

〈虚血性心疾患のマーカー〉

心筋虚血における心臓マーカーのリスクレベルと予知マーカー (特にホスホグリセリン酸ムターゼ)

米田 孝司¹⁾、内田 浩二¹⁾、片山 善章²⁾

Cardiac marker levels for risk stratification in myocardial ischemia and predictive markers (especially phosphoglyceric acid mutase)

Koji Yoneda¹⁾, Koji Uchida¹⁾ and Yoshiaki Katayama²⁾

Summary Further clarification is needed to better understand the characteristics and measurement of biochemical indicators in predicting the prognosis of ischemic heart disease. The cardiac markers reported in human plasma are used as a diagnostic index of low, acute myocardial infarction (AMI) and minor strokes as well as to report the usefulness of a predictive marker. The cardiac predictive marker level is a powerful, independent risk marker in patients who present with myocardial ischemia, thus allowing further stratification of risk when combined with standard measures such as the CK-MB level.

Phosphoglyceric acid mutase (PGAM; EC 5.4.2.1) consists of two subunits of types M and B in the same manner as CK (EC 2.7.3.2). Examining the three types of PGAM isoenzyme, the PGAM-MM muscle type, PGAM-MB myocardial type, and PGAM-BB brain type, PGAM activity was found to be stable at 25°C. To our knowledge, there has been no report that studied human serum PGAM as a marker of myocardial ischemia. We studied changes of the PGAM isoenzyme mass in 16 patients with AMI who were hospitalized within 6 hrs after onset, 18 with unstable angina pectoris (UAP), and 5 with open heart surgery, and reviewed the possibility of early diagnosis with AMI. Moreover, we examined changes in the cardiac markers of coronary effluent during the period of Langendorff reperfusion and the infarct size of rabbit myocardium, and conducted a study of the unknown causes of Kawasaki disease.

Key words: Phosphoglyceric acid mutase, Acute myocardial infarction, Cardiac predictive markers

¹⁾オリエンタル酵母工業株式会社 長浜事業所
〒526-0804 滋賀県長浜市加納町50番地

²⁾神戸常盤大学
〒653-0838兵庫県神戸市長田区大谷町2-6-2

¹⁾Nagahama Branch Oriental Yeast Co., Ltd.,
50 Kano-cho, Nagahama-shi, Shiga 526-0804, Japan

²⁾Kobe Tokiwa University,
2-6-2 Ohtani-cho, Nagata-ku, Kobe, Hyogo 653-0838,
Japan

I. はじめに

急性冠症候群 (acute coronary syndrome: 以下ACS) には急性心筋梗塞、不安定狭心症、心臓突然死などの疾患群が含まれ、冠動脈プラークの崩壊や血栓形成により冠動脈閉塞となる。心筋梗塞に陥った症例での死亡例の45%は発症後1時間以内に起こり、70%は最初の24時間以内に起きていますので心筋マーカーは早期診断が非常に重要である。出来れば虚血性心疾患の予知マーカーで対応を早くする必要があります。Phosphoglyceric acid mutase (PGAM, EC: 5.4.2.1)¹⁾やcreatine kinase (CK)、CK-MB²⁾は心筋細胞の壊死および損傷時に上昇するので冠動脈バイパス術などの開心術時や急性心筋梗塞 (AMI) 症などの心筋障害時の急性期診断指標として報告されているが、AMIの診断は心疾患の組織障害時での急性期から予後までの幅広い診断指標が必要であり、AMI時には図1のような各種心筋マーカーの経時変化³⁾を示す。Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP)⁴⁾やMyoglobin (MGB)⁵⁾、mAST/sAST比⁶⁻⁷⁾、CK-isoform⁸⁾はAMI発症後の超急性期診断や再灌流成否判定に有用であり、PGAM (MW: 6万)、AST (MW: 9.4万)、CK (MW: 8万)、LD (MW: 14万) の順に分子量が小さいので血中に逸脱する。Troponin-T (TnT、分子量39,000)⁹⁾はTフィラメント構成蛋白であり、約6%が細胞質に可溶化され、心筋障害により細胞膜透過性が増大し血中へ流出する。さらに組織破壊すると構成している不溶

