

医療検査と自動化

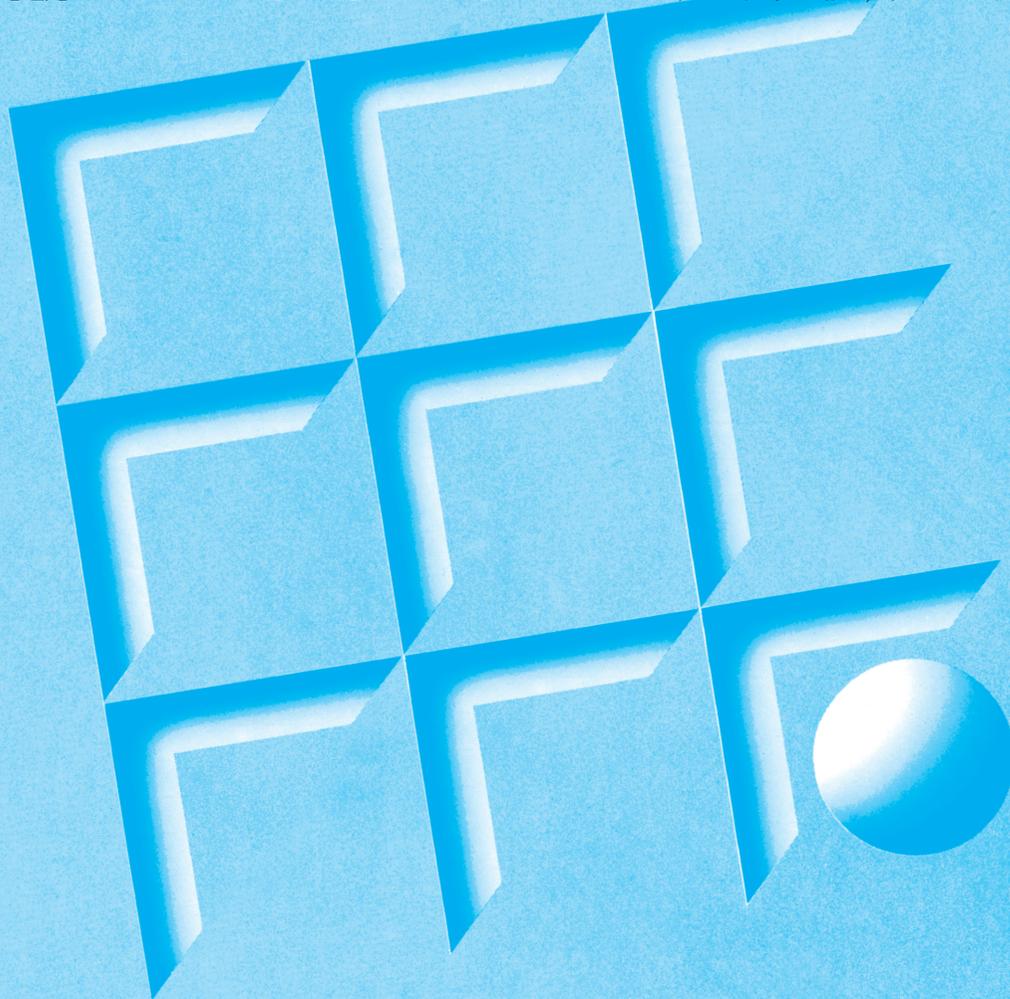
(日本医療検査科学会誌)

Clinical Laboratory Science Journal

第54回大会公告(第4報)

第54回大会技術セミナー開催案内

総説:がんのリキッドバイオプシー…大塚弘毅, 大西宏明



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264号

3

2022年5月吉日

会員各位

一般社団法人 日本医療検査科学会
理事長 和田 隆志
POC 技術委員会 委員長 奥田 優子

第2回認定 POC コーディネーター認定試験について

日本医療検査科学会認定 POC コーディネーター受験資格(認定 POC コーディネーター資格制度規程・細則を参照)に基づき以下の通り第2回認定 POC コーディネーター認定試験を実施いたします。

試験案内	2022年5月上旬
受験申請開始	2022年8月1日
受験申請締切り	2022年8月31日
受験票発送	2022年9月上旬
認定試験実施日	2022年10月9日(日)

*日本医療検査科学会 第54回大会最終日午後の予定

なお、大会が新型コロナウイルス感染症拡大により現地開催されない場合は延期することがあります。

合格発表	2022年12月
認定証発行申請	2023年2月
認定証発行	2023年4月

認定試験に関してご不明な点がございましたら、POC 技術委員会事務局まで、お問い合わせ下さい。

問い合わせ先：一般社団法人 日本医療検査科学会
POC 技術委員会事務局
poc@jcls.or.jp

2022(令和4年度)第29回論文賞 授賞論文

一般社団法人日本医療検査科学会
理事長 和田 隆志
論文賞選定委員会
委員長 高橋 聡

「医療検査と自動化」46巻1～5号に掲載された全論文に対し、編集委員および選定委員の採点で高得点を得た下記2論文が2022(令和4年)度第29回論文賞に選定されましたのでお知らせいたします。

1. 服部 琴ノ氏(琉球大学病院 検査・輸血部)Vol.46-1, 13-18、原著
「尿路感染症診療におけるフローサイトメトリー方式全自動尿中有形成分分析装置の有用性」
2. 田中 満里奈氏(埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究科)Vol.46-3, 215-222、原著
「LD 活性測定における H 型および M 型サブユニットの反応性の相違に関する検討—JSCC 法および IFCC 法における活性値の乖離との関係—」

年会費納入について

年会費の納入は、2月上旬に送付された請求書に従い、ホームページの「会員マイページ」よりお支払い下さい。支払い方法はクレジットカード、コンビニ、郵便振替がご利用いただけます。年会費7,000円(4月～3月までの1年)は前納制となっております。氏名未記載の場合は入金処理できませんのでご注意ください。よろしくお願い致します。

会員には大会抄録集および補冊が送付されます。会誌には委員会活動や技術セミナーなどの案内が掲載されています。

退会される場合は3月末(前年度末)までに退会届を提出して下さい。年度途中での退会は、その年度の年会費をお支払頂くことになります。

ご不明な点がございましたら下記事務局までお問い合わせください。

一般社団法人日本医療検査科学会事務局
〒113-0033 東京都文京区本郷 4-2-5 MAビル6F
TEL : 03-3813-6635 FAX : 03-3813-6679
e-mail : office@jcls.or.jp



日本医療検査科学会
第54回大会 公告(第4報)

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



大会テーマ：「医療を支える科学的な臨床検査」



—— 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～」

松村 泰志(国立病院機構大阪医療センター)

理事長講演：「バイオマーカー開発と産学連携への期待」

和田 隆志(金沢大学大学院)

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」

市原 清志(山口大学大学院)

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」

横田 浩充(慶應義塾大学病院)

シンポジウム 1：「溶血検体、混濁検体の測定、どうしてですか？」

1) 溶血・混濁の発生機序と対策

清宮 正徳(国際医療福祉大学)

2) 生化学自動分析装置の血清情報の仕組みと基準

藤本 一満(倉敷芸術科学大学)

3) 生化学・免疫項目における溶血・混濁の影響と対策法

姫野 美保(ファルコバイオシステムズ総合研究所)

4) 血液検査における溶血・混濁の影響と対応

田辺 祐也(京都第二赤十字病院)

シンポジウム 2：「甲状腺の検査」

1) 機械学習ソフトを用いた一般血液検査からの甲状腺中毒症の予測について

吉原 愛(伊藤病院)

2) 医師と技師の協力により作成した甲状腺機能検査の再検査基準

畑 伸顕(大阪大学医学部附属病院)

3) 甲状腺超音波検査と過剰診断—福島での甲状腺検査の経験から—

緑川 早苗(宮城学院女子大学)

シンポジウム 3：(仮題)「尿一般検査における精度管理」

1) (仮題)標準化の現状と展望

菊池 春人(済生会横浜市東部病院)

2) (仮題)自動分析装置の機種間差やメーカー間差

堀田 真希(大阪大学医学部附属病院)

3) (仮題)内部精度管理の実例と ISO 対策

神山 恵多(群馬大学医学部附属病院)

- 4) (仮題)外部精度管理の活用方法
横山 貴(東京女子医科大学病院)

シンポジウム4：「理想の臨地実習について考える」(私立医科大学臨床検査技師会共催)

- 1) 依頼側代表
坂本 秀生(神戸常盤大学)
- 2) 学生実習代表
山田 夏妃(杏林大学)、松下 里奈(神戸常盤大学)
- 3) 臨地実習施設代表
桑原 喜久男(新潟県済生会三条病院)

JACLaS 共催国際シンポジウム(国際交流委員会)

モーニングセミナー1：「生化学・免疫検査における再検査、どうしてますか？」

- 1) 病院検査室における再検基準、頻度、落とし穴、工夫など
山本 裕之(京都府立医科大学附属病院)
- 2) 検査センターにおける再検基準、頻度、落とし穴、工夫など
藤本 一満(倉敷芸術科学大学)

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」

- 1) 当院における血球計数の再検について
屋代 いづみ(獨協医科大学病院)
- 2) 血液凝固・線溶検査に異常があった場合の再検査や対処方法
～血液検査機器技術委員施設の例を紹介～
内藤 麻美(つくば i-Laboratory LLP)

技術セミナー

科学技術セミナー、遺伝子・プロテオミクス技術セミナー、POC セミナー
血液検査機器技術セミナー、医療情報技術セミナー
微生物検査・感染症技術セミナー、生理検査技術セミナー

ランチョンセミナー、機器・試薬セミナー、サテライトセミナー

RCPC

論文賞受賞講演、優秀演題賞受賞講演、JACLaS Award 受賞講演

日本医療検査科学会第54回大会 日程表（一般演題は予定）

会場 日時	総合受付 (1Fホワイエ)	第1会場 (1Fメインホール)	第2会場 (3F国際会議室)	第3会場 (3Fレセプションホール)	第4会場 (401+402号室)	第5会場 (403号室)	
第1日目 (10月7日) (金)	9:50		大会長挨拶				
	10:00						
	11:00		シンポジウム1 (科学技術委員会企画)		一般演題	一般演題	一般演題
	11:40				一般演題	一般演題	一般演題
	12:00		ランチョンセミナー①		ランチョンセミナー②	ランチョンセミナー③	ランチョンセミナー④
	12:50	◇総合受付					
	13:00	◇PC受付					
	14:00		血液検査機器 技術セミナー		POCセミナー 【講習】	一般演題	一般演題
	14:50					一般演題	一般演題
	15:00						
	16:00			POCセミナー 【実技】	一般演題	一般演題	一般演題
	17:00				一般演題	一般演題	一般演題
	17:30						
18:00							
20:00			サテライトセミナー				
第2日目 (10月8日) (土)	8:00		モーニングセミナー1 臨床化学				
	8:50						
	9:00		特別講演				
	9:50						
	10:00		教育講演1	シンポジウム2 (甲状腺の検査)	優秀演題賞講演	一般演題	一般演題
	10:50		教育講演2		論文賞受賞講演	一般演題	一般演題
	11:00	◇総合受付					
	11:40	◇PC受付					
	12:00		ランチョンセミナー⑦	ランチョンセミナー⑧	ランチョンセミナー⑨	ランチョンセミナー⑩	ランチョンセミナー⑪
	12:50						
	13:00			機器試薬セミナーI	機器試薬セミナーII		
	15:00						
	16:00		臨時社員総会				
16:20		会員総会 委員会報告					
17:30							
17:40		17:40～ 合同交流会 論文賞、優秀演題賞、JACLaS Award表彰式 ※合同交流会の開催がない場合は、表彰式は会員総会の中で実施します。					
19:00							
第3日目 (10月9日) (日)	8:00		モーニングセミナー2 血液学				
	8:50						
	9:00		理事長講演	一般演題	一般演題	一般演題	
	9:50						
	10:00		シンポジウム3 (尿一般検査における 精度管理)	RCPC	一般演題	一般演題	
	11:00				一般演題	一般演題	
	11:40	◇総合受付					
	12:00	◇PC受付					
	12:50		ランチョンセミナー⑮	ランチョンセミナー⑯	ランチョンセミナー⑰	ランチョンセミナー⑱	
	13:00						
	14:00		科学技術セミナー 【講習】	シンポジウム4 (私立医科大学臨床 検査技師会 共催)	生理検査技術セミナー	微生物検査・感染症技術 セミナー【講習】	
	14:10						一般演題
	14:40						
15:00						微生物検査・ 感染症技術セミナー 【実技】	
15:30							
15:40							

会場 日時	第6会場 (501号室)	第7会場 (502号室)	第8会場 (504+505号室)	クローク (B1Fリハーサル室)	国際展示場 (1・2・3号館)
第1日目 (10月7日) (金)	10:00				
	11:00	一般演題	一般演題		
	11:40	一般演題	一般演題		
	12:00				
	12:50	ランチョンセミナー⑤	ランチョンセミナー⑥		
	13:00	遺伝子・プロテオミクス 技術セミナー【講習】			
	14:00		JACLaS共催 国際シンポジウム		
	14:10	一般演題		遺伝子・プロテオミクス 技術セミナー 【実技】	JACLaS EXO 2022 13:00~17:30
	15:00	一般演題	一般演題		
	15:40	一般演題	一般演題		
	16:00	一般演題	一般演題		
	17:00				
17:30					
18:00	サテライトセミナー				
20:00	サテライトセミナー				
第2日目 (10月8日) (土)	9:30				
	10:00	一般演題	JACLaS Award I・II 受賞講演	一般演題	
	11:00	一般演題		一般演題	
	11:40				
	12:00	ランチョンセミナー⑫	ランチョンセミナー⑬	ランチョンセミナー⑭	JACLaS EXO 2022 9:30~17:30
	12:50				
	13:00	POCコーディネータ 更新セミナー			
	15:00				
	17:30				
	17:40	17:40~ 合同交流会 論文賞、優秀演題賞、JACLaS Award表彰式 ※合同交流会の開催がない場合は、表彰式は会員総会の中で実施します。			
19:00					
第3日目 (10月9日) (日)	9:00				
	9:30	一般演題	一般演題	一般演題	
	10:00	一般演題	一般演題	一般演題	
	11:00	一般演題	一般演題	一般演題	
	11:40				
	12:00		ランチョンセミナー⑰	ランチョンセミナー⑱	JACLaS EXO 2022 9:30~14:00
	12:50				
	13:00				
	14:00	医療情報技術セミナー	一般演題	一般演題	
	14:50		一般演題	一般演題	
15:00					

会議室使用一覧

		302号室	303号室	304号室	305号室	306号室	307号室	404号室	
第1日目 (10月7日/金)	9:00	シンポジウム1 控室							
	10:00								
	11:00								
	12:00	JACLaS共催 国際シンポジウム 控室							
	13:00								
	14:00								
第2日目 (10月8日/土)	7:00	モーニングセミナー 控室							
	8:00	特別講演 控室							
	9:00	教育講演1 控室	シンポジウム2 控室						
	10:00								
	11:00	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室
	14:00								
第3日目 (10月9日/日)	7:00	モーニングセミナー 控室							
	8:00	理事長講演 控室							
	9:00	シンポジウム3 控室	RCPC 控室						
	10:00								
	11:00	シンポジウム4 控室	ランチョンセミナー 控室						
	12:00								
13:00									
14:00									

		405号室	406号室	407号室	503号室	控室3・4 (B1F)	控室1 (B1F)
第1日目 (10月7日/金)	9:00				神戸国際・サンブラ・JACLaS・JCLS会議	学会事務局	大会運営事務局 (サンブラネット)
	10:00						
	13:00				科学技術委員会		
	14:30						
	15:00						
	16:00		国際交流委員会				
	16:30	遺伝子・プロテオミクス委員会WG2			血液検査機器委員会		
	17:00						
	17:30						
第2日目 (10月8日/土)	10:00			教育講演2 控室	POC委員会	学会事務局	大会運営事務局 (サンブラネット)
	11:00		遺伝子・プロテオミクス委員会WG1 (MALDI-TOFMS WG)				
	11:30	ランチョンセミナー 控室	理事会・プログラム委員会	機器試薬セミナー 控室	機器試薬セミナー 控室		
	12:00						
	13:00				遺伝子プロテオミクス技術委員会		
	14:00						
	14:30	生理検査委員会	医療情報委員会		微生物検査・感染症委員会		
	16:00						
	第3日目 (10月9日/日)	10:00					
11:00		ランチョンセミナー 控室			拡大編集委員会		
12:00							
13:00							
14:00							
15:00					認定POCC試験		
17:00							

日本医療検査科学会第54回大会 事前参加登録のご案内

第54回大会では、一般参加の皆様は参加登録(大会参加者情報の入力)が必要になります。参加登録の受付は、8月下旬頃の開始を予定しております。(抄録集発刊と同時にリリース)大会当日の受付は大変な混雑が予想されますので、**9月16日までの事前登録がオススメです。**

9月16日までのご登録の場合：当日の入場手続きが不要!!

ネームカードとネームホルダーの事前発送

ランチョンセミナーの事前予約が可能(整理券も事前発送いたします)

9月17日以降のご登録の場合：ご来場当日、専用受付にてネームカードとホルダーの受け渡し(ランチョンセミナーの事前予約は出来ません)

当日受付の場合：スマートフォンまたはPCにて参加者ご登録手続き→受付にてネームカードホルダーの受け渡し(ランチョンセミナーの事前予約は出来ません)

※9月17日以降のご登録・当日受付の場合、ランチョンセミナーの整理券配布は開催当日の午前7時からとなります。

※功労会員、学生・大学院生の方は当日受付のみの対応となりますので、ご来場の際は受付窓口までお越し下さい。

詳細は大会HPよりご確認ください。 <https://jcls.or.jp/convention/54th/>

9月16日(金)までに大会事前参加登録した方には、順次ネームカードとホルダーを送付します。ネームカードをご持参いただければ、受付で並ぶことなく直接会場に入場できます。

ランチョンセミナーの予約ができます!

事前参加登録の流れ

9/16までに
事前参加登録した方

Step 1
順次
ネームカードとホルダーが
送られます。
当日ご持参ください。

9/17以降
事前参加登録した方

Step 1
登録後、メールで
「登録確認証」が送られます。
プリントして、
当日ご持参ください。

事前参加登録
しなかった方

日本医療検査科学会 第54回大会 当日

当日
そのまま会場へ

Step 2
専用受付で
「登録確認証」を提示して、
ネームカードとホルダーを
お受け取りください。

Step 1
スマホ・PCで
参加登録手続き

Step 2
受付で
入場登録証を提示して、
ネームカードとホルダーを
お受け取り下さい

混雑が
予想されます!

ネームカードをホルダーに入れて、会場にお越しください

大会事前参加登録は抄録発刊と同時にリリース!!

第54回大会情報はコチラ



機器・試薬セミナーのお知らせ

日 時：2022年10月8日(土) 13:00～15:00
各メーカーから機器・試薬に関する最新情報が提供されます。

機器・試薬セミナー 1 (従来セッション)

座 長：未定

：未定

1. ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
演 題：生化学・免疫統合型分析装置 cobas pure のご紹介(仮)
演 者：未定(社内講師)
2. 東ソー株式会社
演 題：卓上型の全自動化学発光酵素免疫測定装置 AIA-CL300 のご紹介
演 者：木下 俊佑(バイオサイエンス事業部)
3. 東ソー株式会社
演 題：東ソー自動グリコヘモグロビン分析計 HLC-723GR01 の性能紹介
演 者：村越 早絵(バイオサイエンス事業部)
4. ミナリスメディカル株式会社
演 題：著しく溶血した検体に対する「メタボリード HbA1c(酵素法)」の対応について
演 者：堀尾 匡史(CR 推進部 学術グループ)
5. 積水メディカル株式会社
演 題：新たな POCT 分析装置「蛋白質分析装置 ラピッドピア II」のご紹介
演 者：戸川 勝也(検査事業部 製品開発・戦略部)
6. 富士フイルム和光純薬株式会社
演 題：(1→3)- β -D-グルカン測定試薬「 β -グルカン シングル M30 テストワコー」と
分析装置「リムセイブ MT-7500」の紹介
演 者：藤井 勉(臨床検査薬学術開発本部 西日本学術部)

機器・試薬セミナー 2 (従来セッション)

座長：未定

：未定

1. 株式会社日立ハイテック

演題：日立自動分析装置 3500 における血液凝固分析機能のご紹介

演者：福山 美智子、杉山 千枝(医用システム第三設計部)

2. 積水メディカル株式会社

演題：血液凝固分析装置 S400CF のご紹介

演者：深谷 厚輔(検査事業部 製品開発・戦略部)

3. ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

演題：全自動遺伝子分析装置 cobas 5800 のご紹介(仮)

演者：未定(社内講師)

4. 株式会社カイノス

演題：遺伝子領域

演者：未定

5. 株式会社テクノメディカ

演題：最新の採血業務支援システムの動向について

演者：西村 和也(研究開発本部 医療ソリューション開発部)

6. バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

演題：分析前プロセスの精度管理物質「リクイチェック 血清インデックス」のご紹介

演者：植村 康浩(診断薬マーケティング部)

ランチョンセミナーのお知らせ

日	時	2022年10月7日(金)	6テーマ(12:00～12:50)
		2022年10月8日(土)	8テーマ(12:00～12:50)
		2022年10月9日(日)	6テーマ(12:00～12:50)

検査の最前線の情報をお届けします。(整理券を配布します)

※9月16日までの事前参加登録で、整理券予約ができます。

大会1日目(10月7日/金)

1. 塩野義製薬株式会社

演 題：BNP 検査の標準化 その意義と進め方(仮)

演者①：梶田 出(武田病院健診センター)

演者②：篠原 亮太(北里大学病院 臨床検査部)

座 長：村上 正巳(群馬大学医学部 臨床検査医学)

2. シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社

演 題：新型コロナウイルスにおける各種測定法の位置付け

演 者：藤野 達也(国立病院機構 指宿医療センター 研究検査科)

座 長：前川 真人(浜松医科大学医学部附属病院 検査部)

3. デンカ株式会社

演 題：健診や人間ドックにおける sdLDL-C 検査の進め方

演 者：藍 真澄(東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 保険医療管理学分野)

座 長：山本 泰司(一般財団法人 関西労働保健協会 事業局)

4. バックマン・コルター株式会社

演 題：未定

演 者：未定

座 長：未定

5. ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社

演 題：未定

演 者：未定

座 長：未定

6. 富士フイルム和光純薬株式会社

演 題：未定

演 者：未定

座 長：未定

大会 2 日目(10 月 8 日/土)

7. アボットジャパン合同会社

演 題：地域医療を護るために、臨床検査部門が目指すべき姿を考える
演 者：伊藤 克彦(留萌市立病院 診療技術部 臨床検査科)
座 長：脇田 満(順天堂大学医学部附属順天堂医院 臨床検査部)

8. シスメックス株式会社

演 題：院内完結型ゲノムラボの構築～見えてきた展望と課題～
演者①：渡邊 広祐(東京大学医学部附属病院 検査部)
演者②：小野 佳一(東京大学医学部附属病院 検査部)
座 長：矢富 裕(東京大学医学部附属病院 検査部)

9. シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社

演 題：複数の診療科で活用される POC 機器の検査精度を維持するための取り組み
～オープンデータマネジメントシステムを活用した POC 機器の集中管理～
演 者：大塚 喜人(医療法人鉄蕉会 亀田総合病院 臨床検査部)
座 長：柳原 克紀(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野
(臨床検査医学))

10. 株式会社エイアンドティー

演 題：未定
演 者：未定
座 長：未定

11. 株式会社テクノメディカ

演 題：確実な採血認証を検査室から病棟へ
～ TRIPS-WEB の導入を通して検査前プロセスのトレーサビリティをレベル
アップ～
演 者：遠藤 彩子(東京都立多摩総合医療センター 検査科)
座 長：市村 直也(東京医科歯科大学病院 検査部)

12. 東ソー株式会社

演 題：HbA1c 測定とヘモグロビン異常症
演 者：宮崎 彩子(兵庫医科大学 医学部 臨床検査医学講座)
座 長：松岡 孝昭(和歌山県立医科大学 内科学第一講座)

13. 積水メディカル株式会社

演 題：「血友病と加齢疾患」
演 者：長尾 梓(医療法人財団 荻窪病院 血液凝固科)
座 長：森下 英理子(金沢大学大学院 保健学総合病態検査学)

14. オートソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
演 題：中小病院における搬送システム&ミドルウェア導入効果(仮題)
演 者：中川 誠(小林病院 検査室)
座 長：未定

大会3日目(10月9日/日)

15. ミナリスメディカル株式会社
演 題：動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2022年度版改訂のポイント
演 者：三井田 孝(順天堂大学大学院医学研究科 臨床病態検査医学)
座 長：田中 忍(奈良県立医科大学附属病院 中央臨床検査部)
16. 富士レビオ株式会社
演 題：未定
演 者：未定
座 長：未定
17. 小林クリエイト株式会社
演 題：情報活用した採血業務の改革/患者負担軽減と効果
演 者：秋永 理恵(株式会社麻生 飯塚病院 中央検査部)
座 長：下田 勝二(株式会社 LSI メディエンス メディカルソリューション本部
検査品質管理センター)
18. 株式会社日立ハイテック
演 題：血液内科診療体制のあるべき姿～患者と既存医療の懸け橋として～
演 者：太田 健介(LIGARE 血液内科太田クリニック・心斎橋)
座 長：久保田 浩(大阪公立大学医学部附属病院 中央臨床検査部)
19. 東洋紡株式会社
演 題：呼吸器感染症における迅速診断の重要性
演 者：大石 智洋(川崎医科大学 臨床感染症学教室)
座 長：未定
20. アークレイマーケティング株式会社
演題①：未定
演 者：木下 真紀(天理よろづ相談所病院 臨床検査部)
演題②：未定
演 者：未定
座 長：古田 眞智(和歌山県立医科大学 医学部 臨床検査医学講座)

サテライトセミナーのお知らせ

日 時：2022年10月7日(金) 18:00～21:00
各メーカーから機器・試薬に関する最新情報が提供されます。

1. ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

演 題：未定

演 者：未定

座 長：未定

2. 日本電子株式会社

演 題：改正医療法に対応する作業日誌・台帳類の作成・記録についての改善検討
～ CLALIS リンク改良版を使って～

演 者：澤畑 良一(藤沢市民病院 臨床検査室)

座 長：徳弘 慎治(高知大学医学部附属病院 医療技術部 臨床検査部門)

第 23 回 科学技術セミナー参加のお誘い

日	時：2022年10月9日(日) 13:00～15:30(講習)
会	場：神戸国際会議場・第1会場(1Fメインホール)

テーマ：謎解き臨床化学検査～わかりにくい言葉・あやふやな事を明確に！～

司会・進行：藤本 一満(倉敷芸術科学大学 生命科学部生命医学)
大久保 滋夫(文京学院大学 保健医療技術学部)

「本セミナーの説明」 5分

講演(1.～5.は各25分、質疑応答を含む)

1. 採血関連

山内 恵(琉球大学病院 検査・輸血部)

2. 分析関連

角田 恭一(富士フイルム和光純薬(株) 臨床検査薬事業部 学術開発本部)

3. 分析関連・精度管理関連・その他

藤本 一満(倉敷芸術科学大学 生命科学部 生命医科学科)

休憩 10分

4. 精度管理関連・その他

黄江 泰晴(川崎医科大学総合医療センター 中央検査部)

5. 精度管理関連・その他

山本 慶和(天理医療大学 臨床検査学科)

討論およびまとめ 10分

参加定員：400名(事前予約不要)

参加費用：大会登録料に含まれます(第54回大会の事前参加登録のお手続きをお願い致します)。

テキスト：日本医療検査科学会のホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参して下さい。

修了証：希望者(会員)にセミナー終了後に配布します。

※新型コロナウイルスの感染状況により、定員や開催形式が変更となる場合がございます。

第 22 回 遺伝子・プロテオミクス技術セミナー参加のお誘い

日 時	2022 年 10 月 7 日 (金) 13:00 ~ 15:40 (講演・実技)
場 所	神戸国際会議場・第 6・8 会場 (501・504+505)

本技術セミナーは日本医療検査科学会遺伝子・プロテオミクス技術委員会が企画しています。現在委員会には、白血病関連遺伝子検査 WG、MALDI-TOF MS WG、がんゲノム検査の評価と規制に関する基本的考え方 WG、遺伝学的検査における外部精度管理としてのクロスチェックに関する WG が設置されています。これらに関連するセミナー内容をはじめ、遺伝子・プロテオミクス関連検査に用いる技術・機器をとり上げます。奮ってご参加ください。

テーマ：遺伝子関連検査の話題(予定)

第 1 部 講演会編

司 会：村上 正巳(群馬大学大学院医学系研究科 臨床検査医学)
糸賀 栄(かずさ DNA 研究所)
講 演：遺伝子関連検査に関する最近の話題(仮題)

第 2 部 実習編

司 会：南木 融(筑波大学附属病院検査部)
実習機器：遺伝子関連検査に関する実技(機器・試薬について検討中)

遺伝子関連検査に関わる自動化機器をできるだけ多くの方に直接体験していただける参加型の実習を企画しています。

事情により内容が変更になる場合がありますのでご了承ください。

参加定員：100 名(事前予約が必要です)

参加費用：大会登録料に含まれます(第 54 回大会の事前参加登録のお手続きをお願い致します)。

参加申込：大会事前参加登録後、参加予約を学会ホームページ(<http://www.jcls.or.jp/>)の所定フォームから実施してください。定員になり次第締め切ります。

テキスト：日本医療検査科学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してください。

修了証：希望者(会員)にセミナー終了後に配布します。

本セミナーは日本遺伝子分析化学同学院遺伝子分析学認定士の更新単位および日本遺伝子診療学会ジェネティックエキスパート認定制度の学会活動の単位として認められています。

※新型コロナウイルスの感染状況により、定員や開催形式が変更となる場合がございます

第 82 回 POC セミナー参加のお誘い

日	時：2022 年 10 月 7 日(金) 13:00～16:45(講演・実技)
会	場：神戸国際会議場 第 3・2 会場(レセプションホール・国際会議室)

テーマ：POCT におけるパニック値報告を考える

2021 年 12 月に日本臨床検査医学会より『臨床検査「パニック値」運用に関する提言書』が発表されました。今回、POCT 対応機器・試薬を用いた迅速な検査結果を用いたパニック値報告の有用性と現状、システム連携を踏まえた体験をしていただきます。

【座 学】 13:30～14:55(仮)

【講演 1】

司 会 後藤 慎一(POC 技術委員会事務局)
乗船 政幸(POC 技術委員会委員)

〔(仮)臨床検査「パニック値」運用に関する提言〕

演 者 諏訪部 章(岩手医科大学医学部 臨床検査医学講座)

【講演 2】

司 会 木下 陽介(POC 技術委員会委員)
福岡 京子(POC 技術委員会委員)

〔(仮)病院における POCT とパニック値の運用について〕

演 者 津田 喜裕(近畿大学病院 中央臨床検査部)

〔(仮)POCT におけるシステム連携について〕

演 者 津田 喜裕(株式会社ミズホメディー)

【POCT 対応機器・試薬の実習】 15:05～16:45(仮)

司 会 木下 真紀・木下 陽介・福岡 京子(POC 技術委員会委員)
POCT 対応機器・試薬を使用した実習

実習項目(血液ガス・血糖・生化学・凝固・感染症等)・企業は検討中

参加定員：100 名(事前予約が必要です)

参加費用：大会登録料に含まれます(第 54 回大会の事前参加登録のお手続きをお願い致します)。

参加申込：大会事前参加登録後、参加予約を学会ホームページ(<http://www.jcls.or.jp/>)の所定フォームから実施してください。定員になり次第締め切ります。

認定 POC コーディネーター付与単位：3 単位(総論、運用技術論、記録通信、各 1 単位)

テキスト：日本医療検査科学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してください。

修了証：セミナー終了後に配布します。

※新型コロナウイルスの感染状況により、定員や開催形式が変更となる場合がございます。

第 13 回 認定 POC コーディネーター更新セミナー

日 時：2022 年 10 月 8 日(土) 13:00～15:00(講演)
会 場：神戸国際会議場・第 6 会場(501)

テーマ：新型コロナウイルス感染症検査の総括
～現場での取り組み、検査の重要性～

司 会：坂本 秀生(POC 技術委員会幹事)
後藤 慎一(POC 技術委員会委員)

今回の更新セミナーでは、新型コロナウイルス感染症検査の現場での POCT 検査の経験をもとに、その重要性と問題点を共有し今後の感染症検査に有用な情報を提供するセミナーを企画しております。認定 POC コーディネーターとして、参考にして頂ければ幸いです。

参加定員：120 名

参加費用：大会登録料に含まれます(第 54 回大会の事前参加登録のお手続きをお願い致します)。

修 了 証：希望者にセミナー終了後配布します。

取得単位：更新セミナー単位(または、総論 1 単位)

※新型コロナウイルスの感染状況により、定員や開催形式が変更となる場合がございます。

第 84 回・第 85 回 POC セミナーのご案内

POC 技術委員会では Web 形式の POC セミナーを開催いたします。

本年 10 月の認定試験の受験要件に必要な単位が取得できます。また既に認定取得された方は更新単位としても活用できますので、多くの方の参加をお待ちしています。

・第 84 回 Web POC セミナー

開催時期：2022 年 7 月(予定)

取得単位：2 単位

・第 85 回 Web POC セミナー

開催時期：2022 年 7 月(予定)

