

# 「オスキット (OSKIT)」および神戸川法による尿中 総17-KS測定値に関する二、三の検討

浜松医科大学小児科

研究協力者 五十嵐 良 雄  
川 口 治 夫  
竹 広 晃  
平 田 晴

## I 研究目的

尿中総17-KS測定法は種々の異なったものがあり、方法により小児の正常値も異なる。尿中総17-KSの測定は先天性副腎過形成症の診断と治療に当っては、最も古くから行われて来たものであり、現在でも診断基準の基礎として重要なものである。健康小児の正常値について昭和41年五十嵐<sup>1)</sup>は、ホルマリン加、硫酸加熱水解法による神戸川法<sup>2)</sup>により3才~成人に至る値を発表し、以後、正常値として引用されることが多い。しかしその後、神戸川法はキット化され<sup>3)</sup>(オスキット、関東化学)広く発表されたが、この際、測定標準品の変更、抽出、脱水法の改変がなされ、従来の報告値がそのまま適用し得るかについて疑念も出された。そこで、主としてキット化による改変点につき、以下の検討を加えた。

## II 研究経過、結果および小括

昭和41年、五十嵐の報告した神戸川原法(以下、原法と言う)とオスキット(以下キットと略)の改変点につき以下の検討を加えた。

a 標準品自体の検討 (Fig.1) 原法では蒸発乾固した Dehydroepiandrosterone (DHA) を用いるが、キットでは、DHA: Androsterone: Etiocholanolone (4:3:3) の混合物である。この標品の蒸発乾固物に内部標準として、Epicoprostanol を加え、BSAによりTMS化し、XE-60カラムのガスクロマトグラフィーにより分析定量した。Fig.1のように、規格通りの混合物であることが判った。

b キット標品とDHA標品の Zimmerman 反応時の呈色度の比較 (Fig.2)

キット標品、およびDHA標品、40、50、100 $\mu$ を試験管内に蒸発乾固し、キットの呈色液I (meta-dinitrobenzen 溶液) および呈色液II (8N-KOH) を用いて発色、波長460、520、580 nmで比色し、Allen 補正值を算出した。その検量線はFig.2の通りで、いずれの量でもキット標品の方が有意に高値を示した。キット測定の際 working standard とする50 $\mu$ では、Allen 補正值の平均 $\pm$ 標準偏差は、キット標品、260.5 $\pm$ 11.37、DHA 250.7 $\pm$ 5.27であり、もし、キット標品を蒸発乾固したものを標準として、原法通り行えば、原法より4%強低値を示すことが予想される。

c 標品のキット操作による呈色度の変動キットでは、標準液 0.5 ml (100  $\mu$ g) を水 9.5 ml に溶解し、検体と同様に、酸加熱水解、抽出、洗浄したものを標準とするが、原法では DHA を蒸発乾固したものを標品として、回収率の補正は行っていない。したがって、キット標品 100  $\mu$ g、200  $\mu$ g に水を加えて 10 ml としたものをキット指示通りの全操作を行った。この場合の回収率は、520 nm のみの比色でそれぞれ、50  $\mu$ g (90.7  $\pm$  12.3%)、100  $\mu$ g (88.9  $\pm$  10.2%)、Allen 補正值、50  $\mu$ g (91.0  $\pm$  12.8%)、100  $\mu$ g (88.2  $\pm$  10%) で、同量の DHA を直接試験管内で乾固発色した値とは、50  $\mu$ g、100  $\mu$ g とともに、5% の危険率で有意の差を認めなかった。従って、キット標品の測定操作が正しく行われていれば、原法による正常値をそのまま用いても差し支えないと思われる。

しかし、キットの抽出操作はクロロホルムの定量抽出の手技、クロロホルムの濾紙脱水などにより、回収率自体がかなり変動するので、DHA の蒸発乾固物を同時に発色し、標品のよみの低い際は、補正した方が良い。なお DHA 100  $\mu$ g にキットの全操作を加えた時の回収率は、78.3% であり、キット標品の回収率より低下し、従来からの報告通り、酸加熱水解による DHA の破壊が考えられ、DHA をキット標品のように全操作を加えた working standard とすることは良くない。

