

平成 2016 年度尿検査標準化委員会調査研究—尿蛋白測定の標準化の現状と問題点（尿蛋白試験紙を中心に、尿アルブミン試験紙、尿総蛋白定量、尿アルブミン免疫定量標準化も併せて）

**A report from the Committee on Urinalysis Standardization:
Present status of urine protein measurement standardization on
urine dipstick's test for total protein along with its related tests
of a dipstick test for albumin, total protein measurement, and
albumin immunoassay.**

伊藤 喜久（尿検査標準化委員会委員長、永寿総合病院臨床検査科部長）

**Yoshihisa Ito, MD, PhD (Chairperson of the Committee on Urinalysis
Standardization, Director of Clinical Laboratory, Eiju General Hospital)**

1. 目的

JCCLS 指針「尿試験紙検査法」（JCCLS-GP3-P1）では、尿総蛋白（TP 試験紙の判定基準は、総蛋白量 30 mg/dL（300 mg/L）を（1+）と定めている。しかしながら基準となる物質、表示値の設定は各社にゆだねられ統一基準はなく、実際の検査の現場においては測定結果にバラツキが生じている恐れもある。そこで本邦における試験紙蛋白検査を中心に、これに関わる尿試験紙アルブミン、尿総蛋白定量法、アルブミン免疫測定法も併せ、標準化の現状を調査実施した。

2. 期間

平成 27 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日

3. 構成委員

伊藤 喜久¹、細萱 茂実²、栗原 由利子²、
多田 昌代³、浅田 治孝⁴、渡辺 浩⁵、
武内 義弥⁶、森 和夫⁷、坂田 裕二⁸、
佐伯 ひろみ⁹、薬師寺 小百合¹⁰、
西村 一平¹¹、渋谷 尚彦¹²、安部 正義¹²、

望月 克彦¹²

1. ライフ・イクステンション研究所附属永寿総合病院臨床検査科、2. 東京工科大学医療保健学部臨床検査学科、3. アークレイマーケティング株式会社、4. 株式会社三和化学研究所、5. シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社、6. 東洋濾紙株式会社、7. ニットーボーメディカル株式会社、8. ベックマン・コールター株式会社、9. ラジオメーター株式会社、10. ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社、11. 和光純薬工業（株）、12. 日本臨床検査薬協会

4. 開催日時

2016. 04. 01 付で JCCLS から協力依頼文書

2016. 06. 20 第 1 回説明会実施
（臨薬協会議室）

2016. 09. 30 技術運営委員会にて経過報告
（臨薬協会議室）

2016. 10. 21 技術運営委員会にて経過報告
（臨薬協会議室）

- 2016.12.01 技術運営委員会にて経過報告
(外部会議室)
- 2017.01.27 技術運営委員会にて経過報告
(臨薬協会議室)
- 2017.03.08 最終報告説明会
(臨薬協会議室)

5. 結果報告

1) 尿総蛋白定量結果と尿アルブミン定量法には良好な相関関連

精製ヒトアルブミン、血清マトリックス凍結乾燥品、血清アルブミン添加尿、およびプール尿を用いた。測定原理がそれぞれ色素法、免疫測定法と異なる。両者間にある程度のバラツキを予想したが、実際には極めて良好な相関性を得た。詳細は別途報告する予定であるが、TP定量法もヒト血清アルブミンを検量物質としていること、検体はアルブミンが主成分で動態変化していること、TP定量は単点検量であり測定比較領域で差異が生じにくいことなどがあげられる。

2) 各社試験紙 TP 検査測定 (判定) 結果はおおむね良好に収束

試験紙検査は目視判定、あるいは自動測定機器測定と判定法は異なる。JCLLS 指針「尿試験紙検査法」で定められた TP 定量濃度 30 mg/dL (300 mg/L) で判定グレード段階 (1+) と定められた付近では、概ね良好な収束を維持していた。さらに (-)、(±)、(2+)、(3+) に至るまで、TP 定量濃度のみならずアルブミン定量濃度段階でも、ほぼ一致して並行上昇を示した。

