

特集 医療診断と分析化学

《特集》「医療診断と分析化学」企画にあたって

私たちの生命や健康を脅かす様々な疾病を早期発見・治療し、健やかな社会生活を送ることは人類の永遠の課題です。疾病を診断し治療効果を判定する医療診断の進歩は分析化学の進歩・発展によるところが大きく、本誌ではこの医療診断に分析化学がどのように携わっているかを広く会員に紹介するため、今回の企画を行いました。より医療系に近い特集企画として2007年10号に「診断技術の進歩に貢献する分析化学」が掲載されていますが、今回の企画では最新の技術のみならず、普及している技術であっても「名前は知っているがどういったものなのだろう？ 医療現場ではどのように応用されているのだろうか？」という疑問にも答えられればと考えています。本企画が医療診断のみならず、広く分析化学に携わる読者の皆様の参考になれば幸いです。

「ぶんせき」編集委員会

臨床現場に貢献する分析科学

島田 美樹, 眞野 成康

1 はじめに

医療現場では、疾病の診断や治療方針の決定などを目的とした生体内の様々な物質の分析が不可欠である。分析の対象となる試料は、血液、尿、唾液などの体液や、単離した細胞、肝臓、腎臓などの組織や人体そのものときわめて多岐にわたる。したがって、用いられる分析法も様々であるが、得られる分析結果が診断や治療方針を左右することから、それらには共通して迅速性、再現性、正確性が求められる。本稿では、主に検査、診断や薬物療法の適正化に貢献する分析科学を紹介する。

2 ウイルス感染症診断における分析科学

ウイルス感染症が疑われた場合、まず、的確なウイルス検査により原因ウイルスを確定する必要がある。本目的には、通常、ウイルス抗原を迅速に同定できるイムノクロマトグラフィーが用いられる(図1)。本法では、滴下部(サンプルパッド)に導入された液状検体(血清、血漿、全血、尿、糞便、咽頭拭い液、鼻腔拭い液、鼻汁などの体液)中の抗原が、コンジュゲートパッドに乾燥含有されている色素標識抗体と抗原-抗体複合体を形成した後、毛細管現象によりニトロセルロース膜上を移動する。抗原検出部に固定された抗体が、移動してきた抗原-抗体複合体を捕捉してサンドイッチ型の複合体を生成し、標識色素のライン形成によって抗原を特定でき

る。分析に要する時間は5~15分間程度で、簡便かつ迅速である反面、検出感度はそれほど高くない。

ウイルス感染症の診断は、従来は臨床診断や血清診断によるところが大きかったが、最近では上記のイムノクロマトグラフィーの結果と、ポリメラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction: PCR)法やLAMP(loop-mediated isothermal amplification)法¹⁾²⁾による迅速かつ高感度なウイルス核酸検出法の組み合わせによって行われる。昨年、豚H1N1型インフルエンザが世界中で大流行し、5月に日本に上陸したときには、水際対策としてPCR法が一躍クローズアップされたことは記憶に新しい。LAMP法は、標的遺伝子の六つの領域に対して4種類のプライマーを設定するため、特異的な増幅

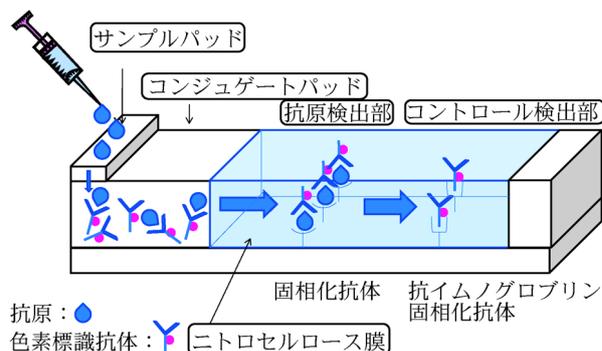


図1 イムノクロマトグラフィーの原理

が可能であるうえ、鎖置換反応を利用する増幅反応が等温で連続的に進行するため、操作がきわめて簡便である。これらの検査は保険適応外ながら、一部の医療機関や研究施設で実施され、比較的稀なウイルス感染症や、重症急性呼吸器症候群 (severe acute respiratory syndrome : SARS) などの診断や臨床研究に用いられている。

