

cystatin C 精密測定

Serum cystatin C as a marker of renal function

さ　　とう　ひろ　え　　かざ　　ま　　じゅんいちろう　　げ　　じょう　ふみ　　たけ
佐　藤　弘　恵　：　風　間　順一郎　：　下　条　文　武
Hiroe SATO　Junichiro J. KAZAMA　Fumitake GEJYO

はじめに

腎臓の最大の機能は濾過によって細胞外液から水および溶質を体外に排出することであり、これは一定の時間に糸球体から濾過される血漿量である糸球体濾過量 (glomerular filtration rate ; GFR) として表される。この GFR は一般に血漿中と尿中に分布するある特定の溶質のクリアランスを求めることによって推定される。ではどういったものが、クリアランス物質となりうるのか。いわゆる理想のクリアランス物質の条件とは、一定の割合で血中に分泌もしくは投与されること、血中で蛋白と結合しないこと、さらに糸球体で自由に濾過され尿細管で分泌も再吸収もされないことである。具体的には inulin、iohexol、 ^{51}Cr -EDTA、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA などの外因性物質を経静脈的に投与して腎クリアランスを求める方法が国際的な gold standard とされており、本邦では現在のところチオ硫酸ナトリウムが保険適応となっている。しかし、侵襲的で、検査に時間がかかり、費用も高くなるという大きな問題点がある。そこで、日常検査においては内因性物質であるクレアチニンを用いた 24 時間クレアチニンクリアランスが汎用されているが、クレアチニンが筋肉量や食事の影響を受け、性差・年齢により変化すること、また 15% ほどが近位尿細管で分泌されるため実際の GFR より過大に算出されることが指摘されている。また正確な蓄尿が求められることが外来診療上での大きな足かせとなっている。

このため、実際にはクリアランスを用いず血清濃度だけで GFR を推定する GFR マーカーが臨床的に

広く代用されている。その代表もまたクレアチニンである。血清クレアチニン値はそれだけで腎機能のおおよそな指標として認知されているだけでなく、年齢や性別で補正した Cockcroft-Gault 式¹⁾や Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) 式^{2,3)}などの推算式を用いて GFR に換算する試みもなされている。ただし、血清クレアチニン値は前述のように筋肉量の影響を受けることに加え、Jaffé 法による測定より酵素法では 0.2mg/dL ほど高く出ることや、ある程度まで GFR が低下しないと血清クレアチニン値が上昇しないいわゆる creatinine blind range が存在する問題がある。換算式にも正確性に限界があることが知られている^{4,5)}。このように GFR を求める方法はそれぞれに問題を抱えているのが現状である。

cystatin C は尿細管上皮細胞によって再吸収されるためクリアランス物質としては不適であるが、GFR マーカーとしては有望な特性を持った物質である。2005 年 10 月 1 日から、血清 (血漿) cystatin C 測定は新しく腎機能マーカーとして保険適応となった。以下、cystatin C の生物化学的特性と臨床応用の展望について概説する。

I. cystatin C の生物化学的特性

cystatin C は 122 のアミノ酸からなる 13kDa の蛋白で、cysteine proteinase inhibitor のひとつである⁶⁾。あらゆる有核細胞に発現している housekeeping gene にコードされているため生体内では一定の割合で産生され⁷⁾、さらに細胞外に分泌された cystatin C は他の蛋白などとの複合体を形成することはない。ま

た β_2 -microglobulin とほぼ同じ分子量の低分子蛋白のため糸球体で自由に濾過され、その上近位尿細管で再吸収されアミノ酸に代謝されるので血中には戻らない。以上より、血中の cystatin C 濃度は基本的に GFR にほぼ依存していることになり、内因性腎機能マーカーとして好適な条件を備えている。

Ⅱ. 血清 cystatin C 濃度の測定法

2005 年 10 月 1 日から保険適応となった cystatin C 精密測定法は、ラテックス凝集比濁法、金コロイド凝集法およびネフェロメトリー法の 3 種類である。いずれも抗ヒト cystatin C ポリクローナル抗体を標識したラテックス、金コロイドやポリスチレン粒子が、血清（血漿）中の cystatin C と抗原抗体反応で結合することを利用し、凝集のため生じた色調変化を光学的もしくは光散乱として cystatin C 濃度を算出する（図 1）。それぞれの測定法については表 1 にまとめた。

