

2030年に向けた臨床検査のあるべき姿

Ⅲ. 生化学・免疫学的検査について

やま だ とし ゆき
山 田 俊 幸
Toshiyuki YAMADA

はじめに

本稿では、生化学・免疫学的検査分野における検査の質や保証、検査法、検査項目の近未来を語ってみたい。雑文的、独善的になることを了承いただきたい。

I. 標準化・ハーモナイゼーションの行方

臨床検査には、精確で等しい検査値を提供するという使命がある。また、ビッグデータ、AI診療、国際治験などのキーワードからは、グローバルに合わせる、ということもますます求められることになるであろう。ALPとLDにおいては、既にIFCC法が導入された。同じようにAST、ALTもアポ酵素を測り込むIFCC法が導入されるかもしれない。既存の項目では、アルブミンのBCP改良法が唯一法になるのと同じように、測定法の整理が科学的に進むことが期待される。長年の課題であるビリルビンの定義と測定法の整理が進み、 δ -ビリルビンを測り込まない、いわゆる抱合型ビリルビンの測定が普及していくかが注目される。

腫瘍マーカー、ホルモンはどうなるであろうか。TSHのハーモナイゼーションが完了し、次はFT4の標準化が期待される。ビリルビンの事例のように、CEAをどう定義するか（NCAを測り込むか否か）コンセンサスは得られるだろうか。同様にCA19-9の測定条件を揃えられるか。概して免疫アッセイは海外試薬が多く使用されていることが壁の一つで、国際的な取り組みが進展するか否かが鍵になる

であろう。

標準化できないものはハーモナイゼーションで、がこの分野の潮流である。私的にかつ古い話で恐縮だが、駆け出しのころ、尿中のアルブミン定量検査につき、ラテックス凝集法（LA）による測定法が登場したのを受け、それまでの外注RIAを止めて、院内検査とする検討を行った時の話である。測定値には50%のズレがあり、糖尿病専門医からクレームがついた。そのときたまたまLA法を開発した企業研究者と親交があり、「RIAに合わせることは無理か」と尋ねたら「社内での標準化には自信があり、非科学的理由で先発品に合わせるのは自殺行為」と返された。モノを開発するというのはそういうことかと感心した。今は、国際標準化に合わせないのはご法度、後発の場合は先発と合わない試薬は認可が困難な状況にある。ただし、他に合えば良いというやり方は楽な一方で、開発者のプライドを損ねる場合がある。多種の試薬の平均値に値を揃えるハーモナイゼーションも、同様なことがいえるかもしれない。わが国の臨床検査がこの先、外的要因に自身のモチベーションをどう折り合いをつけていくかの議論が必要とを感じる。

II. 精度管理の行方

検査室の品質管理が法令に記載され、内部精度管理と外部精度評価の実施が努力義務とはいえ明文化された。しかし、どのような品質管理にしてもコストがかかるものであり、施設によってはどう対応していくか模索していくことになろう。外部精度管理調査への参加が、施設にとっては自施設検査の精確

さを保証するものとして、重要性は減じることはないであろう。ただし、かなりの収束性が高まった項目については、日常検査の管理幅をしのぐような評価基準は行き過ぎであろう。得点稼ぎのみを重要視せず、精度管理調査から得られた果実を発展につなげる議論が成熟することを望みたい。

臨床検査分野・業界にとって外部精度管理調査は、調査項目における方法間差の現状を把握する上でも不可欠なものである。ただし、方法間差があるからといって方法ごとの評価を漫然と続けているだけではなく、その改善に繋がる意識が成熟することが望まれる。大規模調査における調整された配布資料と、小規模調査における実検体ベースの配布資料との、成績の違いにも注意して進めるべきである。

