

原 著

# 日立7070型自動分析装置によるCRP測定試薬の基礎的検討と健常者のCRP濃度分布・生理的変動幅について

佐渡総合病院、検査科

三好孝史、嶋川 淳、児玉健一、高橋 ナホミ

目的：従来、C反応性蛋白（以下CRP）は炎症疾患のスクリーニングや経過観察などを目的として測定されていたが、近年、新生児感染症診断への応用や冠動脈疾患の予測因子として高感度測定が望まれている。今回我々は汎用自動分析装置で高感度かつ広範囲測定が可能な、CRP測定試薬 CRP-ラテックス（Ⅱ）「生研」X2（デンカ生研）を検討する機会を得たので、その結果について報告する。また健常者についてのCRP濃度分布及び生理的変動幅についても若干の検討を行ったので合わせて報告する。

方法・成績・結論：今回検討を行ったCRP測定試薬 CRP-ラテックス（Ⅱ）「生研」X2（デンカ生研）は基本的性能を有し、臨床側の要求を充たす検出感度、測定範囲をもつ試薬であることが確認された。また健常者についてCRP濃度分布および生理的変動幅についても若干の検討を行った結果、高感度CRP測定が可能となった今、基準範囲（reference interval）の見直しを検討する時期がきていると思われる。

リーニングや経過観察などを目的として測定されていたが、近年、新生児感染症診断への応用や冠動脈疾患の予測因子として高感度測定が望まれている。しかしアメリカFDA（食品医薬品局）から提案された高感度CRP（hsCRP）とは、検出感度が0.02mg/dl、CRP0.1mg/dlでの精密度CVが3%以下であることと定義されていて、現在この基準を満たしFDAから冠動脈疾患のアセスメントに使用しても良いと認証されたキットは、アイト パーリング社のBNテストによるN-ラテックスCRPⅡだけでなく、現行の測定試薬では十分に臨床側の要望に応えることは出来なかった。

今回我々は汎用自動分析装置で高感度かつ広範囲測定が可能な、CRP測定試薬 CRP-ラテックス（Ⅱ）「生研」X2（デンカ生研）を検討する機会を得たので、その結果について報告する。また健常者についてのCRP濃度分布及び生理的変動幅についても若干の検討を行ったので合わせて報告する。

キーワード：高感度CRP（hsCRP）、濃度分布、生理的変動幅、基準範囲（reference interval）

## 材 料 と 方 法

分析装置及び測定条件

分析装置は日立7070型自動分析装置を使用し、測定条件はメーカー指定の標準パラメーターを使用し、詳細についてはtable.1に示す。

## 結 言

従来、C反応性蛋白（以下CRP）は炎症疾患のスク

Table.1 Parameter listing

■ANALYSIS	
METHOD	CRP-ラテックス（Ⅱ）生研 X2（デンカ生研）
AUTOMATED ANALYZER	HITACHI MODEL 7070
METHOD OF ANALYSIS	[2 POINT END]
READING POINT	[18][27]
WAVE LENGTH(SUB/MAIN)	[800]/[570]
SAMPLE VOLUME(μl)	[3]
REAGENT VOLUME R1(μl)	[150]
REAGENT VOLUME R3(μl)	[150]
■CALIB	
CALIBRATION MODE	[SPLINE]
■CONC OF STD	
<STANDARD>	
STD 1	[ 0.000]
STD 2	[ 0.500]
STD 3	[ 2.000]
STD 4	[ 4.000]
STD 5	[16.000]
STD 6	[32.000]
SAMPLE VOLUME(μl)	[3]

### 検 討 方 法

1. 同時再現性  
4種類のコントロール血清を用い20回連続測定を行い標準偏差SDおよび変動係数CV %を算出して精密さの指標とした。
2. 希釈直線性  
50mg/dlの試料を用い生理食塩水にて10段階希釈し各ポイント2重測定を行い希釈直線性の確認を行った。
3. プロゾーン  
100mg/dlの試料を用い生理食塩水にて10段階希釈し各ポイント2重測定を行いプロゾーンの確認を行った。
4. 検出限界  
0.1mg/dlのSTDを用い終濃度が0.05mg/dlになるように試料を調整し、各ポイント10重測定を行い平均値及びSDを求め、0濃度のmean+2.6 SDと重ならないmean-2.6 SDのポイントを検出限界とした。
5. 健常者のCRP濃度分布  
院内職員599名を対象として健常者のCRP濃度分布を調べた。またRidkerらが動脈硬化の危険因子としている総コレステロール/HDLコレステロール比(以下T-CHO/HDL比)との関係を3群に分類し分析を行った。
6. 健常者の生理的変動幅  
炎症性疾患などの自覚症状のない健常者20名を約3週間定期的に測定し、平均値およびSDを求め生理的変動幅とし、また個々のCRP濃度と脂質項目(総コレステロール・HDLコレステロール・TG・LDLコレステロール)・Body Mass Index (以下BMI)との関係を分析した。