Ⅲ. 血清 cystatin C 濃度測定の臨床利用

腎機能障害患者も腎機能正常な群でも血清 cystatin C が GFR の良好なマーカーとなると報告されており⁸⁻¹⁰⁾、特にもともとの血清クレアチニン値レベルが変化するような筋肉量の極端に低下した患者

群などにおいてはその有用性が期待される^{11, 12)}。

当科では腎生検を行い組織診断の確定している各種腎疾患患者のうち、1994 年 1 月から 1999 年 3 月までの間に 24 時間クレアチンクリアランス試験および導尿下の点滴静注チオ硫酸ナトリウムクリアランス試験の両方を施行した 212 症例（年齢 13 ～ 85 歳、男性 104 例、女性 108 例）を対象とし、血清 cystatin C 濃度についてチオ硫酸ナトリウムクリアランスを gold standard とし、24h クレアチンクリアランス・血清クレアチニン・血清 β_2 -microglobulin と比較検討した⁸⁾。cystatin C の測定はネフェロメトリー法を原理とする Behring Nephelometer II ; BN II（デイドベーリング社）を使用し、その専用試薬である N-ラテックスシスタチン C キット（デイドベーリング社）を用いた。

チオ硫酸ナトリウムクリアランス試験で得られた GFR と cystatin C の逆数は 24 時間クレアチンクリアランスと同程度の相関を得られた（ $1/\text{cystatin C}$ vs 24 時間クレアチンクリアランス ; $R^2=0.679$ vs $R^2=0.701$ ）（図 2）。ROC 曲線解析では GFR が $80\text{mL}/\text{min}$ を cut off とすると cystatin C の area under the curve (AUC) が最も高かった（図 3）。これは cystatin C が $\text{GFR}80\text{mL}/\text{min}$ 以下を察知する感度・特異度ともに優れていることを意味し、この時の Younden Index 点（図 3 の矢印）における血清 cystatin C 濃度は $0.98\text{mg}/\text{L}$ で感度は 88.5%、特異度は 95.2%であった。

