

29 採血管の変更が intact-PTH の測定に与える影響の検討

須坂 腎・透析クリニック

小林祐介 渡辺伸行 佐藤晃 比田井誠 小林裕幸 原田一陽 小山貴之

【はじめに】

透析治療において血液検査は透析条件の設定や薬剤の調整を行う上で必要不可欠であり、中でも副甲状腺ホルモン(以下、PTH)はCKD-MBDをコントロールする上で重要なファクターの一つである。当院では intact-PTH (以下、i-PTH)として2ヶ月毎に評価している。

今回、検査外注先の意向で採血管をA社からB社へ変更したところ i-PTH の測定値が全体的に低下していた。

そこでA社とB社の採血管で血清における i-PTH がどの程度乖離しているかを検証すると共に、血漿でも測定を行い比較した。

【検証方法】

採血は穿刺後、A側穿刺針から直接行った。

血清はA社生化学採血管(以下、血清A)とB社生化学採血管(以下、血清B)を使用し血漿はB社のEDTA-2Na(以下、血漿)を用いた。

血清A、血清B、血漿、それぞれで i-PTH を測定し相関性を確認後、乖離を検証した。

【統計手法】

統計ソフトはフリー統計ソフト EZR(自治医科大学附属埼玉医療センター)を使用、ヒストグラムは非正規分布を示した為、中央値を採用し乖離を算出した。統計解析はMann-Whitney U検定、フリードマン検定を行った。相関係数RはPearsonの相関係数にて算出した。各データ $p < 0.05$ で有意差ありと判定した。

【血液検査結果の推移】

20XX年1月~7月にかけて i-PTH の中央値は130~165pg/ml で推移していたが採血管変更後の9月では62.5pg/ml と有意な低下($p < 0.001$)がみられた。(図1)

約2年間における i-PTH、リン、補正カルシウムの平均値を調べた所、リン・補正カルシウム共に大きな変動無く推移しており i-PTH については多少の変動はあるものの今回の様に大きく変化することは無かった。(図2)

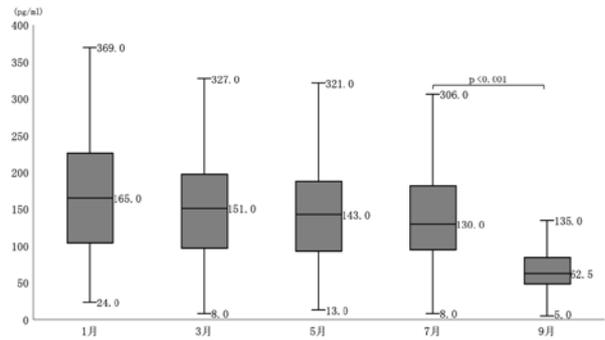


図1 20XX年 i-PTH の推移

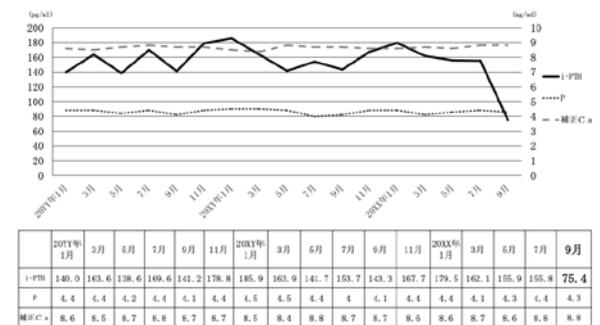


図2 i-PTH P 補正Ca の推移

問合せ先：小林祐介 〒382-0099

須坂市墨坂 4-6-1 須坂 腎・透析クリニック (TEL 026-214-3020)

【結果】

血清 A、血清 B、血漿のデータが同じ検体であることを確認した。

血清 A と血清 B の相関(R)は 0.98(図 3)。血清 A と血漿の相関(R)は 0.99(図 4)。血清 B と血漿の相関(R)は 0.98(図 5)であり、いずれも $p < 0.001$ と正の相関を示した。

