

〈原著〉

C反応性蛋白の血清アルブミン測定への関与と 栄養状態識別値への影響

刈米 和子¹⁾、藤田 淑香²⁾、汐谷 陽子³⁾

Involvement of CRP (C-reactive protein) in serum albumin measurement and its interference with nutritional management index

Kazuko Kariyone¹⁾, Yoshika Fujita²⁾ and Yoko Shiotani³⁾

Summary The cut-off value for nutritional status is 3.0 g/dL for the BCG method if serum albumin (Alb) is used as the nutritional management index. Considering the correlation test results between the standard and improved BCP methods, it is assumed that the cut-off value for nutritional status is 2.6 g/dL for the latter method.

Comparing the BCG method and improved BCP methods, the probability of a difference in the determination of nutritional status is estimated to be approximately 7% when using the cut-off value for nutritional status.

The standardized residue representing the deviation between the BCG and improved BCP methods shows significant correlativity with the CRP value.

It appears that the acute phase reactants such as α_1 and α_2 fractions, which show a high correlativity with CRP in the symptoms of inflammation, may be included in the measurement value of the BCG method.

Therefore, a sample with an elevated CRP value may exhibit a higher probability of positive error for Alb values than in the BCG method. Thus, extra attention must be paid to CRP values near the lower limit value of the reference interval and the cut-off value for Alb.

The Alb reference interval in the project report by the Clinical Chemistry Quality Management Expert Committee, which is 4.0–5.0 g/dL, is estimated to be 3.8–5.0 g/dL in the improved BCP method if converted. Likewise, the cut-off values for a Child-Pugh classification (3.5 g/dL and 2.8 g/dL) are estimated to be 3.2 g/dL and 2.3 g/dL if converted to the improved BCP method.

Key words: Serum albumin, Improved BCP method, BCG method, CRP, NST

¹⁾財団法人 東京都保健医療公社 荏原病院検査科
〒145-0065 東京都大田区東雪谷4-5-1

²⁾(独法) 日本スポーツ振興センター 国立スポーツ科学センター スポーツ医学研究部

³⁾都立墨東病院検査科

¹⁾Clinical Laboratory, Tokyo Metropolitan Health and Medical Treatment Corporation Ebara Hospital,

5-1 Yukigaya 4-chome, Ota-ku, Tokyo 145-0065, Japan

²⁾Department of Sports Medicine, Japan Institute of Sports Sciences, National Agency for the Advancement of Sports and Health

³⁾Clinical Laboratory, Tokyo Metropolitan Bokuto Hospital

受領日 平成22年3月31日

受理日 平成22年5月12日

I. 緒言

現在、血清アルブミン (Alb) の日常検査はブロムクレゾールグリーン (BCG) を用いた色素結合法が主流となっている。この方法はグロブリンの測りこみがあるため、特に低アルブミン血症では相対的に正誤差となることが知られている¹⁾。一方で、C反応性蛋白 (CRP) の影響を指摘する向きもある。また、電気泳動による蛋白分画では、蛋白分画の染色に用いられるボンソ3RまたはボンソSのAlbに対する親和性が、 γ -グロブリンの約1.6倍となるため、相対的にAlbが高く見積もられることになる²⁾。

ブロムクレゾールパープル (BCP) を用いる方法は、ヒトAlbに対する特異性が高いが、酸化型Albと還元型Albの反応性が異なるため酸化型Albの割合が高くなる透析後検体や保存検体で問題となっていた。この問題を解決するため、5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) などのエールマン試薬により、検体中のAlbを第一試薬中で全て酸化型に前処理した後にBCPと色素結合させるBCP改良法が村本らにより考案された³⁾。

当院では血清Albを栄養管理指標とし、BCG法を測定原理とした方法を日常検査に用いていたが、今回、BCG法におけるCRPの関与について検証を行なうとともにBCP改良法によるAlbの栄養状態識別性を新たに設定したので報告する。

