

謎解き臨床化学検査 わかりにくい言葉・あやふやな事を明確に
— 分析関連・精度管理関連・その他 —

藤本 一満 (倉敷芸術科学大学 生命科学部 生命医科学科)

1. はじめに

スピード感と精確性を要する生化学検査において、生化学自動分析装置（装置）はなくてはならない道具である。装置の外観は忙しく回転し、腕が動いているロボットにしか見えないうが、実は用手法のサンプリング、試薬分注、攪拌、恒温槽での反応、分光光度計による吸光度測定、吸光度からの濃度・活性値計算を盛り込んだ装置であり、ヒトに比べると速く、精度が良い。この装置には多くの機能が搭載されており、中でも多種分析法機能、血清情報算出機能、反応タイムコースによる異常反応検出機能は、精度保証に直結するため理解が必要である。本セミナーでは、これらの重要な機能を説明する。

生化学検査の検体の一種に透析患者からの血液がある。検査担当者が透析現場を見る事は少なく、患者からいつ、どこから採血しているのか、測定値にどのような特徴があるのか知られていない事が多いと思われる。本セミナーでは、これらの透析に関する基本部分を解説する。

2. 生化学自動分析装置の重要機能

1) 多種分析法機能

①終点分析法（エンドポイント法）：試料中目的成分と試薬を混合し、一定時間経過後、反応終了時の生成物吸光度を測定し、標準液濃度と吸光度を基準にして試料中目的成分の濃度を定量する方法である（図 1）。分析の種類には、1 ポイント法、2 ポイント法がある。装置で使用する測定試薬には、第 2 試薬分注後 1.5～2 分程度で反応が終了するように、酵素が添加されている場合が多い（マメ知識参照）。

★二波長法：終点分析法や初速度分析法において、主波長吸光度から副波長吸光度を引き算した演算吸光度にて、濃度、活性値を求める分析法で、検体の混濁や反応セルの汚れによる影響の軽減と光源ランプのチラツキなどによる光量変動の補正効果がある（図 2）。

★1 ポイント法：二試薬系では、第 2 反応終了時の吸光度から目的物質の濃度を算出する方法で、試薬の色（試薬ブランク）の影響は校正で除去できるが、検体の色の影響を受ける可能性あり。

★2 ポイント法：二試薬系において、第 1 反応吸光度（測光①）と、第 2 反応終了時の吸光度（測光②）を測光し、測光②から測光①を引き算した吸光度で目的物質の濃度を算出する方法で、試薬ブランクの影響は校正で除去でき、さらに、検体の色と反応の色を含む測光②から、検体の色の測光①を引き算するため、検体の色の影響を低減できる。

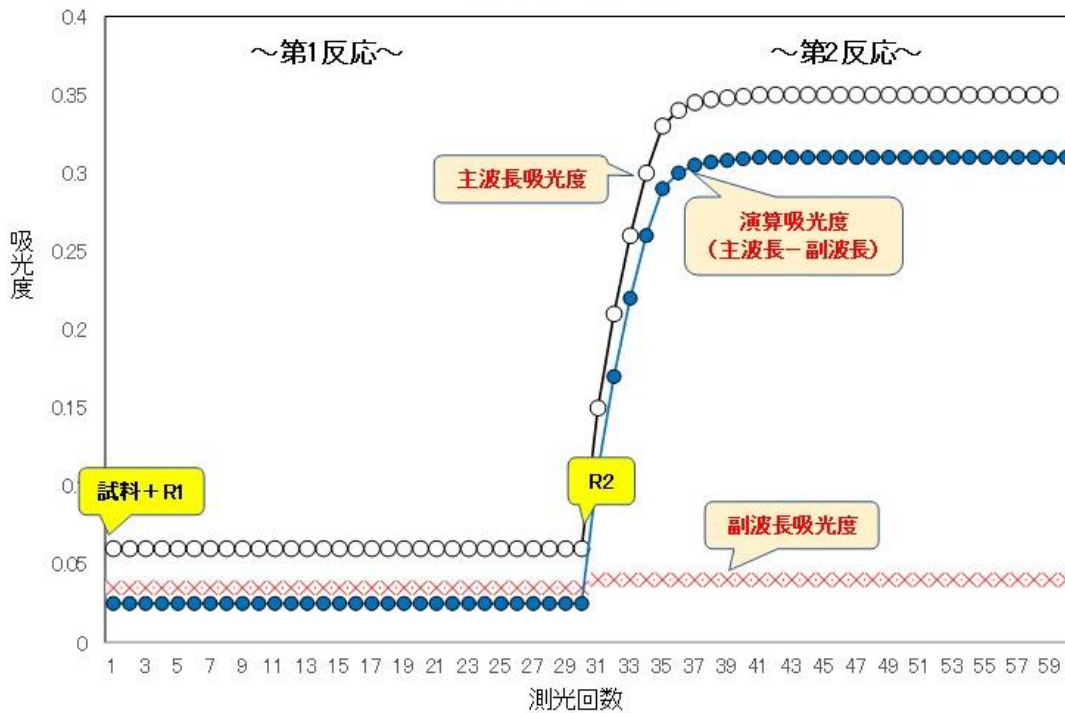


図 1 終点分析法(エンドポイント法)

