

第55回POCセミナー

「ここまで出来る・免疫アッセイ法を用いたPOCT」 ー POCT は免疫アッセイ法で進化するー

日 時:10月8日(木) 18:00 ~ 21:00
場 所:パシフィコ横浜 会議センター

特別講演

司 会 谷 直人(国際医療福祉大学熱海病院検査部)
演 者 佐藤 千歳(岡崎市民病院医療技術局臨床検査室)
「こんなユースケースをわすれていませんか」
～ JICA 国際緊急援助隊医療チームの経験から～

基調講演

司 会 山崎 家春(公立学校共済組合関東中央病院)
演 者 菊池 春人(慶應義塾大学医学部臨床検査医学)
「意外に知らないhCGの話」
～ hCG のことホントに分かっていますか? ～
演 者 須長 宏行(積水メディカル株式会社カスタマーサポートセンター)
「肺血栓塞栓症に有効な全血D-dimer 測定試薬の簡便性・迅速性とその注意点」
～急性の胸痛に用いられる関連マーカーとの比較～

実 習

司 会 竹澤 理子(社会福祉法人三井記念病院検査部)
奥田 優子(東邦大学医療センター大森病院臨床検査部)
演 者 共催企業9社により、「POCT 対応装置・試薬」の実習を行う
①積水メディカル(株):ラピッドピアの専用試薬/H-FABPの定量,BNPやDダイマー
②和光純薬工業(株):プロカルシトニン(PCT)
③アークレイマーケティング(株):スポットケムバナリスト-腎機能マーカー・シスタチンC
④アリーア メディカル(株):トリアージテストメーター/心筋マーカー4項目、Dダイマー
⑤フクダ電子(株):シオノスポットリーダー/BNP
⑥ラジオメーター(株):AQT90 FLEX-、AcuteCareマーカー、主にβ hCG
⑦ロシュ・ダイアグノスティックス(株):コバスh232/Dダイマー
⑧(株)LSIメディエンス:PATHFAST/プレセプシン

演題名：「こんなユースケースを忘れていませんか」
～JICA 国際緊急援助隊医療チームの経験から～

岡崎市民病院医療技術局臨床検査室
佐藤 千歳

「災害現場で検査室をだれも立ち上げてはくれない、居場所は臨床検査技師自らが作れ！」

私は大学院（修士および博士課程）で寄生虫学を専攻し、さらに JICA 青年海外協力隊に参加、アフリカのモザンビークで臨床検査技師として活動した。大学院に入学するまで海外、特に途上国に関心があったわけでないで、まさにムシが国際保健医療のきっかけを作ってくれたのである。一方、これらの経験とは対照的に、日本での病院におけるルーチン業務に携わった経験がなく、いわゆる臨床検査業務とは無縁であった。しかし市民病院の検査室に勤務するようになった今は、四苦八苦しながら病院で修業する日々を送っている。私はムシに興味を示しても、国際保健医療や検査業務に関心があったわけではなく、ムシの知らせ（教え？）に従ってこれまで歩んできた。この歩みの中で、JICA 国際緊急援助隊という災害医療活動にも足を突っ込むこととなった。以上が私の紹介である。

JICA 国際緊急援助隊（以下、JDR）医療チームは 1979 年に初派遣されて以来、海外の災害時に医療支援活動を行ってきた。JDR 医療チームには医師・看護師・薬剤師とともに、臨床検査技師も登録はできるが、放射線技師や救急救命士等を含めた「医療調整員」という形で登録される。しかしながら、2000 年モザンビーク洪水被害以降のほとんど派遣において、JDR 医療チーム内に臨床検査が設立されてきた。そして、2015 年のネパール地震から手術や病棟機能を追加した機能拡充チームの派遣に合わせ、臨床検査技師は医療調整員としてではなく、「検査技師」単独での募集となった。このことは災害現場での検査機能の必要性が増し、災害時の医療においても検査が欠かせないものとなっていることを示すと言える。近年 POCT に見るように小型検査機器が発達し、災害時での活用が期待される。一方、日本国内だけで災害派遣実績を積み重ねるのは難しく、災害の現場で本当にそれらを使用できるのか疑問がある上、災害発生に備えるために何ができ、何ができないかを把握することも重要となる。そこで、JDR 医療チームの活動も視野にいれて災害時における検査の知見を積み重ね、またそうして得られた知見を学会や論文で報告することが今後の「災害検査」の発展に寄与するものと感じている。

我々臨床検査技師は災害の現場において受け身の態度ではダメである。なぜなら、現場で我々のために検査室の立ち上げや機器を準備する者はだれもいない。だからこそ医療資源の乏しい災害時においても患者の客観的データを診療側へ提供できる検査を構築するため、臨床検査技師自身が積極的に動かなければならない。私自身 2 回の JDR 医療チーム派遣を通して、痛感したことを上記に見出しとして書いた。そして私自身への自戒も込めて、次の言葉で締めくくりたい。災害医療で「検査はできない・不必要から抜け出よう！」

意外に知らない hCG の話
～hCG のことホントに分っていますか?～

日本臨床検査自動化学会 POC 技術委員会副委員長
慶應義塾大学医学部臨床検査医学 菊池春人

はじめに

hCG (human chorionic gonadotropin; ヒト絨毛ゴナドトロピン) の尿定性反応はいわゆる妊娠反応として Point Of Care で広く行われているもののひとつと考えられる。今回のセミナーのトピックは POC における免疫定量測定を扱っているが、hCG についても近年血液の定量を行うものが出てきている。演者は、以前より hCG の測定法について意外にきちんと知られておらず、pitfall にはまっていることが多いのではないかと感じている。そこで本講演では、その点を十分理解いただくため、hCG の基本構造、測定の臨床的意義、分子多様性とそれに対応する測定法の多様性、測定上の pitfall について述べていきたい。