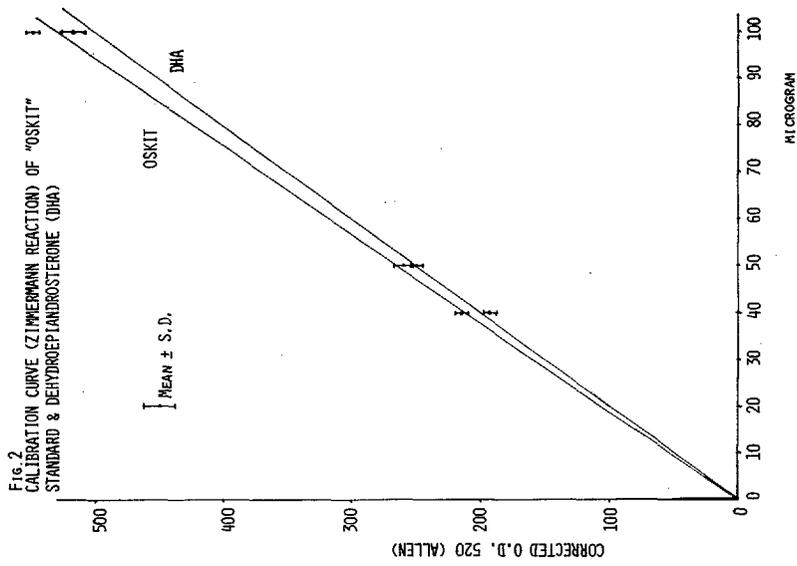
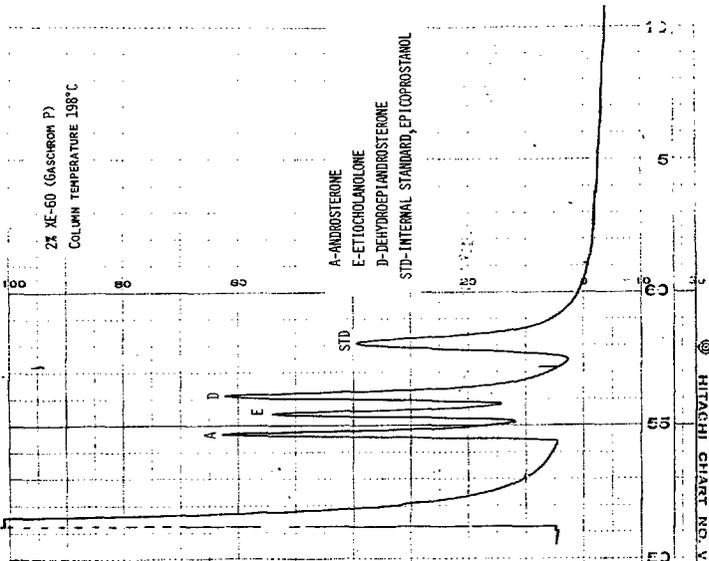
d 520 nm 単波長比色値と Allen 補正值の比較。蒸発乾固したキット標品 26 検体。DHA 25 検体。キット操作を加えた標品 17 検体。DHA 8 検体につき、50  $\mu$ g、100  $\mu$ g の量で 520 nm 単波長値と Allen 補正值の対応平均の検定を行ったが 5% の危険率で得られる値 ( $\mu$ g に換算) では差がなかった。しかし、キュベットの差などのばらつきは、520 nm 値に大きく、Allen 補正值の方がばらつきが少なかった。

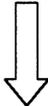
### Ⅲ 総括および考案

神戸川原法とオスキットを用いた時の測定値は、標準品の差に関する限り、ほぼ同じ値が得られたので、従来の正常値はほぼ適用され得る。しかし、キットでは標準品に水解、抽出操作を加えるため、回収率が補正される利点の反面、測定操作によるばらつきが加わり、誤差の原因となるので、DHA 50  $\mu$ g 乾固試験管を同時に発色して、キット標品の読みと照合することにより、標品の回収率をチェックすることができる。また、キット標品自体を乾固発色した場合は、5% 位、低い値となる事が予想される。

文 献 1) 五十嵐良雄：日本内分泌学会誌 41: 1438 昭和 41 年 2) 神戸川明：昭和医学会雑誌 20(b): 1 昭和 35 年 3) 神戸川明、五十嵐良雄：現代小児科学大系 11(A) 174 昭和 44 年

Fig. 1  
GLC OF "OSKIT" STANDARD TMS DERIVATIVE



 **検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用   
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

## 1 研究目的

尿中総 17-KS 測定法は種々の異なったものがあり、方法により小児の正常値も異なる。尿中総 17-KS の測定は先天性副腎過形成症の診断と治療に当っては、最も古くから行われて来たものであり、現在でも診断基準の基礎として重要なものである。健康小児の正常値について昭和 41 年五十嵐 1)は、ホルマリン加、硫酸加熱水解法による神戸川法 2)により 3 才～成人に至る値を発表し、以後、正常値として引用されることが多い。しかしその後、神戸川法はキット化され 3)(オスキット、関東化学)広く発表されたが、この際、測定標準品の変更、抽出、脱水法の改変がなされ、従来 of 報告値がそのまま適用し得るかについて疑問も出された。そこで、主としてキット化による改変点につき、以下の検討を加えた。