

〈特集：検査機器・試薬・技術の新たな展開〉

臨床検査試薬を用いて得た測定値と 実質質量濃度との関係について ～ Dダイマー値 > FDP値は変だろうか

桜井 錠治

Relationship between measured values obtained via clinical laboratory testing and actual mass concentrations

George Sakurai

Summary Many substances in clinical laboratories are often measured as ensembles consisting of more than two elements. Because of differences between each element's reactivity in its corresponding reagent, measured values do not always coincide with actual mass concentrations. In this paper, the relationship between the measured value (Ω) and mass concentration (A) is reviewed. In general, $A = a_1 + a_2 \cdots + a_n$, where a_i is the mass concentration of i^{th} element and n is the number of elements. In contrast, $\Omega = \beta_1 * a_1 + \beta_2 * a_2 \cdots + \beta_n * a_n$, where β_i is the reactivity of i^{th} element. If $n \geq 2$, then $A \neq \Omega$, except under the condition of $\beta_1 = \beta_2 \cdots = \beta_n = 1$.

The reason measured FDP values, in limited cases, are lower than those of the D-dimer can be expressed in terms of this relationship.

Key words: measured value, actual mass concentration, reactivity, reaction coefficient, FDP and D-dimer

I. 緒言

臨床検査試薬を用いて、ある生体成分を測定する場合、その生体成分が単一のものではなく複数成分の集合であることはしばしばある。たとえば血清に見いだされる多くの酵素はisozymeの集合であり、血清中の中性脂肪はtri-glyceride、di-glyceride、mono-glycerideより構成されている。一般的にDダイマーと呼ばれる架橋化フィブリン

分解産物 (cross-linked fibrin degradation products) には分子量に多様性が見られる。FDPと呼ばれるフィブリン・フィブリノゲン分解産物 (fibrin/fibrinogen degradation products) はDダイマーと、フィブリノゲン分解産物の総称で、フィブリノゲン分解産物もX、Y、D、E分画など様々な成分から構成されている。

複数成分の集合を測定した測定値は、各々の成分の質量濃度の和とは限られた条件でしか一

株式会社LSIメディエンス診断薬事業本部 学術部
〒101-8517 東京都千代田区内神田1-13-4
E-mail : sakurai.joji@mc.medience.co.jp
電話 : 03-5577-0608
Fax: 03-5577-0655

Scientific Marketing Department, IVD Business
Division, LSI Medience Corporation
13-4 Uchikanda 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 101-
8517, JAPAN

致しない。なぜならば複数成分をまとめて測定した値は、試薬に対する反応性が高い成分が少量存在する場合、測定値は質量濃度より高くなるが、逆に試薬に対する反応性が低い成分が大量にあるがある場合、測定値は質量濃度より低くなる。本稿では試薬を用いて得た測定値と質量濃度の関係を再検討し、測定値とは各成分の〔試薬に対する反応性×質量濃度〕の和であることを示す。

平成4年度厚生省特定疾患血液凝固異常症研究班研究報告書¹⁾にDダイマー測定値がFDP測定値を上まわる例が示されているが、フィブリノゲンを標準物質とするFDP試薬は、検体中に多く含まれている高分子Dダイマーに対する反応性がフィブリノゲンよりも低いため、一見矛盾する測定値が出現するが、この現象が測定値と質量濃度との関係から理解されることを述べる。

II. 材料および方法

FDP試薬、エルピア・FDPは帝国臓器株式会社（現株式会社LSIメディエンス）製を、Dダイマー試薬、エルピアエース D-Dダイマー²⁾は株式会社ヤトロン（現株式会社LSIメディエンス）製を用いた。エルピア・FDPの標準物質はフィブリノゲン、エルピアエース D-Dダイマーの標準物質は試験管内で調製した高分子Dダイマーである³⁾。測定機器はLP1A100自動分析機器（三菱化成株式会社）を用いた。

DダイマーはDD/Eを一単位としたものがN=1から6以上連なった (DD/E)_Nという構造をもつことが知られている。本稿ではSephacryl S-300を用いたゲル濾過で容易に分離できるN_≥2であるDダイマーを高分子Dダイマー、N=1であるDダイマーを単にDD/Eと定義した。またフィブリノゲンはF_g、フィブリンはF_nと略記した。試験管内調製F_n分解産物（高分子Dダイマー、DD/E）、F_g分解産物であるX、Y、D、E分画は文献⁴⁾にしたがって調製した。また各々の質量濃度（蛋白濃度）は280 nmにおける分子吸光係数から求めた。各々のFDPの分子モデル、分子吸光係数をTable 1に示した。

