

心筋梗塞急性期の再疎通判定におけるミオグロビン測定の有用性：ラテックス凝集法によるミオグロビン半定量法と定量法

Non-invasive evaluation of coronary reperfusion using myoglobin: Significance of quantitative and semi-quantitative latex agglutination methods

安部 智	Satoshi ABE
有馬 新一	Shinichi ARIMA
山口 浩士	Hiroshi YAMAGUCHI
厚地 良彦	Yoshihiko ATSUCHI
田原 稔	Minoru TAHARA
中尾正一郎	Shoichiro NAKAO
田中 弘允	Hiromitsu TANAKA
丸山 征郎*	Ikuro MARUYAMA*
野元 域弘**	Kunihiro NOMOTO**
上野 真***	Makoto UENO***

Summary

We assessed the usefulness of myoglobin measured by latex agglutination methods as a parameter for successful reperfusion of the infarct-related artery. Plasma myoglobin levels were measured for 25 patients with acute myocardial infarction in whom thrombolysis and/or percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) were performed within 8 hours after the onset of symptoms. Blood samples were obtained before and 56 ± 26 min (mean \pm SD) after commencing treatment. Plasma myoglobin levels were measured by quantitative and semi-quantitative latex agglutination methods, which required a procedure time of about 10 min.

Coronary reperfusion was achieved by thrombolysis or PTCA in 22 cases (Group 1) but was not achieved by thrombolysis in 7 cases (Group 2). Before treatment (4.2 ± 1.2 hours after the onset of symptoms), plasma myoglobin levels measured quantitatively and semi-quantitatively were $434 \pm$

鹿児島大学医学部 第一内科

*同 第三内科

鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1 (〒890)

**国立南九州中央病院 循環器科

***同 研究検査科

The First and *the Third Departments of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Sakuragaoka 8-35-1, Kagoshima 890

Department of Cardiology and *Laboratory, Minami Kyushu Chuo National Hospital

Received for publication April 20, 1990; November 5, 1990 (Ref. No. 37-PS147)

330 ng/ml and 4.6 ± 4.2 fold, respectively. After treatment, the increased rate of myoglobin was significantly higher in Group 1 (8.4 ± 7.5 and 9.2 ± 7.1) than in Group 2 (1.8 ± 0.5 and 1.7 ± 0.5). Plasma myoglobin levels measured by quantitative and semi-quantitative latex agglutination methods showed a close correlation ($r=0.91$, $p<0.01$).

In conclusion, measurement of plasma myoglobin levels by latex agglutination methods is a rapid and reliable way to confirm successful coronary reperfusion.

Key words

Myoglobin Reperfusion Acute myocardial infarction Latex agglutination method

はじめに

最近、心筋梗塞急性期に線溶療法 (thrombolysis) や経皮的冠動脈形成術 (PTCA) などの再疎通療法が積極的に行われ、大きな成果をあげている。特に tissue plasminogen activator (tPA) や pro-urokinase (pro-UK) などの新しい薬剤の開発により、血栓溶解剤の全身投与が今後の再疎通療法の中心となる可能性も考えられる。しかし線溶療法が不成功に終わった場合には、引き続き PTCA を施行する施設が多いことを考えると、冠動脈造影なしに血栓溶解剤の全身投与を行なう場合でも、その成功、不成功を迅速に知る必要がある。このためには冠動脈造影以外の客観的再疎通判定法、特に生化学的な判定法の確立が必要と考えられるが、今までは心電図の ST 上昇の軽減、再疎通不整脈 (reperfusion arrhythmia) の出現などにより、再疎通を推定するにすぎなかった。現在、再疎通時の心筋からの washout 現象を利用した creatine kinase (CK), creatine kinase MB isozyme (CK-MB) による再疎通の判定が試みられているが¹⁻⁴⁾、これらの酵素よりも心筋からの遊出が早いミオグロビン⁵⁾は、よりよい指標となる可能性がある。そこで我々は短時間で結果の得られるラテックス凝集法を用いて血中ミオグロビンを測定し、心筋梗塞急性期に施行された再疎通療法の成功、不成功を判定し得るか否かを検討した。

