

9. 平成 29 年度血清ビリルビン分画定量標準化委員会  
プロジェクト報告  
我が国における血清ビリルビン分画定量標準化の方向性

**Project Report from the Committee on the Standardization of  
Measurements of Serum Bilirubin Subfractions in 2017  
The Study investigated the Trends and Development in Standardization**

涓原 博 (プロジェクト代表者、千葉科学大学教授)

**Hioroshi Ihara (Project Chairperson: Professor, Chiba Institute of Science)**

**委員 (順序不同、敬称略)**

木内幸子 (千葉科学大学)、藤村善行 (北里大学病院)、三浦芳典 (北里大学病院)、大澤 進 (国際医療福祉大学)、石橋みどり (新東京病院)、金原清子 (虎の門病院)、大竹和子 (元慶應義塾大学病院)、猪田猛久 (天理よろづ相談所病院)、植田成 (旭化成ファーマ株式会社)、日本臨床検査薬協会技術委員、

1. プロジェクトの目的

血清ビリルビンの分画定量は黄疸の鑑別診断に重要な検査である。総ビリルビン定量法は測定原理の違いによるデータの差異は少ないが、直接ビリルビンは測定原理による方法間差が大きな検査項目として課題が多い。ジアゾ法、酵素法、化学酸化法など測定法による反応特異性が異なるため、臨床上大きな混乱をきたしている。本プロジェクトではビリルビン分画の定義、非抱合および抱合ビリルビンの標準物質の規定と常用参照標準物質の規格などを整備することで、ビリルビン分画定量値の標準化を図ることを目的とする。

平成 26 年 10 月より 5 回の委員会を開催し討議するとともに、調査ならびに予備実験を行ってきた。これまでの研究成績をもとに、我が国における標準化の方向性について報告する。

2. 平成 29 年度開催委員会

○第 1 回ビリルビン分画定量の標準化委員会

平成 29 年 10 月 5 日:10 時 30 分~11 時 30 分(第 57 回日本臨床化学会年次学術集会)

平成 30 年 3 月 13 日:15 時~16 時 30 分 (日本臨床検査薬協会事務局会議室)

3. 標準化の方向性

3.1. 血清ビリルビン分画の定義

高速液体クロマトグラフィ (HPLC) 分析では、血清ビリルビンは非抱合ビリルビン、抱合ビリルビン (モノグルクロニド+ジグルクロニド)、デルタビリルビンに分画される。日常検査では、これらビリルビン分画の総和である血清総ビリルビン濃度と直接ビリルビン (あるいは、抱合ビリルビン) 濃度が測定されている。

前者 (ジアゾ法準拠法) の直接ビリルビン濃度は抱合ビリルビンにデルタビリルビンと非抱合ビリルビン (間接ビリルビン) の一部を含有した濃度であり、後者 (特異的酵素法) の抱合ビリルビン濃度はデルタビリルビンを含まない濃度である。

従って、血清ビリルビン標準化委員会では、直接ビリルビン=抱合ビリルビン+デルタビリルビン、と定義した。

市販ビリルビン測定試薬を、直接ビリルビン測定試薬 (デルタビリルビンを測り込む試薬) と抱合ビリルビン測定試薬 (デルタビリルビンを測り込まない試薬) に大別した。

3.2. 血清ビリルビン分画測定における標準化の方向性

現在、血清ビリルビン濃度の測定法は、総ビリルビン測定についてジアゾ法が基準測定操作法（RMP）とされているが、直接ビリルビン（あるいは、抱合ビリルビン）測定については RMP が策定されていないことから、測定値の標準化がなされていない。

既に報告されている文献的根拠ならびに後述する予備実験より、市販ビリルビン測定試薬の抱合ビリルビンとデルタビリルビンの反応性の差が明らかになっている。反応性の異なるデルタビリルビンを測り込むジアゾ法準拠法での直接ビリルビン測定の標準化の難しさから、標準化委員会では、抱合ビリルビン測定試薬（デルタビリルビンを測り込まない試薬）について標準化することで意見が一致した。

検査標準化の利用者である日本消化器病学会からの、デルタビリルビンを測り込まない抱合ビリルビン測定での標準化の要望にも応えたい。肝細胞性黄疸や閉塞性黄疸の減黄期の病態評価に、抱合ビリルビン濃度が直接ビリルビン濃度（デルタビリルビンを含む）よりも優れるという文献的根拠に基づく。

### 3.3. 各種ビリルビン分画成分の作製と市販測定試薬の反応性（予備実験）

一次校正物質である NIST SRM 916a の代替品（Sigma-B4126）、ジタウロビリルビン、合成デルタビリルビンについて RMP（ジアゾ法）での総ビリルビン濃度、検定濃度、市販測定試薬による総ビリルビン濃度、直接ビリルビン濃度、抱合ビリルビン濃度の測定を行った。非抱合ビリルビンの一部（5～56%）を直接ビリルビンとして測定する試薬が特異的酵素法以外の試薬でみられた。

合成デルタビリルビンは特異的酵素法では反応性は低いが、ジアゾ法に準拠した酵素法や化学酸化法では直接ビリルビンとして反応を示した。

以上の予備実験から抱合ビリルビンの測定体系を構築するための測定法は特異的酵素法が対応できる可能性が明らかになった。

### 3.4. 総ビリルビンならびにビリルビン分画の測定体系（トレーサビリティ）

一次校正物質である NIST SRM 916a、次のロットである SRM 916b が提供されていないことから、ほぼ同等の特性を持つ代替品（Sigma-B4126）を基準物質として暫定的に定め、タウリン抱合型ビリルビンであるジタウロビリルビンを抱合ビリルビン基準物質として定め、その濃度は代替品（Sigma-B4126）を用いて評定する。非抱合ビリルビンである代替品（Sigma-B4126）でジタウロビリルビンの濃度評定を行い、抱合ビリルビン一次校正物質とする。抱合ビリルビン特異的酵素法では各試薬の条件で各一次校正物質を測定して、正確さの伝達を行う。

市販測定試薬への正確さの伝達は上記各一次校正物質を用いて、二次校正物質（血清）に値付けを行い、市販試薬のキャリブレーションとする。