III. 測定値と質量濃度に関する理論的背景

1. 測定値と質量濃度の間の関係

質量濃度と測定値の関係を成分数が1の場合、2以上の場合に分けて考察する。以下総質量濃度に記号A（アルファ）を、測定値に記号Ω（オメガ）を用い、AとΩの関係を調べる。個々の成分の質量濃度をαであらわす。また適宜添え字によって何番目の成分のパラメータであるかを示すこととする（たとえばα₁は第一成分の質量濃度…等）。

・成分数が1である場合

被検物質と標準物質が同一であることから常に〔測定値＝質量濃度〕、すなわちA=Ωが成り立つ。

・成分数が2である場合

被検物質の測定系における反応性を表す指標、反応係数（β）を導入する。被検物質第一成分の質量濃度がα₁である精製品の測定値を質量濃度α₁で割った値β₁は、この測定系における第一成分の反応性を示す指標であり、反応係数と定義する。β₁>1であれば第一成分の反応性は標準物質より高く、β₁<1であれば第一成分の反応性は標準物質より低い。またβ₁=1であれば第一成分の反応性は標準物質の反応性と等しい。

第一成分と第二成分の混合液の測定値Ωは第一成分による測定値β₁*α₁、第二成分による測定値β₂*α₂の和として次のようにあらわされる。

$$\Omega = \beta_1 * \alpha_1 + \beta_2 * \alpha_2 \cdots \textcircled{1}$$

一方総質量濃度Aは

$$A = \alpha_1 + \alpha_2 \cdots \textcircled{2}$$

である。

二成分系の場合Ω=Aすなわち、

$$\beta_1 * \alpha_1 + \beta_2 * \alpha_2 = \alpha_1 + \alpha_2$$

がすべてのα₁、α₂に対し成り立つのは

$$(\beta_1 - 1) * \alpha_1 + (\beta_2 - 1) * \alpha_2 = 0$$

すなわちβ₁=β₂=1の場合だけである。

β₁≠1またはβ₂≠1において限られた、次式に示されるα₁、α₂の関係のもとで、

$$\alpha_1 / \alpha_2 = - (\beta_2 - 1) / (\beta_1 - 1) \text{ の時に } \Omega = A \text{ が成り立つ。}$$

・成分数が3以上である場合

式①、②を一般化すると成分数nの測定値Ω

は

$$\Omega = \beta_1 * \alpha_1 + \beta_2 * \alpha_2 + \dots + \beta_n * \alpha_n \dots \textcircled{3}$$

総質量濃度Aは

$$A = \alpha_1 + \alpha_2 + \dots + \alpha_n \dots \textcircled{4}$$

である。

$\Omega = A$ がすべての $\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n$ に対し成り立つのは

$$\beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_n = 1 \dots \textcircled{5}$$

の場合だけである。

$\beta_1 \neq 1$ または $\beta_2 \neq 1 \dots$ または $\beta_n \neq 1$ において、限られた条件、たとえば $\alpha_3 = \alpha_4 = \dots = \alpha_n = 0$ で次式に示される α_1, α_2 の関係のもとで、

$$\alpha_1 / \alpha_2 = -(\beta_2 - 1) / (\beta_1 - 1) \dots \textcircled{6}$$

の時に $\Omega = A$ が成り立つ。なお、限られた $\alpha_1 \sim \alpha_n$ の条件で $\Omega = A$ が成り立つ例は、IV-3. でふれる。

式 $\textcircled{3}\textcircled{4}\textcircled{5}\textcircled{6}$ で成分数nにおける測定値と質量濃度に関する数学的表現はすべて尽くされた。

2. 数学的表現に対する補足

1) すべての成分に対する反応性を等しくする試薬がひとつの理想だが...

式 $\textcircled{5}$ ： $\beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_n = 1$ の示すところは、多様性のある成分の反応係数がすべて1であればどのような検体であっても測定値は質量濃度に等しくなることにある。例えば血清中乳酸脱水素酵素 (lactate NAD dehydrogenase: LD) は、LD₁からLD₅まで5つのisozymeから構成されているが、各々のisozymeの疾患特異性が異なるため、LD測定目的が、特定の疾患に偏らないよう、すべてのisozymeができるだけ均等に測定できる条件を採用している⁵⁾。

$\beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_n = 1$ が常に成り立つことは魅力的であるが、特に免疫測定法においては全ての成分に対する反応性を等しくすることはなかなか困難である。

2) 標準物質に何を用いるか

式 $\textcircled{5}$ ： $\beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_n = 1$ が成り立つ場合、どの成分を標準物質としても測定値は質量濃度に等しくなる測定系が作成可能である。