性画分が血中へ流出する。LD-1¹⁰⁾や心筋と骨格筋でアミノ酸組成が異なるTnT、Troponin-I (TnI)¹¹⁾はAMI発症後の異常停滞時間が長いので慢性心機能評価や梗塞量の堆定に有用である。これらの組み合わせによりAMIの発作時間に関係なくAMIの診断価値が高まる。2000年には米国心臓学会 (ACC) とヨーロッパ心臓病学会 (ESC) はTnT、TnIの上昇を含めた心筋梗塞の診断基準を改定した。従って、CKなどが少しの高値を示す不安定狭心症などがAMIとして診断されることも多くなった。ACC/AHA (米国心臓協会) ガイドライン¹²⁾では症状の発現から3時間以内が基準値でも8~12時間に再検することになっている。心筋マーカーとして、MGBとH-FABP、PGAMとCK-MB、TnTとTnIという非常に似た項目の使い分けは非常に難しい問題を残している。それらを理解するためには虚血性心疾患の予知から予後までの生化学的指標の特徴と測定法について知る必要がある。虚血性心疾患の予知から予後までの生化学的指標の特徴と測定法について知る必要がある。また、ヒト血漿中PGAMを診断指標として用いている報告は少なく、AMIや微少梗塞だけでなく、予知マーカーとしての有用性を報告する。

II. 虚血性心疾患の各種予知マーカーの概略

虚血性心疾患の予知マーカーとして、血管内皮細胞に関係する因子であるレムナントリポタンパク、高感度CRP、微生物 (コキシサッキーウ

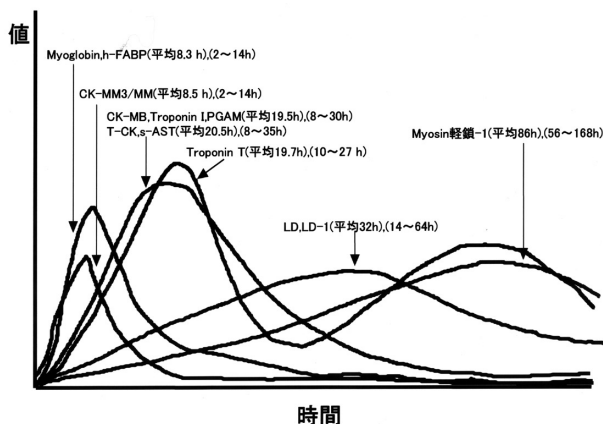


図1 心筋梗塞時における各種生化学的マーカーの経時変化

イルス、サイトメガロウイルス、クラミジアなど)、炎症性サイトカイン (IL-1、IL-6、TNF- α)、接着分子¹³⁾ (ELAM、VCAM、ICAMなど) や遺伝子検査 (Angiotensin converting enzyme、p53、ALDH2、ANP、BNP、prostacyclin synthase、endothelial nitric oxide synthase、TroponinT2 sequence、転写因子など) と幅広く、我々はsELAMが心筋梗塞の予知マーカーとしてすぐれていることを報告した。虚血状態を反映するマーカーとしてSODなどフリーラジカルのスカベンジャーがあり、炎症を伴うのでアミロイドAやCRPも徐々に上昇し、interloikin-6は比較的早い。冠動脈プラーク検出にはpregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A)⁸⁾、placental growth factor (PLGF) などが提唱され¹⁴⁾、hepatocyte growth factor (HGF) や血栓形成に関するt-PA¹⁵⁾ やD-ダイマー¹⁶⁾も重要な因子である。血中BNP¹⁷⁾は左心室収縮末期容積に正相関し、左心室駆出率に逆相関するので心不全の重症度、治療効果、左室のリモデリング、糖尿病性無症候性心疾患のようにスクリーニングや予知から予後判定の臨床的指標として期待される。

Ⅲ. 心筋マーカーの特徴と使い分け

生化学的検査の長所として、①心筋壊死部の梗塞量が把握でき、②再灌流療法の成否判定がある程度可能、③再梗塞の判断が可能、④虚血の程度を知ることができる、⑤自覚症状や電気的、機械的異常だけで診断評価が困難な場合に有用などがある。また、生化学的検査の短所として、①診断可能な(陽性を示す)時期が限定

され、②測定時間に(半定量な迅速法から外注まで)タイムラグを生じ、③骨格筋細胞由来のマーカーと鑑別しにくい(類似物質との交差性)、④疾患や薬剤の影響を受け、⑤Washout効果による梗塞量の見誤りなどがある。

では、心筋梗塞診断に優れた心筋マーカーとは、①本来血清中にはあまり多くなく、心筋細胞に豊富に含まれていて、②心筋以外にはほとんど存在しないで、③心筋の障害により容易に血中に流出し、④心筋障害により速やかに血中で上昇し、血中濃度の高値を長時間持続し、⑤どこでも簡便かつ迅速に測定できることが理想である。