取得単位：1 単位

* 詳細については、学会 HP をご参照ください。

第12回 血液検査機器技術セミナー参加のお誘い

日	時：2022年10月7日（金） 13：00～16：00（講演）
会	場：神戸国際会議場 第1会場（1Fメインホール）

今年度のセミナーは、クロスミキシングテストが自信を持って実施できることを目的に、初級者から中級者を対象とした内容で開催いたします。奮ってご参加ください。

テーマ：「クロスミキシングテストの参考書」

座長：下村 大樹（公益財団法人 天理よろづ相談所病院 臨床検査部）

座長：菅原 新吾（東北大学病院 診療技術部検査部門）

講演1

クロスミキシングテスト実施前に押さえておくべきポイント

演者：結城 智嗣（山形大学医学部附属病院 検査部）

講演2

クロスミキシングテスト実施にあたり押さえておくべきポイント

演者：榎谷 亮太（大阪医科薬科大学病院 中央検査部）

講演3

クロスミキシングテストの結果解釈で押さえておくべきポイント

演者：徳永 尚樹（社会医療法人 川島病院 検査室）

講演4

クロスミキシングテストの実例を交えたコメントの書き方

演者：松田 将門（福島県立医科大学保健科学部臨床検査学科）

講演5

実症例を用いたクロスミキシングテストの解説

演者：下村 大樹（公益財団法人 天理よろづ相談所病院 臨床検査部）

総合討論

参加定員：200名（事前予約不要）

参加費用：大会登録料に含まれます（当日第54回大会の参加登録手続きをお願い致します）。

テキスト：日本医療検査科学会のホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参して下さい。

講演5はクロスミキシングテストの実症例のみを掲載しており、当日に解説を行います。セミナー終了後にすべてを掲載します。

第5回 微生物検査・感染症技術セミナー参加のお誘い

日時：2022年10月9日(日) 13:00～15:40 (講演・実技)
場所：神戸国際会議場 第4・5会場 (401+402・403)

本セミナーでは、「薬剤感受性検査 迅速化への挑戦」をテーマに講演ならびに実技・展示を準備いたしました。

薬剤耐性菌対策の Key element の一つに抗菌薬の適正使用があります。抗菌薬適正使用のゴールには、広域抗菌薬の処方量の削減も掲げられておりますが、実は、広域抗菌薬の大半は病原体の同定・感受性試験結果が判明するまでの間＝すなわち経験的治療(Empiric therapy)に費やされていることを皆さんは御存じでしょうか。つまり、広域抗菌薬の使用量全体を削減するには、病原体同定・感受性試験結果をすみやかに臨床現場にフィードバックする仕組みが必要なのです。正確な検査を追求するのは当然のことですが、「検査」が感染症診療へ貢献するには検査の「効率化・迅速化」が鍵を握っています。

本セミナーでは、微生物検査の中でも薬剤耐性菌対策に資する「薬剤感受性検査の迅速化」をテーマに、これらの技術やツールをどのように生かしていくのか、私たちの臨床現場に落とし込むには何が必要なのか、皆さんと考える時間にいたします。

皆様のご参加をお待ちしております。

テーマ：「薬剤感受性検査 迅速化への挑戦」

< 講演 >

聖マリアンナ医科大学病院	大柳忠智先生
琉球大学医学部附属病院	上地幸平先生
京都大学医学部附属病院	松村康史先生

< 実技(製品の情報提供や操作説明など) >

協力企業：極東製薬工業、東洋紡、ベックマン・コールター、栄研化学、日水製薬、
日本ベクトン・ディッキンソン、関東化学、日立ハイテク、
バイオメリュー・ジャパン等(順不同)

参加定員：100名(事前予約が必要です)

参加費用：大会登録料に含まれます(第54回大会の事前参加登録のお手続きをお願い致します)。

参加申込：大会事前参加登録後、参加予約を学会ホームページ(<http://www.jcls.or.jp/>)の所定フォームから実施してください。定員になり次第締め切ります。

テキスト：日本医療検査科学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してください。

※新型コロナウイルスの感染状況により、定員や開催形式が変更となる場合がございます。

第4回 医療情報技術セミナー - 参加のお誘い

日 会	時：2022年10月9日(日) 13:00～14:50 場：神戸国際会議場 第6会場(501)
--------	--

テーマ：臨床検査情報を管理するために知っておくべき Point

司 会：調整中

講演 1

「項目コードの基礎 JLAC を中心に」

講 師：山田 修 先生(岡崎市民病院)

講演 2

「項目コード運用の注意点」(仮)

講 師：山下 貴範 先生(九州大学)

講演 3

「項目コードの世代管理についての問題提起」

講 師：増田 健太 先生(京都大学医学部附属病院)

講演 4

「ISO15189 の視点から見た項目コードの管理」(仮)

講 師：調整中

講演 5

「結果の表現型に関する問題点」

講 師：片岡 浩巳 先生(川崎医科福祉大学)

参加定員：200名程度(事前予約は不要です)

参加費用：大会登録料に含まれます(第54回大会の事前参加登録のお手続きをお願い致します)

テキスト：日本医療検査科学会のホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参して下さい。

修了証：希望者(会員)にセミナー終了後に配布します。

※新型コロナウイルスの感染状況により、定員や開催形式が変更となる場合がございます。

第3回 生理検査セミナー参加のお誘い

日時：2022年10月9日(日) 13:00～14:40 (講演・アンケート)
場所：神戸国際会議場・第3会場 (レセプションホール)

タイトル：「ISO15189 認定施設における生理機能検査精度管理の現状と今後」

拡大アンケート結果の開示と、今後の展開について

司会・進行：古川 泰司(帝京大学医学部)

< 講演 >

1. 日本医療検査科学会・生理検査アンケートについて 5分
講師：古川 泰司
内容：生理検査アンケート施行の経緯と進行状況
2. 認定4分野の精度管理の現状 各20分
内容：各認定分野の結果開示
 - (1)呼吸機能検査
講師：(予定)東條 尚子(三楽病院)
 - (2)心電図検査
講師：(予定)古川 泰司(帝京大学医学部附属病院)
 - (3)超音波検査
講師：(予定)竹内 正明(産業医科大学)
 - (4)脳波検査
講師：(予定)代田 悠一郎(東京大学)
3. 今後の展開について
内容：外部精度管理の代替えアプローチ構築に向けて

< アンケート記載と質疑応答 >

1. アンケート記載時間
アンケート記載用紙は当日お渡しします。講演終了後に記載をお願いします。
2. 質疑応答

参加定員：100名(事前予約不要)

参加費用：大会登録料に含まれます(第54回大会の事前参加登録のお手続きをお願い致します)。

アンケートを記入された方には、結果のフィードバックを行う予定です。

※新型コロナウイルスの感染状況により、定員や開催形式が変更となる場合がございます。

BIO-RAD

IH-Central

24 時間安心・安全な輸血検査体制のさらなる飛躍へ…



データ管理制御システム

IH-Com

抗体同定支援システム

IH-AbID

測定結果リモート参照システム

IH-Web

リモートメンテナンスシステム

BRiCare

輸血管理システム / 輸血業務支援システム

BRBTS III / BRBTS III サブシステム

ISO/IEC 17043 認定の外部精度保証サービス

EQAS プログラム

- 1年間を1サイクルとして参加する外部精度保証サービス
- サンプル本数は1サイクルで12本または9本（輸血検査）
- 結果提出の締め切り後、速やかに是正改善に役立つレポートをご提供
- 臨床化学から輸血検査まで17プログラムのラインナップ
- ISO 15189の検査室間比較の認定基準方針に適合した技能試験

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

診断薬

www.bio-rad.com

※仕様等は2022年4月現在のものです。予告なく変更することがあります。※記載されている会社名、商品名は各社の商標または登録商標です。

Z1295D 2206a

謎解き臨床化学検査 ～わかりにくい言葉・ あやふやな事を明確に！～

生化学検査の日常業務で生じる疑問を解消。
簡潔かつかゆい所に手が届くバイブル！

■主な目次.....

- I. 採血関連
- II. 検体準備関連
- III. 分析関連
- IV. 精度管理関連
- V. 検査システム関連
- VI. その他

科学技術委員会 編

価格:2,750円(10%税込) 送料別



一般社団法人 **日本医療検査科学会**

〒113-0033 東京都文京区本郷 4-2-5 MAビル6F Tel. 03-3813-6635 Fax. 03-3813-6679

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

目次

学会ニュース

総説

がんのリキッドバイオプシー 大塚弘毅, 大西宏明... (205)

原著

「ナノピアBNP-A」の基本性能評価および

脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体に対する交差反応性の検証 鈴木 瑛真... (212)

技術

ラテックス免疫比濁法を原理とするLPIAジェネシスTATの基本性能評価 及川 真依... (219)

ADVIA Centaur XPTによるIL-6測定の基礎的検討と臨床的意義

—関節リウマチ患者を対象に検討— 石田 秀和... (226)

Time in range及び平均血糖値由来のestimated A1cに関する検討 武石 宗一... (232)

Atellica IM1600免疫自動分析装置による性腺/

下垂体ホルモン4項目の基礎的検討 大西澗奈子... (239)

尿定性分析装置4機種における尿定性値の比較検討 宮下 大地... (245)

全自動免疫測定装置HISCL-5000を用いた

HISCL-プレセプシンの基本性能および臨床評価 大久保 学... (251)

プロカルシトニン測定試薬の基礎的性能評価およびロシュ社試薬の希釈液評価 浅野はるな... (256)

精度管理調査からみた主要8酵素における標準化の現状

—特にアマラーゼ活性測定の標準化対応法試薬の特徴について— 巖崎 達矢... (263)

「BNPコントロール シオノギ」の基礎的性能評価および

精度管理における臨床的有用性に関する検討 篠原 亮太... (269)

第53回大会機器・試薬セミナー要旨

感染症迅速遺伝子検査システムのご紹介 藤本 聖人... (276)

糞便検査における多項目同時測定を実現した

小型の分析装置『OCセンサーCeres[®]』 阿久津 敏... (279)

IoT機能を活用した血液ガス分析装置のカスタマーリンクシステム 星島 康... (282)

ISO/IEC 17043認定の外部精度保証サービス

「バイオ・ラッドEQASプログラム」の紹介 植村 康浩... (284)

「IH-Central」 - 24時間安心・安全な輸血検査体制の構築に貢献 湯浅 隼人... (290)

理事会議事録 (293)

CONTENTS

JCLS News**Review**

Cancer Liquid Biopsy.....Kouki Ohtsuka, Hiroaki Ohnishi··(205)

Original

Performance Evaluation of "Nanopia BNP-A" and verification of
cross-reactivity to pro-brain natriuretic peptideEma SUZUKI··(212)

Reports

Evaluation of fundamental performance of improved reagent
"LPIA Genesis TAT" based on the latex turbidimetric immunoassay.....Mai OIKAWA··(219)

Basic study and clinical significance of IL-6 measurement by ADVIA Centaur XPT
—Study for patients with rheumatoid arthritis—.....Hidekazu ISHIDA··(226)

Estimated HbA1c derived from Time in Range or Mean Glucose Levels.....Soichi TAKEISHI··(232)

Performance evaluation of 4 gonadal/pituitary hormones by Atellica IM1600.....Minako ONISHI··(239)

Comparison of four automated urine analyzer.....Daichi MIYASHITA··(245)

Basic performance and clinical evaluation of the reagent kit HISCL- presepsin
using the automatic immune analyzer HISCL-5000.....Manabu OKUBO··(251)

Fundamental evaluation of PCT measurement reagents.....Haruna ASANO··(256)

Current status of standardization of major eight enzymes from the viewpoint of
quality control survey. – Especially JSCC reference method for
measuring amylase activity Characteristics of reagents –Tatsuya IWASAKI··(263)

A study for the basic performance of 「BNP control SHIONOGI」 and
clinical usefulness in precision control.....Ryota SHINOHARA··(269)

Seminar to the 53rd Congress (2021)

The principle of rapid gene analyzer system for infectious diseases.....Kiyoto FUJIMOTO··(276)

"OC-SENSOR Ceres[®]", a compact analyzer for fecal test, realization of
a simultaneous measurement with multiple parameters.....Satoshi Akutsu··(279)

Customer link system for blood gas analyzers utilizing IoT functions.....Yasushi HOSHIJIMA··(282)

Introduction of Bio-Rad EQAS PROGRAM, a proficiency testing which is
accredited in accordance with the recognized ISO/IEC 17043: 2010.....Yasuhiro UEMURA··(284)

"IH-Central" - To establish management system for 24-hour safe
and secure transfusion -Hayato YUASA··(290)

Boad Meeting Minutes.....(293)

がんのリキッドバイオプシー

Cancer Liquid Biopsy

大塚弘毅, 大西宏明

はじめに

一般的にがんの診断は、腫瘍が存在する部位から腫瘍組織を生検（バイオプシー）し、病理組織診断を行う。最近、血液や尿などの体液（リキッド）検体からがんの状態を知る検査方法、リキッドバイオプシーと呼ばれる検査が登場している。

リキッドバイオプシーは、リキッド検体中の腫瘍由来の核酸や蛋白質などの成分を調べることによって、体内のがんの状態を知ることができる検査である。リキッド検体中の腫瘍由来の成分は非常に微量のためその検出は難しかったが、近年の著しい解析技術の進歩により、がんの早期発見、予後予測、治療法の選択、進行状況のモニタリング、治療効果の判定のためのリキッドバイオプシーの利用が可能になった（Table 1）。

本稿では、臨床応用が進んでいるリキッドバイオプシー、特に血中循環腫瘍DNA（circulating tumor DNA: ctDNA）を解析するリキッドバイオプシーを中心に解説する。

リキッドバイオプシーの特徴

リキッドバイオプシーとは、血液や尿などのリキッド検体中の細胞や核酸や蛋白質などの腫瘍成分を用いた解析技術である。リキッドバイオプシーのなかでも、腫瘍細胞から血液中に漏れ出した腫瘍由来DNAであるctDNA解析はすでに臨床応用されている¹⁾。

リキッドバイオプシーには、メリットとデメリットがある。メリットとして、患者の状態が悪い場合や組織の採取が困難な場合に、低侵襲な採血などで遺伝子異常を捉えることができる^{2,3)}。また複数の転移病変がある場合などに、病変の一部を採取する組織検体では捉えられないヘテロジェナイティ（不均一性）を捉え、疾患の全体像を把握することが可能である⁴⁾。さらに、低侵襲で検体を採取しやすいため、必要なタイミングで検査が可能である。デメリットとしては、血液中のctDNAの量が不十分で正確な検査結果が得られない場合などがある¹⁾。

リキッドバイオプシーに使用される検体と血液内の成分

組織生検では腫瘍組織を使用するが、リキッドバイオプシーでは検体として血液、唾液、便、尿、脳脊髄液などの体液を採取する⁵⁾。特に血液には様々な腫瘍由来成分が循環している。その血液内の成分としては、ctDNA（circulating tumor DNA: 血中循環腫

Table 1 リキッドバイオプシーの臨床応用

がんの早期発見
がんの予後予測
がんの治療法の選択
がんの進行状況のモニタリング
がんの治療反応の評価

Kouki Ohtsuka, Hiroaki Ohnishi
杏林大学医学部臨床検査医学
〒181-8611 東京都三鷹市新川6-20-2
Department of Laboratory Medicine, Kyorin University

School of Medicine
6-20-2, Shinkawa, Mitaka, Tokyo, 181-8611, Japan
TEL : 0422-47-5511
E-mail : kouki7@ks.kyorin-u.ac.jp

瘍DNA), ctRNA (circulating tumor RNA:血中循環腫瘍RNA), 腫瘍蛋白質, エクソソーム (細胞外小胞), CTC (Circulating Tumor Cells:血中循環腫瘍細胞), TEPs (Tumor-Educated Platelets:腫瘍によって教育された血小板) が知られている⁵⁾ (Table 2)。

circulating tumor DNA (ctDNA) と cell-free DNA (cfDNA)

cfDNAの多くは血球系細胞の死滅に由来するDNAであり, 健常人にも存在する⁶⁾。一方, がん細胞が免疫によって破壊されたり, 壊死したり, アポトーシスをおこしたり, 血中に漏れ出したがん細胞のCTCが何らかの影響によって血中で破壊されたりすると, がん細胞のDNAが血中に漏出することになる。このDNAはcfDNAと区別するためにctDNAと呼ばれる⁷⁾。サンプルとしては, 血清は分離過程で凝固が生じる際に白血球の破碎も起こり, 血球由来のDNAが増加するので, 血漿がよいとさ

れる⁸⁾ (Table 3)。

採血管はEDTA (抗凝固剤) 管が基本であるが, 最近では Streck tube (Streck社) や Cell-Free DNA Collection Tube (Roche Diagnostics社) が用いられる。Streck tubeはStreck社の細胞安定化技術を元に開発された, 血漿中のcfDNA, CTCを全血のまま保存するチューブである。Cell-Free DNA Collection Tubeは採血した全血を安定化させ, そのまま輸送することができるよう設計された真空採血管である。cfDNAの効率的な分析を可能にするために, 採血管内には血液凝固を効果的に防止するだけでなく, 細胞溶解を防ぎ, 有核細胞を保存する効果をもつ添加剤が封入されている⁸⁾ (Table 3)。

ctDNAは微量なので, 解析にはReal-Time PCR, Droplet Digital PCRやCAPP-seq (Cancer Personalized Profiling by Deep Sequencing) など, 検出感度が高い検査の利用が望ましい⁸⁾。

Table 2 血液中の腫瘍由来成分

成分	特徴
ctDNA	腫瘍の遺伝的プロファイルを表す。 点変異, 欠失/挿入, 増幅, 転座, メチル化を検出できる。
ctRNA	mRNA, miRNA, lncRNAなどのRNAを解析できる。
腫瘍蛋白質	一般的な腫瘍マーカーとして利用されている。
エクソソーム	表面と内腔が蛋白質バイオマーカーを運ぶ。 DNAおよびRNAプロファイリングが可能である。
CTC	ゲノム, トランスクリプトーム, プロテオミクスの情報が取得できる。
TEPs	腫瘍関連RNAシグネチャーを明らかにできる。

ctDNA: circulating tumor DNA, ctRNA: circulating tumor RNA, CTC: Circulating Tumor Cells, TEPs: Tumor-Educated Platelets

Table 3 ctDNA/cfDNAの特徴

長さ	150-200bp
半減期	1時間以下
量	10-15ng/mL
サンプル	血漿が望ましい
採血管	EDTA (抗凝固剤) 管 Streck tube Cell-Free DNA Collection Tube

bp: base pair

ctDNA: circulating tumor DNA

cfDNA: cell free DNA

血漿CDx (Companion Diagnostics: コンパニオン診断)

血漿CDxとしてのリキッドバイオプシーは複数の検査が臨床で実施されている。非小細胞肺癌では、Real-Time PCR法でEGFR遺伝子変異を調べるコバス®EGFR変異検出キットv2.0(Roche Diagnostics社)が臨床で使用されている。また次世代シーケンス(Next Generation Sequencing: NGS)法でMETエクソン14スキッピングを検出するArcherMETコンパニオン診断システム(Invitae Japan社)が実施されている。大腸癌ではデジタルPCR法でKRAS/NRAS遺伝子変異の有無を検査するOncoBEAM™RAS CRCキット(MICREN Healthcare社)が行われている⁹⁾(Table 4)。

後述のNGS法で行う検査であるFoundationOne® Liquid CDxがんゲノムプロファイル(FOUNDATION Medicine社)は血漿CDxとして、非小細胞肺癌のEGFR遺伝子変異、ALKとROS1の融合遺伝子変異を調べることができる。また固形がんにおいては、NTRK1/2/3融合遺伝子を検査することができる⁹⁾。同じNGS法で行うGuardant360® CDxがん遺伝子パネル(Guardant Health社)は、がん化学療法後に増悪した切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌のKRAS G12C遺伝子変異、結腸・直腸がんを含む固形がんの高頻度マイクロサテライト不安定性(MSI-High)を検査する血漿CDxとして我が国で承認されている^{10,11)}(Table 4)。

血漿CGP (Comprehensive Genome Profile : 包括的がんゲノムプロファイリング)

CGPには組織検体を用いる組織CGPと血漿検体を用いる血漿CGPがある。組織CGPでは、腫瘍そのものから検体を採取するため、CGP検査時に腫瘍細胞の有無を確認することができる。また、組織検体を用いることで、従来の形態学的評価とCGPによる分子生物学的評価の両方を行うことが可能である。しかし、組織検体は、生検、外科切除、穿刺吸引といった侵襲的な処置を要するため、病変部位が侵襲的な処置に適さない場合や患者身体への負担が大きい場合など検体を得ることができないことがある。また、検体の質や量が十分でない場合、正確な検査結果が得られない可能性がある^{12,13)}。

一方、血漿CGPでは、ctDNAを利用する¹⁴⁾。そのため、組織CGPのように採取した一部のがん細胞だけではなく、全身の病変部位に由来するがん遺伝子情報を得られる可能性がある⁴⁾。また、検体採取の侵襲性が低く、採取しやすいことから、必要なタイミングで検査を実施することが可能である¹²⁾。このことから、治療中に獲得された新たな薬剤耐性遺伝子変異を検出することも可能となり、治療前後のがん遺伝子情報の変化を捉えることができる¹⁵⁾。このように血漿CGPでは、腫瘍内不均一性、体内不均一性、更に時間的不均一性といったがんゲノム情報のヘテロジェナイティを捉え、全身状態を表したプロファイル情報を取得できる可能性がある⁴⁾。

Table 4 保険適用のリキッドバイオプシーとコンパニオン診断

試薬名	解析法	対象遺伝子	適応	治療薬名
コバス EGFR 変異検出キット v2.0	PCR	EGFR	非小細胞肺癌	ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、オシメルチニブ
OncoBEAM™ RAS CRC キット	PCR	KRAS, NRAS	結腸・直腸がん	セツキシマブ、パニツムマブ
EGFR リキッド遺伝子解析ソフトウェア	NGS	EGFR	非小細胞肺癌	ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ
ArcherMET コンパニオン診断システム	NGS	MET	非小細胞肺癌	テボチニブ
FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル	NGS	EGFR	非小細胞肺癌	ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、オシメルチニブ
		ALK	非小細胞肺癌	アレクテチニブ、クリゾチニブ、セリチニブ
		ROS1	非小細胞肺癌	エヌトレクチニブ
		NTRK1/2/3	固形がん	エヌトレクチニブ
Guardant360 CDx がん遺伝子パネル	NGS	KRAS	非小細胞肺癌	ソトラシブ
		MSI	結腸・直腸がん	ニボルマブ
		MSI	固形がん	ペムプロリズマブ

NGS: Next Generation Sequencing, MSI: Microsatellite Instability

Table 5 CGP検査における血漿検体と組織検体の利点と適応

	利点	適応となる状況
血漿検体	検体採取が低侵襲で容易である。 ヘテロジェネイティ(不均一性)がある場合も検出できる。 現時点でのプロファイリングが得られる。 検査所要日数が短い。	組織検体を採取することが難しい場合 病変が複数あり組織検体では全体を反映することが難しい場合 治療後などで、現時点での遺伝子異常を知りたい場合 組織検体の処理・保管の状況が解析に不適であった場合 がんの進行が比較的早いなど、早急に結果を知りたい場合 標準治療が確立していないがん種
組織検体	病理組織診断された検体を直接評価できる。 腫瘍細胞の存在・比率を確認できる。 純粋な腫瘍検体のプロファイリングが可能である。 腫瘍内での組織型・分化度別の評価が可能である。	単発腫瘍で十分な腫瘍組織が得られる場合 血液中に腫瘍遺伝子が検出される頻度が低いがん種 増殖スピードの遅い腫瘍や臨床経過が緩やかな場合 加齢等で正常細胞の遺伝子変異が確率が高い場合 遺伝子融合やコピー数の変化の検出を目的とする場合

CGP: Comprehensive Genome Profile

しかし、血漿検体中に存在するctDNAの量が十分であると偽陰性となり、正確な情報を得られない可能性がある。

Table 5には、血漿CGP・組織CGPの各々の利点とその適応となる状況をまとめた。血漿CGPが優先される状況には、血漿検体が組織検体よりもCGP検査時の病態を正確に反映する場合、早急に検査結果を知る必要がある場合が挙げられる¹⁶⁾。一方、組織CGPが優先される状況には、組織検体の方が検査時の病態を正確に反映する場合、血漿検体では偽陽性や偽陰性と判定される可能性が高い場合が挙げられる^{16,17,18)}。

現在我が国では血漿CGPとして、血漿CDxでも述べたFoundationOne®Liquid CDxがんゲノムプロファイル⁹⁾とGuardant360®CDxがん遺伝子パネル^{10,11)}が保険適用となっている。

血漿CGPと組織CGPの結果の一致率

28がん種344例のがん患者を対象に、患者ごとに組織検体と血漿検体によるCGPを行った結果、血漿検体と組織検体のCGPの結果の一致率(組織CGPで確認された遺伝子変異のうち、血漿CGPにおいても確認された割合)は75%であった。また、患者あたりの検出された変異数に、両検査間で正の相関が認められた¹⁹⁾。

血漿検体と組織検体のCGP結果の一致率は、組織検体の採取部位やctDNAの滲出状況により異なる^{20,21)}。組織検体では、採取部位によって、単一腫

瘍内のサブクローン集団が有する変異や他の部位に存在する腫瘍が有する変異を見逃す可能性がある。血漿検体では、血液中に十分にctDNAを滲出していないサブクローン集団が有する変異を見逃す可能性がある。

血漿CGPは組織CGPに比べると使用実績やエビデンスの蓄積がまだ十分ではない。血漿CGPは組織CGPと比べて偽陰性率が高いとされ²²⁾、現状では組織が十分採取できる初診時には組織CGPを優先させることが合理的であると考えられている。患者の治療方針の決定に必要ながんゲノム情報をより正確に把握するためには、組織CGPと血漿CGPの特徴をよく理解した上で、患者一人ひとりの臨床経過に合わせて適切に検体を選択することが重要である。

がんの早期発見のリキッドバイオプシー

がんのスクリーニング検査の目的は、症状が現れる前のがんを早期に発見して、早期治療によりがんを根治することにある。米国では現在、5種類のがん(乳がん、大腸がん、前立腺がん、子宮頸がん、肺がん)については従来の検査によるスクリーニング検査が可能である。一方、毎年約60万人ががんによって死亡しており、その3分の2以上がスクリーニング検査の確立していないがんである。このようながんは進行した状態で発見されることが多い。例えば、通常診療で診断された膵臓がんの患者の余命は3~12カ月とされ、早期に発見できれば余命は

3~4年になるが、現時点ではそのような患者は5人に1人程度である。これを解決する方法のひとつとして期待されているのがリキッドバイオブシーによるスクリーニング検査である²³⁾。

がんのスクリーニング検査としてのリキッドバイオブシーの有望なマーカーはDNAのメチル化である。遺伝子変異に対するメチル化異常を検出することの利点はメチル化の量の多さと組織特異性である。がんになると特定の遺伝子のメチル化の増減が生じる。マーカーとなるメチル基は、変異よりもはるかに多いとされる。メチル化はがんの形成の初期に起こり、がんのタイプに特異的であるものも多い。変異と同様に、異常にメチル化されたDNAは血液中で検出されるので、がんの早期発見に使用できる。また、メチル化を検出するリキッドバイオブシーは、組織特異性が高いため、新たに検出されたがんの起源組織を特定することが変異検出よりも優れている。さらに、加齢等に伴って生じる非腫瘍性の変異に影響されないことも利点の一つである²³⁾。

がんの早期発見において最も有望な血漿メチル化リキッドバイオブシーを用いる検査のひとつが、Galleri (GRAIL社)である。この検査では、血漿DNAのターゲットを絞った全ゲノムバイサルファイトシーケンスと機械学習を使用して、100,000を超える有益なメチル化遺伝子座のパネルを分析する。米国では、臨床試験以外で医師の処方によって検査を受けられる。1回分の血液サンプルから51種類のがんを検出でき、検査費用は949ドル(約12万円)である。Galleriに特に期待されるのは、現状ではスクリーニング検査がない種類のがんの発見である。複数のがんを早期に発見できる検査を実施することで、毎年10万人あたり約104人の死亡(がん関連死全体の26%)を回避できることが期待される²³⁾。

Galleriの検査性能は、6689人の対象(2482人のがん患者と4207人の健康人)を含む前向き多施設比較研究で検証された。対象者は、検証セット(1969人)とトレーニングセット(4720人)に分けられた。検証セットでは、I期からIII期の患者に対する事前に指定された12種類のがんの検査の全体的な感度は67.3%であった。本検査陽性率は、がんの病期の増加とともに増加した(I期39%、II期69%、III期83%、IV期92%)。特異度は99.3%、つまり0.7%の偽陽性率であった。事前に指定された12種類のがん

んとは対照的に、50種類を超えるさまざまながんの種類幅広いパネルでの感度は、I期18%、II期43%、III期81%、IV期93%であった。がんと診断された患者では、93%の症例でがんの起源の組織が正しく同定された²³⁾。

Galleriの問題点として、偽陽性になってリスクの高い不必要な追加検査が行われてしまうこと、治療が必要なほど進行しない可能性があるごく早期のがんが発見されること、有効な治療法のないがんが発見されてしまうこと、人々が医師の監督なしに検査を受けてしまうこと、陽性結果の確認には侵襲が大きい手術を行わざるをえないことが考えられる²³⁾。

大腸がんのリキッドバイオブシー

Natera社のSignateraは、大腸がん手術で得られた腫瘍組織を用いて全エクソーム解析で検出された腫瘍の遺伝子異常をもとに、約16遺伝子を標的として、血液ctDNA中の標的遺伝子をNGS法にて解析する個々の患者オリジナルの遺伝子パネル検査である。本パネル検査では外科的切除後の再発に伴う微小残存腫瘍を検出する^{24,25)}。Signateraは、術後補助化学療法が有効な大腸がん患者を予測できることが示されている。米国臨床腫瘍学会-消化器がんシンポジウム(American Society of Clinical Oncology - Gastrointestinal Cancers Symposium: ASCO-GI)で2022年1月に発表されたCIRCULATE-JapanプロジェクトのGalaxy試験のデータにより、Signateraは、がんの再発を高い確率で予測できることが示された。また、ctDNAの陽性・陰性に基づいて治療に介入し、患者の予後を改善することができることを示した。ctDNA陽性となったステージIIIの患者のうち、術後補助化学療法を受けなかった患者は治療を受けた患者に比べて再発のリスクが8倍以上高かった。この結果は、Signatera検査に基づいた術後治療が患者の予後を改善しうることを示した。また、Signateraは術後補助化学療法が有効な患者も示すことができた。化学療法によりctDNA陽性から陰性になった患者は、ctDNA陽性のままであった患者に比べて有意に予後良好であり、6か月無病生存率はそれぞれ100%と58%であった。さらに、ctDNA陽性から陰性になった患者は、もともとctDNA陰性であった患者と同程度にまで予後が改善していた^{24,25)}。

大腸がん検診に用いるリキッドバイオブシーの開

発も行われている。Guardant Health社のLUNAR-2は、血液中のctDNAからの体細胞変異、メチル化、および断片化シグナルを同時に調べることにより、大腸がんを早期に検出する。2022年には、LUNAR-2リキッドバイオブシーを用いた臨床試験であるECLIPSE試験(13,000人の患者を対象)の結果が発表される予定である²⁶⁾。一方、血液のリキッドバイオブシーではないが、非侵襲的な大腸がん検診としてExact Sciences社の糞便検査Cologuard(*KRAS*変異、*BMP3*と*NDRG4*のメチル化にヒトヘモグロビンの免疫化学的アッセイを組み合わせたもの)があり、2014年の発売以来、感度92%、特異度87%の高精度のスクリーニング能を示した²⁷⁾。さらに性能を向上させた第2世代の糞便検査であるCologuard 2.0も販売されている。今年のASCO-GIで発表された小規模臨床試験のデータによると、Cologuard 2.0は予め設定された92%の特異度で、大腸がんを95%、高度異形成を83%、全ての進行前がん病変を57%の感度で検出することが示されている。特に、早期がんだけでなく前がん病変も検出できる点において、LUNAR-2に比べて優位性があると考えられている。Cologuard 2.0のピボタル試験となるBLUE-C試験の結果は2024年に発表される予定である²⁸⁾。

おわりに

がんのリキッドバイオブシー検査、特にctDNAによるリキッドバイオブシーは臨床応用が急速に進んでいる。今後、臨床データの蓄積や、適切な精度管理による検査精度の向上により、リキッドバイオブシー検査ががんの早期発見やがんの治療成績向上にさらに貢献することが期待される。

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) 日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会 編 次世代シークエンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン 改訂 第2.1版 2020年。
- 2) Francis G, Stein S. Circulating Cell-Free Tumour DNA in the Management of Cancer. *Int J Mol Sci* 2015;16(6):14122-42.
- 3) Bardelli A, Pantel K. Liquid Biopsies, What We Do Not Know (Yet). *Cancer Cell* 2017;31(2):172-179.
- 4) Scherer F: Recent Results in Cancer Research 2020; Tumor Liquid Biopsies. Springer.
- 5) 坂井和子, 西尾和人. シリーズ最新のがん: リキッドバイオブシーの臨床実装. *近畿大医誌* 2020;45(1, 2):9-16.
- 6) Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, et al. Life and death of circulating cell-free DNA. *Cancer Biol Ther* 2019;20(8):1057-1067.
- 7) Heitzer E, Ulz P, Geigl JB. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer. *Clin Chem* 2015;61(1):112-23.
- 8) Merker JD, Oxnard GR, Compton C, et al. Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. *Arch Pathol Lab Med* 2018;142(10):1242-1253.
- 9) 柿島裕樹, 角南久仁子, 松下弘道ほか. 臨床検査アップデート58: がん関連におけるリキッドバイオブシーの現状と包括的ゲノムプロファイリング. *モダンメディア* 2021;67(6):12-15.
- 10) Page RD, Drusbosky LM, Dada H, et al. Clinical Outcomes for Plasma-Based Comprehensive Genomic Profiling Versus Standard-of-Care Tissue Testing in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer* 2022;23(1):72-81.
- 11) Nakamura Y, Taniguchi H, Ikeda M, et al. Clinical utility of circulating tumor DNA sequencing in advanced gastrointestinal cancer: SCRUM-Japan GI-SCREEN and GOZILA studies. *Nat Med* 2020;26(12):1859-1864.
- 12) Francis G, Stein S. Circulating Cell-Free Tumour DNA in the Management of Cancer. *Int J Mol Sci* 2015;16(6):14122-42.
- 13) Corcoran RB. Liquid biopsy versus tumor biopsy for clinical-trial recruitment. *Nat Med* 2020;26(12):1815-1816.
- 14) Cheng F, Su L, Qian C. Circulating tumor DNA: a promising biomarker in the liquid biopsy of cancer. *Oncotarget* 2016;7(30):48832-48841.
- 15) Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer* 2017;17(4):223-238.
- 16) 日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会 3学会合同ゲノム医療推進タスクフォース: 血中循環腫瘍DNAを用いたがんゲノムプロファイリング検査の適正使用に関する政策提言 2021年
- 17) Schwartzberg L, Kim ES, Liu D, et al. Precision Oncology: Who, How, What, When, and When Not? *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2017;37:160-169.
- 18) Arnedos M, Vielh P, Soria JC, et al. The genetic complexity of common cancers and the promise of personalized medicine: is there any hope? *J Pathol*

- 2014;232(2):274-82.
- 19) Shu Y, Wu X, Tong X, et al. Circulating Tumor DNA Mutation Profiling by Targeted Next Generation Sequencing Provides Guidance for Personalized Treatments in Multiple Cancer Types. *Sci Rep* 2017;7(1):583.
 - 20) Jahangiri L, Hurst T. Assessing the Concordance of Genomic Alterations between Circulating-Free DNA and Tumour Tissue in Cancer Patients. *Cancers(Basel)* 2019;11(12):1938.
 - 21) Scherer F. Capturing Tumor Heterogeneity and Clonal Evolution by Circulating Tumor DNA Profiling. *Recent Results Cancer Res* 2020;215:213-230.
 - 22) Esagian SM, Grigoriadou G I, Nikas IP, et al. Comparison of liquid-based to tissue-based biopsy analysis by targeted next generation sequencing in advanced non-small cell lung cancer: a comprehensive systematic review. *J Cancer Res Clin Oncol* 2020;146(8):2051-2066.
 - 23) Duffy MJ, Diamandis EP, Crown J. Circulating tumor DNA (ctDNA) as a pan-cancer screening test: is it finally on the horizon? *Clin Chem Lab Med* 2021;59(8):1353-1361.
 - 24) Taniguchi H, Nakamura Y, Kotani D, et al. CIRCULATE-Japan: Circulating tumor DNA-guided adaptive platform trials to refine adjuvant therapy for colorectal cancer. *Cancer Sci* 2021;112(7):2915-2920.
 - 25) Miyo M, Kato T, Nakamura Y, et al. DENEb: Development of new criteria for curability after local excision of pathological T1 colorectal cancer using liquid biopsy. *Cancer Sci* 2022;113(4):1531-1534.
 - 26) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04136002>
 - 27) Tepus M, Yau TO. Non-Invasive Colorectal Cancer Screening: An Overview. *Gastrointest Tumors* 2020;7(3):62-73.
 - 28) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04144738>

「ナノピアBNP-A」の基本性能評価および 脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体に対する交差反応性の検証

Performance Evaluation of "Nanopia BNP-A" and verification of
cross-reactivity to pro-brain natriuretic peptide

鈴木瑛真¹⁾, 田中真輝人¹⁾, 梅森祥央²⁾, 村井良精¹⁾,
小林 亮¹⁾, 遠藤明美¹⁾, 浅沼康一¹⁾, 高橋 聡^{1,3)}

Abstract In this study, we evaluated the measurement performance of "Nanopia BNP-A". We also verified the cross-reactivity of the BNP reagent to proBNP. The precision, linearity and sensitivity were satisfactory for the diagnosis of patients with heart failure. In addition, no prozone phenomenon was observed. However, it should be used with caution because a decrease in the measured value was observed in the presence of hemolytic hemoglobin and rheumatoid factor. There was a strong positive correlation between "Nanopia BNP-A" and "ARCHITECT BNP-JP · Abbott", and a difference in the measured values between the two reagents ($r = 0.951$, $y = 1.64x + 0.94$). Cross-reactivity to proBNP was tested, and a difference was observed between the two reagents. Therefore, this may be one of the reasons for the difference in the measured values of BNP between the reagents.