Ⅲ. 測定技術の行方

生化学検査は、アルブミンがそうであったように、より特異性の高い測定法が選択されていく方向にある。ここでもコストの問題が出てくるが、酵素法が available な項目はその方向になるであろう。そして、測定法としての高品質を満たすものは POCT 化していくのは必然であろう。オンサイト医療が進む中、救急医療は ER にたどり着くまで、予防・慢性期医療は在宅での検査が重要視されるであろう。前者は、現在の血液ガス・電解質等の緊急検査項目を実施するハンディデバイスの開発、後者は現在の少数項目感の強い簡易機器の多項目化がさらに進むかもしれない。LDL-コレステロールは、正脂血に近い場合は直接法の試薬間差も少ないので大丈夫であろうが、HbA1c は在宅検査と病院検査で方法が異なる場合に注意が必要かもしれない。検体測定室の話題以来、病院外で行われる検査についてその精度が問題になってきたが、診療の一環として行われる場合、病院内にいるわれわれの管理義務ということになりかねず、POCT には今以上に真剣に取り組む必要を感じる。

免疫アッセイは、各企業の努力により反応性を高め、非特異反応を抑える工夫が積み重ねられ、着実に成長してきている。特にわが国は、ラテックス凝集免疫比濁法のようなホモジニアスアッセイに長けていて、汎用分析機に多くの免疫アッセイ項目を搭載してきた。この流れは今後も進むと思われる。

一方で、測定感度の面で標識免疫測定法は依然不可欠な方法で、酵素、酵素化学発光、化学発光、電気化学発光、生物化学発光ときて、この先どうなるかに期待したい。次に述べる、質量分析 (MS) は近未来のゴールといえる検査法となると思うが、現時点では、検体処理能力をはじめ日常的な使用には限界があり、どのように進化するか待ち遠しい¹⁾。

MS と称する方法には異なる特性のものが多種あるが、ここではまとめて論ずる。現在、臨床的に利用されている特質は、構造変化を鋭敏に検出するものである。異常タンパクの検出に限って話を進めると、生殖系列遺伝子の一塩基置換によるアミノ酸変異は、質量分析の得意としてきたところであるが、次世代シーケンスの登場で、遺伝子診断もスピードアップした。次に威力を発揮するのは体性遺伝子変異による特異的なプロダクトの検出である。筆者の研究分野で恐縮であるが、海外では多発性骨髄腫や AL アミロイドーシスにおいて出現する腫瘍性免疫グロブリン (M タンパク) を微小残存病変として特異的に MS で検出されている。簡単には、これらの病態では治療によって M タンパクが減少していくが、電気泳動 (タンパク分画) のピークでは感度が低過ぎ、免疫グロブリン定量では、M タンパクを見ていることにはならない。そこで、血清から M タンパク部分を調整し、M タンパク由来のペプチドを特異的に検出というものである²⁾。特に AL アミロイドーシスでは、細胞学的な異常 (形質細胞増殖など) が通常は見られないため、有用な病態マーカーになりうる。他には、タンパク分解、糖鎖修飾など、遺伝子診断の守備範囲でない構造変化の検出に威力を発揮していくものと思われる。

単独の成分の構造変化だけでなく、多種の成分の変化を複合して捉えるような使用も期待される。髄液などノイズの少ないサンプルをそのまま分析するということから始まるかもしれない。MS の実用性が増せば、いちいち免疫アッセイに持って行かずとも、MS での定量測定がやがて一般的になることが期待される。MS による定量測定は、免疫アッセイにみられる試薬間差という不可避に近い問題を一挙に解決できるかもしれない。

MS 以外に、免疫アッセイにかわりうるものとしてセンサー技術がある。筆者の把握の及ぶところではないが、最近眼にしたもので、検出したい物質

を鋳型とするポリマーを設計し、サンプル中の非測定物質の結合で定量化するものである³⁾。実用性は未知数と思うが、MSにしろ、センサー技術にしろ、脱イムノアッセイには別の意義がある。それは、動物に異存しない試薬ということで、one healthの理念に沿う方向性といえる。動物といえば、犬がその嗅覚によりがん患者の尿を見分ける、という類の報告がかねてから散見されてきた。物質的な解明だけでなく、犬センサーともいべき技術の開発も待たれる。

