

医療検査と自動化

(日本医療検査科学会誌)

Clinical Laboratory Science Journal

理事長から年頭のご挨拶

第36回春季セミナー公告(第2報)

第54回大会公告(第2報)

総説:甲状腺機能検査の再検基準…日高 洋

2022年度学会予定

第36回春季セミナー/4月17日(日)

例会長・末岡榮三朗 於:ホテル グランドはがくれ

第54回大会/10月7日(金)、8日(土)、9日(日)

大会長・日高 洋 於:神戸国際会議場



一般社団法人

日本医療検査科学会

The Japan Association for Clinical Laboratory Science

2022
VOL.47
通巻第261号

1

HITACHI

Inspire the Next

日立自動分析装置

LABOSPECT 006



技術と使いやすさを追求した、
検査室の頼れるパートナー。

製造販売届出番号：08B2X10005000038
一般的名称：ディスプレイ方式臨床化学自動分析装置
一般医療機器
(特定保守管理医療機器該当、設置管理医療機器該当)

遠隔モニタリングシステム

LABOSPECT mobile



・専用Wi-Fiの通信エリア内に限ります。
・本製品は医療機器ではありません。

みるみる広がる

MiRuDa

LABOSPECT
mobile

反応過程近似解析ツール

MiRuDa



・本製品は医療機器ではありません。

日立自動分析装置

LABOSPECT 008 α

検査室の声を「プラスアルファ」して生まれた新機能で、
検査業務のワークフローを効率化。



製造販売届出番号：08B2X10005000041
一般的名称：ディスプレイ方式臨床化学自動分析装置
一般医療機器
(特定保守管理医療機器該当、設置管理医療機器該当)

LABOSPECT mobile、MiRuDaの接続可能な装置は、LABOSPECT 006、LABOSPECT 008 αです。

製品情報は
こちらから



Webで行く
展示会
ハイテックEXPO
こちらから▶



臨床検査に
携わる方のサイト
LabCircle
こちらから▶



株式会社 日立ハイテック

本社 〒105-6409 東京都港区虎ノ門 1-17-1 虎ノ門ヒルズビジネスタワー
お客様サポートセンタ 03-3504-7211

www.hitachi-hightech.com/jp/science/

北海道(札幌) 080-8021-5427 東北(仙台) 080-8438-0969 中部(名古屋) 080-8420-6408
関西(大阪) 080-8020-3544 九州(福岡) 080-9564-0285

<年頭のご挨拶>

新年、あけましておめでとうございます。

旧年中も学会員ならびに関連の皆様より、学会の発展にむけ多大なるご協力を賜りまして改めて感謝を申し上げます。

本学会は創設から50年にわたる歴史があります。さらに、2020年1月6日に名称変更登記が完了し、日本医療検査科学会(The Japan Association for Clinical Laboratory Science: JCLS)となりました。この間、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)が社会に大きな影響を与え続けました。さまざまな社会の変化、課題があるなかで、そこから学び、本学会がますます発展する飛躍の一年であることを願ってやみません。

本学会はこれまで、メディカルテクノロジー、産学連携の観点からも本邦の医学・医療の両面の発展に大きく貢献してまいりました。この間、本邦の検査室の自動化、迅速化は目を見張るものがあり、世界の医療の発展にも寄与できていると思います。本学会もこれまでの日本臨床検査自動化学会の名称が示すように、この分野の発展に貢献し、成果を上げ続けています。これもひとえに本分野に携わってこられた多くの皆様のお力の賜物であり、改めて敬意とともに心よりの感謝を申し上げます。

コロナ禍での様々な制約があるものの、可能な範囲で学会活動を活発に行なっています。昨年4月18日に沖縄で前田士郎例会長のもと、第35回春季セミナーが開催されました。さらに、10月8日-10日にパシフィコ横浜にて柳原克紀大会長のもと、日本医療検査科学会第53回大会が嚴重な感染対策のもと、現地で開催されました。JACLaS EXPO 2021(日本臨床検査機器・試薬・システム振興協会主催)も開催されました。春季セミナーと合わせて、英知を結集し、準備を進めて頂き、有意義な会を開催できました。本学会、JACLaS、ご支援を頂いた関係の皆様へ改めて御礼を申し上げます。

2022年も4月17日に佐賀にて末岡榮三朗例会長のもと、第36回春季セミナーが開催されます。また、10月7日-9日に神戸国際会議場にて日高洋大会長のもと、第54回大会が現地で開催されます。万全な感染対策を盛り込み、活発な議論の場、学術発表の貴重な機会、そして産学連携の発展の場として、学会運営を進めていきます。皆様のご理解とご支援を引き続きまして何卒よろしくお願ひ申し上げます。

本学会も次の50年にむけて、一層の発展を願ひ一致協力して邁進したいと思ひます。本年も皆様の益々のご活躍と本学会の発展を祈念し、新年のご挨拶と致します。本年も何卒よろしくお願ひ申し上げます。

理事長 和田 隆志

日本医療検査科学会

第36回春季セミナー公告(第2報)

テーマ：PHRと臨床検査－個別化医療における検査医学の役割－

例会長：末岡 榮三朗 佐賀大学医学部臨床検査医学講座 教授
佐賀大学医学部附属病院検査部・輸血部 部長

会期：令和4年4月17日(日)

会場：ホテル グランドはがくれ
〒840-0815 佐賀県佐賀市天神2-1-36
TEL：0952-25-2212

参加費：2,000円

各種委員会：令和4年4月16日(土)11:00～18:00

ホテル グランドはがくれ(背振の間、多良の間など)

プログラム委員会、理事会、学術委員長会議、科学技術委員会、POC技術委員会、
遺伝子・プロテオミクス技術委員会、血液検査機器技術委員会、医療情報委員会、
微生物検査・感染症委員会、生理検査委員会、国際交流委員会、編集委員会、
認定POCC WG、遺伝子・プロテオミクス WG



————プログラム概要————

開会の挨拶

理事長 和田 隆志 金沢大学 腎臓内科学・腎病態統御学 教授
例会長 末岡 榮三朗 佐賀大学臨床検査医学講座 教授

【シンポジウム1】 9:00～11:00

「ビッグデータ利活用とPHR構築に必要な課題と取り組み」

- 検査データの標準化から精度管理
- 検査データの共有化のしくみの構築
- ビッグデータの利活用の推進
- 地域医療における医療情報の連携

【招請講演I】 11:00～11:50

座長 松下一之 千葉大学医学部附属病院 検査部 部長
がん遺伝子パネル検査はがん医療をどのように変化させたか(仮)
豊岡 伸一(岡山大学呼吸器・乳腺内分泌外科学 教授)

【ランチョンセミナー】 12:00～13:00

【機器・試薬セミナー】 13:00～14:20

【シンポジウム2】 14：20～15：20

座長 橋口照人 鹿児島大学医学部 循環器・呼吸器病学講座 教授
「臨床現場への AI/Deep learning の導入はどこまで進んだか？」

【招請講演Ⅱ】 15：20～16：00

佐賀県における糖尿病対策と PHR
安西 慶三(佐賀大学医学部肝臓・糖尿病・代謝内分泌 教授)

閉会の挨拶 16：00～16：10

例会長 閉会の辞
末岡 榮三朗 佐賀大学臨床検査医学講座 教授
次期大会長ご挨拶
日高 洋 大阪大学医学部附属病院 臨床検査部 部長
次期例会長ご挨拶
藤巻 慎一 東北大学病院 診療技術部 部長

事務局：日本医療検査科学会(旧：日本臨床検査自動化学会)第36回春季セミナー事務局
〒849-8501 佐賀県佐賀市鍋島5-1-1
佐賀大学医学部附属病院検査部・輸血部内
TEL：0952-31-6511(内線3242) FAX：0952-34-2028
E-mail：sm2164@cc.saga-u.ac.jp

日本医療検査科学会

第54回大会 大会公告(第2報)

大会テーマ：「医療を支える科学的な臨床検査」



会 期：2022年10月7日(金)～9日(日)
会 場：神戸国際会議場
(神戸市中央区港島中町 6-9-1 TEL：078-302-5200)

大 会 長：日高 洋
(大阪大学医学部附属病院臨床検査部・部長)

大会事務局：日本医療検査科学会
TEL：03-3813-6635 FAX：03-3813-6679
E-mail：office@jcls.or.jp

演題募集期間：2022年4月1日(金)～4月30日(土)



プログラム大綱

- 特別講演 「医療データの流通と利活用の時代に向けて
～未来医療の姿と実現のための課題～」
- 理事長講演 「バイオマーカー開発と産学連携への期待」
- 教育講演1 「臨床検査分野で必須の統計処理法と活用の要点」
- 教育講演2 「臨床検査技師、自身の振り返りと後輩へのメッセージ」
- モーニングセミナー1 「化学検査の再検基準(仮題)」
- モーニングセミナー2 「血球計数と血液凝固検査の再検について
(仮題)」

< 企画中 >

シンポジウム、技術セミナー、ランチョンセミナー、サテライトセミナー、
機器・試薬セミナー、RCPC、論文賞受賞講演、
JACLaS Award I・II、他

目次

学会ニュース

総説

甲状腺機能検査の再検基準 日高 洋 (3)

原著

定量限界に着目した7種の市販クレアチニン測定試薬の評価 廣瀬 靖華 (9)

技術

生化学自動分析装置における血漿検体用採血管からの直接サンプリングによる
測定値への影響 伊藤 幸紀 (20)

イソクエン酸デヒドロゲナーゼを用いたMg測定試薬の開発検討 金剛寺亜吏 (29)

全自動尿分析装置オーションマックスAX-4061尿中ケトン体定性試験における
異常発色検知システムの構築 中田 浩貴 (34)

イムノクロマト法によるHBs抗原偽陰性症例に対するHBV-DNA解析 柳田 昂平 (38)

生化学自動分析装置を用いたアポリポタンパクE含有高比重
リポタンパクコレステロール測定試薬の性能評価 渡部 芽以 (43)

全自動免疫測定装置HISCL™-5000を用いたC型肝炎ウイルス抗体キット
HISCL™ HCVA_{II} 試薬の基礎的性能評価 中村友紀子 (50)

ADVIA CentaurによるLPS結合蛋白 (LBP) 測定の
関節リウマチ患者血清を用いた基礎的検討 石田 秀和 (55)

自動化学発光酵素免疫分析装置Accuraseedを用いた
「アキュラシード アルドステロン・S」の性能評価 酒井 昭子 (60)

全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i50によるAFP,
AFP-L3およびPIVKA-II測定試薬の基本性能評価 家原 暉恵 (65)

症例

甲状腺ホルモンFT₄・FT₃が偽高値となった検体の分析 齋藤 邦子 (75)

生理検査委員会2020アンケート 集計 概要 (78)

理事会議事録 (89)

CONTENTS

JCLS News**Review**

Criteria for re-examination of thyroid function test Yoh Hidaka···(3)

Original

Evaluation of performance characteristics focusing on the limit of quantification
in seven commercial creatinine reagents Yasuka HIROSE···(9)

Reports

Effect of direct sampling from plasma sample blood collection tube in clinical
chemistry analyzer on measurement results Kouki ITO···(20)

Development study of Mg measurement reagent using
isocitrate dehydrogenase Asato KONGOJI···(29)

Construction of abnormal color reaction detection system for urinary ketone
bodies in fully automated urine analyzer AUTION MAX AX-4061 Hiroki NAKADA···(34)

Analysis of HBV-DNA sequence in 1 case with Espline
HBs antigen showed false-negative Kohei YANAGIDA···(38)

Evaluation of apolipoprotein E-containing high-density lipoprotein cholesterol
measuring reagent using automatic biochemical analyzer Mei WATANABE···(43)

Basic performance evaluation of Hepatitis C virus antibody kit HISCLTM HCVAbII
reagent using fully automated immunoassay system HISCLTM-5000 Yukiko NAKAMURA···(50)

Fundamental Evaluation of LPS Binding Protein (LBP) Measurement by
ADVIA Centaur using Sera from Rheumatoid Arthritis Patients Hidekazu ISHIDA···(55)

Evaluation of Accuraseed Aldosterone · S, a reagent for measuring aldosterone,
with automated chemiluminescent enzyme immunoanalyzer Accuraseed Akiko SAKAI···(60)

Evaluation of the reagent for measurement of AFP, AFP-L3 and PIVKA-II by
auto-fluorescent immunoassay analyzer μ TAS wako i50 Akie IEHARA···(65)

Case Report

Analysis of specimens showing false high levels of thyroid hormone FT₄/FT₃ Kuniko SAITO···(75)

The summary of the 2020 survey by Committee on Physiological Tests, Overview (78)

Boad Meeting Minutes (89)

甲状腺機能検査の再検基準

Criteria for re-examination of thyroid function test

日高 洋

はじめに

私は臨床検査専門医として臨床検査部の管理・運営をするとともに、甲状腺学会専門医でもあるため甲状腺疾患患者の診察も行っている。甲状腺機能検査の測定機器・試薬は進化し、短時間で正確に測定できるようになった。したがって、甲状腺機能検査は診察前検査として行うことが多いが、再検になると約30分余分に患者に待ってもらう必要がある。甲状腺機能は甲状腺刺激ホルモン（TSH）、遊離トリヨードサイロニン（FT3）、遊離サイロキシニン（FT4）のうちの2～3項目を同時に測定して総合的に判断するため、1項目の誤報告が直ちに誤った治療につながる可能性は低い。したがって、甲状腺機能の診察前検査については再検を行わず出来るだけ早く結果を報告してもらいたいと思っている。一方、誤った結果を報告する可能性があるのなら時間がかかっても再検をすべきであるという技師の意見もよくわかる。そこで、医師と技師がお互いに受け入れ可能な甲状腺機能検査の再検方法について検討した。

現状の分析

当院では、TSH、FT3、FT4を東ソー株式会社 of 全自動化学発光酵素免疫測定装置AIA-CL2400とその専用試薬（AIA-バックCL TSH、AIA-パ

ックCL FT3、AIA-バックCL FT4）で測定している。TSHは2ステップサンドイッチ法、FT3とFT4はディレイ1ステップ競合法である。TSHの基準範囲は0.61～4.23 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 、FT3の基準範囲は2.1～3.1 pg/mL 、FT4の基準範囲は0.8～1.7 ng/dL である。

再検の妥当性を判断するため、2021年5月の当院での甲状腺機能検査の再検の状況を調査した（Table 1）。FT3は検査総数1564（診察前検査774、通常検査790）うち再検が409（診察前検査186、通常検査223）で、再検率は26%と非常に高かった。FT4は検査総数2281（診察前検査1216、通常検査1065）のうち再検が240（診察前検査128、通常検査112）で、再検率11%と高かった。TSHの検査総数2268（診察前検査1189、通常検査1079）のうち再検が541（診察前検査277、通常検査264）で、再検率は24%と非常に高かった。

FT3、FT4、TSHの初検値と再検後の報告値をFig. 1に示す。FT3は初検値（ $2.58 \pm 2.02 \text{ pg}/\text{mL}$ ）と報告値（ $2.57 \pm 2.00 \text{ pg}/\text{mL}$ ）で有意差がなく、FT4は初検値（ $1.41 \pm 0.80 \text{ ng}/\text{dL}$ ）の方が報告値（ $1.38 \pm 0.78 \text{ ng}/\text{dL}$ ）より高値であった（ $P < 0.01$ ）。しかし、初検値がやや低値あるいはやや高値で再検後の報告値が基準範囲内、あるいは初検値が基準範囲内で報告値がやや低値あるいはやや高値の症例はあったが、大幅に初検値と報告値が乖離する検体はなく、再検を行わなくても臨床的には大きな問題はなかったと考える。TSHは初検値 [4.52 (0.98-8.38) $\mu\text{IU}/\text{mL}$]の方が報告値 [4.47 (0.95-8.26) $\mu\text{IU}/\text{mL}$]より高値であったが（ $P < 0.01$ ）、TSHの初検値に比べて報告値が大きく変化したのは2検体のみであった。

Yoh Hidaka

大阪大学医学部附属病院 臨床検査部
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-15
Tel : 06-6879-6636 Fax : 06-6879-6635
E-mail : hidaka@hp-lab.med.osaka-u.ac.jp

Table 1 再検状況

	FT3			FT4			TSH		
	診察前検査	通常検査	検査全体	診察前検査	通常検査	検査全体	診察前検査	通常検査	検査全体
検査数	774	790	1564	1216	1065	2281	1189	1079	2268
再検数	186	223	409	128	112	240	277	264	541
再検率(%)	24	28	26	11	11	11	23	24	24

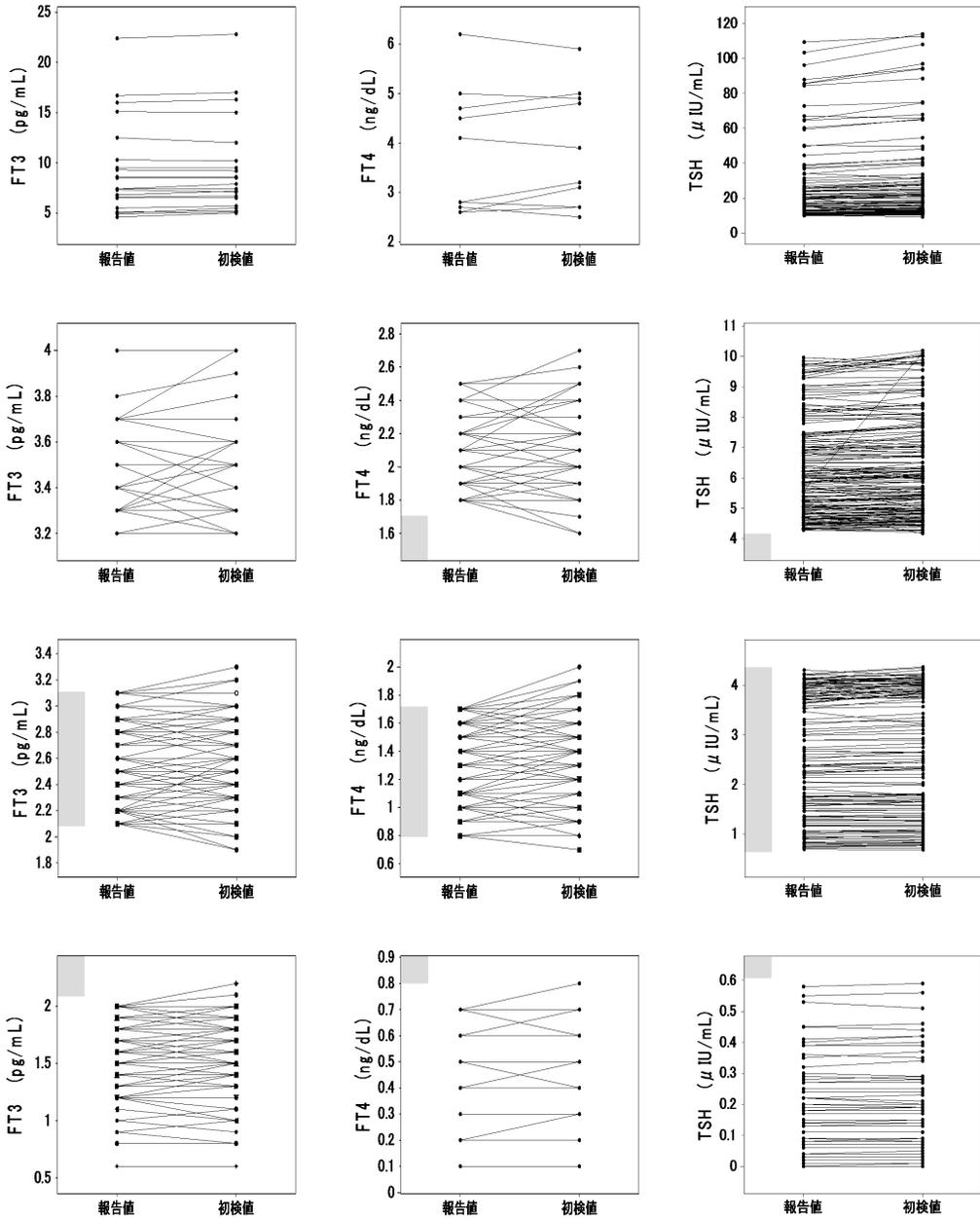


Fig. 1 FT3 (基準範囲：2.1～3.1 pg/mL), FT4 (基準範囲：0.8～1.7 ng/dL), TSH (基準範囲：0.61～4.23 μIU/mL) の初検値と再検後の報告値

1検体目は初検値（子検体）が10.12 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 、再検値（子検体の10倍希釈で測定）が5.58 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ であったため、さらに、子検体の5倍希釈で測定し5.30 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 、再遠心後の親検体の原液で測定し5.92 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 、親検体の5倍希釈で測定し5.57 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 、親検体の10倍希釈で測定し6.05 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ であったため、5.58 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ で報告していた。FT4は1.6 ng/dLで基準範囲内、ワルファリンを内服しており、PT-INRは2.87であった。

2検体目はTSHの初検値11.26 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 、再検値（子検体の10倍希釈で測定）が17.65 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ であったため、さらに、子検体の5倍希釈で測定し15.22 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 、親検体の20倍希釈で測定し20.66 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 、子検体の50倍希釈で測定し19.24 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ であったため、20.66 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ で報告していた。FT3は1.9 pg/mLとやや低値、FT4は0.9 ng/dLで基準範囲内であった。

両検体ともTSHの初検値と報告値がともに高値であり、TSHが高値であれば甲状腺ホルモン薬を開始あるいは増量をすることが多いため、初検値で報告していても臨床的には大きな問題はなかったと考える。しかし、TSHについては再検が必要な検体があることが明らかになった。

事例集の分析

2018年6月から2021年5月までの3年間で、再検によりTSH値が大きく変化した33検体をTable 2に示す。初検値が基準範囲内、報告値が低値となった検体が24検体と大半を占めた。続いて初検値が高値で、報告値が基準範囲内となったのが8検体、残り1例は初検値が低値で、報告値が基準範囲内であった。以上のように33検体中32検体が報告値より初検値が高値であった。33検体中24検体が抗凝固薬を内服中であったこと、PT-INR 2以上が14検体であったこと、再遠心によりTSH偽高値が解消したことから、TSH偽高値の原因の多くはマイクロフィブリンの可能性が高いと考える。

FT3とFT4が高値にもかかわらずTSHが低値ではない場合（1～8）、特に明らかにFT3が高値の場合（1～6）には、臨床的には検査結果が間違っているのではないかと疑う。実際、再検後の報告値でTSHが0.05 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 未満になった8検体中の6検体はFT4が高値かつFT3が3.8 pg/mL以上であっ

た。

FT3が高値にもかかわらずTSHとFT4が基準範囲内の場合（9～10）、TSH値が本来の値より高くなっているケースもあるが、FT3が偽高値のこともある。FT3とFT4については、再検により初検値と報告値が大きく変化したという記録がなかったことより、FT3が高値でFT4とTSHが基準範囲内の場合には、FT3を他の測定試薬で再検することも検討する必要がある。

FT3が基準範囲内ないし未測定で、FT4が高値の検体（11～20）は、すべてレボチロキシンないしアミオダロンを内服していた。T4は脱ヨウ素反応により活性型ホルモンであるT3に変換されるため、T4製剤であるレボチロキシンで治療すると、FT3に比べ相対的にFT4が高値となる。また、アミオダロンはT4からT3への転換を阻害するため、FT3に比べ相対的にFT4が高値となる。したがって、両薬剤での治療中はFT4が高値でもFT3も高値でなければ、TSHが低値でなくても臨床的には違和感はない。

FT3とFT4がともに基準範囲内の検体（21～31）、FT4が基準範囲内の検体（32）FT3とFT4が低値の検体（33）は、TSHの報告値が基準範囲なのに初検値がやや高値ないしやや低値、あるいは報告値がやや低値なのに初検値が基準範囲内であった。しかし、初検値、報告値ともにわずかに基準範囲をはずれる程度であるため、初検値で報告していても臨床的に大きな問題はなかったと考える。

前回値チェック

今回の検討までは、TSH、FT3、FT4の今回値あるいは前回値のいずれかが異常値の場合には、今回値と前回値の比で再検を行っていた。今回値/前回値が、TSHについては <0.054 ないし >15.8 の場合に、FT3については <0.597 ないし >1.7 の場合に、FT4については <0.538 ないし >1.8 の場合に再検を行っていた。

しかし、甲状腺機能検査に異常があれば当然治療を行うため、前回値と今回値が大幅に変化するのが普通である。したがって、前回値チェックで再検を行った場合、大量に再検を行うことになるため、甲状腺機能検査については前回値チェックを行うと必要のない再検が増えることになる。

Table 2 再検によりTSH値が大きく変化した検体

	TSH (μ IU/mL)		FT3 (pg/mL)	FT4 (ng/dL)	抗凝固薬	PT-INR	レボチロキシン	アミオダロン
	初検値	報告値						
1	0.76	<0.01	24.5	>8.0	—	—	—	—
2	1.08	0.01	8.4	3.6	リパロキサパン	—	—	—
3	1.45	0.04	5.7	>8.0	ワルファリン	3.98	—	○
4	1.21	0.01	5.7	2.5	ワルファリン	3.16	—	—
5	1.77	0.03	3.9	1.9	ワルファリン	3.59	○	—
6	0.61	<0.01	3.8	1.8	—	—	—	—
7	1.77	0.50	3.5	1.8	エトキサパン	—	—	—
8	1.70	0.18	3.3	1.8	ワルファリン	3.32	○	—
9	1.76	0.03	4.2	1.7	ワルファリン	2.82	○	—
10	0.72	0.08	3.2	1.7	ワルファリン	3.05	○	—
11	3.84	0.29	2.2	3.1	—	—	○	—
12	0.63	0.11	3.1	2.4	ワルファリン	2.79	—	○
13	0.68	0.12	2.2	2.3	ワルファリン	2.15	○	○
14	0.93	<0.01	2.8	2.1	エトキサパン	1.66	○	—
15	4.79	3.73	1.8	2.1	エトキサパン	1.34	○	○
16	0.75	0.32	—	2.1	—	—	○	—
17	1.78	0.10	3.1	1.9	ワルファリン	1.62	—	○
18	2.22	0.50	3.1	1.9	ワルファリン	1.75	○	—
19	4.64	0.64	2.8	1.8	ワルファリン	3.18	○	—
20	0.64	0.25	—	1.8	エトキサパン	—	○	—
21	4.95	1.98	2.9	1.5	リパロキサパン	2.08	—	—
22	0.66	0.50	2.2	1.5	ワルファリン	3.13	○	—
23	1.20	0.33	2.4	1.4	ワルファリン	3.68	○	—
24	0.85	0.24	2.1	1.4	アピキサパン	—	○	—
25	5.13	2.70	2.4	1.3	ワルファリン	2.08	○	—
26	5.18	3.34	2.0	1.3	—	—	○	—
27	4.56	2.53	2.4	1.1	—	—	—	—
28	0.65	0.42	2.0	1.1	アピキサパン	—	○	—
29	0.44	0.65	3.1	1.0	—	—	—	—
30	5.04	2.00	2.9	1.0	ワルファリン	2.62	—	—
31	6.05	3.47	2.3	0.9	—	—	—	—
32	1.20	0.37	—	0.8	エトキサパン	—	○	—
33	0.80	0.46	1.9	0.6	—	—	○	—

基準範囲 TSH; 0.61~4.23 μ IU/mL、FT3; 2.1~3.1pg/mL、FT4; 0.8~1.7ng/dL

項目間チェック

今回の検討までは、TSH、FT3、FT4の今回値のいずれかが異常値の場合には、前回値からの変化を考慮して再検を行っていた。TSHとFT3の項目間チェックでは、TSHの今回値が前回値より高値にもかかわらずFT3の今回値が前回値より高値の場合、TSHの今回値が前回値より低値にもかかわらずFT3の今回値が前回値より低値の場合に再検を行っていた。TSHとFT4の項目間チェックもTSHとFT3の項目間チェックと同様に行っていた。FT3とFT4の項目間チェックでは、FT3の今回値が前回値より高値にもかかわらずFT4の今回値が前回値と同じまたは低値の場合、FT3の今回値が前回値より低値にもかかわらずFT4の今回値が前回値と同じまたは高値の場合に再検を行っていた。

一般的にはFT3値とFT4値は同じように変動し、TSH値はネガティブフィードバック機構が働くため逆の変動をするため、FT3値とTSH値ないしFT4値とTSH値との項目間チェックは有効である。しかし、①甲状腺機能低下の初期には、FT4が低値、FT3が基準範囲内である、②T4製剤であるレボチロキシンで治療中は、FT4が高値、FT3が基準範囲内であることが稀ではない、③Euthyroid Sick Syndromeでは、FT3が低値、FT4が基準範囲内であることが多い、④バセドウ病では、FT3が高値、FT4が基準範囲内であることが稀ではない。したがって、FT3値とFT4値で項目間チェックを行うと必要のない再検が増えることになる。

高値・低値チェック

通常、TSH、FT3、FT4の3項目ないし2項目が同時に検査依頼されるため、TSH値とFT3値ないしFT4値との項目間チェックを行えば、TSH、FT3、FT4それぞれ単独での高値・低値チェックを

行う必要はない。今回の検討までは、TSHが10 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 以上の場合には10倍希釈して再検を行っていた。しかし、TSHが120 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ まで希釈なしに測定可能な試薬であるため、120 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ までは再検を行わないことにした。なお、TSHが120 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 以上の場合、確定値は臨床的にはあまり意味がないため、120 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 以上と一旦報告し、希釈測定後の確定値が出た時点で修正する予定である。

再検率の分析

2020年6月～2021年5月の1年間の30686検体を用いて、再検基準の違いによる再検率を計算した（Table 3）。FT3高値（3.2 pg/mL 以上）あるいはFT4高値（1.8 ng/dL 以上）でTSHが低値ではない（0.61 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 以上）の場合にすべて再検すれば、事例集の分析で問題のあった検体の大半を再検することができるが、再検率は8.5%（2617検体）になる。FT3高値（3.2 pg/mL 以上）かつFT4高値（1.8 ng/dL 以上）でTSHが低値ではない（0.61 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 以上）の場合に再検するとすると、再検率は2.1%（651検体）となる。FT3が3.8 pg/mL 以上と明らかに高値かつFT4高値（1.8 ng/dL 以上）にもかかわらずTSHが低値ではない（0.61 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ 以上）場合に再検するとすると、再検率は0.2%（61検体）となる。

この61検体中にFT3；3.8 pg/mL 、FT4；2.2 ng/dL 、TSH；0.76 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ で報告していた検体があった。FT3とFT4は高値であったことより再検していたが、TSHは基準範囲内であったため再検されていなかった。しかし、抗凝固薬のリバーロキサバンを内服していたことより、TSHを再検すれば低値であった可能性がある。新生児期はFT3とFT4が高値となるため、28検体は0歳の検体であった。FT3、FT4が高値になってからTSHが低値に

Table 3 再検基準と再検率

TSH ($\mu\text{IU}/\text{mL}$)		FT3 (pg/mL)		FT4 (ng/dL)	再検率	
0.61 以上	and	3.2 以上	or	1.8 以上	8.5 %	通常検査での再検基準
		3.2 以上	and	1.8 以上	2.1 %	
		3.8 以上	and	1.8 以上	0.2 %	
0.61～4.23		2.1～3.1		0.8～1.7		診察前検査での再検基準 基準範囲

なるまでのタイムラグのためと考えられるのが4検体、TSH産生下垂体腫瘍が5検体、甲状腺ホルモン不応症が1検体であった。

今後の再検方法

診察前検査の場合には診察時に検体が残っているため、診察時に医師が疑問を感じた場合にはその時点で再検の依頼が可能である。一方、通常検査の場合には診察時には検体が残っていない可能性がある。したがって、迅速性を求められる診察前検査とそれ程急がない通常検査で再検基準を変えることにした。診察前検査については、臨床的に問題がある可能性が高く、再検率を0.2%程度に抑えることができる、FT3が3.8 pg/mL以上かつFT4が1.8 ng/dL以上かつTSHが0.61 μ IU/mL以上の場合にTSHを再検することにした。将来、0歳の検体を再検しないということができれば、再検率は0.1%程度とさらに抑えることができる。また、TSH産生下垂体腫瘍などすでに原因のわかっている検体を繰り返し再検しないようにする工夫も必要である。

一方、通常検査については、再検率は10%弱になるが、FT3が3.2 pg/mL以上あるいはFT4が1.8 ng/dL以上で、TSHが0.61 μ IU/mL以上の場合にTSHを再検することにした。なお、TSHが偽高値となる検体の多くが抗凝固薬を内服している患者であったため、将来、検体に抗凝固薬内服情報ないしPT-INR高値情報を付与することが出来れば、マイ

クロフィブリンの発生を減らすことができるものと期待される。

FT3とFT4については再検により値が大きく変わることがなかったため、同じ測定試薬による自動的な再検を行わないことにした。FT3とFT4の偽高値が疑われる場合には、他の測定試薬での再検を検討する。

おわりに

生化学検査の再検方法については確立しているが、内分泌検査などの免疫化学検査の具体的な再検方法についてはあまり議論されていない。測定機器・試薬は常に改良されているため、再検基準も定期的に見直す必要がある。再検率の低下は測定試薬の節約にもつながる。誤報告が患者へ与える影響は検査項目により異なるため、迅速性をより優先するのか、正確性をより優先するのか検査項目ごとに異なってくる。現状の分析、事例集の分析、再検率の分析を行えば、医師と技師の両方が納得できる再検方法を決められると考える。他の病院の、特に同じ測定機器・試薬を使用している病院の再検方法は参考になる。検査項目ごとの具体的な再検方法について検討をするのは本学会が最もふさわしいと考えるので、皆様からもご意見をいただければと思う。

COI開示：奨学寄附金（東ソー株式会社）

定量限界に着目した7種の市販クレアチニン測定試薬の評価

Evaluation of performance characteristics focusing on
the limit of quantification in seven commercial creatinine reagents

廣瀬靖華¹⁾ 松田将門¹⁾ 成田一衛^{1,2)}

Abstract Serum and/or plasma creatinine levels are measured widely because of their sensitivity to indicate kidney dysfunction. Therefore, their assays require both accuracy and quantitative capability at low creatinine levels. Although the limit of detection has been reported for a few creatinine reagents, the limit of quantification (LoQ) is unknown. Using seven creatinine reagents, i.e., Aqua-auto KINOS CRE (Type HP) and CRE-III plus, Cygnus-auto CRE, Serotec CRE-N, CicaLiquid-N CRE, Determiner-L CRE, and L-Type Wako CRE・M, we examined the performance characteristics, including LoQ and trueness, considering the clinical setting at the Niigata University Hospital. The LoQ differed among reagents, from 0.01 mg/dL to 0.11 mg/dL limit. The differences were possibly due to the assay parameter (i.e., volume of the sample to the reagent) and chromogen in each reagent. The trueness in the JCCRM521-13M sample with 0.86 mg/dL of creatinine differed depending on the reagent, with CicaLiquid-N deviating from the tolerance limit but not the others. The obtained creatinine value at our hospital in 2018 was <1.00 mg/dL in 75% of all cases and ≤0.30 mg/dL in most pediatric cases. In conclusion, the creatinine reagents with good trueness in the JCCRM521-13M and LoQ of <0.30 mg/dL would be appropriate for routine creatinine testing.

Key words creatinine, limit of quantitation, chromogen, assay parameter, inter-reagent differences

1. はじめに

クレアチニン (creatinine:CRE) はクレアチニンリン酸やクレアチンの代謝産物であり、生成され血中に出現すると腎糸球体から濾過された後はほとんど再吸収されず尿中に排泄される¹⁾。これにより、血中CRE濃度測定は腎機能評価の指標として用いられる¹⁾。また、慢性腎臓病 (chronic kidney disease:CKD) の診療では血清CRE値に加え、年齢、性別を用いて算出される推算糸球体濾過量 (estimated glomerular filtration rate:eGFR) が広

く用いられている²⁾。以上より、日常検査としてのCRE測定には正確性と低濃度域の定量性が求められる。

血中CRE測定では低濃度域の精度を保証した測定試薬が日常診療に求められる。健康人の尿中CRE排泄量は数十mg/kg/dayだが¹⁾、血中CRE濃度の基準範囲は男性で0.65-1.07 mg/dL、女性で0.46-0.79 mg/dLであり³⁾、小児ではさらに低い^{2,4)}。これにより、血中CRE測定では小数点第二位までの測定精度が求められ、また、CRE値0.1 mg/dLの変化がeGFR値の大きな変化を引き起こすことも指摘されている²⁾。市販CRE測定試薬にお

Received Apr. 7, 2021; Accepted Sep. 27, 2021
Yasuka HIROSE, Masato MATSUDA, Ichiei NARITA.

¹⁾新潟大学医歯学総合病院検査部
Medical Laboratory Division, Niigata University
Medical and Dental Hospital.
〒951-8520 新潟市中央区旭町通一番町754番地
1-754, Asahimachi-dori, Chuo-ku, Niigata, 951-8520,
Japan

²⁾新潟大学大学院医歯学総合研究科腎・膠原病内科学分野

Department of Clinical Nephrology and Rheumatology,
Niigata University Graduate School of Medical and
Dental Sciences

〒951-8510 新潟市中央区旭町通一番町757番地
1-757, Asahimachi-dori, Chuo-ku, Niigata, 951-8510,
Japan

Corresponding author : Masato MATSUDA

TEL : +81-25-227-2680

E-mail : masato-m@med.niigata-u.ac.jp

ける低濃度域の測定性能として検出限界 (limit of detection:LoD) すなわち検出し得る最低量を調べた報告はあるが^{5,6)}、定量限界 (limit of quantitation:LoQ) すなわち定量し得る最低量を調べた報告はない。日常検査のCRE測定ではより低値のCREに対する定量性が求められることから、目的物質の有無を定性的に評価するLoDより、その定量が可能な最小値であるLoQを明らかにする必要がある。

本研究では6社の計7種のCRE測定試薬を対象に、LoQを含む複数の測定性能を調べた。また、LoQの試薬間差について、各測定試薬の測定パラメータや発色試薬に着目しその原因を調べた。加えて、日常検査で遭遇するCRE値の分布を調べ、各測定試薬の性能を日常検査に用いる測定試薬としての適性という観点で評価した。

2. 材料および方法

1) 材料

(1) 対象

対象は新潟大学医歯学総合病院検査部にCRE測定の検査依頼があった患者の測定済み残余検体および市販試料である。以下で使用する検体の取り扱いを含め、本研究は新潟大学医学部倫理委員会の承認を得て行われた(承認番号2019-0180)。

(2) 測定試薬および機器

対象はアクアオート カイノスCRE試薬 (Type HP) (以下Kinos HP)、アクアオート カイノスCRE-III plus (Kinos III) (いずれもカイノス社)、シグナスオートCRE (Shino-test, シノテスト社)、「セロテック」CRE-N (Serotec, セロテック社)、シカリキッド-N CRE (Kanto, 関東化学社)、デタミナー-L CRE (Minaris, ミナリスメディカル社)、LタイプワコーCRE・M (Wako, 富士フイルム和光純薬社)である。いずれの測定試薬も酵素法を測定原理とする。各測定試薬を臨床化学自動分析装置TBA-2000FR (キヤノンメディカルシステムズ社)に搭載し、各試薬の製造元から提供されたTBA-2000FRにおける測定パラメータに従い使用した。

2) 方法

以下の9通りの検討を実施した。また、測定結果を統計学的に解析し、多重測定ではその平均値を以って評価した。

(1) 発色試薬の極大吸収波長

各測定試薬に含まれる発色試薬の極大吸収波長 (λ_{max}) を調べるため、7012形日立臨床検査用分光光度計 (日立ハイテック社) を用いて自家調製CRE高値プール血漿 (13 mg/dL) を400–800 nmまでスキャンニング

した。ここでは吸光度の試薬間差も調べるため測定手順を統一した。検体量は30 μ L、第1試薬 (R1) は1200 μ L、第2試薬 (R2) は400 μ Lとし、検体とR1を混合し37°Cで5分間反応させ、そこにR2を添加して5分間反応させた後ただちに分光光度計で測定した。なお、SerotecとMinarisの添付文書には λ_{max} が記載されており、いずれも555 nmであった。

(2) 併行精度

2濃度の市販試料 (QAPトロール1X, 2X, シスメックス社) および2濃度の自家調製プール血漿 (Low, High) を各測定試薬で20回連続測定し、変動係数 (coefficient of variation:CV) を求めた。

(3) 測定試薬の開栓後安定性

測定試薬を開栓状態で装置に設置し、(2)で用いた4種の試料を各測定試薬で1日1回2重測定し、断続的に29日間実施した。いずれの測定試薬もキャリブレーションは試薬設置日に実施した。プール血漿は調製後、小分けして-30°Cで凍結保存し、用時融解して使用した。開栓初日のCRE値を100%として経時的変化を調べ、既報⁷⁾を参考に100 \pm 5%以内の変動を安定性の許容範囲とした。

(4) 検出限界および定量限界

LoDではCRE低値検体をプールした試料を0.9%生理食塩液 (以下、生理食塩液) で0.10 mg/dLに希釈調製した。この試料を生理食塩液で10段階希釈した希釈系列をそれぞれ10重測定した。各試料について平均値 (mean) と標準偏差 (standard deviation:SD) を算出し、生理食塩液のmean + 2.6SD値より各希釈試料のmean - 2.6SD値が上回る濃度からLoDを求めた。LoQは日本臨床化学会が提供する「定量測定法のバリデーション算出プログラム Validation-Support/Excel Ver 4.18」(以下、バリデーションプログラム) を用い、LoQに近い濃度の7試料を1日2回測定し、5日間実施した。濃度を横軸、CV (%) を縦軸としたprecision profileを求め、その回帰曲線から許容限界CV 10%および5%点のLoQを求めた。また、LoQの試薬間差の原因を調べるため(1)の手順を用い、各測定試薬で自家調製CRE低値プール血漿 (0.20 mg/dL) を測定し吸光度の試薬間差を評価した。

(5) 直線性

CRE高値 (150 mg/dL) 試料を生理食塩液で10段階希釈し、生理食塩液および各々の希釈試料を各測定試薬で3重測定した。測定値をバリデーションプログラムに入力し、バリデーションプログラムに従い分散分析により直線性を評価した。有意確率 $P < 0.001$ の場合に直線性が認められないと判断した。

(6) 共存物質および薬剤の影響

既報を参考に^{5-6,8-10)}、7種の干渉物質および2種の薬剤についてCRE測定における影響を調べた。共存物質として遊離型ビリルビン、抱合型ビリルビン、ヘモグロビン、乳び、クレアチン、アスコルビン酸およびプロリン、薬剤としてドーパミンとドブタミンの影響を調べた。各ビリルビンとヘモグロビン、乳びの影響評価には干渉チェック・Aプラス（シスメックス社）を用いた。クレアチン、アスコルビン酸、プロリン、ドーパミン、ドブタミンの影響評価には純品を溶解した調製溶液を用いた。各物質を2濃度の自家調製プール血漿（LOW:0.70 mg/dL, HIGH:3.00 mg/dL）に添加し、各試料を2重測定した。それぞれ非添加時のCRE値を100%とし、既報^{6,8)}を参考に100 ± 5%以内の変動を許容範囲とした。

(7) 正確性

3濃度の含窒素・グルコース常用参照標準物質（JCCRM 521-13M:0.86 mg/dL, 521-13H:2.16 mg/dL, 521-13HH:5.26 mg/dL）（検査医学標準物質機構）を各測定試薬で5重測定した。バリデーションプログラムに従い、まず平均値の95%信頼区間と認証値の関係を調べ、次いで直線性の有無を調べた。95%信頼区間に認証値が含まれていない場合は日本臨床化学会が示すCREの許容誤差限界（ B_A , 4.8%）を基準に評価した。直線性を認めた場合は比例系統誤差と一定系統誤差を評価した。

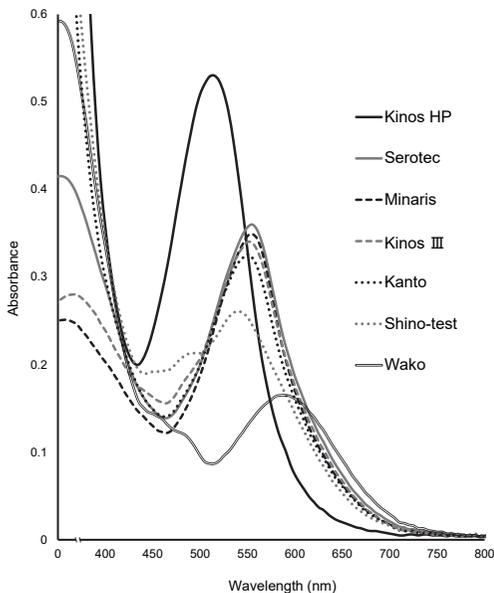


Fig. 1 Absorption spectrum

(8) 相関分析

CRE検査を実施した日常検査後のヘパリンLi加血漿100検体を各測定試薬で測定した。測定値をバリデーションプログラムに入力し、すべての測定試薬の組み合わせについて、相関係数と標準主軸回帰式を求めた。

(9) CRE検査状況の解析

当院の2018年におけるKinos HPを用いた血中CRE測定の日常検査の状況を調べた。測定値の分布を調べ、低濃度域（1.00 mg/dL以下）における患者の年齢との関係を調べた。

3. 結果

(1) 発色試薬の極大吸収波長

測定試薬により λ_{max} は異なり、515-585 nmにおいて各測定試薬の極大吸収を認めた（Fig. 1）。Table 1に各測定試薬の λ_{max} と各社から提供されたTBA-2000FRにおける測定パラメータを示す。また、各測定試薬の λ_{max} における吸光度は測定試薬間で0.165-0.530と異なり、吸光度が最も大きい試薬（Kinos HP）と最も小さい試薬（Wako）では約3.2倍の違いを認めた。なお、SerotecとMinarisの λ_{max} はいずれも555 nmであり、これは添付文書に記載の値と同じであった。

(2) 併行精度

いずれの試料においても各測定試薬のCV (%)は1.6%以下であった（Table 2）。

(3) 測定試薬の開栓後安定性

Minarisは11日間、Kantoは13日間、その他は29日間の安定性を認めた（Fig. 2）。

(4) 検出限界および定量限界

各測定試薬のLoDとLoQをTable 3に示す。LoDは0.01-0.04 mg/dLであり、最大で4倍の試薬間差を認めた。LoQ (CV 10%)は0.01-0.11 mg/dLであり、最大

Table 1 Summary of reagent contents and assay parameter

Reagents	Kinos HP	Kinos III	Sino-test	Serotec	Kanto	Minaris	Wako
Contents							
Chromogen	HTIB	TODB	ADOS	EHSPT	ESPMT	EMSE	HMMPS
λ_{max} (nm)	515	550	540	555	550	555	585
Assay parameter							
Primary WL (nm)	500	548	604	548	548	548	604
Secondary WL (nm)	660	700	748	804	804	700	700
Sample volume (μ L)	4	2.5	4.8	3	2.4	2.4	3
R1 volume (μ L)	120	120	120	120	120	120	110
R2 volume (μ L)	40	40	40	40	40	40	37

Abbreviation: WL, wavelength; R1, reagent 1; R2, reagent 2

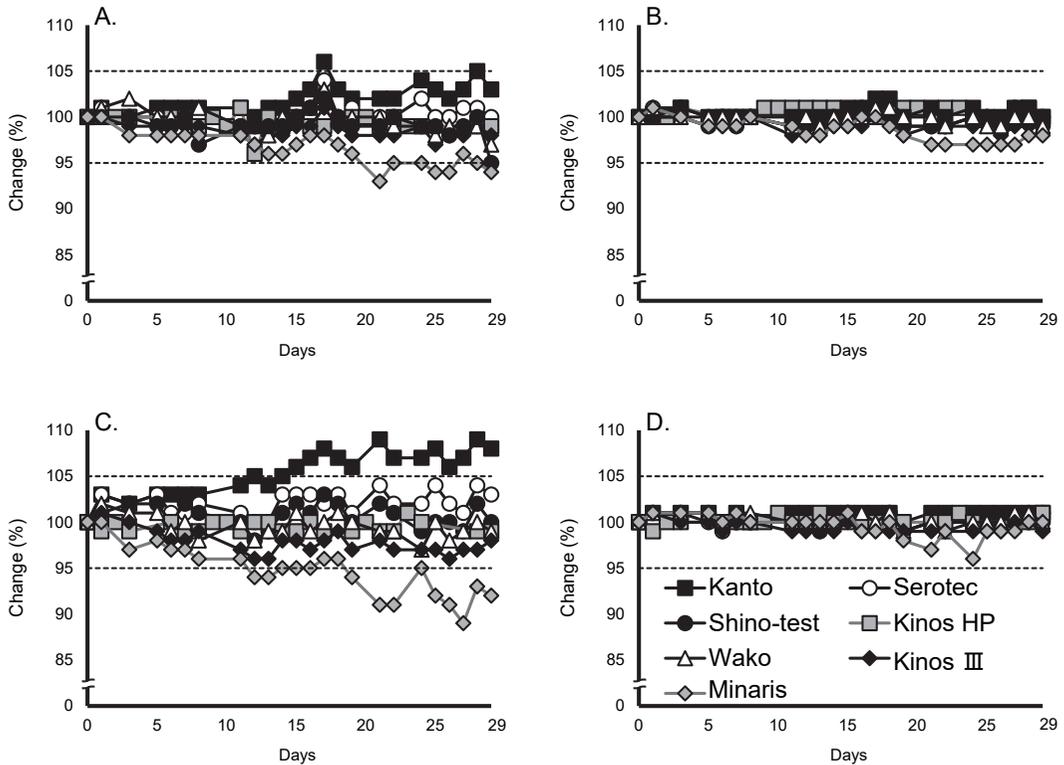


Fig. 2 Reagent stability after opening

The samples measured were QAP Trol 1X (A), 2X (B), and in-house pooled plasma with low (C) and High (D) levels of creatinine. The dashed lines indicate acceptable range of upper and lower limits.

