

〈原著〉

実践に即した実習方法と血液生化学検査の測定

安部 彰

Evaluation of student laboratory practice and clinical diagnostic biochemistry exam performance

Akira Abe

Summary Background: Actual laboratory practice was investigated for students receiving in-hospital laboratory instruction using data of 94 student subjects and 14 diagnostic biochemistry exam criteria.

Methods: Diagnostic biochemistry exam measurements were performed during clinical biochemistry teaching sessions involving blood collection, clinical examination, 95% range calculation, and diagnostic value evaluation exercise. A characteristic of the teaching session was the use of diagnostic tests for metabolic syndrome. In the first session, the student prepared six samples from serum obtained from his or her own collected blood, and stored the samples at -80°C until the measurements were performed. On the day of the sixth session, the student thawed and measured the serum samples together with a control serum collected that day.

Results: One male student exhibited metabolic syndrome with abnormal waist size, blood pressure, and LDL cholesterol level. One female student had an LDL cholesterol level of 112 mg/dl, with suspected low level of cholesterylester transfer protein (CETP). Her triglyceride level appeared high at 10 mg/dl due to collecting the sample after fasting for 6 hours.

Conclusions: The collected data were compared with previous reports and no discrepancies were found. Although the students measured their own blood samples, the measurement reliability was confirmed. These practice sessions were highly rated by the students.

Key words: Metabolic syndrome, CETP, Practice of diagnostic biochemical tests

岐阜医療科学大学 保健科学部 衛生技術学科
〒501-3892 岐阜県関市市平賀長峰795-1

受領日 平成21年9月4日

受理日 平成21年9月7日

Gifu University of Medical Science, School of Health Sciences, Department of Medical Technology,

795-1 Ichihiraga Nagamine, Seki, Gifu 501-3892, Japan

I. はじめに

臨床検査技師養成の教育において、専門的な教育は十分になされていると考える。しかしながら、学生が出向く臨地実習の場において知識の不確実さなどを指摘されることがある。このことは、すでに習った専門知識が実践の場において瞬時に応用できないことがその要因と考える。この対策としてより実践に即応した実習を心がけなければならない。

本学において生物化学検査学実習は2学年に分けて行う。2年次に基本的な内容において測定原理、精密・正確性、基準値などを理解することを中心に行う。3年次により実践的な内容を加えた実習に努める。すなわち、学生個人の血液材料を用いて、臨床検査を行い2年次に習得した専門知識を活かしながら実習を進める。その結果、いくつか貴重な知見を得たので報告する。

II. 方法と材料

実習期間は2009年4月から6月までの7週間である。実習の主たる目的は個人の健康状態の調査および臨床検査である。臨床検査データから基準値を求める。そして実践に即した内容で教

育する。

実習に先立ち基準個体調査をした。調査票の内容は年齢、性別、体重、身長、運動、食事摂取経過時間、健康・病気の個人判断のアンケート形式である。3年次を対象にしており年齢は20.3±0.8歳の94名である。実習第1週目は昼食抜きの午後13:30から5mlを採血した。学生が互いに採血したが一部に教員が行った。食事摂取からの経過時間は5.7±2.8時間である。採血後、速やかに遠心分離して、血清をマイクロチューブ6本に分注して測定まで-80℃に保存した。実習2週目以降は、保存してあった凍結血清を溶解し、和光純薬工業製の管理血清を用い精度管理を十分に配慮して学生が自分の血清を測定した。

検査する項目は6回の実習期間中、尿素窒素、グルコース、総ビリルビン、AST、ALT、総コレステロール、トリグリセリド、LDLコレステロール、HDLコレステロール、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、蛋白分画、尿中の尿素窒素および尿素クリアランスである。測定方法について述べるが、尿素窒素はウレアーゼ・インドフェノール法であり試薬は自家調整した。グルコース (GOD法)、総ビリルビン (バナジン酸法)、総コレステロール、トリグリセリド、HDLコレステロール (リントングステ