その理想に近づく現在市販の各種心筋マーカーの使い分けには、①心筋梗塞の早期診断に適しているものとして測定時間が短く、24時間検査可能な早期に陽性を示すマーカー、②発症後時間経過した場合に適しているものとして発症後長期にわたり異常高値を示すマーカー、③骨格筋壊死との鑑別が必要な症例に適しているものとして疾患特異的なマーカー、④再梗塞の診断に適しているものとして測定値の上昇や下降が比較的鋭敏なマーカー、⑤梗塞量、重症度の把握に適しているものとして冠動脈再疎通時のWashout効果を受けないマーカー、⑥微小梗塞(虚血)を反映しているものとして低分子のマーカー、⑦再灌流療法の成否判定に適しているものとしてピークを過ぎていないで、下降時を3、4ポイント採血できるマーカーに分けられる。

具体的には、冠状動脈に血栓が詰まると無酸素状態になり心筋虚血状態を経て心筋梗塞になるので、虚血状態から梗塞時の把握するマーカー

表1 心筋マーカーにおける各種簡易分析試薬

試薬・簡易器名	Myoglobin	CK-MB mass	Troponin-T	Troponin-I	H-FABP
RapChek H-FABP	×	×	×	×	△
Troponin ISTAT-PAK	×	×	×	△	×
TropT	×	×	△	×	×
Biocard	×	×	×	△	×
Cardiac STATus	▲	▲	×	×	×
Cardiac Reader	○	×	○	×	×
Spotchem CM	●	●	×	●	×
Evanet-EV20	○	○	×	×	×
Opus	○	○	×	○	×
Stratus CS	●	●	×	●	×

×:測定非可能 △:単独定性 ▲:同時測定 ○:単独定量 ●:同時定量

ーとして、次のマーカーに大きく分けられる。細胞質中に可溶性蛋白として存在するAST、CK (CK-MB)、CK isoform、LD (LD-1, 2)、MGB、HFABP、PGAM、ミトコンドリアやライソゾームの細胞内小器官内に存在するm-AST、NAGなどの酵素、心筋細胞の構造蛋白であるMyosin軽鎖-1 (MLC-1)⁵⁾、TnT、TnIなどの心筋逸脱蛋白が従来より生化学的指標として評価されていた。特に、これらのAMI時における主な診断的評価は、再灌流療法の成否判定 (治療方法の成果)、早期診断、梗塞量の算出である¹⁸⁾。

IV. 免疫クロマトグラフィ法による心筋マーカー測定

心筋梗塞の早期診断に適している測定時間が短い測定には免疫クロマトグラフィ法があり、表1にPoint of Care Testing (POCT) としての各種分析試薬と心筋マーカー項目および定量性を示す。この方法とは、浸透現象により移動中の検体 (抗原) と色素 (金コロイド粒子) 標識抗体 (マウスモノクローナル) が免疫複合体を形成し、合成膜上の固相抗体とさらにサンドイッチ免疫反応が行われ、その色素を確認する。特徴として、手のひらサイズの試薬に検体 (全血および血清) を添加後、一定 (短) 時間後に色

の有無を目視判定できるので操作が簡便かつ迅速に測定可能である。

長所は、①いつでも実施でき、②どこでも実施でき、③誰でも実施でき、④少量 (25-100 μ l) で測定でき、⑤迅速 (15分程度) で測定でき、⑥試料は血清でも全血でも利用可能なものが多く、⑦試薬が室温保存なので管理しやすく、⑧測定機器を必要としないところである。

短所は、①単項目測定が多く、②検体添加後は決められた一定時間を厳守が必須、③抗原抗体反応を原理とし試薬と検体が直接反応するの

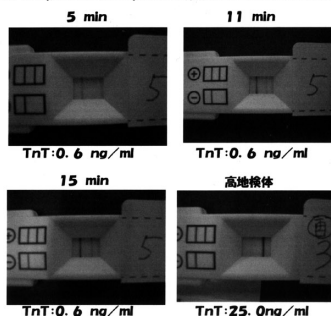
表2 H-FABP (定性・定量) と他の心筋マーカー (定性・定量) の陽性率の比較

心筋マーカー (定性・定量)	陽性率 (%)
H-FABP (定性)	88% (69/78)
Troponin-T (定性)	88% (69/78)
Myoglobin (定性)	83% (65/78)
CK-MB mass (定性)	65% (51/78)
H-FABP (定量)	88% (69/78)
Troponin-T (定量)	90% (70/78)
Troponin-I (定量)	96% (75/78)
Myoglobin (定量)	85% (66/78)
CK-MB mass (定量)	68% (53/78)

