血液透析糖尿病患者における酵素法による グリコアルブミン測定の評価

大橋 照代   中條 恵子   鈴江 信行   水口 隆
水口 潤   勢井 雅子   川島 周   島 健二
川島病院

key words : HPLC, 低蛋白血症, 低アルブミン血症, 糖化アミノ酸, 日内平均血糖値

〈要旨〉

最近, グリコアルブミン (GA) 測定法として酵素法に基づく試薬が開発され, 非透析糖尿病患者においては従来の HPLC 法による測定値と高い相関があり, HPLC 法に代わって使用しうることが示された。

透析糖尿病患者においても, 酵素法試薬が従来法の HPLC 法に変わって使用し得るかを検討した。透析糖尿病患者 165 例においても, 酵素法による測定値は HPLC 法のそれと良好な相関 ($r=0.987$) を示し, 血漿タンパク低値群 (TP ; 6.0 g/dL 未満), アルブミン低値群 (3.5 g/dL 未満), 高度高尿素窒素血症群においても有用であることが示された。

Evaluation of glycated albumin values measured with an enzymatic method in diabetic patients on hemodialysis

Teruyo Oohashi, Keiko Chujo, Nobuyuki Suzue, Takashi Mizuguchi, Jun Minakuchi, Masako Sei, Shu Kawashima, Kenji Shima
Kawashima Hospital

Reagents have recently been developed for the measurement of glycated albumin (GA) based on an enzymatic method. For diabetic patients not on hemodialysis, a high correlation has been demonstrated between the GA values obtained with the enzymatic method and the values obtained with the traditional HPLC method, indicating that the enzymatic method can be substituted for the HPLC method.

We examined whether this enzymatic method could also replace the traditional HPLC method for diabetic patients on hemodialysis. In 165 diabetic patients on hemodialysis, the values obtained by the enzymatic method showed a good correlation with those values generated by the HPLC method ($r=0.987$). The enzymatic method for GA was also shown to be useful in patients with hypoproteinemia (TP < 6.0 g/dL) and patients with hypoalbuminemia (Alb < 3.5 g/dL) as well as patients with severe azotemia.

はじめに

現在, 糖尿病患者の治療において, 過去のある期間の血糖コントロール状態を把握するために HbA_{1c}, グリコアルブミン (GA) 等の糖化タンパクが指標として測定されている¹⁾. HbA_{1c} と GA はその半減期が異なるため, 過去の血糖との関連も異なる²⁾. また, HbA_{1c} は血糖値のみでなく, その他種々の因子, 特に赤血球寿命の影響を受ける。われわれは透析糖尿病患者の HbA_{1c} が非透析糖尿病患者に比べ日内平均血糖値との相関性が低いこと, 一方赤血球寿命の影響を受けない GA は, 日内平均血糖値と有意に相関して変動するため, GA が血液透析糖尿病患者における血糖コントロール

大橋 照代 川島病院 〒770-0011 徳島市北佐古一番町 1-39

Teruyo Oohashi Tel : 088-631-0110 Fax : 088-631-5500

〔受付 : 平成 14 年 11 月 25 日, 受理 : 平成 15 年 4 月 1 日〕

表 対象

性別	F/M : 37/128
年齢 (歳)	34~88 (62.3±10.4)
透析歴 (年)	0~25 (4.5±4.6)
血糖 (mg/dL)	59~597.0 (178.3±78.5)
HbA _{1c} (%)	3.2~10.3 (6.0±1.3)
治療法	インスリン : 65 内服薬 : 21 食事 : 79
Epo 投与	使用 : 155 未使用 : 10
TP (g/dL)	4.1~7.9 (6.4±0.5)
Alb (g/dL)	1.8~4.5 (3.6±0.3)
Htc (%)	19.2~42.8 (31.8±3.6)
BUN (mg/dL)	29.7~110.1 (67.8±15.8)
Cr (mg/dL)	3.5~17.8 (11.0±2.5)

(mean±SD)

