

■ 要旨

臨床検査は、患者の病態を科学的・客観的に調べ、診断に必要なデータを提供する業務の総称である。

臨床検査を構成する各種計測・分析技術の分野で、重要なブレイクスルーが19世紀後半から20世紀前半に次々と成し遂げられ、今日の検査技術の基礎が打ち立てられた。ただし、患者一人一人に臨床検査が施されるようになるのは、事実上、第二次大戦後からである。特に我が国では、欧米からの技術情報の流入が戦前・戦中に殆ど途絶えていた影響で、戦後の医療水準は、アメリカとは10年以上の技術格差があった。それでも1950年代後半には多くの病院で臨床検査が日常的に実施されるようになり、1970年代には多くの機器、試薬が国産化されるようになった。さらに1980年代になると、いくつかの分野で日本独自の製品が生まれ、国際的にも活躍するようになっていった。検査項目も、CTや超音波などの画像診断や、ウイルス検査や腫瘍マーカーなどの免疫測定法の新分野で発展・拡充が進み、医療を大きく変える役割を果たしてきた。

なかでも血液を検体とする検査は、事実上1950年代からようやく実用化が始まった検査群で、X線などに比べむしろ遅いスタートと言えるが、その発展はめざましく、500床クラスの病院の検査数は、この60年間で年間約2万件から200万件へと、100倍もの拡大を果たした。検査対象項目数、すなわち分析される物質の種類の数も、今日では保険収載項目だけで約600種類を数え、測定感度はサブpg/mLレベルに達している。臨床検査のこうした飛躍的な発展を支えたのが、病院とそのスタッフ、および試薬・機器メーカーの協働作業であり、投入された数々の新技術であった。

本調査では、臨床検査を構成する基幹技術の、出発点となったブレイクスルー以降の系統的発展と、戦後の急激な検査数拡大を担ってきた新規検査分野の創成、装置試薬の技術革新のあらましを、技術の流れを追って明らかにする。

臨床検査を構成する技術については、ともすれば、病気のメカニズムの一端を明らかにする測定原理、および臨床意義に関心が集中しがちである。しかし、これはいわばミクロの視点であって、日常的に膨大な件数が実施される臨床検査の実態を踏まえて技術を理解するには、病院運営や医療経済、そして検査のための機器・試薬を製造する企業活動の産業としての評価など、マクロな視点が欠かせない。従って、努めてマクロな視点からの技術の特徴、評価についても言及した。

以上のような観点を踏まえ、本報告書は、次のような構成を取っている。

第1章：はじめに	調査研究の範囲、取り組み方針の説明
第2章：臨床検査とは何か	医療現場、診療報酬、検査関連ビジネスなどの観点での分析
第3章：検査技術の種類・歴史	細菌細胞観察、画像観察、物理計測、成分分析という4つの柱に基づく技術系統化解析
第4章：臨床化学	血液成分の分析、項目拡充の歴史、発展を支えた周辺環境
第5章：自動分析機	臨床化学、生化学の自動測定装置・試薬技術との相互発展経緯 自動血球計数装置の進化
第6章：免疫測定法	抗原抗体反応に基づく高感度測定法の発達の歴史
第7章：免疫測定法の自動化	ラテックス凝集法、化学発光法の自動化技術
第8章：高感度測定項目	ホルモン、肝炎ウイルス、腫瘍マーカー分野と、その他大型製品
第9章：検体検査周辺動向	検査の標準化、診療報酬の変遷、コンピュータ化
第10章：今後の動向と考察	検体検査の問題点と今後の方向性、日本の貢献に関する考察

第2章と3章では、臨床検査全般の技術系統の動向を、4つの柱としての展開と位置づけて分析した。第4章から9章では、検体検査を中心とした検査技術が、臨床化学、生化学、免疫測定法と、高感度化、高性能化を果たしていった様相について解析し、系統化を試みた。そして、第10章で、検体検査技術の直面している問題について分析し、私見を述べた。また、日本の研究者や企業が、臨床検査技術の発展に果たしてきた役割についてまとめた。

■ Abstract

Clinical examination is a generic term for the practice of scientifically and objectively examining the patient's condition and providing the data necessary for diagnosis.

From the second half of the 19th century right up to the Second World War, a succession of important breakthroughs was achieved in the field of the analytical technologies and measurement methodologies constituting clinical examination that ended up establishing the foundations of today's testing technology. However, it was not until after the Second World War that clinical examination became available for every patient. In Japan, in particular, due to the difficulty of using technical information from Europe and the United States before and during the war, immediately post-war Japan found itself more than a decade behind the United States in technology. Nevertheless, starting in the late 1950s, clinical examinations were routinely implemented in many hospitals, and in the 1970s, a wide range of instruments and reagents were domestically produced. In addition, in the 1980s, Japan managed to create a number of unique products in several fields which became widely used internationally. Test items have expanded and been enhanced as a result of emerging fields of imaging diagnostics such as CT and ultrasound and immunoassays such as virus testing and tumor marker testing. These new and expanded test items have had profound impacts on medical care.

Of these new developments, laboratory testing using blood as a specimen is an examination group which was effectively in use back in the 1950s. While certainly a late starter compared to X-ray technology, its development has been remarkable. Over the past 60 years, the number of annual tests in hospitals with around 500 beds has expanded a hundredfold, from about 20,000 to 2,000,000. Today, the number of items to be tested (the number of different substances to be analyzed) is some 600 items even restricting them just to the health insurance reimbursement list, and measurement sensitivity has reached the sub pg/mL level. Behind this dramatic expansion of clinical examination has been the collaboration between hospitals and their staff, and reagent/equipment manufacturers, not to mention the number of new technologies incorporated.

In this survey, we investigated the following while tracing technological trends: the systematic development of those core technologies which constitute clinical examinations along with the technical breakthrough that formed the starting point, the creation of a new examination field that has been responsible for rapidly expanding the number of laboratory tests after the war, and an overview of the technological innovation of laboratory testing instruments and reagents.

In terms of clinical testing technologies, in general too much attention is focused on the measurement principle that clarifies part of the disease mechanism and its clinical significance. However, this is a rather narrow viewpoint: in consideration of the fact that a massive number of clinical examinations are carried out daily, in order to understand the technology it is also essential to have a broader perspective, looking at such areas as hospital operation, medical economics, and also evaluate the business activities involved in the manufacture of test reagents and equipment as an industry. Therefore, consideration was paid to discussing the characteristics and evaluation of clinical examination technologies from a macro viewpoint.

In consideration of this, the structure of this report is as follows.

Chapter 1: Introduction

Scope of the research, research direction.

Chapter 2: About clinical examination

Analysis in terms of medical settings, medical fees, examination-related business, and so on.

Chapter 3: Types and histories of clinical examination technologies

Technical systematization analysis based around four pillars: bacteria & cell observation, diagnostic imaging, physical measurement, and component analysis.

Chapter 4: Clinical chemistry

Analysis of blood components, history of item expansion, and the environment that supported this development.

Chapter 5: Automated analyzer

The mutual development of automated measurement devices and chemical/biochemical reagent technology, and the development path of automatic blood cell counters.

Chapter 6: Immunoassay

History of development of the highly-sensitive assay method based on the antigen-antibody reaction.

Chapter 7: Automated immunoassay

Latex particle agglutination immunoassay and chemiluminescent immunoassay automation technology

Chapter 8: High-sensitivity examination items

Hormones, hepatitis virus, tumor markers, and other major items with large sales.

Chapter 9: Trends in clinical testing environment

Standardization of clinical testing, transition of medical fee reimbursements, computerization

Chapter 10: Future trends and discussion

Problems and future trends of clinical examination, and a discussion of Japan's contributions in this area.

In Chapters 2 and 3, trends in the technical lineage of general clinical examinations were analyzed as a development of the four pillars. In Chapters 4 to 9, an attempt at systematization was made by analyzing the aspects of examination technology focused on specimen examination that progressed in capability from clinical chemistry, to biochemistry, to immunoassays, gaining higher sensitivity and performance. In Chapter 10, problems faced by the specimen testing technology were analyzed, and the author's opinions offered. The roles that Japanese researchers and companies have played in the development of clinical testing technology were also summarized.

Profile

伊藤 道雄 Michio Ito

国立科学博物館産業技術史資料情報センター主任調査員

- 1973年 東京工業大学理学部化学科卒業
1975年 東京工業大学理工学部大学院修士課程卒業
三菱化成工業(株)入社中央研究所配属
1990年 米国セラダイン社出向
1994年 三菱化成工業(株)診断事業部マネージャー
1995年 三菱化学(株)総合研究所診断システム研究所長
1998年 三菱化学(株)診断事業部技術担当マネージャー
2001年 (株)ユカ・メディアス筑波センター長兼製造部長
2003年 (株)三菱化学ヤトロン学術開発部長
2004年 (株)三菱化学ヤトロン取締役研究開発部長
2007年 (株)三菱化学ヤトロン常務取締役八千代事業所長
社団法人日本臨床検査薬協会理事(-2009年3月)
2009年 (株)三菱化学メディエンス理事役
2010年 (株)三菱化学メディエンス退任

Contents

Table with 2 columns: Chapter/Section and Page Number. Includes items like 'はじめに', '臨床検査とは何か', '臨床検査技術の種類と歴史', etc.

1 | はじめに

患者が病気で医者にかかると、医者は患者の訴えを聞き、患者の身体所見を様々な見地、角度から調べ検討する。これが診察と呼ばれるステップである。医者は、診察に基づいて病気が何であるか、どの程度かを診断し、治療方針を決める。治療は診断なしでは成り立たないので、診察は一連の医療行為の中でも大変重要なステップである。

診察では様々な技術が駆使される。患者の主訴の理解、身体の外見、皮膚所見、発熱、脈拍、呼吸、触診などで患者の状態を把握する事は、大昔より広く行われてきた。更に、尿、糞、痰などの排泄物の観察や、初歩的な用具による口、鼻、耳、のどなどの体内観察も行われ、時代と共に進化してきた。これらは、今日でも診察の基本となる重要な技術である。しかし昔の技術は数値のような客観的指標に乏しいため経験の集積の域を出られず、師から弟子への口伝で、技術が継承された時代が長く続いた。

こうした状況は、近世、科学的な観察のための道具が次々に発明され、大きく変貌を遂げた。17世紀に顕微鏡が発明されると、これを用いて血球や細胞、微生物の発見がなされた。さらに19世紀末には、炭疽病や結核などの病原体細菌が発見され、細菌により感染症が発症するという、病気における因果関係が科学的に明らかにされ、診察技術は新たな段階を迎える。即ち、科学的観測に裏打ちされた客観的で再現可能な観察が、従来の経験主義的診察技術を補い、あるいはとって代わるようになったのである。

同様の変化は、科学の夜明けと共に他の分野にも波及し、聴診器や体温計等の物理的計測手段が発達した。中でも特筆すべきは、1903年の心臓が発する微弱電流の計測の成功であった。これが後に心電図の開発につながり、身体内部で起こっている現象を、全く新たな視点から解析する道を開いた。

また、1895年、物理学研究での陰極線管実験の際に、偶然発見されたX線とその人体透過像は、身体を傷つけずに体内観察する道を開き、後のCT等、今日も発展し続ける画像診断の一大分野を形成するに至った。

そして、物理学と並ぶ科学の大きな分野である化学の進歩は、生物や人体の構成成分の分析、定量を可能にし、各種分析技術が相俟って、生体成分の分析・定量技術を医療に生かす道筋が開けていった。

以上、初期の診察技術から発展したこれらの測定技術は、今日では総称して「臨床検査」と呼ばれるようになった。これら発展の変遷を振り返ってみると、「細菌・細胞観察」、「物理計測」、「画像観察」、「成分分析」という4つの柱の上に展開してきたことが分かる。19世紀以前の素朴な患者観察の技術が、科学の勃興・発展に支えられ、こうした大きな分野へと成長したのである。

こうした臨床検査の技術系統化を扱うに当たり、本調査報告では、次の方針で臨むこととした。

- (1) 臨床検査を構成する、各種計測技術そのものに注目し、それらの技術系統化としてとらえる。検査結果の診断的意義、意味付けについては、原則、計測技術の説明に必要な範囲に止める。
- (2) 計測技術群を、「細菌・細胞観察」、「画像観察」、「物理計測」、「成分分析」という4つの柱を構成する視点でとらえる。
- (3) 計測を可能とする機器や試薬は「製品」である。従って、技術系統化には、これらを開発製造する企業での努力や事業としての展開の歴史についても、重要な対象として取り組む。
- (4) 技術の系統化研究事業が始まって15年になるが、臨床検査関連のテーマは、今までX線CTの1件のみであることから、まずは「臨床検査」を理解してもらい報告を目指す。そのため、臨床検査の中核を成す血液を試料とする検体検査に止まらず、広く主要検査群を構成する技術系統の関係性を明らかにする。

また、報告書執筆に当たっては、第二次大戦後の臨床検査が実現した驚くべき発展とそのエネルギーを、出来るだけ感得できるような構成を心がけ、個々の技術の羅列に陥らないように心がける事とした。

2 | 臨床検査とは何か

第1章で、臨床検査が、診察技術にルーツを持つ、医療行為の一分野であることを説明した。しかし、臨床検査がどういうものであるか、正しく説明できる人は、あまりいないのではないだろうか。臨床検査は、医療目的で行われる種々雑多な試験の総称であるが、一般には医療における一つの概念的な存在に止まり、明瞭な実体として把握、認識されているとは言えないように思う。

そこで、臨床検査の技術論に入る前に、本章では、臨床検査全般に対する理解を進めるため、以下の観点から臨床検査の特徴を検討する。

- ① 患者と医師の診療場面
- ② 検査費用支払いの仕組みの面
- ③ 病院運営面
- ④ 臨床検査関連ビジネスの面

2.1 診療と臨床検査

病気に苦しむ患者が、初めて医師の診察を受けると、医師は、患者の問診や観察で、暫定的な診断を下し、次に、その暫定診断を検証するために必要な各種検査をオーダーする。体温とか血圧などの一般的検査は、受診前に一律に行う施設も多い。一般の医院では、大がかりな機器は要らずにその場で出来るインフルエンザ検査や心電図検査などは、医者や看護師自らが行うが、血液検査やX線CTのような、試験に数

千万円～数億円もかかる大型装置が必要な試験は、専門業者へ外注するか、あるいは患者自身を、そうした設備の充実している大病院へ紹介している。

図2.1は、こうした診療における診察、検査、治療の関係を説明している。検査の結果から、病名や病気の程度を判断し、さらに患者の状態を考慮して、医師は診断を下し、治療方針を決定する。治療を始めて適当な時期に治療効果を確認して、更に追加の検査や、治療の継続が必要か否か判断する。

検査のうち、患者の身体の機能を直接計測評価するのが生理検査で、通常比較的簡単な計測用の医療機器を用いて、診察室、あるいは専用の検査室で行われる。

検体検査とは、患者の身体や排泄物の一部を採取して、別途分析するもので、血液と尿の検査が最も頻繁に行われる。通常、診察室とは別の、専用の臨床検査室あるいはラボ（実験施設）で行われる。

画像検査は、超音波の小型装置以外は、レントゲン、CT、MRIなど大型装置を用いるものが多いので、中規模以上の病院の専用の設備で行われることが多い。

図2.2は、血液検査の検査結果の例である。医院から外注に出された血液の検査結果は、このような形で、それぞれの項目の検査結果が示され、正常か、異常か判断される。今日では、医師が検査結果、診断の根拠について、出来るだけ患者に納得のいくよう説明することが求められているので、患者がこのような検査結果用紙を目にする機会も増えた。ここに示されて

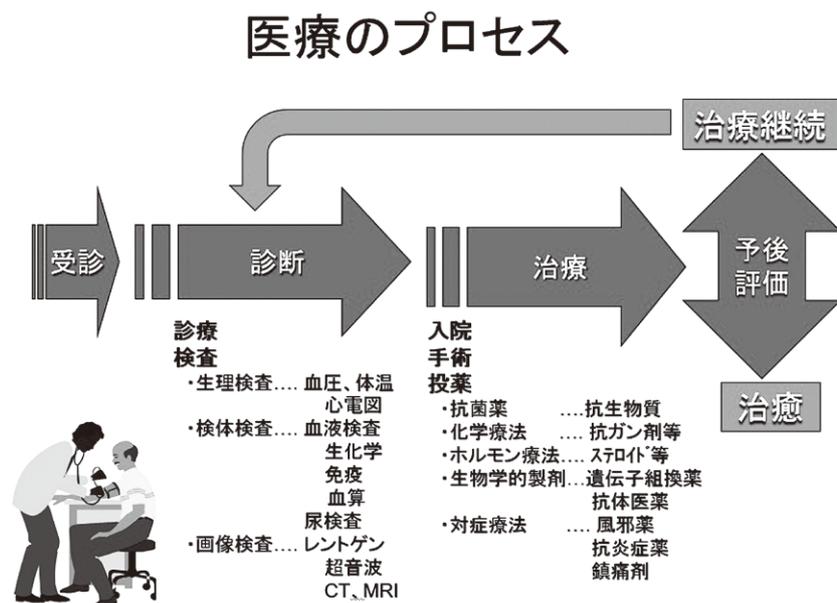


図 2.1 医療ののプロセスにおける検査

No. 1 総合検査報告書					血液検査				
生化学					血液学				
コード 356500-74 受付番号 02822 医療機関名 殿 氏名 様 男性 カルテ号 才 入力事項 皮膚科 外来 受付日 09年 8月26日 報告日09年 8月26日					コード 356500-74 受付番号 02822 医療機関名 殿 氏名 様 男性 カルテ号 才 入力事項 皮膚科 外来 受付日 09年 8月26日 報告日09年 8月26日				
コメント: 弱乳ビ					コメント:				
検査項目	測定値	付加	基準値	保点	検査項目	測定値	付加	基準値	保点
総蛋白 (T-P)			6.5 - 8.3 g/dl		白血球数	6000		3600-9000/μl	22
アルブミン			3.8 - 5.3 g/dl		赤血球数	517		400-560万/μl	
尿素窒素 (BUN)	18		8 - 20 mg/dl	11	ヘモグロビン量	15.2		13.0-18.0 g/dl	
尿酸 (UA)			7.0 mg/dl以下		ヘマトクリット	47.3		36.0-53.0%	
クレアチニン	0.83		0.60-1.10 mg/dl	11	M C V	91.5		77-104 fl	
総コレステロール			130-219 mg/dl		M C H	29.4		25.0-37.0 g	
中性脂肪 (T-G)			50-149 mg/dl		M C H C	32.1		30.0-38.0%	
HDLコレステロール			40-80 mg/dl		血小板数	22.4		11.0-34.0万/μl	
T T T			0.0-4.0 U		血液像				18
Z T T			4.0-12.0 U		Neutro	46.2		40.0-73.0%	
総ビリルビン			0.2-1.1 mg/dl		Lympho	41.0		20.0-50.0%	
直接ビリルビン			0.0-0.4 mg/dl		Mono	5.2		2.0-8.0%	
A S T (GOT)	33		10-40 IU/l	17	Eosino H	6.9		0.0-6.0%	
A L T (GPT)	44		5-45 IU/l	17	Baso	0.7		0.0-2.0%	
L D H	234		115-245 IU/l	11	赤血球所見 大小不同	(-)		(-)	
A L P	144		104-338 IU/l	11					
γ-GTP	34		0-73 IU/l	11					
コリンエステラーゼ			235-494 IU/l						
血清アミラーゼ			41-112 IU/l						
CK			50-240 IU/l						
ナトリウム (Na)			135-147 mEq/l						
クロール (CL)			98-108 mEq/l						
カリウム (K)			3.5-5.0 mEq/l						
カルシウム (Ca)			8.4-10.3 mg/dl						
血糖			70-109 mg/dl						

図 2.2 血液検査項目

図左の表は、生化学項目、すなわち血液の液体部分（血清）に含まれている成分項目の定量結果を示す。

図右の表は、血液の血球部分の分析値で、赤血球の個数、ヘモグロビン含有量から計算した各種赤血球パラメータと、白血球と血小板の種類別個数を示している。

いる試験結果は、それぞれの項目について、個別に分析定量した結果である。後述するように、今日では、自動分析装置が発達しているため、こうした個別項目の試験の組みあわせの場合でも、生化学、血液それぞれが全自動で検査が行われている。

2.2 検査項目と検査費用

医師は、医師の責任においてどんな検査も行うことができるが、検査に要した費用は、厚生労働省が保険償還の対象として認可した検査を行った時のみ、健康保険から支払われる。支払われる金額は、検査に認められた保険点数の10倍で、患者は、その3割を個人負担として支払わねばならないしくみとなっている。保険償還対象外の試験では、全額患者の負担となる(2016年現在；75歳以上の後期高齢者は別制度)。

検査の種類、項目数は非常に多い。表 2.1 に、平成28年度の健康保険の対象となる検体検査及び画像診断の検査の種類と項目数をまとめた。

保険償還の対象となる項目はすべて、厚生労働省に、検査方法、検査の材料や使用機器、検査の用途・適用症、場合によっては臨床試験結果、等々の詳細な

表 2.1 各種検査法と項目数

(引用文献 1) の内容を集計)

検査項目	項目数
第3部 検査	
第1節 検体検査料	
第1款 検体検査実施料	
(尿・糞便等検査)	60
(血液学的検査)	60
(生化学的検査(I))	119
(生化学的検査(II))	135
(免疫学的検査)	234
(微生物学的検査)	49
(基本的検体検査実施料)	2
第2款 検体検査判断料	8
第2節 削除	
第3節 生体検査料	
(呼吸循環機能検査等)	47
(超音波検査等)	20
(監視装置による諸検査)	34
(脳波検査等)	18
(神経・筋検査)	15
(耳鼻咽喉科学的検査)	33
(眼科学的検査)	48
(皮膚科学的検査)	1
(臨床心理・神経心理検査)	9
(負荷試験等)	25
(ラジオアイソトープ諸検査)	7
(内視鏡検査)	39
第4節 診断穿刺・検体採取料	50
第4部 画像診断	
第1節 エックス線診断料	16
第2節 核医学診断料 (シンチグラム、ポジトロン)	13
第3節 コンピューター断層撮影診断料 (CT、MRI)	12

科学的データを付与して申請され、審査を受け、認可された項目である。従って、保険償還を受ける項目として認定されるには、相当の手間・時間と、それを支える資金、そして薬事手続きに関する十分な知識が必要である。

検査を実施する医療機関は、要した経費すべてをこの償還金額から捻出しなければならない。また、検査に使用する試薬や装置は、医薬品、医療機器として申請・認可されたものを使用しなければならない。

例として、図 2.2 の検査を見てみよう。検査項目の基準値の右側に、保点（保険点数の略）というカラムがあり、左側の生化学には 17 点が 2 つ、11 点が 5 つある。右側の血液学では、22 点と 18 点があり、合計 129 点になる。他に静脈血採取料として 25 点が加算され、合計 154 点となるので、検査の経費として請求が認められるのは、1,540 円となる。この 1,540 円の中から、血液採取の注射針と採血管、および採血に要する人件費と、検査の外注費を支払い、それが 1,540 円以内になれば、検査を実施した医院に利益が残る。医者にはこれとは別に、生化学 125 点、血液学 144 点の判断料（月 1 回）の加算が許されているので、別途 2690 円の収入がある。患者はこれらの合計 4,230 円の 3 割、1,269 円を支払い、残りは健康保険組合が負担する事になる。また、検査を受注した検査会社は、受注金額（保険による支払い合計 1,290 円以下が目処）の中で、試料の血液の運搬料、検査用試薬料、検査装置のランニングコストと減価償却分、さらにこれら作業に従事する従業員の人件費等のコストを負担しているわけである。項目によっては、コスト高になるので、検査会社が項目の保険点数以上の金額を、発注者（医者）に請求する場合もある。

このように、医療行為の対価については、保険点数制度によって厳格に決められているので、一種の統制経済市場といえる。使用される診断薬、医療機器そのものの価格が統制されている訳ではないが、市場競争原理の働きにくい市場といえる。

また、保険償還が約束されている以外の検査を実施しようとする、健康保険適用外となり、保険外診療ということで、その検査だけでなく、関連した医療行為すべてが保険償還の対象外となるため、患者に請求される金額は高額となる。そのため、非承認検査を行うのは、実際にはきわめて難しい。言い換えれば、保険償還が認められない検査用装置や試薬は、事業的には成功する可能性はほぼ無いと考えて良い。

一方、同じ内容の検査ながら保険償還の対象外となる場合がある。具体的には次のようなものがある。

- ① 予防医療： 予防は保険の対象外。具体例としては、定期健診や、人間ドックなど。
 - ② 妊娠出産： 正常な妊娠・出産は病気ではないため。
 - ③ 新薬の臨床試験や、臨床研究目的での検査。通常の医療ではないため、保険償還の対象外。
- ④ OTC(一般用)検査： 薬局(Over The Counter)で購入して、自分で行う検査。医者が直接関与しないので、医療行為でない。
 - ⑤ 健康増進目的の検査： 今日、多くがコンビニないしは郵送ベースで運営されているもの。

一部、医薬品や医療機器・用具の認可を得ていないものもある。

いずれも費用は自己負担となるが、①、②は病院、医院で実施するもので、状況によっては医療に認められ、保険適用されるか、あるいは何らかの補助が受けられる場合も少なくない。③は病院で医師の監督下で行われるが、治療目的ではないので、保険適用外となる。そもそも臨床試験段階の検査項目には保険点数がない。それに対して④、⑤は、医師の目の届かないところでの検査であり、受診者はリスクに対する自己責任を求められる一方、事業者は、いわゆる保険行政の枠から離れたビジネスモデルを展開する余地があるわけで、やりようによっては保険適用外の検査、装置、試薬が、事業として成立する可能性がある。例えば、高額所得者向け人間ドックなど、今後新しい市場を形成すると期待する意見もあり、注目されている。

2.3 病院の臨床検査部

次に、臨床検査が病院でどのように運営されているのか見てみる。図 2.3 は東京済生会中央病院の診療科の案内図である。これを見ると、病院の診療機能が、組織としてどう構成されているかよく分かる。

同病院は、病床数 535 床を数える、都内の代表的病院の一つで、他の大病院の多くも、大体同様の組織構成をしている。病院を訪れる患者は、病気に応じた診療科を受診することになるが、この図の中の「中央部門」は、患者が初診段階から直接には訪れることのない部署で、この中の放射線科、臨床検査医学科、病理診断科が、臨床検査を担当している部署である。放射線科は名の通り、X 線、γ 線など、放射線を使用する医療行為を担当し、診療放射線技師という専門職がこれに当たる。放射線は用いないが、画像診断という



図 2.3 東京済生会中央病院の診療科構成²⁾

(同病院のご厚意により掲載)

共通した技術を扱う MRI や超音波診断も扱っている。臨床検査科は血液や尿などの人の身体から採取した検体の分析を主業務とし、生化学自動分析計、自動血算計、免疫化学測定装置などの機器を駆使して何百という項目の分析を行っている。臨床検査科と病理組織科は、臨床検査技師が業務を担当している。各診療科に付属する検査室にも臨床検査技師がいて、循環器科の心電図計、呼吸器科の呼吸器計（スパイロメーター）など、それぞれの診療科の主要な検査に携わっている。他の専門職とオーバーラップする職域として、臨床検査技師は、採血、超音波、MRI 検査も担当することが出来る。このように、病院においては、検査は医師や看護師ではなく、診療放射線技師、臨床検査技師の担当となっている。この2つの技師資格は、いずれも国家資格であり、取得には専門学校を修了し、試験に合格する必要がある。業務を担当するのに技師資格が必須ではないが、近年は病院の検査部門は慢性的就職難の状況にあり、資格保有者以外が就職するチャンスは事実上ないといって良い。

それでは、診療放射線技師、臨床検査技師は、病院に何人いて、検査数はどのくらいあるのか。表 2.2 にネット上にデータを公開している3病院のデータを示す。大学病院では、講座システムの関係で、一般病院より医師の数がかなり多めになるが、どの病院でも

総スタッフ数の7-10%程度の検査技師が就業していると思われる。患者の見えないところで、かなりの数の職員が、こうした機能を支えている。検査の件数については、大分大学医学部附属病院が公開しているので、技師一人当たりの検査数を概算すると、同病院の検査技師比率を他の病院並みと仮定して、1人あたり

表 2.2 病院規模と医療スタッフ数および検査数

	大和市立病院 (H26)	慶應義塾大学病院 (H25)	大分大学医学部 附属病院(H26)
	(臨時、非常勤除く)	(研修医除く)	
病床数	403	1,044	618
外来患者数(延数)	265,835	797,263	245,222
医師	78	812	141
看護師	321	964	659
薬剤師	20	91	142
診療放射線技師	16	77	
臨床検査技師	18	124	32
その他医療技術員	23	130	
事務員	36	215	106
その他労務員	9	124	32
職員合計	521	2,537	1,080
放射線技師+ 臨床検査技師	34	201	
臨床検査担当合計%	6.5	7.9	
画像診断検査数			105,327
臨床検査件数			2,878,875
データ揭示サイト (2016.7.9参照)	http://www.yamacity-mh.jp/about/data/	http://www.hosp.keio.ac.jp/about/data/	http://www.med.oita-u.ac.jp/hospital/toukei.html#8

X線やMRIなどの画像試験で1日10件、臨床検査の検査数で日に300件程度を担当していることになる。検査業務は24時間体制のシフト制を敷いているので、休みの技師がいることを考慮すると、実際の担当は、この3~5割り増しほどと推定される。

臨床検査技師の職域と、診療放射線技師の職域は、超音波診断、MRI診断など、オーバーラップする一部を除き、通常、明確に区別されている。この状態を反映して、診療放射線技師の扱う画像診断は、臨床検査に含めず、臨床検査技師の担当する分野のみを、狭義の臨床検査とすることも多い。

2.4 臨床検査関連ビジネス

臨床検査関連ビジネスの主な分野は、大きく3つに分けられる。

- ① 検査専用の医療機器の開発製造販売（輸入を含む）
- ② 検査試薬の開発製造販売（輸入を含む）
- ③ 検査の代行受託業

以下、順に解説する。

そもそも、検査用医療機器および臨床検査薬の市場規模はどのくらいであろうか。図2.4に、2013年度の実績を、グラフで示す。これらの数値は、保険点数で支払われる金額ではなく、業界団体が所属企業の出荷額を調査集計した額、即ち製造販売業者が販売した金額ベースのデータである。図に見るように、総額約1.5兆円で、検査機器に限るとほぼ1兆円、狭義の臨床検査ビジネス（検体検査機器、生体現象計測、臨床検査薬の合計）も、約1兆円ビジネスとなっている。画像診断は4880億円規模である。

また、検査用医療機器の輸出総額は3300億円と出荷額の1/3を占め、輸入額2370億円を上回り、約2兆円の貿易赤字を抱える医療業界の優良児的存在である。

一方、図2.5は、やや古い資料になるが、保険点数ベースで見た医療費の項目別割合を示している。この中で、医用検体検査機器と臨床検査薬の合計である検体検査は、2007年度医療費の総額34.1兆円の2.8%にすぎず、医師に加算が認められている検体検査判断料と同じパーセンテージである。画像診断、生体検査等加えても、検査の医療全体に占める割合は、かなり小さい事が分かる。臨床検査薬については、売上5300億円のうち、医用検体検査機器に適用して主に血液の検査に使用する試薬が、約6割を占める⁴⁾。輸出は、免疫学試薬を中心に総額692億円を売上げ、それなりに健闘していると言えるが、腫瘍マーカー、アレ

2013年度出荷総額（百万円）

合計1.52兆円

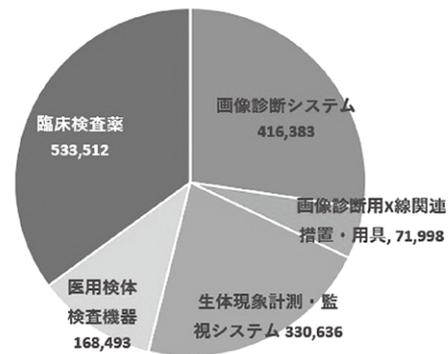


図2.4 2013年度臨床検査関連製品分野別出荷額のグラフ

(引用文献3)、4)より作成)

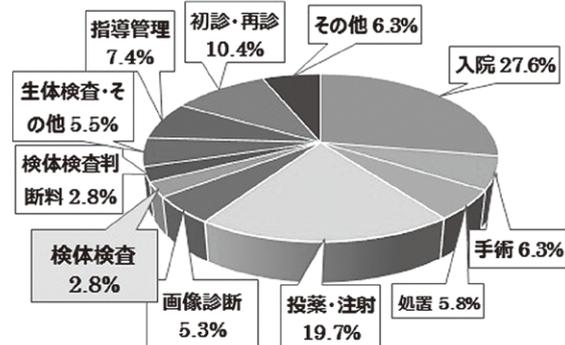


図2.5 診療報酬点数額に基づく医療費に占める検体検査割合

(引用文献5)のデータより作成)

ギー及び感染症に強く、品揃えも豊富な、国際的総合臨床検査薬・機器メーカーの攻勢にあって、輸入超過となっている。

検査の代行受託業について説明する。検体検査に関しては、一般に臨床検査センターと呼ばれる施設が担当している。臨床検査センターには、地方の医師会などが運営する一般社団法人組織のもの、企業組織のもの等いろいろあるが、大手は企業組織が占め、上位3社の売上合計は、平成26年度で約2800億円に達する。大手のセンターは、病院が必要とする殆どすべての検査項目をカバーしており、生化学、免疫学、血液学などの一般的な項目は、大型装置や、自動搬送と呼ばれる検体を検査装置に届ける自動装置を駆使して検査人員を合理化し、安い価格で受注している。また、遺伝子解析のように、専門性は高いがオーダー数が少なく、一病院では専従の検査要員を確保し続けるのが難しいような検査の受注が増えてきているという⁶⁾。また、大手検査センターは、臨床試験をサポートする

事業も行っている。

また、X線CTやMRIなど、高額の装置で、一般の医院などでは実施出来ない検査を代行するビジネス⁷⁾も普及しつつある。

参考・引用文献

- 1) しろぼんネット：「平成28年医科診療報酬点数表」, <http://shirobon.net/28/> (2016.7.14 参照)
- 2) 東京済生会中央病院ホームページ：「診療科案内」, <https://www.saichu.jp/department/> (2016.7.14 参照)
- 3) 一般社団法人 日本医療機器産業連合会ホームページ：「医療機器産業の国内生産動態概要 6. 医療機器 大分類項目別金額推移」, http://www.jfmda.gr.jp/main_outline/index.html, 平成25年, (2016.7.14 参照)
- 4) 一般社団法人 日本臨床検査薬協会ホームページ：「売上高」, <http://www.jacr.or.jp/katudou/naiyou/uriage/> (2016.7.14 参照)
- 5) 家次恒：「機器・試薬メーカーの立場から」, 日本臨床検査自動化学会会誌, vol.35(2), 182-185頁, 2010年
- 6) LSIメディエンス(株)のインタビューから：2016.5.23取材
- 7) メディカルスキャニングのホームページから：<http://www.medicalscanning.net/about/index.html> (2016.7.14 参照)

3 | 臨床検査技術の種類と歴史

3.1 細菌・細胞観察

細菌・細胞観察技術は、臨床検査4つの柱の中でも一番古い歴史をもつ分野である。19世紀半ばには工業製品としての顕微鏡が市販されるようになり、細菌学、病理細胞学の画期的研究が次々と打ち立てられた。今日でも、顕微鏡観察によって病原体を突き止めたり、細胞の病変を明らかにする病理診断は、ガンを始め多くの疾病で、最終鑑別診断のスタンダードとして君臨している。特に最近では、細胞や細菌の特定の成分を蛍光色素等でその所在を可視化する技術が発達し、臨床検査への応用も、新たな展開が期待できそうなフェーズに入りつつある。

また血液細胞の検査は、日常検査として広く実施されており、さらに近頃著しい免疫関係の研究の成果が新たな検査分野を形成する可能性を秘めている。

本章では、これら技術の今日までの発展の様子を概観する。

3.1.1 観察を支えた顕微鏡^{1) 2)}

球面に研磨した鋳物やガラスを通して物を見ると、拡大されて見えることに人間が気づいて以来、多くの試みがおこなわれてきたと考えられるが、17世紀になってオランダのレーウエンフック(A.V. Leeuwenhoek)が性能の良い単眼顕微鏡(図3.1)を作成し、人の血球や精子を観察、記録した事が、生体微細構造観察の大きな契機となった。彼の顕微鏡は、こんな単純な構成で300倍近い拡大倍率を達成し、鮮明な像を得ることができたとされている。それ以来、顕微鏡の助けを借りて、人や動物の組織、血液、排泄物等が観察研究され、歴史に残るものも残らなかったものも含め、多くの知識が集積されてきた。同時に、顕微鏡本体ならびにその観察技術も、18世紀には複眼式顕微鏡が主流となり、液浸法の開発、色収差を解消する複合レンズの開発などの改良を重ね、19世紀中頃までにはバクテリア観察に必要な解像度を達成し、19世紀後半の、細胞や微生物に関する数々の発見の舞台を用意した。

19世紀中頃までは、顕微鏡観察は、顕微鏡の製造から始めなければならなかったが、1846年、カール・ツァイス(Carl Zeiss)が顕微鏡の製造会社を立ち上げ、初めて汎用商品としての顕微鏡を入手する道が開かれた。営業当初は、Zeissの顕微鏡は、まだ職人の手造り品の域を出なかったが、1866年から、アッ

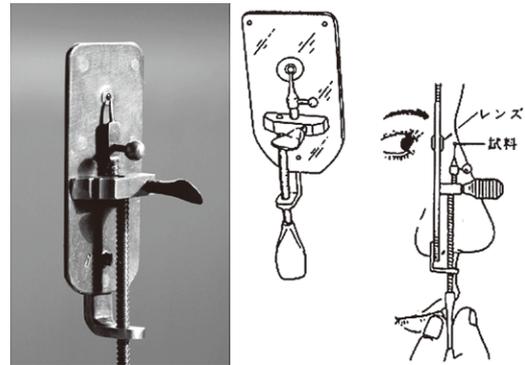


図 3.1 レーウエンフック単式顕微鏡

左図：レプリカ写真³⁾

右図：使用法の図⁴⁾ (福島県教育センターのご厚意により掲載)



図 3.2 Zeiss 社製顕微鏡 (1879 年製)⁵⁾

ベ(E. Abbe)が製品の改良と品質管理の向上を行い、品質の安定した製品がいつでも供給されるようになった(図3.2)。後に述べるように、19世紀後半には、微生物学、細胞病理学が花咲き誇り、一時代を築いた感があるが、それには、こうした顕微鏡技術の実用化が果たした役割が、まことに大きい。そして今日の医療においても、血液検査、組織病理検査では、顕微鏡が中心的役割を担い続けている(図3.3)。

次なるブレークスルーは、かなり後の1932年、ルスカ(E. Ruska)らによってもたらされた電子顕微鏡である。それまでの可視光で観察する顕微鏡を、これと対比して光学顕微鏡と言うが、光学顕微鏡は、可視光の屈折現象を応用して像を拡大する技術なので、光の波長がもたらす分解能の限界があり、理論的に100ナノメートル以下の観察は出来ない。一方電子顕微鏡では、可視光の代わりに用いる電子線の波長がずっと小さいので、理論的分解能は0.1ナノメートル程度と、光学顕微鏡の1000倍にも達する。さらに、電子顕微



図 3.3 光学顕微鏡による血球像⁶⁾

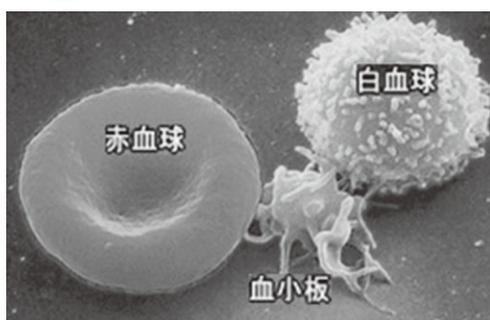


図 3.4 走査型電子顕微鏡による血球像⁷⁾

鏡には、通常の光学顕微鏡のように、試料を透過する像を観察する透過型電子顕微鏡の他に、試料の表面の凹凸をレリーフのように観察できる技術である走査型電子顕微鏡(図 3.4)もあるため、用途が大きく広がった。光学顕微鏡の時代には濾過性病原体として存在が推定はされていたものの、小さすぎて観察出来なかったウイルスも、電子顕微鏡によって観察可能となった。以上のように、拡大倍率では光学顕微鏡に比べ、圧倒的な性能の高さを誇る電子顕微鏡だが、臨床の場では、個々の患者の診断に使われる事は少ない。手間がかかり費用が高価であることと、拡大倍率が高すぎて、問題となる病巣を特定するような汎用検査には不向きであるためと考えられる。医療では、ウイルス疾患の流行の確認など、より公衆衛生的な用途や、臨床材料を用いた基礎研究で広く使用されている。

3.1.2 細菌検査

細菌検査の歴史は、学問としては、1861年にルイ・パスツール(Louis Pasteur)の提唱した、微生物自然発生説の否定と、1876年のロベルト・コッホ(H. H. Robert Koch)による、炭疽菌が炭疽病の病原体であることの証明が契機となり、近代細菌学が勃興することになった。しかしながら、パスツールにせよ、コッホにせよ、その説が直ちに認められ、広く流布した訳ではない。特に従来支配的であった、微生物の自然発生説を否定したパスツールの説は、様々な攻撃、中傷にさらされ、認められるようになるまで多くの論争と歳月を経なければならなかった。細菌の研究には、使用する器具や試薬が、細菌に汚染されていない事が必須条件であることは、今日では明らかであるが、当時は信頼に足る滅菌法も確立されておらず、同じ内容の実験結果が、研究者によって全く異なることは、日常茶飯事であった。パスツールも、自説の正しさを、反論者たちを前にしての公開実験で証明しなければならなかったのである⁸⁾。

ともあれ、こうしたパイオニアたちの不屈の努力の結果、細菌の性質や、細菌実験の方法、留意すべき実験条件等が次第に明らかにされ、研究の方法論が固まり定着して、多くの研究者が科学的な研究を成し遂げる環境が整い、成果が上げられてきた。表 3.1 に、こうした初期の細菌研究で明らかになった、主要な細菌感染病原菌と発見者および発見年を示す。これらはいずれも 19 世紀中に上げられた成果であり、4 つの柱の中では画像観察、物理計測、成分分析分野に比べ、早い段階から重要な成果が上がっている点が注目される。これは、何ととっても当時の医療においては、感染症が圧倒的に重要課題であったため、従事する研究者が、数的にも能力的にも他分野を凌駕していたからと考えられる。

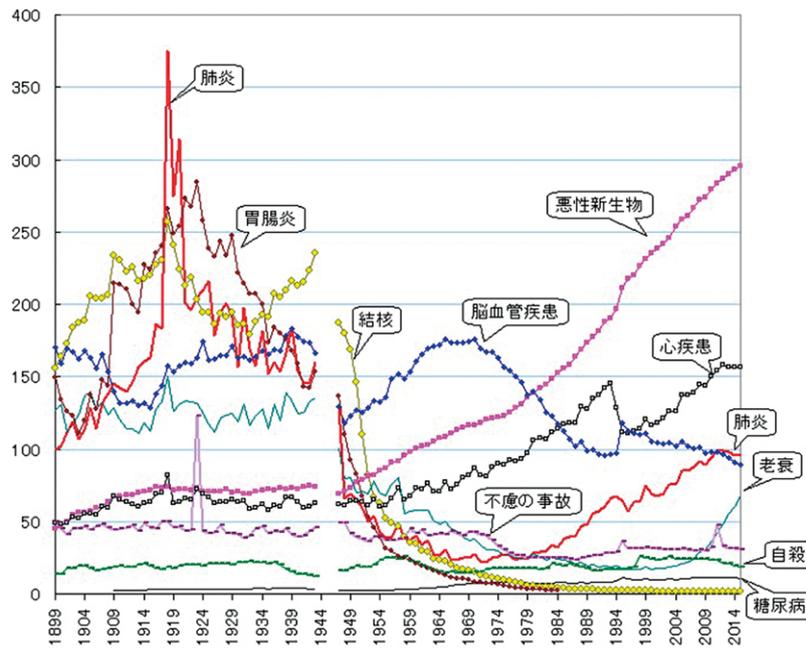
しかしながら、本調査報告の主眼である、臨床検査としての技術という見地から、これら細菌研究の勃興を見ると、様子は少し違って来る。まず、医学研究

表 3.1 主要病原菌の発見の歴史

(文献 9)、10)、11) を参考に作成)

発見年	発見者	発見した病原菌
1876	ロベルト・コッホ	炭疽菌
1879	アルマウェル・ハンセン	ライ菌
1879	アルベルト・ナイセル	淋菌
1880	カール・J・エーベルト	腸チフス菌
1882	ロベルト・コッホ	結核菌
1883	ロベルト・コッホ	コレラ菌
1883	エドヴィン・クレプス	ジフテリア菌
1884	アルトゥール・ニコライアー	破傷風菌
1894	アレクサンドル・イェルサン、北里柴三郎	ペスト菌
1897	志賀潔	赤痢菌

主要死因別死亡率(人口10万人対)の長期推移(~2015年)



(注)1994年の心疾患の減少は、新しい死亡診断書(死体検案書)(1995年1月1日施行)における「死亡の原因欄」には、疾患の終末期の状態としての心不全、呼吸不全等は書かないでください。」という注意書きの事前周知の影響によるものと考えられる。最新年は概数
(資料)厚生労働省「人口動態統計」

図 3.5 主要死因別死亡率(人口 10 万人対)の長期推移¹²⁾

戦前の死因は感染症中心。戦後は抗生物質登場により感染症死が激減

と、医療の一環としての検査の立場の違いがある。医療の対象として、20世紀前半以前に感染症が圧倒的に重要な存在であったことは間違いない。しかし当時は、病気の診断がついても、効果的な治療法が、まだ発見されていなかった。消毒法さえ、リスター(J. Lister)のフェノールによる消毒法が認知されるようになったのは19世紀末のことで⁸⁾、抗生物質に至っては、実用化は実質的に第二次大戦後のことだった。そうした状況では、一人一人の患者の病気に対し、診断のために細菌検査を行うことの意味が、そもそもなかったと言ってよい。ただし、公衆衛生の観点から、流行する疾患を確定するため、公的機関が、時に応じて細菌検査を実施していたようである。しかしこれは、病気になった個人の医療を目的とした臨床検査とは少し性格が異なり、検査を実施する担当者の立場にしても、医療従事者というより研究者的性格が強かったと考えられる。

こうした状況は、戦後、ペニシリンやストレプトマイシンなど、強力な抗生物質が医療現場に投入されたことにより激変した。図 3.5 は、我が国における死亡原因の年次推移を示したもので、第二次大戦後急速に胃腸炎、結核、肺炎による死亡者が減少しているのがわかる。臨床検査として細菌検査が必要とされるよう

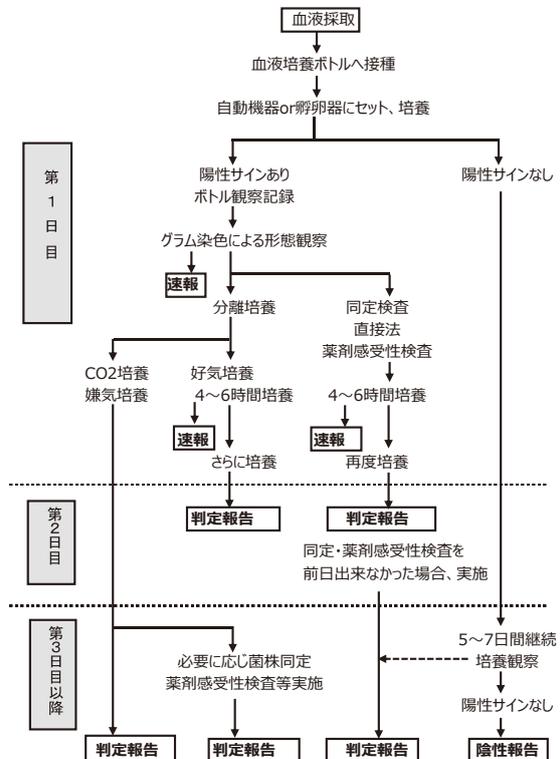


図 3.6 細菌検査：血液培養検査の流れ

早くて1日以上、全体で数日かかる場合がある
(文献 13) をもとに作成)

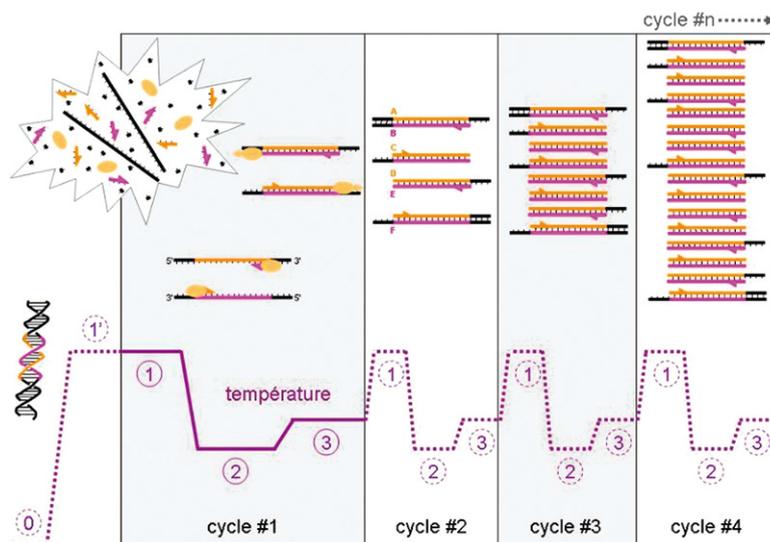


図 3.7 ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) による DNA の増幅模式図¹⁵⁾

温度を上げ下げするだけで、加えるプライマーに相補的な DNA だけを連続複製し、増幅できる。

になったのは、こうした抗生物質の登場後のことと言える。細菌種によって、あるいはその株の違いによって、抗生物質に対する感受性に差があるので、容態が芳しくなく、感染菌が不明な場合には、病原菌同定のための細菌検査が必須項目となっていった。また、近年、抗生物質の乱用もあって、病原菌にも抗生物質に耐性を持つものが増加しており、抗生物質の感受性検査の重要性が増してきている。

一方で、抗生物質の使用を前提とした、近年の細菌検査において、いくつか技術的に深刻な問題が指摘されている。旧来の細菌検査（例えば図 3.6；血液培養検査）は、技術としては完成、熟成されており、一定の技術訓練を受けた者が実施すれば、再現性良く安定した結果が得られる。しかし、昔に完成された技術ということもあり、今日感覚からは、時間と人手がかかり過ぎるといふ大きな欠点を併せ持つ。

多くの感染症では、病気に冒された組織や血液を試料としても、顕微鏡で観察するだけで病原菌を発見、同定することは、困難であることの方が多い。観察に足る絶対的菌数の問題もあるが、それ以上に、混入する他の微生物や細胞組織が大きな障害となり、鑑別を困難にする。また観察した形状だけでは病原菌が生きているのか、死んでいるのか分からない場合も多い。従って、通常、病原菌の同定には、まず生きた菌数を増やし、夾雑菌から分離するための培養に 1 日、次に同定のための栄養条件や抗生物質存在条件を変更しての増殖試験に最低で 1~2 日を要して、やっと検査の答えを得る。しかし感染症では、治療における 3 日以上遅れは普通許容できないので、とりあえず一番効きそうな抗生物質で治療を開始する事が多い。多

く場合はこれで治療効果が得られるが、抗生物質のこうした使用は乱用につながり、耐性菌を増やす結果となっている恐れがある。そこで近年では、菌同定試験、あるいは抗生物質感受性試験の判定時間を短縮するための様々な試みがなされている。以下に今日普及しつつある、主な方式を示す¹⁴⁾。

(1) 同定検査の簡素化、自動化

分離培養後の判定のための条件設定と試験自体の自動化により、手間と人手の大幅短縮を行う方法。

(2) 各種菌種に特異的に反応する抗体を用いた試験

色素や蛍光色素標識^(註1)した抗体による試料の染色観察や、抗体感作微粒子の凝集反応で同定する方法。

(3) 遺伝子診断

疑わしい病原菌の DNA 配列と相補性^(註2)をもつ DNA 断片であるプライマー^(註3)を用いて、遺伝子増幅操作 (PCR；図 3.7) を行い、病原体の有無を検証する方法。

これらは、いずれも従来の 2~3 日という判定に要する時間を、数時間に短縮する狙いで開発されたもので、多くの製品がすでに市場に出回っている。全自動

(註1) 標識

物質に同位体・蛍光分子等で目印をつけること。この場合では、抗体分子に蛍光色素を共有結合させて、抗体が存在する場所を顕微鏡下で確認出来るようにするために行われる。

(註2) 相補性

DNA の二本鎖では、塩基は必ず決まった相手と対になり、二本鎖の塩基の並びは互いに相補的である。従ってある DNA 配列と結合できる配列は必然的に決まり、その配列を、相補性を持つという。

(註3) プライマー

DNA の特定の個所と相補性のある短い DNA 断片。これが DNA に結合すると、そこが起点となって相補的 DNA 鎖の合成が始まり、DNA 増幅 (PCR) が行われる。

化細菌検査装置も開発されている。しかし、こうした新規方法の多くは、検査試薬及び機器、用具が高価であるため、財政的に余裕のある大病院を中心に、緊急対応が必要なケースに限定して使用されている段階で、伝統的な培養による細菌同定検査を完全に置き換えるところまでは、まだ至っていない。

新しい技術の流れの中では、特に遺伝子診断に期待したい。遺伝子診断はまだ発展途上の技術であり、技術の系統化調査で扱うのは時期尚早と考えるが、近い将来、従来の同定検査を根本的に置き換える可能性を秘めており、注目していきたい。

3.1.3 組織病理検査

人や動物の組織や臓器、血液といった構成要素の顕微鏡的観察研究は、レーウエンフック以降着々と進んだが、これらの成果を統合し、あらゆる細胞は他の細胞の分裂から生じること、病気は全身が等しく犯されるものではなく、組織構造の異常を生じた細胞が病気の本源であることを突き止め、細胞病理学という分野を確立したのがウィルヒョウ (R.Virchow) である。彼は 1855 年に細胞病理学という論文を著し、従来の体液疾病説を覆す理論を提唱し、新時代を築いた¹⁶⁾。この病理という概念が、医療に及ぼした影響は非常に強力なもので、今日でも、腫瘍や、組織異常を伴う多くの疾患の確定診断は、組織病理検査によって行われている。

組織病理検査技術について見てみよう。多くの細胞は、そのまま観察したのでは殆ど無色であり、また、生ものである標本は、保存がきかない。従って、細胞内、細胞間の構造を詳しく観察するには、細胞の特徴を見やすくする工夫が望まれ、同時に、貴重な標本を長時間安定に維持出来る技術が必要とされる。今日、組織病理検査では、観察に当たり、薄く切り出した組織切片を、特殊な染料で染色することによって組織の特徴を観察しやすくしている。組織染色は古い技術で、ウィルヒョウが細胞を観察したスケッチ (図 3.8) でも、細胞核が濃い色で描かれ、細胞質も薄い着色があるので、すでに染色して観察されていたことが分かる。今日、特に腫瘍組織染色の標準法として広く用いられているヘマトキシリン-エオジン染色は、1878 年にブッシュ (H. Busch) によって考案された¹⁶⁾ (図 3.9 左)。また、白血球の種類を区別するのに使われるギムザ染色は 1902 年に発表されている¹⁶⁾。