対象と方法

1. 対象

対象は発症 8 時間以内に、鹿児島 CCU 連絡協議会加盟病院にて再疎通療法を施行した 25 例の急性心筋梗塞患者 (前壁中隔梗塞 15 例、側壁梗塞 4 例、下壁梗塞 6 例) である。平均年齢 65 歳、男性 17 例、女性 8 例で、再疎通療法施行前、全例に冠動脈造影を行ない、梗塞責任血管の完全閉塞を確認した。また今回の対象には、再疎通前後でショック状態に陥ったり、カウンターショックを施行された症例、高度の腎障害を有する症例は含まれていない。これらの患者を再疎通療法の種類からみると線溶療法 (urokinase (UK) 3 例、pro-UK 5 例、tPA 5 例) 単独で再疎通が得られた 13 例、direct PTCA で再疎通に成功した 5 例、線溶療法で再疎通に失敗した症例のうち、引き続いて施行した PTCA で再疎通に成功した 3 例と、線溶療法の追加で再疎通に成功した 1 例、線溶療法で再疎通不成功のまま再疎通療法を終了した 3 例である。これらの延べ 29 例 (再疎通不成功症例のうち、引き続き行なった再疎通療法により最終的には再疎通に成功した 4 例は、成功群と不成功群で重複) を、再疎通成功例 22 例 (Group 1) と再疎通不成功例 7 例 (Group 2) に分け、以下の検討を行なった。

2. 採血

心臓カテーテル検査のために大腿動静脈にシースを留置後、Swan-Ganz カテーテルを用い、肺動脈血を採取した。採血は経時的に行なったが、

Group 1 では再疎通療法施行前と再疎通後 47±25 分, 治療開始 56±27 分後, Group 2 では再疎通療法施行前と治療開始 56±23 分後に採血した検体を, 各々以下の検討に用いた.

3. 測定

採血後 3,000 回転で 10 分間遠心分離し, その血漿をミオグロビンの測定に用いた.