ロール指標になり得ることを報告した³⁾。

GA の測定法としては、従来より、HPLC 法が主として用いられているが、HPLC 法は専用の機器と長い測定時間を要するため、汎用機で測定可能な簡便な方法が求められていた。最近開発された酵素法による測定値が非透析糖尿病患者において HPLC 法のそれと良く相関し、日常検査法として有用であることが示された⁴⁾。血液透析患者においては血漿タンパク、アルブミン濃度の低下、種々共存物質等が酵素法による GA 測定値に影響を与える可能性が考えられる。そこで、透析糖尿病患者にも酵素法が使用し得るか否か、同一検体を酵素法と HPLC 法で測定し相関等について検討した。

I. 対象および方法

1. 対 象

当院血液透析患者のうち、糖尿病を有する 165 名を対象とし、酵素法と HPLC 法による GA 測定を行った。対象の臨床的特質は表に示す通りで低アルブミン血症の症例も含まれた (表)。

2. 方 法

酵素法の測定は測定試薬ルシカ® GA (旭化成株式会社) を用い、日立 7170 型自動分析装置で行った。酵素法の測定原理は以下のようなものである。血漿、および血清に protease を作用させ、試料中の GA から糖化アミノ酸を生成させる。生成された糖化アミノ酸に糖化アミノ酸化酵素 (ketoamin oxidase) を作用させ、グルコソン、アミノ酸、過酸化水素を生成させる。発生した過酸化水素を peroxidase の作用により定量的に発色色素 N, N-Bis (4-sulfobutyl)-3-methylanillin, disodium と 4-aminoantipyrine を縮合させ青紫色の色素を生成させる。この色素の吸光度を測定し、GA から生じた糖化アミノ酸を定量する。次に同じ検体につ

図 HPLC 法と酵素法測定値の相関

いて BCG 法によりアルブミン濃度を測定する。得られた GA 濃度とアルブミン濃度より GA 値 (%) を算出し求める。また同時に採血した検体についてボロン酸カラムを用いた HPLC 法を原理とする Hi-AUTO, GAA-2000 (アークレイ株式会社) で GA を測定した。

II. 結 果

1. 酵素法と HPLC 法における GA 測定値の相関

血液透析糖尿病患者 165 名を対象とした際の酵素法 (y) と HPLC 法 (x) による GA 測定値の相関係数は $r=0.987$ 、回帰式 $y=0.980x-0.256$ であった (図)。

2. 低タンパク検体における酵素法と HPLC 法による GA 測定値の相関

低タンパク検体 [TP ; 6.0 g/dL 未満, 4.1~5.9 (5.6±0.4 g/dL), $n=25$] における酵素法 (y) と HPLC 法 (x) による GA 測定値の相関係数は $r=0.970$ 、回帰式 $y=0.926x+0.919$ であった。

3. 低アルブミン検体における酵素法と HPLC 法による GA 測定値の相関

低アルブミン検体 [Alb ; 3.5 g/dL 未満, 1.8~3.4 (3.2±0.3 g/dL), $n=44$] における酵素法 (y) と HPLC 法 (x) による GA 測定値の相関係数は $r=0.985$ 、回帰式 $y=0.929x+0.469$ であった。

4. 高尿素窒素検体および低尿素窒素検体における酵素法と HPLC 法による GA 測定値の比較

高尿素窒素検体 (98.4±5.8 mg/dL, $n=10$) における酵素法 (y) と HPLC 法 (x) による GA 測定値はそれぞれ 22.1±7.6%, 22.1±7.6% と差がなく、また両者の相関係数は $r=0.998$ 回帰式 $y=1.046x-1.375$ であった。一方、低尿素窒素検体 (36.9±3.9 mg/dL, $n=10$) における酵素法 (y) と HPLC 法 (x) による GA 測定値はそれぞれ 22.1±4.6%, 23.3±4.6% で有意差は