### 結 果

1. 同時再現性  
CRP濃度0.1~9.5mg/dlの再現性はSD0.002~0.056、CV1.88~0.58%となり良好な結果となった。(table2)

Table.2 同時再現性

	Cont.1	Cont.2	Cont.3	Cont.4
MEAN	0.107	0.956	2.294	9.567
MIN	0.103	0.947	2.273	9.458
MAX	0.110	0.966	2.316	9.677
SD	0.002	0.006	0.013	0.056
CV	1.886	0.587	0.564	0.589
Range	0.007	0.019	0.043	0.219

2. 希釈直線性  
10段階希釈した試料の測定結果をfig.1に示した。約30mg/dlまで直線性は確認され、1mg/dl以下の低値直線性も良好な結果となった。
3. プロゾーン  
高値試料の段階希釈を行った結果、直線性上限以上の値であり、プロゾーンチェックは可能である。(fig.2)
4. 検出限界  
±2.6SD法での検出限界は0.01mg/dlとなり、FDAが認めた冠動脈疾患のアセスメントの為に試験性能を満たす結果となった。(fig.3)
5. 健常者のCRP濃度分布  
院内職員599名を対象としたCRP濃度分布をfig.4に示した。平均値0.057mg/dl、中央値0.033mg/dlとなり最大尤度法を用いた95%信頼区間は、0.013~0.273mg/dlという結果となった。またT-CHO/HDL比との関係をtable.3に示した。検体数に差はあるがT-CHO/HDL比が3.78未満では中央値0.031mg/dl、3.78~5.01では0.050mg/dl、5.01以上では0.088mg/dlと比が高い群では低い群に比べてCRP濃度が高い傾向が認められた。
6. 健常者の生理的変動幅  
健常者20名の約3週間のCRP濃度と脂質項目、BMIとの関連をtable.4に示した。各々の脂質項目との相関は相関係数0.118~0.310となり相関は認められなかったが、BMIとは回帰式  $y=56.0x+18.6$  相関係数0.764と強い相関が認められた。またCRPの生理的変動幅については、平均0.011~0.164mg/dl、

