



〈原著〉

## 血液透析患者における透析前・後の中性脂肪の変動 —遊離グリセロール消去法・非消去法を用いた比較—

滝野 豊<sup>1)</sup>、藤井 義也<sup>1)</sup>、寺澤 文子<sup>1)</sup>

### Comparison of triglyceride levels pre- and post-dialysis in hemodialysis patients measured by free glycerol-elimination and non-elimination methods

Yutaka Takino<sup>1)</sup>, Yoshinari Fujii<sup>1)</sup>, Fumiko Terasawa<sup>1)</sup>

**Summary** The method recommended by the Japanese Society of Clinical Chemistry to measure triglycerides (TG) is the free glycerol-elimination method. In hemodialysis patients, heparin used during dialysis causes the release of lipoprotein lipase, leading to the hydrolysis of TG, and resulting in the release of free glycerol (FG). We performed measurement by FG-elimination and non-elimination methods using samples obtained pre- and post-dialysis from 61 hemodialysis patients and 30 healthy subjects. In the hemodialysis patients, especially at higher TG concentrations, the values measured by the elimination method tended to be lower than by the non-elimination method. Regarding the storage temperature of serum, TG concentrations of the hemodialysis patients decreased over time when stored at room temperature. The results indicate that the non-elimination method including free glycerol is more useful for the evaluation of TG in hemodialysis patients.

**Key words:** Triglyceride, free glycerol-elimination method, free glycerol-non-elimination method, hemodialysis patient

#### I. 緒言

トリグリセライド (Triglyceride, TG) の測定は脂質異常症、メタボリックシンドロームの診断基準に用いられ臨床評価には必須の項目であり、血液透析患者では心血管疾患の発生頻度が

高いことから、透析前 (随時採血) のルーチン評価に用いられている<sup>1,2)</sup>。

TG測定法には内因性の遊離グリセロール (free glycerol, FG) 消去法とFG非消去法 (以下、消去法、非消去法とする) があるが、我が国では日本臨床化学会勧告法による消去法が採用さ

<sup>1)</sup> 北陸大学医療保健学部医療技術学科

<sup>1)</sup> 石川県金沢市太陽が丘1-1

連絡先：滝野 豊

北陸大学医療保健学部医療技術学科

Tel: +81-76-229-1161

E-mail: y-takino@hokuriku-u.ac.jp

<sup>1)</sup> Faculty of Health and Medical Sciences, Department of Medical Technology and Clinical Engineering, Hokuriku University

<sup>1)</sup> 1-1, Taiyogaoka, Kanazawa, Ishikawa, 920-1180, Japan

受付日：2023年6月8日

採択日：2023年7月28日

れている<sup>3)</sup>。しかし血液透析患者では透析中に使用されるヘパリンの刺激により血管内皮からリポタンパクリパーゼ (lipoprotein lipase, LPL) が遊離して血中TGを水解し、FG生成が促進される。そのため消去法では血液透析患者のTG濃度を正確に評価することは難しいと考えられている<sup>4)</sup>。今回我々は透析患者の非空腹時採血検体を用いて、消去法・非消去法によるTG測定値の比較および透析前・後の変動について検討した。さらに検体保存温度によるTG値およびリポタンパク電気泳動像の変化について検討したので報告する。

## II. 方法と材料

### 1. 対象

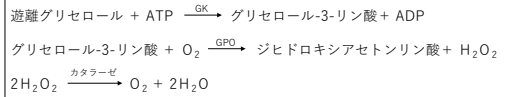
本研究は北陸大学および医療法人社団瑞穂会みずほ病院の臨床研究倫理審査会の承認、および被験者のインフォームドコンセントを得て実施した。健常対照者30名 (20 ~ 70歳代)、血液透析患者61名 (30 ~ 80歳代) の透析前・後の血清を用いて非空腹時 (随時) TGを測定した。検体は採血後2時間以内に血清分離し、-80℃に保存した。透析患者の血液は、透析前は透析回路接続前の透析用穿刺針より、透析直後は透析回路より採取した。透析治療時に投与されたヘパリン製剤は未分画ヘパリン22例、低分子ヘパリン39例、総投与量は1,250 ~ 8,000 Uであった。また使用された透析膜はポリスルホン膜50例、ポリメチルメタクリレート膜8例、セルロースアセテート膜3例、治療方法は血液透析48例、オンライン血液透析濾過7例、間歇補充型血液透析濾過6例であった。