A. Pearls of Laboratory Medicine について

まず、最初に Pearls of Laboratory Medicine を紹介させていただきたい。これは、Clinical Chemistry を発刊している AACC (American Association for Clinical Chemistry; アメリカ臨床化学会) が提供している e-Learning 教材で Clinical Chemistry Trainee Council として登録をすれば無料で視聴 (音声による説明もある) できるものである。2013 年より POC 技術委員会幹事委員の神戸常盤大学 坂本秀生教授によって特にアクセスの多いものについての日本語化が進められている。当初 10 項目、現在 14 項目が訳されて、日本語では「臨床検査医学の真珠」として下記 URL で公開されている (日本語版も無料; ただし前述のように登録が必要)。

<https://www.aacc.org/clinical-chemistry-trainee-council/trainee-council-in-japanese/pearls-of-laboratory-medicine>

初回に日本語化されたテーマのひとつに David G. Grenache 博士による "Human Chorionic Gonadotropin" があり、演者はこの訳を担当させていただいた (日本語版タイトルは「ヒト絨毛ゴナドトロピン (hCG)»)。著作権の関係で本テキストに掲載できない図・表などもこの中では示されており、また、本テキスト・講演もかなり参考にしているので、ぜひ登録してご覧いただきたい。なお、その際は音声をミュートしていただくようお願いしたい (演者の変な声が流れてきます (笑))。

B. hCG とは

hCG はすべてを日本語訳にすると、ヒト絨毛性性腺刺激ホルモンと訳すことができる。なお h を小文字とするのは動物種 (human) を表すためである。臨床検査としてはわざわざ「ヒト」、と断る必要はないので、単に CG と略す場合もあるが、治療としてヒト以外の動物に由来するゴナドトロピンも用いられてきたため hCG とする慣例が残っている。分子量約 38,000 の糖蛋白で、受精卵が着床してすぐに妊娠絨毛の栄養膜細胞によって合成され母体血中に入っていくと考えられている。正常妊娠の場合はその後妊娠 6 週ぐらいまで約 2 日ごとに血中濃度が倍となるスピードで急激に増加し、7-9 週でピークとなる。生理的には黄体を刺激し、プロゲステロンを産生させるなどの機能をもつ。

C. hCG の構造

hCG は 2 量体の糖蛋白ホルモンで非共有的に結合している α および β -サブユニットからなる。hCG の α -サブユニットは、下垂体前葉によって合成される 3 つのホルモン (LH, FSH, TSH) の α -サブユニットと同一である。しかし、これらのホルモンの β -サブユニットはそれぞれ異なっており、生物学的特異性につながっている。ただし、hCG と LH の β -サブユニットは非常に似ていて、hCG の方が LH よりもアミノ酸残基数が多く、C 末端側に LH にはない 25 個のアミノ酸が存在しておりこの部分を β CTP と呼ぶことがある。

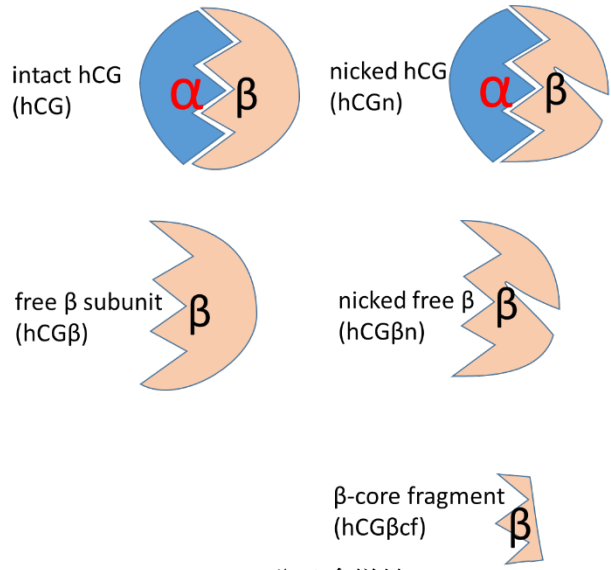
D. hCG の分子多様性

hCG は分子多様性のあるホルモンで、生物学的活性をもつ完全なもの (intact) と一部が分解された

もの(バリエーション)が血液と尿に存在する(下図; ただしこの図はあくまで模式的なものであり、分子構造を全く示していないことを注意されたい。構造については Pearls of Clinical Chemistry の図、あるいは de Medeiros の文献¹⁾を参照されたい。)

バリエーションには

- 1) プロテアーゼによって 47 番目と 48 番目のアミノ酸の間で切断された hCG (以下 nicked hCG)、
 - 2) α -サブユニットと結合していない遊離の β -サブユニット (以下 free β -サブユニット)
 - 3) nick のある free β -サブユニット (以下 nicked free β -サブユニット)
 - 4) β サブユニット中央部分の断片 (以下 β core fragment) がある。
- hCG の最終分解産物である β core fragment だけは、尿にのみ存在するが、それ以外のバリエーションはすべて血清と尿で検出可能である。



hCG の分子多様性

E. 臨床的有用性

1. hCG 測定 の 目的

大きく下記の 4 つあると考えられる。

- a. 正常・異常妊娠(子宮外妊娠、流産)の診断
- b. 絨毛性疾患の診断・経過観察
- c. 絨毛性疾患以外の腫瘍マーカー(後述)
- d. 胎児染色体異常の組み合わせスクリーニング(トリプルマーカーなど)