抗ヒト cystatin C ポリクローナル抗体で
標識した担体

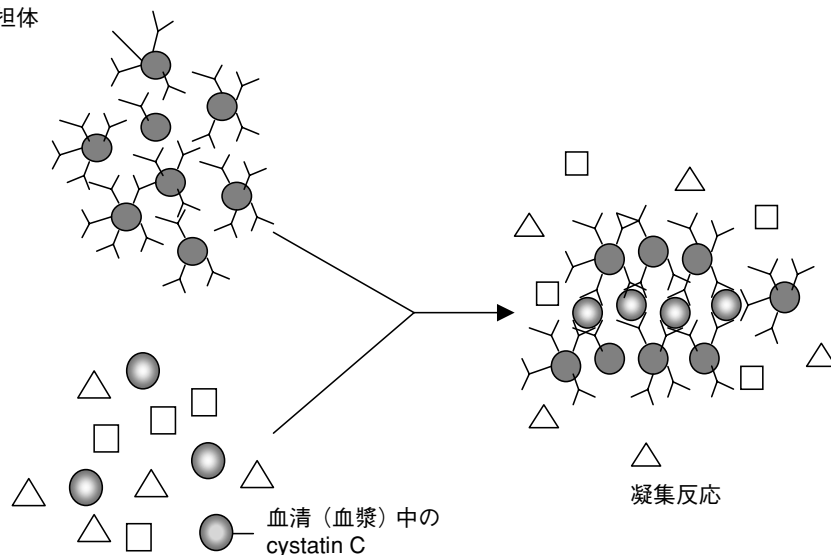
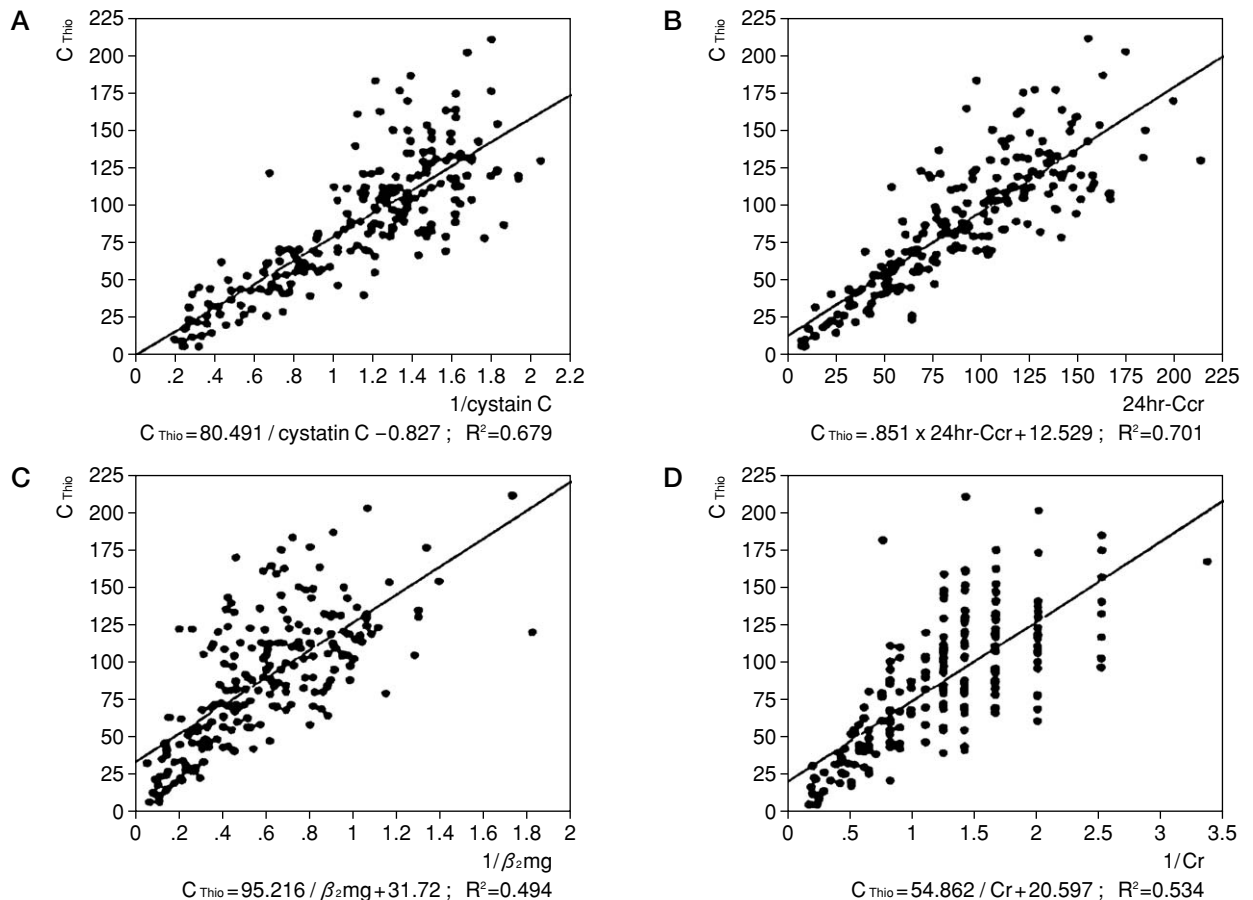