検体保存温度による経時的な変動には、健常対照者3検体および血液透析患者透析前・後の血清から任意の3例の検体 (未分画ヘパリン1例、低分子ヘパリン2例) を用い、-80℃に保存した血清を解凍した時点を0時間とし、室温と4℃でそれぞれ24時間と48時間静置した後、消去法および非消去法によるTG測定とリポタンパク泳動を行った。

### 2. 方法

標準液はトリオレインを秤量し界面活性剤TritonX-100に溶解させた後、水で185 mg/dLとな

消去法における第一反応



消去法における第二反応

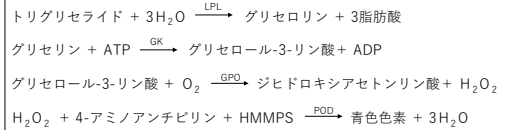


Fig. 1 Measurement principle of triglyceride

GK：グリセロールキナーゼ、GPO：グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、LPL：リポプロテインリパーゼ、POD：ペルオキシダーゼ

るように調整して、消去法・非消去法に共通の標準液として用いた。

消去法ではLタイプワコー TG・M (富士フィルム和光純薬株式会社) を使用し、第一試薬によりFGを消去した後、第二試薬の添加でTG測定を行った。

測定原理をFig. 1に示す。

非消去法では第一試薬による反応の最終段階で生じたH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を消化するためのカタラーゼの作用を阻害するために0.1%アジ化ナトリウムを添加し、第一反応と第二反応により生成したH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>とともに測り込むことで内因性FGおよびTGから生成されたFGを合わせた測定値として求めた<sup>9)</sup>。

測定には自動分析装置 (BM6010、日本電子) を用いた。反応条件は消去法・非消去法ともに、37℃において検体3 μLと第一試薬270 μLを5分間反応させ、その後第二試薬90 μLを添加して5分間反応させた後、主波長600 nm、副波長700 nmにより吸光度を測定した。検体保存温度の検討では、0時間のTG値を100%として経時的な変化を相対的に評価した。

リポタンパク電気泳動は、アガロースゲル (クイックジェルLIPO、ヘレナ研究所) を用いて130 V、30分泳動し、ゲルを乾燥した後にFat Red 7B (Sigma) により染色した。

## III. 結果

### 1. 健常者と血液透析患者透析前後の消去法・非消去法による測定結果

#### 1) 消去法・非消去法によるTG値の比較

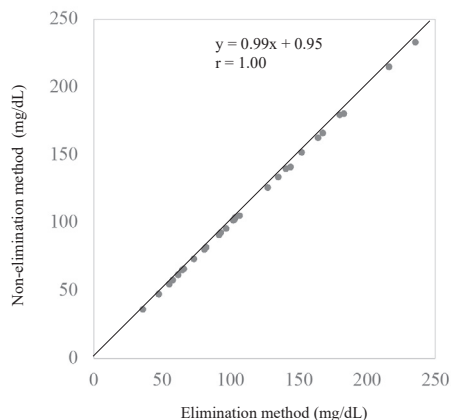


Fig. 2 Comparison of TG levels when measured by free glycerol-elimination and non-elimination methods in normal subjects (n=30)

健常者のTGは消去法35.9 ~ 235.4 (平均値 ± 標準偏差 : 112.3 ± 99.1) mg/dL、非消去法36.3 ~ 233.1 (111.8 ± 97.8) mg/dL (n=30, r=1.00) となり、二法による有意差は認めなかった (Fig. 2)。