なく、また両者の相関係数は $r=0.963$ 回帰式 $y=0.965x-0.401$ であった。

5. 高クレアチニン検体および低クレアチニン検体における酵素法と HPLC 法による GA 測定値の比較

高クレアチニン検体 (15.9 ± 0.9 mg/dL, $n=10$) における酵素法(y)と HPLC 法(x)による GA 測定値はそれぞれ $21.5 \pm 6.9\%$, $21.9 \pm 6.7\%$ で差はなく、また両者の相関係数は $r=0.998$ 回帰式 $y=1.035x-1.236$ であった。一方、低クレアチニン検体 (5.7 ± 1.3 mg/dL, $n=10$) における酵素法(y)と HPLC 法(x)による GA 測定値はそれぞれ $20.5 \pm 4.7\%$, $20.7 \pm 4.6\%$ で差がなく、また両者の相関係数は $r=0.931$ 回帰式 $y=0.912x+1.08$ であった。

III. 考 察

腎不全では、アシドーシスや尿毒症によるタンパク合成抑制、および低栄養状態などにより、一般に低タンパク血症、低アルブミン血症の状態にある⁵⁾。

腎不全に伴うこれら低タンパク血症、低アルブミン血症、およびその他血中の共存物質が酵素法による GA 測定系に影響を及ぼすことが懸念された。しかし今回の検討で、血液透析糖尿病患者における酵素法による GA 測定値は TP ; 6.0 g/dL 未満、および Alb ; 3.5 g/dL 未満を対象にした場合、両測定値間で有意差はなく、低タンパク血症が酵素法測定に特に影響を及ぼしていないことは明らかである。また、腎不全時の共存物質の本測定系への影響を検討するため、血清尿素窒素、クレアチニン高値、および低値それぞれ 6% の患者群を選び両測定法による測定値を比較したが、いずれも両測定値間に有意差を認めなかった。この事実、本測定系に尿毒症共存物質が干渉していないことを示唆するものである。ただいずれの場合も回帰式は $y=x$ とならず若干の誤差を生じた。しかし、この誤差はいずれも、測定精度のバラツキ ($0.6 \sim 0.9\%$ ⁴⁾) の範囲内であり、このわずかな差は測定法間の差とはいえず、測定誤差によるものと思われる。

われわれの検討では、血液透析糖尿病患者の GA 値は日内平均血糖値と有意に相関して変動したが、その相関係数は非血液透析糖尿病患者の GA 値と日内平均血糖値の相関ほどは良好ではなかった³⁾。これは血液透析糖尿病患者において血糖コントロール以外の因子の GA 値への関与の可能性を示している。このように GA 値そのものへの血糖コントロール状態以外の因子の関与があるものの、酵素法による GA 測定は汎用性があり簡便なため、今後血液透析糖尿病患者における血糖コントロール指標としての有用性に関する評価が行われることが期待される。

結 論

ルシカ® GA 試薬を用いた酵素法による GA 測定結果は従来の HPLC 法による GA 測定結果と良い相関を示した。また、本法による GA 測定値は腎不全患者に多くみられる低タンパク血症、低アルブミン血症および高尿素窒素血症、高クレアチニン血症においても従来法である HPLC 法による測定値と良く相関し、血液透析患者検体でも使用可能であることが明らかとなった。

文 献

- 1) 島 健二：血糖値に代わる検査，グリコヘモグロビン (GHb)。血糖値をみる・考える (島 健二編)，p 51-61，南光堂，東京，2000
- 2) 田原保宏：血糖値に代わる検査，グリコアルブミン (GA)。血糖値をみる・考える (島 健二編)，p 62-69，南光堂，東京，2000
- 3) 中條恵子，一宮千代，大橋照代，鈴江信行，水口 潤，勢井雅子，川島 周，島 健二，田原保宏，中村尚人：糖尿病維持血液透析患者における血糖コントロール指標の検討。透析会誌 35：1105-1110，2002
- 4) 藤田知代，米倉さおり，濱井洋子，永峰康孝，土井俊夫，島 健二：新しい酵素法によるグリコアルブミン測定試薬。医学と薬学 47：141-147，2002
- 5) 下条文武：透析患者の検査と管理。透析患者の検査と管理 (下条文武編)，p 38-39，中外医学社，東京，1999