ミオグロビンの半定量は Orion Diagnostica 製キット (ミオレックス®) によるスライド法で行な

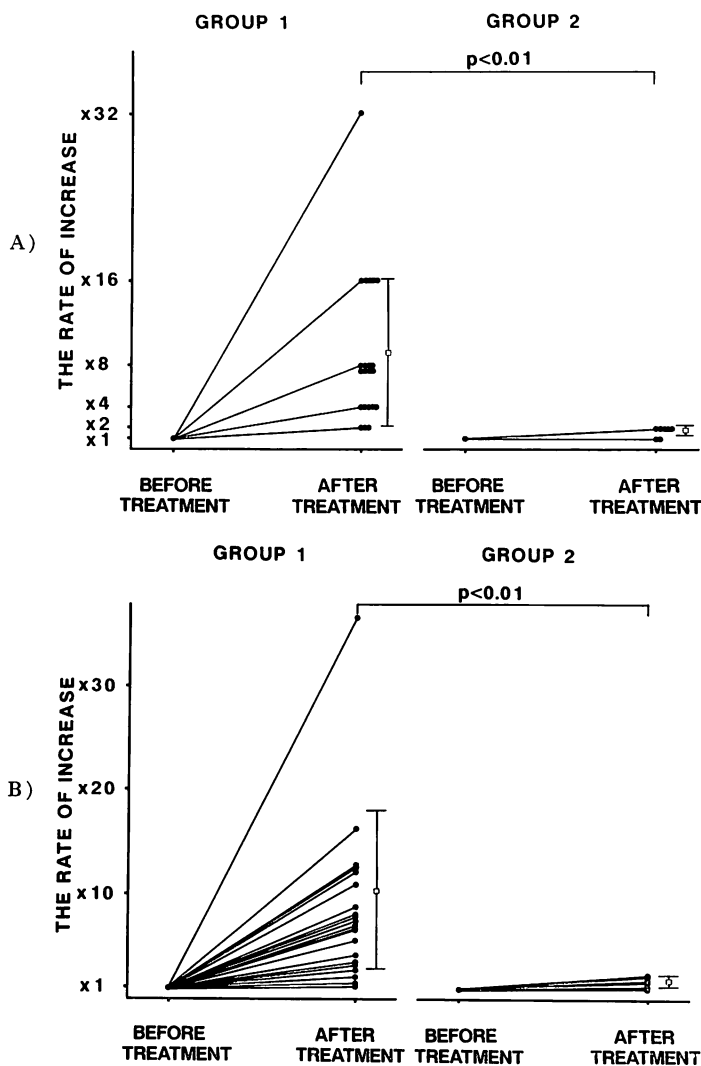


Fig. 1. Rates of increase in plasma myoglobin levels measured by semi-quantitative (A) and quantitative latex agglutination methods (B).

After commencing treatment (56 ± 26 min), the increased rates of plasma myoglobin levels were significantly greater in Group 1 (patients with reperfusion) than in Group 2 (patients without reperfusion).

った⁵⁾. このキットでは抗ミオグロビン抗体を吸着させたラテックス粒子がテストカード上のドライスポットに含まれているため, 検体を滴下し攪拌するのみで, ラテックス凝集反応を起こすことが可能である. 被検血漿滴下 5 分後に明らかな凝集を認めた場合を陽性とし, 血漿を生理食塩水で

倍々希釈後陽性を示した最高希釈倍率でミオグロビン濃度を表示した. 希釈前の血漿で陰性と判定された場合には 0.5 倍として以下の解析に用いた.

ミオグロビンの定量にはデンカ生研製試薬 (Mb-ラテックス「生研」[®]) を用い, 日立製自動

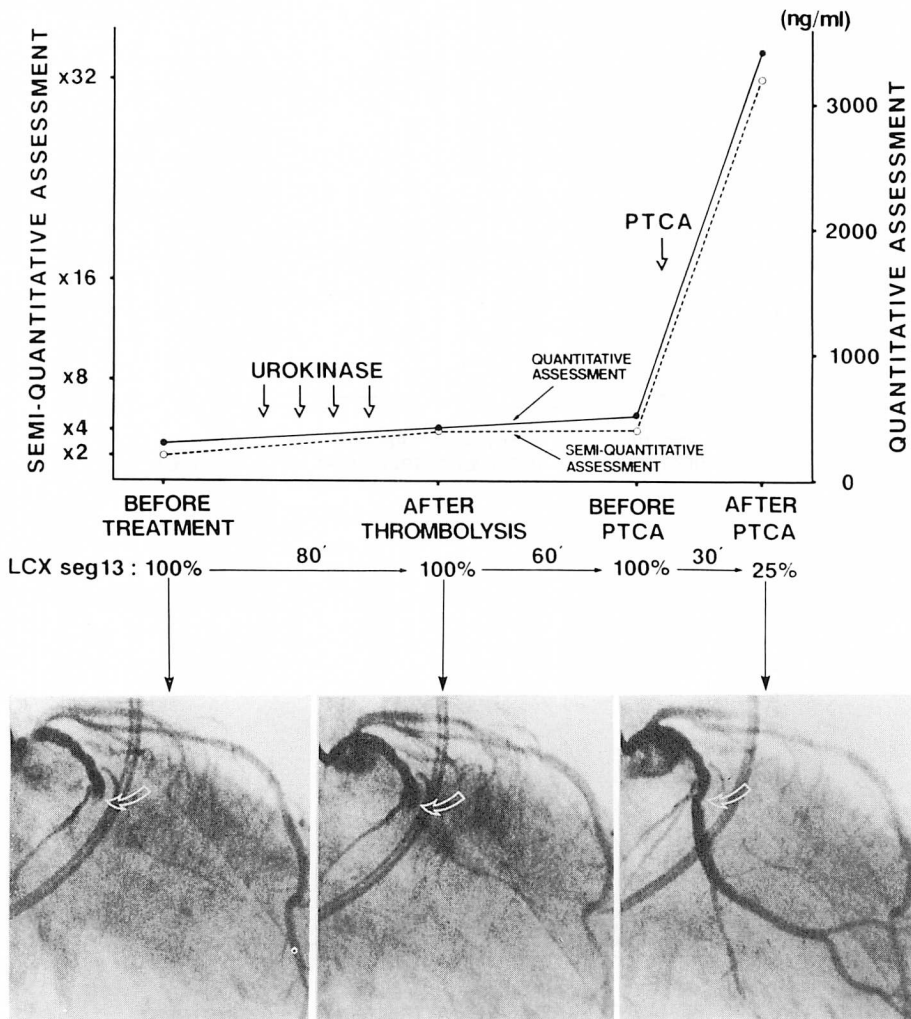


Fig. 2. Time course of plasma myoglobin level in a patient whose additional PTCA was successful.

