

血液中のイオン化カルシウムの測定に関する研究

On the standardization of ionized calcium measurements in blood

代表研究者 東京大学工学部工業化学科教授 氏平 祐輔
Dept. of Industrial Chemistry, Fac. of Eng., Univ. of Tokyo
Yusuke UJIHIRA

The measurements of ionized calcium (Ca^{2+}) concentration in serum, plasma and whole blood are meaningful than total calcium concentration from the view points of physiology and clinic, the value of which is measured at various clinical institutes and hospital, but the results obtained by the commercially available instruments using Ca^{2+} selective electrode do not coincide each other.

The calibration of the Ca^{2+} selective electrode and the distribution of standard serum, plasma and whole blood are critical to increase the accuracy and precision of analytical results.

In order to standardize both the methodology for the preparation of Ca^{2+} selective electrode, and reference or standard materials for the reliable and precise measurement of Ca^{2+} in blood, influence of the cation (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+}), anions (HCO_3^- , PO_4^{3-} , lactate⁻, citrate³⁻), protein (albumin), and anticoagulant of blood (heparin) were investigated using nine Ca^{2+} analyzer sold in the market.

The noticeable difference in the analytical data were not recognized as Ca^{2+} concentration measured for aqueous standardized solution (modified primary calibration solution). However, the presence of albumin caused considerable difference in the observed figures obtained by the individual instrument.

The greater difference of measured value were observed among the instruments tested in the Ca^{2+} measurement of serum and whole blood.

The experimental evidence confirmed that the reasons for the noticeable difference in the analytical results can be attributed to the difference of the computer assisted correction procedures incorporated in the respective instrument as well as the difference caused by the interaction between electrode materials (film, Ca^{2+} sensing materials and plasticizer) and the protein present in the serum and whole blood.

The introduction of the standardization of the instrumental details, and the preparation methods of modified primary calibration solution with and without the presence of albumin, standard serum and standard blood for ionized calcium will continue following our experiments.

人体中のカルシウム

カルシウムは人体の酵素反応, 血小板の凝固, 細胞の生育や分裂, 興奮の伝達, 神経線維による情報伝達, 筋肉の収縮など生命機能の根源に関わっており, 骨, 血液, 細胞外液, 細胞内液間で巧妙に分布, 移動している¹⁾.

人体中のカルシウムの大部分 (~25 mol, ~1 kg) は Ca-hydroxyl-apatite $\{\text{Ca}(\text{OH})_2\}_3\text{Ca}(\text{PO}_4)_2\}$ 結晶の形で骨にストックされ, このうち~100 mmol (数 g) が代謝活性で, 1日におおよそ 1/2

に当たる~50 mmol が血漿や体液など細胞外液中のカルシウムと交換している。

細胞外液のカルシウムの約半分は蛋白質と結合しているが, 残りの半分はイオン状態 (Ca^{2+} と記しイオン化カルシウムと呼ぶ) である²⁾。

細胞外液に含有される各種の蛋白質とカルシウムの化合物の結合定数は $\sim 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1}$ で, Ca^{2+} 濃度は $1 \sim 2 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ である。人体の基本構成成分である細胞の内部に存在するカルシウムの全量は~25 mmol であり, 大部分はカルモ

ジュリンなど Ca^{2+} 受容蛋白質と結合している。細胞内の Ca^{2+} -蛋白質の結合定数は $\sim 10^{-7}$, Ca^{2+} 濃度は $0.1 \sim 1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ で、細胞の内外と Ca^{2+} 濃度の比は約 10,000, Ca-蛋白質の結合定数の差も極めて大きい。

血漿や体液中のカルシウムの多くは蛋白質と結合しているが、生体機能は Ca^{2+} による。人体内のカルシウム輸送²⁾

細胞外液の Ca^{2+} 濃度は、情報伝達物質の働きによりコントロールされる。血液中の Ca^{2+} 濃度が減少すると副甲状腺ホルモン (PTH) が分泌され、骨に貯蔵されたカルシウムが血中に供給し血液中の Ca^{2+} 濃度が上昇する。

