

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5163883号

(P5163883)

(45) 発行日 平成25年3月13日 (2013. 3. 13)

(24) 登録日 平成24年12月28日 (2012. 12. 28)

(51) Int. Cl.

F 1

GO 1 N 33/576 (2006. 01)

GO 1 N 33/576 B

GO 1 N 33/53 (2006. 01)

GO 1 N 33/53 N

GO 1 N 33/531 (2006. 01)

GO 1 N 33/531 B

請求項の数 2 (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2008-142587 (P2008-142587)
(22) 出願日 平成20年5月30日 (2008. 5. 30)
(65) 公開番号 特開2009-288149 (P2009-288149A)
(43) 公開日 平成21年12月10日 (2009. 12. 10)
審査請求日 平成23年4月19日 (2011. 4. 19)

(73) 特許権者 000003300
東ソー株式会社
山口県周南市開成町 4 5 6 〇 番地
(72) 発明者 河合 信之
神奈川県綾瀬市早川 2 7 4 3 - 1 東ソー
株式会社 東京研究センター内
(72) 発明者 新谷 晃司
神奈川県綾瀬市早川 2 7 4 3 - 1 東ソー
株式会社 東京研究センター内

審査官 三木 隆

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 B型肝炎ウイルスコア抗原又はそれに対する抗体の測定方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

B型肝炎ウイルスコア抗原とそれに対する抗体との免疫反応を用いて生体由来試料中の B型肝炎ウイルスコア抗原又はそれに対する抗体を測定する免疫測定法において、B型肝炎ウイルスコア抗原とそれに対する抗体との免疫反応を妨害する物質の影響を、サリチル酸又はその塩を共存させることによって抑制し、偽陽性と判断されることを防止することを特徴とする方法。

【請求項 2】

サリチル酸又はその塩の、B型肝炎ウイルスコア抗原とそれに対する抗体との免疫反応を妨害する物質の影響を抑制し、偽陽性と判断されることを防止するための使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体由来試料中の B型肝炎ウイルスコア抗原又はそれに対する抗体を測定する方法の改良に関するものである。

【背景技術】

【0002】

血液等の生体由来試料中に存在する抗原性物質を、当該抗原物質と免疫反応を生じる物質、即ち抗体又は抗原を用いて測定する免疫測定法が従来公知であり、疾患と関連してその濃度が上昇する抗原性物質を測定することにより、当該疾患の診断が行われている。多

種多様の抗原性物質が知られているが、以下は具体的に、B型肝炎ウイルス（HBV）のコア抗原（HBc）について説明する。

【0003】

HBVは、直径42nmの二重構造をもつ球形粒子で、エンベロープ（外皮）とコア（芯）から形成されている。体内で産生される、HBVのコア（HBc）抗原に対する抗体（HBc抗体）は、HBV感染初期から感染後長期間にわたり血中に存在することが知られている。HBc抗体にはIgM型とIgG型の2タイプがあり、急性B型肝炎では発症後12週までIgM型の陽性が認められ、IgM型が測定されなくなった後も長期にわたりIgG型の陽性が認められる（非特許文献1）。またHBc抗体は、HBVの表面（HBs）抗原が出現した後に測定され、急性B型肝炎においてはHBs抗原の消失後、HBs抗体が出現するところまで継続して測定されるため、HBs抗原、HBs抗原に対する抗体（HBs抗体）が測定されないときのHBV感染の手がかりとなる（非特許文献2）。更にHBc抗体は、急性B型肝炎時に抗体価が高くなることから、B型慢性肝炎の急性発症と急性B型肝炎の診断識別に効果がある（非特許文献3）。

10

【0004】

このように、HBc抗体の測定はB型肝炎の病態把握・感染予防に有効とされ、輸血後の感染防止を目的に輸血用血液のスクリーニング検査としても実施されている。

【0005】

HBc抗体の測定に供されている免疫測定には、いわゆる競合原理を用いるものが多い。これは、例えば水不溶性の担体に結合させたHBc抗原中の抗体結合部位に対して、酵素や化学発光物質等の検出可能な標識物を結合させたHBc抗体（以下、標識HBc抗体という）と生体由来試料中の測定されるべきHBc抗体とを競合的に反応させるものである。結合した標識HBc抗体の割合は、生体由来試料中の測定されるべきHBc抗体の量に反比例して増加することを利用し、HBc抗体の量を阻害率（陰性コントロールと生物学的試料の測定値の差から算出）等として算出する。なお、免疫測定に用いられるHBc抗原は、HBVから変性剤（SDS）や還元剤（ジオスレイトール、メルカプトエタノール）等を用いて調整する場合もあるが、一般的には大腸菌や酵母等を用いて製造した遺伝子組換え体を用いることが多い。

