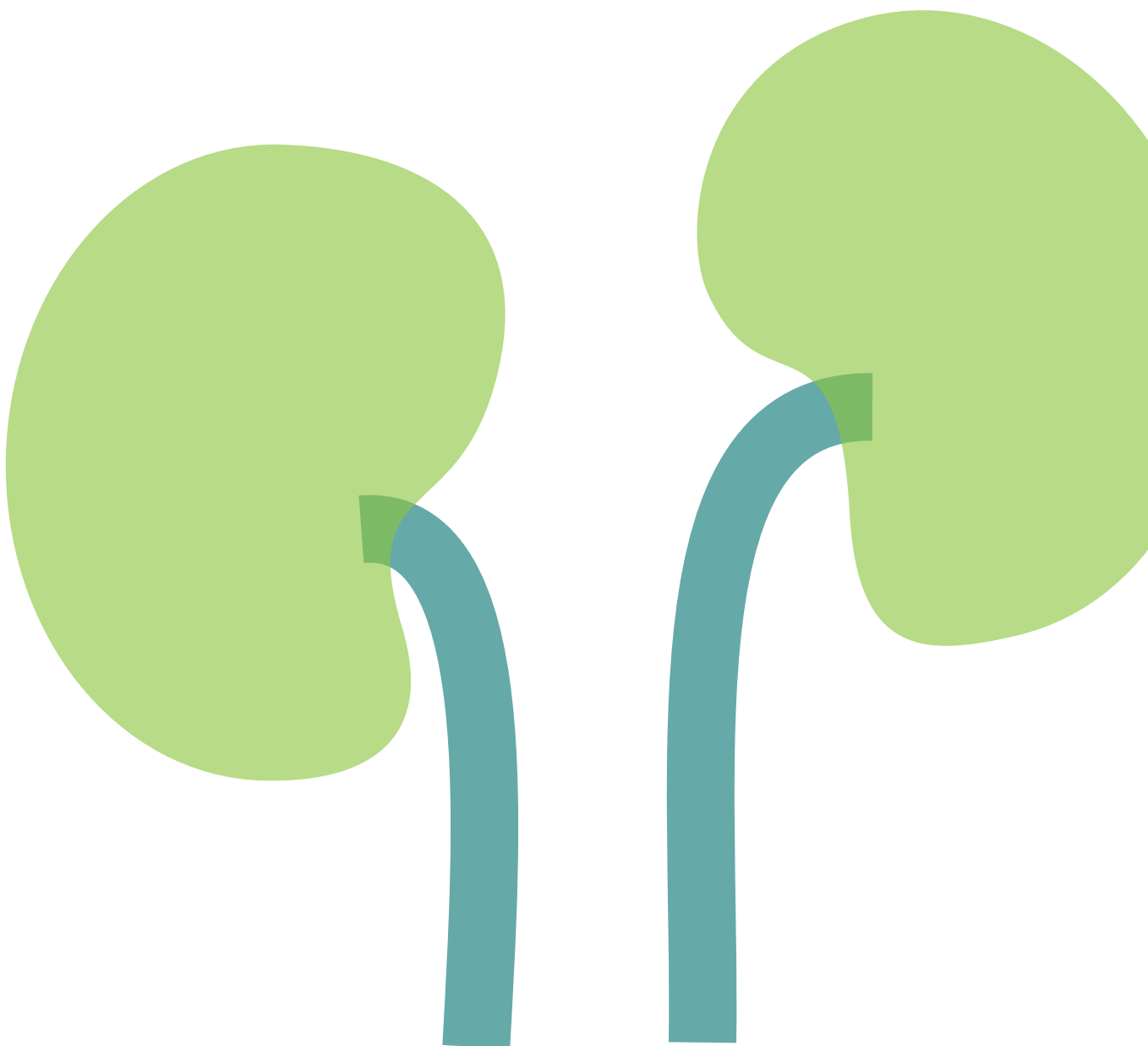


serotec

Creatinine



CRE 測定法のガイド

測定値の正確さと評価法

目次

I. クレアチニン (CRE) について	2
1. クレアチニンとは	2
2. CRE 測定 of 臨床的意義	2
1) 異常値を示す疾患	2
2) 尿 CRE/血清 CRE 比	2
3) 血中 UN/血中 CRE 比	2
4) クレアチニンクリアランスと eGFR	3
5) CKD (慢性腎不全) の重症度分類	5
6) 尿中成分の CRE 補正	5
3. 小数第二位まで測定値を求める理由	6
4. CRE 測定における標準化	6
1) CRE 測定における標準化の現状	6
2) トレーサビリティ体系	6
3) 標準物質	7
4) 不確かさ	7
II. CRE 測定法ー酵素法	8
1. 「セロテック」CRE-N	8
2. 測定原理 (SOX-POD 系)	8
3. 測定値に誤差を生じさせる要因	9
4. カタラーゼの役割	9
III. 非特異的反応	10
1. 薬剤の影響	10
2. M 蛋白血症とは	10
3. M 蛋白血症の影響	12
IV. CRE 測定法の正確さ評価方法	13
1. 基準的測定方法 (HPLC 法) との測定値比較	13
2. 低値直線性 (もぐりこみ) の確認方法	13
3. クレアチニンデイミナーゼ試験 (非特異反応性試験)	15
4. 上位標準物質測定結果の解釈	16
V. 参考文献・資料	17

I. クレアチニン（CRE）について

1. クレアチニンとは

クレアチニン（CRE）は筋組織や脳、血液中に存在する窒素化合物です。腎機能の指標となるため、血液中や尿中の CRE が測定されています。また、CRE 血中濃度や尿中排泄量は他の成分の濃度補正に利用される場合もあります。

2. CRE測定の臨床的意義

1) 異常値を示す疾患

血中 CRE 値が上昇する場合は腎機能の低下が考えられます。また、筋肉量が増加する末端肥大症の場合では、腎機能が正常でも血中 CRE 値が上昇することがあります。

血中 CRE 値が低下する場合は、腎機能が正常で筋肉量が減少するときであり、筋肉量が低下する疾患を考える必要があります。

また、尿崩症や妊娠などにより尿量が多くなる場合は血中 CRE 値が低下します。この際、血中尿素窒素（UN）や尿酸（UA）の濃度も同時に低下します。

2) 尿CRE／血清CRE比

急性腎不全の原因が腎前性・腎性・腎後性かを鑑別するために、尿 CRE／血清 CRE 比が有用です。腎前性の場合には尿 CRE／血清 CRE 比は 40 より大きくなりますが、腎性あるいは腎後性の場合には 20 より小さい値となります。

さらに、尿中の Na 濃度をこの値で割ったものは RFI（Renal Failure Index）と呼ばれ、やはり腎前性と腎性・腎後性の鑑別に用いられます。腎前性の場合に RFI は 1 より小さい値ですが、腎性あるいは腎後性の場合には 1 より大きい値となります。