II. 方法と材料

1. 測定試料

本検討に用いた患者血清は、日本臨床検査医学会の「臨床検査を終了した検体の業務、教育、研究のための使用に関する見解」^{4),5)}に基づき、目的検査終了後の臨床検査検体の残存部分である残存検体で、被験者との連結が不可能かつ匿名化されたものを用いた。

2. 試薬

BCP改良法にはシカリキッド ALB-P (本法、関東化学)⁶⁾、日常検査法であるBCG法にはカイノスオートALB試薬 (BCG法、カイノス) を用いた。血清Alb測定の標準的測定法とされる免疫比濁法にはN-抗血清アルブミン (免疫法、デ

ドベーリング(現、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス)) を使用した⁷⁾。

本法およびBCG法の検量には、各自社のキャリブプレータを用いた。免疫法のキャリブプレータにはIFCC血漿蛋白国際標準品 (CRM470、(現、ERM・DA470)) を使用した。

3. 測定装置

本法およびBCG法の検討はTBA-120FR形生化学自動分析装置 (東芝メディカル) を用い、免疫法にはベーリングネフェロメーター II (BN-II) (デイドベーリング) を使用した。

4. 測定条件

本法、BCG法、免疫法の測定ダイヤグラムはメーカー指定のものを用いた。

5. 基本性能評価

1) 同時再現性

EXAノーマル (Lot NL124R)、EXAアブノーマル (Lot AL124U) (ともに三光純薬) について各10回連続測定を行い、平均値±標準偏差 (SD)、変動係数 (CV%) を求めた。

2) 希釈直線性試験

コンセーラAN (日水製薬) を通常溶解量の半量の純水で溶解し、原液とした。この10段階希釈系列を作製し、各試料を2重測定した。

3) 共存物質の影響

干渉チェック・Aプラス (シスメックス) を用い、本法の抱合型ビリルビン (21 mg/dL)、非抱合型ビリルビン (21 mg/dL)、ヘモグロビン (510 mg/dL)、乳び (1,570ホルマジン濁度) の影響を調べた。また、アスコルビン酸 (50 mg/dL) の影響についてはアスコルビン酸標品 (関東化学) を用いた (カッコ内は各成分の最大添加濃度を表す)。

4) 免疫法を比較対照法とした正確性の評価

患者血清51例を用い、免疫法を比較対照法とし、本法およびBCG法の正確性を評価した。系統誤差の検定はbootstrap法により線形関係式の回帰係数の95%信頼区間を求め、一定系統誤差 (切片0) および比例系統誤差 (傾き1) を判定した。

5) BCG法との相関性

患者血清7,443件を用い、本法 (y) のBCG法

(x) との相関性試験を行ない、相関係数 (r)、線形関係式 ($y=a+bx$)、線形関係式からのy軸方向の標準偏差 ($Sy \cdot x$) を求めた。また、回帰残差を $Sy \cdot x$ で除した値 (標準残差) を求め、標準残差の絶対値 (標準残差!) が2より大きいものを乖離検体とした。なお、標準残差は、次式により求めた。

$$\text{標準残差}=(y_i-y'_i)/Sy \cdot x$$

y_i : xの値(x_i)におけるyの値

y'_i : xの値(x_i)における回帰式上のyの推定値

6) 栄養管理指標としての栄養状態識別値の設定
5) で得られた線形関係式よりBCG法の栄養状態識別値である3.0 g/dLに相当する本法での栄養状態識別値を求めた。

7) 標準残差とCRPおよび免疫グロブリンとの相関係数の有意性の検定 (無相関検定)

患者検体83例を用い、標準残差とCRP、IgG、IgA、IgMとの無相関検定を行なった。

8) 標準残差の各群におけるCRP濃度の多重比較
本法とBCG法との標準残差が、-2以上0以下、-3以上-2未満、-3未満の各群におけるCRP濃度について多重比較を行なった。

-2以上0以下および-3以上-2未満の標本については、標準残差が-3未満の群の標本数にそろえるため、3,102例から34例および313例から28例を無作為抽出した。抽出にあたっては、各群のAlb値を低値から高値に並べ替え、一定間隔順に抽出することにより抽出標本が各群を代表するものとなるようにした。

