

《ノート》

血中胆汁酸測定キット Cholic acid RIA Kit (栄研) の 基礎的および臨床的検討

Fundamental and Clinical Evaluation of Cholic Acid Radioimmunoassay Kit "Eiken"

野口 正人* 中島 言子* 福田 善弘** 安達 秀樹*
吉井 正雄* 光野 重根* 中野 博** 本田 豊彦***
川口 義夫*** 鳥塚 莞爾*

Masato NOGUCHI*, Kotoko NAKAJIMA*, Yoshihiro FUKUDA**, Hideki
ADACHI*, Masao YOSHII*, Shigene KOHNO*, Hiroshi NAKANO**
Toyohiko HONDA***, Yoshio KAWAGUCHI*** and Kanji TORIZUKA*

* Department of Radiology and Nuclear Medicine ** Department of the Second Division
of Internal Medicine, Kyoto University School of Medicine, *** Department
of the First Division of Internal Medicine, Osaka Teishin Hospital

I. はじめに

胆汁酸は肝細胞において特異的に生成される異化代謝産物であり、胆道を経て閉鎖的腸肝循環をしているため、その生合成・代謝は肝の機能や病態を反映することが知られている¹⁾。しかし末梢血中の濃度は微量であり、その簡便な測定は困難であった。胆汁酸の測定法には各種クロマトグラフィ法、酵素法、Radioimmunoassay (RIA) 法などがあり、それぞれ利点・欠点を有しているが、近年臨床的なルーチン検査には測定の簡便さのため RIA 法・酵素法が用いられている^{2,3)}。

胆汁酸の RIA は 1973 年 Simmonds ら⁴⁾ が glycocholic acid の測定系を開発して以来、現在ま

で各種胆汁酸の RIA が報告されている⁵⁻⁸⁾。また、RIA キットの臨床的応用も近年検討されるようになり、著者らも「CG RIA kit」, 「SLCG RIA kit」について検討しすでに報告した⁹⁾が、今回栄研 I.C.L. の cholic acid RIA kit を使用する機会を得てその基礎的および臨床的検討を行ったので、その成績を報告する。

II. 方法および対象

本キットの特徴は、①血中からコール酸を抽出する操作が不要であり、少量の血清(10 μ l)でコール酸の測定が可能であること、②結合型トレーサー(B)、非結合型トレーサー(F)の分離に二抗体法を用いることである。

血清コール酸測定の方法はキットに添付された使用説明書に従ったが、その概略を Fig. 1 に示した。すなわち

- 1) 標準グリココール酸溶液または被検血清 10

Key words: Radioimmunoassay, Cholic Acid, Liver disease, UDCA tolerance test.

* 京都大学医学部放射線核医学科

** 同 第二内科

*** 大阪通信病院第一内科

受付: 57年1月29日

最終稿受付: 57年6月30日

別刷請求先: 京都市左京区聖護院川原町54 (☎ 606)

京都大学医学部附属病院核医学科

野口 正 人

μl , グリココール酸抗血清 $200 \mu\text{l}$, ^{125}I 標識コール酸 $200 \mu\text{l}$ を試験管に入れて攪拌混和する。

2) 室温で約20時間 (16~20時間) incubation を行う。

3) 第二抗体溶液 $100 \mu\text{l}$ を試験管に添加して攪拌混和する。

4) 室温でさらに30分間 incubation を行う。

5) 3000 rpm , 30分間冷却遠心分離し, 上清(F) を吸引除去する。

6) 沈澱(B)の放射活性をオートガンマカウンターで測定し, 標準検量曲線から検体の測定値を読み取る。

被検血清の測定はすべて duplicate で行い, 血清は測定まで -20°C に保存した。

また一定の検体について, 本キットによる血清コール酸値をダイナボット社の「CG RIA Kit」による測定値と比較検討した。

対象は健常人76名(男38名, 女38名; 年齢14~89歳), 肝生検または剖検にて確定診断された急性肝炎17名, 慢性肝炎62名, 肝硬変症34名, 原発性胆汁性肝硬変症(PBC)10名, 肝癌17名, 6か月以上の臨床経過観察で診断されたHB抗原キャリアー11名, それに手術などにて診断された胆石

症10名, 胆のう癌12名, 膵癌17名, そして溶血性貧血6名, 鉄欠乏性貧血21名, 腎不全(人工透析患者)17名の計310名である。

胆汁酸負荷試験はウルソデオキシコール酸 500 mg (東京田辺製薬) を早期空腹時に水 150 ml で飲用させ, 座位で経時的に採血して行われた。負荷試験の対象は, 健常男性8名, 大酒家2名, 肝生検で確診された急性肝炎遷延型, 慢性肝炎, 肝硬変症各1名である。なお大酒家はアルコール量約 30 g/日 , 25 日/月 , 7年以上の飲酒歴を有し, 肝炎の既応はなかった。また1名は過去に r-GTP の軽度高値を指摘されたことがあるが, 負荷試験時大酒家2名の肝機能血清生化学, ICG検査はすべて正常であった。