3) 高感度反射率測定法による解析—各社試験紙ともヒトアルブミン量を反映して反射率が変化

7社のうち6社から尿試験紙の提供を受け、

標準物質 (相当品)、実尿、精製水、アルブミン添加尿 (U-Alb1) を用いて反応時間、連続波長による反射率 (kinetics) を連続測定した。

Time course study では、プラトーに達するのは各社で異なる。おおよそ 100-500 秒であった。マトリックスの影響を受けずに濃度依存性に徐々に反応時間の延長を認められた。

各社別に 340 から 820 nm まで 10 nm 間隔で連続的に変化させ、約 625 nm 付近で最も高い分別能を得た。反射率もマトリックスを問わず、濃度依存性に増加した。

実尿を用いて 630 nm を共通検出波長として定め測定すると、参加 6 社の試験紙は精製水、精製アルブミン、精製血清アルブミン添加尿、血清マトリックスベース蛋白日常標準品、実尿とはす見事に並行した反射率を示し、試験紙が主にアルブミンと反応していることが示された。

6. 試験紙アルブミン、尿総蛋白定量、アルブミン定量法の標準化の現状

試験紙 TP に関連した事項として調査した。定量値の測定標準化の実現によりさらに測定法間のバラツキの縮小が期待される。概要を示しておく。

1) 微量アルブミン試験紙

検出原理の相違、測定波長が異なり各社間の比較検討は難しい。このような条件であっても基本測定原理は同一近似しており、高感度反射法において各社試験紙は平行した反射率を示した。下記 3) に示す尿アルブミンの定量測定法の国際的な標準化により、よりバラツキの少ない判定基準が定まることも期待される。クレアチニン (Cr) は Jaffe

法が採用されている。小児、老人では筋肉量の影響を受けやすく定量法での問題は、試験紙検査でも影を落としている。

2) 総蛋白定量

尿中を構成する蛋白成分は、健常状態、種々の病態・疾患で多種多様を極め、測定システム自体も各成分を等価にカバーできる測定法はない。従って、測定標準化は困難となる。

実際の臨床での測定適応病態は、アルブミンを主体とするものであり、TP 測定はヒト血清アルブミン (HSA) を検量物質として測定するのは妥当と思われる。国際標準物質に traceability を有する標準物質、おそらくはヒト血清アルブミンを据え、Reference measurement system の構築は必須となる。これに加えて単点検量がどこまで標準化の視点から許容できるか否か、とりわけ CKD ガイドにみられる判定基準の日常利用における影響効果から、新たな測定法の開発、既存法の改良の検討の余地が残されている。

3) 尿アルブミン定量

免疫学的測定法の原理によるもので現在 20 社をこえる測定システムが上市されている。これまでの研究から国際標準品 (ERM-DA470k/IFCC、IRMM) から正確に値付された日常標準品による標準化の実現の可能性が示されている。しかし今回調査した結果では、国際標準品の利用は 1 システムを除いて進められていない。標準化の研究は米国でも続けられ 10 年以上にも及ぶ。ようやくリファレンスシステムが構築されてきている。当然、米国、欧州の調整が近い将来なされると思われるが、それぞれの表示値の“妥協設定”がなされるはずである。このことにより試験紙検査の標準化も含め一気に解決

される可能性がある。

7. 結語

尿試験紙総蛋白検査は、目視判定、自動機器判定を問わず、総蛋白量 30 mg/dL で定めた +1 さらに - ~ 3+ の判定基準に至るまで、検査結果は各社ともおおむね一致を見た。本検査が測定原理上アルブミンを反映しており、総蛋白量測定法もアルブミンを参照物質としていることに基づく。簡易定性検査であることを考慮すれば、日常臨床において、ある程度標準化された現状にあると判断される。近い将来、ヒトアルブミンを中心とする尿蛋白定量の標準化が実現した暁には、試験紙検査の標準化はさらなる改善、向上が期待される。