

## 臨床研究

## 血清シスタチンC測定の有用性

—小児と成人における24時間クレアチンクリアランスと血清シスタチンCの比較検討—

The usefulness of measuring Cystatin-C in serum  
—Comparison of serum Cystatin-C and 24 hour creatinine  
clearance in Children and Adults—

金子 拓志 丸山 佐和子 大倉 和代 平野 有司  
芳賀 博子 小林 聡子 石川 直子  
斉藤 博司 原 光雅

Takushi KANEKO, Sawako MARUYAMA, Kazuyo OKURA, Yuji HIRANO,  
Hiroko HAGA, Akiko KOBAYASHI, Naoko ISHIKAWA,  
Hiroji SAITO and Mitsumasa HARA

## 要旨

血清シスタチンCは、糸球体濾過率（GFR）の低下を鋭敏に捉えると言われ、新しいGFRマーカーとして期待されている。抗腫瘍薬剤の多くや免疫抑制剤は副作用として腎機能障害があるため、常時腎機能をモニタリングすることが重要である。本研究の目的は、血清シスタチンCと24時間Ccrの関係から血清シスタチンCの有用性を検討することにある。その結果、24時間Ccrと血清クレアチニンとの相関は $r=-0.720$ であるのに対し、血清シスタチンCと血清クレアチニンとの相関は $r=-0.819$ となり、より強い相関が認められた。一方、小児での血清シスタチンCと24時間Ccrの相関は、 $r=-0.570$ で、成人ほどの相関は見られなかった。成人のROC分析では、血清シスタチンCは、血清クレアチニンやBUNに対し、曲線下面積（AUC）の有意差は認められなかった。また、24時間Ccr80ml/min/1.48m<sup>2</sup>未満を低下群としたときROC曲線から求めた血清シスタチンCの最適カットオフ値は、1.12m/Lとなった。AUCの有意差は認められなかったものの、基準値上限を境界値としたときの判別特性分析では、血清シスタチンCの感度が0.8611で、クレアチニンの感度0.5278の1.6倍となり、血清シスタチンCは、GFR低下早期のスクリーニングでより有用であると思われる。また、継続的に血清シスタチンCを測定した症例の中で、他のGFRマーカーに比べ、血清シスタチンC測定がより有用と思われる症例を経験した。以上のことから、GFRマーカーとしての血清シスタチンCの有用性を確認した。

## はじめに

抗癌剤、免疫抑制剤は腎毒性がある<sup>1)2)</sup>ため定期的な腎機能検査は重要な日常検査となっている。24時間Ccrは、腎の糸球体濾過率（GFR）を評価するための標準的な測定方法として使用されている。しかしながら、採尿の正確性、尿細管からクレアチニンの分泌による誤差<sup>3)4)</sup>など様々な問題点も古くから指摘され、特に乳幼児では正確な実施が困難である。

一方、GFRを推定するための内因性マーカーとし

て、血清クレアチニン、 $\beta$ 2マイクログロブリンが実施されている。しかし、血清クレアチニンでは筋肉量や性差、年齢、 $\beta$ 2マイクログロブリンでは免疫疾患などで血中濃度が変動するなど、腎前性の影響を受けることが問題とされている。

血清シスタチンCは分子量13 kDaの塩基性低分子蛋白で、糸球体濾過膜を自由に通過し、尿細管からほとんどが再吸収され分解される。シスタチンCは細胞内において一定の割合で産生されるハウスキーピングタイプの蛋白でシステインプロテナーゼに属

し、全身の有核細胞から産生され、精液と脳脊髄液では濃度が高いが、血漿中濃度では1才以降成人にいたるまで一定の範囲内に収まると言われている。血清シスタチンCの測定方法は従来専用機によるネフロメトリー法が主流であったが、今回我々は生化学自動分析用の汎用試薬で、成人および小児の24時間Ccrとの関係を中心に検討をおこなったので報告する。

### 対象および方法

24時間Ccrが実施された当院入院患者で、原病に腎疾患を伴わない成人106例、および当院小児科入院患者で24時間Ccrが実施された23症例91件の24時間Ccrと血清クレアチニン、血清尿素窒素 (BUN)、血清シスタチンCの測定と相関分析、判別分析、症例検討を行った。測定機器は日立7170型自動分析装置、試薬メーカーは、血清クレアチニンとBUNは、それぞれ(株)カイノスのアクアオートカイノスCRE-II、アクアオートカイノスUN-II、血清シスタチンCは、(株)アルフレッサファーマのネスコートGCシスタチンC (金コロイド比色) を使用した。また本稿における血清シスタチンCの基準範囲はメーカー参考正常値：男性0.63~0.95mg/L、女性0.56~0.87mg/Lと我々がノンパラメトリック法にて職員検診から検討した男性0.66~1.02mg/L、女性0.62~0.99mg/L (N=100) により0.62~1.0mg/Lとした。