Key words Heart failure, Nanopia BNP-A, Brain natriuretic peptide, Pro-brain natriuretic peptide, Cross-reactivity

1. はじめに

心不全は、心臓に器質的あるいは機能的異常が生じて心ポンプ機能の代償機転が破綻した結果、様々な症状が出現し、それに伴い運動耐用量が低下する臨床症候群である。ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド (Brain natriuretic peptide: BNP) は、主に心室から血中に分泌されるペプチドホルモンで、心室負荷の程度を反映して増加を認めることから、心不全の診断や、重症度および予後評価に極めて

有用なバイオマーカーとして汎用されている¹⁾。

従来、血中BNPの定量は、測定精度を考慮して専用機により実施されており、汎用自動分析装置による測定はできなかった。そこで、2018年、汎用自動分析装置に搭載可能な「ナノピアBNP-A」が発売され、専用機を保有しない施設においてもBNP測定の院内導入が容易となった²⁾。

BNP測定における問題点として、試薬間差が挙げられる。現行のBNP測定系の抗体は、BNPのみならず、

Received Dec. 15, 2021; Accepted Feb. 4, 2022
Ema SUZUKI¹⁾, Makito TANAKA¹⁾, Yoshifumi UMEMORI²⁾, Ryosei MURAI¹⁾, Ryo KOBAYASHI¹⁾, Akemi ENDOH¹⁾, Koichi ASANUMA¹⁾, Satoshi TAKAHASHI^{1,3)}

¹⁾札幌医科大学附属病院 検査部
〒060-8543 北海道札幌市中央区南1条西16丁目291
Division of Laboratory Medicine, Sapporo Medical University Hospital, Japan (291, South-1, West-16, Chuo-ku, Sapporo 060-8543, Japan)

²⁾日本医療大学 保健医療学部 臨床検査学科
〒062-0053 北海道札幌市豊平区月寒東3条11丁目1-50
Department of Clinical Laboratory Science, Faculty of

Health Sciences, Japan Healthcare University (50-1-11-3 tsukisamuhigashi, toyohira-ku, Sapporo 062-0053, Japan)

³⁾札幌医科大学 医学部 感染制御・臨床検査医学講座
〒060-8543 北海道札幌市中央区南1条西16丁目291
Department of Infection Control and Laboratory Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine (291, South-1, West-16, Chuo-ku, Sapporo 060-8543, Japan)

Corresponding author: 鈴木瑛真
TEL: 011-611-2111 (内線: 36460)
E-mail: maema@sapmed.ac.jp

BNPの前駆体であるproBNPと交差反応することが知られており、その程度は試薬間で異なる³⁾。そのため、各試薬間でのproBNPに対する反応性の相違が試薬間差の一因である可能性が指摘されている^{4),5)}。また、最近の研究により、重症心不全患者においてtotal BNP (proBNP + BNP)に対するproBNPの割合(proBNP%)が高いことが示され、proBNPの重要性が明らかとなっている^{6),7)}。

そこで本研究は、「ナノピア BNP-A」の基本性能評価に加えて、proBNPとの交差反応性を検証することを目的とした。

2. 材料および方法

1) 材料

札幌医科大学附属病院の外来および入院患者の残存EDTA-2K加血漿を用い、顕著な溶血を呈する試料は対象から除外した。

2) 測定試薬および機器

検討試薬にはナノピアBNP-A(積水メディカル株式会社、ラテックス免疫比濁法)を用い、LABOSPECT008(株式会社日立ハイテク)で測定した。対照試薬にはアーキテクトBNP-JP・アボット(化学発光酵素免疫測定法)を用い、ARCHITECT PLUS i2000SR(いずれもアボットジャパン合同会社)で測定した。

3) 併行精度

3濃度のプール血漿を20回連続測定して、併行精度を調べた。

4) 室内再現精度

-80℃で凍結保存した併行精度と同様の試料を、15日間連続でそれぞれ1日2回測定を行い、室内再現精度を求めた。なお、試薬搭載後、初日のみメーカー指定のキャリブレーターにて6点較正を行った。

5) 検出限界 (Limit of Detection: LOD)

ブランク試料(専用希釈液)を、5日間続けて1日12回測定を行い、合計60回分の測定値を得た。全測定値の総平均値および標準偏差を求め、パラメトリック法によりブランク上限(Limit of Blank: LOB)を算出した。次に、積水メディカル株式会社から提供された低濃度試料(約50 pg/mL)を専用希釈液にて希釈することで、6濃度のLOD算出用試料を作製した。各試料を5日間連続でそれぞれ1日2回測定後、平均標準偏差を求めた。LOBおよび平均標準偏差を用いて、LODを算出した。

6) 定量限界 (Limit of Quantitation: LOQ)

検出限界と同様の試料を専用希釈液で希釈し、10濃度のLOQ算出用試料を調製した。各試料を5日間2重測

定後、得られた測定値を用いて精度プロファイル図を作成した。精度プロファイル図における変動係数(Coefficients of Variation: CV)10%を許容限界としてLOQを求めた。

7) 希釈直線性

積水メディカル株式会社から提供された高濃度試料(約2,500 pg/mL)を、専用希釈液で10段階希釈後、それぞれ3重測定した。

8) プロゾーン試験

積水メディカル株式会社から提供された高濃度試料(約20,000 pg/mL)を、専用希釈液で10段階希釈後、それぞれ3重測定した。

9) 共存物質の影響

干渉チェックAプラスおよび干渉チェックRFプラス(いずれもシスメックス株式会社)を用いて、抱合型および非抱合型ビリルビン、乳び、リウマトイド因子(Rheumatoid factor: RF)が測定値に及ぼす影響を検討した。また、ヘモグロビンによる影響を自家調製溶血ヘモグロビンにより検証した。すなわち、プール血漿に5段階濃度の上記共存物質をそれぞれ添加後3重測定し、共存物質未添加時の測定値に対する変動を調べた。未添加時の測定値±5%を許容基準とした。

10) 対照試薬との相関

100例の患者血漿を検討試薬および対照試薬で測定した。

11) proBNPに対する交差反応性の検証

解析を行うにあたり十分な量が得られた慢性心不全患者2例(症例AおよびB)の血漿を用いて、proBNPに対する交差反応性を検討試薬および対照試薬で検証した。方法は原³⁾に準じた。すなわち、以下の方法でproBNPおよびBNPを高速液体クロマトグラフィ(High performance liquid chromatography: HPLC)により分取後、両試薬で測定した。

抽出および濃縮には、MonoSpin C18(ジーエルサイエンス株式会社)を用いた。なお、遠心条件は、2,500 g、5分とした。まず、メタノールおよび0.4%トリフルオロ酢酸500 μLをフィルタに通して平衡化した後、患者血漿を250 μL加えてBNP成分を吸着した。次に、0.1%トリフルオロ酢酸500 μLで洗浄し、2-プロパノール/0.1%トリフルオロ酢酸(4:1)を用いてBNP成分を溶出した。溶出した試料を減圧乾燥固定後、0.1%トリフルオロ酢酸50 μLを加えHPLC用の試料とした。

HPLC分析におけるカラムには、TSKgel G2000 SWXL 7.8 mm × 300 mm(東ソー株式会社)を用い、Thermo Scientific Dionex UltiMate3000(サーモフィッ

シャーサイエンティフィック株式会社)にて分析した。溶離液には0.25 mol/L NaClを含む0.1 mol/Lリン酸緩衝液(Phosphate buffer solution: PBS, pH 7.0)を使用し、注入量10 μLを流速0.3 mL/minで0.5分ごとに20~40分、分取した。分取したそれぞれの分画について減圧乾燥固定を行い、5%に調製したPBS/重合アルブミン溶液を300 μL加えて溶解後、両試薬でBNP濃度を測定した。なお、proBNP(分子量: 11,930)およびBNP(分子量: 3,470)の溶出時間を確認するマーカーとして、リボヌクレアーゼA(分子量: 13,700, Sigma-Aldrich社)、シトクロームC(分子量: 12,400, Sigma-Aldrich社)、BNP-32(分子量: 3,200, 株式会社ペプチド研究所)を、それぞれ用いた。

12) 統計解析

各測定性能の解析には、日本臨床化学会が提供している定量測定法のバリデーション算出用プログラム Validation-Support/Excel Ver.428を用いた。

3. 成績

1) 併行精度

CVは2.73~7.24%であった (Table 1)。

2) 室内再現精度

総合CVは3.30~9.20%であった (Table 2)。

3) LOD

15.3 pg/mLであった。

4) LOQ

31.2 pg/mLであった (Fig. 1)。

5) 希釈直線性

2,297 pg/mLまで直線性が確認された (Fig. 2)。

6) プロゾーン現象

20,000 pg/mLまでプロゾーン現象は認められなかった (Fig. 3)。

7) 共存物質の影響

遊離型および抱合型ビリルビンは20 mg/dL、乳びは1,640 Formazine turbidity unitの添加まで測定値の影響は認められなかった。一方、溶血ヘモグロビンおよびRFは添加濃度依存性に測定値が低下し、前者は100

Table 1 Repeatability

	(n=20)		
	Low	Medium	High
Mean (pg/mL)	44.2	109.9	1,630.2
SD	3.2	4.0	44.6
CV (%)	7.24	3.61	2.73

Table 2 Intermediate precision

	(n=30)		
	Low	Medium	High
Mean (pg/mL)	51.6	112.3	1,691.3
SD	4.7	3.7	64.5
CV (%)	9.20	3.30	3.82

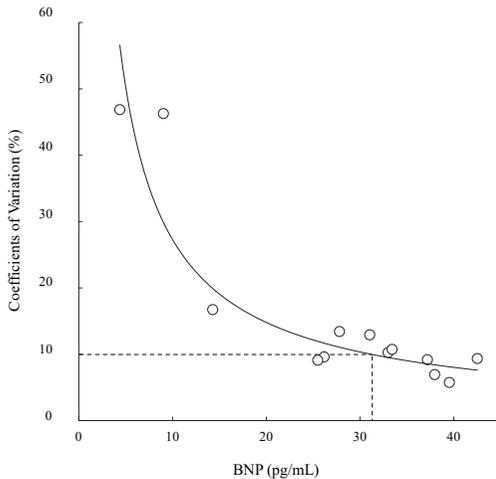


Fig. 1 Limit of Quantitation
Dotted line : Coefficients of Variation 10%.

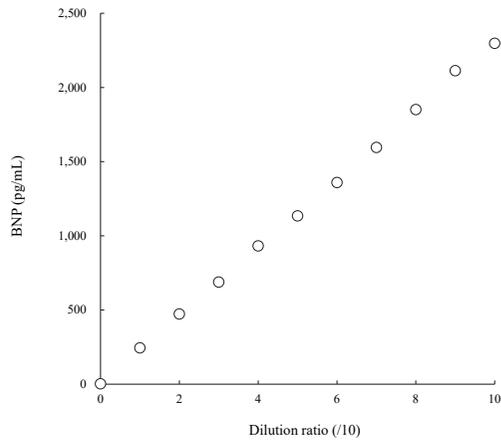


Fig. 2 Dilution linearity

mg/dL, 後者は400 IU/mL以上の添加で許容基準を超えた (Fig. 4)。

8) 対照試薬との相関

相関係数 r は0.951, 標準主軸回帰式は $y = 1.64x + 0.94$ であった (Fig. 5)。

9) proBNPに対する反応性の検証

HPLCにおける各マーカーの溶出位置から, Fraction No. 6~12がproBNP分画, No. 34~39がBNP分画と考

えられ, 症例Aは両分画, 症例BはBNP分画のみ確認された (Fig. 6)。症例AのproBNP分画およびBNP分画のBNP濃度は, 検試薬が523.1 pg/mL, 156.2 pg/mL, 対照試薬が829.5 pg/mL, 440.8 pg/mLであった。症例A, BともにHPLC分取液のBNP濃度は対照試薬の方が高値となり, 相関解析の結果と逆転した。

症例Aの結果を用いて, 試薬ごとに, 両分画のBNP濃度の総和を100%としたときの各分画のBNP濃度の

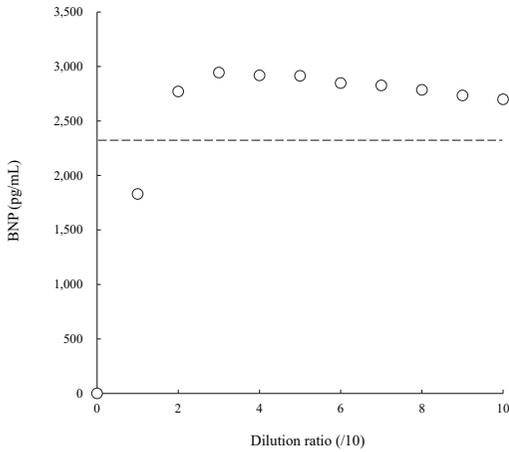


Fig. 3 Prozone phenomenon
Dotted line : Upper limit of measurement.

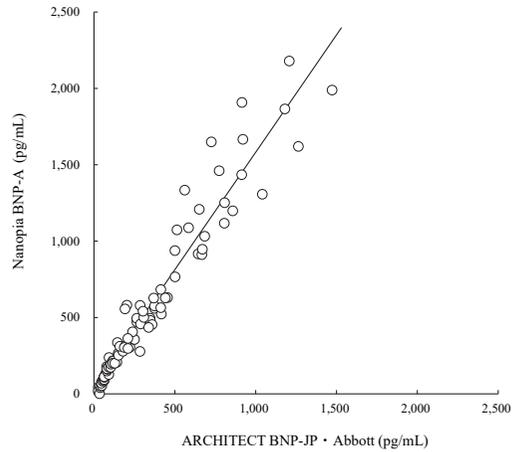


Fig. 5 Correlation between measured values of study reagent (y) and control reagent (x)
100 cases, $r = 0.951$, $y = 1.64x + 0.94$.

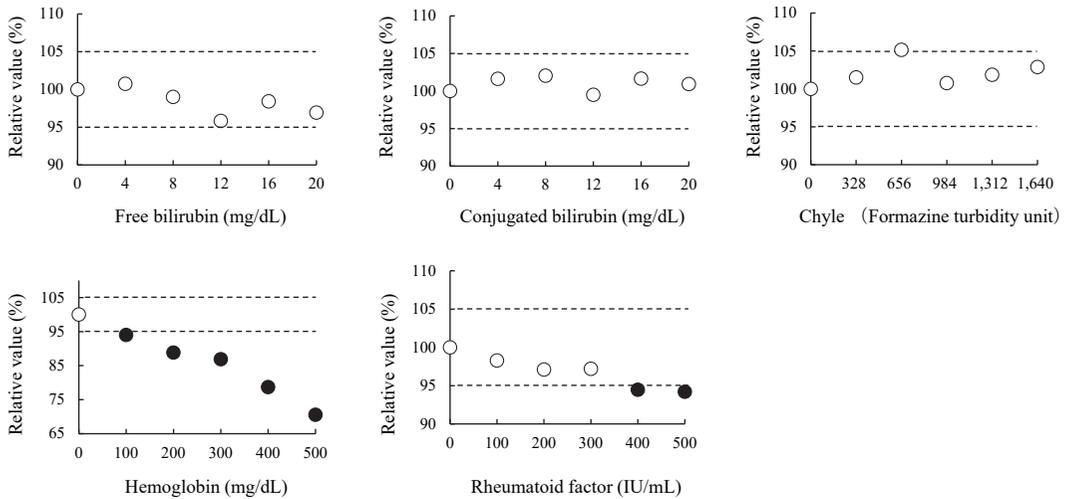


Fig. 4 Effects of interference substances
Dotted line : $\pm 5\%$ of the value without addition.

比率を算出した。その結果、検討試薬は対照試薬と比較してproBNPの割合が11.7%高値であった (Fig. 7)。

4. 考察

今回我々は、「ナノピア BNP-A」の基本性能評価に加えて、BNP測定試薬のproBNPに対する交差反応性の検証を行った。

日本臨床化学会の評価基準を参考に、CV5%を上限として精密さを評価したところ、低濃度試料のバラつきが

やや大きかった。ただし、BNPの生理的変動が約20%であることを考慮すると、許容できる精度であると考えられた⁸⁾。また、本試薬はラテックス免疫比濁法を測定原理とするため、化学発光酵素免疫測定法を原理とする専用試薬と比較してLODやLOQはやや不良であった。しかし、「急性・慢性心不全診療ガイドライン2017年改訂版」¹⁾において、慢性心不全のカットオフ値は100 pg/mL (軽度心不全や高度肥満患者では35あるいは40 pg/mL)とされており、心不全の診断上、十分な測定感度を有していた。

直線性は2,297 pg/mLまで確認された。直線性が高濃度まで得られる測定系は、再検率の低下により、測定から結果報告までの時間の短縮や、検査室におけるコストの低減に寄与する。当院にて過去1年間にBNPが2,297 pg/mLを超えた症例は全体の0.0004% (1/2,512例)と極めて少なく、ほぼ全ての症例の測定値は本検討の測定範囲内であった。また、20,000 pg/mLまで測定上限を下回ることなく、プロゾーンの発生は皆無であると考えられた。

共存物質の影響を確認したところ、溶血へモグロビンおよびRFの共存下で測定値が低下した。溶血による赤血球内のプロテアーゼの漏出により、BNPが分解されて低値となることはよく知られている⁹⁾。溶血は容易に

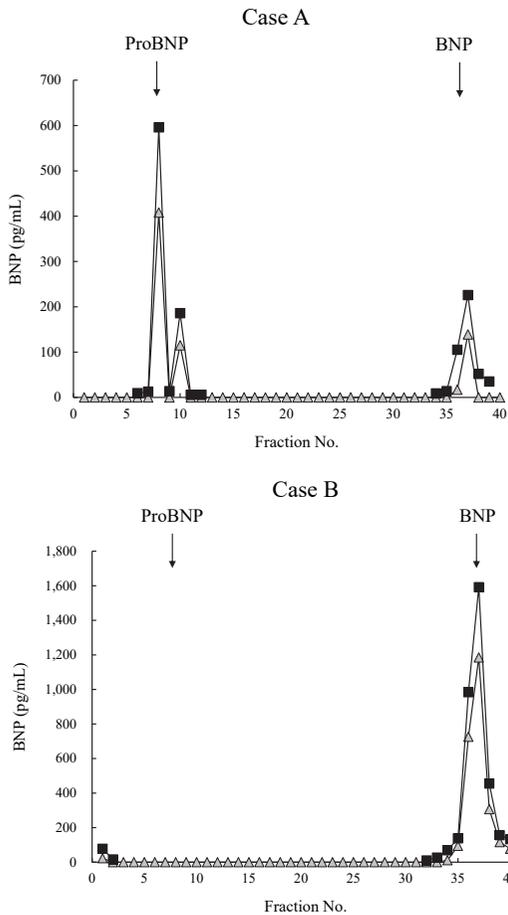


Fig. 6 Relationship between Fraction Numbers and BNP levels
 Case A : Patient with chronic heart failure, chronic kidney disease and type 2 diabetes.
 Case B : Patient with chronic heart failure, rectal cancer and type 2 diabetes.
 ▲ : Nanopia BNP-A, ■ : ARCHITECT BNP-JP·Abbott

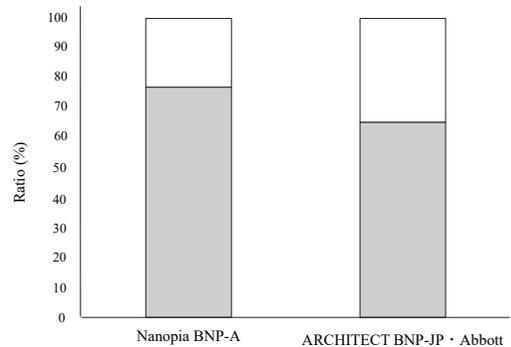


Fig. 7 The ratio of BNP concentration in the proBNP and BNP fraction to the sum of BNP concentration in both fraction in Case A.
 The ratio of BNP concentration in Nanopia BNP-A was 77% for the pro BNP fraction and 23% for the BNP fraction.
 The ratio of BNP concentration in ARCHITECT BNP-JP·Abbott was 65.3% for the pro BNP fraction and 34.7% for the BNP fraction.
 ■ : proBNP, □ : BNP

視認できるため、やむを得ず溶血試料で測定を実施する際は、その影響について確実に臨床へ伝達することが重要である。また、RFの干渉による測定値の低下は10%以内であり、BNPの生理的変動を考慮すると臨床評価に及ぼす影響は限定的と考えられるが、使用にあたっては十分な周知が必要である。

両試薬の相関解析の結果、良好な正相関を示したものの、標準主軸回帰式より明瞭な試薬間差が確認された。以前から、BNP測定試薬には試薬間差があり⁴⁾、測定系に用いられている抗体の違いや、基準となる標準物質がなく各社でキャリブレーションの値付けが異なることが、その要因として知られている。特に、「ナノピアBNP-A」を含めた国内製試薬のほとんどが塩野義製薬社製の抗体を採用しているのに対し、「BNP-JPアボット」は異なる抗体を使用している。このような抗体の違いにより、明らかな測定値差を認めたと考えられた³⁾。

また、本研究では、HPLCによりproBNP分画およびBNP分画を分取後、検討試薬および対照試薬で測定を行うことで、BNP測定試薬のproBNPに対する交差反応性を比較した。その結果、proBNPに対する反応性は両試薬間で10%以上異なっており、試薬間差の一因となっている可能性が示された。HPLC分取液のBNP値が相関解析と矛盾した要因として、HPLCの実施過程でBNPまたはproBNP、あるいは両者が何らかの影響を受けた可能性が考えられたが、詳細は不明であった。症例Bの解析では、proBNP分画が認められないものの、BNP分画のBNP濃度に差がみられた。さらに、症例Bの原血漿を両試薬間で測定したところ、得られたBNP濃度は相関解析の結果と同様の関係を認めた(検討試薬: 1150.5 pg/mL, 対照試薬: 783.1 pg/mL)。これは、試薬間差が、proBNPの存在の有無にかかわらず、前述の要因(抗体やキャリブレーションの違い)によって生じることを裏付ける結果であった。したがって、BNPの試薬間差は、既知の要因や、proBNPとの交差反応性の差異が複合的に関与して生じるものと推察された。ただし、本研究では症例数が2例と少なく、また、現在上市されている他のBNP試薬におけるproBNPに対する反応性は不明である。特に、同一抗体の採用により互換性がある程度担保されているとされてきた国内製試薬間においても一定の試薬間差があり、その一因としてproBNPとの交差反応性の相違が指摘されている³⁾。そのため、今後、より多くの試薬を対象として、proBNPに対する反応性を網羅的に検証し、それを考慮したBNP測定の標準化が望まれる。さらに、汎用的なproBNP測定系の開発により、現行のBNP測定系が包含する不確定要素を

減少させる必要がある。ただし、現状では標準化が十分ではないことを認識し、proBNPおよびtotal BNPの概念を念頭に置いてBNP測定値を評価することが肝要である。

5. 結論

「ナノピアBNP-A」は十分な測定性能を有しており、心不全患者の診療に寄与すると考えられた。また、BNP測定試薬間でproBNPに対する反応性に差異が認められ、試薬間差の一因である可能性が示された。

本研究は、当院臨床研究審査委員会の承認(承認番号: 312-210)を得て、後ろ向き観察研究として実施した。

本研究内容は、第70回日本医学検査学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) 日本循環器学会, 急性・慢性心不全診療ガイドライン(2017年改訂版). https://www.j-circ.or.jp/old/guideline/pdf/JCS2017_tsutsui_h.pdf (2021年9月7日アクセス)
- 2) 吉田忠晃, 松本拓二, 高橋弘至ほか, ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド測定試薬「ナノピアBNP-A」の基礎的検討. 医学と薬学 2019;76:367-374.
- 3) 原克子, 鈴木美夏, 澤夏海ほか, B型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)測定における問題点~機種間差の要因とHPLCでの分子量解析~. 医療と検査機器・試薬 2014;37:581-586.
- 4) 大森智弘, 當銘良也, 今村ちさほか, BNP (brain natriuretic peptide) の検討で明らかになったメーカー間差. 臨床検査 2011;55:928-32.
- 5) 船附賢三, 増田景一, 井上洋子ほか, BNP測定試薬における国内評価検討の実施. 臨床病理 2019;67:1103-1108.
- 6) Takahama H, Takashio S, Nishikimi T, et al. Ratio of pro-B-type natriuretic peptide (BNP) to total BNP is decreased in mild, but not severe, acute decompensated heart failure. Int J Cardiol 2018;258:165-171.
- 7) 南野直人, 寒川賢治, BNPの発見と臨床応用. 日本循環器学会専門医誌 2017;25-2:261-267
- 8) Nishiyama K, Tsutamoto T, Yamaji M, et al. Biological variation of brain natriuretic peptide and cardiac events in stable outpatients with nonischemic

- chronic heart failure. *Circ J* 2011;75:341-347.
- 9) 浅沼康一, 辻直樹, 菲澤慎也ほか, 化学発光測定装置「PATHFAST」による脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) 測定に及ぼす抗凝固剤および溶血の影響. *日本臨床検査自動化学会会誌* 2008;33:797-804.
- 10) Waldo SW, Beede J, Isakson S, et al. Pro-B-type natriuretic peptide levels in acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:1874-1882.
- 11) Saenger AK, Rodriguez FO, Ler R, et al. Specificity of B-type natriuretic peptide assays: cross-reactivity with different BNP, NT-proBNP, and proBNP peptides. *Clin Chem*. 2017;63:351-358.

ラテックス免疫比濁法を原理とする LPIAジェネシスTATの基本性能評価

Evaluation of fundamental performance of improved reagent “LPIA Genesis TAT”
based on the latex turbidimetric immunoassay.

及川真依¹⁾, 近藤 崇¹⁾, 中振大貴¹⁾, 盛合亮介¹⁾,
鳴海菜月¹⁾, 遠藤明美¹⁾, 浅沼康一¹⁾, 高橋 聡¹⁾²⁾

要旨 今回我々は、「LPIA ジェネシス TAT」の基本性能を評価した。併行精度および室内再現精度のCVは、最大19.78%であった。試薬安定性と直線性は良好な結果が得られた。検出限界は2.49 ng/mLで、共存物質の影響はみられなかった。対照試薬との相関性は、 $r = 0.888$, $y = 1.089x + 1.064$ であり、乖離例を7例認めた。以上の結果より、本試薬の基本性能は概ね良好であった。しかし、低濃度域の再現性や非特異反応による偽高値など、一部基本性能に課題が認められたため、結果の解釈には注意を要する。

Key words Thrombin-antithrombin Complex (TAT), LPIA Genesis TAT, STACIA CN10, nonspecific reaction, COVID-19

1. はじめに

トロンビン・アンチトロンビン複合体 (Thrombin-antithrombin complex: TAT) は、凝固反応の活性化により産生されたトロンビンとアンチトロンビン (Antithrombin: AT)が1:1で結合した複合体である^{1),2)}。その血中濃度は、血管内のトロンビンの産生量を反映し、深部静脈血栓症や肺塞栓症などの診断、予後および治療評価の指標として用いられている^{1),2)}。さらに、日本血栓止血学会の播種性血管内凝固症候群 (Disseminated intravascular coagulation: DIC) 診断基準2017年版³⁾において、TATは診断基準の一つに採用されていることから、正確かつ迅速に結果を報告することが求められている。

これまで血中TAT濃度の測定には、化学発光酵素免疫測定法や酵素免疫測定法が用いられてきた。しかし、操作が煩雑で測定時間が長く、検査コストが高いことが

課題であり、日常検査に導入していない施設も多い³⁾。そこで、これらの問題を克服し、自動分析装置に搭載可能なラテックス免疫比濁法を原理とした「LPIA ジェネシス TAT」が開発されたので⁴⁾、その基本性能を評価した。

2. 材料および方法

1) 対象

札幌医科大学附属病院における入院および外来患者の3.2%クエン酸ナトリウム加血漿を用いた。なお、本研究は札幌医科大学臨床研究審査委員会の承認を得て行った。(整理番号312-190, 312-1200)

2) 測定試薬および機器

検討試薬として「LPIA ジェネシス TAT」を使用し、全自動血液凝固検査システム「STACIA CN10」で測定を行った。対照試薬には、「パスファースト TAT」を用

Received Dec. 27, 2021; Accepted Jan. 5, 2022

Mai OIKAWA¹⁾, Takashi KONDO¹⁾, Hiroataka NAKAFURI¹⁾, Ryosuke MORIAI¹⁾, Natsuki NARUMI¹⁾, Akemi ENDOH¹⁾, Koichi ASANUMA¹⁾, Satoshi TAKAHASHI¹⁾²⁾

¹⁾札幌医科大学附属病院検査部

²⁾札幌医科大学医学部 感染制御・臨床検査医学講座

¹⁾Division of Laboratory Medicine, Sapporo Medical

University Hospital.

²⁾Department of Infection Control and Laboratory Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine.