Table 2 Within-run reproducibility

Reagents	Kinos HP	Kinos III	Shino-test	Serotec	Kanto	Minaris	Wako
Samples							
QAP-Trol 1X	Mean (mg/dL)	0.99	1.00	1.03	1.08	1.04	0.98
	SD (mg/dL)	0.003	0.006	0.006	0.006	0.005	0.010
	CV (%)	0.4	0.6	0.6	0.6	0.5	1.0
QAP-Trol 2X	Mean (mg/dL)	4.43	4.49	4.50	4.52	4.61	4.46
	SD (mg/dL)	0.014	0.018	0.071	0.020	0.032	0.014
	CV (%)	0.3	0.4	1.6	0.4	0.7	0.3
Pooled plasma (Low)	Mean (mg/dL)	0.50	0.51	0.55	0.57	0.57	0.53
	SD (mg/dL)	0.002	0.004	0.004	0.007	0.005	0.006
	CV (%)	0.5	0.8	0.8	1.3	0.9	1.2
Pooled plasma (High)	Mean (mg/dL)	9.74	10.02	9.85	9.90	10.34	10.07
	SD (mg/dL)	0.033	0.015	0.021	0.071	0.025	0.021
	CV (%)	0.3	0.1	0.2	0.7	0.2	0.2

Abbreviation: SD, standard deviation; CV, coefficient of variation

Table 3 Detectability of low creatinine levels in each reagent

Reagents	Kinos HP	Kinos III	Shino-test	Serotec	Kanto	Minaris	Wako
LoD (mg/dL)	0.01	0.02	0.04	0.03	0.03	0.02	0.03
LoQ CV10% (mg/dL)	0.01	0.02	0.06	0.07	0.09	0.08	0.11
CV5% (mg/dL)	0.03	0.05	0.12	0.13	0.16	0.19	0.32
ΔAbs	0.0006	0.0002	0.0002	0.0003	0.0002	0.0002	0.0001
Absorbance in the samples with low creatinine levels, using the same assay parameter							
Abs. at Prim-WL	0.061	0.020	0.014	0.020	0.027	0.016	0.011
Abs. at Prim-WL minus Abs. at Secon-WL	0.056	0.018	0.010	0.020	0.024	0.014	0.008

Δ Abs means the change of absorbance for creatinine 0.01 mg/dL.

Abbreviation: LoD, limit of detection; LoQ, limit of quantitation; Abs., absorbance; Prim-WL, primary wavelength; Secon-WL, secondary wavelength.

で約10倍の試薬間差を認めた。なお、LoQを求める precision profileは曲線を示すため他の点 (CV 5%) における試薬間差も調べたが、ここでも最大で約10倍異なった。各測定試薬の検量線は各社の専用キャリブレーション (各社とも1濃度) を用いて作成され直線を示したが、感度すなわちCRE値0.01 mg/dLに対する吸光度の変化量は0.0001-0.0006と最大で6倍の試薬間差を認めた

(Table 3)。また、検体量と試薬量を統一してCRE低値試料を測定した結果、LoQが最小の測定試薬 (Kinos HP) の主波長における吸光度は0.061, LoQが最大の測定試薬 (Wako) では吸光度0.011と約6倍の試薬間差を認めた (Table 3)。この試薬間差は主波長のみならず、主波長と副波長の差における吸光度においても同様に認められた。

(5) 直線性

各測定試薬の直線性上限は、Shino-testは90 mg/dL, Kinos HPは105 mg/dL, SerotecとWakoは135 mg/dL, Kinos IIIとKanto, Minarisは150 mg/dLであった (Fig. 3)。ただし、エラーフラグを伴った測定値を除いて求めると、Kinos HPは45 mg/dL, Serotecは105 mg/dLであった。

(6) 共存物質および薬剤の影響

ヘモグロビン、乳び、クレアチン、プロリン、ドーパミンおよびドブタミンの影響は測定試薬間で大きく異なり (Fig. 4)、CRE低値試料において影響が大きかった (Fig. 4-A)。なお、いずれの測定試薬も遊離型ビリルビンは19 mg/dL、抱合型ビリルビンは21 mg/dL、アスコルビン酸は20 mg/dLまでその変動は許容範囲内であった (Fig. 4)。

ヘモグロビンでは、Kantoは100 mg/dL, SerotecとMinarisは200 mg/dL, Kinos IIIは400 mg/dLから許容範囲を逸脱する負誤差を認めた。他の測定試薬は500 mg/dLまで影響を認めなかった。

乳びでは、Wakoは1408 FTUから許容範囲を逸脱する負誤差を認めた。他の測定試薬は1760 FTUまで影響を認めなかった。

クレアチンでは、Wakoは6 mg/dL, Minarisは12 mg/dLから許容範囲を逸脱する正誤差を認めた。他の測定試薬は30 mg/dLまで影響を認めなかった。

プロリンでは、Kinos HPは8 mg/dL, WakoとMinarisは12 mg/dL, Kantoは16 mg/dLから許容範囲を逸脱する正誤差を認めた。他の測定試薬では20 mg/dLまで影響を認めなかった。

ドーパミンでは、Kinos HPとKanto, Minarisは4 µg/mL, Kinos IIIは8 µg/mL, Serotecは20 µg/mLから許容

範囲を逸脱する負誤差を認めた。他の測定試薬では20 µg/mLまで影響を認めなかった。

ドブタミンでは、Kinos HPとKanto, Minarisは4 µg/mL, Kinos IIIは12 µg/mL, Serotecは20 µg/mLから許容範囲を逸脱する負誤差を認めた。他の測定試薬では20 µg/mLまで影響を認めなかった。

(7) 正確性

正確性の結果をTable 4に示す。各標準物質における各測定試薬の平均値はJCCRM521-13M (認証値:0.86 ± 0.03) で0.82-0.88, JCCRM521-13H (認証値:2.16 ± 0.05) で2.10-2.21, JCCRM521-13HH (認証値:5.26 ± 0.13) で5.17-5.38であり、JCCRM521-13MにおいてKantoとMinaris, JCCRM521-13HにおいてMinarisは平均値の95%信頼区間に認証値が含まれなかった。そこで許容誤差限界 B_A (%) を基準に評価したところ、Minarisは許容誤差限界値未満であったが、KantoはJCCRM521-13Mにおいて測定平均値と認証値との絶対差 ($\Delta m = |\text{測定値} - \text{認証値}|$) が許容誤差限界値以上であった。直線性の評価では、Kinos HP, Kinos III, SerotecおよびWakoで直線性を認め、4試薬とも一定系統誤差を認め、またKinos HP, SerotecおよびWakoでは比例系統誤差も認めた。

(8) 相関分析

相関分析の結果をTable 5に示す。相関係数はいずれの測定試薬間においても0.998以上であった。標準主軸回帰式の傾きは0.940-1.064, 切片は-0.166-0.162であった。なお、本検討で用いた検体のCRE値は、どの測定試薬で測定しても0.11-18.76 mg/dLの範囲内であり、各測定試薬のLoQ以上かつ直線性の上限未満であった。

(9) CRE検査状況の解析

1年間の検査数は約16万件であり、そのうち約12万件 (全体の約75%) ではCRE値が1.00 mg/dL未満であった (Fig. 5-A)。なお、最小値は0.05 mg/dL, 最大値は26.68 mg/dLであった。CRE値が1.00 mg/dL未満の検体について、0.1 mg/dL毎に、検体の患者の年齢を調べたところ、CRE値が0.30 mg/dL未満の検体では小児患者の割合が大きく、一方で0.30 mg/dL以上では小児患者の割合は小さかった (Fig. 5-B)。CRE値0.30 mg/dL未満の検体 (約6300件, 全体の約4%) における小児患者の年齢分布を詳細に調べると、その43%は2歳未満であった (Fig. 5-C)。なお、LoQ付近すなわち0.10 mg/dL以下の検体は102件 (全体の約0.06%) があった。

4. 考察

本研究では7種のCRE測定試薬についてLoQを含む

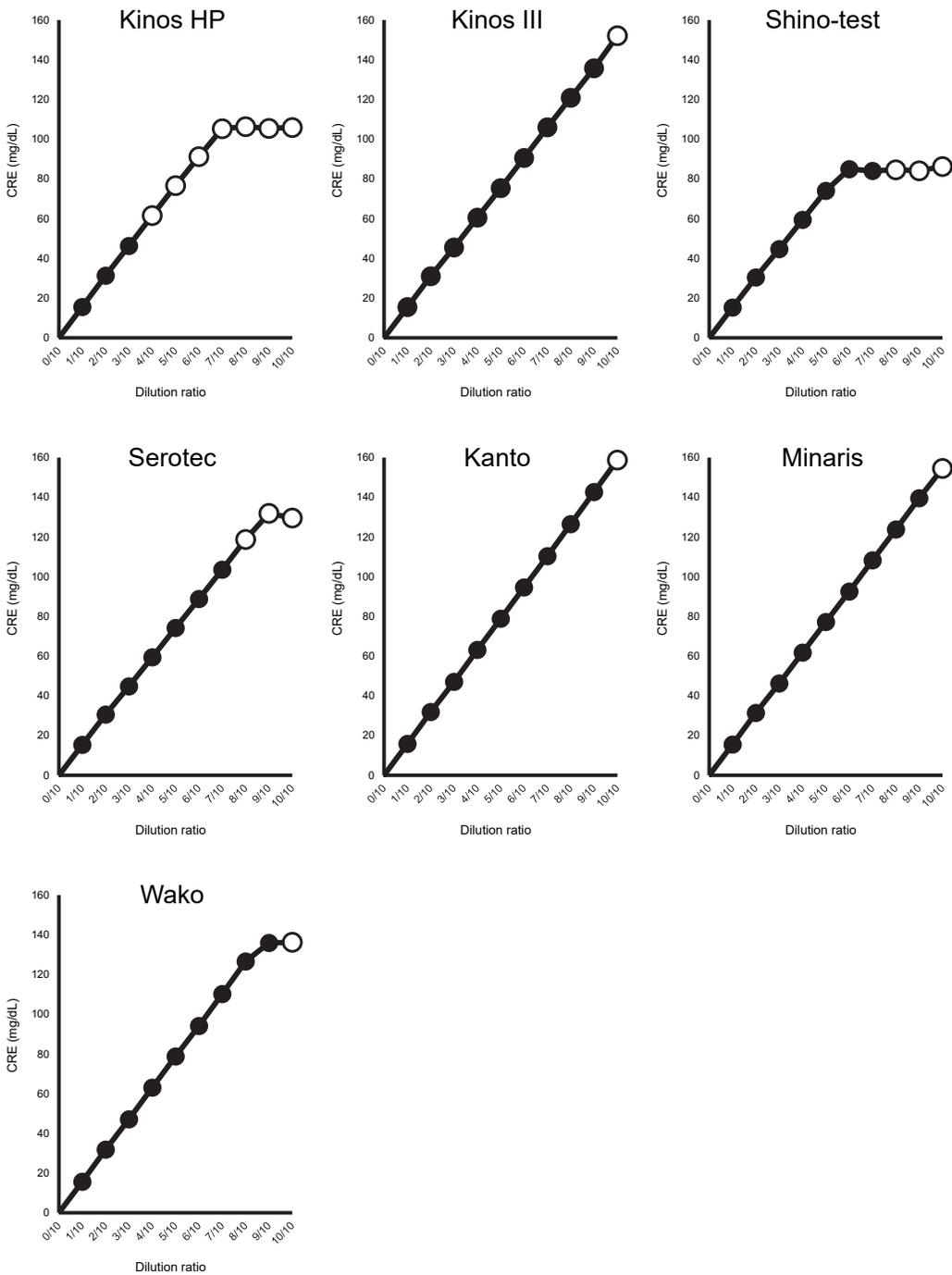


Fig. 3 Linearity
The white circles mean the measured CRE values with error flags.

複数の測定性能を調べ、試薬間差を測定パラメータや発色試薬に着目し解析した。また、CRE検査状況の解析を通して、各測定試薬を日常検査における適性という観点で評価した。本研究は各測定試薬のLoQを初めて明らかにし、最小は0.01 mg/dL、最大は0.11 mg/dLと試薬間で10倍も異なった (Table 3)。その原因として各測定試薬の測定パラメータ (検体量と測定試薬量の比) や発色試薬の違いが考えられた。CRE検査状況の解析より日常検査の約75%の検体ではCRE値が1.00 mg/dL未満であったことから、この測定領域における正確性に優れた測定試薬は日常検査に適すると考えられる。また、小児患者の多くは0.30 mg/dL未満とより低値であったことから、各測定試薬の低値域の測定性能としてLoDではなくLoQを明らかにすることは日常診療に貢献し、LoQがより小さい測定試薬は日常検査に有用と考えられる。

LoQの試薬間差は、測定パラメータだけではなく、発色試薬の違いも原因と考えられた。一般に検体量が多いほど低濃度まで検出できるが、本研究でも測定試薬量に対する検体量の比が相対的に大きい測定パラメータではLoQが小さかった (Table 1, 3)。しかし、Wakoのようにその比が大きくても他の測定試薬よりLoQが大きい試薬があり、原因として発色試薬の違いが考えられた。検体量と測定試薬量を統一して各測定試薬でCRE低値試料を測定したところ、各測定試薬の主波長における吸光度はWakoが最も小さかった (Table 3)。すなわち、

Wakoは発色の程度が最も小さく、これが他の測定試薬よりLoQが大きい原因と考えられた。本研究は各測定試薬のLoQを初めて明らかにし、試薬間差の原因として測定パラメータ (検体量と測定試薬量の比) に加え発色試薬の影響を実験的に明らかにした。

CRE値1.00 mg/dL未満における正確性に優れた測定試薬は日常検査に適すると考えられる。たしかに日常検査で遭遇したCRE値は0.05-26.68 mg/dLと幅広くその全範囲において高い正確性が求められるが、日常検査におけるCRE値分布の解析から約75%が1.00 mg/dL未満であったことから、各測定試薬を日常検査用試薬としての適性という観点で評価する際はCRE値1.00 mg/dL未満における正確性はより重要と考えられる。本研究では正確性評価にJCCRM 521-13を用いたが、KantoはJCCRM 521-13M (認証値 0.86 mg/dL) において許容基準を満たさなかった (Table 4)。ただし、521-13H (認証値 2.16 mg/dL) および521-13HH (認証値 5.26 mg/dL) では許容基準を満たしており、また統計学的に直線性を認めなかった。各社から提供されたトレーサビリティ体系図を確認すると、Shino-testとMinarisでは上位の標準物質としてJCCRM 521を介していなかったが、Kinos, Serotec, KantoおよびWakoでは介していた。そのため、Kantoが521-13Mで許容基準を逸脱した明確な原因は特定できなかったが、可能性の一つとして、測定試薬のロット間差が挙げられる。3濃度の標準物質を測定し統計的に直線性を認めず1濃度のみ許容基準を逸

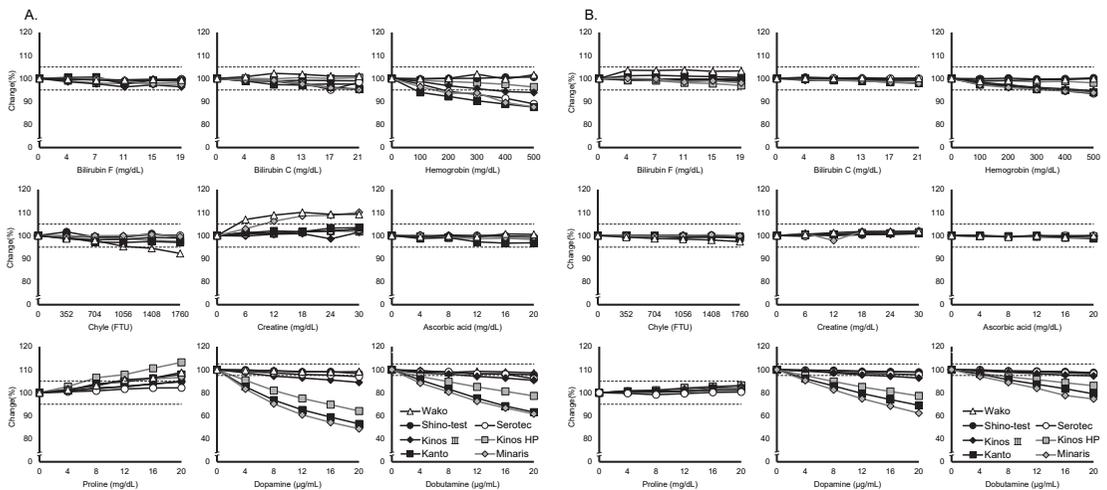


Fig. 4 Effects of interfering substances and catecholamine agents

The samples measured were in-house pooled plasma with low (A) and high (B) levels of creatinine. The dashed lines indicate acceptable range of upper and lower limits.

脱したことからもロット間差の影響が考えられる。本検討では各測定試薬とも1ロットで評価しているため他のロットでは多少なりとも結果が異なる可能性があり、この点は今後の研究が期待される。

小児を診療する施設ではCRE値0.30 mg/dL未満を定量できる測定試薬が求められる。日常検査におけるCRE値を患者の年齢を指標に解析すると0.30 mg/dLを境に特徴が異なり (Fig. 5-B), 0.30 mg/dL未満では10歳未満の患者が80%以上を占めていた (Fig. 5-C)。小児の基準範囲上限は成人より低くたとえば2歳未満では0.26-0.32 mg/dLとされ⁴⁾, また2歳未満のCKD重症度判定ではeGFRではなくCRE値が用いられ0.27-0.31 mg/dLからステージ分類が判定される¹¹⁾。このように

小児患者の日常検査ではCRE値0.30 mg/dL未満における定量性が求められるが、各測定試薬のLoQは0.11 mg/dL以下でありそれを満たした。ただし、日常検査では0.10 mg/dL以下の検体にも遭遇するため、LoQがより小さい測定試薬が日常検査に望まれると考えられた。

併行精度と測定試薬の開検後安定性の評価では後者で試薬間差を認めた。いずれの測定試薬もCRE低値から高値試料における多重測定のCV (%)は0.1-1.6%であり (Table 2), これは既報の0.4-3.0%と同等以上の結果であった^{5-6,8)}。測定試薬の開検後安定性には試薬間差を認め、これはCRE低値試料で顕著であり、KantoとMinarisは他の測定試薬より安定期間が短かった (Fig. 2)。既報^{5-6,8)}では同時再現性より日差再現性のCV (%)

Table 4 Trueness

Reagents	Kinos HP	Kinos III	Shino-test	Serotec	Kanto	Minaris	Wako
Samples							
JCCRM 521-13M (certified value, mg/dL)				0.86 ± 0.03			
Mean (mg/dL)	0.83	0.84	0.88	0.86	0.82	0.82	0.85
95% confidence interval (mg/dL)	0.80-0.86	0.80-0.87	0.85-0.91	0.82-0.89	0.78-0.85	0.79-0.85	0.82-0.88
ΔM (mg/dL)	0.030	0.024	0.020	0.004	0.044	0.040	0.010
(%)	3.5	2.8	2.3	0.5	5.1	4.7	1.2
JCCRM 521-13H (certified value, mg/dL)				2.16 ± 0.05			
Mean (mg/dL)	2.12	2.13	2.21	2.14	2.14	2.10	2.17
95% confidence interval (mg/dL)	2.07-2.17	2.07-2.18	2.16-2.27	2.09-2.19	2.08-2.19	2.05-2.15	2.12-2.23
ΔM (mg/dL)	0.040	0.034	0.052	0.022	0.024	0.060	0.014
(%)	1.9	1.6	2.4	1.0	1.1	2.8	0.6
JCCRM 521-13HH (certified value, mg/dL)				5.26 ± 0.13			
Mean (mg/dL)	5.19	5.24	5.29	5.17	5.38	5.25	5.33
95% confidence interval (mg/dL)	5.06-5.33	5.11-5.37	5.16-5.42	5.03-5.30	5.25-5.51	5.12-5.38	5.20-5.46
ΔM (mg/dL)	0.066	0.018	0.028	0.094	0.122	0.012	0.070
(%)	1.3	0.3	0.5	1.8	2.3	0.2	1.3
Statistical analyses							
F value (one-tailed P value)	0.021 (P = 0.886)	4.688 (P = 0.051)	28.686 (P < 0.001)	3.884 (P = 0.072)	34.742 (P < 0.001)	63.093 (P < 0.001)	0.004 (P = 0.948)
Tb value (P value)	7.585 (P < 0.001)	1.520 (P = 0.124)	-	19.342 (P < 0.001)	-	-	13.438 (P < 0.001)
Ta value (P value)	6.295 (P < 0.001)	6.909 (P < 0.001)	-	4.960 (P < 0.001)	-	-	5.673 (P < 0.001)

In the statistical analyses, the Tb and Ta values were calculated when the F values in the linearity examination were not significant. If not so, the cell in Tb and Ta values were represented as hyphen.

が大きくこれは測定試薬の安定性の変化を示唆するが、安定性の変化の程度や安定期間は明らかでない。その原因として日差再現性の評価方法として検討期間における全ての測定値を用いてCV (%) を求めていることが挙

げられる。一方、本研究では測定試薬の安定性を開栓初日のCRE値に対する経時の変化率で評価した。この方法は他の研究でも用いられており^{7,12)}、安定性の変化や安定期間を明らかにするために有用と考えられる。本研

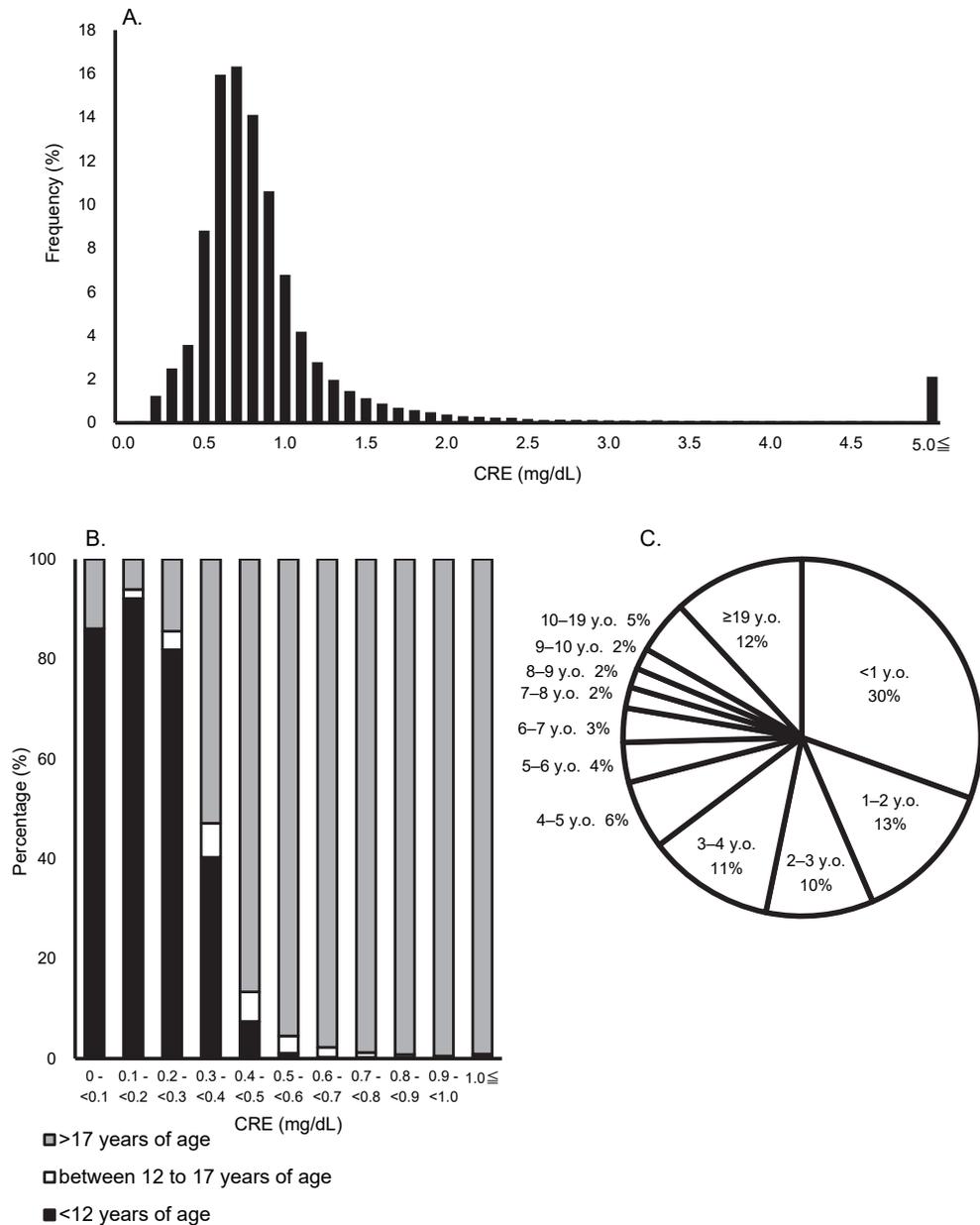


Fig. 5 Profiles of clinical CRE measurement tests performed at Niigata University Hospital
 A. Distribution of CRE values measured in 2018; B. Percentage of pediatric patients in each range of CRE values measured; C. The age in the patients that underwent CRE examinations showing ≤ 0.3 mg/dL.
 y.o. years old

究は各CRE測定試薬の安定期間を初めて明らかにした。

共存物質や薬剤の影響の評価では、Shino-testはいずれの影響も認めなかったが、他の測定試薬では何らかの影響を認めた (Fig. 4)。ヘモグロビンの影響を認めた測定試薬はいずれも測定パラメータの主波長が548 nmであり (Table 1)、ヘモグロビンの吸収波長に近いことが原因と考えられた。Shino-testやWakoのように主波長がそれと大きく離れた測定試薬では影響はなかった。重要なことに、CRE低値試料すなわち日常検査で頻繁に遭遇する測定値域においてヘモグロビンの影響は顕著であり (Fig. 4-A)、preanalytical errorsを防ぐには検査前に確実に溶血の有無を確認する必要がある。クレアチンやプロリン、ドーパミン、ドブタミンの影響評価では影響の有無という点で試薬間差を認めた。すなわち、影響の有る測定試薬と無い測定試薬があった。一方、既報ではどの測定試薬でもそれらの影響が有るとされるが¹⁰⁾、既報は本研究より評価基準が厳しく、また各物質や薬剤とも高濃度域まで検討している。本研究では「影響の有無」に着目して一定の基準で評価したが本結果を詳細に見ると、程度の違いはあるが、どの測定試薬においてもクレアチンやプロリンの濃度依存性に正誤差、ドブタミンやドーパミンの濃度依存性に負誤差を認める (Fig. 4-A)。従って、もし本研究でもより高濃度域まで調べていたら、“影響なし”の測定試薬でも許容範囲を超える変動を認め“影響あり”と判断された可能性がある。試薬間差すなわち影響の有無や程度が測定試薬間

で異なる傾向は、その評価基準や各物質、薬剤の検討濃度域により結果が異なる。

CRE測定試薬の性能を日常検査における適性という観点で評価する場合、CRE値1.00 mg/dL未満における正確性と定量性に重きを置くことは実用的と考えられる。測定試薬間で直線性の上限は異なったが、いずれの測定試薬も日常検査で遭遇した最大値以上の直線性がある。測定試薬間で開栓後安定性は異なったが、各社とも試薬容量の異なる複数種類の試薬ボトルが市販されているので、自施設の検査状況 (検査依頼数など) に応じた容量の試薬ボトルを選定することができる。日常検査で遭遇するCRE値の約75%は1.00 mg/dL未満であり、また小児患者の多くは0.30 mg/dL未満であること、CREの基準範囲や臨床判断値などを考慮すると、1.00 mg/dL未満における正確性と定量性に優れた測定試薬は日常検査に適すると考えることができる。この基準で評価すると、正確性はKanto以外では許容できる性能が確認され、定量性はどの測定試薬も日常検査に求められるLoQを満たしていた。ただし、先述の通り本研究では各測定試薬とも検討時に入手できた1ロットで評価しており、他のロットで検討すると多少なりとも結果が異なる可能性がある。ロット間差の評価は今後の課題である。

5. 結語

7種のCRE測定試薬を対象にLoQを含む複数の測定性能を調べた結果、開栓後安定性やLoD, LoQ, 直線性、

Table 5 Correlation

x-axis \ y-axis	KINOS HP	KINOS CRE III	Kanto	Shino-test	Serotec	Minaris	Wako
KINOS HP		y=1.018x-0.003 r > 0.999	y=1.059x-0.048 r > 0.999	y=1.019x+0.059 r > 0.999	y=0.995x+0.035 r > 0.999	y=1.045x-0.106 r > 0.999	y=1.051x-0.046 r > 0.999
KINOS CRE III	y=0.982x+0.003 r > 0.999		y=1.040x-0.045 r > 0.999	y=1.001x+0.062 r > 0.999	y=0.977x+0.038 r > 0.998	y=1.026x-0.103 r > 0.999	y=1.032x-0.043 r > 0.998
Kanto	y=0.944x+0.046 r > 0.999	y=0.962x+0.044 r > 0.999		y=0.962x+0.105 r > 0.999	y=0.940x+0.080 r > 0.999	y=0.986x-0.058 r > 0.999	y=0.992x+0.003 r > 0.999
Shino-test	y=0.981x-0.058 r > 0.999	y=0.999x-0.062 r > 0.999	y=1.039x-0.110 r > 0.999		y=0.976x-0.023 r > 0.999	y=1.025x-0.166 r > 0.999	y=1.031x-0.106 r > 0.999
Serotec	y=1.005x-0.035 r > 0.999	y=1.023x-0.039 r > 0.998	y=1.064x-0.086 r > 0.999	y=1.024x+0.023 r > 0.999		y=1.050x-0.143 r > 0.999	y=1.056x-0.082 r > 0.998
Minaris	y=0.957x+0.102 r > 0.999	y=0.975x+0.101 r > 0.999	y=1.014x+0.059 r > 0.999	y=0.975x+0.162 r > 0.999	y=0.953x+0.136 r > 0.999		y=1.006x+0.061 r > 0.999
Wako	y=0.951x+0.043 r > 0.999	y=0.969x+0.041 r > 0.998	y=1.008x-0.003 r > 0.999	y=0.969x+0.103 r > 0.999	y=0.947x+0.078 r > 0.998	y=0.994x-0.061 r > 0.999	

共存物質および薬剤の影響、正確性に試薬間差を認め、LoQは測定試薬間で10倍も異なった。検査状況の解析からCRE値1.00 mg/dL未満の検体が全体の約75%を占めた。CRE値1.00 mg/dL未満における12歳未満の小児患者の割合は約5%であったが、より低濃度域であるCRE値0.30 mg/dL未満では約63%であった。このことから、日常検査ではCRE値1.00 mg/dL未満の精確さが保証されている測定試薬が適切であると考えられる。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) 吉村学, 西村真人. クレアチニン. 日本臨牀 1999;57:542-545.
- 2) 今井圓裕. CKD診療ガイド2012. 日本腎臓学会誌 2012;54:1031-1191.
- 3) 公益社団法人日本臨床検査標準協議会 JCCLS共用基準範囲 2020年2月1日発行.
- 4) Uemura O, Honda M, Matsuyama T, et al. Age, gender, and body length effects on reference serum creatinine levels determined by an enzymatic method in Japanese children: a multicenter study. Clin Exp Nephrol 2011;15:694-699.
- 5) 野尻卓宏, 大川龍之介, 大久保滋夫ほか. 新規クレアチニン測定試薬シグナスオートCREの基礎検討. 日本臨床検査自動化学会誌 2014;39:68-72.
- 6) 吉弘苑子, 松本信也, 青木義政ほか. クレアチニン改良試薬の基礎的性能評価. 日本臨床検査自動化学会誌 2014;39:651-655.
- 7) 森田祐貴, 松田将門, 南野徹. IFCC標準測定法に対応した4社のALP活性測定試薬の特性と測定性能の解明. 医療検査と自動化 2020;45:155-167.
- 8) 鈴木芳武, 澤部祐司, 清宮正徳ほか. 新しいクレアチニン測定試薬「LタイプワコーCRE・M」の基礎的な性能評価. 医学と薬学 2004;51:723-729.
- 9) 村本 良三. 二価フェノール類薬剤の影響をほぼ回避した改良クレアチニン試薬の評価. 日本臨床検査自動化学会誌 2013;38:87-90.
- 10) 三好雅士, 西岡麻衣, 秦真公人ほか. クレアチニン測定試薬6試薬における測定誤差の比較. 医学検査 2017;66:547-553.
- 11) 小児慢性腎臓病（小児CKD）小児の「腎機能障害の診断」と「腎機能評価」の手引き, 小児慢性腎臓病（小児CKD）小児の「腎機能障害の診断」と「腎機能評価」の手引き編集委員会, 初版, 診断と治療社; 東京, 2019.
- 12) 射場信之, 田中龍彦. 開封状態で安定なALP測定試薬の開発. 日本臨床検査自動化学会誌 1998;23:225-228.

生化学自動分析装置における血漿検体用採血管からの直接サンプリングによる測定値への影響

Effect of direct sampling from plasma sample blood collection tube in clinical chemistry analyzer on measurement results

伊藤幸紀¹⁾ 廣田雅子³⁾ 栗原由利子³⁾ 亀田貴寛²⁾ 細萱茂実³⁾

要旨 ヘパリンリチウム血漿用採血管で採血、遠心分離し、生化学自動分析装置で検体を直接サンプリングさせて乳酸脱水素酵素 (LD) を測定すると、正誤差が発生することが報告されている。今回我々はこの正誤差を発生させる要因について検討をした。この結果、メーカー、分離剤の有無等ヘパリンリチウム血漿採血管の種類を問わず正誤差が発生すること、遠心分離後の血漿検体液面に血球や血小板成分が不均一に存在する場合があることを確認した。これらが反応容器へ持ち込まれることで、LD測定値の正誤差が発生していると考えられた。またヘパリンリチウム血漿用採血管を使用する上での注意点と確認方法について提案する。

Key words Lithium-Heparin plasma sample, Lactic acid dehydrogenase, Platelets, Clinical chemistry analyzer

1. はじめに

ヘパリンリチウム血漿採血管は、転倒混和後、検体の凝固時間を待つことなく、直ぐに遠心分離し、生化学自動分析装置等へ架設し測定が可能である。また抗凝固剤の陽イオンにリチウムを用いているため、血中ナトリウム濃度測定が可能である。ヘパリンリチウム血漿を検体とした場合と血清を検体とした場合の差は多くの項目で数%以内¹⁾である。生化学的検査項目の測定結果を迅速に報告する目的で、採血管内の検体の凝固時間を要する血清採血管に代えて緊急検体測定にヘパリンリチウム血漿採血管を利用し、生化学自動分析装置に直接架設する

方法が採られている。

しかし、乳酸脱水素酵素 (以下、LD) を測定した際に、血清の測定値と比較して大きな正誤差の発生が報告されている²⁾。一方で、ヘパリンリチウム血漿を検体とした場合と血清の間の差について、添付文書記載の遠心条件で遠心分離を行えば誤差は小さいとする報告³⁾もある。

今回我々は、ヘパリンリチウム血漿採血管を遠心処理後、そのまま生化学自動分析装置に架設して直ぐにLDを測定した場合、しばしば初検値と再検値が大きく乖離することを確認した。この乖離は初検値が高値、再検値が正常を示すことが多数であった。しかし、初検値が正常、再検値が高値を示すことがある。乖離するその原因

Received Jun. 11, 2021; Accepted Aug. 16, 2021
Kouki ITO¹⁾, Masako HIROTA³⁾, Yuriko KURIHARA³⁾, Takahiro KAMEDA²⁾, Shigemi HOSOGAYA³⁾

¹⁾株式会社日立ハイテク医用システム製品本部
アプリケーション開発部

〒105-0011 東京都港区芝公園2-4-1

²⁾東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科先端分析検査学

〒113-8510 東京都文京区湯島1-5-45

³⁾東京工科大学医療保健学部臨床検査学科

〒144-8535 東京都大田区西蒲田5-23-22

¹⁾Medical Systems Product division, Hitachi High-Tech,

4-1, Shibakoen 2-chome, Minato-ku, Tokyo 105-0011, Japan.

²⁾Analytical Laboratory Chemistry, Division of Biomedical Laboratory Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8510, Japan.

³⁾Department of Medical Technology, School of Health science, Tokyo University of Technology, 5-23-22 Nishikamata, Ota-ku, Tokyo 144-8535, Japan.

Corresponding author : 伊藤 幸紀

TEL : 03-6759-2646

E-mail : koki.ito.jy@hitachi-hightech.com

と対策のため、①ヘパリンリチウム血漿採血管にて採血、②測定した血漿検体のLD測定時の正誤差の発生状況の比較、③LD正誤差が発生するタイミング、④正誤差を発生させる検体中の要因、⑤生化学自動分析装置で正誤差の回避方法について検討を行った。対照としてヘパリンリチウム血漿採血管と同時に採血した凝固促進剤入り採血管で得られた血清を測定した。

本検討は東京工科大学倫理委員会、日立ハイテクグループ倫理審査作業委員会の承認を得て実施した。

2. 材料および方法

1) 測定機器

測定機器は、生化学自動分析装置:LABOSPECT 006 (株式会社日立ハイテク)⁴⁾、多項目自動血球分析装置:XS-500i (シスメックス株式会社)、集細胞遠心装置:Cytospin4 (サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社)を使用した。なおLABOSPECT 006には検討用プログラムを適用した。

2) 測定試薬および試料

測定試薬はTable 1に示すものを使用した。LD測定試薬、ALP測定試薬はJSCC標準化対応法とIFCC対応法がそれぞれ含まれるよう選択した。

測定に使用した試料は、東京工科大学倫理委員会、日立ハイテクグループ倫理審査作業委員会にて承認された研究内容に従い、本研究への協力について同意を得たボランティアから採血したものを検討用試料とした。

測定に使用した採血管はTable 1に示したものを使用した。

3. 検討方法

1) LD, ALP, ASTの測定

各試薬で指定された分析パラメータをLABOSPECT 006に入力、各試薬で指定されたキャリブレーションにてキャリブレーションを実施し、各試薬指定の精度管理試料にて測定値の正確さを確認した後に検体の測定を行った。ヘパリンリチウム血漿採血管にて採血した検体(以下、血漿検体)と血清採血管にて採血した検体(以下、血清検体)を採血管添付文書⁵⁾⁶⁾記載の手順で前処理を行い、LABOSPECT 006を用いてLD, ALP, ASTをそれぞれの試薬単独で20回連続測定した。検体の遠心処理の条件は、各採血管の添付文書に記載されている条件に従い、1800 Gで10分とした。各試薬での測定時に採血管の使い回しをせず、それぞれ別に採血した採血管を使用した。

2) 血球成分の測定

遠心処理を行った後の血漿検体と血清検体の液面部分を100 μL採取し、XS-500iにて白血球、赤血球、血小板の測定を行った。XS-500iでの測定、血球成分の観察は、1)で使用した採血管を使用せず、それぞれ別に採血した採血管を使用した。

3) 血球成分の観察

2)で採取した試料100 μLをCytospin4で専用のチャンバーを用いてスライドガラス上に集細胞遠心した。集細胞遠心条件は20 Gで5分とした。集細胞遠心の条件は、Andries Jらの報告を参考に設定した⁷⁾。メイギムザ染色後顕微鏡にて観察、白血球、赤血球、血小板をカウントした。

Table 1 Reagent and Sample collection tube used

[LD, ALP, AST reagents]

Reagent	Manufacturer	Method
L-type LD・J (LABOSPECT)	FUJIFILM Wako Pure Chemical	JSCC recommended method
QuickAuto Neo LD JS-HLS	SHINO-TEST	JSCC recommended method
LaboFit LD	KANTO CHEMICAL	JSCC recommended method
L-type LD・IF (LABOSPECT)	FUJIFILM Wako Pure Chemical	IFCC recommended method
L-type ALP・J2 (LABOSPECT)	FUJIFILM Wako Pure Chemical	JSCC recommended method
L-type ALP IFCC (LABOSPECT)	FUJIFILM Wako Pure Chemical	IFCC recommended method
L-type AST・J2 (LABOSPECT)	FUJIFILM Wako Pure Chemical	JSCC recommended method

[Sample collection tube]

Product	Manufacturer	Note
[Heparin lithium plasma sample collection tubes]		
VACUETTE Blood Collection Tube ; REF.368889	Becton Dickinson and company	No separator gel
VACUETTE Blood Collection Tube ; REF.367963	Becton Dickinson and company	With separator gel
Venoject II VP-H050K	Terumo	No separator gel
Venoject II Auto cep. VP-AL074K	Terumo	With separator gel
[Serum sample collection tubes]		
Venoject II Auto cep. VP-AS076K	Terumo	With separator gel

4. 結果

1) LD, ALP, ASTの測定

同時に採血した被験者AからEの血漿検体と血清検体を20回連続測定した測定値の分布と箱ひげ図について、LD試薬・Aの例をFig. 1に示す。各血漿採血管の血漿検体測定値の分散と血清測定値の分散の間に差があるか試薬毎/被験者毎に有意水準5%で確認した結果をTable 2に示す。各血漿検体測定値の分散は0.69~277.42、各血清検体測定値の分散は0.66~8.80を示し、いずれのヘパリンリチウム血漿採血管、LD測定試薬で

も血清測定値より大きなばらつきを認めた。血漿検体の測定値は、期待値の約10%~30%高値側へばらつき、低値側への大きなばらつきは確認されなかった。また被験者間でばらつきやすさに一定の傾向を認めなかった。

LDの正誤差が発生するタイミングは、連続測定の初めの方で多く発生した。連続測定開始後5回目以内に、血漿検体80検体中27検体で各検体の期待値が10%を超える正誤差の発生が確認された。また連続測定の初めの方に限らず、10回目以降を超えて発生する例も血漿検体80検体中10検体で観察された。連続測定時の発生例をFig. 2に示す。

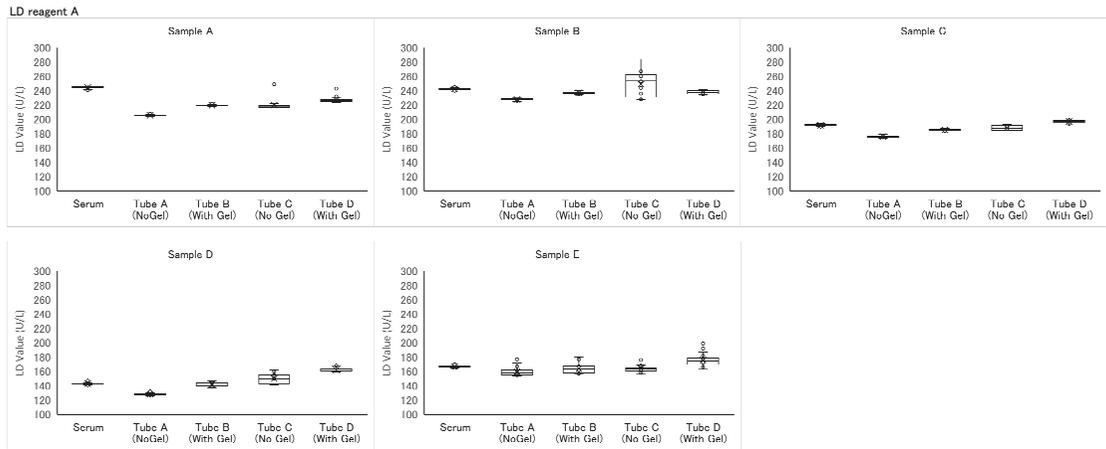


Fig. 1 LD measurement value distribution each sample collection tube

Table 2 Comparison of variance of plasma and serum measurements

Reagent	Tube	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E
LD reagent A	Tube A (No Gel)	p<0.05	N.S.	N.S.	N.S.	p<0.05
	Tube B (With Gel)	p<0.05	N.S.	N.S.	p<0.05	p<0.05
	Tube C (No Gel)	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
	Tube D (With Gel)	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
LD reagent B	Tube A (No Gel)	N.S.	p<0.05	N.S.	p<0.05	N.S.
	Tube B (With Gel)	p<0.05	N.S.	p<0.05	p<0.05	N.S.
	Tube C (No Gel)	N.S.	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
	Tube D (With Gel)	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
LD reagent C	Tube A (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	p<0.05
	Tube B (With Gel)	p<0.05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube C (No Gel)	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
	Tube D (With Gel)	p<0.05	N.S.	p<0.05	p<0.05	p<0.05
LD reagent D	Tube A (No Gel)	p<0.05	N.S.	p<0.05	N.S.	p<0.05
	Tube B (With Gel)	p<0.05	N.S.	p<0.05	N.S.	p<0.05
	Tube C (No Gel)	p<0.05	p<0.05	N.S.	N.S.	p<0.05
	Tube D (With Gel)	p<0.05	N.S.	p<0.05	N.S.	p<0.05