3 救急医療における分析科学

高度救命救急センターに搬送されてきた患者に意識障害があると、精神作用物質による急性中毒またはその依存症が疑われるが、そのうち特に薬物中毒が疑われる場合には、薬学的観点から適切な対応が必要となるため、当院では薬剤師が24時間体制で対応している。通常は、まず乱用薬物検査キットによるスクリーニングを行うが、これにより8種類の薬物(フェンシクリジン類、ベンゾジアゼピン類、コカイン系麻薬、覚せい剤、大麻、モルヒネ系麻薬、バルビツール酸類、三環系抗うつ剤)の検出が可能である。しかし、偽陽性反応が出る場合もあるうえ、バンドが検出されてもその濃さと薬毒物の濃度は相関しないことから、あくまでも定性的に用いる。本法は、金コロイド粒子表面に化学的に標識した薬物と尿中薬物の、抗体の抗原結合部位に対する競合反応を利用した ascend multi immunoassay[®] を用いている。図2に示したように、反応槽で抗原抗体反応を完了させた後、その溶液をピペットで検出ゾーンに滴下すると、溶液中の未反応の金コロイド標識薬物がニトロセルロース膜上を移動し、抗原検出部に固定化された抗薬物抗体と抗原-抗体複合体を形成して抗原の特定ができる。本試験の結果と、服毒情報、臨床症状などから総合的に判断し、解毒薬や拮抗薬などを投与して治療にあたっている。

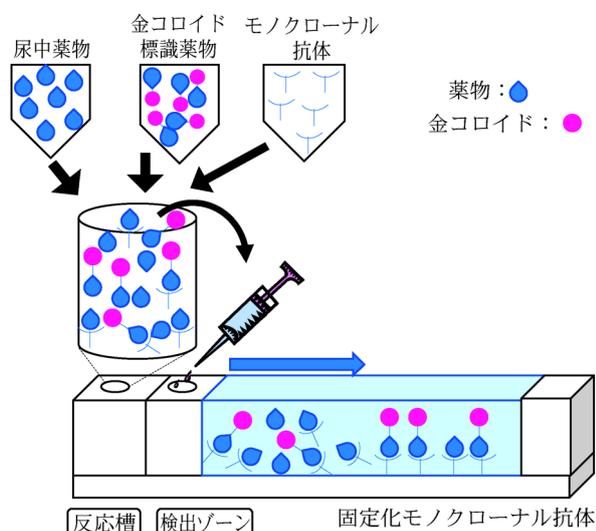


図2 Ascend multi immunoassay[®]の原理

4 血糖コントロールにおける分析科学

糖尿病診療における血糖自己測定器を用いる血糖測定の意義は、外来では日常生活に密着した血糖の日内変動をモニターすることで、自らの病状の把握と理解を促し、自己管理への動機づけを高めることにある。一方、入院患者における血糖測定は、強化インスリン療法と併せて厳格な血糖調節を行うために、直近の測定値に応じてインスリンの注射量を増減する目安(インスリンスライディングスケール)となる。

現在、使用されている血糖自己測定器の測定法は、酵素比色法、ならびに酵素電極法の二つに分類され、いずれもグルコースオキシダーゼあるいはグルコース脱水素酵素 (glucose dehydrogenase : GDH) によって、血中グルコースが酸化された際に生じる過酸化水素や電子から、グルコース濃度を算出する。これらの手法のなかで、GDH電極法は、溶存酸素や血液中に存在する物質の影響を受けにくいことから、今日汎用されている。本法では、全血が電極先端から吸引されると、センサー中のGDHによるグルコースの酸化反応に伴ってフェリシアン化イオンがフェロシアン化イオンに還元される。ここで、一定の電圧印加に伴って生じる電流が、血中のグルコース濃度に比例する。当院では、薬剤師が、入院患者に対して血糖自己測定器の使用法やインスリンの自己注射に関する指導を行っている。インスリンは、日常的に使用する high-alert 薬*であるため、診療科全てに通用するインスリンスライディングスケールを標準化しており、医療安全に努めている。

5 薬物療法の適正化に貢献する分析科学

治療薬物モニタリング (therapeutic drug monitoring : TDM) は、有効血中濃度域の狭い薬物を投与する場合、薬物間相互作用が予測される場合や、用量と効果の関係が非線形を示す薬物を投与する場合などの、血中薬物濃度を厳密にコントロールする必要があるときに行われる。現在47種の薬物について、診療報酬(特定薬剤治療管理料)の算定が適用されている。

血中薬物濃度測定は、通常薬剤部や検査部で行われるが、得られた血中濃度を基にして処方設計を行う必要があるため、薬物に関する十分な知識を持った薬剤師の介入が不可欠である。当院における TDM 対象薬物を表1に示す。このうち下線で示した薬物については、薬剤部で血中濃度を測定した後、その結果を基に処方設計に関する提案を行っている。