Table 1 Baseline characteristics of the students in 2009

| | Total | | | Male | | | Female | | |
|--------------------------|-------|-------|------|------|-------|------|--------|-------|------|
| | n | Mean | SD | n | Mean | SD | n | Mean | SD |
| Age (years) | 94 | 20.3 | 0.8 | 40 | 20.3 | 1.0 | 54 | 20.2 | 0.6 |
| Fasting (hours) | 94 | 5.7 | 2.8 | 40 | 6.0 | 3.3 | 54 | 157.1 | 5.5 |
| Height (cm) | 94 | 161.9 | 7.6 | 40 | 168.3 | 5.0 | 54 | 157.1 | 5.5 |
| Weight (kg) | 94 | 55.2 | 9.8 | 40 | 59.7 | 7.2 | 54 | 51.9 | 10.3 |
| BMI (kg/m ²) | 94 | 21.1 | 3.7 | 40 | 21.1 | 2.5 | 54 | 21.1 | 4.4 |
| Waist (cm) | 94 | 69.4 | 7.3 | 40 | 73.4 | 6.9 | 54 | 66.4 | 6.0 |
| Maximal BP (mmHg) | 94 | 119.5 | 12.7 | 40 | 124.0 | 13.7 | 54 | 116.1 | 10.8 |
| Minimal BP (mmHg) | 94 | 73.2 | 9.8 | 40 | 73.8 | 12.0 | 54 | 72.8 | 7.9 |

Not significant difference among male and female

Baseline characteristics of the students in 1994-2004

| | Total | | | Male | | | Female | | |
|--------------------------|-------|-------|------|------|-------|------|--------|-------|---------------|
| | n | Mean | SD | n | Mean | SD | n | Mean | SD |
| Age (years) | 1105 | 20.1 | 1.1 | 167 | 20.3 | 1.6 | 938 | 20.0 | 1.0 |
| Height (cm) | 1104 | 159.9 | 7.7 | 167 | 170.6 | 6.6 | 937 | 158.0 | 6.1 p<0.0001 |
| Weight (kg) | 1100 | 52.5 | 7.6 | 167 | 60.4 | 9.2 | 933 | 51.0 | 6.3 p<0.0001 |
| BMI (kg/m ²) | 1099 | 20.5 | 2.2 | 167 | 20.7 | 2.7 | 932 | 20.4 | 2.1 |
| Maximal BP (mmHg) | 999 | 102.9 | 16 | 144 | 112.8 | 16.0 | 855 | 101.3 | 15.4 p<0.0001 |
| Minimal BP (mmHg) | 999 | 71.1 | 16.4 | 144 | 77.8 | 18.0 | 855 | 70.0 | 15.9 p<0.0001 |

ン酸沈殿法)は和光純薬工業社製の臨床検査試薬を用いて用手法にて測定した。AST、ALT (JSCC準拠法)はニプロ社製試薬を用いて日立社製臨床用分光光度計でレートアッセイした。Na、K、Clはアットウイル社製電解質測定装置、蛋白分画は常光社製自動電気泳動装置 (Separax-SP膜)を用いた。

LDLコレステロール、尿素クリアランスは計算法である。尿素クリアランス試験は実習用モデルとして方法をアレンジした。すなわち、随時尿を用い、体表面積は標準の1.73m²、1日尿量1,440 ml、すなわち、1 ml/minと仮定してクリアランスを計算した。

95%範囲を計算して基準値を理解する実習をした。このために基準個体調査票の内容を検討したが削除する個体はなかった。計算に際して3SD棄却を行うことによりテクニクエラーが削除されたと考える。総ビリルビン、AST、ALT、トリグリセリドは対数変換して基準値を計算した。

基準個体調査と臨床検査成績を学術雑誌に報告するにあたって学生から同意書を得た。またこの研究を実施するに本学倫理委員会の承認を得た。

Ⅲ. 結果

1. 身体基本データ

学生の身体基本データをTable 1に示す。1994年から2004年にも本学の学生について調査したのでTableに加えてある^{1,2)}。2つの調査は対象数および男女の比率は大きく異なるが年齢は同じ