### 結果と成績

#### 1) 成人の24時間Ccrと血清シスタチンC

24時間Ccrとの相関では血清クレアチニンが相関係数 $r = -0.720$ であるのに対し、血清シスタチンCでは相関係数 $r = -0.819$ 、また寄与率(決定係数 $R^2$ )が最大となる近似式は対数曲線となり、血清クレアチニンが $y = -0.553 \ln(x) + 3.18$ であるのに対し血清シスタチンCでは $y = -0.750 \ln(x) + 4.42$  (図1) となった。

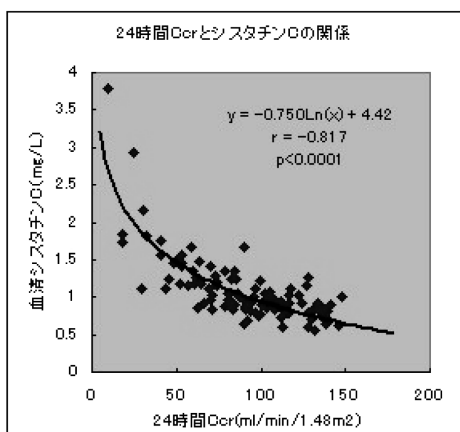


図1 24時間CcrとシスタチンCの散布図

次に両者の近似式を同一スケールでプロットすると血清クレアチンでは24時間Ccrが50ml/min/1.48m<sup>2</sup>以下にならないと基準値1.0mg/dl (男性) を越えないのに対し、血清シスタチンCでは24時間Ccrが90ml/min/1.48m<sup>2</sup>前後ですでに基準値を越える結果となった (図2)。このことは、血清クレアチニンのブラインド領域としてすでに知られているが<sup>5)</sup>標準的対照方法して知られるイヌリンクリアランスやチオ硫酸ナトリウムクリアランスではなく、24時間Ccrに対しても内因性マーカーとしての血清シスタチンCの優位性が確認された。

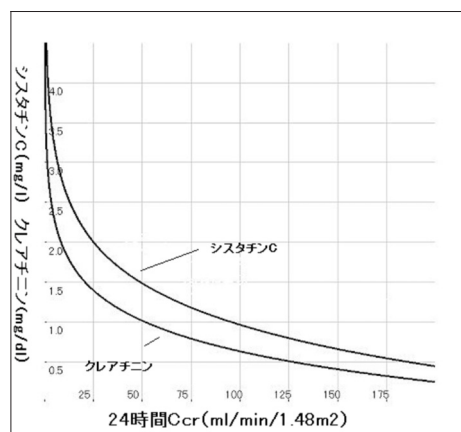


図2 血清クレアチニンと血清シスタチンCの24時間Ccrとの関係

#### 2) 24時間Ccr低下群に対する判別分析

つぎに24時間Ccrが80ml/min/1.48m<sup>2</sup>未満となったCcr低下群に対する血清クレアチニン、血清シスタチンC、尿素窒素 (BUN) について判別分析をROC曲線で行った。それぞれ判別率が最大となる最適カットオフ値はBUNでは16mg/dl、血清クレアチニンでは0.91mg/dl、血清シスタチンCでは1.12mg/Lとなった。(表1)

Hanleyの方法に基づいた台形公式での曲線下面積 (AUC) は、血清シスタチンCが0.890、血清クレアチニンは0.830、またBUNでは0.528となった。血清シスタチンCに対するAUC面積の有意差検定では、血清クレアチニンが $p = 0.2969$ 、BUNでは $p =$