Fig.1 直線性

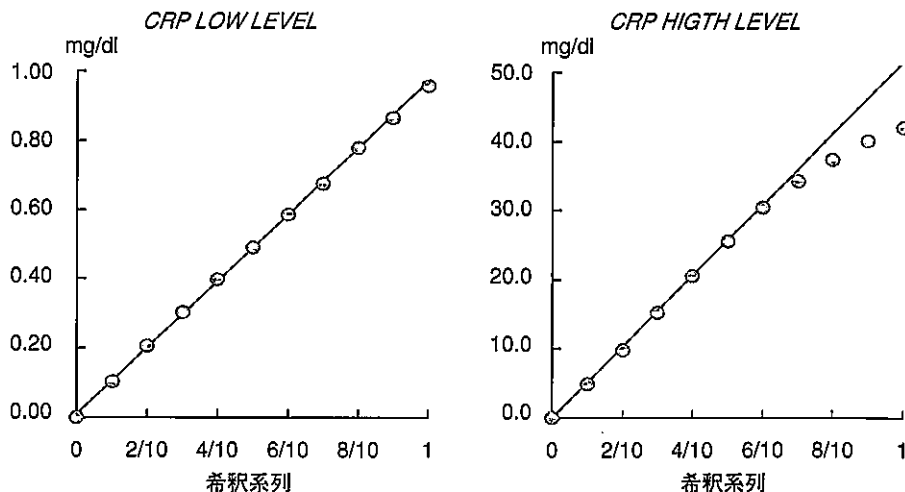


Fig.2 プロゾーン

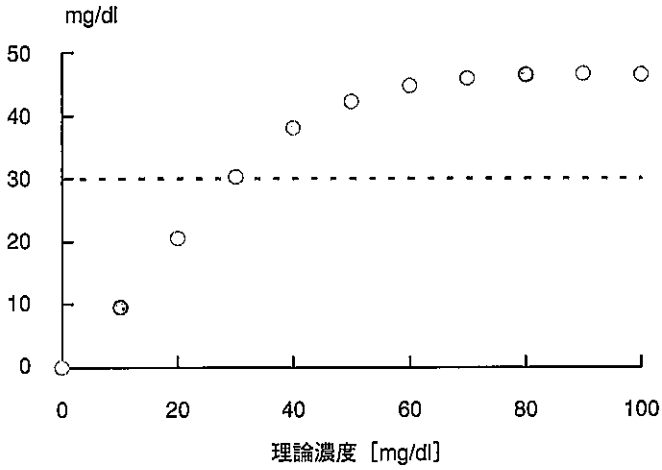


Fig.3 検出感度

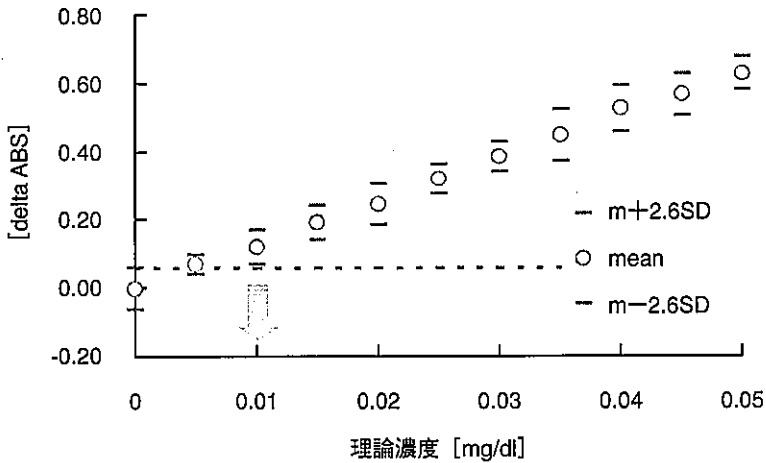


Fig.4 健常者のCRP濃度分布

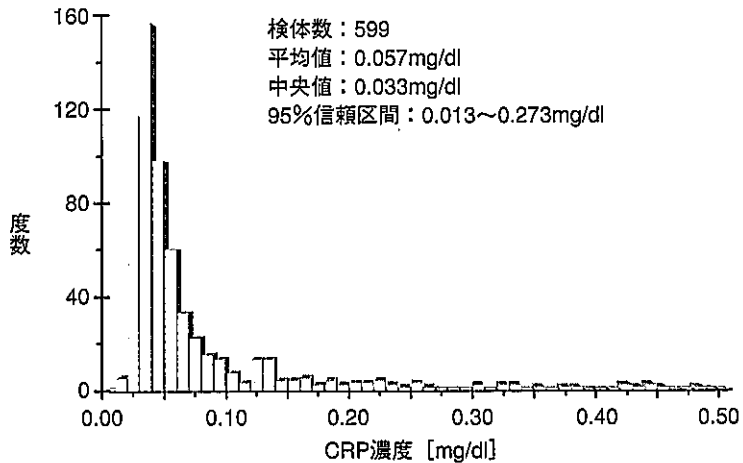
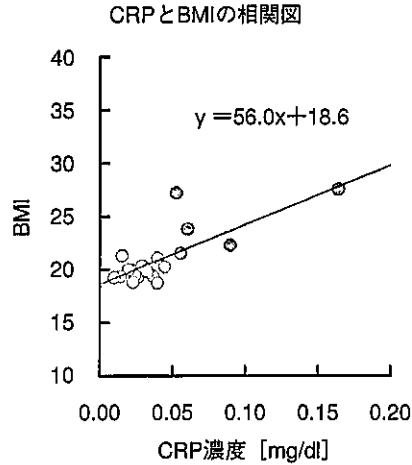


Table.3 T-CHO/HDL比群別CRP濃度分布

T-CHO/HDL	検体数	中央値	標準偏差
<3.78	492	0.031	0.025
3.78~5.01	85	0.050	0.051
>5.01	22	0.088	0.124
全体	599	0.033	0.031