である。前回の調査は11年間の累積した平均データである。血圧は前回に比べて最高血圧が低値であった。前回は聴診法であり、今回は自動血圧計を使用したので測定法により差が生じたと考える。身長、体重、腹囲、血圧はいずれの項目も男性が高値であったが、有意な差を認めなかった。

2. 健康に関するアンケート

基準個体に関して次の内容のアンケート調査をした。1. 健在健康と意思ですか (yes, no)。2. 定期的に運動をしていますか (yes, no)。yesなら週または月の回数と、1回の運動時間を書いて下さい。3. 現在医者にかかっていますか (yes, no)。yesならどのような病気でかかっていますか。また飲んでいる薬を書いて下さい。

Table 2にその集計結果を示す。

現在、健康であると意識する数は男女とも90%以上である。前回の調査で男性は86%しか健康と意識しなかったが、健康である意識は高くなった。定期的に運動する数は、女性11%であり前回の調査と変わらなかった。一方、男性は女性の約4倍多く、かつ、前回の31%から40%に上昇した。先の健康意識度に関連して運動することは健康であると意識することにつながるかと考える。運動の回数は週1~2回が多く、1回あたりの時間は2時間程度であった。学生は勉学に忙しく週末にしか運動する余裕は無いようである。

医者にかかっている数は男女とも13%程度であった。その病名は花粉症5人、アトピー症3人、過敏性腸症候群、発作性上室性頻拍症、多

Table 2 Results of the survey for health consciousness

| | Total (n=94) | | Male (n=40) | | Female (n=54) | |
|------------------------|----------------|-----------|----------------|-----------|----------------|-----------|
| | No. of yes (%) | No. of no | No. of yes (%) | No. of no | No. of yes (%) | No. of no |
| Good condition | 86 (91.5) | 8 | 37 (92.5) | 3 | 49 (90.7) | 5 |
| Keep for exercise | 22 (23.4) | 72 | 16 (40.0) | 24 | 6 (11.1) | 48 |
| Sickness | 12 (12.8) | 82 | 5 (12.5) | 35 | 7 (13.0) | 47 |
| Times for the exercise | 1/ month | 1 | | | | |
| | 1/ week | 7 | | | | |
| | 2/ week | 7 | | | | |
| | 3-5/ week | 4 | | | | |
| | No answer | 3 | | | | |
| Hours for one exercise | 1 hour | 5 | | | | |
| | 2 hours | 9 | | | | |
| | >3 hours | 5 | | | | |

