

急性腎障害マーカーとしての尿中 NGAL

◎森 潔

京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター

【腎障害の重症度評価・腎臓病のタイプ】

腎障害・腎臓病の重症度は主に腎機能低下および蛋白尿によって診断される。また腎臓病には水・電解質異常や血管の異常も含まれる。腎機能の低下なく高度蛋白尿を呈する腎疾患の代表は微小変化群、またわずかの蛋白尿で腎機能が低下するものの代表は高血圧性腎硬化症である。一方、糖尿病性腎症(顕性腎症)、ループス腎炎では腎機能低下と蛋白尿の両者が見られやすい。本セミナーではとくに腎機能悪化を検出する方法について考えたい。

【腎障害バイオマーカーとしての NGAL の発見の経緯】

1993 年に neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) は好中球の分泌顆粒から、機能未知で gelatinase B (コラーゲン分解酵素) と一部共有結合している分泌蛋白として同定された。2002 年に NGAL は胎児腎の分化誘導活性を有することが示された。2003 年にマウス腎虚血再灌流障害の 3 時間後から NGAL 発現が亢進することが報告され、その後、数多くの腎障害モデルにおいて腎臓での NGAL 発現が増加することが確認されている。2005 年にヒト急性腎障害 (AKI) において腎組織、血液、尿中に NGAL が集積し、NGAL の投与はマウス腎虚血再灌流障害を軽減することが明らかとなった。また 2005 年に小児開心術において、術後 2 時間後に尿中 NGAL が増加した症例では、1-3 日後に血清クレアチニンが 1.5 倍以上に増加し、その時点で AKI と診断されることが報告された。2008 年には救急外来受診時に尿中 NGAL 高値を示した症例では、その後血清クレアチニンが増加し AKI と診断される可能性が非常に高い一方、脱水や慢性腎臓病である可能性は低く、血清クレアチニンよりも有用であることが示された。2012 年に日本人 ICU 患者の検討で、尿中 liver-type fatty acid-binding protein (L-FABP) は腎実質性 AKI・腎前性 AKI の両方で増加するが、尿中 NGAL は腎前性 AKI (脱水) では増加しないことが確認された。

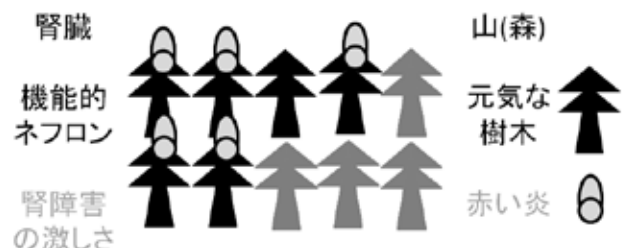
【急性腎障害のバイオマーカーの比較】

健常人では 1 日約 1g のクレアチニンが筋肉より産生され、尿中に排泄される。腎機能(老廃物を排泄する能力)が 1/2、1/3 になると、徐々に徐々に血清クレアチニン濃

度が増加し、2 倍、3 倍になった時点で尿中クレアチニン排泄量が産生量と釣り合い、安定状態となる。血清クレアチニン・血清シスタチン C・eGFR・クレアチニンクリアランスなどは残存腎機能の指標であり、山火事に例えると火事を免れた元気な樹木の割合を示す。一方、尿中 NGAL・尿中 L-FABP は腎障害の激しさ・強さの指標と考えられ、山火事では炎の勢いを反映し、元気な樹木の割合とは独立した別の指標と思われる。このように考えると、AKI では血清クレアチニンは数日かけてゆっくり増加するが、尿中 NGAL は数時間で増加することが理解でき、これを我々は腎不全の山火事理論として 2007 年に提唱した(下図)。尿中 kidney injury molecule-1 (KIM-1) は障害を受けた尿細管が増殖・修復する時期に増加するので、AKI でのタイミングとしては尿中 NGAL よりも遅く、血清クレアチニンよりも早い。

AKI マーカーとしての尿中 NGAL は米国 FDA からは未承認であるが、2015 年に厚労省により認可された。血清クレアチニンの上昇に先行して AKI の発症を検出・予測する方法として、臨床での活用が期待される。

腎不全の山火事理論



Mori et al. *Kidney Int* 2007,
日本臨床 2008, 日腎会誌 2010

全員除菌時代の胃がん対策 ～ピロリ菌検査の果たす役割と課題～

◎間部 克裕

北海道大学大学院医学研究科がん予防内科学

1994年、3つの疫学研究の結果からピロリ菌が胃がんの確実な発がん因子であることとWHO/IARCが規定した。その後、2000年前後に人における前向きコホート研究、動物実験による発がんが日本から報告され、ピロリ菌が胃がんの原因であることが科学的に証明された。胃がんのうちどの程度がピロリ菌感染に由来するのでしょうか？2011年、2012年に広島大学、北海道大学の報告によれば、ピロリ菌が関与しない胃がんは1%未満とされ、**日本における胃がんの99%以上はピロリ菌が原因**であることが報告された。

胃がんの原因であるピロリ菌の除菌療法によって胃がんは予防できるのであるか？動物実験、人におけるランダム化試験、メタ解析によって**除菌療法による胃がん予防効果が証明されている**。しかし、ピロリ菌感染は殆ど場合、5歳までの幼少期であるため、成人後の除菌治療では胃がんを完全に予防することはできず、**除菌後にも胃がんが発見されるため、除菌後の2次予防は継続**する必要がある。

一方、ピロリ菌検査と除菌治療は2000年に消化性潰瘍、2010年に胃がん内視鏡治療後胃、胃MALTリンパ腫、特発性血小板減少性紫斑病に対して保険適用となったが、肝心の胃炎に対する保険適用は2013年2月ようやく実現した。ピロリ菌感染者は100%胃炎を伴い、逆にピロリ菌以外では自己免疫性のA型胃炎など特殊な場合以外は胃炎は起こらない。胃炎に対する保険適用はすなわちピロリ感染者を全例除菌できるようになった、ということになる。3500万人と推定されているピロリ菌感染者の全員除菌時代が訪れたと言える。