20

【0006】

上記した競合イムノアッセイでは、生体由来試料に含まれる物質によって免疫反応が妨害されると測定値が低くなり、算出されるHBc抗体量が増加して偽陽性と判断されることになる。妨害の態様として考えられるのは、HBc抗原又はHBc抗体と複合体を形成するものであるが、実際、γグロブリン、アルブミン、α1-アンタイトリプシン等の種々の血清タンパクに代表される血液中の成分がHBc抗原と複合体を形成し、HBc抗原基をブロックして免疫反応を妨害する可能性が報告されている（非特許文献4）。いずれにせよ、より正確な免疫測定を実施するためには、免疫反応を妨害する物質の影響を可能な限り抑制することが重要である。

30

【0007】

サリチル酸（salicylic acid、 $C_6H_4(OH)COOH$ 、CAS登録番号は 69-72-7）は、ベンゼン環にカルボキシル基とヒドロキシ基を併せ持つ物質であり、免疫測定の分野においては蛍光消光を防止剤として知られているが（特許文献1）、このサリチル酸をインスリン様成長因子の免疫測定における免疫反応を妨害する物質の影響を抑制するために用いることについても開示がある（特許文献2）。

40

【0008】

【非特許文献1】西岡幹夫、B型肝炎ウイルス感染症における血中抗原抗体系とその解釈、Medical Postgraduates, 24(2)、106-108、1986

6

【非特許文献2】H. Iisuka et al., Correlation between anti-HBc titer and HBV DNA in blood units without detectable HBsAg, Vox Sang, 63、107-

50

111、1992

【非特許文献3】三宅和彦・山中正己、慢性肝炎の診断の実際・血清生化学、免疫学的検査でどの程度まで診断できるか、Medical Practice, 4(7)、1080-1083、1987)

【非特許文献4】今井光信、HB e 抗原の本態、肝胆膵、9(4)、487-489、1984)

【特許文献1】特開平2-82162号公報

【特許文献2】特開平8-145998号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0009】

前記特許文献2には、インスリン様成長因子を免疫測定するに先立ち、生体由来試料をサリチル酸溶液で処理してインスリン様成長因子結合蛋白からインスリン様成長因子を遊離させておき、次いで当該生体試料中のインスリン様成長因子を再結合阻害剤(サリチル酸)含有中和緩衝液で中和するという、インスリン様成長因子の免疫測定方法が開示されている。

【0010】

しかしながら、特許文献2で開示されているのはインスリン様成長因子とインスリン様成長因子結合蛋白質間の結合をサリチル酸が妨害し得ることであり、サリチル酸がインスリン様成長因子以外の抗原性物質の免疫測定においても、その免疫反応を妨害する物質の影響を抑制し得るのか否かは明らかではない。前述したように、生体由来試料中には種々の物質が混在しており、特定の物質がある抗原性物質の免疫反応を妨害したとしても、当該特定の物質は他の抗原性物質の免疫反応は一切妨害しない可能性すらある。例えば特許文献2における妨害物質(インスリン様成長因子結合蛋白質)はインスリン様成長因子との結合性を有するためにその免疫反応を妨害するが、HB c 抗体に対する結合性は有していないのであるからHB c 抗体の免疫反応を妨害するとは考えられない。そして特許文献2に開示されたサリチル酸もまた、インスリン様成長因子結合蛋白質とインスリン様成長因子の結合を阻害する阻害剤として働くことが示されたとしても、未だ特定されていない、HB c 抗体の免疫反応を妨害する物質による妨害を抑制し得るのか否かは一切不明である。加えて特許文献2は、試料をサリチル酸で「事前に」処理するものである。しかしながら、感染症疾患を測定するために実施されるHB c 抗原又はHB c 抗体の免疫測定の分野では、緊急検査等の一刻を争う測定の実施が望まれる場合がある。このような緊急の測定では、特許文献2が開示するような、いわゆる「事前処理」を可能な限り省き、迅速化の要請に応える必要がある。