生物試料分析

Table 3 Results of clinical biochemistry test for the students

| | Total | | | Male | | | Female | | |
|--------------------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|--------|-------|--------------|
| | n | Mean | SD | n | Mean | SD | n | Mean | SD |
| Na, mmol/l | 93 | 139.4 | 1.55 | 40 | 139.8 | 1.3 | 53 | 139.1 | 1.66 |
| K, mmol/l | 93 | 4.10 | 0.30 | 40 | 4.03 | 0.27 | 53 | 4.15 | 0.31 p<0.001 |
| Cl, mmol/l | 93 | 102.9 | 1.53 | 40 | 102.4 | 1.31 | 53 | 103.3 | 1.56 p<0.001 |
| Albumin, % | 94 | 65.4 | 3.03 | 40 | 65.0 | 3.12 | 54 | 65.6 | 2.97 |
| α 1globulin, % | 94 | 2.26 | 0.23 | 40 | 2.23 | 0.22 | 54 | 2.28 | 0.24 p<0.05 |
| α 2globulin, % | 94 | 7.53 | 0.98 | 40 | 7.17 | 0.92 | 54 | 7.80 | 0.94 p<0.001 |
| β globulin, % | 94 | 9.11 | 0.96 | 40 | 8.79 | 0.76 | 54 | 9.34 | 1.04 p<0.001 |
| γ globulin, % | 94 | 15.74 | 2.52 | 40 | 15.02 | 2.79 | 54 | 16.27 | 2.17 p<0.001 |
| T. Bilirubin, mg/dl | 90 | 0.4 | 2.10 | 39 | 0.5 | 1.85 | 51 | 0.3 | 2.20 |
| AST, U/L | 94 | 23.2 | 6.2 | 40 | 24.2 | 6.4 | 53 | 22.8 | 5.6 p<0.001 |
| ALT, U/L | 94 | 19.4 | 9.9 | 40 | 23.3 | 11.1 | 53 | 16.8 | 6.3 |
| UreaN (serum), mg/dl | 92 | 8.3 | 2.33 | 39 | 8.5 | 2.45 | 53 | 8.2 | 2.25 |
| UreaN (urine), mg/dl | 92 | 533.7 | 233.7 | 39 | 557.1 | 209.2 | 53 | 516 | 250.7 |
| Urea clearance, ml/min | 92 | 67.67 | 31.3 | 39 | 71.0 | 34.1 | 53 | 65.2 | 29.1 |
| Glucose, mg/dl | 93 | 84.5 | 9.0 | 40 | 85.2 | 8.5 | 53 | 83.9 | 9.4 |
| Total Cholesterol, mg/dl | 94 | 174.7 | 28.6 | 40 | 165.7 | 27.3 | 54 | 181.4 | 27.9 p<0.001 |
| Triglyceride, mg/dl | 94 | 78.9 | 36.4 | 40 | 84.1 | 45.6 | 54 | 73.3 | 24.5 |
| LDL cholesterol, mg/dl | 94 | 97.2 | 29.1 | 40 | 91.1 | 30.1 | 54 | 100.7 | 26.8 p<0.01 |
| HDL cholesterol, mg/dl | 93 | 59.4 | 12.7 | 40 | 55.4 | 12.5 | 53 | 62.5 | 12.2 p<0.001 |

のうほう性卵巣、適応障害がそれぞれ1人であった。アレルギーに関連する疾患は前回調査と同じく高頻度であり、若い人の悩みでもある。

3. 血液生化学検査

成績を総合してTable 3に示す。

a) 電解質、血清蛋白分画

Kの成人基準範囲は3.4~4.5 mmol/lであるが、上限値を超える例が9例あった。その最高値は4.9 mmol/lである。採血に十分に慣れてないので時間がかかり、溶血や駆血帯の長い締め付け時間が影響したと思われる。

蛋白分画は特に気になる異常値を認めなかった。臨床評価は蛋白濃度で判断すべきであるが総蛋白濃度を測定してなかった。

b) 肝機能検査、腎機能検査

成人基準値を超える例は、ASTで2例（最高46 U/l）、ALTで3例（最高54 U/l）あった。その上昇は軽微であるが、学生にそのことを意識させた。

バナジン酸酸化によるスペクトル変化からビリルビンの分子吸光係数を計算した。ビリルビン標品として管理血清（3.8 mg/dl）を用いたが、ビリルビン450 nmにおける分子吸光係数は $5,200 \pm 450$ (l/mol · cm)を得た。クロロホルム溶媒標品の453 nmの係数より約10%低値となっ

