



HPLCを用いる血清尿酸測定の勧告法

(1993-7-1)

日本臨床化学会
試薬専門委員会

序文

本勧告法は血清尿酸測定実用基準法として日本臨床化学会「血清尿酸測定のリファレンス法(HPLC-UV)法の確立」プロジェクトチームによって提案されたものである。

血清尿酸の測定は痛風、Lesch-Nyhan 症候群をはじめ種々の疾患で重要視されている。現在、尿酸の測定は化学的な還元法に代わって、ウリカーゼを用いた酵素法、とくに、ウリカーゼ-ペルオキシダーゼ(uricase-POD)比色法が主流となってきた。酵素法の登場によって施設間差が縮められてきているが、さらに、測定値の精度の向上が望まれている。

標準化を意図した実用基準法としては、American Association of Clinical Chemistry (AACC)の uricase-UV 用手法¹⁾、わが国では尿酸研究会(現プリン・ピリミジン代謝学会)によって影山法²⁾に準じた uricase-catalase 法をさらに改良した用手法³⁾が提唱されている。また、分画、定量が同時に可能で、正確度の高い高速液体クロマトグラフィ(HPLC)の実用基準法もいくつか国外で提唱されてきている。血清の除タンパクなど前処理のない直接法^{4,5)}、アセトニト

リル除タンパク法⁶⁾また検出器の種類によって電気化学検出器(ECD)法⁴⁾、紫外吸光(UV)法^{5,6)}などがある。

本プロジェクトでは精密度、正確度の点で問題が少ないHPLC-UV法を取り上げ、前処理の除タンパク法に過塩素酸法を採用して、実用基準法としての測定条件を設定した。その間、過去4回におよぶサーベイを行い、問題点の指摘を行いながら検討を重ねた^{7,8)}。

本勧告法は指定どおりに実施すれば正確度、精密度の高い測定値が得られることを確認している。

測定操作法

1. 血清除タンパク前処理法

標準液および血清試料0.2mlを遠心管に採り、これに0.3mol/l 過塩素酸2.0mlを加えてミキサーで混和、氷水中で30分間以上放置し、さらに混和し、3000rpm、10分間遠心分離する。上清を別の試験管に移し、再度3000rpm、10分間遠心分離する。その上清0.3mlをHPLCサンプルカップに採り、これら0.2mol/l Na₂HPO₄溶液0.3mlを加え、混和したものをHPLCの試料とする。