紫外線を浴びたり、カルシウムを含んだ食品を摂取すると活性型ビタミン D が生成され、カルシウムの腸管からの吸収、骨からの供給が促され、血漿中のカルシウム濃度が上昇する。

血漿中の Ca^{2+} が上昇すると、カルチトニン (CT) が分泌され、骨からのカルシウムの供給が制御され、また腎臓からの Ca^{2+} の排泄が促進される。

細胞中の Ca^{2+} の挙動³⁾

細胞外への Ca^{2+} の汲みだしは、ATP の加水分解反応のエネルギーを使って Ca^{2+} ATPase が濃度勾配を逆らって移動するカルシウムポンプおよび細胞外から細胞内に Na^+ が 3 個入り、 Ca^{2+} が 1 個出る Na^+ - Ca^{2+} 交換反応に依る。

カルシウムの高感度蛍光試薬 fura2, fura2-AM や Fluo3, Fluo3-AM などの開発と画像処理技術の組合せにより細胞内の極微量の Ca^{2+} の測定が可能になって以来、細胞内における Ca^{2+} 濃度と細胞の機能とを関係づける研究が進展している⁴⁻⁶⁾。

血液中のカルシウムの状態²⁾

カルシウムの 37~38% は蛋白質と結合 (28~29% はアルブミンと、8~9% はグロブミンと結合) しており、割合は pH, 蛋白質濃度によって変わる。カルシウムの $\sim 10\%$ は (コンプレックス型カルシウム) といわれ、大部分は CaHCO_3^+ であるが、クエン酸、乳酸などと結合したカルシウムもある。血液中のカルシウムのほぼ 1/2 が Ca^{2+}

であるが、 Ca^{2+} の活量係数が 1 以下であり、イオン強度で $0.16 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ なので、 Ca^{2+} 電極がイオンとして識別する活性化カルシウム (Ca^{2+}) は、このうちの 1/3 で残りの 2/3 は電氣的に安定な Ca^{2a+} である。現在、血液中の健康な成人の Ca^{2+} 濃度は、pH 7.4 付近で血清: $1.17 \sim 1.27 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, 静脈血: $1.18 \sim 1.32 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, 毛細管血: $1.15 \sim 1.29 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ である。

血液中の Ca^{2+} 濃度と疾病⁷⁾

$1.3 \sim 2.5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ であれば高カルシウム血症で、癌の骨転移、骨髄腫、Paget 症、無重力状態、甲状腺機能抗進症、アジソン病、カルシウムの摂取不足、日照不足などによる骨の融解が起こっており、神経や筋、精神状態に症状が現れ、尿路結石、急性膀胱炎も起こりやすい。

$1.2 \sim 0.4 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ であれば、低カルシウム血症で副甲状腺機能低下症、慢性腎不全、クル病、骨軟化症、脂肪吸収障害が現れる。

Ca^{2+} 選択性電極を用いた Ca^{2+} 測定装置

血液中の Ca^{2+} 測定装置は、 Ca^{2+} 感応試薬 (ジアルキルりん酸カルシウム塩などのイオン交換体, ETH1001, ETH129 や二環ポリエステルアミド誘導体など) と可塑性材 (o-nitrophenyl octyl ether, NPOE など) を含んだ PVC (ポリ塩化ビニル) を膜を用いた Ca^{2+} 選択性電極^{8,9)} と Ag-AgCl 参照電極を組合せて測定する。現在、フローセル型の 37°C あるいは 30°C で測定できる機器が、Radiometer (デンマーク, 真興交易), Corning Medical (英国), AVL Scientific Inst. (オーストリア), KONE Corporation (フィンランド, コネジャパン), Chiba Corning Diagnostics (米国, チバコーニングダイアグノスチックス), AMDEV (米国, 利康商事), Orion Research (米国), Baker Instr. (米国), NOVA Biomedical (米国, 日本テクニコン), American Medical Technology (米国), Ionetics (米国), Sentech (米国), Gilford (米国), 島津製作所, 堀場製作所, 日立製作所, 常光, 東亜医用電子などから販売されている。本研究では提供された 9 台の装置を用いた。それらの特徴は表 1 のようである。