〒060-8543 北海道札幌市中央区南1条西16丁目

Corresponding author : 及川真依

TEL : 011-611-2111(内線36440) FAX : 011-622-8502

E-mail : moikawa@sapmed.ac.jp

い、移動式免疫発光測定装置「PATHFAST」(いずれも株式会社LSIメディエンス)で測定した。

3) 測定原理

「LPIA ジェネシスTAT」は、TATのトロンビン側に結合する抗体を感作したラテックス粒子(以下T-LTX)と、AT側に結合する抗体を感作したラテックス粒子(以下AT-LTX)の2種を用いたラテックス免疫比濁法である。試料中のTATは、両感作ラテックス粒子と結合し、凝集塊を形成する。この凝集塊形成による濁度変化を吸光度変化として定量化し、試料中のTAT濃度を求める。

4) 併行精度

3濃度の患者プール血漿を、それぞれ20回連続測定し、平均値、標準偏差(standard deviation: SD)と変動係数(coefficient of variation: CV)を算出した。

5) 室内再現精度

初回にキャリブレーション後、3濃度の患者プール血漿を1日2回、20日間測定し、平均値、SDおよびCVを算出した。

6) 試薬安定性

初回にキャリブレーション後、2濃度の患者プール血漿を機器に試薬を架設した状態で週1回(2重測定)、6週間測定した。試薬搭載1日目の平均値±室内再現精度の2SDを超えた場合に影響ありとした。

7) 希釈直線性

高濃度の患者プール血漿を共通希釈液V(株式会社LSIメディエンス)で10段階希釈後、各希釈系列を3重測定した。

8) プロゾーンの有無

約1,150 ng/mLの高濃度試料を共通希釈液Vで10段階希釈後、各希釈系列を3重測定し、プロゾーンの有無を調べた。

9) 検出限界

約7 ng/mLの患者プール血漿を共通希釈液Vで5段階希釈後、各希釈系列を10重測定し、2SD法で検出限界を調べた。

10) 共存物質の影響

干渉チェック・Aプラスおよび干渉チェック・RFプラス(いずれもシスメックス株式会社)を使用した。患者プール血漿に、5段階希釈した遊離型ビリルビン、抱合型ビリルビン、溶血ヘモグロビン、乳びおよびリウマトイド因子(rheumatoid factor: RF)を添加後、5重測定した。未添加時の平均値±2SDを超えた場合を影響ありとした。

11) RFによる非特異反応の検討

550 IU/mLのRF(干渉チェック・RFプラス)を添加した患者プール血漿を、株式会社LSIメディエンスより提供されたT-LTXのみおよびAT-LTXのみのラテックス粒子が含まれる2種の測定試薬を用いて5重測定した。

12) ウエスタンブロット法

一次抗体として抗ATウサギポリクローナル抗体(Dako)および抗ヒトプロトロンビナギボリクローナル抗体(MP Biomedicals)、二次抗体として抗ウサギIgGアルカリホスファターゼ標識抗体(Dako)および抗ヤギIgGアルカリホスファターゼ抗体(Invitrogen)を用いた。干渉チェック・RFプラスのRFおよびブランクを400 μ LのD-PBS(-)で溶解後、Amicon Ultra-0.5 mL 50K(Merck)で約10倍濃縮したものをサンプルとした。D-PBS(-)で500倍希釈した正常ヒト血清を対照とした。

13) RF高値患者血漿の解析

RF高値患者(100 IU/mL以上)8例のTAT濃度を測定した。対象は、フィブリン・フィブリノゲン分解産物、Dダイマーが基準値以下の患者とした。

14) 対照試薬との相関性

患者血漿100例のTAT濃度を検討試薬と対照試薬で測定し、相関係数(r)と標準主軸回帰式を算出した。回帰式から求めた理論値と実測値の差の平均を算出し、その4倍以上変動を認めたもの、あるいは測定値が2倍以上あるいは、0.5倍以下の差を認めたものを乖離例とした。

15) 乖離例の解析

相関性試験で乖離を認めた検体を共通希釈液Vで段階希釈し、検討試薬でTAT濃度を測定した。測定後、それぞれの希釈倍率を掛けてTAT濃度を算出し、未希釈検体の±30%以上の変動を認めた場合、非特異反応とした。また、乖離を認めた検体をT-LTXのみおよびAT-LTXのみのラテックス粒子が含まれる2種の測定試薬を用いて測定し、いずれかで測定値が得られた場合に、非特異反応による偽高値とした。

3. 成績

1) 併行精度

3濃度のプール血漿のCVは、それぞれ1.59%(平均56.35 ng/mL)、3.61%(平均11.45 ng/mL)、19.78%(平均4.99 ng/mL)と低濃度域でばらつきがみられた(Table 1a)。

2) 室内再現精度

3濃度のプール血漿のCVは、それぞれ1.87%(平均

59.01 ng/mL), 5.37% (平均12.26 ng/mL), 10.65% (平均5.91 ng/mL) であり, 低濃度域および中濃度域でCVが5%を超える結果となった (Table 1b)。

3) 試薬安定性

僅かであるが, 経時的に測定値の低下が認められ, 中濃度域で6週目に2SDを超えた (Fig. 1)。

4) 希釈直線性

本試薬の測定上限120 ng/mLを超える理論値138.13 ng/mLまで, 良好な直線性が確認された (Fig. 2a)。

5) プロゾーンの有無

検出範囲内でプロゾーン現象は認められなかった (Fig. 2b)。

6) 検出限界

検出限界は2.49 ng/mLであった (Fig. 3)。

7) 共存物質の影響

遊離型ビリルビン, 抱合型ビリルビン, 溶血ヘモグロビンおよび乳びはそれぞれ21.5 mg/dL, 20.3 mg/dL, 500 mg/dL, 1,630 FTUまで影響は認められなかった。一方, RFの添加時には, 濃度依存性に測定値が上昇し, 110 IU/mLから影響が認められた (Fig. 4)。

8) RFによる非特異反応の解析

T-LTXのみおよびAT-LTXのみのラテックス粒子が含まれる2種の測定試薬を用いて, RF添加プール血漿を測定したところ, いずれの試薬でも感度以下であり, 非特異

Table 1a Within-run precision (n=20)

	Low	Medium	High
Mean (ng/mL)	4.99	11.45	56.35
SD (ng/mL)	0.99	0.41	0.89
CV (%)	19.78	3.61	1.59

Table 1b Between-day precision (n=20)

	Low	Medium	High
Mean (ng/mL)	5.91	12.26	59.01
SD (ng/mL)	0.63	0.66	1.10
CV (%)	10.65	5.37	1.87

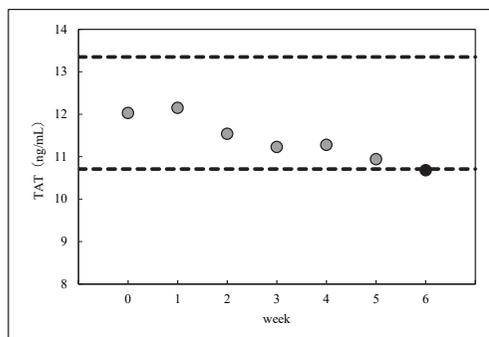
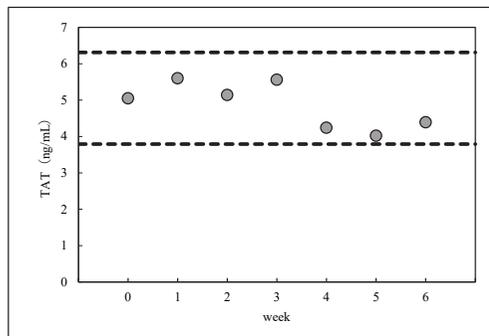


Fig. 1 On-board reagent stability test

Dotted line: Average value which measured on the first day \pm 2SD

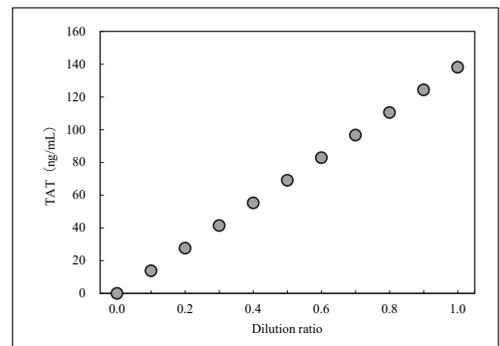


Fig. 2a Dilution linearity test

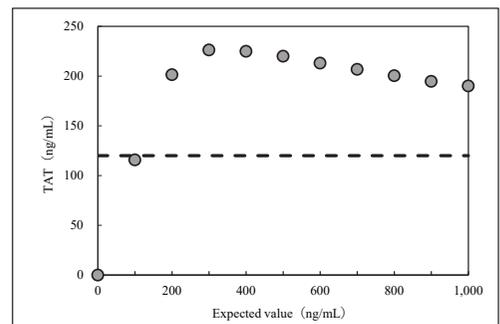


Fig. 2B Prozone phenomenon analysis

反応は認められなかった。

9) ウエスタンブロット法

干渉チェック・RFプラスにTATが混入している可能性を疑い、ウエスタンブロット法で確認した。その結果、抗AT抗体 (Fig. 5, A, Lane 2) および抗プロトロンビン抗体 (Fig. 5, B, Lane 2) に共通して検出される160~170 kDaのバンドが認められた (Fig. 5, 矢印)。

10) RF高値患者血漿の解析

RF高値患者8例のTAT濃度を測定したところ、基準値を超える検体はなく、RFによる非特異反応は認められなかった (Table 2)。

11) 対照試薬との相関

本試薬と対照試薬の相関係数は $r = 0.888$ 、標準主軸回帰式 $y = 1.089x + 1.064$ であり、全体的に若干のばらつき

がみられた。さらに、乖離例を7例認めた (Fig. 6, 乖離例は図中白丸)。

12) 乖離例の解析

乖離を認めた検体を段階希釈し、検討試薬でTAT濃度を測定したところ (Table 3), 7例中3例 (No.1, No.2, No.3) で非特異反応を認めた。また、さらに解析可能であった6例をT-LTXのみおよびAT-LTXのみのラテックス粒子が含まれる2種の測定試薬を用いて測定した (Table 4)。その結果、T-LTXで2例 (No.4, No.5), AT-LTXで2例 (No.4, No.6), 計3例の非特異反応を認めた。この3例について、検討試薬の測定値からT-LTXとAT-LTXで得られた非特異反応の測定値を差し引くと、完全に値は一致しないものの、乖離の基準には該当しない値となった。

4. 考察

併行精度のCVは、高濃度域では1.59%と良好であったが、低濃度域 (平均4.99 ng/mL) で19.78%とばらつきがみられた。室内再現精度も同様で、測定値が低いほどCVが大きかった。対照試薬の低濃度域 (平均4.70 ng/mL) の併行精度は、1.80~4.69%⁵⁾と良好であることが報告されている。さらに、TATの基準範囲が3~4 ng/mL以下であること考慮すると、低濃度域の精度の向上は今後の課題である。

試薬安定性試験では、経時的にTAT濃度が低くなる傾向があったものの、5週 (35日) 間は安定していた。本試薬は、試薬分注時に自動閉する専用キャップが

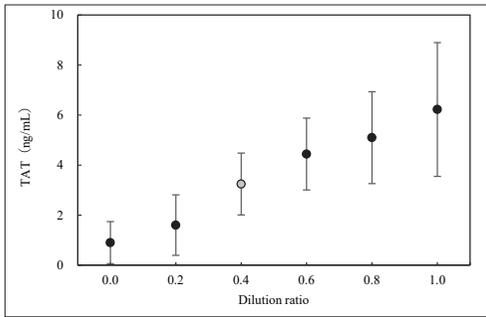


Fig. 3 Detection limit analysis

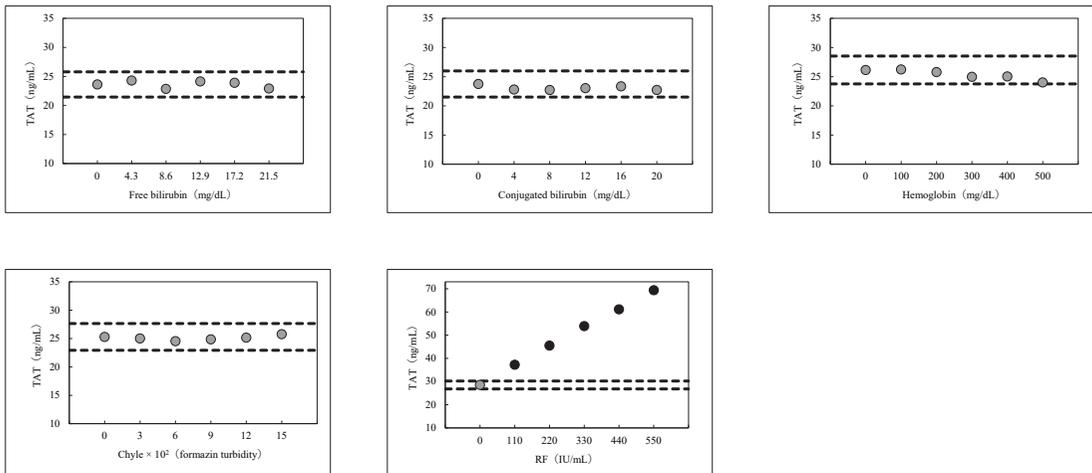


Fig. 4 Effects of interfering substances on measurement of TAT
Dotted line: untreated value ± 2SD

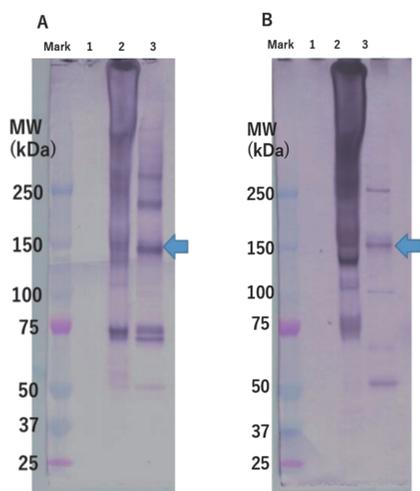


Fig. 5 Western blotting analysis of interference check RF plus

A: Analysis using polyclonal Rabbit anti-human antithrombin III

B: Analysis using polyclonal Goat anti-human prothrombin

Lane 1: Blank, Lane 2: RF, Lane 3: Normal human serum

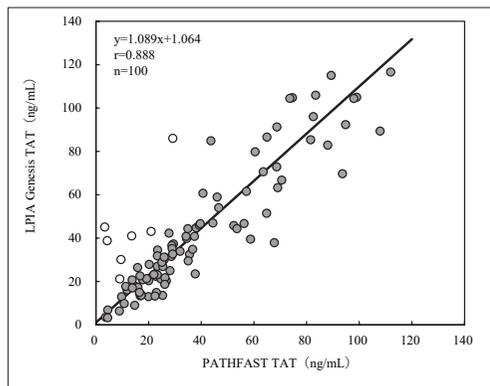


Fig. 6 Correlation of measured values between LPIA Genesis TAT and PATHFAST TAT

いているため、試薬の濃縮・劣化を防止し、試薬安定性の向上を図っている。月に1回程度のキャリブレーション頻度で運用が可能と考えられた。

希釈直線性は、測定範囲上限 (120 ng/mL) 以上まで直線性が認められ、約1,150 ng/mLまでプロゾーン現象は認められなかった。対照試薬の希釈直線性は109 ng/

Table 2 Analysis in nonspecific reaction of RF using samples of high RF

Sample No.	TAT (ng/mL)	RF (IU/mL)
1	3.28	115
2	0.61	115
3	2.36	1,144
4	2.60	162
5	0.71	306
6	2.81	100
7	2.75	118
8	0.00	187

Table 3 Dilution analysis in samples of discrepancy between LPIA Genesis TAT and PATHFAST TAT

Sample No.	LPIA Genesis TAT (ng/mL)				
	×1	×2	×4	×8	×16
1	<u>86.10</u>	<u>38.70</u>	<u>33.28</u>	<u>30.40</u>	
2	39.58	36.34	<u>26.20</u>		
3	23.78	<u>14.30</u>			
4	41.16	41.70	41.88		
5	50.52	43.88	41.12	46.40	52.00
6	30.32	25.50	26.56		
7	39.88	29.42	29.28	30.96	

Under lines: samples which showed nonspecific reactions.

mL⁵⁾、対照試薬と同じ測定原理を用いた試薬ステイシア CLEIA TATでは100~140 ng/mL^{6,7)}であり、これらと比較しても検討試薬は十分な高濃度域の測定レンジを有していると考えられた。検討試薬の検出限界は2.49 ng/mLと、対照試薬の0.0061 ng/mL⁵⁾と比較すると劣っている。しかし、TATの基準範囲上限よりは低い値であり、またDIC診断基準2017年版³⁾では、基準範囲上限 (3~4 ng/mL) の2倍か否かでスコアリングが変わってくるという点を考慮すると、十分な測定範囲を有していると考えられた。

干渉チェック・RFプラスを添加すると、濃度依存性に明らかな正誤差を認めた。この原因を解析するため、T-LTXとAT-LTXを用いて検討したが、非特異反応は

Table 4 Analysis in samples of discrepancy between LPIA Genesis TAT and PATHFAST TAT using T-LTX and AT-LTX

Sample No.	A LPIA Genesis TAT (ng/mL)	B T-LTX (ng/mL)	C AT-LTX (ng/mL)	A-(B+C) (ng/mL)	PATHFAST TAT (ng/mL)
2	39.58	<0.03	<0.03		18.1
3	23.78	<0.03	<0.03		7.73
4	41.16	<u>1.98</u>	<u>14.14</u>	25.04	13.6
5	50.52	<u>43.75</u>	<0.03	6.77	3.39
6	30.32	<0.03	<u>12.06</u>	18.26	9.54
7	39.88	<0.03	<0.03		3.85

Under lines: samples which showed nonspecific reactions.

認められなかった。そこで、干渉チェック・RF プラス中にTATが含まれている可能性を疑い、ウエスタンブロット法により検出を行ったところ、約160~170 kDaにバンドを認めた。TATはビトロネクチンと複合体を形成することが知られている⁸⁾。その分子量は約160~170 kDaであり、今回検出されたバンドと同等であることから、干渉チェック・RF プラスにはビトロネクチンと複合体を形成したTATが含有していると考えられた。TATが含有されていた理由は不明であるが、RFの精製時に原料とする血液からのコンタミネーションが推察された。一方、既報⁹⁾では干渉チェック・RF プラスを用いても、影響が認められていない為、ロットにより影響の差異があると考えられた。いずれにしても干渉チェック・RF プラスでは、RFが本試薬に及ぼす影響を確認できない為、8例のRF高値患者血漿を測定した。その結果、全例でRFの影響は認められなかった。

対照試薬との相関性を調べたところ、100例中7例に乖離を認めた。この原因として非特異反応を疑い、希釈試験を実施した。その結果、検討試薬で3例 (No.1~3) に非特異反応を認め、非特異反応を起こすことが知られている異常M蛋白や異好抗体^{9),10)}の関与が疑われた。そこで、T-LTXとAT-LTXを用いて、解析が可能であったNo.2とNo.3の非特異反応の有無を調べたが、両者ともに非特異反応を示さなかった。希釈試験で非特異反応が認められたが、T-LTXやAT-LTXと反応を示さなかった理由は明らかとなっていないが、T-LTXおよびAT-LTXのラテックス濃度は検討試薬のラテックス濃度より低い為、検出できなかった可能性がある。

一方、乖離例7例の内、3例 (No.4~6) にT-LTXや

AT-LTXで非特異反応を認めた。AT-LTX で非特異反応を認めたNo.4 (COVID-19患者) およびNo.6 (AT欠損症患者) は、ATⅢ製剤の投与を行っていた。通常、AT-LTXはTATのAT側の抗原とは結合するが、ATとは結合しない。このことから、ATⅢ製剤の大部分とは結合しないと考えられるが、ATⅢ製剤の一部が変性していることが報告されており¹¹⁾、変性したATが、検討試薬中のAT-LTXと反応したことで偽高値になったと推察された。ATⅢ製剤による影響は、検討試薬添付文書にも記載があり、投与患者のTAT測定値の解釈には注意を要する。また、T-LTXで起こる非特異反応に関しては、抗プロトロンビン抗体の関与が報告されている¹²⁾。すなわち、プロトロンビンに抗プロトロンビン抗体が結合すると、トロンビン様のエピトープが発生し、T-LTXと反応することで偽高値を示す。抗プロトロンビン抗体は、ループスアンチコアグラント (Lupus anticoagulant: LA) 陽性患者などで認められ、COVID-19患者では高率でLAが陽性になると報告されている^{13),14)}。実際に、T-LTXと非特異反応を示したCOVID-19患者である乖離例No.4は、LA比が1.4と陽性であったことから、抗プロトロンビン抗体の存在が示唆された。乖離例No.5については直腸癌と診断されており、抗プロトロンビン抗体との関連性は不明だが、上述したような変性したトロンビン或いは抗プロトロンビン抗体が関与している可能性が考えられた。

本検討は、既存試料を用いた検討であるため、サンプル量が十分ではなく、追加試験や詳細な解析を実施できなかった。しかし、明らかな非特異反応は100例中6例と高い割合で認められており、乖離原因を明らかにし、

非特異反応の影響を回避した改良試薬を開発するため、さらなる検討が必要であると考えられた。

5. 結論

「LPIA ジェネシスTAT」は操作が簡便で、測定時間も従来法の30分から約10分に短縮された。しかし、低濃度域の再現性や非特異反応による偽高値など、一部の基本性能に課題が認められた。そのため、初回異常値や前回値との差が認められる場合には、臨床背景や他の検査結果の確認が必要である。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文献

- 1) 家子正裕, 大村一将, 高橋伸彦. 血栓症の血液バイオマーカー. 日本臨牀 2018;76:1529-1535.
- 2) 門平靖子, 朝倉英策. 血栓性疾患における凝固検査の最前線. 日本血栓止血学会誌 2007;18:127-139.
- 3) DIC診断基準作成委員会. 日本血栓止血学会DIC診断基準 2017年版. 日本臨床検査自動化学会会誌 2017;28:369-391.
- 4) 吉田竜也, 楊宇航, 西村文子ほか. ラテックス免疫比濁法を用いたトロンビン・アンチトロンビン複合体測定試薬の開発. 日本臨床検査自動化学会会誌 2019;44:213-217.
- 5) 高橋祐輔, 浅沼康一, 辻直樹ほか. 化学発光酵素免疫測定装置「PATHFAST」による「TAT」測定の基本性能に関する評価. 日本臨床検査自動化学会会誌 2009;34:64-68.
- 6) 風間文智, 雨宮憲彦, 小岩井孝夫ほか. 凝固線溶マーカーを中心とした全自動臨床検査システムSTACIAの基礎的検討. 日本臨床検査自動化学会会誌 2012;37:125-132.
- 7) 木村真波, 野木岐実子, 島津千里ほか. STACIAによる凝固線溶マーカー (TAT, FDP, Dダイマー, PIC) 測定の検討. 機器・試薬 2010;33:525-533.
- 8) Hetty C. de Boer, Philip G. de Groot, Bonno N. Bouma, et al. Ternary vitronectin-thrombin-antithrombin III complexes in human plasma. detection and mode of association. The Journal of Biological Chemistry 1993;268:1279-1283.
- 9) 三好雅士, 松田定信, 井上千尋ほか. Dダイマー・FDPの逆転現象に対しDTTが有用であった1症例. 医学検査 2014;63:86-89.
- 10) 中川正巳, 杉浦直子, 安田誠. ラテックス免疫比濁法によるCK-MB蛋白量測定試薬の基礎的検討. 医学検査 2014;63:464-470.
- 11) 牧島敦, 洪苑起, 遠山敏弘ほか. 乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ製剤中に含まれる変性ATⅢの分析. 薬理と臨床 2009;19:91-99.
- 12) 吉田竜也, 吉田美香, 内藤澄悦ほか. ラテックス免疫比濁法を用いた新規トロンビン・アンチトロンビン複合体測定試薬における抗プロトロンビン抗体の影響. 臨床病理 2020;68:877-882.
- 13) Ines Harzallah, Agathe Deblquis, Bernard Drenou. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. Journal of thrombosis and haemostasis 2020;18:2064-2065.
- 14) Louise Bowles, Sean Platton, Nada Yartey, et al. Lupus Anticoagulant and Abnormal Coagulation Tests in Patients with Covid-19. The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE 2020;383:288-290.

ADVIA Centaur XPTによるIL-6測定の基礎的検討と臨床的意義 —関節リウマチ患者を対象に検討—

Basic study and clinical significance of IL-6 measurement by ADVIA Centaur XPT
—Study for patients with rheumatoid arthritis—

石田秀和¹⁾²⁾, 竹村正男³⁾⁷⁾, 佐藤正夫⁴⁾, 山本康子¹⁾, 藤垣英嗣¹⁾,
佐々木智裕⁵⁾, 森本剛史⁶⁾, 酒井昭嘉¹⁾⁶⁾, 伊藤弘康⁷⁾, 斉藤邦明¹⁾³⁾

要旨 ADVIA シリーズ用に開発されたIL-6測定試薬をCentaur XPTを用いてその有用性について検討した。併行精度(%)2.2~7.7, 室内再現精度(%)2.9~6.8で精度について問題ないと考えられる。また従来法のELISA法($r = 0.966$), CLEIA法($r = 0.977$)との相関は良好であった。健常者(1.35 ± 0.70 pg/mL), 不明関節炎患者(3.49 ± 6.29 pg/mL)と関節リウマチ患者(17.56 ± 31.28 pg/mL)の比較において関節リウマチ患者が有意($p < 0.001$)に高値であった。さらに操作性については、既に検査室に設置されている装置を用いるため操作手順を大きく変更することはなく日常検査項目と同時測定が可能である。今後、炎症性疾患や感染症などの早期診断バイオマーカーとして臨床の場における新たな診断価値が提唱されるものと考えている。

Key words Interleukin-6 (IL-6), ADVIA Centaur, Chemiluminescence immunoassay (CLIA), Rheumatoid arthritis (RA), Tocilizumab (TCZ).

1. はじめに

免疫機構は大きく分けて自然免疫機構, 獲得免疫機構に分類され, それぞれの機構が特徴ある機序で相互的に作用し, 全体の免疫機能体系を保っている。すなわち, 外部環境因子からの生体内への情報伝達(刺激)は細胞膜を通じ, 多彩な経路が細胞レベルで存在している。基本的には細胞間接着によるcell-to-cell contactの直接伝達, あるいは低分子ペプチドやサイトカイン等のケミカルメディエーターを介しての経路などが考えられてい

る。これらは細胞膜上のレセプターや標的分子との会合により細胞内に情報伝達し, 最終的には転写因子の活性化および細胞増殖・維持へと繋がっている。特にリンパ球やマクロファージが分泌する様々な生理活性物質やサイトカインはネットワークを形成し, 正または負に作用することで動的なホメオスタシスが維持されていると考えられる。

実際, 臨床検査に用いられているCRPやSAAなどの急性期反応性蛋白の合成には, サイトカインシグナルが重要な役割を果たしている。特に, これらの蛋白合成に

Received Oct. 15, 2021; Accepted Feb. 1, 2022

Hidekazu ISHIDA¹⁾²⁾, Masao Takemura³⁾⁷⁾, Masao SATO⁴⁾, Yasuko YAMAMOTO¹⁾, Hidetsugu FUJIGAKI¹⁾, Tomohiro SASAKI⁵⁾, Tsuyoshi MORIMOTO⁶⁾, Akiyoshi SAKAI¹⁾⁶⁾, Hiroyasu ITO⁷⁾, Kuniaki SAITO¹⁾³⁾

¹⁾ 藤田医科大学大学院 保健学研究科病態制御部門

²⁾ 岐阜大学医学部付属病院

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⁾ 太田クリニック・リウマチ科

⁶⁾ 松波総合病院 中央検査室

⁷⁾ 岐阜大学大学院医学研究科病態情報解析医学

藤田医科大学大学院 保健学研究科 病態制御解析学部門
〒471-1192 愛知県豊田市沓掛町田楽ヶ窪1-98

Department of Disease Control and Prevention, Fujita Health University graduate School of Health Sciences, 1-98 Dengakekubo, Kutsukake-cho, Toyooka, Aichi, 470-1192, Japan.

Corresponding author: 竹村正男

TEL: 0562-93-2611

E-mail: takem@fujita-hu.ac.jp

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

はインターロイキン-6 (IL-6) のシグナル刺激が必要で臨床検査値に影響を及ぼす重要なメディエーターの一つである。IL-6はB細胞刺激因子-2 (BSF-2) としてクローニングされBリンパ球に免疫グロブリン産生を分化誘導するサイトカインとして報告された¹⁾。その後の研究報告から多くの生理活性機能を有し²⁾、現在ではマクロファージやリンパ球、内皮細胞、線維芽細胞、脂肪細胞など様々な細胞によって分泌されていることが明らかになっている。これまでの検出方法はIL-6感受性細胞系列 (MH60・BSF2) を標的細胞に用いたバイオアッセイ法からIL-6抗体を用いた固相酵素免疫測定法 (ELISA 法) や高感度発光イムノアッセイまで開発されてきた。生体内でのIL-6濃度は数pg/mLオーダーの微量物質であるが、測定技術の改良により定量化が可能となり、キャスルマン病³⁾、関節リウマチ⁴⁾などの疾患において客観的な病態把握として評価されるようになった。さらに現在では感染症や術後管理への応用、あるいは炎症程度の推測など緊急を有す事例での有用性が報告されている⁵⁾⁶⁾。

近年、IL-6の測定は結果報告の迅速性や煩雑な測定系を改善目的にした高感度自動分析機器への開発が試みられ、日常の臨床検査への応用が期待されるところである⁷⁾⁸⁾。

この度、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社 (SIEMENS) より ADVIA シリーズの全自

動化学発光免疫測定装置 Centaur 用に高感度 IL-6 測定試薬『ケミルミ IL6』が新しく開発された。今回の検討では、すでに検査室に設置されている「Centaur XPT」を用いて本試薬の特性およびその有用性について検討をおこなった。

2. 対象と方法

測定原理は磁性鉄粒子を用いた抗原抗体反応系に高感度測定が可能なアクリジニウムエステル標識抗体を応用した化学発光法である。すなわち、検体 (50 μ L) に対して磁性鉄粒子にターゲットとなる IL-6 モノクローナル抗体を固相した試薬 (140 μ L) およびアクリジニウムエステル標識抗体 (100 μ L) を添加し、37 $^{\circ}$ C で 7 分 30 秒間反応させる。専用洗浄液にて B/F 分離を行い酸化剤および酸化補助剤 (NaOH, NH₃) で発光させ、その相対発光量 (RLUs) より IL-6 濃度を検量線から算出する。この一連の工程はワンステップサンドイッチ化学発光免疫測定法を原理としており、この過程はすべて全自動で行われ 18 分で完了する (Fig. 1)。

対象は岐阜大学医学部附属病院リウマチ専門外来初診患者で 1987 年 ACR 診断基準を満たした診断確定された関節リウマチ患者 (RA) 72 例、不明関節炎 (UA) 56 例である。

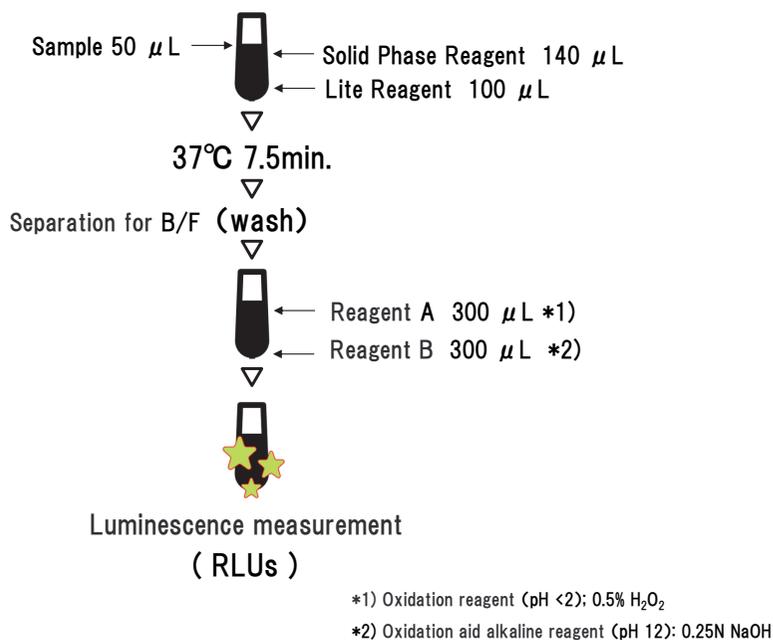


Fig. 1 IL-6 measurement outline by ADVIA Centaur xPT.

さらに初期生物学的製剤（インフリキシマブ：IFX）投与に於いて効果減弱が観察された11例について2nd生物学的製剤としてのトシリズマブ（TCZ）移行で、経過観察が可能であった症例（有効群7例、二次無効群4例）についてIL-6とCRPの変化を検討した。観察は治療前、治療12週後および54週後の3ポイントである。また健常者IL-6の分布確認のため健康科学リソースセンター（RECHS）より供与された同意書の確認が出来た94例について測定を行った。その内訳は、肝機能検査値（AST>30 IU/L, ALT>30 IU/L）、腎機能検査（eGFR < 60 ml/min/1.72m²）に異常値を認めない、男性51例（年齢33～75歳：平均53 ± 10.8歳）、女性43例（年齢32～66歳：平均50 ± 7.4歳）である。今回の検討に用いた患者血清は日常検査終了後の残検体を - 80℃ディープフリーザーに保存し一括測定した。また、従来法との比較は用手法であるELISA法（Sanquin社：Human IL-6 compact）と化学発光酵素免疫測定法（富士レピオ：ルミパルスIL-6 CLEIA法）を実施し比較検討を行った。なお、症例間比較の統計検定はWilcoxon signed-rank testで有意水準p<0.05を有意差ありとした。

本研究は岐阜大学大学院医学系研究科倫理審査委員会の承認を受けている。（承認番号2018-171）

3. 結果

1) 精度について

本試薬でのIL-6測定に関し異なる2種類の血清について併行精度（N=20）を確認した。検体1は測定値Mean ± SD（pg/mL）9.21 ± 0.71、変動係数（CV）7.7%、検体2は197.91 ± 4.28、CV 2.2%であった。

また、室内再現精度は異なる3種類血清について測定時に毎回新たに検量線を作成し6日間の変動について検討を行った。検体1は9.60 ± 0.66（CV）6.8%、検体2は199.8 ± 6.46（CV）3.2%、検体3は773.0 ± 22.26（CV）

Table 1 Examination of IL-6 reproducibility by ADVIA.