3) 血中UN／血中CRE比

血中の UN と CRE の値はいずれも腎機能の指標に用いられますが、血中 UN 濃度は蛋白摂取量や消化管出血、生体内の水分量、尿量などの腎機能以外の影響を強く受けます。血中の CRE はほぼそのまま尿中に排泄されますが、UN は尿細管で再吸収を受けます。脱水症や心不全などの腎血流量が低下した状態では、尿細管から UN の再吸収の割合が増加します*1。このため、血中 UN／血中 CRE 比を確認することにより、腎疾患以外の要因を推定できます。

腎前性腎不全では血中 UN／血中 CRE 比は 20 以上、腎性腎不全では 10～20 となることが多くあります*2。

▶末端肥大症：
成長ホルモンの過剰
産生により、全身の
骨や組織が異常に
発育する疾患。

▶尿崩症：
抗利尿ホルモンの分
泌低下や腎での反
応性低下により、多
尿、口渇、多飲を主
徴とする疾患。

▶腎前性・腎性・腎後
性：
原因の場所で腎疾
患を分類。糸球体ろ
過を基準に前後とさ
れる。腎前性は糸球
体ろ過前に問題があ
る場合（血流障害な
ど）を指す。腎後性
は糸球体ろ過後に
問題がある場合（尿
の通り道の閉塞な
ど）を指す。

▶UN：
UN(Urea Nitrogen)
は体内由来の蛋白
質や食べ物由来の
蛋白質に含まれる窒
素から生成される。
血中 UN を指す場合
は、血中を表す
(Blood)の頭文字を
付けて BUN と表記
されることがある。

*1
▶参考文献 1) 日本内
科学雑誌 No.97
Vol.5 p.23

*2
▶参考文献 1) 日本内
科学雑誌 No.97
Vol.5 p.24

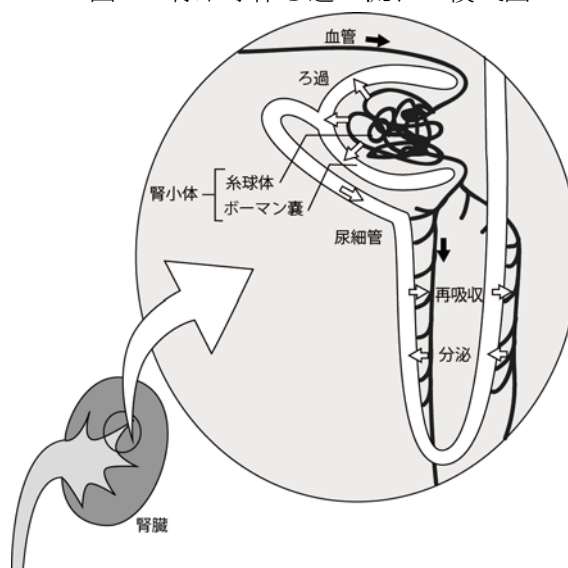
4) クレアチンクリアランスとeGFR

腎機能は血液が腎臓の糸球体でろ過される量によって評価されます。正確な糸球体ろ過量を知るためには、イヌリンという薬剤を利用して糸球体ろ過値（**GFR** : Glomerular Filtration Rate）を求めます。血液中に投与されたイヌリンは糸球体でろ過された後、尿細管を通る過程で血中へ再吸収されたり、血中から尿細管へ分泌されることがないため、正確な **GFR** を確認できます。

CRE は腎臓の糸球体でろ過された後、尿細管から血中に再吸収されないまま尿中へ排泄されます。血中 **CRE** が尿への排泄に必要な時間当たりの血液量（**クレアチンクリアランス** : **Ccr**）は **GFR** とほぼ等しいため、临床上 **GFR** を求める手段として汎用されていました。イヌリンを用いた **GFR** の測定や **Ccr** 測定が困難な場合には **eGFR**（推定糸球体ろ過量）が用いられます*3。

また、**CRE** はわずかですが尿細管へ分泌されるため、**Ccr** は **eGFR** よりやや大きい値となります。

■図1 腎糸球体ろ過の流れ 模式図



▶eGFR と Ccr の使い分けについては
(本書 I -2-4)項
表 1 p.4)参照

*3
▶参考文献 2)CKD
診療ガイド 2012
p.18

$$\text{eGFR (mL/分/1.73m}^2\text{)} = 194 \times \text{血清 CRE 値 (mg/dL)}^{-1.094} \times \text{年齢(歳)}^{-0.287}$$

(女性の場合はさらに×0.739)

注 1：酵素法で測定された CRE 値を用いる。血清 CRE 値は小数点以下 2 桁表記を用いる。

注 2：18 歳以上に適用する。小児の腎機能評価には小児の評価法を用いる。*4

また、小児については日本小児腎臓病学会の小児 **CKD** 対策委員会による多施設共同研究によって、酵素法に基づく **CRE** 値から **eGFR** を求める換算式とともに、日本人小児に適した係数が設定されました。これは、日本人小児を対象としたイヌリンクリアランス法による試験に基づいており、日本人小児の **eGFR** 計算式では、係数は 0.35 となりました*5。

日本人小児(2～11 歳)の

$$\text{eGFR (mL/分/1.73m}^2\text{)} = 0.35 \times \frac{\text{身長 (cm)}}{\text{血清 CRE 値 (mg/dL)(酵素法)}}$$

*4
▶参考文献 3)CKD
診療ガイド 2012
p.18

*5
▶参考文献 4)エビデ
ンスに基づくCKD 診
療ガイドライン 2013
p.165

■表 1 腎機能測定法とその特徴

名称	特徴
GFR (腎糸球体ろ過量)	イヌリンクリアランスで測定。正確だが手間がかかる。 腎移植ドナーなど正確な腎機能評価が必要な場合に実施する。
クレアチニンクリアランス (Ccr) (実測)	GFR 測定より簡便。 24 時間蓄尿が必要なため、測定が困難な場合もある。 腎移植ドナーなど正確な腎機能評価が必要な場合に実施する。 $\text{Ccr (mL/分)} = \frac{\text{尿 CRE (mg/dL)} \times \text{1 日尿量 (mL/日)}}{\text{血清 CRE (mg/dL)} \times 1440 \text{ (分/日)}}$ GFR への変換には、× 0.715 を用いる。
eGFR (推定糸球体ろ過量)	血清 CRE 値より算出できる、イヌリンクリアランスを基にした推算式。酵素法 CRE 値を使用する。 日常診療に使用する。 $\text{eGFR (mL/分/1.73m}^2\text{)} = \frac{194 \times \text{血清 CRE (mg/dL)}^{-1.094} \times \text{年齢 (歳)}^{-0.287}}{\text{(女性の場合はさらに} \times 0.739\text{)}}$ 薬物投与量設定の場合、体表面積補正をしない eGFR を用いる。 $\text{体表面積を補正しない eGFR (mL/分)} = \text{eGFR (mL/分/1.73m}^2\text{)} \times \text{BSA/1.73m}^2$