式 $\textcircled{5}$ が成り立たない場合、検体中にもっとも多く含まれている成分を標準物質として選択する可能性がある。例えば中性脂肪の標準物質は

tri-oleinが用いられるが、中性脂肪の90%以上はtri-glycerideであること、ヒトtri-glycerideの平均分子量がほぼtri-oleinの分子量に近いという理由からtri-oleinが中性脂肪の標準物質として用いられている⁶⁾。なお、中性脂肪測定において最終的にglycerolの定量系に導く方法を用いている場合、測定単位をモル濃度とすれば、このような質量濃度をめぐる問題からは逃れることができる。

入手容易で構造が安定している物質が標準物質として選択される場合がある。1963年、抗Fg血清を用いて最初に血清FDP検出の意義を見出したFerreira⁷⁾は参照物質としてFgを用い、1966年、FDP定量系を作ったMerskey⁸⁾は標準物質としてFgを用いた。抗Fg抗体と反応する抗原の中で、もっとも入手しやすく構造が決まっていたものはFgに他ならなかったからである。因みにFn分解産物であるDダイマーの構造の詳細が明確になってきたのはFerreira、Merskeyの仕事の10年後以降である。

3) 各成分に対し反応性の異なる測定系を複数用いることにより、複数成分の個々の質量濃度を求めることができる

Takizawaが開発したLD₁ ~ LD₅をそれぞれ測定する方法について文献⁹⁾から引用する。著者はisozymeの種類と同数(すなわち5個)のトータルLD測定系を作成し、さらにそれぞれの測定系における精製したLD₁ ~ LD₅に対する反応係数をあらかじめ求めた。 $\Omega_1 \sim \Omega_5$ はこの論文における5種の測定系における測定値とし、LD₁ ~ LD₅が求めるべき検体中のLDのisozymeの酵素活性とすると、精製品によって求められた反応係数から次式が得られた。

$$\Omega_1 = 1.38 * LD_1 \dots \textcircled{7}$$

$$\Omega_2 = 1.40 * LD_1 + 1.00 * LD_2 \dots \textcircled{8}$$

$$\Omega_3 = 1.23 * LD_1 + 1.08 * LD_2 + 0.88 * LD_3 \dots \textcircled{9}$$

$$\Omega_4 = 1.11 * LD_1 + 1.04 * LD_2 + 0.96 * LD_3 + 0.68 * LD_4 \dots \textcircled{10}$$

$$\Omega_5 = 1.00 * LD_1 + 1.00 * LD_2 + 1.00 * LD_3 + 1.00 * LD_4 + 1.00 * LD_5 \dots \textcircled{11}$$

この式は未知数LD₁ ~ LD₅に関する五元一次連立方程式である。測定により $\Omega_1 \sim \Omega_5$ が得られれば、方程式 $\textcircled{7} \sim \textcircled{11}$ を解くことによりLD₁ ~ LD₅が求まる。このように求めたLD₁ ~ LD₅の

活性値は電気泳動を用いた活性染色法で得たLD isozyme活性と高い相関を示したと報告された。このように式③の関係式を未知の $\alpha_1 \sim \alpha_n$ までn個の試薬で測定して得た測定値 $\Omega_1 \sim \Omega_n$ から個々の $\alpha_1 \sim \alpha_n$ を求めることが可能であった。

文献¹⁰⁾は高分子Dダイマーに反応性の高いDダイマー試薬(H試薬)と、DD/Eに対し反応性の高いDダイマー試薬(L試薬)を用いて2つの試薬によるDダイマー測定値 Ω_H 、 Ω_L を求め、全Dダイマーのうち高分子Dダイマーがどの程度の割合で含まれているかを示す指標、高分子Dダイマー比率R(以下Rと記す)が計算できることを述べたものである。高分子Dダイマーを標準物質に選ぶことにより、H試薬による高分子DダイマーとDD/Eに対する反応係数はそれぞれ1.0および0.1、L試薬による高分子DダイマーとDD/Eに対する反応係数はそれぞれ1.0および3.57であったので、 α_1 、 α_2 をそれぞれ高分子DダイマーとDD/Eの質量濃度とし、 Ω_H 、 Ω_L は次のようにあらわされた。