9) BCG法における急性相反応物質の測り込みの推定を目的としたCRP判別値の設定

BCG法で3.5 g/dL (Barnettの医学的意志決定濃

度) 以下の検体について、標準残差が-2未満を判別群、-2以上の検体を対照群としたCRPの受信者動作特性 (Receiver operating characteristic, ROC) 分析を行なった。

Ⅲ. 結果

1. 同時再現性

EXAノーマルおよびEXAアブノーマルの平均値±SD、CV%はそれぞれ、3.34 g/dL±0.027 g/dL、0.79%および5.56 g/dL±0.012 g/dL、0.21%であった。

2. 希釈直線性

原液濃度である10.2 g/dLまで原点を通る直線性が得られた。

3. 共存物質の影響

本法における抱合型ビリルビン、非抱合型ビリルビン、ヘモグロビン、乳び、アスコルビン酸の影響はいずれも3%以内であった。

4. 正確性

免疫法 (x) と本法 (y) との相関は、 $r = 0.996$ 、線形関係式 $y = -0.003 + 0.974x$ 、 $Sy \cdot x = 0.086$ g/dLとなった (図1左)。また、bootstrap法による検定の結果、切片の期待値-0.007 g/dLにおける95%信頼区間は-0.044~0.031 g/dLとなり、切片に有意なかたよりは認められなかった。しかし、傾きの期待値0.975における95%信頼区間は0.961~0.989となり、傾きに有意なかたよりが認められた。そこで、医学的意志決定濃

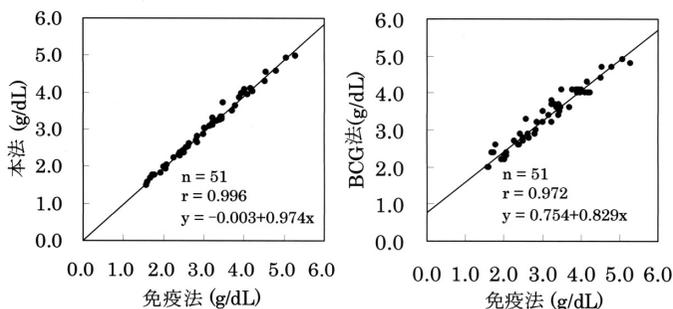


図1 BCP改良法およびBCG法の免疫法との相関性
左図：免疫法(x)と本法の相関、右図：免疫法(x)とBCG法の相関

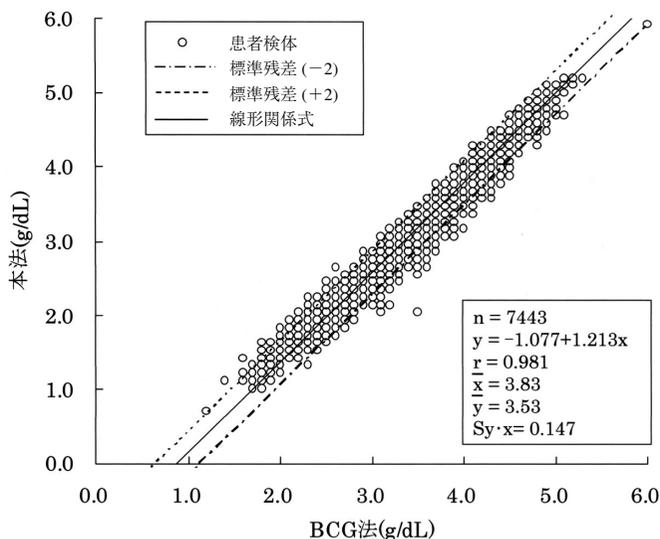


図2 本法のBCG法との相関性

度におけるかたよりが5%以下となるかを調べた。その結果、Albの医学的意志決定濃度をBarnett[®]の報告値である3.5 g/dLとしたとき、本法の線形関係式における予測値およびバイアスは3.41 g/dLおよび2.6%となり、医学的意志決定濃度におけるバイアスの許容範囲である±5%以内となった。