2014年、胃がんは原因療法＝除菌療法が可能であり、住民に対するピロリ菌検査と陽性者に対する除菌療法を行うことを検討するようWHO/IARCが勧告を出した。

しかし、保険適用は内視鏡検査で胃炎の確定診断ができた時のみ行える。胃がんがないことを確認してから除菌を行うという立場からは仕方がないが、これによりピロリ菌感染者に対する検査の機会を奪っていることにもつながってしまう。

現在、血清ピロリ菌抗体検査と胃粘膜の萎縮を反映する血清ペプシノーゲン(PG)検査を組み合わせた、いわゆるABC健診が胃炎健診として、一部の企業や自治体では胃がん検診の代用として導入されている。最大のメリ

ットは受容性が高くこれまで胃の画像検査を受けたことがない人も受検してもらえる点である。ピロリ菌感染胃炎の疑いがある人には胃内視鏡検査、除菌治療に誘導できることである。一方、問題点もある。一つ目は、抗体、PG陰性のA群にピロリ菌の感染既往や現感染が含まれてしまう、いわゆる偽A群問題である。次にB群以降はピロリ菌感染または感染既往であるため、本来は除菌治療後の定期的な経過観察、胃がん検診が必要であるが、その体制が必ずしも整っていない点である。これらの課題に対してどのような対策が取りうるか概説する。

また、胃内視鏡検査、胃X線検査における胃炎診断方法も明らかにされ、普及活動を行っている。X線についてはコンピューターで診断支援を行うCADも開発し実用化を目指している。

臨床におけるピロリ菌検査も課題は少なくない。内視鏡検査による生検検体を用いる検査として、速やかな判定が可能な迅速ウレアーゼ検査(RUT)、保存性に優れた鏡検法、特異的な検査で薬剤感受性も可能な培養法がある。非侵襲検査としては血清または尿中抗体検査、同様に特異的な便中抗原検査、感度、特異度の高い尿素呼吸試験(UBT)がある。それぞれの特徴を理解して検査を行い、判断をすることが求められ、更に複雑な保険適用通りに行う必要がある。各検査の特徴と保険適用についても概説する。

日本のピロリ菌感染率は生誕年別に異なっており、1970年代以降の出生では20%以下の感染率であり、1950年代以降では半数前後が感染している。除菌治療による胃がん予防効果も年代ごとに異なるため、胃がん対策としては年代別に考えていく必要がある。すなわち、中学生、高校生など未成年に対しては、尿中抗体でのスクリーニング検査と陽性者への精密検査(UBT)と除菌治療、いわゆるtest&treatの実施によるほぼ確実な胃がん予防が可能と考えられている。20歳から胃がん検診の新ガイドラインで対象となる50歳未満に対してはABC健診を行い、B群からD群に内視鏡検査とピロリ菌検査を行い、陽性者を除菌し、除菌後は医療と胃がん検診で経過観察を行う。50歳以上では胃がん検診を継続し、画像検査でピロリ胃炎が疑われ、除菌治療歴がなければ内視鏡、ピロリ菌検査後に除菌治療を行い、検診を継続する。新時代の胃がん対策について概説する。

検査室トータルソリューションとイノベティブメーカー

◎高安 恵幸

ロシュ・ダイアグノスティック株式会社 LCM 部門 免疫・生化学検査部

社会保障費の抑制、とりわけ医療・介護にかかる費用の適正化、効率化等の必要性が強く打ち出され、検査部門においてもより一層の効率化、検査データの質の向上を図るという課題に直面しています。医療機関においては、経費削減がしやすいと見なされている臨床検査の専門企業への業務委託や外注により、この問題を解決しようとする動きがみられます。一方、診断医療において迅速に検査結果が報告されることは、医療の質を向上させる観点から不可欠であり、地域医療においては院内検査を維持し、かつ検査室のワークフローを大幅に改善することで経営効率を向上させる動きもあります。緊急検査や診察前検査に対応することで、質を向上するとともに、装置購入の投資コスト削減、装置の省スペース化、検査室のワークフロー改善、操作性の向上、およびランニングコストや人件費などを最小限に抑えるという要求は急速に高まっています。

ロシュ・ダイアグノスティックスはこのニーズに応えるべく、検体検査項目の効率的で高感度な測定系の開発を行ってきました。1991年にはルテニウム錯体を標識物質に用いた超高感度な免疫測定法、電気化学発光免疫測定法（ECLIA）が開発され、現在ルチン検査で用いられている測定法の中では最も高感度な測定法であり、10-21 モルレベルでの検出が可能になっています。1990年代にはさらなる技術革新によって、より短時間で高感度な測定が可能になり、同時に全自動免疫測定法の開発も進みました。現在は、検査室の処理検体数に合わせて、小型、中型、大型の装置を組み合わせることにより処理能力が可変でき、かつ、モジュールアッセンブリーシステムにより免疫システムと生化学システムを接続させ、生化学・免疫検査の一元化を可能にしています。また、診療前検査の拡大が進む今後は、検査の測定結果をいかに早く報告できるかが、全自動システムの方向性を決定づけます。つまり、検査時間のより一層の短時間化に加えて、処理能力のさらなる向上が図られたシステムこそ、次代の検査室に求められている装置と言えます。我々はこの生化学・免疫検査ハイブリッドコンセプトをさらに推し進め、血液凝固、遺伝子、病理検査をも含めた一元化システム構築を可能とし、来るべく未来の検査室トータルソリューションを提案致します。

一方で、我々は革新的な医療の提供をテーマに、有望な新規バイオマーカーの製品化、臨床開発を行っており、今後の医療にこれまで以上の貢献をすることを目指しています。とりわけ循環器、婦人科、感染症、がん、脳神経系領域における臨床の要望を満たすべく、製品ならびに臨床開発を積極的に行っています。従来の臨床検査は病気を調べるという受動的なものでありましたが、今後はこういった新規バイオマーカーにより、疾患別に検査を行うことで積極的に病気をコントロールしていこうという、能動的な臨床検査のステージへ進化しようとしています。すなわち、ひとりひとりの患者さまの疾患にあわせた、診断、モニタリング、治験確認、そして医師への治療方針のためのデータなど、疾患別の臨床検査がそのまま治療に直結するパーソナライズド・ヘルスケアを目指しています。我々は革新的な新規マーカーの開発により、これからの個別化医療の質をも飛躍的に向上させていきたいと考えています。