2. 絨毛性疾患と hCG

絨毛性疾患は(妊娠)絨毛より発生する疾患群で、胞状奇胎、侵入奇胎、絨毛癌、存続絨毛症の 4 つに分類される(表 1)。絨毛性疾患における hCG ほど理想的な感度と特異性を有する腫瘍マーカーはないとされ、治療の開始、効果判定、終了のすべてにおいて最も重要な指標となっている。

表 1 絨毛性疾患の分類

胞状奇胎	絨毛が水腫化して嚢胞状(ブドウの房)のようになったもの これそのものでは腫瘍ではないが、腫瘍の発生母地となる。 受精の異常によって発生すると考えられている。
侵入奇胎	胞状奇胎が子宮筋層へと浸潤していったもの
絨毛癌	絨毛の構造がない絨毛細胞の悪性腫瘍
存続絨毛症	胞状奇胎後に hCG が消失しないが、臨床的に病変が確認できないもの

3. 絨毛性疾患以外の腫瘍マーカーとしての hCG

a. hCG 産生腫瘍

絨毛性疾患以外にも精巣絨毛癌、卵巣絨毛癌、異所性 hCG 産生腫瘍など hCG を産生する腫瘍があり、その場合は感度・特異性の高い腫瘍マーカーとなりうる。これらは発生母地の点で胚細胞性腫瘍と考えることができ、基本的に intact hCG(+free β -サブユニット)を産生する。

b. free β -サブユニット産生腫瘍

精巣のセミノーマ(精上皮腫)の他、種々の臓器由来の悪性腫瘍で free β -サブユニットのみを生ずることがある。この場合は free β -サブユニットが腫瘍マーカーとなりうる。
腫瘍マーカーとしての intact hCG、free β -サブユニットをまとめると表 2 のようになる。

表 2 腫瘍マーカーとしての intact hCG、free β -サブユニット

intact hCG	<ul style="list-style-type: none"> ・妊娠、絨毛性疾患、精巣絨毛癌、異所性 hCG 産生腫瘍のマーカー ・異所性 hCG 産生腫瘍では発生母地として trophoblastic cell との関連?
free β -サブユニット	<ul style="list-style-type: none"> ・絨毛性疾患では intact hCG とともに産生 ・発生母地を問わず、free β-サブユニットが種々の悪性腫瘍で産生される(膀胱癌、胃癌、子宮頸癌、セミノーマ etc.)。 <p>→これらがしばしば hCG 産生腫瘍としてとらえられてしまうことがある。</p>

F. hCG 測定 of 歴史的背景と交差反応性

前述のように、hCG と LH はかなり構造が似ているため、hCG のラジオイムノアッセイが始まった当初は hCG のみに特異的な抗体がなく、LH が交差して測定されていた。従って生理的な LH 濃度より下がることが確認できず、絨毛性疾患の治療目標もこの濃度レベルとなっていた。このような歴史的背景から、しばしば LH との交叉性について質問されることがあるが、最近のほとんどの測定試薬では hCG に特異的な抗体を用いて測定しているため LH との交差反応性はかなり低くなっており、添付文書でも表現は異なるもののそのように記載されているものが多い。従って、通常臨床 LH が hCG として測定されることはないと考えてよい。ただし、試薬によって交差反応性は異なっており、交差反応性について明記されていない試薬もあるので自施設で用いている試薬については確認しておく必要がある。

LH と交差せず hCG のみを認識する抗体は β -サブユニットを認識しているため、測定試薬の中には hCG を特異的に測定していることを強調して β -hCG という表記が使われることがあるのはこのような歴史的背景によるが、これが次に述べる試薬名称と測定対象の混乱につながっていると思われる。

G. 測定試薬名称と測定対象物質の多様性に伴う混乱

現在 hCG およびそのバリエーションのうち基本的な測定対象となっているのは intact hCG と free β -サブユニットである。試薬としては 3 種類存在し、1. intact hCG のみ、2. free β -サブユニットのみ、3. この両者、すなわち β サブユニットをもつものすべてを測定するもの (total β)、である (表 3)。total β を測定しているものは、試薬名に β とついていることが多いが、必ずしもそうでないものもある。

表 3 hCG 測定における対象と代表的試薬名

	測定対象	代表的試薬名 (添付分書などで確認できたもの； 必ずしも網羅的ではない)
hCG (intact hCG)	α 、 β サブユニットのそろった hCG のみ測定	E テスト「TOSOH」II (HCG II) エクルーシス試薬 HCG II STAT
hCG β (free hCG- β)	(α と結合しない)遊離の β -サブユニットのみ測定	IRMA シーメンス・イムライズ フリー β HCG II
hCG+hCG β (total β)	上記両者 (intact hCG+ free β -サブユニット)を測定	アーキテクト β HCG エクルーシス HCG+ β AQT90 Flex β -hCG ルミパルス β HCG イムライズ HCG III

しかし、試薬の中には添付文書からこれらのどれに属するのかが明確になっていないものも多く見られる。なお、いずれのグループの試薬でも試薬によって nicked hCG、nicked free β -サブユニ