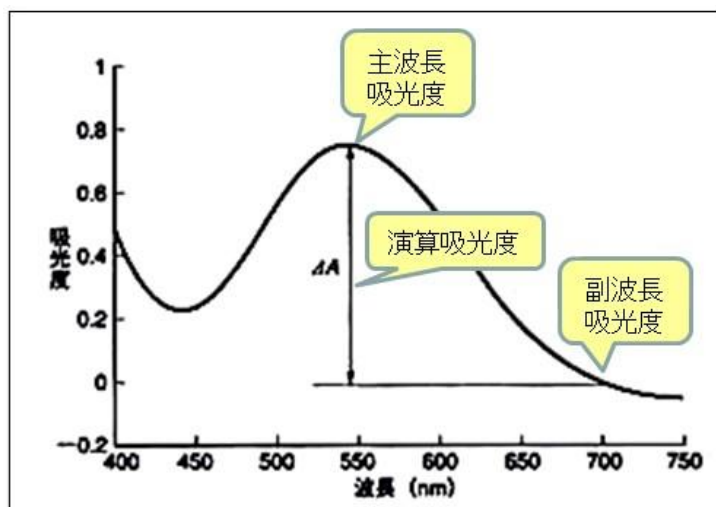


図 2 二波長測光のしくみ

主波長吸光度: 吸収スペクトルにおいて、吸光度がピークとなる波長あるいは近接した波長での吸光度

副波長吸光度: 主波長より150~200nm 長波長側の波長での吸光度

演算吸光度: 主波長吸光度から副波長吸光度を引き算した吸光度

②初速度分析法 (レート法): 試料中目的成分と試薬を混合し、反応が一定速度で進行している際の単位時間当たりの吸光度変化量を測定し、標準液の吸光度変化量を基準あるいは検出物質のモル吸光係数から試料中目的成分の濃度、活性値を定量する方法である (図 3)。酵素活性の場合、反応が一定速度に進行するように基質が十分に添加されている (マメ知識参照)。

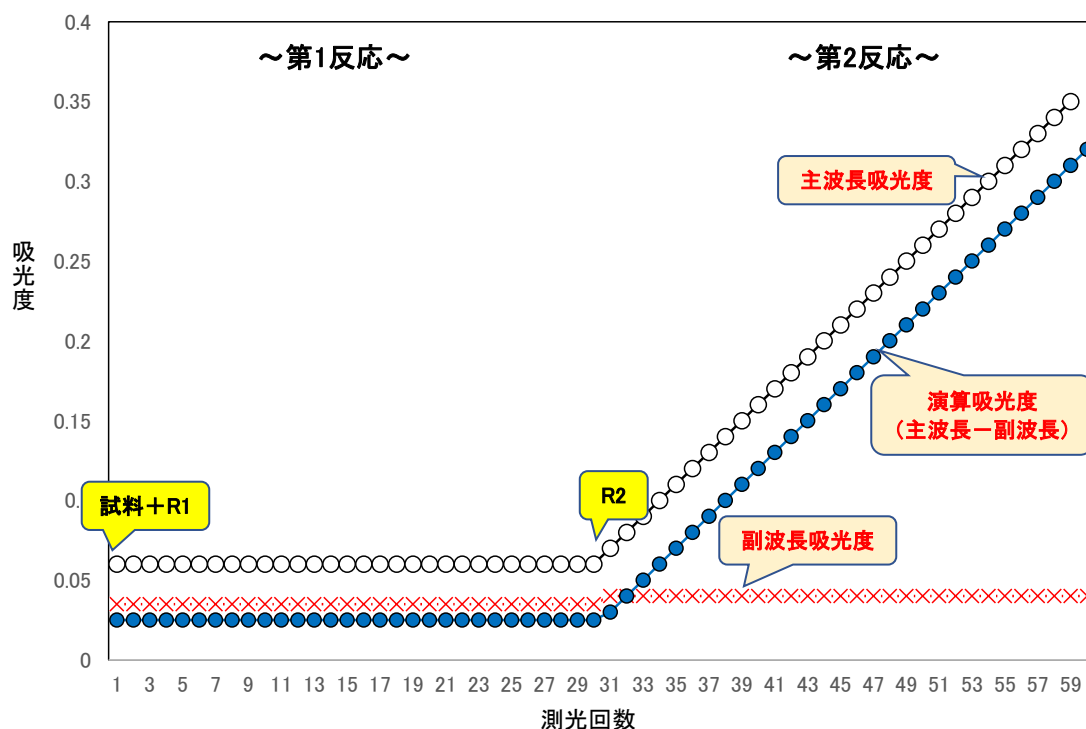


図3 初速度分析法(レート法)