C-04

ランチョンセミナーⅣ

Unicel DxH800 ～細胞判読における表面プロットの可能性～

◎西原 佑昇

パナソニック健康保険組合 松下記念病院 中央臨床検査部

当院は今年度より LH755 に替わる血球計数測定装置として、Unicel (ユニセル) DxH800 (ベックマン・コールター社,以下 DxH800) を導入した。DxH800 は基本の血球計数はもちろん、最新技術によるフローサイトテクノロジーである 5 種類のレーザ散乱光情報と細胞体積・細胞内部情報を用いることで、より多くの細胞情報が取得でき、細胞解析能が従来機に比べ格段に向上した。また、リサーチ(研究)項目として Early Granulated Cell (EGC: 幼若顆粒球の出現) や、Unghosted Red Cell (UGC: 形態異常を有する赤血球) が測定可能となった。さらに従来のスキャッタープロットに加え新たに表面プロット機能が搭載された。これはスキャッタープロット (2-D プロット) の細胞集団密度を Z 軸方向に展開したもので、細胞集団を立体的に表現できるため細胞の重なりのや従来のスキャッタープロットでは表現できない細胞集団の検出に役立つ。

我々は DxH の特長である表面プロット機能に着目し、その有用性について検討を始めた。今回、細胞集団の表面プロットでの出現パターンを実際の症例を併せて紹介する。

新規尿中バイオマーカーL-FABPによる腎疾患管理

◎菅谷 健

聖マリアンナ医科大学 腎臓高血圧内科

バイオマーカーという言葉は、「病態生理学的な裏づけのもとに測定され、治療介入による薬理的応答を評価しうる客観的指標」として1998年に米国で定義された。その後、日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH-16)においても、バイオマーカーには単なる診断指標としてのみならず、臨床上的治療方針決定や新薬開発への活用が期待されている。

近年、世界的な腎疾患患者数の急増は、その腎機能の低下が心血管疾患の危険性を大幅に高めることへの懸念から、社会的な問題となっている。そこで腎疾患は高血圧や糖尿病、心血管疾患と互いに連関しているという概念に基づき、これらの既往者に対しても腎疾患の早期診断とその治療が重要な課題となっている。

腎臓は濾過装置である糸球体と再吸収装置である尿細管により構成されるネフロンとよばれる機能単位の集合体である。図に示すように、従来から腎疾患の尿検査としては、糸球体障害指標として、濾過機能が破綻した結果として血中から漏出するalbuminや、糖尿病性腎症進展に伴い増加する細胞外マトリクスのCollagen type IVなどが測定されてきた。また、尿細管障害指標としては、再吸収機能が低下した結果として相対的に原尿中で増加する β 2M (β 2-microglobulin)、 α 1M (α 1-microglobulin)、近位尿細管刷子縁の局在酵素であるNAG (N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase)などが用いられてきたが、尿中pH変化に対する不安定性や疾患特異性などの点で診断精度としては、必ずしも病態把握に十分とはいえない。

このような背景からプロテオミクスを活用した網羅的探索が活発に行われ、ネフロンセグメント別に腎障害を検出しうる尿中バイオマーカー候補が近年数多く見出されている。その一方、腎疾患治療の側面からは、薬剤や血液浄化療法に対する治療有効性を評価しうるものが新規指標には求められている。現在gold standardとして、血中creatinineから換算したeGFRが用いられているが、腎機能低下を有する患者において、creatinine kinetics型の指標では治療介入による応答性が理論的にも不十分であることが指摘されている。

2013年8月に日本腎臓学会が提出した「エビデンスに基づくCKD診療ガイドライン」には、糖尿病性腎症

をはじめとしたCKDのフォローアップに有用な指標として、いわゆる古典的なABCマーカー(albumin, BUN, creatinine)に加えて、新しい尿中バイオマーカーL-type fatty acid binding protein (L-FABP)が掲載された。

新しいバイオマーカーを臨床活用しようとする場合、当然個々の指標についてはその診断精度が各国規制当局の承認しうる水準である必要がある。本講演ではすでにわが国で体外診断薬として保険収載され、国際的なガイドラインにも採択されているこれら新規指標を中心に国内外の長期臨床研究の結果を紹介したい。

(図) 腎疾患診断のための既存の尿中指標と新しいバイオマーカー候補



質の高い糖尿病診療における血糖管理 ～POCTでの実践～

◎桑 克彦

国立研究開発法人産業技術総合研究所 物質計測標準研究部門

1. 糖尿病患者数の現況

平成25年に報告された平成24年国民健康・栄養調査では、糖尿病が強く疑われる者は約950万人、糖尿病の可能性が否定できない者は約1,100万人、両者を合わせると約2,050万人と推計された。男性に限っては6人に1人が該当する。また、50歳以降の割合が増えている。さらに糖尿病患者の年齢分布は60歳代を越え高齢化している。一方、健診で血糖値が高く要治療と判定されたが、医療機関で受診や治療を受けていない人の割合が約4割にのぼる。また、30歳代では約6割に達する。さらに、高血糖が見つかった人の43%が10年後に糖尿病を発症している。

2. 糖尿病の診断

日本糖尿病学会は2012年に糖尿病の臨床診断のフローチャートを公表した。検査の上では血糖とHbA1cがポイントである。糖尿病型の検査診断は、血糖値[空腹時(FBS) ≥ 126 mg/dL、75gOGTTの2時間値 ≥ 200 mg/dL、随時血糖 ≥ 200 mg/dLのいずれか]とHbA1c $\geq 6.5\%$ である。また、血糖値に関しては、FBSおよび75gOGTTの判定基準や空腹時血糖値の区分も明示している。

3. 糖尿病の治療と血糖コントロール

糖尿病の治療の目標は、糖尿病症状を除くこと、合併症の発症や増悪を防ぐこと、日常生活の質(QOL)を保って健康人とは変わらない寿命を全うすることにある。そのためには血糖コントロールが重要である。その基本は可能な限り正常に近づけること、さらに細小血管症の抑制にはFBS値およびHbA1c値の是正、また大血管症の抑制には食後高血糖の是正が必要である。そのためには、糖尿病の病型、病態、年齢、代謝障害や合併症の程度を考慮して、きめ細かな対応による治療戦略が必要となる。