$$\Omega_H = 1.0 * \alpha_1 + 0.10 * \alpha_2$$

$$\Omega_L = 1.0 * \alpha_1 + 3.57 * \alpha_2$$

この方程式を解けば測定値 Ω_H 、 Ω_L から α_1 、 α_2 を求めることができる。R = [高分子Dダイマー質量濃度 / すべてのDダイマー質量濃度]として定義すると、高分子Dダイマー質量濃度 = α_1 、すべてのDダイマー質量濃度 = $\alpha_1 + \alpha_2$ であるから

$$R = \alpha_1 / (\alpha_1 + \alpha_2) \cdots (12)$$

である。Rは α_1 、 α_2 が求まれば計算でき、H試薬、L試薬の測定値から多数検体のRを求めることが可能となった。

この節の2例はいずれも式③が未知パラメータ数と同数の独立した測定法があれば、すべての成分の質量濃度を求めうることを示している。逆に考えれば、多成分系における質量濃度を求めるのは大変むづかしい問題である。

3. 理論的背景——まとめ

数式を用いずに以上を表現すれば、多成分を一括して測定する場合、測定値は各成分の〔反応係数×質量濃度〕の和であらわされる。もし成分数が1、すなわち標準物質と測定物質がまったく一致しているならば〔測定値=質量濃度〕

であるが、成分数が複数であれば、各成分に対する反応係数が1であるときを除いて測定値と質量濃度は一致しない。ただし限られた条件で、測定値と質量濃度が一致する場合がある。

数学的に、多成分を一括して測定する試薬を特徴づけているものは、(i) それぞれの成分に対する反応係数はいくつか、(ii) 何が標準物質として用いられているか(どの成分の反応係数が1であるか)の二点である。

IV. 応用問題～ FDP 測定値と D ダイマー測定値の関係について

1. Dダイマー測定値とFDP測定値の相関

Fig.1は高橋による試薬エルピア・FDP、エルピアエース D-Dダイマー、自動分析機器LPIA100を用いて得たFDP値とDダイマー値の相関を平成4年度厚生省特定疾患血液凝固異常症研究班研究報告書¹⁾から引用改変したものである。〔Dダイマー測定値 / FDP測定値〕をDD/FDP比と定義すると、DD/FDP比は患者の凝固線溶状態を反映すること、したがって両項目同時測定の有用性が著者によって報告された^{1), 11)}。我々もDIC患者血清を用い、異なるDD/FDP

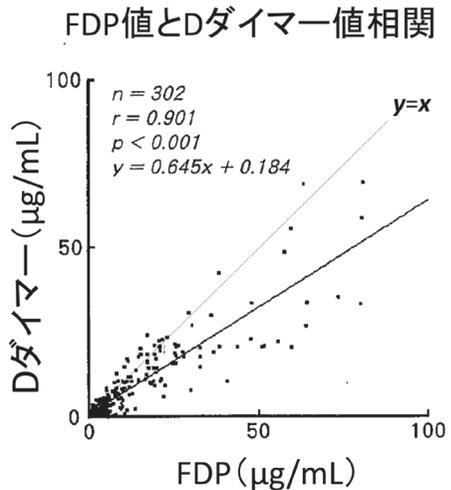


Fig.1 FDP値とDダイマー値相関(文献¹⁾より引用改変)
FDP試薬:エルピア・FDP、Dダイマー試薬:エルピアエース D-Dダイマー
y=x は筆者挿入

比をもつ検体、急性リンパ性白血病患者血清 (DD/FDP比≒1) と前立腺癌患者血清 (DD/FDP比≒0.5) についてゲル濾過法を用いて解析した^{13),14)}。結果をFig.2-1、2に示した。DD/FDP比≒1であるFig.2-1の例においてほとんどのFDPは高分子Dダイマーであることが観察された。DD/FDP比≒0.5であるFig.2-2の例においてはDダイマーのほとんどは高分子DダイマーであるがN=1のDD/Eもわずかに観察されること、Fg分解産物であるD分画が多く存在すること、

ことが観察された。この両クロマトグラムの違い、すなわちFDPを構成する分画の違いはDD/FDP比に反映され、DD/FDP比は病態把握に有用な情報をもつことが示唆された。

Fig.1のグラフの一部の検体においてDD値>FDP値 (DD/FDP比>1) である例が見られた。なぜFDPの部分集合であるDダイマーの測定値がFDP値を上まわるのか、試薬の試験管内調製した高分子Dダイマー、DD/Eに対する反応性から考察した。