なお本文中の数値は特記した以外, 平均値±標準偏差で示した。推計学的検討はFおよびt検定で行った。

III. 結 果

1. 基礎的検討

a) 標準曲線

8回の検討で各標準コール酸の測定値($0.25 \sim 16 \text{ n mol/ml}$)のB/Tは変動係数が $2.1 \sim 7.3\%$ であり, コール酸キットの標準曲線は非常に安定していた(Fig. 2)。本測定系の最小測定感度は 0.25 n mol/ml であった。

b) Incubation time

まず first incubation を20時間とし, second incubation の時間について検討した。incubation 時間を10, 20, 30, 45, 60分とした場合, 時間が長くなるに従い沈澱の放射活性(B/T)はわずかに増加した。しかし20分以上のsecond incubation で各標準コール酸測定値(B/T)の変動係数は $0 \sim 4.8\%$ であり, 3種類の血清の測定値はおおのこの標準曲線で同一であった。Fig. 3にsecond incubation 時間を10, 30, 60分とした場合のおおのこの標準曲線を示した。

次に, Second incubation を30分とし, first incubation の時間について検討した。incubation 時間を5, 15, 20, 25, 48時間とすると, 時間が長

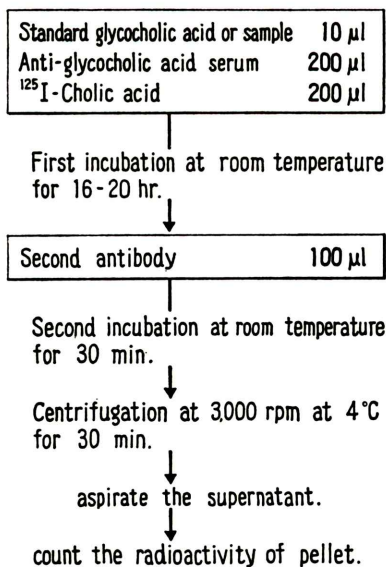


Fig. 1 Radioimmunoassay procedure of cholic acid.

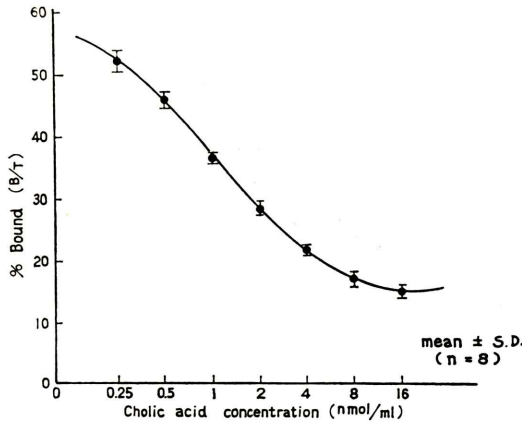


Fig. 2 Standard curve.

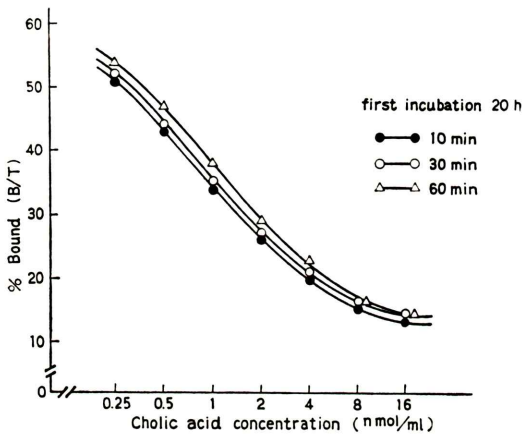


Fig. 3 Effect of second incubation time on standard curve. First incubation was performed for 20 hours.