20

30

【課題を解決するための手段】

【0011】

本願発明者らは、HB c 抗体を測定する免疫測定法において、HB c 抗原とそれに対する抗体との免疫反応を妨害する物質の影響を抑制する方法について検討を進める過程で、サリチル酸を共存させることにより、HB c 抗原とHB c 抗体との免疫反応を妨害する物質の影響を抑制し得ることを見出し、本発明を完成するにいたった。

40

【0012】

本発明は、HB c 抗原とそれに対する抗体(HB c 抗体)との免疫反応を用いて生体由来試料中のHB c 抗原又はHB c 抗体を測定する免疫測定法において、HB c 抗原とHB c 抗体との反応を妨害する物質の影響を、サリチル酸又はその塩を共存させることによって抑制することを特徴とする方法である。また本発明は、サリチル酸又はその塩の、HB c 抗原とHB c 抗体との反応を妨害する物質の影響を抑制するための使用である。そして本発明は、HB c 抗原とHB c 抗体との免疫反応を用いて生体由来試料中のHB c 抗原又はHB c 抗体を測定する免疫測定法のための試薬であって、少なくとも前記抗体又は抗原とサリチル酸又はその塩が同一の容器に収容されてなる試薬である。以下、本発明を更に詳細に説明する。

50

【0013】

サリチル酸は、特許文献2において、インスリン様成長因子結合蛋白質に結合したインスリン様成長因子を遊離させることが開示されている。しかし、HBc抗原とそれに対する抗体との免疫反応を妨害する物質の影響を抑制することについては本願が初めて明らかにしたものである。

【0014】

本願発明は、標識物としてアルカリ性ホスファターゼ等に代表される酵素を用いる場合はもとより、蛍光物質、ラジオアイソトープ、発光物質等を用いる場合であっても何ら制限なく適用できる。当然のことながら、酵素等の標識物をHBc抗原又はHBc抗体に直接結合する場合以外にも、例えばビオチン-アビジン等の結合を利用して間接的に結合する場合にも適用可能である。より具体的には、標識物を結合したHBc抗体と担体に結合したHBc抗体とを組み合わせることによるいわゆるサンドイッチ原理によるHBc抗原の測定が可能であり、標識物を結合したHBc抗体と担体に結合したHBc抗原とを組み合わせることによるいわゆる競合原理によるHBc抗体の測定が可能であり、標識物を結合したHBc抗体、担体に結合したHBc抗体及びHBc抗原とを組み合わせることによるいわゆる競合原理によるHBc抗体の測定が可能であり、標識物を結合したHBc抗原と担体に結合したHBc抗体とを組み合わせることによるいわゆる競合原理によるHBc抗原の測定が可能である。これらはあくまでも例示であり、HBc抗体とHBc抗原との免疫反応を利用して生体由来試料中のHBc抗原又はHBc抗体を測定する免疫測定であれば、本願発明を適用する事が可能である。これは、本願発明の本質が、HBc抗原とHBc抗体との免疫反応を阻害する物質の影響をサリチル酸によって抑制するものであるからに他ならない。

10

20

【0015】

前記した担体は、免疫反応の後に免疫反応複合体中に取り込まれた標識物と遊離の標識物を分離するための、いわゆるB/F分離のために用いる。従来から常用されているガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン又はデキストラン等の原料によって構成された、ビーズ、チューブ又はプレート等であれば特に制限なく担体として使用することができる。もっとも、担体の使用は本願発明の本質ではなく、これを用いるか否かにかかわらず本願発明はその効果を達するものである。

【0016】

本願発明は生体由来試料中のHBc抗体又はHBc抗原を測定するものであるが、その測定のために使用されるHBc抗体又はHBc抗原は、HBVから変性剤(SDS)や還元剤(ジオスレイトール、メルカプトエタノール)等を用いて調整したものはもとより、大腸菌や酵母等を用いて製造した遺伝子組換え体であっても良い。