★マメ知識：反応が99%終了するまでの時間（t99）は、酵素量と Km 値と基質濃度の関係で決まり、次式で求めることができる。

$$\frac{4.6 \times K_m + 0.99 \times \text{基質濃度}}{\text{酵素量}} = \text{分}$$

- ・なぜ99%なのか→100%がわからないため。
- ・t99を短くするには→酵素をたくさん添加するか高活性の酵素を用いて、上式の分母を大きくするか、Kmの小さい酵素を用いるあるいは基質濃度を小さくして、上式の分子を小さくすれば良い。
- ・t99を長くするには→上式の分母を小さくするか、分子を大きくすれば良い。

2) 血清情報算出機能

①血清情報とは：血清が有する白、赤、黄の度合いを、装置で試料とASTなどの第1試薬が混合した時の色を、特有の波長で得た吸光度と血清情報計算式（表1）にて、混濁度（L）、溶血度（H）、黄色度（I）を数値（指数）あるいは定性値（弱・中・強など）に換算したものであり³⁾、多くの施設で補助的情報として検査値と一緒に報告している。

メモ：血清情報測定用の第1試薬には、可視部に吸収のない見た目透明の試薬を用いることが必須であり、依頼件数の多いAST試薬や血清情報用のチャンネルを設けて生理食塩水を試薬とする場合が多い。

表 1 生化学自動分析装置の血清情報計算式³⁾

分析装置	血清情報計算式
日立系 H-7600 H-008	混濁=1/C×(∠700*660) 溶血=1/A×(∠600*570-B×∠700*660) 黄疸=1/D×(∠505*480-E×∠600*570-F×∠700*660) 備考:A、B、C、D、E、Fは係数を表す。数値で出力される。
日本電子 BM8040	混濁=a×(∠694*658) 溶血=b×(∠596*571-d×∠694*658) 黄疸=c×(∠505*478-(e×∠596*571-d×∠694*658)-f×∠694*658) 備考:a、b、c、d、e、fは係数を表す。数値で出力される。
ベックマン・コールター AU5400	混濁=∠800*660 溶血=∠480*410-∠800*600 黄疸=∠570*480-∠800*600 備考:得られた吸光度により、+~++++等の判定値で出力される。

②血清情報標準化:血清情報の標準化は現時点ではされていない。藤本らは混濁度においてホルマジン濁度 400 以上 (TG 値≒250mg/dL 以上) を混濁コメント付加開始点 (図 4 上) ⁵⁾、溶血度においてヘモグロビン濃度 50mg/dL 以上を溶血コメント付加開始点 (図 4 下) ³⁾、⁶⁾にすることを推奨した。



図 4 混濁度判定基準(上)と溶血度判定基準(下)(藤本らが推奨した基準)

3) 反応タイムコースによる異常反応検出機能

①反応タイムコースとは：装置の回転反応器にセットされた反応セルに、試料と試薬が分注され、一定間隔で回転と停止を繰り返している 10 分の反応時間に、反応セルが光源ランプの前を数十回通過し、その通過の際に測定した吸光度を線で繋ぐとタイムコースとなる（図 5）。

