

〈企業特集：検査機器・試薬・技術の新たな展開〉

尿試験紙を用いたアルブミン・クレアチニン検査の有用性

鈴木 正隆

Clinical effectiveness of the Urine Test Strip for albumin and creatinine

Masataka Suzuki

Summary Eiken Chemical has newly developed the Urine Test Strip, "URO PAPER™", for albumin and creatinine testing. The URO PAPER™ for albumin and creatinine provides a reliable P/C and A/C ratio because of its high sensitivity and specificity. This test strip has an excellent correlation with urinary albumin and creatinine quantity result by fully automated biochemical analyzers and provides a cost-effective and simple clinical test.

Key words: Urinary protein, Urinary albumin, Urinary creatinine, Test Strip, Diabetic nephropathy

I. はじめに

試験紙法による尿蛋白/クレアチニン比 (P/C 比) 測定は、慢性腎臓病患者の増加と共にその診断ニーズが広がってきている。CKD診療ガイド2012では、これまでCKDの重症度分類がGFRによる評価であったのに対し原疾患 (cause)、GFR、蛋白尿 (糖尿病患者ではアルブミン尿) によるCGA分類で評価するように変更された¹⁾。このように尿中クレアチニンにより尿中蛋白および尿中アルブミン濃度をg/gCrで評価するP/C比、A/C比の測定意義が高まってきている。

栄研化学株式会社では、アルブミンおよびクレアチニンに対し特異性・正確性が高く、尿中アルブミン定量および尿中クレアチニン定量との相関が良好であることをコンセプトして開発を進めてきた。そして、2012年に全自動尿分析装置US-3100Rplus専用試験紙にアルブミン、ク

レアチニン項目を追加したウロペーパー α III' 栄研'-11、7Cを発売した。翌2013年には、目視判定および尿自動分析装置US-2200用のウロペーパー III-12を発売した。これにより蛋白質/クレアチニン (P/C) 比およびアルブミン/クレアチニン (A/C) 比の報告が可能となった。

II. P/C比および A/C比について

P/C比およびA/C比を測定には一般的に下記のような意義があるといわれている。

1) P/C比

- ・ 随時尿の1日尿蛋白排泄量の推定が可能
- ・ 尿の濃縮・希釈の補正が可能
- ・ 尿蛋白検査の偽陽性、偽陰性の低減 (定量値との一致率アップ) →腎疾患の早期発見

2) A/C比

栄研化学株式会社 マーケティング推進室
〒110-8408 東京都台東区台東4-19-9

Marketing Office, Sales Division,
EIKEN CHEMICAL CO., LTD.
4-19-9 Taito, Taito-ku, Tokyo 110-8408, Japan

- ・糖尿病性腎症の早期発見・診療の指標
 - ・CKD（Chronic Kidney Disease: 慢性腎臓病）のステージ分類の指標・治療の指標（CKD診療ガイド2012）→腎疾患の早期発見・進展、循環器合併症の抑制

CKD診療ガイド2012では、CKDの重症度分類は原因疾患（糖尿病か高血圧かなど）、GFR、アルブミン尿または蛋白尿によるCGA分類で評価するようになった¹⁾。

図1のCKD重症度分類によると糖尿病におけるアルブミン尿では30 mg/gCr未満を正常、30～299 mg/gCrを微量アルブミン尿、300 mg/gCr以上を顕性アルブミン尿としている。

高血圧、腎炎などにおける蛋白尿では0.15 g/gCr未満を正常、0.15から0.49 g/gCrを軽度蛋白尿、0.5 g/gCr以上を高度蛋白尿としている。このようにアルブミン尿では30 mg/gCr、および300 mg/gCr、蛋白尿では0.15 g/gCr、0.5 g/gCrがそれぞれ蛋白尿、アルブミン尿の評価を行う上で重要な数字となっている。

Ⅲ. アルブミン、クレアチニン 試験紙の反応原理（表1）

ウロペーパーのアルブミン試験紙の反応原理は、基本的には蛋白質試験紙と同じpH指示薬の

蛋白誤差法に基づいている。pH指示薬は同じテトラブロムフェノールブルー（TBPB）を使用している。しかし、アルブミン試験紙では、濾紙の吸水量をアップさせ、反応条件をややアルカリ性とすることで感度を上昇させた。そのため、低濃度域での呈色差が大きくなり、測定範囲が10 mg/Lから150 mg/Lと蛋白質試験紙と比べ感度が大きく上昇した。