POCTは、デバイスを含めた検査の品質の向上がより求められる。在宅医療の拡大は、患者を自宅で診るということだけでなく、このコロナ禍で経験した患者でなくても自宅待機を求められ、そこでSpO₂の測定をする、といったようなことが拡大し、基本的な検査を自宅でを行い、その結果を持参する、またはオンライン診療に使うなどということが広まるのではなかろうか。先日も、救急科の医師から、ERに到着するまでの救急搬送時に乳酸を検査したいがどのデバイスが良いか、と相談を受けた。ひと昔前ならそんなあやふやなものは良くない、としたところであるが、これも新型コロナの経験により、簡易デバイスの検査もそれなりに医療ニーズに応えられることがわかった。この流れは止められないと考える。

IV. バイオマーカーの行方

1. バイオマーカー研究の方向

臨床検査、より広い視点での臨床診断学に最も求められるのは、やはり有用なバイオマーカーの開発であろう。疾患をより早期に高い特異性をもって診断できるマーカー、新型コロナ感染症による肺炎の重症化マーカーのように診断後の疾患の質を見極めるようなマーカー、侵襲的な方法でしか評価できなかった治療反応性を表現するマーカー、などなど疾患・病態の様々な場面で有用視されるマーカーの開発が進められている。その方法論は、オーソドックスに、基礎研究の知見をベースにして絞られてくるテーマにつき臨床研究を展開する、という手法はこれまで通りで、最近のやり方である臨床サンプルを直接比較対照研究に持ち込み、MSを駆使して網羅

的な解析によるマーカーの検出を模索するものが増えていくであろう。後者は、実際に臨床検査に供されるサンプルからスタートする点が、応用性を考える上で強みになる。ただし、その成否は、分析技術のさらなる向上と、良質の症例と対照の収集にかかっているといえよう。以下、二つの老化に関連した話題について述べるが、筆者の興味に偏っていることをあらかじめご容赦願いたい。

2. 認知症

認知症の多くを占めるアルツハイマー病(AD)の診断マーカーとして期待されるアミロイドβ(Aβ)42/40測定が、臨床検査レベルの測定系として、最近、使用可能になったのは画期的なことであった。ADの脳病理は神経原線維変化と老人斑である。前者は、リン酸化タウによるもので、これも臨床検査試薬が開発された。後者はアミロイド線維の特徴を有し、その構成ペプチドが同定され、Aβと命名されたのは実に約40年前である。ほどなくして、Aβは前駆蛋白であるAPPから切り離されたものであること、切断部分の異なるペプチドが多種存在するが、Aβ42が最もアミロイド原性を示すことが明らかになった。そして、このペプチドの断端を認識する特異抗体が開発され、ELISAによって髄液中のAβ42とAβ40の分別測定が可能になり、その比をとる(ADでAβ42が減少する)ことでADを診断できることが示されたのは実に約20年前のことである。

ここまで時間がかかったのにはいろいろな事情があるものと推察される。一つは治療法がなかったことで、これは今現在でもはっきりしたものはない。ただし、MCI(軽度認知障害)の段階での進展を遅らせる有望な介入法が示されてくると、より客観的なMCIの診断指標としてこの検査が期待されることになってきた。脳内におけるAβの蓄積はMCIの段階のさらに前の無症候性の段階から始まっていることがわかっている。そういう意味では、ある程度の年齢になったらスクリーニング的にこの検査を行い、いわば老化を遅らせる取り組みが始まることも夢ではないかもしれない。

ここでネックになるのが、脳脊髄液を採取することである。そこで期待されるのは、低リスクな髄液採取法の開発である(見込みはなく述べている)。髄液を用いた診断は他にも用途が多いことから採取