組織染色で使用される染料の多くは合成品である。合成染料の開発は、1856 年、パーキン (W.H. Perkin) によって最初の合成染料モーブが発表されて

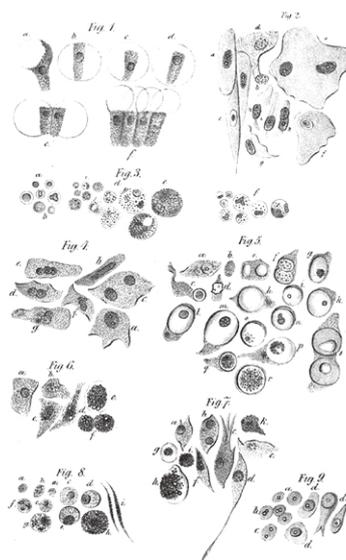


図 3.8 Virchow による細胞説を示す図¹⁷⁾

以来、ヨーロッパで活発に繰り広げられた²⁰⁾。时期的、地理的に、細胞染色の研究が、これら染料製品や関連技術から得た恩恵は大きかったと考えられる。

試料の保存については、細胞や細胞内部構造の保持のためには固定と呼ばれる操作を行う。固定には様々な薬品が使われるが、フォルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、クロム酸、ピクリン酸といった、タンパク質固定化/変性剤が用いられる。これらはタンパク質と共有結合を形成して、タンパク質の立体構造を固定化することによって、細胞の構造を保持するとともに、防腐効果も付与している。

保存安定化については、種々の物質が試みられてきたが、標本資料の脱水化に続いて組織の空間をパラフィンで埋め、全体としてパラフィン埋包物の形にして、これを刃物で薄く切り出して標本とする方法がクレプス (E. Klebs) によって 1869 年に考案され²¹⁾、その後切り出し法の改良等を加えて今日に至っている。

固定や包埋の技術が、一見何の関係もなさそうな顕微鏡観察のために、そもそもどのように開発、適用されてきたかは、大変興味あるところであるが、少なくとも一般的な日本の書物には、ヒントとなる記述は見いだせなかった。一方、グルタルアルデヒドやクロム酸、ある種のフェノール誘導体は、皮革のなめし剤として、今日でも用いられている²²⁾。細胞組織試料を、顕微鏡観察で安定して扱うことが必要とされたときに、皮革のなめし技術の応用を思いついた研究者がいたとは考えられないだろうか。想像になってしまうが、この辺りに技術のルーツがありそうに思われる。

こうした様々な技術を駆使し、また多くの研究者に恵まれて、組織病理観察の技術は、20 世紀の初めに、

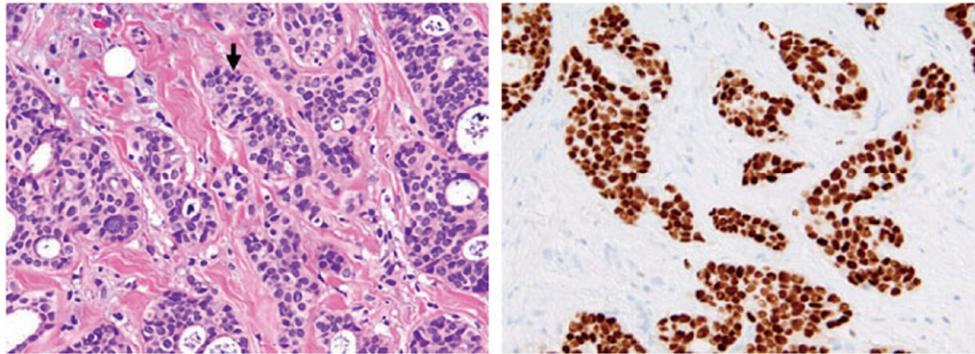


写真1 乳がん組織ヘマトキシリン・エオジン染色

写真2 乳がんエストロゲンレセプター組織標本

図 3.9 乳がん組織の組織染色標本 (左) と酵素標識抗体による染色標本 (右) ¹⁹⁾

矢印で示す集団が「がん細胞の塊」。エストロゲン・レセプターを持つ細胞の核が、レセプターに結合した抗体の標識酵素で褐色に染まっている。

(昭和大学藤が丘病院病理検査室のご厚意により掲載)

すでに完成の域に近づいた。しかし、病原菌の場合と同様、こうした技術はもっぱら研究が目的であり、個人個人の疾病診断に用いられる検査となるのは、本格的には第二次大戦後からとなる。

次に組織病理検査技術に大きな進歩をもたらしたのは、1950年代後半から行われ始めた標識抗体の使用である。抗体は、タンパク質などの特定の高分子物質と反応する性質を持った免疫グロブリンのことで、たとえば乳がんの細胞表面に見いだされる、女性ホルモンのエストロゲンと反応する受容体であるエストロゲン・レセプターと呼ばれるタンパク質をウサギやマウスに免疫^(註4)して、抗エストロゲン・レセプター抗体を得る。次に、この免疫グロブリンに、酵素標識操作を施し、酵素が結合した免疫グロブリン分子を得る。この酵素標識免疫グロブリンを、乳がんが疑われる患者から採取した試料の標本と反応させ、洗浄後、酵素の基質を加えて発色させれば、エストロゲン・レセプターと結合した免疫グロブリンの標識酵素が、その部分を発色させるので、がん細胞の有無が分かる。酵素の代わりに蛍光色素もよく用いられる。蛍光色素は、顕微鏡で暗視野下、試料に紫外線を当てると、反応した蛍光色素が、黒い背景の中に光って見られるので、検出感度が高いという長所がある(図 3.10)。

標識抗体を用いる組織検査を免疫組織化学検査と呼ぶ²³⁾。これにより、試料中にある、抗体と反応する物質(抗原)の局在が分かるので、従来の染色法と併用することで、検査精度を高めることが出来る。この

方法は、今日、通常の臨床検査、特にかん細胞の検査では日常的に使われる技術となっているが、それだけでなく、細胞生物学の領域における研究手法として、近年、多くの先進的研究においても必須のテクニックとなっている。また、特定の DNA 配列を蛍光標識し、細胞核中の遺伝子と反応させて、対応する相補的な遺伝子配列の存在を調べる FISH 法 (fluorescence in situ hybridization 法) も、遺伝子マッピングや遺伝子異常の診断に用いられている (図 3.11)。

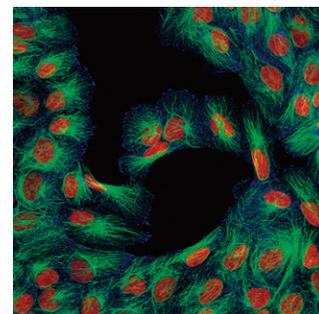


図 3.10 蛍光標識抗体による細胞染色 ²⁴⁾

乳がん細胞の蛍光標識抗体による細胞各器官の染色；細胞核(赤)、F-アクチン(緑)、APC(青)

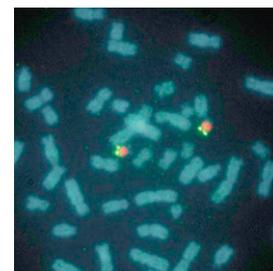


図 3.11 FISH 法で染色体の在処を調べる ²⁵⁾

ライカ マイクロシステムズ(株) 製品情報ー 染色体の微小欠失検出用 FISH プローブ

(ライカ マイクロシステムズ(株)のご厚意により掲載)

(註4) 免疫

生体に侵入する異物から生体を保護する仕組みによって、病気(疫)を免れること。転じて生体に意図的に異物を投与し、生体を保護する抗体の産生を促すことを、「免疫する」と呼ぶ。

3.1.4 血液細胞検査

血液は、血漿とよばれる液体部分と、赤血球、白血球、および血小板という細胞要素から構成されている。赤血球の存在は、顕微鏡の始祖、レーウエンフックによって既に知られていたが、赤血球の扁平な形状の発見や、白血球を発見記載し、さらに白血球のサブタイプの一つリンパ球の分離を行い、リンパ系の存在を提唱して今日の血液学の出発点を築いたのは、ヒューソン (W. Hewson : 1770 年) である。血液細胞のもう一つのメンバーである血小板は、初めは細胞の破片やゴミと見なされていたようだが、1842 年にドンネ (A. Donne) が初めて血液中の遊離細胞として同定した¹⁶⁾ (図 3.12、3.13 参照)。

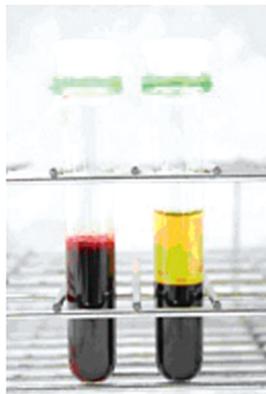


図 3.12 血液の構成²⁶⁾

全血 (左) は、遠心分離で血漿と血球 (右) に分けられる
(名古屋記念病院臨床検査部のご厚意により掲載)

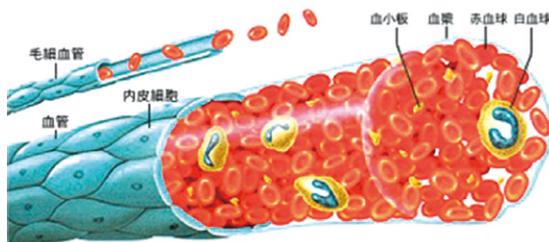


図 3.13 血球の構成²⁷⁾

(日本血液製剤協会のご厚意により掲載)

血液細胞は、血液の容積の 35~50% を占め、その大部分は赤血球である。赤血球には酸素運搬を司るタンパク質、ヘモグロビンが、およそ 33% もの高濃度の溶液となって含まれている²⁸⁾。もしヘモグロビンが赤血球膜という容器なしに血液中に同じ量存在すると、血液の粘度が大幅に上昇し²⁹⁾、循環に支障を来すと考えられる。従って、赤血球という細胞形態は、動物が進化の過程で多様化した身体中に、酸素を効率よく運搬するという目的に、非常に巧妙に適応した結果である。酸素供給の異常は生命リスクに直結す

るので、赤血球数やヘモグロビン含量の測定は、臨床検査の重要な項目となっている²⁸⁾。

白血球は、ヒューソン以後も研究が進み、エールリッヒ (P. Ehrlich) が 19 世紀後半に好塩基球を発見したことにより、好中球、好酸球、好塩基球、単球、リンパ球の 5 種類が、白血球サブタイプの形態学上の分類として確立した。エールリッヒは細胞観察用に様々な色素を用いて、細胞染色法を大きく発展させたが、今日、これら白血球サブタイプの観察には、マラリア原虫の染色法としてギムザ (G.V.Giemsa) が発展させたギムザ染色法が、広く用いられている¹⁸⁾。

白血球は、細菌感染など炎症性疾患のときに数が増えるので、白血球数は、例えば虫垂炎で手術するかどうかの判断材料として、永らく重用されてきた。また、疾患によって、白血球サブタイプの割合に、特徴のある変化がみられる場合があるので、白血球分画は今日でも広く検査されている。これら、血球の役割、血液中の存在量 (個数) と、その増大、減少に関わる主な疾患をまとめた表を表 3.2 に示す。

血球数の算定は、永らく血球計算盤上の血球数を、技師が顕微鏡で観察しながらカウンターを用いて算定し、計算盤の目盛と液深から計算される試料の体積から、1 μ L 当たりの血球数を計算していた (図 3.14)。しかし、この方法は、算定自体に非常に手間のかかること、血球種毎に調整、前処理が異なることから、多くの検体を検査するには負担が大きかった。

1956 年コールター (W.H.Coulter) が、インピーダンス方式による血球の自動計測装置を考案し、1960 年代に Coulter 社製の、いわゆるコールターカウンターが市場に登場したことで、こうした状況は一変する¹⁸⁾。インピーダンス方式とは、溶液中の血液細胞などの粒子が、直径 100 μ m ほどの細孔 (アパーチャー) を一定速度で通過するときの、孔の両端での電気抵抗値の変化を計測し、体積当たりの粒子数を計

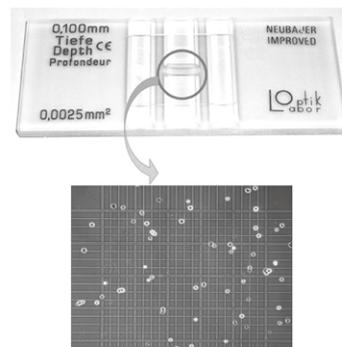


図 3.14 血球計算盤 (ノイバウエル盤) スライドガラス部全景 (上図)³²⁾ と、計算室部分の拡大像 (下図)³³⁾

表 3.2 血球の種類、基準値、関係する疾患²⁸⁾³⁰⁾³¹⁾

検査項目	基準値の範囲	血球の役割	高値（増加）疾患例	低値（減少）疾患例	血球の図
赤血球数	成人男子：435万～555万/ μ L 成人女子：386万～492万/ μ L	酸素運搬を担うヘモグロビン分子の輸送	脱水、二次性多血症、ストレス多血症等	再生不良性貧血、腎性貧血、鉄欠乏性貧血、溶血性貧血、出血性貧血等	模線間の幅は5 μ m 
白血球数	3,300～8,600/ μ L	体内に侵入する細菌、ウイルス等の異物の排除	肺炎、虫垂炎、扁桃炎、白血病、細菌感染症、外傷、炎症性疾患、妊娠、喫煙	ウイルス感染症（風疹、麻疹）、再生不良性貧血	
白血球分画	好中球 neutrophil	34.6～71.4%	炎症部に集し、細菌・真菌等の異物の貪食・殺菌・分解を行い生体を防御する	細菌感染症、急性心筋梗塞、急性虫垂炎、自己免疫疾患（リウマチ熱、血管炎候群）、悪性腫瘍、慢性骨髄性白血病、ストレス等	重症感染症（敗血症、粟状結核）、膿チフス、再生不良性貧血、悪性貧血、SLE 
	好酸球 eosinophil	0～7.8%	アレルギー反応の制御	花粉症、喘息等のアレルギー性疾患、寄生虫感染症、猩紅熱、膠原病、慢性骨髄性白血病等	膿チフス 
	好塩基球 basophil	0～1.8%	アレルギー反応を起こすのに重要な役割を果たす	アレルギー疾患、慢性骨髄性白血病など	
	単球 monocyte	2.4～11.8%	異物の取り込み・消化、免疫反応の引き金役	結核、単球性白血病、発疹性の感染症（麻疹等）	
	リンパ球 lymphocyte	19.6～52.7%	免疫全般の制御、ウイルス感染細胞や腫瘍細胞の排除	ウイルス感染症、流行性耳下腺炎、慢性リンパ性白血病、百日咳など	AIDS、SLE、うっ血性心不全、末期癌 
血小板数	158,000～348,000/ μ L	破綻した血管部に付着、凝固を促進し止血を行う	慢性貧血、骨髄機能亢進症、本態性血小板減少症、真性多血症、出血	白血病、再生不良性貧血、特発性血小板減少性紫斑病、DICなど 	

基準値の範囲は、「臨床検査のガイドライン：JSLM2015」p.31より引用
 高値（増加）疾患例、低値（減少）疾患例は、沖縄県薬剤師会サイト、「臨床検査値の基準値」<http://www.okiyaku.or.jp/datafile/hyojunti.html>より引用
 血球の図は、Beckman-Coulter社のご好意によりHP資料http://www.beckmancoulter.co.jp/hematology/oneself/part02/self2_03.htmlより引用
 2016.5.29 参照

測するもので（図 3.15）、発表後も装置の改良や項目の追加が進み、1970年代には、血液の前処理自動化、1980年代には白血球の主要サブタイプであるリンパ球、好中球の分類、さらには未成熟赤血球である網赤血球測定が追加され³³⁾、技師は永年の重労働から解放されることになった。

国内でも、1963年には早くも東亜特殊電機により、半自動血球計数装置（図 3.16）が、国産初の装置として発売されるようになった。

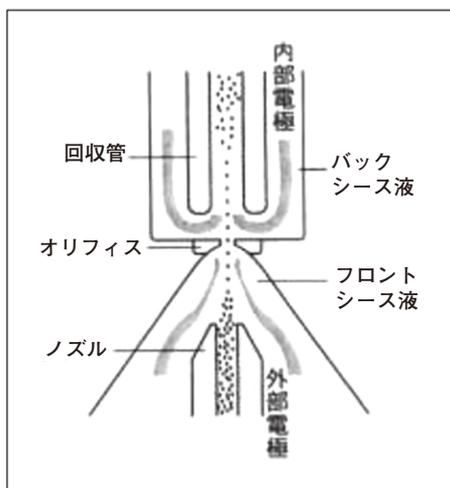


図 3.15 インピーダンス方式による血球計数原理³⁴⁾
 （ベックマンコールター株式会社のご厚意により掲載）

こうしたインピーダンス方式の改良と平行して、電気抵抗を測定する代わりに、キャピラリーを通過する液にレーザーを照射し、その光学計測値の変化で粒子数を読み取るフローサイトメーターが開発された。技術的には、細胞を光学的に観察するという、顕微鏡時代からの伝統に回帰したとも言えよう（図 3.17）。

フローサイトメーターでは、粒子のサイズに加え、細胞の波長吸収特性による核酸量の定量や、細胞表面の特定の物質を、その物質と特異的に結合する物質を用いて染色し、その成分の有無を分類する事が出来る。こうした技術によって、白血球サブタイプ分けに止まらない、広範な検査が可能になった。具体的には、後述するモノクローナル抗体技術を用いて、CD



図 3.16 国産初の半自動血球計数装置「CC-1001」
 （シスメックス社（当時：東亜特殊電機株）のご厚意により掲載）

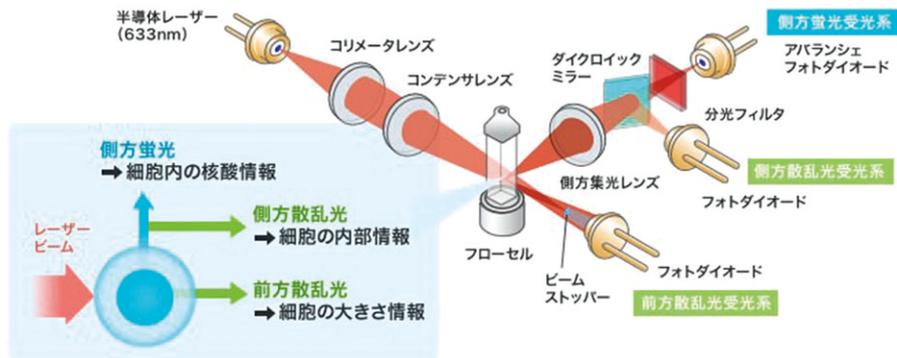


図 3.17 フローサイトメトリー法の原理³⁶⁾

(シスメックス社のご厚意により掲載)

(Cluster of differentiation) 抗原と呼ばれる、白血球の表面に存在する抗原分子を、複数の蛍光染料で染め分け、白血球サブクラスを更に細かく分類する手法が開発されている。白血球は様々な免疫機能を担い、生体防御機構の中心的役割を果たしている事が知られているが、その多くは白血球の中でもリンパ球が担当している。即ち、リンパ球には更に様々なグループが存在し、単球に分類されているマクロファージ共々、複雑な協働ネットワークを形成して、多彩な防御機能を発揮している。従って CD 分類の異なる細胞群をフローサイトメトリーで分析することで、患者の免疫機能の状態を把握することが出来る。

CD の種類は 1982 年の国際ワークショップでは CD1~CD15 までであったが、近年は 300 種を超える抗原が同定され、その多くが細胞の多彩な機能と関連づけられている (表 3.3)³⁷⁾。臨床検査としては、主として白血病の病形分類に使用されるに止まっている

が、近年の細胞生物学の進歩に伴い、フローサイトメトリーと CD 分類の組みあわせは、腫瘍や iPS 細胞の研究にも欠かせないツールとして定着し、世界中で活躍している。

3.2 画像観察

画像観察は、今日の検査では画像診断と呼ばれ、最も進化の著しい分野である。断層像や 3D 表示、さらには画素の細密化によって、半世紀前には想像も出来なかつたリアルさで、体内の様子を可視化出来るようになった。画像診断の発達は、エレクトロニクス技術の発達と密接な関係にあり、今後もエレクトロニクス技術の進化に伴い、新たな診断や健診分野が開拓されることが期待できる。

ここでは、X 線画像診断技術の歴史を中心に、画像診断技術の経緯と、相互の関連を検討する。

表 3.3 CD 分類と機能³⁷⁾

CD番号	主な発現細胞	主な機能
CD1	マクロファージ、樹状細胞など	CD11は a~eまで5タイプ。a~cが抗原提示細胞に発現。MHCクラス I 様分子
CD3	成熟T細胞	ヘルパーT細胞の補助刺激分子(T細胞抗原レセプターと複合体形成)
CD4	T細胞	ヘルパーT細胞の補助レセプターでMHCクラス II 分子を認識
CD8	T細胞	細胞傷害性T細胞の補助レセプターでMHCクラス I 分子を認識
CD11	白血球、マクロファージ、NK細胞など	CD11a~dまで4タイプ。接着分子。白血球の遊走と接着に関与
CD20	B細胞	成熟B細胞のマーカー
CD25	活性化T細胞(Treg細胞含む)、B細胞、マクロファージ	サイトカインおよびケモカインのレセプター
CD28	T細胞	T細胞のシグナル伝達に関与する補助レセプター
CD34	造血幹細胞	造血幹細胞のマーカー
CD37	成熟B細胞	成熟B細胞のシグナル伝達に関与
CD55	細胞全般	補体インヒビター。補体から自己を守る
CD58	白血球、赤血球、血管内皮細胞など	接着分子。T細胞などの接着に関与
CD80	マクロファージ、樹状細胞	T細胞活性化のためのシグナル伝達の補助刺激分子
CD86	マクロファージ、樹状細胞	T細胞活性化のためのシグナル伝達の補助刺激分子
CD133	造血幹細胞	造血幹細胞のマーカー
CD134	活性化T細胞	T細胞の活性化のための補助レセプター

3.2.1 X線検査

X線の技術は、長い時間をかけて徐々に洗練されてきた細菌・細胞観察技術とは対照的に、殆ど突然見いだされ、短期間に普及、発展を遂げた、実用化技術としても希有の存在である。1895年に発見が報じられると、1896-97年には早くもシーメンス社がX線撮影装置開発に成功、そして、1901年の栄えあるノーベル物理学賞の巻頭を飾る業績となった。日本でも、1909年には島津製作所が装置を開発しており、当時の社会環境を考えると、いずれの対応も大変なスピードであり、X線技術の発明が与えた衝撃と恩恵が如何に大きかったかを如実に表している³⁸⁾。

X線は、陰極線管の研究をしていたレントゲン (W. Röntgen) が、黒いボール紙で覆って発光を遮蔽した陰極線管から、数十センチ離れた蛍光板を発光させる、目に見えない未知の放射線が出ていることを突き止め、その性質を調べ、X線と命名したのが始まりである^{39) 40)}。そして、X線がフィルムを感光させることから、人体を透過したX線像を、現像したフィルムの上で観察するという方法で、医療現場への応用が可能となった (図 3.18)。X線管装置の技術については、技術系統化調査報告第24集のX線管に関する神戸の報告を参照されたい⁴¹⁾。



図 3.18 1896 年レントゲン撮影のアルベルト・フォン・ケリカーの手の X 線写真 (1896.1.23)³⁹⁾

X線が人体に照射されると、X線が身体組織を透過する程度は、組織の密度に比例するので、骨や歯など密度が高い組織は透過度が減り、フィルムを余り感光させないために白っぽく映る。軟組織や液体では密度が下がるので黒っぽくなり、空気は密度が殆どないので黒となる。従って、白くくっきりと描出される骨や歯がX線検査対象として向いていると言えるが、その他の身体の軟組織部の撮影も、X線撮影装置の登場

と共にいろいろ検討され、応用が進んだ。中でも、胸部のX線像は、健康な肺は息を吸うと黒に近く映るが、肺炎等になると炎症組織の水分が増え、白っぽさが増すので、診断的価値が高い。今日でも、肺炎の診断は胸部X線検査によって行われる⁴²⁾。また、20世紀前半に猛威をふるった結核の病状の判断に、X線像は必須の検査として重用された。

以上はX線撮影技術としては透過法と呼ばれる。患者の身体を透過したX線で感光したフィルムをみて診断するからである。もう一つの透視法は、1940年代、タウシグ (H.B.Tausig) によって始められた。光電子倍增管という高感度素子を用いて撮影することで、モニタ画面でリアルタイム画像を観察することが出来る。これにより、後述の造影剤投与をはじめ、処置を画像で確認しながら行えるようになり、臨床での有用性が、さらに大きく増すことになった⁴⁰⁾。

消化器や心臓、循環器系、泌尿器系などの軟組織は密度差が少なく、単純X線撮影での判読は、はるかに困難になる。そこで、軟組織に造影剤を注入して観察する方法が考案された。1908年、クラウゼ (P. Krause) によって、硫酸バリウムが消化器のX線写真撮影に初めて用いられた⁴³⁾。硫酸バリウムはあらゆる物質中最も水に難溶で、生体に投与しても安全性が高く、しかもバリウムは原子番号56で密度が高いため、造影効果にも優れ、広く使われるようになった。

今日、広く使われているもう一種類の造影剤はヨウ素系造影剤である。これは硫酸バリウムとは正反対で、水に良く溶け、尿路や血管内など、体液内への適用を狙ったものである。特に血管内に投与する場合は、腎臓から容易に排泄され、体内に蓄積しないこと、毒性が低いことが、合わせて求められる。ヨウ素化合物については、梅毒の薬として1918年から使われたヨウ化ナトリウムが投与された患者で、膀胱の輪郭が写し出されることが知られたことが、その出発点と考えられる。その後も治療薬として試みられたヨウ素化合物に同様の作用が見られ、以降、投与毒性と、描出力の兼ね合いを模索しながら、より効果的な化合物が探索されていった。そして1954年には、トリヨードベンゼン環を基本骨格としたウログラフィンが開発され、溶解度に優れ、毒性も低いことから広く使われるようになった。ただし、これらの物質には、浸透圧が高く、血管造影では激しい血管痛を引き起こす欠点があり、一層の改良が図られた結果、1986年頃から欠点を克服した新製品が市場に投入されるようになった⁴⁴⁾。

X線撮影に直接かわるものではないが、1929年、心臓にカテーテルを通せることを証明したフォルスマ

ン (W. Forssmann) (図 3.19) の、「画像検査」への貢献については触れておく必要がある。彼は尿管カテーテルを、自らの左腕の静脈から挿入して、カテーテルが心臓に達していることを、X線写真で証明してみせたのである⁴⁵⁾⁴⁶⁾。これにより、心臓および心臓の血管に直接造影剤を投与する可能性が開け、心疾患の解析が一挙に進歩した。一般汎用検査として本法が普及するようになるには、血管に適した造影剤の完成を待たねばならなかったが、こうしたカテーテルの技術、造影剤技術、X線撮影の技術それぞれが影響し合いながら進化し、今日まで、多くの狭心症、心筋梗塞患者の命を救ってきたことは、よく知られている。

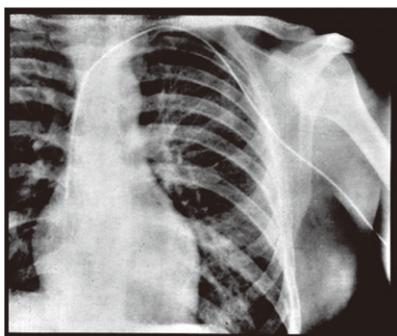


図 3.19 1929年フォルスマン撮影の自らの腕から心臓まで挿入したカテーテルの写真⁴⁵⁾

3.2.2 コンピュータ断層撮影 (CT)⁴⁷⁾

コンピュータ断層撮影は、英語の Computed Tomography、略して CT の日本語訳である。1963-64年にコーマック (A.M. Cormack) が明らかにした X線断層撮影の理論をもとに、1971年、イギリス EMI 社のハウズフィールド (G. Hounsfield) が、X線 CT を開発したのが断層撮影の始まりである (図 3.20)。

CT という語自体は X線に限った言葉ではないが、1973年に EMI 社から販売が開始されて以来、急速に

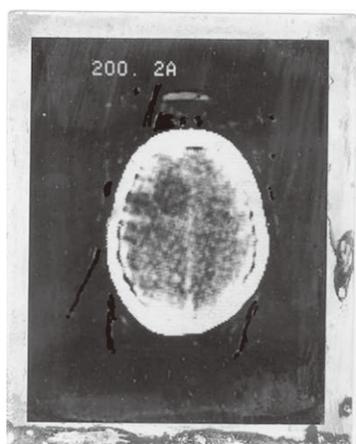


図 3.20 ハウズフィールドが初めて臨床での撮影に成功した CT の写真—脳腫瘍の女性の断層写真⁴⁸⁾

(AuntMinnieEurope.com のご厚意により掲載)

有名になったので、CT といえば X線 CT を指すようになった。CT では、X線管と受光部を被験者の身体の反対側に配置し、これを被験者の回りに 1 回転させ、得られた X線吸収の濃淡データを数学的に解析することによって、断層像を構築するものである。初期の装置は、撮影に要する時間が 4 分と長いため、呼吸の動きが影響する体幹部は未だ撮影対象とならず、専ら頭部だけが検査の対象であったが、それでも、頭蓋骨というブラックボックスに閉ざされていた、頭の内部が観察出来るようになったインパクトは大きく、X線 CT は急速に普及していった。撮影時間も、装置の改良によって短縮され、被験者は一時的に呼吸を止めるだけで、胸部、腹部の撮影も可能になり、適用症例も急速に拡大していった。日本でも医療機器を手がけていた大手電気機械メーカーが参入し、技術を競った。

1990年には東芝が初のヘリカル CT を発表した⁵⁰⁾。従来は、断層撮影映像を、被験者を少しずつ動かしては、一枚一枚断層像を撮影するので、時間がかかるし、結果の判定も断層位置を変えたたくさんの写真を観察する必要があった。ヘリカル CT では、患者の乗った台を動かしながら刻々と X線データを取っていき、データを 3 次的に配置して、臓器や器官、腫瘍などの 3 次元形態を描出することに成功した。その後、さらに多列検出器を用いて、1mm 以下のスライス幅で画像を取得できる CT が開発され、より緻密な観察が可能となっている。2016年の時点で、診療報酬が認められている最高性能は 64 列マルチスライス CT であるが、320 列マルチスライスも既に市販されるようになった。同時にたくさんの画像を取得できるので、息を止めるのも数秒で済むようになった。得られる画像も、心臓の冠動脈の狭窄部が描出出来、カテーテル血管造影に迫るレベルに達しつつある (図 3.21)。

また、CT の発展は、X線の代わりに核磁気共鳴法を応用した、核磁気共鳴画像 (MRI) の開発にも、つながった。MRI は 1973 年にダマディアン (R.V.

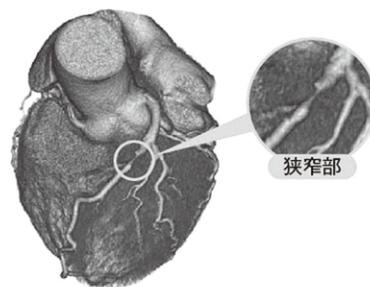


図 3.21 冠動脈狭窄の 3D-CT⁴⁹⁾

(社会医療法人社団十全会 心臓病センター榊原病院のご厚意により掲載)

Damadian)が開発し、1980年代から本格的に実用化された⁵¹⁾。核磁気共鳴法は、強力な磁界の中で水素原子核が、高周波電磁波を共鳴して吸収する現象をとらえたもので、有機物分子の構造決定のための試験用装置として、1950年代にはすでに実用化されていた原理に、断層像描出技術を組みあわせ、人体計測に応用したものである。CTではX線の性質から、測定する物質の密度に比例した吸収像が得られるのに対し、MRIでは水素原子を観察しているの、主として水分の含有量を反映した像が観察される。従って、同じ部位の断層像でも、異なった見方が出来るので、今日では、病気によってはCT、MRI両検査を受ける場合も少なくない(図3.22)。それに、MRIには、CTのように放射線被曝の心配がない、という決定的な利点がある。一方、MRI装置は超電導磁石を用いたりするため、装置自体が高価であり、診療報酬も最高性能のCTと比べても、さらに6割から倍ほど高価な検査であることから、まだ用途は限られる状況であり、今後の技術革新でより高性能で安価な検査となることが望まれている。

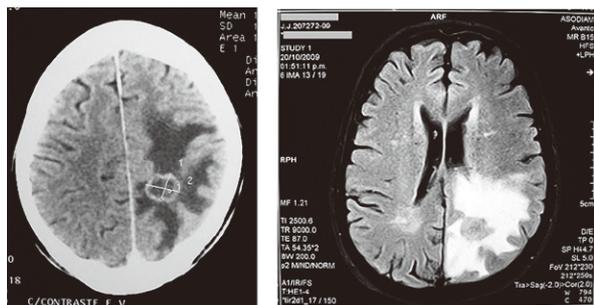


図 3.22 脳転移腫瘍性浮腫におけるCT(左)とMRI(右)の比較⁵²⁾

3.2.3 超音波画像装置(エコー)⁵³⁾

プローブから照射した超音波の反射波(エコー)を受信し、その強度と時間差から対象までの距離と対象の特性を知る方法で、医療用超音波では、扇状に超音波を発生させることで、2次元平面の画像として試験対象を観察できる。もともとは潜水艦を探知する軍用技術から発展したものの、戦後は水産業で魚群探知機として普及した。医療用には、1942年のドゥーシク(K.T. Dussik)による、透過法による生体描写が初めて行われ、1953年にはハウリー(D.H. Howry)らによる、今日のような2次元画像法(Bモード)が発表され、実用化が進んだ。国内でも1950年ころから、(株)日本無線が装置の開発を行い、国内の研究を支えてきた⁵⁴⁾。

超音波は、水中や固体中はよく通過し、反対に気体は通過しにくいので、組織による反射度合いの違いを

反映した画像が得られる。超音波法の利点は、非侵襲で、胎児を含め、どんな生体組織にも適用できること、小さなプローブを身体に接触させるだけで、直ちにリアルタイムのエコー画像が観察できることから、肝臓、胆嚢、腎臓、子宮などの臓器への応用が始まった。更に、エコーのリアルタイム測定が出来るメリットを最大限に活用し、心臓の検査になくてはならない検査に成長した。また、エコーの反射後波長変化の度合いを計測すると、対象物が観測装置に近づく、あるいは遠ざかる動きの程度を、ドプラー効果として計算できる。これを心臓検査に応用して、プローブ方向への血流を赤で、遠ざかる方向を青で表示する、カラードプラー法(図3.23)が1983年、世界に先駆けて、日本のアロカ((株)によって開発された⁵⁵⁾。この技術により、心房、心室からの血液の拍出に遅滞がないか、弁の逆流がないか一目で分かるようになった。

エコー法は即時性に優れ、扱いも簡便で、まさに臨床現場向きの医療機器であるが、画像が粗く、描出力ではCT、MRIに遠く及ばなかった。ところが、1990年代後半から高速データ処理アルゴリズムが発展し、描出力が大幅に向上してきたことに加え、多数の画像を取得して3次元画像を描出する技術が登場、進化してきた。この新しい技術は産婦人科領域で、胎児の観察に大きな成果をあげ(図3.24)、今日では、胎児の

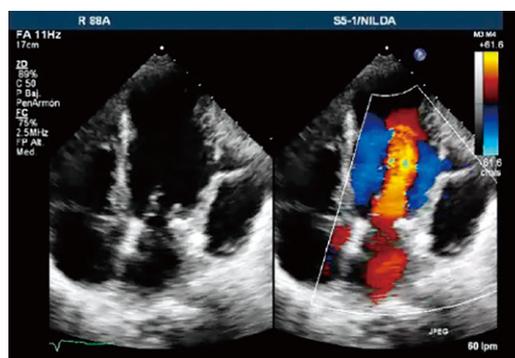


図 3.23 心カラードプラー法⁵⁵⁾
血流速度と方向がカラーで一目で分かる



図 3.24 妊娠3ヶ月目の胎児の3Dエコー⁵⁶⁾

性別判定が当たり前に行われるようになってきている。さらに循環器分野では、画像の進歩により、心臓の弁の開閉具合をリアルタイムで観察出来るまでになった。

3.2.4 内視鏡⁵⁷⁾

内視鏡は、1950年に世界に先駆け、東京大学とオリンパス社によって開発された胃カメラを原型とする、日本発の世界に誇る発明である。体内を観察する試みは、1933年のシンドラー (R. Schindler) によるフレキシブル観察鏡が、胃の内部観察法としては実用性を評価できる最初の試みと言えるが、実用化にはほど遠かった。オリンパス社の最初の製品は、フレキシブルチューブの先端に、照明と小さなカメラを装着した、文字通りの「胃カメラ」だった。実際の画像観察はその場では出来ず、撮影の後で初めて内容が分かるという大きな制約があった (図 3.25)。

1960年代に入ると、先端カメラの代わりに、グラスファイバーで画像を手許に取り込む方式が開発され、1964年には画像を観察、確認しながら撮影できる画期的新製品が登場した。更に、鉗子でサンプリングするなど、処置可能な仕組みも導入され、内視鏡は消化器の医療現場に欠かせない医療機器となった (図 3.26)。検査対象も、胃から食道、十二指腸、胆管、

大腸と広がり、さらにファイバーの改良による細型装置を用いて、呼吸器科、泌尿器科、産婦人科、耳鼻咽喉科領域へと適用を広げた。近年では、CCD素子の小型化とLED照明系の進歩で、内視鏡も光学系をCCD素子に切り替えたビデオスコープが登場している。グラスファイバーが不要になったことで、操作系の充実を計る事が出来るようになり、拡大倍率アップや特殊な光学系 (Narrow band) の採用、さらに組織の染色も活用してガン組織の判定能力を高めるなど、イメージング機能を充実させている。

また、内視鏡の先に超音波プローブを装着して、消化管や血管内の同時観察を可能にする技術も実用化されている。

3.3 物理計測

人の身体に、計測の対象となり得る部分や生理現象は、非常にたくさんある。身長、体重、胴回りなどは、はなはだ単純な尺度ではあるが、健康の度合いを見積もる尺度としては、重要なものばかりである。しかし、これらはその測定自体が、医療の進歩における技術のブレイクスルーというほど大きなものではない。物差しやはかりといった簡単な計測手段が手に入れば、人体を測ってみようとするのは自然の成り行きと考えられるからである。

それより少し高級になって、体温計や聴診器はどうか。身体に触れて発熱度合いを確かめる、あるいは身体の中で発せられる音を聞いて患者の健康状態を把握するというのも、恐らく大昔の医師も行ってたことと思われるが、上昇した最高温度を安定して測定できる体温計、身体の音を周囲のノイズを余りにせず、十分な強さで聞き取れる聴診器は、これはもう立派なブレイクスルーと言える。しかもいずれも、今日、殆どの臨床場面で必須の検査である。しかしそれでもなお、技術の系統化を論ずるほど、奥の深い技術とは言えないのではないか。しかも肝心の重要な技術革新は、100年以上前に、すでに達成されている。

この節では、従って、物理計測で医療史上重要なブレイクスルーであり、しかも技術革新が続けられてきたものとして、血圧計、心電図計、脳波計およびパルスオキシメーターの技術の系統を論じたい。

3.3.1 血圧計

そもそも血液が全身を相当のスピードで循環している事が知られるようになったのは、1628年に、ハーヴェー (W. Harvey) によって発表された血液循環説

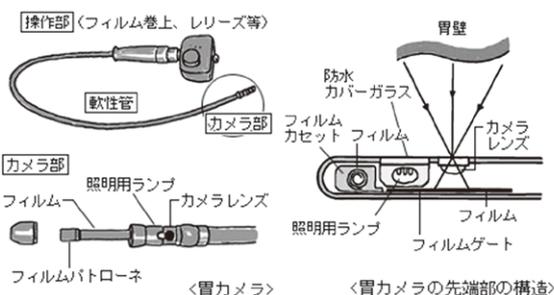


図 3.25 開発初期の胃カメラ⁵⁸⁾

(オリンパス株式会社のご厚意により掲載 おなかの健康ドットコム (<http://www.onaka-kenko.com>) より)

〈医用ファイバースコープの構造〉

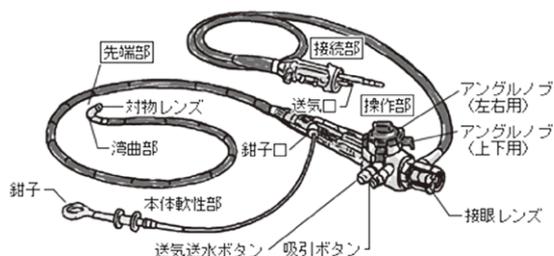


図 3.26 今日の内視鏡⁵⁸⁾

(オリンパス株式会社のご厚意により掲載 おなかの健康ドットコム (<http://www.onaka-kenko.com>) より)

による⁵⁹⁾。病人の「脈を診る」ことは、古今東西を問わず、大昔からの診断方法であったようだが、これを循環説と結びつけて積極的に解釈しようとは誰も考えなかったのか、今日までそうした研究成果は伝えられていない。

一方、ヘイルズが馬の頸動脈に直接管を差し込んで、動脈血が管内を上昇する高さを測定する事で、実質的に血圧を測定したのが1730年のことであった。これは今日、観血的血圧測定という手法であるが、血管に管を差し込まない、非観血的血圧測定法もいろいろ研究され、1896年にはリバロッチ (S. Riva-Rocci) によって、水銀マンメータとカフを用いた、今日の水銀血圧計の原型が作られた。しかしながら、どう測定したら正しい、有益な結果が得られるのか、まだ定見がなかった。

こういった状態に終止符を打ったのが、コロトコフ (N.S. Korotkov) で、彼は、カフ下の動脈に聴診器を当て、血流の音を聞くことによって、最高/最低血圧が測定できる事を発見し、1903年に論文で発表した。この方法は現在でも使用されている方法である⁶⁰⁾。こうして医師や看護師なら誰でも正確に血圧が測れるようになり、血圧と循環器系の疾病との関係の研究が進んだ。

20世紀も後半になって、入院患者の心電図、心拍数、呼吸数、体温などの、いわゆるバイタル・サインを自動連続計測したいという需要が高まってきたとき、コロトコフ式血圧測定法では自動化出来ないので、聴診器で判断する以外の方法が種々検討された。その結果、血流の脈波が発生する音をとらえるのではなく、振動を計測した方が良い結果が得られることが分かり、1979年にアメリカのクリティコン (Criticon) 社が最初に製品化した。今日では電子式血圧計はすべて振動式で、全世界生産高の85%を、日本が製造している。

3.3.2 心電計

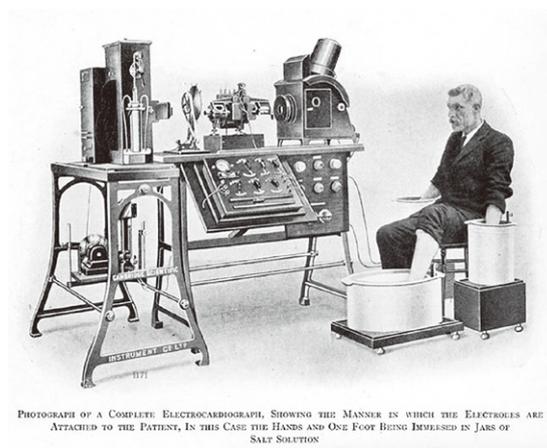
昔から、人の死とは、心臓が止まることと同義語であった。生体臓器移植に関連して、脳死の概念が心停止に変わりつつあるが、多くの人々にとって、いまでも生死は心臓が動いているか否かで理解されている。それほど心臓は我々の意識の上で特別な臓器であると同時に、心疾患は日本人の死亡原因の第2位 (16%) を占める、約16%の人が亡くなる、医療政策上も非常に重要な対象である。そして、心臓の状態の診断に最も重要な役割を果たしているのが、心電計である。心臓の拍動は、心臓自身が発する微弱な電流で刺激された心筋が興奮することで起こり、興奮した心筋は、興

奮の度合いに応じた電位を発生する。心電計は、体表に装着した複数の電極で、電位の時間変化を計測するもので、その変化を記録した図が心電図波形である。

心臓が電気を発していることは19世紀後半には知られており、その値を計測しようという試みがいろいろなされたが、電圧にして体表でわずか1mV程度の差を、ノイズを抑えてとらえなければならず、再現性のある結果は得られなかった。当時は、まだ電気信号を増幅する手立てがなかったのである。

そうした中、今日見るような心電図波形の観測に初めて成功したのが、オランダの生理学者アイントローフェン (W. Einthoven) で、彼は強力な電磁石の間に置いた細い導線に電流を流し、磁場の作用で生じる導線の動きを、光を照射して出来る影として巻き取り感光紙に記録して、電圧の変化を記録することが出来た。1903年のことである⁶¹⁾。この装置の挿絵を図3.27に示す。そして心電図の波形を、今日でも使用されているP、Q、R、Sという要素に分類し、心電図解析の基礎を打ち立てたのである。心電計に関する数々の業績により、彼は1924年にノーベル賞を受賞した⁶²⁾。

アイントローフェンの業績は、医療史上に冠たるものだが、彼の用いた心電図計は重量が270kgもあり (図3.27)、とても臨床で使える代物ではなかった。実用



PHOTOGRAPH OF A COMPLETE ELECTROCARDIOGRAPH, SHOWING THE MANNER IN WHICH THE ELECTRODES ARE ATTACHED TO THE PATIENT, IN THIS CASE THE HANDS AND ONE FOOT BEING IMMERSED IN JARS OF SALT SOLUTION

図 3.27 アイントローフェン発明の心電計 (270kg)⁶⁵⁾



図 3.28 2016年現在最小のホルタ心電計 (53g)⁶⁶⁾

(フクダ電子株式会社 HP、ホルター心電検査関連装置より、同社のご厚意により掲載)

化はシーメンス社が1928年に発売開始した装置から、これは1906年に発明された3極真空管による信号増幅法を採用して小型化を達成していた⁶³⁾。しかし、装置があれば、すぐに診断が出来るわけではない。アイントーフエンの発明以後、多くの医師、研究者たちが、心電図の波形と、心臓の筋肉の動きとの関係を詳細に調べ、また波形と疾患との関係を一つ一つ明らかにしていった結果が、心電図計を優れた臨床検査機器に育て上げたのである。

日本においても1931年には早くも試作機が作られ、1939年には研究が始まったが、なかなか安定して測定が出来ない状況が続いた。比較的手軽に臨床で使用できるようになったのは、1951年、フクダ電子が熱ペン直記式の心電計を発売してからであった⁶⁴⁾。

臨床検査としての心電計を語る上で、付け加えておきたい技術が、運動負荷心電図法と、ホルタ心電計である。心疾患を患う患者は、常に異常な心電図波形を来しているとは限らない。特に、胸痛で気付かれる狭心症などの虚血性心疾患では、異常波形は安静時より運動負荷をかけた場合に出現することが多い。マスター (A. Master) は1941年、心電図検査の前に運動負荷をかけて調べる方法の標準化を提案し、同方法は今日でも標準検査法として使用されている⁶⁷⁾。一方、日常生活の中で起こる不整脈は、病院に来て検査を受けただけでは分からないことが多いので、携帯型装置でデータを24時間記録する方式を、1961年にホルタ (N.J. Holter) が、データをテープレコーダに保存できる装置として発表した⁶⁸⁾。

ホルタ心電図計は、その後更に、エレクトロニクス技術の進歩による装置の小型化と、1970年代に実用化されたマイコンによる、24時間データの自動解析プログラムの実装化を経て、今日では液晶画面と半導体メモリにより、手のひらに隠れるサイズで重量わずか50g台の製品が出現している (図3.28)。アイントーフエンの270kgの装置から見れば夢のようで、この心電計の進化の歴史は、まさにエレクトロニクス技術の進化の歴史でもある。そして、治療の面でも、心臓病の一番のリスクである高血圧の各種治療薬、および狭心症の発作治療薬ニトログリセリンが、1960年代から実用化されたのを皮切りに、多くの新薬がこの分野に投入されている⁶⁹⁾。その開発の成功も、心電計という優れた評価技術があればこそ、得られた成果であることを強調しておきたい。

3.3.3 脳波計

脳波の計測も、心電図の計測のように、エレクトロニクスの進歩が大きな鍵を握っていた。20世紀前半

に、脳からも微弱な電流が観測されることが、動物実験で確認されていたが、人で脳の活動電位を初めて計測し発表したのは、バーガー (H.Berger) で、1929年のことである⁷⁰⁾。脳の活動電位は、心臓より更に小さく μV オーダーであり、シグナル増幅とノイズ回避の技術は、心電図より更に高いレベルでの完成度が求められる。日本国内での国産機発売および研究、臨床応用も、従って本格化したのは戦後になってからのことである。

測定には多数の電極を頭部に装着し、各電極の電位の変化を、多数のペンを持つ記録計で描いてゆく。その記録紙上の特有の波形から、電位変化の図が「脳波」と呼ばれるようになった。脳波計測は、脳の各場所の活動電位を反映したシグナルとして計測されるので、多点電極を用いれば、脳の位置情報がある程度反映したシグナルを得ることができる。他に脳の状態を調べる手段がなかったころは、脳腫瘍や脳出血の場所の推定等にも盛んに利用された (図3.29)。しかし、1980年代以降になると、こうした場所占拠性障害の特定は、CT、MRIに役割を譲ることになり、使用頻度は減っていく。現在では、主として、

- ① 異常脳波の出現を特徴とする、てんかんの診断
- ② 睡眠障害患者の睡眠時の脳活動の観察
- ③ 脳の活動の程度を把握する必要がある検査、研究など、時間経過の中での脳の活動変化に注目した観察に使われる。しかし、③についても、特に研究用では、近年SPECT (Single Photo-Emission CT; 単一光子放射断層撮影) や、fMRI (functional Magnetic Resonance Imaging; 磁気共鳴機能画像法) に取って代わられつつある。

技術の基本に立ち返って考えてみる。身体の神経-筋肉組織は、すべて、細胞が発する微弱な電位の伝達によって制御されているので、この電位を測定して、被験者の神経-筋関連疾患の状態を把握する、という

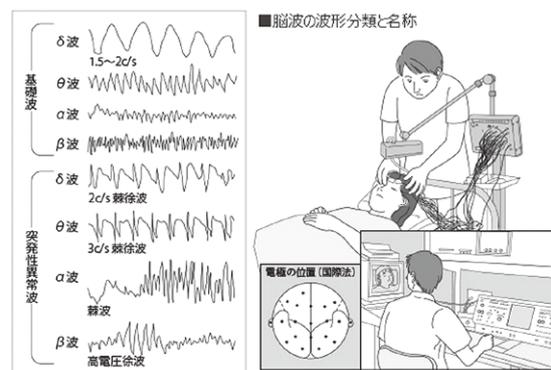


図 3.29 脳波検査⁷¹⁾

(株式会社法研・市田様のご厚意により掲載)

方法論および技術課題は、心電図も脳波も本質的には同じと考えられる。しかし、心電図解析が今日もなお、心臓の検査の最前線を担っているのに対し、脳波計は、その役割を徐々に減じている。心電図では、幸いなことに、そのパターンと心臓の解剖学的部位および機能との対応が、十分に解明されているので、古典的方法であるにも拘わらず、得られる情報が豊富である。一方、脳波は、活動電位の位置情報も機能（脳の活動の意味付け）も、心電図と比較すると十分とはいえない。この差が、心電図と脳波の臨床検査としての重要度評価の差となっている。脳波は、今日も、例えば認知症の分野では、病態解析の可能性を求め、いろいろ検討されている。近年のビッグデータや人工知能の技術を応用して、脳波の膨大なデータの処理とその意味付けに関して、新たなブレイクスルーがもたらされることを期待したい。

3.3.4 fMRI

1990年、小川誠らによって見出されたfMRIは、通常の水素原子からの信号ではなく、ヘモグロビンが酸素を渡した脱酸化ヘモグロビンのシグナルを見る。酸素消費が活発化し、局所血流が増加した部分のシグナルが強まる（画像の黄色～赤で着色した部分）のを見ることで、脳の活動部位を特定する技術である⁷²⁾ (図3.30)。精神疾患で脳の活動部位を特定するため、陽電子を放出する同位体で標識したグルコースを用いて血流量を見る、PET (Positron Emission Tomography) に代わる技術として、特に脳の研究目的中心に、近年非常に活発に用いられるようになった。

脳の疾患部位特定脳波計測では脳の活動位置を、電極毎の電位の相対的強度から推定するので、位置精度は相当曖昧であるのに対し、fMRIではシグナル位置はmmオーダーで観測可能である。従って、かつて脳波計に期待された、脳の活動部位解析は、fMRI技

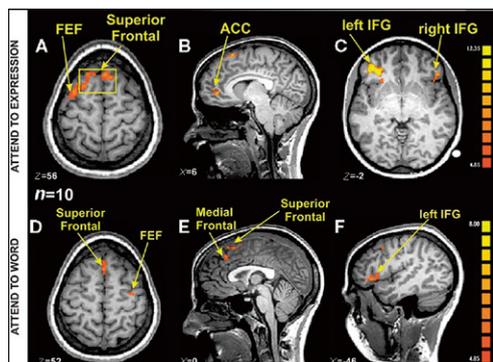


図 3.30 表情と言葉の認識を fMRI で比較⁷³⁾

表情と言葉が一致しない情報が与えられたときに反応する部位を比較

術に置き換えられつつある。現在では、まだ研究段階であるが、検査の4つの柱の「物理計測」の流れと「画像観察」の流れが融合した、新しい方向性の検査が登場する日も近いと期待される。

3.3.5 パルスオキシメーター⁷⁴⁾

fMRI に続いてもう1件、日本が発明、開発に重要な役割を果たした診断医療機器を紹介する。パルスオキシメーターは、脈拍に連動して、体内を流れる血中ヘモグロビンの光学特性を測定することによって、動脈血中ヘモグロビンの酸素飽和度を測定する装置で、1974年、日本光電の技術者であった青柳卓雄らが発明、特許を申請し、国内メーカーが試作したが、まずアメリカで商品化が進み、1980年代からさかんに使われるようになった。

人体は生命に必要なエネルギーの大部分を酸化反応で得ているので、酸素を十分取り込むことは生命維持の第一優先事項である。健常人では、肺でガス交換を受けた動脈血のヘモグロビンは、ほぼ100%酸素で飽和している。しかし、肺機能の未熟な新生児や、肺炎などで肺機能の落ちた患者では、この酸素飽和度が低下し、静脈血の40%に近づくほど重症で、命に関わる。従って、酸素飽和度の検査は、疾患重篤度の指標として非常に重要である。昔は、大腿動脈や上腕動脈から注射器で動脈血を採取し、ただちに酸素電極で酸素分圧を測定して求めていた。しかし動脈血採取は熟練を要する侵襲性の強い手技であり、気軽に何回も検査するわけにはいかなかったし、未熟児適用は困難を極めたと推察される。

そこで、体表から動脈血の酸素飽和度を測定する方法が、1960年代からいろいろ考案され、実用化されていった。これらの方法も酸素電極で酸素濃度を測る点では同じだが、体表に電極を密着させて漏れ出てくる酸素を測定することと、電極のセットされている部分を44℃ほどに加温して血行を促進して、計りやすくするところが技術のポイントであった。ただし44℃加温は、長時間は続けられず、皮膚へのセットにもいろいろ気を遣う必要があった。

こうした状況で登場したパルスオキシメーターは、酸素を直接計るのではなく、ヘモグロビンの酸素飽和度を分光学的に計測する装置である。測定原理の詳細については、酸素を結合したヘモグロビンと結合しないヘモグロビンの吸収スペクトルを、3.4.2項に示しているので参照されたい。例えば波長660nm（赤色）と910nm（赤外）のように、酸素の結合有無で異なる変化を示す2波長で、透過光ないしは反射光で体内を流