Table 4 95% ranges of clinical chemistry tests for the students

| | Total | Male | Female |
|--------------------------|------------|------------|-------------|
| Na, mmol/l | 136-143 | | |
| K, mmol/l | 3.5-4.7 | 3.5-4.6 | 3.5-4.8 |
| Cl, mmol/l | 99.9-106.0 | 99.7-105.0 | 100.2-106.5 |
| Albumin, % | 59.3-71.4 | | |
| α 1globulin, % | 1.8-2.7 | 1.8-2.7 | 1.8-2.8 |
| α 2globulin, % | 5.6-9.5 | 5.3-9.0 | 5.9-9.7 |
| β globulin, % | 7.2-11.0 | 7.3-10.3 | 7.3-11.4 |
| γ globulin, % | 10.7-20.8 | 9.4-20.6 | 11.9-20.6 |
| T. Bilirubin, mg/dl | 0.1-1.8 | | |
| AST, U/L | 13-40 | 14-35 | 13-40 |
| ALT, U/L | 7-44 | | |
| UreaN(serum), mg/dl | 3.7-13.0 | | |
| UreaN(urine), mg/dl | 85-965 | | |
| Urea clearance, ml/min | 14-118 | | |
| Glucose, mg/dl | 66-103 | | |
| Total Cholesterol, mg/dl | 118-232 | 109-221 | 129-233 |
| Triglyceride, mg/dl | 20.3-256.1 | | |
| LDLcholesterol, mg/dl | 30-156 | 31-151 | 47-154 |
| HDLcholesterol, mg/dl | 32-88 | 31-81 | 35-91 |

T. Bilirubin, AST, ALT and Triglyceride are calculated by logarithm

た³⁾。健常者のビリルビン値は小さいので測定操作は難しく測定エラーによる除外された値は3例あった。総ビリルビン平均値は0.4 mg/dlであったが、基準値は0.1~1.8 mg/dlとなり上限値が高値となった。

c) グルコース、脂質

トリグリセリドは前回の測定値に比して約10

mg/dl高値であったが、その他の項目は前回値に近似した。今回の採血は食事摂取後の空腹時間が6時間と短かった。トリグリセリドの標準偏差が極めて大きいことから判断して、食事が大きく影響したと推測される。総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロールは女性が優位に高値を示した。LDLコレステロールは計算法であるので変数トリグリセリド値の男女の差が影響していると考ええる。

d) 20歳台の基準値として95%範囲の計算

例数が少ないので十分と云えないが、3SD棄却の後パラメトリック法による95%範囲を参考基準値としてTable 4に示す。トリグリセリドは食事の影響が考えられるので信頼性に乏しい。性差の認められた項目はK、Cl、 α 1-、 α 2-、 β -、 γ -グロブリン、AST、総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロールであり女性が高値であった。総コレステロールは前回、女性が高値の傾向にあった。LDLコレステロールは計算法であるのでトリグリセリドの食事による影響により有意な差となったと思う。これらの成績は前回の報告と同様であった²⁾。

Ⅳ. 考察

臨床検査室あるいは検診センターにおける実践の場を想定して実習する計画をした。実習の流れとして、個人問診(基準個体調査)、採血、臨床検査、基準値の計算、病態推測について15

項目の生化学検査を実習した。対象にした検査項目は基本操作を学ぶこと、自己の身体の状態を把握できること、実習に興味関心を持てる項目を考慮して選択した。また、話題になっているメタボリックシンドローム⁸⁾の検診項目を取り入れたが学生にとって関心のある内容であった。

身体基本データについて全国レベル⁹⁾と比較すると女子は同程度であるが、本学男子の体格は少し小柄である。高血圧治療ガイドラインによる至適血圧の頻度は男性で50.0%、女性で51.9%である。正常血圧の頻度は男性で65.0%、女性で46.3%である。正常血圧の頻度の方が多く、血圧は男女ともやや高い傾向にあった。

健康に関するアンケートにおいて運動習慣を全国レベルと比較した。男子の習慣ありは25%、女子は17%であるので、本学男子は習慣ありが多かったが女子は少なかった。運動を行う日および運動時間はほぼ同程度であった。

電解質と蛋白分画の検査は身体の恒常的な値を覚えることを目的として教員が測定してその結果を学生に渡すのみにした。

肝機能検査項目としてAST、ALT、総ビリルビンを選択した。AST、ALTは酵素活性の測定原理を学ぶこと、および自己の肝機能の状態を知る目的である。総ビリルビンは一般の健常者に異常値は出現しないので自己の肝機能を知ることよりも、バナジン酸によるビリルビン酸化法の原理を学ぶ目的である。