ット、 β -core fragment への反応性は異なっているが^{2), 3)}、これらのバリエーションに対する反応性が添付文書に記載されている試薬はほとんどない。

このような背景から、自施設で用いている試薬が何を測定対象にしているかが正確に認識されていないことが多いように感じている。実際米国の話ではあるが、New York 州で行われたサーベイの際に自施設で測定している試薬が intact hCG、total β のどちらを測定しているかを報告してもらったところ、intact hCG と報告した施設のうち 13.1% が実際は total β を、total β を測定していると報告した施設のうち 9.3% が実際は intact hCG を測定していた、という報告がある⁴⁾。E. 臨床的有用性の表 2 にも示したように、intact hCG と free β -サブユニットはその臨床的意義が異なるので、何を測定しているのかは非常に重要で、本来きちんと認識しておかなければいけないことのはずである。

特に注意しないといけないのが、free β -サブユニットと total β の混同である。前述のように β サブユニットが hCG に特異的、ということの先入観があるため、hCG そのもの、すなわち intact hCG を特異的に測定していると考えて free β -サブユニットを測定してしまっている場合がときどき見受けられるが、これは intact hCG を全く量り込まないので意味をなさない。衛生検査所(検査センター)の free β -サブユニットの測定でも項目名称も単に「HCG- β サブユニット」としているものがあるので非常に分かりにくく、また臨床的意義の説明でも不正確なもの(intact hCG と free β -サブユニットを混同しているもの)も散見されるので誤解を招く可能性がある。論文などでもこれが理解されておらず、free β -サブユニット産生腫瘍が hCG 産生腫瘍とされている場合もあると考えている。

H. 測定法(試薬)使い分け(演者案)

どの測定法(試薬)を選択すべきなのか、ということを考える場合、まずその症例で何を測定すべきなのか、ということを考える必要がある。これについては E. 臨床的有用性で述べたことが参考となる。具体的にどのように使い分けるか、という点についてであるが、本来はまず intact hCG と free β -サブユニットの両者の測定を行えるのが望ましい。しかし、残念ながら、現在健康保険上両者を同時に測定した場合、1 項目しか算定できない、というコスト上の問題がある。慶應義塾大学病院では、現在 intact hCG を院内処理、free β -サブユニットを外部委託として、混乱を招くために total β については基本的には依頼を受けていない。total β は両者を兼ねるメリットはあるものの、intact hCG なのか free β -サブユニットだけなのか区別できないため、組織鑑別には役に立たず、また、通常検出限界の点で intact hCG、free β -サブユニットを単独で測定するものに比べて劣る点があるということを理解しておきたい。従ってある程度目的を定めて、intact hCG あるいは free β -サブユニットどちらかを測定するのがひとつのアプローチであると考えられる。まとめると演者は使い分けについては表 4 のように考えている。

表 4 hCG 測定法(試薬)の使い分け 演者案

-
- ・ 本来は intact hCG と free β -サブユニットをそれぞれ測定することが望ましい
 - 特に発生母地(組織型)の推定、悪性度の評価には両者の測定が必要
 - 精巣腫瘍では経過中に組織型が変化することがある
- (ただし、現状は同時測定の場合 1 項目しか保険算定できない)
- ・ 絨毛性疾患、妊娠の follow up では intact hCG あるいは total β のみでもよい
 - ・ free β -サブユニットしか産生しない腫瘍は free β -サブユニットのみがよい
 - total β の測定では相対的に free β -サブユニットの検出感度が悪い。
-

I. 低濃度 hCG の持続 (persistent low hCG)

1. 低濃度 hCG 持続の問題点と原因

妊娠や hCG 産生腫瘍ではないのに、低濃度の hCG が持続することがあり、特にこれは絨毛性疾患の治療経過を見ていく際に寛解なのかどうか判定できないため問題となる。また、妊娠を疑われて X 線診断の遅れを招いたり、悪性腫瘍が疑われて不必要な治療につながったりする可能性もある。低濃度 hCG 持続の原因としては、測定法上の問題(測定を妨害する抗体の存在など)と下垂体性 hCG が考えられる。前者については異なる抗体を用いた試薬での再測定、希釈直線性の確認、抗体が存在しない尿での測定などで確認できる。

2. 下垂体性 hCG

下垂体由来に hCG が産生されることが知られており、特に性腺機能が抑制されている場合(閉経後女性、卵巣摘除後など)は分泌が亢進し、測定法によって 30 IU/L ぐらいになることがあるとされている。この場合は LH、FSH など他の下垂体性ゴナドトロピンも増加していることが多く、性腺ホルモン補充を行って下垂体による hCG 産生を抑制することで確認できる。

J. hCG 測定系への妨害

測定そのものへの妨害として抗原過剰による偽低値化(フック現象)と β core fragment (hCGcf) による偽低値化、偽陰性化が知られている。いずれもメカニズムとしては抗体-抗原-抗体複合体形成が阻害されることによるものである。

1. 抗原過剰による偽低値化(フック現象)

抗原抗体反応を用いた検査では抗原過剰による偽低値はつきものである。hCG はホルモンの中では非常に高濃度になることがあるため、測定試薬もかなり意識はしており、500,000 IU/L のようになり高濃度まではフック現象が起きない、としているものが多いため、偽低値化して希釈が不要な濃度まで低下することは少ないと思われる。しかし、試薬によってはそこまでの濃度で確認していないものもあるので注意は必要である。