4. SMBGの誤用

SMBG(self-monitoring of blood glucose)は、血糖自己測定としているが本来は血糖自己モニターである(測定はmeasurementであるからmonitoringはモニターにすぎない)。SMBGは家庭などで医師の指導のもとで自ら血糖をモニターするものである。したがってSMBG値は信頼性のある血糖値ではないので、SMBG値を診断に用いてはならない。このことはSMBGに関する国際規格(ISO15197:2003、改定版2013)でも明確化している。かつて一部の医療機関で、SMBG値を検査室で測定され

る血糖値の代用とし、診断などに使われていた。このことで有害事象が報告され、幾度か厚労省から緊急安全情報が出された。アメリカの例では、SMBG値を診療の場で用いることで生じた死亡100例(1992年～2009年)がFDA(アメリカ食品医薬品局)から報告されている。このうち例えばマルトース等のブドウ糖以外の糖による干渉が原因での死亡は13例であったなど。

5. POCT対応機器による血糖測定と精確さ

診療の場とくに患者の傍らで測定する血糖値については、POCT(Pont-of-Care Testing:臨床現場即時検査)対応機器によることであり、これらは医療情報ネットワークや電子カルテと連動して使われる。

POCT対応機器での血糖測定値の精確さの基準は、2014年1月にFDAにより、POCT対応機器は医療機関で使うものであり、その精確さは70mg/dL以上では測定値の99%は対照値(検査室でのトレーサビリティのとれた日常検査法による測定値など)に対する相対誤差が $\pm 10\%$ 以内、70mg/dL以下では測定値の99%は対照値に対する相対誤差が $\pm 7\%$ 以内としている。検査室での血糖測定の精確さは、例えば100mg/dL付近で $\pm 5\%$ 以内の相対誤差になっている。POCT対応機器ではこれに近い性能を必要としている。

これに対してSMBG機器では、ISO15197:2013での精確さの許容限界は、100mg/dL以上では対照値に対する相対誤差が $\pm 15\%$ 以内、100mg/dL未満では対照値に対する相対誤差が ± 15 mg/dL以内としている。

6. きめ細かな血糖管理

入院中の糖尿病患者の血糖管理を例にすると、血糖測定は以下の場面で必要となる。1)入院時、2)インスリン調整時または調整後の効果判定、3)インスリン微調整時、4)日内変動(毎食前後と就寝前の計7回)、5)治療で大きな変動を伴う場合、6)主治医が必要とした時、7)低血糖が疑われる時、8)補食の判断をする時や効果を見る時、9)ちょっと知りたい時、10)SMBG機器を保有しない患者の日々のコントロール状態、11)血糖自己管理ノート(血糖日記など)、12)SMBGチェック表。このうち1)～10)はPOCT対応機器が必須である。

7. まとめ

診断や治療に用いる血糖値は、糖尿病患者に対するきめ細かな血糖管理には、POCT対応機器が有効である。

C型肝炎治療のイノベーションによって今後、臨床検査に期待される役割 ～HCV 撲滅を目指して今できることとは？～

◎角田 圭雄

京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学

国内で年間約 3 万人が死亡する肝細胞癌の約 60%が C型肝炎ウイルス (HCV) に感染しており、肝細胞癌による死亡者数を減少させるには HCV の排除が最も有効な対策となる。1989 年に HCV が発見され、1992 年からインターフェロン (IFN) 治療が行われてきたが国内で約 70%を占めるジェノタイプ 1b 型、高ウイルス量患者においてはウイルスの持続陰性化 (sustained virological response: SVR) 率はわずか数%であり、多様な副作用もあり、特に高齢者に対する治療は困難であった。2002 年にリバビリン (RBV) が、2005 年に週 1 回投与可能なペグインターフェロン (PEG-IFN) と RBV の併用が標準治療となったが、SVR は 50%程度にとどまった。2011 年に直接作用型抗ウイルス薬 (Direct Acting Antivirals: DAA) のテラプレビル、さらに第 2 世代のシメプレビル、パニプレビルが登場し、PEG-IFN/RBV との併用により 80-90%と高い確率で SVR を得られるなど治療効果は飛躍的に向上した。一方で、HCV 感染者の高齢化により IFN 治療が行えない症例の増加や、代償性肝硬変例で治療適応がないといった課題も顕在化した。以上の経緯から IFN フリー治療の開発が期待されていたが、2014 年 9 月に NS3/4A 阻害薬であるアスナプレビル (ASV) と、NS5A 阻害薬であるダクラタスビル (DCV) の併用療法 (24 週) が上市され、経口剤のみで約 85%の症例に SVR が得られようになった。当初、ASV/DCV 併用療法は IFN が使えないあるいは無効の患者に限定されていたが、2015 年 3 月からはすべての 1b 型 C 型慢性肝炎、代償性肝硬変例に保険適用となった。ASV/DCV 併用療法は、従来 IFN の治療効果と関連すると報告されてきた性別、年齢、ウイルス量、肝線維化の程度、肝硬変の有無、IL28 遺伝子多型などに関係なく、治療効果が期待できる。一方、本療法では NS5A 領域の Y93, L31 のアミノ酸変異が治療効果に影響を及ぼすことが明らかになり、上記のアミノ酸変異がなければ 90%以上で SVR が得られるが、変異があると 40%程度に低下し、治療前に Y93, L31 のアミノ酸変異の測定が望ましい。これらの変異を認めた際には、肝発癌リスクや患者の背景因子を勘案して、ASV/DCV 併用療法を行うか、今後登場する新規治療法を待つかの選択をしなければならない。国内では Y93, L31 のいずれかのアミノ酸変異を有するのは 10 数%と言われている。ASV/DCV 併用療

法は IFN と比較して副作用の頻度・程度ともに著しく軽減されたが、10-15%程度に肝機能異常を認めることがあり、治療中は定期的な肝機能検査のモニターが必須である。このように治療効果の予測のみならず、副作用管理においても臨床検査の果たす役割は大きい。また本年秋にはソホスブビル/レジパスビル (SOF/LDV) 併用療法 12 週が認可される見込みである。一方、Genotype 2 型に対しては 2015 年 3 月に SOF/RBV 併用療法 (12 週) が承認され、国内の第 3 相試験では 96%に SVR が得られている。