5.1 感染症治療における当院での取り組み

細菌感染症が疑われた場合、まず、原因菌が未確定の

* high-alert 薬：誤投与をすると、患者の健康状態に対して死亡を含めた深刻な影響をもたらす可能性のある薬剤

表 1 東北大学病院における TDM 対象薬物

抗生物質 バンコマイシン アルベカシン アミカシン トブラマイシン テイコプラニン ポリコナゾール	抗不整脈薬 ジソピラミド メキシレチン ピルジカイニド	心不全治療薬 ジギトキシン ジゴキシン	抗てんかん薬 エトスクシミド クロバザム プリミドン フェノバルビタール クロナゼパム フェニトイン バルプロ酸ナトリウム カルバマゼピン ゾニサミド
免疫抑制薬 シクロスポリン タクロリムス シロリムス* ミコフェノール酸モフェチル*	抗がん剤 メトトレキサート		

*：特定薬剤治療管理料算定対象外

間は広域抗菌剤が投与され、原因菌の判明後に適切な抗菌剤に変更される。抗菌剤の有効性を規定する因子は薬剤の種類によって異なり、感染部位における薬物濃度や菌との接触時間、あるいは菌の感受性に依存するものがある。よって、血中濃度の測定は、菌の減少に有効な濃度か、あるいは副作用発現濃度に達していないかを確認するうえで重要であるばかりか、菌の耐性化を防ぐためにも不可欠となる。当院薬剤部では、抗メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA）薬であるバンコマイシン、テイコプラニン、アルベカシンの血中濃度を免疫測定法により測定している（図 3）。得られた測定値と患者の検査値や年齢等から、ベイジアン法³⁾⁴⁾に基づく統計学的解析ソフトを用いて、薬剤のポテンシャルを最大限に引き出すうえで適正な一日当たりの投与量ならびに投与回数を算出し、医師に提案している。

トリアゾール系の深在性真菌症治療薬ポリコナゾールは、広い抗菌スペクトルを示し、侵襲性アスペルギルス症の治療に有効とされているが、副作用として重篤な肝障害が現れることがあり、血中濃度と肝機能の異常発生率の関連が指摘されている。こうした背景から、2008年4月より特定薬剤治療管理料が算定されることになり、当院でも TDM を開始することとなった。そこで、当院薬剤部独自の HPLC 測定法を確立して⁵⁾、TDM を行ったところ、対象の 17 症例中で肝障害が疑われた 9 症例の血中濃度トラフ値は、1.7~10.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。このうち、血中濃度トラフ値が、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の 5 例につき、投与量の減量を提案したところ、3 例においてポリコナゾールの血中濃度の低下に伴う肝機能の回復が認められた。

5・2 移植医療における当院での取り組み

移植医療においては、拒絶反応を抑えるために一般に免疫抑制剤が用いられるが、強い副作用が現れるため、

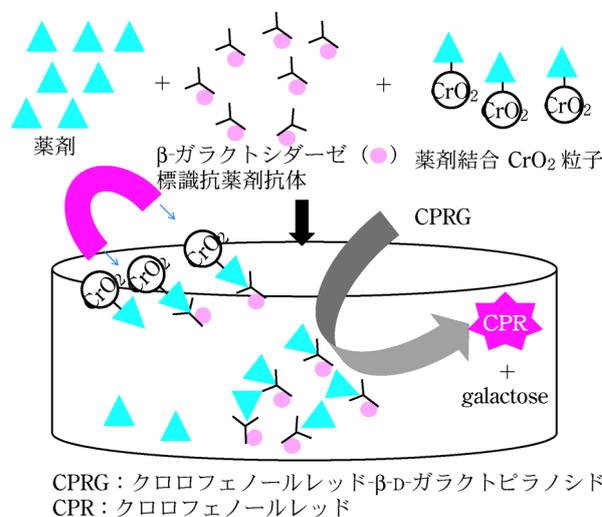


図 3 血中タクロリムス濃度測定法の原理

血中薬物濃度を厳密にコントロールする必要がある。通常、特定薬剤治療管理料は患者一人につき月 1 回算定されるが、免疫抑制剤の場合は移植後最初の一週間は 5 回、その後も週 2 回程血中濃度を測定する必要がある。当院で最も汎用される免疫抑制剤タクロリムスは、腎移植、肝移植、心移植、肺移植、膵移植などの臓器移植、および骨髄移植における拒絶反応の抑制目的で用いられるほか、移植片対宿主病の抑制、全身型重症筋無力症、関節リウマチ（既存治療で効果不十分な場合に限る）、ループス腎炎などにも用いられる。現在、当院では、抗原結合磁気粒子を用いた方法⁶⁾により、血中タクロリムス濃度を測定している（図 3）。本法は、 β -ガラクトシダーゼ標識抗薬剤抗体の抗原結合部位に対する薬剤と薬剤結合二酸化クロム粒子の競合反応を利用したものである。抗原-抗体反応が完結した後、磁力制御により、反応液中の未反応および抗体結合型の薬剤結合二酸化クロム粒子が系外に除去される。ここに、基質となるクロロフェノールレッド- β -D-ガラクトピラノシドを