▶BSA:
(体表面積) Body
Surface Area

5) CKD（慢性腎不全）の重症度分類

CKD（慢性腎不全）の重症度は、原疾患・GFR 区分・尿蛋白区分を合わせたステージにより評価されます（表 2）。

■表 2 CKD（慢性腎不全）の重症度分類*6

原疾患		尿蛋白区分		A1	A2	A3
糖尿病		尿アルブミン定量 (mg/日) 尿アルブミン/Cr比 (mg/gCr)		正常	微量アルブミン尿	顕性アルブミン尿
				30未満	30-299	300以上
高血圧 腎炎 多発性嚢胞腎 移植腎 不明、その他		尿蛋白定量 (g/日) 尿蛋白/Cr比 (g/gCr)		正常	軽度蛋白尿	高度蛋白尿
				0.15未満	0.15-0.49	0.50以上
GFR区分 (mL/分/ 1.73m ²)	G1	正常または 高値	≧90			
	G2	正常または 軽度低下	60-89			
	G3a	軽度～ 中等度低下	45-59			
	G3b	中等度～ 高度低下	30-44			
	G4	高度低下	15-29			
	G5	末期腎不全 (ESKD)	<15			

重症度は、原疾患・GFR区分・蛋白尿区分を合わせたステージにより評価する。
CKDの重症度は死亡、末期腎不全、心血管死亡発症のリスクを緑のステージを基準
に、黄、オレンジ、赤の順にステージが上昇するほどリスクは上昇する。
(KDIGO CKD guideline 2012を日本人用に改変)

*6

▶参考文献 2)CKD 診療ガイド 2012 日本腎臓学会編 p.3

▶Cr:
CREをCrと略す場合もある。

6) 尿中成分の CRE 補正

尿中成分の定量検査では 24 時間蓄尿による検査が最良ですが、入院が必要となり、患者の負担が大きくなるため、実施が難しい場合があります。このような時に尿中 CRE 値を使用し、随時尿の測定結果から 1 日当たりの尿中成分の濃度を推算します

1 日の尿中 CRE 総排泄量は、尿量や回数に関係なく一定であるため、目的物質と同時に CRE を測定し、目的物質濃度と CRE 濃度との比（CRE 比）を求めます。これを **CRE 補正**といいます。

例えば、随時尿について蛋白濃度が 240mg/dL、CRE 濃度が 120mg/dL の時

$$\text{CRE 補正} = \frac{\text{随時尿蛋白濃度 (mg/dL)}}{\text{随時尿 CRE 濃度 (mg/dL)}} = \frac{240 \text{ (mg/dL)}}{120 \text{ (mg/dL)}} = 2 \text{ (g/g・Cr)}$$

尿蛋白濃度を指標として **2g/g・Cr** と表します。CRE 補正は蛋白以外に、バニリルマンデル酸（VMA）、ホルモン分析等で広く用いられています。

▶1 日の尿中 CRE 総排泄量:

1 日の尿中には CRE が約 1g 排泄するとされている。CRE 排泄量は筋肉量に相關するため、筋肉量が多い／少ない場合は、24 時間蓄尿の場合と CRE 補正值とで差が生じることがある。

3. 小数第二位まで測定値を求める理由

CRE 測定結果は、臨床上小数第二位までの値で報告することが求められています。日本腎臓学会が提唱した eGFR 推算式に使用する CRE 測定値は、“酵素法で測定された値で、小数点以下二桁表記を用いること”としています（本書 I-2-4)項 p.3 参照）。報告値を小数第二位までとするためには、キャリブレータも小数第二位まで表示されている必要があります。

▶「セロテック」キャリブーST:
CRE 表示値は小数第二位まで表記。

4. CRE 測定における標準化

1) CRE 測定における標準化の現状

1994 年、日本臨床化学会 (JSCC) より血中 CRE 測定の勧告法 (HPLC 法) が報告されました。血清をトリクロロ酢酸で除蛋白し、その上清の CRE をイオン交換クロマトグラフィーで分離した後、紫外部で検出します。

また、標準物質としてアメリカ国立標準技術研究所 (NIST) より粉末の標品である NIST SRM 914 が、一般社団法人検査医学標準物質機構 (ReCCS) より血清ベースの ReCCS JCCRM 521 が頒布^{はんぷ}されています。

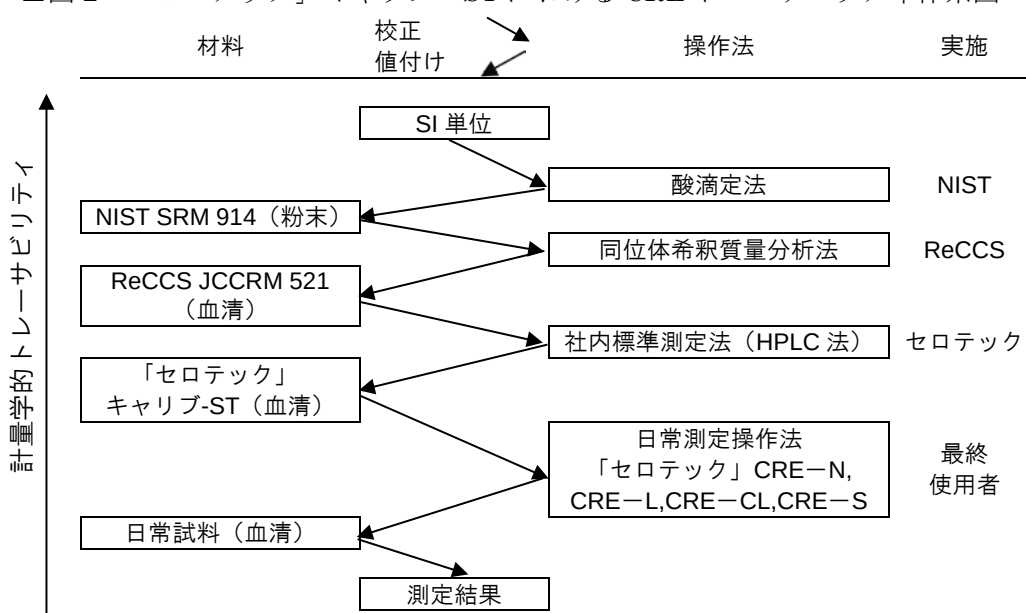
▶NIST SRM914:
粉末純品。CRE 一次標準物質。

▶ReCCS JCCRM 521:
凍結血清。CRE 二次標準物質。

2) トレーサビリティ体系

臨床での測定結果が、決められた基準である上位の標準物質あるいは測定法まで遡^{さかのぼ}ることができることをトレーサビリティと言います。「セロテック」CRE-N のキャリブレーションに「セロテック」キャリブーST をご使用いただいた場合のトレーサビリティ体系は図 2 のとおりです。

■図 2 「セロテック」キャリブーST における CRE トレーサビリティ体系図



3) 標準物質

図2のトレーサビリティ連鎖に登場する一次標準物質（NIST SRM 914）は高純度の物質を単純溶媒で溶解して用います。患者検体を直接測定する日常測定操作法に用いる製造業者製品標準物質（「セロテック」キャリブーST）の物性は患者検体に近似していることが要求されるため、NIST SRM 914と「セロテック」キャリブーSTの間に、ヒト血清を使用した二次標準物質である含窒素・グルコース常用参照標準物質（ReCCS JCCRM 521）を介しています。