ALP, ASTについて、被験者AからEの血漿検体、血清検体について連続測定を行った。ALP試薬・Aの各血漿検体測定値の分散は0.47~1.95、各血清検体測定値の分散は1.25~2.56であった。ALP試薬・Bの各血漿検体測定値の分散は0.00~0.34、各血清検体測定値の分散は0.17~0.26であった。AST試薬・Aの各血漿検体測定値の分散は0.48~1.67、各血清検体測定値の分散は0.93~1.21であった。いずれのヘパリンリチウム血漿採血管での測定値の分散と血清採血管測定値の分散の間に有意差を認める検体は少なかった (Table 3)。有意差が見られたものであっても血漿測定値の分散の値と血清検体の分散の値に大きな差は見られなかった。

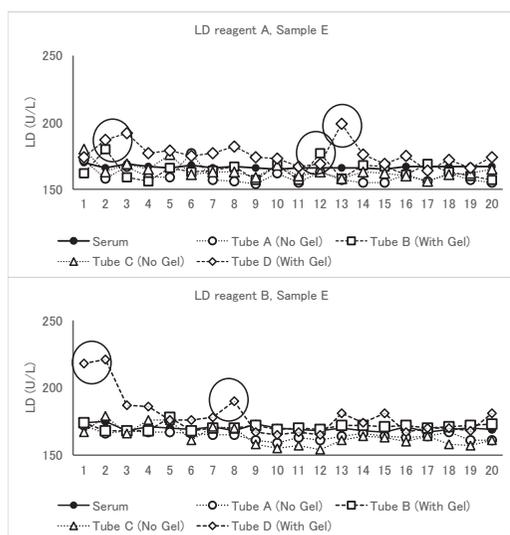


Fig. 2 Transition of LD measurement value during continuous measurement

2) ヘパリンリチウム血漿液面の観察

血漿検体液面をサンプリングし、XS-500iで測定したところ、いずれのヘパリンリチウム血漿採血管でも白血球と赤血球はほとんど測定されなかった。血小板測定値は、被験者によっては 0.5 から $1.0 \times 10^4/\mu\text{L}$ を示した (Table 4)。

血漿検体液面 $100 \mu\text{L}$ をピペットでサンプリングし、Cytospin4で作成した集細胞遠心の塗抹標本では白血球、赤血球、血小板共に確認された。白血球は多くの検体で、確認はされるもののカウント数は2.8HPF以下と少なかった。赤血球は採血管種、被験者を問わず他の血球成分より多く確認され、0.4HPF~39.3HPFが確認された。血小板は、多くの検体で確認され、0.0HPF~13.7HPFが確認された。ただし血小板のカウント数は被験者と採血管の組み合わせによって大きな差があった (Table 4)。これは被験者若しくは採血管に対して一定の傾向を示さなかった。塗抹標本の血球像は各々の血球が単一で確認されたほか、赤血球の凝集、赤血球と白血球の凝集、血小板の凝集が確認された (Fig. 3)。

3) 血小板等を反応容器に持ち込む経路の検討

生化学自動分析装置において、検体から反応容器へLD測定値に影響を与える成分 (血球成分等) を持ち込む経路として、

- (A)LD測定値へ影響を与える成分が検体プローブで吸引した検体に含まれ反応容器へ吐出するケース、
 - (B)LD測定値へ影響を与える成分が検体プローブ外壁に付着する検体に含まれ、検体を吐出する際に一緒に反応容器に残してくるケース、
- が考えられる。同時に採血した被験者A、B、Eの血漿検体と血清検体を、検体吸引後の検体プローブ外壁をサンプリング後に洗浄する動作を導入する変更前/後でそ

Table 3 Comparison of variance of plasma and serum measurements (ALP,AST)

Reagent	Tube	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E
ALP reagent A	Tube A (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube B (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	p<0.05	N.S.
	Tube C (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube D (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
ALP reagent B	Tube A (No Gel)	p<0.05	p<0.05	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube B (With Gel)	p<0.05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube C (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube D (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
AST reagent A	Tube A (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	p<0.05	N.S.
	Tube B (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube C (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube D (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

Table 4 Observation of blood cell count in plasma

		Tube A (No Gel)					Tube B (With Gel)				
		Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E
WBC	Blood cell counter	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.4	0.2	0.5	0.2
	Microscopy	1.0	1.5	0.1	2.8	0.2	0.7	0.4	0.3	1.6	0.1
RBC	Blood cell counter	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Microscopy	6.6	16.6	6.1	13.4	6.1	17.1	5.1	21.8	23.1	12.3
PLT	Blood cell counter	0.5	1.0	0.9	0.7	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Microscopy	5.4	7.9	5.9	13.7	5.9	2.9	3.5	1.0	2.6	1.9
		Tube C (No Gel)					Tube D (With Gel)				
		Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E
WBC	Blood cell counter	0.2	0.2	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2
	Microscopy	0.0	0.6	0.1	0.0	0.7	0.4	0.5	0.8	0.8	1.9
RBC	Blood cell counter	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Microscopy	0.5	0.4	3.7	1.6	4.8	39.3	1.7	7.4	3.5	4.3
PLT	Blood cell counter	0.2	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.0	0.1	0.2	0.0
	Microscopy	0.0	1.1	0.6	0.6	0.6	1.5	1.2	3.7	1.1	1.2

WBC : Upper low : $\times 10^2 / \mu\text{L}$, Under low : average(/High Power Field)

RBC : Upper low : $\times 10^4 / \mu\text{L}$, Under low : average(/High Power Field)

PLT : Upper low : $\times 10^4 / \mu\text{L}$, Under low : average(/High Power Field)

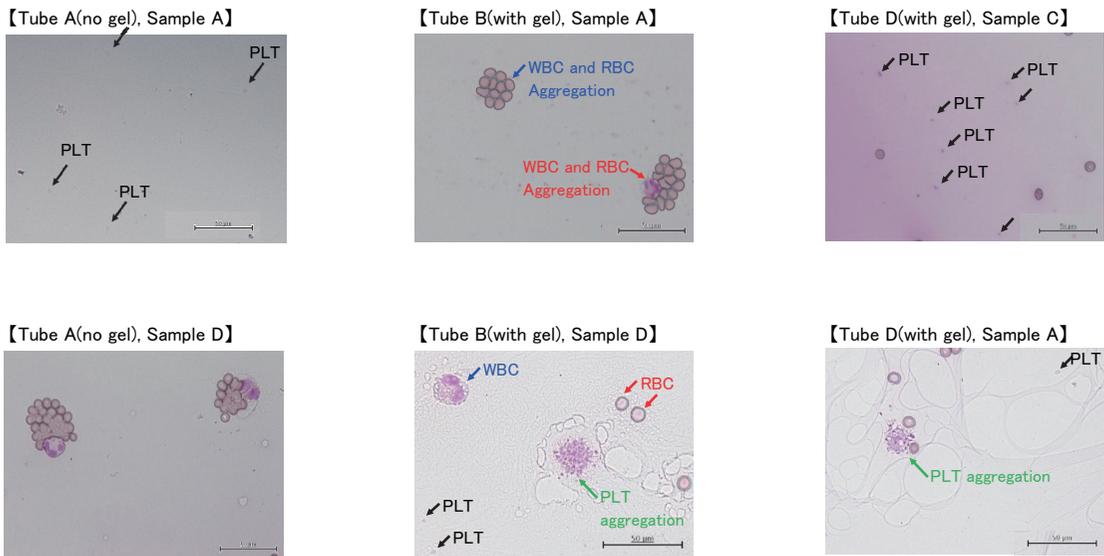


Fig. 3 Smear image of plasma sample surface

れぞれ20回連続測定し、その測定値の分布から (A) と (B) の影響を比較した。LD 試薬・A での各検体の測定値の分布を Fig. 4 に、LD 試薬・D での各検体の測定値の分布を Fig. 5 に示す。共に上段は洗浄なしの際の分布を、下段は洗浄を導入した際の分布を示す。

検体吸引後に検体プローブ外壁を洗浄することで、測定値のばらつきを低減することができた。しかし、Fig. 5 で丸く囲った検体では、洗浄を行ってもばらつき結果となった。この検体の測定結果は、動作変更前と同様に血清より血漿の分散の値が大きく、測定値は期待値の約10%高値へばらついた。

LABOSPECT 006の検体プローブの洗浄動作を変更した後、同時に採血した血漿検体と血清検体を20回連続測定し、各血漿採血管測定値の分散と血清測定値の分散と差があるか被験者毎に確認した(有意水準5%, Table 5)。各血漿検体測定値の分散は0.24~6.89、各血清検体測定値の分散は0.37~1.71であった。検体プローブの洗浄動作変更後、全体的に血漿検体の分散の値と血清検体で分散の値の間で有意差が見られる検体は少なくなった。「 $p<0.05$ 」と記した有意差が見られた検体の結果については、血清検体の分散の値と血漿検体の分散の値の差は、洗浄動作変更前に比較して小さくなった。

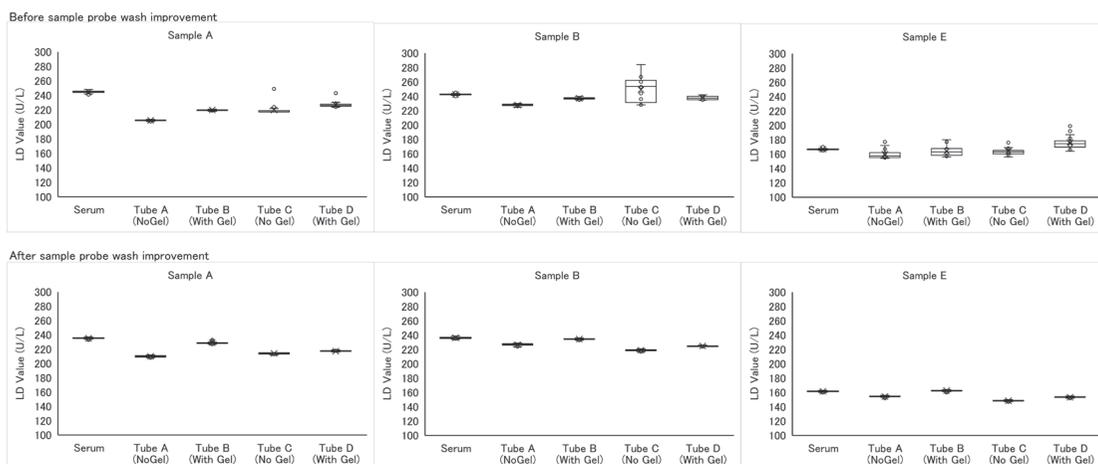


Fig. 4 Comparison before and after sample probe operation improvement, LD reagent A

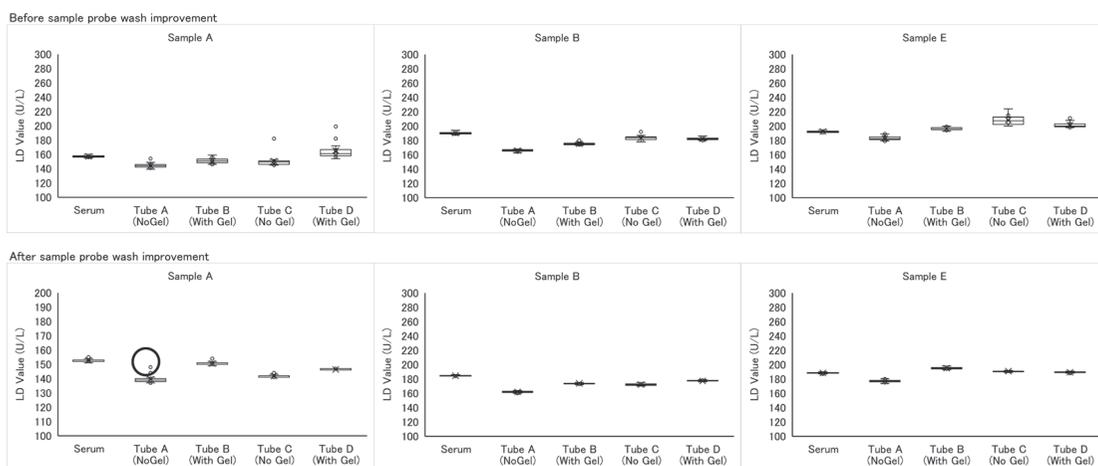


Fig. 5 Comparison before and after sample probe wash improvement, LD reagent D

Table 5 Comparison of variance of plasma and serum measurements (After Sample probe wash improvement)

Reagent	Tube	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E
LD reagent A	Tube A (No Gel)	N.S.	N.S.	p<0.05	N.S.	N.S.
	Tube B (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube C (No Gel)	N.S.	p<0.05	p<0.05	N.S.	N.S.
	Tube D (With Gel)	p<0.05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
LD reagent B	Tube A (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube B (With Gel)	N.S.	N.S.	p<0.05	N.S.	p<0.05
	Tube C (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube D (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
LD reagent C	Tube A (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube B (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Tube C (No Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	p<0.05	p<0.05
	Tube D (With Gel)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
LD reagent D	Tube A (No Gel)	p<0.05	p<0.05	N.S.	N.S.	p<0.05
	Tube B (With Gel)	N.S.	p<0.05	N.S.	N.S.	p<0.05
	Tube C (No Gel)	N.S.	p<0.05	p<0.05	N.S.	N.S.
	Tube D (With Gel)	p<0.05	p<0.05	N.S.	N.S.	N.S.

5. 考察

ヘパリンリチウム血漿採血管を生化学自動分析装置に架設してLDを測定した際に発生する正誤差は、血漿液面に浮遊する血小板、白血球等血球成分が検体プローブによって反応液へ持ち込まれることにより発生すると報告されている⁸⁾⁹⁾。

今回我々は、ヘパリンリチウム血漿採血管4種で採血した検体を、LD測定試薬4種、ALP測定試薬2種、AST測定試薬1種で測定し、血漿検体測定時の分散と血清検体測定時の分散の比較、血漿検体及び血清検体測定時の測定値の分布を確認した。その結果、LD測定時に、ヘパリンリチウム血漿採血管の種類、LD測定試薬の種類を問わず血漿検体の分散の値と血清検体の分散の値に有意差を認め、LD測定値は期待値の10%から30%高値となる測定値を含む分布となり、正誤差が発生することを確認した。ALP測定試薬およびAST測定試薬では血漿検体の分散と血清検体の分散の間に差は見られなかった。またTable 2に示す通り、分離剤入りのヘパリンリチウム採血管(Tube B, Tube D)でもLD測定試薬4種類とも血漿検体測定時の分散が血清検体測定時の分散より大きくなる検体があることを確認した。このことから、ヘパリンリチウム血漿採血管は分離剤があっても、血球成分が完全に分離されず血漿液面に残存する可能性があることが推測された。

一本の検体でLDの連続測定を行った場合、正誤差は初めの方に発生することが多いとの報告がある。これは連続測定の最初は血漿検体液面に浮遊する血球成分を検体プローブが反応容器へ持ち込み、その後検体プローブが血漿検体液面に降下する回数が多くなることで、液面に浮遊する血球成分が沈降すると考えられているためである⁸⁾。このためLDの測定順序を後ろの方にするだけで正誤差発生を回避する設定が多く施設で採られている。今回の検討では、正誤差の発生は連続測定の初めの方で発生することもあれば、10回を超えても発生することがあった。このことから、LDの測定順序、測定項目数に限らず正誤差が発生する可能性に留意が必要と考えられた。

血球計数と集細胞遠心を使用して作成した塗抹標本の観察によって血漿検体液面の血球成分の観察を行った。血球計数ではヘパリンリチウム血漿採血管の種類を問わず、血漿検体液面で観察される血球成分は血小板と赤血球が確認された。塗抹標本の観察では血小板、赤血球が多く、白血球は少なかった。同一被験者から同時に採血したヘパリンリチウム血漿採血管で、それぞれ血球計数、塗抹標本観察の血小板数とLD測定値の正誤差の発生を比較したところ有意な相関は認められなかった。血漿検体の塗抹標本の血球の状況を観察すると、血球が単体で存在、凝集して存在するなど一定の傾向は無く、多様な形態で不均一に存在していた。特に血小板は、検体によ

って残存する血小板数に違いがあるほかに、凝集して存在している検体も観察された。血漿液面付近に不均一に存在する血小板成分が、LDの正誤差を発生させることに関連があると考えられた。なお、他の血球の測定値の影響については、赤血球が観察されたにもかかわらず、ASTへの影響が見られなかったことから、反応液へ持ち込まれる赤血球の影響はほとんどないと考えられた。

生化学自動分析装置の検体分注動作は機種によって様々である。今回は、検体プローブによる検体分注時に、反応に影響を与える成分（血球成分等）が検体プローブの外壁に付着して反応容器に持ち込まれるか検討を行った。検体吸引後、(A)連続測定時に、測定間で検体を保持したまま検体プローブの外壁を洗浄せずそのまま反応容器へ分注させる動作、(B)連続測定時に、測定間で検体を保持したまま検体プローブ外壁を洗浄して反応容器へ分注させる動作で、1つの検体を20回連続測定し、血漿検体の分散と血清検体の分散を比較した。その結果

(A)の血漿検体の分散はヘパリンリチウム血漿の採血管の種類を問わず、血清検体の分散との間に有意差を認める検体が多く観察され、血漿検体のLD測定値は高値側へばらついた。一方(B)の血漿検体の分散は血清検体の分散との間に有意差をほとんど認めなかった。この結果から、今回の測定条件では、検体プローブの外壁に付着して反応容器に持ち込まれることがLD測定値へ正誤差を与える要因となっており、検体プローブ外壁の洗浄を行うことでLD測定値の正誤差の発生を低減できると考えられた。今回の検討結果を通して、近清ら⁸⁾の報告にもある通り、生化学自動分析装置の特性を把握する必要があると考えられた。しかし、検体プローブ外壁の洗浄を導入しても、LD測定値の正誤差の発生を回避できないケースがあった。これは検体プローブ内に影響を与える成分を吸引し、検体プローブの外壁の洗浄の効果を受けずに反応容器に持ち込まれたことによるものと考えられた。これは前回値チェック、同時に測定したLDと関連する他の検査項目の測定値を参考に妥当性を確認し、必要に応じて再検査を行う、再検査に当たっては血漿検体液面を避けて別の検体容器に移し替えて測定を行う等の対策が必要と考える。

飯塚は、各社ヘパリンリチウム血漿採血管によるLDをはじめとする各検査項目への影響を検討し、メーカー推奨の採取方法を厳守すること、事前にプレインの真空採血管との測定値を比較してから使用することを必須としている¹⁰⁾。堀井らは、サンプルカップへの移し替え、再検ではLDの正誤差は発生しないなどの報告をしている⁹⁾。これは血清検体を用いた検討であり、これらの対

策が血漿検体でも同様の効果が得られるか、今後の検討課題としたい。

今回の検討では、ヘパリンリチウム血漿採血管を遠心処理後、そのまま自動分析装置に架設して直ぐに測定する場合、採取された血漿液面の状態を把握しておくことが必要と考えられた。その方法の例として、今回は使用するヘパリンリチウム血漿採血管から得られる血漿検体とプレイン管または凝固促進剤入り採血管から得られる血清検体についてLDを連続測定し、測定値のばらつきを比較した。この方法で各採血管におけるLD測定値への影響の特性を把握することができた。また同様の方法でALP、ASTの検討を行い問題が無いことを確認できた。

今回はLD、ALP、ASTを対象に検討を行った。しかし、ルーチン検査でのヘパリンリチウム血漿採血管の使用について、他の項目についても同様に確認してから使用することが望ましいと考えられた。

6. 結論

ヘパリンリチウム血漿採血管を用いて採血し、遠心分離後採血管をセットして血漿検体のLDを測定する場合、採血管、測定順、試薬に関わらず正誤差が発生することを確認した。正誤差の原因と考えられる血球成分は、ヘパリンリチウム血漿液面では、単体、凝集など不均質な状態で存在することが確認された。特に血小板はヘパリンリチウム血漿採血管の種類に関わらず存在が確認された。

今回の検討条件では検体プローブが検体を吸引する際にプローブの外壁に付着する血漿に血球等LDの測定値に影響を与える成分が含まれ、検体吸引後反応容器への吐出直前で検体プローブの外壁を洗浄することでLDの正誤差を軽減できることが確認された。この検討結果に基づき洗浄動作を製品に実装し、必要に応じて洗浄動作を用いることでLDの正誤差を低減させることができた。しかし、洗浄動作を加えても発生するLDの測定値の正誤差の発生は、検体プローブに検体と共に吸引された血小板等に由来すると考えられた。この場合の対策として、前回値チェック、同時に測定したLDと関連する他の検査項目の測定値を参考に妥当性を確認し、必要に応じて再検査を行う、再検査に当たっては血漿検体液面を避けて検体を別の検体容器に移し替えて測定する等の対策を提案する。

ヘパリンリチウム血漿採血管にて採取された血漿検体液面に血小板等が不均質に存在するため検体の吸引回数に関わらずLD測定値の正誤差は発生する。そのため、生化学自動分析装置のメーカーは臨床検査で使用される

各種検体とその検体分注動作が測定値へ及ぼす影響を確認すること、臨床検査室は使用する生化学自動分析装置の特性を把握すること、また使用するヘパリンリチウム血漿採血管の特性を把握することが必要と考えられた。

本論文の要旨は日本医療検査科学会第52回大会（2020年）において発表した。

著者は企業の社員であり、本論文に関わる費用等は所属企業の経費にて支払われています。

文 献

- 1) 神山清志. 5.抗凝固剤の影響, 血清と血漿の検査データ比較. 日本臨床検査自動化学会誌 2014;39 (Suppl.1):70-80.
- 2) 高橋直樹. 1.遠心分離時間によるLDHへの影響とその回避 (ヘパリンLi採血管において). 千臨技会誌 2012;116(3): .
- 3) 竹内美保. 血清 (血漿) 分離時の遠心条件の違いによる測定値への影響について. 検査と技術 2008;36(3): .
- 4) 竹島秀美ほか. 日立自動分析装置LABOSPECT006の基礎性能評価. 日本臨床検査自動化学会誌 Vol.38(4), 2013. 2013;38(4) .
- 5) BD バキュテイナ採血管 添付文書
- 6) ベノジェクトII真空採血管 (滅菌品) 添付文書
- 7) Andries J Bakker et al.:Cellular content in plasma of Becton-Dickinson lithium-heparin tubes: cause of unreliable results in the IFCC-recommended lactate dehydrogenase method. Annals of Clinical Biochemistry 2006;43:510-512.
- 8) 近清裕一ほか. 採血管から直接サンプリングによる測定値の異常. 医学検査 2001;50(3):183-187.
- 9) 堀井 隆ほか. 採血管からの直接サンプリングで見られる乳酸脱水素酵素 (LD) 異常値の原因について. 日本臨床検査自動化学会誌 2005;30(3):289-292.
- 10) 飯塚儀明. ヘパリンリチウム入り真空採血管による測定値への影響. 医学検査 2005;54(6):887-894.

イソクエン酸デヒドロゲナーゼを用いた Mg 測定試薬の開発検討

Development study of Mg measurement reagent using isocitrate dehydrogenase

金剛寺 亜吏¹⁾ 石田 穂乃香²⁾ 蛭田 啓之¹⁾ 武城 英明¹⁾ 横田 浩充³⁾

要旨 Mg 測定の酵素法には様々な酵素が利用されている。本検討では、イソクエン酸デヒドロゲナーゼを用いた Mg 測定試薬を自家調製し、試薬の安定化向上のための基礎検討とその性能評価を行った。試薬中の iCDH 活性、ブロッキング試薬 N102、GEDTA における濃度条件の検討を行い、iCDH 1500 U/L の条件では N102 1%、2%、iCDH 750 U/L の条件では N102 3% の条件で試薬の安定化がより改善された。性能評価として併行精度、日差再現性、希釈直線性、干渉物質の影響、相関を確認した結果、良好な結果を得た。

Key words isocitrate dehydrogenase, Mg measurement reagent, Blocking Reagent-N102, GEDTA

1. はじめに

Mg の測定系は、原子吸光法、キレート比色法（キシリジルブルー法）、酵素法等が存在する。原子吸光法は、迅速性及精度において良好であるが、機器が高価であり、また、キレート比色法では、カルシウムイオンなど他の陽イオンの影響を完全に除去できないという欠点がある。酵素法は、ヘキソキナーゼ、グルコキナーゼ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ（isocitrate dehydrogenase: iCDH）、グリセロールキナーゼ等を用いた方法があり、高い特異性を有している¹⁾。ヘキソキナーゼ等を用いた反応では、2段階の反応を測定原理とするものが多いが、本検討で用いた iCDH は、1段階の反応で測定を行う。そのため、より直接的に Mg を測定することが可能であると考えられる。しかし、iCDH を用いた測定法は、試薬の安定性が 4℃ 保存により一ヶ月と、長期保存安定性に課題があった²⁾。東邦大学理学部病態検査学研究室ではこれまで、試薬中の iCDH 活性の濃度検討、ならびに安定性向上の検討のため、糖類（ α -シクロデキストリン、 γ -シクロデキストリン、トレハロース、スクロー

スラウレート、フルクトース、マンノース、マンニトール）、アルコール（イソプロピルアルコール）を安定化剤候補とした基礎検討を行ってきた。しかし、試薬安定性に関しては、これまで良好な結果は得られなかった。そこで本検討では、界面活性剤であるブロッキング試薬 N102（日油株）、キレート試薬である GEDTA（株同仁化学研究所）を安定化剤候補とした。これらを用いて iCDH を用いた Mg 測定試薬を自家調製し、長期保存安定性を向上させるための基礎検討と性能評価を行った。

2. 測定原理および機器

1) 測定原理

iCDH は、イソクエン酸を基質として Mg の存在下、2-オキソグルタル酸を生成し、それと同時に酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate: NADP）は、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate: NADPH）に変わる。この反応速度は Mg 濃度に比例し、NADPH は 340 nm に極大吸収波長を有するため、吸光度の増加

Received Mar. 22, 2021; Accepted Aug. 18, 2021
Asato KONGOJI, Honoka ISHIDA, Nobuyuki HIRUTA, Hideaki BUJO, Hiromitsu YOKOTA

¹⁾ 東邦大学医療センター 佐倉病院 臨床検査部
Clinical laboratory, Toho University Sakura Medical Center

〒285-8741 千葉県佐倉市下志津564-1

564-1, Shimoshizu, Sakura-shi, Chiba 285-8741, Japan
²⁾ 株式会社 LSI メディエンス 臨床検査事業本部

³⁾ 慶應義塾大学病院 臨床検査技術室
Corresponding author: 金剛寺 亜吏

Tel: 043-462-8811

Mail: asato.kongoji@med.toho-u.ac.jp

を測定してMg濃度を求めることができる。これを測定原理 (Fig. 1) とした。

2) 測定機器

測定機器は、HITACHI LABOSPECT 003日立自動分析装置 (日立ハイテクノロジー) を用いた。

3. 方法

1) 試薬の条件検討

本検討で自家調製を行った試薬の組成は、R1 : HEPES緩衝液 (100 mM) (株同仁化学研究所), NaCl (150 mM) (富士フィルム和光純薬株), イソクエン酸カリウム (10 mM) (オリエンタル酵母工業株), EDTA・2Na (5 mM) (株同仁化学研究所), iCDH (オリエンタル酵母工業株), ブロッキング試薬N102, GEDTA, R2 : HEPES緩衝液 (100 mM), NaCl (150 mM), NADP (10 mM) (オリエンタル酵母工業株) とし、それぞれpHを7.8に調整した。上記R1試薬の組成をベースに、以下の条件を変えて検討を行った。上記R1試薬のiCDH活性は、750 U/L, 1500 U/Lの2濃度、ブロッキング試薬N102は、0%, 1%, 2%, 3%の4濃度、GEDTAは添加なし、10 mMの2濃度を設定し、pH7.8に調製した。調製した試薬は長期的な安定性を見るために、疑似的にインキュベーターで37°Cに保存して負荷をかけた。測定対象として、酢酸マグネシウム水溶液 (富士フィルム和光純薬株) と生理食塩水による10段階希釈系列を用いて、試薬を調製した日と、1, 3, 7日後で測定を行った。

2) 基礎性能評価

基礎性能評価として①iCDH 1500 U/L, N102 0.5%, ②iCDH 1500 U/L, N102 0.5%, GEDTA 10 mM, ③iCDH 1500 U/L, N102 1%, ④iCDH 1500 U/L, N102 1%, GEDTA 10 mM, ⑤iCDH 750 U/L, N102 3%, ⑥iCDH 750 U/L, N102 3%, GEDTA 10 mMの6種類の条件において、それぞれの併行精度、希釈直線性、相関を検討した。また、⑤, ⑥の条件において日差再現性、干渉物質の影響を検討した。本研究は、東邦大学理学部研究倫理申請 (28-3) の承認を得て実施した。

(1) 併行精度

ヒト血清を対象として、10回連続測定をし、平均値

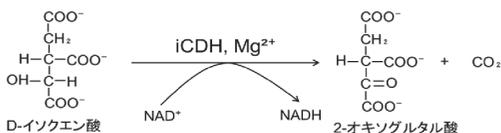


Fig. 1 The principle of enzyme method using iCDH

(mean), 標準偏差 (standard deviation : SD), 変動係数 (coefficient of variation : CV) を算出した。

(2) 希釈直線性

酢酸マグネシウム溶液と生理食塩水によって10段階の希釈系列, 低濃度 (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 mg/dL) と高濃度 (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 mg/dL) を対象に、検討を行った。日本臨床検査標準協議会 臨床化学における定量検査の精密さ・正確さ評価法指針³⁾に基づき回帰式に対する個別偏差率が5%以内であったものを、直線性があるとみなした。

(3) 日差再現性

基準値低域酢酸マグネシウム溶液 (L) と、基準値高域酢酸マグネシウム溶液 (H) を対象とし、試薬を調製した日と、1, 4, 7日後で測定を行い (n=4), mean, SD, CVを求めた。

(4) 干渉物質の影響

基準値高域臨床化学分析用管理血清 (Sample 1) と、基準値低域臨床化学分析用管理血清 (Sample 2) を対象とし、干渉チェックAプラス (シスメックス株) を用いて、溶血ヘモグロビン、抱合型ビリルビン (以下ビリルビンC)、乳ビについて検討した。

(5) 相関

ヒト血清を対象とし、市販の体外診断薬 (マグネシウムキット N-アッセイ L Mg-H, ニットーポーメディカル株) との相関を検討した。(n=50)

4. 結果

1) 試薬の条件検討 (Fig. 2) (Fig. 3)

結果をFig. 2, Fig. 3に示した。N102では、添加しない場合iCDH 750 U/Lでは36%, iCDH 1500 U/Lでは46%まで吸光度の低下が見られ、1500 U/Lの条件の方が試薬の安定化が向上した。iCDH 750 U/Lでは、N102 3%の条件、iCDH 1500 U/Lでは、N102 1%の条件で吸光度の低下が56%まで抑えられた。また、その他全ての条件において、N102の添加により、吸光度の低下が抑えられ、試薬の安定性が向上した。iCDH活性を比較すると、1500 U/Lの条件で、N102がより低濃度の条件でも安定化の向上が大きく見られた。

GEDTAでは、iCDH 750 U/L, N102 2%の条件で吸光度の低下が47%であったのに対し、GEDTA 10 mMの添加により、53%まで、吸光度の低下を抑えることが出来た。同様にiCDH 1500 U/L, N102 2%の条件でも、吸光度の低下が55%から56%まで抑えられた。

(1) 併行精度

全条件において、CVは良好であった。また、iCDH活性、N102の濃度変化、GEDTA 10 mM添加による差は見られなかった (Table 1)。

(2) 希釈直線性

iCDH 1500 U/L, N102 1%の条件で18 mg/dL, また、GEDTA 10 mM添加により21 mg/dLまで直線性が認められた (Fig. 4)。

(3) 日差再現性

全条件において、CVは良好であった。また、iCDH活性、N102の濃度変化、GEDTA 10 mM添加による差は見られなかった (Table 2)。

(4) 干渉物質の影響

溶血ヘモグロビン、ビリルビンC、乳ビにおける影響は見られなかった (Fig. 5)。

(5) 相関

相関は、条件①では、 $y = 0.909x + 0.202$ $r = 0.941$, 条件②では、 $y = 1.099x + 0.241$, $r = 0.961$, 条件③では、 $y = 0.977x + 0.161$, $r = 0.960$, 条件④では、 $y = 0.982x + 0.174$, $r = 0.969$, 条件⑤では、 $y = 0.971x + 0.121$, $r = 0.971$, 条件⑥では、 $y = 0.957x + 0.062$, $r = 0.981$ であった。どの条件でも、良好な結果であった (Fig. 6)。

5. 考察

iCDHを用いたMg測定試薬を自家調製し、長期保存安定性向上のため、iCDH活性、ブロッキング試薬N102、GEDTAの条件を変えて検討した。ブロッキング試薬N102の添加により試薬の安定性が向上した。特に、iCDH 1500 U/Lの条件では、N102が1%と2%、

Table 1 Reproducibility

n=10	試薬①	試薬②	試薬③	試薬④	試薬⑤	試薬⑥
mean (mg/dL)	2.84	2.54	2.93	2.17	3.75	2.60
SD	1.673	1.36	1.374	1.536	2.366	1.868
CV	0.55%	0.50%	0.44%	0.67%	0.59%	0.67%

試薬①: N102 0.5%・iCDH 1500 U/L
 試薬②: N102 0.5%・iCDH 1500 U/L・GEDTA 10 mM
 試薬③: N102 1%・iCDH 1500 U/L
 試薬④: N102 1%・iCDH 1500 U/L・GEDTA 10 mM
 試薬⑤: N102 3%・iCDH 750 U/L
 試薬⑥: N102 3%・iCDH 750 U/L・GEDTA 10 mM

Table 2 Day difference reproducibility

n=4	試薬⑤		試薬⑥	
L/H	L	H	L	H
mean (mg/dL)	2.02	13.81	2.34	11.34
SD	1.30	9.91	3.68	15.5
CV	1.5%	2.7%	1.8%	1.6%

試薬⑤: N102 3%・iCDH 750 U/L
 試薬⑥: N102 3%・iCDH 750 U/L・GEDTA 10 mM

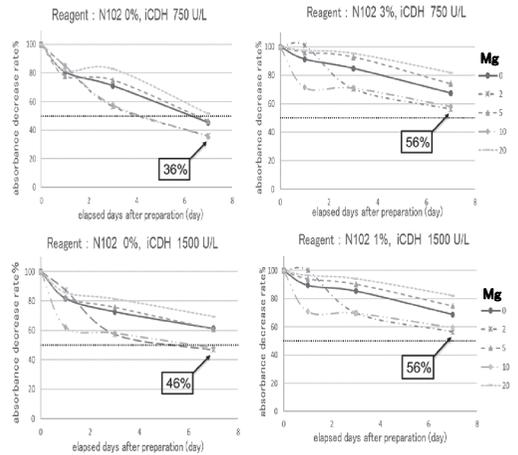


Fig. 2 Examination of reagent conditions (by variation of iCDH activity)

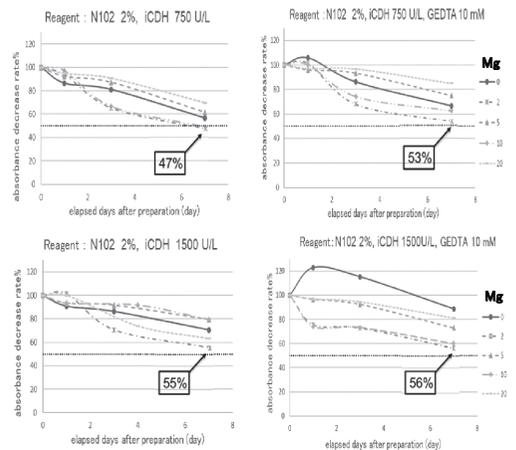


Fig. 3 Examination of reagent conditions (additional GEDTA)

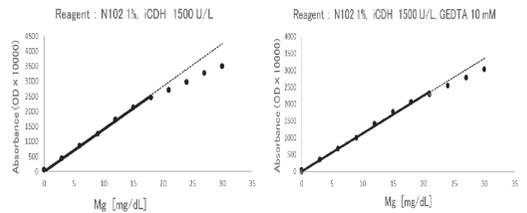


Fig. 4 Linearity

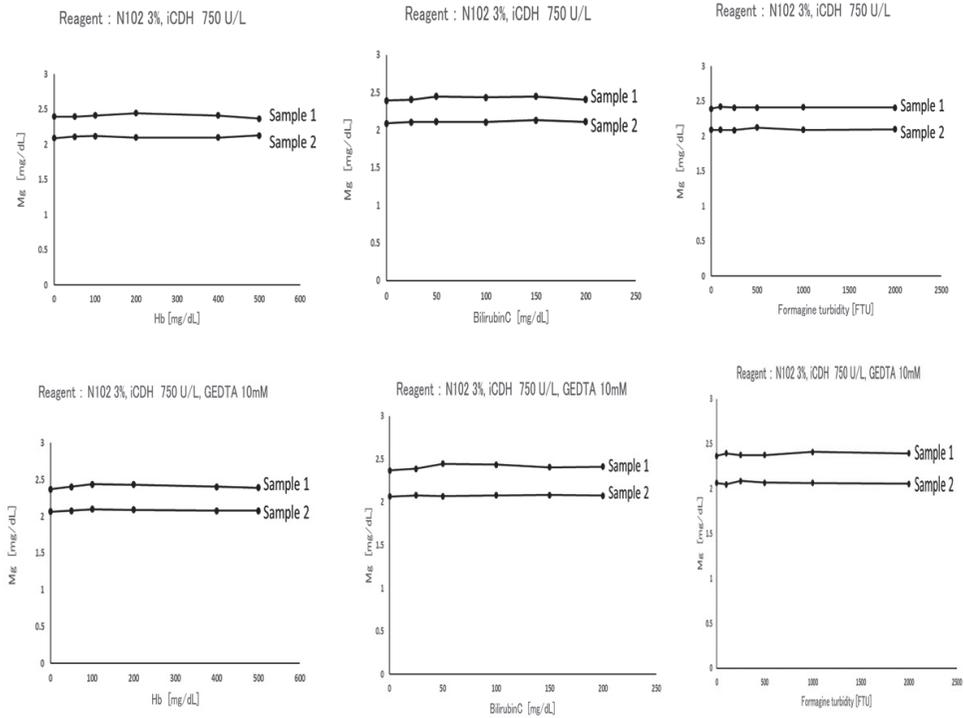


Fig. 5 Effect of interfering substances by Hb, Bilirubin C, Chyle

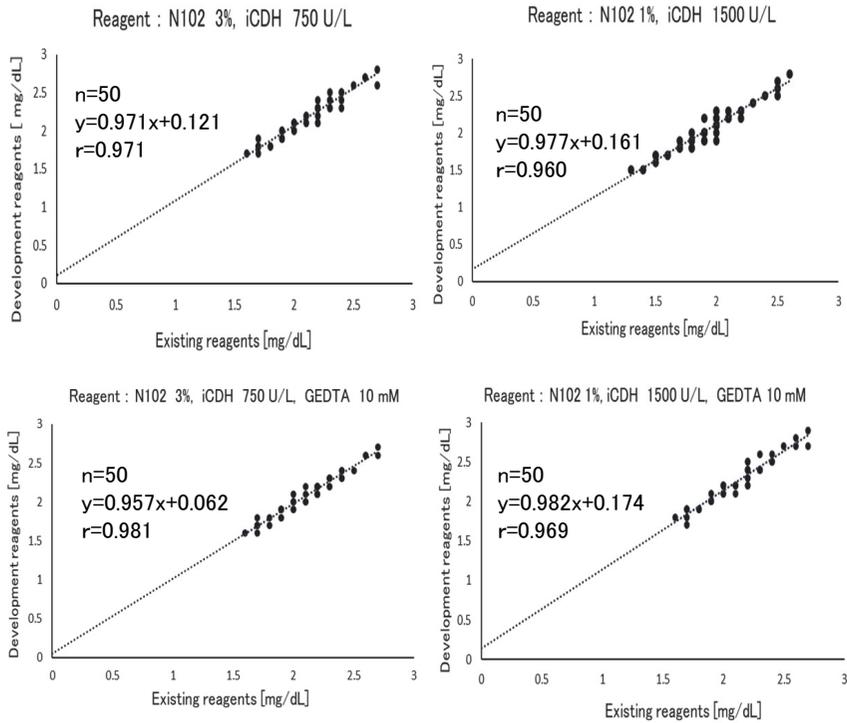


Fig. 6 Correlation between development reagents and existing reagents (N-assay L Mg-H nittobo B-type)

iCDH 750 U/Lの条件では、N102が3%において保存安定性が向上した。これより、N102の添加は試薬の安定化向上に強く関与していると考えられた。ブロッキング試薬N102は両性界面活性剤であり、界面活性剤は界面に吸着をして系を熱力学的に安定化する作用と溶質の溶解性を促進する作用がある⁴⁾。今回用いたN102は担体への非特異的吸着を抑制する作用と担体に固定化した生理活性物質を安定化する作用があることが分かっており、中でもN102は、担体への非特異的吸着を抑制する作用に優れている⁵⁾。この作用により、対象中の非特異的な影響物質が吸着を抑制されることで、安定化が向上したと考えた。iCDH活性の結果を見ると、N102の添加がない場合は、1500 U/Lの条件の方が750 U/Lよりも吸光度の低下が抑えられた。また1500 U/Lでは、N102の濃度が1%および2%で安定化の向上が見られたが、750 U/Lでは、安定化を強く向上するためにN102が3%必要であった。これより、1500 U/Lの条件でより安定化が向上しやすくなると考えた。GEDTAについては、iCDH 750 U/Lおよび1500 U/LのどちらともGEDTA 10 mM添加により、安定化が向上した。これより、GEDTAも安定化の向上に関与していると考えられた。GEDTAはグリコールエーテルジアミン四酢酸と呼ばれ、EDTAの類似化合物であり、Mgとのキレート生成定数が低いため、マグネシウム-カルシウム混合物のカルシウムの選択的キレート試薬として有用である⁶⁾。

基礎性能評価では、併行精度、希釈直線性、日差再現性、干渉物質の影響、相関について検討を行い、性能評価とした。本検討では、日差再現性ならびに干渉物質の影響については、完成試薬である⑤、⑥の条件を採択し評価した。併行精度では、CVが最大で0.67%と良好な結果であると考えた。希釈直線性では、iCDH 1500 U/L、N102 1%の条件で18 mg/dL、また、GEDTA 10 mM添加により、21 mg/dLまで直線性が認められた。血清Mgの基準値は1.8~2.3 mg/dL、尿中Mgは2.1~16.7 mg/dL⁷⁾となっており、血清および尿検体にどちらも対応が可能であると考えた。日差再現性では、CVが最大で2.7%と良好な結果であった。干渉物質の影響では、溶血ヘモ

グロビン、ビリルビンC、乳ビにおける影響は見られず、良好な結果であった。相関では、同様の原理を用いている市販試薬を用いて行ったが、傾きは0.909~1.099、rは0.941~0.981と良好な相関が得られた。また、GEDTA 10 mM添加により傾きの改善が見られた。

6. 結論

本検討では、iCDHを用いたMg測定試薬の開発検討を行ったが、iCDH活性、ブロッキング試薬N102、GEDTAの条件検討により、試薬の長期保存安定性を改善させることが確認できた。また、本条件による基礎性能評価も良好な結果を得た。

本論文の内容は日本医療検査科学会第52回大会において発表した。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) 大和梓. マグネシウム. Medecina 2015;52:284-285
- 2) 石田繁則, 尾崎幸男, 久下千秋ほか. イソクエン酸脱水素酵素 (iCDH) を用いたマグネシウム測定試薬の日常検査における有用性. 医学検査 1996;45:312-312
- 3) (社) 日本臨床衛生検査技師会定量検査の精密さ・正確さ評価法標準化ワーキンググループ. 臨床化学における定量検査の精密さ・正確さ評価法指針. 日臨標準会誌 1999;14 2:3-26
- 4) 田嶋和夫. 界面活性剤の構造と用途. オレオサイエンス 2001;1:83-92
- 5) 免疫学的測定用試薬シリーズ. WAKO BioWindow 2002;39:4-5
- 6) Gary D. Christian, Purnendu K. Dasgupta, Kevin A. Schugほか. クリスチャン分析化学 I. 基礎編. 7. 丸善出版株式会社; 東京. 2016:295-295
- 7) 金井正光編. 臨床検査法提要. 32. 金原出版株式会社; 東京. 2005;576-577

全自動尿分析装置オーションマックスAX-4061尿中ケトン体定性試験における異常発色検知システムの構築

Construction of abnormal color reaction detection system for urinary ketone bodies in fully automated urine analyzer AUTION MAX AX-4061

中田浩貴¹⁾ 岡野恵美¹⁾ 石澤毅士¹⁾ 山方純子¹⁾
大野明美¹⁾ 横田浩充¹⁾ 菊池春人^{2,3)} 村田 満²⁾

要旨 尿試験紙法による尿中ケトン体分析において、特定の薬物を服用した患者尿では、試験紙の異常発色によって偽陽性となる場合がある。今回、全自動尿定性分析装置オーションマックスAX-4061（アークレイマーケティング株式会社）における特定波長の反射強度を確認して検証を行い、偽陽性と判定する条件を検討した。ケトン体試験紙とブランクパッドの特定波長の反射強度を用いた判定式を組み合わせた複合ロジックにより、真陽性と偽陽性疑いの検体を分別できることができた。このことから、日常検査における確認試験の件数を減らすことができる可能性が示唆された。

Key words urine, ketone bodies, false positive

1. はじめに

尿試験紙法による尿中ケトン体分析は、糖及び脂質代謝障害を把握するために有用な検査である。しかし、特定の薬物を服用した患者尿では、試験紙の異常発色によって偽陽性となる場合があり¹⁾、確認試験が必要となる。そこで全自動尿定性分析装置オーションマックスAX-4061（以下AX-4061：アークレイマーケティング株式会社）における尿ケトン体試験紙の特定波長の反射強度を確認、検証することで偽陽性を検出する条件を検討した。

2. 対象

当院臨床検査科に尿定性検査の依頼があった外来患者

尿残余検体で当該患者が当院の包括同意に非同意でないもの222件を用いた。本研究は慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認（承認番号：20190015）のもと、アークレイマーケティング株式会社と受託研究契約を結び実施した。

3. 原理

尿中ケトン体のうちオキソ基を有するアセトンおよびアセト酢酸が試験紙に含まれるニトロプルシドナトリウムと反応すると錯体を形成し、紫色を呈する²⁾。この呈色反応を特定の測定波長で測定し、以下の演算式で反射率を求め、定性値を判定する。なお、ケトン体のうち3-ヒドロキシ酪酸はオキソ基を有さないため反応を起こさない²⁾。

Received May. 31, 2021; Accepted Aug. 26, 2021
Hiroki NAKADA¹⁾, Megumi OKANO¹⁾, Tsuyoshi KOKUZAWA¹⁾, Junko YAMAGATA¹⁾, Akemi OHNO¹⁾, Hiromitsu YOKOTA¹⁾, Haruhito KIKUCHI^{2,3)}, Mitsuru MURATA²⁾

¹⁾慶應義塾大学病院臨床検査科

²⁾慶應義塾大学医学部臨床検査医学

³⁾済生会横浜市東部病院臨床検査科

¹⁾Clinical Laboratory, Keio University Hospital

²⁾Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, Keio University

³⁾Department of Clinical Laboratory, Saiseikai Yokohamashi Tobu Hospital

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

35 Shinanomachi Shinjuku-ku Tokyo 130-8582 Japan

〒230-8765 神奈川県横浜市鶴見区下末吉3丁目6番1号

6-1 Shimosueyoshi 3-Chome, tsurumi-ku, Yokohama-City, Kanagawa Japan

Corresponding author（連絡責任者）：中田浩貴

TEL：03-3353-1211

E-mail：hiroki.nakada@adst.keio.ac.jp

$$\text{反射率} = \frac{\text{ケトン体:562 nm 反射強度} / \text{ケトン体:760 nm 反射強度}}{\text{Ref:562 nm 反射強度} / \text{Ref:760 nm 反射強度}}$$

4. 測定機器及び試薬

定性分析における試験紙は、ユリフレット S 10UB（アークレイマーケティング株式会社）を使用し、AX-4061 で測定した。定量分析ではTKB-L 試薬、3HB-L 試薬（株式会社カイノス）を使用し、JCA-BM9130 自動分析装置 BioMajesty™（日本電子株式会社）で測定した。

5. 方法

1) 偽陽性検体検出のためのカットオフ値設定

定性分析で陰性と判定された検体 27 件に対して定量分析を行い、結果の最大値を真陰性/真陽性判定のためのカットオフ値に設定した。なお、3-ヒドロキシ酪酸は尿試験紙法では検出されず、アセトンは揮発性が高く不安定なため、カットオフ値はアセト酢酸の濃度を採用した。

2) 偽陽性検体の検出

定性分析で陽性と判定された検体 195 件に対して定量分析を行い、定性分析の結果が真陽性か偽陽性かを判定した。また測定時に得られた反射強度から偽陽性を検出するためのロジックを作成し、検証した。

(1) 検出ロジック 1

尿試験紙法におけるケトン体偽陽性を起こすブシラミンとメスナを尿検体に添加して各波長の反射強度を評価したアークレイマーケティング株式会社社内試験において、薬剤添加検体ではケトン体試験紙における 525 nm と 562 nm の反射強度の比の挙動が異なることが確認されている（私信）。このことからケトン体試験紙の両波長での反射強度比をブランク（Ref）パットの両波長の反射強度比で補正した以下の判定式を作成した。

$$\frac{\text{ケトン体:525 nm 反射強度} / \text{ケトン体:562 nm 反射強度}}{\text{Ref:525 nm 反射強度} / \text{Ref:562 nm 反射強度}}$$

(2) 検出ロジック 2

定性分析におけるケトン体試験紙の全測定波長（全 5 波長：450 nm, 525 nm, 562 nm, 635 nm, 760 nm）の反射強度について網羅的に比を演算し、偽陽性検体が最も効率よく検出できた波長を用いて以下の判定式を作成した。

$$\frac{\text{ケトン体:450 nm 反射強度}}{\text{ケトン体:562 nm 反射強度}}$$

これらの判定式から得られた数値を定性分析と定量分析の結果と対比して、それぞれ判定値を設定した。

6. 結果

1) 偽陽性検体のカットオフ値の設定

定性分析で陰性と判定された検体のアセト酢酸の定量値は、最大で 46.2 μmol/L であったため、50.0 μmol/L をカットオフ値に設定した。したがって、定性分析の結果で陽性を示した検体のうち、定量値がこれを下回ったものを偽陽性とした。

2) 偽陽性検出ロジックの検証

定性分析で陽性を示した全 195 件のうち、設定したカットオフ値を上回る真陽性検体は 174 件、下回る偽陽性検体は 21 件であった。これを踏まえて、定性分析から得られる反射強度のデータで作成した 2 つのロジックで偽陽性検体を検出できるか検証した。

(1) 検出ロジック 1

事前の薬剤添加検体の検討では、偽陽性検体では判定式の値が低値となると想定していたが、今回の検討結果では定性分析でケトン体強陽性（3+以上）を示す真陽性検体の中で、判定式の値が低値を示すものが確認された。これらを除く真陽性検体の最小判定値は 0.935 であった。したがって、ケトン体強陽性（3+以上）の検体を除外するという条件も追加し、以下のようなロジックで偽陽性検体の検出条件を考えた。

- ① ケトン体強陽性（3+以上）の検体を除外する
- ② $0.935 > \frac{\text{ケトン体:525 nm 反射強度} / \text{ケトン体:562 nm 反射強度}}{\text{Ref:525 nm 反射強度} / \text{Ref:562 nm 反射強度}}$

ロジック 1 による判定結果を Fig. 1, Table 1 に示す。定性分析で陽性を示し、定量値が設定したカットオフ値を下回った偽陽性検体のうち、偽陽性検体のうち正しく偽陽性と判定された検体は 7 件であった。一方で、偽陽性検体でも判定値が 0.935 を上回り、真陽性と判定された検体が 14 件確認された。

(2) 検出ロジック 2

偽陽性、真陽性の分別能がよいと思われた 450 nm と 562 nm での反射率比を算出し、偽陽性群の中で他の検体から外れて高値であった 1 件を除いた検体の最大値である 0.985 をカットオフ値として以下のようなロジックで偽陽性検体の検出条件を考えた。

$$0.985 > \frac{\text{ケトン体:450 nm 反射強度}}{\text{ケトン体:562 nm 反射強度}}$$

ロジック 2 による判定結果を Fig. 2, Table 2 に示す。偽陽性と判定できた検体は 20 件だが、真陽性を偽陽性と誤って判定した検体が 10 件あった。

(3) 複合ロジックによる検証

上記の検出ロジックでは、どちらも単体で運用した場合に判定誤りが発生する結果となったため、2つを組み合わせた複合ロジックを作成し、偽陽性検体の検出を試みた。まず、定性分析でケトン体が陽性となった検体195件に対して検出ロジック1による判定を行い、7件が偽陽性として検出される。検出ロジック1では、偽陽性と判定された検体には真陽性が含まれないため「陰性」と報告することが可能である。それ以外の188件は検出ロジック2で判定を行い、24件が偽陽性疑いの検体として検出され、それ以外の164件は真陽性と判定する (Fig.