れる血液の光吸収特性を、体表から皮膚を通して測定し結果を計算すると、ヘモグロビンの酸素飽和度が求められる。ただ測定するだけでは静脈血の分も含まれてしまうが、脈拍がとらえられた瞬間に流れているのは動脈血なので、この増加分から動脈血分を計算する。

パルスオキシメーターは扱いが楽で、体表に熱をかける必要がないので長時間連続して測定でき、応用範囲も広いため、普及に弾みがついた。今日では、指先に装着するだけのセンサーと、片手に収まるサイズの本体で長時間計測したデータを保管して、ホルタ心電計のように酸素飽和度の推移、異常を確認出来る。こうした簡便さから、パルスオキシメーターは、従来の電極法がカバーしていた分野だけでなく、心電計や血圧計と一体化して、ベッドサイドモニタの必須項目として、さらには睡眠時に一時的に呼吸が停止する睡眠時無呼吸症候群の検査や、スポーツ選手のトレーニング効果の判定、登山での高地順化の確認など、医療以外の用途にまで利用を拡大している。

3.4 成分分析

今日、ルーチンで日常的に行われている臨床検査項目のうち、生化学検査、免疫学的検査、および血液学的検査の凝固線溶関係の項目が、技術的には成分分析に該当する検査である。対象となる成分／項目は、保険収載されているだけで数百件を越え、臨床検査の中核をなす存在である。しかしながら、こうした項目の検査としての実用化は、1960年代以降、急激に成し遂げられたもので、それ以前、とくに戦前は、個々の患者を対象とした検査は、殆ど実施されていなかったと言って良い。従って、成分分析としての臨床検査は、画像観察、細菌・細胞観察、物理計測といった他の検査より、むしろ立ち後れて実用化されたといえる。その後わずか50年間の急激な発展を支えた技術は、一連の工程に関わる化学反応の洗練化もさることながら、装置の進歩やコンピュータの進歩、その他関連する医療用具の発展など、多くの関連技術のパフォーマンスの向上に負うところがはなはだ大きい。

この1960年代以降の発展の技術、およびそれを可能とした社会的要件の解析は、次章以降で扱うこととし、この節では、こうした飛躍を可能にした、戦前の成果や臨床検査の位置づけの違いについて検討する。

3.4.1 生体成分の分析と比色法

化学的研究は、身の回りの物質に含まれる成分の解明から始まっている。従って人体の成分に関する

研究も、早くから進んでいた。糖尿病患者の尿中にグルコース（ブドウ糖）があることは、18世紀には知られていたし、1815年にはシェヴレイユ（E. Chevreul）によって、糖尿病患者の血中にも見いだされている⁷⁵⁾。尿素も、1780年頃にはシェーレ（K.H. Scheele）が、人の尿から単離している。ちなみに尿素は、従来は生氣論といって、他の有機物共々、生物のみが作る事が出来る物質であると信じられていたが、1824年にヴェーラー（F. Wöhler）が、銀のシアン酸塩と塩化アンモニウムという無機物質から合成出来ることを示して、永年信じられてきた生氣論を覆すきっかけになった記念碑的物質である⁷⁶⁾。尿酸もシェーレが尿結石から単離し、ヴェーラーも研究したが、19世紀後半にフィッシャー（E. Fischer）によって構造が決定され、DNA、RNAなどの核酸の構成成分であるプリン仲間、プリン型核酸代謝の最終産物である事が明らかにされた⁷⁷⁾。

血液中のタンパク質は、種類が多く、分子量も大きいので、低分子物質に比べ単離ははるかに難しいが、それでも19世紀には、存在量の多いアルブミン、フィブリンが単離され、研究されている。最も存在量の多いタンパク質であるヘモグロビンは、19世紀後半にホッペ＝ゼイラー（E.F. Hoppe-Seyler）によって結晶化され酸素と可逆的に結合することも見いだされた⁷⁸⁾。

以上は典型的な例であるが、多くの生体成分は、19世紀から20世紀の初め頃には存在が確認されていた。図3.31は、最近の測定技術による、血液中の主要成分の分析結果である。図の上下では、濃度レンジが1000倍違っている。20世紀後半に見いだされたRNA（リボ核酸）以外は、20世紀初めには血中に存在することが知られていた。ここには存在量の多いものから15種類を掲げたが、生体を構成維持してい

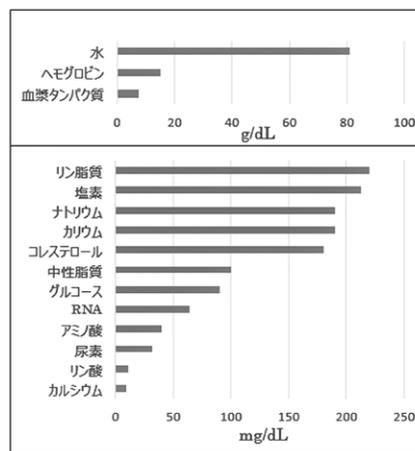


図 3.31 血液中の主な成分量 (文献 79)、80) を参考に作図)

くの必須である主要成分と、その代謝産物が並んでいるのが分かる。従ってこれらの値の変動を見ることで、患者の健康状態の概観を把握するのに役立つ。

しかし、こうした成果はあくまで研究としての成果であって、臨床検査にこれらが反映されるようになるのは、ずっと後のことである。グルコースを例に見てみよう。かつては臨床検査関係者の必読書とされた、「臨床検査法提要」⁸¹⁾の戦後初めての版である1947年版の目次を見ると、グルコース（ブドウ糖）の分析は、尿の項目にはあるが、血液の検査にはない。これは1941年版と全く同じで、戦後になっても、血中グルコースを検査するという臨床からの要請が、まだなかったことが分かる。しかも、尿中グルコース検査をとっても、陽性／陰性を判断するだけの定性試験が主であって、反応液と混和したときの呈色の有無で判定する方法であった。同じ定性試験といっても、尿試験紙のない時代のことで、今日の尿検査の簡便さとは大きな隔たりがあった。定量分析法も紹介されているが、試験管やビーカー、滴定ビューレットを用いる容量分析法であるため、試料をたくさん必要とし、操作自体も大変時間と手間のかかる方法である。研究用にはともかく、日常のルーチン検査への適用は、当時は余り行われなかったものと考えられる。

こうした状況は、1950年ころから、光電比色計が普及するようになって急激に変わってゆく。光電比色計は、可視光領域での特定波長の光を試料が吸収する割合を、光電管により電気的に計測し、目盛で読み取る装置である（図3.32、図3.33）。



図3.32 昭和36年(1961年)日立製作所製の光電比色計⁸²⁾
(信州大学自然科学館のご厚意により掲載)

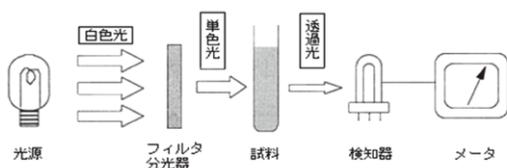


図3.33 光電比色計による吸光度測定の様相⁸³⁾
(株)日立ハイテクサイエンスのご厚意により掲載)

着色溶液の濃度決定や、呈色反応の反応度合いの測定に使われ、扱いが簡便で、定量性が良いので、大学や大手病院の検査室がこぞって導入した。これにより、それまでは容量分析が中心であった生体成分の分析法も、次々に呈色反応に基づく分析法に切り替えることになった。この光電光度計導入以降の検査の変貌の詳細については、次章で扱う。

呈色反応を利用して成分を定量する方法については、実は光電比色計発明の前から、電気的計測に依らない、目視で行う比色計が19世紀後半から使用されていた（図3.34）。

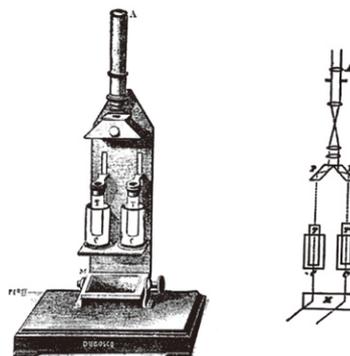


図3.34 デュボスク比色計(1870年)⁸⁴⁾

標準液と試料液の色の濃さを見比べて、濃度を測定する。試料、標準液それぞれのセルは、シリンダを上下して光路長を調節出来る。

比色計は、色見本の標準品セルと、光路長を変えながら観測できる試料セルを目視で見比べて、試料中の発色物質濃度を算出する装置である。呈色反応を定量化する評価系の多くは、この比色計を用いて行われ、中には後述するランベルト・ベールの法則の発見のような重要な研究もある。しかしながら目視の判断によるため、測定精度に難があったことは想像に難しくなく、実質的な取扱い上も制約が少なくなかったと想像される。そのため、呈色反応による成分定量分析は、あまり大々的には進まなかったものと考えられる。

3.4.2 光電比色計を用いた呈色反応による定量法

血色素ヘモグロビンの溶液は、赤く見える。これはヘモグロビン分子が可視光のうち、550nm付近の青緑色の光を主に吸収するので、我々は残った赤色を目にするからである。ヘモグロビンのように、着色した物質の多くは、特定の波長の光を主に吸収するので、その波長の光を照射し、着色物質がなかったときに比べ、どのくらい光が吸収されたかを光電管で測定すれば、着色の度合いを定量化できる。

今、厚さ d 、着色物質の濃度 c の溶液に光が入射し

たとき、入射光の強度 I_0 と透過光の強度 I との間には、一般にランベルト・ベール (Lambert-Beer) の法則と呼ばれる次の関係が成り立つ：

$$-\log(I/I_0) = \varepsilon c d$$

ここで $-\log(I/I_0)$ を吸光度、 ε を吸光係数と呼ぶ。即ち、物質の濃度 c と、吸光度とは比例関係が成り立つので、吸光計数 ε を、既知濃度試料の測定で求めておけば、濃度の分からない試料も、吸光度を求めることによって簡単に濃度が分かるのである。ヘモグロビンのようにもともと色のある生体成分は、これで濃度が求められる。図 3.35 にヘモグロビンを試料としたときの、測定波長と吸光度との関係を表したグラフ (吸収スペクトル) を示す。強い吸収を示す 400nm 付近の吸収は紫色の領域で、補色の黄色としては肉眼的には余り強く感じられない。その一方で、ヘモグロビンは酸素を結合しているかどうかによってスペクトルが異なり、酸素を結合しているヘモグロビン (HbO_2) は、600~750nm の赤色領域を、結合していないヘモグロビン (Hb) に比べ、1 割程度しか吸収しないため、赤色がより鮮やかに見える。動脈血が鮮やかな赤色であるのに対し、静脈血が黒っぽく見えるのは、この吸光度特性の違いのためである。3.3.5 項で述べたパルスオキシメーターは、この特性を応用している⁸⁶⁾。

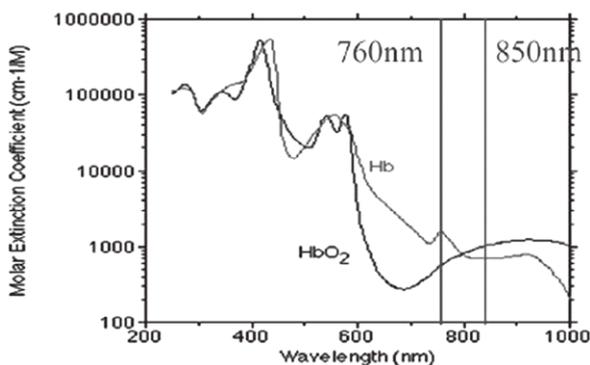
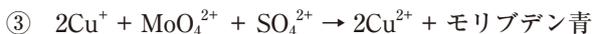


図 3.35 ヘモグロビンの可視吸収スペクトル⁸⁵⁾

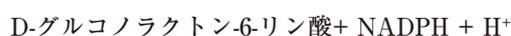
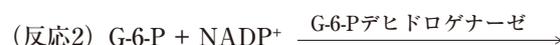
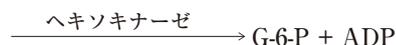
一方、例えばグルコースのような、それ自体としては色を持たない物質を、吸光度法で定量する場合はどうしたらよいのか。グルコースと反応する物質を使い、その物質が反応して発色するか、あるいは反応後の物質が、さらに他の物質と反応して発色するように工夫して、加えたグルコース量に見合った発色具合を計測する。以下に 2 つの例を示す⁸⁷⁾。

【例 1 Somogyi-Nelson 法】



この系では、最終反応物である、モリブデン青の発色度合いを、660nm の吸光度によって調べる。還元糖としてのグルコースの特性を利用した測定法で、今日でも研究に使われている方法であるが、他に還元物質が共存すると、値に影響が出る。

【例 2 グルコースオキシダーゼ法】



ATP	アデノシン-3-リン酸
ADP	アデノシン-2-リン酸
G-6-P	D-グルコース-6-リン酸
NADP ⁺	ニコチンアミドアデニンジスクレオチドリル酸 (酸化型)
NADPH	ニコチンアミドアデニンジスクレオチドリル酸 (還元型)

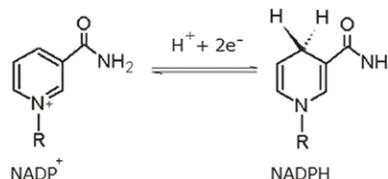


図 3.36 NADP⁺、NADPH の酸化還元構造変化

この系ではグルコース代謝系の 2 種類の酵素を用い、中間生成物である G-6-P を仲立ちとし、NADP⁺ が NADPH になって生じる 340nm の紫外線領域の吸収強度を見る (図 3.36)。この反応は、ヘキソキナーゼという酵素の基質特異性を利用し、グルコースに対し高い特異性があることが利点で、今日の臨床検査の多くは、本法に準拠した方法を用いている。しかしながら、波長域が紫外線領域であるため、光電比色計では、このグルコースオキシダーゼ法に対応出来なかった。紫外線領域での測定には、より紫外線測定に合った光源を装備し、照射する光の波長の選択をフィルターでなくプリズムや回折格子を用いて、より正確に実施できる分光光度計と、紫外線吸収の少ない石英セルが必要であったが、いずれも光電比色計に比べはるかに高価で、普及には時間がかかった。

3.4.3 機器分析時代の幕開け^{88) 89)}

分析化学は、化学的研究成果を分析手段に応用する性格上、他の化学分野より遅れて発達した。それでも19世紀終わりから20世紀前半にかけては、溶液平衡論の進歩から、pHや錯イオン、溶解度積などの理解が進み、指示薬を用いる容量分析が発達した。しかし分析技術の真のブレークスルーは、20世紀前半に始まる一連の機器分析技術の開発である。1922年には電極を用いるポーラログラフイーの原理が発表された。可視光吸収を分析に利用する試みは1926年にフィッシャー(H. Fischer)が実用例を示し、1940年代には分光光度計が欧米で市販され、これを用いた分析が一般に行われるようになった。また、1940年代には、赤外分光器、ラマン分光器、質量分析計のプロトタイプが現れ、研究応用が始まった。

1946年にパーセルとプロッホ(E.M. Purcell, F. Bloch)のグループが、NMR(核磁気共鳴)の信号の観測に成功した。この発明のインパクトは大きく、1952年のノーベル賞に選定され、1950年代後半には高分解能NMR分光器が市販されるようになると、有機化合物の構造解析に活躍するようになる。

分析の前提となる物質の分離に関しても、1903年のツヴェット(M.S.T. Twett)による吸着クロマトグラフイーの発見、1940年代のマーティン(A. Martin)らによる分配クロマトグラフイーを経て、ガスクロマトグラフイー、液体クロマトグラフイーへと実用化が進んだ。更に1990年ころには超臨界流体クロマトグラフイーが実用化され、20世紀初めの頃とは比較にならないくらいの進歩を遂げている。

以上は、欧米における機器分析技術の流れのあらましかが、日本においてはどうかであったろうか。

戦後、日本における新たな分析機器の普及は、欧米より5年~10年遅れて始まった。戦争で1940年代以降の欧米からの技術導入が一時途絶した影響もあって、各種分析装置の市場投入は、1950年代、1960年代になってからであった。表3.4は国内における主な分析機器類の特徴と、発表時期をまとめたものである。臨床検査を構成する臨床化学と同様、他の分析化学の分野でも、戦後5年から10年ほどで、一気に機器分析の時代に突入し、新たな分析手段に触発された研究が花開いたことが窺える。

3.4.4 臨床化学技術の特徴

さて、臨床化学は、グルコースなど尿中の低分子代謝物の比色法を事実上の出発点とし、1950年代以降は血液を試料とした低分子代謝物、酵素、更にタンパク

質の分析へと発展していった。ここで用いられる分析技術は、Na、Kなどの元素の分析に関しては、電位差分析を取り入れているものの、大部分の項目に対しては、可視光ないしは紫外線の吸光度分析法を、一貫して今日に至るまで採用してきた。1950年代にガスクロマトグラフイーや液体クロマトグラフイー、赤外分光光度計、電位差滴定計などの製品が、研究用途に用いられるようになったころ、臨床検査の分析方法としても、これらが検討されたことが文献からうかがえるが、結局、可視/紫外吸光度法が君臨し続けている。

一方で、他の分析化学分野では状況はかなり異なる。臨床化学に比較的近い天然物化学を例にとり、ある種の植物から薬効成分を抽出、同定して構造決定することを想定すると、以下のような種々の機器分析手法が駆使され、新しい方法も積極的に取り入れて行われる。

- ① 有効成分の抽出、精製：
遠心分離、液体カラムクロマトグラフイー
- ② 純度の確認：
分析用液体カラムクロマトグラフイー
- ③ 構造決定：
赤外分光光度計、核磁気共鳴法、質量分析法
- ④ 定量法：液体クロマトグラフイー、
可視/紫外分光光度計

最近では、高速液体クロマトグラフイーと質量分析計を直結した、LC/MS、LC/MS/MSが、成分の網羅的解析に活躍している。

この違いは、どこから来るのであろうか。既知物質の定性・定量分析が目的である臨床検査と、未知物質の同定が目的である天然物化学では、使われる技術が違ってくるのは当然だが、どちらも他の夾雑物の影響を排除して目的の成分だけを扱うことが技術の核心であることには変わりがない。ただし、夾雑物の影響の排除技術として、天然物分析ではクロマトグラフイーの分離能に、臨床検査では反応試薬の特異性に依っているといるところに本質的な違いがある。また、天然物分析では、工程ごと、機器ごとに段取り操作が入り、技師/研究者の操作が介在するが、臨床検査では出来るだけ工程を簡略化し、ついには試料と試薬をセットすれば、あとはすべて機械が自動的に分析を行う、全自動化の方向へ進化してきている。

即ち、臨床化学技術の特徴は、同じ項目を多数、効率良く定量することに照準を合わせ、反応特異性の高い試薬の開発と、作業効率の高い、原理的に安価で精度の高い可視/紫外吸光度法の自動化に、その本質があると考えられる。

表 3.4 主要機器分析法の特徴と、日本における発表時期

分析手法	国産装置 発表年	用途	原理	特徴
吸光光度分析法	1952	定性定量分析	資料物質の、基底状態から励起状態への電子遷移に基づく、光（可視光、紫外光）を吸収する現象を利用する。 物質の濃度と吸光度には直線関係がある。	機器の扱い、定量操作が比較的簡単。感度良く、精度も高い。 適用範囲に制限あり。
蛍光光度分析法	*1954	定性定量分析	蛍光光度分析は、励起状態にある資料物質が、再び基底状態に戻る際に発する蛍光を利用する。 物質の濃度と吸光度には直線関係がある。	機器の扱い、定量操作が比較的簡単。感度、吸光度分析よりも高い。 適用範囲に制限あり。
赤外吸収分析法	1956	定性定量分析 構造解析	資料に赤外線を当て、双極子モーメントが変化する分子骨格の振動、回転に対応するエネルギーの吸収を測定する。	固体、液体、気体を問わず迅速に測定できる。 有機化合物を構成する基に特有な吸収帯があるので、未知資料の同定、構造解析に好んで用いられる。
ラマンスペクトル分析法	1950	定性定量分析 構造解析	資料に単色光を当て、分子の分極率が変化する分子骨格振動に起因して発生する散乱光を観測する。	ラマンスペクトルは観測される振動が赤外と異なるので、赤外吸収分析法と相補的に用いられると共に、偏光消滅度を利用した構造解析にも使われる。
原子吸光分析	1968	原子の定性定量分析	資料を熱分解し、生成した基底状態の原子蒸気に、特定波長の光を照射したときに起こる、原子の吸光現象を利用した分析法。	選択性よく、殆どの金属元素の高感度分析に用いられる。
発光分光分析	*1955	原子の定性定量分析	試料を放電等により、励起状態の下にまたはイオンを生成し、これらが放射する発光スペクトル線の波長位置と強度から、定性、定量分析する。	多元素同時分析が高感度で出来る
X線回折分析	1954	結晶構造の決定	試料中の原子から散乱されるX線の開設核や強度は物質の構造に特有であり、回折角から定性分析、強度から定量分析が出来る。	有機・無機結晶やその他の構造物解析。 高い解像度を求めるには、高エネルギーのX線源があるので、装置は大型かつ高価。
蛍光X線分析	*1958	元素の定性定量分析	X線照射によってたたき出された電子の内殻軌道に、外殻軌道の電子が遷移するときに発生する蛍光X線の波長から定性分析、強度から定量分析が出来る。	数種類を一度に広い濃度レンジで測定可能。 強い蛍光を得るためには、強いX線源が必要。
核磁気共鳴法	1956	有機化合物の構造解析	¹ H、 ¹³ Cなど磁気モーメントを持つ原子核を磁場中に置き、ゼーマン効果により見られる複数のエネルギー状態に相当する電磁波を照射し、核スピンシフトに基づくエネルギー吸収から、試料の構造情報を得る。	試料は液体で測定する。官能基に固有のケミカルシフトから、試料のもつ官能基が分かる。
質量分析法	1951	有機化合物の分子量決定 構造決定	試料をイオン化し、イオン化された試料ないしはその断片のイオンが磁場等の影響で質量/電荷数に応じて分離されたスペクトルを得る。	イオン化断片の正確な分子量が分かるので、構造解析に威力を発揮する。
ガスクロマトグラフィー	1957	揮発性物質の定性定量分析	試料が固定相（カラム担体）と移動相（液体）の間での分配割合の差を利用して、複数の成分を分離する。	迅速、高感度で簡便な手法。 試料は揮発性物質に限られる。 Rf値で定性（同定）、ピーク面積で定量できる。
液体クロマトグラフィー	1962	液体に溶解性の物質の、分離精製、定性定量分析	試料が固定相（カラム担体）と移動相（ガス）の間での分配割合の差を利用して、複数の成分を分離する。	生体成分の分離精製の常套手段。 不揮発性物質の分析に向く。 Rf値で定性（同定）、ピーク面積で定量できる。
電位差分析	*1953	定量分析、モニタリング	試料溶液中に目的イオンに感応する指示電極と、目的イオンの濃度に無関係に一定電位を示す参照電極とを浸し、両極間の電位差から目的イオンの濃度を求める	測定法が簡単で、定量感度が優れている

※用途、原理、特徴は、引用文献(87)から引用し、一部修正して用いた。

※発表年については、主として日本分析機器工業会の技術遺産年表に従い、不明分（*印）は、雑誌、分析化学に掲載された年とした。

参考・引用文献

- 1) 石川 謙：「顕微鏡小史」, <http://www.op.titech.ac.jp/lab/Take-Ishi/html/ki/hg/micro/mic1.html> (2016.5.18 参照)
- 2) 久保田博南：「医療機器の歴史」, 真興貿易（株）医書出版部, p54-57, 2003 年
- 3) レーウエンフック顕微鏡（複製）, 出典：https://en.wikipedia.org/wiki/Antonie_van_Leeuwenhoek#/media/File:Leeuwenhoek_Microscope.png (2016.11.14 参照)
- 4) 「顕微鏡の発達」, 福島県教育センター所報ふくしま, No.59, p37-38 (1982)
- 5) Zeiss 社製顕微鏡（1879 年製）, 出典：https://en.wikipedia.org/wiki/Carl_Zeiss#/media/File:Microscope_Zeiss_1879.jpg (2016.11.14 参照)
- 6) 血球の顕微鏡像（ギムザ染色）, 出典：[https://en.wikipedia.org/wiki/Monocyte#/media/File:Monocytes,_a_type_of_white_blood_cell_\(Giemsa_stained\).jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Monocyte#/media/File:Monocytes,_a_type_of_white_blood_cell_(Giemsa_stained).jpg) (2016.11.14 参照)
- 7) 血球の走査電子顕微鏡像, 出典：<https://upload.>

- wikimedia.org/wikipedia/commons/2/24/Red_White_Blood_cells.jpg (2016.11.14 参照)
- 8) メチニコフ, 宮村定男訳:「近代医学の建設者」, 岩波書店, 1982 年
 - 9) ヴォルフガング・エッカルト著, 今井道夫・石渡隆司訳:「医学の歴史」, 東信堂, 252-254 頁, 2014 年
 - 10) K.F. カイブル編, 酒井シズエ訳:「疾患別医学史 II」, 朝倉書店, 2006 年
 - 11) 岡田晴恵:「感染症は世界史を動かす」, ちくま新書, 2006 年
 - 12) 本川裕:「社会実情データ図録－主要死因別死亡率推移」, 出典:<http://www2.ttcn.ne.jp/honkawa/2080.html> (2016.11.13 参照)
 - 13) 小栗豊子:「感染症 (通巻 230 号)」, 37 頁 図 2, 2009 年 11 月号
 - 14) 町田勝彦著, 河合忠編集:「我が国の臨床検査の歴史」, 第 1 章 6 節, (株) エスアールエル, p84-90, 2000 年
 - 15) PCR の原理, 出典:https://commons.wikimedia.org/wiki/File:PCR_basic_principle1.jpg (2016.11.14 参照)
 - 16) 仁木利郎, 福嶋敬宜編集, 福嶋敬宜ほか執筆:「病理学・病理検査学」, 医学書院, 2012 年
 - 17) Virchow の細胞スケッチ, 出典:<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7b/Virchow-cell.jpg?uselang=ja> (2016.11.14 参照)
 - 18) 巽典之著, 河合忠編集:「我が国の臨床検査の歴史」, 第 1 章 4 節, (株) エスアールエル, p68-76, 2000 年
 - 19) 昭和大学藤が丘病院病理検査室のホームページより引用, <http://www.showa-u.ac.jp/SUHF/department/office/labo/byouri.html> (2016.5.28 参照)
 - 20) 瀧本浩:「染料技術発展の系統化調査」, 国立科学博物館技術の系統化調査報告, p227-283
 - 21) Lawrence C.McHenry, Jr. 著; 豊倉康夫監訳, 萬年徹, 井上聖啓訳:「神経学の歴史:ヒポクラテスから近代まで」, 第 5 章, 医学書院, 1977 年
 - 22) 社団法人日本皮革産業連合会:「皮革用語事典」, <http://dictionary.jlia.or.jp/detail.php?id=85> (2016.10.25 参照)
 - 23) 根本則道著, 河合忠編集:「我が国の臨床検査の歴史」, 第 1 章 1 節, (株) エスアールエル, p12-15, 2000 年
 - 24) フナコシ株式会社製品情報から FISH 法, 出典:<http://www.funakoshi.co.jp/contents/5533> (参照 2016.11.13)
 - 25) 名古屋記念病院臨床検査部のページより引用:<https://www.hospny.or.jp/kinen/main/busho/rinshoukensabu.html> (参照 2016.11.13)
 - 26) 一般社団法人日本血液製剤協会ホームページより引用, http://www.ketsukyo.or.jp/blood/blo_01.html (参照 2016.6.5)
 - 27) 日本臨床検査医学会ガイドライン委員会:「臨床検査のガイドライン JSLM2015」, 日本臨床検査医学会, p31-35, 2015 年
 - 28) 前田信治:「教育講座:血液のレオロジーと生理機能」, 日生誌, Vol. 66 (9), p.287-297, 2004 年
 - 29) 沖縄県薬剤師会ホームページ:「臨床検査値の基準値」, <http://www.okiyaku.or.jp/datafile/hyojunti.html> (参照 2016.5.29)
 - 30) Beckman-Coulter 社ホームページ資料, http://www.beckmancoulter.co.jp/hematology/oneself/part02/self2_03.html (参照 2016.5.29)
 - 31) Neubauer 血球計算盤, 出典:https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Neubauer_improved_counting_chamber.jpg?uselang=ja (2016.11.13 参照), および Alcibiades の血球計算データ, 出典:https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Neubauer_improved_with_cells.jpg?uselang=ja (2016.11.13 参照)
 - 32) 中本博幸:「血球計数の歴史」, BIOENGINEERING NEWS, No.26, 1998
 - 33) 巽典之:「主な自動血液分析の計測基本原理, 自動血液検査品質保証論」, ベックマンコールター Study Book, No.3, p1-5, 2005 年
 - 34) Sysmex:「Annual Rport 2007:シスメックスの技術と研究開発の進化」, 34 頁, 2007 年
 - 35) シスメックス株式会社ホームページ, 開発の歩みと技術表彰, http://www.sysmex.co.jp/rd/history_awards/history/history03.html (参照 2016.5.29)
 - 36) 鈴木隆二:「免疫学の基本がわかる事典」, 西東社, 107 頁, 2015 年
 - 37) 島津製作所 創業記念館 HistoryWEB ページ, 1894 年より引用, <http://www.shimadzu.co.jp/visionary/history/1894.html> (2016.6.27 参照)
 - 38) 1896 年レントゲン撮影のアルベルト・フォン・ケリカーの手の X 線写真, 出典:https://commons.wikimedia.org/wiki/File:X-ray_by_Wilhelm_R%C3%B6ntgen_of_Albert_von_K%C3%B6lliker%27s_hand_-_18960123-02

- jpg?uselang=ja (2016.11.13 参照)
- 40) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 33 頁, 2003 年
 - 41) 神戸邦治:「X 線管技術の系統化調査」, 国立科学博物館技術の系統化調査報告, 2017 年
 - 42) 日本臨床検査医学会ガイドライン委員会, 日本臨床検査医学会:「臨床検査のガイドライン JSLM2015」, 238 頁, 2015 年
 - 43) G.D. Schott: “Some observations on the history of the use of barium salts in medicine.”, Med Hist, Vol.18 (1), p9-21, 1974
 - 44) 矢吹昌久ほか:「5. 造影剤の歴史」, 日獨医報, Vol.56 (1), p60-70, 2011
 - 45) 1929 年フォルスマン撮影の自らの腕から心臓まで挿入したカテーテルの写真, 出典: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Werner_Forssmann.jpg?uselang=ja (2016.11.13 参照)
 - 46) 川田志明:「わが身にカテーテルを通す」, 日本心臓財団刊行物 耳寄りな心臓の話第 5 話, <http://www.jhf.or.jp/bunko/mimiyori/05.html> (参照 2016.5.14)
 - 47) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 151 頁, 2003 年
 - 48) 初の臨床 CT 写真, 出典: AuntMinnieEurope のサイト, <http://www.auntminnieeurope.com/index.aspx?sec=ser&sub=def&pag=dis&ItemID=605086> (2016.11.13 参照)
 - 49) 冠動脈狭窄の 3D-CT, 社会医療法人社団十全会心臓病センター榊原病院 HP より, http://www.sakakibara-hp.com/b_sindan_ct.htm (2016.6.5 参照)
 - 50) 森一生:「ヘリカルスキャン X 線 CT 装置」, 東芝レビュー, Vol.55 (2), 71 頁, 2000 年
 - 51) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 156 頁, 2003 年
 - 52) 脳腫瘍の CT & MRI, 出典: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MRI_brain_tumor.jpg?uselang=ja (2016.11.13 参照)
 - 53) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 142 頁, 2003 年
 - 54) 一般社団法人 日本画像医療システム工業会 (JIRA):「代表的な医療機器の歴史-超音波診断装置」を参照, http://www.jira-net.or.jp/vm/chronology_ultrasonic.html (2016.5.19 参照)
 - 55) カラードプラ法, 出典: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Survival-after-Left-Ventricular-Free-Wall-Rupture-in-an-Elderly-Woman-with-Acute-Myocardial-728602.fl.ogv?uselang=ja> (2016.11.13 参照)
 - 56) 3D 超音波法による胎児像, 出典: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:4dsonogram.jpg?uselang=ja> (2016.11.13 参照)
 - 57) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 134 頁, 2003 年
 - 58) オリンパス (株):「内視鏡の歴史」, <http://www.olympus.co.jp/jp/corc/history/endo/gastro.cfm> (2016.5.19 参照)
 - 59) ヴォルフガング・エッカルト著, 今井道夫・石渡隆司訳:「医学の歴史」, 東信堂, 147-152 頁, 2014 年
 - 60) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 38 頁, 2003 年
 - 61) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 45 頁, 2003 年
 - 62) M.Rivera-Ruiz et.al.: “Einthoven's String Galvanometer, The First Electrocardiograph”, Tex Heart Inst J., Vol.35 (2), p174-178, 2008
 - 63) 2) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, p48, 2003 年
 - 64) フクダ電子 (株):「フクダ電子の歩み -心電計物語」, <http://www.fukuda.co.jp/company/history/ecg.html> (2016.6.5 参照)
 - 65) アイントローフェンの心電計, 出典: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Willem_Einthoven_ECG.jpg?uselang=ja (2016.11.13 参照)
 - 66) 2016 年現在最小のホルタ心電計 (53g), フクダ電子 HP, ホルター心電検査関連装置より http://www.fukuda.co.jp/medical/products/holter_ecg/fm_960.html (2016.6.5 参照)
 - 67) G.E.Busch et.al.: “A History of Electrocardiography”, Jeremy Norman Co; Reprint 版, 1990
 - 68) フクダ電子 (株):「フクダ電子の歩み -ホルター心電計の歩み」, <http://www.fukuda.co.jp/company/history/holter.html> (2016.6.5 参照)
 - 69) 梅津 浩平:「技術の系統化調査報告 -医薬品創製技術」, Vol.22, 79-216 頁, 2015 年
 - 70) 久保田博南:「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 65-66 頁, 2003 年
 - 71) 株式会社 QLife ホームページより, 脳波検査, https://www.qlife.jp/dictionary/exam/item/i_00500/ (2016.5.28 参照)
 - 72) Scott H. Faro, Feroze B. Mohamed: “BOLD fMRI

- A Guide to Functional Imaging for Neuroscientists”, Springer, 2010
- 73) fMRI, 出典：https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Functional_magnetic_resonance_imaging#/media/File:FMRI_BOLD_activation_in_an_emotional_Stroop_task.jpg (2016.11.13 参照)
- 74) 久保田博南：「医療機器の歴史」, 真興貿易 (株) 医書出版部, 107-114 頁, 2003 年
- 75) K.F. カイブル編：「疾患別医学史Ⅱ」, 朝倉書店, 480 頁, 2006 年
- 76) 廣田襄：「現代化学史 原子・分子の科学の発展」, 54 頁, 2013 年
- 77) 廣田襄：「現代化学史 原子・分子の科学の発展」, 123 頁, 2013 年
- 78) 廣田襄：「現代化学史 原子・分子の科学の発展」, 133 頁, 2013 年
- 79) R. フリント著, 浜本哲郎訳：「数値で見る生物学」, 丸善出版, 2007 年
- 80) 株式会社 LSI メディエンス：「総合検査案内」, 2014 年
- 81) 金井 泉ほか：「臨床検査法提要」, 日本医書出版, 1947 年
- 82) 昭和 36 年 (1961 年) 日立製作所製の光電比色計, 出典：信州大学自然科学館 HP, <http://science.shinshu-u.ac.jp/~museum/chemistry.html> (2016.6.18 参照)
- 84) (株) 日立ハイテクサイエンス：「光電比色計による吸光度測定のおくみ」, 分光光度計基礎講座第 6 回より引用, http://www.hitachi-hightech.com/hhs/products/tech/ana/uv/basic/uv_course6.html/ (2016.6.18 参照)
- 84) デュボスク比色計, 出典：https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Duboscq_colorimeter_1870.png (2016.6.18 参照)
- 85) Prael, S.: Optical Absorption of Hemoglobin, URL:<http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin>, Oregon Medical Laser Center (Oct.2010)
- 86) 久保田博南：「健康を計る - 血圧計からパルスオキシメータまで」, 講談社ブルーバックス, 1993 年
- 87) 北村進一, 中屋慎：「糖の定量法」, 生物工学, Vol.90 (12), p790-793, 2012
- 88) 庄野利之, 脇田久伸：「入門機器分析化学」, 三共出版, 1998 年
- 89) 廣田襄：「現代化学史 原子・分子の科学の発展」, 2013 年

4 | 臨床化学^{1) 2) 3) 4)}

本章では臨床化学の成立と、扱う検査項目について検討する。主として低分子代謝物、無機物及び酵素からなる項目群であり、診療報酬点数表では生化学検査に分類されている。戦後の臨床検査の普及拡大を代表する項目群であり、本章および次の5章で、その技術展開を辿る。

4.1 臨床化学の成立

臨床化学とは、医療を対象とする化学を意味する。臨床検査が「検査」という実技、診療行為を意味するのに対し、臨床化学は、「学」が付く学問の一分野である。東京大学医学部図書館の蔵書を検索すると、本のタイトルに「臨床検査」という言葉が初めて登場するのが「内科臨床検査」の1930年、2冊目が3.4.1で引用した「臨床検査法提要」の1941年である。一方、臨床化学は、「臨床化学実験法」の1933年で、両者はほぼ同じ時期に、医療、医学の分野の一つとして、国内で認知されるようになったものと考えられる。折しも、1931年に満州事変が始まり、日本が軍備強化へと本格的に舵を切った時期である。このことは恐らく偶然でない。徴兵検査や軍隊における傷病管理のため、検査技術も、より一般化、統一化され運営される体制が求められていた結果ではないだろうか。時期はさらに半世紀も遡るが、医療の先達であるヨーロッパにおいて、医療関係の研究の進歩を促した大きな要因が、軍隊における衛生管理の必要性にあったことは、よく知られている。

1947年出版の「臨床検査法提要」第3版によれば、臨床化学に相当する成分分析を行う検査対象は、主として尿である。血液の成分分析は、アルブミン、グロブリン、フィブリノーゲンのタンパク質に限られ、尿素、尿酸、クレアチニン、カルシウム、リンなどの低分子成分の測定はまだ取り上げられていない。血糖ですら取り上げられていない。こうした状況は、戦前1941年の初版の内容と変わっていない。戦後とは言え1947年では、第二次大戦による物資、情報の欠乏から来る新規技術の導入の遅れが、まだ尾を引いていたと考えられる。

1950年代になると、状況は大分変わって来る。当時大学病院や大手病院では、臨床検査は病院の医局毎に、若手の研修医らを中心に行われていたが、1948年にGHQが東京第一病院（現国立医療センター）に、

これらを統合した中央検査室の設置を勧告した。それを受け、1950年から東京第一病院、名古屋大学病院などで中央検査室が設置され、各種検査を一括して管理、実施する体制が整い、専門スタッフの養成、検査装置の充実化が計られた⁵⁾。こうした取り組みを反映し、ようやく血液を検査試料として、血漿タンパク質、A/G比、フィブリノーゲンといった主要タンパク質をはじめ、尿素、尿酸、クレアチニン、コレステロール、血糖など、生体で重要な役割を担っている低分子成分の項目が並ぶようになる。なお、血液を試料とする臨床化学検査では、血液から血球だけ除いた血漿を、フィブリノーゲンなどの血液凝固系タンパク質の分析に使用し、血液を凝固させて血球及び凝固系成分とともに除いた血清を、その他の項目の検査試料に用いる。こうした血清を試料とする検査項目拡充の推移を、「臨床検査法提要」の内容の1975年までの変遷を中心に、表4.1で辿ってみた。1957年時点での東京厚生年金病院の採用項目（図の中央の灰色カラム）は、臨床検査法提要の内容と良く符合している。また今日の検査の例として、2015年の検査ガイドライン推奨の入院時基本検査項目を右端カラムに示した。検査が可能な項目数は、往時と比べ飛躍的に増加しているが、必要最低限の検査項目は、このように絞り込まれている。

技術面で特筆すべきは、光電比色計の導入であった。光電比色計の普及により、容量滴定による分析法より試料が少なく済み、操作が遙かに簡便な吸光度分析法が利用できるようになったことが、血液分析実施の流れを大いに加速することになった。ただし、この頃の低分子物質測定では、血液中に大量に存在するタンパク質の影響を避けるために、あらかじめ試料とする血液のタンパク質の大部分を除去する、除蛋白という操作が必要であった。具体的には血液に酸や重金属イオンを加えてタンパク質を変性沈殿させ、その上澄みを、遠心分離ないしは濾過によって分け取り、試料としていた。

1960年代になると、さらに酸性／アルカリフォスファターゼ、コリンエステラーゼ、アミノトランスフェラーゼ（GOT、GPT）、アミラーゼ（ジアスターゼ）といった血中酵素の測定が加わる。酵素の測定には、反応の進行による吸光度の時間変化を計測する方法（レート法）が取られるので、こうした測定に、より適した分光光度計が使われるようになった。さらに

表 4.1 臨床化学検査項目の推移

☆：定量法 ☆☆☆：吸光度法による定量法^{6) 7)}

	1950~1975 主な項目	臨床検査 法提要 1947	臨床検査 法提要 1954	東京厚生 年金病院 1957	臨床検査 法提要 1960	臨床検査 法提要 1962	臨床検査 法提要 1968	臨床検査 法提要 1975	カトリン 入院時 基本検査 2015
蛋白質	血漿（血清）蛋白質	-	☆	☆	☆	☆	☆	☆☆☆	☆☆☆
	血漿A/G比 or 蛋白分画	-	☆	☆	☆☆	☆☆	☆☆	☆☆	☆☆☆
非 蛋白 性 窒 素	残余窒素	-	☆	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	-
	尿素	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
	クレアチン	-	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	-
	クレアチニン	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
血 糖	尿酸	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
	血糖	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
脂 質	ヘモグロビンA1c	-	-	-	-	-	-	-	☆☆☆
	総コレステロール	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
	コレステロールエステル	-	☆☆☆	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	-
無 機 質	中性脂肪	-	-	-	-	-	-	-	☆☆☆
	塩素	-	☆	☆	☆	☆	☆	☆	-
	カルシウム	-	☆	☆	☆☆	☆☆	☆☆	☆☆	-
	無機リン	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	-
	ナトリウム	-	-	☆	-	☆	☆	☆	-
	カリウム	-	-	☆	-	☆	☆	☆	-
	血清鉄	-	-	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	-
酵 素	重炭酸イオンまたはCO ₂	-	-	-	-	☆	☆	☆	-
	アルカリフォスファターゼ（ALP）	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
	酸性フォスファターゼ（ACP）	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	-
	コリンエステラーゼ（ChE）	-	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	-
	トランスアミナーゼ [※] AST（GOT）	-	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
	トランスアミナーゼ [※] ALT（GPT）	-	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
	アミラーゼ	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	-
	乳酸脱水素酵素（LD）	-	-	-	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆
クレアチン酸キナーゼ [※] （CPK）	-	-	-	-	-	☆☆☆	☆☆☆	☆☆☆	
γ-GT	-	-	-	-	-	-	☆☆☆	☆☆☆	

60年代後半には、乳酸脱水素酵素、クレアチンリン酸キナーゼといった酵素の検査も加わった。また従来項目についても、除タンパク操作が不要な、新しい測定法が徐々に採用されていったのも、この頃からである。

そして1956年にアメリカで登場した自動分析装置（オートアナライザー）が、用手法に頼っていた血液成分測定を、根本から変えていくことになる。オートアナライザーは、日本にも1960年頃から少しずつ導入が始まり、70年代には、日本のメーカーも自動分析装置の製作に参入するようになった。自動分析装置導入では、アメリカと日本とで20年の時間差があったわけで、アメリカと比較した、当時の日本の医療全般の遅れを象徴している。ともあれ我が国では、こうして1970年代に、本格的臨床検査時代の幕開けを迎えることになった。自動分析装置およびその影響については、次章で詳しく検討する。

4.2 血液を検査する

このようにして、1950年代を境に、臨床検査の対象の主役が、尿や糞便、痰から血液にと入れ替わるのだが、この変化の意味するところ、変化を支えた医療環境の変化について考えてみたい。

尿、糞便、痰の検査が主流であったのは、主として以下のような事情によるものだった。

- ① 試料の非侵襲採取が可能で、採取の手間もさほどかからない。
- ② 1950年代以前は、感染症対応が医療の中心であり、特に喀痰による結核の検査、糞便による下痢感染症および寄生虫卵検査が重要であった。
- ③ 尿も、色調の異常（血尿、高ビリルビン尿）、混濁（感染症）が、検査の主要眼目であった。
- ④ 臨床化学の項目としては、グルコース、尿素、尿酸など、含量が多く、重要な中間代謝物成分の検査の重要性は認識されていた。尿は一般に除蛋白操作が不要であることも幸いし、余り手間がかからない定性試験なら当時の診療の中で実施が可能だった。その一方で、尿は、そもそも生体にとって不要となった物質の廃棄手段であり、患者の体調や生活状況に応じて、成分の質、量ともに大幅に変動するため、成分濃度が正常か異常か、判断がしにくいという、試料として本質的な欠点をかかえていた。

他方、血液を検査対象とする事については、当初は、次のような状況で実施が遅れていた。

- ① 血液の採取は、尿などと違って、程度は小さいながら侵襲的な行為であり、患者の不快、感染などの

副作用の懸念など、マイナス面も無視できなかった。

- ② 当時、採血用のガラス注射筒、注射針は、いずれも繰り返し使用するものであった。都度煮沸滅菌が必要で、使用後もすぐ洗浄しなければならず、患者数が多いと、その手間だけで相当な負担であった。
- ③ 尿で行われていた測定項目は、血液でも除蛋白操作を加えれば、技術的には実施可能と思われるが、除蛋白はめんどろな時間のかかる操作で、その手間の割には、診断的意義が今ひとつと見なされたと考えられる。特に診察する医師が、自分で検査もしなければならぬ状況では、面倒な試験が好んで採択されることはなかった。

しかし、1950年代に入ると、以下のように検査環境、評価が変わってくる。

- ① 中央検査室の稼働により、診療と検査の分業が進み、医師が検査を選択しやすくなった。検査室でも試料検体をまとめて取り扱うことで、検査効率が大幅に向上した。
- ② 光電比色計が検査室に導入され、その操作の簡便さ、正確さから、定量法検査が当たり前になり、血液試料の示す微妙な差異も、正しく評価できるようになった。
- ③ そもそも血液は、身体の恒常性維持機構の働きで、尿より遙かに厳格に成分がコントロールされているので、異常値の鑑別がしやすく、尿での結果に比べ、グルコース、尿素、尿酸、クレアチニンといった成分検査の診断的価値が高まった。
- ④ 戦後の公衆衛生の改善、抗生物質の普及により、感染症検査の負荷が大幅に減り、代わって内臓疾患の医療における優先順位が上がり、臨床化学項目への要求が高まった。

そうして、血液を試料（検体）とする検査がルーチンで行われるようになり、病院における医療の一分野として定着した。1960年以降には、臓器からの逸脱酵素を測定する検査項目が拡充され、また、除蛋白を必要としない測定法が次々に開発された。また測定機器では、分光光度計での測定の簡便化に始まり、測定の殆ど全行程を自動的に行う、自動分析装置も市販されるようになり、血液を試験試料とする臨床化学検査は、完全に検査室の中心的業務に位置づけられるようになっていった。

4.3 検査項目の拡充

1960年頃までに定着した、血清を試料とする試験項目は、今日では生化学検査項目と呼ばれる。血液成

分に関する生化学的研究を踏まえた検査項目という意味で、今日でもこれら項目類は、生化学の見地から、蛋白質、非蛋白性窒素、血糖、脂質、無機質、酵素と呼ばれるグループに分類されている。表4.2に、こうしたグループ分けと、各項目の検査目的をまとめた。以下、若干の説明を加える。

表4.2 血を試料とする生化学検査の項目別目的⁸⁾

	臨床検査小史 1950~1958の項目	検査目的
蛋白質	血漿(血清)蛋白質	蛋白異常症検査
	血漿A/G比あるいは蛋白分画	
非蛋白性窒素	残余窒素	
	尿素	腎疾患検査 腎機能障害で高値
	クレアチン	
	クレアチニン	腎疾患検査 腎機能障害で高値
尿酸	尿酸	高尿酸血症 痛風検査
血糖	血糖	高血糖症、低血糖症の診断
	ヘモグロビンA1c	糖尿病の診断
脂質	総コレステロール	脂質代謝異常検査 家族性血症、肥満高値
	コレステロールエステル	脂質代謝異常検査
	中性脂肪	脂質代謝異常検査 家族性血症、脂肪肝高値
無機質	塩素	
	カルシウム	カルシウム代謝異常の確認
	無機リン	リン代謝異常の確認
	ナトリウム	
	カリウム	
酵素	血清鉄	貧血の鑑別
	重炭酸イオンまたはCO ₂	
	アルカリフォスファターゼ	肝・胆道疾患検査 骨代謝検査
	酸性フォスファターゼ	前立腺疾患 骨疾患検査
	コリンエステラーゼ	肝疾患検査 糖尿病、ネフローゼ高値 有機リン農薬中毒低値
	AST (GOT)	肝機能検査
	ALT (GPT)	肝機能検査
	アミラーゼ	膵疾患 アミラーゼ産生腫瘍
	LD	肝機能検査 心疾患検査
	CPK	心疾患検査
γ-GT	肝・胆道疾患検査 アルコール性肝障害	

(1) 蛋白質

血中のタンパク質は、アルブミンを含め多くは肝臓で合成されるので、総タンパク量と、アルブミン、グロブリンの量比をみる A/G 比、あるいはタンパク質の各分画%をみることによって、患者の栄養状態、肝臓の状態が分かる。タンパク質は巨大分子であり、1950年ころはまだ解明が進んでいなかったため、大まかな分類、分画として検査されていた。

(2) 非蛋白性窒素

血清からタンパク質を除いた時の主な含窒素成分の項目である。尿素は体内のタンパク質分解で生じるアンモニアを材料に産生され、アンモニアを体外に排泄する役割を果たす。同様に、尿酸は核酸成分のプリン体の排泄に、クレアチニンは筋肉の活動に

不可欠なクレアチンの廃棄物として、それぞれの生体内代謝の最後に位置する重要な産物である。元々窒素分の排泄が役割である成分であるから、これらの異常高値は、排泄を司る腎機能の異常を示唆する。

(3) 血糖

血中の糖はグルコースが圧倒的に多いので、血糖はグルコース（古くはブドウ糖）と同義である。生体の細胞はグルコースを主なエネルギー源として、血中には元々相当量（約0.1%）のグルコース濃度が維持されているが、この維持機構あるいは細胞への取り込み機構に異常があると、血中グルコース濃度が異常高値となり、糖尿病となる。グルコースはタンパク質のアミノ基と反応する性質があるので、血中グルコース濃度が高いと、この反応が昂進して異常タンパク質が生じ、血管壁が傷害を受ける。そのため身体の細血管が詰まり、視力減退、四肢のしびれ、果ては血行障害による四肢潰瘍など、重篤な合併症に至る。ヘモグロビン A1c という検査は、グルコースがタンパク質と反応する性質を逆用したもので、血中に一番多いタンパク質であるヘモグロビンが、グルコースと反応して出来る糖化ヘモグロビン、即ちヘモグロビン A1c を測定する。血中グルコース濃度は、食事、運動量に大きく左右されるが、ヘモグロビンは分解されるまでに100日ほどかかるので、ヘモグロビン A1c 濃度は、2ヶ月ほどの間のグルコースへの曝露履歴を反映する。従って、糖尿病合併症可能性を判断する、より信頼性の高い指標として、近年では糖尿病検査の筆頭にあげられるようになった。

(4) 脂質

コレステロールは、1910年代から循環器系疾患への関与が疑われていた。その後、特に心冠動脈疾患の危険因子として注目され、1948年から米国フラミンガム市で行われた前向き疫学研究で、評価が固まった⁹⁾。従って、検査法の研究も戦前に遡るが、コレステロールは脂質であるため水溶液に本来難溶であり、当初は有機溶媒抽出した後にケン化するなど、非常に手間のかかる検査法であった。1970年代に酵素法により、前処理が不要な試薬が開発され、中性脂質と共に、検査が他の項目並みに容易になり、採用にはずみがつく。折しも1970-1980年代は、動脈硬化のメカニズム研究や抗コレステロール薬の開発が盛んとなった時期でもあり、こうした研究成果を受けて、検査項目も、脂質を結合・運搬するリポタンパク質項目である LDL、HDL が、1980年代に追加された。

(5) 無機質

無機質、特に金属イオン類は、元々炎光分析法や原子吸光分析法が得意とする対象で、臨床検査においても、1950年代まではこれらの手法が使われていた。しかし、炎光分析は測定精度にやや難があり、Na、K といった正常濃度範囲が狭い項目は、正確性に勝り、扱いの容易な電極法に代わっていった。Ca、Fe はキレート法で、無機リンは今日では酵素法を応用して、いずれも吸光度法で分析されている。

(6) 酵素¹⁰⁾

生体内の細胞では、生命を維持するため、個々の細胞に与えられた役割を遂行するための、各種生化学反応が絶えず進行しており、この反応を触媒として推進させているのが各種酵素である。もしある臓器が病気のため傷害されると、構成する細胞の一部が壊れ、中にある酵素が漏れ出して、体内を循環している血中に検出される場合がある。これを漏出酵素、あるいは逸脱酵素と呼ぶ。したがって特定の臓器に特異的に存在する酵素の活性が血中に検出されると、それは診断的価値がある。このような典型的な例としては、肝炎の時に上昇するアミラーゼ活性がある。肝臓が傷害されたときは、その傷害の具合によって、各種酵素の活性上昇の具合に特徴があるので、これを利用して診断に役立てている。

検査項目としての酵素項目は、アミラーゼ（ジアスターゼ）に始まるが¹¹⁾、1954年に報告されたトランスアミナーゼ（アスパラギン酸を基質とする AST (GOT)、アラニンを基質とする ALT (GPT)）¹²⁾ が、肝臓並びに心臓の急性疾患の病状を良く反映することから話題となり、1963年には国産第1号の検査キットが発売された¹³⁾。1968年以降は、さらに肝臓をはじめ臓器の障害程度を目安となる乳酸脱水素酵素、筋肉から漏出するので心筋梗塞等の診断価値の高いクレアチンリン酸キナーゼ、飲酒による肝障害を良く反映する γ -グルタミルトランスフェラーゼなどの項目が加わった。検査の主な項目は表4.2に示したものだが、今日では16項目が保険点数の対象として認可されている。

4.4 臨床化学検査を支えた周辺技術と環境

臨床化学検査技術の主役は何か、と問われれば、以下の3点が衆目の一致するところであろう。

- ① 検査データの質を担保する、感度、特異度、安定性の高い試薬

② 試薬の性能が十分に発揮出来る測定機器

③ 検査の医療的価値を高める、臨床研究成果

しかし、検査は、この3つがそろえば直ちに誰もが出来る訳ではない。また、医療現場でも、検査室でも、検査の遂行を、他の業務とのやりくりの中で無理なく進行させるためには、主要技術以外にも補助的技術や用具等の工夫が不可欠であった。そうした中で、特に技術的な面から、1950年代、60年代の検査体制の発展に貢献したものを、いくつか紹介したい。

4.4.1 臨床検査技師の国家資格化

戦後まもなくのGHQによる病院の検査体制の改革勧告で、検査の中央化、即ち中央検査室の設置が始まった。これにより医師と検査の分業体制が確立するが、そのためには検査を専門に担当する技能者を早急に養成する必要があった。そこで1958年に、まず臨床検査技師（厳密には衛生検査技師）等に関する法律施行規則が制定、施行された。これにより検査技能の専門家である検査技師が国家資格となり、衛生検査技師養成機関としての技師学校も、京都大学をはじめ、国立大学医学部に併設されるようになった。こうして臨床検査技師の養成、供給への道が開かれた。なお、1971年に同法は臨床検査技師、衛生検査技師等に関する法律へと改訂された。臨床検査技師は、衛生検査技師資格の業務に加え、医師の監督下で採血や各種生理機能検査の実施も認められている。

