても貴重な示唆を与えるものであろう。

V. 結 語

急性心筋梗塞症の新しい診断法として、血清ミオグロビン測定キットについて基礎的ならびに臨床的検討を行なった結果、以下のことを明らかに

した。

- 1) 精度、感度ともすぐれたキットである。
- 2) 急性心筋梗塞発作2時間～6時間で非常に高値となることより，“early indicator”としてすぐれている。
- 3) 急性心筋梗塞発作時のミオグロビン値の高値は、われわれが得た健常者の上限に比べても明らかに高く(約10倍)，測定値の信頼度が高い。また、発作後のミオグロビン値の低下も血清酵素に比べてすみやかであり、特異性が高い。
- 4) 血清酵素アイソザイムパターンとミオグロビン値との相関はとくにみられなかった。

文 献

- 1) Saranchak HJ, Bernstein SM: A new diagnostic test for acute myocardial infarction, the detection of myoglobin by radioimmunoassay. *JAMA* **228**: 1251-1255, 1974
- 2) Stone MJ, Waterman MR, Willson NR, et al: Radioimmunoassay of serum myoglobin in the diagnosis of acute myocardial infarction in patients. *Circulation* **54**: (suppl. II) 29, 1976
- 3) Strausser HR, Rothfeld EL, Bucsi RA: Isolation and preservation of human myoglobin for use in immunologic detection of myoglobinemia. *Proc Soc Exp Biol Med* **122**: 621-624, 1966
- 4) Adams EC Jr, Elliot TA: Urinary myoglobin in myocardial infarction. *JAMA* **211**: 1013-1014, 1970
- 5) Levine RS, Alterman M, Gubner RS, et al: Myoglobinuria in myocardial infarction. *Am J Med Sci* **262**: 179-183, 1971