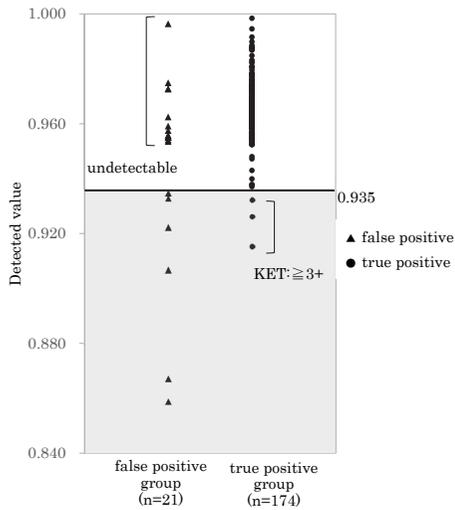


Fig. 1 Detection of false positive ketone bodies samples by Logic 1

Among the false positive group, samples exceeding the detected value of 0.935 cannot be detected.
Among the true positive group, all the samples below the detected value of 0.935 were 3+ or higher.

Table 1 Decided results of ketone bodies by Logic 1

Logic 1 decided result	Quantitative test	
	FP	TP
FP	7	0
TP	14	174
Total	21	174

FP: False positive
TP: True positive

3)。検出ロジック1で検出できなかった14件の偽陽性検体は検出ロジック2の判定ですべて偽陽性と判定されるため、このロジックで真陽性と判定された検体は陽性として報告することができる。ただし、真陽性検体の一部も偽陽性と判定されるため、検出ロジック2で検出された24件には真陽性と偽陽性が存在していることになり、偽陽性と判定された検体に対しては確認試験を実施する必要がある。なお、検出ロジック2のみでは検出できなかった1件 (Fig. 2) は、検出ロジック1で偽陽性と判定されている。このように複合ロジックを用いることで偽陽性検体の見落としがなく、確認試験が必要な検

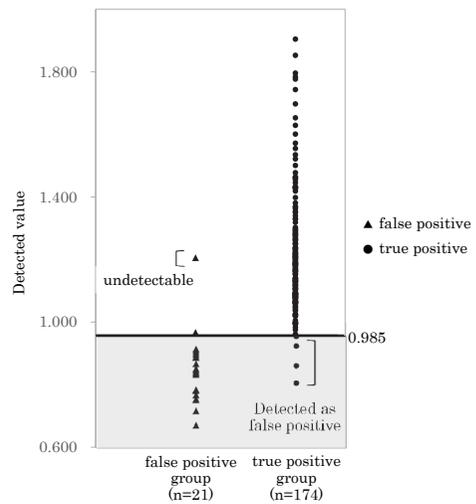


Fig. 2 Detection of false positive ketone bodies samples by Logic 2

Among the false positive group, one of the samples exceeding the detected value of 0.985 cannot be detected.
Among the true positive group, samples below the detected value of 0.985 were detected as false positives.

Table 2 Decided result ketone bodies by Logic 2

Logic 2 decided result	Quantitative test	
	FP	TP
FP	20	10
TP	1	164
Total	21	174

FP: False positive
TP: True positive

体を 195 件から 24 件に減らすことができた。

8. 考察

今回の検討で使用したカットオフ値は定性検査で陰性を示した検体の定量結果から暫定的に設定した値であったが、定性の結果が (1+) 以上の定量結果はいずれも 50.0 $\mu\text{mol/L}$ を大きく上回っており、妥当な値だと考えられる。また、今回の検出ロジックでは (1+) 以上の検体を対象としており、弱陽性である (\pm) を除外している。そのため、結果が (\pm) の検体が真の弱陽性か偽陽性かを判定することは困難である。

検出ロジック 1 はブシラミン等の特定の薬剤の服用が尿ケトン体偽陽性を引き起こす³⁾ことを想定して作成されたものであるが、実際には検出できない偽陽性検体が存在した。想定した薬剤尿以外で引き起こされる尿中ケトン体偽陽性の要因を特定するためには、患者の疾患や薬剤の服用状況などを確認する必要がある。

検出ロジック 2 は大部分の偽陽性検体を検出することができたが、同時に真陽性検体の一部も偽陽性と判定してしまう結果となった。ブランクパットの補正が組み込まれていないため、尿の色調による影響を受けてしまう可能性があることが要因の一つとして挙げられるが、今回使用した検体では目視で確認できるほどの高度な着色尿は確認できなかった。従って患者尿に含まれるなんらかの成分が本来のケトン体試験紙の発色に影響を与え、他の真陽性検体と反射率の差を生じさせた可能性も否定

できない。二つのロジックを組み合わせた複合ロジックでは尿中ケトン体陽性と判定された 195 件の検体に対して確認試験が必要な件数を 24 件に減らすことができた。

9. 結論

AX-4061 の反射率による計算式を用いたロジックを組み合わせるにより、多くの偽陽性検体を検出し、陰性と判定できることが示唆された。更に検証数を増やし、別の検体群に対して今回のロジックを適応して、その妥当性を検討するとともに、さらに適切な判定値を求める必要があるが、日常検査に導入することができれば、確認試験の必要な検体数を減らすことができ、業務の効率化に有用であると考えられる。

本論文の発表に関連して、開示すべき COI 関係にある企業などはありません。

文献

- 1) 井野上章, 辻厚子, 市川勉ほか. 尿定性検査におよぼす薬剤の影響 - ケトン体の偽陽性反応を中心に -. 臨床検査機器・試薬 2007;30:183-191.
- 2) 伊藤機一, 野崎司. 概論: 試験紙法による尿定性・半定量検査. 日本臨床 2004;62:46-83
- 3) 小笠原弘子, 林恭子, 遠井初子ほか. ブシラミンに起因する尿中ケトン体の偽陰性について. 臨床病理 2008;56:584-588.

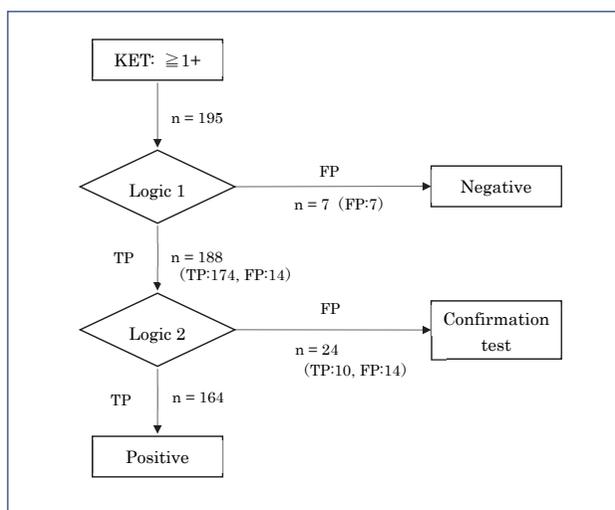


Fig. 3 Composite logic that combines two detection logics

Samples detected by Logic 1 is decided as a false-positive(negative) sample. Next, other samples are detected by Logic 2. Detected samples are subjected to confirmation tests and not detected samples are decided true-positive(positive). TP: True positive FP: False positive

イムノクロマト法による HBs 抗原偽陰性症例に対する HBV-DNA 解析

Analysis of HBV-DNA sequence in 1 case with Espline
HBs antigen showed false-negative

柳田昂平¹⁾ 嵐田恵美子¹⁾ 相馬 史¹⁾ 竹島秀美¹⁾ 武居宣尚¹⁾
宮下徹夫¹⁾ 神田達郎²⁾ 森山光彦²⁾ 中山智祥^{1,3)}

要旨 B型肝炎ウイルス (HBV) 感染症における HBs 抗原 (HBsAg) 検査での陽性症例は B型肝炎ウイルスに感染中であることを意味し感染スクリーニングを目的に検査が実施されている。今回筆者らは、イムノクロマト法と CLEIA 法の原理の異なる HBs 抗原測定方法での結果判定で乖離が生じた症例を経験した。初診時の検査データによれば、AST、ALT の上昇や B型肝炎ウイルス関連マーカーおよび CLEIA-HBsAg の抑制試験の結果から、患者検体は HBs 抗原陽性と診断した。乖離した原因として、HBV のアミノ酸の変化によるものではないかと考え、HBV-DNA 解析を行った。その結果、患者検体は S 領域の Genotype C のアミノ酸置換が 7 か所に認められ、それが原因となりイムノクロマト法の試薬との反応性に影響し、結果判定に乖離が生じたものと考えられた。HBs 抗原領域のバリエーションによる偽陰性の発生頻度は稀と思われるが、過去にも報告があったように EIA で疑わしい場合はより感度の高い別法や HBV-DNA、IgM 型 HBe 抗体、IgG 型 HBe 抗体などの関連マーカーを確認する対応が必要と考えられた。

Key words Espline HBs antigen, false-negative, labeled antibody, amino acid substitution

1. はじめに

B型肝炎ウイルス (以下 HBV) はヘパドナウイルス科オルソヘパドナウイルス属に属する DNA ウイルスである。B型肝炎の原因ウイルスであることから、感染症のスクリーニング検査の一つとして日常的に行われている¹⁾。主な測定方法として、イムノクロマト法 (immunochromatography assay: ICA)、酵素免疫測定法 (enzyme immunoassay: EIA)、化学発光免疫測定法

(chemiluminescent immunoassay: CLIA)、化学発光酵素免疫測定法 (chemiluminescent enzyme immunoassay: CLEIA) などがある²⁾。近年、HBs 抗原の内側リニア構造を認識する抗体を使用した種々の試薬が開発され医療機関で広く使用されているが³⁾、HBV のアミノ酸置換により試薬中の抗体が HBs 抗原を認識できず偽陰性となる症例が報告されている¹⁾。今回、筆者らはイムノクロマト法で陰性、CLEIA 法で強陽性と結果判定で乖離が生じた症例を経験したので、その原因について検討し

Received Nov. 9, 2020; Accepted Sep. 7, 2021
Kohei YANAGIDA¹⁾, Emiko ARASHIDA¹⁾, Hitoshi SOMA¹⁾, Hidemi TAKESHIMA¹⁾, Norihisa TAKEI¹⁾, Tetsuo MIYASITA¹⁾, Tatsuo KANDA²⁾, Mitsuhiko MORIYAMA²⁾, Tomohiro NAKAYAMA^{1,3)}

¹⁾ 日本大学医学部附属板橋病院臨床検査部、〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1
Department of Clinical Laboratory, Nihon University Itabashi Hospital
30-1, Oyaguchi Kamicho, Itabashi-Ku, Tokyo 173-8610

²⁾ 日本大学医学部内科学系 消化器肝臓内科学分野
〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1

Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, Nihon University School of Medicine

³⁾ 日本大学医学部病態病理学系臨床検査医学分野
〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1

Division of Laboratory Medicine, Department of Pathology and Microbiology, Nihon University School of Medicine

連絡責任者: 中山智祥
TEL: 03-3972-8111 (3981)

E-mail: nakayama.tomohiro@nihon-u.ac.jp

ここに報告する。

2. 症例および方法

1) 症例

90歳の男性。倦怠感を主訴に当院を受診した。AST, ALTの著明な上昇を認めた。以前受けた健診では、HBs抗原陰性、肝機能異常は指摘されておらず、原因不明の急性肝機能障害の診断で入院加療となった。初診時の検査においてHBs抗原強陽性、HBs抗体、IgG型HBc抗体、HBV-DNA (PCR) が陽性、初期感染を意味するIgM型HBc抗体が陰性であることから急性B型肝炎は否定され、入院後は慢性B型肝炎急性増悪を考え、薬物療法(核酸アナログ製剤)を開始し、緊急入院から7日後エンテカビル(0.5)1Tの隔日投与を開始し、8日後からは強力ミノファゲンP注(20mLPA)3Aを投与開始し、AST, ALTが低下し改善がみられ、軽快したため退院となった。薬剤投与開始後の高値であったAST, ALTは半減していき、約1か月後には基準値へと戻った。HBs抗原においても同様に初診時は強陽性を認めたが約3か月後の検査では陰性となった。

2) 方法

HBs抗原測定はイムノクロマト法としてエスプラインHBsAg(富士レリオ)、CLEIA法としてルミパルスプレストHBsAg-HQ(富士レリオ)を用いた。HBs抗体測定はルミパルスプレストHBsAb-N(CLEIA, 富士レリオ)、IgG型HBc抗体、IgM型HBc抗体、HBe抗原、HBe抗体測定はそれぞれエクルーシス試薬Anti-HBc II, Anti-HBcIgM, HBeAg, Anti-HBe(電気化学発光免疫測定法(electro chemiluminescence immunoassay. ECLIA), ロシユ・ダイアグノスティックス)を用いた。

HBV-DNA測定はコバスタqMan HBV「オート」v2.0(ロシユ・ダイアグノスティックス社)を用いた。

High Pure Viral RNA Kit (Roche) およびProteinase K (Roche) を用いてDNAを抽出した。次にAmpliTaq Gold 360 Master Mix (Thermo Fisher Scientific) を用いてPCR法によるS遺伝子配列を増幅した。次にTAクローニング用のプラスミドベクターpGEM T-easy (Promega) に増幅したS遺伝子配列を挿入し、Colony PCRを電気泳動で陽性を確認した。Colony PCR陽性検体に対してExoI/SAP(タカラバイオ)にて処理を行い、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いたダイレクトシーケンスを行った。そして3730xl DNA analyzer (Applied Biosystems) にて塩基配列を解析し、その結果に基づきアミノ酸配列を決定した。

測定機器はHBsAg-HQ, HBs抗体をルミパルスL2400(富士レリオ)で測定、IgG型HBc抗体、IgM型HBc抗体、HBe抗原、HBe抗体はcobas e602(ロシユ・ダイアグノスティックス)を用いた。

3. 結果

1) 初診時の検査結果 (Table 1)

ALT, ASTともに1,000 U/L以上であった。診療時間外の検査であったためB型肝炎のスクリーニング検査をエスプラインHBsAgで行ったところ陰性となった。翌日、ルミパルスプレストHBsAg-HQを用い再検したところ147.2 IU/mLと強陽性を示し、同時に実施された臨床検査項目の結果はTable 1に示した通りであった。

2) 抑制試験

HBsAg-HQの抑制試験はサンプルカップを2個用意しサンプルカップAには患者血清にHBsAg-HQ抑制抗体液を添加、サンプルカップBには患者血清にHBsAg-HQ抑制対照液を添加し抑制率を求めた。その結果、抑制率79.6%(判定基準:50.0%≦陽性)となり、本検体はHBs抗原陽

Table 1 Laboratory data at the first visit

測定試薬	単位	判定基準	測定値	判定
ALT	U/L	30 以下	1303	パニック値
AST	U/L	42 以下	1153	パニック値
HBs 抗原 (簡易キット)	--	陽性/陰性	陰性	陰性
HBs 抗原	IU/mL	<0.005	147.2	陽性
HBs 抗体	mIU/mL	<10.0	26.6	陽性
IgG 型 HBc 抗体	C.O.I.	>1.0	0.1	陽性
IgM 型 HBc 抗体	C.O.I.	<1.0	0.3	陰性
HBe 抗原	C.O.I.	<1.0	348.1	陽性
HBe 抗体	C.O.I.	>1.0	2.2	陰性
HBV DNA (PCR)	LogIU/mL	<1.3	4.5	陽性

性と判断した。また、同様にHBs抗体においても抑制試験を行った。その結果、抑制率95.0%で本検体はHBs抗体陽性と判断した。

3) エスプラインの反応性

エスプラインHBsAgキットの陰性化の原因は本キットの標識抗体にあると考え、メーカーに解析を依頼し、標識抗

体をルミパルスプレスト HBsAg-HQで使用しているものに置き換えて測定を試みた。エスプラインHBsAgはイムノクロマト法による血清中のHBs抗原を検出するキットであり、反応カセット内のメンブレン上に抗HBs抗体を固定化し、酵素標識抗体パッド、基質パッドおよび液状の展開液がセットされている。検体滴下部に検体を滴下すると検体中のHBs抗原は酵素標識抗体（アルカリホスファターゼ標識抗HBs抗体）と反応する。その後、展開液によりメンブレン上を移動し、判定部に固定された抗HBs抗体と結合し、検体中のHBs抗原を介した3者のサンドイッチ複合体を形成する。この複合体の酵素に基質が反応することにより発色し、検体中のHBs抗原を検出することができる。BBIパネルPHA806による検出感度は、サブタイプabは2.5ng/mL、ayは24ng/mLである。HBsAg-HQ標準溶液を用いた希釈検出感度は、0.5~1.0IU/mLである。今回はこのキットに使用されている酵素標識抗体（アルカリホスファターゼ標識抗HBs抗体）をHBsAg-HQで使用しているアルカリホスファターゼ標識抗HBsモノクローナル抗体（マウス）に置き換えて測定した。その結果、判定ライン上に強い発色を認め（Fig. 1）、陽性と判断できる結果となった。

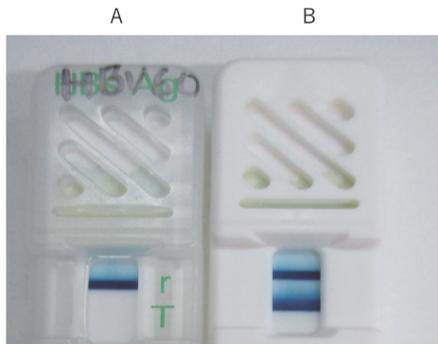


Fig. 1 The results of immunochromatography
 A : The result of HBsAg of present case using Espline.
 B : The result of HBsAg of present case using the monoclonal antibody of Lumipulse presto HBsAg-HQ.

4) HBV-DNA解析

患者検体のHBV-DNA解析を行った（Fig. 2）。解析手順として、まず核酸抽出キットを用いてDNAを抽出し、

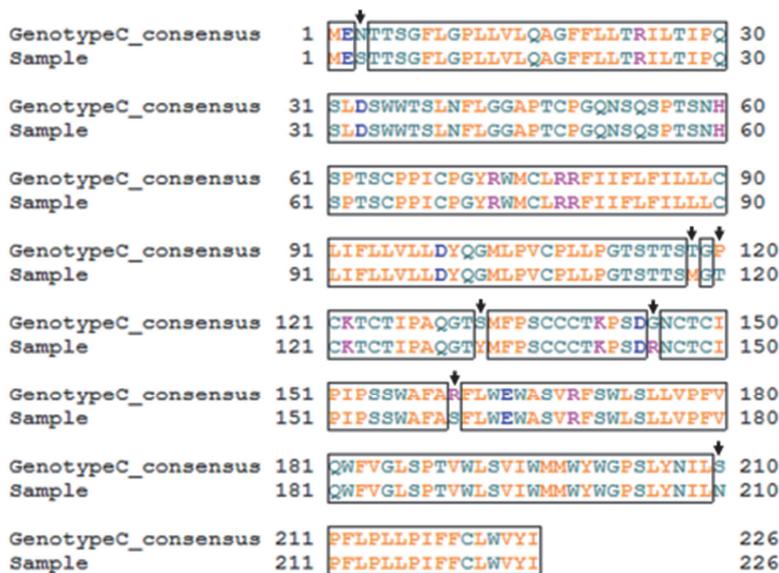


Fig. 2 The amino acid sequence of HBV
 Upper line shows the reference sequence of HBV genome. Lower line shows the sequence of HBV genome in present case.

PCR法によるS遺伝子配列を増幅した。次にTAクローニング用のプラスミドベクター (pGEM T-easy) に増幅したS遺伝子配列を挿入し、Colony PCRを電気泳動で陽性を確認した。Colony PCR陽性検体に対してExoI/SAP処理を行い、ダイレクトシーケンスを行った。そして3730xlにて塩基配列を解析し、その結果に基づきアミノ酸配列を決定した。結果は、HBs抗原アミノ酸配列がGenotype Cに特徴的な配列と一致し、患者検体のウイルスはGenotype Cである可能性が高いと思われた。また、Genotype Cのコンセンサス配列との比較では3 N→3 S, 118 T→118 M, 120 P→120 T, 132 S→132 Y, 145 G→145 R, 160 R→160 S, 210 S→210 Nの7か所でバリエーションが確認された。

4. 考察

われわれはHBs抗原の測定原理の異なる2法で検査結果が乖離した症例を経験した。当院では平日の日常検査はルミパルスプレストHBsAg-HQを用い、高感度なHBs抗原を測定しているが、診療時間外では簡易キットであるエスプラインHBsAgで定性試験を行い、平日の日常検査において高感度試薬による再検査を行っている。本症例では診療時間外の夜間緊急検査に検体が提出されたHBs抗原の検査においてエスプラインHBsAgで陰性と判定し報告したが、高感度試薬による再検査で強陽性となり結果が乖離したため、その原因について検討した。

本症例ではHBs抗原、IgG型HBc抗体が共に陽性的のためHBVキャリアと考えられ、さらにIgM型HBc抗体が陰性であり、HBV-DNAが陽性であることから、当院来院以前のHBVDNA量は未確認であったが、HBV再活性化もしくは慢性B型肝炎急性増悪を考えた²⁾。また、HBsAg-HQ試薬とHBsAb-N試薬の偽陽性反応を否定するために抑制試験を行ったがHBsAg-HQ試薬による抑制率が79.6%、HBsAb-N試薬による抑制率が95.0%となり、どちらも特異的反応であることが示唆された。今回の検討の対象となったエスプラインHBsAgの標識抗体はアルカリホスファターゼ標識抗HBsモノクローナル抗体 (マウス) でHBV外殻を認識する抗体が用いられている⁴⁾。ルミパルスプレストHBsAg-HQの標識抗体もエスプラインと同様であるが、本症例におけるHBs抗原の反応性を確認するため、エスプラインの標識抗体をHBsAg-HQで使用しているものに置換して測定を試みたところ陽性反応である強い発色バンドを認め、この標識抗体での反応性が高いことが明らかとなった。この結果は、松田ら⁵⁾のEIA法においてHBVのアミノ酸置換により試薬中の抗体がHBs抗原を認識できず偽

陰性となった症例報告と一致している。

本症例における偽陰性の原因がHBVのバリエーションにあること^{5),6)}を確認するためにアミノ酸配列解析を行った。その結果、S領域のGenotype Cのコンセンサス配列との比較で7か所が、どのGenotypeのコンセンサス配列ともマッチしないマイナー配列であった^{7),8)}。HBs抗原はHBVのS領域から産生されるウイルスの外殻を構成するたんぱく質の1つであり⁹⁾、本症例ではこの領域にバリエーションがありエスプラインHBsAgの標識抗体との反応が極めて弱かったことが原因であると考えられた。

5. 結語

HBs抗原領域のバリエーションによる偽陰性の発生頻度は稀と思われるが、測定に用いる抗体によって検出されない場合があることを意識する必要がある。検査結果に疑いがある場合は担当医師とのコミュニケーションを密にし、より感度の高い別法やHBV-DNA、IgM型HBc抗体、IgG型HBc抗体などの関連マーカーを確認する等の対応が必要と考えられた。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) 酒井 昭嘉, 長谷川 瞳, 仲島 さより: B型肝炎ウイルスGenotypeおよびSubgenotype Aa/Ae, Bj/Ba分類法の考案. 医学検査2014;63:706-713.
- 2) 日本肝臓学会: B型肝炎治療ガイドライン (第3.4版), https://www.jsh.or.jp/lib/files/medical/guidelines/jsh_guidelines/B_v3.4.pdf, accessed on 2021/08/11.
- 3) 大藪 智奈美, 佐藤 伊都子, 野原 圭一郎, 今西 孝充, 三枝 淳: L2400による高感度HBs抗原定量試薬の有用性—日常データからの解析—. 医学検査 2020;69:89-94.
- 4) 佐野 悦子, 加藤 由貴, 鯨井 智子, 棚澤 真樹, 中西 久江, 長谷川 隆, 石田 圭一, 神山 清志: エスプラインHBsAgの日常検査使用時における性能評価について. 関東甲信地区医学検査学会講演集 47回 2011;11:185.
- 5) 松田 親史, 森山 英彦, 竹谷 健, 柴田 宏, 長井 篤: S領域の変異株によるHBs抗原 (EIA法) 偽陰性の1例とHBs抗原関連試薬の反応性. 感染症誌 2011;85:21-25.
- 6) 出口 松夫, 鍵田 正智, 浅利 誠志 [他], 岩谷 良則, 土田 貴彦, 飯沼 一茂, SANBORN Mark: HBs抗原検出感度と変異株検出能における7種類の免疫学的

- 測定試薬の評価. 感染症誌 2005;79:138-142.
- 7) 八橋 弘: 治療介入が必要な症例を見極めるコツ —B型肝炎ウイルスマーカーを理解し, 症例の診断, 治療に活かす—. 日消誌 2018;115:19-26
- 8) 北橋 繁, 原 達雄, 森田 寛二, 西口 修平, 日野 雅之,
- 竹内 一秀: HBs抗原測定試薬でHBVの変異により偽陰性を示した1症例. 医学検査 2004;53:593.
- 9) 宮村 達男: B型肝炎ウイルス遺伝子の構造と機能. マイコトキシン 1986;1986:1-3

生化学自動分析装置を用いたアポリポタンパクE含有高比重 リポタンパクコレステロール測定試薬の性能評価

Evaluation of apolipoprotein E-containing high-density lipoprotein cholesterol
measuring reagent using automatic biochemical analyzer

渡部芽以¹⁾ 島野志都子¹⁾ 亀田貴寛²⁾ 藤井祐葵¹⁾ 平尾裕子³⁾
大野一彦¹⁾ 市村直也¹⁾ 東田修二¹⁾ 大川龍之介²⁾

要旨 デンカ株式会社で開発されたアポリポタンパクE含有高比重リポタンパクコレステロール (apoE-HDL-C) 試薬の基礎的性能評価と各種患者血清における総HDL-Cに対するapoE-HDL-C比の検討を行った。試薬性能は概ね良好であった。患者血清57検体においてTotal HDL-Cをx, apoE-HDL-Cをyとしたとき、Total HDL-C <100 mg/dLのときの回帰式は $y = 0.121x - 0.985$ ($r = 0.984$) となり既報と同様の結果が得られた。更に症例数を増やすことによりapoE-HDL-C測定のみならず有用性が見出されることが期待される。

Key words High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), Apolipoprotein E-containing high-density lipoprotein cholesterol (apoE-HDL-C), Biochemical Autoanalyzer

1. はじめに

高比重リポタンパク (HDL) は末梢組織のコレステロールを肝臓へ輸送する働きがあり、血中の高比重リポタンパクコレステロール (HDL-C) の低下に伴い粥状動脈硬化症、さらに冠動脈疾患の発症率が増加することが知られている。しかしHDL-Cが基準範囲内であるにもかかわらず心血管イベントを引き起こす場合があり、HDL-Cのさらなる解析が求められている。

HDLはタンパク質やリン脂質を多く含むヘテロジニアスなリポタンパクであり、他のリポタンパクと比較し

て特にアポリポタンパクの種類や脂質の量が異なる様々な種類のHDLが存在する。その中で、アポリポタンパクE (apolipoprotein E:apoE) を多く含むHDLが全体のHDLの約10%存在し¹⁾、apoE含有HDL (apoE containing HDL:apoE-HDL) と称され、apoEをほとんど含まないapoE非含有HDL (apoE deficient HDL) と区別される。apoE-HDLは胆汁うっ滞²⁾⁻⁵⁾ やコレステリルエステル転送蛋白 (Cholesteryl ester transfer protein:CETP) 欠損症によって増加するという報告⁶⁾⁻¹⁰⁾ や、apoE-HDLは冠動脈疾患のリスクを下げるという報告¹¹⁾ もあり、その臨床的意義について非常に高い関心を集められてい

Received Jul. 16, 2021; Accepted Sep. 10, 2021
Mei WATANABE¹⁾, Shitsuko SHIMANO¹⁾, Takahiro KAMEDA²⁾, Yuki FUJII¹⁾, Yuko HIRAO³⁾, Kazuhiko OHNO¹⁾, Naoya ICHIMURA¹⁾, Shuji TOHDA¹⁾, Ryunosuke OHKAWA²⁾

¹⁾ 東京医科歯科大学病院検査部

〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45

²⁾ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 先端分析検査学分野

〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45

³⁾ デンカ株式会社

〒103-8338 東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号

日本橋三井タワー

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Medical Hospital, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan.

²⁾ Analytical Laboratory Chemistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan.

³⁾ Denka Company Limited, Nihonbashi Mitsui Tower, 2-1-1, Nihonbashi-Muromachi, Chuo-ku, Tokyo 103-8338, Japan.

Corresponding author : 大川龍之介

TEL : 03-5803-5374

E-mail : ohkawa.alc@tmd.ac.jp

る。しかし apoE-HDL-C 測定 の 臨 床 的 意 義 について は 未 だ 解 明 さ れ て い な い 点 が 残 さ れ て お り、 臨 床 診 断 に 広 く 利 用 さ れ る 段 階 に は 至 っ て い な い。 apoE-HDL の 病 態 生 理 学 的 な 役 割 の 解 明 を 進 め る に あ た っ て、 自 動 分 析 装 置 に よ る 迅 速 か つ 精 確 な 測 定 が 可 能 な apoE-HDL-C 測 定 試 薬 の 開 発 が 待 た れ て い る。

今 回、 我 々 は 生 化 学 自 動 分 析 装 置 LABOSPECT008 を 用 い て、 デ ン カ 株 式 会 社 に よ り 開 発 さ れ た apoE-HDL-C 測 定 試 薬 について の 基 礎 的 性 能 評 価 を 行 っ た の で、 そ の 検 討 結 果 を 報 告 す る。

2. 対象および検討試薬・機器

1) 対象

対象検体は、東京医科歯科大学病院を受診し検査部に提出された検査終了後の患者血清の残余血清を用いた。なお、本研究は東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会の承認 (M2016-049) を得て行った。

2) 検討試薬・機器

使用機器は LABOSPECT008 (株式会社日立ハイテク)、試薬は Takahashi らによって開発された apoE-HDL-C 測定法¹²⁾ を基にした汎用試薬 (デンカ株式会社) を用い、Total HDL-C は自動分析用試薬「生研」HDL-EX (デンカ株式会社) にて測定した。検体の希釈は、デンカ株式会社の推奨する専用希釈液を用いた。性能評価は、一般社団法人日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会による「定量測定法に関するバリデーション指針」に準じ、バリデーション算出用プログラム (Validation-Support/Excel Ver3.5) を使用して実施した。

3) 測定原理

本検討で使用した apoE-HDL-C 試薬の測定原理は 2 ステップ反応に基づく。一次反応において、第一試薬に含まれる界面活性剤により検体中のカイロミクロン、超低比重リポタンパク (VLDL)、低比重リポタンパク (LDL)、apoE deficient HDL が分解される。これらのリポタンパク粒子から放出されたコレステロールはコレステロールエステラーゼ、コレステロールオキシダーゼによって加水分解され、発生した過酸化水素はカタラーゼで処理される。二次反応において、第二試薬中の界面活性剤が apoE-HDL-C に選択的に反応し分解する。第一試薬に含まれるカタラーゼは第二試薬中のアジ化ナトリウムによって阻害される。次いで、apoE-HDL 由来のコレステロールにコレステロールエステラーゼ、コレステロールオキシダーゼを作用させることにより過酸化水素を発生させる。発生した過酸化水素をペルオキシダーゼの存在下で 4-アミノアンチピリン、N-(2-Hydroxy-3-

sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline と反応させ、精製されたキノン色素を主波長 700 nm、副波長 600 nm の吸光度を測定することにより定量した (Fig. 1)。

3. 方法

1) 併行精度・室内再現精度

2 濃度の精度管理用試料 (脂質コントロール I、脂質コントロール II (デンカ株式会社)) と患者血清を試料として用いて、併行精度は 20 回連続測定、室内再現精度は 1 日 2 回 15 日間測定した。測定値より変動係数 (CV) を算出し評価した。

2) 正確性

脂質キャリアレーター D (デンカ株式会社) を連続 10 回測定し、平均値の 95% 信頼区間にキャリアレーターの表示値が含まれているかで評価した。

3) 希釈直線性

高濃度検体を専用希釈液で 10 段階希釈し、それぞれ 2 重測定を行った。測定値から直線性の検定を行い評価した。ただし希釈に使用した専用希釈液には apoE-HDL-C が 0.71 mg/dL 含まれていたため、希釈直線性、検出限界 (LoD: Limit of Detection)、定量限界 (LoQ: Limit of Quantitation) において実測値から専用希釈液中の apoE-HDL-C 濃度を補正した値を評価した。

4) 検出限界 (LoD: Limit of Detection)

ブランク上限 (LoB: Limit of Blank) は生理食塩水を 1 日 12 回 5 日間測定し、LoD は低濃度検体を専用希釈液で希釈して 8 濃度の試料を作製し、それぞれを 1 日 2 回 5 日間測定した。得られた測定値をノンパラメトリック法にて評価した。

5) 定量限界 (LoQ: Limit of Quantitation)

低濃度検体を専用希釈液で希釈して 20 濃度の試料を作製し、1 日 2 回 5 日間測定した。測定値の CV 10% 点を LoQ として算出し評価した。

6) 特異性、選択性

患者プール血清 (apoE-HDL-C: 10.38 mg/dL) に干渉チェック A プラス (シスメックス株式会社) を用いて共存物質 (抱合型ビリルビン (ジタウロビリルビン)、非抱合型ビリルビン、ヘモグロビン、乳び) の影響を検討した。

7) Total HDL-C との相関

様々な Total HDL-C 濃度 (20.6 ~ 122.6 mg/dL) の患者血清検体 57 例中の apoE-HDL-C 濃度を測定し、Total HDL-C 濃度との相関性を標準主軸回帰にて評価した。また、Total HDL-C に対する apoE-HDL-C の割合を算出し、既報と比較した。

8) 希釈液による測定値への影響

患者プール血清を生理食塩水と専用希釈液でそれぞれ希釈して20濃度の試料を作製し、1日2回5日間測定した。それぞれの試料における、理論値と測定値の変化率を算出した。

4. 成績

1) 併行精度・室内再現精度

各試料の併行精度のCVは0.00~0.51%, 室内再現精度のCVは1.06~2.41%であった (Table 1)。

2) 正確性

測定した試料の平均値は6.50 mg/dL, 95%信頼区間は6.43~6.57 mg/dLであり、キャリブレーションの表示値6.5 mg/dLは区間内に含まれていた。

3) 希釈直線性

32.4 mg/dLまで直線性を認めた (Fig. 2)。

4) 検出限界 (LoD : Limit of Detection)

LoBは0.00 mg/dL, LoDは0.02 mg/dLであった。

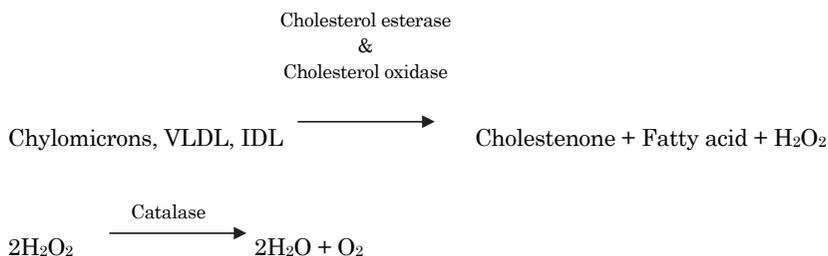
5) 定量限界 (LoQ : Limit of Quantitation)

LoQは0.09 mg/dLであった (Fig. 3)。

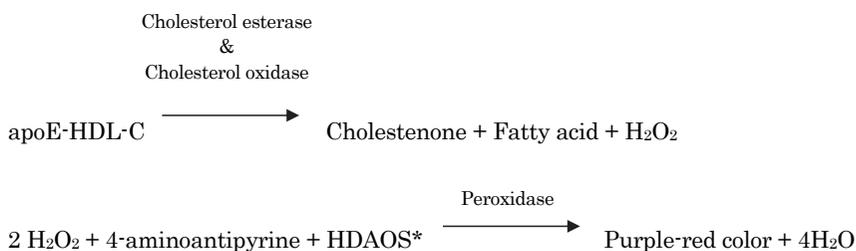
6) 特異性, 選択性

抱合型ビリルビンは20.2 mg/dLまで、非抱合型ビリルビンは18.6 mg/dLまで、ヘモグロビンは490 mg/dLまで、乳びは1630ホルマジン濁度まで検討を行い、いずれも変化率は±5%以内であった。ただし抱合型ビリルビンにおいて濃度依存により負誤差となる傾向を認め、最大3.81%の差を認めた (Fig. 4)。

1st step



2nd step



* N-(2-Hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline, sodium salt.