免疫法(x)とBCG法(y)との相関は、 $r = 0.972$ 、線形関係式 $y = 0.754 + 0.829x$ 、 $Sy \cdot x = 0.189$ g/dLとなった(図1右)。また、bootstrap法による検定の結果、切片の期待値0.749における95%信頼区間は0.660~0.839、傾きの期待値0.831における95%信頼区間は0.803~0.859となり、切片、傾き共に有意なかたよりが認められた。そこで医学的意志決定濃度におけるかたよりを調べた結果、3.5 g/dLでの線形関係式の予測値およびバイアスは3.66 g/dLおよび4.6%となり、バイアスの許容範囲である±5%以内となった。

5. 本法のBCG法との相関性

従来法であるBCG法(x)と本法の相関性試験の結果は $n = 7,443$ で、 $r = 0.981$ 、線形関係式 $y = -1.077 + 1.213x$ 、 $Sy \cdot x = 0.147$ g/dLとなった(図2)。

6. 本法の栄養状態識別値

BCG法を用いた当院の栄養状態識別値：3.0

表1 全相関検体のAlb濃度区分別乖離率(標準残差>2のもの)

Alb (g/dL) 濃度区分	乖離件数	総件数	乖離率 (%)
~2.9	95	815	11.7
3.0~3.9	181	2,737	6.6
4.0~5.0	96	3,880	2.5
5.1~	1	11	9.1
合計	373	7,443	5.0

表2 本法とBCG法の相関における乖離検体で、栄養状態識別値未満となった件数

BCG法： 3.0 g/dL >	本法： 2.6 g/dL >	件数	占有率 (%)
○	○	83	57.2
○	×	12	8.3
×	○	50	34.5
合計		145	100.0

○：各法において識別値未満であったもの
×：各法において識別値以上であったもの

g/dLを、図2で得られた線形関係式から換算した本法の値は2.6 g/dLとなった。

7. 本法とBCG法の乖離検体の解析

全検体7,443件中に、乖離検体が383件(5.2%)あった。また、Albの基準範囲である4.0~5.0 g/dLの検体は3,880件で、そのうち乖離検体は96件(2.5%)であった。また、BCG法の栄養状態

識別値である3.0 g/dL未満の検体815件のうち乖離検体は95件（11.7%）であった（表1）。なお、表1に示したAlb濃度区分はBCG法によるものである。

乖離検体のうち、BCG法で3.0 g/dL未満もしくは本法で2.6 g/dL未満であった検体は145件であった。そのうち本法とBCG法が共に栄養状態識別値未満となったものは83件（57.2%）であり、BCG法のみ栄養状態識別値未満となったものが12件（8.3%）、本法のみが栄養状態識別値未満となったものが50件（34.55）であった（表2）。

8. 標準残差とCRPおよび免疫グロブリンとの相関係数の無相関検定

標準残差 (x) とCRP (0.1~31.1 mg/dL)、IgG (600~4,890 mg/dL)、IgA (25~951 mg/dL)、IgM (18~517 mg/dL) との相関係数 (r) および無相関検定の結果は、CRPが $r = -0.388$ および $p < 0.001$ 、IgMが $r = -0.248$ および $p < 0.05$ で共に有意の負の相関性が認められたが、IgGおよびIgAについては有意な相関性は認められなかった（カッコ内は各項目の濃度分布を表す）（図3）。