くなるに従い沈殿の放射活性 (B/T) はわずかに減少した。また、おのおのの標準曲線は、5 時間で傾きが緩徐であり抗原抗体反応が平衡に達していないことを示し、15、20、25 時間でほぼ一致し、first incubation は約 20 時間 (15~25 時間) がよいと思われた。

c) Incubation の温度

incubation 温度を 15、20、30°C とした場合、各標準コール酸の測定値 (B/T) は温度が高くなると減少した。特に 30°C では低濃度域の B/T が低くなる傾向がみられた。しかし、おのおのの標準曲

Table 1 Reproducibility; Intra-assay

Sample	1	2	3	4
1	0.95	1.9	5.0	13
2	0.96	2.0	4.8	12
3	0.96	1.7	5.0	10
4	0.96	1.7	5.3	11
5	1.0	1.8	5.0	9
6	1.03	1.8	5.2	11
7	1.0	1.7	5.5	10
8	0.96	1.7	5.2	12
9	1.0	2.2	5.1	11
10	1.0	1.8	5.0	12
Mean (n mol/ml)	0.98	1.8	5.1	11.1
S.D.	0.03	0.16	0.20	1.2
C.V. (%)	3.0	8.7	3.9	10.8

Table 2 Reproducibility; Inter-assay

Sample	1	2	3	4
1	2	3	5.5	11.0
2	1.7	2.8	5.4	11.4
3	1.7	2.7	4.8	11.0
4	2.1	2.8	5.5	9.8
5	1.7	2.7	5.0	11.0
6	2.1	2.4	5.9	10.0
7	2.0	2.8	6.6	12.0
8	1.7	3.4	6.0	12.6
9	2.0	2.8	5.0	12.0
10	1.9	2.5	5.0	10.0
Mean (n mol/ml)	1.9	2.8	5.5	11.1
S.D.	0.17	0.27	0.56	0.95
C.V. (%)	8.9	9.6	10.1	8.5

線で読み取った 3 種類の血清コール酸値は 15、20、30°C で、おのおの 1.4、1.4、1.5; 1.8、1.8、1.8; 0.6、0.66、0.68 とほぼ一定の値を示した。

d) 再現性

4 種類の血清試料を用いて 10 回行った intra-assay の変動係数は 3.0~10.8% で、高濃度血清の変動係数が大きかった (Table 1)。また 4 種類の血清試料を用いて 10 回行った inter-assay の変動係数は 8.5~10.1% であった (Table 2)。

e) 希釈試験

4 種類のコール酸高値血清を 32 倍まで希釈して検討した。希釈曲線はすべてほぼ直線性を示し標準曲線に平行した (Fig. 4)。

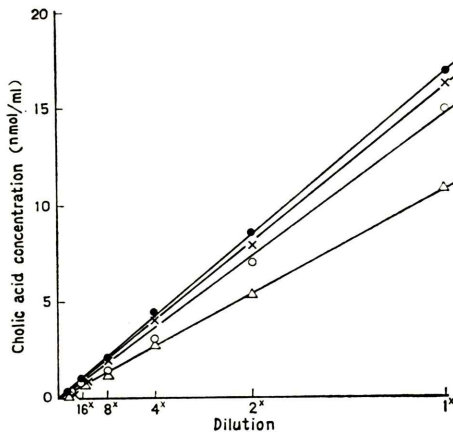


Fig. 4 Dilution curve.

Table 3 Recovery test.

Figures in parentheses indicate the percentages of a measured value to an expected value.

Added cholic acid (n mol/ml)	Sample				Recovery mean \pm S.D. (%)
	A	B	C	D	
0	1.1 (100)	1.3 (100)	3.5 (100)	6 (100)	
1	2.2 (105)	2.4 (104)	4.5 (100)	6.2 (89)	99.5 \pm 7.3
2	3.3 (106)	3.3 (100)	6.2 (113)	8.2 (103)	105.5 \pm 5.6
4	5.1 (100)	5.5 (104)	8.5 (113)	10 (100)	104.3 \pm 6.1
8	9.0 (99)	9.2 (99)	13.5 (117)	13.5 (96)	102.8 \pm 9.6
					103 \pm 2.6

f) 回収試験

4種類の血清に標準グリココール酸を1, 2, 4, 8 n mol/ml 量添加して行った回収試験の成績をTable 3に示した。各濃度グリココール酸の回収率は99.5~105.5%で、平均103.0 \pm 2.6%であった。

g) CG RIA Kitによる測定値との相関

Cholic Acid RIA Kit (栄研), CG RIA Kit (ダイナボット)で測定し得た同一肝疾患患者血清(n=136)のおおのの測定値をFig. 5に示した。両者の相関係数は $r=0.94$ ($y=52.3x+29.2$)で正の相関がみられた。しかしFig. 5には示さなかったが、コール酸高値を示す血清には両者の測定値が

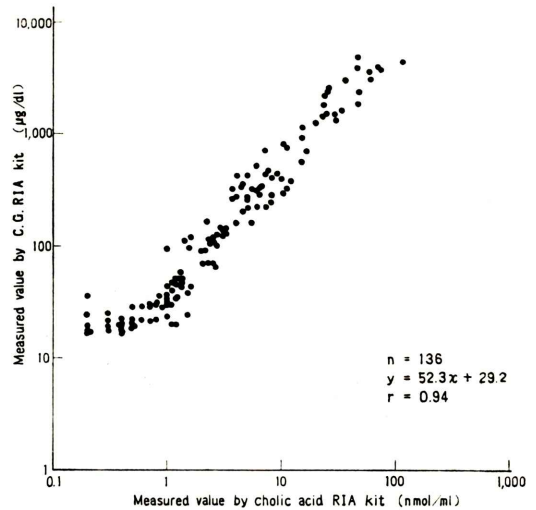


Fig. 5 Correlation between measured values by cholic acid RIA kit and measured values by CG RIA kit.