Fig. 1 The chemical principle of the apoE-HDL-C reagent for apoE-HDL-C

7) Total HDL-Cとの相関

患者血清検体57例においてTotal HDL-Cをx, apoE-HDL-Cをyとしたとき, Total HDL-C <100 mg/dLのときの回帰式は $y = 0.121x - 0.985$ ($r = 0.984$), Total HDL-C >100 mg/dLのときの回帰式は $y = 0.153x - 4.401$ ($r = 0.969$) となった (Fig. 5)。またapoE-HDL-CのTotal HDL-Cに対する割合は6 ~ 12%の値を示したが, apoE-HDL-Cの割合が高い検体を二例認めた (Fig. 5)。

8) 希釈液による測定値への影響

専用希釈液, 生理食塩水共に希釈倍率に依存して測定値は理論値より低値を示した (Fig. 6)。プール血清を

それぞれの溶液で20段階希釈した際の測定値は, 理論値100%とすると専用希釈液で最大12.4%, 生理食塩水で最大64.1%減少していた。

5. 考察

本研究試薬はTakahashi らが考案した3試薬系直接法によりTotal HDL-C, apoE-deficient HDL-C, apoE-HDL-Cの同時測定した方法¹⁾を基に, 2試薬系直接法にてapoE-HDL-C測定試薬として開発された¹²⁾。apoE-HDL-C測定の臨床的意義については未だ解明されていない点が残されており, apoE-HDL-Cの解析を進めるために自動分析装置による迅速かつ正確な測定が可能な

Table 1 Repeatability and intermediate precision of apoE-HDL-C

		Control1	Control2	Pooled serum
Repeatability	N	20	20	20
	Mean (mg/dL)	10.05	5.40	6.78
	SD	0.05	0.00	0.03
	CV (%)	0.51	0.00	0.50
Intermediate precision	N	30	30	30
	Mean (mg/dL)	10.07	5.50	6.83
	SD	0.18	0.13	0.07
	CV (%)	1.81	2.41	1.06

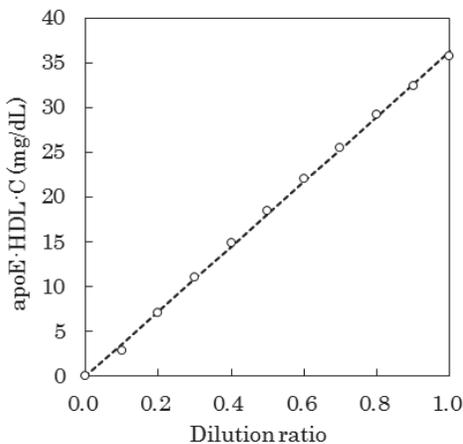


Fig. 2 Dilution linearity of apoE-HDL-C

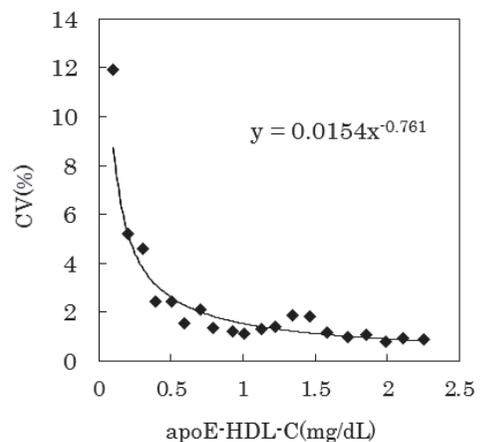


Fig. 3 Limit of quantitation for apoE-HDL-C

apoE-HDL-C測定試薬の開発が待たれている。今回、LABOSPECT008（株式会社日立ハイテク）を使用し本試薬の検討を実施したところ、併行精度および室内再現精度は全ての試料においてCVが3%以下となり、良好な結果を認めた。真度に関して、臨床化学会の推奨法では常用標準物質ではなく認証標準物質を用いて評価する。しかしながら、apoE-HDL-Cの認証標準物質は存在しないため、今回は常用標準物質を用いて評価した。測定した試料の平均値は常用標準物質の表示値と一致し、正確な検量はできていたと考えられるが、今後は常用標準物質とは異なる一次標準物質の開発が望まれる。

希釈直線性については、生理食塩水で希釈すると低濃度付近で負誤差になるため、専用希釈液を使用して希釈を実施した。ただし、この専用希釈液にはapoE-

HDL-Cが0.71 mg/dL含まれていたため、専用希釈液を用いて行った希釈直線性、検出限界および定量限界の検討においては、専用希釈液中のapoE-HDL-C濃度で補正した値を使用した。希釈直線性の上限、検出限界、定量限界はそれぞれ324 mg/dL、0.02 mg/dL、0.09 mg/dLであり、健常者、患者血清のapoE-HDL-Cの定量に十分な性能を有していることが明らかになった。

上記の結果より生理食塩水で希釈した検体の希釈率による影響について追加検討をしたところ、生理食塩水で希釈した試料は最大で64.1%低値を示した。これは生理食塩水が血清と比べてタンパク濃度などのマトリックスが異なるため、試薬の反応性に影響したものと考えられる。タンパク成分などを含む専用希釈液による希釈では測定値の負誤差は軽減したが、最大で12.4%低値を示し

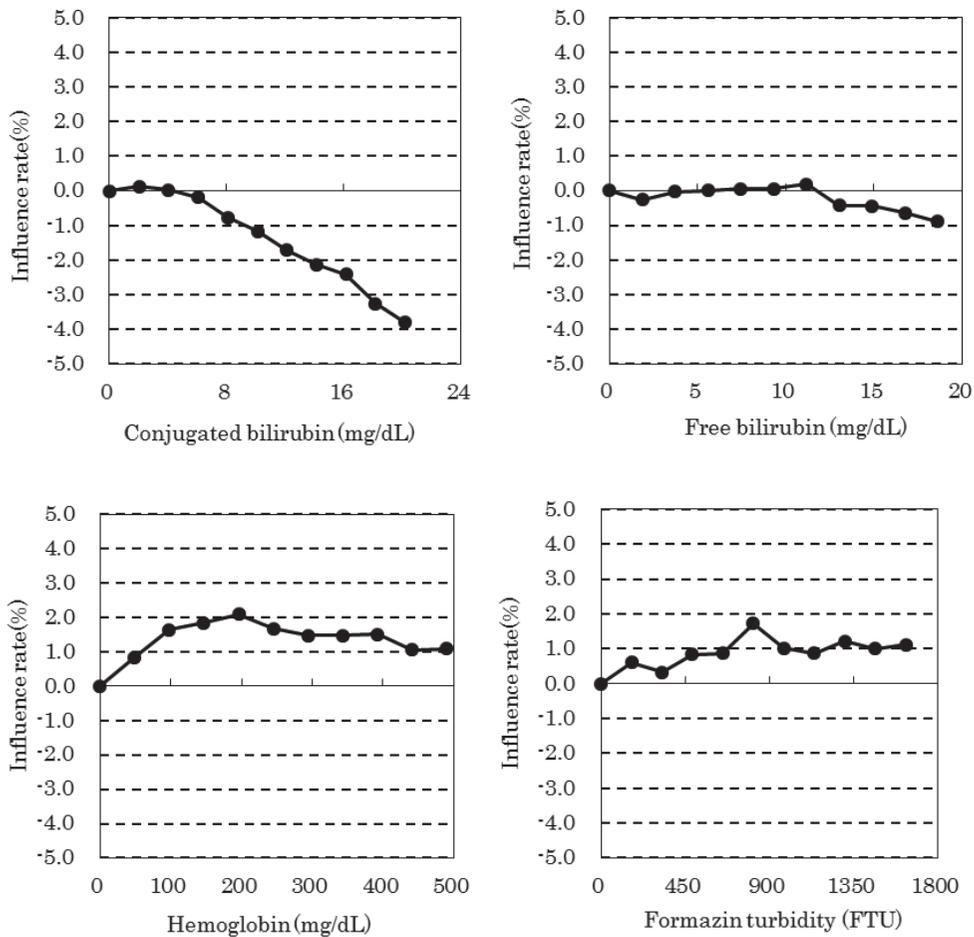


Fig. 4 Effects of interfering substances on apoE-HDL-C measurement

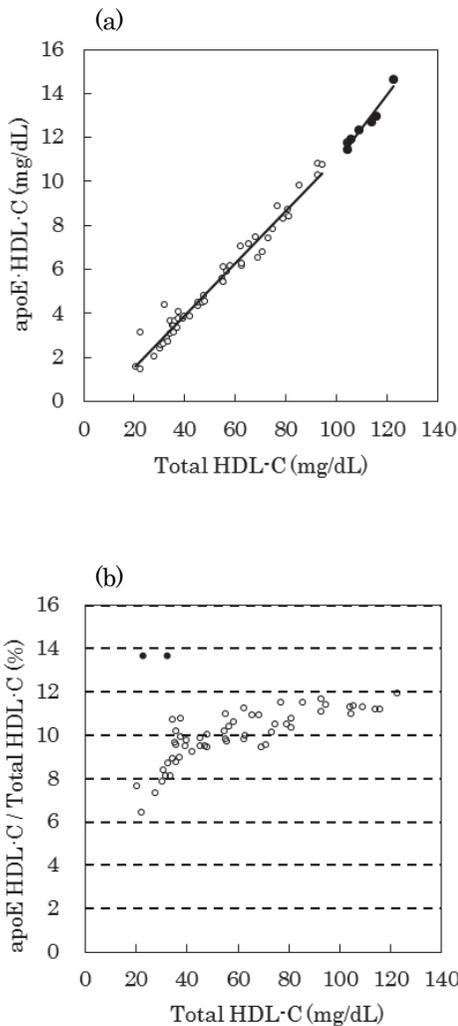
た。前述のように専用希釈液には測定対象である apoE-HDL-C がわずかに含まれており、妥当性確認を行うための専用希釈液にはさらなる改良が必要である。

共存物質の影響試験においては、抱合型ビリルビンにおいて濃度依存により負誤差となる傾向を認めたが、いずれも測定値変化率は ±5% 以内に収まった。apoE-HDL-C は胆汁うっ滞によって増加するという報告例^{2)・5)}もあるが、本試薬で測定する際に偽低値を示す可能性があるので注意が必要である。

Total HDL-C との相関の検討では、Total HDL-C <100 mg/dL のときの回帰式は既報¹⁾が $y = 0.1116x -$

0.0151 ($r = 0.9283$) であったのに対し、本検討では $y = 0.121x - 0.985$ ($r = 0.984$) と同等の結果が得られた。一方で Total HDL-C >100 mg/dL のときの回帰式は既報¹⁾が $y = 0.4715x - 1.0475$ ($r = 0.9863$) であったのに対し、本検討では $y = 0.153x - 4.401$ ($r = 0.969$) と既報と比べ回帰式の傾きが低くなった。本検討で使用した検体57件中 Total HDL-C >100 mg/dL のものが7件しか得られなかったため、より症例数を増やして解析を行う必要があると思われる。

また apoE-HDL-C の Total HDL-C に対する割合は 6 ~ 12% となったが、その内乖離検体 (apoE-HDL-C の



Total HDL-C >100 : $y = 0.153x - 4.401$ ($r = 0.969$)

Total HDL-C <100 : $y = 0.121x - 0.985$ ($r = 0.984$)

Fig. 5 Correlation between apoE-HDL-C and Total HDL-C.

(a) Total HDL-C vs. apoE-HDL-C; (b) Total HDL-C vs. apoE-HDL-C / Total HDL-C.

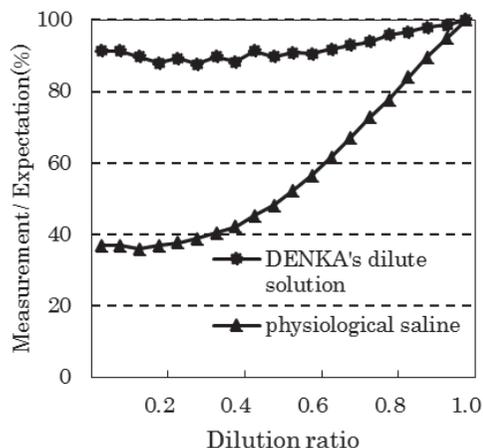


Fig. 6 Effects of DENKA's dilute solution and physiological saline on apoE-HDL-C measurement

Total HDL-Cに対する割合が13%を超えたもの)を2件認め、一方はLPL欠損症患者、もう一方は慢性甲状腺炎患者であった。今回の検討では乖離の原因を特定するには至らなかったが、今後、症例数を増やし解析する必要があると思われる。ただし、日常検査で汎用されているHDL-C測定試薬はapoE-HDL-Cに対する反応性が試薬メーカー間で異なるため¹³⁾¹⁴⁾、apoE-HDL-CのTotal HDL-Cに対する割合を評価するときにはHDL-C測定試薬の特性を十分に理解しておくことが重要である。

6. 結論

apoE-HDL-C測定試薬の基礎的性能は概ね良好であった。また、Total HDL-Cとの相関、apoE-HDL-C測定の特異性、臨床的意義については更に症例数を増やし測定し解析する必要があると思われる。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) Takahashi Y, Ito Y, Wada N, et al. Development of homogeneous assay for simultaneous measurement of apoE-deficient, apoE-containing, and total HDL-cholesterol. *Clin Chim Acta*, 2016;454:135-142.
- 2) Koga S, Miyata Y, Ibayashi H. Plasma lipoproteins and apoproteins in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*, 1985;5:286-292.

- 3) Teramoto T, Kato H, Hashimoto Y, et al. Abnormal high density lipoprotein of primary biliary cirrhosis analyzed by high performance liquid chromatography. *Clin Chim Acta* 1985;149:135-148.
- 4) Peynet J, Fénéant-Thibault M, Legrand A, et al. Isolation and characterization of an abnormal alpha slow-moving high-density lipoprotein subfraction in serum from children with long-standing cholestasis. *Clin Chem* 1986;32:646-651.
- 5) Chiba H, Osaka T, Iwasaki N, et al. Spurious elevation of serum high-density lipoprotein cholesterol in patients with cholestatic liver diseases. *Biochem Med Metab Biol* 1991;46:329-343.
- 6) Matsuura F, Wang N, Chen W, et al. HDL from CETP-deficient subjects shows enhanced ability to promote cholesterol efflux from macrophages in an apoE- and ABCG1-dependent pathway. *J Clin Invest* 2006;116:1435-1442.
- 7) Chiba H, Eto M, Fujisawa S, et al. Increased plasma apolipoprotein E-rich high-density lipoprotein and its effect on serum high-density lipoprotein cholesterol determination in patients with familial hyperalphalipoproteinemia due to cholesteryl ester transfer activity deficiency. *Biochem Med Metab Biol* 1993;49:79-89.
- 8) Chiba H, Akita H, Tsuchihashi K, et al. Quantitative and compositional changes in high density lipoprotein subclasses in patients with various genotypes of cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Lipid Res* 1997;38:1204-1216.
- 9) Yamashita S, Sprecher DL, Sakai N, et al. Accumulation of apolipoprotein E-rich high density lipoproteins in hyperalphalipoproteinemic human subjects with plasma cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Clin Invest* 1990;86:688-695.
- 10) Nagasaka H, Yorifuji T, Momoi T, et al. Lipoprotein profiles in children with two common cholesteryl ester transfer protein gene mutations, D442G and I14A, during the first year of life. *Clin Chim Acta* 2009;406:52-56.
- 11) Qi Y, Liu J, Wang W, et al. Apolipoprotein E-containing high-density lipoprotein (HDL) modifies the impact of cholesterol-overloaded HDL on incident coronary heart disease risk: A community-based cohort study. *J Clin Lipidol*. 2018;12:89-98.
- 12) Takahashi Y, Ito Y, Sakurai T, et al. A two-step homogeneous assay for apolipoprotein E-containing high-density lipoprotein-cholesterol. *Ann Clin Biochem* 2019;56:123-132.
- 13) 杉内博幸. HDL-CおよびLDL-C測定の直接法における反応特異性, 検査と技術, 2008;36:848-852
- 14) 福田賢一, 安藤敦子, 皆川育子ほか. LDL-C・HDL-C測定におけるメーカー試薬の比較検討. 鳥取赤十字医誌, 2017;26:33-35

全自動免疫測定装置 HISCL™-5000 を用いた C 型肝炎ウイルス抗体 キット HISCL™ HCVAb II 試薬の基礎的性能評価

Basic performance evaluation of Hepatitis C virus antibody kit HISCL™ HCVAbII
reagent using fully automated immunoassay system HISCL™-5000

中村友紀子^{1,2)} 山崎真一^{1,2)} 中村恵利那³⁾ 毎田昇平^{1,2)} 西原晴菜^{1,2)}
佐々木芳恵^{1,2)} 森本隆行^{1,2)} 大盛美紀^{1,2)} 横崎典哉¹⁾

要旨 C型肝炎ウイルスのスクリーニング検査として、HCV抗体が広く用いられており、各メーカーからさまざまな試薬が開発されている。今回我々は、HISCL HCVAb試薬を改良したHISCL HCVAb II試薬について、基礎的検討及び他法との比較を検討する機会を得た。

HISCL HCVAb II試薬の基礎的検討は併行精度・室内精度・プロゾーン試験・干渉物質の影響について良好な結果が得られた。他法との一致率についてはHISCL HCVAb II試薬とHISCL HCVAb試薬、ルミバルスプレストオーソ HCV、アーキテクトHCVアッセイ、エクルーシス試薬Anti-HCV IIの判定一致率は、それぞれ98.1%、97.7%、100%、97.7%となり、11検体について不一致が確認された。11検体について実施した追加試験INNO-LIAの結果からHISCL HCVAb II試薬はHISCL HCVAb試薬に比べて検出感度が向上しているが特異度は同等であると考えられた。また、他法の結果との比較からも同等のスクリーニング精度であり、遜色ない結果が得られることが確認できた。

本検討の結果からも日常診療への活用に有効な試薬であると考えられた。

Key words HCVAb, Hepatitis C, HISCL HCV Ab II

1. はじめに

C型肝炎ウイルス（以下、HCV）はフラビウイルス科に属するRNAウイルスである。現在、HCVキャリアは全世界で1億7,000万人、日本国内で100万～150万人存在すると推定されている¹⁾。HCVに持続感染している場合、ほぼ全例でHCV抗体は陽性となる。C型肝炎に対する治療は、直接型抗ウイルス薬（DAA）の開発および臨床応用が進んだため、HCV RNA持続陰性化（SVR）が得られる可能性が非常に高くなってきた¹⁾。このようにHCV抗体の測定は、潜在性キャリアの早期発見に重

要性が増している。HCV抗体検査は、測定試薬にNS4領域を用いた第1世代、Core、NS3領域を追加した第2世代、さらにNS5領域を追加した第3世代に分けられ、現在では第2世代および第3世代の測定試薬が主に用いられている²⁾。

今回我々は、第2世代の従来試薬であるHISCL HCVAb試薬のNS3領域を改良し、反応性向上を図ったHISCL HCVAb II試薬を全自動免疫測定装置HISCL-5000（シスメックス株式会社）を用いて検討する機会を得たので報告する。

Received Mar. 1, 2021; Accepted Sep. 21, 2021
Yukiko NAKAMURA^{1,2)}, Shinichi YAZAKI^{1,2)}, Erina NAKAMURA³⁾, Syohei MAIDA^{1,2)}, Haruna NISHIHARA^{1,2)}, Yoshie SASAKI^{1,2)}, Takayuki MORIMOTO^{1,2)}, Miki OMORI^{1,2)}, Michiya YOKOZAKI¹⁾,

¹⁾広島大学病院検査部
Division of Laboratory Medicine, Hiroshima University Hospital,

²⁾広島大学病院診療支援部
Department of Clinical Practice and Support, Hiroshima University Hospital

³⁾シスメックス株式会社 カスタマーサポート部
Customer Support Division, Sysmex Corporation
〒734-8551 広島県広島市南区霞1丁目2-3
連絡責任者：中村友紀子
TEL：082-257-5550 FAX：082-257-1577
E-mail：nakamu10@hiroshima-u.ac.jp

2. 対象および方法

1) 対象

広島大学病院検査部に HCV 抗体測定の依頼があった患者検体の残存血清を対象とした。この血清は日本臨床検査医学会の「臨床検査を終了した検体の業務、教育、研究のための使用に関する見解」に基づき、288 検体を用いた。なお、本検討は広島大学疫学研究倫理審査委員会にて承認を受け実施した（承認番号第 E-1708 号）。

2) 試薬および測定機器

HISCL HCVAb II 試薬（以下 HIS II）、HISCL HCVAb 試薬（以下、HIS）については、全自動免疫測定装置 HISCL-5000（シスメックス株式会社）を用いて検討を行った。対照試薬としては、ルミバルスプレストオーソ HCV（富士レビオ株式会社、以下 LUMI）、アーキテクト HCV アッセイ（アボットジャパン合同会社、以下 ARCH）、エクルーシス試薬 Anti-HCV II（S300）（ロシュダイアグノスティックス株式会社、以下 ECL）を用い、それぞれの専用機器にて測定を実施した（Table 1）。

3) 評価方法

(1) 併行精度

陰性検体 1 例（試料 1）、および濃度の異なる陽性検体 2 例（試料 2, 3）を HIS II にて連続 20 回測定した。

(2) 室内精度

陰性検体 1 例（試料 1）、および濃度の異なる陽性検体 2 例（試料 2, 3）について、HIS II にて 1 日 2 回、20 日間測定を実施。分散分析法にて日内精密度、日間精密度を評価した。

(3) プロゾーン試験

高力価の検体を 2n 乗で段階希釈して試料を調整した。それぞれの試料を HIS II にて 3 回連続測定し、その平均値を求めた。

(4) 干渉物質の影響

濃度の異なる 2 検体を試料とし、干渉チェック・A プ

ラス、干渉チェック・RF プラス（共にシスメックス株式会社）を用いて、HIS II におけるビリルビン・F、ビリルビン・C、溶血ヘモグロビン、乳び、リウマトイド因子による測定値への影響を評価した。

(5) 他法との一致率

当院でルーチン検査として使用している LUMI にて陽性と判定された 105 例、および同試薬によって陰性と判定された 154 例の合計 259 例を、HIS II、HIS、LUMI、ARCH、ECL の 5 試薬で測定を実施し、判定一致率を算出した。また、判定不一致症例については、C 型肝炎テスト用キット INNO-LIA™ HCV Score（コスモ・バイオ株式会社、以下 INNO-LIA）を用いて、各抗原との反応性を確認した。なお、INNO-LIA はコア領域、E2 超可変領域、NS3 領域、NS4 領域、NS5 領域から抽出された抗原が使用されている。

3. 成績

1) 併行精度

HIS II にて評価したところ、試料 2 で CV 1.07%、試料 3 で CV 1.38% であった。なお、試料 1 の陰性検体（0.0 C.O.I.）は全測定結果が 0.0 C.O.I. であった（Table 2）。

2) 室内精度

HIS II にて評価したところ、試料 2 で総合 CV 2.6%、試料 3 で総合 CV 2.5% であった。なお、試料 1 の陰性検体（0.0 C.O.I.）は全測定結果が 0.0 C.O.I. であった（Table 3）。

3) プロゾーン試験

HIS II にて評価したところ、65.80 C.O.I. までプロゾーンは認められなかった。

4) 干渉物質の影響

HIS II にて評価したところ、ビリルビン・F、ビリルビン・C、溶血ヘモグロビン、乳び、リウマトイド因子のすべてにおいて、±5% 以内の変動であり、影響は確認されなかった（Fig. 1）。

Table 1 Reagents and measuring instruments

装置	試薬	メーカー名
HISCL-5000	HISCL HCVAb II 試薬 HISCL HCVAb 試薬	シスメックス株式会社
ルミバルス Prest II	ルミバルスプレストオーソ HCV	富士レビオ株式会社
ARCHITECT アナライザー i2000SR	アーキテクト HCV アッセイ	アボットジャパン合同会社
cobas8000 <e801>	エクルーシス試薬 Anti-HCV II (S300)	ロシュダイアグノスティックス株式会社

5) 他法との一致率

同じHISCL専用試薬であるHIS IIとHISの一致率を求めたところ、98.1%（陽性一致率100%、陰性一致率96.9%）となり、5件の判定不一致を認めた（Table 4）。また、HIS IIとLUMI, ARCH, ECLの3試薬の一致率を求めたところ、それぞれ97.7%、100%、97.7%であり、LUMIおよびECLとは各々6件の判定不一致を認めた（Table 4）。この判定不一致検体11件について、INNO-LIA検査を実施した結果、陽性4件、陰性4件、判定保留1件、判定不能2件となった（Table 5）。

4. 考察

日本国内でHCVキャリアは100万~150万人存在すると推定されており、HCVに持続感染している場合、ほぼ全例でHCV抗体は陽性になる。このことから、HCV抗体検査はスクリーニング検査として重要である²⁾。

今回、我々はHCV抗体測定試薬であるHISCL

HCVAb試薬の改良試薬、HISCL HCVAb II試薬を検討する機会を得た。

併行精度、室内精度、プロゾーン試験、干渉物質の影響の結果は良好であった。ただし、プロゾーン試験は1検体のみの検討結果であり、さらなる検討が必要であると考えられる。

HIS IIを対象としたHIS, LUMI, ARCH, ECLの判定一致率については、それぞれ98.1%、97.7%、100%、97.7%となり、11検体について不一致が認められた。この11検体についてINNO-LIAで各抗原との反応性を確認したところ、HIS IIとHISで不一致（HIS II陽性/HIS陰性）となった5件（No.1~5）のうち4件（No.1~4）はINNO-LIAも陽性となり、HIS IIの結果と一致した。No.1に関してはLUMIの判定は陰性であるが測定値は0.9C.O.I.とカットオフ値付近であり、HIS, LUMI以外の3法が陽性であることから、陽性の可能性が高い検体であると思われる。また、残り1件（No.5）については、

Table 2 repeatability (n=20)

Sample	1	2	3
mean	0.00	33.97	51.31
min	0.0	33.1	49.5
max	0.0	34.5	52.3
SD	0.000	0.362	0.710
CV(%)	-	1.07	1.38

※ 単位：C.O.I.

Table 3 intermediate precision (n=40)

Sample	1	2	3
mean	-	29.34	50.73
min	0.0	27.5	48.4
max	0.0	31.0	53.3
日内CV(%)	-	1.691	1.768
日間CV(%)	-	2.005	1.758
総合CV(%)	-	2.623	2.493

※ 単位：C.O.I.

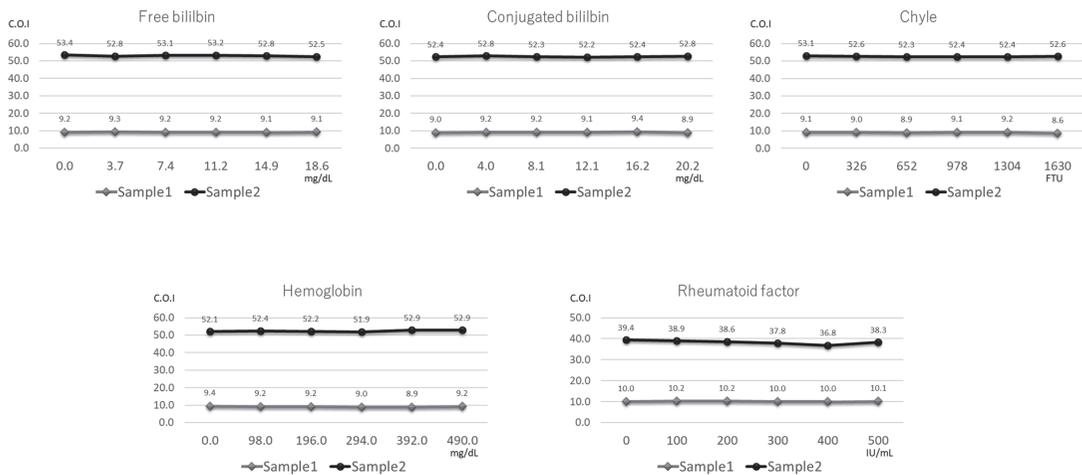


Fig. 1 Effects of interfering substances

INNO-LIA が判定不能であったが、No.1~4 と同じく陽性との判断が妥当である。HIS II および HIS で陰性、他法のいずれかが陽性であった 4 検体 (No.6~9) については、INNO-LIA による抗原の反応性が陰性であることから、陰性の可能性が高い検体であると考えられる。残りの 2 検体 (No.10~11) については、HCV 抗体検査も複数の試薬で陽性となっていたが、測定結果も非常に低値であること、INNO-LIA が判定保留であったことから、今回の検討結果のみでは判断することが不可能であった。

測定試薬に使用されている抗原にはメーカー毎に違いがある (Fig. 2)。HCV 抗体を捉えるための試薬中抗原がリコンビナント抗原や合成ペプチドなど様々であること

や、コンジュゲートや B/F 分離も様々である。この違いにより、低値域の症例については、測定試薬間の結果の乖離が避けられない現状であることが報告されている^{3,4)}。HCV 抗体検査を実施するにあたり、検査技師は自施設

Table 4 Consistent rate

n=259		HIS		LUMI		ARCH		ECL	
		陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
HIS II	陽性	96	5	100	1	101	0	101	0
	陰性	0	158	5	153	0	158	6	152
判定一致率		98.1%		97.7%		100.0%		97.7%	

Table 5 Additional inspections

Sample	HIS II		HIS		LUMI		ARCH		ECL		INNO-LIA 判定
	C.O.I.	判定	C.O.I.	判定	C.O.I.	判定	S/CO	判定	C.O.I.	判定	
1	1.5	+	0.6	-	0.9	-	2.69	+	46.6	+	陽性
2	1.2	+	0.8	-	1.4	+	1.36	+	67.1	+	陽性
3	1.2	+	0.5	-	1.1	+	3.70	+	64.6	+	陽性
4	1.3	+	0.6	-	1.3	+	1.42	+	52.3	+	陽性
5	1.2	+	0.2	-	1.2	+	3.22	+	53.7	+	判定不能 ※1
6	0.3	-	0.2	-	2.0	+	0.57	-	11.9	+	陰性
7	0.3	-	0.2	-	2.0	+	0.53	-	12.7	+	陰性
8	0.0	-	0.0	-	2.3	+	0.29	-	0.0437	-	陰性
9	0.0	-	0.1	-	0.1	-	0.04	-	5.87	+	陰性
10	0.9	-	0.6	-	1.1	+	0.84	-	53.6	+	判定保留 ※2
11	0.6	-	0.4	-	1.2	+	0.80	-	42.5	+	判定不能 ※1
INNO-LIA 一致率	100.0%		50.0%		50.0%		100.0%		62.5%		

※1 Background control 陽性の為、判定不能 ※2 INNO-LIAの判定基準により判定保留

試薬	測定原理	抗原					カットオフ値
		Core	E1.E2	NS3	NS4	NS5	
		1	191	1026	1557	1972	3011
HIS II	CLEIA	5-36, 40-69(1b) 		1187-1468(1b) 	1688-1728(1a) 1688-1711(1b) 1688-1728(2a) 		1.0 (C.O.I)
HIS	CLEIA	5-36, 40-69(1b) 		1187-1468(1b) 	1688-1728(1a) 1688-1711(1b) 1688-1728(2a) 		1.0 (C.O.I)
LUMI	CLEIA	2-120 C22-3 	C25 	1192-1931 c200 	2054-2995 NS5 		1.0 (C.O.I)
ARCH	CLIA	1-150 	HC43 	1192-1457 c33c 	1569-1931 c100-3 		1.0 (S/CO)
ECL	ECLIA	1-150 		1218-1657 	1689-1743 		1.0 (C.O.I)

※1 HISCL HCVAb II 試薬はNS3領域の反応性を改良

※2 INNO-LIAの抗原はコア領域、E2超可変領域、NS3領域、NS4領域、NS5領域から抽出された抗原が使用されている。

Fig. 2 Antigen comparison

の試薬の特性を十分に理解して使用する必要がある。結果の判断に困った際、治療判定目的など検査の依頼目的によってはHCV-RNA検査の追加を依頼するなど、多角的な検討の上で判断することが重要であると考ええる。

今回の比較検討の結果を総合的に評価すると、HIS IIはHISに比べて感度が向上しているが特異度は同等であると考えられ、他法と同等のスクリーニング精度であると考えられた。特に、HIS IIは従来試薬に比べNS3領域を改良し反応性の向上を図った試薬であるが、INNO-LIAの結果からもNS3に対する感度の向上が確認された。

5. 結語

HISCL HCVAb II 試薬の基礎的性能評価を行ったところ、良好な結果が得られた。また、他法との比較検討により、HISCL HCVAb II 試薬よりも感度が向上していること、他法と同等のスクリーニング性能であることが示唆されたことから、日常診療への活用に有効な試薬であると考えられた。しかしながら、検討試薬間の結果不一致から抗体検査のみでは判断不可能な症例もあったことから、検査技師は自施設の試薬の特性を十分に理解して使用する必要がある。結果の判断に困った際、治療判定目的など検査の依頼目的によってはHCV-RNA検査の追加を依頼するなど、多角的な検討の上で判断することが重要であると考ええる。

HISCL HCVAb II 試薬は基礎的検討結果も良好であり、従来試薬に比べNS3に対する感度の向上が認められ日常検査におけるさらなる有用性が確認できた。

本論文の内容は、日本医療検査科学会第52回大会にて発表した。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) 日本肝臓学会 肝炎診療ガイドライン作成委員会. C型肝炎治療ガイドライン (第8版). 日本肝臓学会; 2020年7月
- 2) 日本肝臓学会, 慢性肝炎・肝硬変の診療ガイド2020, 日本肝臓学会, 文光堂; 東京, 2020 Hepatol Res 2021;51:725-749
- 3) 小林葉子, 友田雅己, 三浦ひとみほか. HCV抗体スクリーニング検査試薬の性能評価. 臨床病理. 2017;65:147-152.
- 4) 佐藤達郎, 照屋治, 橋本洋ほか. HCV抗体測定試薬の現状と問題点—日臨技データ共有化精度管理資料 Accurun-Infectrolでの評価を発端として—. JJ-CLA. 2014;39:341-348.

ADVIA CentaurによるLPS結合蛋白 (LBP) 測定の 関節リウマチ患者血清を用いた基礎的検討

Fundamental Evaluation of LPS Binding Protein (LBP) Measurement by ADVIA Centaur using Sera from Rheumatoid Arthritis Patients

石田秀和¹⁾²⁾ 竹村正男³⁾ 佐藤正夫⁴⁾ 藤垣英嗣¹⁾
山本康子¹⁾ 伊藤弘康⁵⁾ 齋藤邦明¹⁾³⁾

要旨 LPS結合蛋白 (LBP) はLPSを単球に提示するなど、前炎症段階における初期免疫に関与する。今回我々は化学発光免疫測定装置へ搭載可能な新規LBP測定試薬の基本性能評価を行った。再現性は4%未満であり、共存物質の影響を受けないこと、良好な希釈直線性を有することが確認された。健常対照群のLBP値はELISA法やLA法の既報よりも高値であった。また、RA患者において健常対照群よりも有意に高値であった。本試薬は良好な基本性能を有しており新たな炎症関連マーカーとしての活用が期待される。

Key words LPS binding protein, ADVIA Centaur, chemical luminescence immunoassay, rheumatoid arthritis

1. はじめに

グラム陰性菌の外膜を構成しているLPS(lipopolysaccharide)は自然免疫において初期炎症のトリガーとして免疫応答を誘導する。さらに細胞刺激過程では血液中のLPS結合蛋白 (LPS-binding protein:LBP) との複合体が形成され¹⁾、細胞膜上のCD14と結合することにより、細胞内に情報伝達がされる²⁾。この結果、マクロファージをはじめ種々の細胞より炎症性サイトカイン産生が誘導されると考えられている³⁾。代表的な炎症性サイトカインであるIL-6は多機能的な作用の一つとして肝細胞への刺激で急性期反

応性タンパク (CRP, α 1-AT, Hp, Fibなど) 合成が誘導されることから、現在では炎症指標として臨床検査に用いられている⁴⁾。また、敗血症などの急性感染症の診断や重症度の指標としてプロカルシトニンやプレセプシンの測定が臨床検査として行われているが、LBPは主に自然免疫機構の初期反応時に必要な分子の一つと考えられており⁵⁾、感染症などの炎症マーカーとして潜在的なポテンシャルがあるものと推測されている。一方、Heummnら⁶⁾は関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA) と反応性関節炎の比較においてLBPの有用性について報告しているが、RIA法による測定であったため

Received Jul. 6, 2021; Accepted Sep. 24, 2021
Hidekazu ISHIDA¹⁾²⁾, Masao TAKEMURA³⁾, Masao S A T O⁴⁾, Hidetsugu F U J I G A K I¹⁾, Yasuko YAMAMOTO¹⁾, Hiroyasu ITO⁵⁾, Kuniaki SAITO¹⁾³⁾

¹⁾ 藤田医科大学大学院 保健学研究科 病態制御解析学部門

²⁾ 藤田医科大学病院 臨床検査部

³⁾ 藤田医科大学大学院 保健学研究科 先進診断システム探索部門

⁴⁾ 海津市医師会病院整形外科・リウマチ科

⁵⁾ 藤田医科大学医学部臨床検査科

¹⁾ Department of Disease Control and Prevention, Fujita Health University Graduate School of Health Sciences.

²⁾ Department of Clinical Laboratory, Fujita Health University Hospital.

³⁾ Advanced Diagnostic System Research Laboratory, Fujita Health University, Graduate School of Health Sciences.

⁴⁾ Department of Orthopedics and Rheumatology, Kaizu City Medical Association Hospital

⁵⁾ Department of Joint Research Laboratory of Clinical Medicine, Fujita Health University School of Medicine 〒471-1192 愛知県豊明市杻掛町田楽ヶ窪1-98

1-98 Dengakekubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi, 470-1192, Japan.

Corresponding author : 石田秀和

TEL : 0562-93-2000 (代表)

E-Mail : hidekazu.ishida@fujita-hu.ac.jp

般検査室への普及には至らなかった。

今回我々は一般的な検査室に設置可能なシーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社の全自動免疫化学発光測定装置ADVIA Centaurシリーズ用に新たに開発されたLBP測定試薬「シーメンスLBP」の基本性能評価ならびに健常者とRA患者における血清LBP値の比較を行ったので、その結果について報告する。

2. 対象と方法

対象検体はリウマチ専門外来において1987年のACR診断基準を満たしRAと診断され、すでにDMARDs (disease modifying anti-rheumatic drugs) 加療中の31歳～76歳 (平均 61.1 ± 10.2 歳) の患者 (同意書確認済み) 33例 (男性=6例, 女性=27例) を無作為に抽出した。また、肝機能及び腎機能検査に異常値がない35歳～64歳 (平均 51.4 ± 8.1 歳) の健常者30例 (男性=10例, 女性=20例) を健常対照群とした。基本性能評価 (再現性, 希釈試験, 共存物質の影響) には前述のRA患者検体から作製したプール血清を用いた。

検討試薬は「シーメンスLBP」とし、測定装置はADVIA Centaur XPTを使用した。

なお、本研究は岐阜大学医学部倫理委員会の承認を受けている。(承認番号2017-17)

3. 測定原理

今回検討を行った試薬の測定原理はシーメンス社の化学発光測定装置Centaur系に用いられている磁性鉄粒子とアクリジニウムエステル標識抗体を応用した抗原抗体

反応である。すなわち血清20 μ Lと専用緩衝液465 μ Lで前希釈が行われ、希釈検体20 μ Lと磁性鉄粒子にターゲットとなるLBPモノクローナル抗体を固相した試薬をキュベットに添加し、2分30秒分反応させる。さらにアクリジニウムエステル標識抗LBPモノクローナル抗体を100 μ L添加し5分間反応させる。反応後、専用洗浄液にて洗浄操作によりB/F分離を行う。酸化剤および酸化補助剤 (NaOH, NH₃) で発光させ、その発光量からLBP濃度を検量線より計測する。ワンステップサンドイッチ法で、この一連の工程はすべて全自動で行われ約15分で最初の結果がアウトプットされる (Fig. 1)。

4. 結果

1) 再現性

2種類の異なる患者プール血清について日内変動 (N=20) を確認した。測定値はMean \pm SD (μ g/mL) で検体1 6.8 ± 0.22 , 検体2 56.6 ± 0.35 , CV%はそれぞれ, 3.3, 2.8であった。

また、日差変動の再現性について7日間の測定時毎に検量線を作成して検討を行った。

検体1 ($6.4 \pm 0.24 \mu$ g/mL) はCV%=3.7, 検体2 ($59.3 \pm 1.76 \mu$ g/mL) はCV%=3.0であった (Table 1)。本試薬でのLBP測定に関し再現性においては大きな変化を認めなかった。

2) 希釈試験

2種類の異なる患者プール血清について原血清から専用希釈液で2倍希釈を繰り返し調製した検体を測定した結果、期待値 (実線) から大きく外れる値は認められな

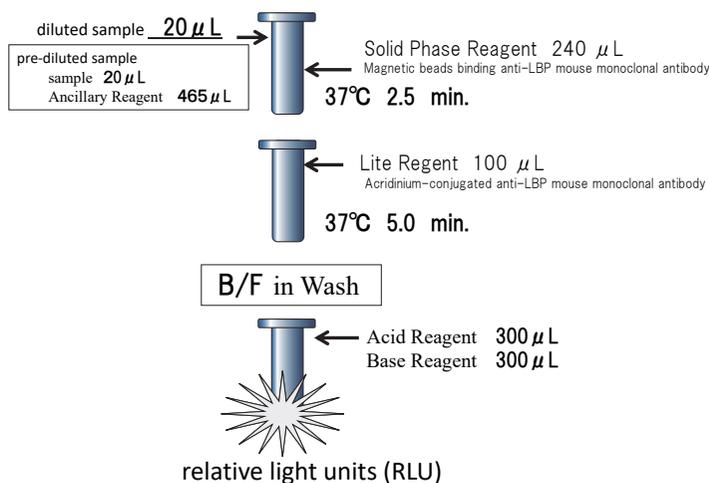


Fig. 1 LBP measurement method by ADVIA Centaur XPT

かった (Fig. 2)。

3) 共存物質の影響

2種類の患者プール血清についてビリルビンF, ビリルビンC, ヘモグロビン, 乳ビの影響について干渉チェック・Aプラス (シスメックス株式会社) を用いて検討を行った。共存物質の各濃度に対して添加した血清測定値は, 反応に大きく影響を及ぼす変化は認められなかった (Fig. 3)。

4) 健常者およびRA患者におけるLBP測定値

健常対照群におけるLBP (Mean ± SD) は全体で3.2 ± 1.10 μg/mLであり, 性差としては男性2.9 ± 1.16 μg/

mL, 女性3.4 ± 1.01 μg/mLで男女間には統計学的な差は認めなかった (Fig. 4)。また, DMARDs治療中のRA患者33例 (31歳~76歳, 平均61.1 ± 10.2歳) のLBP測定値は10.7 ± 5.00 μg/mLであり, 健常対照群 (3.2 ± 1.10 μg/mL) に比べ有意に高値であった (p<0.001) (Fig. 5)。また, 健常対照群と同様にRA患者群においても男女間における有意差を認めなかった (p = 0.46)。

5. 考 察

外来性の非自己と認識される様々なタンパク質やペプチド分子は異物として自然免疫機構あるいは獲得免疫機

Table 1 Examination of LBP reproducibility by ADVIA

Within-run	N=20	Sample 1	Sample 2
Mean (ng/mL)		6.8	56.6
S.D		0.22	0.35
C.V (%)		3.3	2.8

Between-day	N=7	Sample 1	Sample 2
Mean (μg/mL)		6.4	59.3
S.D		0.24	1.76
C.V (%)		3.7	3.0

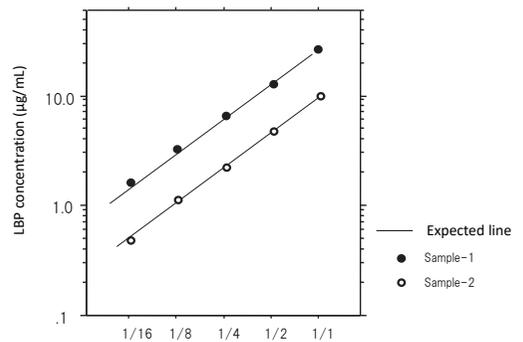


Fig. 2 Dilution measurement test

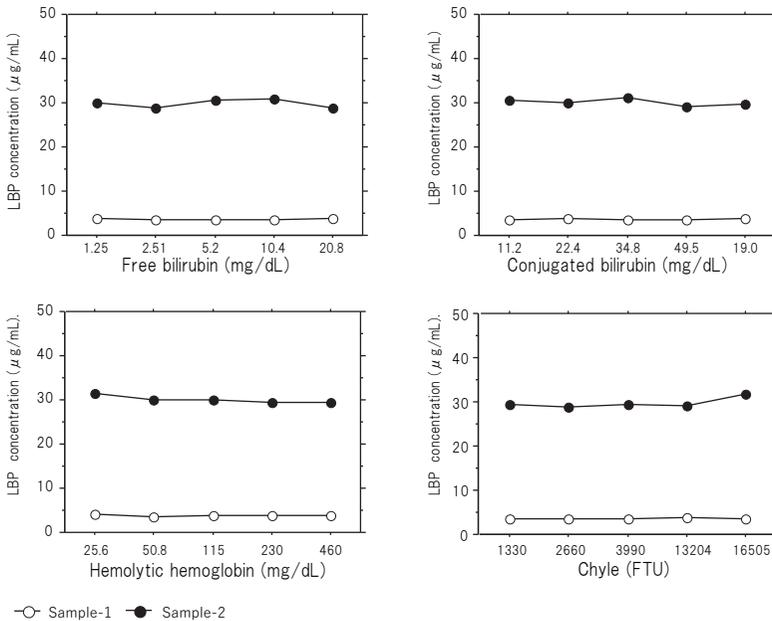


Fig. 3 Effects of various coexisting substances

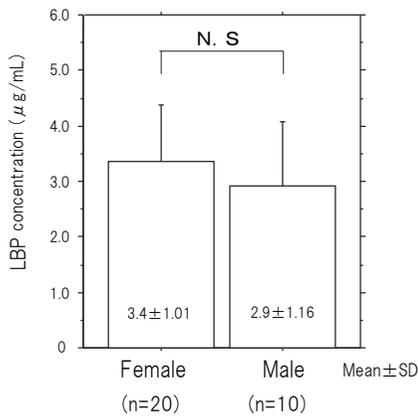


Fig. 4 LBP measurement values for healthy male and female

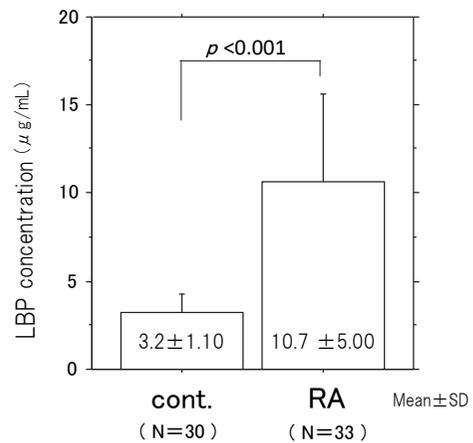


Fig. 5 LBP measurement value between patients with rheumatoid arthritis and healthy subjects

構により捕捉され関連細胞が惹起される。特にグラム陰性菌の外膜を構成するLPSは単球・マクロファージを刺激し生体防御に必要な体制を構築するために必要な種々のサイトカインを分泌する^{7,8)}。近年、プロカルシトニンやプレセプシンが敗血症などの急性感染症の指標として臨床応用されているが⁹⁻¹³⁾、LBPはLPSをCD14などの細胞表面受容体に提示する役割を担っていることから、プレセプシンやプロカルシトニンに先行して上昇することが推測されている⁵⁾。しかしながら、敗血症患者の中でもLBP値の上昇例と血中エンドトキシン値との間には相関がみられない症例も存在していることや¹⁴⁾、メタ解析により感度・特異度ともに0.6程度であることが示されており¹⁵⁾、LBPの敗血症マーカーとしての活用については今後の詳細な検討が必要と考えられる。一方、LBPはアディポカインの一つであることが示されており¹⁶⁾、心疾患やメタボリックシンドロームなどで上昇することや全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome: SIRS)¹⁷⁾、川崎病¹⁸⁾においてLBPの上昇がCRPやIL-6などの変動と相関することが報告されている。また、RA患者においては血清や滑液中のLBPがCRPやIL6と相関し、活動性と関係することが報告されている^{6),19)}。

今回我々は全自動化学発光測定装置検ADVIA Centaur XPTによるLBP測定試薬の基本性能評価を行った。その結果、再現性について大きなバラツキは認められず、希釈直線性についても良好であり、共存物質の影響も確認されなかったことから、本試薬は良好な基本性能を有することが推察される。健常対照群においてLBP測定値に性差は認められなかったが、ラテックス凝

集比濁 (Latex agglutination turbidimetry: LA) 法¹⁷⁾を用いた既報では健常者 $4.5 \pm 1.2 \mu\text{g/mL}$ と、本法健常対照群の測定値に比較してやや高値であった。また、ELISA法¹⁵⁾による報告 (n=13性別不明) では $11.6 \pm 1.8 \mu\text{g/mL}$ と報告されており、本法に比較し約3倍以上高値である。LBP測定値に関しては標準化が必要であることが考えられる。RAと健常対照群における血清LBP値の比較では既報と同様にRA群で有意に高値であった^{6),19)}。リウマトイド因子 (RF) の高値群および低値群を比較したプロテオミクス解析においてはRF高値群でLBPが2倍以上高値であることが報告されており²⁰⁾、RAにおける有効な診断バイオマーカーのひとつとなり得ることが示唆されている²¹⁾。また、RA患者におけるLBP値は変形性膝関節症や全身性エリテマトーデス患者に比較し有意に高値であり、赤血球沈降速度やCRP、圧痛関節数、腫脹関節数などのRA疾患活動パラメータと有意に相関することが報告されている¹⁹⁾。本検討においても、健常対照群に比較しRA患者群においてLBPが有意に高値であり既報と同様の結果を得られたことから、RAにおける診断バイオマーカーとしての可能性が示唆された。しかしながら、本検討では疾患活動性や治療効果との関係については確認しておらず、LBPのRAにおける疾患活動性バイオマーカーとして可能性についてはさらなる検討が必要と考える。

6. 結 論

今回、新たに開発されたLBP測定試薬は良好な基本性能を有しており、使用血清量も $20\mu\text{L}$ と微量で、測定

時間は15分と迅速に測定可能であることから緊急検査としても評価できる。本検討においてRAにおける診断バイオマーカーとなる可能性が示唆されたが、臨床的評価を行うにあたり、異なる測定系におけるデータの統一化が課題となることが考えられる。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, et al. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990;249:1431-1433.
- 2) 北本直美, 山崎将司. 自己免疫疾患における Toll-like receptor 4 の役割. *日本薬理学雑誌* 2014;144:167-171.
- 3) Gally P, Barras C, Tobias PS, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein in human serum determines the tumor necrosis factor response of monocytes to LPS. *J Infect Dis* 1994;170:1319-1322.
- 4) Mackiewicz A, Speroff T, Ganapathi MK, et al. Effects of cytokine combinations on acute phase protein production in two human hepatoma cell lines. *J Immunol* 1991;146:3032-3037.
- 5) Ryu JK, Kim SJ, Rah SH, et al. Reconstruction of LPS Transfer Cascade Reveals Structural Determinants within LBP, CD14, and TLR4-MD2 for Efficient LPS Recognition and Transfer. *Immunity* 2017;46:38-50.
- 6) Heumann D, Bas S, Gally P, et al. Lipopolysaccharide binding protein as a marker of inflammation in synovial fluid of patients with arthritis: correlation with interleukin 6 and C-reactive protein. *J Rheumatol* 1995;22:1224-1229.
- 7) 西島正弘. マクロファージのリポ多糖受容体. *医学のあゆみ* 1995;175:385-388.
- 8) 稲田捷也, 遠藤重厚. エンドトキシンの疾患における役割. *日集中医誌* 1999;6:337-345.
- 9) 日本集中治療医学会・日本救急医学会. 日本版敗血症診療ガイドライン2020. *日集中医誌* 2020;28.
- 10) 遠藤重厚. 新規に保険収載された検査法 敗血症診断マーカーとしてのプレセプシンの意義. *Modern Media* 2014;60:199-305.
- 11) 倉田季代子, 数寄泰介, 清水久実, et al. 呼吸器感染症の診断における血清プロカルシトニン定量の有用性. *日呼吸会誌* 2010;48:654-660.
- 12) 遠藤重厚, 八重樫泰法, 佐藤信博ほか. 敗血症における可溶性CD14と可溶性CD14サブタイプの比較検討. *Medical Postgraduates* 2006;44:381-385.
- 13) 石田秀和, 宮崎崇, 鍋谷洋介ほか. ケミルミ ADVIA Centaur XPによるプロカルシトニン測定試薬「ケミルミBRAHMSプロカルシトニン」の基礎的検討. *医学と薬学* 2012;68:519-528.
- 14) Opal SM, Scannon PJ, Vincent JL, et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J Infect Dis* 1999;180:1584-1589.
- 15) Chen KF, Chaou CH, Jiang JY, et al. Diagnostic Accuracy of Lipopolysaccharide-Binding Protein as Biomarker for Sepsis in Adult Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2016;11:e0153188.
- 16) Nakarai H, Yamashita A, Nagayasu S, et al. Adipocyte-macrophage interaction may mediate LPS-induced low-grade inflammation: potential link with metabolic complications. *Innate Immun* 2012;18:164-170.
- 17) 柴田泰史, 小池薫, 野本剛史ほか. 全身性炎症反応症候群における血清lipopolysaccharide-binding protein濃度の検討. *日救急医学会誌* 2000;11:291-292.
- 18) Kimura Y, Yanagimachi M, Ino Y, et al. Identification of candidate diagnostic serum biomarkers for Kawasaki disease using proteomic analysis. *Sci Rep* 2017;7:43732.
- 19) Wen W, Li Y, Cheng Y, et al. Lipopolysaccharide-binding protein is a sensitive disease activity biomarker for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2018;36:233-240.
- 20) Kim D, Mun S, Lee J, et al. Proteomics analysis reveals differential pattern of widespread protein expression and novel role of histidine-rich glycoprotein and lipopolysaccharide-binding protein in rheumatoid arthritis. *Int J Biol Macromol* 2018;109:704-710.
- 21) Lee J, Mun S, Kim D, et al. Proteomics Analysis for Verification of Rheumatoid Arthritis Biomarker Candidates Using Multiple Reaction Monitoring. *Proteomics Clin Appl* 2019;13:e1800011.