Plasma myoglobin level did not increase after unsuccessful thrombolysis and increased rapidly after successful PTCA.

PTCA = percutaneous transluminal coronary angioplasty; LCX = left circumflex artery.

化学分析装置 7050 により測定した⁶⁾。半定量法と同様、血漿と抗ミオグロビン抗体を吸着させたラテックス粒子を混和後、波長 570 nm の吸光度変化を測定し、標準ミオグロビンによる検量線によりミオグロビン濃度を求めた。

4. 検定

得られたデータは $\text{mean} \pm \text{SD}$ で表示し、t-test による有意差検定を行なった。そして有意差、相関ともに危険率 5% 以下の場合を有意とした。

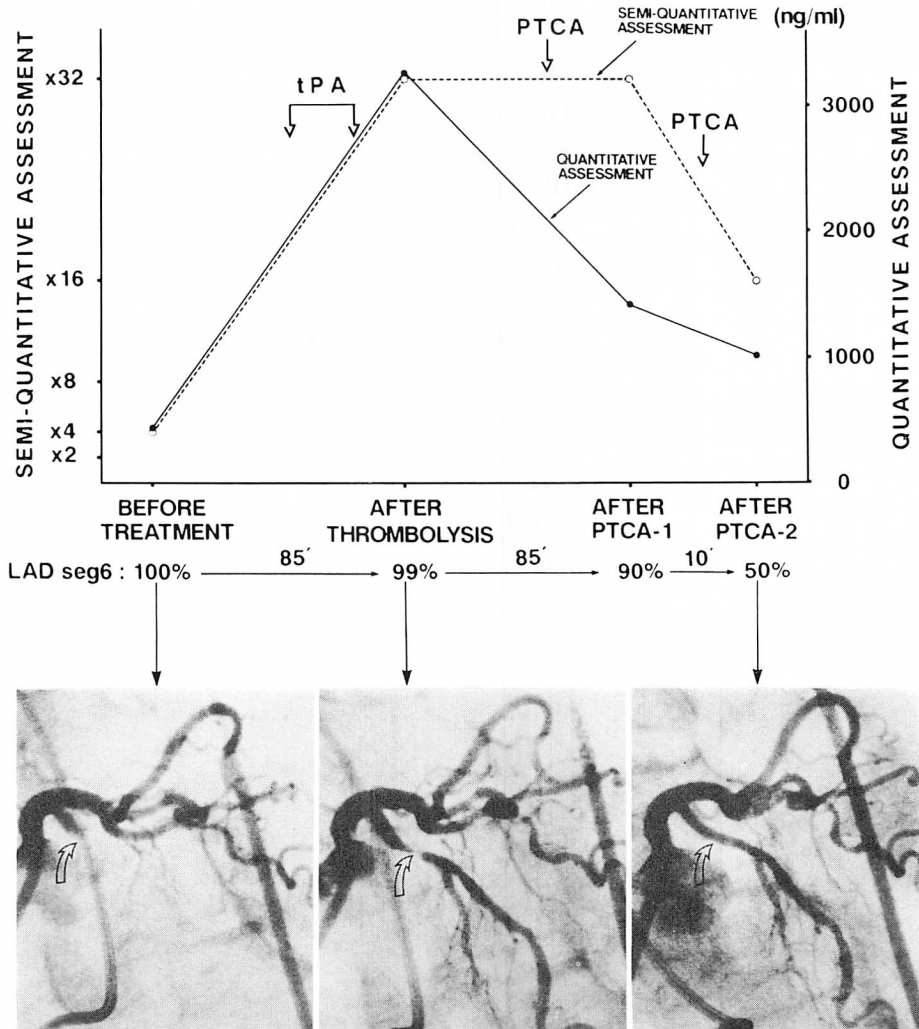


Fig. 3. Time course of plasma myoglobin level in a patient in whom thrombolysis was successful.