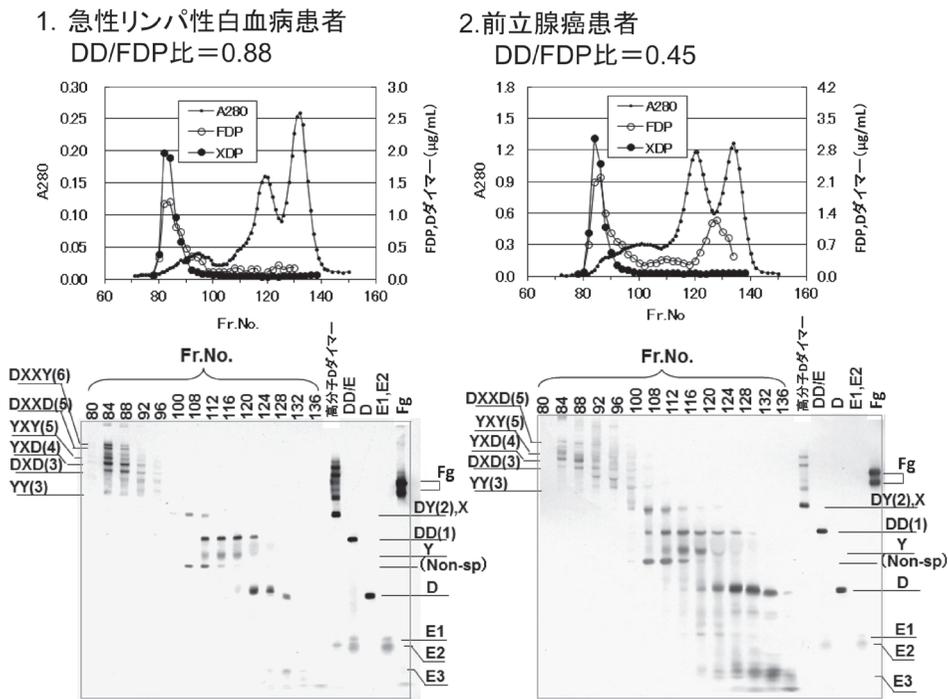


Fig.2 DIC患者血清のゲル濾過によるFDPの解析 (文献¹⁴⁾より引用改変)
 DIC患者血清のSephacryl S-300によるゲル濾過各フラクションのFDP試薬、Dダイマー試薬による測定値およびウエスタン・プロットを示す。図中●はDダイマー値、○はFDP値、・は280 nmにおける吸光度を示す。図におけるカッコ内の数字はDダイマーを (DD/E)_Nと表現した時のNを示す。
 Fig.2-1. に急性リンパ性白血病患者由来検体 (Dダイマー値 468 μg/mL、FDP値 532 μg/mL、DD/FDP比 0.88) の結果を示した。クロマトグラム、ウエスタン・プロットの結果はこの患者検体のFDPのほとんどが高分子Dダイマーと考えられることを示した。
 Fig.2-2. に前立腺癌患者由来検体 (Dダイマー値 110 μg/mL、FDP値243 μg/mL、DD/FDP比 0.45) の結果を示した。DD/FDP比が低いこと、D分画 (Fr.No.128近傍) が大量に存在することから、患者は過剰線溶状態にあると考えられる。FDP測定値からDD/E (Fr.No.110近傍) のピークが認められるが、全Dダイマーのうちで占める割合は小さい。ウエスタン・プロット図を見ると、低分子量の物質に対する染色像は、高分子量の物質に対する染色像よりきわめて強く、反応性を論じる視点から見ればウエスタン・プロット法においては低分子物質に対する反応性が高分子物質に対する反応性より高いといえる。したがって染色像の強さで定量的判断が困難なことを本図は示している。

2. FDP試薬、Dダイマー試薬の各FDP分画に対する反応性について

FDP試薬、Dダイマー試薬の各FDP分画に対する反応性を求めた。まず架橋化Fn分解産物、Dダイマーについて述べる。ゲル濾過によって分画したDダイマー各フラクションの280 nmにおける吸光度、FDP値、Dダイマー値から求めた各フラクションの反応係数をプロットした(Fig.3)。さらにFg分解産物から精製したX、Y、D、E分画、および高分子Dダイマー (Fig.3のN \geq 2のフラクションのプール)、DD/E (Fig.3のN=1のフラクションのプール) のFDP試薬、Dダイマー試薬による反応係数を求め、結果をTable 1に示した。

Fig.3、Table 1はFDP試薬のDダイマーに対する反応係数は分子量が小さくなるほど高くなること、Dダイマー試薬は高分子Dダイマーに対する反応係数が高く、DD/Eに対する反応係数は極めて低値であることが示された。FDP試薬のX、Y、D、E分画に対する反応係数は、すべてFgの反応係数より高かった (Table 1)。なお、Table 1には記していないがE分画に対するFDP試薬の反応係数はE分画10 μ g/mL以下では $\beta_{E分画}=2.9$ であるが10 μ g/mL以上においてプロゾン領域となり、急激に反応性は低下してゆく。高濃度のE分画はFDP測定値にあまり貢献しなかった。