自動化学発光酵素免疫分析装置 Accuraseed を用いた 「アキュラシード アルドステロン・S」の性能評価

Evaluation of Accuraseed Aldosterone·S, a reagent for measuring aldosterone, with automated chemiluminescent enzyme immunoanalyzer Accuraseed

酒井昭子¹⁾ 藏藤利暢¹⁾ 野口昌代¹⁾ 大野明美¹⁾
横田浩充¹⁾ 菊池春人^{2),3)} 村田 満²⁾

要旨 今回、認証標準物質である「アルドステロン分析用ヒト血清 (NMIJ CRM 6402)」を較正用標準物質として開発された「アキュラシード アルドステロン・S」の性能評価を行った。基礎的性能は良好な結果であったが、LC-MS/MS相当値の本試薬の測定値はRIA相当値の試薬の測定値とは異なった。そのためRIAにより設定された原発性アルドステロン症 (PA) の臨床判断値が使用できなくなることが示唆された。臨床での混乱を避けるため、日常検査に導入する場合は各施設に合わせた運用が必要であると考えられる。今後、標準化されたLC-MS/MS相当値の試薬についてPAの臨床判断値の設定が求められる。

Key words Chemiluminescence Enzyme Immunoassay, Accuraseed, Aldosterone, Standardization

1. はじめに

アルドステロンは分子量約360、副腎皮質球状層で産生・分泌される代表的な鉱質コルチコイドである。アルドステロンの分泌は、レニン・アンジオテンシン系、ACTH、血中カリウム濃度によって調整されており、電解質の恒常性、循環血液量、血圧の維持に重要な役割を果たしている。アルドステロン濃度の測定は高血圧をきたす代表的な内分泌疾患である原発性アルドステロン症 (PA) の診断に必須の検査であり、PAの臨床判断値 (診断基準) に用いられている。アルドステロン濃度の測定は放射免疫測定法 (RIA) で行われてきたが、現在は non-RIA である化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) が開発され院内で検査することが可能となり、外来でスク

リーニング検査の結果を即時報告可能となっている。

アキュラシード アルドステロン (富士フィルム和光純薬株式会社) はCLEIA (競合法) を測定原理とし、RIA と同等の値が得られるように製造された測定試薬であるが、測定下限や再現性が良好でないなどの課題がある¹⁾。臨床検体を測定するアルドステロン測定試薬はRIA およびCLEIAなどのキットが認証されているが、これらの測定法に共通に用いることができる実用的な標準物質がなかった。そのため、日本内分泌学会より日常臨床におけるアルドステロン測定の標準化を目的として、2016年にID-LC-MS/MSで認証値を決定した「アルドステロン分析用ヒト血清 (NMIJ CRM 6402)」が設定された。その結果、アルドステロン濃度の測定について計量学的トレーサビリティが整備され臨床検体の測定

Received Jul. 5, 2021; Accepted Sep. 30, 2021
Akiko Sakai¹⁾, Toshinobu Kurafuji¹⁾, Masayo Noguchi¹⁾, Akemi Ohno¹⁾, Hiromitsu Yokota¹⁾, Haruhito Kikuchi^{2),3)}, Mitsuru Murata²⁾,

¹⁾ 慶應義塾大学病院 臨床検査科

²⁾ 慶應義塾大学医学部臨床検査医学

³⁾ 済生会横浜市東部病院 臨床検査科

^{1),2)} 〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

³⁾ 〒230-8765 神奈川県横浜市鶴見区下末吉3-6-1

¹⁾ Clinical Laboratories, Keio University Hospital

²⁾ Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, Keio University

35, Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo, 160-8582 Japan

³⁾ Department of Clinical Laboratory, Saiseikai Yokohamashi Tobu Hospital

6-1 Shimosueyoshi, 3-Chome, Tsurumi-ku, Yokohama-City, Kanagawa-City, 230-8765 Japan

Corresponding author: 酒井昭子

TEL: 03-5363-3504

E-mail: akiko.sakai@adst.keio.ac.jp

値はSIにトレーサブルな測定値が得られるようになった。すなわち本認証標準物質を指定比較対照法としたLC-MS/MSおよびCLEIAの測定試薬の校正に用いることにより、複数の試薬間による患者検体測定値の妥当性の評価をLC-MS/MS値に対して行うことや、試薬間の測定値の互換性の確認なども標準化することが可能となった。

このような背景を踏まえ、再現性の向上、測定範囲の拡大を目的に認証標準物質「アルドステロン分析用ヒト血清 (NMIJ CRM 6402)」を較正用標準物質とし、サンドイッチ法を原理とした「アキュラシード アルドステロン・S」が開発されたため、性能評価を行った。

2. 対象および方法

1) 対象

当院にてアルドステロンの測定を実施した患者の残余血漿を匿名化して使用した。

なお、本検討は富士フィルム和光純薬株式会社との共同研究で行い、慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認（承認番号：20190185）を経て実施した。

2) 測定試薬・機器

現行試薬は「アキュラシード アルドステロン」(以下；現行試薬)、検討試薬は「アキュラシード アルドステロン・S」(以下；検討試薬)(以上、全て富士フィルム和光純薬株式会社)を用い、自動化学発光酵素免疫分析装置 Accuraseed (富士フィルム和光純薬株式会社)で測定した。試薬の概要を Table 1 に示した。

3) 測定原理

(1) 現行試薬 (1ステップ競合法)

抗マウスIgGポリクローナル抗体(ヤギ)結合粒子、抗アルドステロンモノクローナル抗体(マウス)、ペルオキシダーゼ標識アルドステロンを用いた1ステップ競合法である。

第一反応で抗マウスIgGポリクローナル抗体(ヤギ)結合粒子に抗アルドステロンモノクローナル抗体(マウス)と検体中のアルドステロンを反応させ、第二反応と

してペルオキシダーゼ標識アルドステロンを競合的に反応させる。B/F分離後、基質液と過酸化水素液を添加すると、抗体結合粒子に結合した酵素の量は検体中のアルドステロン量と反比例するため、発光量を測定することでアルドステロン濃度を求める。

(2) 検討試薬 (2ステップサンドイッチ法)

抗アルドステロンモノクローナル抗体(マウス)結合粒子、ペルオキシダーゼ標識抗アルドステロン免疫複合体モノクローナル抗体(ラット)を用いた2ステップサンドイッチ法である。

第一反応で抗アルドステロンモノクローナル抗体(マウス)結合粒子と、検体中のアルドステロンを反応させ、B/F分離後、ペルオキシダーゼ標識抗アルドステロン免疫複合体モノクローナル抗体(ラット)を反応させることで、「抗体結合粒子-アルドステロン-酵素標識抗体」の複合体が形成される。2回目のB/F分離後、基質液と過酸化水素液を添加すると、抗体結合粒子に結合した酵素の量は検体中のアルドステロン量と比例するため、発光量を測定することでアルドステロン濃度を求める。

4) 基準法

現行試薬との基準法であるRIAとの相関性は、「スパック-Sアルドステロンキット」(競合法；富士レビオ株式会社)、検討試薬の指定比較対照法であるLC-MS/MSとの相関性は株式会社あすか製薬メディカルに委託し検査を実施した。

5) 結果の解析

測定結果は「日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会バリデーションサポート処理プログラム(Validation-Support-V418_2020.03.17)」を利用して検証した。

3. 方法

1) 併行精度

プール血漿3濃度について、それぞれ20回同時測定を行った。

2) 直線性

濃度の異なる3種類の血漿について、専用希釈液を用いてそれぞれ5段階希釈後3重測定し、直線性について確認した。

3) 検出限界 (LOD)、定量限界 (LOQ)

LODは専用希釈液を盲検試料として5日間10重測定を行い、LOB(ブランク上限)を求めた後、7濃度の低濃度調製試料を作製し、作製後測定日まで-80℃にて保存した。これらの試料について5日間2重測定を行い、合成標準偏差を求め $LOD = LOB + 合成標準偏差 \times$

Table 1 The outline of reagents

	現行試薬	検討試薬
試薬名	アキュラシード アルドステロン	アキュラシード アルドステロン・S
測定原理	CLEIA 1ステップ競合法	CLEIA 2ステップサンドイッチ法
校正用の基準物質	社内基準品	NMIJ CRM 6402
相関対象	RIA	LC-MS/MS
測定範囲 (pg/mL)	50~1600	4~3200
検体量 (μL)	35	25

1.645の式から算出した。LOQはPrecision Profile法で算出し、CV = 20%となる濃度をLOQとした。

4) 現行試薬と検討試薬の相関性

当院でアルドステロン検査の依頼があった患者検体100件について、日常検査測定終了後の室温保存の血漿を、測定前に再遠心を行い現行試薬と検討試薬で測定し、相関性を確認した。

5) 検討試薬とRIAとの相関性

4) の相関性で使用した患者検体100件について、RIAとの相関性を確認した。

6) 検討試薬とLC-MS/MSとの相関性

4) の相関性で使用した患者検体の15件についてLC-MS/MSとの相関性を確認した。

4. 結果

1) 併行精度

プール血漿3濃度のCV (%) は1.7~2.6 %であり、いずれの濃度も5.0 %以内であった (Table 2)。

2) 直線性

いずれの濃度においても原点を通る直線性を示し、2590 pg/mLまでの直線性を確認できた (Fig. 1)。

3) 検出限界 (LOD), 定量限界 (LOQ)

(1) 検出限界 (LOD)

LOBは0.30 pg/mL, 合成標準偏差は0.55 pg/mLであり, LODはノンパラメトリック法で1.2 pg/mLであった。

(2) 定量限界 (LOQ)

Precision Profileを作成したところ $y = 0.198 x^{-0.547}$ となりCV20%から求めたLOQは1.0 pg/mLであった。

(Fig. 2)

4) 現行試薬と検討試薬との相関性

現行試薬をx, 検討試薬をyとしたときの患者検体の相関性は, n=100, 標準主軸回帰式 $y = 0.69x - 55.5$, 相関係数 $r = 0.950$ であり, 回帰式の傾きが0.69と現行試薬と比較し検討試薬は測定値が低値であった (Fig. 3)。また, 回帰式から大きく外れる検体が散見された。その中で回帰直線からの距離が最も大きかった7件 (Fig. 3 グラフ中の①~⑦) についてRIAとLC-MS/MSで測定を行った (Table 3)。

5) 検討試薬とRIAとの相関性

RIAをx, 検討試薬をyとしたときの患者検体の相関性は, n = 100, 標準主軸回帰式 $y = 0.82 x - 50.7$, $r = 0.987$ であり, 回帰式の傾きが0.82とRIAと比較し検討試薬は測定値が低値であった (Fig. 4)。

6) LC-MS/MSとの相関性

LC-MS/MSをx, 検討試薬をyとしたときの患者検体の相関性は, n = 15, 標準主軸回帰式 $y = 0.98 x - 0.20$, $r = 0.998$ と良好な相関性を認めた (Fig. 5)。

Table 2 Repeatability

	(n=20)		
	plasma1	plasma2	plasma3
Mean(pg/mL)	69.2	500.7	2646.8
SD(pg/mL)	1.82	8.52	65.57
CV(%)	2.6	1.7	2.5

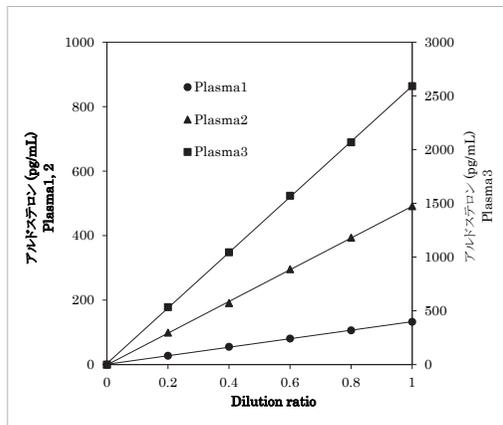


Fig. 1 Dilution linearity

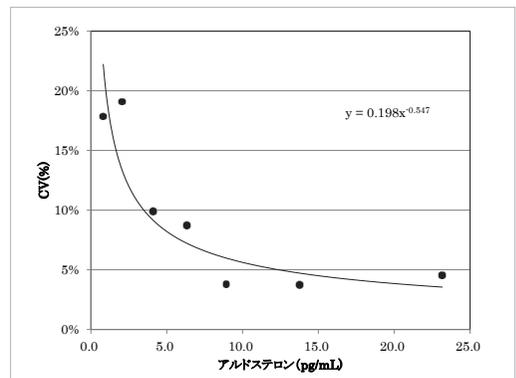


Fig. 2 Limit of quantitation

CRM 6402)」を較正用標準物質としてサンドイッチ法を原理とした「アキュラシード アルドステロン・S」が開発されたため基礎性能の評価を行った。

再現性、直線性は良好な結果が得られ、日常検査に用いるに十分な性能を有すると考えられた。現在、日常検査で使用している現行試薬は再現性が不良であり、松村ら¹⁾の検討結果では精度管理試料ではCVが3.6~4.5%と良好であったが、プール血漿においてはCVが10.3%と再現性が不良であった。また、当院での院内導入時検討結果（未発表データ）においてもプール血漿、血清ではCVが大きく、特に200 pg/mL以下の検体ではCV10%、100pg/mL以下の検体ではCV 20%を超える結果であった。そのため、当院では再現性不良の対応として全ての検体で2重以上の測定を行い、測定値が乖離した場合は追加で測定を行って報告している。検討試薬ではプール血漿のCVは5%以内と再現性は良好で再測定への減少が期待されると考えられる。

Table 3 List of samples in which deviation was observed by correlation

検体No.	現行試薬	検討試薬	(pg/mL)	
			RIA	LC-MS/MS
1	518.9	21.6	49.2	19.6
2	321.4	24.4	133.0	25.7
3	279.7	33.4	76.1	33.5
4	486.6	183.1	284.0	191.9
5	854.4	357.4	625.0	375.8
6	477.8	353.0	417.0	361.6
7	849.3	707.3	1010.0	659.0

検出限界と定量限界についてはLOD 1.2 pg/mL, LOQ 1.0 pg/mLでLOD > LOQであったため実際上はLOQ = LODとなるが、今回の検討結果はメーカーの測定下限の4.0 pg/mLは十分満たしており、現行試薬の報告下限50 pg/mLに比べ大きく測定感度が向上していると考えられる。

現行試薬と検討試薬の相関性については、現行試薬と比較し、検討試薬で測定値が低値であった。この原因については現行試薬と検討試薬の標準物質の違いによる値付けの差である。現行試薬はRIAと同等の測定値が得

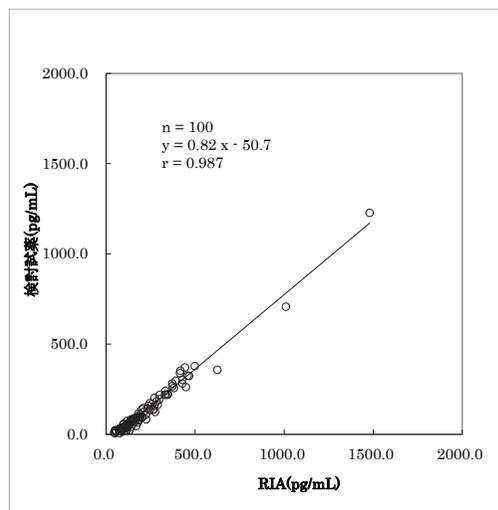


Fig. 4 Correlation with RIA

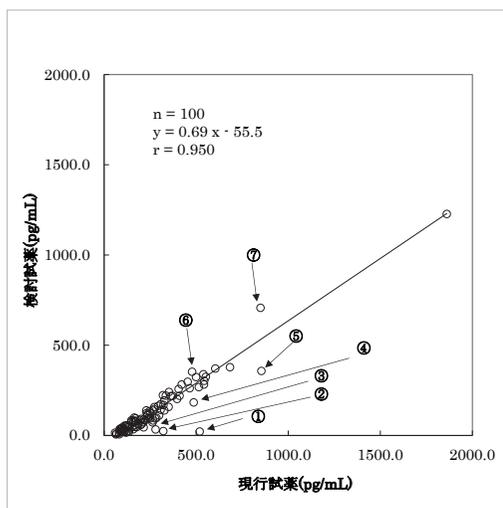


Fig. 3 Correlation

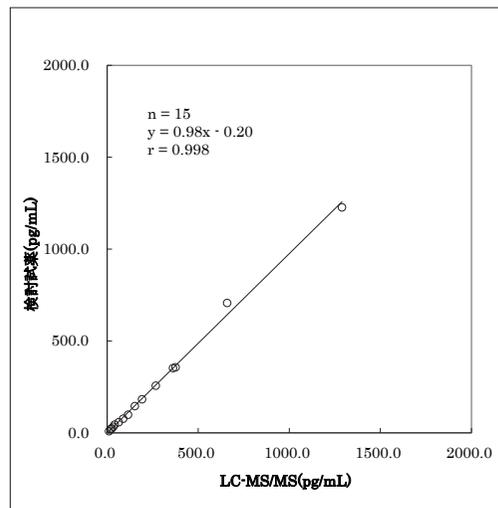


Fig. 5 Correlation with LC-MS/MS

られるように製造された試薬である。一方、検討試薬は日本内分泌学会「日常臨床におけるアルドステロン測定標準化に関する運用指針（第2版）」²⁾に基づき「アルドステロン分析用ヒト血清（NMIJ CRM 6402）」を較正用標準物質とし、LC-MS/MSとの相関が確保された試薬として開発された。今回の検討試薬とLC-MS/MSとの相関性の結果から良好な相関が得られており、LC-MS/MSと測定値が一致していることが確認できた。

現行試薬は再現性不良の他に、非特異反応が起きやすい試薬である。実際、日常検体でも非特異物質において、測定値の再現性が不良となることや偽高値となる経験をしている。今回の検討においても相関性で回帰式から大きく外れる検体が散見され、これらの検体のうちRIAとLC-MS/MSで確認を行った検体ではLC-MS/MSを基準とすると偽高値として測定されていた。現行試薬では異好性抗体によって偽高値となることが知られており、これが1つの原因と考えられた。それ以外には1ステップ競合法から2ステップサンドイッチ法に変更されたことによってアルドステロンへの特異性が向上した可能性も考えられたが、回帰式から外れた検体での非特異物質の解析は実施できず、原因は特定できていない。

アルドステロン濃度測定は、国際的には化学的量論に精確さを有する測定値を求める必要性が高まっているため、質量分析法であるLC-MS/MS測定を基準として日常検査法の評価に用いる方向となっている。2021年3月31日に日本内分泌学会より「日常臨床におけるアルドステロン測定標準化に関する運用指針（第3版）」³⁾が提示され、今後は国際化の観点から標準化されたLC-MS/MS相当値の試薬を使用するのが望ましいとされている。さらに2021年8月23日に日本内分泌学会は「原発性アルドステロン症診療ガイドライン2021（簡略版）」⁴⁾を公開し、PAのスクリーニングに使用する臨床判断値（診断基準）についてLC-MS/MSにはほぼ相当するCLEIAによる標準化試薬での基準を設定したので、検討試薬を日常検査で導入する場合は、この臨床判断値を使用することになる。しかし、同ガイドラインでは「CLEIA法による最適カットオフ値が確立するまでは、RIA法を用いた場合とCLEIA法を用いた場合のカットオフ値の間を境界域として設定し、暫定的に陽性とする

と共に、患者ニーズと臨床所見を考慮して、個別に検査・治療方針を判断する。」と記載しており、標準化試薬でのデータが集まり至適な臨床判断値が設定されるまでは、検討試薬の測定値よりメーカーが設定したRIA換算式で算出したRIA換算値を参考値として合わせて報告するなど、各施設に合わせた運用が必要であると考えられる。

6. 結論

「アキュラシード アルドステロン・S」は、基礎的性能について良好な結果が得られた。現行試薬に比べ、精密さ・定量限界が格段に向上され、指定比較対照法であるLC-MS/MSと測定値が一致している試薬であることが確認された。今後、日本内分泌学会の指針を注視するとともに、臨床での混乱を避けるため、施設内で該当診療科と相談し院内導入時の運用について考えていく必要がある。

本論文の発表に関連して、筆頭著者および責任著者に本学会の開示基準において開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) 松村充子, 伊東裕之, 嶋田昌司ほか. 化学発光酵素免疫測定法を用いた活性レニン濃度およびアルドステロン濃度測定の性能評価. 日本臨床検査自動化学会会誌2019;44:47-53
- 2) 日常臨床におけるアルドステロン測定標準化に関する運用指針（第2版）日本内分泌学会アルドステロン測定の標準化検討委員会 最終更新日:2020年2月18日 http://www.j-endo.jp/modules/news/index.php?content_id=55（2021年6月8日確認）
- 3) 日常臨床におけるアルドステロン測定標準化に関する運用指針（第3版）日本内分泌学会アルドステロン測定の標準化検討委員会 最終更新日:2021年3月31日 http://www.j-endo.jp/modules/news/index.php?content_id=113（2021年6月8日確認）
- 4) 日本内分泌学会. 臨床重要課題「原発性アルドステロン症診療ガイドライン2021（簡易版）」

全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i50によるAFP, AFP-L3およびPIVKA-II測定試薬の基本性能評価

Evaluation of the reagent for measurement of AFP, AFP-L3 and PIVKA-II by auto-fluorescent immunoassay analyzer μ TAS wako i50

家原暉恵¹⁾ 畑 伸顕¹⁾ 糸賀仁美¹⁾ 山脇一恋¹⁾ 前田育宏¹⁾ 日高 洋²⁾

要旨 全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i50は、マイクロチップ上の微細流路において、電気泳動を駆使しながら抗原抗体反応やB/F分離、検出に至るまでの一連の操作を可能とした、高度なmicro-total analysis system (μ -TAS) 技術を用いた先端の免疫測定装置である。その測定試薬であるミュータスワコー AFP-L3・i50、ミュータスワコー PIVKA II・i50について基本性能を評価したところ、臨床上の有用性が確認された。

Key words AFP, AFP-L3, PIVKA-II, μ TAS i50

1. はじめに

当院検査部では全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i30 (富士フイルム和光純薬株式会社) を用い、AFP-L3分画の日常検査を行っている。本測定装置は、マイクロチップ電気泳動を用いたイムノアッセイシステムであり、同一チップ上で、抗原抗体反応、電気泳動による測定対象物の濃縮・B/F分離、レーザー誘起蛍光測定までの一連の操作を行うことができる画期的な免疫測定装置である。さらに、各種の電気泳動を利用して、測定対象物の濃縮および検出時のノイズ低減を実現することで非常に高感度での測定が可能である¹⁾⁻⁴⁾。

近年、本社よりi30の後継機であるi50が開発され、測定時間の短縮や操作性の向上など、様々な改良が加えられた。これらの背景から、今後臨床での更なる活用が期待されているが、i50を用いてAFP、AFP-L3分画測定試薬やPIVKA-II測定試薬を評価した例は少なく、臨床上の有用性を検討する必要がある。そこで、AFP、

AFP-L3分画およびPIVKA-II測定試薬の再現性、希釈直線性、測定感度、共存物質による影響、対照法との相関性を検討し、その基本性能を評価したのでここに報告する。

2. 方法

1) 対象

AFP、AFP-L3またはPIVKA-IIのいずれかの検査の依頼があった当院外来および入院患者の検体を用いた。本研究は大阪大学医学部附属病院倫理審査委員会の承認を得て行った。(承認番号：20011)

2) 測定機器

全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i50 (富士フイルム和光純薬株式会社)

3) 試薬

【AFPおよびAFP-L3】

(1) 試薬：ミュータスワコー AFP-L3・i50

(2) 校正試薬：ミュータスワコー AFP-L3用 キャリブ

Received Jul. 2, 2021; Accepted Oct. 8, 2021
Akie Iehara¹⁾, Nobuaki Hata¹⁾, Hitomi Itoga¹⁾, Ikoi Yamawaki¹⁾, Ikuhiro Maeda¹⁾, Yoh Hidaka²⁾

¹⁾大阪大学医学部附属病院 医療技術部検査部門
Division of Laboratory for Clinical Investigation,
Department of Medical Technology, Osaka University
Hospital

²⁾大阪大学医学部附属病院 臨床検査部

Laboratory for Clinical Investigation, Osaka
University Hospital
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-15
2-15, Yamadaoka, Suita, Osaka, 565-0871
Corresponding author : 家原暉恵
TEL : 06-6879-6691
E-mail : kosugi@hp-lab.med.osaka-u.ac.jp

レーターセット

BL (AFP-L1 : 0 ng/mL, AFP-L3 : 0 ng/mL),
CAL1 (AFP-L1 : 102 ng/mL, AFP-L3 : 0 ng/
mL), CAL2 (AFP-L1 : 0 ng/mL, AFP-L3 : 102
ng/mL)

- (3) コントロール：ミュータスワコー AFP-L3用 コントロールL
- (4) コントロール：ミュータスワコー AFP-L3用 コントロールH
- (5) 希釈液：ミュータスワコー 希釈液

【PIVKA-II】

- (1) 試薬：ミュータスワコー PIVKA II・i50
 - (2) 校正試薬：ミュータスワコー PIVKA II用 キャリブレーターセット
BL (0 ng/mL), CAL1 (404 mAU/mL)
 - (3) コントロール：ミュータスワコーPIVKA II用 コントロールL
 - (4) コントロール：ミュータスワコーPIVKA II用 コントロールH
 - (5) 希釈液：ミュータスワコー 希釈液
- 以上、富士フイルム和光純薬株式会社

【その他】

- (1) 干渉チェック・Aプラス (シスメックス株式会社)
- (2) 干渉チェック・RFプラス (シスメックス株式会社)
- (3) D-biotin (富士フイルム和光純薬株式会社)

4) 測定原理

本法の原理は、液相中で抗原抗体反応後、形成した免疫複合体を分離し測定するLBA法(Liquid-phase Binding Assay)である。特に、その過程において等速電気泳動(ITP)、キャピラリーゲル電気泳動(CGE)等を含んだLBA-EATA法(Liquid-phase Binding Assay-Electrokinetic Analyte Transport Assay)であり、大きく分けて①抗原抗体反応、②ITPによる濃縮・B/F分離、③CGEによるノイズ成分からの分離および④蛍光強度検出の4つの過程で構成され、これらの工程をマイクロチップ上で行う。Fig. 1に本法の測定原理の模式図を示したが、まず、①抗原抗体反応として、試料中の測定対象物と蛍光標識された測定対象物に対するマウスモノクローナル抗体(蛍光-Fab')を泳動緩衝液中で反応させ複合体を形成させる(免疫複合体A)。次に②ITPによる濃縮・B/F分離として、この免疫反応液をチップ上の陽極と陰極の間にあるウェルに分注する。泳動緩衝液、アニオン結合の測定対象物に対するマウスモノクローナル抗体(DNA-Fab')についてはチップ上の陰極側のウェルに分注する。(DNA-Fab'は蛍光-Fab'

と異なるエピトープを認識する。)試薬を分注後、加圧によりチップの分析用流路に試薬を導入する。導入後、電圧を掛けるとDNA-Fab'はITPの原理に従い、陽極方向に濃縮されながら移動し、測定対象物と結合した免疫複合体Aと複合体を形成する(免疫複合体B)。さらにITPを続けると、この免疫複合体Bと未反応のDNA-Fab'は、アニオンの荷電によりさらに移動を続けるが、未反応の蛍光-Fab'は荷電がないためその場に留まりB/F分離が行われる。また、未反応のDNA-Fab'は、蛍光を持たないためB/F分離を行う必要がない。続いて、③CGEによるノイズ成分からの分離が行われ、最後に④蛍光強度検出として、測光部にてレーザーにより励起(640 nm)された蛍光強度(670 nm)のピーク面積が測定される。測定された蛍光強度のピーク面積と、濃度既知の標準液を測定して得られた蛍光強度のピーク面積を比較し、測定対象物の濃度を算出する。AFP-L3測定については、レクチン(LCA)を含んだ泳動緩衝液を用いてCGEを行うことにより、LCA親和性AFP(L3分画)が結合した複合体は、泳動緩衝液に含まれるLCAと結合し、LCA非親和性AFP(L1分画)が結合した複合体はLCAと結合しないため、前者の複合体は後者の複合体と比べて遅れが生じ、分離が可能となる。AFP濃度はAFP-L1濃度とAFP-L3濃度の合計値で、AFP-L3%は(AFP-L3濃度)/(AFP-L1濃度+AFP-L3濃度)×100より求められる値である。

5) 対照機器、対照試薬

- (1) 全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i30
ミュータスワコーAFP-L3(測定原理はミュータスワコーAFP-L3・i50と同様)
ミュータスワコーPIVKA II(測定原理はミュータスワコーPIVKA II・i50と同様)
- 以上、富士フイルム和光純薬株式会社
- (2) 全自動化学発光酵素免疫測定装置ルミパルスL2400
ルミパルスプレストPIVKA II-N
ルミパルスプレストAFP
- 以上、富士レジオ株式会社

測定原理は、2ステップサンドイッチ法である。最初に、抗体結合粒子に結合した測定対象物に対する抗体と検体中に含まれる測定対象物による免疫複合体が形成される(第一反応)。続いて、反応液除去後、抗体結合粒子の洗浄が行われ、アルカリフォスファターゼで標識された測定対象物に対する抗体が添加される(第二反応)。再び反応液除去後、抗体結合粒子の洗浄が行われる。最後に、基質液を粒子に加え反応させ、発光極大波長463 nmにおける発光量を測定し、濃度既知の標準液の発光

量をもとに校正された検量線から濃度を算出する。

3. 結果

1) 再現性

各2濃度のコントロール血清およびプール血清をそれぞれ20重測定し同時再現性を求めた。AFPはCV 0.9%~1.3% (平均33.8~530.3 ng/mL) (Table 1 上段), AFP-L3はCV 0.4~1.0% (平均20.9~57.0%) (Table 2 上段), PIVKA-IIはCV 1.4~2.4% (平均101.5~10,656.3 mAU/mL) (Table 3 上段)であった。

同様のコントロール血清およびプール血清を用い、1日2重測定で計10日間測定し、日差再現性を求めた。AFPは、CV 1.3~1.8% (平均33.8~529.6 ng/mL) (Table 1 下段), AFP-L3はCV 0.6~1.1% (平均20.9~57.0%) (Table 2 下段), PIVKA-IIはCV 2.1~2.5% (平均113.7~10,363.0 mAU/mL) (Table 3 下段)であった。

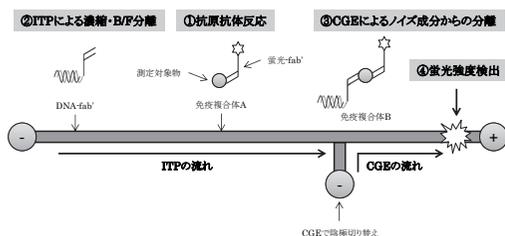


Fig. 1 Measurement flow

Table 1 Reproducibility for the AFP assay

AFP		control		pool	
		L	H	L	H
Within-run reproducibility (n=20)	Mean (ng/mL)	51.5	200.0	38.8	580.3
	Max (ng/mL)	52.6	208.3	34.7	540.4
	Min (ng/mL)	50.5	197.1	38.2	513.7
	SD (ng/mL)	0.68	1.88	0.45	7.00
	CV (%)	1.2	0.9	1.3	1.3
Between-day reproducibility (n=20)	Mean (ng/mL)	52.3	208.3	38.8	529.6
	Max (ng/mL)	53.5	207.5	34.7	546.6
	Min (ng/mL)	50.9	189.9	38.2	515.1
	SD (ng/mL)	0.75	3.62	0.45	8.07
	CV (%)	1.4	1.8	1.3	1.5

Table 2 Reproducibility for the AFP-L3 assay

AFP-L3		control		pool	
		L	H	L	H
Within-run reproducibility (n=20)	Mean (%)	30.7	20.9	34.9	57.0
	Max (%)	31.2	21.2	35.2	57.4
	Min (%)	30.2	20.7	34.6	56.5
	SD (%)	0.31	0.13	0.21	0.25
	CV (%)	1.0	0.6	0.6	0.4
Between-day reproducibility (n=20)	Mean (%)	30.8	20.9	34.8	57.0
	Max (%)	31.5	21.2	35.2	57.5
	Min (%)	30.2	20.6	34.3	56.4
	SD (%)	0.34	0.18	0.21	0.33
	CV (%)	1.1	0.8	0.6	0.6

2) 希釈直線性

AFPについては5濃度、PIVKA-IIについては4濃度のプール血清をそれぞれ専用希釈液を用いて10段階希釈を行い各々2重測定した結果をプロットし、希釈直線性を確認したところ、AFPはおよそ8,000 ng/mLまで (Fig. 2), PIVKA-IIはおよそ30,000 mAU/mLまで (Fig. 3), 原点を通る直線が得られた。

3) 測定感度

プール血清および専用希釈液を用いて6濃度の検体を調製し、それらを5日間2重測定し、横軸を測定値の平均値、縦軸をCV (%)としてPrecision profileを作成して定量限界を算出した。その結果、AFPは、測定可能であった測定値の平均0.091 ng/mLにおけるCV 7.26%で最大であった (Fig. 4 (A))。また、PIVKA-IIは、CV 10%定量限界が8.7 mAU/mL、CV 20%定量限界が4.6 mAU/mLであった (Fig. 4 (B))。また、データは示していないが、0濃度のキャリブレーションを10重測定し、最小検出感度 (2SD法)を算出したところ、AFPは0.10 ng/mL、PIVKA-IIは4.1 mAU/mLとなった。AFP、PIVKA-IIの添付文書における測定下限値はそれぞれ0.3 ng/mL、5 mAU/mLであり、添付文書の測定下限値を満たす結果となった⁵⁾⁶⁾。

4) 共存物質の影響

各項目について、2濃度のプール血清を使用し、干渉チェック・Aプラス、干渉チェック・RFプラスおよびD-Biotinを用いて、遊離型ビリルビン、抱合型ビリルビン、乳び、溶血、リウマトイド因子およびビオチンによる測定値への影響を調べた⁷⁾⁸⁾。各系列について2重測定した結果をプロットした。D-Biotinについては、純水で溶解したものをビオチン溶液、ブランクを純水として干渉チェック・Aプラスと同様の方法で系列を作成して測定した。結果には、遊離型ビリルビンとしてビリルビンF、抱合型ビリルビンとしてビリルビンC、そして乳びとしてChyle (単位はFTU:ホルマジン濁度単位)として表記した。

AFP、AFP-L3、PIVKA-IIの全項目について、ピリ

Table 3 Reproducibility for the PIVKA-II assay

PIVKA-II		control		pool	
		L	H	L	H
Within-run reproducibility (n=20)	Mean (mAU/mL)	101.5	2,206.7	141.5	10,656.3
	Max (mAU/mL)	106	2,257	147	10,958
	Min (mAU/mL)	98	2,099	137	10,404
	SD (mAU/mL)	2.4	36.0	2.9	146.0
	CV (%)	2.4	1.6	2.1	1.4
Between-day reproducibility (n=20)	Mean (mAU/mL)	113.7	2,170.0	143.9	10,363.0
	Max (mAU/mL)	119	2,259	152	11,026
	Min (mAU/mL)	109	2,103	135	10,029
	SD (mAU/mL)	2.4	50.5	3.6	263.6
	CV (%)	2.1	2.3	2.5	2.5

ルビンFは18.8 mg/dL, ビリルビンCは20.2 mg/dL, 乳びは1590 FTU, 溶血は490 mg/dL, リウマトイド因子は500 IU/mL, ビオチンは10 µg/mLまで影響が認められなかった (Fig. 5~7)。

5) 対照法との相関性

AFPおよびAFP-L3について、ミュータスワコー i50 (y) と対照法であるミュータスワコー i30 (x) との相関性を検討したところ、AFPは、n=105, 回帰式 $y=1.014x - 2.326$, 相関係数 $r=1.000$ であり (Fig. 8), AFP-L3 は、n=109, 回帰式 $y=0.998x+0.669$, 相関係数 $r=1.000$ であった (Fig. 9 (A))。ただし、1検体については、i30にて99.5%以上、i50では77.2%と大きく乖離し今回の回帰の計算からは除外したが、分離が不明瞭な波形であったため、i30ではすべてL3分画と解析され、i50では波形解析の精度向上により、分画を分離して解析できたという例であった (Fig. 9 (B))。(図中のNCはNot Calculateで計算不可、L3はL1が0.3 ng/mL未達であることを示しており、i30にて算出されたAFPの99.5%以上がAFP-L3であると読み取れる。) また、AFPについて、ミュータスワコーi50 (y) と対照法で

あるルミパルスL2400(x)との相関性を検討したところ、n=100, 回帰式 $y=0.948x+1.009$, 相関係数 $r=0.999$ であった (Fig. 10)。

PIVKA-IIについて、ミュータスワコー i50 (y) と対照法であるミュータスワコー i30 (x) との相関性を検討したところ、n=100, 回帰式 $y=1.075x - 84.285$, 相関係数 $r=0.999$ であった (Fig. 11)。また、ミュータスワコー i50 (y) と対照法であるルミパルス L2400 (x) は、n=100, 回帰式 $y=1.057x - 31.818$, 相関係数 $r=0.999$ であった (Fig. 12)。

4. 考察

今回、全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i50 によるAFP、AFP-L3およびPIVKA-II測定試薬の基本性能評価を行い、再現性、希釈直線性、測定感度、共存物質の影響、対照法との相関性においていずれも良好な結果となった。このことから、i30の後継機として問題なく使用できると判断した。

また、AFPには3つの分画 (L1, L2, L3) があり、L2分画はレンズマメレクチン弱結合性であるため、L1

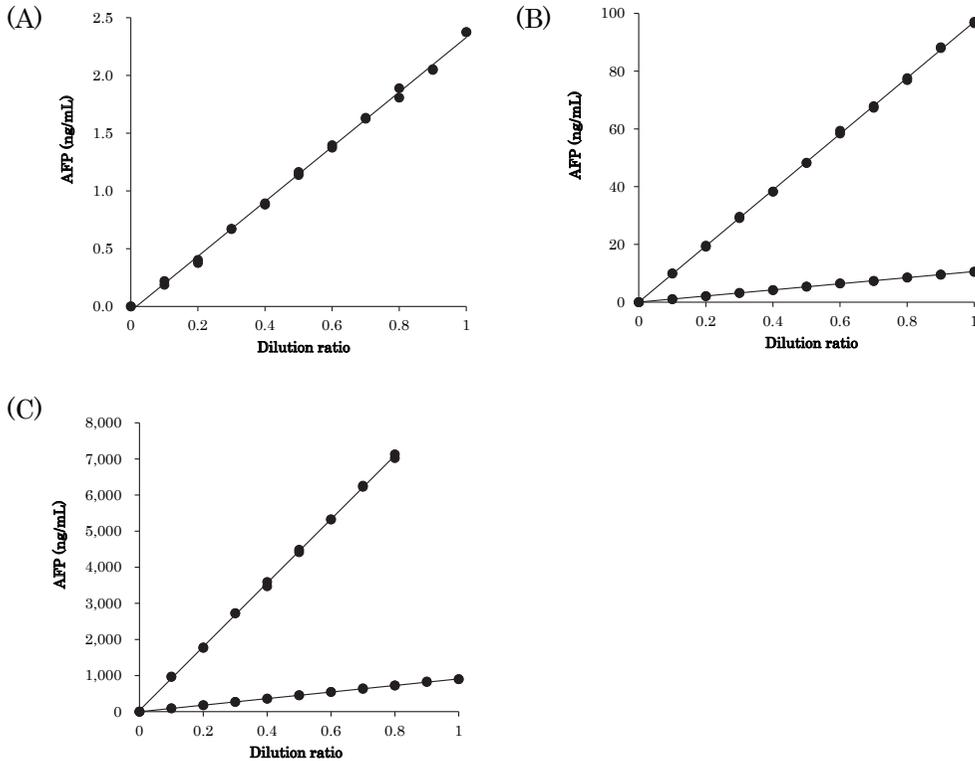


Fig. 2 Effect of serum dilution on linearity for the AFP assay

分画とL3分画のピークの間ピークが認められたり、分離が不明瞭でブロード状のピークとなる場合がある。従来のi30ではL3分画（稀にL1分画）として解析されていた場合が多かったが、i50では波形解析の精度が向上し、L2分画とみられるピークがある場合、エラーが付与される。L2分画については、小児において生理的に高値となる場合や、卵黄嚢腫瘍^{9)~11)}において認められた報告があるほか、胃癌¹²⁾や胆管細胞癌¹³⁾、胆嚢癌¹⁴⁾を含む肝細胞癌以外のAFP産生消化器癌でも認められた報告があり、臨床において重要な所見になると考えられ、コメントを付与するなど臨床側へ報告して活用する方法も考えられる。

さらに、i50は測定時間が7分と、従来のi30での測定に比べて約2分短縮され、処理速度も2倍になったため、より迅速な結果報告が可能である。また、検体使用量はAFP、AFP-L3で3 μL、PIVKA-IIで10 μLと更なる微

量化が実現し、微量検体専用のラックおよびサンプルカップを用いることで、デッドボリュームを含め35 μLで測定可能であるなど、採血困難な小児の微量検体にも対応可能である。また、装置のサイズは若干大きくなったものの、液晶タッチパネルが見やすくなり、測定中にチップを補充できるなど、操作性の面でも改良されており、使いやすくなった。

以上のことから、全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i50およびその測定試薬であるミュータスワコー AFP-L3・i50、ミュータスワコー PIVKA II・i50は、高度なmicro-total analysis system (μ-TAS) 技術を用いた先端の免疫測定装置および試薬として、今後臨床現場での更なる活用が期待される。