A) CARDIAC STATusによるCK-MB, Myoglobin同時測定



B. TropTIによるTroponinT陽性バンドの出現と高値時



C. コントロール血清を用いたBiocardによるTroponin-I測定



D. Rapichek-HFABPによるHFABP測定の概観

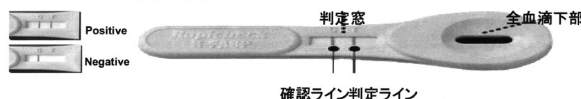


図2 免疫クロマトグラフィ法による各種心筋マーカー簡易試薬

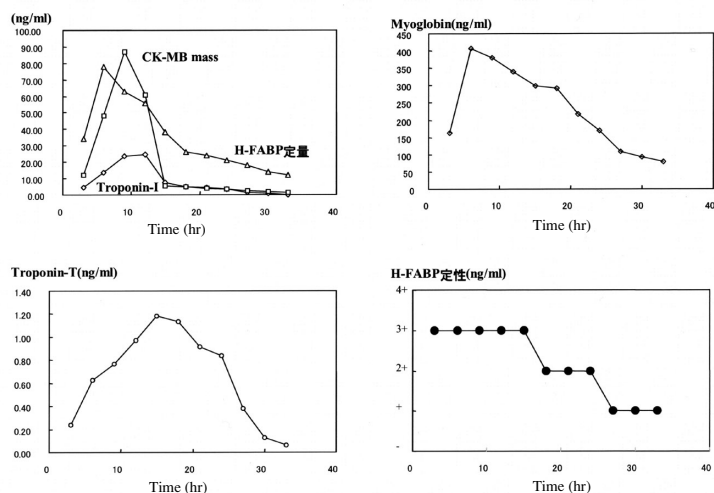


図3 心筋梗塞発症後における血中への遊出動態

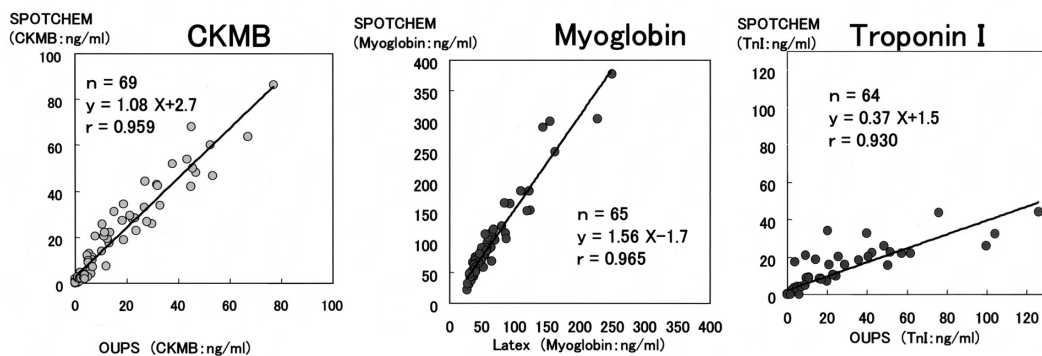


図4 SPOTCHEMと従来法との相関

で非特異反応が生じ易く、④マウスモノクローナル抗体使用時はHAMAなどの影響を受け、⑤感度が落ち、⑥強度溶血検体は赤紫色（金コロイド粒子）の判定時に影響を与え、⑦全血試料時、ヘマトクリットの高い患者、高タンパク濃度、さい帯血（ウェルトンゼリー）は粘性が高く、展開速度が遅くなるのでコントロールラインの確認が必要、⑧確認するための理想的なコントロールがないなどである。

その他に、①判定時間を延長することにより感度を上昇させるが、施設毎に検討し診断基準と比較することが必要となり、②迅速なので、緊急時または確認試薬としても使用可能であり、③目視判定なので客観性に乏しく、特に検出限界領域の検体は注意を要する。

免疫クロマトグラフィ法の操作は、検体（全血又は血漿）を約0.15 ml添加し15分以内に結果が判定できるものが多く、検体量は能書よりも幅広く添加可能であるが、判定までの時間は所定の時間を必ず守ることが必要である。市販されているものにTropT (TnT)¹⁹⁾、ラピチェックH-FABP⁴⁾ (H-FABP)、Cardiac STATus (MGB, CK-MB)、SPOTCHEM (MGB, CK-MB, TnI)²⁰⁾などがあり、図2に実物を示した。母集団にもよるが、これらを使用した時の定性と定量のAMI陽性率の比較は表2のように殆ど同等であり、AMIにおける心筋マーカー（定性・定量）の血中流出動態を図3に示した。TropT（図2-B）のように全血（TnT: 0.6 ng/ml）添加時は5分後でも判定できる場合があり、高値検体（TnT:

25.0 ng/ml) ではコントロールバンドが出現しない。また、Biocard (図 2-C) のTnIではメーカー使用のスタンダードによって判定が異なるなど問題が多い。SPOTCHEMと従来法との相関は図 4 のようにMGBとTnIの回帰式の傾きがあり、この問題は図 5 のようにTnIとTnCの複合体を測定するかFree-TnI²¹⁾を測定するかによっても異なるので、抗体や標準物質の標準化が急がれる。