表 1. イオン化カルシウム濃度測定装置の特徴

装置 No. メーカー	測定項目	感応物質 (物質名)	校正方法 (測定温度 °C)	検体量 [μ l] 比較電極液	備考
1 常光 Ca ²⁺ -150	Ca ²⁺ Ca _{7,40} ²⁺	ニュートラルキャリアー	自動 2 点 (37±0.2)	185 0.3 nH ₄ Cl	
2 島津 CAL-101	Ca ²⁺ , pH Ca _{7,40} ²⁺	イオン交換型 HDOPP+(DOPP)	自動 2 点 (37±0.5)	注射筒 200 1.0 [mol/l] KCl	
3 CIBA Corning 634	Ca ²⁺ , pH Ca _{7,40} ²⁺	ニュートラルキャリアー	自動 1 点 (37)	35 飽和 KCl	スロープ校正 は手動
4 RADIO ICA-2	Ca ²⁺ , pH Ca _{7,40} ²⁺	イオン交換型 DPP	自動 2 点 (37±0.1)	注射筒 125 飽和 KCl	
5 NOVA 7	Ca ²⁺ , tCa ²⁺ Ca _{7,40} ²⁺	ニュートラルキャリアー ETH1001	自動 2 点 (37)	1.0 [mol/l] KCl	
6 AMDEV Lytening 6	Ca ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺	ニュートラルキャリアー	自動 2 点 (37±0.1)	220 飽和 KCl	
7 堀場 Sera-232	Ca ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺	イオン交換型	自動 2 点 (37)	150 1.5 [mol/l] KCl	
8 KONE Microlyte 1	Ca ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺	ニュートラルキャリアー	自動 3 点 (30)	100 KCl	
9 東亜 AVL 984-S	Ca ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺	ニュートラルキャリアー	自動 2 点 (37)	120 KCl	

電極電位差の表示は経時変化があるので、装置は一定時間ごとに自動的に 2 点校正を行っている。装置 1, 2, 4, 8, 9 では、試料によらず同一の検量線から測定値を得ている。装置によっては、Blood, Serum mode が設定されているが、Ca²⁺ 測定値については、両 mode とも同じ検量線から求めている。

装置による Ca²⁺ 濃度測定値の差異

Ca²⁺ 選択性電極を用いた Ca²⁺ 測定装置であっても、Ca²⁺ イオノフォアの違い、血液中のタンパク質の電極膜への吸着や電極膜からの可塑材の溶出による電極特性の変化、血液試料と指示電極-参照電極の液絡用溶液との接触界面で発生する接触電位などの効果により、異なった製造会社の異なった測定装置で得られた測定値は、一致していない。

採血や保存時における CO₂ の喪失による pH 変化、保存中の解糖、凝血阻止剤として加えるヘパリンと Ca²⁺ との結合など試料自体の変化を考慮しても、機器間の測定値の不一致は説明できな

い。測定値は診断や治療に用いられるので、どの機器で測定しても同じ結果が欲しい。このため機器間の補正を行うための標準試料の要求が高まっている。数年前に、国際臨床化学会 (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) の血液ガス専門委員会が中心となって、血液中の Na⁺, K⁺, Cl⁻ をイオン選択性電極によって測定するときの標準物質-標準血清や標準測定法が設定され、機器メーカーにおいてもユーザーにおいても活用され、測定値の正確さが大きく前進し、機器間差や施設間差の解消に貢献した^{10,11)}。

国際臨床化学会の Ca²⁺ 選択性電極法によるイオン化カルシウム測定法の標準化のため、

- 1) Ca²⁺ 選択性電極の感応膜およびその選択性の評価、
- 2) 試料溶液と電極の接触の形状の効果、
- 3) 測定結果の評価 (カルシウムのタンパク質との結合、重碳酸イオン (HCO₃⁻), りん酸イオン、乳酸イオン、クエン酸イオン、凝固阻

表 2. MPCS の組成

No.	CaCl ₂ [mmol/l]	NaCl [mmol/l]	HEPES [mmol/l]	NaOH [mmol/l]	I. S. [mmol/l]
1	0.75	156.95	1.0	0.6	160
2	1.25	155.5	1.0	0.6	160
3	1.75	153.95	1.0	0.6	160