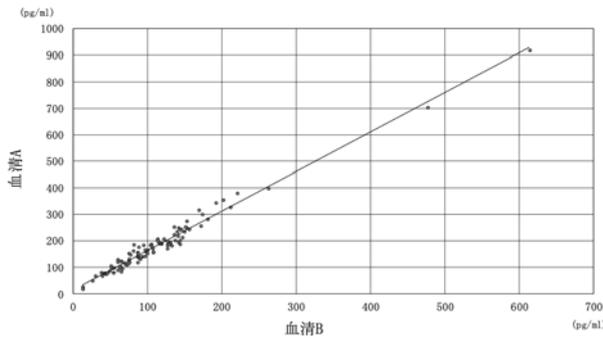


図 3 血清 A 血清 B の相関

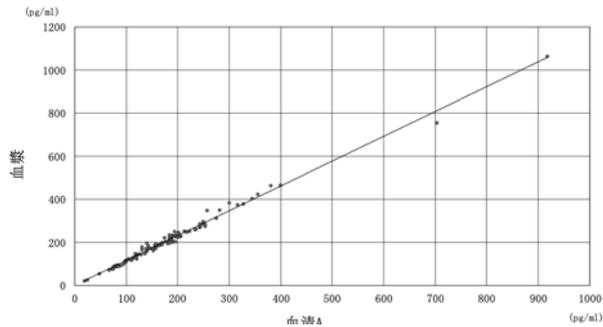


図 4 血清 A 血漿の相関

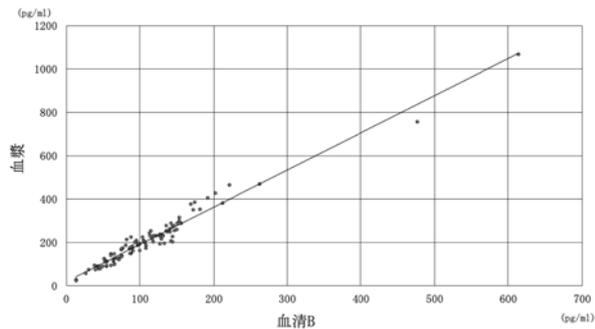


図 5 血清 B 血漿の相関

次に 3 群間で比較し乖離を検証した。血清 A と血清 B では 39.8%の乖離を認めた。血清 A と血漿の乖離が 15.0%と一番小さく血清 B と血漿の乖離

が 48.8%と一番大きい結果となった。いずれも $P < 0.001$ と有意差を認めた。(図 6)

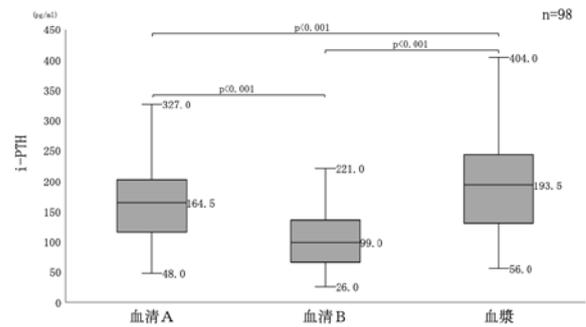


図 6 血清 A 血清 B 血漿の比較

【採血管について】

一般的に生化学検査では血液を凝固させてから測定を行うが、透析患者においては抗凝固剤の影響で血液が固まりにくい状態にある。

そこで透析患者における採血管には凝固促進剤としてトロンビンが添加された高速凝固採血管が使用される。

今回の事例を受けて採血管を調べたところ、血清 A にはトロンビンとヘパリン中和剤が、血清 B にはトロンビンとトロンビン様酵素が添加されており、メーカーにより凝固促進剤が異なることが判明した。

i-PTH 測定時の試薬の添付文章には「検体には血清または血漿を用い採血後は速やかに測定する。検体を保存する際は 2~8°C で保存する。トロンビンにより PTH の測定値に影響を与える可能性がある。」と記載されている。¹⁾⁻⁵⁾