Plasma myoglobin level increased rapidly after successful thrombolysis, however, it decreased after additional PTCA.

tPA=tissue plasminogen activator; LAD=left anterior descending artery.

Other abbreviations: see Fig. 2.

結 果

1. 再疎通の検出

再疎通療法施行前, すなわち心筋梗塞発症 4.2 ± 1.5 時間後には, 血漿ミオグロビンは半定量法で陰性ないし 8 倍, 平均 4.6 ± 4.2 倍を, 定量法で 81 ないし $1,400 \text{ ng/ml}$, 平均 $470 \pm 318 \text{ ng/ml}$ と明らかな高値を示した。

再疎通療法施行前後で血漿ミオグロビンの変化をみると, 半定量法では Fig. 1A のように, Group 1, すなわち再疎通成功群では, 再疎通後平均 44 分に再疎通療法施行前の 2 倍から 32 倍, 平均 9.2 ± 7.1 倍と著明に上昇し, Group 2 の 1 倍ないし 2 倍, 平均 1.7 ± 0.5 倍より有意の上昇を示した ($p < 0.01$). 同様に定量法でも Fig. 1B のように Group 1 の平均 10.5 ± 7.6 倍は, Group 2 の平均 1.8 ± 0.5 倍より有意に高い上昇率を示した ($p < 0.01$).

以上の結果より, 半定量法の場合 4 倍以上の上昇を再疎通成功の基準とすると, sensitivity 86%, specificity 100%, 定量法の場合でも 3 倍ないし 4 倍以上を成功の基準とすると, sensitivity 82%, specificity 100% と良好な結果が得られた。

以下に実例を呈示する。

Fig. 2 は UK の投与により全く再疎通が得られず, 引き続き PTCA を施行した症例である。血漿ミオグロビンは線溶療法後には, 半定量法, 定量法ともに有意の変化を示さなかったのに対し, PTCA 後には 25% と良好な再疎通が得られたのに伴って, 急激な上昇がみられた。Fig. 3 は UK の投与により 99%+delay となったが, 再疎通不十分と考え, PTCA を追加し, 50% まで改善した症例である。しかし血漿ミオグロビンは, 線溶療法後に, 半定量法, 定量法ともに著明な上昇を示したものの, PTCA 後にはかえって低下しており, ミオグロビンのクリアランスの速さをも同時に示唆する結果であった。

2. ミオグロビン半定量法と定量法の比較

ラテックス凝集法による血漿ミオグロビンの測定は, 半定量法, 定量法ともに極めて容易で, いずれの方法でも測定に要する時間は 10 分程度であった。そして Fig. 4 のように半定量法と定量法で求めた血漿ミオグロビン濃度には, $r = 0.91$ ($p < 0.01$) という良好な相関関係がみられた。

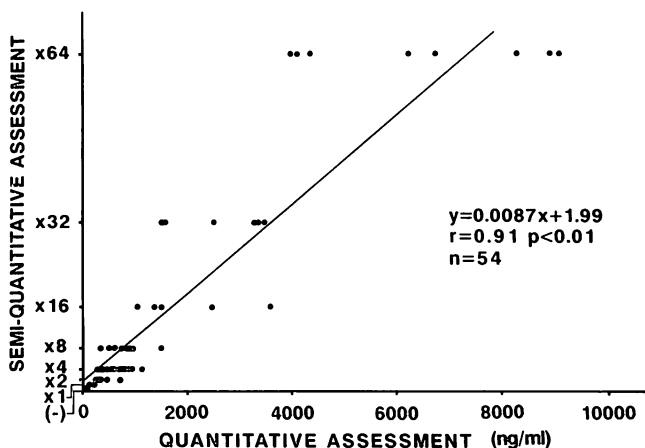


Fig. 4. Correlation of plasma myoglobin levels with quantitative and semi-quantitative latex agglutination methods.