筑波臨床化学セミナー2016の発表で、「血清を測定試料とする標準化対応法は、血清標準物質へのトレーサビリティが必須。国内で上市されている血清ベースのキャリブレータ製品ではReCCS JCCRM 521の使用が明確でない製品もあり、キットの直近上位にNIST SRM 914の純物質を用いていることは、臨床検査用キットとして問題である*7」と報告されています。

4) 不確かさ

不確かさは、認証値の許容範囲を示してはいません。認証値とは真値ではなく最良の推定値であり、不確かさは最良推定値のばらつきです。

非常に精度の高い測定条件で測定された結果であれば不確かさは小さく表記され、逆に精度が高くない測定条件で測定された場合であれば不確かさは大きく表記されます。不確かさは上位の標準物質より伝達され、下位の標準物質になるほど、測定の誤差等が付加されるので、不確かさはより大きな表記となります。

不確かさは正確さとともに上位の測定方法から伝達されるものであり、不確かさを表記していない試料やキャリブレータを用いてもトレーサビリティを保証することにはなりませんし、測定結果の正確さを論じることできません。

*7

▶参考文献 5) 筑波臨床化学セミナー2016抄録 p.86

▶最良推定値:

測定値の中で補正できるものがあれば、補正した後の真の値に近いと思われる一番実現可能な値。

■表3 HPLC法による「セロテック」キャリブーST CRE表示値 Lot No.70401

表示値	不確かさ	校正用物質
10.00 mg/dL	± 0.411 mg/dL (包含係数 k=2)	ReCCS JCCRM 521-12

II. CRE 測定法－酵素法

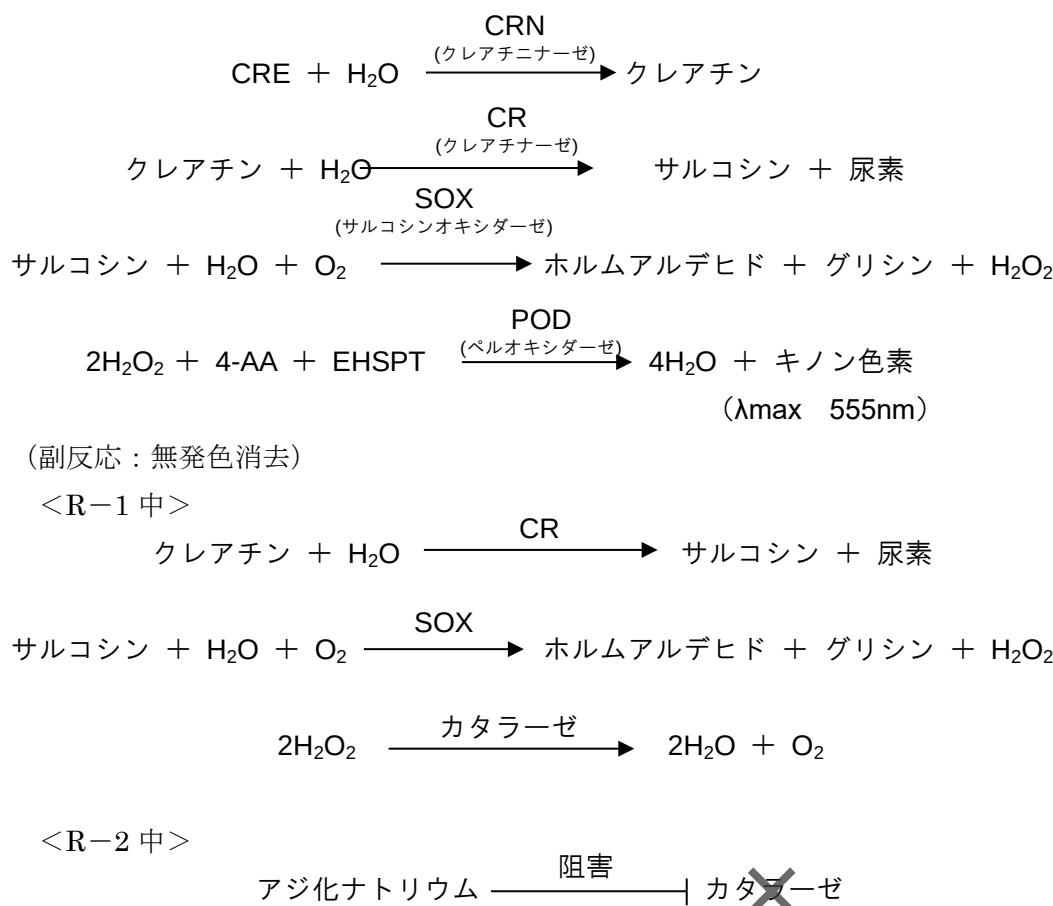
1. 「セロテック」CRE-N

「セロテック」CRE-N は、低値直線性にも優れた CRE 測定用試薬です。
 キャリブレーションに「セロテック」キャリブ-ST をご使用いただくと、ReCCS
 JCCRM 521 にトレーサブルな、信頼性の高い測定値を得ることができます。

▶「セロテック」キャリブ-ST:
 血清ベースの多項目キャリブレーション。凍結製品。凍結融解操作を 5 回繰り返しても安定。

2. 測定原理 (SOX-POD系)

■図 3 反応式「セロテック」CRE-N の場合



CRE に CRN が作用することによって生じるクレアチンが、CR によって加水分解されるとサルコシンを生じます。

サルコシンは SOX の作用によって酸化分解されて過酸化水素 (H₂O₂) を生成します。

H₂O₂ に POD が作用すると、4-アミノアンチピリン (4-AA) と N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン (EHSPT) を酸化縮合しますので、

生じるキノン色素を比色測定することにより CRE 濃度を求めます。なお、内因性のクレアチンおよびサルコシンは、R-1 中の副反応として CR、SOX、カタラーゼの作用により無発色消去されます。

3. 測定値に誤差を生じさせる要因

1) SOX が血清中の CRE 以外の物質と非特異的に反応する

血清中には SOX の基質となる L-プロリンといった複数の物質が存在するため、SOX を用いる酵素法では正誤差を生じる可能性があります。血清検体が有する非特異的反応物質の量は検体毎に異なりますので、キャリブレーションでは補正することはできません。そのため、測定用試薬の性能が重要となります。

2) SOX がサルコシンから過酸化水素を 100% 産生していない

SOX はサルコシンを基質として、過酸化水素以外の生成物も産生し、この物質が過酸化水素からキノン色素を形成させる過程を阻害します。これは、低値域での直線性が下に凸（もぐりこみ）となる現象として現れます。