V. 一般的心筋マーカーの測定法

病院の臨床検査室では最終検出方法は異なるもののサンドイッチEIA法が主流で、大型から卓上型まで自動分析装置により簡便かつ迅速に行われている。高感度測定が可能な化学発光法を原理とする測定法はアルカリ条件化にて発光

させるので、洗浄液が次亜塩素酸Naなどの強アルカリを使用した場合には十分な洗浄または中和が必要である。1 または 2 ポイントキャリブレーション法の場合には多数の標準を測定しなくても検量線を作成できる反面、キャリブレーションや試薬の劣化に気づく場合が少ないため、管理検体による発光強度は日々低下などしていないか観察および精度管理する必要があり、試料の取扱、手技、測定上の留意事項など注意が必要である²²⁾。

VI. PGAMの特徴

PGAMは嫌氣的解糖系酵素の一つであり、2,3-ビスホスホグリセリン酸 (2,3-BPG) を補酵素とし、2-ホスホグリセリン酸 (2-PG) と3-ホス

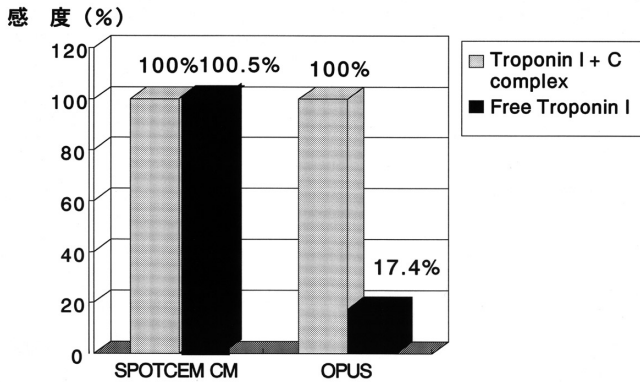


図 5 Troponin Iの形態による感度の比較

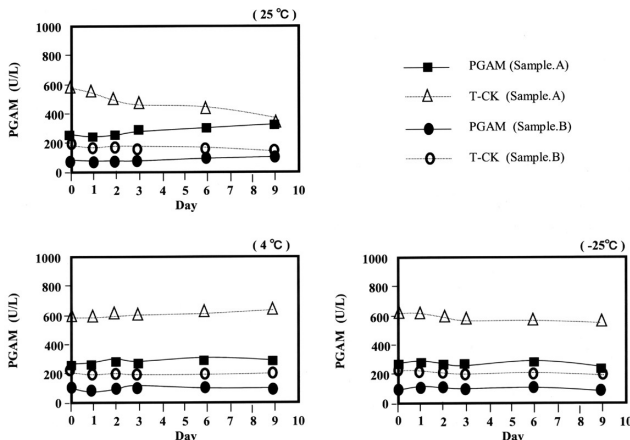


図 6 患者血清 2 検体を用いた総PGAM活性と総CK活性の保存安定性

ホグリセリン酸 (3-PG) の相互作用を触媒する。PGAMには活性化に2,3-ビスホスホグリセリン酸を補酵素として必要なタイプと必要としないタイプがある。一般的に、哺乳動物や微生物は補酵素を必要とし、植物は必要としない。また、補酵素依存型のPGAMはmutase活性以外に弱いながらもsynthase活性 (3-PGと1,3-BPGから2,3-BPGを合成)とphosphatase活性 (2,3-BPGを3-PGに分解)を有する。この酵素は哺乳動物では別々の遺伝子にコードされた分子量約3万のMサブユニットとBサブユニットの二量体により構成され、両者のアミノ酸シーケンスには80%のホモロジーがみられている。このダイマザイムは分子量約6万からなる3種類のアイソザイムが存在する²³⁾。MM型は骨格筋に、BB型は脳、肺、腸、肝臓、腎臓、赤血球に多く存在し、心筋にはMB型がMM型やBB型と共に存在する。これらのアイソザイムの構成および存在部位はCKと非常に類似しているが、正常血清中PGAMは殆どがBB型となり相反する。また、図

6のように室温ではCKよりも非常に安定であった。

PGAM-Mサブユニットの活性中心はシステインであり、この部位が四チオン酸Kのような酸化剤により失活するが、Bサブユニットの活性中心はセリンであるので失活しない。したがって、1 mM 四チオン酸Kにて処理すると、PGAM-MM、BBはそれぞれ0.06%、100%示し、この失活したPGAM-MMは10 mM DTTにより78%の活性を示した。