Within-run (N=20)	Sample 1	Sample 2	
Mean (pg/mL)	9.21	197.91	
SD	0.71	4.28	
CV (%)	7.7	2.2	
Daily variance (N=6)	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Mean (pg/mL)	9.6	199.8	773.0
SD	0.66	6.46	22.26
CV (%)	6.8	3.2	2.9

2.9%であり、精度については測定時毎での検量線作成で良好な変動係数であった（Table 1）。

2) 共存物質の影響

本試薬添付能書にはIL-6可溶性受容体ほか11種類のサイトカインおよびリウマチ因子の影響を認めない詳細なデータが示されている。しかしながらビリルビン、溶血などの検討結果が記載されていない。追加検討として共存物質検定試薬「干渉チェックAプラス」（シスメックス）を用いて濃度の異なる2種類の患者血清で行った。結果は図表には示さないが、ビリルビンF 20.8 mg/dL、ビリルビンC 19.0 mg/dL、ヘモグロビン460 mg/mL、乳ビ（FTD）1650の各濃度まで大きく影響を及ぼす変化は認められなかった。

3) 他法との相関

従来の用手法であるELISA法と化学発光酵素免疫測定法（CLEIA法）はそれぞれの能書とおりに実施し比較検討を行った。本測定法とELISA法との関係は回帰式 $y = 0.78x + 0.16$ 、相関係数 $r = 0.966$ であった。CLEIA法とは回帰式 $y = 0.71x - 1.41$ 、相関係数 $r = 0.977$ であり、両者とも良好な相関関係を示したが、本法においてやや低値（約20～30%）に測定される傾向が認められた（Fig. 2）。

4) 健常者のIL-6測定値

IL-6の基準値は既に4.0 pg/mL以下との報告があるが⁷⁾、本法についても健常者の年齢と男女分布を確認した（Fig. 3）。加齢との相関は認めず、性差比較（Mean ± SD）においても男性 1.23 ± 0.69 pg/mL、女性 1.47 ± 0.71 pg/mL であり、男女間には統計学的有意差は認めなかった。

5) 関節リウマチとIL-6

RAの病態形成には炎症性サイトカインが大きく拘わっており、特にTNFやIL-6の動向が注目されている。本法でのリウマチ専門外来受診（初診）患者のIL-6（mean ± SD）を測定した結果、健常者（ 1.35 ± 0.70 pg/mL）、UA（ 3.49 ± 6.29 pg/mL）、RA（ 17.56 ± 31.28 pg/mL）であり、UA患者に対しRA患者が有意（ $p < 0.001$ ）に高値であった（Fig. 4）。

6) RA患者の血中IL-6とCRPの変化について

生物学的製剤TCZの治療が行われたRA患者11例について有効群7例（responder）、および二次無効群4例（non-responder）を対象にCRPとIL-6の経過観察を検討した。観察ポイントは治療前、治療12週後、54週後の3ポイントで測定値は（Mean ± SD）で示した。

治療前のIL-6は有効・二次無効群ともに健常者より高値であったが、有効群は治療前 7.1 ± 1.6 pg/mL、12週後 19.6 ± 8.3 pg/mL、54週後 14.8 ± 3.8 pg/mLと12週で軽度上昇を認めた。全体的には低域での変化であり各

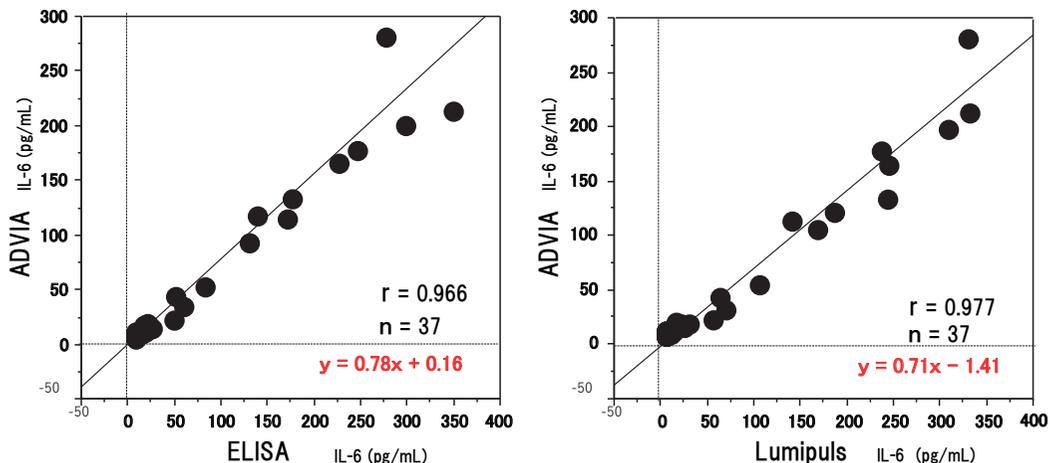


Fig. 2 Comparison with the conventional method Correlation of IL-6.

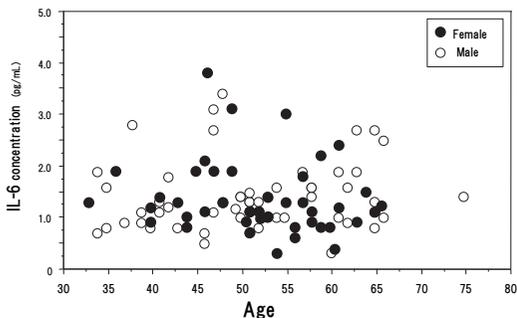


Fig. 3 Relationship between ageing and measured values in healthy subjects.

ポイント間での比較は統計学的な有意差は認められなかった。二次無効群では同様に 11.5 ± 4.3 pg/mL, 70.4 ± 19.7 pg/mL, 76.2 ± 17.1 pg/mLで治療前に比べ12週目, 54週目で有意に上昇していた ($p < 0.02$)。また有効群と二次無効群の同時点での二群間比較では12週目 ($p < 0.02$) と54週目 ($p < 0.001$) で二次無効群の方が有意に高値であった。

一方、CRPは有効群、二次無効群とも治療に伴い同様の変化を示した。有効群は治療前 0.82 ± 0.46 mg/dL, 12週後 0.04 ± 0.02 mg/dL, 54週後 0.07 ± 0.01 mg/dLでTCZ治療後速やかに正常域まで低下していた。二次無効群では変動幅が大きい治療前 4.5 ± 2.7 mg/dL, 12週目 1.1 ± 1.1 mg/dL, 54週目 0.03 ± 0.01 mg/dLであり有効群に遅れて正常域に達していた。各観察

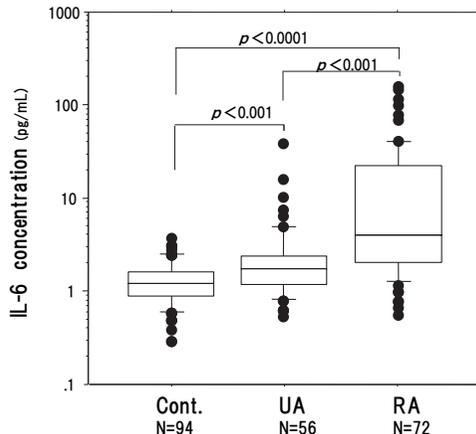


Fig. 4 IL-6 measurement value between patients with rheumatoid arthritis and healthy subjects.

ポイントでの変動幅が大きく統計学的有意差は認められないものの治療前に比べ治療54週目ではほとんどの症例で基準域付近の値となり、IL-6とは異なる結果であった (Fig. 5)。

4. 考察

IL-6は、染色体の第7番目p21(短腕)にコードされ、212個のアミノ酸残基から翻訳後修飾されN末端より最終に181~184個のアミノ酸残基に切断され分子量約20~28kDaの糖タンパクとして存在している。体内ではpg/mLオーダーの微量物質として存在し、その臨床的

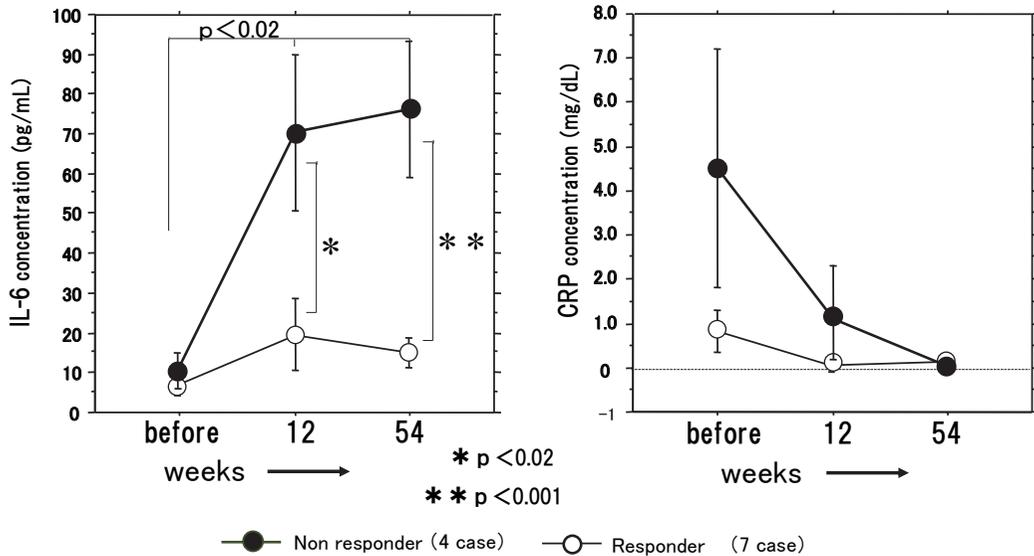


Fig. 5 Changes in IL-6 and CRP during Tocilizumab treatment.

意義付けはSIRS（全身性炎症反応症群）や敗血症の早期感染症マーカーの術後の手術侵襲の把握に应用されており⁵⁾⁹⁾、CRPやSAA等の急性期反応性蛋白よりも先立ち鋭敏な動態を示す指標として報告されている。また、これまでの多くの研究報告ではELISA法が用いられており安価で大量の検体測定を行う基礎研究等においては非常に有用性の高い測定系ではある。しかしながら、実際の臨床応用としては煩雑性や結果報告までに長時間を有し日常検査としては困難な状況にある。

今回、SIEMENS社からADVIA Centaur専用開発された「ケミルミIL6」はすでに臨床検査室に多くの設置実績がある本装置に検体と試薬をセットすれば測定時間は18分で完了される。また、必要血清量も50μLと微量検体であり小児などの小容量採血にも対応が可能と考える。よって診療前検査や緊急性を有する検査項目と同時に迅速検査として臨床応用されることに期待する。

今回、RA患者の病態把握と治療効果判定への有用性の一例として検討をおこなったが、すでにCRPやMMP-3、赤沈等の項目とサイトカインとの関係について検討されており¹⁰⁾¹¹⁾、本法でも同様の結果であった。また生物学的製剤TCZ治療の経過観察においてもIL-6は二次無効群で上昇し、有効群では低下していた。これに伴いCRPは二次無効群でIL-6に呼応され同様に上昇するものと考えられるが、実際には有効群、二次無効群ともに低下していた。このことはIL-6受容体をターゲッ

トとするTCZ治療のシグナル遮断特性が大きく関与しており、炎症の実態と臨床検査値の乖離現象には注意が必要となる¹²⁾。

現在の炎症性サイトカインの制御を目的としたTNF阻害関連薬やT細胞選択的共刺激調節薬など種々の分子標的治療においてIL-6濃度は治療効果を把握するうえで重要である。今回のADVIA centaurでのIL-6の測定はリアルタイムでデータ収集が可能となり診療前検査として有用性は評価できるものと考えられる。今後、さらに多くの分子標的治療薬が開発され臨床の場で使用される可能性が高く、簡便な方法でのIL-6測定は予後を推測するうえで有用な指標となりうる。また本機器特性からRAに極めて特異性が高い抗CCP抗体（ACPA）とIL-6の同時測定機能も用意されており、患者QOLの向上性から早期診断・治療への応用が考えられる。さらにIL-6は様々な分野で病態情報解析に应用されており¹³⁾¹⁴⁾、RA以外のバイオマーカーとして本法のような簡便性な測定系が普及することで将来的に多くの研究成果をもたらすものと期待される。

5. まとめ

今回SIEMENS社のIL-6測定試薬をADVIAシリーズCentaur XPTを用いてその有用性について検討した。再現性については併行精度CV(%)22~7.7、室内再現精度CV(%)2.9~6.8であり日常検査としては大きな問題はないもの

と考えられる。さらに操作性については、既に検査室に設置されている装置を用いるため操作手順を大きく変更することはなく試薬カートリッジをセットすれば従来の項目と同時測定が可能である。今回、保険収載が認められ炎症性疾患や感染症などの早期診断バイオマーカーとして臨床の場における新たな診断価値が提唱されるものと考えている。

なお、この報告の一部は2019年日本臨床検査自動化学会第51回大会（横浜市）に於いて報告した。

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

- Hirano T, Yasukawa K, Harada H, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 1986;324:73-76.
- Gauldie J, Richards C, Harnish D, et al. Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84:7251-7255.
- Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N, et al. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood* 1989;74:1360-1367
- Muscat C, Bertotto A, Ercolani R, et al. Long-term treatment of rheumatoid arthritis with high doses of intravenous immunoglobulins: effects on disease activity and serum cytokines. *Ann Rheum Dis* 1995;54:382-385
- Mokartl D., Merlin2 M., Sanninil A, et al. Procalcitonin, interleukin 6 and systemic inflammatory responses syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery. *Br. J Anaesthesia* 2005;94:767-773
- 竹村正男, 松波英寿, 幕内雅敏 ほか. ヒト肝細胞増殖因子の臨床検査医学的研究 (II). -生体肝移植とヒト肝細胞, 増殖因子 (h-HGF) の変動-. *臨床病理* 1994;42:1261-1267
- 竹村正男, 清島 満, 斎藤邦明 ほか. 化学発光法による高感度Interleukin-6測定について. *医学と薬学* 1996;35:1071-1076
- 大橋葉津希, 竹村正男, 片桐恭雄 ほか. 全自動酵素免疫化学発光分析装置イムライズによる血中IL-6測定の基礎的検討. *医学と薬学* 2004;51:359-363
- 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;3:519-528
- 浜川英嗣, 竹村正男, 佐藤正夫 ほか. RA患者におけるMMP-3の測定意義. -他指標 (IL-6, IL-8) との比較から-. *臨床病理* 2003;51:13-18
- Sato M, Takemura M, Shinoh R, et al. Serum cytokine concentrations in a patient with rheumatoid arthritis on etanercept therapy who subsequently developed pneumocystis pneumonia: a case report. *Case Rep Rheumatol* 2011; 2011:185657.
- Nishimoto N, & Takagi N. Assessment of the validity of the 28-joint disease activity score using erythrocyte sedimentation rate (DAS28-ESR) as a disease activity index of rheumatoid arthritis in the efficacy evaluation of 24-week treatment with tocilizumab: subanalysis of the SATORI study. *Mod Rheumatol* 2010;20:539-547
- Kimura A, Takemura M, Saito K, et al. Increased cerebrospinal fluid progranulin correlates with interleukin-6 in the acute phase of neuromyelitis optica spectrum disorder. *J Neuroimmunol* 2017;305:175-181.
- Kimura A, Takemura M, Yamamoto Y, et al. Cytokines and biological markers in autoimmune GFAP astrocytopathy: The potential role for pathogenesis and therapeutic implications. *J Neuroimmunol* 2019;334:576999.

Time in range 及び平均血糖値由来の estimated A1c に関する検討

Estimated HbA1c derived from Time in Range or Mean Glucose Levels

武石宗一, 坪井宏樹

Abstract Time in range (70-180 mg/dL) [TIR]由来のeA1c (TIR-eA1c) 及び平均血糖値由来のeA1c (Mean-eA1c) に関し検討した。持続血糖モニター(CGM: iPro2)にて24時間血糖値を測定した2型糖尿病患者119例のデータを横断的に検討した。報告されているHbA1cとTIRもしくは平均血糖値との関連式を用いてTIR-eA1c及びMean-eA1cを算出した。Time below range (< 70 mg/dL)とTIR-eA1c - Mean-eA1c (Δ)は有意な正の関連を認めた。低血糖の存在と $\Delta > 0.5$ %は有意な正の関連を認めた。低血糖が存在する時間が長いほどMean-eA1cに対してTIR-eA1cがより高くなる可能性がある。

Key words CGM, Time in range, 平均血糖値, eA1c, 変動係数

1. 緒言

HbA1cは言わずも知れた代表的な血糖コントロール指標であるが、血糖変動の悪化状態、低血糖、腎不全、NAFLDの存在下などでは血糖コントロールの反映精度が低下するなど、さまざまな限界点がある¹⁾。近年、持続血糖モニター (CGM: Continuous Glucose Monitoring) が普及したことにより質の高い血糖コントロールの評価が可能となり、さらにHbA1cとCGMで測定された平均血糖値との関連が報告されたことで平均血糖値からHbA1cを推定 (estimated A1c: 以下eA1c) できるようになり²⁾、上述の限界点が克服されつつある。この報告は1型及び2型糖尿病患者さらには糖尿病でない患者をも対象にしている。最近さらに、対象糖尿病患者の大半が1型で2型が混在している報告においてGlucose Management Indicator (GMI) という指標が提唱された³⁾。これは広義での、

CGMで測定された平均血糖値から推定されたeA1c (Mean-eA1c) である。そしてさらに最近、CGMで測定されたTime in range (70-180 mg/dL) [TIR]がHbA1cとともに血糖コントロールの代表的な指標になりつつあり、HbA1cとTIRの関連において2つの代表的な報告がなされた⁴⁾⁵⁾。1つは対象患者すべてが1型糖尿病患者である報告であり⁴⁾、もう1つの報告の対象糖尿病患者は大半が1型で2型が混在している⁵⁾。TIRの特性として、180 mg/dL以上だけでなく70 mg/dL未満の時間割合が増加してもTIRの値は減少する。そのため、仮に低血糖が存在する患者のeA1cを前述の既報⁴⁾⁵⁾で報告されている線形回帰分析で解析されたHbA1cとTIRの関係式を用いて算出すると予測値が高く見積もられる可能性がある。そこで今回我々は、CGMで測定されたTIRから推定されたeA1c (TIR-eA1c) 及びMean-eA1cに関する検討を行った。

2. 対象と方法

1) 研究デザインと対象患者選定

本研究は横断研究である。2016年5月～2019年11月までに総合犬山中央病院に教育入院し、CGM (Medtronic iPro2; Medtronic MiniMed, Northridge, CA, USA) で24時間以上血糖値を持続測定した2型糖尿病患者で、本研究の参加に同意した119例を対象とした。CGM装着日は教育入院中の随時であり、CGM装着2日目の0時～24時の24時間測定値を解析した。

研究プロトコールは総合犬山中央病院倫理委員会によ

Received Nov. 9, 2020; Accepted Feb. 8, 2022

Soichi TAKEISHI, Hiroki TSUBOI

社会医療法人志聖会総合犬山中央病院糖尿病内科
(〒484-8511 愛知県犬山市大字五郎丸字二夕子塚6)

Department of Diabetes, Inuyama Chuo General Hospital (6, Futagozuka, Goromaru, Inuyama-city, Aichi, 484-8511, Japan)

Corresponding author: 武石 宗一

TEL: 0568-62-8111 FAX: 0568-62-9289

E-mail: souichi19811225@yahoo.co.jp

り承認され (承認番号: 2019年 第号, 承認日: 2019年 4月30日), UMINに登録された (UMIN000037524)。ヘルシンキ宣言のガイドラインに従ったインフォームドコンセントを行い, 同意を得た患者を本研究に登録した。

2) アウトカム

Time below range (< 70 mg/dL)⁶⁾[TBR < 70]は, 目標期間 (本研究では24時間) 内に存在する血糖値70 mg/dL未満の時間の, 目標期間に対する百分率を示す。

TIRは, 目標期間 (本研究では24時間) 内に血糖値が70-180 mg/dLであった時間の, 目標期間に対する百分率を示す。

Time above range (> 180 mg/dL)⁶⁾は, 目標期間 (本研究では24時間) 内に存在する血糖値180 mg/dL超の時間の, 目標期間に対する百分率を示す。

報告されている上述のHbA1cとTIRの関連式⁴⁾⁵⁾及びHbA1cと平均血糖値の関連式²⁾³⁾を用いてTIR-eA1c及びMean-eA1cを算出した。計算式を以下に示す。

- TIR-eA1c 1 = 10.31 - 0.048 × TIR⁴⁾
- TIR-eA1c 2 = (TIR - 155.4) ÷ - 12.762⁵⁾
- Mean-eA1c 1 = (平均血糖値 + 46.7) ÷ 28.7²⁾
- Mean-eA1c 2 (GMI) = 3.31 + 0.02392 × 平均血糖値³⁾

3) 主要評価項目

Mean-eA1cに対しTIR-eA1cがどのように解離するかを評価するため, TIR-eA1c - Mean-eA1cを評価した。Time below range (< 70 mg/dL)⁶⁾[TBR < 70]とTIR-eA1c - Mean-eA1cの関連 (TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 1 [Δ 1], TIR-eA1c 2 - Mean-eA1c 1 [Δ 2], TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 2 [Δ 3], TIR-eA1c 2 - Mean-eA1c 2 [Δ 4])を線形回帰分析で検討した。

4) 副次評価項目

- ① 平均血糖値⁷⁾, 変動係数⁷⁾とΔ 1, Δ 2, Δ 3, Δ 4の関連を線形回帰分析で検討した。
- ② 実測HbA1cとeA1cの解離の閾値として0.5%を用いた報告⁸⁾を基に, TIR-eA1cとMean-eA1cの解離の尺度として0.5%を採用した。低血糖の存在とΔ 1 > 0.5 %, Δ 2 > 0.5 %, Δ 3 > 0.5 %, Δ 4 > 0.5 %の関連をロジスティック回帰分析で検討した。
- ③ 平均血糖値とΔ 1及びΔ 4の関連を示した散布図(全119例, 変動係数 < 変動係数の全119例の中央値 (変動係数 < 中央値) の群, 変動係数 ≥ 変動係数の全119例の中央値 (変動係数 ≥ 中央値) の群)を検討した。
- ④ 低血糖を発症した26例におけるTIR-eA1c 1, TIR-eA1c 2, Mean-eA1c 1, Mean-eA1c 2の平均 ± 標準偏差及び, TIR-eA1c 1 vs. Mean-eA1c, TIR-eA1c

2 vs. Mean-eA1c 1, TIR-eA1c 1 vs. Mean-eA1c 2, TIR-eA1c 2 vs. Mean-eA1c 2の4つの組み合わせにおける対応のあるt検定の結果を検討した。

5) 補足検討

副次評価項目を解りやすく考察するために, 24時間における5分毎に測定されたCGMプロファイルを模倣的に作成した (Simulated CGM profile (SCGMP)1, 2, 3)。SCGMP 1→2, SCGMP 2→3の変化に伴う, TIR, 平均血糖値, 標準偏差, TIR-eA1c - Mean-eA1cの変化を検討した。

6) 統計解析方法

結果は平均値 (±標準偏差) で表し, 線形回帰分析, ロジスティック回帰分析, 対応のあるt検定を用い, 危険率5%未満を有意とした。データはBellCurveエクセル統計 (株式会社 社会情報サービス) を用いて分析した。

Table 1 Patient characteristics

Characteristic	Total
N (Male / Female)	119 (65 / 54)
Age, years	69.7 ± 13.0
Duration of diabetes, years	13.4 ± 11.4
BMI, kg/m ²	24.3 ± 5.1
HbA1c (NGSP), %	8.8 ± 1.7
CPI	1.3 ± 3.6
U-CPR, µg/day	49.0 ± 42.6
Hypoglycemia, n (%)	26 (21.8)
TBR (<70 mg/dL), %	2.3 ± 6.4
Time per day (<70 mg/dL), min	33.3 ± 92.7
TIR, %	71.7 ± 25.4
TAR (>180 mg/dL), %	26.0 ± 25.0
Time per day (>180 mg/dL), min	374.4 ± 359.6
Mean, mg/dL	152.8 ± 36.7
CV, %	26.5 ± 11.4
TIR-eA1c 1, %	6.9 ± 1.2
TIR-eA1c 2, %	6.6 ± 2.0
Mean-eA1c 1, %	7.0 ± 1.3
Mean-eA1c 2, %	7.0 ± 0.9
TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 1 (Δ1), %	-0.1 ± 0.7
TIR-eA1c 2 - Mean-eA1c 1 (Δ2), %	-0.4 ± 1.1
TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 2 (Δ3), %	-0.1 ± 0.7
TIR-eA1c 2 - Mean-eA1c 2 (Δ4), %	-0.4 ± 1.3

Data are shown as mean and standard deviation (SD). BMI; body mass index, HbA1c; glycosylated haemoglobin, CPI; C-peptide index, U-CPR; urine-CPR, Hypoglycemia; glucose levels less than 70 mg/dL, TBR (<70 mg/dL); time below range (<70 mg/dL), TIR; time in range (70-180 mg/dL), TAR (>180 mg/dL); time above range (>180 mg/dL), Mean; mean glucose level, CV; coefficient of variation, TIR-eA1c; eA1c derived from TIR, Mean-eA1c; eA1c derived from Mean

Table 2 The relationships between Δ (TIR-eA1c - Mean-eA1c) and glycemic variability or hypoglycemia metrics

	TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 1 ($\Delta 1$)		TIR-eA1c 2 - Mean-eA1c 1 ($\Delta 2$)		TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 2 ($\Delta 3$)		TIR-eA1c 2 - Mean-eA1c 2 ($\Delta 4$)	
	β	p	β	p	β	p	β	p
Mean, mg/dL	-0.35	<0.001	0.38	<0.001	0.26	0.005	0.63	<0.001
CV, %	0.56	<0.001	0.63	<0.001	0.65	<0.001	0.57	<0.001
TBR (<70 mg/dL), %	0.82	<0.001	0.63	<0.001	0.7	<0.001	0.46	<0.001
	TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 1 ($\Delta 1$) > 0.5 %		TIR-eA1c 2 - Mean-eA1c 1 ($\Delta 2$) > 0.5 %		TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 2 ($\Delta 3$) > 0.5 %		TIR-eA1c 2 - Mean-eA1c 2 ($\Delta 4$) > 0.5 %	
	OR (95% CI)	p						
Hypoglycemia existence	35.00 (8.76-139.79)	<0.001	12.40 (4.30-35.72)	<0.001	20.53 (6.27-67.22)	<0.001	5.68 (2.24-14.44)	<0.001

OR; odds ratio, CI; confidence interval

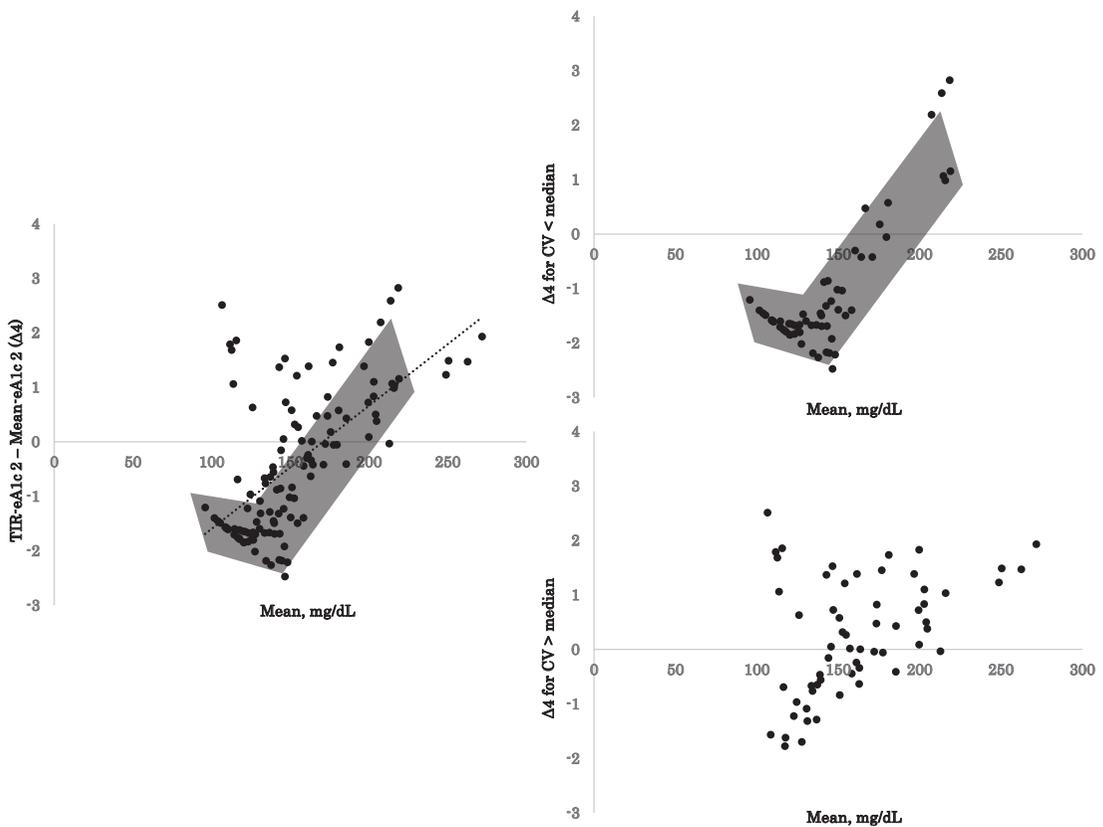


Fig. 1 The figures show the relationships between mean glucose levels (Mean) and $\Delta 4$ ["eA1c derived from 'time in range (70-180 mg/dL) ['TIR]' ("TIR-eA1c") 2 - eA1c derived from Mean (Mean -eA1c) 2].
 $\Delta 4$ for CV < median; $\Delta 4$ for the study participants where coefficient of variation (CV) < median in all the study participants of CV
 $\Delta 4$ for CV > median; $\Delta 4$ for the study participants where CV > median in all the study participants of CV

3. 結果

1) 患者背景

患者背景を Table 1 に示す。79 人 (66.4%) が TIR61.1% 以上であった。

2) 主要評価項目

TBR < 70 と $\Delta 1$, $\Delta 2$, $\Delta 3$, $\Delta 4$ はすべて有意な正の関連を認めた (Table 2)。

3) 副次評価項目

- ① 平均血糖値は $\Delta 1$ と有意な負の関連を、 $\Delta 2$, $\Delta 3$, $\Delta 4$ と有意な正の関連を認めた。変動係数は $\Delta 1$, $\Delta 2$, $\Delta 3$, $\Delta 4$ と有意な正の関連を認めた (Table 2)。
- ② 低血糖の存在と $\Delta 1 > 0.5\%$, $\Delta 2 > 0.5\%$, $\Delta 3 > 0.5\%$, $\Delta 4 > 0.5\%$ はすべて有意な正の関連を認めた (Table 2)。
- ③ 平均血糖値と $\Delta 4$ の関連を示す散布図において、平均血糖値が約 130 mg/dL 以上の領域では正の関連の傾向を視覚的に認めたのに対し、130 mg/dL 未満では逆にわずかではあるが負の関連の傾向を視覚的に認めた。この傾向は特に、変動係数 < 中央値の群で顕著に認められた (Fig. 1)。また、平均血糖値と $\Delta 1$ の関連を示す散布図において、平均血糖値が約 130 mg/dL 未満の領域では負の関連の強い傾向を視覚的に認めたが、130 mg/dL 以上では逆に強くはないが正の関連の傾向を視覚的に認めた。この傾向も特に、変動係数 < 中央値の群で顕著に認められた (Fig. 2)。
- ④ TIR-eA1c 1 vs. Mean-eA1c, TIR-eA1c 2 vs. Mean-eA1c 1, TIR-eA1c 1 vs. Mean-eA1c 2 において、TIR-eA1c は Mean-eA1c に比べ有意に高値を認めた (Table 3)。

4) 補足検討

副次評価項目を解りやすく考察するために模擬的に作成した、24 時間における 5 分毎に測定された CGM プロファイルを Fig. 3 に示す。Simulated CGM profile (SCGMP) 1 → SCGMP 2 の変化において、平均血糖値は 100 mg/dL → 150 mg/dL に上昇した (Mean-eA1c も上昇 [Δ Mean-eA1c 1 \doteq 1.8, Δ Mean-eA1c 2 \doteq 1.2])。それにもかかわらず、TIR は 100% のまま (TIR-eA1c は変化なし) であったため、TIR-eA1c - Mean-eA1c は低下した。SCGMP 2 → SCGMP 3 の変化において、平均血糖値は 150 mg/dL → 200 mg/dL に上昇し、上昇の程度は SCGMP 1 → SCGMP 2 の変化時と同等であった (Mean-eA1c の上昇程度も同等)。それにもかかわらず、TIR は 100% → 0% まで低下した (TIR-eA1c は急激に

上昇 [Δ TIR-eA1c 1 \approx 5, Δ TIR-eA1c 2 \approx 8]) ため、TIR-eA1c - Mean-eA1c は上昇した (Fig. 3)。

4. 考察

本研究結果より、低血糖が存在する時間 (低血糖時間) が長いほど Mean-eA1c に対して TIR-eA1c がより高くなり、また低血糖が存在することが Mean-eA1c に対して TIR-eA1c が 0.5% 以上高くなるリスクを高める可能性が示唆された。TIR-eA1c を 7% 未満にするためには高血糖のみならず低血糖を是正する必要がある、また TIR-eA1c < 7% は Mean-eA1c < 7% よりも良質な血糖管理であると考えられる。これらの点において TIR-eA1c は、血糖変動を評価できなかった従来の Mean-eA1c や実測の HbA1c 値とは異なる指標である。eA1c 7% 前後の患者における TIR-eA1c - Mean-eA1c > 0.5% は、低血糖のハイリスク患者を同定することに有用である可能性がある。

変動係数が高いほど Mean-eA1c に対して TIR-eA1c がより高くなった本研究結果は、変動係数が高いほど低血糖が多いことが報告されているため⁹⁾、そのことが起因であると考えられる。平均血糖値に関しては、 $\Delta 1$ のみ、 $\Delta 2$, $\Delta 3$, $\Delta 4$ と関連の正負が逆になったため、その理由を考察するために平均血糖値と $\Delta 4$ 及び $\Delta 1$ の関連を示す散布図を Fig. 1, Fig. 2 に示した。副次評価項目③における Fig. 1 の結果から、正負両方の関連の傾向が視覚的にあるが正のほうが強いためトータルで本研究結果の正の関連を認めた可能性を考える。副次評価項目③における Fig. 2 の結果から、正負両方の関連の傾向が視覚的にあるが負のほうが強いためトータルで本研究結果の負の関連を認めた可能性を考える。つまり、両者とも平均血糖値 130 mg/dL 付近を頂点とした V 字のような分布を示したが、トータルでは計算式の違いによって結果的に正負逆の関連結果になった可能性を考える。では次に、なぜこのような V 字のような分布を示した理由を考察するために、本研究の補足検討を行い、Fig. 3 に図示した。SCGMP 1 → SCGMP 2 の変化において TIR-eA1c - Mean-eA1c が低下した変化は、平均血糖値が上昇しても血糖値が 70-180 mg/dL の範囲に収まっている時間が変わらない結果生じたものであり、V 字における負の関連の傾向に該当する。対し SCGMP 2 → SCGMP 3 の変化において TIR-eA1c - Mean-eA1c が上昇した変化は、平均血糖値の上昇に比して血糖値が 180 mg/dL 以上に逸脱する時間が著しく増加する結果生じたものであり、V 字における正の関連の傾向に該当する。以上より、本研究の平均血糖値と Δ の関連結果にそれほど意義はなく、むしろ散布図からうかがえる V 字のような分布が平

Table 3 The differences between TIR-eA1c and Mean-eA1c in patients with hypoglycemia