このように HCV 発見後約 25 年が経過し、いよいよ HCV に対する抗ウイルス療法の最終形が見え、医療機関を訪れて適切な治療を行えばほぼ全例が治癒する時代を迎えた。残された課題としては SVR 後の肝発癌やこれら抗ウイルス療法の適用とならない非代償性肝硬変の治療などがあげられるが、現在も HCV 感染を認知していない患者をいかに医療機関を受診させ、早期に治療へ繋げることができるかが HCV 撲滅に向けての最大の課題である。2014 年には「効率的な肝炎ウイルス検査陽性者フォローアップシステムの構築のための研究」班 (班長: 国立国際医療センター肝炎・免疫分野・是永匡昭医師) が創設され、演者も佐賀分科会 (会長: 佐賀大学肝炎患医療支援学 江口有一郎教授) で分担研究者を務めている。厚生労働省では肝炎総合対策推進国民運動事業として“知って、肝炎!”プロジェクトと題して広報戦略を基軸とした肝炎検査の啓発活動に力を注いでいる (ホームページ: <http://kan-en.org/>)。さらに近年、手術前等に行われる肝炎ウイルス検査の結果説明が十分に行われていない実態が明らかになり、昨年 4 月に厚生労働省健康局から医師会や各医療機関へ肝炎ウイルス検査の結果を適切に説明するよう通達された。京都府立医科大学附属病院では本年度から臨床検査部と消化器内科と合同で、HCV 抗体陽性が判明した際に HCV RNA (PCR 法) の測定を促し、HCV RNA 陽性時には消化器内科への受診を勧奨するメッセージを電子カルテに掲載する取り組みを開始した。本セミナー内でその成果についても報告する予定である。治療のイノベーションに加えて、このような取り組みによって近い将来 HCV の撲滅は現実的となりつつあるが、その実現に向けて臨床検査の果たすべき役割は今後ますます大きくなる。

C型肝炎治療の変遷と将来展望

◎竹原 徹郎

大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学 教授

C型肝炎は日本の肝疾患患者の最大の死因になっている。C型肝炎ウイルスが感染すると、一部の患者では6か月以内にウイルスの自然排除がみられるが、大多数は持続感染に陥り、その後のウイルスの自然排除は極めて稀である。多くは無症候に肝炎が持続し20~30年の歳月をかけて肝硬変、肝がんへと進展する。このようなC型肝炎の自然経過から離脱するための唯一の方法は抗ウイルス薬によるウイルス排除である。

C型肝炎に対する抗ウイルス治療は、ながらくインターフェロンとリバビリンを駆使して行われてきた。ともにC型肝炎ウイルスの発見以前から存在するサイトカインのプロトタイプや核酸アナログのプロトタイプであり、非選択的な抗ウイルス薬である。両者を併用することにより(peginterferon+ribavirin治療)1型ウイルス感染者で1年~1年半の治療で約50%、2型感染者で半年の治療で約80%のウイルス排除率が達成されてきた。

その後、C型肝炎ウイルスに対して選択的に抗ウイルス効果を発揮する薬剤(Direct-acting antivirals; DAA)が開発され、インターフェロン治療の治療効果が格段に上昇するとともに、インターフェロンを用いない抗ウイルス治療法も開発された。プロテアーゼ阻害薬とインターフェロン、リバビリンを3者併用することにより(simeprevir/vaniprevir + peginterferon + ribavirin治療)、1型ウイルスに対しても24週間の治療期間で85%超のウイルス排除が得られるようになった。また、プロテアーゼ阻害薬と、さらに作用機序が異なるNS5A阻害薬を2者併用することにより(asunaprevir + daclatasvir治療)、やはり24週間の治療で85%のウイルス排除が可能となった。

このようなDAA治療の時代に入ると、インターフェロンやリバビリンのみで治療していた時代には経験しなかった新たな問題が出現してきている。ひとつは治療非奏功時みられる耐性ウイルスの出現である。たとえば、プロテアーゼ阻害薬とインターフェロン、リバビリン3剤治療に失敗すると、プロテアーゼ領域に耐性を有するウイルスが出現する。また、プロテアーゼ阻害薬とNS5A阻害薬に非奏功になると、両者に対して耐性のウイルスが出現する。一般にDAAの標的はプロテアーゼ、NS5A、ポリメラーゼの3か所であり、耐性ウイルスの出現はそ

の後の抗ウイルス治療の選択肢を狭めると考えられている。今一つの問題は、治療の進歩に伴い、以前は治療ができなかった高齢者や線維化進展例でも治療対象となり、ウイルス排除が得られるようになった。疾患が進展した患者ではウイルスが排除されても、いままでの治療でウイルスが排除された患者層よりは発がん等のリスクが高いと考えられており、今まで以上に治療後のsurveillanceが重要になってきている。

2015年後半に入り、1型ウイルス、2型ウイルスともに12週間の経口薬のみによる治療(それぞれledipasvir+sofosbuvir治療、sofosbuvir+ribavirin治療)で95%超のウイルス排除率が得られる時代に突入した。本講演では、大きく変貌しつつあるC型肝炎治療の現況と近未来について概説する。

肝線維化評価の指標 ELF スコアの可能性

◎浅野 寛道

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社 CAI 事業部

【肝疾患と肝線維症】

肝線維症は、さまざまな原因によって引き起こされる肝疾患である。原因は、肝炎ウイルスの感染、アルコールの過剰飲酒、肥満による脂肪肝、薬剤、自己免疫反応、胆汁うっ滞等、多岐にわたることが知られている。これらの原因によって発症すると肝臓内に細胞外基質(コラーゲン、ヒアルロン酸など)が過剰に蓄積し、それらが結合した組織が増加(肝線維化)した結果、最終的に肝硬変に至る。近年、ウイルス性慢性肝炎に対する治療法の進歩が著しく、肝疾患の病態が改善されることにより、肝線維化の状態が可逆的であることもわかった。今後、肝線維化の状態を把握することはますます重要になってくると考えられる。

【肝線維化の評価指標】

肝線維化の進展度の評価には、肝生検(病理組織学的検索)、一般血液検査、画像検査に大別される。〔肝生検〕肝線維化の評価は、肝生検が **gold standard** として行われてきた。肝生検を施行して病理組織学的検索を実施することは、慢性肝炎の診断に加え、線維化や壊死・炎症所見、脂肪の沈着、鉄の蓄積の状況把握など有用な点が多く、病因による特徴を評価することもできる。