解離するものがあった(n=4)。それらの両キットによる測定値はおおのの23, 1430; 15, 1122; 180, 2405; 82, 385 (cholic acid RIA: n mol/ml, CG RIA: μ g/dl)であった。

2. 臨床的検討

a) 健康人の空腹時コール酸値および食事負荷後の変動

健康人76名(男38名・女38名)の空腹時コール酸値は 0.44 ± 0.20 n mol/mlであった。男にやや高い傾向がみられたが、男女間に有意差はなかった(Fig. 6)。また、年齢差もなかった。

健康人3名に一定の試験食(ハム・タマゴのサンドイッチおよび牛乳)を摂取させ食後の血清コール酸値の変動を検討した。コール酸値は食後速やかに上昇し、食後15分で最大となったが時間とともに減少した。食後のコール酸値を空腹時値に対する%であらわすと、食後15, 30, 60, 120分の値はおおのの307 \pm 167, 246 \pm 119, 156 \pm 58, 142 \pm 61%であった(Fig. 7)。

b) 肝,胆のう,膵疾患の空腹時血清コール酸値

Fig. 6に肝,胆のう,膵疾患のコール酸値を示した。健康人と各種疾患群のコール酸値を比較すると、各疾患群のコール酸値は有意に高値であっ

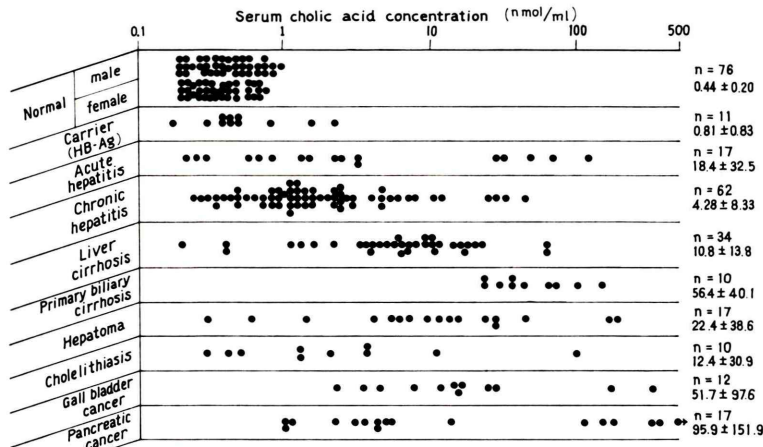


Fig. 6 Serum cholic acid concentrations in normal subjects and patients with various hepato-biliary diseases.

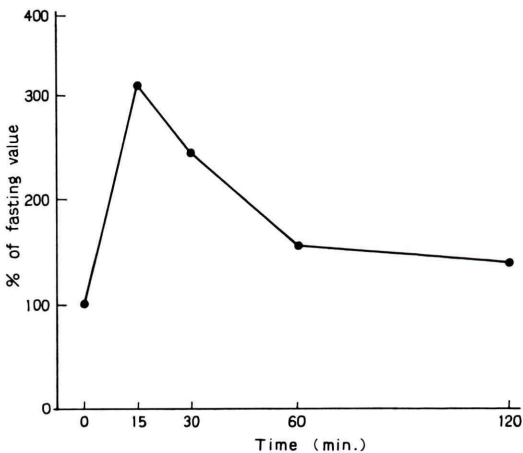


Fig. 7 Elevation of serum cholic acid concentration after test meal in normal subjects. Figure indicates mean values of 3 male subjects.

た ($p < 0.01$). 各種肝疾患の中で、HB 抗原キャリアーを除くと、慢性肝炎のコール酸値は 4.3 ± 8.3 n mol/ml と最も低値であった。急性肝炎、肝硬変症、PBC、肝癌のコール酸値は慢性肝炎と比較しても有意に高値であった ($p < 0.01$)。PBC は肝疾患の中で、著明な高値を示した ($p < 0.05$)。その値は 56.4 ± 40.1 n mol/ml であった。