Plasma myoglobin levels measured by both methods correlated well ($r = 0.91$, $p < 0.01$).

考 察

1. 再疎通の判定におけるミオグロビンの有用性

ミオグロビンは分子量約2万と比較的分子量が小さい蛋白であるため、障害を受けた心筋からの遊出が極めて速く、急性心筋梗塞の早期診断の最も鋭敏な指標として注目されている。急性心筋梗塞の早期診断の指標として現在最も広く用いられているCKが、心筋梗塞発症後約3~4時間で上昇してくるのに対し、ミオグロビンはほぼ1~3時間で上昇するといわれ、急性心筋梗塞の早期診断におけるその有用性について多くの報告⁷⁻⁹⁾がある。今回の研究でも発症4.2時間後の血漿ミオグロビンは有意の高値を示しており、急性心筋梗塞の早期診断における有用性を裏付けるものであった。最近の救急医療体制の整備に伴い、定型的な心電図変化を示さず、発症ごく早期に病院に搬入される心筋梗塞症例が増加しており、診断に迷う場合が少なくない。このような症例ではCKなどの心筋逸脱酵素の上昇をみない場合が多く、ミオグロビン測定の重要性は、さらに今後、増加するものと思われる。

また最近これらの指標のwashout現象を利用し、梗塞責任血管の再疎通を非観血的に判定しようという試みがなされている。これは血栓溶解剤の進歩により、冠動脈内投与から全身投与へと、線溶療法の形態が変化しつつあることに伴うものである。すなわち、最近開発されたtPAやpro-UKなどの血栓溶解剤は血栓親和性が高く、全身投与でも冠動脈内投与とほぼ同等の効果が期待できるといわれている。このため、冠動脈造影ができない施設でも速やかに線溶療法を開始できるようになり、より早期の再疎通が可能になると予想されているが、このことは、再疎通が成功したか否か、冠動脈造影により確認できないことをも意味する。したがって非観血的な再疎通の判定法の確立は、血栓溶解剤の全身投与が、今後、線溶療法の主流となるためにも重要な課題となっている。再疎通症例におけるwashout現象とは、心

筋内の酵素ないし蛋白がその際急激に血流中に遊出してくるもので、これらの酵素ないし蛋白を測定することで、逆に再疎通の有無を推定し得ると考えられている。その指標としてCKやCK-MBが最も詳しく検討されており、再疎通が得られた場合には早期に急峻な上昇が観察され、再疎通の得られなかった場合と異なるプロフィールを呈する¹⁻³⁾。佐藤ら⁴⁾は30分間隔の経時的採血による詳細な検討を行ない、CKの上昇率の差により、治療開始1.5時間後には再疎通の判定が可能であるとしている。

CKと同様、ミオグロビンも再疎通に際してwashoutされるが、この両指標の遊出のプロフィールに関してはEllisら¹⁰⁾の動物実験がある。彼らは急性心筋梗塞を作製し、再疎通後の血漿ミオグロビンの上昇は動脈血よりも冠静脈血で著しいことから、再疎通後急速に上昇するミオグロビンは心筋から遊出したものであること、しかもミオグロビンのwashoutはCKよりも著しいことを確認している¹¹⁾。またこの実験結果に基づき、臨床症例でもミオグロビンを指標とすることで、治療開始1ないし2時間後には再疎通の判定が可能であるとしている¹¹⁾。本研究でも我々は最近開発されたミオグロビンの半定量法ならびに定量法のキットを用い、ミオグロビンが心筋梗塞急性期に施行した線溶療法、PTCAでの再疎通の指標となり得るか否かを検討した。その結果、測定法は異なるものの、Ellisらと同様の結果を得、しかもミオグロビン測定により、再疎通後平均44分でその検出が可能であることを認めたことには大きな意義があると考えられる。すなわち、Ellisらは治療開始1ないし2時間後には再疎通の判定が可能であるとしているが、心筋のsalvageのためには一刻も早い再疎通が必要であり、さらに早期の再疎通判定が可能か否かは重要な問題であると考えられるからである。今回の対象の中には再疎通30分以内で血漿ミオグロビンが著しく上昇した症例も数多く、今後きめ細かいプロトコールで検討を積み重ねれば、再疎通判定に必要な時間をさ