クレアチニン試験紙の反応原理はBenedict-Behre法という化学法を採用している。血清・尿中定量法では酵素法が一般的であるが、酵素法は反応が複雑であり、反応時間も長いことから試験紙法に採用することは困難である。本法は他の化学法と比べて特異性が高く、血尿の影響を受けにくい特徴を持っている。なお、試験紙の感度は酵素法により値付けしている。

Ⅳ. アルブミン、クレアチニンの半定量表示 とP/C比、A/C比の定性値、半定量値

ウロペーパーのアルブミン、クレアチニンの半定量表示とP/C比、A/C比の定性値、半定量値を表2に、マトリックス表を表3に示した。アルブミンもクレアチニンも半定量値表示のみで定性値の表示はない。

「Ⅱ.P/C比およびA/C比について」でも述べたように「CKD診療ガイド2012」での蛋白尿・アル

原疾患	蛋白尿区分	A1	A2	A3
糖尿病	原アルブミン定量 (mg/日) 原アルブミン/Cr比 (mg/gCr)	正常	微量アルブミン尿	顕性アルブミン尿
		30未満	30～299	300以上
高血圧 腎炎 多発性囊胞腎 腎移植 不明 その他	原蛋白定量 (g/日) 原蛋白/Cr比 (g/gCr)	正常	軽度蛋白尿	高度蛋白尿
		0.15未満	0.15～0.49	0.50以上
GFR区分 (mL/分 /1.73m ²)	G1 正常または高値	≥90		
	G2 正常または軽度低下	60～89		
	G3a 軽度～中等度低下	45～59		
	G3b 中等度～高度低下	30～44		
	G4 高度低下	15～29		
	G5 末期腎不全 (ESKD)	<15		

重症度は原疾患・GFR区分・蛋白尿区分を合わせたステージにより評価する。CKDの重症度は死亡、末期腎不全、心血管死亡発症のリスクを白□のステージを基準に、□ ■ ■ の順にステージが上昇するほどリスクは上昇する。

(KDIGO CKD guideline 2012を日本人用に改変)

図1 CKD診療ガイド2012 CKD重症度分類

ブミンの評価に基づき、P/C比では0.15 g/gCr未満を正常 (normal)、0.15~0.50 g/gCrの軽度蛋白尿を1+、0.50 g/gCr以上の高度蛋白尿を2+と表示した。アルブミンでは30 mg/gCr未満を正常 (normal)、30~300 mg/gCrの微量アルブミン尿を1+、300 mg/gCr以上の顕性アルブミン尿を

2+と表示した。

クレアチニンが10 mg/dLで蛋白試験紙が(-) またはアルブミン試験紙が10 mg/Lの場合、尿が希薄すぎて正確にP/C比、A/C比を算出することができないことから「dilute」と表示した。diluteの際は新たに採取した尿で再検を行うことが望

表1 ウロペーパーのアルブミン、クレアチニン付き試験紙の比較

製品名	ウロペーパー-α III '栄研' -11	ウロペーパー-III '栄研' -12
検査項目	蛋白質 アルブミン クレアチニン 潜血、白血球、亜硝酸塩、ブドウ糖、 ケトン体、pH、ビリルビン	蛋白質 アルブミン クレアチニン 潜血、白血球、亜硝酸塩、ブドウ糖、 ケトン体、pH、比重、ビリルビン
蛋白質反応原理	pH指示薬の蛋白誤差法	pH指示薬の蛋白誤差法
アルブミン反応原理	pH指示薬の蛋白誤差法(高感度法)	pH指示薬の蛋白誤差法(高感度法)
クレアチニン反応原理	Benedict-Behre法 (Jaffe変法)	Benedict-Behre法 (Jaffe変法)
目視判定	不可	可
適応装置	US-3100Rplus	US-2200