なお、蛇足ではあるが、抗原過剰による偽低値化はプロゾン現象という呼び方が一般的になってしまっているが、本来プロゾン現象は抗体過剰の場合を指し、抗原過剰の場合はポストゾン現象と呼ぶべきであり、ここでは偽低値化ということでフック現象という表現をとっている。

2. β core fragment による偽低値化、偽陰性化

これは試薬で使用されている抗体のうち、一方だけが β core fragment を認識しているときに起きる現象である。hCG バリエントのうち、偽低値、偽陰性となるほどの影響を与えるものは β core fragment だけと考えてよく、 β core fragment は尿にしか存在しないので、尿で hCG 測定を行ったときに問題となる。定量法で偽低値化することも示されているが⁵⁾、あまり尿での hCG 定量は行われないので、特に問題となるのは尿定性反応(妊娠反応)であると考えられる。Gronowski らは尿定量値(intact hCG)が 100,000~273,000 IU/L であるのに β core fragment が多く存在したため、Point of care で用いられる尿定性試薬が陰性化した、という 3 例の報告をしている⁶⁾。

K. そのほかの pitfall

1. 測定値の非互換性

intact hCG のみを測定するものと、total β の試薬では測定対象が異なっているため、値付けをした標準物質は同じでも当然実検体の測定値は異なることになる。さらに intact hCG の測定試薬の間、あるいは total β の測定試薬の間でも、hCG バリエントの反応性が異なるため、同じ検体を測定しても異なった値となってしまうというように、定量法間での測定値の互換性がないのが現状である。

2. 尿定性試薬の感度差と尿濃縮の問題

国内で市販されている Point of care で用いられる尿 hCG 定性試薬では検出感度が 25 IU/L (25mIU/mL)としているものが多いが、200 IU/L のものもあるというように検出感度(検出限界)が異なっているため、妊娠時に陽性となる時期が異なることになる。また、尿であるのでそのときの水分量によって濃縮の程度が異なり希釈尿では hCG 濃度が低くなり陽性率が低くなってしまいうという問題がある。従って、前述の β core fragment による偽陰性も含めて尿定性試験での妊娠判定は陰性でも妊娠を否定できない、という注意が必要である。救急医療においては尿より血液の方が得やすいこともあるため、今後血液での hCG 測定へのシフトが考えられ、実際米国ではそのようになっているともいわれている。

おわりに

Take home message

何を目的として hCG を測るの?
この測定法(試薬)でそれが測れるの?
(ホントに free β -サブユニットでいいの)
測定結果に妨害はない?

ということ、特に intact hCG なのか free β -サブユニットなのかはぜひ意識をして hCG の測定に関わっていただきたいと願っている。

参考文献

1. de Medeiros SF, Norman RJ. Human choriogonadotrophin protein core and sugar branches heterogeneity: basic and clinical insights. Human reproduction update 15: 69-95, 2009
2. Whittington J, Fantz CR, Gronowski AM, et al. The analytical specificity of human chorionic gonadotropin assays determined using WHO International Reference Reagents. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 411: 81-5, 2010
3. Cole LA, DuToit S, Higgins TN. Total hCG tests. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 412: 2216-22, 2011
4. Cao ZT, Rej R. Are laboratories reporting serum quantitative hCG results correctly? Clinical chemistry 54: 761-4, 2008
5. Grenache DG, Greene DN, Dighe AS, et al. Falsely decreased human chorionic gonadotropin (hCG) results due to increased concentrations of the free beta subunit and the beta core fragment in quantitative hCG assays. Clinical chemistry 56: 1839-44, 2010
6. Gronowski AM, Cervinski M, Stenman UH, et al. False-negative results in point-of-care qualitative human chorionic gonadotropin (hCG) devices due to excess hCG beta core fragment. Clinical chemistry 55: 1389-94, 2009

上記のうち 3 の Cole LA による文献は全般的な参考書ともなっているが、hCG の構造については 1 の de Medeiros SF によるものが詳しい。

なお、今回テキストを書く際にネットで検索をしていて、文献 6 の著者である Gronowski AM による下記 URL の pdf を発見した。詳しい説明はないが、図表は参考になり、演者といいたいことが共通しているので(いつまでダウンロードできるかが分からないが)一読の価値はあると思う。

http://www.ctti-clinicaltrials.org/files/Pregnancy_Testing/4%20Gronowski%20Analytical%20&%20Clinical%20Complexities%20of%20Measuring%20hCG.pdf

日本語ではなんといっても最初に述べた、Pearls of Laboratory Medicine が(訳者なので手前味噌ともなるが)お勧めであるので、ぜひご覧いただきたい。

実習テーブル ①

実習のテーマ：ラピッドピア／H-FABP、BNP、Dダイマー

概要：

蛋白質分析装置ラピッドピア®とその専用試薬ラピッドチップ® シリーズは、免疫クロマト法の原理に基づき、ラピッドチップ®（試薬デバイス）のテストラインの反射光強度をラピッドピア®で読み取り、その値を換算することで測定対象項目の濃度を算出する。





今回の実習では、2015年4月発売のヒト心臓由来脂肪酸結合蛋白キット「ラピッドチップ® H-FABP」を例に、当装置と試薬の概要および使用上の注意点について解説する。