腎機能検査としてクリアランス試験を実習することは極めて困難であるが、慢性腎臓病

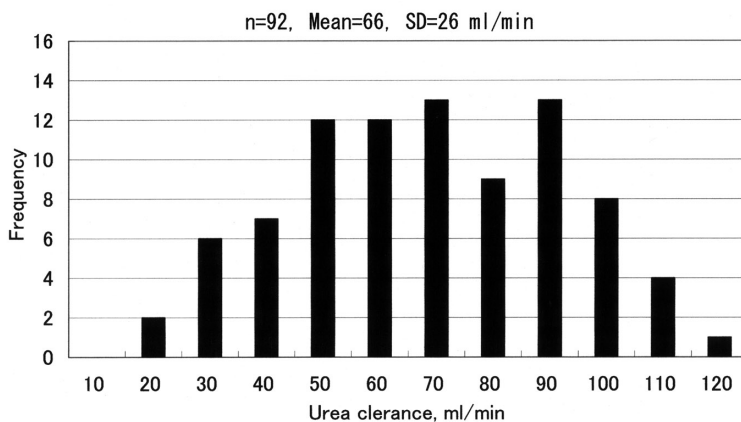


Fig. 1 Histogram of urea clearance

(CKD) が話題になっており腎機能検査としてクリアランス試験の重要性を教えた。クリアランス試験は本来ならば酵素法によるクレアチニンクリアランスが適切と思うが、健常者の値は低いので学生実習には向かないと考えた。それで操作が簡易であるBerthelot反応を応用した。尿素クリアランスは臨床の場の応用は少ないがそのヒストグラムをFig. 1 に示す。基準値は50 ml/minとされるので⁵⁾、制限的な条件にもかかわらず論理的な値が得られた。クリアランスの実習モデルとしては良かったと考える。

近年、生活習慣に関係するメタボリック症候群が話題になっている⁶⁾。厚生労働省は2008年4月から、40～74歳の医療保険者に対してメタボリック健診を義務化した。学生の年代は対象外であるが、この制度の内容の理解と将来の自己健康管理を意識させるため糖質、脂質代謝関係の検査をした。

日本動脈硬化学会は動脈硬化性疾患予防ガイドラインにおいて脂質異常症の診断基準を示した⁷⁾。2007年版では高LDLコレステロール血症140 mg/dl以上、低HDLコレステロール血症40 mg/dl未満、高トリグリセリド血症150 mg/dl以上と規定している。総コレステロールの判定は外されたが、LDLコレステロールは計算法で求めることを推奨している。脂質異常症に該当する学生は高LDLコレステロール8人（最高158 mg/dl）、低HDLコレステロール2人（最低36 mg/dl）、高トリグリセリド5人（最高238 mg/dl）

であった。ちなみにコレステロール220 mg/dl以上は8人（最高243 mg/dl）であった。脂質異常を疑われる人は男子10人（25.0%）、女子5人（9.3%）であり、同年代の全国レベルで男子12.0%、女子8.8%に比べ男子の異常者が多かった。男子学生1名は腹囲、血圧、LDLコレステロール異常でありメタボリックシンドロームの対象となった。その頻度は2.5%であり、同年代全国レベルの2.6%と近似した。Fig. 2 にLDLコレステロールのヒストグラムを示す。女性1名はHDLコレステロールが112 mg/dlでありコレステロールエステル転送蛋白（CETP）の働きが低いことが推測された⁸⁾。100 mg/dl以上の症例でCETP欠損症が疑われる。ヘテロ型で500人に1人の出現であり日本人に多い。治療の可否は議論の最中である。