また健常人のコール酸値から正常範囲を平均値 ± 2 SD とすると、その値は $0.04 \sim 0.84$ n mol/ml

となる。しかし Fig. 6 の健常人におけるコール酸値の分布から、正常コール酸値は 1 n mol/ml 以下とするのが妥当と考えられた。各種疾患のコール酸高値 (> 1 n mol/ml) の割合は HB 抗原キャリアー 18% (2名)、急性肝炎 65% (11名)、慢性肝炎 66% (41名)、肝硬変症 82% (28名)、PBC 100% (10名)、肝癌 88% (15名)、胆石症 70% (7名)、胆のう癌 100% (12名)、膵癌 88% (15名) であった。

各種肝疾患の鑑別のために、コール酸値が高値を示す症例についてさらに検討すると、 3 n mol/ml 以上のコール酸値を示す割合は HB 抗原キャリアー 0%、急性肝炎 41.2%、慢性肝炎 27.4%、肝硬変症 79.4%、PBC 100%、肝癌 82.4% であり、 20 n mol/ml 以上のコール酸値を示す割合は、急性肝炎 29.4%、慢性肝炎 6.5%、肝硬変症 8.8%、PBC 100%、肝癌 35.3% であった。

胆石症、胆のう癌、膵癌のコール酸値は Fig. 6 に示した如く、各疾患とも高値であったが、それらの標準偏差は大きくまた胆のう癌、膵癌の 75%、65% が黄疸血清であった。

c) 貧血、腎不全の空腹時血清コール酸値

Fig. 8 にこれら疾患のコール酸値を示した。溶血性貧血のコール酸値は 8.53 ± 14.2 n mol/ml で 50% が高値を示した。鉄欠乏性貧血では高値を示

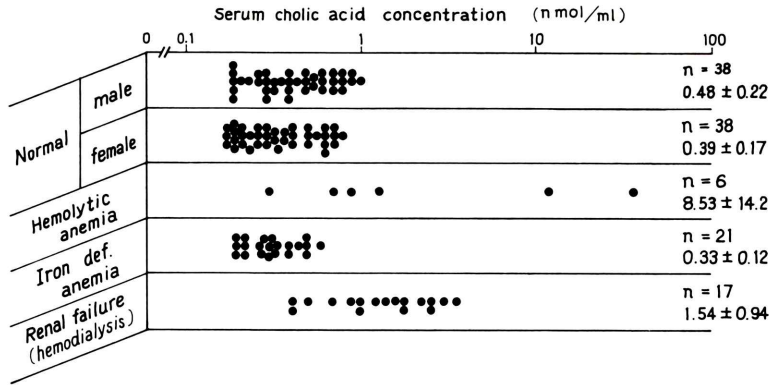


Fig. 8 Serum cholic acid concentrations in normal subjects, patients with anemia and renal failure.

す例はなかった。腎不全(人工透析患者)のコール酸値は 1.54 ± 0.94 n mol/ml で、59% が軽度高値であった。

d) 肝疾患症例の臨床経過と血清コール酸値の変動 (Fig. 9)

症例1は輸血後の慢性肝炎で、コール酸値は臨床経過中 GPT, GOT と平行して変動した。その変動は GPT, GOT, 血清ビリルビン値の変動に先行した。

症例2は細胆管癌で、コール酸値は GPT, GOT と無関係に増減し血清ビリルビン値の上昇に平行して変動した。しかしコール酸の異常値は血清ビリルビン値の異常が出現する2週間前から認められた。

他に輸血後急性肝炎1例と慢性肝炎2例の3例について4~7週間コール酸値を経過観察し得たが、コール酸値は急性および慢性肝炎各1例で GPT, GOT と平行して変動した。しかし他の慢性肝炎1例のコール酸値は GPT, GOT と平行しなかった。

e) 外因性胆汁酸負荷試験について (Fig. 10)

ウルソデオキシコール酸 500mg を経口的に負荷した場合、健常人8名のコール酸値は負荷前、負荷後15, 30, 60, 90, 120分でおのおの 0.53 ± 0.30 , 0.46 ± 0.17 , 0.44 ± 0.19 , 0.50 ± 0.31 , 0.46 ± 0.24 , 0.44 ± 0.22 n mol/ml であった。負荷前値に比し負

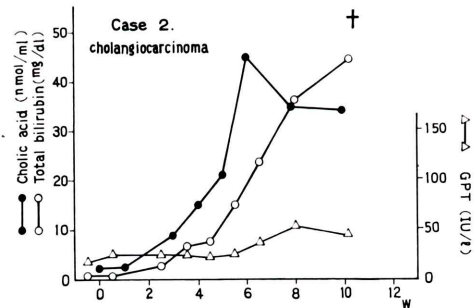
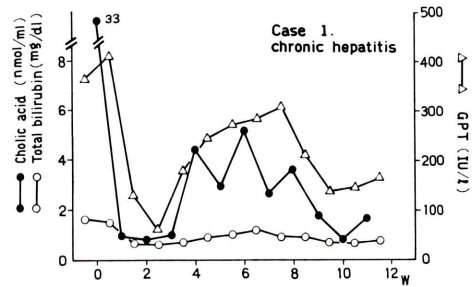


Fig. 9 Clinical course of serum cholic acid, GPT and total bilirubin in patients with chronic hepatitis and cholangiocarcinoma. W and + indicate weeks and the death, respectively.