	最適カットオフ値
BUN	16mg/dl
血清クレアチニン	0.91 mg/dl
血清シスタチンC	1.12mg/L

24時間Ccr 80ml/min/1.48m<sup>2</sup> 未満を判別

表1 ROC分布から求めたカットオフ値

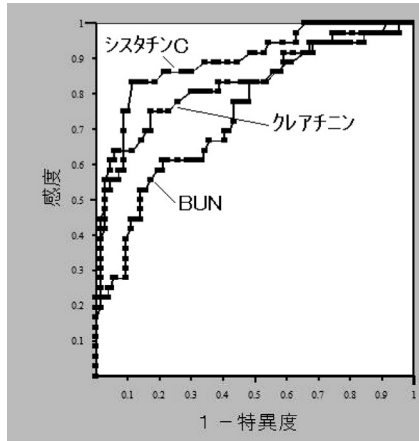


図3 シスタチンC, クレアチニン, BUNのROC曲線 (24時間Ccr80未満を低下群とした場合)

I シスタチンC (Cys-C)			II クレアチニン (Cre)			
	24時間Ccr			24時間Ccr		
	+	-		+	-	
Cys-C	+	31	19	+	19	2
	-	5	50	-	17	67

III BUN			
	24時間Ccr		
	+	-	
BUN	+	8	0
	-	24	69

	I	II	III
感度	86.11	52.78	25.00
特異度	74.46	97.10	100.00
陽性適中率	62.00	90.48	100.00
陰性適中率	90.91	79.76	74.19
オッズ比	13.32	37.44	
尤度比	3.13	18.21	

24時間Ccr(80未満+, 80以上-),  
 Cys-C(1.0以上+, 1.0未満-), BUN(2以上+, 2未満-)  
 \*女性はCre(0.9以上+, 0.9未満-)とした

図4 基準値上限を境界値とした場合の判別特性分布

0.0125と  $p < 0.01$ での有意差は認められないが、いずれの境界値 (24時間Ccr50~90ml/min/1.48m<sup>2</sup>)でも血清シスタチンCのAUCが最大となり、血清シスタチンCの判別能力が優位な傾向が見られた。

次に検査の診断的有用性評価の指標ひとつである判別特性分析を、基準値上限を境界値として行った (図4)。この図から基準値上限で、感度 (真の陽性率) は血清クレアチニンは52.78%であるのに対し、血清シスタチンCでは86.11%と高く、特異度 (真の陰性率) は、逆に血清クレアチニンが高い結果となった。この結果から、より感度が高い血清シスタチンC測定がスクリーニング検査として有用であると思われる。

血清クレアチニンが腎前性の影響を受けやすいことを先に述べたが、我々は低栄養状態で筋肉量が低下していると思われる症例の中で、特に血清シスタチンCが有用と思われる症例を経験した。(図5)

症例1: ALLの59歳女性で総蛋白が4.0mg/dl前後、低栄養状態と考えられ、長期入院で筋肉量も

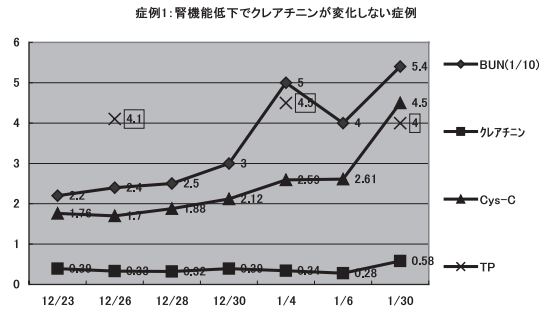


図5 腎機能低下時でクレアチンよりシスタチンCが有用と思われる症例

小児24時間CcrとシスタチンCの関係

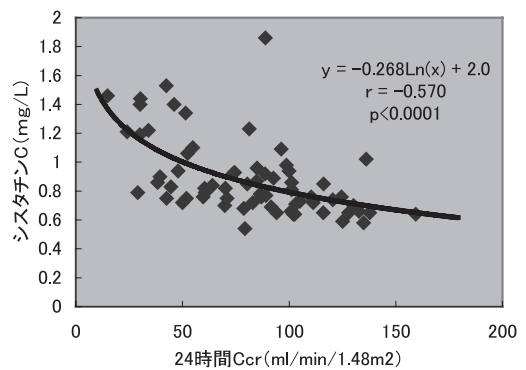


図6 小児24h Ccrと血清シスタチンC

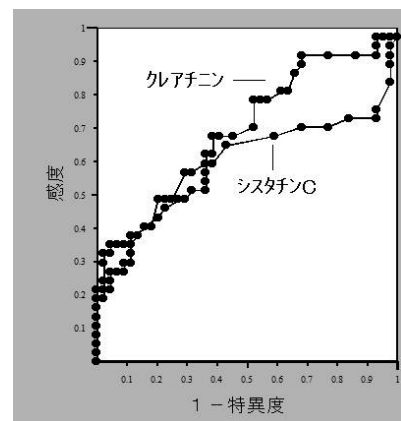


図7 小児のROC曲線

低下していると推定された症例で、図1の近似式より、血清シスタチンC (Cys-C) からすでにグラフの最初の時点で、24時間Ccrが50ml/min/1.48m<sup>2</sup>以下と推定される。このような症例は、血清クレアチニンだけで腎機能を推定することはできないと思われる。