一方、肝生検は侵襲的な検査であるため患者に肉体的・精神的なストレスが生じる。その結果、繰り返して実施することは困難であるため、モニタリングには適さない。

〔一般血液検査〕

これまで肝線維化に関連する多くの項目(マーカー)が報告されている。これらは、細胞外マトリックスの代謝に関連する物質をはじめ線維化とは直接的には関連しない物質(生化学検査項目)も含まれる。臨床の現場では、これらを単独で評価する場合と複数の項目を組み合わせ一定のアルゴリズムによって求められた指標で評価する場合がある。

〔画像検査〕

肝臓の弾性を超音波で測定する方法として、用手法的圧迫による組織のひずみを測定する **strain imaging** とプローブで発生させたせん断波の伝搬速度を測定する **shear wave imaging** の 2 群に大別される。

以上の通り、近年、非侵襲的な画像検査、一般血液検査

を組み合わせることで総合的に評価することにより高精度で肝線維化の状態を判定することが可能になった。肝生検で得られる情報は多岐にわたるが、必ずしも必要としないケースでは、非侵襲的な方法で評価し適切な治療を実施することは患者にとっても大きなメリットがあると考えられる。

【ELF スコア】

ELF(Enhanced Liver Fibrosis : 以下 ELF と略す) スコアの概要を解説する。

ELF スコアは、HA、PIIINP、TIMP-1 の 3 項目を測定しアルゴリズムに従って求めることができる。

ELF スコアの特徴は軽度の肝線維化の状態からスコアが上昇するので早期での患者の拾い上げに有用である。慢性ウイルス肝炎に対する治療法が大きく進歩した現在、早期の段階で患者を発見し治療を開始することは大きなメリットである。また、治療期間中、継続的にモニタリングを行うことにより治療効果を示すマーカーとして使用されることが期待される。

今回のセミナーでは、肝線維化とその評価法について紹介したい。

高血圧症患者治療における原発性アルドステロン症診断の意義と新規診断法の開発

◎佐藤 文俊

東北大学大学院 医学系研究科 難治性高血圧・内分泌代謝疾患地域連携寄附講座

我が国の高血圧患者は現在、推定約 4000 万人以上に上ると考えられているが、高血圧診療では、十分な降圧効果を得るためにも、その病態の本質を見極めることが重要である。特に二次性高血圧は、原因治療により根治が可能だが、診断が遅れ不適切・不十分な降圧療法が続けば、高血圧の重症化はもとより心・脳血管障害のイベント、腎硬化症による慢性腎臓病・末期腎不全といった不可逆的臓器障害を招く恐れがある。代表的疾患である原発性アルドステロン症(PA)では、過剰に分泌されたアルドステロンが腎臓の集合管に作用して Na の再吸収を促進させ、体液量が増加し高血圧が発症する PA 患者は同様の血圧の本態性高血圧患者と比較して心筋梗塞、狭心症や心房細動等の心疾患、脳出血や脳梗塞のような脳血管障害の相対危険度が高く、腎障害も起こしやすい。PA は潜在的ではあるが頻度の高い高血圧疾患と考えられており、高血圧患者の約 5-10%と推定され、治療抵抗性高血圧患者の 20%は本症と考えられている。高血圧の標的臓器障害の可能性の高さと頻度の多さからスクリーニングの重要性が提唱されているが、心血管スクリーニングとして測定する血漿アルドステロン濃度(PAC)、血漿レニン活性(PRA)、活性型血漿レニン濃度(ARC)は、ラジオイムノアッセイ(RIA)を用いているため通常 3~4 日ほどの測定時間を要し(外注での結果を得るのには平均 7 日間要する)、迅速にスクリーニングを行う事が出来ない。また、核処理のための費用を必要とする。今回、約 10 分で測定可能な PAC と ARC の Non-RIA 迅速測定法を和光純薬工業株式会社と共同で開発し、従来法に勝るとも劣らない精度で PA の診療に使用可能か検討を行い、患者負担の軽減、診療密度の向上、検査報告時間の短縮、効率的な費用投下を考慮した迅速スクリーニング法と、副腎静脈サンプリング(AVS)の実践的適応診断について紹介する。

【方法】後ろ向きに当施設の倫理委員会で承認され、文書による患者同意を得た患者で、AVS を施行して局在診断が確定している 234 名の PA 患者、二次性高血圧を否定できた 79 名の本態性高血圧症患者を対象とした。開発した迅速アッセイ PAC と ARC を用いて、従来法の RIA 法による PAC と PRA と同様の診断が可能か検証を行った。

【成績】迅速アッセイ PAC と ARC はそれぞれ、RIA 法 PAC と ARC に有意に相関し、 $y=0.9846x + 2.5708$, Spearman's $r = 0.9072$, $P < 0.0001$ と $y=1.0103x + 0.9156$, Spearman's $r = 0.8166$, $P < 0.0001$ であった。迅速アッセイ ARC と RIA 法 PRA も有意に相関した。迅速アッセイ PAC/ARC 比によって PA のスクリーニング、カプトプリル負荷試験での確定検査ともに従来法と同様に可能であった。

【結論】約 10 分で結果が得られる PAC・ARC の迅速測定法の臨床での普及は PA 診断の迅速化を図れることが示唆された。今後、降圧薬の選択、再診の抑制、患者負担の軽減にも役立つと考えられる。

B 型肝炎検査マーカーの最近の話題

◎福田 雅之助

富士レビオ 株式会社 学術サービス部

〔はじめに〕

B型肝炎検査マーカーの測定項目は、C型肝炎マーカーよりも多くの検査項目がラインナップされており、各検査項目の臨床的有用性をよく理解し、診断目的に応じて検査することが必要である。

B型急性肝炎と慢性肝炎の鑑別にはIgG抗体のみを捕らえるHBc抗体検査での低力価、高力価判定が有用であることが示されている。

B型慢性肝炎の治療方針は、治療ガイドラインが示され、2014年度B型肝炎の治療ガイドラインでのB型慢性肝炎の治療基本指針では、核酸アナログを使用し、HBs抗原陰性化を目指すことと示されており、HBs抗原検査が臨床診断上更に重要性を増してきている。