【考察】

i-PTH は不安定でありフラグメント化しやすいことが明らかにされている。

この不安定性は時間と温度に依存し i-PTH の半減期は約 4 分である。⁶⁾ この為、採血後は可能な限り速やかに遠心分離し測定が必要になる。

透析患者に使用される血清の採血管にはトロンビンが添加されているが、このトロンビンは凝固を促進させる反面、蛋白分解酵素としての働きも

持つ。これによりPTHは分解されると考えられた。また、文献などからはトロンビン添加の採血管ではトロンビンの蛋白分解活性の影響でPTHの低下を指摘する報告がみられた。^{7)~9)}

以上のことから血清Aと血清Bのi-PTHはトロンビンの影響で低下したと考えられた。

血漿の採血管には抗凝固剤としてEDTAが使用されており、EDTAは血液凝固に必要なCaイオンとキレート結合し除去することで凝固を抑制する。この働きが蛋白分解酵素を不活性化させる事でi-PTHは安定、血漿の数値はほぼ下がらなかったと考えられた。

当院の血液検査は外部業者に委託しているため測定までに時間を要する。また、採血後の検体は業者が回収にくるまで院内で数時間、室温で保存されている。

今回の原因はメーカーによる凝固促進剤の違いに加えて検体の保存状態や保存時間が大きく影響したと考えられた。

【血清Aへパリン中和剤について考察】

血清Aに使用されているヘパリン中和剤の薬剤名は不明だが、代表的なものにプロタミン硫酸がある。

プロタミン硫酸はヘパリン非添加の状態では抗凝固剤の作用が現れる。¹⁰⁾また硫酸プロタミン自体によるトロンビン生成阻害作用が確認されたとする報告がある。¹¹⁾

当院の透析前採血は穿刺後、穿刺針から直接採血を行っている事から採血管への抗凝固剤の混入は無いと考えて良い。

この事から採血管内はヘパリン非添加の状態になる。今回使用した採血管内のヘパリン中和剤がプロタミン硫酸と同等のものと仮定した場合、これによりトロンビンの生成が抑制、i-PTHの低下に歯止めがかかり血清Aは血漿に近い結果になったと示唆された。

【結語】

今回の検証で当院では血漿による測定結果を採用している。検査機材等を変更した際はその後で結果を比較する事が望ましく、検査を外部委託している際は検体の取り扱いに注意が必要である。採血から測定までの経過によっては経時変化の少ない血漿検体を採用することが望ましいと考えられた。

著者の利益相反(conflict of interest:COI)開示:
本論文に関連して特に報告なし。

【引用・参考文献】

- 1) インタクト副甲状腺ホルモンキット シーメンス・ムライズ インタクトPTHIII
- 2) インタクト副甲状腺ホルモンキット E テスト「TOSOH」II (インタクトPTH)
- 3) インタクト副甲状腺ホルモンキット AIA-パック CL インタクトPTH
- 4) インタクト副甲状腺ホルモンキット ルミパルス wholePTH
- 5) インタクト副甲状腺ホルモンキット アキュラシード インタクトPTHアテリカ用
- 6) インタクト副甲状腺ホルモンキット ケミルミ インタクトPTH
- 7) 三宅雅之 他 高速凝固採血管による副甲状腺ホルモン測定値の減少
- 8) 中川央充 トロンビンによる検査干渉に関する検討
- 9) 清水靖 他 I-PTH 測定検体の取扱について 第31回兵庫県透析従事者研究会 五仁会 元町HDクリニック
- 10) 麻酔薬及び麻酔関連薬使用ガイドライン第3版. 日本麻酔科学会 666, 第3版第3訂 2012. 10. 31

- 11) 山下敦 他 ヘパリナーゼを用いたヘパリン混入血液のトロンビン生成試験法による凝固能評価の基礎的検討 日本血栓止血学会誌 19(6) :800, 2008