「セロテック」CRE-N では、SOX から生成される過酸化水素以外の物質がキノン色素の形成過程に影響しないように工夫しています。

▶もぐりこみ：
低値域の濃度と希釈倍率が比例的ではなく、真値から低めに測定されてしまう現象を低値のもぐりこみと称する

4. カタラーゼの役割

CRE の酵素的測定法（SOX-POD 系）は多段階の反応からなります。反応の中間体であるクレアチンやサルコシンは血中に存在しているため、消去しなければ正誤差を生じます。そこで、R-1 中で血中のクレアチンやサルコシンを過酸化水素へ変換させ、生じた過酸化水素をカタラーゼの作用により水と酸素に分解し、消去しています（図 3）。

カタラーゼの反応は R-2 に添加されているアジ化ナトリウムの働きにより阻害されますので、R-2 添加後、CRE の本反応前に副反応は停止します。このため、アジ化ナトリウムが添加されている試料では R-1 中でカタラーゼの働きが阻害され、検体中にクレアチンやサルコシンが共存していると、消去できずに正誤差を生じる可能性があります。

このような理由から、「セロテック」キャリブ-ST や精度管理用尿「セロテック」ウリコン L、精度管理用血清「セロテック」セロコンにはアジ化ナトリウムを使用していません。

▶精度管理用尿
「セロテック」ウリコン L-5N,5E：
尿定量検査項目用コントロール尿。凍結製品。凍結融解 5 回まで安定。

▶精度管理用血清
「セロテック」セロコン-5N,5E：
生化学検査項目用コントロール血清。凍結製品。

III. 非特異的反応

1. 薬剤の影響

1) L-プロリン

アミノ酸の1種であるL-プロリンはサルコシンとよく似た構造をしています。SOX-POD系による酵素法では、サルコシンがSOXによって酸化分解され、生じる過酸化水素が色素を発色させますが、同様にL-プロリンもSOXによって酸化分解され、生じる過酸化水素が色素を発色させるため、正誤差となります。

2) カテコールアミン類 (アドレナリン・ドパミン・ドブタミン)

カテコールアミン類は、CRE測定に使用される発色剤EHSPTと構造が類似しており、過酸化水素と反応します。CRE測定試薬は感度が低いため、大きな影響を受けます。カテコールアミン類が検体に多量に含まれる場合、負誤差となる可能性があります(表4)。

■表4 薬剤の影響

(n=2)

	A社	B社	C社	D社	E社	「セロテック」 CRE-N
無添加ベース血清 測定値(mg/dL)	1.01	0.98	0.96	1.00	0.96	0.99
無添加ベース血清との差						
ドパミン 20μg/mL	-6.93%	-4.08%	-8.33%	-24.00%	-31.25%	-5.05%
アドレナリン 10μg/mL	-7.92%	-4.08%	-10.42%	-31.00%	-30.21%	-5.05%
ドパミン 100μg/mL	-27.72%	-22.45%	-30.21%	-61.00%	-61.46%	-16.16%
L-プロリン 50mg/dL	7.92%	17.35%	11.46%	9.00%	14.58%	6.06%
クレアチン 50mg/dL	3.88%	6.12%	4.12%	4.00%	9.47%	3.88%

(社内データ、2015年10月測定)

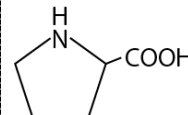
3) その他

CREが注射剤の添加物として含まれている場合があります。副腎皮質ステロイド剤であるヒドロコルチゾンリン酸エステルナトリウム注射液100mgには、CREが16mg含まれています。このような注射剤を投与した後、同ルートによる採血検体のCRE測定結果では、CRE値が異常高値となる可能性があります。

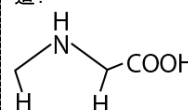
2. M蛋白血症とは

多発性骨髄腫や免疫増殖性新生物により、免疫グロブリンが異常産生されて血中に多量に存在する状態を**M蛋白血症**、この時産生される免疫グロブリンを**M蛋白**と言います。M蛋白血症の状態であっても自覚症状がない場合もあり、日常検査でいつM蛋白血症検体と遭遇してもおかしくありません。また、通常

▶L-プロリンの構造:



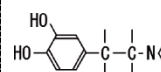
▶サルコシンの構造:



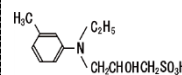
▶カテコールアミン類:

アミノ基を持つ化合物をアミン類といい、カテコール骨格を持つアミン類をカテコールアミン類という。また、カテコラミンとも呼ばれる。臨床的には心臓の循環不全改善薬として使用されるアドレナリン、ドパミン、ドブタミンなどがこの構造を持つ。

▶カテコールアミン類の構造:



▶発色剤EHSPTの構造:



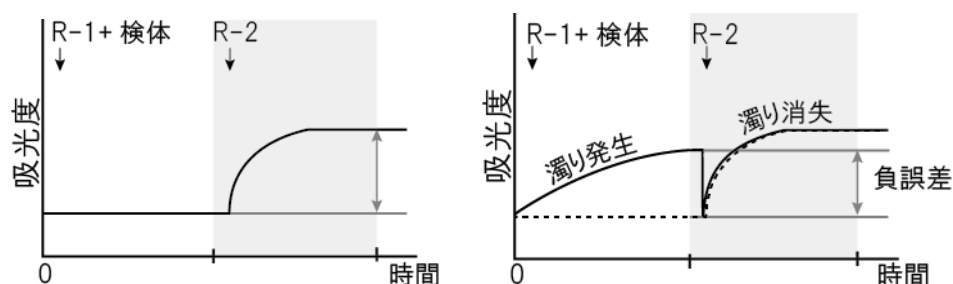
▶免疫グロブリン:
IgA、IgG、IgD、IgE、IgMなど免疫反応に係る抗体

M 蛋白は血中に溶けて目に見えない状態で存在していますが、測定時に試薬と混ざることによって白濁を生じ、CRE 測定結果に誤差を生じる場合があります。どのような誤差を生じるかは、測定用試薬との相性により、次のように分かります。

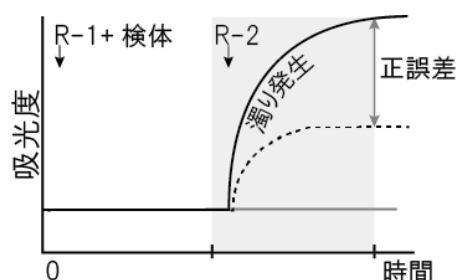
■ 図 4 濁りの発生と測定誤差の関係

- i. R-1 中で生じた濁りが R-2 添加後に消失する場合→負誤差
- ii. R-1 中では濁りを生じないが、R-2 添加後に濁りを生じる場合→正誤差
- iii. R-1 中に引き続き、R-2 添加後も濁りが生じ続ける場合→正誤差

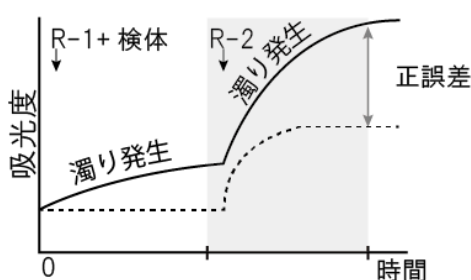
○ 通常時「セロテック」CRE-N タイムコース例 ○ i. タイムコース例



○ ii. タイムコース例



○ iii. タイムコース例



▶タイムコース上グレー部分：測光ポイント間を表わす。
「セロテック」CRE-N は R-2 添加前と添加後の測光ポイントの吸光度 (ABS) 差から CRE 濃度を算出する 2 ポイントエンド法。