実習方法

解説1： 製品概要 注意点

1. 装置と試薬の概要説明
2. 検体取扱いの注意点
3. 測定時の注意点
4. 精度管理

解説2： 操作手順

Step 0	Step 1	Step 2	Step 3
 <ul style="list-style-type: none"> ・試薬ロット情報登録 	 <ul style="list-style-type: none"> ・ID、検体情報入力 ・試薬デバイスを装置にセット ・検体を試薬デバイスに滴下 	 <ul style="list-style-type: none"> ・「Enter」キーを押して測定開始 	 <ul style="list-style-type: none"> ・結果(定量値)報告

実習

コントロールを用いて実際の操作手順を体感する。

実習装置概要

装置名	ラピッドピア®
製造販売元	積水メディカル株式会社
測定時間	10～15分(項目による)
測定項目	H-FABP、BNP、D-dimer



実習テーブル ②

実習のテーマ: プラームスPCT-Q / プロカルシトニン(PCT)

詳細:

プロカルシトニン(PCT)は、敗血症(細菌性)の鑑別診断及び重症度判定に有用な検査として様々な診療科でその有用性が認められており、広く利用されている。

本検査には定量法と半定量法があるが、今回の実習では装置を必要とせず、簡便で迅速にプロカルシトニンを測定できる半定量法の試薬について、使用上の注意点や判定上の留意点について学ぶ。

実習方法

実習1: 検査の準備

1. 検体の保存
採血後、室温保存では**4時間以内**に検査する。
検査を翌日に持ち越す場合は、血清または血しょうを凍結保存する。
2. 試薬の準備
試薬を冷蔵保存している場合は、使用前に**室温に戻して開封**する。
(使用する直前に開封する)

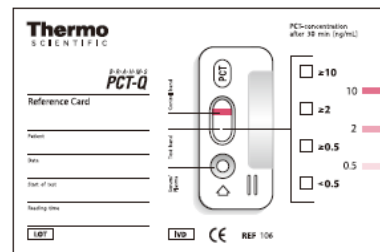
実習2: 測定時の注意点

1. 検体の滴下
試薬開封後は**速やかに**検体を滴下する。
血清または血しょうを、キットに同封のスポイトで**6滴**、またはマイクロピペットで**200 μ L**をカセットに滴下する。
2. 滴下後
30分間 静置する。



実習3: 結果判定への留意点

1. 試料滴下後の30分から45分の**15分間**で判定をする。
2. **コントロールラインの有無を確認**する。
3. テストラインの色調をリファレンスカードのカットオフの色調と比較する。
4. 判定に迷う場合は**複数の技師**で判定をする。



実習装置概要

装置名	プラームス PCT-Q
製造販売元	和光純薬工業株式会社
使用目的	細菌性敗血症の診断・重症度判定
特長	操作が簡便で、30分で迅速に判定できます



実習のテーマ: スポットケムバナリスト/腎機能マーカー・シスタチンC

詳細:

血清シスタチンCは、腎機能を簡便に評価できるマーカーとして有用視されている一方、診療報酬請求上の制限等から広く院内測定が普及しているわけではない。しかし、クレアチニンに比べ「筋肉量、性差、食事等の影響を受けにくく、体格の違い等を考慮せず腎機能(クリアランス)を評価できる」点や、「顕性腎症前期段階から測定値が上昇し、より早期に腎症のコントロールが可能である」点など、有用性も高い。

今回の実習では、慢性疾患管理に用いられるシスタチンCのPOCT測定における有用性に加え、測定手技、測定時の注意点を解説する。

実習方法

解説1:
シスタチンCをPOCTで測定することの意義

1. クレアチニンに比した臨床的有用性の高さ
 - ・筋肉量の影響を受けないため、男女、成人小児を考慮せず腎機能評価が可能。
 - ・クレアチニンより早期に腎機能低下を反映。
2. 慢性腎臓病の腎機能検査をPOCTで実施する意義
 - ・慢性疾患であるため、次回来院までの期間が長い。院内検査の必要性。
 - ・少検査数の場合、液状試薬+自動分析装置運用では廃棄のリスクがある。

実習1:
検体測定

1. 検体採取: 専用キャピラリーに採取
2. キャピラリーを測定用チップにセット



3. 測定用チップを装置にセット
4. スタートボタンを押す



⇒約8分後、測定結果が画面に表示され、またプリンタに印字される。

実習装置概要

装置名	スポットケム バナリスト SI-3620
製造販売元	ローム株式会社 (発売元 アークレイ株式会社)
処理能力 ・ 測定時間	7分30秒~7分57秒/検体 (項目による)
測定項目	CysC、HbA1c、CRE、hsCRP



実習テーブル④

実習のテーマ: トリアージテストメーター/心筋マーカー4項目、Dダイマー

詳細:

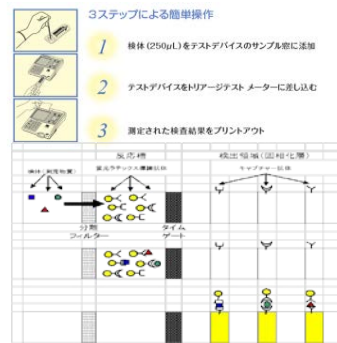
POCで測定可能な循環器バイオマーカーは、免疫アッセイ法を用いた製品が主流となっている。従来は、項目によっては、目視定性のタイプが用いられ、大型の機器が必要な場合もあり、臨床側のニーズである迅速性と定量性の双方を満たすことは容易ではなかった。

昨今、小型で迅速に定量測定が可能な循環器バイオマーカーがいくつか開発されてきているが、その中でも、海外での有用性が認知され汎用化されている循環器バイオマーカー測定システム「トリアージ」を取り上げる。今回、小型でかつ迅速に何種類かの心筋マーカーを一台のPOC機器で測定することが可能な装置「トリアージ」の実習を通じてその臨床的な有用性を解説していく。