### 3) 小児の検討

次に当院小児科入院中21症例91件の血清シスタチンCと24時間Ccrの散布図を示す (図6)。この

散布図では、24時間Ccrの正確な実施が困難である4歳以下のデータを除いてあるが、成人と比較するとばらつきが大きく相関係数は $r=-0.570$ となった。

さらに、成人と同様、24時間Ccrが $80\text{ml}/\text{min}/1.48\text{m}^2$ 未満を低下群としたときのROC曲線を示す(図7)。血清シスタチンCのAUCは0.6371、血清クレアチンのAUCは0.6409と成人と比較すると小さく、また両者の差もわずかであった。さらに両者にAUCでの有意差は $p=0.4777$ と認められなかった。

また、ROC解析での最適カットオフ値は、シスタチンCが $1.1\text{mg}/\text{L}$ 血清クレアチニンでは、 $0.49\text{mg}/\text{dl}$ となった。

#### 4) 小児時系列データの検討

今回検討した小児の入院患者で連続5回以上測定した時系列データ2症例を次に示す。

症例2は11歳女性で血清シスタチンCが常時 $1.2\text{mg}/\text{L}$ 以上と高く、一方24時間Ccrは常に $50\text{ml}/\text{分}$ 以下に低下し、継続的なGFR低下症例であると考えられた。血清クレアチニンは $0.8\text{mg}/\text{dl}$ 前後を維持しているが、患者の身長 $130\text{cm}$ から血清クレアチニンの基準値は $0.4$ 前後と推定され、血清シスタチンC、血清クレアチニン、24時間Ccrのいずれも、GFR低下所見となっている(図8)。

症例3は12歳男子で、5ポイント目からシスタチンCが徐々に上昇をはじめ、8ポイント目で24時間Ccrが $50\text{ml}/\text{min}/1.48\text{m}^2$ 以下に低下しているが、血清クレアチニンには大きな変化が見られなかった症例である。患者の身長は $143\text{cm}$ で血清クレアチニンの基準値は $0.43\text{mg}/\text{dl}$ 前後と推定されるが、血清クレアチニンは検討期間中常に $0.4\text{mg}/\text{dl}$ 未満であった。血清クレアチニン濃度は筋肉量が影響するが、本例は血清シスタチンCの継続的観察がより有用であると思われた。一方、症例3の8ポイント目で24時間Ccrは $50\text{ml}/\text{min}/1.48\text{m}^2$ 以下に急激に低下しているが血清シスタチンCは $1.0\text{mg}/\text{L}$ 未満となっている。今回検討した小児症例では、しばしばこのように血清シスタチンCが基準範囲内