正しい CRE 値を調べる方法は、HPLC 法で測定することですが、測定装置を有していない施設がほとんどです。その場合は、限外ろ過膜を用いた除蛋白を行い、ろ液の CRE 濃度を測定することでも正しい値を調べることができます。また、タイムコースを確認し、通常の検体でのタイムコースと比較して異常な挙動を示していないかを確認します。しかし、図 4「ii.」の事例では、タイムコースが正常な波形と区別が付きにくいので注意が必要です。

M 蛋白血症検体は CRE 以外の検査項目でも、濁りが発生して誤差を生じている可能性がありますので、すべての検査項目でのタイムコースを確認することが望まれます。

▶限外ろ過：蛋白質などの高分子量の物質をろ過することで除去できる。

3. M蛋白血症の影響

図4の現象「ii.」が発生した事例を紹介いたします。

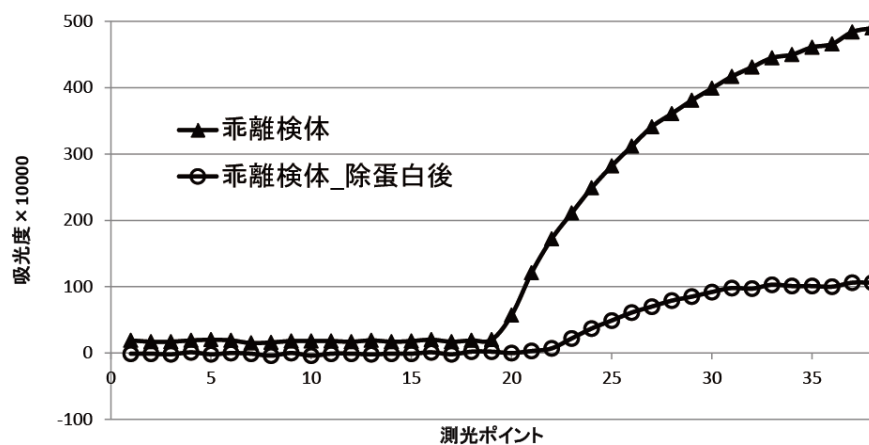
A社試薬と「セロテック」CRE-N試薬とで測定値が乖離したM蛋白血症検体（以下乖離検体）について検討しました。乖離はM蛋白の影響によるものと考えられたため、限外ろ過膜にて除蛋白（分画分子量：10K Da）を行い、M蛋白による濁りの影響を排除し測定しました（表5）。

■表5 除蛋白前後のCRE測定値

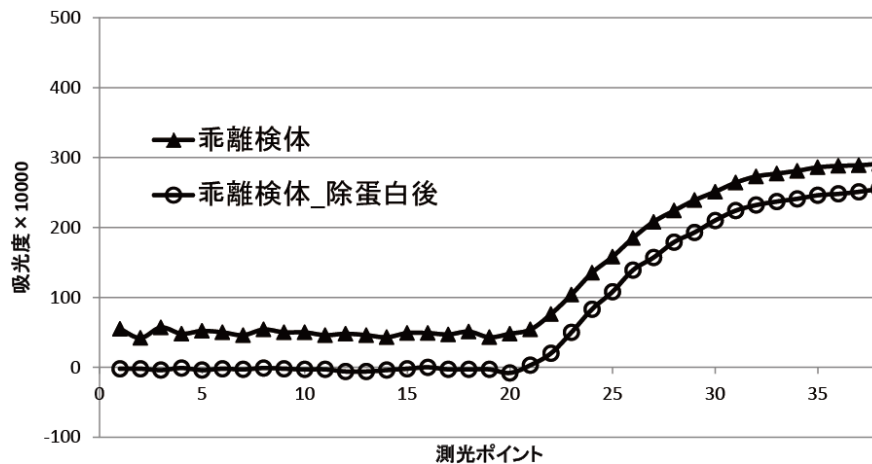
検体名	A社試薬	「セロテック」CRE-N
乖離検体	2.06mg/dL	0.46mg/dL
乖離検体_除蛋白後	0.46mg/dL	0.48mg/dL

除蛋白前後でA社試薬による測定値は変動しています。これは、M蛋白が測定に影響を及ぼし、偽高値となっていることを表します。

■図5 A社試薬測定におけるタイムコース



■図6 「セロテック」CRE-N測定におけるタイムコース



(2015年9月測定)

また、タイムコース（図 5）では、R-1 試薬中で吸光度は上昇しておらず、R-2 試薬添加後に吸光度が上昇することで、測定値が偽高値となっていることがわかります。「セロテック」CRE-N では濁りが生じませんでした（図 6）。

このような R-2 試薬添加後に生じる吸光度上昇は、CRE に由来する特異的な吸光度上昇と区別が付きにくいため、臨床的に混乱を招く懸念があります。また、自動分析装置のタイムコースの波形異常を検知する機能では検出しにくい事象です。こうした影響は試薬側で回避するしか方法がありません。

IV. CRE 測定法の正確さ評価方法

1. 基準的測定方法（HPLC法）との測定値比較

CRE 試薬の評価に最も良い方法は、複数の血清検体の測定値を基準的測定法である HPLC 法で測定した値と比較することです。キャリブレータがもつ比例系統誤差、測定用試薬がもつ直線性能と非特異的反応性を評価できます。

HPLC 法との測定値を比較した相関図において、相関回帰式が原点を通る直線となっても、傾きが 1 からずれている場合には、キャリブレータの濃度が正確でないことが考えられます。また、相関回帰式の Y 切片が負の値となっている場合には、もぐりこみが生じていることを意味します。逆に、Y 切片が正の値の場合には、血清検体との非特異的反応性の大きさを示しています。

▶比例系統誤差：
誤差には偶然誤差と系統誤差の2種がある。系統誤差は標準液の劣化、濃縮などによる誤差、分析機の不備や妨害物質による誤差などがある。このうち、濃度比例的に生じる系統誤差を比例系統誤差、ゲタ履き誤差など濃度に関係なく同じ分だけ生じる誤差を一定系統誤差（固有系統誤差）という。

■表 6 HPLC 法との相関性 （相関回帰式： $y=ax+b$ x：HPLC 法 52 検体）

	HPLC 法	A 社	B 社	C 社	D 社	「セロテック」 CRE-N
平均(mg/dL)	1.886	1.950	1.914	1.881	1.853	1.875
傾き(a)	—	1.038	1.043	1.030	0.998	0.993
切片(b)	—	-0.007	-0.053	-0.061	-0.029	0.003
相関係数(r)	—	0.9991	0.9991	0.9991	0.9993	0.9991