5. 結語

全自動蛍光免疫測定装置ミュータスワコー i50および

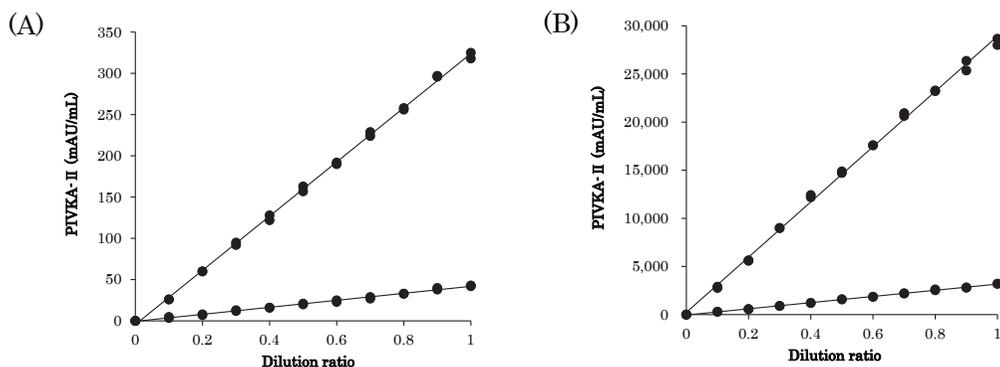


Fig. 3 Effect of serum dilution on linearity for the PIVKA-II assay

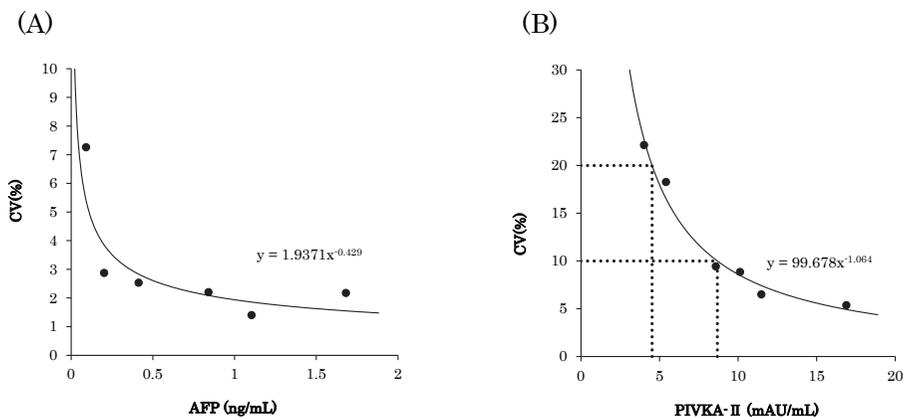


Fig. 4 Limit of quantification

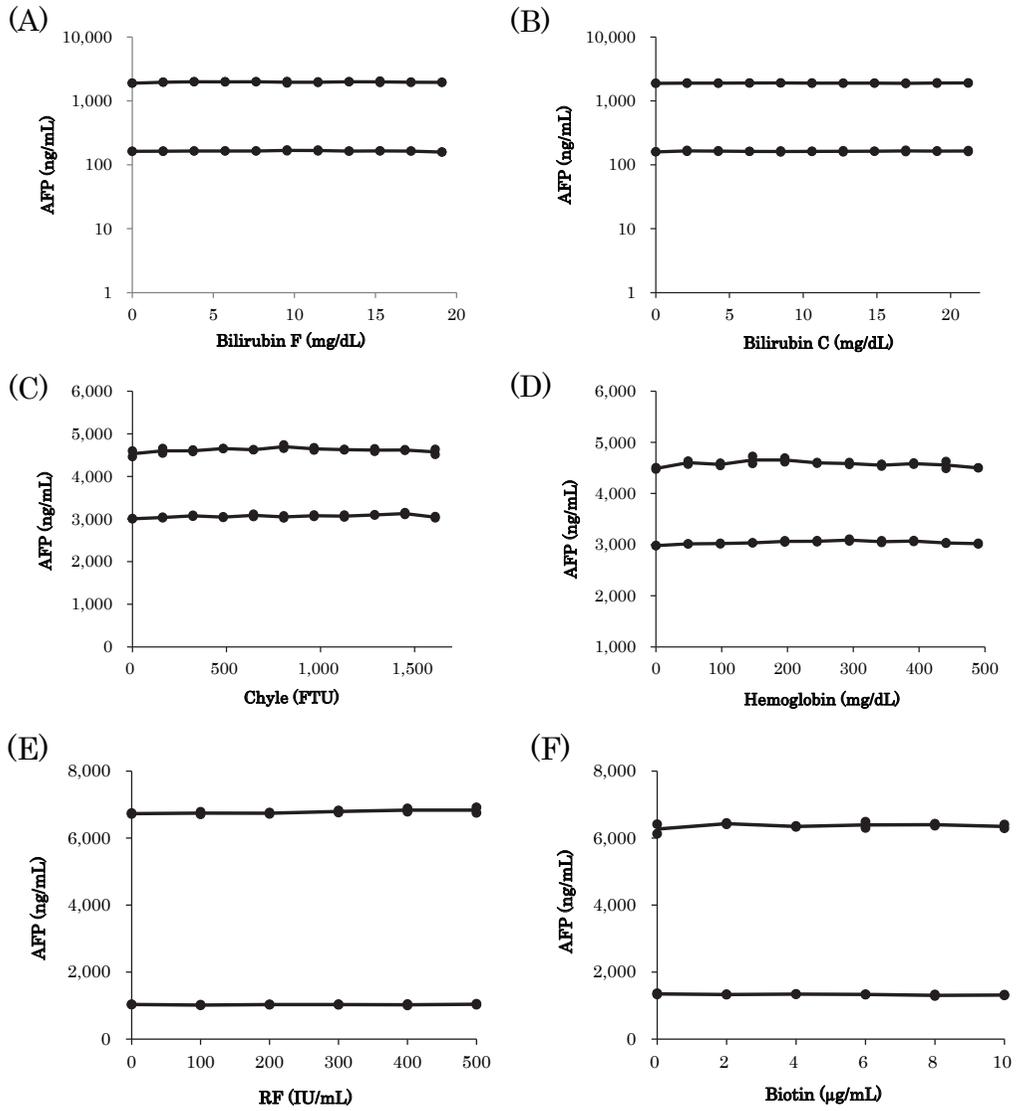


Fig. 5 Effect of interfering substances in serum on the AFP assay

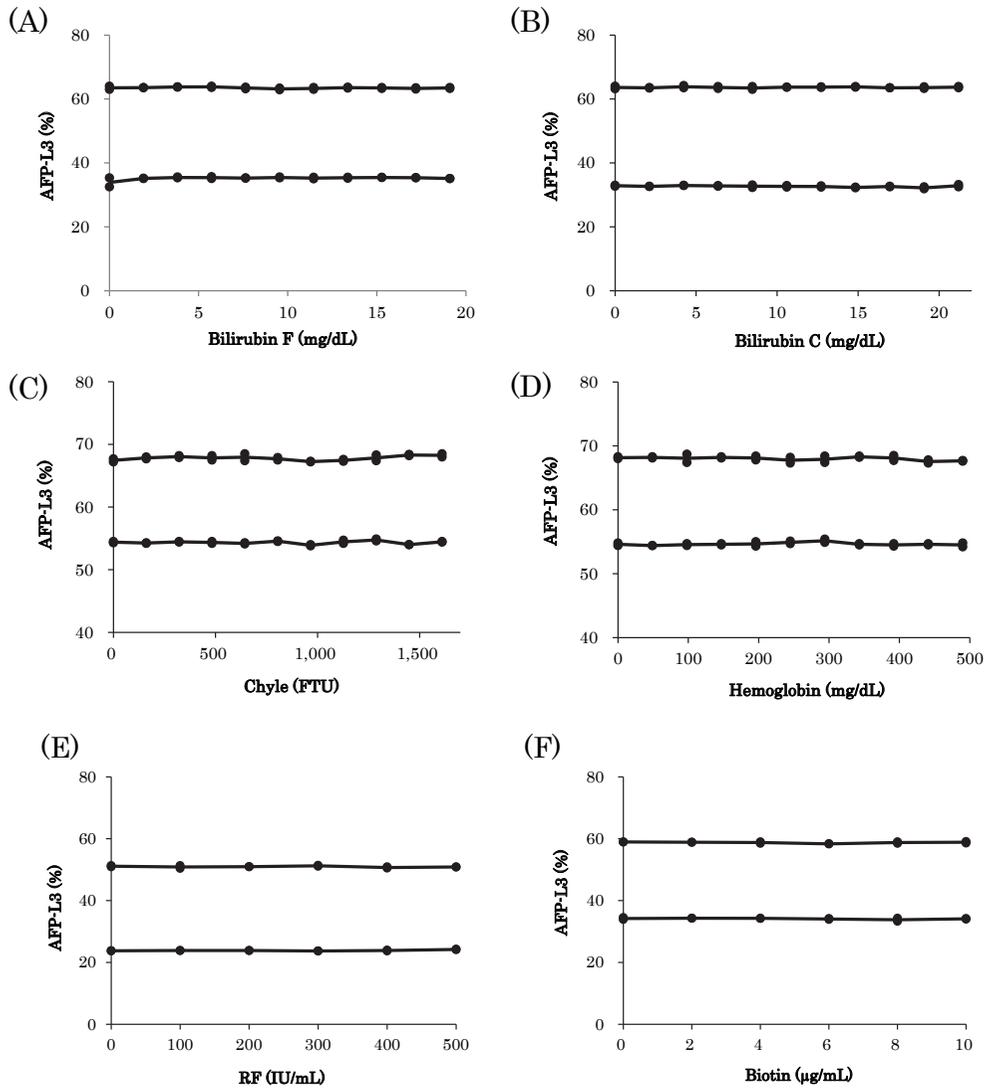


Fig. 6 Effect of interfering substances in serum on the AFP-L3 assay

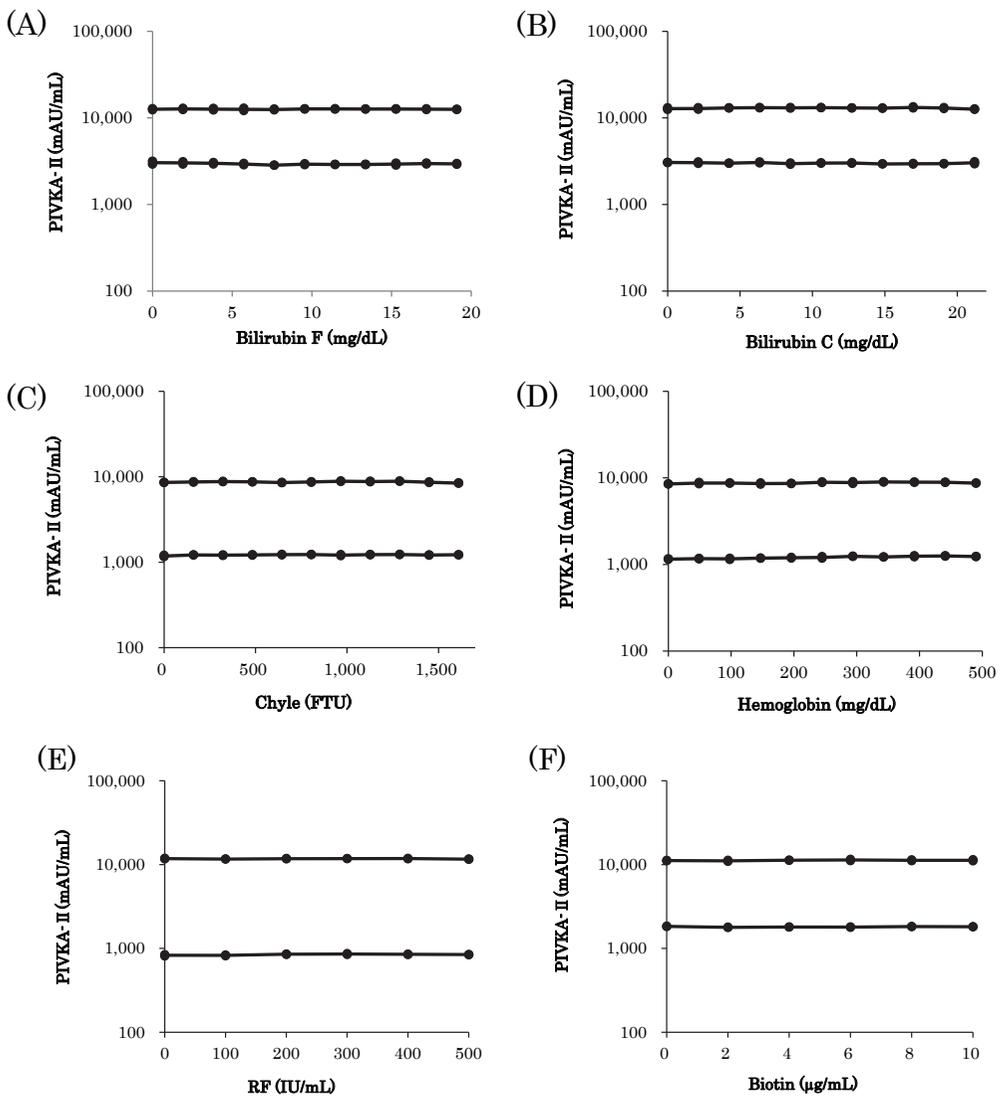


Fig. 7 Effect of interfering substances in serum on the PIVKA- II assay

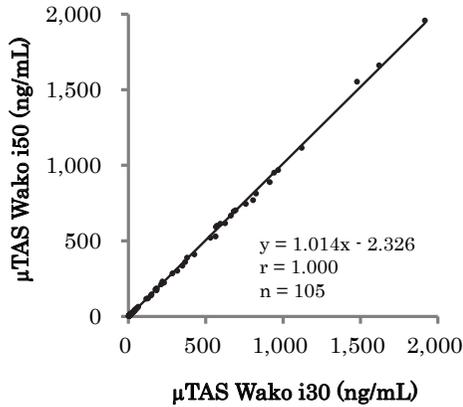


Fig. 8 Correlation between values by μTAS Wako i30 and i50 on the AFP assay

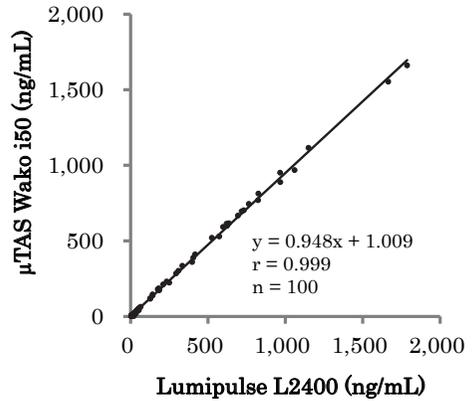
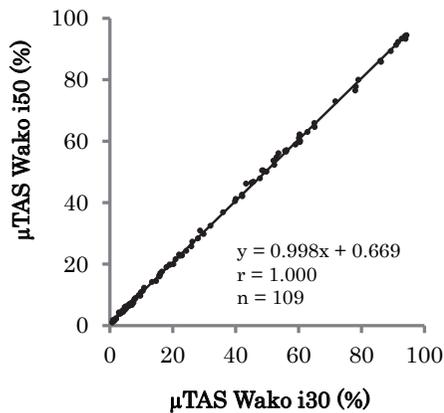


Fig. 10 Correlation between values by Lumipulse L2400 and μTAS Wako i50 on the AFP assay

(A)



(B)

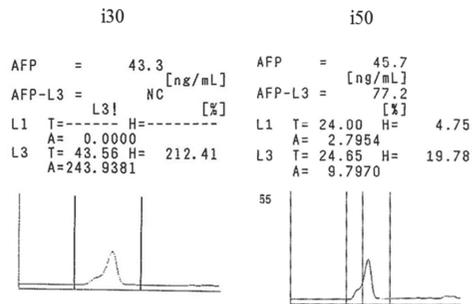


Fig. 9 Correlation between values by μTAS Wako i30 and i50 on the AFP-L3 assay

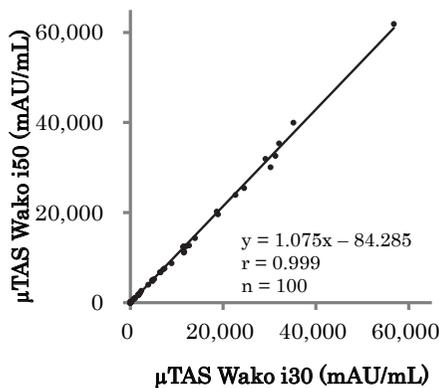


Fig. 11 Correlation between values by μTAS Wako i30 and i50 on the PIVKA-II assay

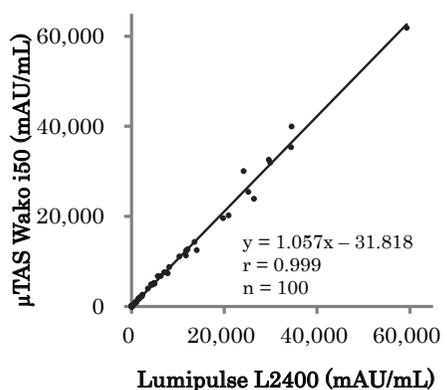


Fig. 12 Correlation between values by Lumipulse L2400 and μTAS Wako i50 on the PIVKA-II assay

その測定試薬であるミュータスワコー AFP-L3・i50、ミュータスワコー PIVKA II・i50は、臨床上有用であると考えられる。

本論文の一部は、日本臨床検査自動化学会52回大会(2021年)にて発表した。

本論文の発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) 山口勲. マイクロチップ電気泳動を用いたイムノアッセイ. *Medical Technology* 2009;37:1089-1094
- 2) 黒澤竜雄, 里村慎二. 高感度キャピラリー電気泳動イムノアッセイマイクロチップの開発. 馬場嘉伸, ナノテク・バイオ MEMS時代の分離・計測技術, 第1版, シーエムシー出版;東京, 2006;241-249
- 3) 黒澤竜雄. マイクロチップを用いた全自動蛍光免疫分析装置ミュータスワコーi30の開発. *電気泳動* 2016;60:35-39
- 4) 渡辺光雄, 荒井由美. μ TAS技術を利用した新規全自動免疫測定装置. *検査と技術* 2009;37:1503-1505
- 5) 富士フイルム和光純薬株式会社: ミュータスワコー AFP-L3・i50 添付文書 (2018年9月作成, 第1版)
- 6) 富士フイルム和光純薬株式会社: ミュータスワコー PIVKA II・i50 添付文書 (2015年1月改訂, 第6版)
- 7) シスメックス株式会社: 干渉チェック・A プラス 添付文書 (2019年10月改訂)
- 8) シスメックス株式会社: 干渉チェック・RF プラス 添付文書 (2005年11月改訂)
- 9) 西岡幹夫. 私の α のフェトプロテイン小史 (9). *W Waves* 2013;19:68-70
- 10) Aoki Y, Higashino M, Ishii S et al. Yolk sac tumor of the ovary during pregnancy: a case report. *Gynecol Oncol* 2005;99:497-499
- 11) Patterson DM, Rustin GJ. Controversies in the management of germ cell tumours of the ovary. *Curr Opin Oncol* 2006;18:500-506
- 12) 林啓介. AFP レクチン分画. *内科* 1998;81:1442-1443
- 13) 吉田俊巳, 桂島忠俊, 大内健ほか. 血清 α -fetoprotein が高値を示した胆管細胞癌における AFP レクチン分画の検討. *肝臓* 1997;38:205
- 14) 浅岡忠史, 近藤礎, 永野浩昭ほか. 肝細胞癌と鑑別が困難であった α -fetoprotein 産生胆嚢癌の1切除例. *日消外会誌* 2005;38:655-660

甲状腺ホルモンFT₄・FT₃が偽高値となった検体の分析

Analysis of specimens showing false high levels of thyroid hormone FT₄/FT₃

齋藤邦子¹⁾ 進藤沙季¹⁾ 進藤龍太郎¹⁾ 伊藤裕安¹⁾
今枝義博¹⁾ 村瀬吉郎²⁾ 石井潤一¹⁾

要旨 我々はIgMの非特異的な反応によりFT₄・FT₃が偽高値を呈した症例を経験したので報告する。患者は80歳の女性。大動脈弁人工置換の手術後で、ワルファリンカリウム、降圧剤、利尿薬などで経過観察をしていた。術後の定期採血時、TSH 1.66 μIU/mL、FT₄ 2.89 ng/dL、FT₃ 7.38 pg/mLとなりFT₄とFT₃で高値を示したが、甲状腺機能亢進症の症状は呈していなかった。臨床症状と検査結果が一致しないため、非特異反応を疑い原理の異なる免疫測定機器で分析を行ったところ測定結果に乖離が見られた。原因追究のため解析を行い、PEG（ポリエチレングリコール）添加試験及びHBT（Heterophilic Blocking Tube/ Scantibodies社）で回収率の低下を認めた。さらにゲル濾過解析でIgMの非特異反応が確認された。本症例のように測定値と臨床症状が一致しない場合、患者血清や測定試薬に対する阻害物質の影響を考え、早期に測定原理の異なる方法で確認する必要があると考えられた。

1. はじめに

甲状腺ホルモンは血中では99%以上が蛋白と結合した形で存在しているが、蛋白と結合していない微量のFree T₄ (FT₄) が存在する。このFT₄が標的細胞内に入りT₃に転換後、甲状腺ホルモン作用を発揮する。この一連の作用から血中FT₄濃度は甲状腺機能の指標として信頼性のある測定項目とされている¹⁾。現在、甲状腺疾患診断ガイドライン2013に基づき甲状腺機能亢進症及び低下症の診断にはTSH、FT₄、Free T₃ (FT₃) が測定される²⁾。

今回、甲状腺ホルモン値が臨床症状と乖離し、偽高値を呈した症例を経験したので報告する。

症例

患者：80歳女性
既往歴：大動脈弁人工置換術
経過：手術後ワルファリンカリウム、降圧剤、利尿薬等

で経過観察をしていた。術後の定期採血時にFT₄、FT₃の高値を認めた。しかしTSHは正常範囲であり、臨床的には甲状腺機能亢進症の症状は認めず経過観察となった。術後2カ月目に発熱にて入院し、感染性心内膜炎に対して長期間の抗菌薬治療中に心房細動が出現し、心不全も併発した。今回も甲状腺ホルモンの検査を実施したところ、前回同様にFT₄・FT₃の高値を認めTSHは正常範囲であった。臨床症状と合わなかったため、偽高値を疑い測定原理の異なる機種で測定したところ、TSHとともにFT₄・FT₃は正常範囲となった。

2. 検討

1) 測定機器と測定試薬

測定機器はcobas8000 e602 (ECLIA法) であり、TSH・FT₄・FT₃の測定試薬は「エクレーシス試薬 TSH・FT₄ II・FT₃ III (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社)」を使用し測定を行った。もう一方は別の原理である測定機器AIA-CL1200 (CLEIA法) であり、

Received Jan. 25, 2021; Accepted Jul. 19
Kuniko Saito¹⁾, Saki Shindo¹⁾, Ryutarou Shindo¹⁾,
Hiroyasu Ito¹⁾, Yoshihiro Imaeda¹⁾, Kichiro Murase²⁾,
Junichi Ishii¹⁾
¹⁾藤田医科大学ばんだね病院 臨床検査部
Department of Clinical Laboratory, Fujita Health
University Bantane Hospital

²⁾藤田医科大学ばんだね病院 救急科
Emergency department, Fujita Health University
Bantane Hospital
〒454-8509 愛知県名古屋市中川区尾頭橋3-6-10
Corresponding author: 齋藤邦子
TEL: 052-323-5667
E-mail: kuniko.0811215@gmail.com

測定試薬は「AIA-パック CL TSH・FT₄・FT₃ (東ソー株式会社)」を使用し測定を行った。

2) PEG (ポリエチレングリコール) 添加試験^{3,4)}

25%PEG 6000水溶液と患者血清を1:1で混和・攪拌後に4℃にて遠心分離 (3000 rpm×30 min) 処理し、上清を採取し再度エクルーシス試薬により測定を行った。

3) HBT (Heterophilic Blocking Tube)

患者血清に直接IgM吸収剤を溶解し、HBT処理後に、上清で測定を行い処理前との値の比較を行った。

4) ゲル濾過解析

免疫グロブリン分画の検査法として溶液に含まれる各種分子の大きさの違いを利用して行うクロマトグラフィ分離法で解析を行った。患者血清をゲル濾過処理し、各溶出検体の甲状腺ホルモン濃度をエクルーシス試薬で測定し、同様にIgM・IgG等の血清蛋白も測定し、結果をプロットした。

3. 結果

1) 測定機器と測定試薬

cobas8000 e602の測定結果はTSH 1.66 μIU/mL, FT₄

Table 1 Measurement with devices with different measurement principles

cobas e602, AIA-CL1200

Item	Unit	Measuring equipment			
		cobas e602		AIA-CL1200	
		Reference range	Sample	Reference range	Sample
TSH	μIU/mL	0.50 ~ 5.00	1.66	0.45 ~ 3.72	1.58
FT ₄	ng/dL	0.90 ~ 1.70	2.89	0.75 ~ 1.42	1.70
FT ₃	pg/mL	2.3 ~ 4.0	7.38	2.1 ~ 3.1	2.67
TRAb	IU/L	< 2.0	< 2.0	-	-

Table 2 PEG addition test

Item	TSH			FT ₄			FT ₃		
	Before addition	After addition	Percentage	Before addition	After addition	Percentage	Before addition	After addition	Percentage
Sample	1.67	0.39	23%	3.04	1.45	48%	8.12	2.33	29%
Control Sample	3.74	1.49	40%	1.75	1.65	94%	3.80	3.25	86%

$$\text{Percentage (\%)} = \frac{\text{PEG After processing measured value}}{\text{PEG Before processing measured value}} \times 100$$

Table 3 HBT treatment test

Item	TSH			FT ₄			FT ₃		
	Before addition	After addition	Percentage	Before addition	After addition	Percentage	Before addition	After addition	Percentage
Sample	1.67	1.62	97%	3.04	2.43	80%	8.12	6.20	76%
Control Sample	3.78	3.73	99%	1.73	1.75	101%	3.75	3.88	103%

2.89 ng/dL, FT₃ 7.38 pg/mLであった。

AIA-CL1200での測定結果はTSH 1.58 μIU/mL, FT₄ 1.70 ng/dL, FT₃ 2.67 pg/mLとなり、TSHでは機種間差は認められなかったがFT₄とFT₃の値には機種間で乖離が見られた (Table 1)。

2) PEG (ポリエチレングリコール) 添加試験

添加前のFT₄ 3.04 ng/dL, FT₃ 8.12 pg/mLに対して、添加後はFT₄ 1.45 ng/dL, FT₃ 2.33 pg/mLとなり、対照検体と比較すると回収率の低下を認めた (Table 2)。

3) HBT (Heterophilic Blocking Tube)

対照検体と比較するとTSHでは回収率の差がなかったが、添加後はFT₄ 2.43 ng/dL, FT₃ 6.20 pg/mLとなり、FT₄とFT₃において回収率は顕著に低下した (Table 3)。

4) ゲル濾過解析

患者検体では、FT₃のピークが20.5分付近で見られたが、対照検体では、見られなかった。対照検体で20.0分付近にピークがあるのは、IgMのみであった。また、患者検体ではFT₄のピークが20.5分と30.0分付近にピークが見られた。IgGでは、対照検体と同様28.0分付近にピークがみられたことから、患者検体にはIgMの非特異的ピークを確認された (Fig. 1, Fig. 2)。

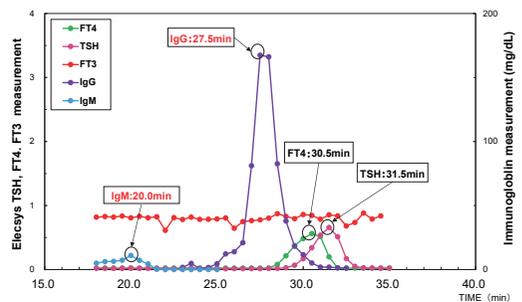


Fig. 1 Gel Filtration analysis (Control sample)

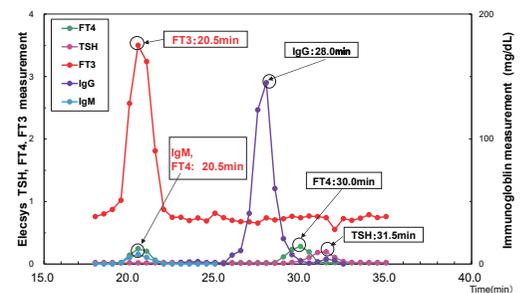


Fig. 2 Gel Filtration analysis (Patient sample)

4. 考察

本症例の測定値は、TSH 1.66 μIU/mL、FT₄ 2.89 ng/dL、FT₃ 7.38 pg/mLであり、TSHは正常範囲であったがFT₄、FT₃は高値を示した。今回、医師より甲状腺機能検査結果が臨床症状と合わないとの指摘を受け、原理の異なる測定機器で測定したところ、結果値に乖離が見られたため検討を行った。PEG添加試験においては患者検体のFT₄及びFT₃は対照検体と比較して回収率の低下を示したことから、免疫グロブリンを含む血清中高分子タンパク質による非特異反応の影響が示唆された。HBT処理試験でも顕著にFT₄・FT₃の回収率低下を示した。これらのことから、血清中高分子タンパク質による非特異反応の影響により、FT₄・FT₃が高値になったと考えられた^{5,6)}。ゲル濾過解析ではIgMに相当する溶出時間にFT₄・FT₃非特異ピークが確認でき、IgMの非特異反応によりFT₄・FT₃の測定値が高値になったと報告があり、我々と同様の結果であった^{5,6)}。

免疫学的検査では、非特異反応を示すことがある。測定値だけではなく、臨床症状と合わない場合は、非特異反応を引き起こす異好抗体を疑う必要性の報告もある⁶⁾。

異好抗体は各種甲状腺疾患のみならず、肝疾患、シェーグレン症候群などの自己免疫疾患患者において出現することが報告されてきた⁷⁾。

検査する側としては、医師より臨床と一致しないとの連絡を受けた際には同じ機器による再検査を実施するだけでなく、積極的に患者の情報収集に努め、非特異反応の影響も念頭におくことが必要だと感じられた一症例であった。

また、免疫学的検査においては、非特異反応他試薬に含まれた発色反応に関与するルテニウムに対して、患者血清中の何らかの阻害物質が影響することが考えられ

た。Ohba, Andoらも同様の解析結果が得られており、今回試薬の改良に至った^{8,9)}。

5. 結語

甲状腺機能検査の結果が、臨床症状と乖離した場合は患者血清、測定試薬に対する阻害する物質等を考え、早期に他の測定方法で確認する必要があると考えられた。

COI開示：研究助成（シスメックス株式会社）

文 献

- 1) 臨床検査データブック LAB DATA2011-2012
- 2) 甲状腺疾患診断ガイドライン 2013（2013年6月24日改訂）：日本甲状腺学会HP
- 3) 久岡俊彦, 飯野史郎, 齋藤一二三, 他：遊離甲状腺ホルモン濃度とTSH濃度間に解離を認める病態に関する検査法と臨床について日内分泌学会誌, 70(6):563-572, 1994
- 4) Allan DJ, Murphy F, Needham CA, et al: Sensitive test for thyroid hormone autoantibodies in serum. *Lancet*, ii:824-831, 1982
- 5) Remy S, Francoise G, Andreas B, et al: Spurious high concentration of serum free thyroxine due to anti-triiodothyronine antibodies. *Clin Chem*, 41(1):117-118, 1995
- 6) Normand D, Andrew MG: Antibody interference in thyroid assays: a potential for clinical misinformation. *Clin Chem*, 44(3):44-454, 1998
- 7) Sakata S, Nakamura S and Miura K: Autoantibodies against thyroid hormones or iodothyronine. *Ann Intern Med* 1985;103:579-589
- 8) Ohba K, et al. *Endocrine Journal* 2012;59(8):663-667
- 9) Ando T, et al. *Intern Med* 2007;46:1225-1229

ISO 15189 認定施設における生理機能検査の精度管理状況調査 —生理検査委員会 2020 アンケート 集計 概要—

The current status of quality management of physiological tests in ISO 15189
accredited institutes in Japan.

The summary of the 2020 survey by Committee on Physiological Tests, Overview

小笠原直子¹⁾ 岡野智子²⁾ 尾本きよか³⁾ 竹内正明⁴⁾
田邊晃子⁵⁾ 東條尚子⁶⁾ 湯本真人²⁾ 古川泰司¹⁾

要旨 日本医療検査科学会・生理検査委員会は、生理機能検査のISO 15189 認定取得施設を対象に、生理機能検査の精度管理状況について系統的なアンケート調査を行った（生理検査委員会アンケート2020）。調査は認定対象となっている4分野（呼吸機能、心電図、超音波、脳波）それぞれに対して、行っている検査と認定範囲、内部精度管理の方法と施行頻度、外部精度管理の施行状況などを尋ねた。

対象は124施設あり、70施設から回答を得た。本稿では、調査方法の概要、調査対象施設と回答施設の施設規模、認定取得時期などを報告する。分野毎の調査内容は、別稿で述べられる。調査は、認定取得施設間での情報共有を目的としているが、この内容は国内で生理機能検査を行っている施設全般に有用な情報を含むと考える

Abstract The Committee on Physiological Tests of the Japan Association for Clinical Laboratory Science conducted a systematic questionnaire survey (the 2020 survey by Committee on Physiological Tests) on the status of precision management of physiological function tests at ISO 15189 accredited facilities. The survey asked about the tests performed and the scope of accreditation for each of the four fields (respiratory function, electrocardiography, ultrasound, and electroencephalography), the method and frequency of internal precision control, and the status of external precision control.

The survey covered 124 facilities, and responses were received from 70 facilities. This paper reports the outline of the survey method, the scale of the surveyed and responding facilities, and the timing of accreditation. The contents of the survey for each field will be described in a separate paper. The purpose of the survey was to share information among accredited facilities, but we believe that the content of the survey will be useful to all facilities performing physiological function tests in Japan.

Key words physiological tests, precision control, quality management, ISO 15189, questionnaire survey

¹⁾ 帝京大学医学部附属病院，中央検査部，東京都板橋区
Teikyo University, Department of Clinical Laboratory,
Teikyo University Hospital, Itabashi-ku Tokyo

²⁾ 東京大学医学部附属病院，臨床検査部門，東京都文京区
The University of Tokyo, Department of Clinical
Laboratory, The University of Tokyo Hospital,
Bunkyo-ku Tokyo

³⁾ 自治医科大学附属さいたま医療センター，総合医学第
1講座（臨床検査部），埼玉県さいたま市大宮区
Jichi Medical University, Saitama Medical Center,
Department of Laboratory Medicine, Omiya-ku,
Saitama-shi, Saitama

⁴⁾ 産業医科大学病院，臨床検査・輸血部，福岡県北九州市
Department of Laboratory and Transfusion Medicine,

Hospital of University of Occupational and
Environmental Health, School of Medicine,
Kitakyushu, Fukuoka.

⁵⁾ 慶應義塾 慶應義塾大学病院，臨床検査科，東京都新宿区
Keio University, Clinical Laboratory, Keio University
Hospital, Shinjuku-ku Tokyo.

⁶⁾ 教職員互助会三楽病院，臨床検査科，東京都千代田区
Sanraku Hospital, Department of Clinical Laboratory,
Chiyoda-ku, Tokyo

Corresponding author : 古川泰司

東京都板橋区加賀2-11-1

TEL : 03-3964-7272

Mail : tfrkw@med.teikyo-u.ac.jp

日本医療検査科学会（旧・日本臨床検査自動化学会）・生理検査委員会は2018年に、当時理事長であった康東天先生から声掛けがあり、委員会発足の準備を開始した。同年10月の総会では発足時の活動方針を示すとともに、発足が承認され、2019年4月の春季大会で、第1回委員会が開催された。委員会では、活動方針として、2018年発効の改正医療法制定に伴い、参議院での付帯決議で「検査精度の確保に関しては、遺伝子関連検査を含む検体検査のみならず、心電図・脳波・超音波検査等の生理学的検査について、学術団体等の作成するガイドライン等に留意しつつ検討するとともに、…高度な検査機器の精度管理方法・仕様の国際標準化について検討し、必要な措置を講ずること。」¹⁾と明記されたことを受け、当時そして現時点でもほとんど存在しない、生理検査の精度管理に関する「ガイドライン等」を整備して行くべく、精度管理業務を推進することとなった。

同方針を受け、委員会の当初の活動として、ISO 15189 認定施設における生理機能検査の精度管理状況を情報共有することを委員会活動の主軸とすることとした。そして、2019年10月4日の大会で、初の委員会企画としてシンポジウム「生理機能検査の精度管理—ISO 15189 認定範囲を中心に—」を開催した²⁻⁵⁾。多数の参加者および、活発な討議が行われたが、その後のレスポンスとして、多数の会員ならびに会員外の生理機能検査に携わる方々から、認定範囲となっている4分野（呼吸機能、心電図、超音波、脳波）の個別の精度管理業務について、もっと掘り下げた情報共有が必要であるというご意見をいただいた。そこで、2020年の大会では、生理検査委員会で技術セミナーを企画した。その内容としては、国内ISO 15189 認定施設で生理機能検査を認定分野に含んでいる施設に広く情報共有を目的としたアンケート調査（生理検査委員会2020 アンケート）を行い、これをアンケート参加施設間で開示・共有することとした。この情報は、各施設の業務の標準化に役立つと共に、ISO 15189 取得準備施設に向けた参考資料や、ひいてはJABによる認定業務の参考になる情報となることが期待された。本稿は、その結果のとりまとめである。実際にアンケートに参加した施設には、本稿で示す集計結果について共有しているが、本稿は、その解釈、アンケート内容の意図についても述べることを目的としている。

1. 対象・方法

1) アンケート方法と技術セミナー

アンケートは、2020年3月20日時点でISO 15189 認定を取得していた170医療機関のうち、生理機能検査分野

を認定範囲としている施設を対象とした。同年4月初旬に学会事務局より、挨拶文、アンケート実施要綱と、アンケート内容のハードコピーを同封した郵送物を送付した。実施要綱の骨子をTable 1に示す。参加頂ける施設からは、同月中に、参加表明、連絡担当者および連絡先を、委員会事務局あて、電子メールまたはファックスで返送を求め、以後の施設と事務局間の連絡は、電子メールのみとした。委員会事務局は参加表明施設宛て、アンケート記入フォーム（エクセルまたはワードファイル）を送付した。エクセルファイルは、以後の統計処理用に、シート保護・入力規制処理を施しており、なるべくエクセルファイルへ記入してもらう様依頼したが、視認性の良いワードファイルへの記入も受け付ける運用とした。アンケート内容は、「共通内容」、「a 呼吸」、「b 心電図」、「c 超音波」、「d 脳波」と、ISO 認定範囲に沿った分類とした。

本集計結果については、第52回大会の技術セミナーで開示したが、同大会は現地開催はなく、オンデマンド配信のみとなった。配信内容の骨子については、アンケート参加施設間では電子媒体で共有している。参加施設の開示可否については、各分野のアンケートで事前に確認した。

2) 共通内容のアンケートについて

共通内容の質問項目は、ISO 15189 初回認定年、生理機能検査分野の認定年、認定範囲と各範囲で認定を受けている検査項目、そして、認定取得に際し生理機能検査分野で指摘された不適合の項番である。末尾に、ワードファイル形式で用意した、アンケート文面を掲載する。

Table 1 アンケート実施要綱の骨子

対象	・ ISO 15189・生理機能分野認定を取得している施設
アンケート施行の趣旨・目的	<ul style="list-style-type: none"> ・ 精度管理業務に関する認定取得施設間の情報共有(主目的) ・ 施設間比較プログラムの代替えアプローチの構築 ・ 認定取得予定施設へ向けての情報発信
アンケート内容	<ul style="list-style-type: none"> ・ 認定取得時の指摘内容調査 ・ 認定4分野における、施設での精度管理内容・状況調査 ・ 機器保守、内部精度管理、外部精度管理の実施状況
実施方法	<ul style="list-style-type: none"> ・ e-mailによる記入フォーム(エクセル)の送受 ・ 認定4領域毎に：一施設一回答 ・ 各分野の回答者の選別は施設に一任 ・ 回答は、代表者名で一括送付
実施日程	<ul style="list-style-type: none"> ・ アンケート送付： 2020年4月6日(月) ・ 代表者連絡期限： 2020年4月27日(月) ・ アンケート返信期限： 2020年6月5日(金)

施設、記入代表者の記載に続き、ISO 15189初回認定年と、各分野の認定年を調査した。これは、生理機能検査分野の認定が、2012年版から開始され、初回認定時には認定範囲ではなかった施設が多いと考えられたためである。

この後、認定4分野で実際に認定範囲に含んでいる検査の範囲を尋ねている。ISO 15189認定は施設の認定であり、同施設から発出される報告は全て認定範囲であるというのが、本来の運用だと考えられる。しかしながら、検体分野でも基幹・非基幹が分けられているように、生理機能検査では、実際に施行しているが認定範囲としていない場合があると想定され、この実態調査は必要と考えられた。生理機能検査室が行っている検査としては、聴力検査、脈波検査等認定業務が行われていない検査も多くあり、検体検査で認められている診療報酬上の評価を含め、生理機能検査におけるISO 15189認定のあり方に関わる調査と考えられる。

更に、生理検査の認定において、現地審査の際に発生した指摘の対応項番を調査している。4章と5章について、項番2レベル目(4.1-4.15, 5.1-5.10)毎に、不適合指摘があったか否かを調査した。同調査は、旧認定マニュアル(JAB200初版)での審査を想定しているため、現行審査で使用している用語である重大(major)、軽微(minor)な不適合(nonconformity)ではなく、NC、

RM、指摘無しで3レベルで回答していただいた。5章の5.6 検査結果の品質の確保については、本調査の最重要領域であるので、項番は3レベル目、5.6.1-5.6.4まで個別の回答を要求した。

結果

3) アンケート参加施設の特性

郵便物を送付したのは124施設となった、このうち79施設からアンケート参加の表明があり、実際にアンケート回答を送付したのは70施設であった。回答施設のうち、69施設では全ての分野の回答を得たが、1施設は共通分野のみに回答している。郵送物送付施設は、当時のISO 15189認定医療機関170施設(衛生検査所は、209施設)の72.9%に相当し、アンケート回収率は、56.5%であった。各医療機関の特性として、開設者(国立、公立、私立・他)、病院機能(臨床研究中核病院または特定機能病院：以後特定機能病院と表記、地域医療支援病院、それ以外)、医育機関か否か、および病床数について集計を行った。

Fig. 1は、アンケート施行時の認定医療機関と病床数の関係を示す。病床数600から700をピークとして概ね正規的分布を示すが、病床数300以下の施設は少ない。Fig. 2には、ISO 15189認定全170施設、生理機能検査認定に含む124施設、そしてアンケート回答70施設につ

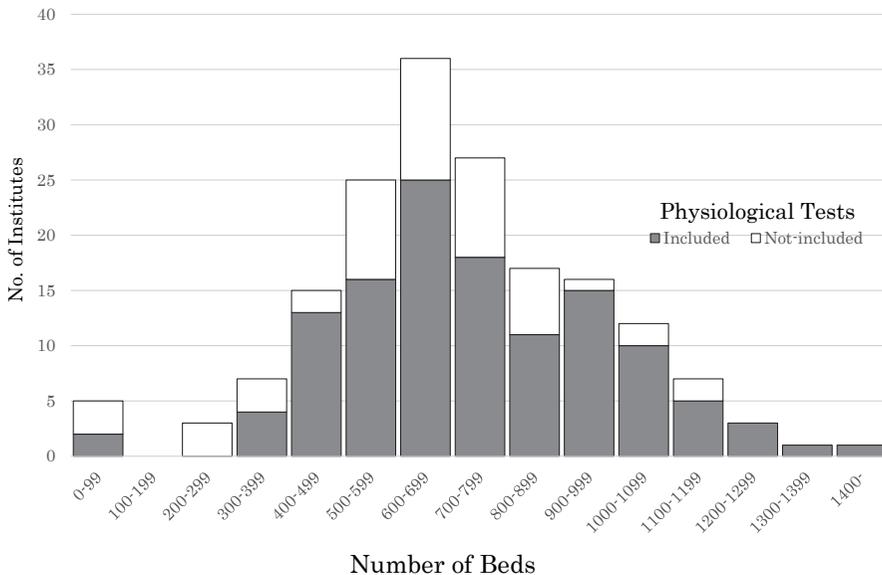


Fig. 1 Number of ISO 15189 accredited institutes by institute scale. Gray bars denote the institutes included physiological tests, and the object of this survey.

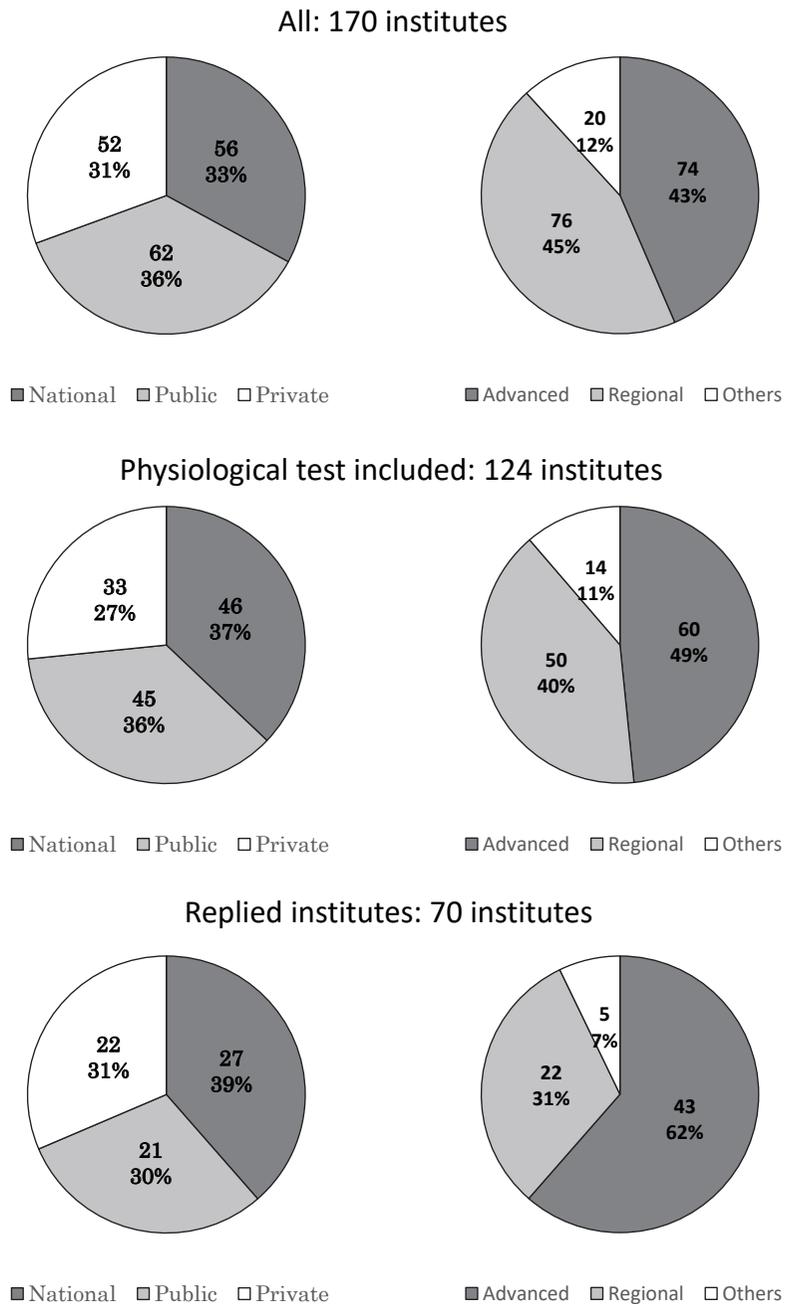


Fig. 2 The characteristics of the institutes in this survey.