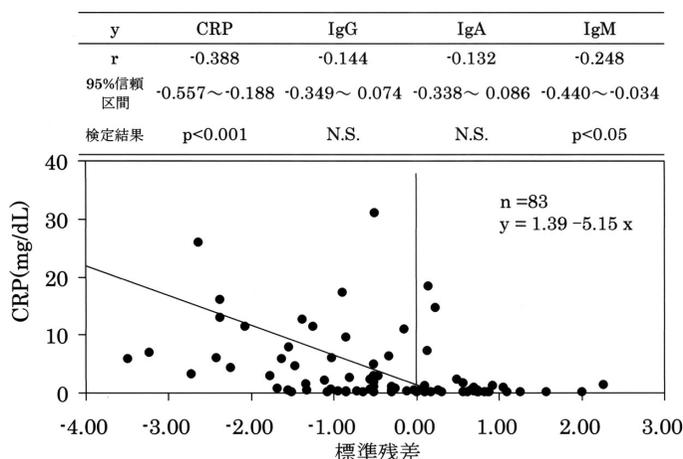


図3 標準残差とCRPおよび免疫グロブリンとの相関係数の有意性の検定（無相関検定）
 上段表：各項目の標準残差との無相関検定結果
 下段図：CRPと標準残差との相関図

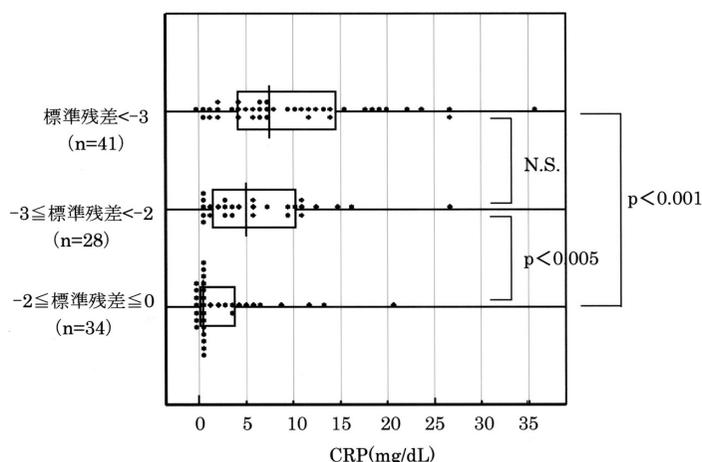


図4 標準残差各群におけるCRP濃度の多重比較

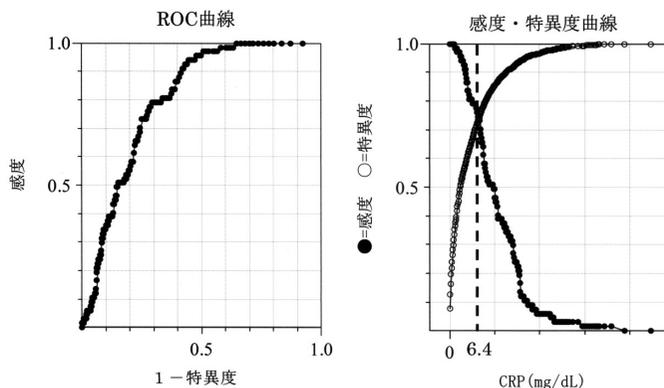


図5 Albが医学的判断基準濃度(BCG法で3.5 g/dL)以下におけるCRPのROC分析
 判別群 (n=67) : 本法のBCG法に対する標準残差<-2
 対照群 (n=2017) : 本法のBCG法に対する標準残差≥-2

9. 標準残差各群におけるCRP濃度の多重比較

本法とBCG法との標準残差が、-2以上0以下の群と-3以上-2未満の群では、CRP濃度に有意差 ($p < 0.005$) が認められ、-2以上0以下の群と-3未満の群についても有意差 ($p < 0.001$) が認められた (図4)。

10. BCG法における急性相反応物質の測り込みの推定を目的としたCRP判別値の設定

感度・特異度曲線が交差する点をBCG法の非特異反応の判断推定値としたときのCRP濃度は6.4 mg/dLとなった (図5)。このときの感度および1-特異度は0.731および0.269であり、ROC曲線下面積±標準誤差は0.801±0.019であった。

IV. 考察

免疫法を比較対照法とした相関性試験の結果において、本法、BCG法ともに医学的意志決定濃度における正確性の許容範囲を満たした。しかし、免疫法に対する本法の $Sy \cdot x$ がBCG法の1/2以下であったことは、本法がAlbに対する特異性に優れていることを示している。本法は正確性評価において傾きが許容されなかったが、これは本法の反応性が免疫法と非常に近似しているため、本法の傾きの95%信頼区間がBCG法に比べて狭いことに起因している。