実習方法

解説1:
簡便な測定方法、
全血測定のポイント

1. オールインワンシステムのメリット
⇒ 試薬デバイスとピペット類の消耗品が同梱
2. 全血検体をフィルターで血漿様成分に分離し、反応部分に移動。血漿のダイレクト測定も可能
3. 反応部分に複数の抗体バンドを固定する事により、同一デバイスで複数項目の同時測定が可能



解説2:
高い精度の測定結果

1. ワンタッチサンプリングのメリット
⇒ 測定者によるサンプリング手技の差を最小化
2. 検査室同等の測定精度を実現した、レーザー光による蛍光免疫測定法の解説
⇒ レーザー光による安定した、高い蛍光発光測定により、検査室同等の精度実現
3. 内部精度管理パットの採用による各種誤差要因による精度影響の回避
⇒ データ信頼性の担保のための各種検出機構



実習1:
検体測定

- 検体測定
1. 実際の測定手順を体感する。
 2. 複数試薬の同時連続測定も体験

実習装置概要

装置名	Triage Test Meter (トリアージテストメーター)
製造販売元	アリアメディカル株式会社
処理能力 ・ 測定時間	最大23テスト/時 (連続測定時) 69測定 約15分 (各項目)
測定項目	CP試薬 (Tnl、Myo、CK-MB同時測定) NT-proBNP、D-Dimer



実習テーブル ⑤

実習のテーマ： シオノスポットリーダー／BNP

詳細:シオノスポットリーダーは蛍光免疫測定法(FIA)を原理とし、BNPのPOCTを目的とした迅速簡易測定装置である。

この装置は測定現場において結果が迅速(15分)で得られることで、検査当日に結果を知ることが出来、また、軽量(2.1kg)であるため、持ち運びにも便利である。

今回の実習ではシオノスポットリーダーを用いた操作における注意点、および装置の特徴について解説する。

実習方法

1 BNPとは

BNP(ヒト脳性ナトリウムペプチド)は心臓から分泌されるホルモンの一種で、心臓の機能低下を早期に反映し、心不全の重症度に応じてその血中濃度が上昇する。心不全の病態把握に役立つ。

2 測定手順

<p>Step 1</p>  <p>検体IDを入力</p>	<p>Step 2</p>  <p>検体を採取 検体と検体希釈液を混合</p>
<p>Step 3</p>  <p>テストカートリッジに混合試料を添加</p>	<p>Step 4</p>  <p>シオノスポットリーダーにテストカートリッジを挿入 結果の確認</p>

3 測定上の注意

- ・測定時: 試薬を測定温度(15~30℃)に戻す。
- ・検体分注: 30秒以内にテストカートリッジを挿入。
- ・テストカートリッジと抗体チップ: アルミ袋開封後60分以内に使用
- ・試料分注: 付属のピペットボタンをゆっくり押し込んで戻す作業を10回し、70μl分注
- ・検体採取時: 吸引血液を吐出させない
- ・測定環境: 15~30℃
- ・測定時間: 約15分以内

実習装置概要

装置名	シオノスポットリーダー
製造元	塩野義製薬株式会社
販売元	フクダ電子株式会社
処理能力・測定時間	1検体/バッチ 約15分以内
測定項目	BNP



実習のテーマ: AQT90 FLEX/AcuteCareマーカー、主にβhCG

詳細:

イムノアッセイ法を用いたPOCTは多岐に渡り、その測定項目も様々なものがある。特に妊娠マーカーであるβhCGは尿による定性試験による結果報告が簡易的でよく使用されているが、救命救急の現場において定量による結果報告の有用性が報告されている(参考資料;QAジャーナルNo.26)。

POCの現場からは、より簡単で、より早く、検査室レベルの高い測定精度、データ管理可能な装置の要望が上がっている。今回の実習では、POCTはこれらの要望にどこまで答えられるかについて解説するとともに、最新型のPOC対応免疫測定装置である、AQT90 FLEXの測定項目でも特にβhCGに着目し、他測定項目や測定精度などについて解説してゆく。

実習方法

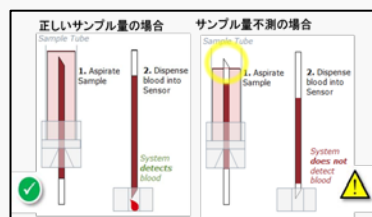
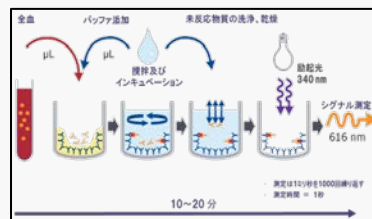
解説1:
測定項目(βhCG)を含む迅速測定装置の概要

装置の概要を解説

- 測定パラメーター概要 ;βhCGを含む8項目を測定可能
QAジャーナルNo.26より、βhCGの定量結果報告の有用性について
⇒子宮外妊娠の判断症例をご紹介
- 消耗品
- メンテナンススケジュールの確認

解説2:
高い精度の測定結果

- オートサンプリングのメリット
⇒オペレータの手技の差を是正
- 検査室同等の測定精度を実現した、時間分解蛍光免疫測定法の解説
⇒Euによる安定した、高い蛍光発光により、検査室同等の精度実現
- 検体不足による誤報告を防ぐための、ショートサンプル検出機能の有用性
⇒高感度の測定が可能のため、少しの検体不足もデータ不良の原因