表2 ウロペーパーのアルブミン、クレアチニン、P/C比、A/C比の判定法

項目	定性値	半定量値	単位	項目	定性	半定量値	単位
ALB		10	mg/L	P/C	dilute		
		30	mg/L		normal		
		80	mg/L		normal		
		150	mg/L		1+	0.15	g/gCr
		over	mg/L		1+	0.30	g/gCr
					2+	≥ 0.50	g/gCr
CRE		10	mg/dL	A/C	dilute		
		50	mg/dL		normal		
		100	mg/dL		1+	30	mg/gCr
		200	mg/dL		1+	80	mg/gCr
		300	mg/dL		1+	150	mg/gCr
					≥1+	≥ 80	mg/gCr
					≥1+	≥ 150	mg/gCr
					2+	≥ 300	mg/gCr

表3 ウロペーパーのP/C比、A/C比判定マトリックス表

P/C比		クレアチニン試験紙						
半定量 (g/g・Cr)			10 mg/dL	50 mg/dL	100 mg/dL	200 mg/dL	300 mg/dL	
蛋白質試験紙	-		dilute					normal
	±	15 mg/dL	≥ 0.50	0.30	0.15			1+
	1+	30 mg/dL	≥ 0.50	≥ 0.50	0.30	0.15		1+
	2+	100 mg/dL	≥ 0.50	≥ 0.50	≥ 0.50	≥ 0.50	0.30	2+
	3+	300 mg/dL	≥ 0.50	≥ 0.50	≥ 0.50	≥ 0.50	≥ 0.50	2+
	4+	1000 mg/dL	≥ 0.50	≥ 0.50	≥ 0.50	≥ 0.50	≥ 0.50	2+

A/C比		クレアチニン試験紙						
半定量 (mg/g・Cr)			10 mg/dL	50 mg/dL	100 mg/dL	200 mg/dL	300 mg/dL	
アルブミン試験紙	10 mg/L		dilute				normal	normal
	30 mg/L		≥ 300	80	30			1+
	80 mg/L		≥ 300	150	80	30		≥ 1+
	150 mg/L		≥ 300	≥ 300	150	80	30	≥ 1+
	over		≥ 300	≥ 300	≥ 300	≥ 150	≥ 80	2+

まれる。

また、A/C比においてアルブミンがover、クレアチニンが200 mg/dL以上の場合は、定性値 $\geq 1+$ 、半定量値 ≥ 80 、 ≥ 150 と幅をもたせた表示とした。

V. アルブミン、クレアチニン試験紙の性能

1. アルブミン試験紙の特異性、妨害物質の影響について検討した結果を図2、表4に示す²⁾。尿中のアルブミン以外の蛋白との反応性を検討したところ β_2 マイクログロブリンでは30 mg/L、 α_1 マイクログロブリンでは50 mg/L、免疫グロブリンでは200 mg/Lまで判定値に影響を及ぼさなかった。妨害物質の影響についてヘモグロビ

ン、pH、比重の検討を全自動尿分析装置US-3100Rplusを用いて行った。ヘモグロビン30 mg/dLでは判定値が上昇し、80 mg/Lを示した。大量のヘモグロビンまたはミオグロビンを含む尿や肉眼血尿検体では偽陽性を示すことがあるので注意が必要である。pHと比重は判定値に影響をおよぼしてはいないが、蛋白質試験紙と同様にpH8以上、高度な緩衝作用、アルカリ性の粘液を含む尿では判定が高値化する場合がある。

2. クレアチニン試験紙の妨害物質の影響について検討した結果を表5に示す²⁾。全自動尿分析装置US-3100Rplusを用いて、ヘモグロビン、アスコルビン酸、アセト酢酸（ケトン体）について検討を行った。ヘモグロビン、アスコルビン酸

表4 アルブミン試験紙 妨害物質の影響検討²⁾ (ウロペーパー α III-11・US-3100Rplus)

項目	濃度	判定値	項目	濃度	判定値	項目	濃度	判定値
ヘモグロビン (mg/dL)	0	10	pH	5	10	比重	1.000	10
	1	10		6	10		1.010	10
	3	10		7	10		1.020	10
	5	10		8	10		1.030	10
	10	30		9	10			
	30	80						