したがって、本法は標準的測定法である免疫

法とほぼ同等の信頼性を有しているとみなすことができる。

しかし、Albにおいて、Barnettの医学的意志決定濃度等の病態識別値、今回のテーマである栄養状態識別値、日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会報告による基準範囲⁹⁾は、いずれもBCG法によって定められたものであり、本法がそれらの値とどのような関係にあるかを明確にすることは非常に重要である。

BCP改良法が特異性および正確性に優れた方法であることは、これまで数多く報告されてきたが、BCG法が臨床的にどの程度の割合で問題となるかについては、明確な報告がなかった。今回の検討において、BCG法では、本来栄養状態識別値未満と判定されるべき5.8%が拾えず、1.5%は正しくは栄養状態識別値未満ではなかった。

このことから、BCG法で栄養状態識別値に影響の確率は、BCG法と本法の判定結果が異なる約7%ということになる。本法を用いることにより、低Alb血症患者の5.8%が新たに拾い出される一方、1.5%の患者については栄養状態識別値以上となる。

また、BCG法において、乖離の程度を示す標準残差がCRPと有意の相関性を示したことは、CRP高値検体では、BCG法によるAlb値が正誤差となる確率が高いことを意味する。

ところで、CRPは γ -グロブリン分画に属する

が、同じく γ -グロブリン分画に属するIgGおよびIgAは、本法とBCG法の標準残差との間に有意の相関性を示さなかった。

BCG法は、ハプトグロビン、 α_2 マクログロブリン、トランスフェリン等の急性相反応物質と高い反応性を示す⁹⁾ことから、BCG法での正誤差の原因はCRPそのものの測り込みではなく、CRPと相関性を示す α_1 および α_2 グロブリン分画の測り込みと考えられた。

CRPはBCG法における急性相反応物質の影響の程度を推定できる指標となることが示唆された。

また、細菌感染初期などでは、IgMおよびCRPがともに高値になると考えられるため、CRPほどではないにしても、IgMも急性相反応物質測り込みの指標となりうると思われた。

急性相反応物質上昇時は、逆にAlbが低下する場合が多いため、BCG法で炎症状態の患者を測定するとAlbが正誤差となる確率が高くなり、カットオフ付近では栄養状態識別判定に影響が出ることになるので注意が必要である。

蛋白分画により α_1 および α_2 分画を求めることは、BCG法における急性相反応物質の影響を推定する上で有用と考えられるが、蛋白分画を日常検査として取り入れている施設は少ないと思われる。そこでBCG法を用いる場合は、汎用性の高い項目であるCRPが急性相反応物質の影響を推定する上で有用と思われる。

そこで、BCG法は、CRP濃度がどの程度になったら注意すべきかをROC分析を用いて推定した結果、CRP判別値6.4 mg/dLが得られたが、このときの感度、1-特異度、曲線下面積の各数値はBCG法による低Alb検体測定時において、CRPが急性相反応物質測り込みの指標として十分な推定能力を持ち合わせていることを示している。

このことから、BCG法においてはAlb濃度が3.5 g/dL以下で、かつCRP濃度が6.4 mg/dL以上であった場合は蛋白分画等による確認を行なうことが望ましいと考えられる。

しかし、BCP法であれば、急性相反応物質の測り込みはほとんどないことから¹⁰⁾、BCP改良法は正確性のみならず、臨床的信頼性および実用性が高い検査法ということが出来る。

一方、本法において、ペニシリンG静脈内大量投与の際、負誤差となることが報告されてい

る¹¹⁾。一般的に、抗生物質等の薬剤は投与後Albとの可逆的結合が経時的に進行し、結合しなかった薬剤が有効成分となる。BCP法はBCG法に比べ、薬剤と結合したAlbに対する親和性が低いために負誤差となると考えられるので、他の薬剤でも大量投与されるケースではペニシリンGと同様の現象が起こりうることになる。