過去11年間にわたって同じような目的で実習を実施した。そのとき採血時間帯に苦慮したが、授業時間にかかわらず12時間以上の空腹時間後の採血に努めた。最近の臨床検査は患者に苦痛を与えないことが配慮されている。そこで今回は昼食抜きで午後1時30分の授業で採血した。空腹時間は調査から約6時間でありトリグリセリドは食時の影響が明かであった。前回の測定は教員が自動分析装置を用いて行った。当時学生は自分たちで測定したい意見があった。そこで今回は学生たちが測定するようにした。測定は管理血清を含めて1項目2～3本である。管理血清とのバイアスが10%より大きい場合に再測

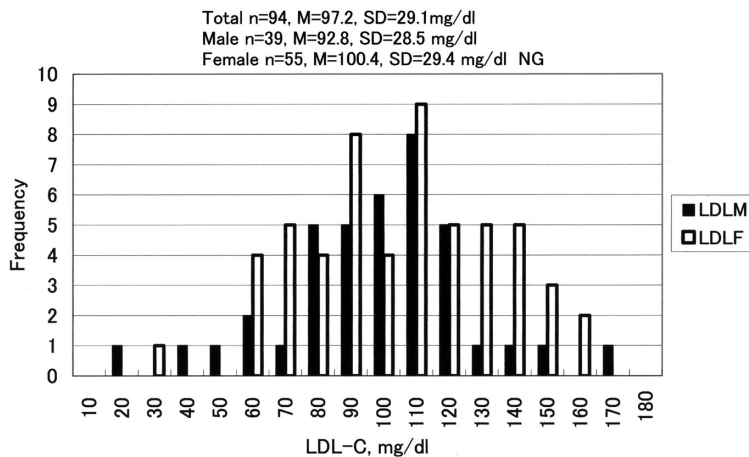


Fig. 2 Histogram of LDL cholesterol

定した。全項目の統計値の標準偏差値を見るとAST、ALTは誤差がやや大きいと推測するが、全体に過去の値に近似した。学生による実習に対する授業評価は好評であった。

V. 結語

臨地実習において役に立つように実践に即応した実習をした。基準個体調査、採血、臨床検査、基準値の計算、病態推測について、15項目の生化学検査について実習した。内容の特徴はメタボリック検診項目の採用である。実習期間は3年次の7回である。実習1回目の採血で血清を6分注して-80℃に保存した。6回に分けて測定した。実習当日に学生は自分の血清を融解して管理血清と同時に測定した。男子学生1名(2.5%)は腹囲、血圧、LDLコレステロール異常でありメタボリック症候群の対象となった。女子学生1名HDLコレステロールが112 mg/dlでありコレステロールエステル転送蛋白(CETP)の働きが低いことが推測された。空腹時間6時間後の採血であったのでトリグリセリドは約10 mg/dl高値の影響があるものと思われる。臨床検

査は自分で測定したが過去の値と比較して測定値に信頼性を認めた。授業の進め方は学生に好評であった。

文献

- 1) 安部 彰: 短大生の生活環境について—11年間のアンケート調査—, 岐阜医療技術短期大学紀要, 20: 51-59, 2005.
- 2) 安部 彰, 渡辺恒夫: 生化学検査の基準値と性差について, 11年間の短大生集計から, 生物試料分析, 29(4): 369-374, 2006.
- 3) 金井正光編集: 血清ビリルビン, 臨床検査法提要, 金原出版, 563-569, 2005.
- 4) 健康・栄養情報研究会: 第3部身体状況の結果, 国民栄養の現状, 平成18年度厚生労働省栄養調査結果, 第一出版, 174-218, 2009.
- 5) 金井泉編著: 尿素クリアランス, 臨床検査法提要, 金原出版, XIV-16-17, 1975.
- 6) 三石正憲, 宮下和季, 伊藤 裕: メタボリックシンドローム, 日本臨床, 67(2): 321-326, 2009.
- 7) 日本動脈硬化学会: 脂質異常症の診断基準, 動脈硬化性疾患予防ガイドライン, 2007年版: 11-13, 2007.
- 8) 斎藤和典: コレステロールエステル転送蛋白(CETP), 臨床検査, 45(9): 987-990, 2001.