らに短縮できるものと思われる。

2. ラテックス凝集法による測定の有用性

再疎通療法の目的は梗塞領域心筋の salvage であるが、発症 6 時間以内のいわゆる golden time を過ぎると、再疎通に成功しても、その効果は極めて小さい。したがってこの golden time の間に再疎通を達成することが重要で、このため、急性心筋梗塞の診断や再疎通の判定はできるかぎり迅速に行なわれなければならない。しかしミオグロビンの測定法は現在まで radioimmunoassay 法によるものであり、鋭敏であるものの、測定に時間と特別な機器を要し、心筋梗塞急性期に実際に応用し、その成功、不成功に従い迅速に対処することには大きな困難性があった¹²⁾。これに対し、今回用いたラテックス凝集法による半定量法、定量法は、いずれもベッドサイドで特別な機器を必要とすることなく、約 10 分で結果が得られ、迅速な判断を必要とする心筋梗塞急性期にこそ有用性を発揮するものと考えられる。ラテックス凝集法によるミオグロビン測定を心筋梗塞急性期に応用した報告としては、Bachem ら¹³⁾、Chapelle ら¹⁴⁾、Mainard ら¹⁵⁾のものがある。我が国でも安部ら¹⁶⁾、青山ら⁵⁾の報告があるが、いずれも定性ないし半定量法で、急性心筋梗塞の早期診断におけるミオグロビンの有用性を認めている。しかしラテックス凝集法による定量法を用いて急性心筋梗塞の早期診断を試みた報告は僅か⁶⁾で、また半定量法、定量法、いずれの方法でもラテックス凝集法を用いて梗塞責任血管の再疎通の検出を試みたものはない。Ellis らもミオグロビンを radioimmunoassay 法で測定しており、実際に臨床応用可能な測定法を用いたものとしては我々の論文が最初の報告である。このように測定時間が極めて短いという大きな利点を持つラテックス凝集法は、今後の急性心筋梗塞におけるミオグロビン測定の主流となっていくものと思われる。

今回我々はラテックス凝集法を用いた 2 つの測定法、すなわち半定量法と定量法でミオグロビン

の検討を行なったが、両者には良好な相関関係が確認された。半定量法は測定精度こそ定量法に劣るものの、定量法と良好な相関をもち、遠心機さえあれば、どのような施設でも測定可能であるという利点をもっている。したがって、緊急検査体制が整っていない施設で血栓溶解剤の全身投与を開始する場合には、特に高い有用性を持つものと思われる。これに対し十分な検査設備を持つ施設では定量法がより適しており、この両方法は再疎通療法を施行する施設の検査能力などにより、使い分ける必要があると考えられる。

要 約

梗塞責任血管の再疎通の有無を非観血的に判定するために、再疎通療法施行前後で血漿ミオグロビンを測定した。対象は梗塞責任血管の完全閉塞が確認され、発症 8 時間以内に再疎通療法を受けた 25 例の急性心筋梗塞患者である。ミオグロビンの測定法としては現在まで radioimmunoassay 法が用いられてきたが、今回は短時間で測定結果が得られるラテックス凝集法による半定量法と定量法を用いて測定した。再疎通前(発症後平均 4.2 時間)の血漿ミオグロビンは半定量法では 4.6 ± 4.2 倍、定量法では 434 ± 330 ng/ml と明らかな高値を示した。再疎通成功群 22 例では血漿ミオグロビンは再疎通後 44 分で前値に比し、半定量法で 9.2 ± 7.1 倍、定量法で 8.4 ± 7.5 倍と著明に上昇したのに対し、再疎通不成功群 7 例では半定量法で 1.7 ± 0.5 倍、定量法で 1.8 ± 0.5 倍と上昇は軽度で、両群間の血漿ミオグロビン上昇率に有意差を認めた ($p < 0.01$)。また半定量法では 4 倍、定量法では 3 倍ないし 4 倍の上昇を再疎通の基準とすると、半定量法で sensitivity 86%, specificity 100%, 定量法で sensitivity 82%, specificity 100% と高い有用性が示された。半定量法と定量法で求めた血漿ミオグロビン濃度には良好な相関関係がみられた ($r = 0.91$, $p < 0.01$)。