透析患者の透析前では消去法29.1 ~ 572.0 (109.4 ± 119.1) mg/dL、非消去法28.9 ~ 637.3 (114.7 ± 215.1) mg/dL (n=61, r=0.99) となり、二法の差の平均値5.4 mg/dLをFG値に換算すると0.6 mg/dLとなり最大値は9.7 mg/dLであった。透析後では消去法36.77 ~ 546.6 (106.3 ± 204.0) mg/dL、非消去法36.9 ~ 620.3 (113.9 ± 233.8) mg/dL (n=61, r=0.98) となり、二法の差の平均値7.6 mg/dLはFG値で0.8 (最大値19.5) mg/dLであった (Fig. 3)。

2) 患者の透析前・後のTG値の変化

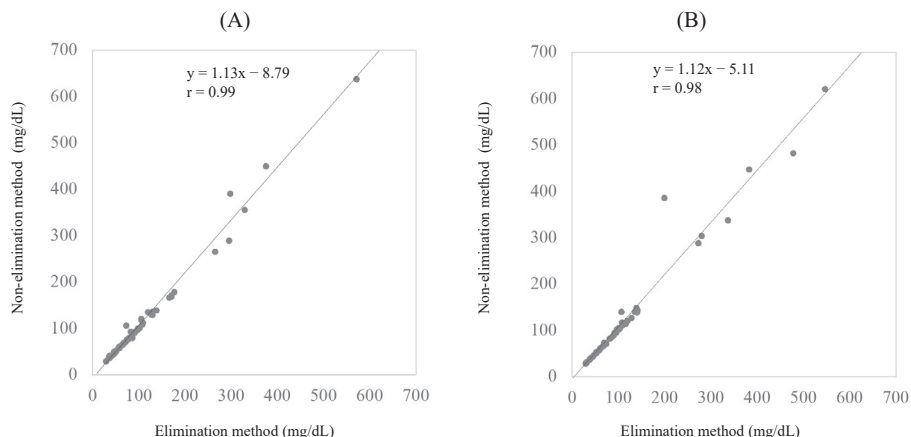


Fig. 3 Comparison of TG levels when measured by free glycerol-elimination and non-elimination methods pre- (A) and post- (B) dialysis in hemodialysis patients (n=61)

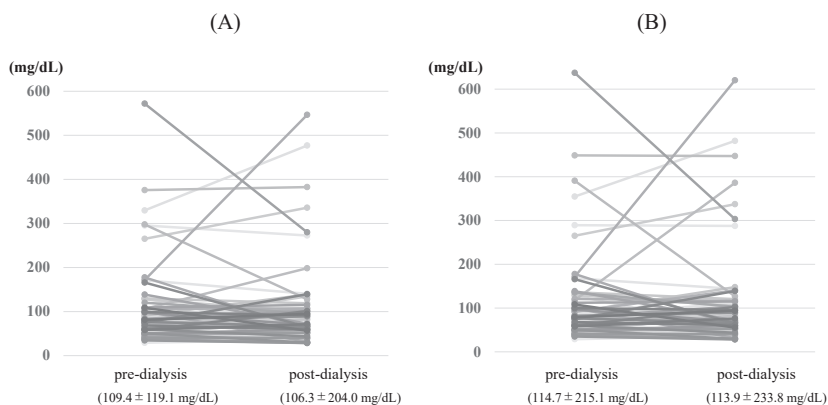


Fig. 4 Pre- and post-dialysis changes in TG levels when measured by free glycerol-elimination (A) and non-elimination (B) methods in hemodialysis patients (n=61)

透析前に比べ透析後にTG値が15% (TG測定における許容誤差限界) 以上変化した例数をみると、低下したのは消去法23例 (最大低下率69%)、非消去法21例 (最大低下率69%)、増加したのは消去法19例 (最大増加率218%)、非消去法20例 (最大増加率262%) であり、ほとんど変化しなかったのは消去法19例、非消去法20例であった (Fig. 4)。透析前・後の変動と用いたヘパリン製剤の種類と投与量、透析膜の種類、および治療方法の違いに関連は認められなかった。また個々の患者では透析前・後のTG減少ま