図 1 cystatin C 測定原理

表1 cystatin C 測定法*

	ラテックス凝集比濁法	金コロイド凝集法	ネフエロメトリー法
会 社	三菱化学ヤトロン	アルフレッサファーマ	デイドベアリング
試薬名	イアトロCys-C シスタチンCキット	ネスコート®GCシスタチンC	N-ラテックス シスタチンCキット
測定原理	抗ヒトシスタチンC抗体 感作ラテックスとの凝 集を光学的に測定する。	金コロイド標識抗ヒトシスタチンC ウサギポリクローナル抗体との凝 集を光学的に測定する。	抗ヒトシスタチンCウサギポリクローナル抗体 吸着ポリスチレン粒子による凝集をネフエロメ トリーで散乱強度を測定する。
測定機器	汎用自動測定器可	汎用自動測定器可	BNシステムが必要
参考正常値	0.59-1.03mg/L	男性； 0.63-0.95mg/L 女性； 0.56-0.87mg/L	0.53-0.95mg/L
妨害物質	ヘモグロビン・ビリル ビン・乳び・アスコル ビン酸・リウマチ因子 による影響はない。	ビリルビン20mg/100mL、溶血（ヘ モグロビン）300mg/100mL、乳び 5000ホルマジン濁度、リウマチ因 子500IU/mL、EDTA二ナトリウム 2g/L、クエン酸ナトリウム20g/L、 フッ化ナトリウム4g/Lで測定値に 影響はない。 メラノーマ・直腸癌・HIVなどの 疾患で影響を受ける可能性がある。	遊離型ビリルビン18.2mg/L、抱合型ビリルビン 19.6mg/L、ヘモグロビン460mg/L、脂質2400ホ ルマジン濁度以下までは影響なし。リウマチ因 子は補助試薬により除去される。シクロスポリ ン・タクロリムス・シロリムス・ミコフェノー ール酸・アザチオプリンなどの免疫抑制剤は影響 はない。移植患者の治療に用いられているモノ クローナル抗体やポリクローナル抗体の影響は 検討していない。 メラノーマ・直腸癌・HIV感染の影響ありえる

*；各測定キット説明書より引用



C_{Thio} ；チオ硫酸ナトリウムクリアランス, 24hr-Ccr；24時間クレアチンクリアランス,
 β_2mg ； β_2 -microglobulin, Cr；クレアチニン