4.4.2 試薬キット

臨床検査で使用する反応試薬および緩衝液は、文献に従って、個々の試薬単品を購入し、自分で要時調製するのが普通だったが、調製した試薬の品質や、保存安定性を気にしながら、各種試薬を用意、保管管理するのは、担当者にとっては相当骨の折れる作業であった。国内では1960年頃には、研究用試薬メーカーが、購入しやすいように検査項目毎に必要な単品試薬のカタログを用意していた。一方、アメリカでは50年代にはシグマ社からトランスアミナーゼ試薬のキットが既に発売されていたという。日本でも1958年から輸入が始まったが、高価であり普及は限られていた。そうした中、1963年、国内では初めてヤトロ社が自社製トランスアミナーゼ試薬キットを発売した¹³⁾。今日の感覚では、数種類の単品試薬を溶かして瓶詰めしたり、凍結乾燥したりするだけの手間の問題と捉えがちである。しかし、当時は、単品試薬の純度にしても、たとえ特級グレードを購入しても、再精製しないと使用に耐えないことが、決して珍しくない

時代であった。充填包装についても、劣悪な品質のガラス瓶、湿気ですぐはがれるラベルなどの問題を一つ一つ解決して、やっと製品化にこぎ着けたという¹³⁾。他にもキット試薬を販売する会社が次々と参入し、病院の臨床検査室の作業合理化に貢献した。

4.4.3 分注器、フローセル

図4.1は、1971年に出版された臨床検査の解説本¹⁴⁾に掲載されている写真である。既に検査薬キットを使用しているが、反応は試験管、秤量はガラスピペットで、当時の典型的なラボ（検査室）の様子を示している。試薬ボトルから一回一回必要量を計り取り、試験管で反応させた溶液を、光電比色計のキュベット^(註5)に移し替えて測定する。使い終わった器具は洗浄、乾燥して繰り返し使用するのが当時は当たり前の作業工程であった。

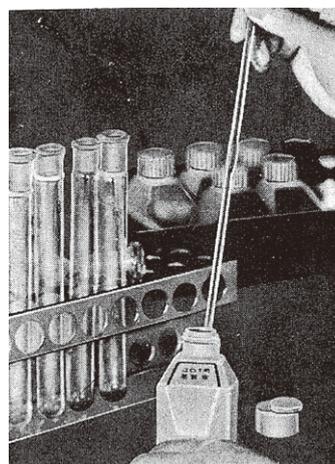


図 4.1 用手法による臨床検査の実施
(栄研化学社のご厚意により掲載)

一方で、臨床検査が盛んになると、同一項目の検査件数が何十と増えてくるので、同一試薬を繰り返し分注するため、分注器が使われるようになった。分注器を使用すれば、同じ液量を、ピペットを使わずに続けて分注出来るので、作業の効率化に役立った。

また測定でも分光光度計測定用のキュベットに、オプションでフローセル^(註6)が使われ始めた。通常、測

(註5) キュベット

分光光度計や光電比色計で吸光度測定に用いられる試料用セル。通常1cm × 1cm × 4.5cm 高の四角管状で、可視光用にはガラス、プラスチックも使われるが、紫外線用には、吸収のない石英を用いる。

(註6) フローセル

フローセルは装置に備え付けで、ポンプで自動的に試料を出し入れ出来るので、通常のキュベットのように上の開口部から試料を出し入れする手間がいらず、作業を効率化出来た。

定には、試料をガラスや石英製の1cm角のキュベットに注ぎ込んで、装置に装着して測定する。測定が終わったら、試料は試験管に戻すか、廃棄し、キュベットは洗浄して次の測定に備える。このように、光度計での測定操作は、手間がかかるし、ミスを起こしやすい工程でもある。一方フローセルを利用すれば、ポンプなどで試料液を吸引し、キュベットに満たせば良い。測定が終わった試料は自動的に廃棄されるし、洗浄液でキュベットをすすぐのも吸引させるだけで良いので、試料毎にいちいち試験管とキュベットの間で移し替えなくてもすむメリットがあった。

4.4.4 ディスポ用品

検査に用いる用具は、注射器、注射針に始まり、試料の容器、実験用容器・器具に至るまで、洗浄し、繰り返し使用するのが当時は普通であった。しかし、患者の血液がこびりついた注射器、注射針や実験器具の洗浄には、再使用時の汚染リスクを避けるための特別な配慮が必要であったし、後述するB型肝炎ウイルス感染の危険も懸念材料であった。こうした状態は1960年代後半まで続いたが、その頃から徐々に使い捨てのディスポーザブル（略してディスポ）製品が使われるようになった。テルモ社では1964年、日本初のプラスチック製ディスポーザブル注射器の販売を開始した（図4.2）¹⁵⁾。後の始末を気にせずに使える注射器セットは、従来の検査に伴う作業を合理化しただけでなく、検査オーダーの拡大にも少なからず寄与したことと考えられる。特に1985年以降、ヒト免疫不全ウイルス（HIV: Human Immunodeficiency Virus）感染予防策として、普及が急激に進んだ。他にも、小容量用のピペットチップ、小型試験管、試薬ボトルなどに次々とプラスチック製のディスポ製品が導入され、検査作業の利便性、安全性向上に大きく寄与した。



図4.2 (株)仁丹テルモ（現：テルモ(株)）使い切り注射器
（同社のご厚意により掲載）

4.4.5 専門誌

臨床化学が隆盛となるにつれ、臨床検査にたずさわる医師、臨床検査技師、衛生検査技師、研究者、企業の情報交換の場として、学会や研究会が組織される

ようになった。また専門誌も発刊され、新しい検査の動向、技術手技や機器の紹介などを積極的に行い、臨床検査技術の普及、向上に寄与した。最初の動きはやはりアメリカで、1948年に第1回米国臨床化学会（American Association of Clinical Chemists; 略称AACC）の年次総会が開催され、1955年には、その専門誌、「Clinical Chemistry」が発刊され、今日に至っている。AACCの年次総会には臨床化学関連の医療機器、試薬、その他関連製品の展示会も開催され、この分野では世界最大の催しとして、世界をリードしている。

日本では、医師の学会である日本臨床病理学会の学会誌、「臨床病理」が1953年に発刊されているが、臨床化学としては、雑誌、「臨床検査」が1957年に創刊され、技術情報の交流に貢献している。

参考・引用文献

- 1) 金井泉：「臨床検査法提要」，金原出版，1941，1947，1954，1960，1962，1968，1975年
- 2) 日本衛生検査技師会 臨床検査小史編集委員会：「臨床検査小史」，1987
- 3) 藤井達三，渡辺富久子，奥田潤 編集：「臨床化学総論 第5版」，1977年
- 4) 河合忠 編集：「我が国の臨床検査の歴史」，株式会社エス・アール・エル，2000年
- 5) 加藤延夫：黎明期の臨床検査 日本臨床微生物学会誌 Vol.25 No.2 p1-11 2015年
- 6) 木村隆吉：私の検査室－東京厚生年金病院 臨床検査 Vol.1 No.5 p304-307 1957年
- 7) 日本臨床検査医学会ガイドライン作成委員会編：臨床検査のガイドライン JSLM2015 2015年
- 8) 株式会社LSIメディエンス：「総合検査案内」，2014年
- 9) 梅津浩平：医薬品創製技術の系統化調査 国立科学博物館 技術の系統化調査報告 Vol.22 p79-216 2015年
- 10) 織田敏次：「酵素化学の臨床検査への応用」，臨床検査，Vol.1 No.6，p333-340，1957年
- 11) H.C. Naffziger, H.J. McCorkle: "THE RECOGNITION AND MANAGEMENT OF ACUTE TRAUMA TO THE PANCREAS: WITH PARTICULAR REFERENCE TO THE USE OF THE SERUM AMYLASE TEST.", Ann. Surg., Vol. 118(4), p594-602, 1943
- 12) J.S. LADUE, F. WROBLEWSKI, A.KARMEN: "Serum glutamic oxaloacetic transaminase

- activity in human acute transmural myocardial infarction.”, Science, Vol.120(3117), p497-9, 1954
- 13) 財団法人緒方医学研究所： ヤトロンと臨床検査の変遷 2011年
- 14) 松橋直編：「診断と臨床検査」, 栄研学術叢書；第

- 11集, 栄研化学, 1971年
- 15) テルモ株式会社 TERUMO STORY エピソードで綴るテルモの歴史 -多角化の時代1
http://terumostory.terumo.co.jp/1921_2001/cat3_1.html (2016.6.14 参照)

5 | 自動分析機

化学分析の臨床検査応用への展開、発展を考えると、その中心的役割を担って来たのが自動分析機である。本章では自動分析機による検査の合理化のみならず、装置が検査そのものをどう変えてきたかという観点からも、その技術史的意味合いを論じてみたい。

5.1 用手法検査の問題点

1950年代、検査室の設置が中規模以上の病院に行き渡り、血清検査のテスト数もどんどん増加していく中、検査室はいろいろ工夫を凝らしながら業務をこなしていた。当時の検査室では、検査技師たちが試薬を試験管に分注するのに、1本当たり2-3秒という驚異的なスピードで業務をさばっていたようで、こんなところにも当時の日本の高度成長期の息吹が感じられる。

しかし、当時の検査が、工程の多い手間のかかる、業務効率上問題がある作業であったことは明らかだ。以下、この作業工程を簡単に分析してみる。

臨床化学検査の本質は、検体中の測定すべき成分と、加えた試薬との反応を、吸光度変化として観測することに尽きるが、作業手順という見地からみれば、業務の本質は、「移し替え」と「添加混合」にある。

表5.1に各工程を作業内容から分析した結果を示す。移し替え工程は、注射器を扱ったり、遠心分離を行ったりしながら、しかも患者IDを取り間違えないためのラベル化作業なども伴う、神経を使う作業である。これを、一つの検体で最低6回行わねばならない。試料はそのままに、試薬を添加する添加混合工程も、3~4回必要である。ピペティングは正確さが要求されるし、除タンパク液、反応液の添加混合は、速やかにむらなく行わねばならず、それなりの熟練が

要求される工程で、新人は通常3ヶ月から半年の訓練期間を経て、実務に就く必要があった。

これら煩瑣な工程を、出来るだけ短時間で間違いなく行わねばならず、しかも、工程①~⑧、及び⑫では、必ず工程総数分だけの使用済み実験器具が発生するので、これらを毎日、処置、洗浄乾燥して翌日に備えた。光電比色計のキュベットも、測定毎に洗浄を要した。試薬キットが発売される1960年代前半以前には、さらに、使用する除タンパク液、緩衝液、反応液の調製も、毎日行わなければならなかった。前項で述べた、市販試薬キットの使用、ディスポ注射器やディスポピペットの使用は業務負担の低減に役立ったが、まだ多くの作業が人手頼みで残されていた。

5.2 オートアナライザーの登場

こうした中、1957年にアメリカのテクニコン社から、臨床化学検査を自動的に行う、その名もオートアナライザー (Auto Analyzer®; 自動分析機の意) という、臨床化学分野で初の自動分析機が発売された。下の図5.1に、その写真および概念図を示す。

装置は今日の分析装置とは異なり、個別工程毎にユニットが独立して用意され、それらが連続的にチューブでつながった、非常にユニークな構造を取っている。サンプルは円形サンプラーにセットされた検体から、試薬は試薬ボトルから、それぞれ吸引され、チューブ内で混ざって加熱槽で反応が進行し、フローセルの比色計で測定された後廃棄されるまで、すべてがチューブライン内で進行する (Continuous Flow方式)。即ち、試験管を移し替えたり、ピペットで分注したりする代わりに、チューブを試験管代わりとして連続的に工程が進行するようになっている。1試験分

表 5.1 臨床化学検査用手法の工程

工程No.	工程名	作業	検体ID	中心技術、注意点
①	採血	移し替え	患者名ラベル	注射器による静脈採血
②	血清分離	移し替え	患者名ラベル	遠心分離
③	除タンパク	添加混合	そのまま	劇薬ピペティング/混合、遠心分離
④	上清取り分け	移し替え	患者名ラベル	
⑤	検体分注 (項目別)	移し替え	患者No.	ピペティング
⑥	(検体希釈)	(添加混合)	(そのまま)	(ピペティング)
⑦	緩衝液添加	添加混合	そのまま	(劇薬)ピペティング
⑧	反応液添加	添加混合	そのまま	ピペティング/混合
⑨	反応進行	放置(恒温浴)	そのまま	時間管理
⑩	光電比色計測定	移し替え		キュベットに注ぎ入れ観測
⑪	光電比色計測定終了	移し替え	そのまま	キュベットから戻す
⑫	試験液類廃棄			使用済み器具の洗浄乾燥

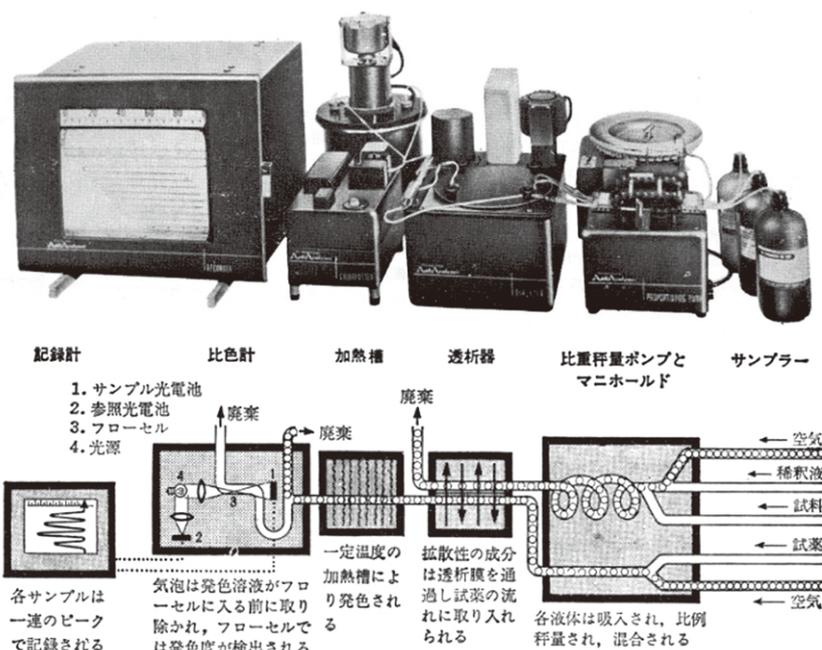


図 5.1 テクニコン社製自動分析機 オートアナライザーの写真および概念図¹⁾²⁾

のサンプル、試薬及び反応液は、隣の試験分とは気泡で隔てられていて、気泡と気泡の間が、1 試験の反応試験管に相当する。サンプル希釈倍率設定が容易なのも、この方式の強みである。

このシステムのもう一つ非常にユニークな点は、除タンパク操作の代わりに透析器を用いていることである。透析器にはセロファン膜をメンブランとして、試薬液と血液が両側から接するようになっている。分子量が数千以下の分子は、セロファン膜を通過できるので、血液側から試薬側にグルコースや尿素などの低分子成分が拡散することで、血球を遠心分離したり、除タンパク剤で血液タンパク質を沈殿させたりすることなく、成分と試薬の反応が安定して実施できる。血液が透析器を通過する時間は限られるので、その間の透析効率はいずれも安定している。標準品の測定値と比較することで、正確な定量が可能である。

このように、テクニコン社製のオートアナライザーは、従来からの用手法を、工程毎に機械化し統合したものだが、表 5.1 に示した用手法の工程③および⑤から⑫までを、自動的に処理してしまう画期的なパフォーマンスと斬新なアイデア、そして高い測定精度 (図 5.2) で、たちまち高い評価を獲得した。アメリカでは、発売後数年で、主な病院の大部分に導入されたという。

テクニコン社のオートアナライザーは、その機構上、必然的に 1 項目専用機である。しかし検査室は複数の項目を、しかも同一患者検体について検査を行う場合が多い。そこでオートアナライザーは、後継機

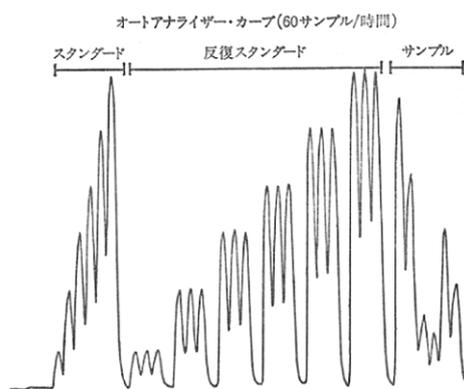


図 5.2 オートアナライザーによる測定結果³⁾
再現性の高さが見て取れる

SMA6/60、SMA12/60 ではラインを並列増設し、同時に 6 ないし 12 項目の検査を可能とし、濃度値を自動計算して出力することができた。

日本においても、オートアナライザーの出現は驚きをもって受け止められた。しかし、日本への導入は、高価な上に当時の極端な円安為替レートが災いして、購入できる病院は限られていた。また用手法と異なり、反応が文字通りブラックボックスで進行するため、全自動機の導入には慎重な意見もあったようだ。恐らく全く新しいシステムゆえ、導入初期には現場でのトラブルも少なくなかったものと考えられる。しかし、そのパフォーマンスの高さが知れ渡るにつれ、また日本の経済事情の改善も相俟って、オートアナライザー及びその後継機が次第に日本の病院にも浸透してゆく。1960 年代後半から 1970 年代前半にかけては、雑誌、臨床検査などにも、オートアナライザー及び

後継機を用いた研究レポートがいくつも登場する。また、1972年ころから、試薬メーカーも、オートアナライザー用の試薬キットを発売するようになった⁴⁾。

こうして、テクニコン社の製品は、1960年代および1970年代前半にわたり、日本の大学病院、大病院の検査室に君臨したと考えられる。しかし、普及は進んでもアメリカ製の装置は依然高額で、欲しくても手が出ない病院が多かった。そうした病院は、用手法にいろいろ工夫を加えて日常の検査に対応していた。メーカーでも、例えば日立製作所は、二波長分光光度計156形で試験管タイプのキュベットでの測定を可能にし、オートサンプラー機構を装備して、測定の生産性を高める工夫を提供していた⁵⁾。

5.3 オートアナライザー後の装置

テクニコン社のオートアナライザー出現を受け、海外でも、日本でも、独自の自動分析機の開発が始まり、オートアナライザーとは異なる様々な方式の装置が、1960年代後半から登場するようになる。中でも、アメリカ・オークリッジ (Oak Ridge) 国立研究所の研究者によって1968年に発表されたセントリフィケム (CentrifChem)⁶⁾ は、テクニコンのコンティニュアス・フロー方式とは異なり、一つ一つの反応容器が個別になっている、ディスクリット (discrete) 方式の一つである遠心方式を採用していた。反応はトランスファーディスクと呼ばれる円盤状の容器で行われ、テフロン製のトランスファーディスクの中には凹凸のある30本の放射状の溝が切っており、そこに試料、試薬を外側、内側にそれぞれ分注する (図5.3参照)。分注し終わったディスクを1000rpmで回転すると、試薬が試料を洗い流しながら、外周側にある吸光度セルに入る。遠心混合後3秒から測定を開始し、8回の測定で吸光度を計算、濃度単位で結果を出力するもので、日本にも大学病院などに導入された。

遠心ディスクリット方式は、テクニコン方式の欠点である、チューブに残存する前の試料の持ち込み (キャリアオーバー) の心配が少なく、試料、試薬の必要量も少なく済み、ディスクの回転により30テストすべての反応/測定条件は一緒なので、測定までの条件を安定してコントロール出来るのが強みであった。遠心混合を行うディスクリット方式の自動分析機は、他にも海外の数社が生産し、中でもロッシュ社のCOBASシリーズは、1990年代まで遠心方式の装置をラインアップに置いていた。

日本では、同じディスクリット方式でも、いわば用

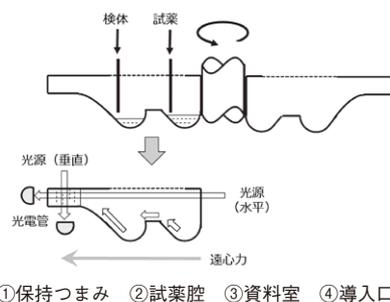


図5.3 遠心方式アライザーの反応キュベット/ディスクの概念図

- ・試薬、サンプルは、遠心によって外周部に矢印に沿って移動、混合される。
- ・測光は、遠心で外周部のセルに収まった反応溶液を、垂直方向 (CentrifChem) か、水平方向 (COBAS) に測光する。

手法の試験管をベルトコンベアに載せたようなタイプが主流で、日立が400形を1968年に発表したのを始め、日本電子、東芝、島津製作所、オリンパスなどが自動分析機分野に参入した。日立400型の概念図を、図5.4に示すが、用手法の試験管に相当する反応チューブがコンベアに一定間隔でつけられ、検体、第一、第二試薬の分注と、測光のための資料吸い上げが、コンベア上の定位置で行われるようになっている。反応を終えたチューブは、コンベアの裏側で、転倒状態で洗浄、乾燥されるようになっていた。

オートアナライザーと比較すると、反応チューブは試験毎に独立しているため、試料・試薬がコンタミする可能性は、この方式の方が遙かに少なく勝っている。しかし、低分子項目測定に必要な除蛋白は別途行う必要があり、また酵素活性測定に適した、反応速度を求めるレート法は、実施するのに大きな制約があったと考えられる。

一方、検査件数については、1960年代になると、臨床化学検査のオーダーは段々増加し、1966年の資料⁸⁾に依れば、ベッド数300床以上の大病院で、月平均オーダー数が1000件に達し、用手法から自動分析装置導入への流れが出来つつあった。こうした流れに乗って、国産機も1970年代には、徐々に医療施設に導入されていったと考えられる。臨床検査室で希望の多かった、複数項目同時測定などの機能の付加や、試薬量の削減などの改良も図られた。国産自動分析機のリーダー格である日立の製品を例にとると、400形の2項目型120テスト/時の能力からスタートし、1977年の706D形では12項目の同一ライン測定が可能で (図5.5)、試薬量も1.2mlまで削減され、240テスト/時のパフォーマンスを持っていた。しかし、国産機の普及は、先発のテクニコン改良品や、前述のセントリフィケム等、外国勢と比べると、どれもあまり順調とはいえなかった。

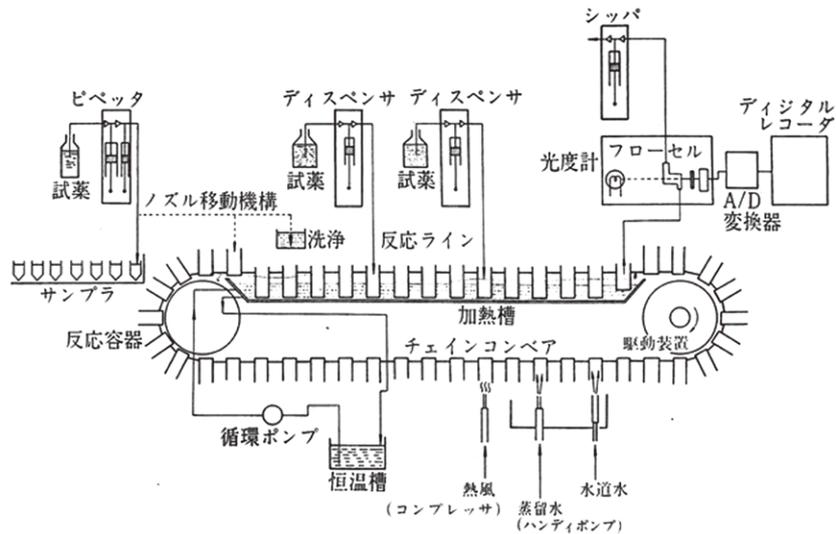


図 5.4 国産ディスクリット分析機、日立 400 形の構成⁷⁾

サンプル吸引ノズルには洗浄機構がつき、キャリーオーバーを防いでいる。測光はフローセルへ反応液を吸引して行い、終わったセルは反転して、洗浄、乾燥される。

(日立ハイテクノロジーズ社のご厚意により掲載)

この苦戦の原因については、価格等の営業やサービス面まで考慮しないと本当の比較は難しいが、敢えて技術面の要因について考えてみる。特に初期の国産ディスクリット型自動分析機については、次のような問題があったと推察出来る。

① 基本コンセプトが、用手法をそのまま自動化するという方針であり、そのため検体/試薬量、温度、

反応時間など、ある程度の自由度はあったが、ユーザーが自由に最適化できるほどではなく、仕様の中途半端であった。

② もともと単項目測定が基本であり、複数項目を測定するには、ラインの切り替え時の試薬ロスが避けられなかった。一方、複数項目同時測定方式の装置でも、検体毎にオーダーが異なっても試薬項目セッ

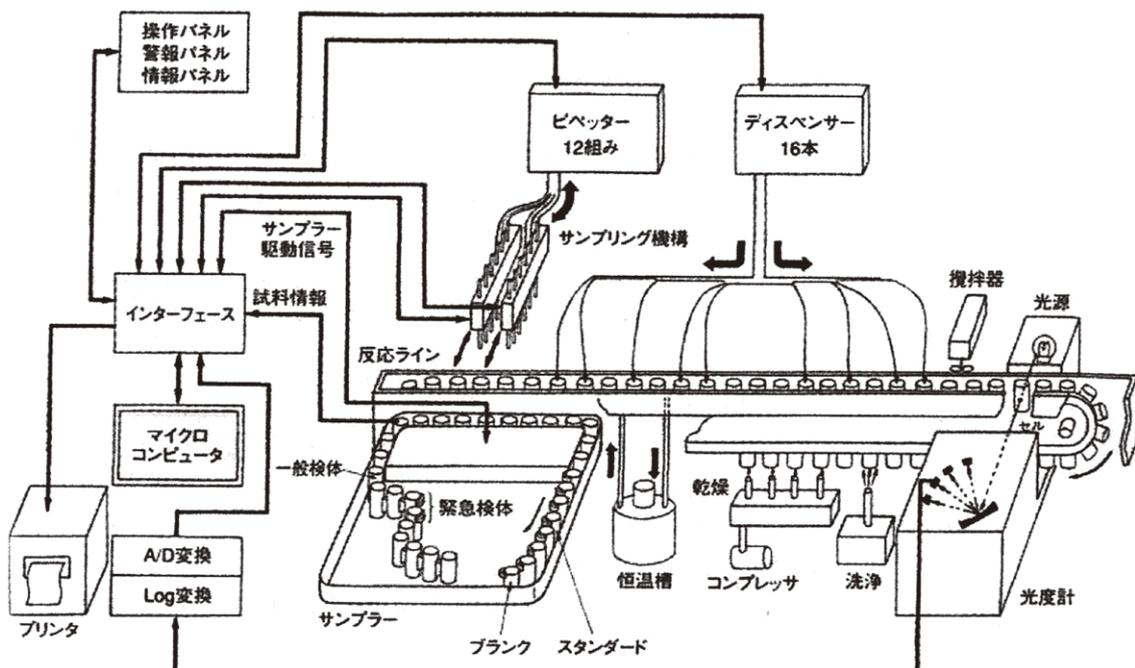


図 5.5 日立 706D 形の構成⁹⁾

400 形に比べ、試薬項目選択の幅が広がり、それに対応して光学系を強化した後分光方式で、エンドポイント法、レート法いずれも可能とした。また、マイコンを本格的に利用したモデルとしても特筆される。

(日立ハイテクノロジーズ社のご厚意により掲載)

トは同じなので、オーダーがないのに空測定項目が発生するなど、無駄が多かった。

- ③ 反応後期にフローセルで測定する方式なので、一定時間後の吸光度増加分を求めるエンドポイント法ではブランク値の補正が出来ず、かといって反応速度を求めるレート法では日立706Dでも測定が22秒間に限られるため、精度上の問題を抱えていた。
- ④ 遠心方式の自動分析機に比べ、チェインコンベア方式は横長の大きなスペースを取るのも、どうしても装置が大きくなった。

これらを総合的に判断すると、用手法の高い技術を持つ検査室にあっては、わざわざ高額な装置を導入するメリットが、この時点では必ずしも明らかでなかったのではなかろうか。

そんな中でも、日立706Dでは、マイコンによる測定項目選択機能と2波長測光の連動による精度向上や、15分測光に適した試薬アプリケーションの開発、また、除蛋白操作を回避出来る試薬の改良の取り組みなど、単なる用手法の自動化を越えた、新たな取り組みの兆しが見られることが注目される。

5.4 日立705形自動分析装置の登場

こうした中で、技術的にもビジネス的にも国産機最初の成功例となったのが、1980年に発表された日立705形(図5.6)、および705と同じコンセプトで処理能力の

増強が図られた736形自動分析装置である。日立705形もディスクリット方式であるが、チェインコンベア方式とも遠心方式とも違い、ターンテーブルに装着したキュベットで反応も測光も行う。また使用済み反応容器(キュベット)を、上部からノズルを挿入して洗浄出来るようにした、初めての装置である(図5.7)。



図5.6 日立705形自動分析装置¹⁰⁾

これにより、20秒間隔連続測光が可能となり、測定精度の向上につながった。

ターンテーブルのキュベットに、検体、第1試薬、第2試薬を注入する位置は決まっています、それぞれを分注するタイミングに合わせてターンテーブルが回転し、キュベットを誘導する。そしてターンテーブル全体では、毎回ターンテーブルが1回転+1キュベット分進むことで、反応と測定が連続的に進行する。測定については、ター

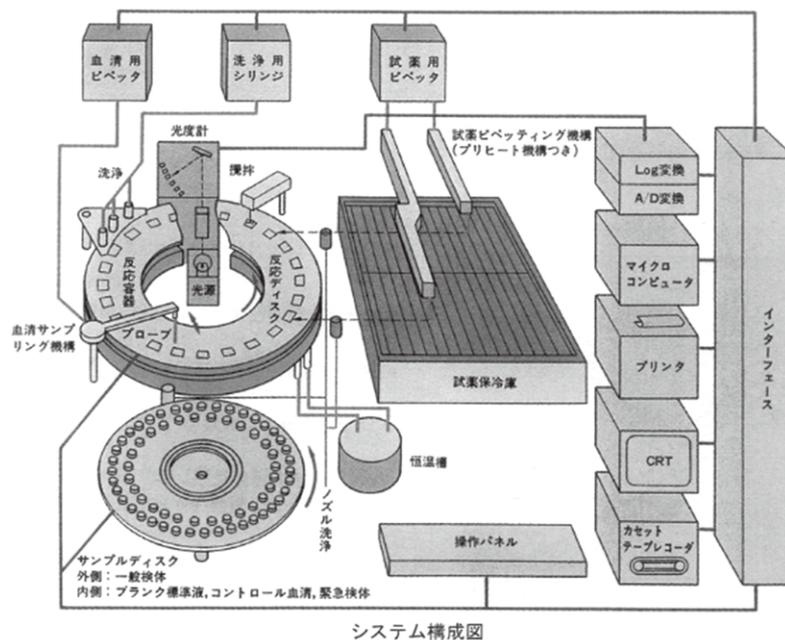


図5.7 日立705形の構成¹¹⁾

チェインコンベア式からターンテーブル回転式への変更が、最大の特徴。これにより、20秒間隔連続測光が可能となり、測定精度の向上につながった。

(日立ハイテクノロジーズ社のご厚意により掲載)

ンテーブルが回転するごとに、すべてのキュベットの吸光度が測定される(図5.8)。こうした方式の採用によって、日立705形は、遠心方式のコンパクトさ、小回りの良さを継承しつつ、検体を装着すれば連続的に測定を実行できる、大型ディスクリット機の扱いの良さも兼ね備えた、初めてのモデルとなった。

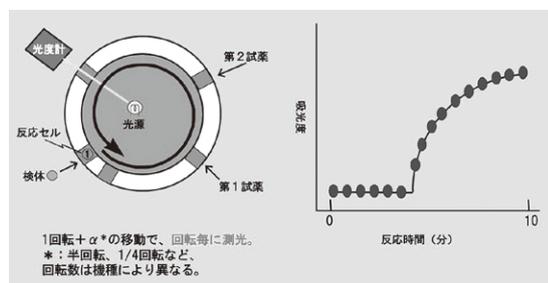


図5.8 日立705形自動分析装置におけるターンテーブルの模式図ならびに吸光度データの概念図¹²⁾
(日立ハイテクノロジーズ社のご厚意により掲載)

日立705/736形は、さらに次のような技術上の特徴を備えていた。

- ① 検体10 μl、試薬350 μlと、少量で測定可能。
- ② 2波長測光方式を採用し、溶血や濁った検体、キュベットの傷等の影響をキャンセル出来る。
- ③ 1回転ごとに吸光度データが連続的に得られるので、反応速度の観測に都合がよい(図5.8)。
- ④ マイコンの採用で、検体と測定項目の組み合わせが自由に選べる、ランダムアクセス方式を実現。
- ⑤ 検体や試薬液量のメニューの選択肢が多く、測定条件の変更、新規検討がしやすい。

溶血や濁った検体の影響を受けにくくなれば、血清検体を除タンパク操作なしで扱える可能性が出てくる。一方、③の反応速度解析に適したデータ取得は、

酵素反応との相性の良さにつながる。これらを合わせると、従来は化学反応で発色を見ていた各項目を、酵素反応に切り替えれば反応特異性が高まるので、2波長法と合わせ、除タンパクなしの検査の可能性が一気に現実のものになった。今までのディスクリット式は、いわば、用手法の試薬および方式をそのまま装置化する、という考え方がベースにあったが、ここに来て、日立705/736形の装置特性に合わせた試薬の開発、および反応・測定条件の合わせ込み(アプリケーション)を行って、より臨床検査現場のニーズにマッチした検査方式にする、という、臨床化学検査の新たな枠組みへの転換が始まることになった。

発表当時の専門誌での掲載状況を見ると、日立705形は、発表当初はあまり注目を引かなかったように見えるが、時代にマッチしたパフォーマンスが徐々に評価され、累計3000台を超える出荷を果たす大ヒットとなった。736形も大型装置としては異例の1200台の出荷に成功した¹³⁾。

これを契機に、日立の自動分析装置は本格的に海外への進出を果たし、このターンテーブル・ランダムアクセス方式が、その後の自動分析機の世界標準となっていくのである。

5.5 日立705形自動分析装置が臨床化学検査を変えた

前項で日立705形の技術上の特徴の概略について述べたが、それらがユーザーにとっては、どういう点で従来の装置より優れていると評価され、購入に至ったのだろうか。

オートアナライザーから、日立400、706D、705と、自動分析機的主要仕様の変遷を、表5.2にまとめた。

表5.2 自動分析装置の仕様の変遷
オートアナライザーから日立705形まで^{1) 2) 11) 15) 16)}
液量は、実施可能最小量の目安

仕様	オートアナライザー テクニコン社	日立400形	日立706D形	日立705形
発売年	1957	1971	1977	1980
反応・測定方式	コンティニューアス・ フロー方式	ディスクリット チェインコンベア方式	ディスクリット チェインコンベア方式	ディスクリット 円盤回転方式
測光タイミング	フローセル1回 (反応管直結)	フローセル1回 (反応管から吸引)	22秒間連続測光 (反応管直接測光)	20秒間隔連続測光 (反応管直接測光)
光学系	フィルター比色計	フィルター比色計	後分光分光光度計	後分光分光光度計 2波長測光
試料の除蛋白前処理	透析	条件付き省略	条件付き省略	不要
反応時間	約5分	36分	15分	10分
1時間当テスト数	60	120(2項目)	240	180
試料(検体) ml	0.2	0.03	0.01	0.003
試薬 ml	5	3.5	1.2	0.35
反応温度	任意(37℃)	25~37℃	37℃	37℃
項目設定方式	1ライン1項目	max.6チャンネル	1ライン12項目	16項目ランダムアクセス
項目数	1	2	12	16

そうした中でも、日立 705 の主要な改良点 5 項目について、少し詳細に分析してみる。

(1) 装置の大きさ、処理能力のバランスがとれていた

チェーンコンベア型ディスクリート式の装置は長い反応ラインを持つので、どうしても装置が大型化した一方で、遠心方式の輸入品は、コンパクトで机の上に乗せられるものが多く、スペース効率に優れる傾向があった。日立 705 はフロアタイプながらターンテーブル方式の利点を生かして、遠心方式の装置並みの専有面積にまとめ、事務机並みの大きさを達成した。その割には 180 テスト/時の処理能力を持ち、当時の中規模病院には十分な能力で、使いやすい、バランスのとれた装置であったと評価できる。加えて、操作用の CRT を要領よく組み込んだデザインはスマートで、当時の国産の無骨な自動分析機とは一線を画す出来映えであり、営業面でも大いにプラスになったと推察される。

(2) 試薬が少量化された

初代のオートアナライザーに比較すると、試薬及び試料の必要量は 10 数分の 1 に少量化されており、試薬コスト削減に大きな効果を発揮したものと思われる。同時に、少量化出来れば、高価な原料費が問題となる酵素法も、検査コスト的には容認出来るレベルの試薬価格で運用が可能となるというメリットも生まれた。

少量化を達成するのに最も効果のあった対応策は、測光用キュベットをそのまま反応容器として用いたことである。これによって、測定のために反応液移し替えを行わないで良くなったので、反応液量を、直接測定するのに必要な、ギリギリの量まで絞り込むことが出来た。代償として、日立の研究者は、ターンテーブルに上向きにセットされたキュベットを短時間の間に洗浄乾燥するという難題をクリアしなければならなかった。洗浄用の注水・吸引一体型ノズルと、水切れワイパ付き吸引ノズルの組みあわせは、今日では当たり前の技術となっているが、この日立 705 形が、この方式を実用化した最初のモデルとなった。

(3) 検査精度が優れていた

日立 705 形では、図 5.8 に見られるように、吸光度は 20 秒に 1 回連続的に測定されるので、従来のフローセル方式では無視せざるを得なかった、試料固有の着色や濁りの影響を、測定結果に反映出来るようになった。具体的には、反応を開始する第二試薬注入前の吸光度を測定していること、後分光方式の利点を生かして 2 波長測光演算が出来るこ

とにより、個々の試料毎に液量比に見合ったバックグラウンド補正が行える。また、第二試薬投入後数分間、吸光度変化として反応速度が求められるので、フローセルで最大 22 秒間しか測定できなかった 706D 形に比較して、遙かに精度の高い反応速度計測が可能になる。従来の装置設計は、当時主流のエンドポイント法に適した設計となっていたため、酵素法には相対的に不利であったが、こうした測光方式の改良のおかげで、本来、反応の特異性に優れる酵素法試薬の採用に有利な条件が整った、と考えられる。

他にも、反応容器（キュベット）が小さく、液量も 350 μl と少ないこと、キュベットが 20 秒に 1 回全周を回転することなどは、温度コントロールの面で従来のチェーンコンベア方式より明らかに優れていた。更に、試料や試薬の分注ノズルに液面センサー（導電式）が付き、常にノズルの外側汚れを最小かつ一定にコントロールした事、キュベット内容混合のための攪拌翼が用意されていて、反応系の均一化を確実にした事など、先行モデルの経験に学んだ精度向上策がいくつも盛り込まれていた。

(4) 項目選択の完全ランダムアクセスが可能で、試薬保冷庫がつくなど、使い勝手が良かった

マイコンが本格的に使用され、分注用シリンジポンプ液量をパルスカウントで都度制御出来るようになったため、測定項目と、検体および試薬の分注量を、検体毎に自由に選択出来るようになった。これに対応して、試薬分注工程でも、試薬毎にディスペンサーと吸引ラインをセットする方式から、2 本のピペッターで、都度指定された項目の試薬を吸引、分注する方式に変更となる。こうして試薬は、所定の場所に置く以外の管理も不要となり、しかも試薬置き場（トレイ）は冷蔵機能付きで、試薬の劣化を防ぐように設計されていた。要するに、オペレーターは試薬のセット、管理について、従来よりずっと手間のかからない、それでいて品質的にはより安定したオペレーションを手にしたのである。

(5) 反応経過を吸光度時間変化として追跡出来、反応条件の変更も比較的容易など、研究用装置としても優れていた

オートアナライザーの登場以来、自動分析機による検査の欠点の一つが、試験実施状況が全くのブラックボックスで、打ち出された結果を信じるしかない、反応過程で予期せぬトラブルがなかったのか、確認しようがないことであった。日立 705 では、検体と第一試薬が分注されたあとは、20 秒お

きの吸光度データが得られるので、反応途中で、少なくとも吸光度的な異常、例えば試薬の分注量が少なかった可能性とか、光路を妨げる異物が混入していた等のトラブルの有無は確認が容易である。また、反応系の設計自体に問題がある疑いの生じたときは、波長や検体／試薬量を変更して解析したりする事が、簡単に出来るようになっていた^(註7)。これは見方を変えれば、新規項目の測定条件最適化などの研究的な使い方が容易であることも意味し、本装置は試薬開発用ツールとしても広く使われた。

日立705形は、従来出来たことをすべて温存して、その上に新規の合理化策、新しい機能を追加したモデルではない。むしろ、従来当然視されていた機能を、大胆に切り落としている部分がある。

(1) 試薬は2試薬系(1試薬系は可能)で、分注タイミングも固定されている。

この方式となったため、試薬の反応系に対し、以下のような制約が生まれた。

- ・反応停止液のような、第3試薬が使えなくなった。
- ・試薬注入のタイミングがサンプル注入後のすぐ次と5分後に固定された。

(2) 完全ランダムアクセス実現のため、反応時間は10分に短縮、反応温度も37°Cに固定された。

そのため、項目毎に、反応時間や反応温度を変更することが出来なくなり、従来の試薬の中には、そのままの構成では、使用できないものが少なくなかった。

以上の変更は、一言で言えば、エンドポイント法の終焉を意味する。従来通りの条件では、化学反応中心のエンドポイント法に十分な反応時間も無ければ、反応停止液を用いた中断も出来ないということで、必然的にレート法(反応速度法)への転換が、試薬メーカーに求められることになった。臨床化学で用いられる反応の殆どは、1950年以前から開発されていたもので、まだ光電比色計すら発明されない時代の産物である。従って、試薬の種類、量、反応時間、反応温度などは、実は開発者の恣意的判断で一方向的に決められていた面が少なくない。そして、後から登場した自動測定装置の開発は、必然的に、与えられた反応条件に縛られるため、結果、単項目エンドポイント法を基本とした装置として始まることになった。しかし、検査

すべき項目数が増えてくると、項目の切り替えの段取りに手間取り、試薬のロスも馬鹿にならず、検査全体としてはかえって煩雑さを増すことになったと考えられる。

日立705形は、そうしたジレンマの中、完全ランダムアクセスを可能にするというコンセプトのもとに、思い切った仕様の見直しを行った結果行き着いた答えである。機械に試薬を合わせなければいけないという発想の転換は、当時の試薬開発者には衝撃であった¹⁴⁾。ようだが、この思い切りが、新たなパフォーマンス獲得への扉を開く役割を果たしたのだ。

5.6 試薬と装置の協働進化

前2項で、臨床化学検査項目の自動分析装置の変遷と、日立705形が達成した技術的ブレークスルーの持つ意味について考察した。本項では、装置側の変化に呼応した形で、試薬側に生じた変化、および試薬の変化が、逆に装置に及ぼした影響について考察し、総体としての、臨床検査技術の試薬と装置の協働進化の関係について検討する。

5.6.1 低分子代謝物のエンドポイント法試薬

まず、国内でトランスアミナーゼ試薬(今日のAST、ALT)の製品化を最初に成し遂げたヤトロン社(当時:現LSIメディエンス社)製品の、生化学主要項目試薬の上市時期、方法の変遷を、表5.3に示す。これによると、窒素化合物、血糖、脂質などの低分子代謝物の製品は、殆どが測定すべき成分と反応して発色する化学物質を試薬とした反応系で、初めて製品化されたのは、まだ国産自動分析装置があまり一般的でない1970年代始めであることから、用途の中心は、用手法と光電比色計による測定であったと考えられる。ただ、これら試薬の殆どは、光電比色計が普及する以前に開発された方法で、必ずしも反応特異性が十分とは言えないものもあり、また、除タンパクや有機溶媒抽出など煩瑣な前処理や、強酸・強塩基を使うものも多く、安全や測定装置の保全に注意が必要であるなどの問題を抱え、一言で言えば、時代遅れの技術であった。1950年以降の臨床検査数の増加、検査室の運営にどうマッチしていくか、様々な課題を抱えていた。特に、除タンパクなどの前処理は、検査技師への負担が大きく、改良が望まれていたため、例えばモリブデン酸還元法の無機リン、Jaffe法のクレアチニンなどの項目では、界面活性剤の使用法を工夫して、除タンパクの要らない直接法を開発し、対応が行われた。

(註7) 吸光度時間変化追跡機能

少なくとも初期の705形には、マイクロコンピュータのメモリの制約から、この機能は搭載されていなかった。本格的には日立では7070形以降の機能となる。

表 5.3 診断薬メーカー、ヤトロン社（当時）の生化学主要項目試薬の製品¹⁷⁾
 上市時期と、エンドポイント法からレート法への変遷

	項目名	エンドポイント法				酵素法(レート法)	
		測定法 (反応名)	製品導入年	除タンパク、前処理	強酸・強塩基	測定法 (反応名)	製品導入年
蛋白質	血漿総蛋白	ビウレット法	1977	なし	なし		なし
	アルブミン	BCG法	1973	なし	なし		なし
窒素化合物	尿素	ウレアーゼ・インドフェノール法	1971	なし	なし	ウレアーゼ・インドフェノール法	1977
	クレアチニン	ヤッフエ法	1971	除タンパク	硫酸	酵素法	1978
	尿酸	リンタングステン酸法	1968	除タンパク	硫酸	ウリカーゼ-POD法	1974
血糖	血糖	OTB法	1972	なし	酢酸	酵素法	1975
脂質	コレステロール	Kiliani法	1972	有機溶媒抽出	硫酸	酵素法 (COD-POD法)	1977
	中性脂肪	アセチルアセトン法	1971	有機溶媒抽出	水酸化カリウム	LPL-GDH-PMS法	1974
無機物	カルシウム	OCPC法	1970	なし	なし		
	無機リン	リンモリブデン酸還元法	1972	除タンパク →直接法	硫酸		
酵素	アルカリフォスファターゼ	Kind-King法	1968	なし	なし		1977
	コリンエステラーゼ					β-カルボナフトキシ コリン基質法	1973
	AST (GOT)	Reitman-Frankel法	1963	なし	なし	カルメン法	1973
	ALT (GPT)	Reitman-Frankel法	1963	なし	なし	カルメン法	1973
	アミラーゼ	ヨードデンブ反応	1974	なし	なし		1974 ?
	LD	Cabaud-Wroblewski法	1967	なし	なし	UV・Rate法	1973
	CPK					HK-G-6-PDH- NTB法	1977
	γ-GT					オルロウスキー 変法	1974

5.6.2 酵素試薬（レート法）

一方、血中の酵素を測定する方法（レート法）については、アルカリフォスファターゼ（ALP）、トランスアミナーゼ（AST、ALT）、乳酸脱水素酵素（LD）などの主要項目の測定法は、すでに1950年代までには研究としては一応の完成を見ていた。1970年代半ばからは国産試薬も次々と製品化されていて、意外にも低分子代謝物測定試薬（エンドポイント法）の登場から数年しか遅れていない。これは日立705形自動分析装置が上市されるより前なので、遠心形自動分析装置や、用手法の分光光度計による利用に合わせた製品化であったと思われる。

こう見ていくと、1970年代の試薬は、旧来の低分子代謝物のエンドポイント法と、酵素検査のレート法の混在状態といえ、当時の中大病院の検査室の多くは、エンドポイント法の検査項目とレート法の項目を、別システムで運営していたと推察される。しかし、別システムとするには、検体をさらに分注小分けする煩雑さや、小分けに伴う取り間違いリスクなど問題が多く、合理的な解決策が求められていた。そこで低分子代謝物測定も、酵素を活用したレート法とすれば、同じ自動分析装置で対応が可能となるので、低分子代謝物測定のレート法への切り替えへの機運が高

まっていったと考えられる。

5.6.3 低分子代謝物試験の酵素法化

しかし、低分子代謝物の酵素法化には、もともとの酵素法項目とは異なる難しさがあつた。測定対象そのものが酵素であるアルカリフォスファターゼなどでは、測定用試薬は基質となる化合物で、価格的にも安定性的にも、低分子代謝物の試薬とあまり変わらないですむ。ところが血糖や尿素などの低分子代謝物検査の酵素反応化には、高価で不安定な酵素やNADなどの成分を試薬とせねばならず、エンドポイント法に比べ製造の難度、コストが格段に高くなってしまうのだ。遠心法の自動分析装置では、試薬量は数百μlで済んだようだが、ディスクリット型の日立706D等では、1.2mlの試薬量が必要であった。日立706Dでは、不十分ながらレート法アッセイも可能であったが、試薬の使用量を考えると、レート法で血糖や尿素を測定することは無かつたであろう。試薬量が0.3mlで済む日立705形が出て、ようやく価格問題の目処が立ったのではないかと。試薬メーカー側でも、酵素の使用量が増えるにつれ、国際的なマーケットで割安な原料を調達する等の努力を行った。

試薬安定性は、試薬メーカーにとっては、原料価格

以上に骨の折れる、技術的にも苦勞する分野であった。酵素のような常温で不安定な物質を試薬化するには、以下の例をはじめとして、様々な技術が投入された。

(1) 試薬の凍結乾燥化

酵素のようなタンパク質は溶液ごと凍結し、真空下で乾燥して水分を除くと、保存安定性が大幅に向上するので、好んで用いられた。凍結乾燥といっても、ただ乾燥すれば良いのではなく、溶液組成、特に乾燥後の粉末飛散を防ぎ、かつ再溶解しやすい賦形剤の選択や液組成の工夫、凍結条件の工夫などが必須であった。

(2) 試薬の錠剤化

タンパク質でない原料も、乾燥状態の方が安定なので、要時溶解用とした錠剤化もよく行われた。錠剤は粉末を賦形剤とともに錠剤化し、容易に溶解するよう工夫されていた。

(3) 安定化剤の添加

安定化剤としては、成分の凝集を阻止する界面活性剤、酵素を失活させる不純物対策、特にタンパク質分解酵素の阻害剤など、多くの種類が検討され、採用されてきた。

(4) 過剰量添加

保存中に溶液状態では徐々に失活する物質でも、過剰量が反応系に存在すれば、観測すべき反応速度には影響がない場合は少なくない。こうした物質は、コスト的に許されるならば、初めから失活分を見越した過剰量を添加し、有効期限内の性能を保証する、という対応も行われる。

(5) 耐熱酵素の利用

低分子代謝物の多くは、生命維持に中心的な役割を果たしている代謝システムの産物なので、これに関わる酵素は、バクテリアを始めとして、多くの生物種に共通して存在する。実際、試薬で用いられる酵素の多くはほ乳類由来ではなく、製造のより容易な微生物発酵によって得られている。そして、微生物によっては、例えば高温の温泉環境で生育するものがあり、こうした微生物の酵素は一般に高温でも失活しにくいので、耐熱酵素とよばれ、生化学の様々な分野で利用されている。臨床検査試薬でも保存安定性向上の目的で、一部耐熱酵素が利用されている。

全体としてみると、試薬キット製造は、まず(1)、(2)のような剤形の工夫から始まった。しかし、(1)、(2)の試薬では、ユーザーが都度試薬を再溶解せねばなら

ず、メーカーとしても製剤工程設備投資、ランニングコストがかかるので、(3)以降の対策が徐々に奏功してくると、「液状試薬」へと切り替えられていった。

こうした対策の多くは試薬メーカーのノウハウに属し、文献や学会発表の形で公にされることはめったにない。特許では一部公開されていると思われるが、何が実際に製品化され、何がされなかったかまで知るのは難しい。従ってなかなか日の当たらない技術分野ではあるが、製品の実用化にとっては、大変重要な技術群である。

5.6.4 ランダムアクセス出現以降の懸案と対応

日立 705 形に始まり、やがて多くのメーカーおよび装置が採用した、検体ごとに項目選択が可能な完全ランダムアクセス方式は、検査室の業務合理化にとっては大変な福音であり、検査業務管理のあり方を変える出来事であった。同時に、上記で述べたように、試薬設計にも大きな変化となり、装置と試薬が協働して、新しい検査体制の構築へとつながっていった。

ランダムアクセスを実現させる上で鍵となった技術が、ステップモーターなど駆動系のデジタル制御化による分注液量の即時切換機能と、十数種類以上もの試薬を都度、自由に分注できる、ピペッティング方式による試薬分注機構である。これらは、マイクロコンピュータの実用化が進んだおかげで実現した技術である。ピペッティング方式の採用により、チェインコンベア型の装置で用いられていた、ディスペンサー形分注機構より部品点数が減り、装置の安定性、整備性が向上した。さらに、ディスペンサー方式の長いラインでの試薬滞留がなくなり、試薬の無駄も減るなど、ランダムアクセス以外のメリットも大きかった。

しかし、ピペッティング方式では、異なる項目試薬を同じノズルで分注するので、洗いきれずに残った試薬を別の試薬に持ち込む「クロスコンタミ」のリスクがある。遠心式の装置など、ピペッティング方式を採用していた装置で問題となった案件だが、ランダムアクセス方式になって、同時平行的に用いられる試薬の組み合わせがずっと多彩になったため、問題が顕在化しやすくなった。装置には、反応キュベットはもとより、試薬/検体分注ピペットや攪拌翼を使用直後に洗浄する機能が用意されている。従って前の測定を持ち込み量といってもわずかなはずだが、試薬の組み合わせによっては、pHの変動による反応性の変化や、酵素活性の妨害などで、予想を超えた値の変動につながる場合がある。

他方、残存する検体を持ち込む「キャリーオーバー」

のリスクについては、もともと殆どの装置で検体分注にピペティング方式が採用されていたため、ランダムアクセス装置に限った話ではなかった。しかし、測定項目選択の自由度が広がると、当初は予想しなかった、血清検体と尿検体の混在測定等が実行されるなど、リスクは増える傾向にあったといえる。ランダムアクセスが盛んになった1980年代後半は、ちょうど免疫比濁法やラテックス凝集法など、従来からの化学法や酵素法とは、特性も液量も異なる試薬類の適用も始まりつつあった。自動分析装置にとっては、設計当時には予測・確認していなかった試薬や検体の組み合わせを相手にする状況が生じたと考えられる。

また、免疫系試薬の測定では、7章で述べるように、これら試薬特有のプロゾンや非特異反応のリスクがあるが、レートアッセイの採用に合わせ、反応の進行過程をモニタ出来る機能を備えた装置が現れたことが、皮肉にも測定異常を見つけやすくした面もあったと考えられる。

こうした一連の問題点への対策としては、試薬メーカー、装置メーカーおよび検査室ユーザーそれぞれの立場で、あるいは協力して以下のような施策がとられてきた。

(1) 試薬メーカーの対応

試薬組成、特に添加物関係で、他の項目への影響が大きいものを見直し、影響の少ない組成に改めた。また、他社製品も含め、試薬組みあわせの総当たり実験を行って、リスクの発見に努めた。こうした見直し検討に当たり、試薬メーカー各社は原則、装置を購入して検討し、試薬の最適化を図ったが、すべての装置を購入することは難しいので、装置メーカーに出向いて検討する協働作業も盛んに行われた。