症例 2

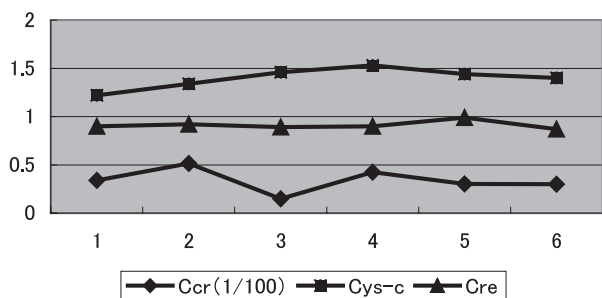


図8 シスタチンCが常に高い症例

症例 3

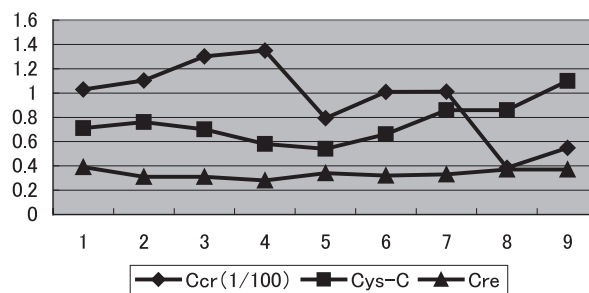


図9 血清シスタチンCが有用と思われた症例

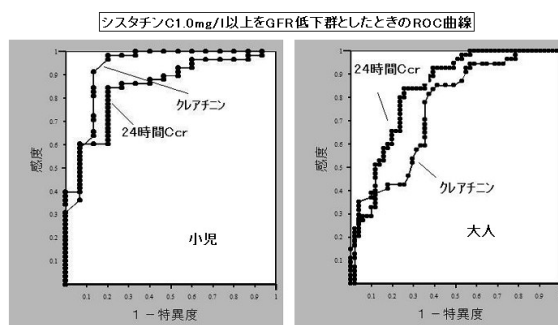


図10 シスタチンCを基準にしたときのROC曲線

であるにもかかわらず、24時間Ccrが低下しているケースや両者が乖離するものが観察された(図9)。

#### 考 察

今回我々は、成人および小児の24時間Ccrと血清シスタチンCを比較検討したが、その過程での問題点を少し考察したいと思う。

##### 1) 成人では血清シスタチンCと24時間Ccrは良好な相関が得られたが、小児ではばらつき、24時間Ccr低下群のROC分析においても成人のような傾向が認められない理由について

まず考えられることは、小児における正確な24時間Ccrの実施が困難である点があげられる。すなわち基準とするデータがばらついている可能性があるわけであるが、当院小児科に確認したところ、厳密に検査を実施しているということなので、その可能性は低いと思われる。次に考えられることは、小児の24時間Ccrが大人以上に変動が大きいのではないかとする事である。小児におけるクレアチニンの基準値推定方法は概ね身長(m)×0.3に近似するという報告がある<sup>6)</sup>。しかし、24時間Ccrの基準範囲についての報告は少ないのが現状である。そこで仮に血清シスタチンCの方をGFRマーカーの基準として、再度ROC分析を行ったのが(図



9) である。比較のために成人も同様に行った。その結果、成人では、正確さの期待値とされるAUCが、24時間Ccrで最も大きいのに対し、小児においては血清クレアチニンが、最もAUCの大きな方法となった。

成長段階である小児の場合、必然的に血清クレアチニン基準値は個々の患者で異なるが、今回の検討対象者では、多くが10歳前後で、身長も130cm前後の子が多く、基準値のばらつきが少なかったことが、この要因のひとつと考えられる。また、もともと真のGFRは測定が難しく<sup>8)</sup>さらに発達段階での小児におけるGFRの基準値のばらつきが大人より大きい(20~40%以上)と報告されている<sup>7)</sup>。以上のことから、基準とした24時間Ccrの測定レンジのばらつきが影響している可能性がある。

循環血液量が少なくクレアチニンの産生量も低い小児では、全身状態が血液中、尿中でのクレアチニン濃度により影響しやすいと考えられ、大人以上に基準範囲に大きな幅があると予想されるからである。さらに今回の検討では、成人の多くは入院時の検査として実施されている場合が多いが、小児ではいずれも難治性血液疾患であり、治療による様々な影響も考えられる。様態が変わりやすい小児の場合、24時間の蓄尿中での採血採尿のタイミングが問題になる。また本稿ではとりあげなかったが、今回の小児症例中1例、GFRの継時的変動が多く、またキロサイド投与後一時的に血清シスタチンCと血清クレアチニンおよび24時間Ccrの変化に乖離が見らる症例が観察された。甲状腺機能やステロイド剤など蛋白合成に関与するものは血中シスタチンC産生に影響するという報告<sup>9)</sup>があるが、今後さらに検討したい。

## 2) 血清シスタチンCの基準値について

今回我々は0.62~1.0mg/Lを基準範囲としたが、小児患者の検討中24時間Ccrと乖離するケースがしばしば見られた。基準範囲について生後1年以上はほぼ成人の値に近づき男女差も認められないと一般的に言われているが、生後3ヶ月くらいは高く、1歳以降は上限1.0mg/L前後となり、17歳くらいまでは個人差も認められるという報告がある<sup>10)</sup>。また体格が影響するという報告も見られる<sup>11)</sup>。一方男女差についても報告はいろいろあるが、我々の検討でも若干差がありそうな傾向である。

小児科の乖離例については、個人差としてもともと血清シスタチンCが低い場合も考えられるが、治療による影響も否定できない。今回の小児症例中、強い化学療法や免疫抑制剤などで一過性のGFR低下になる症例が認められたが、特に血清シスタチンCがステロイドなどの治療によって、あるいは