法の改良は強く望まれるところである。現状では、血液サンプルで、ということになり、MSを駆使した探索がかなり濃密に行われ、有望なマーカーがいくつ報告されている。このままMSを日常検査に導入していくのか、一旦は免疫アッセイに落とし込むのか、今後の進展が期待される⁴⁾。

認知症に関連して、メンタル異常でのバイオマーカー探索も盛んになってきている。ADは、A β に物質-病態関係があったが(原因にしろ結果にしろ)、メンタル異常ではそのような単純化は困難で、おそらく機能性の変化に付随する代謝変化を捉えるものであろう。ともかく、この領域に検体検査が参画するのは大きな挑戦で、画期的なものが出てくることを期待したい。

3. リン代謝

脂質異常症を背景に、動脈硬化、脂肪肝、インスリン抵抗性が誘導される病態をLipotoxicityと総称し、老化の一因とされるが、過剰なリンが生体にとってCKD、フレイルなど老化に密接に関連する病態を引き起こす病態がPhosphatopathyと呼ばれ⁵⁾、Lipotoxicityに予防医学が集中したように、今後注目すべきものである。生体にとっての不溶性物質、例えば脂質はアポ蛋白によってミセルとなり血中に分散し、しかるべき組織に利用されるが、好ましくない組織に蓄積すると、前述の病態を引き起こすように、リン酸カルシウムはfetuin-Aに吸着されCPP (carciprotein particle) という可溶性粒子として運搬され、このCPPの過剰により様々な病態を引き起こされる。具体的には、CPPはFGF23 (fibroblast growth factor-23) を分泌させ、ネフロンにリンを負荷することにより、ネフロン数が減少する。また、FGF23は活性化ビタミンDを阻害することにより二次性副甲状腺機能亢進症を引き起こす。CPP粒子がさらに大きくなり、血管に沈着する(異所性石灰化)す

ると、局所での炎症反応を賦活する。先進国は明らかにリンの摂取量が過剰で、肉食、加工食品(添加物)の摂り過ぎによるものだ。臨床検査として無機リンを測定してはいるが、健康診断などには通常含まれておらず、血清リン濃度には食事、日内変動など影響因子があることを含め、本検査についての知識の啓発が必要と考える。関連物質として、FGF23は既に測定されている。本来の病因物質であるCPPの測定は現時点で研究室レベルであり、この検査の一般化が望まれる。

おわりに

2030年はそう遠い先ではない。臨床検査そのものは、ここ5~10年の流れにのってゆっくり進化していくと考える。昨今のような予測不能なパンデミックや争乱、または大規模の災害などには当然対応を迫られるが、確実なのは高齢化に伴う医療の変化への対応であろう。

文 献

- 1) Keevil BG. LC-MS/MS the first 20 years: a personal view. *Ann Clin Biochem* 2022; **59**: 3-6.
- 2) Langerhorst P, Noori S, Zajec M, Rijke YBD, Gloerich J, van Gool AJ, Caillon H, Joosten I, Luijckx T, Corre J, Van Duijn MM, Dejoie T, Jacobs JFM. Multiple Myeloma Minimal Residual Disease Detection: Targeted Mass Spectrometry in Blood vs Next-Generation Sequencing in Bone Marrow. *Clin Chem* 2021; **67**: 1689-1698.
- 3) Balayan S, Chauhan N, Chandra R, Jain U. Molecular imprinting based electrochemical biosensor for identification of serum amyloid A(SAA), a neonatal sepsis biomarker *Int J Biol Macromol*. 2022; **195**: 589-597
- 4) 柳澤勝彦. アルツハイマー病の血液バイオマーカー. 平成30年度業績集・認知症の予防とケア. 公益財団法人長寿科学振興財団. 2019, p91-98.
- 5) 黒尾誠. 世界的な健康問題としてのリン: リンと老化. *臨床化学* 2021; **50**: 85-94.