止剤のヘパリンの影響

- 4) 血液, 血清を基質とした標準試料の調製, 保管,
- 5) イオン選択性電極によるイオン化カルシウムの定量結果の評価 (他の分析法で得られた結果との比較など)

について検討した¹²⁾。

標準溶液の調製

トノメーター (IL 社製 IL237, 温度を 37 ± 0.02°C に制御) を用い, (財) 化学品検査協会の標準 CO₂ ガスを用いて CO₂ ガス濃度 2.989%, 6.06%, 9.97% の 3 溶液を調製した。CO₂ ガスの分圧を任意に設定し, 溶液中の HCO₃⁻ 濃度を固定できる。pH も固定できる。

標準試料は, 水溶液, 血清, 全血 (血液) の 3 種を調製した。Ca²⁺ 標準溶液は塩化カルシウム 100 [mmol/l] 保存溶液を用いた。

MPCS の調製: Modified Primary Calibration Solution (MPCS) にはイオン電極用 1 次標準校正溶液から調製した塩化カルシウム保存溶液を用いた。

3 種類の MPCS の平均 pH は 7.406 (標準偏差 0.035: 装置 4) であった。エラー表示がない装置で MPCS の Ca²⁺ の測定値の最大値と最小値の差が 0.13 [mmol/l] にもなるときもあったし, エラー表示は出なかったものの, 校正時に異常が現れたなどの異常が認められた機種もあった。機器に異常信号が現れたときの測定値は捨てた。

標準偏差は小さかったので, 各装置の精密さはかなり高いことが確認された。装置 8, 9 を除けば, MPCS を測定したとき装置間の測定値の差はほとんどなく, いずれも調製濃度を示した。

測定値を縦軸に, 調製濃度を横軸に, 調製濃度を横軸にしてグラフを描くと相関係数 1, 勾配 0.95~1.1 の直線が得られた。各装置によりその

校正溶液が異なることに起因しているが, MPCS を一次標準物質として測定値を校正しても補正できなかった。

実験結果と考察^{12~14)}

- 1) Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Zn²⁺ の選択係数を混合溶液法により求めたが, 機器間の差は認められなかった。
- 2) MPCS (1.25 [mmol/l] CaCl₂) に Mg²⁺ を 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 [mmol/l] 添加しても影響はなかった。
- 3) ヒトプール血清 (5 で使用した血清と同じ) に +1.0, 2.0, 5.0 [mmol/l] の Mg²⁺ を添加すると Ca²⁺ 濃度として高い測定値が得られた。Mg²⁺ が蛋白質と結合し, 蛋白質と結合していた Ca²⁺ が遊離するためである。
- 4) 陰イオン溶液を 35 種を調製し, NaCl を添加してイオン強度が 160 [mmol/l] に, HEPES は 1 [mmol/l] になるように添加した。HCl 溶液, NaOH 溶液を添加して溶液の pH を 7.0~7.6 に調節した。この陰イオン溶液を添加するし Ca²⁺ 濃度は有意に低値を示した。文献からも予測されるように, PO₄³⁻, クエン酸イオンの影響が大きかった。
- 5) 3 社 (National Institute of the Standards and Technology; NIST, 和光純薬, 第一化学) の牛由来アルブミンを用い, pH が 7.2 付近と 7.6 付近の溶液を調製した。Ca²⁺ 濃度の測定値は機器によりかなりの差が認められた。特に pH が低いほど差が大きかった。アルブミンの種類によっても, カルシウムと結合した濃度及び機器間の差は異なっていた。

全カルシウム濃度とイオン化カルシウム濃度の関係

アルブミンを一定量含む溶液の全カルシウム濃

度とイオン化カルシウム濃度の関係を調べるため、全カルシウム濃度が 0.00 [mmol/l] の溶液を作成し、pH を 7.40 に調節し、99.33 [mmol/l] の塩化カルシウム溶液を既知量添加した。アルブミンに含まれる陰イオンによると思われる影響を受け溶液の pH は 7.4 より多少上下したが、そのことによるイオン化カルシウム濃度への影響は無視できると考えた。それぞれのアルブミンについては、一般に知られているアルブミンとイオン化カルシウムの関係式が成り立つことが確認できた。