進行癌の悪性度の程度によって濃度が変動する懸念があることから、今後の臨床データを期待する報告がされている<sup>10)</sup>。そのような問題があるとしても、血清シスタチンCの継続的なデータ観察によって、GFRの低下を早期に検出することは可能だと思われる。

さらに、基準値について言及しておかなければならないのは、血清シスタチンC測定法は現在標準化されておらず、現在市販されている5~6社の試薬ではメーカーが変わると残念ながら測定値が変動するのが現在問題となっている。実際筆者の検討でも別の免疫比濁法(三菱化学ヤトロン社)では今回の検討試薬より、値が約20%程度低く測定されることを確認している。これらは系統誤差と考えられており、標準物質などの標準化で、どの試薬でも一致させることができると推測され、国際的な標準化の委員会が現在設置されている。

## おわりに

血清シスタチンCは2005年10月、腎機能障害が血清クレアチニンなどで疑われた場合、3ヶ月に1回という条件付きで保険収載された。GFRマーカーとしての血清シスタチンCは、特に感度の点で、血清クレアチニンより優れており本来はスクリーニング検査として実施が望まれる。シスタチンCの研究は20年以上前から行われ、GFRマーカーとしての評価は高く欧米ではすでにルーチン検査として導入する施設が多い。保険上の制約もあるので複数のGFRマーカーをうまく選択することがより重要であると思われる。このような状況下において、血清クレアチニンと血清シスタチンCの組み合わせの結果で評価をする試みもなされている<sup>12)</sup>。

また最近の研究では、冠動脈心疾患のリスクファクターとしての報告<sup>13)</sup>や、糖尿病、多発性骨髄腫の早期腎機能障害のマーカーとしても期待されている。さらに疾患との関わりにおいてシスタチンCの代謝そのものが現在注目されている。

当院は癌の専門病院であるが、24時間Ccrの実施が困難な重症患者、腎機能障害を伴いやすい化学療法患者、筋肉量の低下した高齢者、小児の悪性腫瘍患者など多く抱えている。このような施設では、新たなGFRマーカーとしての血清シスタチンCの有用性は今後ますます高まると期待される。

## 謝 辞

本研究にあたり、当院内科張高明先生、小児科浅見恵子先生、小川淳先生、渡邊輝浩先生、加藤智治先生ならびに検査部佐藤豊二先生に深謝する。

## 文 献

- 1) 河田健司, 佐々木康綱: 癌化学療法の功罪と将来への展望. 癌治療と宿主. 13(3): 11-13, 2001.
- 2) 宮崎淳, 河合弘二: 腎臓障害. 日本臨床. 61(6): 973-976, 2003.
- 3) Ganong WF, 岡田泰伸訳: 医科生理学展望. 20版. p732. 丸善. 2002.
- 4) Berne RM, Levy MN, 坂東武彦, 小山省三監訳: 基本生理学. p350. 西村書店. 2003.
- 5) 下条文武, 風間順一郎: シスタチンC (GFRマーカー) . 検査と技術. 29(9): 119-1121, 2001.
- 6) 早川英樹, 早川登, 新海佳子, 他: 小児の血清クレアチニン値 (酵素法) の検討. 医学検査. 53(11): 1285-1289, 2004.
- 7) 矢内充, 上原由紀: 糸球体濾過量 (GFR) の評価. Med Technol. 33(12): 1301-1304, 2005.
- 8) Gretz N, Schock D, Sadick M., et al: Bias and precision of estimated glomerular filtration rate in children. Pediatr. Nephrol. 22(2): 167-169, 2007.
- 9) Westhuyzen J.: Cystatin C a promising maker and predictor of impaired renal function. Ann Clin Lab Sci. 36(4): 387-94, 2006.
- 10) Newman DJ: CystatinC. Ann Clin Biochem. 9: 89-104, 2002.
- 11) Macdonald J, Marcora S, Jibani M et al: GFR estimation using cystatin C is not independent of body composition. Am J Kidney Dis. 48(5): 842-843, 2006.
- 12) 富野康日己: 血清シスタチンCの測定. Med Technol. 4(7): 737-741, 2006.
- 13) Ix JH, Shlipak MG, Chertow GM et al: Association of Cystatin C With Mortality, Cardiovascular Events, and Incident Heart Failure Among Persons With Coronary Heart Disease. Data From the Heart and Soul Study. Circulation. 15(2): 173-179, 2007.