図2 GFRと腎機能検査との相関関係

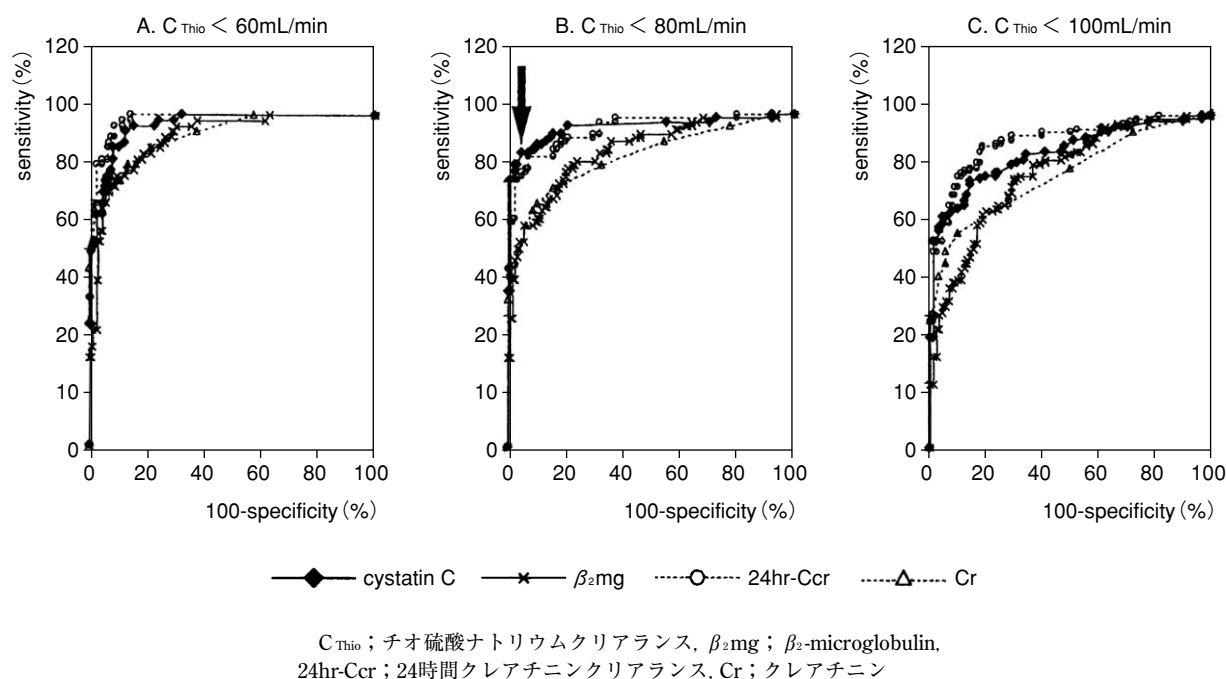


図3 ROCの分析

さらに、チオ硫酸ナトリウムクリアランス試験で得られたGFRを日本腎臓学会のガイドライン¹³⁾に基づき6群に分類し、各腎機能検査の陽性率を比較してみると腎不全および尿毒症まで腎機能が低下すれば、どの検査法でも正しく評価できるが、中等度あるいは軽度障害された群では、cystatin Cの陽性率が最も高く、いわゆる creatinine blind range をカバーすることが示された (表2)。

また、血清 cystatin C に影響を及ぼす因子について多変量解析にて年齢・性別・糖尿病の合併・蛋白尿・CRP・全身炎症の合併症 (SLE) について検討したが、cystatin C と有意に関係する因子はGFR以外になかった。

以上より当科の検討では血清 cystatin C は腎機能をより正確に反映し、とくに早期腎機能障害の発見において感度・特異度ともに血清クレアチニン値よりも優れていることがわかった。

IV. 血清 cystatin C 濃度測定に関する注意点

血清 cystatin C はGFRのみにほぼ依存しているが、ある特殊な病態や薬物による cystatin C への影響についての報告がいくつかある。転移性メラノーマや直腸癌の患者において原発性メラノーマより血清 cystatin C が高くなったというが、その原因に

ついては不明である¹⁴⁾。human immunodeficiency virus (HIV) 感染では病期により有意に低下することがあると報告されている¹⁵⁾。また甲状腺機能により血中 cystatin C の産生が変化すること也被われている^{16, 17)}。

薬物による影響としては副腎皮質ステロイド治療により血中 cystatin C が上昇し、cyclosporine により低下するが¹⁸⁾、ステロイドは影響しないという報告もあり⁸⁾、現在のところコンセンサスは得られていない。

保険審査上、尿素窒素 (BUN) またはクレアチニンにより腎機能低下が疑われた場合、3カ月に1回に限り算定できること、肝および腎のクリアランステスト (尿素またはクレアチニンを用いたクリアランステストに限る) を併せて実施した場合は、主たるもののみ算定する、つまり24時間クレアチニンクリアランスと同時に測定することは保険上通らない。保険点数は130点であり、24時間クレアチニンクリアランスの150点よりは低くなっている。

現在のところは24時間クレアチニンクリアランスが物理的に行えない場合や、24時間クレアチニンクリアランスでも不正確となる筋肉量が極端に低下している患者群で、cystatin C の果たす役割は大きいと考えられる。

表2 腎機能ステージ別の腎機能検査陽性率

日本腎臓学会ガイドライン	腎機能	陽性率			
		cystatin C	24hr-Ccr	β_2 mg	Cr
尿毒症群	GFR <10	100%	100%	100%	100%
腎不全	GFR 11-30	100%	94%	100%	100%
腎機能重度障害群	GFR 31-50	92%	92%	76%	72%
腎機能中等度障害群	GFR 51-70	85%	63%	33%	26%
腎機能軽度障害群	GFR 71-90	22%	3%	0%	11%
腎機能正常群	GFR 91<	2%	3%	3%	4%

(ml/min)

24hr-Ccr ; 24時間クレアチニンクリアランス, β_2 mg ; β_2 -microglobulin, Cr ; クレアチニン

V. 心血管系疾患の発症予測における可能性

cystatin C の新たな可能性として、心血管系疾患の発症に関係する予後因子となることが最近報告された¹⁹⁾。65 歳以上の 4,367 人について 8～9 年に渡り経過を追った study において、血清 cystatin C が高いほど死亡率および心血管系疾患の発症が多かった。一方、血清クレアチニンと MDRD による推算 GFR では死亡率および心血管系疾患の発症には cystatin C ほどの関係は得られなかった。この結果は腎機能の低下が心血管系疾患のリスクファクターとなることを反映しているだけでなく、cystatin C の予後予測因子としての新たな可能性を示唆している。