（社内データ、2016 年 2 月測定）

2. 低値直線性（もぐりこみ）の確認方法

一般的なキットのキャリブレータの濃度である 5mg/dL より低い濃度域での測定値は低めに測定され、5mg/dL より高い濃度域では高めの測定値となる場合があります。確認方法の例としては、5mg/dL より低い CRE 濃度約 2mg/dL を最大濃度とした 10 点希釈系列を作製して測定し、CRE 濃度の比 (10/10/1/10) を算出することで確認できます（表 7）。10 より大きい場合は、もぐりこみが生じていると考えられます。

また、約 10mg/dL を最大濃度とした 10 点希釈系列を作製して測定し、キャリブレーションの濃度より低濃度域では低め、高濃度域では高めに測定されることを一般的なキットのキャリブレーションの濃度（5mg/dL：5/10）を基準として他の希釈系列点を評価することなどで確認することができます（図 7）。

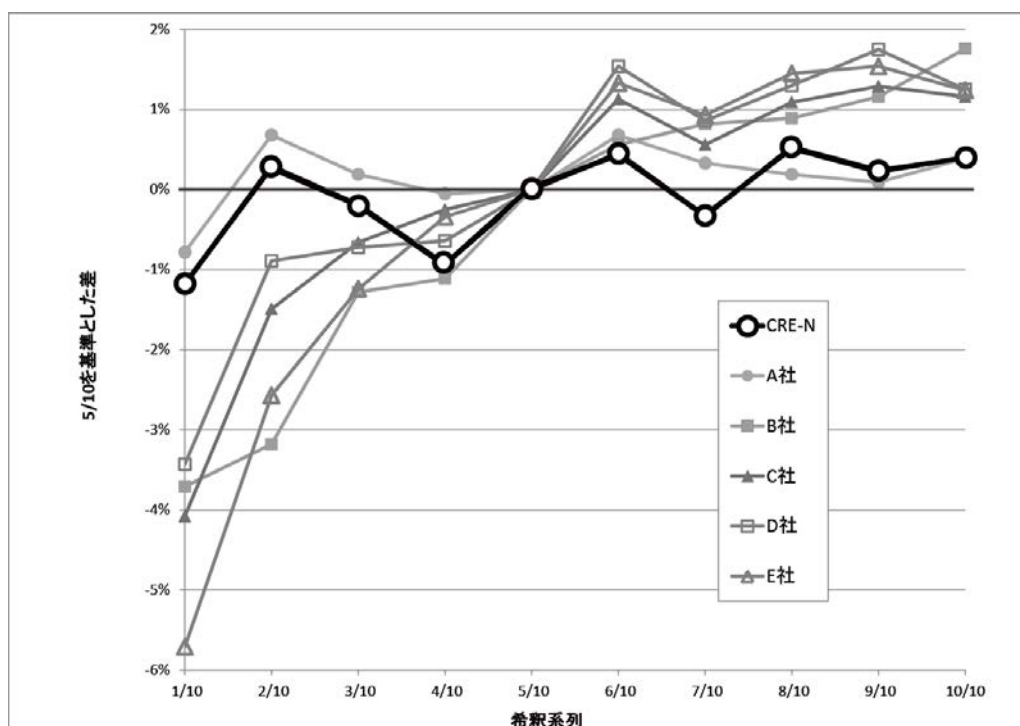
低値の直線性をもぐりこんでいるキットでは、キャリブレーションの濃度を参考基準範囲上限値や精度管理用試料の濃度に近づけて正確さをできるだけ損なわないようにしています。これに対して「セロテック」CRE-N は低値の直線性をもぐりこまないため、一般的なキットのキャリブレーションの濃度より高い 10mg/dL 付近に設定し、十分な感度を確保しています。

■表 7 約 2mg/dL を最大濃度とした 10 段階希釈系列の（1/10、10/10）測定結果
（単位：mg/dL, n=2）

	A 社	B 社	C 社	D 社	E 社	「セロテック」 CRE-N
1/10 測定値	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.21
10/10 測定値	2.03	2.01	2.01	2.01	2.05	2.11
10/10／1/10 比	11.3	11.2	11.2	10.6	10.8	10.0

（社内データ、2015 年 11 月測定）

■図 7 約 10mg/dL を最大濃度とした 10 段階希釈系列測定結果図



■表 8 約 10mg/dL を最大濃度とした 10 段階希釈系列測定結果

(単位：mg/dL, n=2)

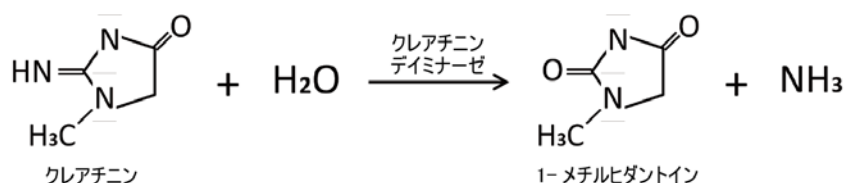
	A 社	B 社	C 社	D 社	E 社	「セロテック」 CRE-N
キャリブレーション 表示値	4.94	5.0	5.0±0.13	5.0	5.0	10.08±0.226
測定結果						
0/10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1/10	1.02	0.97	0.98	0.99	0.98	1.02
2/10	2.07	1.95	2.01	2.03	2.02	2.07
3/10	3.09	2.98	3.04	3.05	3.07	3.09
4/10	4.11	3.98	4.07	4.07	4.13	4.09
5/10	5.14	5.03	5.10	5.12	5.18	5.16
6/10	6.21	6.07	6.19	6.24	6.30	6.22
7/10	7.22	7.10	7.18	7.23	7.32	7.20
8/10	8.24	8.12	8.25	8.30	8.41	8.30
9/10	9.26	9.16	9.30	9.38	9.47	9.31
10/10	10.32	10.24	10.32	10.37	10.49	10.36
5/10 を基準とした誤差率						
1/10	-0.78%	-3.71%	-4.08%	-3.43%	-5.71%	-1.18%
2/10	0.68%	-3.18%	-1.49%	-0.89%	-2.57%	0.29%
3/10	0.19%	-1.28%	-0.66%	-0.72%	-1.24%	-0.19%
4/10	-0.05%	-1.11%	-0.25%	-0.64%	-0.34%	-0.93%
5/10	—					
6/10	0.68%	0.56%	1.13%	1.54%	1.33%	0.45%
7/10	0.33%	0.82%	0.56%	0.86%	0.93%	-0.33%
8/10	0.19%	0.89%	1.09%	1.30%	1.45%	0.53%
9/10	0.09%	1.16%	1.29%	1.75%	1.54%	0.24%
10/10	0.39%	1.76%	1.16%	1.25%	1.24%	0.39%

(社内データ、2015 年 11 月測定)