Ⅶ. PGAM測定

PGAM総活性測定はBergmeyerらの方法²⁴⁾を一部改良して行い²⁵⁾、PGAM-Bサブユニット活性、PGAM-Mサブユニット活性測定は我々の四チオン酸Naによる阻害法²⁶⁾により行った。血漿 5 μl と第一試薬 (potassium tetrathionate: 10 mM) 300 μlを37℃、10分間インキュベーション後、第二試薬 (終濃度; 1 mM MgSO₄, 0.12 mM G-2,3-P₂, 4.7 mM G-3-P, 1 mM KCl, 0.2 mM NADH, 0.6 mM ADP, 9.4 KU/l LDH, 1.4 KU/l enolase, 1.4 KU/l PK) 60 μlを加え、37℃、5分間反応させNADH (340 nm) の減少を測定し、PGAM-Bサブユニット活性を求める。Total-PGAMは第一試薬に蒸留水を用いる。なお、PGAM-Mサブユニット活性はtotal-PGAM活性からPGAM-Bサブユニット活性を差し引いた値を示す。現在はこれらのPGAM活性測定試薬としてオリエンタル酵母工業株式会社より市販 (図7) されており、基礎的検討などの記載がある。なお、PGAM-MM蛋白測定は自家調整ELISA法²⁷⁾により実施した。



図7 総PGAM活性およびPGAM-B活性測定試薬のパンフレット

Ⅷ. 急性心筋梗塞時における経時変化と不安定狭心症におけるPGAM

AMI時のPGAM活性の経時変化をCK-MB活性やASTと比較した結果、図8に示すように発作後17時間でピークを示し、良く似た推移を示した。PGAM-MMは開心術 (n=70)、AMI (発作後24時間、n=16)、AMI (入室時、n=16)、AMI (発作後4週間、n=16)、不安定狭心症 (n=18)、正常人 (n=13) の順にPGAM-MM蛋白量は高値を示した。以上より、PGAM-MM蛋白量は虚血時に上昇し、開心術やAMI時に高値を示し有用

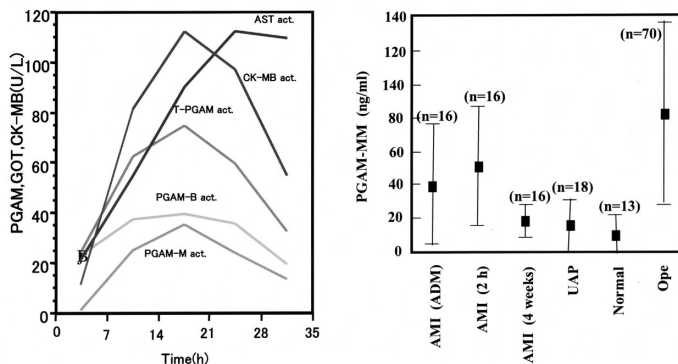


図8 急性心筋梗塞時における血清PGAM値とCK-MB値の推移（左図）および急性心筋梗塞時、不安定型狭心症、開心術患者との比較（右図）

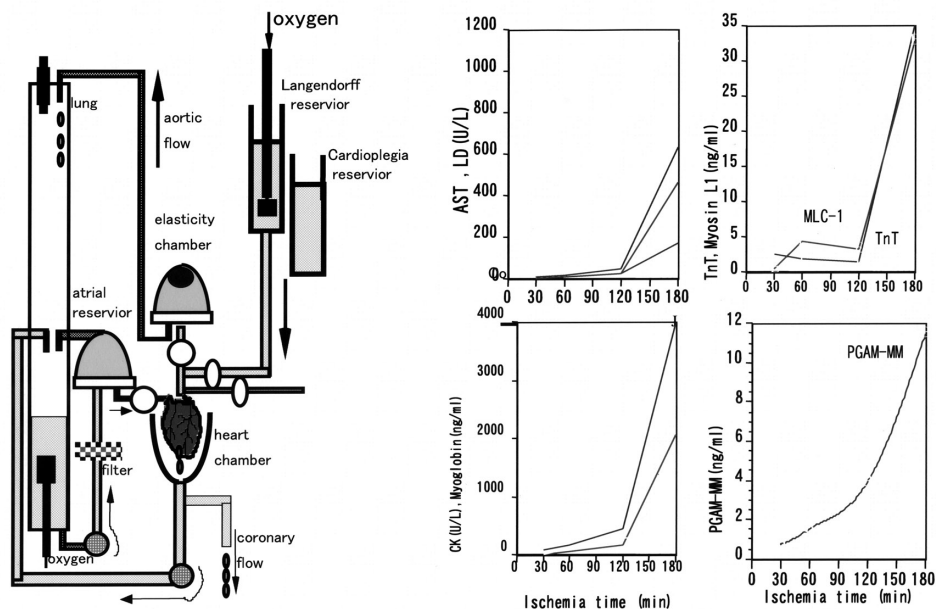


図9 ランゲンドルフ心臓摘出実験（左図）と心筋マーカーの経時変化（右図）

と考える。

Ⅸ. ランゲンドルフ心臓摘出実験による各種心筋マーカー

ウサギを用いたランゲンドルフ心臓摘出実験（図9-左）による各種心筋マーカーと虚血時間との関係はCK-MB活性、TnT、MLC-1、sAST、mASTは虚血後30～120分までは少しの上昇しか示さないが120分以上で急上昇を示した（図9-