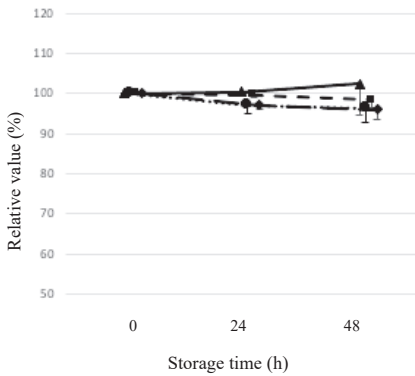


Fig. 5 Stability for triglyceride measurement in serum of normal subjects

- ▲— 4°C elimination method
- .....●..... room temperature elimination method
- 4°C non-elimination method
- ◆- room temperature non-elimination method

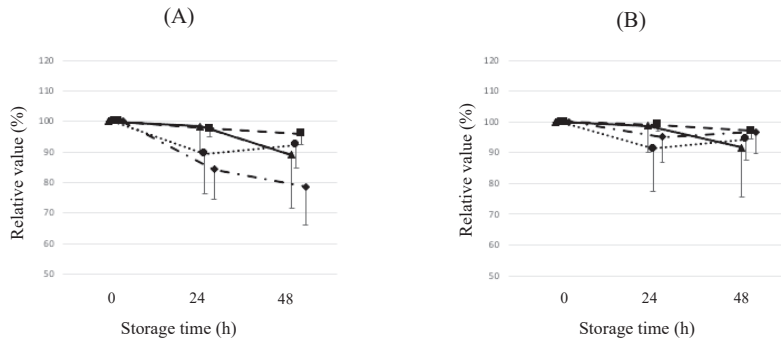


Fig. 6 Stability for triglyceride measurement in serum of hemodialysis patients (A): elimination method, (B): non-elimination method

- ▲— 4°C pre-dialysis
- .....●..... room temperature pre-dialysis
- 4°C post-dialysis
- ◆- room temperature post-dialysis

たは増加の傾向に二法による差はなかった。

## 2. TG 測定値に及ぼす検体保存温度の影響

室温と4°Cで保存した血清について、消去法、非消去法で測定を行ったところ、健常者検体では4°C保存ではほぼ変化がなく、室温保存でも大きな低下は見られなかった (Fig. 5)。

一方、消去法では透析前検体の4°C保存では24時間では変化がなかったが、48時間で10%低下し、室温保存では24、48時間とも10%低下した。透析後検体では室温保存により24時間で15%、48時間で20%以上と大きく低下した。非消去法では透析前検体の4°C保存で48時間で10%、室温保存で24時間後に10%の低下がみられたが、透析後検体では大きな変化はみられなかった (Fig. 6)。

リポタンパク電気泳動像では、健常者の経時の変化は観察されなかったが、患者では透析前・後ともに室温放置24時間で $\alpha$ 、pre- $\beta$ 、 $\beta$ リポタンパクの陽極側への移動がみられ、48時間ではさらに移動度が高くなることを確認した (Fig. 7)。

## IV. 考察

我が国の日常検査ではTG測定法として日本臨床化学会勧告法<sup>3)</sup>である消去法を用いていることから、我々は血液透析患者では透析治療中に投与されるヘパリンの影響によりTGが実際より低

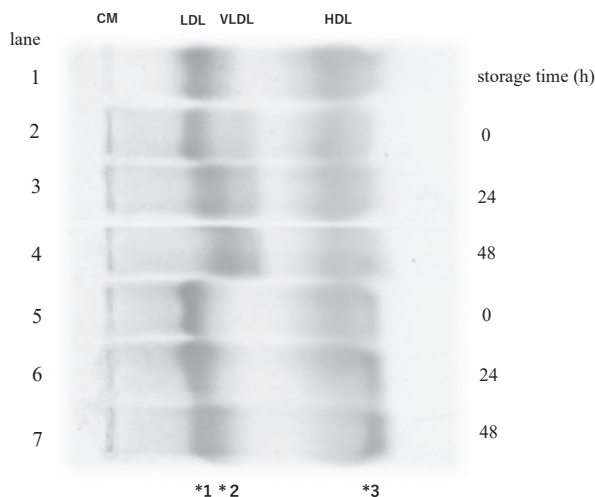


Fig. 7 Lipoprotein electrophoresis pattern of a patient's serum during storage at room temperature  
Lane 1: Normal control, lanes 2 - 4: Pre hemodialysis (HD), lanes 5 - 7: Post HD  
\*1, \*2, \*3: LDL, VLDL and HDL denatured by hydrolysis of TG