荷後のコール酸値は上昇しなかった。一方、急性肝炎遷延型、慢性肝炎、肝硬変症各1例では、全例で前値(おのおの 1.1, 0.36, 9 n mol/ml) に比し負荷後30~60分でコール酸値が上昇した。その%増加はおのおの 100, 372, 70% であった。大酒家2

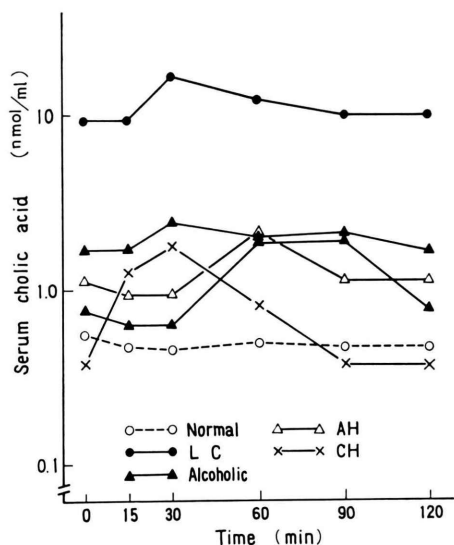


Fig. 10 Sequential change of serum cholic acid after UDCA 500 mg oral administration in normal subjects, alcoholics, patients with acute hepatitis, chronic hepatitis and liver cirrhosis. The value of normal subjects is a mean in 8 male subjects. Others are the measured values in each case.

例でも肝疾患同様、負荷後30~60分のコール酸値は前値(おのおの0.7, 1.6 nmol/ml)に比して上昇し、その%増加は186, 50%であった。

IV. 考 案

Cholic Acid RIA Kit (栄研) は安定した標準曲線を示し、希釈試験、回収試験も良好な結果であった。再現性についてもほぼ満足すべき結果がえられたが、inter-assayの変動係数は全体に高値であり、またintra-assayでコール酸高値血清の変動係数は10%を越える値であった。これらは本キットの唯一の難点と考えられ、その原因は検体量が10 μ lと少量であるためと思われた。したがって検体のサンプリングは慎重に行う必要がある。またコール酸高値血清(>10 nmol/ml)は希釈再検することにより正確な値がえられると考えられた。Incubationの時間、温度はfirst incubationが15~25時間、second incubationが20~60分、温度が15~30°Cで一定の測定結果がえられるので、本

キット説明書のincubationの時間、温度は適当と考えられた。

以上のことから、本キットは末梢血中に微量に存在するコール酸を測定する系として信頼し得るものと考えられた。

また本キットの測定値とCG RIA kitの測定値を比較すると、両者の間には良好な正相関がみられ、測定値の絶対値もほぼ同じであった。しかしコール酸値が高値である少数の例では両者の値が解離した。これは本測定系がグリココール酸との交叉性を100%とするとタロココール酸、グリコデオキシコール酸、コール酸とおのおの29.6, 8.5, 2.9%の相対的交叉性を持ち(栄研I.C.L.未発表成績)、CG RIA kitの各種胆汁酸との相対的交叉性²¹⁾と若干異なるために生じる現象と推察された。

近年各種胆汁酸の測定が種々の方法で行われ、肝胆道疾患および小腸疾患における胆汁酸構成成分の動態分析が明らかになりつつある^{10,11)}が、著者らは簡便なRIAによる血清コール酸値の測定がルーチン検査として臨床的に有用なスクリーニング法か否かを検討した。その結果、急性肝炎、慢性肝炎、肝硬変症、PBC、肝癌はいずれも健常群に比し有意に高いコール酸値を示し、また1 nmol/ml以下を正常範囲とした場合これら疾患患者の75%が高値であった。この成績は平山ら¹²⁾の肝疾患における総胆汁酸測定の成績と同様の異常値発現頻度であった。また肝硬変症、PBC、肝癌は3 nmol/ml以上の高値を示すものが多く(84%; 51名)、なかでもPBCは全例20 nmol/ml以上であった。したがってコール酸値の測定は肝疾患に対する有用なスクリーニング検査と考えられた。