30

【0017】

本願発明は、HBc抗原とそれに対する抗体(HBc抗体)とを免疫反応させる際にサリチル酸を共存させるものである。これにより、例えば生体由来試料を免疫測定に先立ってサリチル酸で処理する等の、いわゆる「前処理」を必要とせず、HBc抗原やHBc抗体を迅速に免疫測定することが可能となる。共存させる方法は具体的に制限されないが、例えば生体由来試料と接触させるHBc抗原又はHBc抗体を含む溶液にサリチル酸を予め添加しておく方法、生体由来試料をHBc抗原やHBc抗体と免疫反応させるのと同時にサリチル酸を反応液に添加する方法等を例示できる。また例えば、生体由来試料中のHBc抗原又はHBc抗体と免疫反応する成分を適当な反応容器に分注して凍結乾燥等した試薬においては、当該凍結乾燥に先立ち、サリチル酸を凍結乾燥する成分に添加しておく等しても良い。

40

【0018】

本願発明で使用するサリチル酸は容易に入手可能である。本願発明では、サリチル酸そのものに代えて、その塩を用いてもサリチル酸を用いるのと同様の結果を得ることができる。

【発明の効果】

50

【0019】

本願発明により、サリチル酸又はその塩を用いることにより、HBc抗原とHBc抗体との免疫反応を妨害する物質の影響を抑制することができる。具体的にいかなる物質が前記妨害物質であるのかは不明である。しかし、後述する実施例で示したように、サリチル酸の共存による抑制効果は顕著なものである。この効果により、本願発明を適用すれば、例えば競合イムノアッセイによるHBc抗体の免疫測定において、生体由来試料に含まれる物質によって免疫反応が妨害され、結果的に測定値が低くなる現象を回避することができる。競合イムノアッセイにおいては、前述の通り、測定値が低くなった場合には生体由来試料中にHBc抗体の存在が疑われる場合があるので、結果的には、偽陽性と判断されることを防止し、より正確な免疫測定を実施に貢献するものである。

10

【0020】

本願発明は、サリチル酸又はその塩を単に共存させることにより実施することができる。言い換えれば、免疫測定の実施に先立つ前処理の操作を追加するものではないから、操作に要する時間を延長することがない。この結果、緊急を要する場面においても迅速に実施し得るものである。また、サリチル酸を単に共存させるのみで実施可能であるから、適当な反応容器にHBc抗原やHBc抗体と共にサリチル酸を添加した状態で臨床検査の現場に提供することも可能であるし、当該状態で凍結乾燥して輸送や保管に便利な試薬を提供することも可能である。

【実施例】

【0021】

20

以下、本願発明を実施例により更に詳細に説明するが、これら実施例は本願発明の一実施態様であり、本願発明を限定するものではない。

【0022】

以下の実施例では、市販の自動免疫測定装置（東ソー(株)製、商品名AIA-1800）を用い、いわゆる1ステップ競合法によりHBc抗体の測定を行った。具体的には、まず、HBc抗体（マウス由来、モノクローナル抗体）を吸着により固定化した直径が約1mmの樹脂担体、標識物としてアルカリ性フォスファターゼを化学的に結合したHBc抗体（マウス由来、担体に結合した抗体とは異なるモノクローナル抗体）及びHBc抗原（遺伝子組換え抗原）を前述した測定装置用の反応カップに分注し（第1の操作）、そこに生体由来試料（血清）を添加して37℃にて10分間攪拌保温した（第2の操作）。その後、いわゆるB/F分離を行って担体に結合していない成分を反応カップから除去した（第3の操作）。次に、HBc抗原を介して担体に結合したアルカリ性フォスファターゼ標識HBc抗体を、アルカリ性フォスファターゼの基質である4メチルウンベリフェリリン酸塩を添加し、単位時間当たりの4メチルウンベリフェロン（酵素分解物）の生成（nM/秒）を反応カップからの蛍光を測定して算出した（第4の操作）。4メチルウンベリフェロンの生成度はアルカリ性フォスファターゼ量に比例するものである。

30

【0023】

上記の免疫測定は、いわゆる競合法である。測定の結果は、陰性コントロール即ち生体由来試料中にHBc抗体が存在しない時の測定値 $[nmol / (L \cdot s)]$ を基準として、HBc抗体が存在することで抑制される度合（=INH%、表1）でHBc抗体量を表し、計算結果が50%に等しいか又は大きい場合は陽性と判断した。