Table.4 CRP濃度と脂質、BMIとの相関性

	相関係数
T-CHO	0.233
HDL	0.118
T-CHO/HDL	0.310
TG	0.258
LDL (F式)	0.270
BMI	0.764



SD0.003~0.077となった。正常値以下を示す個々の中で、No.10の例に注目すると平均0.164mg/dl、SD0.077と他の例と比べて高い結果となり、BMIも27.5と高い症例であることが確認された。(fig.5)

トの為の試薬性能(検出限界がCRP濃度として0.02mg/dl以下、0.1mg/dlの精密度C.Vが3%以内)をもち、臨床側の要求を充たす測定試薬であることが確認できた。

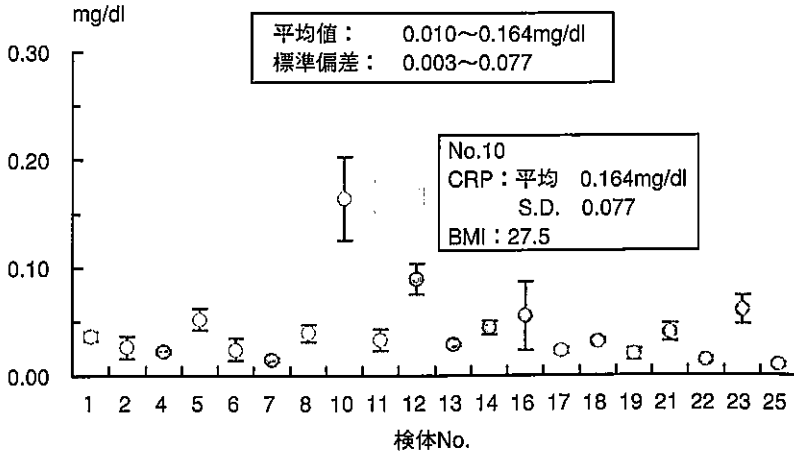
考 察

今回検討の機会を得たCRP測定試薬 CRP-ラテックス(Ⅱ)「生研」X2(デンカ生研)は、再現性・希釈直線性などの基本的性能を有し、また汎用試薬でありながらFDAが認めるCHD(冠動脈疾患)アセスメン

院内職員を対象としたCRP濃度分布は、臨床症状などの問診は行わずに集計した結果ではあるが、平均値、中央値など従来からいわれている基準値よりは低い傾向となった。また総コレステロール/HDL比が高い群ではCRP濃度が高い傾向となり、動脈硬化症の予測因子としてのCRP測定の意義が再確認できた。

例数が少なく一概には言えないが、健常者の生理的

Fig.5 CRP濃度の生理的変動幅



変動幅は以前から言われているよりも小さく、定期的な検査で他の項目と併用することにより個人の健康管理にも利用可能と思われた。

以上の検討結果より高感度測定が可能となった今、より多くのデータを様々な観点より検討し、基準範囲の見直しを考える時期がきていると思われた。

#### 文 献

1. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, et al. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-9.
2. 嶋川淳、児玉健一. 日立7070自動分析装置によるCRP測定用試薬の基礎的検討. 日本臨床検査自動化学会第32回大会予稿集 2000 25: 423.
3. 成陽子、千田美智代、小山富子 ほか. 潜在異常値除外法による高感度CRP測定法のためのCRP基準値設定の試み. *臨床病理* 2001; 49: 178-82.
4. 桑克彦. CRP測定の誤差評価法. *臨床検査* 2002;46 (9).

#### 和 文 抄 録

##### Original Article

Basic examination of CRP measurement reagent by Hitachi 7070 style automatic analysis device and the CRP density distribution and physiological fluctuation width in normal persons

Sado General Hospital, Department of Laboratory, Takashi Miyoshi, Jun Shimakawa, Kennichi Kodama, and Nahomi Takahashi

This time we examined CRP measurement reagent, CRP-latex (II) "Seiken" X2 (Denka Seiken Co.), and confirmed its fundamental performance and filling the detection sensitivity, measurement range demanded by a clinical side. Also, as a result that we did a little examination regarding CRP density distribution and physiological fluctuation width of normal persons, the reference interval should be reviewed because high sensitivity CRP measurement became possible.

Key words: high sensitivity CRP (hsCRP), density distribution, physiological fluctuation width, standard range (reference interval)