しかし、完治は困難であり、2016年度からは新生児へのHBワクチン接種がスタートされることになる。

〔HBc抗体検査の臨床的有用性〕

HBc-IgM抗体はHBV感染初期に3~12ヵ月間、一過性に高力価で出現するため、B型急性肝炎の診断に有用である。HBc-IgG抗体は、感染の比較的早期から血中に出現し、ほぼ生涯にわたって持続する。したがって、HBV感染者の有無を含め、既往感染を確認する検査である。また、HBc-IgG抗体低力価の場合は一過性感染の急性肝炎、高力価の場合は持続感染の慢性肝炎と解釈される。HBV再活性化対策として、「免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドライン」に沿った免疫抑制剤や抗がん剤などの使用に際して、HBs抗原、HBs抗体とともにHBc抗体を測定することが示され、HBc抗体の臨床的有用性が高まりつつある。

〔免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドライン(2013年4月改訂版)〕

血中HBV DNA量が持続的に一定以下となればALT値も正常値が持続し、肝病変の進展や発癌が抑制され、さらにHBs抗原が陰性化すればより一層発癌率が低下する。したがって治療目標は、核酸アナログ製剤(エンテカビル)の使用によりHBe抗原陰性化とHBV DNA量を持続的に低用量に保つことを第一目標とし、最終的にはHBs抗原陰性化を目指すことが示されている。

特にB型肝炎キャリア、既往感染者が化学療法治療、免疫抑制治療を受ける場合は、HBV再活性化による重症肝炎を予防するため必ずB型肝炎対策ガイドラインに準拠した対策をとることが厚生労働省から示されている。ただし、各医療機関では必ずしもB型肝炎対策ガイドラインが運用されていないケースがあり、HBV再活性化による重症肝炎死亡例が報告されている。

このガイドライン運用が定着しない理由の一つに、HBcAb、HBV-DNAが施設内で実施できない、されていない要因がある。

この問題要因の解決の糸口の一つとして、HBs抗原の感度を高感度化することが有用である点が示されている。

〔最近の話題〕

2015年1月15日の厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会にてB型肝炎(HB)ワクチンの定期接種化が承認された。早ければ、2016年4月から新生児に対して定期接種が開始される予定である。

WHOは1992年に世界中のすべての子どもに、生まれたらすぐにHBワクチンを接種するように勧告した。この概念をユニバーサルワクチネーションといい、2013年時点では世界194か国にてほとんどが実施済みであり、日本を含めて12か国のみが未実施となっていた。

今回、HBワクチンの必要性、ワクチン接種の進め方、さらに検査医学の現場で極めて重要なHBV院内感染防止などの取り組み方法についても報告できればと考えている。C

全自動尿分析装置 US-3500 の性能評価と尿蛋白試験紙の新たなる知見

◎井本 真由美

近畿大学医学部附属病院 中央臨床検査部

【はじめに】

尿試験紙による尿スクリーニング検査 (dip and read方式) は、操作が簡単で多項目 (蛋白、ブドウ糖、潜血、ウロビリノゲン、ビリルビン等) が同時測定可能であり、得られる生体情報が多く、ドライケミストリーの原点となっている。近年は、糖尿病性腎症の早期診断目的に、蛋白/クレアチニン比、アルブミン/クレアチニン比が使われ始め、試験紙法による臨床的意義はより高まっている。尿試験紙法の分析は、自動測定装置による測定が普及しており、栄研化学の尿自動分析装置USシリーズは、1992年のUS-2100の発売以来、測光部にカラーCCDセンサを採用し、その精度と解析能力を進化させてきた。多様なニーズを踏まえUS-3100Rplusの後継機種として最新全自動尿分析装置 US-3500がリリースされた。

今回、US-3500を検討する機会を得、本機器の特徴と基礎検討結果を示す。さらにこの秋に予定されている添付文書改変の要因となった尿蛋白試験紙の新たなる知見である「尿タンパク試験紙にBence Jones 蛋白(BJP)が反応することの検証」¹⁾ について講演する。

【US-3500の特徴】

1. カラーイメージセンサーによる測光方式を継承、搭載
2. 装置サイズのコンパクト化
3. 276検体/時間の処理能力
4. 全自動尿中有形成成分分析装置とのフレキシブル、コンパクトな接続が可能
5. カラー液晶タッチパネルの採用とメンテナンス性に配慮したボディフォルムの採用
6. セルユニットの改良による比重測定 (屈折計) の精度向上

【US-3500の主な仕様】

1. 測定原理: CMOSセンサによる3波長測光
2. 測定項目: ウロビリノゲン、潜血、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、亜硝酸塩、白血球、pH、クレアチニン、アルブミン、比重、色調、混濁
3. 処理能力: 276 検体/時間
4. 操作パネル: 8インチ・液晶タッチパネル+ファンクションキー

5. 装置表示言語: 日本語
6. 試験紙架設数: 100×3本
7. 本体寸法: 580(W)×600(D)×550(H)

US-3500の性能評価については、セミナー当日に発表する。

【尿蛋白試験紙の新たなる知見】

Bence Jones 蛋白 (BJP) は尿蛋白試験紙 (以下試験紙) にはほとんど反応しないことが定説となっている。われわれはこの説に疑問を持ち、過去約6年間におけるBJP定性試験 (Putnam法) 陽性で、免疫電気泳動法 (IEP) あるいは免疫固定法 (IFE) においてBJP陽性が確認されている患者尿の試験紙反応性について調査した結果、BJP含有尿352検体 (66症例) 中、試験紙陰性はわずかに10検体 (2.8%) で、342検体 (97.2%) が±以上の反応 (±~4+) であった。試験紙陰性検体は経過観察中の多発性骨髄腫患者3例のみであった。しかも、尿総蛋白量は、15mg/dL以下であり、試験紙法の検出限界濃度以下であった。またIgGおよびアルブミンが出現していないBJP陽性尿を用い、試験紙が±以上に反応する濃度 (検出限界) を求めた結果、アルブミンの検出感度と同等で15mg/dLであった。さらにIgGが試験紙に反応しがたいことを再確認したうえで、IgGを還元処理してL鎖を遊離させた後は、試験紙の反応性が強くなることを確認した。また、多くの文献や日本腎臓学会報告書等に引用されているLukeらの文献 (抄録) に記載されている結果は、患者尿検体ではなく、市販精製BJPを使用していたため、反応性が弱くなっていたことも再現できた。さらにアルブミン試験紙においても、BJPが試験紙法で正誤差となることが確認された。アルブミン試験紙の検出感度はアルブミン定量値で40-60mg/L程度であったが、蛋白定量値で100mg/L以上のBJPによって、影響を受けていた²⁾。