実習1:
検体測定

- 検体測定
- 実際の測定手順を体感する

実習装置概要

装置名	AQT90 FLEX
製造販売元	ラジオメーター株式会社
処理能力 ・ 測定時間	最大30テスト/時 ・ 10~20分(項目による)
測定項目	TnT、TnI、Myo、CK-MB、NT-proBNP、D-Dimer BhCG、CRP



実習テーブル ⑦

実習のテーマ:コバスh232/Dダイマー

詳細:

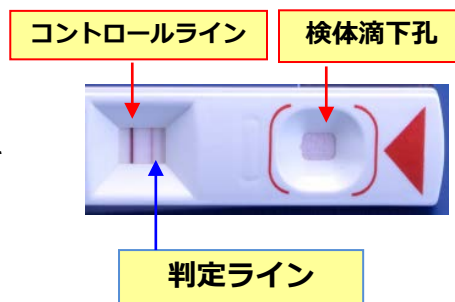
POCで用いられている分析装置は、遠心等の検体前処理が必要ない“全血”による分析が求められている。そのため、免疫分野では、血漿分離が容易なイムクロマトグラフィー法を活用した製品が主流となっている。しかし、POCの現場からは、より簡単で、より早く、検査室レベルの高い測定精度、データ管理可能な装置の要望が上がっている。

今回の実習では小型POC装置である、コバスh232を例にとり、Dダイマー検査の臨床上の有用性、運用方法、使用上での留意点を実習を通して解説する。

実習方法

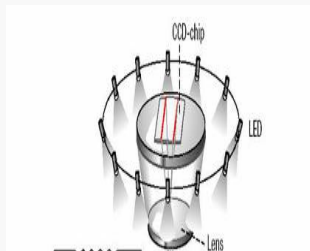
実習1 全血測定のポイント

- 1、イムクロマト法用いた試薬測定原理を説明
→実際にコントロール用いて体験する
- 2、留意点
→カーディアックシリンジ用いて150 μ Lを正しく滴下する
→検体量不足時のエラー
→検体量多すぎる場合のエラー



実習2 装置測定手順

- 1、h232操作手順を体験する
→試薬を挿入しコントロールを滴下し簡単な操作を体験する
- 2、CCDカメラチップによる定量性説明



解説

- 1、産婦人科領域でのDダイマー検査有用性について解説
→産婦人科領域におけるDダイマー検査の広がりと臨床上の事例解説

実習装置概要

装置名	コバスh232
製造販売元	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
測定時間	8分～12分(測定項目による)
測定項目	TnT、Myo、CK-MB、NT-proBNP、D-Dimer



実習のテーマ： PATHFAST / プレセプシン

詳細:

POCで用いられている分析装置は、遠心等の検体前処理が必要ない“全血”による分析が求められている。そのため、免疫分野では、血漿分離が容易なイムクロマトグラフィー法を活用した製品が主流となっている。しかし、POCの現場からは、より簡単で、より早く、検査室レベルの高い測定精度、データ管理可能な装置の要望が上がっている。

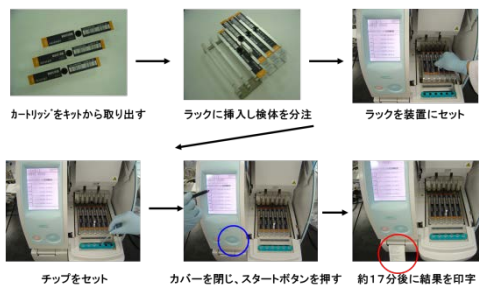
今回の実習では、最新型のPOC対応免疫測定装置である、PATHFASTを例にとり、臨床現場で緊急性の高い敗血症マーカー「プレセプシン」の測定を実施、その測定に関する注意等を解説する。

実習方法

解説1:
簡便な測定方法、
全血測定のポイント

1. 検体は、全血、血漿を選択可能である。
⇒遠心分離等の前処理が不要
2. 専用試薬カートリッジへの分注、装置測定ステージへのセットし、測定開始。
⇒簡易操作による汎用性向上

パスファースト測定手順



解説2:
敗血症マーカー
プレセプシン

1. 敗血症マーカー“プレセプシン”について説明する。
2. 検体: 血漿又は全血 (ヘパリン又はEDTA加採血管推奨)
⇒血清検体での測定は不可。
3. 検体取扱い上の注意
⇒激しい攪拌、及び長時間の攪拌を避けること。

<使用目的>

敗血症(細菌性)の診断の補助

■ 保険収載:平成26年1月1日

保険点数 : 320点

備考 : プロカルシトニン半定量、定量検査 (320点) 又は、エンドキシン定量検査 (270点) を同時に実施した場合には主たるもののみを算定する。

『敗血症に移行する前から血中濃度が上昇する蛋白』という由来で、**プレセプシン**と命名されました。

前 pre + 敗血症 sepsis + 蛋白 protein → **Presepsin**

実習1:
検体測定

- 検体測定
1. PATHFASTを用いてプレセプシン試薬の測定手順を体感する

実習装置概要、

装置名	PATHFAST
製造販売元	株式会社LSIメディエンス
処理能力 ・ 測定時間	最大18テスト/時 ・ 17分/30分(＊)
測定項目	cTnl, Myo, CK-MB, BNP, D-Dimer, Presepsin, ＊ TAT ＊