3. Dダイマー、Fg分解過程におけるFDP試薬、Dダイマー試薬の〔測定値/質量濃度〕(Ω/A)の推移

測定値や〔測定値/質量濃度〕は、各成分に対する反応係数が既知であるならば、各成分の質量濃度を式③に代入することによりシミュレートでき、測定値と質量濃度の違いを解析することができる。その方法をTable 2で説明する。Table 2の中でA~Eはカラム名を示す。カラムAにそれぞれのFDP分画の質量濃度、カラムBにFDP試薬の各成分に対する反応係数、カラムDにDダイマー試薬の各成分に対する反応係数を入力する。カラムAの総和A8は式④の質量濃度Aである。カラムC、Eは式③の第i成分の $\beta_i \cdot \alpha_i$ に相当する各成分の各試薬における測定値で、その総和はC8、E8に示され、各々FDP測定値(Ω_{FDP})、DD測定値(Ω_{DD})となる。B7、D1に1が入力されているのはFDP試薬の標準物質はFg、Dダイマー試薬の標準物質は高分子Dダイマーであることを示す。

Dダイマー分画の分解過程における〔FDP測定値/質量濃度〕、〔Dダイマー測定値/質量濃度〕を求めるため、高分子Dダイマーとプラスミン分解がより進んだDD/Eを10:0、9:1、8:2、7:3、6:4 (それぞれR=1.0、0.9、0.8、0.7、0.6)で調製した混合品の〔測定値/質量濃度〕(Ω/A)をTable 2を用いた方法で計算し、FDP試

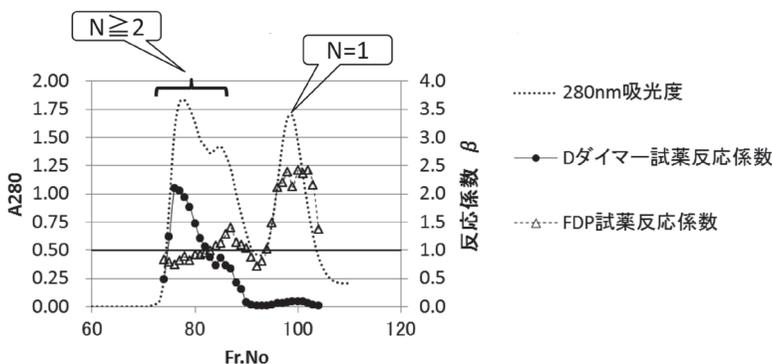


Fig.3 ゲル濾過により分画したDダイマーのFDP試薬、Dダイマー試薬に対する反応係数
試験管内で調整したDダイマーをSephacryl - S300によるゲル濾過で得た各フラクションの280 nmにおける吸収、FDP値、Dダイマー値を測定した。蛋白濃度は $\epsilon_{mg/ml}=1.81$ を用いて求め、各フラクションのFDP、Dダイマー値を蛋白濃度で割ることによって反応係数を求めた。

Table 1 Dダイマー（高分子Dダイマー、DD/E）、Fg分解産物（X、Y、D、E分画）の、分子モデル、分子量、280 nmにおける分子吸光係数 ϵ mg/mL、FDP試薬、Dダイマー試薬における反応係数

試験管内調製 フィブリン・フィブリノゲン分解産物		分子モデル	分子量	精製品 分子吸光係数 ϵ mg/mL	エルビア・FDP 反応係数 β	エルビアエース D-D 反応係数 β
Dダイマー	高分子Dダイマー N=2~6 (図はN=5)		1×10^6 以上	1.81	0.85	1.00
	DD/E N=1		2.5×10^5	1.81	2.40	0.10
フィブリノゲン分解産物	X		2.5×10^5	1.42	1.70	0.00
	Y		1.5×10^5	1.76	2.00	0.00
	D		1×10^5	2.08	3.30	0.00
	E		5×10^4	1.04	2.90*	0.00
フィブリノゲン	Fg		3.4×10^5	1.51	1.00	0.00

*ただし濃度10 μ g/mLまで。これ以上はPZ領域となる。

薬による結果を実線で、Dダイマーによる結果を点線でFig.4-1に示した。Dダイマー試薬の場合、測定値と質量濃度が等しいのは高分子DダイマーとDD/E混合比率10:0 (R=1.0) の時、FDP試薬の場合、測定値と質量濃度が等しいのはR=0.903の時 (Fig.4-1、Table 3-1) であった (このことはIII-1. に記した限られた条件において $\Omega = A$ となる例である)。またFDP測定値とDダイマー測定値が等しくなるRはR=0.94であった (Fig.4-1、Table 3-2)。