値を示すものと推測し、患者の透析前・後の血清を用いて、消去法・非消去法の二法による測定値の比較および透析前・後のTG値の変化について検討した。

まず健常対照者では、今回の我々の結果では二法によるTG値に有意差は認められなかったが、一方ではTG値4.6 mg/dL (FG値として0.48 mg/dL) 程度の差があるとの報告<sup>3)</sup>がある。

次に透析患者では透析前・後ともに消去法のほうが低値を示す傾向があり、特にTGが300 mg/dLを超えるとより大きく影響を受けることが認められた。消去法ではグリセロール製剤投与によるTG測定値への影響は回避できるものの、ヘパリン投与による影響は回避できないとの報告<sup>6,7)</sup>もあり、我々の結果からも継続的にヘパリン治療を受ける透析患者でTG高値の場合は、より正確なTG評価のためには非消去法のほうが適当であることが示唆された。しかし一方では、非消去法は血中FGが増加している場合にはTGを過大評価してしまう可能性も残されている<sup>8,9)</sup>。

患者の透析前・後のTG値の変化をみると、透析前に対して後のTG値が増加した例、低下した例、変化なし、が二法ともほぼ同数ずつとなり

一定の傾向は認められなかった。なかには透析後に50%以上の低下率を示したものの6例、2倍以上に大きく上昇したものの2例が認められ、これは二法ともほぼ同じ傾向であった。透析前・後でのTG値の増減の原因としては透析治療の除水による濃縮、透析膜へのリポタンパクの吸着、ヘパリンの種類と投与量、あるいは治療中の食物経口摂取などが考えられる。しかし今回の検討結果からは透析前・後のTG増減に一定の傾向はなく、透析膜の種類、ヘパリンの種類と投与量にも関係はみられなかった。またすべての患者が透析治療中の食物摂取はなかったことを確認した。さらに糖尿病患者においてはTG値のばらつきが大きいとされているが<sup>9)</sup>、糖尿病を有する患者22例においても透析前・後の変化に一定の傾向は確認されなかった。以上のことから透析前・後のTG変動について原因を明確にすることはできなかった。この結果は現在までの先行研究においても透析膜の種類と脂質プロフィールとの関係は明らかにされておらず<sup>10,11)</sup>、またヘパリンの種類と投与量とも明らかな関連がみられなかったとの報告<sup>12)</sup>と同様であった。

次に血清中TGの経時的変化をみると、室温保存血清がもっとも低下しており、今までの報告

<sup>4,5,13,14</sup>)と一致していたが、顕著に減少したのは消去法による透析後血清であった。細胞内で活性化されたLPLは半減期約1時間とされている<sup>15</sup>)。今回我々は患者血清中のLPL活性を測定することはできなかったが、ヘパリンの作用により血管内皮より遊離され血中に放出されたLPLは少なくとも48時間は活性が保たれていることを示していると考えられた。室温保存によるTG値の低下は非消去法では軽減されていることから、消去法を用いる測定では採血後の速やかな測定および検体の冷蔵保存が必須といえた。

リポタンパク電気泳動像の経時的変化は、室温放置により各分画中のTGの水解が進行することでリポタンパク粒子が徐々に変性してサイズが小さくなり、移動度が高くなるものと考えられた。

## V. 結語

健常者および血液透析患者の透析前・後の血清を用いて、内因性FG消去法と非消去法によるTG測定値を比較した。健常者においては消去法、非消去法の測定値に相違はなかったが、血液透析患者では消去法のほうが非消去法より低値を示した。血液透析患者においては治療に用いられるヘパリンの作用によるLPLの遊離とそのTG水解作用の影響が認められることからTGの正確な評価のためには非消去法が有用と思われた。