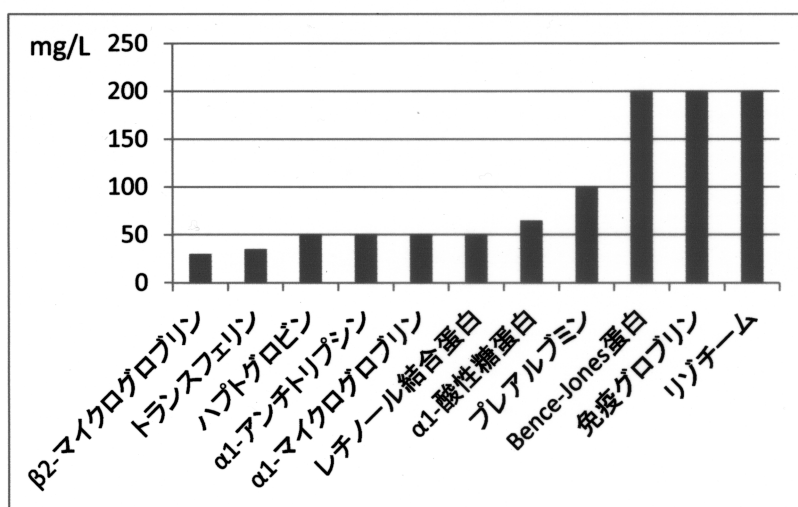


図2 アルブミン試験紙のアルブミン特異性検討²⁾。
アルブミン試験紙は上記の尿中蛋白濃度まで影響を受けなかった。(ウロペーパー α III-11・US-3100Rplus)。

表5 クレアチニン試験紙 妨害物質の影響検討²⁾ (ウロペーパー α III-11・US-3100Rplus)

	濃度	50mg/dL	200mg/dL		濃度	50mg/dL	200mg/dL	
		判定値	判定値			判定値	判定値	
ヘモグロビン (mg/dL)	0	50	200	アスコルビン酸 (mg/dL)	0	50	200	
	1	50	200		50	50	200	
	2	50	200		100	50	200	
	3	50	200		200	50	200	
	10	50	200		アセト酢酸 (mg/dL)	0	50	200
	20	50	200			10	50	200
30	50	200	30	50		200		
				80	10	100		

表6 アルブミン試験紙と定量法との相関³⁾

n = 665

US-3100Rplus	over				2	111
	150		1	5	19	5
	80	1	13	34	5	1
	30	37	65	15		
	10	320	31			
		10	30	80	150	over

定量法 一致率 ; 82.6%
±1ランク一致率 ; 99.5%

表7 クレアチニン試験紙と定量法との相関³⁾

n = 665

US-3100Rplus	300				8	10
	200			28	78	11
	100		25	186	24	
	50	6	204	25		
	10	55	5			
		10	50	100	200	300

定量法 一致率 ; 80.2%
±1ランク一致率 ; 100.0%

の影響は見られなかったが、アセト酢酸80 mg/dL以上では判定値が低下し、偽陰性を示した。したがって、尿中にケトン体が存在すると判定が低値化する可能性があるため注意が必要である。

3. 定量法との相関性³⁾。

アルブミン試験紙と定量法との相関性はランク相関にて一致率は82.6%であった(表6)。クレアチニン試験紙と定量法との相関性はランク相関にて一致率は80.2%であった(表7)。P/C比およびA/C比の演算についての定量法との一致率は、P/C比が定性演算で84.8%、A/C比は

75.9%であった(表8、9)。定量値との良好な相関性が認められ、P/C比、A/C比演算においても正確性が担保されていた。

VI. 尿蛋白判定フローチャート

蛋白尿を評価するに際し、P/C比、A/C比の導入により3つのデータが得られるようになった。野崎らは試験紙法による蛋白とP/C比・A/C比を比較し(表10)³⁾、試験紙法の蛋白が陽性でありながら、P/C比、A/C比ともnormalを示した検体は3.5%であることを報告している。この解釈として濃縮尿による過大評価が考えられるとした。

生 物 試 料 分 析

また、試験紙法による蛋白とP/C比およびA/C比の結果から、可能性のある解釈について尿蛋白判定フローチャートを作成した(図3)。このフローチャートを用いることにより試験紙法による尿蛋白、P/C比、A/C比の結果の総合的な判断が可能となった。