また臨床的に慢性肝炎と肝硬変症の鑑別は重要な課題とされている。今回の著者らの検討では、慢性肝炎のコール酸値は肝硬変症に比し有意に低値であり、3 nmol/mlを境に両群の分布の差がみられた。CG RIA kitでコール酸値を測定した場合、非活動型慢性肝炎と肝硬変症は100 μ g/dlを境に分布を異にすることを著者らは報告した⁹⁾が、その境界値と本測定系の境界値(3 nmol/ml)は近

似した。したがってコール酸値の測定はスクリーニング的に慢性肝炎、とくに非活動型慢性肝炎と肝硬変症の鑑別に有用であると考えられた。しかし、 3 n mol/ml を境に両群で約 20~30% のオーバーラップがみられ (Fig. 6), この傾向は酵素法を用いてコール酸値を測定した田中ら¹³⁾の報告とほぼ一致している。また肝疾患の鑑別には血清胆汁酸を 1 回測定するだけでは不十分とされている^{11,13)}ので、何回か反復してコール酸値を測定すればその鑑別はより正確になると思われる。

肝疾患の臨床経過中の総胆汁酸、コール酸値に関して、急性および慢性肝炎でトランスアミラーゼとほぼ平行して変動することが報告されており^{9,12,14)}、また慢性肝炎では再燃時にトランスアミラーゼに先行してコール酸値が上昇するという報告¹⁵⁾もある。著者らの検討した症例 1 の慢性肝炎はその臨床経過中トランスアミラーゼに先行する形で平行に変動した。一方症例 2 の細胆管癌ではコール酸値がトランスアミラーゼと平行せず血清ビリルビンに先行して上昇した。この現象はコール酸の大循環へのシャントに起因すると考えられた。従来コール酸値は肝機能検査のなかで血清ビリルビン値と比較的よく相関するといわれている^{10~12,14)}が、症例 1, 2 の検討からコール酸値は血清ビリルビンより鋭敏な肝機能指標と考えられ、これは Simmonds ら⁴⁾の報告を支持する結果といえよう。

胆石症、胆のう癌、膵癌でもコール酸値が高値であったが、これら血清は黄疸血清が多く肝外性胆汁うっ滞を反映したものと考えられた。すなわち、従来からいわれている¹¹⁾ように肝内性と肝外性胆汁うっ滞の鑑別にはコール酸値の測定は有効でなかった。

先に血清コール酸値の 1 回測定が肝疾患のスクリーニングに有用であることを述べたが、肝疾患の診断または鑑別診断のために、古くは食事負荷試験^{16,17)}、近年では内因性または外因性胆汁酸負荷試験^{18~20)}を行い負荷後の胆汁酸を測定する試みがなされている。これらは主に潜在性肝硬変症の発見や肝実質障害をより明確にしようとする検

討であるが、その方法は一定していない。著者らは可及的に簡便であることと本キットの各種胆汁酸の交叉性を考慮してウルソデオキシコール酸 500 mg の大量経口負荷を選択した。本法によると健常人 8 名のコール酸値は負荷後 120 分まで上昇しなかった。急性肝炎遷延型、慢性肝炎、肝硬変では全例とも負荷後 30~60 分でコール酸値が上昇し、また大酒家 2 名も同様の結果であった。大酒家 2 名は肝炎の既往がなく、ICG を含めた肝機能検査はすべて正常であった。これらの結果は本法が通常の肝機能検査では検出しないアルコールによる肝機能の低下を検出する可能性を示唆していると考えられた。今後、症例を重ねて検討したい。

ところで各種疾患におけるコール酸値の検討から、溶血性貧血の 50% (3 名)、人工透析を受けている腎不全の 59% (10 名) においてコール酸値が軽度高値を示すことが明らかとなった。その原因は詳細不明であるが、溶血性貧血では間接ビリルビンの高値が肝のコール酸代謝に影響していることが推察され、また腎不全では正常の硫酸抱合型胆汁酸の尿中排泄¹⁾がなくなり、コール酸値が高値となる可能性が考えられる。従って、コール酸値が軽度高値で肝疾患を疑う場合、溶血性貧血、腎不全の存在に留意する必要があると思われた。

V. 結 論

Cholic Acid RIA kit の基礎的検討を行い、肝胆道疾患を中心に血清コール酸値を測定してその臨床的有用性を検討した。

1) 本キットは RIA の必要条件をほぼ満足する安定した測定法である。

2) 健常人の空腹時コール酸値は $0.44 \pm 0.20 \text{ n mol/ml}$ で、正常域は 1 n mol/ml 以下と考えられた。コール酸値は食後上昇するので採血時に注意を要する。

3) 各種肝疾患 130 名の空腹時コール酸値はその 75% が 1 n mol/ml を越える高値であった。慢性肝炎と肝硬変症では肝硬変症のコール酸値は有意に高く、 3 n mol/ml を境に両群の分布の差がみられた。