精製したFg分解産物各分画を用い、Fg分解過程における〔測定値/質量濃度〕(Ω / A)の推移を検討した。Fgをプラスミンで分解すると、 $Fg \Rightarrow X \Rightarrow Y + D \Rightarrow 2 \times D + E$ と分解が進んでゆく。Table 1の反応係数、分子量を用いTable 2を用いた方法によって得た結果を実線でFig.4-2に示した。

FDP試薬はDダイマー分解過程、Fg分解過程において、同一質量濃度であれば測定値は分解の進捗につれて大きくなることが示された。一方Dダイマー試薬は高分子Dダイマーに対し反応性が高く、分解が進むほど反応性が低くなることが示された。

4. FDP測定値とDダイマー測定値の関係について——考察

FDP試薬の高分子Dダイマーに対する反応係数は同一質量濃度のFgの反応係数より低かった (Table 1)。仮に高分子Dダイマーの分子量

を 1.5×10^6 とすると高分子Dダイマーの分子数が分子量 3.4×10^5 である同一質量濃度のFgの5分の1 (22%) 程度になり、分子数不足のゆえにFgよりラテックスを凝集させる力が低く、質量濃度より測定値が低値となると考えられた。このことはIII-2-2) で述べた分子数が測定系の本質をなす中性脂肪測定系と類似していると考えられる。一方、Fig.4の結果は、FDP試薬がDダイマーやFgのプラスミン分解が進むほどその質量濃度より大きな測定値を示す試薬であることを示した。すなわちFDP試薬は、すべての成分に等しい反応性をもち、測定値をなるべく質量濃度に合わせるように設計されたものではなく、線溶状態の強さが質量濃度を超えて、より大きく測定値に反映するように設計されたものである。この性質が88年度厚生省DIC診断基準¹⁵⁾を定めることにおいて重要な役割を果たしてきたFDP試薬の特性である。

ヒト検体中Dダイマーが高分子であることはDダイマー試薬開発時から把握されていたため^{4), 10), 13), 14)}、我々はDダイマー試薬の標準物質にはヒト検体に高頻度で検出される高分子Dダイマーを用い、試薬は高分子Dダイマーに反応性の高くなるように設計した (Table 1)。したがって、高分子Dダイマー 100% (R=1) の検体を測定したときにおいて測定値は質量濃度に一致する。患者検体のRの分布を調べると、患者検体の95%のRはFig.4-1の*印にて示したとおり0.92から1の間に分布することが知ら

Table 3 [FDP測定値=質量濃度]、[FDP測定値=Dダイマー測定値]となるようなRの計算 (Fg分解産物は0の仮定ゆえフィブリノゲン分解産物の欄省略)

1.

試験管内調製 フィブリン・フィブリノゲン分解産物		質量濃度 α	エルピア・FDP 反応係数 β	エルピア・FDP 測定値	エルピアエース D-D 反応係数 β	エルピアエース D-D 測定値
Dダイマー	高分子Dダイマー N=2~6	0.903	0.85	0.77	1.00	0.90
	DD/E N=1	0.097	2.40	0.23	0.10	0.01
合計		1.000		1.000		0.913

(A) (Ω_{FDP}) (Ω_{DD})

2.

試験管内調製 フィブリン・フィブリノゲン分解産物		質量濃度 α	エルピア・FDP 反応係数 β	エルピア・FDP 測定値	エルピアエース D-D 反応係数 β	エルピアエース D-D 測定値
Dダイマー	高分子Dダイマー N=2~6	0.939	0.85	0.80	1.00	0.94
	DD/E N=1	0.061	2.40	0.15	0.10	0.01
合計		1.00		0.945		0.945

(A) (Ω_{FDP}) (Ω_{DD})

Table 3-1 [FDP測定値=質量濃度]となる条件計算。A2に“=1-A1”を入力。A1にRの候補となる数字を順次入力し、A8、C8が等しくなる値を探す。Table 3-1はその結果で、[FDP測定値=質量濃度]となるRはR=0.903である。

なお式⑥に $\beta_1=0.85$ 、 $\beta_2=2.4$ を代入し $a_2/a_1=0.107$ を得、それを式⑩に代入しR=0.903を得ることができる。