メモ：車のドライブレコーダー的存在であり、反応を確認することができる。

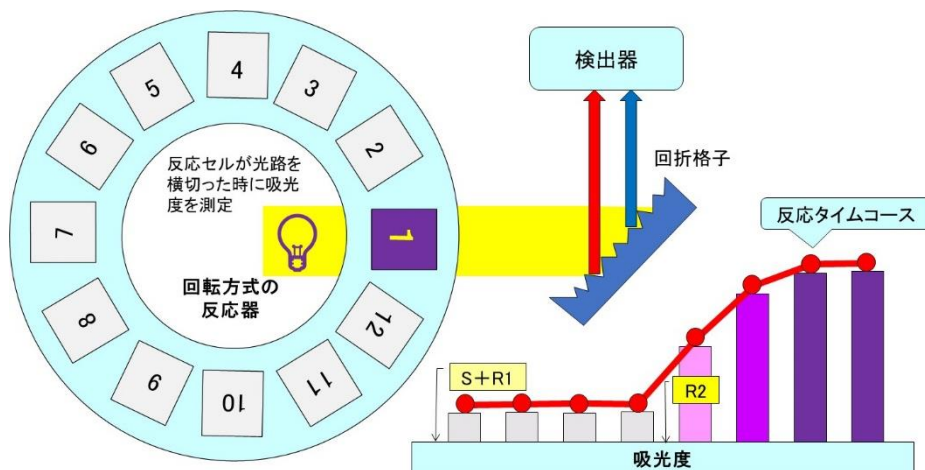


図 5 反応タイムコースの成り立ち(反応開始から終了まで)

②反応タイムコース活用法：各項目の反応タイムコースは決まっており（通常パターン）、通常パターンから逸脱したパターン（異常パターン）から得た測定値の信頼性は低い（図 6）。異常パターンの原因には、検体由来（M タンパクなど）、試薬由来（試薬汚染など）、装置由来（光源ランプ不良など）、環境由来（埃の混入など）などがあり、異常パターンから原因を推測し、対処する必要がある。現在では、内部精度管理法の一つとして反応タイムコースが利用されている。

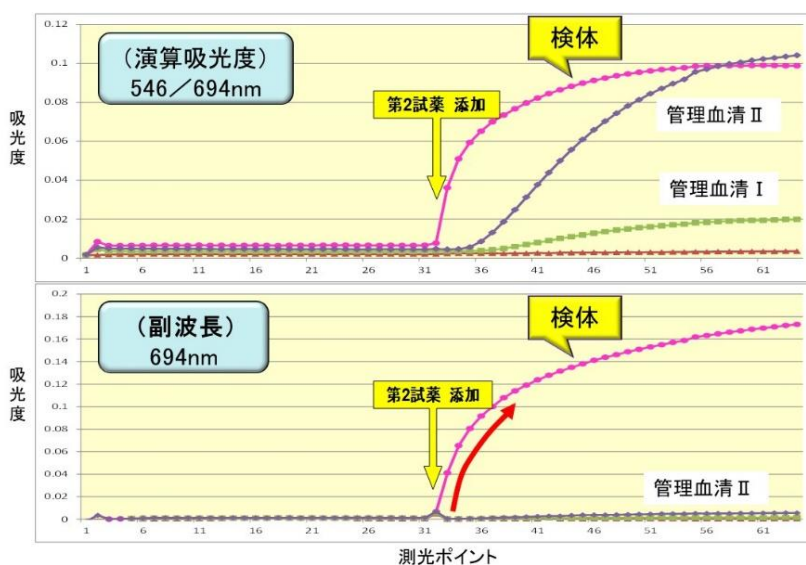


図 6 反応タイムコースの成り立ち(反応開始から終了まで)

3. 透析検体

1) 透析法および透析患者からの採血

①透析とは：腎臓は尿を作って、老廃物の排泄、水分量・電解質・血液 pH の調節を行い、また、腎臓自体が血圧の調節、造血、ビタミン D の活性化を行っているが、腎臓の働きが悪くなると「腎不全」となり生命を脅かす状態になる。この際、腎臓に代わって腎臓様の働きをする治療法が透析である。透析には血液透析（図 7）と腹膜透析がある。

★血液透析（HD）は、血液を人工腎臓（ダイアライザー）に通して、水分や老廃物の除去と必要な電解質等の補充を 1 週間に 2～3 回行い、血液を綺麗にする治療法である。

★腹膜透析（PD）は、自分の腹腔内に透析液を一定時間入れて、腹膜を介して血液中の水分や老廃物の除去と必要な電解質等の補充を 1 日あたり 3～5 回行い、血液を綺麗にする治療法である。

②透析患者からの採血：透析前採血は、生活習慣や食事療法によって水分や塩分の管理ができているのか、また、健康状態を把握するために行われる。透析後採血は、透析によって老廃物の除去と必要な電解質等の補充ができているかを確認するために行われる。

★透析前採血は、透析用の針を穿刺して、動脈側血液回路に接続する直前に穿刺した針から採血するのが一般的である。採血管にはプレイン採血管が用いられる。

★透析後採血は、透析終了時にダイアライザーを通過する前の動脈側血液回路から血液を採取する。採血管は血液に回路内のヘパリンが混入しているため、ヘパリン中和剤と凝固促進剤が添加された透析専用採血管が一般的に用いられる。プレイン採血管を用いると、遠心分離後の血清にフィブリンが何度も析出する可能性がある。