3. クレアチニンデヒミナーゼ試験（非特異反応性試験）

CRE を測定する試薬が、CRE を特異的に測定しているかどうかを確認する方法です。血清中に存在してサルコシンオキシダーゼの基質となる物質による正誤差を評価するには、血清検体をクレアチニンデヒミナーゼという酵素で処理し、試料中の CRE を分解した後に CRE 測定用試薬で測定する方法が用いられます。本来であれば測定値は「0」となるはずですが、正の測定値を示す検体では、非特異的な反応が生じています。

■図 8 クレアチニンデヒミナーゼの反応



この評価を行うのに先立ち、低値域でのもぐりこみ現象がないことを確認して下さい。非特異反応によって正誤差を生じても、もぐりこみによって負誤差を生じ、非特異反応による正誤差が隠れてしまう可能性があります。

■表 9 クレアチニンデイミナーゼ処理血清（60 検体）の測定値（度数分布）

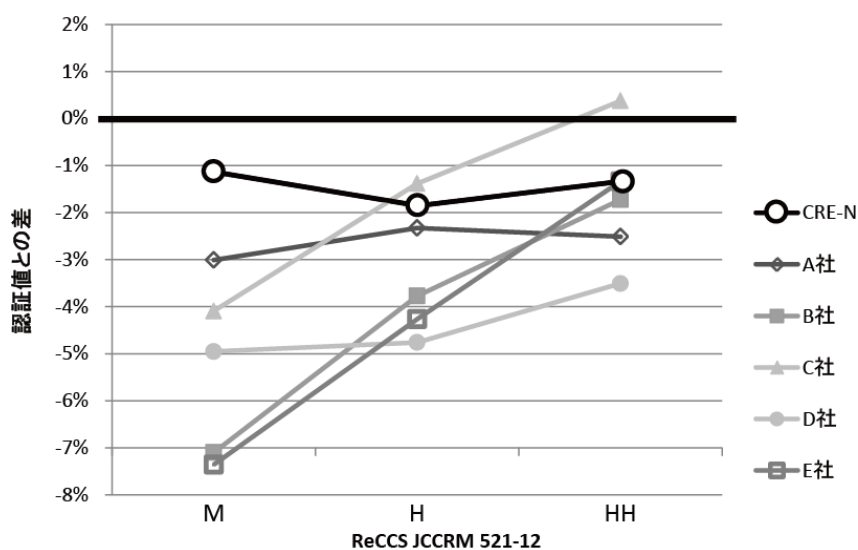
区間 (mg/dL)	A 社	B 社	C 社	D 社	「セロテック」 CRE-N
-0.05≥	0	0	0	0	0
-0.04~-0.01	0	16	13	0	0
0.00~0.04	60	43	47	60	60
0.05~0.09	0	1	0	0	0
0.10~0.14	0	0	0	0	0
0.15≤	0	0	0	0	0
SD(mg/dL)	0.009	0.017	0.011	0.004	0.008
平均値(mg/dL)	0.013	0.007	0.004	0.020	0.014

（社内データ、2016 年 2 月測定）

4. 上位標準物質測定結果の解釈

ReCCS JCCRM 521 を検体として測定し、その認証値の拡張不確かさの範囲に測定結果が得られたからと言って、測定値が正確だと安心してはいけません。というのも、血清検体中の非特異反応による正誤差と、低値域でのもぐりこみによる負誤差が見かけ上釣り合い、たまたま認証値に近似した測定値を示す場合があるからです。

■図 9 ReCCS JCCRM 521-12 測定平均値



（単位：mg/dL n=10）

JCCRM 521-12	M	H	HH
認証値	0.89±0.03	2.20±0.09	5.31±0.21
A 社	0.864	2.15	5.18
B 社	0.831	2.12	5.22
C 社	0.855	2.17	5.33
D 社	0.848	2.10	5.13
E 社	0.829	2.11	5.24
「セロテック」 CRE-N	0.880	2.16	5.24

（社内データ、2015 年 11 月測定）

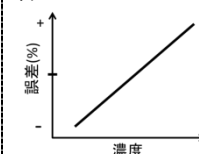
▶度数分布表の読み方：

区間 0.00 ~ 0.04 mg/dL 以外に測定される検体が存在する場合は、非特異的な測定がある、あるいはもぐりこみが生じている可能性を示す。

▶ ReCCS JCCRM 521-12:

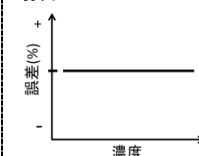
ハイフン以降の数字はロット番号を示す。

▶もぐりこんでいる場合：



濃度に対して誤差(%)をプロットすると、濃度が低くなるにつれて負誤差が大きくなり、右肩上がりの斜線となる。

▶もぐりこんでいない場合：



濃度に対して誤差(%)をプロットすると、水平な直線となる。

キャリブレータの表示値に問題がある場合には、ReCCS JCCRM 521 の各濃度の認証値に対する測定値の誤差が一定の比率で現れる、比例系統誤差が生じます。また、低値域でもぐりこんでいる場合、キャリブレータの濃度より高いものは認証値よりも高めの測定結果となり、キャリブレータの濃度より低いものは認証値よりも低めの測定結果となります。ただし、1mg/dL 以下の ReCCS JCCRM 521 については測定用試薬に非特異反応がある場合、正誤差を生じていますので、もぐりこんでいても認証値の範囲内に入ることがあります。

サーベイに用いられる CRE 低値試料は 1.00mg/dL 以下であることが多い状況です。また、サーベイは全体による多数決で評価基準が決まることがあります。サーベイで高評価が得られていても、低値の正確性が得られているのかどうかは定かではありません。試薬によっては、低値のもぐりこみ（偽低値）と検体の非特異反応（偽高値）で相殺されて、それらしい値になっている場合が考えられます。非特異反応は試料によって異なるため、必ず相殺されてそれらしい値になるとは限りません。ですから、特異性の高い測定試薬で測定値の評価に臨む方が安心できるのではないのでしょうか。

V. 参考文献・資料

- 1) 孫大輔 他,BUN、クレアチニン高値を認めた時の鑑別診断の進め方,日本内科学雑誌 No.97 Vol.5:21-25,2008
- 2) 一般社団法人 日本腎臓学会,CKD 診療ガイド 2012
- 3) 一般社団法人 日本腎臓学会,エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2009
- 4) 一般社団法人 日本腎臓学会,エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2013
- 5) 二瓶司 他,クレアチニン測定試薬における測定値の互換性評価試験,筑波臨床化学セミナー 2016 抄録,85-97,2016
- 6) 山下計太 他,ID-MS を基準測定法としたクレアチニン測定試薬のトレーサビリティ評価試験,臨床化学 Vol.45 Supp.1,215,2016
- 7) 松尾清一,CKD 患者の発見と評価,心臓,41:747-751,2009
- 8) 三宅一徳,臨床検査の精度管理事業,日本臨床検査医学会,23-33,2012

CRE

(No.R-010a)

平成 29 年 11 月改訂



〒062-0021 札幌市豊平区月寒西 1 条 8 丁目 8-7

TEL 011-855-1131 FAX 011-855-0143

お問い合わせ先 企画開発室 E-mail:kikaku@serotec.co.jp

www.serotec.co.jp