40

【0024】

【表1】

INH%=

$$\frac{\text{陰性コントロールの測定値 } [nmol / (L \cdot s)] - \text{試験試料の測定値 } [nmol / (L \cdot s)]}{\text{陰性コントロールの測定値 } [nmol / (L \cdot s)] - \text{陽性コントロールの測定値 } [nmol / (L \cdot s)]} \times 100$$

50

実施例 1

生体由来試料（８）、陰性コントロール及び陽性コントロールのそれぞれについて免疫測定を実施し、サリチル酸の効果を調査した。なお、使用した生体由来試料は、市販のＢ型肝炎に関する物質（マーカー）測定用の免疫測定試薬を用いた試験においてその存在が認められず、かつ、Ｂ型肝炎の病歴のない８名からインフォームドコンセントを得て取得した血清であり、「陰性コントロール」はＨＢｃ抗体が陰性（含まれていない）と確認された市販のＨＢｃ抗体陰性血清であり、「陽性コントロール」は前記ＨＢｃ抗体陰性血清に、標識物を結合していない前記ＨＢｃ抗体（マウス由来、モノクローナル抗体）を添加した血清である。

10

【００２５】

前記した第１から第４の操作を行ったもの（試薬Ａ）とは別に、前記した第２の操作に続いて最終濃度で２％（重量％）となるように反応カップにサリチル酸を添加して共存させ、続いて第３及び第４の操作を行ったもの（試薬Ｂ）のそれぞれについて結果（ＩＮＨ％）を調査した。

【００２６】

【表２】

	試薬Ａ			試薬Ｂ		
	測定値*	ＩＮＨ％	判定	測定値*	ＩＮＨ％	判定
陽性コントロール	０．１	---	---	０．１	---	---
陰性コントロール	２１．５	---	---	１８．６	---	---
番号１	６．５	７０	+	１３．６	２７	—
番号２	４．６	７９	+	１４．２	２４	—
番号３	６．６	７０	+	１８．１	３	—
番号４	１５．８	２７	—	１７．３	７	—
番号５	１６．２	２５	—	１５．９	１５	—
番号６	１８．９	１２	—	１６．５	１２	—
番号７	１９．６	９	—	１５．６	１６	—
番号８	１８．０	１６	—	１６．５	１２	—

20

測定値*：nmol/(L・s)

表２は、実施例１の結果を示したものである。表２から明らかなように、サリチル酸を共存させていない場合（試薬Ａ）では、３つの生体由来試料（番号１、２及び３）でＩＮＨ％は７０％程度となり、陽性が疑われたが、サリチル酸を共存させた場合（試薬Ｂ）では、８つの生体由来試料の全てについてＩＮＨ％は５０％未満となり、前記３つの試料についても全て３０％以下となって陰性であることが示唆された。

40

【００２７】

本実施例で使用した生体由来試料は、前記の通り、市販のＢ型肝炎に関する物質（マーカー）測定用の免疫測定試薬を用いた試験においてその存在が認められず、かつ、Ｂ型肝炎の病歴のない者から取得したもので、本来、陰性を示唆する結果が得られるはずである。にもかかわらず、サリチル酸を共存させていない場合（試薬Ａ）では、ＨＢｃ抗原とＨＢｃ抗体の免疫反応が妨害された結果、担体に結合していないアルカリ性フォスファターゼ標識ＨＢｃ抗体が増加し、ＩＮＨ％が増加したものと考えられる。

【００２８】

実施例 2

実施例１で使用した反応カップに代えて、ＨＢｃ抗体（マウス由来、モノクローナル抗

50

体)を吸着により固定化した直径が約1mmの樹脂担体、標識物としてアルカリ性フォスファターゼを化学的に結合したHBc抗体(マウス由来、担体に結合した抗体とは異なるモノクローナル抗体)及びHBc抗原(遺伝子組換え抗原)を分注後、凍結乾燥した反応カップ(試薬A)と、当該カップに更に最終濃度で2%(重量%)となるようにサリチル酸を添加した反応カップ(試薬B)を用い、実施例1と同様の操作を実施した。その結果、計算されたINH%に多少の変動はあったが、表1と概ね同様の結果が得られた。この結果からサリチル酸は、凍結乾燥の形態で準備される免疫測定試薬においても、その効果を失わないことが分かる。