(2) 装置メーカーの対応

試薬および検体の分注・洗浄機構や、ノズル、攪拌翼およびキュベットの洗浄機構は、装置設計の根幹を成す部分であり、様々なレベルでの改良努力が今日まで続けられてきた。ノズルの接触部分を最小限とする液面センサーは早い段階で採用され¹⁸⁾、洗浄効率を強化する仕様変更や、試料・試薬に触れる部分の材質の見直しなどが行われた。さらに、試薬メーカーと改良のための協議も行われ、洗浄用の特別工程を追加したり、アルカリ洗浄液での洗浄を選択出来るようにする機構、さらには検体の自動希釈機構を搭載した装置も開発されるようになった。また、接触面積の大きい攪拌翼をやめ、非接触で攪拌するために超音波攪拌を採用した装置もある¹⁹⁾。

海外のメーカーには、キュベットの洗浄工程が複雑化することを嫌い、ディスポキュベットを採用しているところもある(COBAS INTEGRA[®]800など)。

また、このようにトラブルを回避する策を検討する一方で、トラブルの発生をデータの特長から読み取り、注意喚起のメッセージを出すことも行われた。

(3) ユーザー(検査室)の対応

検査室も、偽陽性、偽陰性報告のリスクを避けるため、いろいろの工夫を行って対応した。攪拌翼やサンプルノズルからの持ち込み、あるいは項目試薬間の干渉を避けるため、試薬の測定順序、配列を工夫して、影響の起こりやすい組みあわせを回避したり、干渉の危険のある項目間にダミー測定を挿入して、直接干渉する機会を減らすなどの工夫をした。また、他の検査結果、あるいは過去の検査結果を参照し、偽陽性の疑いがある結果については再試験で確認することも行われている。

5.6.5 自動分析装置専用試薬化など(1980年代以降)

以上見て来たように、ランダムアクセスの実現で、検査品質の管理が複雑化したこともあり、測定系の曖昧性を減らして問題点を分かりやすくするため、試薬を自動分析装置ごとに専用試薬化し、運用するようになっていった。もともと、試薬は液量ベースで販売され、装置の試薬分注量と対応しているとは限らなかったが、使用量を正確に把握し、測定途中での液切れを防ぐなど、使用上の便宜のため、主な装置向けの適正試薬量に合わせた包装単位とした専用試薬が供給されるようになった。

しかし、1980年代前半には、試薬量を節約するため、分注量を減らしたり、あるいは試薬を薄めたりして測定することは、実は、少なからぬ施設で行われていた。これは今日の見方では、明らかに薬事法に抵触する行為で許されないことだが、当時は、測定結果の品質責任は臨床検査室の現場が担っているという気概が強く、検査品質に影響しない範囲で試薬を節約して使いこなすのは、むしろ腕の見せ所的な意識さえあったといえる。

しかし、その後の薬事法運営の強化、後述するサーベイやISOの影響などから、試薬を恣意的に扱うことを極力排除する方向に、検査室の運営も変わり、それに合わせて、試薬バーコード化による縛りなどが強化され、分注量を勝手に変更したり出来なくなっていった。その反面、オペレーターは試薬を装置にセットするだけで、直ちに検査出来るようになった。何の

試薬がセットされていて、残量がどれだけあるかも装置が管理するようになった。試薬を使い切ると、新しい予備ボトルに自動的に移行する運用も、当たり前となっていた。

他にも装置専用試薬の登場が、思わぬ方向で試薬性能に影響した例として、保冷库保存の問題がある。日立705以来、装置の試薬ボトル置き場が保冷库となつて、温度上昇による試薬の劣化加速を防ぐようになったのは喜ばしいことだが、専用試薬化で試薬の装置内配置や使い方が定型化したこともあり、装置の試薬保冷库の中に試薬を開封したまま数日間、場合によっては数週間放りっぱなしにしておくユーザーが現れるようになった。元来、装置にセットした試薬は、終了後栓をし、冷蔵庫で保管したもので、翌日使う際には瓶を振り混ぜてから開栓し、装置にセットするのが一般的だったが、長時間開封のまま置きっ放しとなると、蒸発の問題、液組成によっては特定成分の沈降の問題に新たに対処しなければならなくなった。今日、この問題は、試薬の改良と、標準物質運用の両面から対応が取られている。

その後、自動分析装置は、キャリアオーバーやクロスコンタミ等の課題対応を強化しつつ1980年代から1990年代へと向かい、検体・試薬の少量化、高速化へと進化を遂げていった。中でも日本電子が90年代に上市したバイオマジェスティシリーズは、試薬使用量の事実上の半減化に成功して、一時代を築いた。今日では、装置の高速化は、1時間当たりの検体処理量

が2000検体台に達し、さらに装置のモジュール化によって、自動分析装置を組み合わせることで、時間当たり7000~8000検体の処理速度を実現している。これに伴い、検体を供給する機構も、9.3節で触れる検体搬送システムを組みあわせ、検査の高速化、省力化を図っている。

5.7 自動血球計数装置

臨床化学からは少しそれるが、血液を採取して行う臨床検査のもう一つの大きな分野である、自動血球計数(略して血算)分野での自動化技術について論じる。

先に3.1.4血液細胞検査の項で簡単に述べたが、血算の自動化はコールターによるインピーダンス方式での細孔通過血球数の自動測定に始まり、後にレーザー光を用いたフローサイトメトリー方式により、昔は検査技師が顕微鏡でいちいち血球数を数えていた検査が自動化され、さらには測定できる血球の種類が、技術の進歩、革新につれて追加されていった。その流れをまとめたのが、図5.9である。

当初のインピーダンス方式は、100 μ m径ほどの細孔(アパーチャー)を血球が通過することによる電気抵抗変化を見て血球を認識し、全血球数を測定するものであった。全血球数と言っても、血小板は小さすぎるため、当初の技術では背景ノイズや細胞の断片と区別できず無視されていたし、白血球は赤血球より数が2桁以上少ないので、全血球数とは事実上赤血球数と

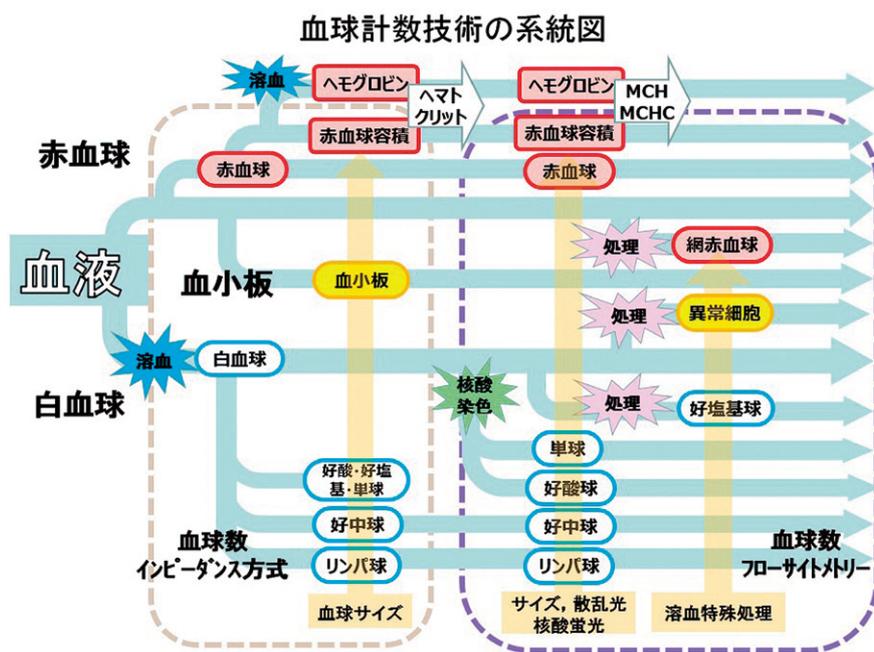


図 5.9 自動血球計数技術の変遷

図の左から右方向(矢印)に向かって、時間の経過と技術の変遷の関係の大略を示す

同じ事であった。程なく、赤血球を溶血させ、残った白血球を数えることで、赤血球と白血球2項目測定となった。更に1970年代には、通過時のインピーダンス（抵抗値）の大小や変化の時間経過パターン解析により、大きさと種別の判定の精度が増した結果、赤血球容積、白血球3分類および血小板の個数算定が可能になった。これにより、赤血球数、赤血球容積とヘモグロビン濃度から、ヘマトクリット値（全血中に血球の占める容積%）も計算で求められるようになった。また、個数算定とは別に、赤血球を界面活性剤で溶血し、赤血球内のヘモグロビン量を吸光度法で測定し、ヘモグロビン濃度を求める機能も付加された。

このおかげで、貧血の診断と原因の把握に重要な、血球産生量とヘモグロビン産生量を、独立して評価出来るようになった。これは後に、ウィントロブ（M.M.Wintrobe）の赤血球恒数（平均的大きさ（MCV）、1個当平均ヘモグロビン量（MCH）、平均ヘモグロビン濃度（MCHC））の計算という、より診断的価値の高い指標へとつながっていく。しかしながら、白血球については、顕微鏡観察で実施される種別判定5種類（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球）を区別して数えることは、電気抵抗測定だけでは困難であった。

血算の次のブレークスルーは、1970年代後半に登場した半導体レーザーを用いるフローサイトメトリー方式である。フローサイトメトリーでは、シースフロー方式により、一列に流れていく血球にレーザー光を照射し、その散乱光と、発する蛍光を測定出来る。散乱光も前方散乱と側方散乱の2つのパラメータが使えるため、血球の大きさに加え、その細部構造の違いを反映した解析が可能となり、血球の分別能力が向上した。更に、溶血剤の工夫と、核酸の蛍光染色による染色度合いの測定を組み合わせることによって、顕微鏡の目視検査よりも高性能で迅速な、白血球全5種類が計測できるようになり、構成パーセンテージ判定が可能になった。溶血剤等の工夫により、今日では、更に、未成熟な網赤血球や幼弱顆粒球、幼弱血小板などの異常細胞の検出、破碎赤血球と血小板の区別などが実用化されている。

さて、こうして見てくると、血球計数技術は、主なブレークスルーやいくつかの革新技術のおかげで順調に成長してきたかに見えるが、例えば生化学自動分析装置等とは、また別の難しさを本質的に抱えた技術であると考えられる。その要点を以下に述べる。

(1) 血球の状態は、個人間、採取試料間のバラツキが大きい

第4章で取り上げた、臨床化学が扱う生体成分は、基本的に同一の物質を測定対象としている。酵素などは厳密には個人差があるが、酵素活性として現れる性質は、量的な差に過ぎない。対して血球計数では、血球の大きさや光散乱の度合いは、個人差や、試料の扱いによるバラツキを、もともと抱えた測定系である。

(2) 血球計数は、あるもの全部を分類する検査法である

臨床化学の測定項目は、検査をオーダーした時点で決まっており、いわば「見たいものだけ見る」検査法である。試料中の他の成分は、反応に影響が無い限り、無視される存在である。ところが、血球計数の基本原則は「あるものを全部見る」ことである。測定試料には全血が供せられ、そこに含まれる血球全部を対象として分類していく中で、どうやってノイズ部分を分別し、異常な血球、特殊な血球を他と切り分けて認識するかが、技術のポイントである。測定精度が向上すると、見られるもの、分類基準も変わっていく場合がある。要するに、「何を計るか」というより「どう計るか」が技術の本質であり、ゆえに絶えず装置、測定系の技術改良が求められ、変貌していく検査法といえる。

(3) 顕微鏡での目視計数が基準法である

もともと顕微鏡で行う血算の自動化ということで、全く異なったインピーダンス方式が発明された訳だが、こうして出来た自動血球計数装置は、白血球分類等の高度な機能についても、顕微鏡での測定という基準法に従う、という制約を負うことになった。

要するに、血球計数装置は、生化学分析装置とは異なり、もともとバラツキ要因の多い試料中の全血球を対象とした測定を行わねばならず、原理的にもトラブルの発生しやすい測定系である。インピーダンス方式にせよ、フローサイトメトリー方式にせよ、測定原理は素人にも分かりやすい、ある意味単純な技術であるが、それだけに、どんな試料が来てもユーザーが納得できる結果が出るようにするには、試料の前処理条件、シースフロー条件、光学測定のカットオフ設定などの細かい改良の積み重ねが欠かせない分野であると言える。

血球計数の国内市場では、今日、シスメックス社がマーケットリーダーとなっている²⁰⁾。同社は1990年頃から海外にも本格展開し、かつては米国コールター社の牙城であったこの領域で実績を重ね、生化学自動分析計などの臨床化学系装置も含めた、並み居る臨床

検査機器メーカーの年間売上げで、世界のトップ10に食い込んでいる²¹⁾。同社の製品およびその歴史を見ても、コールターや他社に比べ、圧倒的に優れた技術があったわけではない。しかし、上記で考察したように、細かい技術改良と、ていねいな顧客サービスや学術活動の積み重ねで、コールターに対抗するほどの力をつけてきた事は、注目されて良い。特に装置の自動化という観点での特徴ある取り組みに、次のようなものがある²²⁾。

- ① 前処理工程も自動化し、すべての項目測定を、全血試料を装置にセットするだけで出来るようにした。
- ② 検体の自動搬送装置の開発導入。処理速度を上げるため、複数台の血算計を用いるとき、特に省力化効果が大きい。
- ③ 装置とメーカーのサービスが、ネットで直接つながった、装置の自動監視、Webによる情報提供等を行う仕組みの導入。

これは対応策の一例であるが、血球計数計を、その装置だけを対象としたビジネスとしてとらえるのではなく、検査室の総合システムの中でのあり方という視点で、改革案を提言してきたことが、自動分析装置としての一つのあり方への提言となっている。

3.1.4 血液細胞検査の項でも述べたように、フローサイトメトリーという方法論は、細胞生物学の研究分野で必須の実験ツールとなっており、いわゆるバイオの研究分野における試験方法としては、遺伝子配列解析、LC-MS/MSによる網羅的分子解析と並んで、最も華やかな成果を誇る試験法の一つである。ただ、臨床検査と異なるのは、扱う試料が全血ではなく、多くが培養細胞であることもあって、血球検査の「全部見る」方式でなく、CD抗原を蛍光標識した抗体を反応させることによって見分ける「見たいものを見る」試験が中心となっていることだ。従って、原理的には殆ど同じで、臨床検査機器とは兄弟のようなスペックを持ちながら、お互いに領域を共有することはあまりなく、装置メーカーも異なっていたりする。

しかし、そうは言いながら血球計数のフローサイトメトリー分野は、臨床化学などよりは、臨床検査と基礎研究、臨床研究の距離がずっと近い分野だ。免疫学研究の進歩により、白血球の中のリンパ球には、更に機能別のサブクラスが多く存在することが知られており、サブクラス毎の細胞表面のCD抗原の違いも解明が進んでいる。他の白血球にもサブクラスが存在しているものがある。近い将来、こうした細胞免疫学の成果と疾患との関連が、より明らかにされれば、臨床検

査としても、白血球のサブクラスに踏み込んだ試験方法が求められる可能性は非常に高い。実際、血球計数装置メーカーでも、コールター（ベックマン・コールター社）は白血病タイピング検査（病型を免疫学的に区別する検査）として、CD45、CD3、CD38、CD138などを取り入れている。しかし、日本では例えば白血病細胞の検査の保険点数は2000点であり、従来の病理学的な検査に加えて、高価な標識抗体を用いたフローサイトメトリーが普及出来るかどうかは微妙である。

一方、シスメックスは、これまで溶血剤、染色剤の工夫と、レーザー散乱、側方蛍光測定を精度を上げて、高価な試薬を用いることなく、試料細胞に関するより多くの情報を取得することに力を入れている（図5.10）。血球計数検査は、その基本性格上スクリーニング検査であり、その意味では、高価な試薬が必要な確定診断検査とは別に、異常の存在可能性を見出す安価な方法があれば、その機能を実用化する方が、血球計数装置としては理に適っているとも考えられる。免疫細胞分野の検査の今後の進展を注視したい。

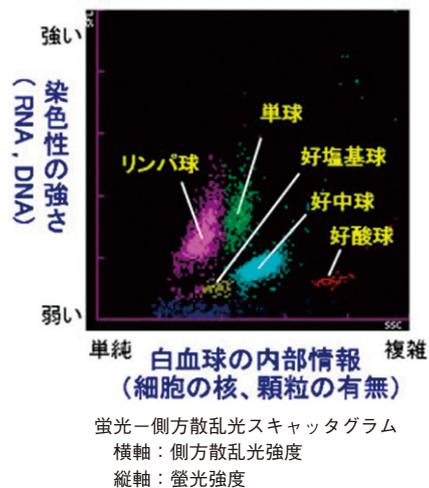


図 5.10 フローサイトメトリー解析図²³⁾
(シスメックス株式会社のご厚意により掲載)

参考・引用文献

- 1) 茂手木皓喜:「現代の最先端を行く検査装置」, 臨床検査, Vol.4(1), p3, 1960
- 2) 藤井達三, 渡辺富久子, 奥田潤:「臨床化学総論, 第2改稿版」, 廣川書店, 32頁, 1988年
- 3) 藤井達三, 渡辺富久子, 奥田潤:「臨床化学総論」, 廣川書店, 31頁, 1977年
- 4) (財) 緒方医学化学研究所:「ヤトロンと臨床検査の変遷」, 17頁, 2011年

- 5) 横山宏, 斎藤徹, 小田切節子:「二波長分光光度計による化学分析」, 臨床検査, vol.19(3), p247-255, 1975
- 6) 斎藤正行, 松田基, 実方悟, 中村健三:「Centrif Chem」, 臨床検査, Vol.18(2), p133-136, 1974
- 7) 株式会社 日立製作所:「日立 400 形自動分析装置 製品説明冊子」, 7 頁, 1968 年ころ
- 8) 座談会: 臨床生化学部門における日常検査の人員と規模, 臨床検査, Vol.10(3), p241-253, 1966
- 9) 日立ハイテクノロジーズ:「日立自動分析装置グローバルビジネスの歩み」, 4 頁, 2008 年
- 10) 日立ハイテクノロジーズ:「日立自動分析装置グローバルビジネスの歩み」, 14 頁, 2008 年
- 11) 日立ハイテクノロジーズ:「臨床検査自動分析装置など」, 67 頁, 2003 年ころ
- 12) (株) 日立ハイテクノロジーズの社内資料より
- 13) 横田浩充, 大久保滋夫 編集:「検査機器総論・検査管理総論」, 医学書院, 4 頁, 2013 年
- 14) 保田和雄, 塚田勝男 編:「産学協同を基にした分析機器の誕生」, ぶんせき, Vol.8 p460-466, 2005
- 15) 日立製作所:「日立自動分析装置 400」, 製品カタログ
- 16) 和光純薬工業株式会社:「日立自動分析装置 706, 706D 形用試薬 アルブミン測定用 アルブミン-AR II BCP 溶液」, 製品カタログ
- 17) (財) 緒方医学化学研究所:「ヤトロンと臨床検査の変遷」, 2011 年
- 18) (株) 日立ハイテクノロジーズ那珂事業所見学情報 (2016.7.11 実施)
- 19) 今井恭子:「健康社会を支える生化学・免疫分析技術」, 日立評論, Vol.89(12), p958-959, 2007
- 20) 「2014 臨床検査市場 No.2 生化学検査・血液検査市場」, 富士経済, p209, 2014
- 21) Statistica; The statistics Portal: "Global in vitro diagnostics revenues by top companies 2014 and 2020 " より, <http://www.statista.com/statistics/331718/top-global-companies-by-in-vitro-diagnostics-revenue/> (参照 2016.8.22)
- 22) シスメックス (株) インタビュー情報から (2016.7.14 実施)
- 23) シスメックス株式会社ホームページ, 企業情報> ニュースリリース 2011 年, <http://www.sysmex.co.jp/corporate/news/2011/110526.html> (参照 2016.11.23)

6 | 高感度測定法を求めて – 免疫測定法

生化学検査、すなわち血清中の低分子成分の分光学的測定、および酵素活性の測定は、1970年代には方法論として確立し、80年代に黄金期を迎えた。しかし、量的にも種類の数でも、血清中の主要成分は、実はタンパク質である。タンパク質は、総タンパク質、アルブミン、 α -グロブリン、 β -グロブリンなど、グループの総称として検査されることはあっても、個別成分としてのタンパク質の検査は、なかなか本格的に実現に至らなかった。その主な理由を考えると、以下の要素が浮かんでくる。

- ① 個別のタンパク質は、研究レベルでは、液体クロマトグラフィーや電気泳動などの精製法を駆使して単離され、性質も調べられていたが、こうした方法は手間がかかり臨床検査向きでなかった。低分子物質や酵素のように、特異的に反応し、他成分と容易に区別出来る実用的方法がなかった。
- ② 1970年代には、すでに100を超す血漿タンパク質が同定されていたが、低分子成分や酵素に比べ、臨床診断上の意義が明確でないものが多かった。
- ③ 一方、ホルモンなど生理活性的、病理学的に興味のあるタンパク質は、概して微量しか存在せず、従来の検査法では感度が全く足りなかった。

こうした状況を打破したのが、抗原抗体反応を巧みに利用した、新しい測定系の発明である。これにより、今日、医療経済的には臨床化学検査、すなわち生化学検査をも凌ぐ、新しい臨床検査の分野が形作られた。本章では、こうした検査技術の進化の軌跡を辿ってみる。

6.1 抗原抗体反応

6.1.1 抗体とは

我々の血液中には、体外から侵入した細菌などの異物（抗原）と特異的に結合する、抗体と呼ばれる物質が存在することが、19世紀の終わりには明らかにされていた。抗体は、イムノグロブリンと呼ばれるタンパク質グループで構成され、白血球の一種であるリンパ球から変化した細胞が産生している。イムノグロブリンは、図6.1に示すように、4本のペプチド鎖（アミノ酸ポリマー）からなるY字形構造をしており、Y字の2つに分かれた先端部分が異物（抗原）と結合する部位である。

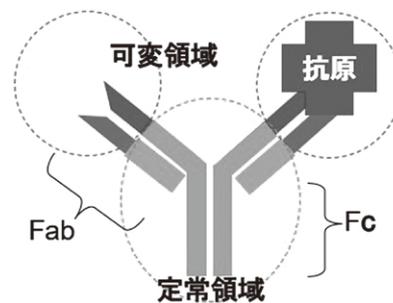


図 6.1 抗体の構造

抗体はY字形の分子で、抗原と結合する可変領域の構造が、分子によって微妙に異なる。

イムノグロブリンには、生体内での役割の違いを反映して、IgG、IgA、IgM、IgD、IgE という5種類のクラスがあるが、Y字形の基本構造は共通している。ただし、IgAではY字形分子の2量体^(註8)、IgMでは5量体^(註8)の形で存在している。

イムノグロブリン分子は、どうして異物に特異的に結合できるのか？ それは、イムノグロブリンには、細部の微妙に異なる 10^{11} 種類もの分子セットが用意されているため、どんな異物が侵入しても、その異物と結合しうる分子が選択され得るからである^{1) 2)}。具体的には、図6.1の可変領域を構成する2本のペプチド鎖にそれぞれ数カ所、抗体分子ごとにアミノ酸配列の異なる部分があり、これらの変化の組み合わせで構造のすこしずつ異なる膨大な数の分子が用意される。1つの細胞から産生される抗体分子の構造は常に一種類であるが、こうした細胞の種類が 10^{11} あると考えられる。こうした微妙に異なる分子のバリエーションが形作られる仕組みは、利根川進によって遺伝子的に解明され、この功績により、利根川は、1987年のノーベル生理学・医学賞を受賞している³⁾。

6.1.2 抗体を人為的に作る

抗体は、生体内に侵入した異物に対して産生される。この性質を利用して、動物の体内に人為的に異物を投与することで、投与した物質（抗原）に対する抗体を作らせることが出来る。例えば、ヒト血漿タンパク質であるアルブミンに対する抗体を得るには、ウサギにアルブミンを少量ずつ、1週間おきに注射する事を2-3ヶ月続ければ、ウサギの血中に抗ヒトアルブミ

(註8) 2量体、5量体

2量体は、タンパク質2分子が結合して大きな分子を形成したものである。5量体は5分子の結合を指す。

ン抗体（ヒトアルブミンに対抗する抗体）が産生されるので、採血して抗体を得ることが出来る。こうして特定の抗原に対して作られた抗体を特異抗体と呼ぶ。

ヒトや動物の体内、特に血液中には、通常数 mg/mL から十数 mg/mL の多種多様な抗体があって、体内に侵入する異物を排除する役割を果たしているが、人為的に抗原を投与されると、多い場合には、数 mg/mL もの特異抗体が産生される。特異抗体産生は、特に抗原に対する結合力の強い分子を産生する細胞が選別され、選択的に増殖して産生された結果といえる。そのため抗原-抗体の結合は、酵素と基質の結合よりさらに強固で、生体内で最も特異性の高い反応の一つと考えられている。試験管内で、抗原溶液と抗体溶液を混合すると、瞬時に抗体が抗原と結合し、沈殿する。抗体は1分子中に結合サイトが2箇所あるので、抗原が抗体によって架橋し、難溶性の複合体を形成するためである（図6.2）。

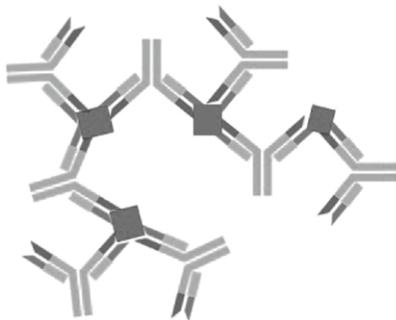


図6.2 抗原-抗体（イムノグロブリン）
凝集塊のイメージ図

免疫によって作らせた抗体を医療に用いることには、実は古い歴史がある。天然痘の感染予防のために、牛痘を接種する方法がジェンナー（E. Jenner）によって発明されたのは、1796年の事であった⁴⁾。これは今日の子防ワクチン療法の先駆に当たり、弱毒化した病原菌やウイルスをあらかじめ投与し、病原体に対する抗体を作っておくことで、後に本当の病原体に感染しても、発病を未然に防いだり、軽症で収まったりすることが期待できる。また、致死率の高い細菌感染症である、破傷風やジフテリアの病原菌が産生する毒素や、蛇毒などを弱毒化して馬などに免疫し、得られた抗体を患者に投与して毒素を中和する血清療法が、1890年にベーリング（E. Behring）と北里柴三郎によって開発されている⁵⁾。さらに近年になって、自己免疫疾患や各種ガンの発症機構に関わる成分に対する抗体を、医薬として用いる抗体療法が、脚光を浴びている。

6.1.3 抗原抗体反応を用いた初期の検査法

血清療法の発明以来、感染症の病原菌に対する抗体を作成することは多くの研究機関で行われるようになり、罹患した病原体の同定などに研究や公衆衛生目的で使われるようになった。臨床検査として抗原抗体反応が本格的に利用されたのは、梅毒感染の試験であるワッセルマン（Wassermann）反応や凝集法、ガラス板法で、これらは梅毒病原菌スピロヘーターに対する患者血中の抗体が、リン脂質の一種であるカルジオリピンと交差反応することを利用した試験法で、1950年代ころから用いられていた⁶⁾。抗原抗体反応を用いる測定法をイムノアッセイ（immunoassay）と呼ぶ。

動物に免疫して作られた抗体を用いた初めての実用検査は、血中のCRPタンパク質を測定する毛細管混合法であった。CRP（C-Reactive-Protein；C-反応性タンパク）は、1930年にティレットとフランシス（W.S. Tillett, T. Francis）によって発見されたタンパク質で、肺炎双球菌のC-糖鎖に結合する性質のあることが注目されたが、その後、肺炎に限らず、細菌感染や癌性の炎症性疾患時に、炎症の度合いに応じて血中濃度が上昇することが見出された⁷⁾。CRPは健常人には微量しか存在しないので、CRPの確認は炎症の診断に役立つ。そこで、抗CRP抗血清を患者血清と毛細管内で混合し、中に生じるCRP-抗CRP抗体複合体が沈降する程度を観察する検査が、1960年ころから広く日常的に行われ、感度的には、 $\mu\text{g/mL}$ オーダーの血清中CRPを検出する事が出来た。CRPは現在でも救急外来における重要な検査として、後述する自動分析機による免疫測定法で検査されている。

6.2 ホモジニアスイムノアッセイ

前項で述べたCRP測定法である毛細管混合法は、反応開始から判定まで、同一組成（ホモジニアス）のまま実施される。こうした系で抗原抗体反応を利用した測定法が、ホモジニアスイムノアッセイと呼ばれる。ホモジニアスイムノアッセイには2通りの流れがある。前項で触れたCRPの毛細管混合法がその一方のルーツである。試料中の抗原と抗体が反応して生じる複合体の沈降物を溶液の濁りとして、目視で反応結果を判定する方法であった。この複合体生成の測定を装置化したのがレーザーネフロメトリー法で、反応溶液にレーザー光を照射し、照射光が直接当たらない、光軸から 10° 以上偏位して置かれた検出器で、微弱な散乱光を測定することによって、測定感度向上を図る方式であった。そのため、専用の測定装置が必要

で、標準物質となる濃度既知の抗原溶液を測定して得られる検量線から、未知試料の濃度計算機能を持つ装置も開発された。しかし、複数項目に対応する自動化装置が登場するのは、1980年代後半であり、項目ではCRPやイムノグロブリンのIgG、IgA、IgMなどが取り上げられ、後に各種血漿タンパク質へと項目追加がなされていく。達成感度は、百ng/mL程度であったと思われる。また、イムノグロブリンのように、もともとの存在濃度が高く、感度をあまり必要としない項目に対しては、レーザーネフェロメトリーのような特別な光学系でなく、通常の生化学自動分析計を利用した免疫比濁法も用いられるようになった。

もう一つの流れは、血球凝集法を起源とする。血球凝集は、1900年にラントシュタイナー (K. Landsteiner) がABO血液型を発見する契機となった現象で、A型血液とB型血液を混ぜると、血球が凝集して細かいつぶつぶ状の凝集塊が観察される。その後、血液型とは異なる抗原抗体反応の場合でも、血球に人為的に抗体を付着させることで凝集反応が観察されることが分かり、血清学検査の一手法として定着した。具体的には、ヒツジ等の赤血球に抗原ないしは抗体を固定化(感作)し、抗原抗体反応によって血球が凝集するか否かで抗原ないしは抗体の有無を判定する。8.2節で述べるが、日本赤十字社が1972年から実施したB型肝炎抗原検査も、血球凝集法で行われていた。しかし、血球凝集法ではヒツジ赤血球という生ものをを用いるため、試薬は要時調製が基本で、メーカーがキットを提供するのは技術的に制約があった。また検査の質の管理の上でも、再現性等の問題があった。

そこで赤血球より安定した素材である、ポリスチレンラテックスビーズ(微粒子)に抗原ないしは抗体を固定化した検査薬が開発されるようになった。最初の報告は、直径が1 μ m未満のポリスチレンの微粒子にヒトIgGを固定化した、リウマチ因子(抗ヒトイムノグロブリン抗体;リウマチ患者に出現する自己抗体)を測定する試薬である⁸⁾。乳状の懸濁液となっている微粒子が、リウマチ因子によって凝集し、目視可能な凝集塊に成長するのを、黒いガラス盤上で観察する定性試験(スライド・テスト)である(図6.3)。このリウマチ因子検出定性試験に続き、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(Human Chorionic Gonadotropin; hCG)に対する抗hCG抗体を用いて、尿中のhCGの有無から妊娠診断する試薬、血中のフィブリン分解産物(FDP)検出により、血液の凝固状態を診る試薬などが、1980年代には販売されていた。ラテックス凝集法の自動化は、これら目視による定性試験用試薬を、

分光光度計測定による定量試験にふさわしい性能・仕様の試薬へと進化・洗練させたものといえる。詳しくは7.1節で述べる。

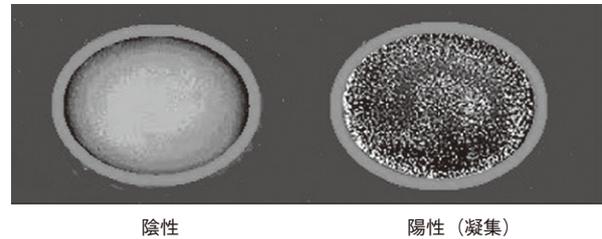


図 6.3 ラテックス・スライドテストのイメージ図

この血球凝集法やラテックス凝集法も、毛細管混合法も、抗体が抗原と反応して凝集塊を形成する抗原抗体反応を、直接観察するという点では共通しているが、凝集形成を鋭敏に検出するための手段が異なっていると考えることが出来る。毛細管混合法から発展したレーザーネフェロメトリー法では、毛細管混合法で見られる抗原抗体反応を、レーザーという強力な光源と光学測定法の工夫により感度アップを図っているのに対し、凝集法では、血球やラテックス微粒子という担体によって光学計測シグナルを増強し、感度アップを図っていると言える。

血球凝集法からのもう一つの展開として、ラテックスのような微粒子ではなく、血球に近い数 μ サイズの人工粒子を用いた凝集法があった。ラテックス・スライド法は反応時間が3分ほど短いため、非常に簡便ではあるが感度は高くない。その点血球凝集法は、ゆっくり血球が沈降するまで場合によっては1時間以上時間をかけるため、感度はスライド法よりかなり優れていた。この長所を生かしたのが人工粒子による凝集法で、特に肝炎ウイルスやHIV(Human Immunodeficiency Virus;免疫不全ウイルス)の検査に用いられたPA法(ゼラチン粒子凝集法)は、一時評判を呼んだ。しかし、同時並行的に多くの検体を測定することや、反応に時間がかかるという方法論上の制約から、自動化装置へと発展することはなかった。

ホモジニアスイムノアッセイの長所は、何といってもその簡便さにある。スライド・テストを例に取れば、ガラス盤の楕円内に試料を1滴、試薬を1滴滴下し、楊枝のような小さな棒で混合し、3分放置して判定すればよい。後述する酵素免疫測定法では、分注と洗浄工程を3回以上繰り返し、判定までに通常2時間以上を要する事を思えば、その簡便さは際立っている。

しかしながら、添加した試料成分が最後まで反応系

に残ることで、目的とする反応に好ましくない影響がおこりやすいという、ホモジニアス法特有の大きな欠点を併せ持つ。その一つが、非特異反応である。試料由来の非特異的に反応する成分が、ホモジニアス法では後述するヘテロジニアス法とは違って反応計測終了時まで共存し続けるため、影響の可能性、度合いがずっと強くなる。

もう一つは抗原過剰域（プロゾーン）と呼ばれる現象で、反応系に大過剰の抗原が存在すると、抗原を捕捉すべき抗体のすべての反応領域が、過剰の抗原分子で埋め尽くされてしまい、反応沈降体ないしは凝集体の生成がかえって阻害されてしまう。そのため、一見もっと低濃度の抗原による反応と見誤ってしまう可能性がある。抗原が大過剰存在する状態は、取りも直さず疾病が進行している場合であることが多く、それを低濃度と見誤ることは、診断としては致命的なミスにつながりかねず、大きな問題となる。後述するヘテロジニアス法の一つであるサンドイッチ法では、抗原を反応させた後に洗浄して過剰の抗原が除かれるので、こうした見誤りは起こらない。ホモジニアス法を採用する場合は、こうした欠点の回避策が不可欠となる。

6.3 ラジオイムノアッセイ（放射免疫測定法）

免疫反応の通念を一変させたのが、ヤロー（R. Yalow）とパーソン（S.A. Berson）が1959年にNatureに発表したラジオイムノアッセイ（Radioimmunoassay, RIA；放射免疫測定法）である⁹⁾。ラジオイムノアッセイは、イムノアッセイ（抗原-抗体反応を利用した免疫測定法）と放射性同位元素（ラジオアイソトープ）を組み合わせた測定法である。

ヤローらはインスリン投与で治療されている糖尿病患者で、インスリンが効きづらくなる、インスリン抵抗性の原因を研究していた。彼らは、インスリン抵抗性の患者では、体内でのインスリン分解が健常人に比べ亢進していて、投与したインスリンがすぐに分解され、有効濃度が維持できないのではないかと考えた。それを立証するために、放射性同位元素であるヨウ素131（¹³¹I）で標識したインスリンを健常人と患者に投与したところ、予想に反し健常人に比べ、患者の血中では標識インスリンが長い時間止まっていることが分かった。その原因を調べると、患者の血液中には健常人にはない抗インスリン抗体が存在して、これがインスリンと複合体を作り、インスリンを不活化すると共に、分解を妨害していることが判明した。更に、患者の抗インスリン抗体は、加えた¹³¹I標識インスリンも

結合し、そのカウント量は、血清内に元々存在するインスリン量が多いほど少なくなる傾向にあることが分かった。すなわち、加えた標識インスリンの抗体への結合量から、血清中インスリン量が推定できることを見出し、放射性同位元素を用いた免疫測定法、すなわちラジオイムノアッセイのアイデアに到達した¹⁰⁾。

図6.4にヤローの文献に掲載されているガストリンのラジオイムノアッセイ系の検量線図を示す。ガストリンは胃で作られるペプチドホルモンである。驚くべき事に、検出限界濃度が0.1pg/mLという極低濃度であり、如何にラジオイムノアッセイが低濃度の物質の定量に役立つのかを示した、記念碑的なデータである。この検量線から縦軸は、標識ガストリンのうち、抗ガストリン抗体に結合したもの（Bound；B）と、結合しないもの（Free；F）の割合（B/F）を示す。B/F値を算出するためには、結合した分画Bと、結合しない分画Fを分離し測定する必要がある。こうしたB/Fを分離する操作を必要とする反応測定系を、ヘテロジニアスイムノアッセイと呼んで、ホモジニアスイムノアッセイと対比させることがある。

サンプル中ガストリン濃度が0であれば、すべての標識ガストリンが抗体に結合するが、サンプル中のガストリン量が増えると、抗体への結合を標識ガストリンと競合するため、抗体に結合する標識ガストリン量が減る。従って図6.4のような検量線が得られる。これを利用すると、ガストリン濃度が未知の試料のB/F

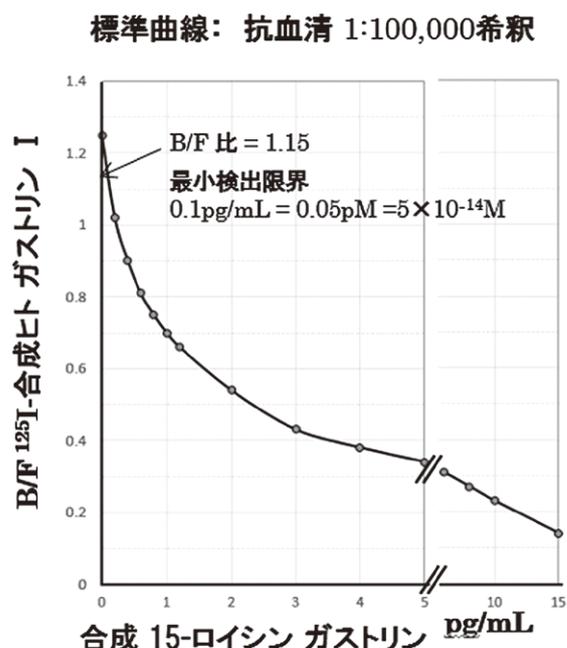


図6.4 ガストリン・ラジオイムノアッセイ（競合法）の検量線
（引用文献10）のデータをもとに作図し直す）

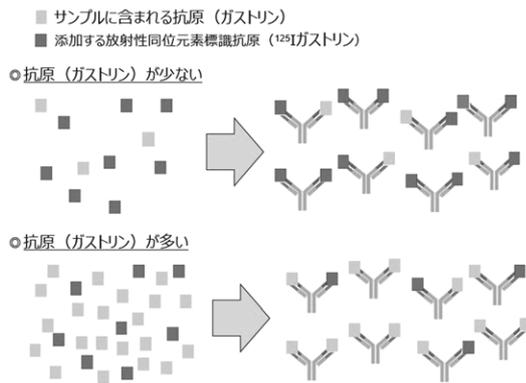


図 6.5 ラジオイムノアッセイ（競合法）の原理

値を測定すれば、ガストリン量を知ることが出来る。こうした競合法の原理の模式図を、図 6.5 に示した。

この図を見れば、ラジオイムノアッセイの本質が、標識抗原と標識されていない抗原の比を、標識のシグナル量の変化として捉えるところに存するのが分かる。ラジオイムノアッセイの発明を機に、後述するのように、放射性標識を用いない様々な方式が提案され、実用化されてきた。中には標識当たりのシグナル収率が、ラジオイムノアッセイと同等、もしくはそれ以上に豪語するアッセイ系も散見されるが、確実に高い感度で微量物質を定量するには、今日でもラジオイムノアッセイが標準法として存在し続けている。

ところで、ラジオイムノアッセイが高感度といっても、生化学検査と比べ、どのくらい高感度なのだろうか。いくつかの仮定が必要だが、ざっと比較してみる。生化学検査で低分子物質を化学反応させ、分光学的に呈色反応で定量する事を想定してみると、例えば、

- ・ 検査すべき物質の分子量： 100
- ・ 呈色反応収率： 100%
- ・ 発色物質の、モル吸光係数 2×10^4
(ホルマザン発色用色素が、 $1 \sim 3 \times 10^4$)
- ・ 装置検出限界吸光度変化 (ΔE) 0.002

とすると、検出限界濃度 = 1×10^{-7} mol/L = 1×10^{-5} g/L = 10 ng/mL

一方、ラジオイムノアッセイによるガストリンの検出限界は、0.1 pg/mL = 5×10^{-14} mol/L と、ヤローの文献にある。従って、重量で十万倍、モル換算では、 10^7 倍すなわち 1 千万倍の差があることになる。生化学検査では反応時間はせいぜい 10 分、ラジオイムノアッセイでは、場合によっては一晩反応、というように時間の違いはあるが、それを考慮しても、ざっと数十万倍の違いはありと考えられる。

一般論として、分析感度を上げようとする、計測しているシグナルのノイズも増える傾向にあるので、測定系の高感度化には、ノイズ低減策への配慮が不可欠である。ラジオイムノアッセイは、従来の分光学的方法に比べてケタ違いの感度を達成しているが、感度とノイズの関係は、技術面からはどう理解したら良いのだろうか。次の 3 点を、指摘したい。

- ① 抗原抗体反応は、酸化還元反応などの化学反応に比べ、ケタ違いに特異性が高い。
- ② 競合法という測定法では、抗原と抗体の特異的な反応以外の、非特異的なシグナルが介在する可能性は他法に比べ非常に低い。あるとすればより結合力の弱い類似物質の影響であるが、結合性が低いために、事実上競合に殆ど影響しない。
- ③ 放射性同位元素が崩壊して放射線を出す際、温度や液体組成等の条件には殆ど影響されない。しかも γ 線の測定は非常に感度がよいので、反応系、反応工程を単純化できるため、外乱に強い。

こうした好条件が幸運にも組み合わせられた測定系であったため、ラジオイムノアッセイは奇跡的に、始めから驚嘆すべき高感度を達成できたものと考えられる。

医療の歴史に燦然と輝くラジオイムノアッセイであったが、臨床検査としては無視できない欠点もいくつかある。以下に紹介すると、

- ① 感度が良すぎて、例えば数 $\mu\text{g/mL}$ 程度の濃度がある成分は相当希釈しないと測定出来ないため、こうした物質の測定法としては実用的でない。
- ② 何といても放射性物質を扱うので、施設管理、担当者の教育・安全、廃棄物処理など、規制が厳しく、通常の検査ラボとは比較にならない位管理の手間がかかる。
- ③ 基本的に用手法であり、実質的に測定出来る検体数に限度がある。放射性物質を扱う上での設備的、人的制約から、単純にオペレーターを増員して対応すれば済むわけではない。

こうした問題点のため、後々ラジオイムノアッセイに代わる高感度免疫測定法が種々検討されていく。

6.4 ラジオイムノアッセイ法の改良

ヤローの発明した、競合法ラジオイムノアッセイは、実用技術としても大変完成度の高い、良く出来た方法と言えるが、汎用技術とするには、以下のような課題があった。

- ① 標識に使われる ¹³¹I が、半減期が約 8 日しかなく、せっかく調製した試薬の使用可能な期間が短すぎる。

- ② ヤローの行ったB/F分離法である電気泳動法(図6.6)は、分離性能は優れているが取り扱いが煩雑で、大量の試料の検査向きでない。
- ③ 競合法の検量線は試料濃度ゼロで最大となる双曲線状の形状であるため、高濃度試料での測定精度に難がある。そのため、実用上の検量線レンジが狭く、高濃度検体があると希釈再検を頻繁に行う必要があった。

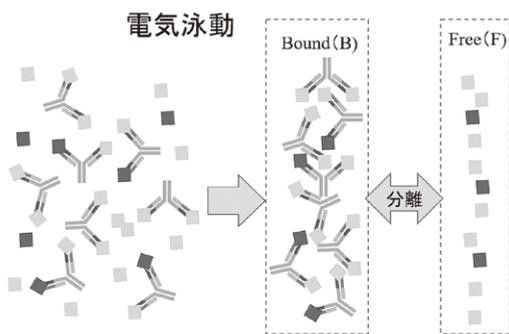


図 6.6 電気泳動による B/F 分離の原理

これらの解決法であるが、まず①については、¹³¹Iに代わり半減期が59日と長い¹²⁵Iが1967年頃から実用化され、この問題は解消された。

また、②のB/F分離法については、ポリエチレングリコール(PEG)などのグロブリン凝集剤や抗体に対する他種動物の抗体を用いて、イムノグロブリンを凝集させ、B/F分離を効率的に行う方法(図6.7)、また、イムノグロブリンをプラスチック等の固相表面に結合させ、抗原を含む液を出し入れするだけで反応とB/F分離を行う固相法(図6.8)¹¹⁾などが提案され、実用化されていった。

最後の③対策については、競合法以外のアッセイ系として、固相に固定化した抗体に、抗原を完全に捕捉させた後、放射性同位元素で標識した抗体を反応させ

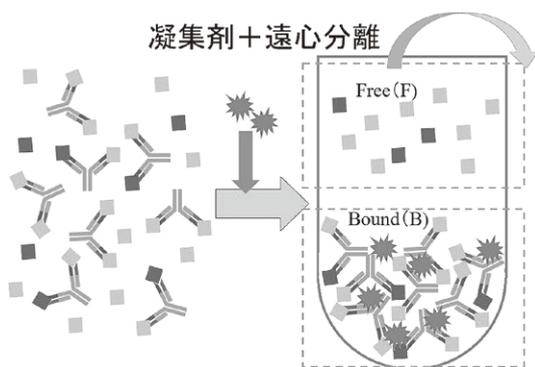


図 6.7 凝集剤+遠心分離による B/F 分離

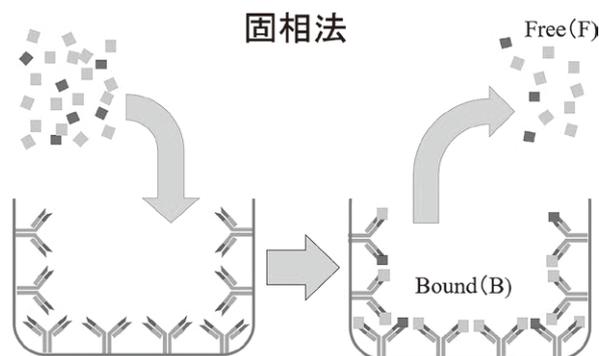


図 6.8 固相による B/F 分離

る方法が、1969年に提案された。この方法では、2つの抗体分子が、抗原をサンドイッチのようにはさむ(図6.9)ことから、サンドイッチ法と呼ばれる¹²⁾。サンドイッチ法では抗原を標識しなくてよいので反応系が単純化出来、分子量の大きいイムノグロブリンを標識するため、標識量を増やし感度アップが図れること、および高濃度試料でも測定精度を確保しやすいのが特徴である。

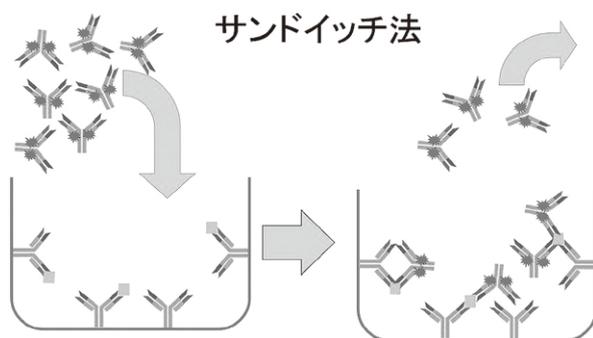


図 6.9 サンドイッチ法

以上、ラジオイムノアッセイの順調な発展を中心に述べてきたが、免疫測定法(イムノアッセイ)の特有の問題も指摘しておきたい。ヤローの抗インスリン抗体の発見でも分かるように、頻度は少ないが測定対象に対する自己抗体を保有している患者がある。自己抗体が反応系に入り込むと、反応の抗原-抗体の量的バランスを崩し、誤った結果となる恐れがある。特に、インスリンのように体外から投与されている場合、自己抗体産生の可能性が高まるので、注意が必要である。またアッセイに用いる特異抗体は、ウサギ、ヤギ、マウスなどの異種動物イムノグロブリンであるが、これら動物イムノグロブリンに対する抗体や、イムノグロブリン分子と結合する物質がヒト試料中に存在する場合があります。同様に結果に影響する心配がある。こうした反応は非特異反応と呼ばれ、免疫測定法に基づく臨床検査キット開発上、また検査室での精度管理上

でも、克服すべき大きな課題であった。インスリン等のラジオイムノアッセイで非特異反応が疑われる場合は、試料検体を加熱変性させて自己抗体を沈殿させ、上清を分析する方法や、試料の希釈による確認法などが提案されている¹³⁾。

6.5 酵素免疫測定法 (EIA)

ラジオイムノアッセイの発展を学術雑誌から追ってみると、西欧では1964年ころから論文の数がどんどん増加し、始めはホルモン中心に、そして1960年代後半には他の分野でもラジオイムノアッセイが活躍し始める。我が国においても、1965年の堀内らの報告¹⁴⁾を皮切りに、1970年代には雑誌、「最新医学」を中心としてラジオイムノアッセイを用いた医学系の研究が多数報告されている。しかし一方では、病院の臨床検査室向けの雑誌、「臨床検査」や、放射線医学等の検査・治療系雑誌には、ラジオイムノアッセイは1975年になっても数えるほどしか報告がなく、検査室の日常検査としては、大学病院などを除きあまり行われなかったように見受けられる。これは一つには、ホルモン中心の内分泌領域は、医療の中でも専門性の高い領域であるため、患者の診療が大学病院や一部の大病院に限られていたからではないかと推察する。また中規模以下の病院には、ラジオアイソトープ管理施設を保有する余裕がなかったことも、その理由として考えられる。施設のない病院は、臨床検査専門の検査センターにラジオイムノアッセイを外注することで対応していた。また、1975年ころでも日常検査に利用できるキット製品は、輸入品が中心だった。放射性同位元素を用い、抗原や抗体の調製に高度な専門知識を要するラジオイムノアッセイは、製品化が容易でなく、流通の確保、市場形成にも時間がかかったものと思われる。

こうした中、安全性、施設管理に大きな制約のあるラジオイムノアッセイに代わる高感度免疫測定法として、酵素免疫測定法に期待が集まっていった。酵素免

疫測定法は、抗原や抗体の標識に、放射性同位元素に代わり、酵素を用いるところが特徴である。酵素で標識した抗体は、病理検査標本の染色法として、すでに実績があり、酵素免疫測定法のアイデアも、ラジオイムノアッセイと、病理検査用標識抗体という2つのルーツに根ざしていると推察される。B/F分離を行ったあと、放射性同位元素標識では、直ちに放射能をカウントすれば良いが、酵素免疫測定法の場合は、さらに、残存する酵素抗体を洗い流す工程と、酵素の基質を添加し、インキュベートして酵素反応を行わせる工程と、反応を停止する工程を経て、基質の反応量を分光光度計で測定する必要があった。こうして繰り返し洗浄するため、洗浄に便利なサンドイッチ法が好んで用いられた。酵素としては、安定性が高く、血液の他の成分から影響を受けにくく、発色基質の感度が良いペルオキシダーゼ、あるいはアルカリフォスファターゼがよく用いられた。図6.10に、サンドイッチ法による酵素免疫法の概念図を示す。

酵素免疫測定法では、免疫測定法としての基本コンセプトは、ラジオイムノアッセイと共通している。ただし、酵素を放射性同位元素の代わりに使用するために生ずる、以下のような技術上の制約も考慮する必要があった。

- ① 標識に酵素を用いれば、基質がある限り反応が進み色素が産生されるので、理屈上は反応に時間をかけるほど増感出来る。しかし実際には、反応系の微妙な不均一性などのために、時間をかけるとかえって測定誤差が影響し、ラジオイムノアッセイと同レベルの感度は達成が難しかった。
- ② ラジオイムノアッセイの標識である¹³¹Iあるいは¹²⁵Iは1原子がチロシンを修飾するだけなので、標識される抗原ないしは抗体の立体構造にはあまり影響を与えず、抗原抗体反応をあまり損なわずにすんだ。一方、酵素標識を行う場合、ペルオキシダーゼの分子量は約40,000、アルカリフォスファターゼの分子量は約100,000もあり、反応時の立体障害が問

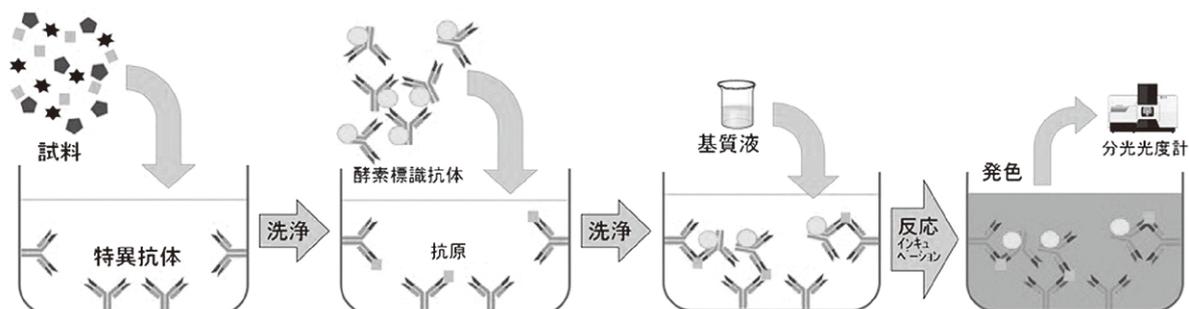


図6.10 酵素免疫測定法 (サンドイッチ法)

題となった。そのため分子量 30,000 以下が大部分であるホルモン抗原の標識には向かず、抗体標識が選択される場合が多かった。それでも立体障害による反応効率の低下による抗原抗体反応への影響は無視出来なかった。

- ③ ラジオイムノアッセイより、酵素反応にかかわる工程分だけ操作が多く、誤差の生ずる余地が多いという本質的な欠点があった。特に、用手法でたくさんの試料を測定する場合、洗浄効率や反応時間の管理が難しい。研究で広く用いられた ELISA (Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay) では、5mm 径×10mm 高ほどの小さな穴 (well) が 1 枚のプレートに 96 個あるマイクロプレートを、反応容器に使用するが、マイクロプレート内のすべての穴の条件を同一にする事は、用手法では不可能であり、酵素免疫法、ひいては抗原抗体反応を用いる測定法は同時再現性が悪い、という定評を生んだ。

酵素免疫測定法は、こうした制約から、ペプチド/タンパク質ホルモンの測定では、なかなかラジオイムノアッセイに対抗できない状態が続いた。しかし、放射能を気にせずどこでも実験できる利便性や、固相を摺りガラス状の直径数ミリのボールとして固定化抗体量を増やし、感度、洗浄効率を上げる等の努力の結果、それほど高感度を必要としない項目中心に、一般病院の検査室にも広く浸透していった。ただし、懸案の再現性と絶対感度の改善については、7章で述べる化学発光法の自動化を待たねばならなかった。