いて、病院開設者と病院機能の分布を示した。認定取得施設は、開設者は、国立 (National)、公立 (Public)、私立 (Private)・他が概ね同じ比率となっており、特定機能病院 (Advanced) と地域医療支援病院 (Regional) で8割以上を占めていた。その比率は、生理機能検査の認定を含むか否かでは変化しなかった。解答70施設でも開設者の比率はほぼ等分であったが、病院機能では特定機能病院の比率が大きくなった。医育機関は、認定全施設では75施設 (44%)、生理認定ありでは61施設 (49%)、回答施設では45施設 (63%) であった。医育機関はほとんどが臨床研究中核病院または特定機能病院であり、医育機関以外の施設では地域医療連携病院が多かった。

Fig. 3は、項目ごと年ごとの認定施設数を示す。回答施設では、基幹項目、非基幹項目を取得した施設はほと

んど同じであった。これと比較して、生理分野の認定は2015年から開始されていたため、当然それ以前の認定施設数は0であった。生理の認定年と初回審査の認定年の差を見ると、その中央値が0年であり、これは初回審査で生理分野を含んで審査を受けていた施設数を示す。差が0年ではない施設は、いずれかの時期に拡大審査を受診した施設数を示している。

4) 認定分野

Fig. 4は、回答施設で施行されている検査の種類と、その検査をISO認定範囲内としているか否かを示す。呼吸機能検査では、肺活量、努力性呼吸分画については回答全施設が施行し、また認定範囲としていたが、closing volumeを認定範囲としている施設は60.9% (42施設) であった。FRC、DLCOを認定範囲としている施設は同数でこれより多く92.8% (64施設) であった。心電図検

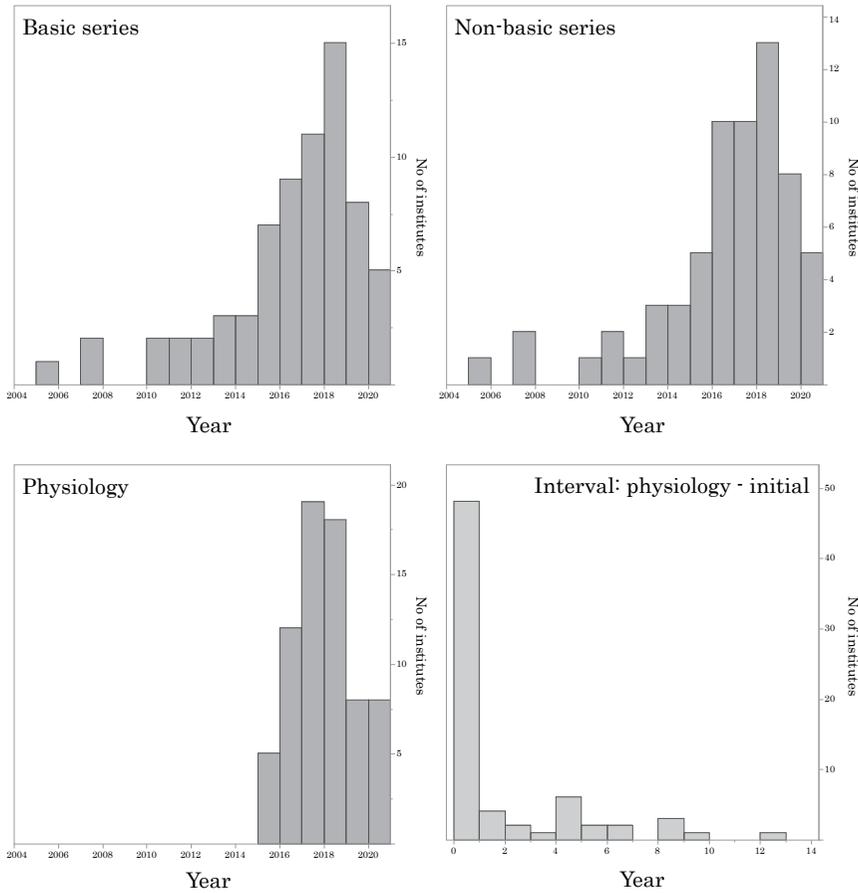


Fig. 3 Histograms showing the accreditation year, by scope of accreditation.

査では、12誘導安静時心電図は69施設全て認定範囲であったが、負荷・ホルター心電図は1割が認定範囲外としていた。超音波検査は、施設の組織形態により施行せずとする施設（2施設）、検査部の要員が施行しない運用のため認定範囲外としている施設など、多様な運用形態が伺われた。施行67施設のうち、認定範囲の部位は、体表面が52.2%（35施設）と最も少なく、腹部70.1%（47施設）、血管77.6%（52施設）、心臓94.0%（63施設）の順に多くなった。脳波・誘発電位は、超音波と同様非施行とする施設（2施設）があり、施行67施設のうち、脳波はほとんどの施設（94%）が認定範囲としていたが、誘発電位を認定範囲に含む施設は、58.2%（39施設）にとどまった。

5) 指摘の項番

今回のアンケート調査では、生理機能検査関連の現地審査時の指摘項目について対応する項番についても調査を行った。Fig. 5は4章、Fig. 6は5章の指摘数を示す。4章では、総数は4.11:予防的処置に関する指摘が多いが、NCが最も多かったのは、4.3:文書管理であった。4.13:記録の管理、4.10:是正処置がこれに続いて指摘の多い項番であった。5章では、今回の本体の調査目的である、5.6:品質の確保は更に細分しているためグラフからは読み取りにくい、項番全体では89件、NCのみでも36件の指摘であり最も多かった。5.6の中では、5.6.4:検査結果の比較についての指摘が多い。ついで、5.5:検査プロセス、5.3:検査室の機材、試薬、及び消耗品と続く。本調査では、

具体的指摘内容については回答を求めているので、個々の項番でどのような指摘がなされたかは不明である。

2. 考察

本アンケート調査は、ISO 15189 認定施設において、生理機能検査の精度管理状況について、国内で施行された初の系統的調査と考えられる。個別分野の調査内容は別に述べられるが、調査の全体像について記載した。最終的にアンケートを回収できたのは、124施設中70施設と多くはないが、各調査項目では詳細な回答項目を設定しており、初回調査としてはある程度、国内で認定下に検査業務を行っている、各施設の状況を反映した結果になっていると考える。

Fig. 1, 2で、全認定医療機関と病床数、病院特性との関係を示したが、認定維持にかかる費用を考慮すると、病床数が大きい病院でないと認定取得の負担が大きいと理解された。また、生理機能検査を含むか含まないかは病床数の分布とはあまり関係しないことがわかる。そしてアンケート回答施設について、開設者の比率は全認定施設と大きく変わらなかったが、特定機能病院の比率が大きくなっていった。これは、同機能病院の従事者に本調査の意図がよりよく理解されていた、調査に協力できる人員が確保できた、等の可能性が考えられる。今後、国内認定施設の全体像を正確に把握するためには、アンケート参加施設のバイアスをなくすべく、全施設からの回答収集を目指す必要がある。また、生理機能を認定に含

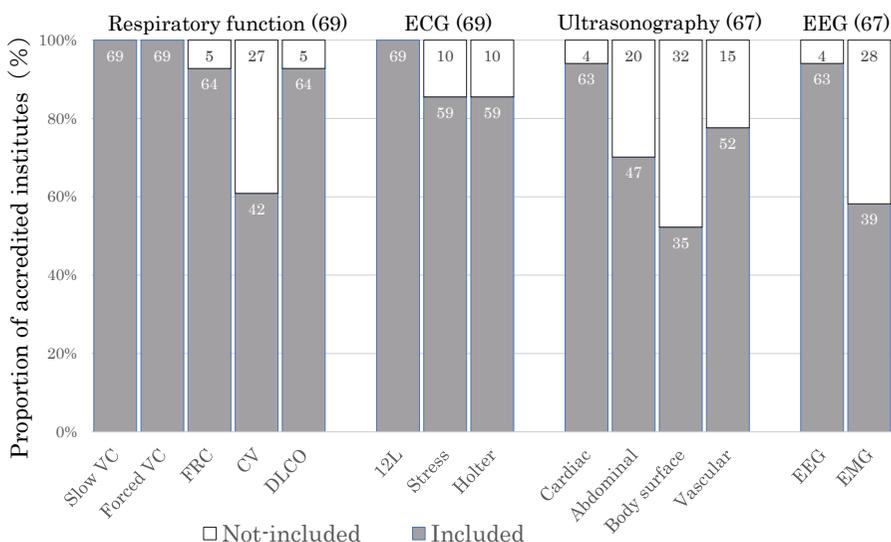


Fig. 4 Proportions of accredited institutes including specific physiological tests

む施設を含め、ISO 15189 認定施設のほとんどが、特定機能病院、地域医療連携病院であったことは、病院規模、診療報酬上の評価の影響が考慮されるが、紹介・逆紹介業務を求められている医療機関として、各施設が検査精度を保証する方向で対応していると理解できる。Fig. 3 で示した、初回認定年と生理機能検査認定年の差は、現状大多数の施設で0年となっていることから、2015年以後新規にISO認定取得を受けた施設の多くは、生理機能検査を含んで審査に臨んだことがわかる。また、初回認

定で生理機能検査を含まなかった施設も、積極的に拡大審査を受け、生理機能検査を認定分野に含もうとしていくことがわかる。

施行検査と認定範囲に関する調査では、認定4分野全てにおいて、検査室が施行する検査全体が認定範囲となっていないことが明らかとなった。この状況は、各施設がいずれは認定範囲に含もうとしているが現段階では見送っている場合、今後も認定範囲に含む予定のない場合の両方が考えられる。超音波、脳波では、部門として施

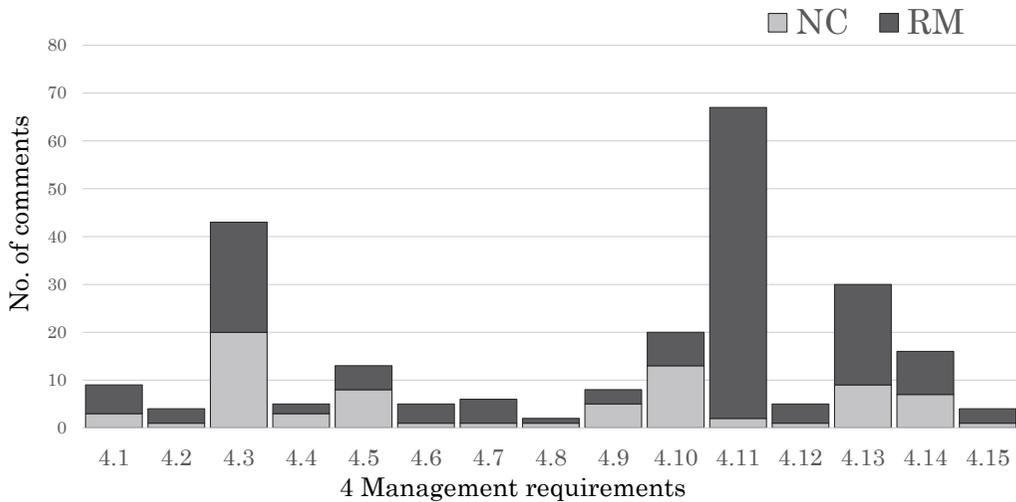


Fig. 5 Total number of comments of each topics in chapter 4.

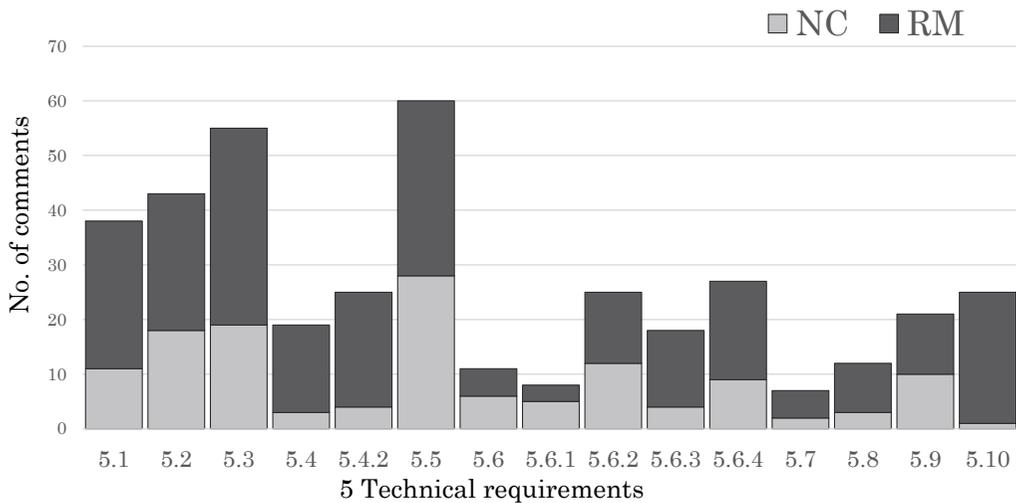


Fig. 6 Total number of comments of each topics in chapter 5.

行していないとの回答が見受けられ、これは、病院内組織として別の部門が検査を行っている場合の回答と判断される。認定範囲外としている場合、同様に別組織の要員が検査を施行している場合、あるいは、検査部門の要員が検査を行っているが運用上の問題から認定外としている場合等、様々な運用実態が想定される。認定範囲外としている場合は、各部門で調査している精度管理状況とは異なった管理となっていると考えられ、医療機関として発出する検査結果として、十分な精度保証がなされているか、診療側・患者側でそのことが明瞭に判断できるようになっているか等、多くの問題を含む状況と考えられる。この点は、検体検査で認められた診療報酬上の評価との関連でも重要な問題を提起する。現在、日本臨床検査医学会をはじめとする関連学会は、生理機能検査においても国際標準検査管理加算に相当する評価を得るため活動を続けているところであるが、施設によって精度管理の対象となる検査項目が大きく異なる状況は、施設に対しての加算要望を厚生労働省に訴えるにあたり、大きな障害となる。

各施設で発生した指摘内容については、今回の調査では詳細な分析はできないが、4章に対応する指摘で、NCとなったものには文書管理に関するものが多かったことは、実際に審査を受けた多くの施設で納得できる結果だと考えられる。予防処置については、実運用でコメントが出やすい項番であると考えられるが、すぐに対処するのは困難な事が多く、RMが多くなったものと理解できる。5章では、SOP関連での指摘が多いことが一般的で、5.5:検査プロセスや5.3材料とならび、5.6:精度管理に関する項番での指摘が多かった。精度管理に関する各施設の実態を明らかにするのが本調査の主目的であり、指摘内容に対する各施設の対応も含め今後、国内の検査室で広く情報共有されていくことを目指したい。

3. おわりに

今回の調査は、本学会の生理検査委員会として初の系統的調査活動であり、参加施設としてはまだまだ充分とは言えない状況である。しかし、国内で、あるいは海外も含め初めて目にするデータも多いと思われる。ISO 15189 認定という第三者認定を共通のバックグラウンドとして、施設間で情報共有を行う事が主目的であるが、国内で生理機能検査を行う施設全般に向け、具体的にどうやって精度管理業務を行っていくのが妥当なのか、一定の手がかりを作り上げていくことも、その次の段階の目標として視野に入れている。また、各施設の業務遂行状況は年々変化していくものであり、単発の調査のみで

情報共有の目的が達成できる物ではない。今回参加いただいた施設には深く感謝すると共に、今後も調査チームとして、データの更新、追加の調査でご協力をお願いする次第である。

- 1) 参議院, 医療法等の一部を改正する法律案に対する附帯決議 第193回国会(常会), https://www.sangiin.go.jp/japanese/gianjoho/ketsugi/193/f069_060601.pdf.
- 2) 大村 直子, 古川 泰司. 生理機能検査の精度管理-ISO 15189認定分野を中心に- 心電図検査. 日本臨床検査自動化学会誌 2019;44:324.
- 3) 岡野 智子, 湯本 真人. 生理機能検査の精度管理-ISO 15189認定分野を中心に- 脳波検査の精度管理. 日本臨床検査自動化学会誌 2019;44:327.
- 4) 田邊 晃子, 東條 尚子. 生理機能検査の精度管理-ISO 15189認定分野を中心に- 精度管理 ISO 15189認定分野を中心に 「スパイログラフイー等検査」. 日本臨床検査自動化学会誌 2019;44:325.
- 5) 竹内 正明. 生理機能検査の精度管理-ISO 15189認定分野を中心に- 心エコーの精度管理 多施設共同研究の結果から. 日本臨床検査自動化学会誌 2019;44:326.

謝辞

アンケートにご協力いただいた、以下の施設に御礼申し上げます。これと別に、施設名開示を希望されなかった施設が35あることを付記させていただきます(RML:認定番号)。

- RML00030 国立大学法人北海道大学北海道大学病院検査・輸血部病理部/病理診断科
- RML00170 国立大学法人東京大学医学部附属病院臨床検査部門
- RML00250 国立大学法人岡山大学岡山大学病院臨床検査部門
- RML00520 公立大学法人横浜市立大学附属病院臨床検査部・輸血細胞治療部
- RML00590 医療法人豊田会刈谷豊田総合病院臨床検査・病理技術科
- RML00620 社会福祉法人恩賜財団済生会支部 大阪府済生会中津病院検査技術部
- RML00630 国立大学法人金沢大学金沢大学附属病院検査部
- RML00710 公益財団法人ちば県民保健予防財団
- RML00720 国立大学法人高知大学医学部附属病院検査部輸血・細胞治療部

RML00750	独立行政法人国立病院機構姫路医療センター臨床検査科	検査部
RML00790	国立大学法人三重大学医学部附属病院中央検査部, 輸血・細胞治療部	RML01440 国立大学法人琉球大学医学部附属病院検査・輸血部
RML00830	国立大学法人東京医科歯科大学附属病院臨床検査部門	RML01450 学校法人愛知医科大学愛知医科大学病院中央臨床検査部, 輸血部, 感染制御部, 病院病理部
RML00840	慶應義塾慶應義塾大学病院臨床検査科, 輸血・細胞療法センター, 病理診断科	RML01530 公立大学法人和歌山県立医科大学和歌山県立医科大学附属病院中央検査部・輸血部・病理診断科
RML00900	学校法人東京医科大学東京医科大学病院中央検査部	RML01590 国立大学法人滋賀医科大学滋賀医科大学医学部附属病院検査部・輸血部
RML00920	国立大学法人広島大学広島大学病院検査部・輸血部・病理診断科	RML01670 学校法人東京歯科大学東京歯科大学市川総合病院臨床検査科
RML00930	公益財団法人がん研究会有明病院臨床病理センター, 臨床検査センター	RML01720 埼玉県埼玉県立がんセンター検査技術部, 病理診断科, 腫瘍診断・予防科
RML00960	国立大学法人大阪大学大阪大学医学部附属病院臨床検査部輸血部病理部放射線部超音波検査センター	RML01850 地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪急性期・総合医療センター臨床検査科
RML00970	学校法人久留米大学久留米大学病院臨床検査部	RML01950 国立大学法人信州大学信州大学医学部附属病院臨床検査部・輸血部
RML00990	地方独立行政法人佐賀県医療センター好生館検査部・輸血部・病理部	RML02060 公益財団法人田附興風会 医学研究所 北野病院 臨床検査部
RML01020	学校法人帝京大学帝京大学医学部附属病院中央検査部	RML02080 学校法人金沢医科大学 金沢医科大学病院 中央臨床検査部, 病院病理部, 血液センター
RML01100	国立大学法人宮崎大学医学部附属病院検査部	RML02100 学校法人埼玉医科大学 埼玉医科大学国際医療センター 中央検査部, 輸血・細胞移植部, 病理診断部
RML01200	学校法人杏林学園杏林大学医学部付属病院臨床検査部	RML02140 公立大学法人福島県立医科大学 福島県立医科大学附属病院 検査部, 輸血・移植免疫部, 病理部
RML01280	公立大学法人奈良県立医科大学附属病院中央臨床検査部・輸血部・病院病理部	RML02160 学校法人川崎学園 川崎医科大学附属病院中央検査部・輸血部・病院病理部
RML01300	京都府公立大学法人京都府立医科大学附属病院臨床検査部, 輸血・細胞医療部	RML02170 独立行政法人国立病院機構 福山医療センター 臨床検査科
RML01350	公立大学法人大阪市立大学医学部附属病院中央臨床検査部輸血部病理部感染制御部	RML02190 地方独立行政法人宮城県立病院機構 宮城県立がんセンター 臨床検査技術部
RML01370	公益財団法人大原記念倉敷中央医療機構倉敷中央病院臨床検査技術部	RML02210 国立大学法人福井大学 福井大学医学部附属病院 検査部・輸血部・病理部
RML01380	青森県青森県立中央病院臨床検査部	
RML01390	学校法人藤田学園藤田医科大学病院臨床検査部	

日本医療検査科学会 生理検査委員会アンケート 分野共通

はじめに：協力施設名の開示について

本領域（分野共通部分）のアンケート内容について、学会・出版物等に発表する場合に、貴施設名を載せて宜しいでしょうか？

- 施設名を開示して良い
 施設名は開示しないで欲しい

貴施設名： _____
 ご所属： _____
 役職： _____
 ご記入代表者名： _____
 連絡先： mail: _____ Fax: _____ Tel: _____

質問

ISO15189 の初回認定年

（認定分野毎にお答え下さい、認定範囲外の場合、“範囲外”とお答え下さい）

基幹項目 _____
 非基幹項目 _____
 病理的検査 _____
 生理機能検査 _____
 その他 _____

生理学的検査の認定範囲（でお答え下さい）

a 呼吸機能検査(スパイログラフィー等検査)

- 肺気量分画測定(安静換気量測定及び最大換気量測定を含む)
 フローボリュームカーブ(強制呼出曲線を含む)
 機能的残気量測定
 肺内ガス分布(クロージングボリューム測定)
 肺胞機能検査(肺拡散能力検査 DLCO)

b 心電図検査

- 四肢単極誘導及び胸部誘導を含む最低 12 誘導
 負荷心電図検査
 ホルター型心電図検査

c 超音波検査

- 心臓超音波検査
 腹部超音波検査
 体表(甲状腺・乳房)超音波検査
 血管超音波検査

d 脳波検査

- 脳波検査（過呼吸、光及び音刺激による負荷検査を含む。）
 脳誘発電位検査(体性感覚、視覚、聴性、脳波聴力検査、脳幹反応聴力検査、中間潜時反応聴力検査)

生理検査の認定分野（4分野共通）について、以下の要求事項・項目で指摘を受けたことがありますか？ NC, RM, なしのみお答えください。

（精度管理に関わる個別内容については、各認定分野でお聞きます）

4.1	組織および管理主体責務	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.2	品質マネジメントシステム	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.3	文書管理	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.4	サービスの合意事項	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.5	委託検査室による検査（ホルター心電図等）	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.6	外部からのサービス及び供給品	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.7	アドバイスサービス	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.8	苦情処理	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.9	不適合の識別及び管理	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.10	是正処置	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.11	予防処置	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.12	継続的改善	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.13	記録の管理	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.14	評価及び監査	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
4.15	マネジメントレビュー	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.1	要員	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.2	施設及び環境条件	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.3	検査室の機材、試薬、及び消耗品	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.4	検査前プロセス	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.5	検査プロセス	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.6	検査結果の品質の確保	<input type="checkbox"/>NC	<input type="checkbox"/>RM	<input type="checkbox"/>なし
5.6.1	一般	<input type="checkbox"/>NC	<input type="checkbox"/>RM	<input type="checkbox"/>なし
5.6.2	精度管理	<input type="checkbox"/>NC	<input type="checkbox"/>RM	<input type="checkbox"/>なし
5.6.3	検査室間比較	<input type="checkbox"/>NC	<input type="checkbox"/>RM	<input type="checkbox"/>なし
5.6.4	検査結果の比較	<input type="checkbox"/>NC	<input type="checkbox"/>RM	<input type="checkbox"/>なし
5.7	検査後プロセス	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.8	結果の報告	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.9	結果の報告（リリース）	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし
5.10	検査室情報マネジメント	<input type="checkbox"/> NC	<input type="checkbox"/> RM	<input type="checkbox"/> なし

重点項目

アンケートは以上です。ご協力いただき、誠に有難うございました。

一般社団法人日本医療検査科学会

2021年度 臨時社員総会

日 時：2021年10月9日（土）16:00～16:20

会 場：パシフィコ横浜 第1会場（503号室）およびWeb会議（Zoom利用）

出席社員：評議員53名 葉書による議決権行使73名

現地にて出席した役員：和田隆志理事長、萩原三千男理事、萱場広之理事、谷直人理事、
中山智祥理事、日高洋理事、藤巻慎一理事、村上正巳理事、
内海健監事、柳原克紀監事

その他の社員は、Zoomにより参加した。

欠席役員：なし

議 長：和田隆志理事長

議事録作成者：佐久間良太

1. 開 会

定款第28条に従って当社員総会の議長を担当する和田理事長より挨拶があった。

2. 本総会成立宣言

総会に先立ち、総務担当の萩原理事より本会の出席者数について次のように報告された。
評議員155名中、出席者総数53名（社員43名、役員10名）で、葉書による議決権行使者73名を含めて全体として126名（81%）との報告があった。これを受けて和田理事長より、定款第30条に照らして本定時社員総会の成立が宣言された。

3. 議事録署名人選出

萩原理事より議事録署名人として松下一之社員と白井秀明社員が選任され、審議に入った。

4. 議案

第1号議案 2022年度事業計画書

- ・萩原理事から2022年度事業計画について資料に基づいて報告があった。
- ・その後質疑応答に入り、特に質問なく採決に進み満場一致をもって可決承認された。

第2号議案 2022年度予算書

- ・萩原理事から2022年度予算について資料に基づいて報告があった。
- ・その後質疑応答に入り、特に質問なく採決に進み満場一致をもって可決承認された。

第3号議案 指名理事選出

- ・和田理事長より指名理事として以下4名が推挙された。
①大川 龍之介（東京医科歯科大学 大学院歯学総合研究科 先端分析検査学）
・意見等はなく採決に進み満場一致をもって可決承認された。
②末岡 榮三朗（佐賀大学医学部 臨床検査医学講座）

- ・意見等はなく採決に進み満場一致をもって可決承認された。
- ③清宮 正徳 (国際医療福祉大学 成田保健医療学部)
- ・意見等はなく採決に進み満場一致をもって可決承認された。
- ④高橋 聡 (札幌医科大学 医学部 感染制御・臨床検査医学講座)
- ・意見等はなく採決に進み満場一致をもって可決承認された。

5. 報告

第1号報告 2023年度春季セミナー(第37回) 例会長

萩原理事より、2023年度春季セミナー第37回例会長の報告があり、担当する東北大学の藤巻慎一例会長より挨拶があった。

6. 本年度大会(第53回) 大会長挨拶

長崎大学の柳原克紀大会長より挨拶があった。

7. 2022年度春季セミナー(第36回) 例会長挨拶

佐賀大学の末岡榮三朗例会長より挨拶があった。

8. 2022年度大会(第54回) 大会長挨拶

大阪大学の日高洋大会長より挨拶があった。

9. その他

特になし

10. 閉会

和田理事長より閉会が告げられた。

2021年 12月 16日

一般社団法人日本医療検査科学会

議長 和田 隆志



議事録署名人 松下一之



議事録署名人 白井秀明



投稿規定

投稿規定が改定されました。
令和3年5月1日以降の投稿に適用します。

(令和元年10月5日改定)

1. 医療検査と自動化（日本医療検査学会誌）に投稿される論文は、臨床検査に関する新知見（自動化に限定せず機器・試薬の検討でも可）のあるもので、他誌に発表されていないものとする。すでにその内容の一部を学会などで発表したものは、その旨を論文末尾に記載する。
2. 投稿者（連名者も含む）は本学会の会員に限る。連名者は臨時会員（論文投稿用）でも可とする。
3. 投稿論文の種類は、原著、技術、症例、短報とする。
機器・試薬の検討は技術へ投稿されたい。原著は、技術の開発・改良、臨床的評価など一歩進めたオリジナリティーのあるもの、または、他の機器・試薬との比較検討を詳細に行い、臨床検査の進歩に寄与するものとする。症例は検査値が臨床的または技術的に興味ある報告とする。
4. 投稿にあたっては、本誌の原稿作成要領に従う。論文投稿に際しては、（一社）日本医療検査学会「医学研究の利益相反（COI）に関する指針に従って、筆頭著者およびCorresponding author（連絡責任者）は「医療検査と自動化 COI申告書」（様式2-Aまたは様式2-B）を提出しなければならない。また、指定の著者チェックリストを添付する。規定に沿わない場合は、返却あるいは訂正を求めることがある。
5. 投稿論文は、いずれも編集委員会の審査により論文の種類（原著、技術など）および採否を決定する。
6. 投稿論文の著作権は日本医療検査学会に帰属するものとする。
7. Corresponding author（連絡責任者）を表紙に明記する。Corresponding authorは論文の審査過程に関わる連絡担当者となるほか、当該論文の責任を負う。
8. 研究倫理に関して：ヒトを対象とした臨床研究に関する論文はヘルシンキ宣言に沿ったものであること。また、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（文部科学省、厚生労働省）を遵守すること。遺伝学的検査に関しては、「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」（文部科学省、厚生労働省、経済産業省）に従うこと。臨床検査を終了した検体を用いた研究に関しては、「臨床検査を終了した残余検体（既存試料）の業務、教育、研究のための使用について—日本臨床検査医学会の見解—」（2018年1月に公表。日本臨床検査医学会ホームページから閲覧可能）を参照のこと。動物実験については、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（日本学術会議）に従うこと。必要な際、当該研究が各施設内の倫理委員会等の承認のもとに行われたことを明記する。

原稿作成要領

1. 投稿原稿はA4判用紙にWordファイルで作成した1行40字×1ページ40行（1600字）の原稿をプリントアウトしたものを原則とする。書体は日本語は明朝体、英語はCentury体を本文の基本書式とし、図表はExcel、WordまたはPowerPointファイルで作成する。欧文と数字は1文字のときは全角、2文字以上は半角で入力する。数字と単位の間には半角スペースを入れて記述する。また、入力ソフト名・タイトル・著者名・所属機関名を明記した電子媒体（CDなど）を提出する。原稿の表紙には次の事項を記載する。
 - 1) 表題（和文および英文）
 - 2) 著者名（和文および英文）
 - 3) 所属機関名とその住所（和文および英文）
 - 4) 原著、技術、症例、短報いずれを希望かを明記（英文の例：Koki MOTEGI）
2. 原著原稿は次の順序に配列することが望ましい。
 - (1)表紙（1. 参照）(2)本文（i 参照）、(3)表、(4)図（写真など）とその説明
 - i. 本文は、要旨（英文で200語以内）、キーワード（英文で5項目以内）。はじめに、材料および方法（測定機器、測定原理など）、成績、考察、結論、文献の順序に記載する。
 - ii. 文献は必要最低限にし、引用順に番号をつけ、本文最後に一括して記載する。本文中の引用箇所には肩付きで、右片括弧に入れて記載する。文献の記載法を別表1に示す。
3. 技術原稿もこれに準ずる、但し英文要旨に替えて和文要旨を要する。
4. 原著の規定頁数は原則として1編につき刷り上がり8頁以内、技術および症例は6頁以内とする（1頁分は1600字に相当する）。
図と表は、あわせて10枚以内とする（図表は1枚、400字に相当する）。
短報は刷り上がり2頁以内、図と表はあわせて3枚以内とする。

	英文要旨	和文要旨	本文原稿枚数 (1枚1600字)	図表	刷上り頁数
原著	200語	—	8枚以内	10枚以内	8頁以内
技術	—	250字	6枚以内	10枚以内	6頁以内
症例	—	250字	6枚以内	10枚以内	6頁以内
短報	—	—	2枚以内	3枚以内	2頁以内

上記の規定頁数を超過した場合はその分の実費を徴収する。

- 文章は、口語体、当用漢字、新かな遣いとし、横書き。句読点、括弧は1字分を要し、改行のさいは、冒頭1字分あける。外国人名は原語とし、地名は適宜とする。外来語で日本語化したものはカタカナで、ほかは外国語綴りのままとする。
- 図・表タイトルの内容、説明は英文で、別紙にまとめて記載する。原則として原図を送付すること。また、図・表・写真は1枚ごと別紙にして通し番号を入れ、本文原稿の欄外に挿入箇所を明示する。当方でトレースを必要とする場合、あるいはカラー印刷を希望する場合は、実費を徴収する。
- 度量衡の単位は漸次SI単位による表現を採用するが、差し当り別表2に示すようにする。
- HbA1cの表記については、日本糖尿病学会の指針に基づき、NGSP値を用い、HbA1c値の初出にNGSP値であることを明記する。
- 投稿原稿が英文の場合も和文の規定に準ずるが、この際には和文抄録(800字以内)も示す。
- 別刷は最低50部として実費を請求する。別刷の部数は編集委員会から著者校正時に問い合わせる。
- 投稿論文は、オリジナル原稿1部、電子媒体(CDなど)を下記に送付する。

〒113-0033 東京都文京区本郷2-31-2 (笠井ビル)

「医療検査と自動化」編集委員会宛

Tel. 03-3818-3205/Fax. 03-3818-6374 E-mail: t-gaku@gk9.so-net.ne.jp

別表1 引用文献

著者名は3名以内の場合は連記、4名以上は第4著者以降をほか(英文の場合はet al.)とする。英文は姓、名(イニシャル)の順とする。雑誌名は略記とする。

(雑誌)

著者名、論文タイトル、雑誌名、発行年(西暦):巻:頁-頁(通巻頁で最初と最後)。

例) 奈良信雄, 室橋郁夫, 松本文枝ほか. マイコプラズマ感染症の診断におけるDNAプローブ法の有用性に関する研究. 感染症誌 1991; 65: 1527-1532

Thue G, Gordon MK, Gerecke DR, et al. Survey of office laboratory tests in general practice. Scand J Prim Health Care 1994; 12: 77-83.

(単行本)

著者名、論文タイトル、編者名、書名、版、出版社名:発行地、発行年(西暦)頁-頁。

例) 三橋知明, 甲状腺ホルモン受容体異常, 中井利昭ほか編, 遺伝子診断実践ガイド, 第1版, 中外医学社:東京, 1995: 185-188.

Goldfin A Adrenal medulla. In: Greenspan FS, Baxter JD, eds, Basic & Clinical Endocrinology, 4th ed, Appleton & Lange: Conneticut, 1994: 370-389.

(抄録集)

発表者名、演題名、抄録集名(学会誌名 発行年(西暦)巻):頁

例) 佐藤勇樹, 近藤崇, 盛合美加子ほか. 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)新規検出法の検出率に関する検討. 日本医療検査学会第52回大会抄録集(医療検査と自動化2020: 45(4)): 446.

(ただし、基本的には本学会の抄録集より引用することとする)

別表2 度量衡の単位

a) 接頭語には次のものを用いる。

10^{-18} =a (atto)	10^{-6} = μ (micro)	10=da (daca)	10^9 =G (giga)
10^{-15} =f (femto)	10^{-3} =m (milli)	10^2 =h (hecto)	10^{12} =T (tera)
10^{-12} =p (pico)	10^{-2} =c (centi)	10^3 =k (kilo)	10^{15} =P (peta)
10^{-9} =n (nano)	10^{-1} =d (deci)	10^6 =M (mega)	10^{18} =E (exa)

b) 接頭語を二重に用いない。 $\mu\mu\text{g}$ ($\gamma\gamma$) \rightarrow μg

c) 長さに関する単位は $\text{m}\mu \rightarrow \text{nm}$, $\text{\AA} \rightarrow 0.1\text{nm}$ (あるいは100pm), $\mu \rightarrow \mu\text{m}$ などとする。

d) 容量の単位は「L」を用い、 dm^3 , cc , cm^3 などを用いない。 $\text{dm}^3 \rightarrow \text{L}$, $\text{cc} \rightarrow \text{mL}$, $\text{mm}^3 \rightarrow \mu\text{L}$

e) 濃度に関する単位は、モル濃度は mol/L とし、慣用として mol/L をMとしてもよい。その他は mg/dL , g/dL , g/L などとするが、分母を「L」におきかえることが望ましい。 $7\text{g/dL} \rightarrow 70\text{g/L}$, $100\text{mg/dL} \rightarrow 1\text{g/L}$ (1,000mg/L) 原則として分母に接頭語をつけない。分子量の確定しているものは漸次モル濃度におきかえることが望ましい。

f) $\text{mol/min/L} \rightarrow \text{mol}/(\text{minL}^{-1})$, または $\text{mol min}^{-1}\text{L}^{-1}$ とする。

追記

標準化に関連した用語の定義や意味については「JCCLS 用語委員会: 臨床検査関係 ISO国際規格の用語とその邦訳語(ver.11). 日本臨床検査標準協議会誌 18(1): 3-41, 2003」を参照する。なお、CLSI(IHNCCLS)のwebsite (<http://www.clsi.org>)でも検索できる。

「医療検査と自動化」論文投稿時の著者チェックリスト

1. 投稿者は（一社）日本医療検査科学会会員であるか
2. 同じ内容の論文を他誌に発表していないか
3. 研究倫理に関して投稿規定に沿っているか
4. 論文の内容が施設内倫理委員会の承認を必要とする際は、承認を得ている旨、明記しているか
5. 論文の体裁について
 - (a) 表紙に (1)表題、(2)著者名、(3)所属機関名とその所在地 (4)論文の種類（原著、技術、症例、短報）を明示しているか
 - (b) 原稿の字数は原稿作成要領に沿っているか
(原著：本文は A4判用紙（40字×40行=1600字）8枚以内、図表は10枚以内、技術・症例：本文は6枚以内、図表は10枚以内、短報：本文は2枚以内、図表は3枚以内)
 - (c) 論文の体裁（配列）は原稿作成要領に沿っているか
 - (d) 原著の場合、要旨は英文で記載されているか
 - (e) 図表のタイトル、説明文は英文で記載されているか
 - (f) 本文中に図表の挿入箇所を明示しているか
 - (g) 引用文献の記載方法は原稿作成要領に沿っているか
 - (h) 度量衡の単位は原稿作成要領に沿っているか
 - (i) 原稿にページ数を記載しているか
 - (j) Corresponding author（連絡責任者）および連絡先を記載しているか
6. 全著者は本論文投稿への関与を確認し、自署して下さい。

著者名	会員番号 または臨時会員

著者名	会員番号 または臨時会員

- 付記 1. 論文の内容は臨床検査に関する新知見のあるもので、他誌に未発表のものに限ります。
2. 掲載された論文の著作権は全て（一社）日本医療検査科学会に帰属します。
3. 論文の表紙にCorresponding author（連絡責任者）および連絡先を記載すること。
4. 会員または臨時会員の登録手続き中の場合は、その旨記載して下さい。

様式 2-A (論文投稿用)

医療検査と自動化 (日本医療検査科学会誌) COI 申告書
(筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) が企業に属さない場合)

著者名: _____

(共著者を含む)

論文題名: _____

(筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) について、投稿時から遡って過去 2 年以内での論文内容に関する企業・組織または団体との COI 状態を記載)

項目	該当の状況	有であれば著者名：企業名などの記載
① 本人あるいは配偶者、一親等の親族の営利を目的とする企業・法人組織・団体の社員、役員、顧問職への就任 1つの企業・組織や団体からの報酬額が年間100万円を超えた場合.	有 ・ 無	
② 株式の利益 1つの企業から年間100万円を超えた場合、あるいは当該株式の5%以上保有	有 ・ 無	
③ 特許使用料 1つにつき年間100万円を超えた場合	有 ・ 無	
④ 講演料 1つの企業・団体からの年間合計100万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑤ 原稿料 1つの企業・団体から年間合計100万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑥ 研究費・助成金などの総額 1つの企業・団体からの研究経費を共有する所属部局 (講座、分野あるいは研究室など) に支払われた年間総額が100万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑦ 奨学 (奨励) 寄付金などの総額 1つの企業・団体からの奨学寄付金を共有する所属部局 (講座、分野あるいは研究室など) に支払われた年間総額が100万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑧ 企業などが提供する寄付講座 (企業などからの寄付講座に所属している場合に記載)	有 ・ 無	
⑨ 旅費、贈答品などの受領 1つの企業・団体から年間5万円を超えた場合	有 ・ 無	

(本 COI 申告書は論文掲載後 2 年間保管されます)

(申告日) 年 月 日

筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) (署名) _____ (印)

(何れかに○)

*筆頭著者、Corresponding author (連絡責任者) は各々記載すること

様式 2-B (論文投稿用)

医療検査と自動化 (日本医療検査科学会誌) COI 申告書
(筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) が企業に属する場合)

著者名 : _____

(共著者を含む)

論文題名 : _____

私は (〇〇株式会社) の社員であり、本研究に関わる費用等は所属企業の経費等にて支払われています。
(上記を参考に記載)

(申告日) 年 月 日 (本 COI 申告書は論文掲載後 2 年間保管されます)
筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) (署名) _____ ④
(何れかに○)

*筆頭著者、Corresponding author (連絡責任者) は各々記載すること

特別賛助会員

アークレイマーケティング(株)	160-0004	東京都新宿区四谷1-20-20 大雅ビル 3F
シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス(株)	141-8673	東京都品川区大崎1-11-1ゲートシティ大崎ウェストタワー
シスメックス(株)	651-2241	兵庫県神戸市西区室谷1-3-2
(株)テクノメディカ	224-0041	神奈川県横浜市都筑区仲町台5-5-1
(株)日立ハイテック	105-8717	東京都港区虎ノ門1-17-1 虎ノ門ヒルズビジネスタワー
富士フイルム和光純薬(株)	103-0023	東京都中央区日本橋本町2-4-1 日本橋本町東急ビル 6F

賛助会員

アイ・エル・ジャパン(株)	108-0073	東京都港区三田1-3-30 三田神田ビル
(株)アイディエス	861-8031	熊本県熊本市東区長嶺東8-14-30
アボットジャパン(同)	108-6305	東京都港区三田3-5-27 住友不動産三田ツインビル西館
アルフレッサファーマ(株)	540-8575	大阪府大阪市中央区石町2-2-9
(株)エイアンドティー	221-0056	神奈川県横浜市神奈川区金港町2-6 横浜プラザビル
栄研化学(株)	110-8408	東京都台東区台東4-19-9 山口ビル7
(株)エクセル・クリエイツ	542-0081	大阪府大阪市中央区南船場1-16-13 堺筋ベストビル 5F
(株)LSIメディエンス	101-8571	東京都千代田区内神田1-13-4 THE KAITTEKIビル
オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス(株)	141-0032	東京都品川区大崎1-11-2 ゲートシティ大崎イーストタワー
(株)カイノス	113-0033	東京都文京区本郷2-38-18
関東化学(株)	103-0022	東京都中央区日本橋室町2-2-1
キヤノンメディカルシステムズ(株)検体検査システム営業部	212-0015	神奈川県川崎市幸区柳町70-1
極東製薬工業(株)	103-0024	東京都中央区日本橋小舟町7-8
合同酒精(株)酵素医薬品研究所	271-0064	千葉県松戸市上本郷字仲原250
(株)シノテスト	101-8410	東京都千代田区神田駿河台3-7-9
(株)CGI	106-0041	東京都港区麻布台1-7-3 神谷町スクエアビル 8F
積水メディカル(株)	103-0027	東京都中央区日本橋2-1-3
セラビシオン・ジャパン(株)	220-0004	神奈川県横浜市西区北幸1-11-5 相鉄KSビル 9F
テルモ(株)	163-1450	東京都新宿区西新宿3-20-2 東京オペラシティタワー 49F
デンカ(株)	103-8338	東京都中央区日本橋室町2-1-1
東京貿易メディシス(株)	191-0052	東京都日野市東豊田1-14-21
東ソー(株)	105-8623	東京都港区芝3-8-2
東洋鋼鈹(株)技術研究所	744-8611	山口県下松市東豊井1296
日水製薬(株)	110-8736	東京都台東区上野3-24-6 上野フロンティアタワー 20F
ニッターポーメディカル(株)	102-0083	東京都千代田区麹町2-4-1 麹町大通りビル
ニプロ(株)	531-8510	大阪府大阪市北区本庄西3-9-3
日本光電工業(株)	161-8560	東京都新宿区西落合1-31-4
日本電子(株)	100-0004	東京都千代田区大手町2-1-1 大手町野村ビル 13F
ノバ・バイオメディカル(株)	104-6007	東京都中央区晴海1-8-10 トリトンスクウェアタワー X 7F
バイオ・ラッド ラボラトリーズ(株)	140-0002	東京都品川区東品川2-2-24 天王州セントラルタワー
ピオメリュー・ジャパン(株)	107-0052	東京都港区赤坂2-17-7 赤坂溜池タワー 2F
(株)日立製作所	110-0015	東京都台東区東上野2-16-1 上野イーストタワー 8F
富士フイルムメディカル(株)	106-0031	東京都港区西麻布2-26-30 富士フイルム西麻布ビル
富士フイルム和光純薬(株)三重工場	510-1222	三重県三重郡菰野町大強原2613-2
富士レビオ(株)	163-0410	東京都新宿区西新宿2-1-1 新宿三井ビル
古野電気(株)	662-0934	兵庫県西宮市西宮浜2-20
平和物産(株)	550-0012	大阪府大阪市西区立売堀1-3-13
ベックマン・コールター(株)	135-0063	東京都江東区有明3-5-7 TOC 有明ウエストタワー 13F
(株)ベリタス	105-0013	東京都港区浜松町1-10-14 住友東新橋ビル3号館 5F
(株)ヘレナ研究所	330-0061	埼玉県さいたま市浦和区常盤9-21-19
(株)堀場製作所	601-8510	京都府京都市南区吉祥院宮の東町2
(株)ミズホメディール	841-0048	佐賀県鳥栖市藤木町5-4
ミナリスメディカル(株)	104-6004	東京都中央区晴海1-8-10
メルク(株)メルクミリポア事業本部	153-8927	東京都目黒区下目黒1-8-1 アルコタワー 5F
ラジオメーター(株)	140-0001	東京都品川区北品川4-7-35
ロシュ・ダイアグノスティックス(株)	105-0075	東京都港区港南1-2-70 品川シーズンテラス

(令和3年12月25日現在)

編集後記

この編集後記を執筆している令和3年12月2日は、札幌では朝から雪が降り積っています。いつもと変わらない師走ですが、残念ながら令和3年も新型コロナウイルスに翻弄された1年でした。第46巻の編集後記でも記しましたが、新型コロナウイルスに翻弄されながらも、負けてなるものかと多くの論文を投稿していただきました。このような厳しい状況下でも地道に研究を行い論文にまとめて投稿してくださった著者の皆さんに感謝申し上げます。

第47巻1号では、大阪大学の日高 洋先生が総説として「甲状腺機能検査の再検基準」を寄稿してくださいました。甲状腺検査と診療の専門家でいらっしゃる先生に、real-life clinical practiceを反映する現状の分析、事例集、そして、再検基準まで言及していただいた示唆に富む内

容の総説です。今後の臨床的課題である「再検基準」については、最後に我々に宿題(?)もご提示いただきました。学術集会などで大いに議論したいところです。さらに、1編の原著、9編の技術、1編の症例、1編の生理検査委員会2020アンケート集計概要が掲載されており、広い分野の自動化機器による検査の研究結果がまとめられており興味深い内容となっています。

執筆時点では落ち着きを取り戻しつつあるものの、海外では変異株の動向にも注目が集まっており、我が国でも変異株による感染拡大が危惧されています。しかし、ワクチン、抗体療法、経口治療薬など、人類の英知の結集で克服することができるだろうと、出口のないトンネルはないのだ、と信じています。

(編集委員長 高橋 聡)

「医療検査と自動化」編集委員会

編集委員長 高橋 聡

副編集委員長 石井潤一

編集幹事 村上正巳, 盛田俊介, 横田浩充

編集委員 阿部正樹, 石井良和, 磯部和正, 氏家真二, 大久保滋夫, 長田 誠, 萱場広之, 栢森裕三, 康 東天, 澤部祐司, 静 怜子, メ谷直人, 白井秀明, 清宮正徳, 千本松孝明, 竹越一博, 通山 薫, 中山智祥, 南木 融, 野村文夫, 萩原三千男, 春木宏介, 菱沼 昭, 日高 洋, 藤巻慎一, 松尾収二, 三島清司, 三橋知明, 行正信康, 和田隆志

英文校閲 S. Bernice Miwa

医療検査と自動化 (日本医療検査科学会誌)

—Clinical Laboratory Science Journal—

第47巻 第1号 (通巻第261号) 2022年2月1日発行

発行 一般社団法人 日本医療検査科学会

発行人 和田隆志

事務所 〒113-0033 東京都文京区本郷4-2-5

Tel.03-3813-6635 Fax.03-3813-6679

ホームページ <https://jcls.or.jp> e-mail : office@jcls.or.jp

制作 「医療検査と自動化」編集委員会

〒113-0033 東京都文京区本郷2-31-2

Tel.03-3818-3205 Fax.03-3818-6374

e-mail : t-gaku@gk9.so-net.ne.jp

送付先変更等の手続きのご案内

入会・送付先変更・退会のご用命は、本学会ホームページに記載しております「会員マイページ」より手続きが行えます。補冊購入のご注文は上記学会事務所までE-mail・Fax・郵送にてご連絡下さい。