【0029】

実施例3

HBc抗体の免疫測定試薬を製造する過程で「指標」として用いられる感度パネル(BOSTON BIOMEDICA, INC. Anti-HBc Total Mixed Titer Performance Panel (PHG201))を用い、サリチル酸の効果を調査した。

【0030】

実施例1と同様にして、サリチル酸を共存させていない場合(試薬A)とサリチル酸を共存させた場合(試薬B)のそれぞれにおいて、前記パネル(25本セット)中のHBc抗体を測定した。

【0031】

【表 3】

	試薬A		試薬B	
	INH%	判定	INH%	判定
PHG201-01	78	+	80	+
PHG201-02	2	-	9	-
PHG201-03	100	+	92	+
PHG201-04	70	+	70	+
PHG201-05	96	+	96	+
PHG201-06	96	+	97	+
PHG201-07	100	+	100	+
PHG201-08	100	+	100	+
PHG201-09	100	+	100	+
PHG201-10	100	+	100	+
PHG201-11	100	+	100	+
PHG201-12	72	+	63	+
PHG201-13	68	+	74	+
PHG201-14	84	+	84	+
PHG201-15	100	+	100	+
PHG201-16	98	+	100	+
PHG201-17	100	+	100	+
PHG201-18	86	+	85	+
PHG201-19	100	+	100	+
PHG201-20	9	-	12	-
PHG201-21	100	+	96	+
PHG201-22	100	+	100	+
PHG201-23	97	+	88	+
PHG201-24	70	+	67	+
PHG201-25	100	+	100	+

表3は実施例3の結果を示したものである。表3から明らかなように、試薬Aと試薬Bは両者とも同等のINH%を示しており、試験の感度及び検出能はサリチル酸の共存によって影響を受けていないことが分かる。なお、実施例1及び本実施例の結果から考えて、本実施例で用いたパネルには、実施例1で用いた生体由来試料中に存在していると思われる「妨害物質」が含まれていないことが示唆される。

フロントページの続き

(56)参考文献 特開2001-221802 (JP, A)
特許第2945025 (JP, B2)
特許第3847257 (JP, B2)
特開2002-277472 (JP, A)
特公平03-076422 (JP, B2)
特公平08-001433 (JP, B2)
特開平07-311200 (JP, A)
特開平11-248702 (JP, A)
特開平05-209883 (JP, A)
特開平06-167499 (JP, A)
特開平07-072153 (JP, A)
特開昭63-157060 (JP, A)
特開平08-145998 (JP, A)
特開昭59-023252 (JP, A)
特開平02-302667 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/576
G01N 33/53
G01N 33/531

专利名称(译)	测量乙型肝炎病毒核心抗原或抗体的抗体的方法		
公开(公告)号	JP5163883B2	公开(公告)日	2013-03-13
申请号	JP2008142587	申请日	2008-05-30
[标]申请(专利权)人(译)	东曹株式会社		
申请(专利权)人(译)	Tosoh公司		
当前申请(专利权)人(译)	Tosoh公司		
[标]发明人	河合信之 新谷晃司		
发明人	河合 信之 新谷 晃司		
IPC分类号	G01N33/576 G01N33/53 G01N33/531		
FI分类号	G01N33/576.B G01N33/53.N G01N33/531.B		
审查员(译)	三木隆		
其他公开文献	JP2009288149A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了一种在免疫测定方法中抑制干扰免疫反应的物质如乙肝病毒核心抗原的影响的方法。在使用乙型肝炎病毒核心抗原与其抗体之间的免疫反应的乙型肝炎病毒核心抗原等免疫测定方法中，水杨酸或其盐可与干扰免疫反应的物质共同作用。如何压制。[选择图]无

	試薬A			試薬B		
	測定値*	INH%	判定	測定値*	INH%	判定
陽性コントロール	0.1	---	---	0.1	---	---
陰性コントロール	21.5	---	---	18.6	---	---
番号1	6.5	70	+	13.6	27	-
番号2	4.6	79	+	14.2	24	-
番号3	6.6	70	+	18.1	3	-
番号4	15.8	27	-	17.3	7	-
番号5	16.2	25	-	15.9	15	-
番号6	18.9	12	-	16.5	12	-
番号7	19.6	9	-	15.6	16	-
番号8	18.0	16	-	16.5	12	-

測定値*: nmol/(L・s)