6.6 モノクローナル抗体

高感度系免疫測定法の開発に、さらなる技術革新をもたらしたのが、モノクローナル抗体の発明である。生体内には 10^{11} もの構造の異なる抗体を産生するための免疫細胞が用意されていて、その一つ一つをクローンと呼ぶ。異物が投与されると、この細胞の中から結合力の強い抗体を産生する細胞が選別され、形質細胞と呼ばれる抗体産生細胞に分化増殖し、大量の抗体産生を始める。この状態では細胞は多数選別される (ポリクローン) ので、出来る抗体は異なる構造の混合物、すなわちポリクローナル抗体となる。

それに対し、選別された細胞を一つ一つ分離できれば、それぞれが産生する抗体は、細胞ごとに同一アミノ酸配列で同一構造となるので、モノクローナル抗体と呼ばれる。モノクローナル抗体は構造が同一であるため、抗原との結合部位も、それぞれの抗体ごとに同一となるので、研究に用いれば、抗原の異なった部位

ごとの作用解析にまことに有効なツールとなる。イムノアッセイの実用目的でも、例えば、妊娠関連ホルモンの hCG、LH、FSH、TSH はいずれも 2 つのサブユニットから成り、その一つ (α -サブユニット) はホルモン間で共通なので、普通に免疫すると、出来た抗体は抗 α -サブユニット抗体を含むため、他のホルモンとも反応してしまう。しかし、モノクローナル抗体を作成し、それぞれの共通サブユニット (α -サブユニット) 用の 1 種類と、独自のサブユニット (β サブユニット) それぞれと反応するモノクローナル抗体 4 種類を選び、サンドイッチ法に应用すれば、4 項目すべてを、それぞれ交差反応なしに測定できる反応系が構築できることになり、8.1.2 項で後述する (4) の課題を、エレガントに解決できる。

このように理論上は非常に有用なモノクローナル抗体であるが、抗原提示を受けて分化した形質細胞の一つ一つを取り出して培養する方法がないため、長らく作成は不可能であった。ところが、1975 年にケーラーとミルスタイン (G. Köhler and C. Milstein) が、次のような巧妙な手段で、マウスのモノクローナル抗体を産生する方法を確立した¹⁵⁾。

- ① マウスに抗原を投与して、抗体産生細胞を作らせる。しかし抗体産生細胞は、そのままでは培養できない。
- ② 培地での培養が可能なガン細胞の一種、マウス骨髓腫細胞を用意する。
- ③ ①の抗体産生細胞を脾臓から取り出して、②の骨髓腫細胞と混合し、融合操作を加える。
- ④ 融合操作を行った細胞を、骨髓腫細胞単独では生きられないが、抗体産生細胞の酵素があれば生きられる環境で培養する。この環境で生き残れるのは、培地での培養が可能な骨髓腫細胞の機能と、抗体産生細胞の酵素を合わせ持つ融合細胞だけとなるので、融合細胞だけを選別出来る。融合細胞は、ハイブリドーマと呼ばれる。
- ⑤ ハイブリドーマをさらに培養し、投与した抗原と結合する抗体を産生している細胞だけを選別する。
- ⑥ 選別された細胞をさらに希釈して、5mm 径×10mm 高ほどの小さな反応容器 (96 穴マイクロプレート) に希釈液を分注し、細胞を培養する。細胞の希釈倍率を十分大きく取り、一つの反応容器に 1 個の細胞しか培養されないようにする。こうして増殖した細胞はモノクローンであり、産生される抗体はモノクローナル抗体となる。
- ⑦ モノクローンとなったハイブリドーマは、液体窒素で凍結でき、いつでも解凍して培養再増殖が可能

である。大量の抗体を得るには、培養のスケールを大きくしてもよいし、またがん細胞の性質を利用して、マウス腹腔内に投与して腹水を大量に作らせ、そこから抽出することも出来る。

モノクローナル抗体製造法の発明は、偶然の発見が決定的なきっかけとなったラジオイムノアッセイとは異なり、理詰めの研究戦略で成功した典型例と言える。もちろん、こうした可能性に気付く何らかのきっかけがあったろうし、各ステップの条件決めも一筋縄ではいかなかったと想像するが、出来上がった手順は非常にエレガントで印象的だ。ケーラーとミルスタインは1984年にノーベル賞を受賞している。

モノクローナル抗体が出来たことは、イムノアッセイ検査薬の分野に次のような技術革新をもたらした。

(1) 反応特異性の改善

動物に免疫して得られる抗体は、特異抗体以外の抗体成分が混入しているため、イムノアッセイに用いるには、特異抗体だけを精製して用いるか、あるいは混入抗体による交差反応がないことを厳密に確認して用いる必要があったが、モノクローナル抗体は容易に特異抗体化出来るので、モノクローナル抗体の使用によって、反応特異性が容易に改善できるようになった。

(2) 抗原分子の抗体との結合部位選択による試薬性能改良

抗原分子上には抗体と結合できる部位がいくつも存在する。ポリクローナル抗体では、どの部位にどれだけ反応するかは個体ごとに微妙に異なるので、抗体の品質管理に苦勞する場合があったが、モノクローナル抗体では、抗原のどの部位と結合するかは決まっているので、モノクローナル抗体の選択および組み合わせで、反応性を自由に、一定に調節できるようになった。

(3) 原料品質の安定化

ポリクローナル抗体の作成には、毎度抗原を使用して免疫するため抗原量がたくさん必要になること、抗体が出来るまでに数か月かかること、出来た抗体の品質を安定させるのが難しいこと等、品質管理上の問題を常にかかえていたが、モノクローナル抗体になって、こうした問題の管理が格段に容易になった。

余談になるが、モノクローナル抗体の発明は、検査薬の分野より医薬品の分野に、より大きな果実をもたらした。1980年代より、がん細胞の表面抗原や炎症性サイトカインである TNF- α や IL-6 に対するモノク

ローナル抗体を、関節リウマチなどの炎症性疾患に対し医薬品として投与する研究が進み、大きな成果を上げた¹⁶⁾。さらに、マウスモノクローナル抗体はヒトに投与すると抗体が産生され、副作用につながることから、マウスにヒト細胞を移植するなどして、ヒトモノクローナル抗体を作成、医薬品化する技術が開発された。今日では、モノクローナル抗体を用いた医薬品が、医薬品業界の稼ぎ頭となっていて、2015年の医薬品世界売上高ランキングベスト10のうち、何と7品目が抗体医薬であった。総売上は600億ドルを越えている¹⁷⁾。

参考・引用文献

- 1) 松島綱治, 山田幸宏監訳:「分子細胞免疫学(原著第5版)」, エルゼビア・ジャパン, 2008年
- 2) 高津聖志, 清野宏, 三宅健介監訳:「免疫イラストレイテッド(原著第7版)」, 南江堂, 2009年
- 3) 小林典裕:「免疫測定法-基礎から先端まで」, 2.1 抗体の構造と機能, p22-33, 2015年
- 4) 梶田昭:「医学の歴史」, 講談社学術文庫, 219-221頁, 2003年
- 5) 梶田昭:「医学の歴史」, 講談社学術文庫, 267-268頁, 2003年
- 6) 社団法人 日本臨床衛生検査技師会:「臨床検査小史」, 199頁, 1987年
- 7) 松橋直:「C反応性蛋白試験(CRP-Test)」, 臨床検査, 第1巻(3), 176-178頁, 1957年
- 8) Singer J M & Plotz C M.: "The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis.", American Journal of Medicine Vol.21, p888-92, 1956
- 9) Yalow, R.S and S.A. Berson: "Assay of Plasma Insulin in Human Subjects by Immunological Methods.", Nature, Vol.184, p1648-1649, 1959
- 10) R.S. Yalow: "RADIOIMMUNOASSAY A Probe for Fine Structure of Biologic Systems", Nobel Lecture, 8 December, 1977
- 11) Catt K, Niall HD, Tregear GW.: "Solid-phase radioimmunoassay of human growth hormone.", Biochem J., 100(3), p31-33c, 1966
- 12) Salmon SE, Mackey G, Fudenberg HH.: "Sandwich" solid phase radioimmunoassay for the quantitative determination of human immunoglobulins.", J Immunol. Vol.103(1), p129-37, 1969
- 13) Harvey RF, Dowsett L, Hartog M, Read AE.:

- “Radioimmunoassay of cholecystokinin-pancreozymin.”, *Gut*. Vol.15(9), p690-699, 1974
- 14) 堀内淑彦、中川昌一、木下真二、加瀬一夫、花井尚志、柿沼光明、入山禄郎、鈴木素子：「ホルモンの免疫学的定量について：インシュリンのRadioimmunoassayをモデルとして」, *最新医学*, Vol.20(9), 2590-2600 頁, 1965 年
- 15) G. KÖHLER & C. MILSTEIN : “Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity.”, *Nature* Vol.256 ((07 August), p 495 - 497, 1975
- 16) 岸本忠三, 中島彰：「新現代免疫物語－抗体医薬と自然免疫の驚異」, 講談社ブルーバックス, 87-90 頁, 2009 年
- 17) 「2015 年世界の大型医薬品売上高ランキング」, 医薬経済社, <http://www.risfax.co.jp/beholder/beholder.php?id=699> (2016.9.10 参照)

7 | 免疫測定法の自動化

臨床化学項目の検査は、1970年代から測定用の自動化の動きが進み、1980年代から本格的な全自動測定時代に入った。一方、免疫測定法は、1970年代中頃からラジオイムノアッセイが本格化し、1980年代には、酵素免疫測定法が次々に市場に投入されていった。しかし、これらはいずれも試験担当者が検体や試薬を分注し、一つ一つ測定装置で計測する用手法であり、自動化は臨床化学項目に比べ、10年以上遅れている状況であった。

なぜ自動化が遅れたのか？一番の理由は、1980年代には免疫測定法の検査項目、すなわちホルモン、ウイルス感染症、腫瘍マーカーの検査依頼数が、臨床化学項目に比べれば、まだまだ少なく、しかも保険点数は臨床化学項目より10倍近く高かったため、免疫測定法を自動化によって省力化しても、あまり人件費抑制に寄与しなかったという検査室の事情が影響していたと考えられる。しかし、一番の理由は、免疫測定法自動化の技術的難度の高さにある。特に、ラジオイムノアッセイや酵素免疫測定法に不可欠なB/F分離工程をどう自動化するか、ランダムアクセスをどうやって成立させるかが、装置／試薬設計にとって頭の痛い問題であり、様々な試行錯誤が行われてきた。

そうした状況のなか、最初に自動化の道筋をつけたのは、B/F分離を必要としない、ホモジニアスムノアッセイと呼ばれる方式での製品群であり、具体的にはレーザーネフェロメトリー法（レーザー光散乱測定法）による抗原抗体反応物測定、およびラテックス凝集測定法であった。レーザーネフェロメトリー法については、6.2節で簡単に説明した。1980年代から専用装置が製品化されたが、初期の装置は検体の前処理が必要であり、自動化装置とはまだ言えない状況にあった。そこで、ホモジニアスムノアッセイ法の自動化については、ラテックス凝集法を中心に説明する。

7.1 ラテックス凝集法¹⁾

ラテックス凝集を専用の装置で計測して、血漿タンパク質や血中腫瘍マーカーを測定し、臨床検査に供しようという動きが、1980年代初期から国内数社で本格化し、80年代前半には栄研化学、三菱化成・ヤترون（当時；現LSIメディエンス社）など各社から製品が相次いで発売された。ラテックス凝集法は感度が低いという定説を覆し、10 ng/mLの α -フェトブ

ロテイン（AFP）濃度が測定できる自動化システムも、1983年に世界に先駆けて上市された（図7.1）。



図 7.1 ラテックス自動分析計 LPIA-1

（1983年；（株）三菱化成社（当時；現LSIメディエンス）製）

以後、海外も含め、1990年代にかけて多くの会社がこの分野に参入してきたが、今日でも日本のメーカー数社が、ラテックス試薬の主要供給元として世界的に活躍を続けている。

以下、ラテックス凝集法の自動化技術について、主に三菱化成社の技術を例にとって説明する。

7.1.1 ラテックス凝集法の原理と自動化

ラテックス凝集法では、普通、直径 $0.5\mu\text{m}$ 以下の粒径のラテックス粒子を担体として用いる。ラテックス粒子はポリスチレンなど、合成ポリマーを乳化重合で微小粒子としたもので、表面にスルホン基、カルボキシル基などの陰イオン性官能基ないしは界面活性剤処理を施し、(-)荷電の反発力で粒子間の自然凝集を防ぎ、懸濁液として安定化させている。この表面を抗体ないし抗原分子で覆い、安定化処理を施したものを試薬とする。こうして出来た試薬は、試料と混合されると、図7.2に示したように、試料中の抗原ないしは抗体と反応し、粒子がお互いに凝集する。その過程を光学的に測定し、微小な変化を正確に捉えることで、凝集反応を定量化し、目視のスライド・テストより格段の感度アップを図っている。

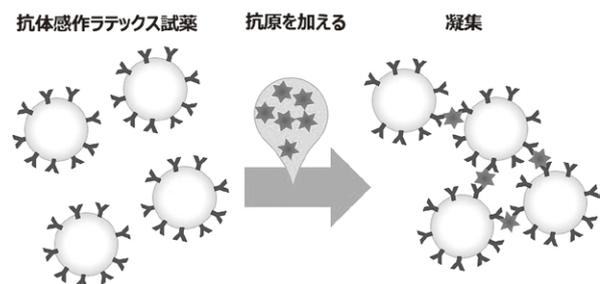


図 7.2 ラテックス試薬の凝集反応

図 7.3 に同一ラテックス濃度で粒径の異なるラテックス懸濁液の波長と吸光度の関係を示す。厳密に言えばラテックス粒子が光を吸収するわけではないが、粒径によって光の散乱特性が変わるので、入射光の透過率が変わり、吸光度変化として測定される。たとえば、破線で示した波長 940nm では、粒径が大きくなるにつれ、吸光度も増大するのが分かる。すなわち元の粒径が 234nm の試薬が凝集して、凝集物の見なし粒径が 481nm、804nm と増大すれば、吸光度の増加分として計測出来る。なお 940nm という近赤外波長は、反応パターンの頭打ちが起こりにくく、検量線レンジが大きくとれること、試料の着色、濁りの妨害を受けにくいことから選択されている。

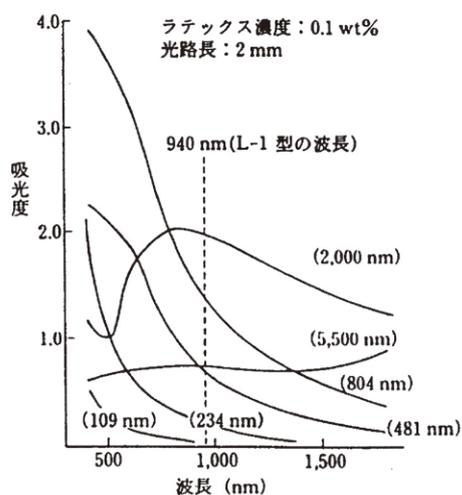


図 7.3 ラテックス粒径と吸光度スペクトル

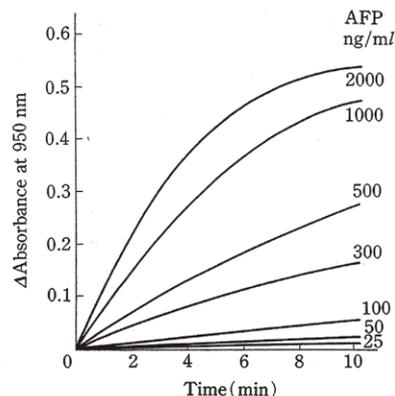


図 7.4 AFP ラテックス凝集反応パターン

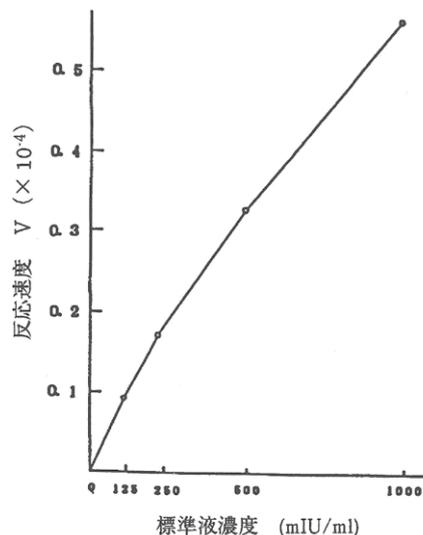


図 7.5 AFP ラテックス凝集反応検量線

実際に抗 α -フェトプロテイン (AFP) 抗体を感作したラテックス試薬と、濃度の異なる AFP 試料との反応パターンを図 7.4 に示す。この反応パターンの傾きより反応速度を計算し、試料の各濃度に対してプロットすると、検量線 (図 7.5) が得られる。

以上の手順をシステム化した測定装置の概念図を、

図 7.6 に示す。測定用のキュベットに抗原を含む試料を分注し緩衝液を加えたものを装置にセットすると、後は装置が自動的にラテックス試薬を分注し、攪拌翼で反応系を混合し、反応経過を計測して反応速度を求め、内蔵された検量線を用いて濃度計算を出力するまで、人手を要せずに測定が完了する。

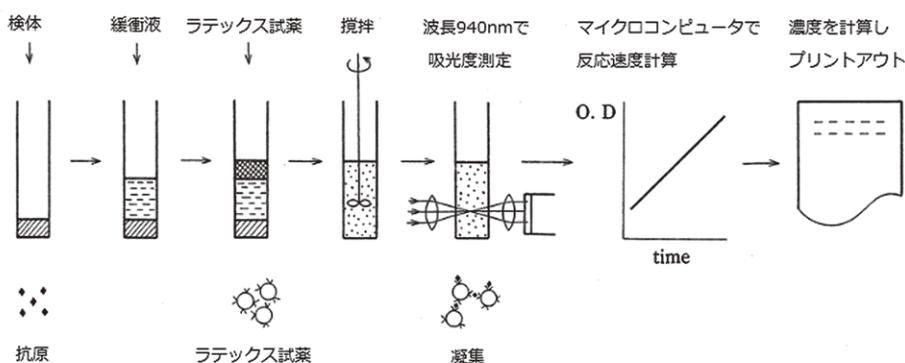


図 7.6 ラテックス凝集の測定装置概念図

7.1.2 スライド試薬から自動化試薬へ

ラテックス試薬測定 of 自動化構想は、既存のスライド・テスト用ラテックス試薬を用いて、光学計測装置で評価するところから始まった。しかし、目視で凝集を判定するスライド・テストを、光学装置で自動計測するシステムへと応用するのは、一見簡単そうに見えて、実際に取りかかると、苦難の連続であった。一言で言えば、スライド試薬に要求される特性と、光学計測に適した試薬に要求される特性が全く異なっていたからである。ポイントは大きく分けて3つあった。

(1) 試薬の分散安定性

既存のスライド試薬は、当然の事ながら目視判定に適した特性を持っていた。後に判明したのであるが、大きな凝集塊が生じやすいように、一部自然凝集したラテックス微粒子が混在していた方が、スライド・テストには都合が良く、従ってスライド試薬の製造プロトコルは、そうした試薬を作るのに適した条件だったのだ。しかし、こうした試薬を光学装置で評価すると、自己凝集傾向が強いためベースラインが安定せず、ノイズも頻発して、自動化用試薬としては使い物にならなかった。

(2) 緩衝液

スライド試薬用の緩衝液組成は、一液構成で保存用、反应用を兼ねており、血清学の実験でよく使用される組成であったが、コロイド粒子であるラテックス微粒子を安定に保つには、成分的にも pH 選択に関しても、問題があった。

(3) 試薬調製工程

当時知られていたスライド試薬を調製するプロトコルは、原料がすべて準備された上で、1名の作業者が3日工程で6種類の試薬を調製するものであった。一方、(1)、(2)の問題を抱えた製品の開発検討には、非常に多種の試薬調製条件を評価する必要があり、3日で6種類の試薬を検討するペースでは、開発に支障を来すことが懸念された。

試薬の感度を上げるためには、凝集しやすい仕様の方が、見かけの反応性は上がるが、同時に自己凝集が起こりやすくなり、自動化には適さなくなるというジレンマがあった。そこで発想を転換し、感度追求よりコロイドとしての試薬安定化を第一優先として、緩衝液等の反応系の全面見直しが行われた。同時に調製工程も全面的に見直され、1名で1日24種類の試薬を調製出来るように改めるなどの努力の結果、自己凝集のない、ほぼ完全分散に近い、ベースラインと保存安定性に優れた試薬の開発に成功し、自動化システムへ

の適用が可能となった。感度についても、自己凝集によるノイズ発生がなくなったおかげでS/Nが劇的に改善した結果、見かけの吸光度変化量の低下にも拘わらず、実効感度の向上が可能となった¹⁾。

7.1.3 非特異反応対策

開発途上で検討されていた抗AFP抗体は、ウサギ抗体(イムノグロブリン)を使用していた。ところが、ヒトイムノグロブリンを抗原として認識するリウマチ因子は、ヒトとウサギイムノグロブリンの類似性が高いため、ウサギイムノグロブリンを感作した試薬に対しても、交差反応で凝集を起こす。すなわち、リウマチ因子を保持する患者の検体中のAFPを測定しても、リウマチ因子の反応をAFPの反応と誤って解釈する危険があった。当時、スライド試薬の分野でも同様の問題があり、リウマチ因子の反応を吸収する吸収剤の存在が知られていたが、装置計測するラテックス試薬の場合は、リウマチ因子の凝集力が非常に強いため、反応の99%を吸収抑制してもまだ不十分であり、根本的な解決策が必要であった。そこで、イムノグロブリンの分子をタンパク質分解酵素で部分切断し、リウマチ因子が結合するFcと呼ばれるY字の根本部分を除いたF(ab')₂フラグメント(図7.7)を用いた試薬が開発され、リウマチ因子による非特異反応を完全に回避することが出来た。

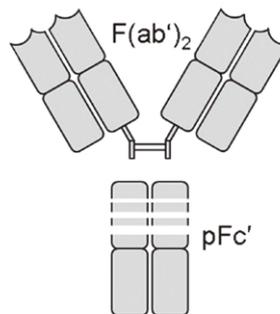


図 7.7 F(ab')₂ の構造²⁾

他にも、頻度は少ないが、ラテックス表面安定化処理剤に対する抗体による非特異反応なども、ヒト検体による検討が進むにつれ、存在が明らかになった。特に非特異反応の起きやすい項目では、非特異反応の原因となる抗体の大部分を占めるIgM分子を無力化するため、抗IgM抗体を反応の緩衝液に加え、原因となるIgMを凝集させて、非特異反応を抑える方法も開発されている¹⁾。

また、ラテックス粒子の懸濁液は、粒子の電荷による反発によって、溶液中に分散しているコロイドであ

るため、リポタンパク質や (+) 荷電を多く持つカチオン性高分子が存在すると、コロイドの安定状態に影響し、反応性が変化する場合がある。こうした一種の妨害反応に対しても、メーカー各社のノウハウベースで実施される、各種吸収剤等や界面活性剤などの工夫が効果を上げている¹⁾。

以上の非特異反応は、患者の体内で起こる種々の現象に基づいており、自然現象と言っても良いものであるが、中には人工的な原因で生じる非特異反応もある。検査に供せられる患者血液を採取するのに用いられる採血管に含まれる成分が、ラテックスコロイドの安定性に影響し、反応を阻害する場合がある。採血管は、ガラスの小試験管内部を陰圧としてゴム栓で封じ、針を刺すだけで血液が必要量採取されるというもので、人手のかかる採血業務の合理化のため、1980年代後半以降盛んに用いられるようになった。

採血管には他にも凝固促進剤、血球分離剤、さらにこれら材料の塗布や遠心時の滑りを均一化するための添加剤がいろいろ配合されていると推定され、詳細は企業秘密である。すべての採血管でこうした人工的非特異反応が起こるわけではなく、ある特定のメーカーの一部の製品、さらにはある特定の製品ロットに限って起こる場合もある。通常こうした場合は、まずトラブルの鎮静化のため、ユーザーに採血管のメーカーあるいは品番の切り替えをお願いするが、ユーザーに非があるわけではないので、概して評判は芳しくなかった。結局、当初から主に使用されていた、ポリスチレン微粒子に抗体を物理吸着で感作していた方式が、より影響の少ないカルボキシル化ラテックスに、抗体を化学結合（共有結合）する方式に切り替えられ、対応された。とはいえ、すべてを対応するのに数年を要したという。

7.1.4 プロゾーン現象対策

ラテックス反応のプロゾーン現象は、感作抗体が過剰量の抗原で飽和し、ラテックス凝集がかえって抑制されることで生じる。具体的には図7.8の濃度依存性カーブのピークより右側の部分を指すが、これが自動測定上問題となるのは、図の低反応性試薬のように、プロゾーンで反転した濃度依存性カーブが、正常な検量線域と同じ反応速度となってしまうと、誤判定につながることである。この一つの解決策として、抗体をより反応性の高いロットに切り替えるなどして、ラテックスを高反応性試薬化することが行われた。高反応性試薬でも、図の太線カーブのように、抗原濃度が上がるにつれ反応の頭打ちは見られるが、試薬反応性

が高ければ、検量線上限より反応速度の大きいレンジオーバー濃度領域が広範囲に及び、誤判定は避けられる。

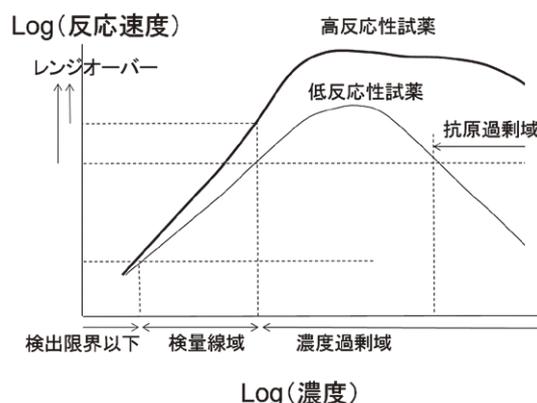


図7.8 ラテックス反応濃度依存性とプロゾーン現象

以上は試薬設計の側からの対策であるが、自動化装置サイドでも、例えば検量線域と抗原過剰域の反応時間経過パターンの特徴の違いを自動的に判断して、過剰域かどうか判定し、リマークする機能を加えるなどの対応が、専用機中心に行われた。

7.1.5 ラテックス自動化の進展

ラテックス試薬は、1980年代に国内でも数社が自動化システムを上市し、鎬を削った。当初はいずれも専用装置と試薬のシステムとして始まったが、2~3年して、生化学自動分析装置への適用が始まり、売上げを拡大していった。多くのラテックス試薬は2試薬構成で、測定時間も5~10分で一応の結果が得られるので、レート法対応の生化学自動分析装置への適用は比較的順調に進展した。生化学自動分析装置を使つての測定は、専用機に比べ性能は若干見劣りしたが、取り扱いの容易さ、検体を別に分注しないで一括試験できる便利さが評価され、感度を厳しく追及しない項目を中心に普及していった。特に、1980年代後半から、海外の臨床検査機器・試薬の一流メーカーへ、OEMベースで試薬を供給するビジネスが始まり、国産の試薬が海外で広く使用されるようになっていった。

生化学自動化装置適用の初期には、水溶液である臨床化学試薬と違って、コロイド懸濁液のラテックス試薬を扱うには攪拌能力の不足している装置が多く、またラテックス試薬がキュベットに付着しやすい等の問題も生じたが、ラテックス試薬の適用が増加するにつれ、生化学装置の方でも、ラテックス試薬の適用があるのを前提として、攪拌や洗浄能力を意識した設計が

とられるようになり、ラテックス適用に拍車がかかった。特に、IgG、IgA、IgMやCRPなど、血中濃度が比較的高い項目、またリウマチ因子や抗ストレプトリジン-Oといった抗体測定項目が、専用機から生化学分析装置へと主役が移っていった。

一方、専用装置の方は、1980年代後半にはAFP、CEAや β_2 マイクログロブリン、フェリチンといった腫瘍関連マーカーと肝炎ウイルス項目を戦略項目として展開し、血液凝固線溶関連のFDP、Dダイマーなどの準高感度項目を充実させていった。しかし、ホルモン、肝炎ウイルス抗原/抗体および腫瘍マーカーについては、1990年代に入ると、感度的に数ng/mLが限界のラテックス法に比べ、項目によっては数pg/mLに迫る感度を持つ化学発光法に、徐々にその座を奪われていった。その一方で、取り扱いが簡単で結果が早く得られるラテックス法の長所を生かし、多くの血漿タンパク質項目や、血中/尿中薬物濃度試験の領域に項目を増やしていった。中でも、栄研化学が便潜血検査用に抗ヘモグロビン・ラテックス試薬を用い、腫瘍マーカー試薬の国内売上げ2位と健闘しているのは特筆に値する³⁾。また、血中薬物など低分子物質の測定では、重量当たりの分子数が多いのが幸いし、一般にタンパク質を測定するより、低濃度の測定が可能である。強心剤であるジゴキシンの測定では、最小検出濃度0.12 ng/mLが達成されている⁴⁾。

2011年の調査結果によれば、ラテックス試薬の国内市販項目数は78項目、売上げは213億円と、免疫測定法検査全体の12%に達し、免疫測定法検査の一翼を担っている⁵⁾。

7.2 化学発光法

免疫測定法の中でも、化学発光物質を標識とする測定法は、ラジオイムノアッセイに代わりうる究極の高感度免疫測定法として期待され、1980年代から多くの企業が研究開発に着手し1980年代終盤にはいくつかの試薬および小型の測定システムが発表された。そして1990年代前半から大手メーカーが次々と製品を上市し、熾烈な競争を繰り広げて、今日に至っている。富士経済のデータ³⁾によれば、2014年の免疫測定法試薬市場の売上げ総額1953億円のうち、化学発光法は851億円と、44%を占めるトップランナーである(図7.9、7.10)。化学発光測定には専用の測定装置が事実上必須であり、その大部分が全自動測定装置によって行われていると考えてよい。ここに至るまでに、どのような紆余曲折や技術上のブレークスルーが

あったか、以下、化学発光免疫測定法の自動化を可能にした要素技術の展開を中心に述べる。

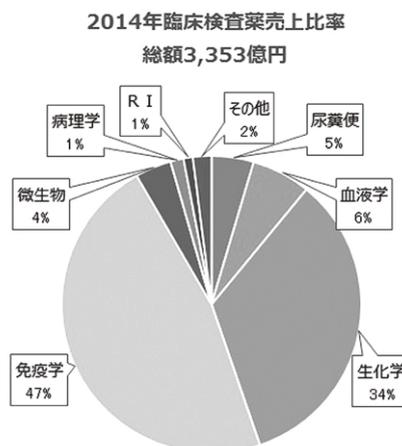


図 7.9 2014 年臨床検査薬売上げ比率⁶⁾

(日本臨床検査薬協会データ)

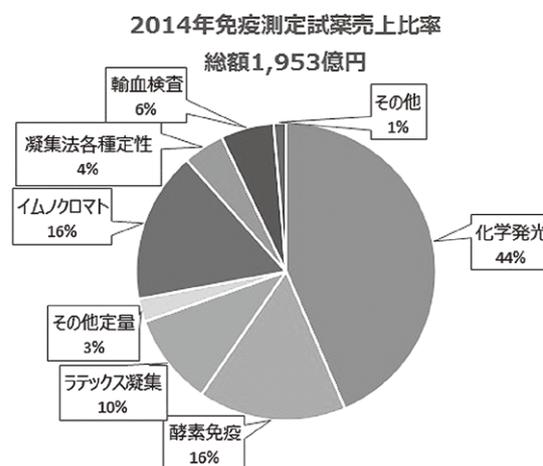


図 7.10 2014 年免疫測定試薬売上げ比率³⁾

(富士経済データ)

7.2.1 化学発光自動化以前の状況

自動化ではホモジニアス法のレーザーネフェロメトリーやラテックス凝集法に遅れを取った酵素免疫測定法も、1986年には装置をオリンパス、試薬を和光純薬・三洋化成の共同開発で、PK-300自動酵素免疫分析システムが発表された。1988年には臨床検査の国際的リーディングカンパニーであるアボットが、酵素免疫自動測定システムIMx(図7.11)を発表している⁷⁾。

IMxは短時間に多くの測定項目をそろえ、ビジネスでも成功したが、検査スピードではターンテーブルに手動で反応セルごとセットした24検体を、30~40分で1バッチ測定するのが精一杯であった。臨床化学項目で日立705が1980年には完成させていた、検体



図 7.11 アボット社製自動酵素免疫測定装置 IMx

の自動分注や項目のランダムアクセス機能は、まだ備えず、自動といっても実体は小型の半自動単能機であり、検査数の多い検査センターや大病院では、IMxを多数並べて、検査オーダーに対応していた。

「自動化」という観点からは中途半端ともいえるIMxが開発され、しかも市場でそれなりに成功したということは、当時の検査室における免疫測定項目のテスト数やそれにかかる手間が、まだまだ臨床化学項目の比ではなかった事を示している。しかしながら、肝炎ウイルスを中心とした感染症や、腫瘍マーカーの検査オーダーがどんどん増加していくと、酵素免疫測定検査にも、サンプルフィードからの検体自動分注および測定項目の完全ランダムアクセス自動化を望む声が強くなり、アボットも1993年にはIMxの後継機で、検体自動分注、項目ランダムアクセス機能を備えたAxSYMを発表している。

このように、大筋では臨床化学項目の自動化を後追いついてきたように見える酵素免疫測定装置の変遷であるが、臨床化学自動分析装置がキュベットは洗浄して使い回し、分注ノズルも検体用と試薬用各1本でまとめたのに対し、酵素免疫測定法ではB/F分離およびそれに伴う洗浄工程の問題があり、臨床化学自動分析装置とは異なった進化を遂げる事になる。

7.2.2 化学発光物質と測定法の種類

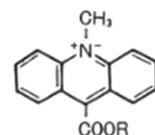
化学発光の現象は戦前より知られていて、例えばルミノールが塩基性溶液中、過酸化水素の存在下で、鉄錯体等の触媒で強い青白色の光を発する（ルミノール反応）ことを利用して、血痕の鑑識に用いられてきた。化学発光は、発光物質、あるいはその反応中間体の持

つ不安定な高エネルギー結合のエネルギーが光子として放出されるために生じる現象である。そのため、発光物質は一般に不安定で容易に分解し、また水の存在下ではQuenching（消光）現象によって、発光の量子収率が極端に悪くなる性質があるため、ルミノール反応以外に実用に用いられることは、なかなか機会がなかった。

ところが1983年にウィークス（I. Weeks）らにより、アクリジニウムエステルが免疫測定法の標識体として感度的にも安定性でも有用であることが示された⁸⁾のをきっかけに、種々の化学発光物質が精力的に検討され、臨床検査分野への応用研究が盛んになった。そして80年代終盤には、酵素免疫法を遙かにしのぎ、ラジオイムノアッセイに匹敵する感度の化学発光測定法が登場するに至ったのである。

今日、実用化されている化学発光測定的方式には、大別して以下の3通りがある。

- (1) CLIA (Chemiluminescent immunoassay ; 化学発光免疫測定法、図 7.12) :



アクリジニウムエステル

図 7.12 アクリジニウムエステル

標識体が過酸化水素等の直接作用でフラッシュ発光する。アクリジニウム誘導体が専ら用いられ、抗体や抗原の分子に直接共有結合させて用いる点では、ラジオイムノアッセイから進化した形態と考えられる。短時間に強い発光を生じるのが特徴で、分子量が小さいため抗原抗体反応の進展の立体障害が少ないという利点を持つ。光子の発生量としては理論的にはラジオイムノアッセイを凌ぐ可能性があるという⁹⁾。

- (2) CLEIA (Chemiluminescent enzyme immunoassay; 化学発光酵素免疫測定法、図 7.13) : 標識体はアルカリフォスファターゼ等の酵素で、

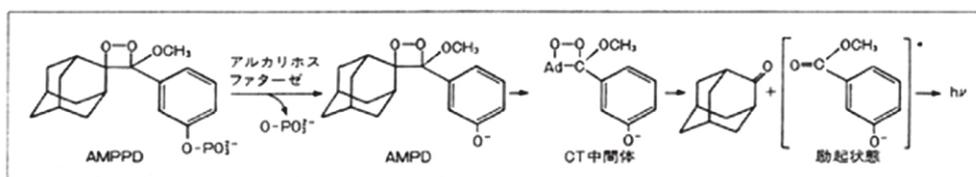


図 7.13 AMPPD の分子構造と発光メカニズム¹⁰⁾

笠原靖：「酵素と発光物質を用いる発光免疫測定イムノアッセイ」、臨床検査、Vol.42(3)、287-292頁、1998年

これが高エネルギー結合を持つ化合物を分解して発光する。従って、形態としては酵素免疫測定法の発展形と考えられる。酵素反応なので、反応すなわち発光が経時的に増幅されるのが強みであるが、酵素反応に適した水溶液中では、発生した光子の量子収率が極端に低下（消光；Quenching）するため、発光環境の疎水性を強化するエンハンサーの選択が、技術上重要な要素となる。化学発光免疫測定試薬の国内売上げで、国産品ではトップのルミパルス（富士レビオ）と国内外の数は、発光基質として AMPPD（スピロアダマンタン-4-メトキシ-4'-ホスホリルオキシフェノール-1,2-ジオキセタン）を用いている。この物質は、高エネルギー結合部位、電子供与基、発光基、酵素認識部位、安定化／疎水部位といった高い発光量を得るのに必要な要素が、1分子内に用意されているのが特長である¹⁰⁾。

(3) ECL (Electrochemiluminescence；電気化学発光免疫測定法、図 7.14)：

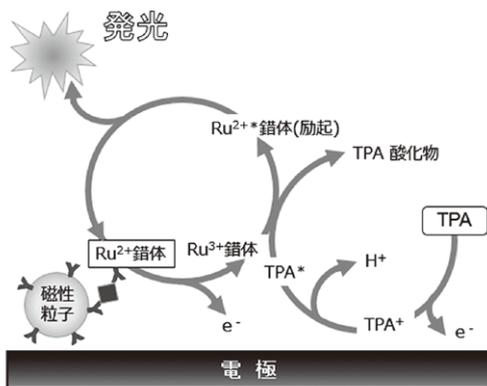


図 7.14 電気化学発光メカニズム
文献 11) を参考に作成

化学発光にはエネルギーの供給が必要で、CLIA では過酸化水素が介在する酸化還元反応から、CLEIA では分子内高エネルギー結合から、エネルギーが供給されるが、電気化学発光は、その名の通り、発光体であるルテニウム (Ru) キレートと、それにカップルするトリプロピルアミンの酸化還元を、電極を介して電気的に行うものである。計測は

あくまで発光計測に依り、電極の電流値ではない。Ru キレートは、酸化還元サイクルで繰り返し反応が継続するので、CLEIA と同じく発光が経時的に増幅される¹¹⁾。また、標識である Ru キレートは、CLIA と同じく低分子なので CLEIA のような立体障害や、タンパクに起因する非特異反応を拾いにくい利点があると考えられる。

7.2.3 化学発光の感度

CLIA、CLEIA、ECL とほぼ3種類の化学発光製品が市場をリードしているが、高感度化の元祖であるラジオイムノアッセイも含め、感度的にはどれが優れているのだろうか。表 7.1 は1個の光子を発するのに要する分子数と、光子がセンサーに実際に受け止められる割合である量子収率を方法別に比較したものである。

放射性同位元素 ¹²⁵I の原子数が 7.5×10^6 も必要である理由は、半減期から計算して、1秒に1原子の崩壊を観測するには、これだけの原子数が要るからである。一方化学発光の方は、1分子あれば確実に1光子を発生するので、一見、ラジオイムノアッセイより遙かに感度が高そうに見えるが、発光物質分子を励起して発光する反応が1秒以内に起こるかどうかが、抗原や抗体を標識するとき、1分子当たりどのくらいの数の有効な標識数を導入できるかも考慮しなければならない。例えば抗体を ¹²⁵I で標識する場合には、分子量約15万の分子中に50前後のチロシン残基が含まれており¹²⁾、またチロシン残基1分子中 ¹²⁵I は2原子導入されるので、かなりの数の標識が抗体1分子に行われる可能性がある。ただし標識量を増やせば、導入原子が小さいとは言え相応の活性低下は避けられない。一方酵素標識の場合、アルカリフォスファターゼの分子量は10万もあるので、抗体1分子に何分子も結合させられるとは考えられないし、無理して導入数を増やしても、立体障害で却ってお互いの活性を殺してしまう可能性が高い。その代わりに、酵素標識には酵素による基質分子切断を繰り返すことで、発光が継続できる強みがある。

また、アクリジニウムエステルという低分子が標識である CLIA は、¹²⁵I ほどではないにしろ、ある程度の個数の分子を1抗体分子中に導入できる強みがある

表 7.1 発光基質と放射性同位元素のシグナル特性¹⁰⁾

発光物質	分子数	光子数 (hv)	量子収率	シグナル変化
¹²⁵ I (RIA)	7.5×10^6	1/秒	1	増加
アクリジニウムエステル (CLIA)	1	1	0.12	フラッシュ
AMPPD (CLEIA)	1	1	0.0019	増幅
ルシフェリン (BLEIA)	1	1	0.88	増幅

と考えられるが、発光は1分子一度に限られる。ただし見方を変えれば、1回の発光がみな反応初期に終わってしまうことで、言い換えれば短時間で測定出来るという長所につながる可能性がある。

ECLもRu錯体という低分子を標識に用いるので、導入上有利であり、しかも酵素反応と同じく、標識が繰り返し働けるため、CLIA、CLEIAの長所を合わせ持つようにも見える。とはいえ、Ru錯体は疎水性が強くバルキーな構造なので¹¹⁾、タンパク質に導入するにも、反応系で電極に有効に電子を供給するにも、恐らく特有の技術的ハードルがあると推察する。

また、この表で初めて登場するルシフェリンは、ホタルなどの生物が光を発する生物発光の原理を応用したもので、化学発光物質であるアクリジニウムエステルや、AMPPDのようなジオキセタン系構造を持つ合成化合物より、圧倒的に優れた量子収率が魅力である。しかしルシフェリンの反応を触媒するルシフェラーゼという酵素が非常に不安定で扱いづらく、実用化を阻んできた。近年、ルシフェラーゼの遺伝子組み換え品^(註9)が利用可能となり、ようやく品質管理の目処がついて実用化も始まっている。

要するに、化学発光技術としての優劣は、いろいろな見方はあるものの、実用化感度という意味では、標識技術やQuenchingをカバーする技術など、関連する様々な技術の総和として理解すべきのものであろう。そしてCLIA、CLEIA、ECLいずれもが今日検査業界をリードする上位数社に採用されていて、数十項目の日常検査で、ラジオイムノアッセイに劣らない十分な性能を発揮している事実がある。各社が見える技術、見えない技術含め、互いに切磋琢磨してきた成果と言えよう。

7.2.4 光電子増倍管／フォトンカウンターによる計測の特徴

光の計測は、光電効果を応用した光電子増倍管(Photomultiplier；フォトマル)によって行われる。臨床化学が分光光度計による呈色反応の定量化によってブレイクしたとき以来、光電子増倍管は検査にとって必須のセンサーであり続けている。

しかしながら、臨床化学における吸光度測定は、入射光の完全透過状態を100%として、だんだん「暗く」

なる度合いを計測しており、しかも完全透過時の光量も、光源の制約と波長による分光の結果、大幅な光量低下となり、光電子増倍管の能力の一部しか使われない場合が少なくない。そもそも6.3節で考察したように、可視光／紫外領域での色素量を測定する分光光度計での色素の分子吸光係数は 10^4 の桁であり、吸光度としての感度限界は濃度にして 10^{-7} mol/L、すなわち分子数では 10^{16} 個/L台で、液量200 μ Lでも 10^{12} もの分子数の色素が必要となる。ところが、光電子増倍管では理論的には1個の光子の観測が可能なので、全く桁違いの感度が得られる計算になる。

また、測定のS/Nに着目すれば、吸光度測定では、通常反応ゼロのバックグラウンドが吸光度もゼロの場合はまずなく、しかも装置上、あるいは工程上の制約から、バックグラウンド吸光度を正確に求めることが出来ない場合が多いので、低濃度の感度を追求するには、吸光度測定は優れた方法とはいえない。1980年代になって、臨床化学もレートアッセイが主流になったのは、このバックグラウンド問題の回避が大きな要因であるが、「暗くなる」度合いを計測することに起因する感度の限界は、依然吸光度測定につきまとう本質的な制約である。

それに比べると、化学発光は、迷光さえ遮断できれば、真の闇からのシグナルを検知すればよく、しかも微弱な光の測定に対応したフォトンカウンターを用いれば、理論上は1光子の発生でも検知できるので、検出感度的には、はるかに有利である。実際にはバックグラウンドが完全にゼロという条件は難しいであろうが、吸光度測定に比べれば、S/N的に圧倒的に有利であることは間違いない。

表7.2は、2種類の酵素基質の測定法を変えて、感度比較した結果である。前提条件が各方法間で実際には異なるという条件付きではあるが、方法間の違いは歴然としている。

また、光電子増倍管は計測可能レンジが 10^7 もあるが、分光光度計で吸光度を測定する分には、実用レンジはせいぜい 10^4 程度しかない。従って発光測定は、吸光度測定に比べ段違いに広い検量線レンジがとれ、過剰抗原による頭打ち現象にも対応しやすいことも、この方法の大きなメリットである。

実は、表7.2でも示されているが、蛍光測光も、化学発光と比べて遜色ない感度を出しうると考えられる。ゼロバックグラウンドからの計測や、計測可能レンジの広さは、蛍光測光にもそのまま当てはまる性質である。1988年に登場したアボットのIMxシステムも、蛍光基質を用いた酵素免疫測定法であり、ホルモ

(註9) 遺伝子組み換え品

細菌・酵母などの微生物や動物の培養細胞の遺伝子中に、作成したいタンパク質をコードする遺伝子を挿入することで、組み換え遺伝子をもつ微生物や細胞から産生された目的のタンパク質。この例では、ルシフェラーゼをコードするホタルの遺伝子を微生物に組み込み、産生させている。

表 7.2 AL-P（アルカリフォスファターゼ）と POD（ペルオキシダーゼ）の各種基質に対する検出感度の比較（単位：amol = 10⁵ 分子）¹⁰⁾

	比色	蛍光	化学発光	生物発光
POD (EC 1.11.1.7)	2,000	10	25	0.4
AL-P (EC 3.1.3.1)	50	0.5	0.1 (0.001*)	0.01

*基質にAMPPDとエンハンサー-BDMQを使用

ンや腫瘍マーカーの通常項目の一通りを製品化するに足る感度を持っていた。

しかし、蛍光測光系の問題は、生体由来物質にも投与薬剤にも、化学発光物質とは違って、そもそも蛍光を発する物質が多数存在することである。特に後者の中には強力な蛍光を発するものもあり、B/F 分離工程での洗浄に、特段に注意を要する。また、蛍光は光を照射しながら計測するので、散乱光などの迷光を拾いやすいという問題もある。こうした実用上の問題が多いため、化学発光技術が洗練されるにつれ、蛍光から化学発光への方式の切り替えが、業界全体として進んでいったと考えられる。

7.3 化学発光法自動化のための工夫

原理的にメリットの大きい化学発光法ではあっても、免疫測定法として実用に足る性能を測定装置で発揮出来るように最適化して、初めて市販できる製品といえる。試薬について言えば、いつでもどのような検体に対しても、安定して正確な結果を出せる、言い換えれば測定に際して品質的に高度に管理された試薬でなければならない。装置にしても、試薬性能を最大限発揮し、化学発光法特有の弱点をカバーした装置に仕上げるには、単に試験工程を自動化し、光学測定系を用意するだけでなく、実際の測定場面を考慮したきめの細かいチューニングが不可欠となる。こうした工夫・対策の実体は、多くの場合企業秘密とされ、表に出る事の少ない技術情報であるが、製品の実用化の鍵を握る重要な技術と考える。

こうした点を、化学発光測定システムの 2015 年売上げではアボット社のアーキテクトに次ぐ、国産製品中第一位の富士レビオ社製ルミパルス为例に取り（図 7.15、図 7.16）、公知文献等から知られる範囲で見つめる。

(1) 試薬の工夫

- 1) 発光基質 AMPPD については、分子の基本構造に各種官能基を加えたりして発光量や安定性の最適化を図っている。
- 2) 酵素法の弱点である水溶液中での Quenching を防ぐ発光増強剤を精力的に検討し、特許を何本も申

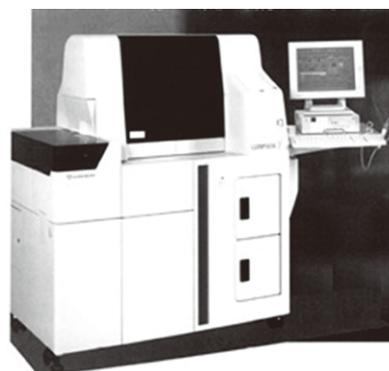


図 7.15 富士レビオ社製化学発光免疫測定装置ルミパルス・フォルテ¹⁴⁾

(同社のご厚意により掲載)

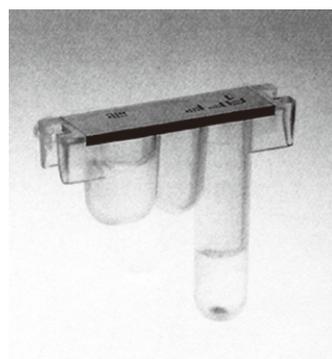


図 7.16 ルミパルス・フォルテの試薬カートリッジ¹⁴⁾

(同社のご厚意により掲載)

請している。恐らく製品レベルでも、それぞれの試薬特性に応じて、使い分けたり、混合したりする工夫を行っているものと推察する。

- 3) ルミパルスでは、免疫反応の固相として、サブミクロンの磁性微粒子を用いている¹³⁾。微粒子とすることで固相の表面積を稼ぎ、感作抗体/抗原量を増やして増感を図るとともに、磁石による B/F 分離によって、操作性の向上を果たしている。
- 4) 磁性粒子は比重が大きいので、溶液中に分散させても製品保存中に沈降し、場合によっては凝集したり、容器壁に固着して反応の均一性に悪影響を与える場合がある。そこで磁性粒子を分散する溶液にゼラチンを加え、使用するまでは低温でゲル化保存する技術を考案している¹⁵⁾。
- 5) サンドイッチアッセイにおける固相への非特異吸

着を軽減する策として、固相である磁性粒子に抗体をリンカーで固定し、試料と反応させ洗浄の後、酵素でリンカーを切断して、固相に非特異的に吸着した成分と分離する方法を公表している。また磁性粒子のゼラチン処理自体が非特異軽減に役立っていると思われる。

なお、固相に磁性微粒子を用いる方式は、海外製のアーキテクト（アボット）、エクルーシス（ロッシュ）など、他にも多くのシステムで採用されている。また、アーキテクトでは、発光物質アクリジニウムエステルの標識効果を高めるために、独自のリンカーを用いる等の工夫をしている¹⁶⁾。

(2) 装置の工夫

1) 分注ノズルおよび反応容器カートリッジのディスポ化、形状工夫により、サンプルや反応液のキャリーオーバーや、液移送時の飛び散りによる測定飛び値発生リスクを最小限にしている。臨床化学の自動分析装置では検体や試薬の分注ノズル及び反応キュベットは、備え付けのものを洗浄し繰り返し使用するのが普通だが、ルミパルスでは汚染対策を優先して、ディスポ化している。高感度項目は単価が高いので、ディスポ化に伴うコスト増を吸収しやすい。

カートリッジをディスポ化するデメリットは、1テスト当たり1カートリッジを消費するので、項目ランダムアクセスに対応するには装置内に多項目のカートリッジを保管し、移送するための大きなスペースが必要なことと、カートリッジの選別・装着のために要する時間が、全体の処理速度の低下要因となる恐れのあることである。

2) 磁性粒子の磁石による分離収集と残液の除去、および粒子の洗浄・再分散は非常にデリケートな工程で、装置のパフォーマンスに大きく影響する。粒子を集める磁力が強すぎれば粒子の再分散が不均一になるリスクが増え、弱すぎれば残液除去や洗浄工程で、粒子のロスが大きくなり、再現性の低下を招く。粒子を集める位置や洗浄液の注入の仕方も、結果に大きく影響する。洗浄については、装置のセッティングだけでなく、洗浄液の設計も重要なポイントとなり得る。

化学発光分析では臨床化学分析よりも多くの複雑な工程を要し、しかも検査ごとに一つ一つディスポチップやカートリッジをセット・移送するとなると、臨床化学自動分析装置よりずっと複雑なロボティクスが必要である。その一方で、臨床化学の装置が開拓してきた、採血管からの直接分注や、分析項目の完全ランダ

ムアクセスといった機能にも対応しなければならないので、装置設計は非常にチャレンジングな作業であったと推察する。こうした開発競争の過程で消えていった製品もあるが、生き残って技術を洗練させてきた製品は、免疫測定法は精度が劣るとの悪評を返上し、変動係数2.3%程度という、臨床化学自動分析装置に迫る再現性が得られるまでに、性能向上を達成している。

7.4 高感度免疫測定法事業の推移

化学発光標識による高感度免疫測定法の装置と専用試薬によるシステムは、1980年代終盤から市場に出始めたが、これらは半自動小型機である。本格的な自動化学発光分析装置と試薬のシステムは、1990年から1999年のわずか10年以内に、各社から次々と発売された。図7.17に見られるように、少なくとも国内5社、海外6社がこの市場に参入したが、国内企業では、富士レビオだけが本格的な市場獲得に成功し、他の企業はニッチでの特殊項目検査、あるいは撤退に甘んじることになった。

海外組では、アボット、ロッシュといった国際大手は、参入はむしろ遅めだったが、結局市場をしっかりと獲得するのに成功している。これには次のような要因が考えられる。

- ① アボットもロッシュも、化学発光装置に先行して酵素免疫測定製品群で市場を確保していた。
- ② 先行市場を持つ分だけ開発に余裕があり、同時に市場ニーズ把握でも優れており、その経験を新製品に生かすことが出来た。
- ③ 製品発売に当たっては、ホルモン、肝炎マーカー、腫瘍マーカーといった主要項目群を品揃えして投入したので、ユーザーが古いシステムから切り替えるのが容易だった。

要するに、事業戦略もしっかりしていて、短時間に多くの製品を完成させることの出来る開発陣をそろえている大手だからこそ出来た事業展開と考えられる。

一方、国内組は、富士レビオを除き、いずれも開発原資の確保に苦しんだと推察される。国内の大部分の診断薬メーカーは、国際市場から見れば小規模企業である。1980年代の好景気時に化学発光の基礎検討R&Dを進め、事業化を始めたが、バブル崩壊後の不景気と後述する保険点数環境悪化の中で、思い切った開発投資をする余力がなく、先細りになったのではなからうか。90年代に国内5社が新規参入を目指したほど、日本のメーカーの開発力は高かったが、事業戦略の面で、海外大手に差をつけられていたと言えよう。