VI. まとめ

新しく本邦で保険適応となった血清 cystatin C 測定について概説した。cystatin C は現在のところその動態から最も優れた GFR マーカーと考えられ、また早期腎機能障害を発見するパラメーターとしての有用性は血清クレアチニン濃度測定を凌ぐ。cystatin C 測定はワンポイントの血清（血漿）から腎機能を把握できる簡便性、安価であることなど、ほぼ同等の GFR 推定力を持つ 24 時間クレアチニンクリアランスに勝る利点を持ち合わせている。保険収載後には臨床現場での広い応用が期待される。

文 献

- 1) Cockcroft DW, Gault MH.: Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. **16** : 31-41, 1976.
- 2) Klahr S, Levey AS, Beck GJ, Caggiula AW, Hunsicker L, Kused JW, Striker G.: The effects of dietary protein restriction and blood-pressure control on the progression of renal disease. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *N Engl J Med*. **220** : 877-884, 1994.
- 3) Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D.: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine : A new prediction equation. *Ann Intern Med*. **130** : 461-470, 1999.
- 4) Risch L, Sagmeister M, Huber A.: Chronic renal disease and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. **13** : 199-200, 2005.
- 5) Zuo L, Ma YC, Zhou YH, Wang M, Xu GB, Wang HY.: Application of GFR-estimating equations in Chinese patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis*. **45** : 463-472, 2005.
- 6) Simonson O, Grubb A, Thysell H.: The blood serum concentration of cystatin C (γ -trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Invest*. **45** : 97-101, 1985.
- 7) Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsback M, Lundwall A, Jensson O, Grubb A.: Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J*. **1** : 287-294, 1990.
- 8) Kazama JJ, Kutsuwada K, Ataka K, Maruyama H, Gejyo F.: Serum cystatin C reliably detects renal dysfunction in patients with various renal diseases. *Nephron*. **91** : 13-20, 2002.
- 9) Laterza OF, Price CP, Scott MG.: Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem*. **48** : 699-707, 2002.
- 10) Meier P, Froidevaux C, Dayer E, Blanc E.: Cystatin C concentration and glomerular filtration rate. *Lancet*. **24** : 634-635, 2001.
- 11) Randers E, Erlandsen EJ.: Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function—a review. *Clin Chem Lab Med*. **37** : 389-395, 1999.
- 12) Mangge H, Liebmann P, Tanil H, Herrmann J, Wagner C, Gallistl S, Schauenstein K, Erwa W.: Cystatin C, an early indicator for incipient renal disease in rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta*. **300** : 195-202, 2000.
- 13) 日本腎臓学会腎機能 (GFR)・尿蛋白測定委員会, 日本腎臓学会腎機能 (GFR)・尿蛋白測定委員会報告書. 日本腎

- 臓学会誌. **43** : 1-19, 2001.
- 14) Kos J, tabuc B, Cimerman N, Brunner N.: Serum cystatin C, a new marker of glomerular filtration rate, is increased during malignant progression [Letter]. *Clin Chem.* **44** : 2556-2557, 1998.
 - 15) Colle A, Tavera C, Prevot D, Leung-Tack J, Thomas Y, Manuel Y, Benveniste J, Leibowitch J.: Cystatin C levels in sera of patients with human immunodeficiency virus infection. A new avidin-biotin ELISA assay for its measurement. *J Immunoassay.* **13** : 47-60, 1992.
 - 16) Fricker M, Wiesli P, Brandle M, Schwegler B, Schmid C.: Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int.* **63** : 1944-1947, 2003.
 - 17) Jayagopal V, Keevil BG, Atkin SL, Jennings PE, Kilpatrick ES.: Paradoxical changes in cystatin C and serum creatinine in patients with hypo- and hyperthyroidism. *Clin Chem.* **49** : 680-681, 2003.
 - 18) Cimerman N, Brguljan PM, Krasovec M, Suskovic S, Kos J.: Serum cystatin C, a potent inhibitor of cysteine proteinases, is elevated in asthmatic patients. *Clin Chim Acta.* **300** : 83-95, 2000.
 - 19) Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB, Siscovick DS, Stehman-Breen C.: Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *N Engl J Med.* **19** : 2049-2060, 2005.