以上より、ラテックス凝集法による血漿ミオグロビン測定は、半定量法、定量法ともに梗塞責任

血管の再疎通検出法としても高い精度を持ち、しかも短時間で結果が得られるため、心筋梗塞急性期に高い有用性を持つものと思われた。

文献

- 1) Shell W, Mickle DK, Swan HJC: Effects of non-surgical myocardial reperfusion on plasma creatine kinase kinetics in man. *Am Heart J* **106**: 665-669, 1983
- 2) Blanke H, von Hardenberg D, Cohen M, Kaiser H, Karsch KR, Holt J, Smith H Jr, Rentrop P: Patterns of creatine kinase release during acute myocardial infarction after nonsurgical reperfusion: Comparison with conventional treatment and correlation with infarct size. *J Am Coll Cardiol* **3**: 675-680, 1984
- 3) Garabedian HD, Gold HK, Yasuda T, Johns JA, Finkelstein DM, Gaivin RJ, Cobbaert C, Leinbach RC, Collen D: Detection of coronary artery reperfusion with creatine kinase-MB determinations during thrombolytic therapy: Correlation with acute angiography. *J Am Coll Cardiol* **11**: 729-734, 1988
- 4) 佐藤洋一, 上松瀬勝男, 長尾 建, 梶原長雄: 急性心筋梗塞の血栓溶解療法における creatine kinase による血流再開の効果判定の検討. *日内会誌* **78**: 338-344, 1989
- 5) 青山 武, 由井芳樹, 河合忠一: 急性心筋梗塞発症早期の診断における血清ミオグロビン測定(ラテックス凝集法による)の有用性. *医学と薬学* **20**: 1091-1095, 1988
- 6) 河田興一, 藤田誠一, 片山善章, 松山辰男: ラテックス凝集比濁法を用いた血清ミオグロビンの迅速定量法の開発および急性心筋梗塞における変動に関する検討. *臨床病理* **37**: 668-672, 1989
- 7) Stone MJ, Willerson JT, Gomez-Sanchez CE, Waterman MR: Radioimmunoassay of myoglobin in human serum: Results in patients with acute myocardial infarction. *J Clin Invest* **56**: 1334-1339, 1975
- 8) Sylvén C: Release of myoglobin and creatine-kinase into serum following acute myocardial infarction. *Eur J Cardiol* **9**: 483-491, 1979
- 9) 林 正: 急性心筋梗塞における血清ミオグロビンの経時的変動パターン. *四国医誌* **37**: 240-252, 1981
- 10) Ellis AK, Little T, Masud ARZ, Klocke FJ: Patterns of myoglobin release after reperfusion of injured myocardium. *Circulation* **72**: 639-647, 1985
- 11) 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
- 12) Grachev MA, Matveev LE, Pressman EK, Roschke VV: A rapid method for myoglobin radioimmunoanalysis as a diagnostic tool in myocardial infarction. *Clin Chim Acta* **124**: 235-238, 1982
- 13) Bachem MG, Paschen K, Strobel B, Keller HE, Kleinschnittger B: Myoglobin-Latex Test: Ein neuer Schnell-Test zur Verbesserung der Frühdiagnostik des akuter Myokardinfarktes. *Dtsch Med Wschr* **108**: 1190-1194, 1983
- 14) Chapelle JP, Heusghem C: Semi-quantitative estimation of serum myoglobin by a rapid latex agglutination method: An emergency screening test for acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta* **145**: 143-150, 1985
- 15) Mainard F, Massoubre B, Le Marec H, Madec Y: Study of a myoglobin test in patients hospitalized for suspected myocardial infarction. *Clin Chim Acta* **153**: 1-8, 1985
- 16) 安部行弘, 武田 光, 藤井章伸, 桑島 実, 斎藤大治, 原岡昭一: 急性心筋梗塞におけるラテックス凝集反応による血清ミオグロビン測定の臨床的意義. *日内会誌* **77**: 15-21, 1988