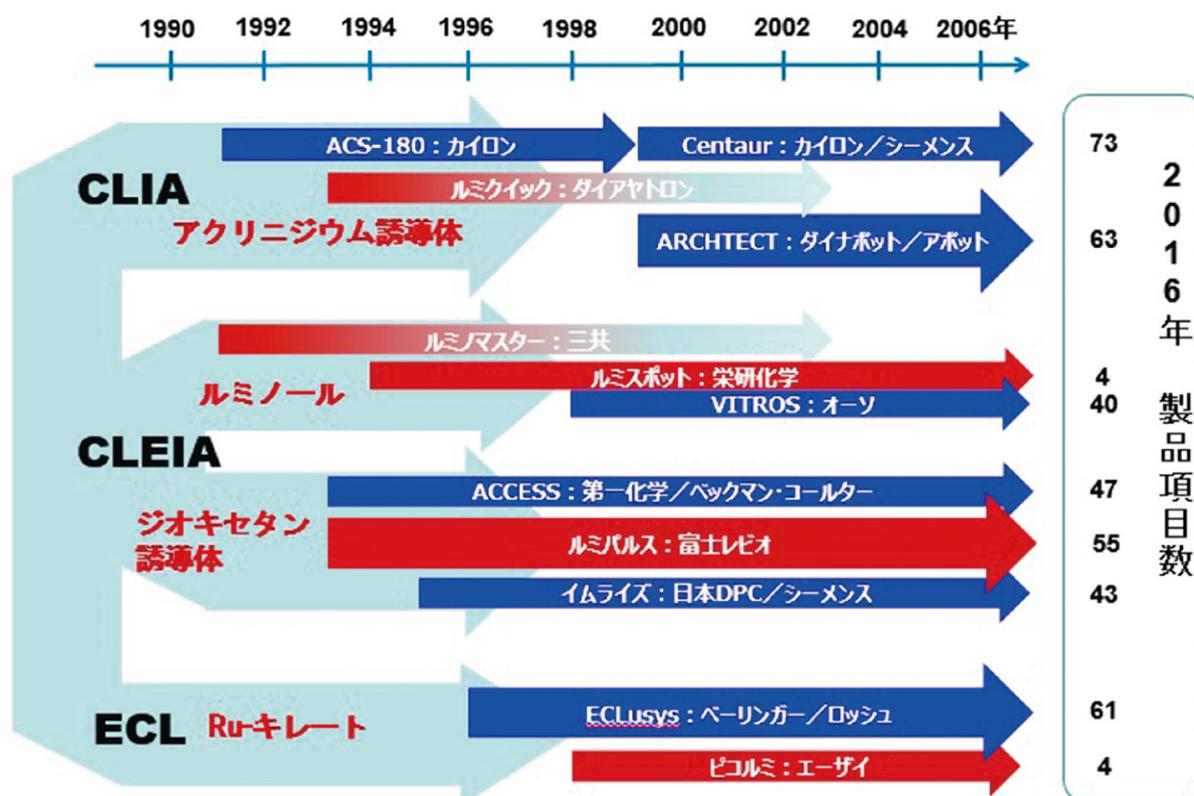


図 7.17 化学発光測定による高感度免疫測定検査分野への体外診断薬各社の参入状況

- ※ 社名は、1998年当時の販売会社名/2016年社名、赤矢印は国内、青矢印は海外企業
- ※ 参入年は、日本臨床検査自動化学会誌における製品評価レポート初出年
- ※ 太い矢印は、2015年国内試薬売上げ上位3社；アボット>富士レビオ>ロッシュ
- ※ 撤退したシステムの撤退年は不明
- ※ 2016年項目数は、保険点数取載項目数

また、1980年代に免疫測定項目を巡る市場環境が大きく変わって来た影響も大きかったと考えられる。ホルモン、肝炎ウイルス、腫瘍マーカーの高感度測定は、1980年代にはそのうちの限られた項目数測定でも、手動から半自動装置に切り替える需要があったが、90年代になると、これらの測定項目も項目としての新味は薄れ、検査室全体の自動化への対応能力が、トータルで問われる状況へと様変わりしていった。大手病院には検体搬送システムが導入され、採血管からの検体自動分注と完全ランダムアクセスが出来ないと、システムの競争力が半減する時代に入っていたのだ。

その点、富士レビオは、国内大手といっても年間売上げ200億円台で、アボット、ロッシュの国際大手とは大きな開きがあるが、限られた開発資源を効果的に用いて成功したと言えよう、すなわち AMPPD 発光技術の実用化研究への重点化と、ゼラチン凝集法で培ったゼラチン技術のノウハウを生かした試薬開発、および HIV や肝炎ウイルス試薬の経験と、米国セントコア社の事業買収で手に入れた CA19-9、CA125 ら

腫瘍マーカー材料を活用した試薬メニューの充実で、国内他社に差をつけることが出来た。しかし富士レビオも、装置に関しては独力で開発したのではなく、臨床検査機器の国内有力メーカーとの共同開発であるという。日本の臨床検査機器・試薬業界は、開発・製造技術では海外大手に劣らぬ潜在力を示しながら、事業戦略、経営資源の点で後塵を拝す状況が続いている。ルミパルスのように、国内の装置・試薬メーカーの連携が、今後のビジネス環境下では、ますます焦眉の急となろう。

参考・引用文献

- 1) 伊藤道雄著，生物化学的測定研究会編：「免疫測定法－基礎から先端まで」，講談社，234-241頁，2014年
- 2) F(ab')₂の構造，出典：
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:F_ab2_pFc.png?uselang=ja (2016.10.14 参照)
- 3) 「臨床検査市場 No.1 イムノアッセイ市場」，富士経済，2016年

- 4) Scholer A1, Boecker J, Engelmayer U, et al.: "Comparability of a new turbidimetric digoxin test with other immunochemical tests and with HPLC--a multicenter evaluation.", Clin Chem, vol.43, p92-99, 1997
- 5) 「2011 臨床検査市場 No.1 - イムノアッセイ市場 -」, 富士経済, 2011 年
- 6) 日本臨床検査薬協会 HP : 協会の活動 - 売上高, <http://www.jacr.or.jp/katudou/naiyou/uriage/index.html> (2016.10.14 参照)
- 7) M. Flore et al.: "The Abbott IMx Automated Benchtop Immunochemistry Analyzer System", CLIN CHEM, Vol. 34 (9), p1726-1732, 1988
- 8) I. Weeks, I. Beheshti, F. McCapra, A. K. Campbell, J.S. Woodhead : "Acridinium Esters as High-Specific-Activity Labels in Immunoassay", CLIN CHEM, vol.29(8), p1474-1479, 1983
- 9) 中井利昭, 磯部和正 : 「発光性化合物を用いる化学発光イムノアッセイ」, 臨床検査, Vol.42(3), 283-286 頁, 1998 年
- 10) 笠原靖 : 「酵素と発光物質を用いる発光免疫測定イムノアッセイ」, 臨床検査, Vol.42(3), 287-292 頁, 1998 年
- 11) 難波祐三郎, 金島才二 : 「電気化学発光イムノアッセイ」, 臨床検査, Vol.42(3), 293-300 頁, 1998 年
- 12) M.M.Dorner, E.W.Bassett, S.M.Beiser, E.A.Kabat, S.W.Tanenbaum : "STUDIES ON HUMAN ANTIBODIES V. AMINO ACID COMPOSITION OF ANTIDEXTRANS OF THE SAME AND OF DIFFERING SPECIFICITIES FROM SEVERAL INDIVIDUALS", J Exp Med., Vol.125(5), p823-831, 1967
- 13) 前川真人 : 「各種発光分析装置の種類と特徴」, 臨床検査, Vol.42(3), 301-307 頁, 1998 年
- 14) 富士レビオ株式会社 : 化学発光免疫測定装置ルミパルス製品カタログ, 2006 年
- 15) 芦原義弘, 猿田弘子, 五反田光司, 岡田政久 : 「免疫測定用試薬の安定保存方法」, 特開平 5-180836, 1993 年
- 16) 生物化学的測定研究会編 : 「免疫測定法 - 基礎から先端まで 8.2.2 化学発光法 (芦原義弘著)」, 講談社, 241-246 頁, 2014 年

8 | 免疫測定法による高感度試薬群

免疫測定法は、その感度の高さと、検出特異性の高さのおかげで、それまでには測定出来なかった、タンパク質やペプチドなど数多くの生体内物質、およびウイルスなどの病原体の検出を可能にした。そのため、基礎医学研究の全く新しい分野がいくつも立ち上がり、それに伴って新しい検査項目群も誕生した。本章では、その中で医学的にも治療の上でも特にインパクトの大きかった、ホルモン、肝炎ウイルス、腫瘍マーカー項目群、及び特に臨床からのニーズの大きい項目について検討する。

8.1 ホルモン検査

ヤローらの発見・発明は、実は1955年に達成されていたが、インスリン投与患者の体内に、インスリンに対する抗体が産生され、インスリンを不活化するという考え方が、当時の常識から見ると余りに突飛であったため、彼らの投稿した論文は掲載を認められなかった。投稿先を変更し、内容・表現の大幅な変更、特にインスリンに結合する物質を「抗体」と特定しないことを条件に、やっと受理された経緯があった¹⁾。しかし、ヤローらの発見と、そうして得られた抗体を用いておこなうラジオイムノアッセイの論文は徐々に評判になり、1960年代の中頃には、ラジオイムノアッセイは内分泌研究に欠くべからざるツールとして、急速に普及していった。そして、1977年には、内分泌関係の研究における功績に対し、ノーベル生理学・医学賞が贈られた²⁾。ちなみに、ヘイブン (K.F. Haven) 著「全時代を通じて最も偉大な100の科学的発明」の中の一つに、ラジオイムノアッセイの発明が取り上げられていて、そこに、ノーベル賞授賞委員会が授賞理由を、「生物学、医学研究に革命をもたらし... X線の発明より重要である。」と説明していることが挙げられている³⁾。

内分泌学は、いわゆるホルモンと、ホルモンに関わる疾患を扱う医学の一分野である。今日の定義では、「細胞で産生され、標的細胞の受容体に到達して、微量で生理作用を発揮する生体内情報伝達物質」⁴⁾を、広義のホルモンと呼び、神経細胞シナプス間の化学伝達物質、体内局所で起こる免疫細胞間の情報伝達物質なども含まれることになるが、伝統的には、血流に乗って全身に及び、生命維持に関わる重要な生理作用をコントロールする物質として認識されてきた物質群

である。今日、臨床検査でも広く測定されている代表的なホルモンを、表8.1に示す。

8.1.1 ホルモンについて

ホルモン発見・研究の歴史はかなり古く、高峰譲吉らが1900年に副腎髄質ホルモンであるアドレナリンの精製・結晶化に成功したのが、単一成分としてのホルモン発見の第一号である⁵⁾。ペプチド/タンパク質ホルモンも、インスリンが1921年に精製、抽出され、程なくインスリンが糖尿病の治療薬として実用化されている。しかし、ラジオイムノアッセイによるホルモンの定量が行われる前は、ホルモンの試験はその生理活性を動物に投与して調べるか、摘出した動物組織への作用として調べるしか方法がなかった。一例を挙げれば、妊娠しているかどうか診断するには、ラジオイムノアッセイ以前は、被験者の尿を雌ウサギに注射し、後日、ウサギの卵巣に出血ないしは黄体形成を認めれば妊娠としていた⁶⁾。これは、妊婦の尿に排泄されてくる妊娠関連ホルモンの生理作用で判定しているわけで、手間もかかれば、信頼性も十分とは言いがたかった。それが、ラジオイムノアッセイでホルモン量が直接測定出来るようになり、検査が一変した。その後、妊娠診断には、ラジオイムノアッセイほど高感度でなくても、排泄ホルモン量が多いので、もっと簡単な免疫測定法で判定可能なことがわかり、さらに試験が簡便化された。今日では、薬局で求めたキットを使い、個人が自分で調べられるようになっている。

表8.1を見ると、妊娠に関連したホルモンが数多くあることが分かる。別の言い方をすれば、内分泌学検査の主要分野の一つが妊娠診断である。これは今日でも異常妊娠、不妊治療のための重要な検査群であり、検査の件数も非常に多い。ホルモンの濃度に関しては、重量表示でなく、mU/mLのように、生理試験時代のユニット表示を継承しているものが少なくなく、本当の濃度が分かりにくいのが、重量表示換算にすると、多くのものはpg/mL台の濃度であると言われていた。すなわち、妊娠の時の一部のホルモンを例外とすれば、殆どのホルモンは非常に微量であることが分かる。従って、これらのホルモンはラジオイムノアッセイの登場によって、初めて定量的な議論が満足に出来るようになり、ラジオイムノアッセイの発明は、この分野の研究にとってまさに革命であった。こうして臨床的にも、従来から内分泌疾患であるとは認識さ

表 8.1 代表的なホルモンの種類

分泌腺	ホルモン種	分子種	H28保点	基準値		主な臨床意義
				男性	女性	
下垂体	成長ホルモン (GH)	タンパク質	117点	< 1.0 ng/mL	< 5.0 ng/mL	巨人症、低身長症
	黄体形成ホルモン (LH)	糖タンパク	117点	2-5 mU/mL	2-10mU/mL(卵胞期) 5-35mU/mL(排卵期) 1-10mU/mL(黄体期) 10-40mU/mL(閉経期)	性腺機能評価
	卵胞刺激ホルモン (FSH)	糖タンパク	117点	2-10mU/mL	5-10mU/mL(卵胞期) 5-25mU/mL(排卵期) 1-5mU/mL(黄体期) 25-100mU/mL(閉経期)	性腺機能評価
	副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)	ペプチド	209点	< 60 pg/mL		下垂体・副腎系機能障害
	甲状腺刺激ホルモン (TSH)	糖タンパク	110点	0.3-4.0 mU/mL		下垂体・甲状腺系機能障害
	プロラクチン (PRL)	タンパク質	98点	5-20 ng/mL	7-40 ng/mL(閉経前) 4-25 ng/mL(閉経後)	
甲状腺	サイロキシン (T4)	アミノ酸誘導体	114点	5.0-10.0 µg/dL		甲状腺機能亢進症 甲状腺機能低下症
	トリヨードサイロニン (T3)	アミノ酸誘導体	108点	0.5-2.0 ng/mL		甲状腺機能亢進症 甲状腺機能低下症
	遊離サイロキシン (FT4)	アミノ酸誘導体	134点	1.0-2.0 ng/dL		甲状腺機能亢進症 甲状腺機能低下症
	遊離トリヨードサイロニン (FT3)	アミノ酸誘導体	134点	2.4-4.0 pg/mL		甲状腺機能亢進症 甲状腺機能低下症
	カルシトニン	ペプチド	141点	20-60 pg/mL		甲状腺癌様癌
副甲状腺	副甲状腺ホルモン (PTH)	タンパク質	180点	10-60 pg/mL		Ca代謝指標
副腎髄質	カテコールアミン	アミン	209点	アドレナリン < 100 pg/mL		褐色細胞腫、神経腫瘍
副腎皮質	コルチゾール	ステロイド	134点	5-20 µg/dL		Cushing症候群、機能低下
	アルドステロン	ステロイド	131点	30-160 µg/dL		原発アルドステロン症
性腺	テストステロン	ステロイド	131点	250-1100ng/dL	6-82 ng/dL	思春期遅延、腫瘍
	遊離テストステロン	ステロイド	166点	7.6-27.9 pg/mL < 3 pg/mL		
	プロゲステロン	ステロイド	159点	< 0.6ng/mL	< 0.4 ng/mL(卵胞期) < 3.7 ng/mL(排卵期) 8.5-21.9ng/mL(黄体期) 妊婦 23.9-326 ng/mL	胎盤不全、副腎疾患
	エストラジオール (E2)	ステロイド	187点	15-35 pg/mL	20-350 pg/mL(卵胞期) 50-550 pg/mL(排卵期) 45-300 pg/mL(黄体期) < 21 pg/mL(閉経期)	卵巣機能
胎盤	ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG)	糖タンパク	144点	< 1.0 mIU/mL	非妊娠 < 1.0mIU/mL 妊娠 4,700-202,000 mIU/mL	妊娠、腫瘍
	ヒト胎盤性ラクトゲン (hPL)	タンパク質	144点		妊娠5-8週 < 0.3 µg/mL 16-20週 0.5-2.3 µg/mL 24-28週 1.5-5.3 µg/mL 36-40週 3.3-8.5 µg/mL	妊娠
膵臓	インスリン (IRI)	タンパク質	112点	5-10 µU/mL		糖尿病
	グルカゴン	ペプチド	150点	50-150 pg/mL		グルカゴン腫瘍、糖尿病
消化管	ガストリン	ペプチド	110点	< 200 pg/mL		ガストリン腫瘍
腎臓	レニン活性	タンパク質	103点	0.5-2.0 ng/mL		高血圧症
	エリスロポエチン	タンパク質	220点	9.1-32.8 mIU/mL		造血能
心臓	心房性Na利尿ペプチド (ANP)	ペプチド	235点	< 40 pg/mL		体液貯留の指標
	脳性Na利尿ペプチド (BNP)	ペプチド	140点	< 20 pg/mL		心不全診断

れていたが、病理学的な機序が定かでなかった多くの疾患に関する理解が進み、ホルモン濃度検査が臨床検査として定着していった。ただし、後述するように、ラジオイムノアッセイに伴う技術的制約も影響して、メーカーが検査キットを提供するようになるには時間がかかり、その間ラジオイムノアッセイは、専ら研究ツールとして活躍した。

8.1.2 ホルモン測定項目の推移と技術課題

ヤローたちは、1959年の血漿中インスリン濃度の定量法の発表¹⁾を皮切りに、1964までに成長ホルモン (GH)、副甲状腺ホルモン (PTH)、及び副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) のラジオイムノアッセイに

よる血中濃度定量法を次々に発表した⁷⁾。他の研究グループによるラジオイムノアッセイの報告も1964年頃から見られるようになり、ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG)⁸⁾、甲状腺刺激ホルモン (TSH)⁹⁾、ヒト胎盤性ラクトゲン (hPL)¹⁰⁾、アルギニンバソプレシン (AVP)¹¹⁾、黄体形成ホルモン¹²⁾などの新規ホルモン測定系が、1966年にかけて次々に発表されるようになった。日本の研究者も、1965年にはインスリンのラジオイムノアッセイを国内誌に発表している¹³⁾。

これらのアッセイ系は、いずれもペプチド/タンパク質ホルモンを抗原としたアッセイ系である。低分子ホルモンについては、1970年の甲状腺ホルモン (triiodothyronine) が、文献に見られる最初の低分子

ホルモンアッセイであった。ステロイド誘導体である副腎皮質ホルモンは、血液から抽出し濃縮分離し化学反応的に測定する方法を経て、同じく1970年からラジオイムノアッセイによる測定が始まっている。

実は、ホルモンはイムノアッセイ（免疫測定法）の対象としては、他のタンパク質などと比較すると、決して測定系の樹立が容易な対象とは言えず、克服すべき課題のあるものが少なくなかった。例えば、以下の（1）～（4）のような例が挙げられる。

（1）必要な抗原量の確保

ラジオイムノアッセイに必要な抗体を得るためには、かなりの量の抗原が免疫のために必要だが、ホルモンはもともと微量しか存在しないので、原料調達と精製が大仕事になる。甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン（TRH）を視床下部から抽出したギルマン（R.Guillemin）とシャリー（A.W. Schally）は、数十万頭のヒツジやブタの視床下部を原料として、ようやく抽出に成功したという¹⁴⁾。

（2）分子量の小さい抗原の抗体作成

一般に分子量の小さい物質ほど抗体作成が難しい。分子量5,800、アミノ酸51個のインスリンは、抗体が出来るギリギリの大きさであり、これより小さいペプチドは、そのまま投与しても、満足な抗体を得るのは難しい。さらに低分子である甲状腺ホルモン、副腎皮質ホルモンは、そのまま免疫しても抗体産生は期待できない。こうした低分子はハプテンと呼ばれ、もっと分子量の大きいタンパク質（キャリア）と結合させたハプテン-キャリア-コンジュゲートとして免疫する必要がある。小ペプチドの場合も同様であるが、1964年にコンジュゲート作成の実用的な技術が紹介され¹⁵⁾、以降低分子物質の抗体作成が盛んとなった。

（3）抗原の異種間差

一般に、動物種が異なると、同じ機能のペプチド／タンパク質でも、アミノ酸配列のかなりの部分が異なっている。その違いが大きいほど抗体は出来やすい。ところがホルモン類は、配列に種間の違いが少ないものが多い。アミノ酸51個からなるインスリンは、ヒトとウサギでわずか1個のアミノ酸しか違わない。従って、抗インスリン抗体の作成には、ウサギよりヒトとの差が大きいモルモットが好んで使われていた。

低分子ホルモンである甲状腺ホルモン（アミノ酸誘導体）、副腎皮質ホルモン（ステロイド）に至っては、ヒトと動物で全く差がない。従って、ハプテン-キャリア-コンジュゲートという元々の生体に

はない形で免疫し、いわば無理矢理違いを強調して抗体を作らせるのである。

（4）ホルモン間に共通した構造の存在

hCG、FSH、LH、TSHのホルモンは、いずれも2つのサブユニット（1本鎖アミノ酸ポリマー単位）で構成されており、その1つ（ α -サブユニット）は4種類のホルモンに共通している。そのため例えば、精製hCGで免疫して得られた抗体は、そのままではFSH、LH、TSHとも反応してしまい役に立たない。共通の α -サブユニットを精製段階で除くか、出来た抗体から α -サブユニットと反応する分画を除かなければ利用価値がない。低分子の場合も、例えばステロイドホルモンは互いに似通っているため、他のホルモンと交差反応する可能性がある。

こうした問題があるため、免疫にあたっては、少なくとも10頭以上の動物を用いて免疫し、しかも日を変えていくつもの群で免疫をし、抗体の出来のよい個体を選出する方法が、通常とられていた。

8.2 肝炎ウイルス検査

ラジオイムノアッセイに始まる高感度免疫測定法は、まずホルモンの分野で始まり、内分泌学を一変させるほどの大きな成果を上げた。しかし一方、高感度免疫測定法が一般に登場、発展した1970年代から1980年代の臨床の場で、高感度検査が最も必要とされたのは、肝炎ウイルス検査ではなかったろうか。

肝炎を引き起こすウイルスには少なくとも7種類が知られているが、そのうち日本で多く見られ、医療行政的に重要なのは、B型およびC型肝炎ウイルスである。B型、C型ウイルスは、単に感染して肝炎を起こすだけでなく、キャリアといってウイルスを体内に持ち続けている人が、人口の1～2%存在する。キャリアの多くは乳幼児時期に母親から感染し、多くは無症候で過ごす。一部が慢性肝炎に、さらには肝癌に移行する。平成20年の調査によれば、キャリアがB型、C型合わせて推定240～305万人、そのうち慢性肝炎、肝硬変、肝がんを発病している患者が推定61万人いるという¹⁶⁾。

これだけの大量の患者群の検査に加え、両ウイルスとも患者の血液を介して感染するため、当時輸血用血液を一手に扱っていた日本赤十字社における検査、および医療従事者の感染リスク低減のため、手術予定患者や妊婦に対して行われた検査を合わせると、内分泌疾患とは比較にならない膨大な検査数の高感度検査が必要とされる状況であった。

図 8.1 に、日本赤十字社における、輸血用血液からの輸血後肝炎発生率と、取られてきた改善策や試験法の推移のグラフを示す。日本赤十字社が事業開始した 1960 年当時は、売血中心の時代で、多くの売血者が覚醒剤常習者であり、注射器の使い回しにより肝炎ウイルスに感染していたとみられる。検査法もまだなかったため、輸血を受けた患者の 2 人に 1 人が肝炎を発症するという恐ろしい状況であった。そのため、1965 年頃から輸血用血液の確保は、献血者中心の供給体制に改められ、肝炎発生率は下がっていったが、試験法がないためキャリア血液の混入は避けがたく、依然 16% 台の肝炎発生が見られた。

意外なのは、1972 年からの B 型肝炎ウイルス検査である HBs 抗原検査導入が、余り事態の改善に寄与しなかったことである。当時、日本赤十字で用いられた HBs 抗原検査法は、ラジオイムノアッセイや酵素免疫測定法に比べて感度の劣る血球凝集法であった。抗 HBs 抗原抗体をヒツジ赤血球表面に固定し、凝集の有無で抗原の有無を判定する方法で、高感度免疫測定法と比較すると 2 桁から 3 桁感度が悪く、そのため偽陰性が見逃しが少なくなかったと考えられる。また、当時は C 型肝炎ウイルスが未だ発見されておらず、検査に関しては全く野放し状態だったことも、こうした結果につながったと推測される。当時はラジオイムノアッセイや酵素免疫測定法の自動分析装置がまだ開発されておらず、検査工程の多くは手作業で行われていた。そのため高感度検査の方が良いと分かっているにもかかわらず、膨大な数の検体への適用は、血球凝集法以外は事実上不可能であったことも、血球凝集法を使い続けた理由であろう。

1980 年代になり、C 型肝炎の関与が強く疑われるようになっていった。まだウイルスは同定されていなかったが、一つには献血の採血量を 400mL と倍増し、より少ない供血者（ドナー）からの輸血に切り替えたこと、ウイルス検査ではなかったが、C 型肝炎罹患と血中酵素の ALT（旧名 GPT）検査値との相関が見られることを利用して、ALT 高値の血液の使用を中止した事が効を奏し、ようやく発生率は 8% 台に下がった。そして 1989 年から C 型肝炎のウイルスに対する抗体の試験が段階的に導入され、発生率は 0.5% を切るまでになった。とはいえ、それでも絶対数としては万単位の肝炎患者が毎年発生することになり、依然、医療行政的には看過できない状態であった。

この過程で、日本赤十字社も、ウイルス検査を高感度免疫測定法の検査に順次切り替えるとともに、段階的にウイルス遺伝子検査を適用していった。高感度免疫測定法では、ウイルスの遺伝子由来のタンパク質抗原、あるいは産生抗原に対する抗体を検出する。しかし、ウイルスに感染したばかりの状態では、こうしたタンパク質抗原や抗体の産生はまだ殆ど見られないが、ウイルスの増殖は既に始まっていて、血液に感染力がある、“ウインドウ・ピリオド”の存在が、検査法の感度が上がるにつれ問題化していった。そこで、遺伝子増幅による感度アップを期待して、ウイルス遺伝子の増幅試験（NAT 試験；Nuclear Amplification Test）を段階的に導入していった。NAT 試験は高価で時間がかかるので、当初は 500 検体を 1 プールとしたが、遺伝子増幅法の技術が進歩するにつれ、プールサイズを 500 から 50、20 と小さくし、感度と歩留まりを向上させた。

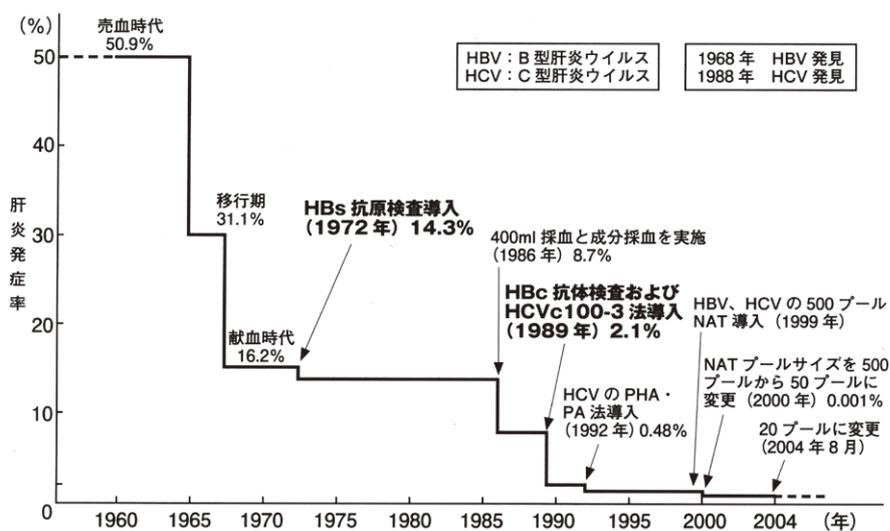


図 8.1 HBV・HCV 関連検査の輸血後肝炎防止への貢献¹⁷⁾

(「日本赤十字社輸血後肝炎防止に関する特定研究班」報告書 (1993.4~1996.3) を基に厚生労働省が作成した資料)

4.4.4 項でも簡単に触れたが、HIV も輸血感染症の脅威として重要であった。罹患者は遙かに少ないが、免疫システムをコントロールする白血球中のヘルパー T 細胞に感染し、免疫不全症候群 (AIDS) を引き起こす。これに対しても、1990 年頃から肝炎ウイルスと同様に順次高感度免疫測定法による試験が導入され、さらには NAT 試験も適用されている。こうした努力の結果、2013 年に日本赤十字社供給の血液からの輸血後感染の件数は、報告数 84 件、うち確定例 8 例にまで減少した¹⁸⁾。

以上は、日本赤十字社の献血／輸血事業中心の検査方法の推移であるが、一般病院でも、院内感染、母子感染防止のために、これら検査の実施と高感度化法へのシフトが取り進められていった。免疫測定法としては、最終的には自動化された化学発光法に落ち着いたが、大量の検体を高感度かつ比較的安価に測定出来る 3 拍子そろった検査法がなかなか登場しなかったため、血球凝集法、PA 法、ラテックス凝集法、ラジオイムノアッセイ、酵素免疫測定法が、それぞれの施設の事情に応じて選択され、検査法の改良状況をにらんで変更する、という対応がしばらく続いた。

血液を介して感染するこれらウイルス疾患の検査は、病気の治療とは少し異なり、より公衆衛生的な目的で医療のシステムに組み入れられ、非常に多くの被験者に対し適用される検査である。それだけに検査性能が医療経済や、医療に及ぼす影響は大きく、医療における検査を考える上で多くの示唆を与えてくれる。検査技術の進歩は、輸血後肝炎の低下に大きく貢献した一方で、検査による感染防止の限界を露呈する事にもなった。さらに血液製剤の薬害問題の影響などもあり、医療全体としては、手術法の改善による出血量の低減や成分血液製剤へのシフト、さらには自家輸血の推進の動きなど、輸血離れの動きが加速している状況である。

8.3 腫瘍マーカー検査

戦前我が国の国民病であった結核が、抗生剤の投入や健診の強化などで、戦後急速に減少に転じたあとは、脳血管疾患、いわゆる脳卒中が、死亡原因第一位として君臨した。しかし、1970 年代に入ると脳血管疾患による死亡率も横ばいから減少に転じ、変わって悪性新生物、すなわちガンが着実に死亡率を上げ、1980 年代前半には死亡原因の首位に踊り出る。詳しくは、第 3 章図 3.5 の主要死因別死亡率の推移を参照されたい。こうした状況を背景に、ガンに対する国民

的関心が盛り上がっていった。

当時はガンに対する治療は、外科手術が殆どで、しかも手術してみたら「手遅れ」のケースが少なくなかった。また、たとえ手術が成功しても、その予後はといえば 5 年間再発がないのが珍しい状況で、ガンは「死病」との意識が蔓延していた。それだけに、ガンの早期発見への期待が、医学の進歩と共に大きくなっていった。そうした中で腫瘍マーカーという言葉が徐々に一般に浸透していった。

腫瘍マーカーとは、腫瘍の存在や、腫瘍の進行度合いを示唆する指標であり、臨床検査では、特にガン／腫瘍が産生するか、あるいはガン／腫瘍の存在によって副次的に産生が増強される体内成分を指す。

高感度免疫測定法が発明される以前も、腫瘍マーカーが存在しなかった訳ではない。例えば、生化学検査のアルカリフォスファターゼは骨のガンで増加するし、酸性フォスファターゼは前立腺ガンで上昇する。しかしながら、これら検査で値が高かったら、直ちにガンを疑うわけではない。ガンと診断するには、正診率 (切れ味) が低すぎるため、いわば状況証拠の一つでしかない。より診断に直結するものとしては、骨髄腫という抗体産生細胞のガンで尿中に現れるベンスジョーンズ蛋白検査や、絨毛上皮腫における妊娠検査 (hCG 検査) 強陽性などが、高感度でない免疫測定法でも測定可能であり、臨床検査に取り入れられていた。しかし、ガンとしては頻度の低いやや特殊なケースであり、市場の期待に応えるほどのものではなかった。

1968 年にアベレフ (G.I. Abelev) が、肝ガンが、胎児血清中の α グロブリンと同一のタンパク質を産生している事を発見し、ガンと胎児性タンパク質との関連がにわかに注目されることになった¹⁹⁾。ガンは正常細胞から突然変異によって生まれるが、一般に正常細胞が高度に機能分化しているのに比較して、ガン細胞は細胞としては未分化であると考えられていたので、ガンが胎児性タンパク質を産生するのは、いかにも理に適ったことと考えられたのである。アベレフの発見した α グロブリンは、その由来から α -フェトプロテイン (α -fetoprotein; AFP) と呼ばれることになり、しかも肝ガンの診断に有用であることが明らかになった。肝ガンは骨髄腫などに比べるとずっと患者の多いメジャーなガンの一つであり、しかも α -フェトプロテインが高値であれば、ほぼ肝ガンと診断出来る診断特異性にも優れていたもので、腫瘍マーカーとして一般に有名になった初めての検査となった。アベレフたちと研究成果を競った日本の研究者、平井と西の存在²⁰⁾ も、この検査の診断意義の確立と、一般の認知

に大きな役割を果たしたといえる。 α -フェトプロテインの測定には、健常者の値が10ng/mL以下であるため、高感度免疫測定法が求められ、始めはラジオイムノアッセイ、次いで酵素免疫法の試薬キットが作られ、普及するようになった。

次に腫瘍マーカーとして活躍するのが、ガン胎児性抗原 (Carcinoembryonic Antigen; CEA) である。CEA は胎児大腸組織には普通に見出されるが、出生前に産生がストップする。しかし、大腸ガンを始め、消化器ガンの多くで産生され、血中に漏出してくるため、腫瘍マーカーとして用いられるようになった。しかし、CEA の検査用抗体を得るには、一つ問題がある。CEA は糖含量の多い分子量約 160,000 の糖タンパクであるが、その構造の一部に、正常組織と共通する部位がある。そのため CEA を大腸ガンから抽出・精製して、動物に免疫して得られる抗体は、健常人の血清中に存在する成分と反応する分画を持つ。従って、検査試薬に用いる抗体とするには、この健常人と反応する分画を除く操作が必要であった。モノクローナル抗体が用いられるようになって、ガンに固有な分子構造を認識する抗体を得やすくなったのは朗報であるが、その一方で、ガンの産生する分子は必ずしも均一でない場合があり、モノクローナル抗体の選択には注意が必要である。具体的には、タンパク質が部分切断されてフラグメント化したり、一部配列が欠損したり、糖鎖の一部構造が欠けたりした分子が産生されることが往々にしてあるため、モノクローナル抗体も 1 種類のみ用いるのではなく、複数の部分を認識するように、クローンを混ぜて使用するなどの工夫が取られている。

表 8.2 に 2015 年国内での腫瘍マーカー測定試薬売上げ²¹⁾ ベスト 10 の項目を取り上げ、その性状も併せ紹介する。いずれも測定は高感度免疫測定法で行われ

ている。重要な項目を見ていくと、まず第 1 位の便潜血は、大腸ガンのスクリーニングテストとして用いられている。大腸ガンの殆どは大腸ポリープから発生し、出血しやすいので、便中の潜血があれば、存在を疑う。旧来の便潜血検査は化学法で、動物の肉を食べても陽性になる心配があったが、現在のテストは抗原抗体反応を用い、ヒトヘモグロビンとだけ反応する抗体を用いて設計されている。

CA19-9 は消化器ガンのマーカーとしては特異性が高く、特に他に良いスクリーニング方法がない胆道ガン、膵臓ガンの陽性率が高いので、重要である。昭和天皇が入院されたときの記者会見で、ガンであるかどうかの直接の言及は宮内庁医師団も記者団も避けたが、記者団から CA19-9 検査結果の質問があり、これに対し陽性という回答のあった検査項目である。また CA19-9 は、CA125 と同じく、ガン組織を抗原として得られたモノクローナル抗体をスクリーニングして、見出された項目であることも注目になる。CA19-9、CA125 はいずれもガン抗原の名前ではなく、細胞表面でガンに多く見出される糖鎖ないしは糖タンパク質と反応するモノクローナル抗体であり、それ自体が検査薬となる点でも特異である。

PSA は、近年急速に患者が増加している前立腺ガンのマーカーで、腫瘍マーカーの中ではもっとも正診率の高い項目の一つである。日本では AFP、CEA を皮切りに、次々と新しい腫瘍マーカーが保険点数を獲得していった時期、アメリカ FDA (US Food and Drug Administration) はこれら腫瘍マーカー検査法の認可を、特異性が低いと言うことで認めない態度を一貫してとり続けた。しかし、FDA も 1986 年に前立腺ガン手術後の再発モニタリング目的で、ようやく PSA の検査を認可し、さらに 1994 年にはガンの早期発見用マーカー第 1 号として、PSA 試験を認可した²²⁾、と

表 8.2 2015 年腫瘍マーカー国内市場売上げランキングベスト 10 項目

H2015 売上順位	腫瘍マーカー名	正常値	タイプ	保点
1	便潜血 (便中ヘモグロビン) ⁽¹⁾	(-)	副次的漏出タンパク質	41
2	CEA (ガン胎児性抗原)	5.0 ng/mL以下	ガン産生糖タンパク	108
3	CA19-9 (糖鎖抗原19-9)	37 U/mL以下	ガン産生糖鎖 (認識抗体)	134
4	PA/PSA (前立腺特異抗原)	4.0 ng/mL以下	ガン産生タンパク質	134
5	AFP (α フェトプロテイン)	10 ng/mL以下	ガン産生タンパク質	110
6	PIVKA-II (ビタミンK欠損凝固因子 II)	40 mAU/mL未満	副次的欠損タンパク質	147
7	フェリチン ⁽²⁾	M 18.6~261 ng/mL F 4.0~64.2 ng/mL	副次的産生亢進タンパク質	114
8	CA125 (糖鎖抗原125)	35U/mL以下	ガン産生糖鎖 (認識抗体)	152
9	β 2マイクログロブリン ⁽³⁾	0.9~1.9 mg/L	副次的産生亢進タンパク質	110
10	ベアソナーゲン I ⁽⁴⁾ ベアソナーゲン I/II 比	70 ng/mL以上、かつ 比が3.0以上	副次的産生亢進タンパク質	0

- (1) 糞便検査
- (2) 血液化学検査
- (3) 免疫血液学的検査
- (4) 診療報酬対象外

マーカー名の
診療報酬点数表での分類

いういきさつがある。

今日、これら腫瘍マーカーのなかで、当初期待されたガンの早期発見目的で使用されるものは、便潜血とPSAくらいで、あとはCEA、CA19-9がオプション検査となる程度である。その意味では1980~90年代の腫瘍マーカー人気は、概して期待外れに終わったといえよう。国内では、腫瘍マーカーの高い保険点数の魅力もあり、1980年代後半以降も新規の腫瘍マーカーが次々投入されたが、測定感度とガンの臓器特異性の点で今ひとつ切れ味の悪いものが大部分であった。新規投入で乱立気味だった市場も、保険点数の切り下げ、新規採用基準の厳格化などの影響を受け、徐々に1980年代の熱気を失っていった。

今日これら腫瘍マーカーは、むしろ手術後、化学療法後の再発モニタリング用に広く用いられている。1980年代、まだガンの治療成績が芳しくない時代には、腫瘍マーカーへの期待が高い一方で、陽性判定は死刑判決だ、との辛辣な意見もあった。今日では、腫瘍マーカー検査は再発の早期発見という役割で、患者の延命に立派に貢献している。

8.4 その他の重要項目

ラジオイムノアッセイに始まる高感度免疫測定法は、ホルモン検査、肝炎・HIVウイルス検査、腫瘍マーカー検査という新たな検査分野を創出し、200種類近い分析項目を抱え、売上でも検体検査の中核となっている。しかし、それら以外にも、検査数を比べるとやや少ないものの、自己免疫疾患検査、血液凝固・線溶マーカー検査、感染症検査、アレルギー検査、血漿タンパク検査など、多くの分野と項目で、高感度免疫測定法は主要な役割を果たしており、項目単独としても大きな売上を上げているものがある。本項では、こうした中で、年間国内売上が50億円を越える重要な検査について、特に説明する。

(1) 抗原特異 IgE 抗体

アレルギーという病態の存在は古くから知られていて、1920年代には、アレルギーが患者血清中の成分によって引き起こされることが明らかとなり、その物質をレアギンと呼んだ。レアギンの正体を突き止めようと、多くの研究者が挑んだが、存在量が極端に少ないため、研究は難渋を極めた。しかし遂に1967年に石坂公成夫妻により、レアギン活性を示す成分が単離され、イムノグロブリンの新しい種であることが判明し、IgEと名付けられた²³⁾。IgEが、アレルギーを引き起こす物質の成分であるアレ

ルゲンと肥満細胞表面で結合すると、肥満細胞からヒスタミンなどアレルギー症状を惹起する成分が放出され、アレルギー特有の数々の症状が現れる。スギ花粉アレルギーを例にとると、患者はスギ花粉と特異的に反応するIgE抗体を持っているので、アレルギー症状が出る。これを逆に考えれば、抗スギ花粉IgE抗体が検出できれば、スギ花粉症であると診断出来ることになる。今日非常に多くの人が各種のアレルギーに苦しんでいるので、検査数は非常に多く、試薬の年間売上は100億円を越える大型検査項目となっている。

抗原特異的IgE検査は、IgEが原因物質であることが判明してまもなく、ラジオイムノアッセイ法を用いて実用化された。そのため、Radio-Allergo-Sorbent Testの頭文字をとってRAST法と呼ばれた。今日では、アレルギー検査大手の会社が、RAST法の改良型であるCAPシステムを用いた蛍光酵素抗体法の専用大型自動測定装置を販売し、大量の検査量に対応している²⁴⁾。

(2) D-ダイマー²⁵⁾

D-ダイマーの名は、フィブリンという、血液凝固の際にゲル化するタンパク質の断片の分画の呼び名に由来する。フィブリンはD-E-Dという分画の結合構造を取るが、血液凝固してゲルを形成すると、異なるフィブリン分子のD部分同士が架橋構造を作り、強固なゲルを形成する。凝固で出来たゲルは止血に役立つが、血流を止めたままだと組織に酸素が行かなくなるので、線溶系のプラスミンというタンパク質分解酵素がゲルを徐々に分解する。分解によりDとEがバラバラになるがD同士の結合は残り、Dの2量体、D-ダイマーが流血中に確認出来るようになる。凝固ゲルが出来なくてもフィブリンの分解は起こるが、凝固しなければD-ダイマーが出来ないので、D-ダイマーの量を測定すれば、起こった血液凝固の程度が分かる。これは心筋梗塞や脳梗塞とか、血栓性の疾患の場合、治療に緊急を要する場合が多いので、特に重要な検査項目であり、検査数も増えている。測定は検査時間が短いラテックス凝集法が主に採用されている。D-ダイマーのラテックス試薬開発では、日本のヤトロン社が1988年にいち早く製品化を成し遂げた²⁶⁾。

(3) BNP (Brain Natriuretic Peptide ; 脳性 Na 利尿ペプチド)

BNPは、脳で発見されたので「脳性」の文字がつく。ホルモン作用は知られていたが、物質としての同定は遅く、1987年に日本の寒川賢治らによって、

単離、構造決定され、その翌年に発表された²⁷⁾。しかしその後、BNPは心臓でより活発に産生されていることが分かり、しかも心臓にかかる負荷が増大する状況で、血中濃度が顕著に増加するので、心疾患の重症度評価および予後予測に有用なマーカーとなることが、寒川とは別の日本のグループである、中尾一和らの一連の研究によって見出された。

現在、BNPは血液中の循環器マーカーとしては、最も多く測定されている項目の一つで、化学発光法が専ら測定法として採用されている。化学発光を用い、BNP測定を想定した緊急検査用の小型装置も複数種市販されている。

参考・引用文献

- 1) Yalow, R.S and S.A. Berson : "Assay of Plasma Insulin in Human Subjects by Immunological Methods.", *Nature*, Vol.184, p1648-1649, 1959
- 2) R.S. Yalow : "RADIOIMMUNOASSAY A Probe for Fine Structure of Biologic Systems", Nobel Lecture, 8 December, 1977
- 3) K.F. Haven : "100 Greatest Science Inventions of All Time, Year of Invention 1955", Libraries Unlimited Inc, 2005
- 4) 前川真人 編 : 「標準臨床検査学 臨床化学」, 医学書院, 269 頁, 2012 年
- 5) 石田三雄 : 「ホルモンハンター - アドレナリンの発見」, 京都大学学術出版会, 87-91 頁, 2012 年
- 6) 鳥井敏雄, 稲垣克彦, 橋詰尚雄, 川上保雄 : 「臨床検査の実際」, 第 20 章生物学的妊娠診断法, 医学書院, 808-809 頁, 1959 年第 3 版
- 7) YALOW RS, GLICK SM, ROTH J, BERSON SA : "RADIOIMMUNOASSAY OF HUMAN PLASMA ACTH", *J Clin Endocrinol Metab.*, Nov 24, p1219-1225, 1964
- 8) WILDE CE, ORR AH, BAGSHAW KD : "A RADIOIMMUNOASSAY FOR HUMAN CHORIONIC GONADOTROPHIN", *Nature*, Vol.205(9), p191-192, 1965
- 9) ODELL WD, WILBER JF, PAUL WE : "RADIOIMMUNOASSAY OF HUMAN THYRPTROPIN IN SERUM", *Metabolism*, Apr.14, p465-467, 1965
- 10) FRANTZ AG, RABKIN MT, FRIESEN H. : "HUMAN PLACENTAL LACTOGEN IN CHORIOCARCINOMA OF THE MALE. MEASUREMENT BY RADIOIMMUNOASSAY", *J Clin Endocrinol Metab.*, Aug.25, p1136-1139, 1965
- 11) Klein LA, Roth J, Petersen MJ : "Radioimmunoassay of arginine vasopressin (antidiuretic hormone)", *Surg Forum*, Vol.17, p240-242, 1966
- 12) Odell WD, Ross GT, Rayford PL : "Radioimmunoassay for human lutenizing hormone", *Metabolism*, Apr.15(4), p287-289, 1966
- 13) 堀内淑彦, 中川昌一, 木下真二, 加瀬一夫, 花井尚志, 柿沼光明, 入山禄郎, 鈴木素子 : 「ホルモンの免疫学的定量について: インシュリンの Radioimmunoassay をモデルとして」, *最新医学*, Vol.20(9), 2590-2600 頁, 1965 年
- 14) ニコラス・ウェイド 『ノーベル賞の決闘』 岩波書店, 1992 年
- 15) GOODFRIEND TL, LEVINE L, FASMAN GD. : "ANTIBODIES TO BRADYKININ AND ANGIOTENSIN: A USE OF CARBODIIMIDES IN IMMUNOLOGY", *Science*, Vol.144(3624), p1344-1346, 1964
- 16) 田中純子 : 「肝炎ウイルスキャリアと患者数の動向について」, 厚生労働省第 12 回肝炎対策推進協議会 (平成 26 年 7 月 9 日開催) 資料 3 より
- 17) 一般社団法人 日本臨床検査薬協会 : 「臨薬協 30 年の歩み～そして未来へ～」, 224 頁, 2013 年
- 18) 五十嵐滋 : 「輸血副作用, 遡及調査報告の解析について」, 平成 26 年度赤十字血液シンポジウム 東北, https://tohoku-info.jp/symposium/pdf/shoroku_tohoku_symposium2014.pdf (2016.9.7 参照)
- 19) Abelev GI : "Production of embryonal serum alpha-globulin by hepatomas: review of experimental and clinical data.", *Cancer Res.*, Vol.28(7), p1344-50, 1968
- 20) Nishi S, Hirai H. : "Diagnosis of hepatoma by alpha-fetoprotein.", *Rinsho Byori*, Suppl:155-6, 1971
- 21) 「2016 臨床検査市場 No.1 イムノアッセイ市場」, 癌マーカー, 富士経済, 2016 年
- 22) De Angelis G, Rittenhouse HG, Mikolajczyk SD, Blair Shamel L, Semjonow A. : "Twenty Years of PSA: From Prostate Antigen to Tumor Marker.", *Rev Urol*. Vol.9(3), p113-23, 2007
- 23) 宮本昭正監修 : 「臨床アレルギー学 アレルギー専門医・認定医研修のために (改定第 2 版)」, 南

- 江堂, 93 頁, 1998 年
- 24) 宮本昭正監修:「臨床アレルギー学 アレルギー
専門医・認定医研修のために (改定第 2 版)」, 南
江堂, 186 頁, 1998 年
- 25) 桜井錠治:「免疫測定法 - 基礎から先端まで 8.1.8
血液凝固線溶系」, 講談社, 224 頁, 2014 年
- 26) (財) 緒方医学化学研究所:「ヤトロンと臨床検査
の変遷」, 34 頁, 2011 年
- 27) Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H:
“A new natriuretic peptide in porcine brain.”,
Nature, Vol.332, p78-81, 1988

9 | 臨床検体検査の周辺動向

第4章から8章にかけて、臨床化学検査、免疫測定検査技術について、特に実用化技術の展開について述べてきた。しかし一方、臨床検査に用いられる製品は、医療が目的であり、病院ないし検査センターで使用されるので、製品の商品価値に化学分析技術とは別の要素が影響してくることは避けられない。そうした中で、基幹技術の進展に、特に大きな影響を与えてきた以下の要素について、その進展と臨床検査製品への影響について簡単に考察、コメントする。

- ① 検査品質の追求
- ② 検査の保険点数
- ③ 検査のシステム化、コンピュータ化

9.1 検査品質の追求

9.1.1 初期の検査

医療における診断では、臨床検査で得られる値によって、疾患の疑いの妥当性を評価するのであるから、得られる値が正しいことが大前提となる。しかし、正しい値を得るということは、実は一般に考えられているほど簡単なことではない。

第二次大戦後まもなくの時期の臨床検査の様子を調べてみると、そもそも臨床検査としての成分分析の検査数は非常に少ないため、検査の専門家は殆どいなかった。検査自体は、主に若手の医者たちによって、所属する医局単位で行われていたので、同じ検査項目でも用いる試薬や、やり方はまちまちであった。用いる試薬類は要時調製で、原材料の化学薬品類の品質も、まだ粗悪品の少なくない時代で、購入するメーカーやロットごとに品質、性能が異なるのは珍しいことではなかった。こういう状態では、検査の品質管理はいわば野放しであり、局ごと、病院ごとに大きなバラツキがあったと見なければならぬ。

第二次大戦後 GHQ が、日本の病院に中央検査室を設けるよう指示したことが、検査品質向上の出発点となった。検査機能の集中化により、検査手法の統一、担当の専門化などが進み、検査品質が同一病院内で一元管理され、精度向上が図られていった。しかしながら、依然試薬は要時調製で、品質問題が一段落するのは、後に試薬の測定キット化が専業メーカーによって行われるようになってからである。

試薬メーカーや装置メーカーによる資材の供給が得られるようになり、一病院の検査室としては、それな

りに安定した検査品質を確保出来るようになったが、検査試薬や装置のメーカー間差や、実験担当者の技量の差などから、検査品質を常時安定して維持できるかどうかは、施設間で依然大きな差があった。

9.1.2 医師会サーベイ¹⁾

そこで、検査品質を一律同じ土俵の上で評価しようとしたのが、日本医師会が主導した精度管理プログラムである日本医師会臨床検査精度管理調査、通称医師会サーベイであり、1967年より毎年1回実施されてきた。具体的には次のように取り進められている。

- 1) プログラムに登録した検査施設に、日本医師会から濃度レベルの異なるサンプルが一斉に渡される。
- 2) 施設は決められた項目の値を測定して医師会に結果を報告する。
- 3) 医師会は結果を集計し、項目ごと、試験法ごと、サンプル（高値、低値）ごとに平均値および変動係数を求め、さらに偏ったデータの影響を除いた調整平均値 $Madj$ 、調整偏差値 SD を求める。
- 4) これら結果を用い、 $Madj \pm 1SD$ 以内を A、 $Madj \pm 2SD$ 以内を B、 $Madj \pm 3SD$ 以内を C、それ以上を D 評価とする。

こうして各施設、各測定法が全体平均にどのくらい近いかが評価される。D 評価を得ると、病院の格付けや機器試薬製品の評判にも影響するので、各施設もメーカーも、よい結果が得られるよう努力する結果、全体として検査品質が向上し、精度管理技術の向上も図られ、評価の悪い製品は淘汰されていった。

この医師会サーベイは平成 28 年度までに 50 回を数え、平成 28 年度は、血清サンプルで生化学、ホルモン、感染症計 38 項目、尿サンプル 3 項目、血球および血液凝固 8 項目について、サーベイを実施の予定である²⁾。医師会以外にも、関係学会やメーカー主催のサーベイもいろいろ行われてきた。

9.1.3 薬機法、ISO13485

サーベイは検査そのものの品質を調べるものだが、検査に供せられる体外診断薬や臨床検査機器の品質は、薬機法（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律）によって規制されている。ごく簡単に言えば、製造販売する企業は、製造施設や会社組織、市販後フォロー体制と、これを支える品質管理システムと適正な要員の確保について、要求

された基準を満たし、その状況を維持するよう管理していることを書面および査察によって明らかにする必要がある。製品設計についても、どのような目的で、どのような性能を発揮し、安全性リスクをどうクリアしているかを、同じく書面や査察によって明らかにする必要がある。実際に製造される製品についても、原料の管理、製造工程の管理、品質管理などの手順をすべて文書化し、検査して、設計性能を満たしている事を検証し、記録に残す事が義務づけられている。こうした具体的な実務関係は、主としてISO13485によってコントロールされている。体外診断薬や臨床検査機器のメーカーは、薬機法およびISO13485の規定を遵守しなければならない。

9.1.4 その他検査品質向上に関わる規制、取り組み

検査にたずさわる臨床検査技師、診療放射線技師は国家資格であり、一定の技術を習得したものしか事実上検査にたずさわれない体制となっている。また体外診断薬は医薬品なので、その製造ないしは販売に当たる施設では、品質保証体制の管理者として、同じく国家資格である薬剤師が必要とされている。

また、日本臨床検査標準協議会の働きかけで、標準物質や標準試験法、一部の汎用生化学検査試薬の標準法の推奨が、試薬メーカーや検査室に対して行われ、検査各項目の標準化を目指している。試薬の評価方法及び評価基準のマニュアル化は、日本より欧米の方が進んでいて、国内メーカーが欧米の臨床検査大手に試薬をOEM供給する場合、そうしたマニュアルに則って性能評価をしなければならない。

また、臨床検査室の品質と能力を管理維持する規格として、ISO15189を取得している検査室もある。アメリカでは病院の検査室の精度管理についても、法的に定められていて、検査の複雑度に応じて3段階の管理に分けられており、検査室はそれぞれに対し認証を受ける必要がある³⁾。

こうした規制条項に加え、病院の検査室、メーカーの品質管理部門は、独自の精度管理プログラムを用意して、臨床検査品質の維持向上を図っている。

9.2 検査の診療報酬点数（保険点数）

2章で述べたように、臨床検査費用の支払いは、保険制度がコントロールしている。検査は検査項目ごとに保険点数が決められていて、例えば保険点数100点の検査を病院が行えば、その10倍の1000円の償還がある仕組みである。ここで間違えてはいけないのは、この1000円が即、検査試薬の代金ではないことで、病院はこうして得た検査の診療報酬を原資として、検査試薬の購入、検査機器の購入および検査に要する設備や人件費を賄うのであるから、試薬メーカーや装置メーカーが手にできる代金は、保険点数により医療機関が受け取る金額より、通常ずっと少ない。実際にどの程度の差があるのかを2007年度について示したのが表9.1で、医療機関の受取額（収入）と製品購入額（支払）を対比したものである。