血清の測定値の機器間差

血清中の Ca^{2+} 濃度は、 HCO_3^- 濃度により変化するのでプール血清の PCO_2 をトノメーター (Institution Laboratory; IL 社製 IL237, 改良して温度を $37 \pm 0.02^\circ\text{C}$ に制御が可能) を用い調節した。トノメーターに用いた標準ガスは (財) 化学品検査協会の標準ガス CO_2 として 2.989%, 6.06%, 9.97% の 3 種類を用いた。測定は 4 日間に亘り行ったが、血清試料は同一試料を用い、冷凍保存したものをを用いた。測定値は、MPCS の場合と異なり機種による測定値の差は大きかった。 PCO_2 を変化させても差異は現れなかった。 PCO_2 を変化させると血清の pH も変化するので、pH を横軸、 Ca^{2+} 濃度の対数を縦軸にとりグラフを描いたところ勾配も機器によって異なっていた。この勾配は等しいはずなので H_3O^+ の ISE への影響がその原因と思われる。

血清は血液と共に Ca^{2+} 濃度の測定対象試料である。血清試料を各装置で同一条件で測定した。血清の Ca^{2+} 濃度は PCO_2 に依存するので、安定した Ca^{2+} 濃度を得るには PCO_2 を 9.989% (pH 7.22), 6.06% (pH 7.40), 2.989% (pH 7.66) に設定し、それぞれ 4, 3, 3 日にわたり、1 試料 1 機種につき 2~3 回測定を繰り返した。機器間で測定値がかなりばらついていた。

ヘパリンの影響

正常な成人の血液を採取しヘパリンナトリウム (Sigma 社製 10,000 [units/ml]) を添加しヘパリン血として測定した。広く使用されているヘパリンナトリウムは Ca^{2+} 濃度を低くするとヘパリンカルシウム (Radiometer 社が Ca^{2+} 測定用に販

売) を抗凝固剤として用いても、 Ca^{2+} 濃度にはほとんど影響しないことが確認できた。4 種の血液試料にヘパリンナトリウム (Sigma 社製) を 10 および 50 [units/ml] 添加し、採血直後および 7 時間後同時に測定した。測定試料は 4 ml のスクリー管に 0.5 ml の気泡がある状態にして密閉、室温にて保存した。機器により測定条件が異なるように注意した。

血液中の Ca^{2+} 濃度の個人差は 5% 以下でかなり小さいが、装置による差は 10% 以上と大きかった。血液は粘度が高く固まりやすいので、測定できなくなる装置が 3 種あった。

血液試料の測定値の機器間差

血液試料を、ヘパリンナトリウムを 30 [units/ml] を添加し、4 ml のスクリー管に気泡が小さくなるようにして蓋で密閉し、室温で保存し、採血直後、30 分、1 時間、3 時間後測定した。試料を嫌気性で保存すれば、どの装置についても室温 2 時間程度までは測定値はほとんど一定であった。試料が空気に触れたり、7 時間以上経過すると測定値は、10~20% 減少、増大した。その度合は機器によって異なっていた。

まとめ

MPCS 測定はほとんど一致していたが、血清の測定値は異なっており、血液の測定値はさらにばらつきが大きかった。ばらつきの原因は、MPCS と血清、血液の組成の違いによる。

これにより、血清の組成、カルシウムの分画を参考にして、次の順序で測定値の装置間のばらつきの原因究明を試みつつある¹⁶⁾。

1. 血清中に存在する妨害陽イオンの影響。
2. カルシウムと結合する陰イオンの影響。
3. カルシウムと結合するアルブミンの影響。
4. 血清の pH の影響。
5. 血液に添加したヘパリンの影響。
6. 血液採取から測定までの経過時間の影響。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、イオン化カルシウム測定標準化ワーキンググループ——仁木栄次 (東京大学名誉教授)、庄野利之 (大阪大学工学部)、北村元仕 (緒方医学化学研究所)、大久保昭