Patients with hypoglycemia (n=26)	TIR-eA1c 1, %	TIR-eA1c 2, %	Mean-eA1c 1, %	Mean-eA1c 2, %
Mean ± SD, mg/dL	7.2 ± 1.0	7.0 ± 1.6	6.5 ± 1.0	6.6 ± 0.7
	TIR-eA1c 1 vs. Mean-eA1c 1	TIR-eA1c 2 vs. Mean-eA1c 1	TIR-eA1c 1 vs. Mean-eA1c 2	TIR-eA1c 2 vs. Mean-eA1c 2
p	<0.001	0.02	0.001	0.1

p: paired t-test

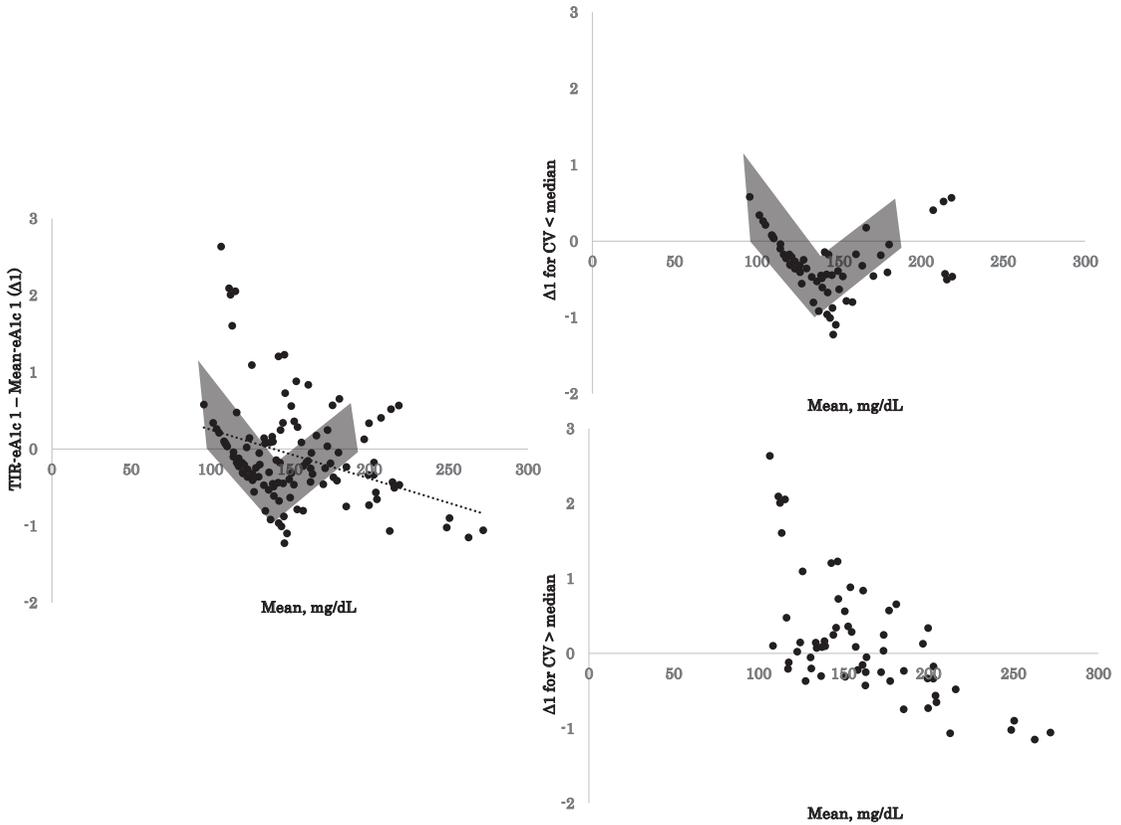


Fig. 2 The figures show the relationships between Mean and $\Delta 1$ (TIR-eA1c 1 - Mean-eA1c 1).
 $\Delta 1$ for CV < median; $\Delta 1$ for the study participants where CV < median in all the study participants of CV
 $\Delta 1$ for CV > median; $\Delta 1$ for the study participants where CV > median in all the study participants of CV

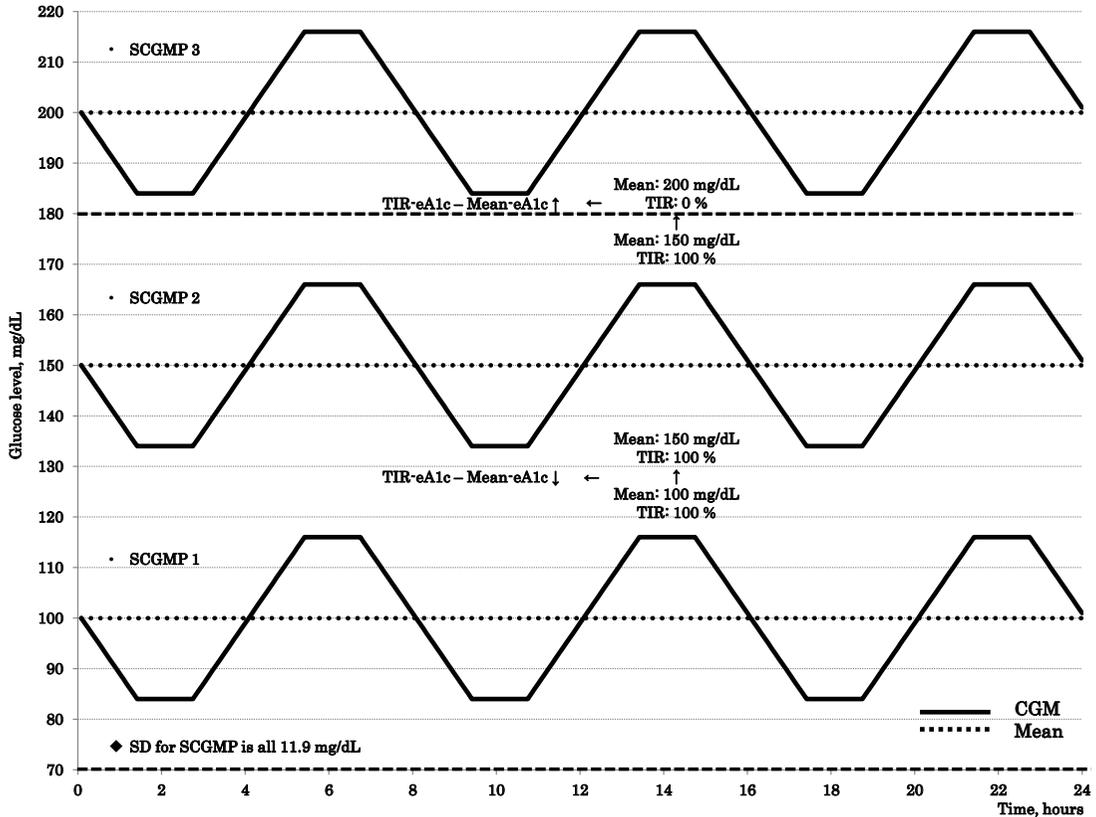


Fig. 3 The figure shows simulated CGM profiles (SCGMP) measured every 5 minute for 24 hours.

均血糖値と TIR の性質の違いにより生じる可能性を考慮しておくべきと考える。このことは、この V 字のような分布の傾向が副次評価項目③の検討において特に変動係数 < 中央値の群で顕著に認められたこと、そして考察の明瞭性を求めて低い標準偏差（すべて 11.9 mg/dL）になるように作成された Fig. 1 の SCGMP での結果においても認められたことから、特に対象患者が血糖変動幅の小さい集団であるほど前述の V 字のような分布がより生じやすい可能性を考える。

TIR-eA1c 2 に比べ TIR-eA1c 1 で予測値が高く見積もられた理由を考察する。TIR-eA1c の計算式（TIR-eA1c 式）において一次関数の式として TIR を x 、eA1c を y としたとき、TIR-eA1c 1 式と TIR-eA1c 2 式を連立方程式として解くと解は $x \approx 61.1$ 、 $y \approx 7.4$ となり、TIR 61.1%、eA1c 7.4% あたりで両関数は交差することになる。 x の係数が TIR-eA1c 2 式で $1 \div -12.762 \approx -0.078$ に対し TIR-eA1c 1 式で -0.048 と、傾きが緩やかであり両者とも

負の値であるため、TIR 61.1% 以上の共通の TIR を両計算式の x に代入した時、TIR-eA1c 2 式に比べ TIR-eA1c 1 式で y (eA1c) がより高くなる。TIR 61.1% 未満の共通の TIR を代入した場合は逆の結果になるわけだが、本研究では対象患者の半分以上である 79 人 (66.4%) が TIR 61.1% 以上であったため、TIR 61.1% 以上の影響が強く出た結果、TIR-eA1c 2 に比べ TIR-eA1c 1 で予測値が高く見積もられたと考えられる。よってこの結果は、両 TIR-eA1c 式の特性の違いから生じたものとする。

CGM で測定された血糖変動指標に関する最新のコンセンサス⁶⁾⁷⁾⁹⁾にて、TIR > 70% と変動係数 < 36% を達成することが重要視されている。TIR に関しては、TIR が低くなるほど細小血管合併症が増加傾向となることが報告されている¹⁰⁾。変動係数の上昇は低血糖の増加⁸⁾を介して死亡率の増加と関連する¹¹⁾¹²⁾可能性があり、また入院患者の死亡率の増加と関連することが報告されている¹³⁾¹⁴⁾。低血糖がある患者において高く見積もられてし

まう TIR-eA1c を参考にして血糖管理を厳密に行ってしまうと、低血糖がさらに増えるリスクがあるため、十分注意すべきと考える。

本研究は真偽を証明するにあたり以下の点において限界がある：1) 本研究は単施設、オープンラベル試験である；2) 本研究の対象患者は2型糖尿病患者であるため、1型糖尿病患者で本研究と同内容の研究を行った場合、両者の血糖変動の特性の違いから結果が異なる可能性が否定できない；3) Fig. 1, 2 の V 字分布に関する考察は有意差検定で評価できるほどははっきりしておらず、曖昧である。今後の症例蓄積、質の高い臨床研究による証明に期待したい。

著者の COI (conflicts of interest) 開示：特になし

文 献

- 1) International Expert Committee. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:1327-1334.
- 2) Nathan DM, Kuenen J, Borg R, et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008;31:1473-1478.
- 3) Bergenstal RM, Beck RW, Close KL, et al. Glucose Management Indicator (GMI): A New Term for Estimating A1C From Continuous Glucose Monitoring. *Diabetes Care* 2018;41:2275-2280.
- 4) Beck RW, Bergenstal RM, Cheng P, et al. The Relationships Between Time in Range, Hyperglycemia Metrics, and HbA1c. *J Diabetes Sci Technol* 2019;13:614-626.
- 5) Vigersky RA, McMahon C. The Relationship of Hemoglobin A1C to Time-in-Range in Patients with Diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2019;21:81-85.
- 6) Battelino T, Danne T, Bergenstal RM, et al. Clinical Targets for Continuous Glucose Monitoring Data Interpretation: Recommendations From the International Consensus on Time in Range. *Diabetes Care* 2019;42:1593-1603.
- 7) Danne T, Nimri R, Battelino T, et al. International Consensus on Use of Continuous Glucose Monitoring. *Diabetes Care* 2017;40:1631-1640.
- 8) Toschi E, Slyne C, Sifre K, et al. The Relationship Between CGM-Derived Metrics, A1C, and Risk of Hypoglycemia in Older Adults With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2020;43:2349-2354.
- 9) Monnier L, Colette C, Wojtuszczyzn A, et al. Toward Defining the Threshold Between Low and High Glucose Variability in Diabetes. *Diabetes Care* 2017;40:832-838.
- 10) Beck RW, Bergenstal RM, Riddlesworth TD, et al. Validation of Time in Range as an Outcome Measure for Diabetes Clinical Trials. *Diabetes Care* 2019;42:400-405.
- 11) Zoungas S, Patel A, Chalmers J, et al. Severe hypoglycemia and risks of vascular events and death. *N Engl J Med* 2010;363:1410-1418.
- 12) Currie JC, Peters RJ, Tynan A, et al. Survival as a function of HbA1c in people with type 2 diabetes: a retrospective cohort study. *Lancet* 2010;375:481-489.
- 13) Mendez CE, Mok KT, Ata A, et al. Increased glycemic variability is independently associated with length of stay and mortality in noncritically ill hospitalized patients. *Diabetes Care* 2013;36:4091-4097.
- 14) Takeishi S, Mori A, Hachiya H, et al. Hypoglycemia and glycemic variability are associated with mortality in non-intensive care unit hospitalized infectious disease patients with diabetes mellitus. *J Diabetes Invest* 2016;7:429-435.

Atellica IM1600免疫自動分析装置による性腺/ 下垂体ホルモン4項目の基礎的検討

Performance evaluation of 4 gonadal/pituitary hormones by Atellica IM1600.

大西滯奈子, 本多弘子, 市村直也, 東田修二

要旨 シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社（以下、シーメンス社）の Atellica Solution のモジュールの一つである免疫自動分析装置 Atellica IM1600 とその専用試薬を用いて、下垂体ホルモンである黄体形成ホルモン（以下、LH）、卵胞刺激ホルモン（以下、FSH）、およびプロラクチン、そして性腺ホルモンであるプロゲステロンの基礎的検討を行い、日常の検査業務に有用であるかを評価した。下垂体ホルモン3項目においては並行精度、室内再現精度、希釈直線性、定量限界、共存物質の影響、そして対照法との相関性を検討したところ良好な結果を得たが、FSH においては対照法との検査値乖離を1例認めた。またプロゲステロンにおいては並行精度、室内再現精度と対照法との相関性を検討したところ良好な結果を得た。

Key words Atellica IM1600, LH, FSH, Prolactin, Progesterone

1. はじめに

性腺/下垂体ホルモンの LH, FSH, プロラクチン、およびプロゲステロンは女性においては幼年期、また第二次性徴後、有経期、そして閉経後に至るまで一貫して内分泌学的に重要となるホルモンである。また、視床下部-下垂体前葉-性腺系において生殖系内分泌機能を司り、各々の血中ホルモン濃度測定は様々な内分泌疾患の診断や治療経過のモニタリングに必要な検査である¹⁾。性腺/下垂体ホルモンである LH, FSH, プロラクチンは下垂体前葉で分泌し、女性において第二次性徴以降は卵巣に作用する事により、性腺ホルモンのプロゲステロン、エストラジオールの分泌を促す。また閉経後は卵巣からの性腺ホルモン分泌能の低下によりネガティブフィ

ードバックを受け高値を示す²⁾。これらのホルモンは早くから検査キットが販売されているが、RIA法の時代は有機溶媒による抽出前処理を実施し測定に24時間以上必要であった。その後 nonRIA 法が開発され機器の自動化が進み現代では僅か十数分で測定できるようになり診療前検査だけでなく採卵中の迅速検査にまで適応できるようになっている。

今回、我々はこの Atellica IM1600 を用いて性腺/下垂体ホルモン4項目（LH, FSH, プロラクチン、プロゲステロン）の試薬性能について基礎的検討の機会を得たのでその結果を報告する。

2. 対象及び方法

1) 対象

(1) 対象の検体

当院検査部に提出された患者血清の検査終了後の残余血清を用いた。なお、本検討は本学医学部倫理審査委員会の承認（M2018-222）を得て行った。

(2) 対象の測定機器

Atellica IM1600（シーメンス社）

(3) 対象の試薬

①ケミルミ LH, ②ケミルミ FSH, ③ケミルミ プロラクチン, ④ケミルミ プロゲステロン

Received Oct. 14, 2021; Accepted Feb. 14, 2022
Minako ONISHI, Hiroko HONDA, Naoya ICHIMURA,
Shuji TOHDA
東京医科歯科大学附属病院 検査部
(Tokyo Medical and Dental University Hospital)
〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45
(1-5-45 yushima,bunkyo,Tokyo)
Corresponding author: 大西滯奈子
TEL: 03-5803-5619
E-mail: mnkmlab@tmd.ac.jp

(4) 対象試薬の測定原理

化学発光免疫測定法（以下、CLIA法）を測定原理とする。FSH、LH、プロラクチンについては、各々のホルモンに対する抗体を用いてアクリジニウムエステル標識試薬と固相試薬により反応させるサンドイッチ法を用い、プロゲステロンについては固相化試薬中のプロゲステロン結合磁性粒子と競合してアクリジニウムエステル標識抗体試薬と反応させる競合法を用いる。両法ともその後B/F分離を行った後、酸化反応により化学発光量から各々のホルモン濃度を測定する。

(5) 対照法の機器と試薬、及び測定原理

対照機器：AIA-CL2400（東ソー株式会社）、測定原理：化学発光酵素免疫測定法（以下、CLEIA法）、対照試薬：AIA-バックCL LH、AIA-バックCL FSH、AIA-バックCL プロラクチン、AIA-バックCL プロゲステロン

2) 方法

性腺/下垂体ホルモン項目の①LH、②FSH、③プロラクチンにおいては並行精度、室内再現精度、希釈直線性、定量限界、共存物質の影響、そして対照法との相関性を検討した。④プロゲステロンについては検体数が少ないため並行精度、室内再現精度と対照法との相関性のみを検討した。

(1) 並行精度

3濃度のコントロール血清と患者血清をそれぞれ20回測定した。

(2) 室内再現精度

3濃度のコントロール血清と患者血清（プロゲステロンは除く）をそれぞれ7～10日間に渡り、合計20回測定した。

(3) 希釈直線性

各項目低濃度、高濃度2種類の検体を用いて専用希釈液（共通希釈液1）で10段階の容量希釈を実施した。各希釈試料についてはそれぞれ2重測定を実施し、その平均値を用いて直線性を求めた。

(4) 定量限界LoQ（実効的検出感度）

各項目の低濃度患者血清を専用希釈液（共通希釈液1）で希釈し、各々をn=10で測定した。その結果を用いてプレジジョンプロファイル曲線を作成し、CV20%における定量限界を求めた。

(5) 共存物質の影響

各項目低濃度・高濃度の2種類の検体を干渉チェックAプラス（シスメックス株式会社）を用いてビリルビンF、ビリルビンC、ヘモグロビン（Hb）、および乳びによる干渉物質の影響の有無を検討した。

(6) 対照法との相関性

本法であるAtellica IM1600（y）と対照法であるAIA-CL2400（x）との相関性を検討した。

3. 検討結果

(1) 並行精度（Table 1）

性腺/下垂体ホルモン各項目のCVは、①LHは1.5～2.4%、②FSHは2.4～3.0%、③プロラクチンは1.4～2.2%、④プロゲステロンは2.5～5.7%であった。

(2) 室内再現精度（Table 2）

性腺/下垂体ホルモン各項目のCVは、①LHは2.5～3.3%、②FSHは2.2～3.9%、③プロラクチンは2.6～4.8%、④プロゲステロンは4.0～6.1%であった。

(3) 希釈直線性（Fig. 1）

10段階の容量希釈各々の結果について回収率を求め、

Table 1 Within-run precision of LH, FSH, Prolactin, Progesterone.

L:Low, M:Middle, H:High, P:Patient serum

検査項目	①LH (mIU/mL)				②FSH (mIU/mL)				③Prolactin (ng/mL)				④Progesterone (ng/mL)			
	L	M	H	P	L	M	H	P	L	M	H	P	L	M	H	P
n	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
平均値	4.37	23.24	68.32	32.11	8.21	22.54	48.64	34.63	6.82	14.14	37.78	11.60	1.27	10.04	20.88	12.93
SD	0.06	0.55	1.01	0.77	0.21	0.58	1.44	0.82	0.15	0.19	0.75	0.24	0.07	0.25	0.56	0.32
CV(%)	1.5	2.4	1.5	2.4	2.5	2.6	3.0	2.4	2.2	1.4	2.0	2.1	5.7	2.5	2.7	2.5

Table 2 Between-day precision of LH, FSH, Prolactin, Progesterone.
L:Low, M:Middle, H:High, P:Patient serum

検査項目	①LH (mIU/mL)				②FSH (mIU/mL)				③Prolactin (ng/mL)				④Progesterone (ng/mL)		
	L	M	H	P	L	M	H	P	L	M	H	P	L	M	H
n	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
平均値	4.22	23.07	68.00	26.69	8.17	22.71	49.99	33.13	6.80	14.11	37.06	27.10	1.24	9.77	21.86
SD	0.13	0.76	1.72	0.65	0.29	0.50	1.19	1.28	0.18	0.44	1.23	1.30	0.08	0.39	0.92
CV(%)	3.0	3.3	2.5	2.4	3.6	2.2	2.4	3.9	2.6	3.1	3.3	4.8	6.1	4.0	4.2

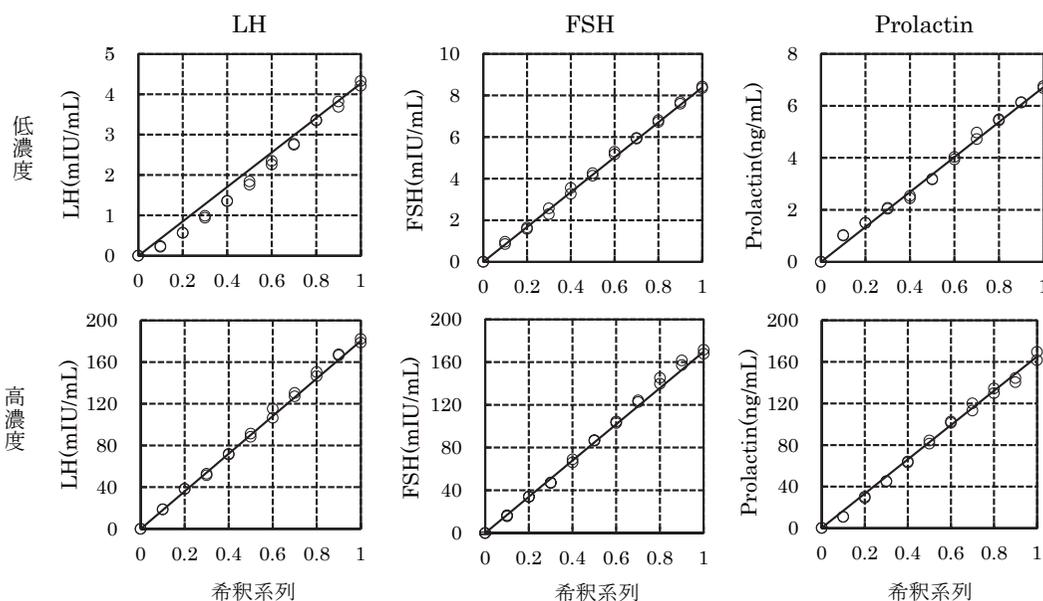


Fig. 1 Dilution linearity of LH, FSH and Prolactin.

平均回収率を算出した。各項目の平均回収率は①LHは91.8%，②FSHは100.8%，③プロラクチンは100.0%となり、いずれの項目も良好な希釈直線性を認めた。

(4) 定量限界LoQ (実効的検出感度) (Fig. 2)

CV20%における定量限界は、①LH 0.02 mIU/mL、②FSH 0.07 mIU/mL、③プロラクチン0.02 ng/mLであり、測定範囲下限 (LH:0.07 mIU/mL、FSH:0.30 mIU/mL、プロラクチン:0.30 ng/mL) を満たしていた。

(5) 共存物質の影響 (Fig. 3)

共存物質の添加濃度が0 mg/dLのときの測定値を100%としたとき、ビリルビンFは18.0 mg/dL、ビリルビ

ンCは18.8 mg/dL、ヘモグロビンは470 mg/dL、乳びは1590 FTUまでは測定値は100 ± 10%以内となり、影響は見られなかった。LHの高濃度においては条件は満たしていたものの、ビリルビンCの濃度が上がるにつれて測定値の低下が認められた。

(6) 性腺/下垂体ホルモン4項目における対照法との相関性 (Fig. 4)

①LHは $y=1.20x - 0.77$, $r=0.997$ (n=100)、②FSHは $y=0.86x+1.19$, $r=0.981$ (n=90)、③プロラクチンは $y=1.02x - 2.26$, $r=0.997$ (n=84)、④プロゲステロンは $y=1.03x+0.07$, $r=0.990$ (n=77)であった。

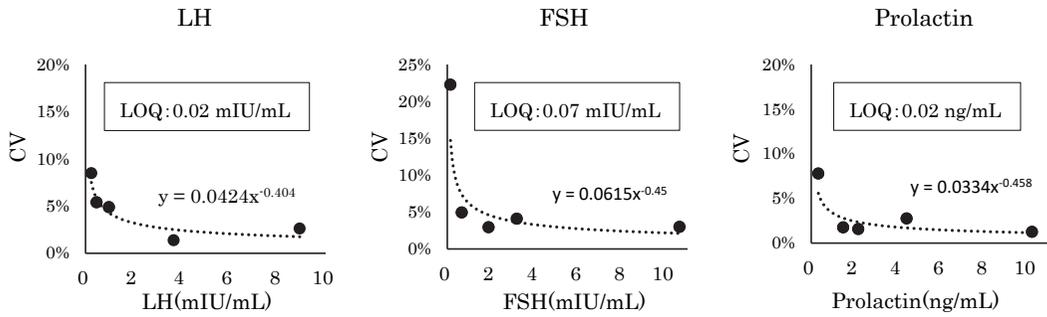


Fig. 2 Limit of quantitation for LH, FSH and Prolactin.

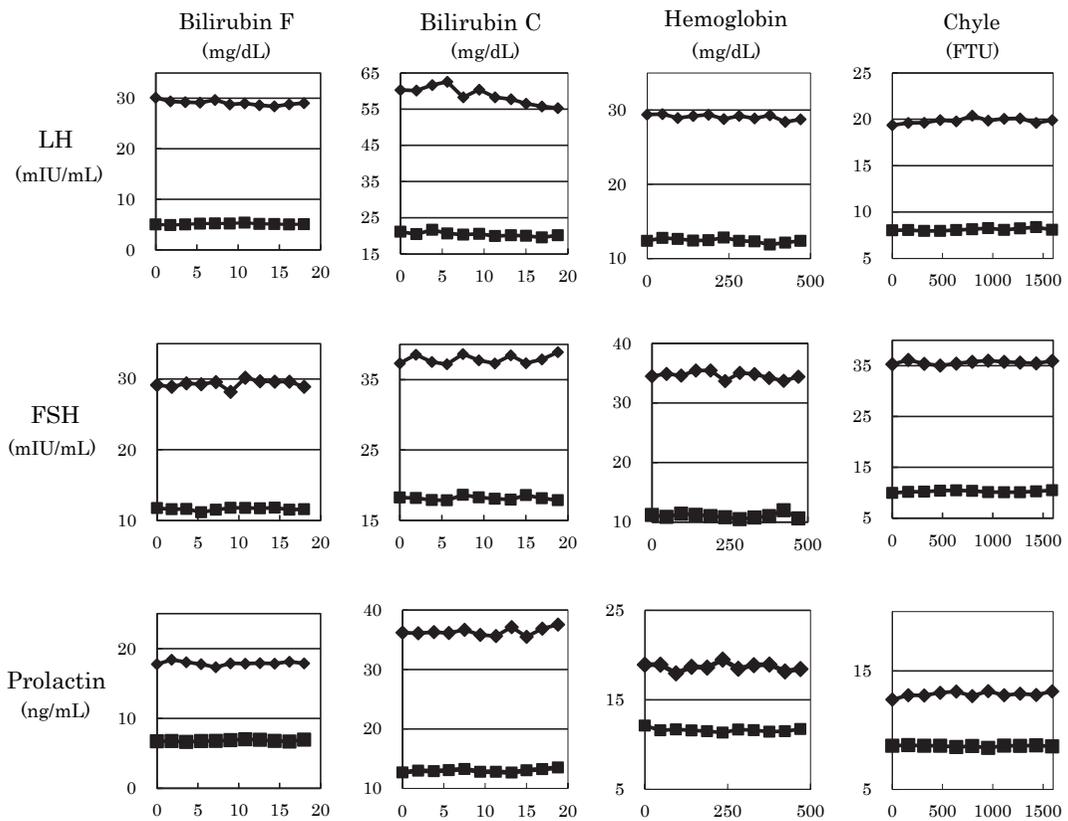


Fig. 3 Effects of interfering substances of LH, FSH and Prolactin.

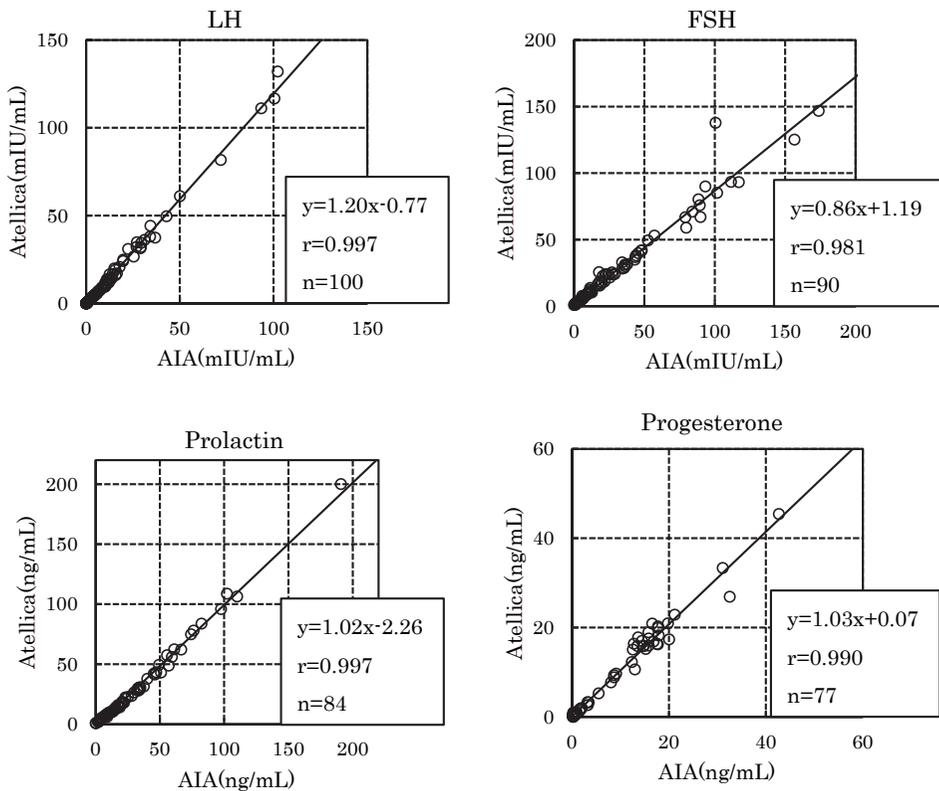


Fig. 4 Correlation between Atellica IM1600 and AIA-CL2400 in LH, FSH, Prolactin and Progesterone.

4. 考察

免疫自動分析装置 Atellica IM1600 において性腺/下垂体ホルモンの基礎的検討を行った。LH, FSH, プロラクチンについては並行精度, 室内再現精度, 希釈直線性, 定量限界, 共存物質の影響, 対照法との相関, 全て良好であった。また, プログステロンについても並行精度/室内再現精度および対照法との相関は良好であった。

今回の基礎的検討の結果から性腺/下垂体ホルモン検査について良好な相関性を得たが, FSH においては 1 例の検査値乖離を認めた (本法: 137.74 mIU/mL, 対照法: 100.6 mIU/mL)。両者の値において平均値からの偏差は 15.6 % ではあるが, 検査値の相関性 $y = 0.86x + 1.19$ の回帰式に比較すると, 本法は対照法と比較して 1.37 倍の値を持ち高値に乖離しているものと考察する。また相関係数 0.981 の結果より当該検体については検体由来の検査

値乖離と考える。FSH における検体由来の異常値としては, ①類似物質の測りこみ, ②試薬の抗体成分に対する測定妨害などが知られている³⁾。①類似物質の測りこみとしては LH・TSH・HCG と同様の α サブユニットを有する事からこれらのホルモン, とりわけ HCG の高値が影響し FSH 値が偽高値となる可能性があるが, 本法においては FSH 独自の β サブユニットに対する抗体を試薬として使用しているため, これらの下垂体ホルモンの影響は受けないと思われる。なお試薬製造元での下垂体ホルモン LH・TSH・HCG との交差反応性検討では交差を認めない結果となっている。次に, ②試薬の抗体成分に対する測定妨害については FSH そのものに対する自己抗体, または異好抗体により生じる可能性がある。異好抗体による影響の機序は FSH 測定試薬に使用しているマウスモノクローナル抗体 (固相試薬) とヒッジポリクローナル抗体 (標識試薬) の間を異好抗体が架橋し

Table 3 Recovery test of FSH divergence sample.