右）。これに対して、PGAM-MM蛋白量は虚血後30分から比較的高い上昇率を示し、他の心筋マーカーよりも虚血を反映する結果が示唆された。

Ⅹ. 川崎病疾患におけるPGAM活性測定の意義

川崎病は急性期に発熱や発疹を示すことが特徴の急性熱性疹であり、日本人に多く、毎年増加傾向にあり、年間8,267人（2000年の全国調

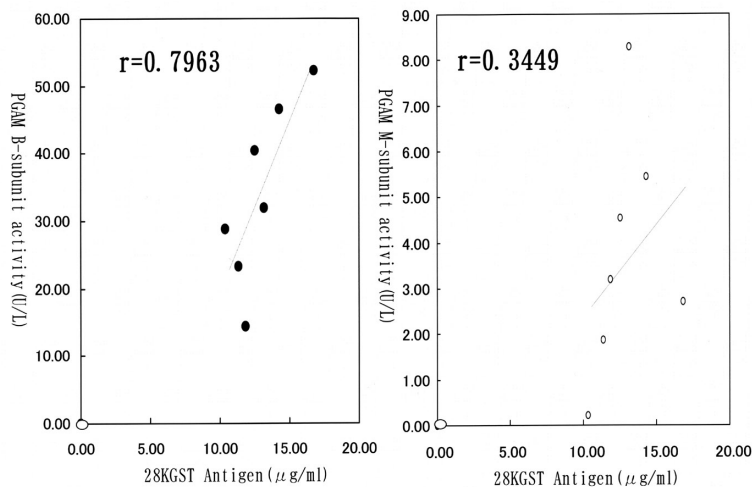


図10 川崎病患者における28KGST抗原とPGAM BおよびM活性の相関性

査)、乳幼児の4歳以下が8割以上で男子の方が多い。川崎病の後遺症として心障害を残したものが6%あり、全身の血管炎を特徴とし、治療しないと25%は冠動脈瘤を合併する。川崎病の原因は明らかでないが、心臓の後遺症を残すということで早期の正確な診断が急務であるが、生まれてすぐに心臓病や冠動脈瘤を起こす疾患という観点より心筋梗塞の原因および予知的な検査に関連すると考えられる。そこで、臨床的に確定されたマーカーとして少ない川崎病患者におけるPGAM B活性測定診断的有用性について検討を行った。原因不明の川崎病は28KGST抗原と関連があり²⁸⁾、28KGST抗原ELISA測定に使用した28KGST抗原および抗体と川崎病患者試料(n=7)は大津英二(北里大学医学部小児科)助教授らにより提供して頂いた。その結果、川崎病患者における28KGST抗原とPGAM B活性、PGAM M活性、total PGAM活性の相関を検討した結果、それぞれ $r=0.796$ 、 $r=0.345$ 、 $r=0.670$ となり、PGAM B活性との関連が示唆された(図10)。したがって、PGAMは心筋梗塞の予知マーカーになる可能性があると考えられる。

文献

- 1) 米田孝司: ホスホグリセリン酸ムターゼ, ビスホスホグリセリン酸ムターゼ. 広範囲 血液・尿化学検査, 免疫検査 その数値をどう読むか. 日本臨床社, 第6版, 1: 463-465, 2004
- 2) 米田孝司, 森脇貴美, 片山善章: 心筋梗塞症のCPK流出状況におけるCK-MB蛋白量と活性値の研究. 生物試料分析, 12: 117-123, 1990
- 3) 米田孝司, 片山善章: 心筋梗塞症における生化学的指標. 生物試料分析, 17: 289-294, 1994
- 4) 大軽靖彦, 竹下 仁: 心筋マーカーH-FABPのPOCTの臨床的有用性. 検査と技術, 32: 284-285, 2004
- 5) 米田孝司, 太田直孝, 初山弘幸, 他: 全自動Magnetic Particle Immunoassay "QUARTUS"によるMyoglobin, Myosin light chain測定基礎的検討. 臨床検査機器・試薬, 16: 891-899, 1993
- 6) Yoneda K, Kawata Y, Moriwaki K, et al.: Early detection of successful reperfusion by mitochondrial-AST/soluble-AST ratio after acute myocardial infarction. Progress in Clin. Biochem., 915-916, 1992
- 7) Yoneda K, Katayama Y, Koike T et al.: A homogeneous assay system of aspartate aminotransferase iso-enzymes using proteases and application for clinical evaluation of myocardial infarction. J. Clin. Lab. Anal., 6: 362-367, 1992
- 8) 米田孝司, 森脇貴美, 河田与一, 他: Creatine Kinase isoform測定による急性心筋梗塞後の再灌流および再発作検出の早期診断. 臨床病理, 39: 389-397, 1991
- 9) 米田孝司, 河田与一, 森脇貴美, 他: トロポニンT測定による急性心筋梗塞時の診断的評価および再灌流成否判定に関する研究. 医学と薬学. 26: 505-518, 1991
- 10) 米田孝司, 森脇貴美, 片山善章, 他: LD-1試薬 A 「コ