行(東京大学医学部), 桑克彦(筑波大学医療技術短期大学部), 脇田慎一(大阪工業技術試験所), 安田和雄(日立製作所計測器事業部), 梅本雅夫(化学品検査協会研究開発部), 岡正太郎(島津製作所技術研究本部), 前田拓巳(島津製作所技術研究本部), 後藤剛(島津製作所メデカル計測機器部), 渡辺秀夫(東ソー東京研究所), 緒方隆之(徳山曹達藤沢研究所), 柴田康久(日立製作所中央研究所), 菅原研之(日立製作所那珂工場医機設部), 植松宏影(堀場製作所開発部), 鈴木寛(東亜電波工業狭山工場), 西川明宏(常光東京技術研究所), 田中満直(ヤトロン), 池田寿夫(眞興交易), 大久保和弘(チバコーニングダイアグノスチックス), 駒崎一郎(日本テクニコン学術企画部), 西村隆(東亜医用電子第二開発部), 山本隆治(利康商事販売推進部), 小田恭志(コネジャパン医療機器部)らの諸氏で構成——には, 標準化への戦略, 装置の提供, 得られたデータの解釈, 異常値の取扱いなどについてご指導, ご協力を賜った。厚くお礼申し上げます。

また, 化学品検査協会研究開発部の梅本雅夫, 谷 渉の両氏には標準蛋白質, 標準血漿, 標準血液の提供や場所の提供などでお世話になった。深く感謝の意を表したい。

実験では, 中川建史(東京理科大学工学部平成1年卒論学生, 水池敦教授研究室), 村井誠(東京理科大学工学部平成2年卒論学生, 水池敦教授研究室), 小川一(工学院大学平成2年卒論学生, 村上徹郎教授および石井栄善助教授研究室), 陳新民(東京大学工学部大学院修士1年), 季洪玲(東京大学工学部研究生)の諸君にご協力ください。

た。記して謝意を表す。

文 献

- 1) 藤田拓男: “カルシウムの驚異, 生命の源・カルシウムの科学(ブルーバックス),” 講談社, 1989.
- 2) 越川昭三訳: 臨床麻酔, 5, 1244-1257 (1981).
- 3) 遠藤 実, 西塚泰美, 八木康一, 宮本英七編: “カルシウムイオンと細胞機能”, 蛋白質核酸酵素臨時増刊, 33 (12), 1847-2332 (1988).
- 4) ワークショップ: “細胞内カルシウムの測定法”, 講演要旨集, 同仁化学研究所, 1988.
- 5) 工藤佳久: DOJIN NEWS, No. 50, 9-9 (1988).
- 6) ワークショップ “細胞内カルシウムと情報伝達”, 講演要旨集, 同仁化学研究所, 1989.
- 7) 松本俊男 “カルシウム代謝異常症へのアプローチ”, 臨床医, 14, 272-279 (1988).
- 8) Fluka Catalogue, 1988/89, Calcium Ionophore I—ETH 1001, Calcium Ionophore II—ETH 129, 304 頁, Fluka Chemie AG.
- 9) S. Wakida, M. Yamane, K. Higasi, K. Hiuro, Y. Ujihira: Sensors and Actuators, 20 (1989).
- 10) 桑 克彦: 臨床検査, 33, 741-747 (1989).
- 11) (財) 化学品検査協会: “イオン電極用標準血清”, 説明書.
- 12) G. N. Bowers, Jr., C. Brassard, S. F. Sena: *Clinic. Chem.*, 32, 1437-1447 (1986).
- 13) 氏平祐輔: 化学, 45, 142-143 (1990).
- 14) K. Kuwa, Y. Ujihira, M. Umamoto, K. Yasuda, E. Niki: Methodology and Clinical Applications of Electrochemical and Fiber Optic Sensors, Sept. 24-27, 1989, Rochester, U. S. A.
- 15) 梅本雅夫, 氏平祐輔, 中川健史, 村井 誠, 水池敦, 小川 一, 桑 克彦, 脇田慎一, 仁木栄次: 日本分析化学会第39年会(名古屋, 1990年10月)で講演, 1G12 イオン電極によるイオン化カルシウム測定の標準化のための検討.
- 16) The 13th Meeting of IFCC-CBGE/WGSE—pH, Blood Gases and Electrode—(1991年10月6-9日, 箱根ホテル小涌園)で発表予定.