	FSH(mIU/mL)		
	実測値	換算値	回収率
原倍実測値	137.7		
2倍希釈値	75.4	150.8	109.5%
5倍希釈値	30.1	150.5	109.3%
10倍希釈値	14.7	147.0	106.7%

本来のFSHが存在しなくとも標識試薬が発光し、その結果としてFSHの偽高値を認めるものである。これを検証するために同検体に対して、ウマ血清成分を主とする専用希釈液（共通希釈液1）を用いて希釈した結果、106.7%～109.5%の回収率を認めた（Table 3）。もし自己抗体や異好抗体が存在した場合、自己抗体や異好抗体が希釈液中の動物血清成分に吸収され低回収率を示すことから測定妨害の影響の可能性は低いと考えられた。以上より検査値乖離の原因を特定することはできなかったが測定結果についてはFSHの検査値だけでは考えず、その他関連する他の検査結果等を考慮して総合的に判断する必要があると思われた⁴⁾。

干渉物質の影響検討ではLHにおけるビリルビンCにおいて測定値への負の影響を認めた。しかしながら影響を認めたのは高濃度域であり、臨床的には問題がない程度と考えられた。

5. まとめ

今回Atellica IM1600を用いて性腺/下垂体ホルモン検査4項目（LH, FSH, プロラクチン, プロゲステロン）の試薬性能について基礎検討を実施した。その結果、LH, FSH, プロラクチンについては、並行精度/室内再現精度、希釈直線性、定量限界、共存物質の影響、対照法との相関において良好な結果を得られた。また、プロゲステロンについても並行精度/室内再現精度および対照法との相関において良好な結果を得られた。

Atellica IM1600の性腺/下垂体ホルモン検査の検査時間は15分となっており、オートQC機能等の自動化により準備などに時間を要していた部分の効率化もなされている。最大1時間あたり440テストの処理能力を有しており、特に検体数の多い病院・健診センター・検査センター等の日常業務において大変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) 糸賀仁美, 河内一恋, 畑 伸顕ほか. Atellica Solutionを用いたFSH, LH, PRL, E2, hCG, DHEA-S, PTH, IgE, コルチゾールおよびテストステロン測定の基礎的性能評価 医学と薬学 2019;76:941-942
- 2) 奥村伸生, 戸塚実, 矢富裕 臨床検査法提要, 第33版, 金原出版;東京, 010:554-563
- 3) 川崎芳正. 4. イムノアッセイにおける測定系妨害物質の分析 機器・試薬2017;40(3):212-216
- 4) 加野 象次郎. 異好抗体をめぐって 臨床化学 1994;175a-1-0

尿定性分析装置4機種における尿定性値の比較検討

Comparison of four automated urine analyzer

宮下大地¹⁾, 神山恵多¹⁾, 茂木裕一¹⁾, 中嶋清美¹⁾, 村上正巳²⁾

要旨 尿定性検査は、腎疾患や尿路感染症のスクリーニング検査として広く使用されており、近年では尿中アルブミン・クレアチニン定性による糖尿病性腎症の早期スクリーニングが行われている。今回、尿定性半自動分析装置 US-1200（栄研化学）を中心に、既存の半自動分析装置2機種（US-1000, 2200：栄研化学）および全自動分析装置（US-3500：栄研化学）の計4機種についてアルブミン、クレアチニンを含む尿定性検査項目一致率の比較検討を行った。一致率は従来の尿定性項目ではいずれの機種においても良好な一致率となった。アルブミンおよびクレアチニンについては全自動分析装置に比べUS-1200において1ランク以上乖離する検体が認められた。この乖離の原因として、検体の尿試験紙への点着方法が異なることが推察された。本検討では、半自動分析装置と全自動分析装置では尿定性値に大きな差は無く、全自動分析装置のバックアップとして、半自動分析装置を使用することは有用であると思われる。

Key words Automated urine analyzer, US-1200, Urinalysis, HbA1c

1. はじめに

尿定性検査は腎疾患や尿路感染症を中心に、全身のスクリーニング検査として広く使用されている¹⁻³⁾。近年では尿試験紙による尿中アルブミン・クレアチニンの定性が可能になったことから、糖尿病性腎症の早期スクリーニングが行われており、尿定性検査の測定意義は非常に高い^{1,3)}。今回、尿定性半自動分析装置US-1200（栄研化学株式会社）、US-1000（栄研化学株式会社）、US-2200（栄研化学株式会社）、尿定性全自動分析装置US-3500（栄研化学株式会社）を使用する機会を得たので、US-1200を中心に尿中クレアチニンと尿中アルブミンを含む尿定性検査項目の一致率について比較検討を行った。また、尿中クレアチニンとアルブミンについては定量値との比較検討も行なった。

2. 対象および方法

1) 対象

2016年10～12月の2か月間で尿定性検査の依頼があった当院外来患者尿2076検体を対象とした。本検討は、当院の倫理審査委員会の承認（承認番号：HS2016-006）を得て実施した。尿蛋白が4+（1000mg/dL）となった検体は、非特異的反応や偽陽性反応の確認のためエームス尿検査試験紙アルプスティックス（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社）による再検査を行い、ビリルビン陽性検体については、イクトテスト（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社）による確認試験をそれぞれ行った。初検と確認試験で結果が乖離した場合は、確認試験の結果を採用し、非特異的反応や偽陽性反応が疑われる検体は対象から除外し

Received Apr. 27, 2021; Accepted Feb. 21, 2022
Daichi MIYASHITA¹⁾, Keita KAMIYAMA¹⁾, Yuichi MOTEGI¹⁾, Kiyomi NAKAJIMA¹⁾, Masami MURAKAMI²⁾

¹⁾群馬大学医学部附属病院検査部

Department of Clinical Laboratory, Gunma University Hospital

²⁾群馬大学大学院医学系研究科臨床検査医学

Department of Laboratory medicine, Gunma University Graduate School
〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-15
3-39-15 showamachi, Maebashi, Gunma 371-8511
Corresponding author : 宮下大地
TEL : 027-22-8554
E-mail : dmiyashita@gunma-u.ac.jp

Table 4 Rate of concordance of P/C ratio

US-1200 vs US-2200						
US-1200	2+	0.5	1	3	23	174
	1+	0.3	4	21	89	10
		0.15	25	43	11	
	normal		1160	37	18	
			normal	0.15	0.3	0.5
				1+	2+	
			US-2200			
完全一致率：90.5%						

US-1200 vs US-3500						
US-1200	2+	0.5	1	1	17	186
	1+	0.3	9	14	99	20
		0.15	18	80	19	2
	normal		1102	55	15	
			normal	0.15	0.3	0.5
				1+	2+	
			US-3500			
完全一致率：89.6%						

定量 vs US-1200						
定量	2+	0.5			19	178
	1+	0.3	2	3	57	19
		0.15	62	42	54	2
	normal		1092	72	12	3
			normal	0.15	0.3	0.5
				1+	2+	
			US-1200			
完全一致率：85.0%						

定量値 (g/gCr)	定性値	半定量値
~ 0.15 未満	normal	
0.15 ~ 0.30 未満	1+	0.15
0.3 ~ 0.50 未満	1+	0.30
0.5 ~	2+	≧ 0.50

陽性一致率 (%)		
US-1200 vs US-2200	US-1200 vs US-3500	US-1200 vs 定量
81.5	81.7	71.2

Table 5 Rate of concordance of urine albumin

US-1200 vs US-2200						
US-1200	over		1	1	14	139
	150			2	56	4
	80		11	91	29	
	30	48	245	31		
	10	1352	56			
		10	30	80	150	over
		US-2200				
完全一致率：90.5%						

US-1200 vs US-3500						
US-1200	over					155
	150				41	21
	80		3	85	43	
	30	16	242	64	2	
	10	1293	115			
		10	30	80	150	over
		US-3500				
完全一致率：87.0%						

定量 vs US-1200						
定量	over				28	149
	150			46	32	2
	80	1	90	70	1	
	30	142	150	7	1	1
	10	1258	81	6		1
		10	30	80	150	over
		US-1200				
完全一致率：80.0%						

はUS-2200で78.1%，US-3500で80.0%，定量値で80.2%を示した (Table 3)。P/C比の一致率についてはUS-1200とUS-2200で90.5%，US-3500で89.6%，定量値で85.0%であり，陽性一致率はUS-2200で81.5%，US-3500で81.7%，定量値で71.2%であった。US-3500や定量値と比較すると±1ランクの誤差が多く，蛋白と同様に2ランク以上定性値が乖離する検体も認められた (Table 4)。

アルブミンについては，完全一致率がUS-2200で90.5%，US-3500で87.0%，定量値で80.0%を示した (Table 5)。A/C比についてはUS-2200で89.7%，US-

3500で88.3%，定量値で82.0%であり，陽性一致率はUS-2200で83.7%，US-3500で81.7%，定量値で67.0%であった (Table 6)。アルブミン測定についてUS-1200は，US-3500や定量値と比べ-1ランクの誤差が多く認められ，低値傾向であった。

4) A/C比の陽性乖離検体におけるeGFR及びHbA1c値の比較

A/C比についてUS-1200と定量値の乖離を認めたため，定量値とUS-1200それぞれの陽性検体，陰性検体において，eGFR値およびHbA1c値 (Fig. 1, 2) の比較を行った。

Table 6 Rate of concordance of A/C ratio

US-1200 vs US-2200					US-1200 vs US-3500						
US-1200	2+		22	7	163	US-1200	2+		17	4	171
	>=1	1	7	13	6		>=1		16	11	
	1+	56	311	1	18		1+	19	338	3	26
	normal	978	50				normal	931	112		
		normal	1+	>=1+	2+			normal	1+	>=1+	2+
US-2200					US-3500						
完全一致率: 89.7%					完全一致率: 88.3%						

定量 vs US-1200					定量値 (mg/gCr)		
定量	2+		9	12	162	30未満	normal
	>=1		11	12	3	30~80	1+
	1+	119	252	1	26	80~150	1+
	normal	908	111			150~300	1+
		normal	1+	>=1+	2+	300~	2+
US-1200							
完全一致率: 82.0%					陽性一致率(%)		
		US-1200 vs US2200	US-1200 vs US3500	US-1200 vs 定量			
		83.7	81.7	67.0			

定量値でA/C比陽性検体のうち、eGFRが同時に検査されている検体は363件であった。そのうちeGFRが60未満の検体は183件で割合としては50.4%であった。また、US-1200でA/C比陽性検体のうちeGFRが同時に検査されている検体は415件であった。そのうちeGFRが60未満の検体は193件で割合としては46.5%であった (Fig. 1)。

定量値でA/C比陰性検体のうち、eGFRが同時に検査されている検体は758件であった。そのうちeGFRが60未満の検体は181件で割合としては23.9%であった。また、US-1200でA/C比陰性検体のうちeGFRが同時に検査されている検体は842件であった。そのうちeGFRが60未満の検体は217件で割合としては25.8%であった (Fig. 1)。

同様に、定量値でA/C比陽性検体のうち、HbA1cが同時に検査されている検体は125件であった。そのうちHbA1cが6.5%以上の検体は88件で割合としては70.4%であった。US-1200でA/C比陽性検体のうちHbA1cが同時に検査されている検体は154件であった。そのうちHbA1cが6.5%以上の検体は103件で割合としては66.9%であった (Fig. 2)。

定量値でA/C比陰性検体のうち、HbA1cが同時に検査されている検体は216件であった。そのうちHbA1cが6.5%以上の検体は106件で割合としては49.1%であった。US-1200でA/C比陰性検体のうちHbA1cが同時に検査されている検体は226件であった。そのうちHbA1cが6.5%以上の検体は118件で割合としては47.8%であった (Fig. 2)。

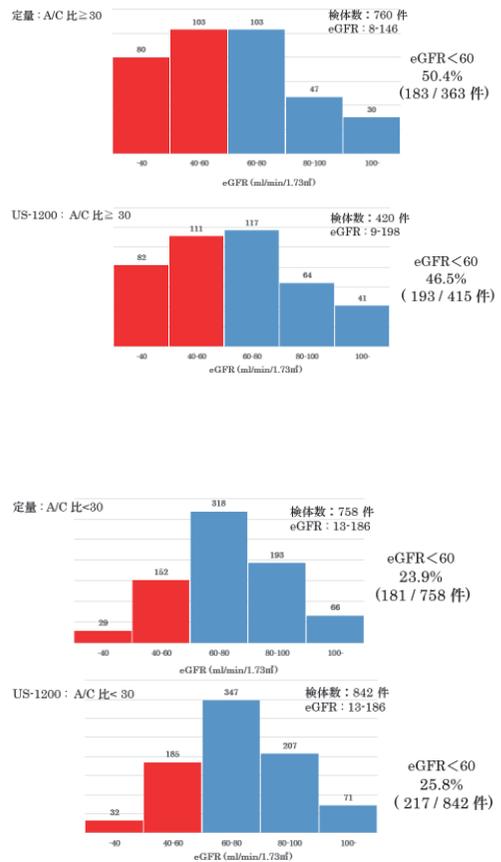


Fig. 1 Relationship of eGFR level and A/C ratio

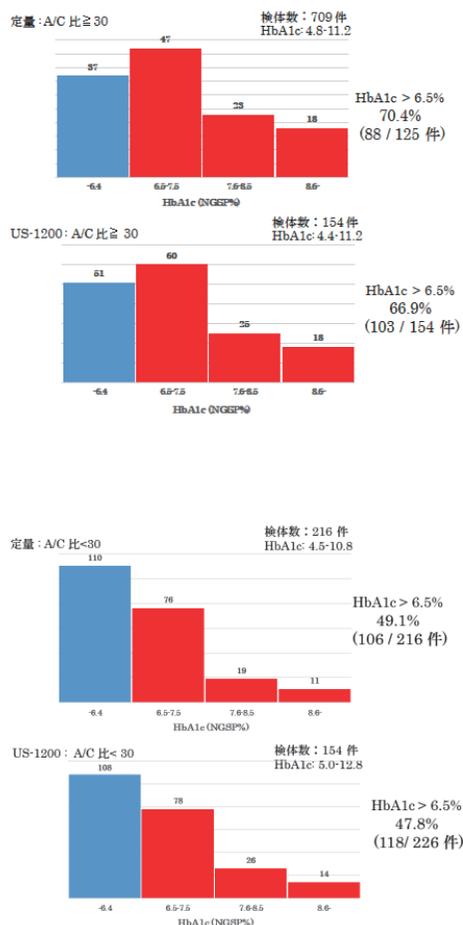


Fig. 2 Relationship of HbA1c level and A/C ratio

4. 考察

尿定性検査は無侵襲性で、簡便かつ迅速に検査が可能である。近年はアルブミンおよびクレアチニンの測定が尿試験紙で可能となり、尿定性検査の臨床的意義は非常に大きい¹⁻³⁾。

今回、尿定性項目について尿定性半自動分析装置US-1200を中心に、半自動分析装置であるUS-1000、US-2200および全自動分析装置US-3500の4機種について一致率を比較検討した。結果、糖、ビリルビン、潜血、ケトン、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩、白血球では完全一致率が95.8~99.7%と非常に良好な一致率を示した。

US-1200は蛋白、クレアチニン、アルブミンについて定量値との比較検討も行った。蛋白における一致率は

91.5~93.9%と良好な一致率を示したが、定性値 $- \sim \pm$ の検体にかけては1ランク誤差が生じることが認められた。US-1200は半自動分析装置であり、尿に試験紙を浸してから装置にセットして測定を行うため、試験紙への尿の点着量にばらつきが生じやすい。今回この尿試験紙への尿の点着量のばらつきが、1ランク誤差の原因と推察された。また、2ランク以上の乖離した検体も認められた。乖離した検体は高比重尿や尿沈渣で血球類が認められる検体であり、肉眼的異常で除外できなかった検体であった。そのため乖離が生じたと推察される。

クレアチニンにおける一致率は78.1~80.2%であり、全体で ± 1 ランクの誤差が出る場合が多い結果となった。また、US-3500や定量値と比べ、2ランク以上の乖離を示す検体が認められた。2ランク以上の乖離を示した検体は、高比重尿などにより緩衝作用が強いと考えられる。半自動分析装置であるUS-1200の場合、試験紙を尿検体に浸漬させるサンプリング方式であるため、全自動分析装置であるUS-3500と比べ試験紙に対する尿の供給量が過剰になるため緩衝作用の強い検体の影響を受けやすくなる。このため乖離が生じたと推察される。P/C比については、一致率が85.0~90.5%、陽性一致率が71.2~81.5%で、US-1200と定量値の陽性一致率は71.2%であった。クレアチニンの結果で認められた2ランク以上の乖離検体が原因の背景にあると推察される。

アルブミンにおける一致率は、80.0~90.5%、A/C比については82.0~89.7%であった。US-1200はUS-3500や定量値と比べ1ランクの誤差が多く認められ、アルブミンでは低値傾向が認められた。A/C比の陽性一致率は67.0~83.7%であり、定量値との比較では陽性一致率が67.0%と他の機種との一致率と比べると低い結果となった。US-1200のアルブミン測定値が低値傾向にあることや、前述したクレアチニンの乖離が陽性一致率低下の原因と推察される。

A/C比についてUS-1200と定量値の乖離を認めたため、定量値とUS-1200それぞれの陽性検体、陰性検体において、eGFRおよびHbA1cの比較を行った。定量値A/C比陽性検体とUS-1200陽性検体、定量値A/C比陰性検体とUS-1200陰性検体それぞれのeGFRの分布を比較すると、いずれも類似した分布を示した。HbA1cにおいても、定量値A/C比陽性検体とUS-1200陽性検体、定量値A/C比陰性検体とUS-1200陰性検体それぞれのHbA1cの分布の傾向は非常に近いものであった。そのため、US-1200におけるアルブミン定性は、定量法と比べ乖離が生じる部分があるものの、スクリーニング検査としては有用であると思われる。

5. まとめ

今回検討を行った尿定性分析装置US-1200はアルブミンの測定で低値傾向を示したが、その他については、半自動、全自動を問わず機種間による一致率は良好であった。一方で、半自動の尿定性分析装置は試験紙への検体のサンプリング等が用手法であるため、全自動分析装置や定量法と比べると結果の乖離が生じる場合がある。また、US-1200は、アルブミンが低値傾向を示したが、クレアチニン補正によるA/C比では、eGFRが低値である検体、HbA1cが高値である検体について定量値と同様の傾向を示しておりスクリーニング検査には有用であると思われる。また、尿定性分析装置による測定の際は、尿の性状および、分析装置の基本性能や測定原理、各機種の特徴を把握することが重要と考えられる。

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) 藤中敦士, 丸傳信江, 濱野修一, ほか. 試験紙法における蛋白/クレアチニン比のスクリーニング検査としての有用性の検討. 医学と薬学 2003;50:353-359
- 2) 杉本孝一. 午前中随時尿における微量アルブミン尿基準値の妥当性. 人間ドック 2011;26:23-28
- 3) 菅崎幹樹, 三井和之, 三宅秩代, ほか. 全自動尿化学分析装置を用いた尿試験紙法による尿中アルブミン測定の有用性. 医学検査2015;64:117-123
- 4) CKD 診療ガイドライン2012

全自動免疫測定装置 HISCL-5000 を用いた HISCL-プレセプシンの基本性能および臨床評価

Basic performance and clinical evaluation of the reagent kit HISCL- presepsin
using the automatic immune analyzer HISCL-5000

大久保学, 木村千紘, 古川聡子, 上杉里枝, 河口 豊, 通山 薫

要旨 我々は全自動免疫測定装置 HISCL-5000 を用いた HISCL-プレセプシンの性能評価を行った。併行精度の CV は 2.6 %, 2.8 % (平均値 284, 924 pg/mL), 日差再現性の CV は 2.4 %, 1.1 % (平均値 287, 979 pg/mL) であり精度は良好であった。希釈直線性は 32,350 pg/mL まで原点を通る直線性を認め、定量限界は 1.9 pg/mL であり十分な測定範囲であった。冷蔵保存による血清検体の保存安定性を検討した結果、プレセプシン濃度は経時的に増加傾向であった。感染症の有無とプレセプシンの敗血症 (細菌性) 診断のカットオフ値の一致率は 93 % (27/29) であった。本試薬の分析性能は良好であり、敗血症診療に貢献できると考える。

Key words presepsin, HISCL-5000, sepsis

1. はじめに

プレセプシンは CD14 の N 末端ペプチドで約 70 個のアミノ酸からなる分子量約 13kDa の糖タンパク質である。細菌感染時、顆粒球等の細胞膜に存在する CD14 と細菌は同時に顆粒球等内に取り込まれる。その後、CD14 はタンパク分解酵素によって分解され、プレセプシンとして血中に放出される¹⁾。従って、プレセプシンは細菌感染を反映するマーカーであり、日本版敗血症診療ガイドライン 2020 においても敗血症診断補助のバイオマーカーの 1 つとして述べられている²⁾。

プレセプシン濃度の測定は、化学発光酵素免疫測定法 (chemiluminescence enzyme immunoassay; CLEIA)³⁾、蛍光酵素免疫測定法 (fluorescence enzyme immunoassay; FEIA)⁴⁾ が用いられている。今回、全自動免疫測定装置 HISCL-5000 を用いた HISCL-プレセプシンの院内導入に伴い、性能評価を行ったので報告する。

2. 対象および試薬・機器

1) 対象

対象は 2021 年 3 月～4 月の間、当院中央検査部にプロカルシトニン測定の依頼があった外来および入院患者検体とした。検体は、採血後 1880 × g · 5 分間遠心した血清検体を用いた。なお、本研究は川崎医科大学・同附属病院倫理委員会の承認 (受付番号:5435) を得て行った。

2) 測定試薬および機器

検試薬には HISCL-プレセプシンを用いて全自動免疫測定装置 HISCL-5000 で測定した。コントロール、キャリアプレーターは、それぞれ HISCL-プレセプシンコントロール、HISCL-プレセプシンキャリアプレーターを用いた (試薬、機器共にシスメックス)。検体希釈液は HISCL-検体希釈液 (シスメックス)、生理食塩水を用いた。

3) 測定原理

検試薬はディレイド・1 ステップサンドイッチ法を用いた CLEIA 法である。以下に反応プロトコルを示す。

Received Jan. 13, 2022; Accepted Feb. 24, 2022
Manabu OKUBO, Chihiro KIMURA, Satoko HURUKAWA, Satoe UESUGI, Yutaka KOHGUCHI, Kaoru TOHYAMA
川崎医科大学附属病院 中央検査部
〒701-0192 岡山県倉敷市松島 577

Affiliation (address): Department of Clinical Laboratory, Kawasaki Medical School Hospital 577, Matsushima, Kurashiki-shi, Okayama 701-0192, Japan
Corresponding author : 大久保学
TEL : 086-462-1111
E-mail : okubo@hp.kawasaki-m.ac.jp

1. ビオチン結合抗プレセプシンモノクローナル抗体（マウス）と検体中のプレセプシンを反応させる。
2. ストレプトアビジン結合磁性粒子を加え、検体中のプレセプシンを介した免疫複合体を形成させる。
3. アルカリフォスファターゼ（ALP）標識抗プレセプシンモノクローナル抗体（ウサギ）と磁性粒子上のプレセプシンを特異的に反応させる
4. 未反応液を除去する。
5. 発光基質 CDP-Star を加え、磁性粒子上の ALP により分解された際の発光の強度を測定する。
6. 既知濃度の検量線より試料中のプレセプシン濃度値を求める。

4) 統計

検体希釈液の影響はDunnett法を用いて解析を行った。いずれの解析も危険率 $p < 0.05$ を統計学的に有意差ありと判定した。また、統計解析にはStatFlex V6.0を用いた。

3. 方法

1) 併行精度

2濃度のHISCL-プレセプシンコントロールをそれぞれ20回連続測定した。

2) 日差再現性

2濃度のHISCL-プレセプシンコントロールを1日1回、10日間測定した。

3) 検体希釈液の影響

7例の患者血清（3,054~19,678 pg/mL）を試料として無希釈の検体、生理食塩水、HISCL検体希釈液を用いて的手法にて希釈した検体を測定した。希釈倍数は10倍とした。無希釈の検体の測定値を基準として各希釈液で希釈した検体のプレセプシン濃度を比較した。

4) 希釈直線性

HISCL-プレセプシンキャリブレーター491, 4,924, 及び32,230 pg/mLを生理食塩水で5段階希釈し、各試料を1回測定した。

5) 定量限界

患者血清を生理食塩水で希釈した試料を5日間にわたってそれぞれ2重測定し、測定平均値および変動係数（CV）を算出し、precision profileを作成した。CV20%の濃度を定量限界とした。

6) 冷蔵保存による血清検体の保存安定性

3例の患者血清（264, 367, 761 pg/mL）を試料として、冷蔵（2~8℃）で0~8日間保存後にプレセプシン濃度を測定した。遠心分離直後の0日値を基準として各日数におけるプレセプシン濃度の変動を確認した。

7) 臨床的有用性

- (1) 感染症の有無とプレセプシン濃度の関係
感染症を疑いプロカルシトニン測定依頼のあった29例を対象とし、感染症の有無と、プレセプシンの敗血症（細菌性）診断のカットオフ値⁵⁾（500 pg/mL）との関係性を検討した。感染症有りは血液培養の陽性、または尿中の細菌陽性、または肺炎、および主治医が感染症と診断したものを対象とした。感染症無しは電子カルテの情報から感染症を否定した症例を対象とした。
- (2) Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2（SARS-CoV-2）感染による入院時プレセプシン濃度と重症度分類の経過
SARS-CoV-2感染による入院時のプレセプシン濃度と重症度分類の経過について1検体検討した。重症度分類は新型コロナウイルス感染症COVID-19診療の手引き第6.0版⁶⁾を用いた。

4. 結果

1) 併行精度・日差再現性

HISCL-プレセプシンコントロールの併行精度のCVは2.6%, 2.8%（平均値284, 924 pg/mL）であった（Table 1）。日差再現性のCVは2.4%, 1.1%（平均値287, 979 pg/mL）であった（Table 2）。

2) 検体希釈液の影響

無希釈検体と生理食塩水、HISCL検体希釈液を用いた用手希釈による検体のプレセプシンの測定値を比較した。その結果、無希釈の検体の測定値に対して生理食塩水、HISCL検体希釈液で希釈した測定値はそれぞれ平均100%, 105%でありHISCL検体希釈液で希釈した測定値は無希釈の測定値より有意に高値であった（Fig. 1）。

3) 希釈直線性

HISCL-プレセプシンキャリブレーターを用いた希釈

Table 1 Within-run precision of the measurement of presepsin concentration.

	HISCL-presepsin control	
	Level 1	Level 2
Mean (pg/mL)	284	924
SD (pg/mL)	7	26
CV (%)	2.6	2.8
Max (pg/mL)	292	958
Min (pg/mL)	267	860

Table 2 Between-run precision of the measurement of presepsin concentration.

	HISCL-presepsin control	
	Level 1	Level 2
Mean (pg/mL)	287	979
SD (pg/mL)	7	11
CV (%)	2.4	1.1
Max (pg/mL)	297	993
Min (pg/mL)	275	955

Table 3 Relationship between presepsin concentrations and infection.

Presepsin (pg/mL)	Infection		Total
	Negative	Positive	
<500	19	1	20
≥500	1	8	9
Total	20	9	29

Concordance rate:93 % (27/29)

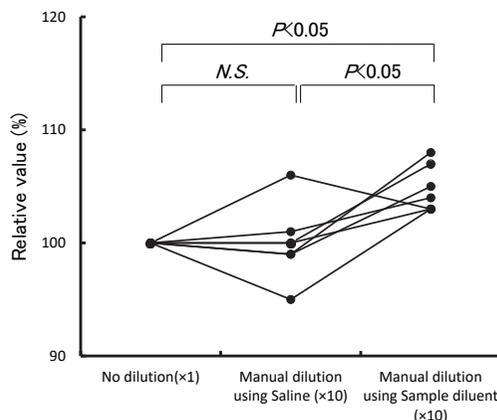


Fig. 1 Comparison of serum dilution.

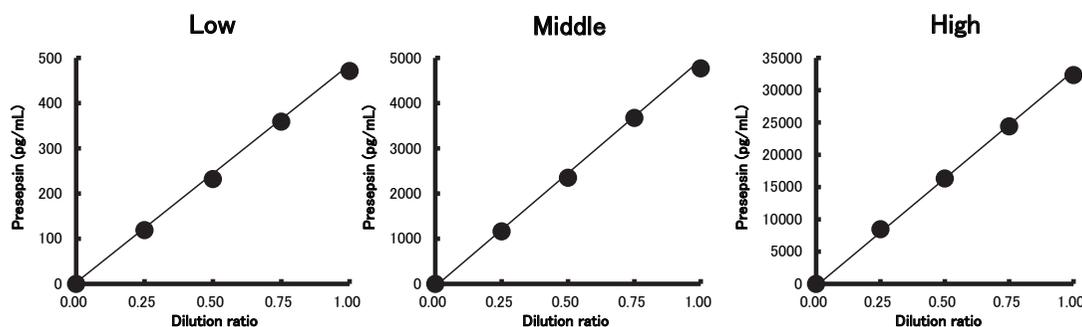


Fig. 2 Effect of sample dilution on linearity using the calibrator.

試験では、471, 4,768, 32,350 pg/mLまで原点を通る直線性を認めた (Fig. 2)。

4) 定量限界

低濃度のプレセプシン検体を用いて求めた 20 % 定量限界は 1.9 pg/mL であった (Fig. 3)。

5) 冷蔵保存による血清検体の保存安定性

冷蔵 (2~8℃) 保存による血清検体の保存安定性は、3検体全て経時的に測定値の増加が認められた。0日値に対して1日後、2日後、3日後、4日後、5日後、6日後、7日後、8日後はそれぞれ平均 110 %, 126 %, 132 %, 145 %, 153 %, 152 %, 159 %, 170 % であった (Fig. 4-A)。367 pg/mL の検体は保存3日目、264 pg/mL の検体は保存8

日目に敗血症 (細菌性) 診断のカットオフ値である 500 pg/mL 以上となった (Fig. 4-B)。

6) 臨床的有用性

(1) 感染症の有無とプレセプシン濃度の関係

感染症を疑いプロカルシトニン測定依頼のあった 29 例の感染症の有無と、プレセプシンの敗血症 (細菌性) 診断のカットオフ値 (500 pg/mL) の一致率は 93 % (27/29) であった (Table 3)。感染症のない 20 症例の内 19 症例のプレセプシン濃度は 500 pg/mL 未満 (75~389 pg/mL) であったが、1 症例は 1493 pg/mL であった。その症例は潰瘍性大腸炎の症例であった。また、感染症のある 9 症例の内、8 症例のプレセプシン濃度が 500 pg/

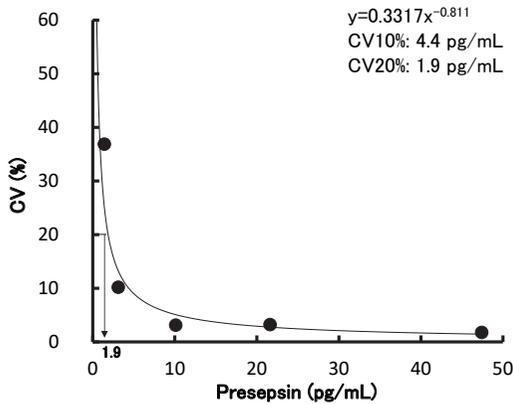


Fig. 3 Limit of quantitation for the presepsin.

mL以上 (518~4,201 pg/mL) であった。そのうち2症例が血液培養陽性で起因菌は大腸菌であり、プレセプシン濃度はそれぞれ658, 3,029 pg/mLであった。尿中の細菌が陽性になった症例はグラム陽性球菌であり、プレセプシン濃度はそれぞれ668, 917 pg/mLであった。感染症であるがプレセプシン濃度が389 pg/mLであった症例は、血液培養陰性、尿中の細菌陰性の市中肺炎と診断された症例であった。

(2) SARS-CoV-2感染による入院時プレセプシン濃度と重症度分類の経過

SARS-CoV-2感染による入院時のSpO₂は91%であり重症度分類は中等度IIであった。その際のプレセプシン濃度は518 pg/mLであった。レムデシビル、デキササートによる治療が開始され、19日目には中等度I、23日目には軽症になり、36日目に退院した。

5. 考察

HISCL-プレセプシンの性能評価を行った。併行精度はCV2.8%以下であり、他の原理の試薬と同等な結果であった³⁴⁾。更に日差再現性はCV2.4%以下であり精度・安定性の高い試薬と考えられる。定量限界は、1.9 pg/mLであり、敗血症(細菌性)診断のカットオフ値500 pg/mLを判定するのに十分な感度を有した。希釈直線性は32,350 pg/mLまで原点を通る直線性を確認し、STACIA (LSIメディエンス)の23,000 pg/mL AIA-900 (東ソー)の15,621 pg/mL³⁴⁾に比べて高濃度まで希釈なしで測定できる性能を有していた。しかし、HISCL-5000において高濃度プレセプシン検体は装置での自動希釈ではなく、生理食塩水を用いた手法での希

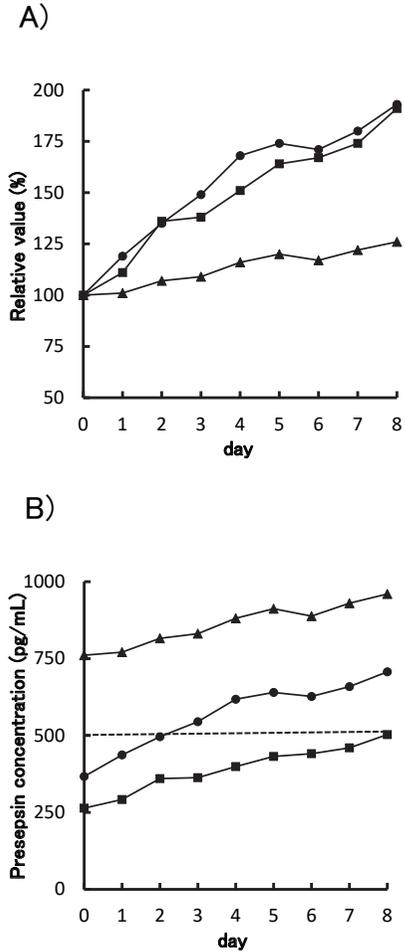


Fig. 4 Stability of presepsin concentrations at 4°C. A) Relative value B) Presepsin concentration

釈が求められている。そこで、HISCL 検体希釈液の影響を検討した結果、無希釈や生理食塩水を用いた希釈に比べてHISCL検体希釈液で希釈した測定値は平均5%高値であったが、本測定法は32,350 pg/mLの高濃度まで希釈せずに測定できることから希釈の影響はないと考える。

冷蔵保存による血清検体の保存安定性を検討した結果、プレセプシン濃度は経時的に増加傾向であった。増加するメカニズムは不明であるが、プレセプシン濃度の増加は初日に敗血症(細菌性)診断のカットオフ値以下の値であった検体においても冷蔵保存によってカットオフ値以上の値になることから追加検査には注意が必要である。

感染症の有無とプレセプシンの敗血症（細菌性）診断のカットオフ値の一致率は93% (27/29)であった。近年、プレセプシンの感染診断の研究は多く行われ、19研究のメタ解析⁷⁾においてROC曲線のAUCは0.87と高く、感染診断の有用性が報告されており、本検討においても有用性が確認できた。不一致であった血液培養陰性、尿中の細菌陰性の市中肺炎と診断された症例は、プレセプシン濃度が389 pg/mL、プロカルシトニン濃度は0.12 ng/mLであった。Apiratwarakulら⁸⁾は細菌感染とウイルス感染についてプレセプシン濃度を比較した結果、細菌感染の中央値は2,904 pg/mL (1,334~4,474 pg/mL)、ウイルス感染の中央値は204 pg/mL (164~245 pg/mL)であったことを報告した。よって本症例も細菌性ではなくウイルス性の市中肺炎によるものと推測した。潰瘍性大腸炎の症例は、プレセプシン濃度が1493 pg/mL、プロカルシトニン濃度は0.17 ng/mLでありプレセプシン濃度以外は感染症を疑う検査結果、症状はなかった。プレセプシン濃度は推算糸球体濾過率 (estimated glomerular filtration rate; eGFR) と負の相関を示し、敗血症を起こしていない血液透析患者では平均1,327 ± 914 pg/mLと高値であったと報告している⁹⁾。本症例のeGFRは60.9 mL/min/1.73m²であり、少なからず腎機能障害の影響は考えられるが、腎機能障害だけでは説明できない。また、検体の攪拌などによる物理的障害¹⁰⁾によって細菌感染の有無に関わらず上昇することも報告されていることから、採血後の検体の混和、搬送等の検査前工程の物理的障害によっても高値になったと考えられる。プレセプシン濃度は敗血症の診断補助のバイオマーカーとして有用であるが、腎機能の影響や検査前の検体の取り扱いによって測定値に影響を与えるので、症状、所見、他のバイオマーカーとの組み合わせで総合的に診断する必要がある。

近年、SARS-CoV-2感染陽性者の重症度判定のマーカーが研究されており、本研究においてプレセプシン濃度と重症度について1例検討した。その結果、入院時のプレセプシン濃度が518 pg/mLであり中等度IIであったが、重症化することなく約1ヶ月後に退院した。世界でもプレセプシン濃度とSARS-CoV-2感染陽性者の重症度についての研究が行われ、軽症群の590 ± 400 pg/mLに比べ重症群は3,500 ± 3,300 pg/mLであり重症群は高値であったと報告¹¹⁾されている。重症化することなく退院した本症例のプレセプシン濃度は軽症群と同程度であったことから、本試薬はSARS-Cov-2感染陽性者の重症度判定に貢献できるものと考え、今後症例数を増やして検討していく予定である。

6. 結語

HISCL-プレセプシンの分析性能は、併行精度、日差再現性、定量限界、希釈直線性においていずれも良好であった。本試薬を使用することによって、敗血症（細菌性）診断、SARS-CoV-2感染陽性者の重症化予測に繋がることが期待される。

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

- 岡村佳和. 新規敗血症マーカー「プレセプシン」の測定意義について. 臨床病理 2015;63:62-71
- 日本集中治療医学会 日本版敗血症診療ガイドライン 2020. <http://www.jsicm.org/publication/guideline.html> (2021年12月13日アクセス)
- 軍場麻紀, 出口松夫, 鍵田正智ほか. 化学発光酵素免疫測定法を原理とする「ステイシアCLEIA Presepsin」の性能評価. 日本臨床検査自動化学会誌 2019;44(1):68-72
- 久保嘉志, 大坂圭司, 小嶺誠也ほか. 全自動エンザイムイムノアッセイ装置AIA-900を用いたEテスト「TOSOH」II (Presepsin) によるプレセプシン測定の基礎的検討. 日本臨床検査自動化学会誌 2020;45(3):230-234
- 斎藤邦明, 感染症関連蛋白, 奥村伸生ほか編. 臨床検査法提要, 第35版, 金原出版:東京, 2020;496.
- 厚生労働省 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 診療の手引き第6.0版. http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunisuite/bunya/0000121431_00111.html (2021年12月21日アクセス)
- Kondo Y, Umemura Y, Hayashida K, et al. Diagnostic value of procalcitonin and presepsin for sepsis in critically ill adult patients: a systematic review and meta-analysis. J Intensive Care 2019;7:22.
- Apiratwarakul K, Srimookda N, Phungoen P, et al. Presepsin Levels in Emergency Patients with Bacterial and Viral Infection. Maced J Med Sci 2020;8:20-23.
- 今川朱美, 魚住恵理子, 潮田友紀ほか. プレセプシン値に及ぼす腎機能障害の影響. 医学検査 2015;64(2):169-171
- 坂本大典, 小山田崇, 宮城博幸ほか. エアシューター搬送による物理的衝撃がプレセプシン値に及ぼす影響. 医療検査と自動化 2020;45(5):599-604
- Kocyigit A, Sogut A, Durmus E, et al. Circulating furin, IL-6, and presepsin levels and disease severity in SARS-CoV-2-infected patients. Science Progress 2021;104:1-13.