添加すると、抗原-抗体複合体に結合した β -ガラクトシダーゼによって加水分解され、577 nm に吸収極大を有するクロロフェノールレッドが生成し、薬剤濃度を知ることができる。タクロリムスは、投与12時間後の血中濃度を測定しており、得られた測定値から患者ごとに適した投与量の調節を医師に提案している。

シロリムスは、細胞周期G1期に作用する国内未承認の免疫抑制剤(特定薬剤治療管理料算定対象外)である。本剤は、I型糖尿病患者への膵島移植を含む種々の移植治療後によく用いられるが、消化管潰瘍、白血球減少、血液凝固などの重篤な副作用が現れる場合があり、血中薬物濃度を厳密に制御するために精度の高い測定法が必要となる。当院では、当初、Suzukiら⁷⁾の開発したLC/ESI-MS/MS (liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry) による血中シロリムス濃度測定法を用いていたが、その後シロリムス測定キットが市販されたことから、現在は両者を併用してTDMを実施している。

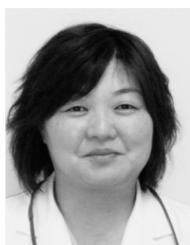
6 おわりに

本稿において、いくつかの臨床現場に貢献する分析科学的手法を紹介したが、上記以外に、がん化学療法の治療や診断に重要なバイオマーカー検査や、副作用回避のための薬物代謝酵素の遺伝子多型解析なども、全て分析科学を基盤としている。このように医療の進歩は、分析科学の発展によるところが大きいことから、今後の種々分析法の進歩に期待したい。

文 献

- 1) T. Notomi, H. Okayama, H. Masubuchi, T. Yonekawa, K.

- Watanabe, N. Amino, T. Hase : *Nucl. Acids Res.*, **28**, E63 (2000).
 2) K. Nagamine, K. Watanabe, K. Ohtsuka, T. Hase, T. Notomi : *Clin. Chem.*, **47**, 1742 (2001).
 3) L. B. Sheiner, S. L. Beal, B. Rosenberg : *Clin. Pharmacol. Ther.*, **26**, 294 (1979).
 4) D. Katz, S. Asen, A. Schumitzky : *Biometrics*, **37**, 137 (1981).
 5) 松本洋太郎, 上西智子, 佐賀利英, 山口浩明, 島田美樹, 眞野成康 : 第19回日本医療薬学会年会要旨集, p. 435 (2009).
 6) A. Freire, J. Hermida, J. C. Tutor : *Uppsala. J. Med. Sci.*, **113**, 103 (2008).
 7) N. Suzuki, T. Hishinuma, H. Yamaguchi, M. Sato, T. Kaneko, M. Matsuura, J. Goto : *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **32**, 289 (2006).



島田美樹 (Miki SHIMADA)

東北大学病院薬剤部 (〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1)。共立薬科大学卒。薬学博士。《現在の研究テーマ》臨床薬物動態学、薬物療法支援研究。



眞野成康 (Nariyasu MANO)

東北大学病院薬剤部 (〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1)。東北大学大学院薬学研究科修士課程修了。博士(薬学)。《現在の研究テーマ》臨床分析化学、プロテオミクス・メタボロミクスの基盤研究。《趣味》読書。

新刊紹介

一流ジャーナルから学ぶ 科学英語論文の書き方

平田光男 著

本書は、報告書や論文の構成を学ぶうえで参考になる英文を、信頼性の高い第一級の論文誌などから取り上げて、これを一部修正して和訳するとともに、その構文の解析と語句を解説している。例文は広範な研究分野から取り上げられているため、読者は優れた英文に数多く触れることができ、自然と英語のパターンが身についてくる。専門語句については和訳の参考

になるようにできるだけ示されていることから、専門分野でない英文についても十分な理解を得ることができる。これは本書が英文和訳よりも、英文パターンの解析と語句の使用に重点を置いているからであり、無理のないスタイルの英文が身につくように考えられたためである。本書は、論文誌の一般的な構成に基づいて、タイトル、要約、緒論、実験、結果・考察、結論、謝辞、参考文献などの項目に分かれていて、項目ごとに英文を具体的に解説している。これらのパターンを読者が実際に執筆する論文に活用することで、英作文が苦手な人でも自然と無理のない英文を執筆することができるようになる。本書は英作文に苦しむ理系学生や研究者にとって、自らの意思を確実に伝える英語論文を書くための参考書として活用できる。

(ISBN 978-4-7598-1434-7・B5変型判・263ページ・3,500円+税・2010年刊・化学同人)