4) 肝疾患の臨床経過でコール酸値の異常は血清ビリルビンの異常変動に先行した。また肝炎でトランスアミラーゼと平行する例が多く、コール酸値は鋭敏な肝機能指標と考えられた。

5) ウルソデオキシコール酸 500 mg 経口負荷試験で本キットにより測定された負荷後のコール酸値の上昇は潜在性肝機能低下を発見しうる可能性が示唆された。

6) 以上のことから、本キットによる血清コール酸値の測定は肝胆道疾患のスクリーニングおよび臨床経過をみる方法として有用であると考えられた。

7) 肝胆道疾患以外に溶血性貧血、腎不全で、空腹時コール酸道が軽度高値であった。

最後に、本検討のために Cholic Acid RIA Kit を提供して頂いた栄研 I.C.L. に深謝致します。

文 献

- 1) 牧野 勲, 中川昌一: 胆汁酸の抱合・排泄. 代謝 **10**: 1080-1089, 1973
- 2) Mashige F, Imai K, Osuga T: A simple and sensitive assay of total serum bile acids. Clin Chim Acta **70**: 79-86, 1976
- 3) 平山千里, 山西康仁, 涌島 正: 胆汁酸分析および負荷試験; 現代臨床機能検査. 日本臨床 **37**: 2393-2395, 1979
- 4) Simmonds WJ, Korman MG, Go VLW, et al: Radioimmunoassay of conjugated choly bile acids in serum, Gastroenterol **65**: 705-711, 1973
- 5) Demers LM, Hepner G: Radioimmunoassay of bile acids in serum. Clin Chem **22**: 602-606, 1976
- 6) Murphy GM, Edkins SM, Williams JW, et al: The preparation and properties of an antiserum for the radioimmunoassay of serum conjugated cholic acid. Clin Chim Acta **54**: 81-89, 1974
- 7) 山路 徹, 石橋みゆき, 牧野 勲, 他: リトコール酸の Radioimmunoassay に関する基礎的検討. 肝臓 **18**: 129, 1977
- 8) Makino I, Tashiro A, Hashimoto H, et al: Radioimmunoassay of ursodeoxycholic acid in serum. J Lip Res **19**: 443-447, 1978
- 9) 安達秀樹, 中島言子, 福田善弘, 他: 血中胆汁酸測定キット「CG RIA KIT」「SLCG RIA KIT」の基礎的および臨床的検討. ホルモンと臨床 **27**: 1185-1190, 1979
- 10) Makino I, Nakagawa S, Mashimo K: Conjugated and unconjugated serum bile acid levels in patients with hepatobiliary diseases, Gastroenterol **56**: 1033-1039, 1969
- 11) 牧野 勲, 中川昌一: 胆汁酸と肝疾患, 胆汁酸とコレステロール胆石症, 胆汁酸. 中外医学社, 東京: pp 78-120, 1980
- 12) Hirayama C, Irisa T, Arimura K, et al: Diagnostic significance of fasting serum bile acid in liver disease. Acta Hepato-Gastroenterol **23**: 385-391, 1976
- 13) 田中直見: 胆汁酸測定と肝疾患について. 消化器病学最近のトピックス, 第66回日消病会ワークショップ刊行委編, 東洋書店, 東京: pp. 123-125, 1981
- 14) Osuga T, Mitamura K, Mashige F, et al: Evaluation of fluorimetrically estimated serum bile acid in liver disease. Clin Chim Acta **75**: 81-90, 1977
- 15) Korman MG, Hofmann AF, Summerskill WHJ: Assessment of activity in chronic active liver disease. New Engl J Med **290**: 1399-1402, 1974
- 16) Kaplowitz N, Kok E, Javitt NB: Postprandial serum bile acid for the detection of hepatobiliary disease. JAMA **225**: 292-293, 1973
- 17) LaRusso NF, Korman MG, Hofmann NE, et al: Dynamics of the enterohepatic circulation of bile acids. New Engl J Med **291**: 689-692, 1974
- 18) 中野 哲, 井本正己, 北村公男, 他: RIA 法による内因性胆汁酸負荷試験の臨床的意義. 臨床成人病 **9**: 1439-1446, 1979
- 19) 田中直見, 鳥居正男, 木村 洗, 他: 慢性肝疾患における経口的胆汁酸負荷試験の臨床的意義. 肝臓 **19**: 1184, 1978
- 20) 田城明子: 肝疾患における ursodeoxycholic acid: 経口負荷試験の臨床的意義. 肝臓 **20**: 369-375, 1979
- 21) Roda A, Roda E, Aldini R, et al: Results with six "kit" radioimmunoassays for primary bile acids in human serum intercompared. Clin Chem **26**: 1677-1682, 1980