画像診断・X線関連の検査、生体検査・その他、および検体検査の3項目の、それぞれが占める割合について記している。画像診断・X線を例にとって説明すると、この検査をしたことによる医療機関の収入は、医療費総収入34.1兆円の5.3%に当たる1.8兆円である。一方、医療機関が画像診断、X線診断の機器・資材購入のためにメーカーに支払った額は、1.8兆円の34%に相当する6千億円である。総医療費に対する比率は1.7%に過ぎない。画像診断・X線検査、生体検査・その他、および検体検査の全検査項目を合わせても、メーカーに支払われた額は、総医療費の4.2%でしかない。検査は高額機器を使うから高い、というイメージが世間の一部にあると聞くが、この数字を見れば、それが見当外れであるであることが理解されよう。

病院収入の面からこれら検査を見ると、心電図などの生体検査は、1件当たりの人手がかかる生産性の低い検査だが、検査用の資材購入が13%でよいので、収益を得やすい検査とも言える。反対に検体検査は、検査用試薬と装置の売上げが61%にものぼるため、病院の経理的には収益を上げにくい検査分野であり、納入する企業側に対して、値下げ圧力がますます強

表 9.1 2007 年度各種検査に要する機器・試薬販売額の保険償還額に対する割合

(引用文献4)、5)、6) のデータから計算した)

2007年度各種検査	医療費の割合 %	医療機関保険収入 (億円)	製品購入支払 (億円)	支払/収入 %
画像診断・X線	5.3	18,100	6,099	33.7
生体検査・その他	5.5	18,800	2,425	12.9
検体検査	2.8	9,550	5,812	60.9

くなる状況を招いている。その一方で、病院側には検体検査判断料という名目で、製品供給側とは切り離された保険収入が確保できる仕組みがあり、検査の person 費など病院側の経費は相当カバー出来るようになってきている。

こうした、検体検査の試薬・装置企業に対する逆風状況は、保険点数の年次推移を見ればさらに明らかになる。図 9.1 に 1985 年から 2015 年までの検体検査の保険点数推移と、1985 年の値を 100 とした各年次の点数割合を示す。2015 年の検体検査点数は、1985 年の殆ど 3 割まで落ちている。その一方で判断料は直近の 10 年間は横ばいとはいえ、2005 年までの 20 年間に急激に増えている。

この 30 年間、検査件数は、国民の高齢化に伴う患者増加、免疫測定法などの新規検査項目の増加を反映して、爆発的に増大してきた。各病院の検査室では、より効率のよい検査装置の導入や、次節で述べる検体搬送ライン導入による作業合理化等によって、こうした検査数の増加に対応した。保険点数の大幅な切り下げにも拘わらず、多くのメーカーが何とか事業を継続してこられたのは、この検査数増大と、合理化努力に呼応した製品開発・供給に重点的に取り組んだからである。しかしその分、将来を見据えた新規製品開発への投資は細らざるを得なかった。

なお、年次が 1970 年から 2004 年までと上記とはや

や異なるが、成著¹⁴⁾に診療部門、手術部門、入院部門の保険点数推移の表が掲載されているので、参考までに引用する。再診料が 2000 年から 2004 年にかけてわずかに下がったことを除けば、他のどの部門も、年ごとに診療報酬は上昇していることが分かる。

9.3 コンピュータ化、システム化

9.3.1 装置のコンピュータ化

装置のコンピュータ化に関しては、測定様式が比較的単純で、項目数、測定絶対数の多い臨床化学項目対応の生化学自動分析計が、常に時代をリードしてきた。1970 年代までの装置は基本的に単項目対応であり、複数の測定項目をオーダーしている検査には、検査技師の判断と手作業による検体の仕分けで対応していた。1980 年代に入ると、日立 705 形のように、検体ごとに異なった複数項目のオーダーに対応できる、完全ランダムアクセス方式が盛んになり、技師は検体を仕分けせずに装着し、装置に検査登録するだけで検査出来るようになった。測定項目オーダーは検体ごとに異なり、装置の画面上で指定して行われていたが、程なく装置画面からの入力なしに、ホストコンピュータから項目選択情報を受け入れ、測定できるシステムに切り替っていった。こうなってくると、検体情報と、実際の検体の ID を照合・確認することが取り違

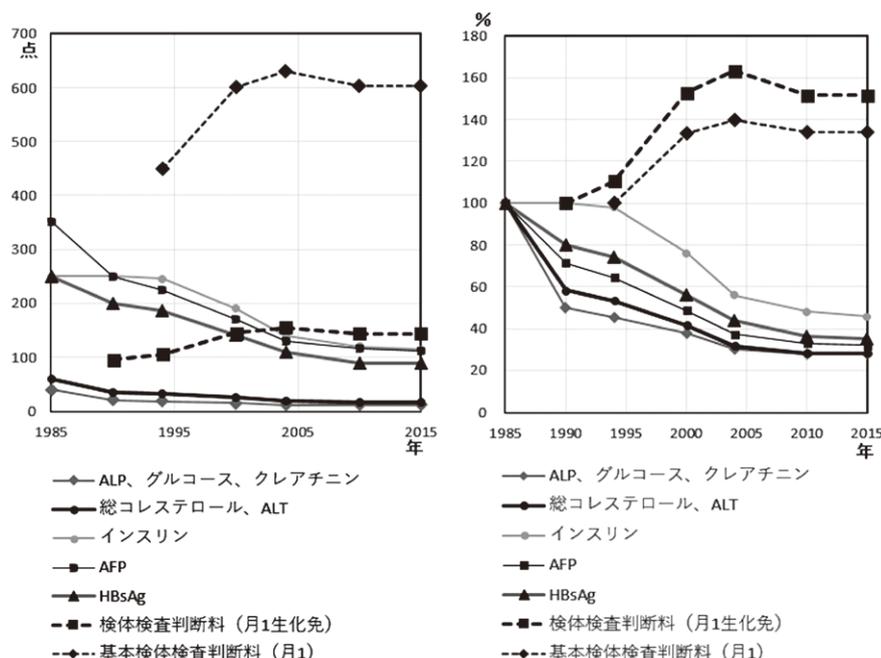


図 9.1 検体検査診療報酬点数の年次推移

左図は点数の推移、右図は 1985 年を 100% とした比率の推移
各年次の保険点数データは、引用文献 7) ~13) から採取した

表 9.2 診療、手術、入院部門の診療報酬点数の推移¹⁴⁾

1960年	1970年	1980年	1990年	2000年	2004年	1960年=100					
						1970	1980	1990	2000	2004	
◇診察部門	点	点	点	点	点						
初診料	18	45	125	210	270 診療所 270 病院 250	274	250	694	1167	1500	1522
再診料(1)	5	15	58	81 診療所 71 病院	74 73	73	300	1160	1620	2520	2500
外来管理加算(1)	—	—	—	—	52	52	—	—	—	—	—
外来診療料(2)	—	—	—	—	70	68	—	—	—	1400	1360
◇手術部門(3)											
肺切除術*	1300	2900	6200	13000	35800	35800	223	477	1000	2754	2754
口蓋裂手術	450	970	2200	4300	13100	13100	215	488	956	2911	2911
胃切除術	1200	2500	7000	15000	34100	42600	208	583	1250	2842	3550
中垂切除術	400	860	2350	4800	7470	6420	215	588	1200	1868	1605
甲状腺腫摘出術	400	860	1900	3900	7340	7710	215	475	975	1835	1928
緑内障手術	250	540	1250	1500	19600	14700	216	500	600	7840	5880
僧帽弁切開術	1700	3650	7800	10000	20800	22900	215	459	588	1224	1347
心膜切開術	700	1550	3450	5600	8760	9200	221	493	800	1251	1314
大動脈瘤切開術	1700	3650	26500	50000	136000	136000	215	1559	2941	8000	8000
◇入院部門(4)											
(a)~(f)の合計点数	52	127	621	914	1216	1209	244	1194	1758	2338	2325
(a)入院時基本診療料(5)	28	66	—	—	1216	1209	—	—	—	—	—
(b)加算/看護(6)	9	31	—	—	—	—	—	—	—	—	—
(c)加算/給食(7)	15	30	131	184	—	—	—	—	—	—	—
(d)室料(8)	—	—	111	143	—	—	—	—	—	—	—
(e)看護料(9)	—	—	91	282	—	—	—	—	—	—	—
基準看護加算	—	—	170	95	—	—	—	—	—	—	—
(f)入院時医学管理料(10)	—	—	118	210	—	—	—	—	—	—	—

資料 厚生省保険局編「診療報酬点数表・甲表」 社会保険研究所，各年より作成。2000年，2004年は甲乙表一本化により「診療報酬点数表」

い防止のためには必須となり、検体バーコード管理が導入される。こうして後述する検体搬送システムを実現するための基礎的条件が整っていった。

他の血球計算や免疫測定装置のコンピュータ化は、生化学に比べると遅れ、単独装置的な仕様が80年代も多く見られたが、だんだんバーコード、完全ランダムアクセス対応が要求されるようになり、前章の化学発光でも説明したとおり、装置化の上でのポイントの一つとなっていた。

9.3.2 検体搬送システム

病院で患者から採血した血液は、通常、臨床化学項目用の血清分離用採血管、一般血液検査（血球検査）用抗凝固採血管、血糖検査用（酵素阻害剤入り）採血管等に分けて採取される。特に、臨床化学項目検査用の血清は、分離後、さらに試験ごとに専用装置用サンプルチューブ/カップに分注され、所定の検査装置にセットされていた。扱う検体数が多くなると、この一連の作業は臨床検査技師の業務のかなりの部分を占め、しかも検体あるいは検査結果の取り違えミスが絶えず、状況の改善が望まれるようになった。検体数が

桁違いに多い大手検査センターでは、各社独自に検査専用機への検体供給システムや、検査オーダーや検査データのオンライン管理など、業務合理化策を装置メーカーと進めていた。一方病院の検査では、専用装置あたりの検体数ははるかに少ないが、採血室からの検体運搬も含め作業動線が長く入り組んでいるため、検査センターとは異なるアプローチが必要であった。そこで、採血室から検査室各装置への検体搬送を一本化したシステムを、ゼロから手作りで立ち上げたのが、1981年に開院した高知医科大学（現高知大学医学部）附属病院である。佐々木匡秀検査部長らのチームは、10本立てラックを用いて検体をベルトコンベアで搬送する「ザ・ベルトラインシステム」を世界で初めて構築、実用化した（図9.2）¹⁵⁾。当時、国立の医大の新設が相次いだものの、いずれも厳しい要員制限に直面していたため、編み出された合理化策であった。その後も厳しい予算の中、メーカーの協力も仰いで高知医大のシステムは進化をとげ、1990年にはメーカーによるシステムの製品が供給されるようになり、1990年代前半から、大手の病院に急速に普及していった（図9.3）。



図 9.2 高知医大検査部自製の世界初の検体搬送システム
(高知大学医学部附属病院検査部のご厚意により掲載)



図 9.3 検体搬送システムでつながった臨床検査機器群¹⁵⁾
(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス (株) のご厚意により掲載)

検体搬送システムでは、通常ラックに入った血液検体を保持したバーコード付き試験管が、駆動装置の付いた搬送ラインを移動し、目的の検査用の装置に到達する。各種臨床検査装置が搬送ラインに接して配置され、ラインからサンプルラックを取り込めるようになっている。装置での検査が登録されている検体は、

検査装置手前のバーコードリーダー読み取りで認識され、ラックごと装置のサンプルフィード機構に移送され、検査に供された後ラインに戻り、最終的に回収される。異なった複数の測定装置に効率的に対応できるように、装置の配置および運営プログラムがセットされる。受け入れた検体の遠心分離や開栓試験後の保冷库への自動収納機能を備えた、文字通り全自動型のシステムも開発されている (図 9.4)。

9.3.3 検査のシステム化

装置および検体搬送の自動化、システム化が進む一方、病院診療部では従来の紙ベースのカルテに代えて、患者情報を電子的に一元管理する電子カルテシステムが、2000 年ころから大病院を中心に普及していった。電子カルテシステム以前には、検査オーダーは診療科ごとに発生し、その場で採血されたものが、中央検査室に運ばれるシステムだった。どの検査を行うかという登録は、検査室で装置ごとに行われ、検査後、検査全般を管理するコンピュータに入力することによって、患者情報と検査結果が紐付けられていったものと思われる。そのうちホストコンピュータで一括登録管理が行われるようになったが、検査オーダーを出した診療科への結果報告は紙ベースで行われていた。

電子カルテが導入されると、こうしたプロセスが大幅に簡略化された。検査オーダーは電子カルテから行われ、その段階で患者および検査の ID 情報が定義される。患者は診察後、あるいは再診前に採血室に行くとき、そこで電子カルテでオーダーされた情報に従って、バーコードラベルされた採血管が発行され、患者の採血が行われる。採血後、採血管は検査室の搬送ラインに乗って検査され、結果は自動的に集約されて、最終的に電子カルテに報告される。こうした一連のシステム化により、検査室だけでなく、診療科や病院全

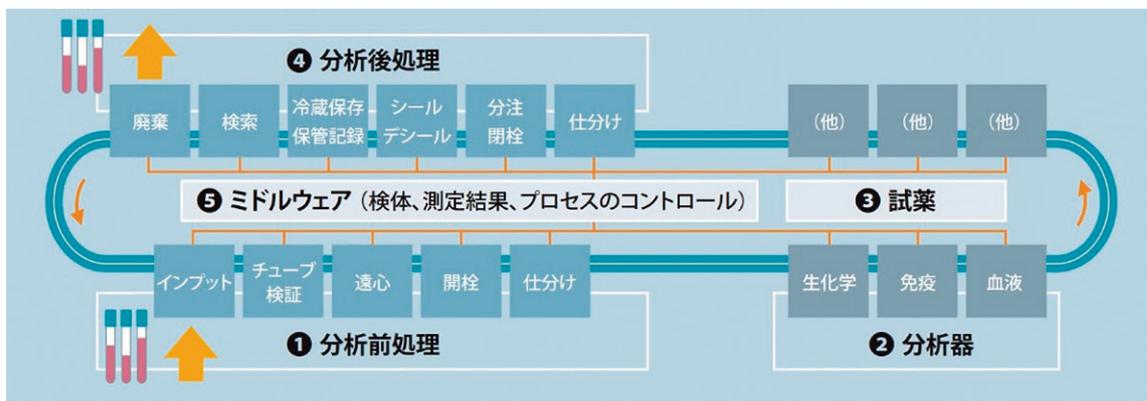


図 9.4 検体搬送システムの概念図¹⁶⁾
(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス (株) のご厚意により掲載)

体での検査関係の人手、動線が大幅に合理化され、セキュリティ的にもより信頼性の高い運営が実現したのである。

検査数の変遷を直接示す資料ではないが、1957年当時の東京厚生年金病院（現東京新宿メディカルセンター）の検査数データがある。当時ベッド数は510床で、1月当たりの検査概数は、細菌学的検査140件、血液学的検査500件、化学検査200件、尿検査850件、糞便検査350件、組織学的検査40件、計2,040件であったという^{17) 18)}。もう一つの例は表2.2でも示した2014年の大分大学医学部附属病院のデータで、618床とやや大きいのが、年間検査数が288万件あるという。東京厚生年金病院の年間概数2万5千件と比較すると、約100倍の検査件数になり、この間、如何に臨床検査が発展を遂げたかが窺える。

検査のシステム化が達成したことは、言ってみれば、量的にも質的にも、個人営業の給菜屋が自動製造ラインの食品工場に変わったほどの大きな変貌であったのだ。

参考・引用文献

- 1) 大阪府医師会，大阪府：「平成26年（通算第42回）度臨床検査精度管理調査結果報告書」，平成27年3月，<http://www.osaka.med.or.jp/oma/report/seidokanri2015.pdf>（2016.10.14参照）
- 2) 公益社団法人日本医師会：「平成28年度 臨床検査精度管理調査について－実施要領」，<https://www.jmaqc.jp/sv/parms/prospectus50.pdf>（2016.10.14参照）
- 3) 玉真健一：「アメリカ合衆国における検査室の精度管理について；CLIA'88およびCAP検査室認証プログラム」，Lab. Clin. Pract., Vol.26 (2), p75-77, 2008
- 4) 家次恒，社団法人日本臨床検査薬協会：「機器・試薬メーカーの立場から」，日本臨床検査自動化学会会誌 Vol.35 (2), 182-185頁，2010年
- 5) 一般社団法人 日本医療機器産業連合会ホームページ：「医療機器産業の国内生産動態概要 6. 医療機器 大分類項目別金額推移」，http://www.jfmda.gr.jp/main_outline/index.html，平成25年
- 6) 一般社団法人 日本臨床検査薬協会ホームページ：「売上高」，<http://www.jacr.or.jp/katudou/naiyou/uriage/>，2016.7.14参照
- 7) 月刊保険診療，第40（5）巻，1985年
- 8) 月刊保険診療，第45（4.5）巻，1990年
- 9) 月刊保険診療，第49（4.5）巻，1994年
- 10) 月刊保険診療，第55（4.5）巻，2000年
- 11) 月刊保険診療，第59（4.5）巻，2004年
- 12) 月刊保険診療，第65（4.5）巻，2010年
- 13) 月刊保険診療，第70（5）巻，2015年
- 14) 遠藤久夫，池上直己：「医療保険・診療報酬制度」，勁草書房，98頁，2005年
- 15) John.B. Henry: "Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 20th Ed.", W.B. Saunder Co., p79, 2001
- 16) シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社：「2016年プレスリリース，アプティオオートメーション販売開始」より，https://www.siemens.co.jp/Japanese/Press/2016/pressrelease/Pages/press_20160224.aspx（2016.11.23参照）
- 17) 木村隆吉：「私の検査室－東京厚生年金病院」，臨床検査，Vol 1 (5), 304-307頁，1957年
- 18) 東京新宿メディカルセンター・ホームページ：「病院概要－沿革」，<http://www.tkn-hosp.gr.jp/gaiyou/enkaku.html>（2016.10.17参照）

10 | まとめ

診断に用いられる広義の臨床検査各種について、その発展の歴史を技術的に系統立てて論じてきた。第3章では、「細菌・細胞観察」、「物理計測」、「画像観察」、「成分分析」という4つの柱について簡単に技術の流れを紹介し、第4章からは、「成分分析」について少し詳しく、生化学検査と免疫測定法、及びその装置化、自動化の技術系統について明らかにしてきた。

10.1 臨床検査3つの柱の今後の動向

これら4つの柱のうち、今日とりわけ注目度が高いのは、何といても「画像観察」の分野で、CTや超音波の3次元画像や、解像度の進歩によるガンの早期発見や、血管カテーテルに代わる細部造影技術など、進歩のすばらしさに驚くほかない。特に手術を行う前に体内の詳細な画像が見られる事は、手術成績の向上に直結するので、治療への貢献度も大きいし、患者にも説明がしやすいなど、医療の理想的なツールとしての条件がそろっている。しかも最近の医療の中心が、ガンや循環器系疾患になってきていることも、画像診断の出番を多くしている。さらにはfMRIのような、今後新たな分野を切り開く可能性のある境界領域的な技術も、研究レベルで発展しつつあり、今後に期待が持てる。

これらに比較すると控えめではあるが、「生体計測」は心電図など成熟した技術として医療を支えている。「細菌・細胞観察」は、永らく地味な位置づけであったものが、近年の免疫系細胞研究の進展や、遺伝子増幅法（PCR）の実用化で、基礎研究の発展が著しく、臨床検査への波及効果も出つつあり、近い将来、新たな進展が期待できそうになっている。

10.2 気がかりな検体検査の動向

一方、「化学分析」の中心を占める検体検査は、1970年代から生化学項目の分析に続き、ホルモン、感染症、腫瘍マーカーと、検査の領域を順調に拡充し、他に見られない規模で検査数を増やしてきた。

しかし、1980年代の腫瘍マーカーの出現、あるいは90年代のモノクローナル抗体の応用の時に見られたような、新概念による検査分野の拡大は、ここしばらく見られていない。新規マーカーもなかなか大物が登場しない。その一方で、検査の標準化要請は確実に

強化され、今日、試薬メーカーの技術陣の努力の多くは、この標準化対応に注がれている。

このことは何を意味するのだろうか。失敗学を提唱した畑村洋太郎東京大学名誉教授によれば、すべての技術は萌芽期、発展期、成熟期、衰退期をたどり、ある技術が発展期に入ってから衰退期に移行するまで、一般に30年ほどかかるという。また、成熟期に入ると、利益や効率を追求するため、技術に関してはメインの技術以外を切り捨てる管理を導入するようになるという¹⁾ (図10.1)。

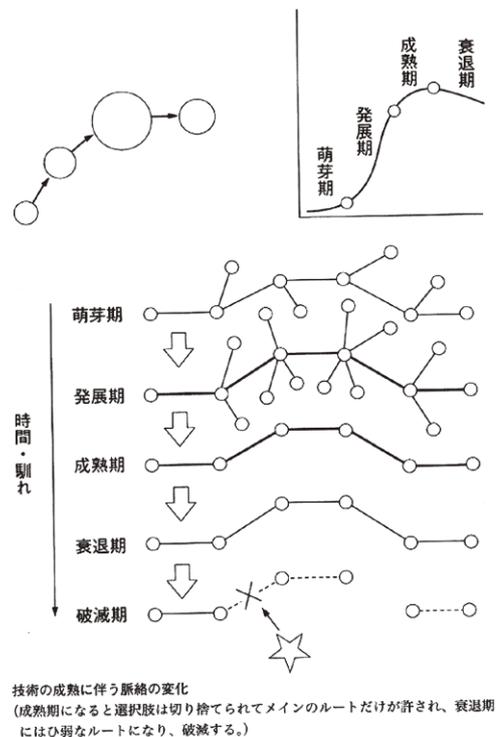


図10.1 失敗学の提起する技術の消長スキーム¹⁾

(講談社のご厚意により掲載)

この説は、まさに検体検査の発展と、今日の停滞までの歴史を言い当てているかのようである。すなわち、検体検査が成熟期に入ったと考えれば、検査の標準化によってメインルートの品質を確保しようとした結果、選択肢の多くを切り捨て、新規項目も減っていると考えることが出来る。

ただし、臨床検査関連業界の停滞は、技術とは別の面の影響が少なくないように思われる。1990年代に国内で少なくとも5社が、次なるフロンティアと目された化学発光免疫測定法システムの事業化に進出し

た。これら企業は80年代に研究開発を開始し、90年代前半に上市にこぎ着けている。この開発スピードは、欧米の化学発光製品開発と比べても遜色なく、しかも、曲がりなりにも製品化を果たした企業が5社を数えたことは、日本企業の製品開発技術の高さを物語っている。しかし、前章でも述べたように、既存製品の1990年以降の保険点数大幅切り下げの影響を被ったために、多くの企業は測定項目の拡充や装置の改良に積極投資する体力を失い、結局、経営リソースを潤沢に持つ海外勢の攻勢に屈する事になったと考えられる。検体検査の保険点数切り下げは、医療経済的には有効な処方箋だったかもしれないが、国内臨床検査関連企業の新製品開発力、国際競争力をそぎ、検体検査関連事業の衰退に拍車をかけたことは否めない。

10.3 検体検査の今後を考える

それでは、日本において検体検査関連事業はもう衰退するしかないのだろうか。技術の系統化は、技術の来し方を振り返って、その関係性、必然性、環境要因の及ぼす意味合いを読み解いていく作業である。8章までの結果を踏まえて、技術の行く末について少し思いを巡らしてみたい。

今日の検体検査技術の主流が、化学分析研究の常道である液体クロマトグラフィーや質量分析によらず、分光光度計による酵素反応と標識化抗原抗体反応を中心とした測定システムによって形成されてきたのは何故か、今一度以下にポイントを整理してみる。

- ① 酵素や抗体の特異性を生かし、分離操作を不要にしつつ反応時間を短縮化している。
- ② 色素や化学発光物質、放射性同位元素を標識として、簡便かつ高感度な検出法を達成している。
- ③ コンピュータを活用してディスクリット方式およびランダムアクセス方式を実現し、高い時間当たり処理能力を獲得している。
- ④ こうした技術の合わせ技で、精度の高い測定結果を安価な検査料で提供することに成功している。

これらを踏まえ、検体検査を技術的に次なるパラダイムに導きうる道筋の方向性を、以下、考察する。

(1) 免疫測定法による更なる高感度の追求

化学発光法の技術と製品ラインアップは2000年代には完成の域に達し、その後も新規項目は少しずつ増えてきている。ただ、現在の化学発光の到達感度は、ラジオイムノアッセイが手がけた項目の測定感度を改良した程度であって、一部の研究成果はあつものの、新たな項目群を立ち上げるには至っていない。

ない。例えば数十倍の感度アップが実現された場合でも、新たな項目群の立ち上げや、検体検査の発展につながるかどうかは不透明だ。ただ仮に研究レベルで数十倍の高感度を達成出来たととしても、成果を、ディスクリット・ランダムアクセスの可能な検査プラットフォームに落とし込むのは、容易な作業ではなかろう。ここは当分基礎研究の進展を見守るしかない。

(2) 免疫測定法以外の測定法を臨床検査に取り込む可能性について

創薬を始め、バイオ関係の研究では、物質の同定、定量は専らLC/MSで行われている。感度も、最先端機器であれば、化学発光に匹敵するほどの感度に達している。しかし、LC/MSが普通の病院で臨床検査に使われる事はまれである。理由は簡単で、LC/MSは装置が高額で維持費もかかるからである。一方で、創薬開発など資金力のあるユーザーは、LC/MSの研究用の使い勝手の良さを手放して、測定項目の限られる臨床検査プラットフォームでわざわざ開発しようとは考えないので、両者の溝がいつまでも埋まらずに来たと考えられる。大手臨床検査センターでは、LC/MSも血中薬物測定などに利用されていて、懸案の検体処理能力も、最新鋭装置では1検体3分のペースまで上がってきているという²⁾。従って、LC/MSがもう一息、使いやすさ追求とコストダウンを近い将来実現すれば、LC/MSの独壇場であるサイトカイン^(註10)等の一連のタンパク質や代謝産物などの臨床検査化も期待でき、LC/MS装置とオペレーションソフトが臨床検査で活躍する可能性は十分にある。

(3) 感度、特異度重視の単項目主義から、項目パネルの統計学的判断への転換

検体検査が本当に大きく変わる可能性があるとなれば、単数項目主義から項目パネル方式への転換ではないだろうか。そもそも検体検査の化学反応項目や初期の酵素項目が開発された頃は、これら生体成分の重要な代謝に関わる種々の物質の存在量を測定し、身体の全体状況を把握する、という感覚が強かったように思われる。それが腫瘍マーカーの隆盛を契機に、バイオマーカーの重要性が喧伝され、新

(註10) サイトカイン

免疫システムの細胞から分泌されるタンパク質で、主として免疫細胞間で情報伝達をするものをいう。ホルモンよりもっと低濃度で作用すると考えられている。

規の検査は、疾患判定の感度、特異度^(註11)が高いものでなければ価値がないという見方が支配的になった。しかし、患者数の多い重要疾患、すなわちガンとか循環器疾患などの生活習慣病は、多くの要因が複合的に作用しているので、感度、特異度が高いマーカーがめったに見つからないのは、考えてみれば当たり前のことである。事実、保険点数がつく新規項目はなかなか増えていない。診断とは治療方針の決定のためのものであるから、感度、特異度が高いマーカーが仮に見つかったとしても、一つのマーカーの測定値だけで治療方針が決まるわけではない。過度の感度・特異度信奉は、健全な臨床検査技術の発展をゆがめる心配がある。単独のマーカーの価値を重要視するのは、むしろ創薬技術の考え方であって、創薬スクリーニングの都合が、臨床検査の世界にまで波及した面が多分にあるのではないか。また臨床検査側の問題として、メーカーはマーカーとしての価値が高そうな項目では高い保険点数を狙うので、ますます単項目に偏った見方が支配的になりがちである。そうなると保険料が高止まりするのを懸念する規制当局は、ますます認可のハードルを高めるといふ悪循環に陥ることが懸念される。

話を戻すと、診断のための臨床検査では、むしろ関連する多項目をパネル化して総合的に判断する検査とした方が、患者の診断に供するという臨床検査本来の目的に適っていると思われる。問題は多項目にすると

(註11) 感度、特異度

感度、特異度は、臨床検査においては、次の意味で用いられる専門用語である。

「感度」＝陽性の被験者を、正しく陽性と判定する確度(%)
「特異度」＝陰性の被験者を、正しく陰性と判定する確度(%)
従って、ある新規検査法の臨床試験結果が下の表のようであった場合、この検査法の

$$\text{感度} = A / (A+C) = 85\%$$

$$\text{特異度} = D / (B+D) = 90\%$$

となる。

	ガン患者	ガンでない人
陽性	A : 85人	B : 20人
陰性	C : 15人	D : 180人
合計	100人	200人

このガン患者数が国内12万人(人口の0.1%)とすると、この結果は、次のように解釈出来る。

- ・感度が85%というのは、ガンスクリーニング検査で85%の患者が発見できるということで、スクリーニング検査法としての価値があるかもしれない。
- ・一方、ガン患者の15%は見落とすので、ガンでないという診断(除外診断)には使えない。
- ・特異度90%でも偽陽性が10%あるので、陽性なら必ずガンだという確定診断にも使えない。
- ・実際に1万人のスクリーニング検査を行うと、8.9人の患者が含まれてくるが、問題なのは陽性が1000人出ることであり、この1000人に対し、どういう追加検査が出来るかによって、この新規検査の実用上の価値が決まる。

コストも保険点数も高額になりかねないことだが、今までの方針を変更して、例えば免疫あるいは炎症状態を示すサイトカイン項目セット検査が、安価に出来るような開発の方向性があるべきと考える。自己免疫疾患やアレルギー性疾患、またアルツハイマーのような精神神経性疾患の分野も、複合的な要因が作用し、症状とマーカー濃度との関係づけも一筋縄ではいかない場合が少なくなさそうだ。単項目バイオマーカー開発の発想に決別して、新たな領域を開拓するときに来たのではなかろうか。

多項目パネルの臨床価値を証明するのは大変手間とお金がかかることで、そもそも診療報酬の低い臨床検査には荷が重いことだが、役にたちそうな材料もある。標準化を推し進めた結果、今日の臨床検査の施設間差、試薬・機器間差は少なくなってきた。その一方で、電子カルテ化が進み、測定データの蓄積が既に始まっていることから、少なくとも既存項目に関する限り、多項目パネルによる疾患判定の統計学的モデル構築は、理論的には可能な状況が生まれつつある。ビッグデータを解析することで、特に疫学的、時系列的視点から、新たな診断的価値を創出出来る可能性が高まったのだ。患者のインフォームドコンセントをどう取るか、他の電子カルテ情報へのアクセスに対し、どこまで個人情報保護の方針を越えた連携が成立するかなど、課題は山積しているが、多項目測定結果の関係性について、今までにない、質の高い解析と成果が得られる可能性が出てきていることを強調したい。

また(2)で言及したLC/MSは、そもそも多項目の測定結果を同時に網羅的に解析する、すなわちオミクス(omics)解析が出来る分析方法である。LC/MSの検体検査への取り込みを、多項目パネルデータ処理と組み合わせて行うことが出来れば、検体検査の新たな展開が現実のものになるだろう。

しかしながら同時に強調しておきたいのは、これらの考え方自体は目新しいものではなく、質の高い患者データの活用も、多くの先進国で同じようにチャンスが訪れていることである。しかもこうしたシステム指向のモデル構築は、今までは日本が苦手としてきた分野でもある。やはり様々な面で、日本の検体検査事業は転換期を迎えていると言えよう。

10.4 終わりに

臨床検査は、一般によく知られている技術分野ではない。特にあまり病気をしない若者や、働き盛りの年齢の人々には、健康診断以外にはなじみの薄い分野であろう。その一方で、臨床検査は患者の症状を科学的に分析して、病因、重篤度を見極める重要な医療行為であり、社会に役立つ医学研究成果を、すべからく実施可能にする大切な使命を担っている。本報告書の読者は、臨床検査技術の中に多くのノーベル賞受賞の発明・発見が関係している事に驚いたのではないだろうか。それほど、臨床検査は医学研究の根幹に関わる数々の成果に立脚している。

医学上の研究成果があがっても、すぐに新規の臨床検査として組み入れられるわけではない。ガンの新しい検査方法や、国民的関心の高い病気の新しい検査方法の研究成果が、よく新聞やテレビで報道されるが、これらのうち実際の臨床検査に採用され、企業が製品を提供するようになるケースは、おそらく1%にも満たないのが実情である。大学や研究機関の成果は、研究のプロが、自分の持てる技術を駆使して得られた研究成果であり、しかも往々にしてうまくいった結果だけ公表され、失敗は表に出されない傾向が強い。対して臨床検査に採用される検査法や試薬、装置は、専門学校を卒業したばかりの駆け出しの臨床検査技師でも、正しい結果が得られるようであれば実用に耐えない。失敗は基本的に許されないのが臨床検査であり、その分、製品を構成する技術に磨きをかけ、完成度を高めるプロセスが、製品化には欠かせない。

臨床検査の内容について書かれた書物は、実は少ない。各項目の臨床的意義についても、WEBで調べれば大部分の知識は容易に手に入る。しかし、その技術内容に踏み込んだ情報を知ろうとすると、本当に基礎的な研究の論文や、あるいは出来上がった製品を利用しての医学研究的な情報はたくさんあるが、研究から製品に至る技術的な流れについて論じたものは、まことに少ない。本報告書では、できるだけ、既知の情報の範囲で、こうした産業化に至る技術の流れを紹介することに努めた。しかし産業化技術は、概して発表された具体的なデータに乏しいため、限られた時間の中では抽象的な記述が多くなってしまったことが悔やまれる。

この報告書は臨床検査製品の今日まで続く流れを網羅しようとしたものではない。臨床検査技術の4つの

柱のうち、細菌・細胞観察、物理計測、画像観察について主に述べた第3章では、出来るだけ中心的な技術は欠かさないう心がけたが、例えば呼吸機能、視覚、聴覚などの物理計測といった広大な分野には一切触れることが出来なかった。化学分析系技術についても、今日、臨床検査売上の3割強を占め、イムノクロマト技術を含むPOCT (Point Of Care; 臨床検査即時検査) は、医療の形態としては重要かつ興味深い要素を多く含む分野であるが、臨床検査室とは異なる技術の系統を形作るものなので、本報告書では触れなかった。今後、系統化技術調査の1テーマとして独自に取り上げられ、研究されることを望みたい。

同様に、遺伝子診断についても取り上げていない。従来の生化学検査、免疫測定検査が伸び悩んでいる今日、検査室もメーカーも遺伝子検査への対応を強化しており、近い将来、非常に重要な分野として日常的に検査されるのは間違いない。今日でも、白血病の遺伝子検査は完全にルーチン化している。しかし、遺伝子検査は、全体としてはまだまだ発展途上の技術だ。特に、人が生まれながらに保有している遺伝子情報(ゲノム情報)を、検査でどう役立てるか、患者にどう説明するか、社会的にどう位置づけるか、といった議論が、全く準備不足の状況であり、今の段階で取り上げるには時期尚早であると判断した。

4章以降の臨床化学検査、免疫測定法についても、説明の都合上、一部の企業の成果だけ大きく取り上げ、それ以外の企業の業績に十分に触れる余裕がなかったことをお許しいただきたい。例えば、生化学自動分析計の開発についても、日立以外の主要メーカーである東芝や日本電子、オリンパスの果たした役割は大きい。殆ど言及できなかったのは心残りである。また、検査試薬分野でも、臨床的に重要な血液凝固・線溶関係検査については、検査数の圧倒的に多いプロトロンビン時間(PT)と活性型部分トロンボプラスチン時間(APTT)両試験は、古い試験法であるが事実上の技術交代がなく今日に至っており、製品も海外少数企業の寡占状態で技術情報に乏しいため、検討を見送った。線溶マーカーについては、8.4節で簡単に取り上げた。

最後に、臨床検査技術の分野で、日本および日本の発明者、企業が上げてきた成果と限界について、一言触れたい。

画像診断、物理計測の分野では、本文でも触れたように、内視鏡という一大分野、およびパルスオキシメーターの発明は、独創的で、医療への貢献度の大き

さでも、世界に誇れるメイド・イン・ジャパンであり、開発企業の世界進出にも大きく貢献している。またスパイラルCTや超音波カラードブラ法など、有力な診断技術への大きな貢献例もある。fMRIも、今後の応用開発が楽しみな独創的な発明だ。

検体検査の分野では、基礎研究では、アレルギーやホルモン分野で、日本人研究者が大きな貢献をしている。また、検査カテゴリーを樹立するレベルで日本発の発明・実用化と呼べるのは、日立の自動分析機を中心とした、ディスクリット・完全ランダムアクセスの連続測定型生化学自動分析装置と、ラテックス凝集法に基づく免疫測定法の試薬である。これらは今日でも医療の世界では数少ない貿易黒字製品群であり、特に生化学自動分析装置は、世界のマーケットを押さえているといっても過言ではない進出振りだが、その販売は、オリンパスの自動分析機を除き、すべて海外臨床検査メーカー大手へのOEM供給という形であることが残念だ。日本のメーカーと開発者は、世界を相手に渡り合える高い技術力を持つてはいるが、自ら世界に通用するビジネスモデルを構築して、自社ブランドで国際展開するだけの戦略と投資を行う、腕力のある、真の企業家たり得ていない。そうした中で、内視鏡と生化学自動分析計のオリンパス、血球計算計のシスメックスは、自社ブランドで世界的評価を受けることが出来た数少ない成功例として、注目に値する。こうした先例に学び、日本の臨床検査関連企業が、国内市場の特殊性に埋没することなく、日本の得意とする装置作りに安住することなく、新規製品群を携え、自社ブランドで国際的に活躍されることを期待したい。

参考・引用文献

- 1) 畑村洋太郎：「失敗学のすすめ」，講談社文庫，231-235頁，2005年
- 2) LSIメディエンス（株）のインタビューから：2016.5.23取材

謝辞

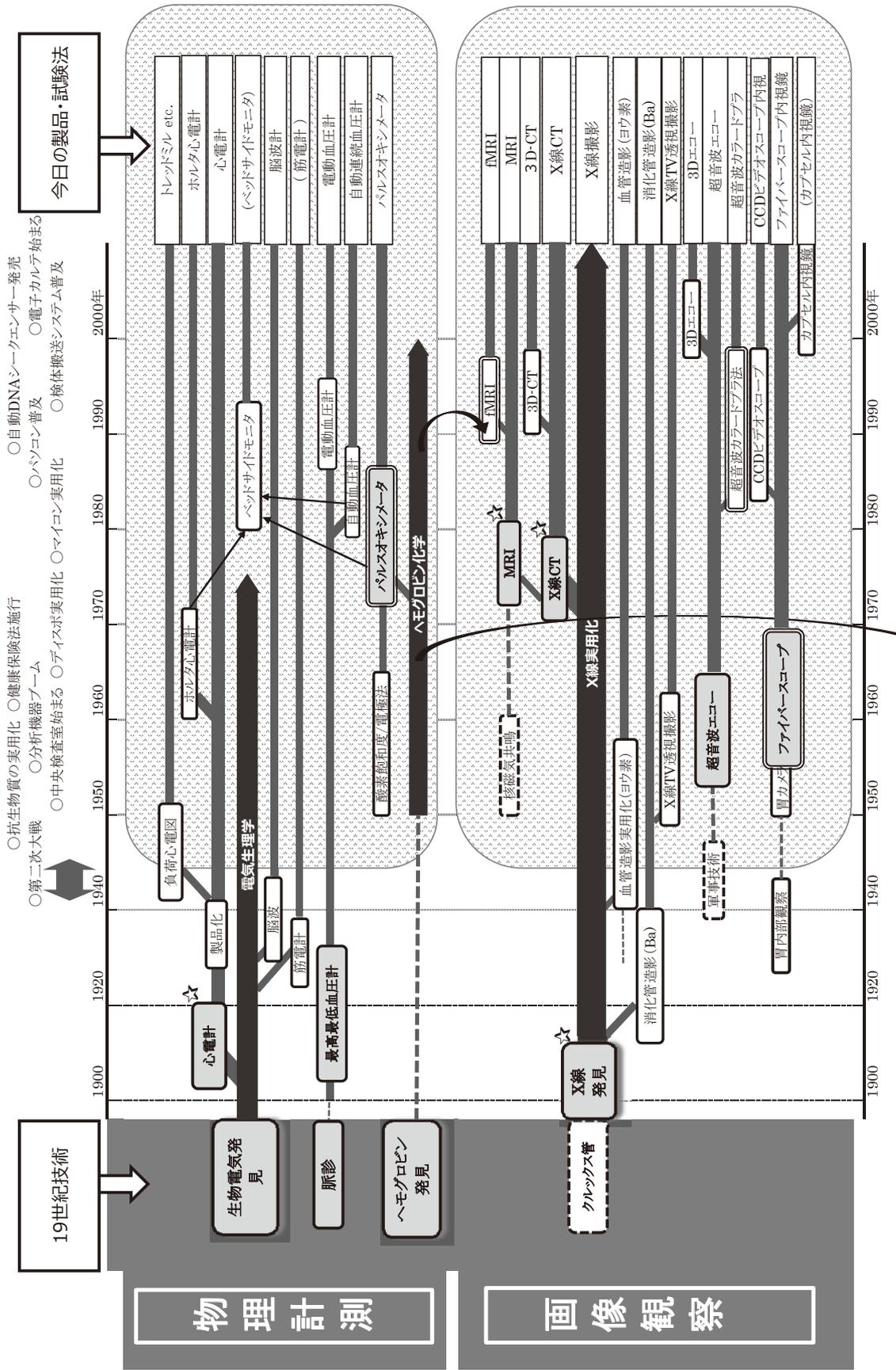
今回の調査・執筆に当たっては、多くの方々にご協力、ご助力を賜り、貴重な情報やデータの提供をいただいた。特にお世話になった方々の組織・氏名を以下に掲げ、厚く御礼申し上げる。

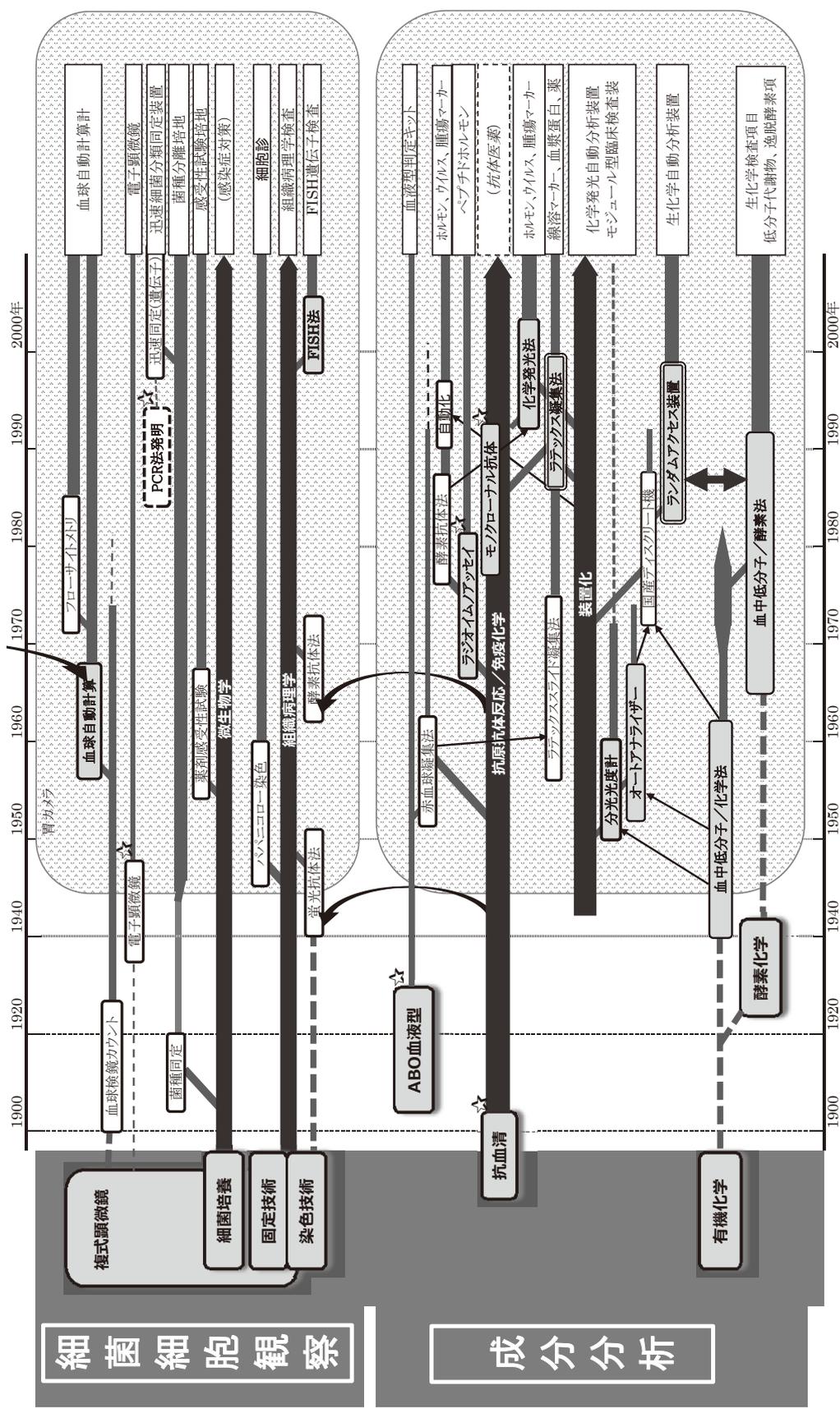
一般社団法人 日本臨床検査薬協会
近藤 義彦 氏 福永 健一 氏
一般社団法人 日本分析機器工業会
片岡 信義 氏 川中 士郎 氏
昭和大学医学部客員教授
笠原 靖 氏
高知大学医学部附属病院検査部 臨床検査技師長
小倉 克巳 氏
株式会社 日立ハイテクノロジーズ
三村 智憲 氏 松本 愛子 氏
富士レビオ株式会社
磯村 光男 氏
株式会社 堀場製作所
三宅 司郎 氏
シスメックス株式会社
白木 大介 氏 杉井 香菜 氏
LSIメディエンス株式会社
櫻井 錠治 氏 村野 俊夫 氏
島村 朗 氏
栗原 隆 氏 柳田 厚司 氏
テルモ株式会社
宇佐波奈々 氏

臨床検査技術発展の契機となった主要発見・発明の年表

分野	1850	1900	1950	1980	2000
X線撮影装置	1895年：X線の発見 (Wilhelm Röntgen)	1901年ノーベル賞受賞			
	1890年代：シーメンス社電線装置開発に成功 1909年：島津製作所、装置開発 1908年：ハロウム化合物造影剤の開発 (P. Krause)				
画像観察	Computed Tomography (CT)	1954年：ゴッ素造影剤CTグラフィックの有用化 1950年代：心カテーテル法の有用化 (1929年、W. Forssmann 発明、1950年ノーベル賞受賞) 1967年：CTの考案 (G. Hounsfield； 1979年ノーベル賞受賞) 1972年：CT発案 (EMI) 1975年：国産機上市			
	MRI	1942年：透過法による生体描写 (Hypermagnetic) を実施 (R. Schindler) 1952年：超音波断層写真法を開発 (D. H. Howry)	1973年：MRIの提案 (P. Lauterbur) 1982年：国内診療用MRI稼働始まる 1990年：国内診療用MRI法の考案 (J. L. Hutchings) 1990年：MRI法の考案 (P. Lauterbur) 1990年：MRI法の考案 (P. Lauterbur)		
	超音波画像装置 (エコー)	1942年：透過法による生体描写 (Hypermagnetic) を実施 (R. Schindler) 1952年：超音波断層写真法を開発 (D. H. Howry)	1950年代：超音波断層写真法を開発 (D. H. Howry)		
	内視鏡	1850年：胃カメラの試作 (宇治運郎、杉浦隆男) 1956年：ファイバースコープの開発 (オリンパス) 1983年：フレキシブルファイバースコープの開発 (オリンパス)			
物理計測	血圧計	1896年：水銀血圧計の発明 (S. Riva-Rocci) 1905年：非静血式最高・最低血圧測定法 (N. S. Korotkov)			
	心電計	1903年：心電流の計測に成功 (W. Einthoven) 1924年：ノーベル賞受賞 1934年：国産初の心電計 1941年：運動負荷心電図法発表 (A. Master) 1961年：ホルタ心電計 (N. J. Holter)			
	脳波	1929年：人での初めての報告 (H. Berger) 1951年：初の国産脳波計 (三栄測器) 1974年：ALZASKシメーターの発明 (曹柳貞雄/日本光電)			
細菌・細胞観察	ALZASKシメーター	1674年：300倍倍率顕微鏡で血球を発見 (A. Leeuwenhoek) 1857年：複式顕微鏡の製品化 (Carl Zeiss)			
	細菌検査	1876年：炭疽菌原体の発見、培養法の確立 (R. Koch) 1882年：結核菌の発見、分離 (R. Koch； 1905年ノーベル賞受賞)	1932年：電子顕微鏡の開発 (E. Ruska, M. Knoll； 1986年：ノーベル賞受賞) 1942年：抗生物質 (ペニシリン) の有用化→細菌の薬剤感受性試験始まる		
	細胞検査 (組織診断)	1863年：パロアイン包埋法 1883年：フタルイン固定法 (F. Blum) 1878年：ハマトキシリン-エオジン染色 (Busch)			
	遺伝子検査	1943年：細胞診/パニコロ染色有用化 1940年代：蛍光抗体法 1960年代：酵素抗体法			
成分分析	血液学的検査	1852年：ヘモグロビン命名 (F. Hoppe-Seyler) 1890年：国内初の顕微鏡による血球数算定 (熊谷幹)	1935年：凝固検査法 (プロトロンビン時間) の開発 (Quick) 1956年：自動血球計測器の有用化 (W. Coulter) 1969年：レーザーによるフローサイトメーターの開発 (V. Dilla) 1980年代：白血球細胞表面抗原CD分類始まる		
	関連基礎科学技術	19世紀後半：有機化学、天然物化学分野の展開 1907年：クロマトグラフィ-技術 (M. S. Tswett) 1917年：微量元素分析法 (F. Pregl)	1923年ノーベル賞受賞 1941年：光電光度計有用化 (Beckmann) 1950年代：紫外分光光度計、質量分析計、ガスクロマトグラフィ-など分析機器新製品ぞくぞく登場 1950年代：自動分析に適した試薬の開発 1960年代：酵素補酵素を用いる各種測定法開発 1962年：国産初のSOH、GF試薬発売 (パナソニック) 1970年代：テラコート方式フローサイトメーターの開発 (日立705、736形上市。後の自動分析機の規範)		
	低分子代謝物定量法	1900年：血液型の発見 (K. Landsteiner； 1930年ノーベル賞受賞)	1959年：インスリンのRIA法発明 (R. Yalow； 1977年ノーベル賞受賞) 1968年：腫瘍マーカーの発見 (G. I. Abelev； α-フェトプロテイン) 1975年：モノクローナル抗体の発明 (G. F. Kohler, C. Milstein； 1984年ノーベル賞受賞) 1983年：免疫化学測定法初の自動化 (LPIA法) 1990年代：化学発光法自動化		
	生化学自動分析計	1963年：国産テイズボシリンジの有用化 (テルモ) 1981年：検体自動搬送システム開発 (佐々木匡秀/高知医大) 1990年代：電子カルシの普及始まる			

臨床検査技術系統図





図の説明

- ・ 装置あるいは測定法の開始時期は、セルの左端、ないしは本流からの分枝時点。
- ・ 灰色太字のセルは、新分野を開拓した、エポックメイキングな装置、手法を表す。
- ・ 右端に☆のついたセルは、ノーベル賞受賞技術を表す。
- ・ 破線のセルは、臨床検査以外の分野の技術。破線でのつながりは、基礎技術の影響を表す。
- ・ 矢印は、技術の分枝を越えた技術的影響を表す。曲線矢印は、柱間に跨る技術伝播、影響を表す。
- ・ 2重線枠セルの技術/製品は、日本発技術。
- ・ () 内製品名は、本文で殆ど触れる機会が無かったが、技術系統上無損できない存在として示した。

臨床検査技術 産業技術史資料 所在確認

番号	名称	製作年	製作者	資料種類	資料現状	所在地	選定理由
1	半自動血球計数装置 CC-1001	1963年	東亞特殊電機(株) (現：TOA(株)／シスメックス (株))	製品	展示	シスメックス(株)テクノパーク (兵庫県神戸市)	<ul style="list-style-type: none"> 国内初の市販血球計数装置、先発アメリカ・コーンター社に遅れること1年で発売 国内臨床検査機器で最も早期の製品のひとつ 今日世界中に知られるシスメックス社最初の製品
2	JINTAN DISPOSABLE SYRINGE (使い切り注射器)	1964年	仁丹テルモ(株) (現：テルモ(株))	製品	展示	テルモメディカルブラネックス (神奈川県足柄上郡中井 町)	<ul style="list-style-type: none"> 日本初のプラスチック使い切り品、アメリカの最大手ベクトン・デイツキンソンに遅れること3年で発売 血清肝炎感染防止目的でディスプレイの先鞭をつける 検査における採血業務のあり方を変えた
3	仁丹テルモ採血管 (缶入り)	1970年 ころ	テルモ(株)	製品	展示	テルモメディカルブラネックス (神奈川県足柄上郡中井 町)	<ul style="list-style-type: none"> ディスプレイシリンジに1年遅れで発売された 血清肝炎防止で日本発の市場導入 後に採血業務のスタンダードとなる
4	日立705形自動分析装置	1980年	日立製作所(株) (現：日立ハイテクノロジーズ (株))	製品	保管 見学者向けに 展示	日立ハイテクノロジーズ 那珂工場 (茨城県ひたちなか市)	<ul style="list-style-type: none"> 世界初のターンテーブル型連続自動分析装置 世界初の測定項目完全ランダムアクセスを達成 複波長分光、試薬保冷庫などの新技術を駆使 以後の自動分析装置の世界標準となる
5	ザ・ペルトラインシステム	1981年	高知医科大学 (現：高知大学医学部) 付属病院検査部	当時のシス テムの一部と 写真	保管 見学者向けに 展示	高知医科大学 (現：高知大学医学部) 付属病院検査部 (高知県南国市)	<ul style="list-style-type: none"> 世界初の病院-検査室検体搬送システム 検査部メンバーが自ら設計・製作し稼働させた 検査業務の大幅合理化を実証 以後のメーカー-量産化製品の先鞭となる 検査室業務の効率化に多大なる貢献をした

臨床検査技術の系統化調査 正誤表

ページ	段落	行	技術の系統化調査報告 第24集 2017年3月 (誤)	全文PDF版 2017年8月 (正)
8	右	4	大分大学付属病院	大分大学医学部附属病院
8	表2.2		大分大学医学部付属病院	大分大学医学部附属病院
18	左	7	1961年	1963年
18	左	7	東亜特殊電機	東亜特殊電機
18	左	8	半自動血球計算装置	半自動血球計数装置
18	右	図3.16	半自動血球計算装置	半自動血球計数装置
18	右	図3.16	東亜特殊電機	東亜特殊電機
47	表5.2 日立706D形		フローセル1回(反応管から吸引)	22秒間連続測光(反応管直接測光)
54	右	44	進出し	本格展開し
54	右	46	含めた臨床検査機器メーカー	含めた、並み居る臨床検査機器メーカー
93	左	11	大分大学医学部付属病院	大分大学医学部附属病院
99	画像観察	7	Computer	Computed
102	見出し行		制作年 制作者	製作年 制作者
102	名称	番号 1	計算	計数
102	製作年	番号 1	1961年	1963年
102	制作者	番号 1	東亜特殊電機	東亜特殊電機
102	名称	番号 2	SYLINGE	SYRINGE