クレアチニン・アルブミン試験紙は特異性・正確性が高いため、精度の高いP/C比、A/C比の提供が可能となった。尿中アルブミン定量および尿中クレアチニン定量との相関も良好であり、簡便かつ低コストで検査が可能である。保険適応において、定量法での尿中アルブミン測定が制限される糖尿病性腎症や、適応外である高血圧症といった疾患でのスクリーニング検査に有用であると考えられた。また、蛋白判定フローチャートを用いることで試験紙法の意義と有効利用がさらに増すことが期待できる。

Ⅶ. まとめ

栄研化学株式会社では新たに尿中のアルブミンとクレアチニンを測定する試験紙を開発した。

表8 P/C比 定量法との比較 (P/C比定性演算)³⁾

n = 665

US-3100Rplus	≥0.50			2	7	97
	0.30		8	21	17	7
	0.15		28	17	2	
	normal	4	384	18		
	dilute	49	3			1
		dilute	normal	0.15	0.30	≥0.50

定量法

一致率 ; 84.8%
±1ランカー一致率 ; 98.3%

表9 A/C比 定量法との比較 (A/C比定性演算)³⁾

n = 665

US-3100Rplus	≥300				2	12	82
	150			3	10	21	16
	80		6	18	19	7	5
	30		35	26	3		
	normal	4	310	31	4		
	dilute	47	3		1		
		dilute	normal	30	80	150	≥300

定量法

一致率 ; 75.9%
±1ランカー一致率 ; 94.4%

表10 試験紙法による尿蛋白とP/C比・A/C比の比較⁴⁾

		P/C比								総計
		dilute		normal		1+		2+		
		A/C比								
		dilute	2+	normal	1+	1+	2+	1+	2+	
試験紙法	-	2,496	193	9,110	1,615					13,414
	+/-			692	324	2,180	49	2	352	3,599
	1+			25	53	717	190	81	891	1,957
	2+					32		161	1,036	1,229
	3+							82	338	420
尿蛋白	4+							40	122	162
	総計	2,496	193	9,827	1,992	2,929	239	366	2,739	20,781

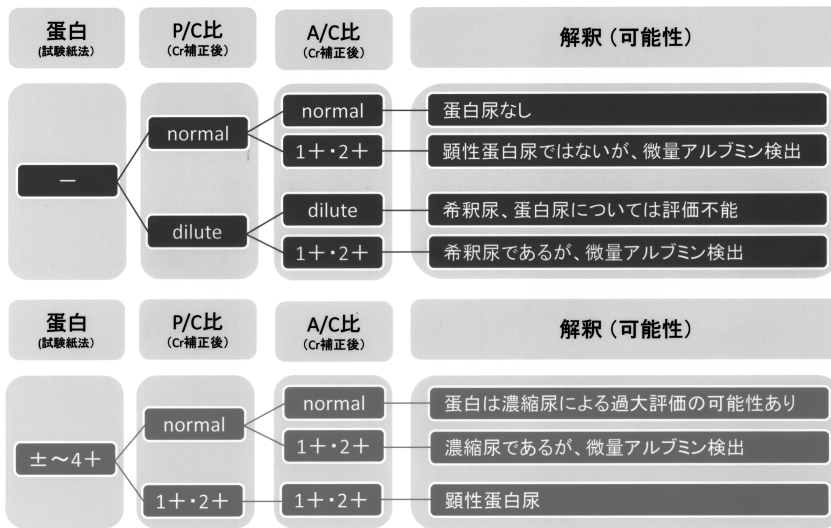


図3 尿蛋白判定フローチャート⁴⁾

引用文献

- 1) 日本腎臓学会 編: CDK診療ガイド2012. 東京, 東京医学社, 1-4, 25-28, (2012)
- 2) 社内データ
- 3) 横山 貴他: CKD診療ガイド2012重症度分類にお

ける尿アルブミン/クレアチニン比同時測定の有
用性, Nephrology Frontier, 12(1): 64-72, 2013.

- 4) 野崎 司他: 尿試験紙によるP/C比, A/C比の測定
性能と尿蛋白判定フローチャート作成, 機器・試
薬, 36(5): 669-678, 2013.