Table 3-2 [FDP測定値=Dダイマー測定値]となる条件計算。A2に“=1-A1”を入力。A1にRの候補となる数字を順次入力し、C8、E8が等しくなる値を探す。Table 3-2はその結果で、条件を満たすRはR=0.939である。

なおFDP測定値は $0.85 * a_1 + 2.4 * a_2$ 、Dダイマー測定値は $1 * a_1 + 0.1 * a_2$ と表現できるので、 $a_1=R$ 、 $a_2=1-R$ 、とおき、両者が等しくなるRを求めるとR=0.939を求めることができる。

れ¹⁰⁾、この範囲内のR=0.94でFDP測定値とDダイマー測定値は等しくなる (Fig.4-1においてR=0.94で実線と点線が交わる)。したがって高分子Dダイマーに対し反応性がやや弱いFDP試薬による測定値は、100%高分子Dダイマーで構成されているような検体ではDダイマー測定値を下回るが、わずかにDD/Eを含む検体 (R=0.94)において両測定値は等しく、さらに線溶が進んだ検体ではDD/EやFg分解産物の関与で、FDP値がDダイマー値を上回るようになる。このことは式③の測定値と質量濃度との関係の把握によって、はじめて定量的に理解された。

V. 結語

多成分を含む集合体を一括して測定したとき、測定値と質量濃度の関係につき、再検討した。質量濃度の和は個々の成分の質量濃度の和であり、測定値は個々の成分に対する試薬反応性×質量濃度の和である。このことは臨床検査の現場で活用されてきている原理であることについて生化学項目やFDPの例をあげて述べた。また、このような観点から目前の事象を観察していれば、今まで見落としていた新たな成分や成分同士の相互反応が見いだされる可能性もあると考え、改めて数学的背景を含めて論じた。

文献

- 1) 高橋芳右 他：DIC診断におけるDダイマーのスコア化. 平成4年度厚生省特定疾患血液凝固異常症研究班研究報告書：101-104, 1993.
- 2) 桜井錠治、河野 功、徐 吉夫：LPIA100によるDDダイマーの自動測定法. 機器試薬, 13: 617-24, 1990.
- 3) 松田道生、徐 吉夫：フィブリン血栓のプラスミン分解 Dダイマーの出現と血中でのその存在様式. けんさ 23(2): 20-33, 1993.
- 4) 徐吉夫 ほか：フラグメントDのアミノ末端の構造を認識するモノクローナル抗体 (JIF-23) を用いたフィブリンのプラスミン分解産物の解析. 日本血栓止血学会誌, 5(2): 105-113, 1994.
- 5) 日本臨床化学会試薬専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法—乳酸デヒドロゲナーゼ—. 臨床化学, 33(補冊1): 101-115, 2004.
- 6) 日本臨床化学会試薬専門委員会：血清中の中性脂肪濃度測定の勧告法. 臨床化学, 33(補冊1): 210-222, 2004.
- 7) Ferreira H.C. & Murat L.G.: An immunological method for demonstrating fibrin degradation products in serum and its use in the diagnosis of fibrinolytic states. Brit J Haematol 9: 299-310, 1963.
- 8) Merskey C., Kleiner G.J. & Johnson A.J.: Quantitative Estimation of Spirit Products of Fibrinogen in Human Serum, Relation to Diagnosis and Treatment. Blood 28: 1-18, 1966.
- 9) Takizawa N. et al.: Spectrophotometric Method for Selective Assay of the Five Isoenzymes of Human Lactate Dehydrogenase, Based on Their Different Stabilities at Alkaline pH. Clin Chem 29(11): 1941-45, 1983.
- 10) 桜井錠治、長濱 裕、大山正之：血漿中架橋化フィブリン分解産物の分子量分布について. 日本検査血液学会誌, 16(2): 128-135, 2015.
- 11) 高橋芳右 他：臨床症例におけるFDPおよびDダイマー値の動態と両者間の解離例の解析. 平成5年度厚生省特定疾患血液凝固異常症研究班研究報告書：23-28, 1994.
- 12) Sato N, Takahashi H. and Shibata A.: Fibrinogen/Fibrin Degradation Products and D-Dimer in clinical Practice: Interpretation of Discrepant Results. Am J Hematol 48: 168-74, 1995.
- 13) 河野 功、桜井錠治、徐 吉夫: 血漿中フィブリン分解産物 (FDP) の解析. 日本血液学会誌, 55 (補冊1): 286, 1992.
- 14) 生物化学的測定研究会編：免疫測定法－基礎から先端まで、224-234. 講談社、東京 (2014)
- 15) 厚生省DIC診断基準 (1988年改訂版)