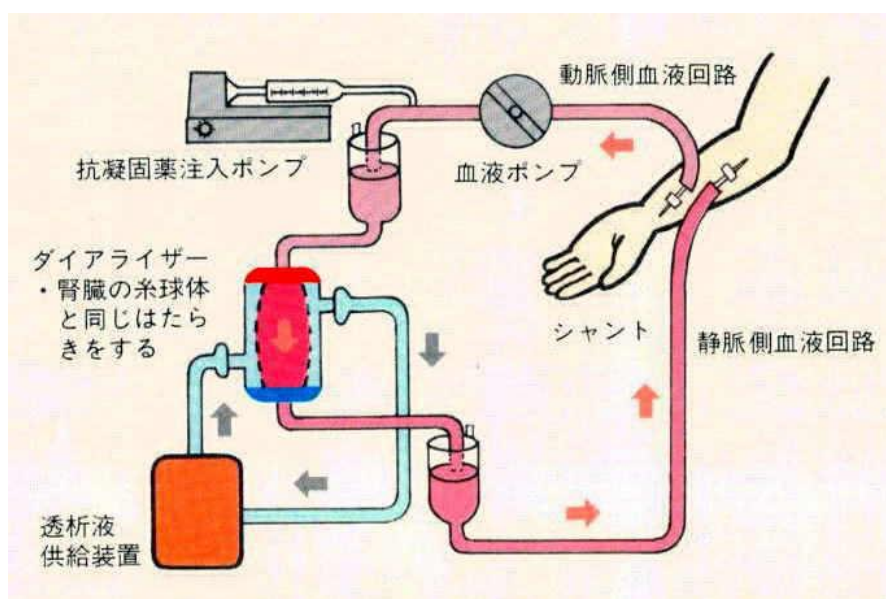


図 7 血液透析回路模式図⁹⁾

2) 透析患者の生化学検査値

①透析前・後の生化学検査値：透析前は血液中に老廃物と水分が蓄積した状態であるため、UN、CRE など老廃物は高値傾向となり、TP、ALB のタンパクは希釈され低値傾向となる。透析後はダイアライザーで分子量の小さい老廃物や水分が排除されるため、UN、CRE などは低値傾向となり、TP、ALB は高値傾向となる（表 2）。

表 2 血液透析前・後の生化学参考値¹⁰⁾

透析前		透析後		単位
TP	5.6～7.4	TP ↑	5.7～8.9	g/dL
ALB	3.2～4.3	ALB ↑	3.2～5.1	g/dL
UN	36～94	UN ↓↓	8～32	mg/dL
CRE	5.7～17.2	CRE ↓↓	1.5～6.9	mg/dL
UA	5.1～10.0	UA ↓↓	1.0～3.1	mg/dL
Na	134～144	Na →	135～144	mEq/L
K	3.5～6.2	K ↓↓	2.8～4.1	mEq/L
CL	97～111	CL →	98～109	mEq/L
Ca	7.7～10.5	Ca ↑	8.6～11.0	mg/dL
IP	2.6～7.7	IP ↓↓	1.2～3.5	mg/dL
Mg	1.7～3.6	Mg ↓	1.6～2.6	mg/dL

参考文献

- 1) 片山善章. 臨床化学分析の指示反応物質の現状. 臨床検査 1997 ; 41(9) : 979-980.
- 2) 小川善資, 伊藤啓. 指示反応系の基礎知識. 臨床検査 1997 ; 41(9) : 981-988.
- 3) 藤本一満. 化学検査学. 医療と検査機器・試薬 2008 ; 31(1) : 73-86.
- 4) 藤本一満, QM 研究会. 血清情報統一の取り組み～溶血度判定基準の確立～. 日本臨床検査自動化学会学会誌 2012 ; 37(1) : 53-58.
- 5) 藤本一満. 乳び血清では TG は高値になりますか?. Medical Technology 2021 ; 49(11) : 1200-1202.
- 6) 藤本一満. 溶血・乳び・黄疸など. Medical Technology 2020 ; 48(6) : 596-598.
- 7) 藤本一満. 生化学自動分析装置における反応タイムコースの活用. 検査と技術 2021;49(11):1234-1239.
- 8) 日本医療検査科学会科学技術委員会. 自動分析装置における反応タイムコースの基礎と活用事例. 医療検査と自動化 2020 ; 45(1)
- 9) 奈良県. 血液透析のしくみ. <http://www.pref.nara.jp/28893.htm> (2021 年 1 月 25 日閲覧)
- 10) 1) 藤本一満. 分析組立力にて難題を紐解く (初級～上級編). 医療と検査機器・試薬 2016 ; 39(2) : 116-121.