なるべく薬剤の血中濃度が下がってから検査を行なうことが望ましいが、あらかじめ臨床側に薬剤大量投与中のAlb検査のリスクについて、特殊なケースとして情報提供しておくことが必要である。

今回の検討では、本法での栄養管理識別値の設定が主な目的であったが、基準範囲や肝機能の評価するための分類のひとつであるChild-Pugh分類（またはChild分類）のカットオフが本法で、どの程度の数値になるかについては、次のように推定される。

本法とBCG法との線形関係式の結果より、臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会プロジェクト報告によるAlbの基準範囲である4.0~5.0 g/dLは、本法では3.8~5.0 g/dLと換算される。

また、Child-Pugh分類は、ビリルビン、Alb、プロトロンビン時間、腹水の程度、肝性脳症の程度を各1~3点にスコア化し、総点数により分類され、肝硬変患者の手術リスク判定の指標として重要とされる。Child-Pugh分類において、Albは、>3.5 g/dL、2.8~3.5 g/dL、<2.8 g/dLの3つのクラスに分けられるが、これはBCG法により設定されたものである。したがって、栄養管理指標と同様に、低Alb領域においてBCG法の乖離率は高くなると予想され、それに伴い拾い漏れも5%前後存在すると思われる。Child-Pugh分類のAlb測定を本法で行なった場合のカットオフ換算値は、線形関係式の結果より、>3.2 g/dL、2.3~3.2 g/dL、<2.3 g/dLとなる。

本法は優れた性能を持ち合わせながら、国内の採用率が、平成21年度日本臨床衛生検査技師会外部精度管理調査報告書を参考にすれば、約30%程度にとどまっている。この原因の1つとして、栄養管理指標やChild-Pugh分類等のカットオフ値あるいは基準範囲といった数値の変更が必要となるため、院内の合意を得るのに労力と時間を要することが挙げられる。

Albが栄養管理指標のみならず肝機能評価等において重要な検査項目の1つであることはいうまでもない。正確性および特異性に優れた測定法の導入とそのデータの蓄積は、医療や患者にとって有益な結果をもたらす新たなエビデンスの確立につながると考えられる。

文献

- 1) Gustafsson JEC: Improved specificity of serum albumin determination and estimation of "acute phase reactants" by use of the bromocresol green reaction. Clin Chem, 22: 616-622, 1976.
- 2) 村本良三: 血清アルブミン定量法. 臨床検査, 48: 537-544, 2004.
- 3) 村本良三, 松下 誠, 入野 勉: 正確度を改善したブロムクレゾールパープル法の日常検査法としての有用性. 医学検査, 46: 823-828, 1997.
- 4) 吉田 浩: 臨床検査材料の医の倫理. 臨床病理, 51: 89, 2003.
- 5) 林 貞夫ほか: 臨床検査における残余検体の教育・研究および精度管理への利用についてのインフォームドコンセント. 臨床病理, 49: 273-277, 2001.
- 6) 刈米和子ほか: BCP改良法「シカリキッドALB-P」による血清アルブミンの栄養管理指標の設定および有用性の検証. 医学と薬学, 60: 127-131, 2008.
- 7) 橋本儀一ほか: レートネフェロメトリーによる尿中微量アルブミンの測定について. 日本臨床検査自動化学会会誌, 13: 279-283, 1988.
- 8) R.N.Barnett 著, 白井敏明 訳: 「臨床検査統計学 正常値、精度管理」. 医学書院, 1980.
- 9) 日本臨床化学会: クオリティマネジメント専門委員会: 福岡県における臨床化学28項目の基準範囲と標準化「臨床化学検査及び基準範囲の統一化プロジェクト」プロジェクト報告. 臨床化学, 30: 171-184, 2001.
- 10) 村本良三: 血清アルブミンの日常検査法. Medical Technology, 32: 731-737, 2004.
- 11) 小野美由紀ほか: ペニシリンGは改良型BCP法での血清アルブミン測定に影響を及ぼす. 臨床化学, 37-suppl.1: 133, 2008.