したがって、尿蛋白試験紙がBJPに反応しない (反応しがたい) という説は見直されるべきであると考えられる。

【参考文献】

- 1) 井本真由美他、臨床化学 43: 217-225, 2014
- 2) 井本真由美他、JJCLA in press 2015C

B型肝炎ウイルス再活性化対策：何を、どう伝えるか？ ～検査室から臨床現場への情報発信を考える～

◎山崎 正晴

奈良県立医科大学附属病院 中央臨床検査部

医学・医療の進歩に伴い、新規の免疫抑制剤、生物製剤、抗がん剤が次々に開発され、使用される機会が急速に増加している。本邦では、がん患者が約98万人、関節リウマチ患者が約33万人とされており、免疫抑制・化学療法を受けている患者数は100万人を下らないと推定される。近年、これらの薬剤によるB型肝炎ウイルス(HBV)の再活性化が問題となっている。

HBVがひとたび肝細胞に感染すると、その複製の過程で閉鎖環状2本鎖DNA(cccDNA)が形成され、これが肝細胞の核内に残存する。それゆえHBs抗原陽性のキャリアはもとより、HBs抗原陰性、HBc抗体ないしはHBs抗体陽性の「既往感染」例もHBVが排除された状態にあるとは言えない。すなわち「既往感染」という言葉が「以前に罹患したが、もう治癒している」ことを表さず、「潜伏感染」状態を示していると言える。

本邦ではHBVキャリアが90万人、既往感染例が1,000万人以上存在すると推定されている。100万人以上が受けている免疫抑制・化学療法によって、キャリアにも既往感染例にもHBVの再活性化が起りうることは、この生命に関わるリスクを抱える膨大な数の同胞がいることを示している。

実際に再活性化肝炎が劇症化し、死亡例が報告されたことを受け、2009年に厚生労働省研究班により「免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化の対策ガイドライン」が発表され、2011年、2013年に改定されて現在に至っている。このガイドラインでは、キャリアと既往感染例を拾い上げるためのHBV関連マーカーの測定手順、HBV DNAのモニタリング法や核酸アナログの投与基準について明瞭に解説されている。しかし、厚生労働省研究班が実施している全国調査によれば2010年以降になっても、再活性化肝炎により急性肝不全に陥る例が根絶されていない。再活性化肝炎が重篤化すれば、患者はもとより治療者も深刻なダメージを受けることが予想されるにも関わらず、なぜ、それはなくならないのか？ 言い換えれば、なぜガイドラインは遵守されないのか？

本セミナーでは、まず、1)再活性化対策を難しくしている要因を分析し、次に、2)先進的な取り組みをされている施設の施策を紹介し、最後に、3)再活性化に

関わる検査情報を俯瞰できる立場にある病院検査部ができることと担うべき役割を考え、「防ぎ得る悲劇」を回避するための方策を提示したい。C-

検査室に知って欲しい項目「カルニチン」

◎宿屋 敬

株式会社カイノス 学術部

カルニチンは分子量 161.2 のアミノ酸誘導体であり、脂肪酸代謝によるエネルギー産生において、ミトコンドリア内への脂肪酸輸送や毒性を有するアシル CoA のミトコンドリア外への排出といった重要な役割を担っています。

カルニチンの 75% は食事から摂取、残る 25% は腎臓、肝臓、脳において生合成されます。生体内では遊離カルニチン及びアシル基の付いたアシルカルニチンとして、多くが骨格筋、心筋、肝臓等の組織に分布し、血中には全体の 0.5% 程度が存在しています。

カルニチン欠乏症は先天性代謝異常や摂取不足、薬剤や透析等に起因し、骨格筋では筋力低下や筋萎縮、心筋では心筋症、肝臓では尿素サイクル停止による高アンモニア血症による嘔吐、糖新生低下による低ケトン性低血糖による意識低下（昏睡）など重篤な臨床症状を引き起こす危険性があります。こうしたカルニチン欠乏状態の改善には体外からのカルニチン投与が最も効果的な対処法であり、国内では公知申請により 2011 年にレボカルニチン製剤（錠剤）のカルニチン欠乏症への適用が承認され、以降、内服液や注射剤が治療薬として承認、発売されています。

カルニチン欠乏症の診断と治療には、体内のカルニチン分画の把握を目的とした血中カルニチン濃度の測定が必要かつ有用となります。

カルニチンの測定法には、ラジオアイソトープ法、DTNB 法（比色法）、タンデムマス法（LC-MS/MS 法）、酵素サイクリング法があり、これまで先天性代謝異常症が強く疑われる場合のみタンデムマス法が保険適用されていました。今回、汎用自動分析装置でより簡便で迅速な測定が可能となった体外診断用医薬品「T-Carnitine 試薬 カイノス」「F-Carnitine 試薬 カイノス」について、ここに紹介します。

本試薬は酵素サイクリング法により総カルニチン（T-Car.）と遊離カルニチン（F-Car.）を約 10 分で定量し、T-Car. 値から F-Car. 値を差し引くことでアシルカルニチン（A-Car.）値が求められます。カルニチン欠乏症の診断には、組織内の遊離カルニチンが減少しているか、または組織内のアシル CoA が蓄積しているかの判断が重要であり、F-Car. 値のみならず A-Car. 値を測定することで、カルニチン欠乏状態の把握から、高アンモニア血

症や低血糖などの発症予防を目的とした治療方針の決定に寄与します。

本試薬は前処理不要で、281 検体でのタンデムマス法との相関は $y = 0.88 \sim 0.93 x$, $r = 0.94 \sim 0.99$ と良好な性能を示しました（下図参照）。共存物質、抗凝固剤による影響も受けず、血清と血漿との相関は $y = 1.01 \sim 1.02 x$, $r = 0.992 \sim 0.997$ ($n = 50$) でした。

以上より、本試薬はカルニチン欠乏症の診断補助として広く活用される事が期待されます。