TG測定に使用する検体は、採血後速やかに測定することが望ましいが、保存する場合は4℃以下とすることが重要である。

## VI. 謝辞

本研究を進めるにあたりご協力いただきました医療法人社団瑞穂会みずほ病院理事長 越野慶隆先生、臨床検査技師 伊崎良子先生をはじめとする病院職員のみならず、検体を提供していただいたみずほ病院の患者さまに深謝いたします。

本論文内容に関連する著者らの利益相反：なし

## 文献

- 1) 血液透析患者における心血管合併症の評価と治療に関するガイドライン. 第1章 脂質異常症. 日本透析医学会雑誌, 44: 347-352, 2011.
- 2) 笛木百合子、石井雄士 他：慢性透析患者における脂質プロファイルと炎症マーカーの検討. 生物試料分析, 32: 328-333, 2009.
- 3) 日本臨床化学会試薬専門委員会 血清中の中性脂肪濃度測定の方法. 臨床化学, 25: 39-51, 1996.
- 4) 山本 肇、佐竹奏一、二本柳洋志、石幡哲也、折笠ひろみ、小熊悠子、高田直樹、齋藤市弘：遊離グリセロール消去法による総グリセライド測定の検討—中性脂肪測定国際標準化を見据えた基礎検討—. 医学検査, 65: 209-215, 2016.
- 5) 山下計太、前川真人：中性脂肪測定：遊離グリセロール消去法と非消去法について—国際標準化への対応は？—. 臨床病理, 68: 334-339, 2020.
- 6) 平山 哲、三井田 孝：トリグリセライドの測定法と今後の課題. 臨床病理, 67: 1125-1129, 2019.
- 7) 渡部俊之、平山 哲、三井田 孝、根間敏郎、武城英明：トリグリセライド (TG) の代謝と測定法の問題点. 臨床化学, 46: 127-132, 2017.
- 8) Heerden C, Magwete A, Mabuza D: Evaluating the need for free glycerol blanking for serum triglyceride measurements at Charlotte Maxeke Johannesburg Academic Hospital. Clin Chem Lab Med, 28:1257-1264, 2020.
- 9) Nakagawa T, Hirayama S, Watanabe T, et al: Triglyceride concentrations should be measured after elimination of free glycerol to exclude interindividual due to adiposity and fasting status. Clin Chem Lab Med, 28: e191-e194, 10.1515/cclm-2016-0710, 2017.
- 10) 田中 寛、西川 治、湯川 進、吉本 充、西出 巖：透析膜が維持透析患者の血清脂質プロファイルに与える影響. 日本腎臓学会誌, 41: 1-7, 1999.
- 11) Docci D, Capponcini C, Mengozzi S, Baldrati L, Feletti C. Effects of different dialysis membranes on lipid and lipoproteins serum profiles in hemodialysis patients. Nephron, 69: 323-326, 1995.
- 12) 香川 征、菅 政治 他：慢性透析患者の高トリグリセライド血症に及ぼす低分子ヘパリン (dalteparine sodium) の影響—非分画ヘパリンとの比較—. 西日本泌尿器会誌, 59: 240-252, 1997.
- 13) 山下計太、高柳美伊子、桑 克彦：ヘパリン投与患者の中性脂肪測定における遊離グリセロールの挙動. 日本臨床検査自動化学会会誌, 36: 694, 2011.
- 14) 高橋祐介、佐々木真弓、河野正臣、村本良三：

トリグリセライド測定の内因性グリセロール未  
消去における血清の室温保存中の測定値上昇に  
関する検討—遊離コリンの変動から見たグリセ  
ロリン脂質の関与—. 生物試料分析, 45: 97-103.  
2022.

- 15) 嶋田昌子、山田信博：リポ蛋白リパーゼ. 動脈硬  
化, 23: 243-247, 1995.