- クサイ」の基礎的および臨床的検討. 医学と薬学, 27: 331-338, 1992
- 11) Yoneda K, Katayama Y, Ohta N: Clinical evaluation of serum troponin T and troponin I for acute myocardial infarction. *J. Anal. Bio-Sci.*, 28: 159-163, 2005
 - 12) ACC/AHA Task Force: ACC/AHA guideline for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 36: 970-1062, 2000
 - 13) 米田孝司, 森 勝志, 片山善章: 血管内皮細胞と接着分子. *臨床病理*, 46: 1142-1148, 1998
 - 14) Heeschen C, Dimmeler S, Fichtlscherer S, et al.: Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. *Jama*, 291: 435-441, 2004
 - 15) Niessner A, Graf S, Nikfardjam M, et al.: Circulating t-PA antigen predicts major adverse coronary events in patients with stable coronary artery disease-a 13-year follow-up. *Thromb. Haemost.*, 90: 344-350, 2003
 - 16) 米田孝司: 深部静脈血栓症および肺塞栓血症の除外診断におけるVIDAS D-Dimer測定の簡易診断. *生物試料分析*, 27: 363-370, 2004
 - 17) 米田孝司, 佐藤 清: Laboratory Practice [BNP検査とNT-BNP検査の使い分け]. *検査と技術*, 36: 842-847, 2008
 - 18) 米田孝司: 特集「心筋マーカー検査を知る」2. 検査の際に留意すべきことーピットホールー. *医学検査*, 55: p1029-1031, 2006
 - 19) 坂部 真由美, 米田孝司, 鈴木健治, 他: 全血中トロポニンT検出用迅速試薬"トロップTセンシティブ"の性能評価. *臨床検査機器・試薬*, 21: 321-325, 1998
 - 20) 西端正範, 米田孝司, 児玉 真由美, 他: 蛍光ドライイムノアッセイを用いたSPOTCHEM-CMによる心筋マーカー測定の評価. *臨床検査機器・試薬*, 24: 195-202, 2001
 - 21) 荻野敏行, 米田孝司, 森 勝志, 他: 緊急マルチ自動分析装置Dimension RxLを用いたTroponin-I, Myoglobin, CK-MB蛋白量測定の基礎的検討. *臨床検査機器・試薬*, 24: 109-114, 2001
 - 22) 米田孝司: 心筋マーカーMb, TnT, H-FABP, BNP一線診療のための臨床検査. *検査と技術 (増刊号)*, 33: 1300-1304, 2005
 - 23) Uchida K, Kondoh K and Matuo Y: Recombinant M- and MB-type isozyme of human phosphoglyceric acid mutase : their large-scale production and preparation of polyclonal antibodies specific to M- and B-type isozymes, *Clin. Chim. Acta*, 237:43-58, 1995
 - 24) Bergmeyer HU, Gra β IM, Water HE: Phosphoglycerical total-PGAMte mutase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd edn, Vol. II, 282-283 (1983)
 - 25) Yoneda K, Katayama Y: A rapid assay of human serum total phosphoglyceric acid mutase activity and application for clinical evaluation of acute myocardial infarction. *J. Anal. Bio-Sci.*, 27: 391-396, 2004
 - 26) Yoneda K, Katayama Y: A rapid inhibition assay of human serum phosphoglyceric acid mutase isoenzyme activity and application for clinical evaluation of acute myocardial infarction. *J. Anal. Bio-Sci.*, 27: 397-402, 2004
 - 27) Yoneda K, Katayama Y: Development of human serum phosphoglyceric acid mutase isoenzyme protein assay by enzyme-linked immunosorbent assay and application for clinical evaluation of acute myocardial infarction. *J. Anal. Bio-Sci.*, 28: 153-158, 2005
 - 28) 大津英二: 川崎病と溶連菌との関係. *小児科診療*, 59: 41-46, 1996