プロカルシトニン測定試薬の基礎的性能評価および ロシュ社試薬の希釈液評価

Fundamental evaluation of PCT measurement reagents

浅野はるな, 大山里子, 吉田俊彦, 澤部祐司, 川崎健治, 松下一之

要旨 プロカルシトニン (procalcitonin ; PCT) は, 細菌性敗血症の鑑別診断および重症度判定の指標とされている。今回我々は, エクルーシス試薬ブラームスPCT (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) およびルミパルスプレスト ブラームスPCT (富士レジオ株式会社) の基本性能と保存安定性の比較に加え, 代用可能な希釈液を検討した。再現性, 希釈直線性, 相関は良好であり, エクルーシスPCTの希釈液として性ホルモン用希釈血清 (ロシュ社) が有用であった。保存条件による測定値への影響に差が認められたが, 両試薬共に迅速な敗血症の鑑別・重症度診断に有用と考えられる。

Key words procalcitonin (PCT), sepsis, Eclusys PCT, Lumipulse presto PCT

1. はじめに

プロカルシトニン (procalcitonin ; PCT) は, 116個のアミノ酸からなる分子量約13 kDaのポリペプチドである。PCTは, カルシウム代謝ホルモンであるカルシトニンの前駆体として甲状腺C細胞で生成され, 細胞内でカルシトニン, カタカルシン, N末端領域に分解される。1993年, Assicotらは全身性感染症, 特に重症細菌感染症で血中PCT濃度が上昇し, ウイルス感染や局所の細菌感染では殆ど上昇しないことを明らかにした¹⁾。その後, PCTがinterleukin(IL)-6, IL-8, CRPあるいはエンドトキシンよりも重症細菌感染症に特異的な血清マーカーであることが示され²⁾, わが国でも2006年2月から細菌性敗血症の鑑別診断および重症度判定における補

助血清マーカーとして保険適応となった。

当院では, 2013年よりエクルーシス試薬ブラームスPCT (以下エクルーシスPCT, ロシュ社) を導入している。現在では様々なメーカーからPCT試薬が発売されているが, 試薬特異的に検体の保存条件による測定値への影響が懸念されている³⁾。

そこで, 当院で測定可能なエクルーシスPCTとルミパルスプレスト ブラームスPCT (以下プレスト PCT, 富士レジオ社) の基本性能および検体の保存安定性を比較検討した。さらに, エクルーシスPCT試薬は高値検体の希釈に陰性血清を用いる事が指定されており, 運用上の手間や感染リスクを軽減する目的で, 同社の他項目用希釈液の代用可否を検討した。

2. 対象および方法

1) 対象

当院検査部にPCT測定の依頼があった外来および入院患者の血清検体を用いた。なお, 本研究は千葉大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得て行った。

2) 測定試薬および使用機器

エクルーシスPCTの測定には, コバス e411(ロシュ社)を用いた。また, プレストPCTの測定には, ルミパルスPresto II (富士レジオ社)を用いた。

希釈液の評価には, エクルーシスPCTでは陰性血清および性ホルモン用希釈血清 (ロシュ社)を用い, プレ

Received Dec. 6, 2021; Accepted Mar. 1, 2022

Haruna ASANO, Satoko OHYAMA, Toshihiko YOSHIDA, Yuji SAWABE, Kenji KAWASAKI, Kazuyuki MATSUSHITA

千葉大学医学部附属病院検査部

〒260-8677 千葉県千葉市中央区亥鼻1丁目8-1

Division of Laboratory Medicine, Chiba University Hospital

1-8-1 Inohana Chuo-ku, Chiba, 260-8670, JAPAN

連絡責任者: 浅野はるな

TEL: 043-226-2328

E-mail: ha-assano@chiba-u.jp

ストPCTでは専用希釈液（富士レビオ社）を用いた。

3) 測定原理

エクルーシスPCTの測定原理は、1ステップサンドイッチ法に基づいた電気化学発光免疫測定法（ECLIA）である。検体中のPCTは、試薬中のピオチン化抗PCT抗体およびルテニウム（Ru）錯体標識抗PCT抗体と反応して免疫複合体を形成した後、ストレプトアビジン磁性粒子（SA磁性MP）をディレイドアッセイする。抗体結合粒子の洗浄後、電気化学発光により生じたシグナルから濃度を換算する。

プレストPCTの測定原理は、2ステップサンドイッチ法に基づいた化学発光酵素免疫測定法（CLEIA）である。検体中のPCTは、試薬中の抗体結合粒子と結合した抗PCT抗体および抗カルシトニン抗体による免疫複合体を形成する。抗体結合粒子の洗浄後にALP標識抗カタカルシン抗体を加え、新たな免疫複合体が形成される。再び抗体結合粒子の洗浄後に基質液（AMPPD）を加え、発光量を測定する。

3. 検討内容と結果

1) 再現性

2濃度の管理試料（L, H）および3濃度のプール血清（A, B, C）を用いて、再現性の検討を行った。n=10の同時再現性の変動係数（CV）は、エクルーシスPCTで全て2%未満、プレストPCTで4%未満であった（Table 1A）。また、10日間測定した日差再現性のCVは、エクルーシスPCTで1.68~3.74%、プレストPCTで2.48~4.81%であった（Table 1B）。

2) 希釈直線性（希釈液の評価）

2濃度の患者血清を用い、エクルーシスPCTはメーカー指定の陰性血清および今回検討対象とした既存の性ホルモン用希釈血清にて、プレストPCTは専用検体希釈液にて5段階希釈し、測定した。その結果、希釈液に関わらず測定範囲上限の100 ng/mL付近まで直線性が認められた（Fig. 1）。

Table 1 Precision of the measurement of PCT concentration

A) Within-run reproducibility, B) Between-run reproducibility.

A)	Eclusys PCT					Presto PCT				
	Control		Pool			Control		Pool		
	L	H	A	B	C	L	H	A	B	C
Mean (ng/mL)	0.48	9.75	0.49	1.81	9.66	0.90	19.32	0.41	1.70	7.73
SD	0.006	0.041	0.004	0.021	0.136	0.017	0.298	0.015	0.030	0.127
CV(%)	1.23	0.42	0.84	1.14	1.41	1.89	1.54	3.67	1.74	1.64

(n = 10)

B)	Eclusys PCT					Presto PCT				
	Control		Pool			Control		Pool		
	L	H	A	B	C	L	H	A	B	C
Mean (ng/mL)	0.48	9.59	0.40	1.67	8.98	0.95	20.77	0.42	1.75	7.95
SD	0.011	0.209	0.007	0.028	0.336	0.024	0.614	0.02	0.061	0.261
CV(%)	2.36	2.18	1.85	1.68	3.74	2.48	2.95	4.81	3.48	3.28

(n = 10)

3) 相関性

150例の血清検体を対象に、エクルーシスPCT (x) とプレストPCT (y) との相関性を検討した結果、Demingの線形回帰式は $y=0.80x+0.21$ 、相関係数は $r=0.988$ であり、エクルーシスPCTと比較してプレストPCTは低値傾向を示した (Fig. 2)。

4) RF値の確認

プレストPCTとエクルーシスPCTを比較し、10%以上低値化していた検体の中で、RF値を確認できた15検体では、全て基準値である15 IU/mL以下であった。また、別のRF高値検体にてプレストPCTとエクルーシスPCTを測定したが、測定値が乖離する検体は認めらな

かった。

5) 敗血症診断のカットオフ値に対する判定一致率

敗血症鑑別診断のカットオフ値である0.5 ng/mLに対するエクルーシスPCTとプレストPCTの判定一致率は96.7%、重症敗血症診断のカットオフ値である2.0 ng/mLに対する判定一致率は100.0%、敗血症性ショック診断のカットオフ値である10.0 ng/mLに対する判定一致率は99.3%であった (Table 2)。

6) 検体の安定性

採血当日に凍結保存した11検体を用い、室温にて6、12、24時間、4℃にて12、24、48、72時間保存後に測定し、測定開始時を100%として変化率を確認した。

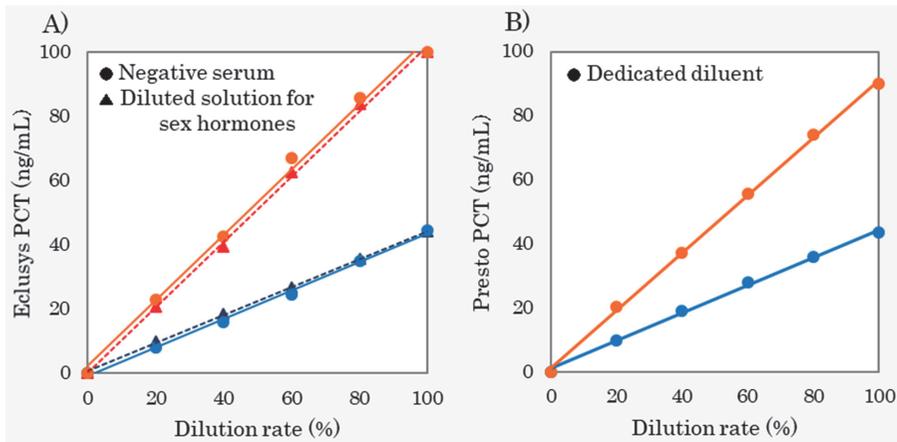


Fig. 1 Dilution linearity
A) Eclusys PCT, B) Presto PCT

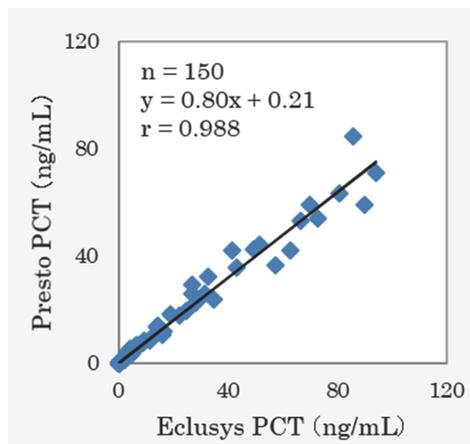


Fig. 2 Correlation between Eclusys PCT and Presto PCT

Table 2 Concordance rate of Eclusys PCT and Presto PCT

A) Cut-off value for sepsis differential diagnosis

B) Cut-off value for differential diagnosis of severe sepsis

C) Cut-off value for septic shock diagnosis

A)		Presto PCT		Total
		≥ 0.5	< 0.5	
Eclusys PCT	≥ 0.5	93	5	98
	< 0.5	0	52	52
Total		93	57	150

Concordance rete : 96.7% (145/150)

B)		Presto PCT		Total
		≥ 2.0	< 2.0	
Eclusys PCT	≥ 2.0	56	0	56
	< 2.0	0	94	94
Total		56	94	150

Concordance rete : 100.0% (150/150)

C)		Presto PCT		Total
		≥ 10.0	< 10.0	
Eclusys PCT	≥ 10.0	28	1	29
	< 10.0	0	121	121
Total		28	122	150

Concordance rete : 99.3% (149/150)

両試薬とも、室温保存、4℃保存ともに経過時間に伴い概ね変化率が大きくなり、室温での24時間保存後の中央値はエクルーシスPCTで93%、プレストPCTで89%に低下した。4℃保存での72時間保存後の中央値はエクルーシスPCTで99%、プレストPCTで94%に低下した。Wilcoxonの符号付順位和検定にて有意差が認められたのは、室温保存でエクルーシスPCTは12時間以降、プレストPCTは6時間以降、4℃保存でエクルーシスPCTは48時間、プレストPCTは24時間以降であった (Fig. 3)。また、両試薬に共通して大幅な減少を示す検体が確認された (Fig. 4)。

4. 考察

今回、エクルーシスPCTおよびプレストPCTの基本

性能を評価し、再現性、希釈直線性および両試薬の相関は良好であることが確認された。またエクルーシスPCTについて、性ホルモン用希釈液を用いて高値検体を希釈した場合、希釈液として指定された陰性血清による希釈と同様の直線性であったことから、性ホルモン用希釈血清が使用可能であることが確認された。

PCT検体の希釈は、PCT陰性が確認された血清または血漿を用いて検体を適宜希釈する。今回検討した性ホルモン用希釈血清は、ロシユ社で発売しているヒト血清由来の希釈液である。通常はPCT陰性を確認後に希釈を実施するため、運用上の手間と感染リスクの問題があった。性ホルモン用希釈血清の使用が可能になれば、取り扱い上の注意を考慮しても、より効率的かつ安全性を持って希釈測定が実施できると考えられる。

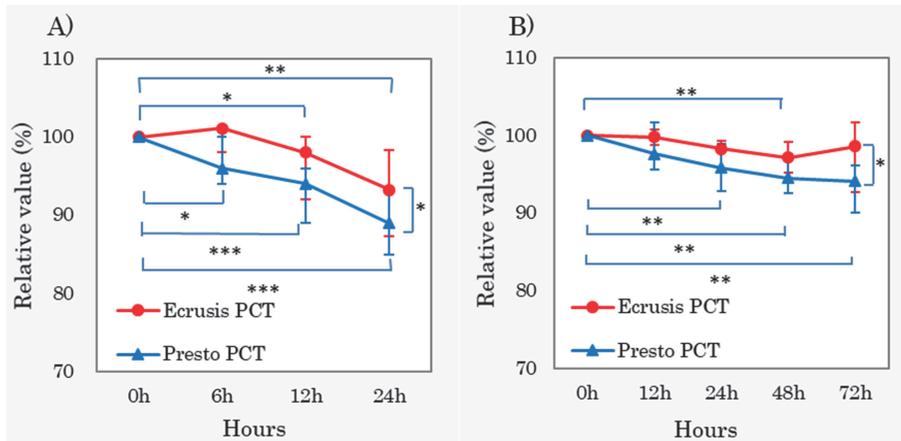


Fig. 3 Stability of PCT concentration
 A) Room temperature, B) 4°C. *p<0.05, **p<0.005, ***p<0.0001.

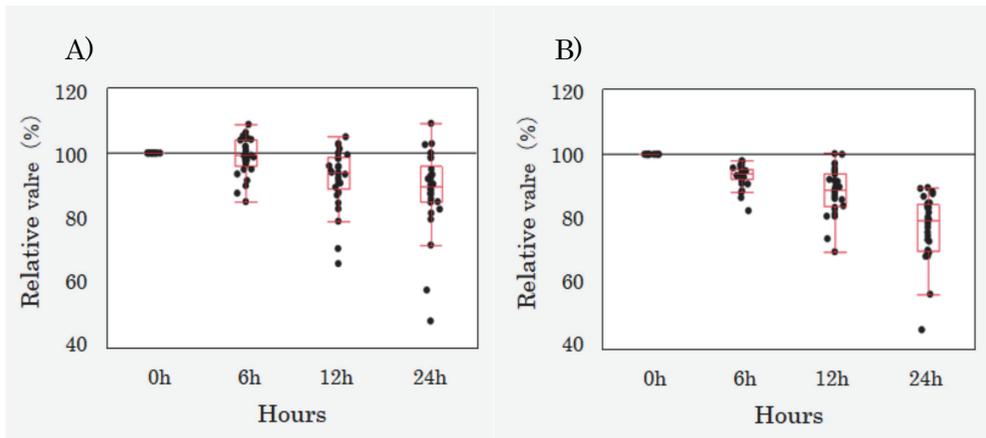


Fig. 4 Distribution of stability of PCT concentration (Room temperature)
 A) Ecrusis PCT, B) Presto PCT

両試薬の相関については、回帰式の傾きが0.80と既報に比べ低値傾向であった⁴⁾⁵⁾。また、室温で24時間保存した検体は、両試薬とも保存前および冷蔵保存と比較して低値化しており、エクルーシスPCTでは中央値で93%の低下にとどまったが、プレストPCTでは89%まで低下していた。即日凍結保存した54例にて確認してみたが、エクルーシスPCTと比較し有意に低値化していた。

プレストPCTの低値傾向の原因として、大久保らはリウマトイド因子（以下RF）の影響について報告している⁴⁾。しかしながら、プレストPCTがエクルーシスPCTと比較して10%以上低値化していた検体のRF値

は、基準値である15 IU/mL以下であり、また、別のRF高値検体にてプレストPCTとエクルーシスPCTを測定したが、プレストPCTが低値傾向を示す現象は認められず、今回の検討ではRFとの関連は認められなかった。

敗血症診断のカットオフ値に対する判定一致率で、敗血症鑑別診断のカットオフ値0.5 ng/mLおよび敗血症性ショックのカットオフ値10.0 ng/mLにおいて計6検体の不一致例が認められ、いずれもエクルーシスPCTよりプレストPCTが低値を示していた。検体の保存状況を確認したところ、採血の翌日以降に凍結保存していた

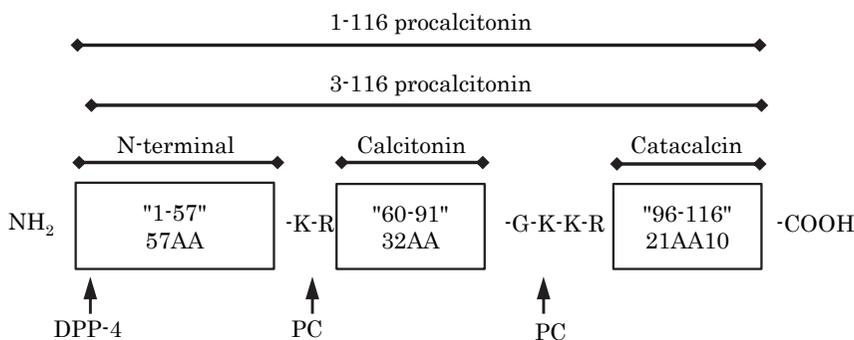


Fig. 5 Schematic diagram of cleavage of PCT by endopeptidase (Modifications of 6) and 8)
 DPP-4 : Dipeptidyl Peptidase-4, PC:prohormone convertase
 K : Lysine, G : Glycine, R : Arginine, AA : amino acid

ことから、冷蔵保存によってプレストPCTがエクルーシスPCTより低値となった可能性が考えられた。また、敗血症性ショックのカットオフ値で不一致となった症例は、入院時採血でHbA1cが高値であり、糖尿病の関与が示唆された。

PCTは、分解酵素によりN末端PCT、カタカルシンおよびカルシトニンに分解される (Fig. 5)。エクルーシスPCTは抗カルシトニン抗体および抗カタカルシン抗体で構成され、プレストPCTは抗N末端PCT抗体、抗カルシトニンおよび抗カタカルシン抗体で構成されている。通常PCTはアミノ酸116個であるが、DPP-4 (Dipeptidyl Peptidase-4) によりN末端部分の2つのアミノ酸が切断された3-116PCTが敗血症患者の血中で検出されている⁶⁾。DPP-4はインクレチンの不活化を行うセリンプロテアーゼであり、インクレチンとは食後の血糖値上昇に伴いインスリン分泌を促すホルモンである。プレストPCTにおいて特に長時間の室温保存で低値化する要因の一つとして、プレストPCTはDPP-4により分解された3-116PCTを捉えていない事が考えられる。またDPP-4の血中濃度は、BMI、皮下脂肪・内臓脂肪表面積、インスリン濃度と相関しているとの報告や⁷⁾、糖尿病患者において健康人よりもDPP-4レベルが高くなっていたとの報告もある⁹⁾。今回の検討で、12時間、24時間保存後において、両試薬共に50%程度も低下する検体が2症例確認されたが、Case.1はアルコール性ケトアシドーシスによる心肺停止蘇生後症例、Case.2は糖尿病を持病に持ち、有機リン中毒により敗血症性ショックとなった症例であった。両症例共にDPP-4が高値であった可能性が考えられ、保存中にDPP-4によってPCT

の分解が促進したと推測された。

以上のことから、両試薬共に検体は冷蔵保存が望ましく、敗血症患者中に糖尿病患者が約2割存在するとの報告¹⁰⁾があることを考慮しても、冷蔵保存した場合でもPCTを後日追加測定する場合は、検体中のDPP-4などの蛋白分解酵素の影響で低値傾向となる可能性を理解する必要がある。

5. 結語

エクルーシスPCTとプレストPCTの性能は、基礎的検討の結果、両試薬共に臨床有用性の高い試薬であった。またエクルーシスPCTは、高値検体の希釈に性ホルモン用希釈血清の利用が可能であった。両試薬共に保存の影響はあるものの、救急外来や迅速な敗血症の鑑別・重症度診断に役立つ試薬と考えられる。

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) Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993;314:515-518
- 2) Aikawa N, Fujishima S, Endo S, et al. Multicenter prospective study of procalcitonin as an indicator of sepsis. *J Infect Chemother* 2005;11:234-238
- 3) 吉岡範, 出口松夫, 鍵田正智. プロカルシトニン測定試薬の基本性能評価と保存条件による測定値への影響と原因. *感染症学雑誌* 2016;90:255

- 4) 大久保学, 古川聡子, 前田ひとみほか. ルミパルスプレスト プラームスPCTの性能評価－RF高値検体における注意点－. 医学検査 2017;66:563-569
- 5) 小林一三, 山本裕之, 藤原久美ほか. プロカルシトニン測定試薬「ルミパルスプレスト プラームスPCT」の基礎的検討. 医学と薬学 2016;73:459-467
- 6) Wrenger S, Kahne T, Bohuon C, et al. Amino-terminal truncation of procalcitonin, a marker for systemic bacterial infections, by dipeptidyl peptidase IV (DPIV). *FBES Lett* 2000 ; 466 : 155-159
- 7) Lamar D, Famulla S, Wronkowitz N, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a novel adipokine potentially linking obesity to the metabolic syndrome. *Diabetes* 2011;60:1917-1925
- 8) Nysten E, Snider R, Thompson KA, et al. Pneumonitis-associated hyperprocalcitoninemia. *Am J Med Sci* 1996;312:12-18
- 9) Sang Ah Lee, Young Ree Kim, Eun Jin Yang, et al. CD26/DPP4 levels in peripheral blood and T cells in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, June 2013;98(6):2553-2561
- 10) G. C. K. W. Koh, S. J. Peacock, T. van der Poll, et al. The impact of diabetes on the pathogenesis of sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:379-388

精度管理調査からみた主要8酵素における標準化の現状 —特にアミラーゼ活性測定 of 標準化対応法試薬の特徴について—

Current status of standardization of major eight enzymes
from the viewpoint of quality control survey.

— Especially JSCC reference method for measuring amylase
activity Characteristics of reagents —

巖崎達矢¹⁾, 佐瀬勝也¹⁾, 神山清志²⁾, 山口純也³⁾, 松下 誠⁴⁾

要旨 国内では、主要8酵素に対してJapan Society of Clinical Chemistry (JSCC) 勧告法が設定され、日常検査では、これらの勧告法に対応する標準化対応法が使用されその普及率はほぼ100%である。一方、標準化対応法に使用される基質は主要8酵素で大きく異なり、勧告法と必ずしも同一の基質が使用されているわけではない。今回、主要8酵素を対象に標準化対応法試薬に使用される基質の調査を実施した。その結果、基質特異性が高い酸化還元酵素および転移酵素に分類される酵素に対して基質特異性が低い加水分解酵素に分類される酵素は様々な合成基質が使用されていた。特にAmylase (AMY) では勧告法の基質の普及率が低く、基質および発色剤の組み合わせが異なる標準化対応法が普及していた。このことは、使用される合成基質や反応支持物質の相違およびAMYの至適pHとの関係を考慮しているためと推測された。

Key words JSCC recommended methods, JSCC reference methods, major eight enzymes, amylase activity, quality control survey

1. はじめに

現在、臨床化学分野における酵素測定は、蛋白質量を測定するのではなく酵素蛋白としての触媒活性量を測定している。そのため、基質・温度および緩衝液のpHなどの測定条件の相違によって酵素反応速度が変化することから、臨床検査データとしての酵素活性値が変化し

設間差の原因となっていた。国内では、これらの問題を解決するために酵素反応速度を変動させる要因となる基質の種類・基質濃度および使用する緩衝液の種類やpHなどの測定条件を統一した勧告法がJapan Society of Clinical Chemistry (JSCC) より設定¹⁾され、酵素活性測定 of 基準範囲の共有化が図られている。国内で勧告法が設定されている酵素は、Aspartate aminotransferase

Received Dec. 22, 2021; Accepted Mar. 11, 2022
Tatsuya IWASAKI¹⁾, Katsuya SAZE¹⁾, Kiyoshi KAMIYAMA²⁾, Junya YAMAGUCHI³⁾, Makoto MATSUSHITA⁴⁾

¹⁾公益社団法人東松山医師会 東松山医師会病院 臨床検査科

〒355-0021 埼玉県東松山市神明町1-15-10

²⁾一般社団法人 浦和医師会メディカルセンター 検査部
〒330-0061 埼玉県さいたま市浦和区常盤6-4-18

³⁾埼玉県済生会川口総合病院 臨床検査科
〒332-8558 埼玉県川口市西川口5-15-5

⁴⁾埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究所
〒343-8540 埼玉県越谷市三野宮820

¹⁾Department of Laboratory Medicine,

Higashimatsuyama Medical Association Hospital,
1-15-10, Shinmeicho, Higashimatsuyama, Saitama
355-0021, Japan

²⁾Department of Laboratory Medicine, Urawa Medical
Association Medical Center, Urawa, Saitama 330-
0061, Japan

³⁾Department of Laboratory Medicine, Saiseikai
Kawaguchi General Hospital, 5-11-5, Nishikawaguchi,
Kawaguchi, Saitama 332-8558, Japan

⁴⁾Department of Clinical Chemistry, Saitama Prefectural
University Graduate School, 820, Sannomiya,
Koshigaya, Saitama 343-8540, Japan

Corresponding author : Tatsuya IWASAKI

E-mail : iwa7180@yahoo.co.jp

(AST)・Alanine aminotransferase (ALT)・Lactate dehydrogenase (LD)・Creatine kinase (CK)・Alkaline phosphatase (ALP)・ γ -glutamyl transpeptidase (γ GT)・Choline esterase (ChE)・Amylase (AMY) の 8 酵素が設定され、日常検査ではドライケミストリー法を除くこれらの勧告法に対応している標準化対応法の普及率はほぼ 100 % となっている現状である²⁾。一方、現在普及している標準化対応法試薬は、主要 8 酵素で大きく異なり JSCC 勧告法と同一の基質を用いる方法、また、これとは異なる基質が使用されている方法が認められている。その中で特に AMY 活性測定では、合成基質が利用されることで様々な基質および発色剤を組み合わせた標準化対応法試薬が普及し、JSCC 勧告法に用いられる基質である 4,6-Ethylidene-4-nitrophenyl- α -D-maltoheptaoside (Et-G7-PNP) 以外の基質を用いる標準化対応法試薬の普及率が他の主要酵素に比較的高いのが現状である。

そこで今回、主要 8 酵素を対象に現在普及している標準化対応法試薬に使用される基質の調査を実施し、AMY 活性測定の現状把握と他の主要酵素との相違を整理したので報告する。

2. 資料および方法

酵素活性測定で JSCC 勧告法が設定されている AST・ALT・LD・CK・ALP・ γ GT・ChE・AMY の主要 8

酵素を対象に、日本医師会精度管理調査報告書²⁾、日本臨床衛生検査技師会精度管理調査報告書³⁾、一般社団法人日本臨床検査機器・試薬・システム振興協会資料⁴⁾および独立行政法人医薬品医療機器総合機構ホームページの市場調査から、現在普及している主要 8 酵素における標準化対応法試薬について、市販試薬数・使用される基質の種類および普及率などを調査した。そして、これらの結果を元に、特に AMY と他の 7 酵素における標準化の現状の相違および標準化対応法の位置付けなどについて考察した。

3. 結果

1) JSCC 勧告法の現状

2019年4月現在における JSCC 勧告法が設定されている酵素について、設定年度および選択された基質を示した (Table 1)。まず、1989年に AST・ALT・LD・CK・ALP の 5 酵素の勧告法が設定された。その後、1994年に γ -GT、2003年に ChE、2005年に AMY の JSCC 勧告法が設定され、現在に至っている。

2) 主要 8 酵素における標準化対応法試薬の普及率

平成 29 年度日本医師会精度管理調査から主要 8 酵素の標準化対応法試薬の利用割合を調査した (Fig. 1)。その結果、2006 年度における標準化対応法試薬の普及率は、AST・ALT・CK・ γ GT の 4 酵素では 80 % 以上

Table 1 Current status of JSCC recommended method

Set year	Target enzyme	Substrate used, etc
1989	AST	L-Aspartic acid, 2-oxoglutaric acid
1989	ALT	L-Alanine, 2-oxoglutaric acid
1989	LD*	Lactic acid, NAD
1989	ALP*	4-Nitrophenyl phosphate, 2-Ethylaminoethanol
1989	CK	Creatine phosphate, ADP
1994	γ -GT	γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide
2003	ChE	4-Hydroxybenzoylcholine
2005	AMY	4,6-Ethylidene-4-nitrophenyl- α -D-maltoheptaoside

*Since April 2020, LD and ALP are undergoing changes from the JSCC recommended method to the IFCC recommended method.

であったが、他の4酵素ではALP(77.8%), LD(53.6%), ChE(41.3%), AMY(5.1%)であり、特に2005年にJSCC勧告法が設定されたAMYでその普及率が低いものであった。その後、AMYにおいても標準化対応法試薬の普及率は徐々に増加し、2017年度の調査では主要8酵素のすべてにおいて、その普及率が90%以上となった。

3) 標準化対応法試薬に利用される基質

平成29年度日本医師会精度管理調査から主要8酵素の標準化対応法試薬に利用される基質の種類を調査した。その結果、ChEおよびAMYを除く6酵素では、標準化対応法試薬に利用されている基質はJSCC勧告法と同一基質の利用がほぼ100%であった。これに対して、ChEではJSCC勧告法と同一基質の4-Hydroxybenzoylcholine(85.2%)であり、その他の基質として、Butyrylthiocholine(0.1%), 2,3-Dimethoxybenzoylthiocholine(1.2%), 5-Methyl-2-

tenoylthiocholine(2.3%)およびBenzoylthiocholine(11.2%)の4基質が利用されていた(Fig. 2)。また、同様にAMYでは、JSCC勧告法と同一基質の4,6Et-G7-PNPの普及率は46.9%であり、JSCC勧告法以外の基質である4-Nitrophenyl-O-β-D-galactopyranosylmaltopentaoside(Gal-G5-PNP)14.3%, 4-Nitrophenyl 6-O-Benzyl-α-maltopentaoside(Benzyl-G5-PNP)18.9%, 2-Chloro-4-nitrophenyl-α-D-maltotrioxide(G3-CNP)7.4%および2-Chloro-4-nitrophenyl-4-O-β-D-galactopyranosylmaltoside(Gal-G2-CNP)12.4%の4基質の合計(53.0%)よりも低いものであった(Fig. 3)。

4) AMY標準化対応法試薬の市場調査

次に、2018年度における一般社団法人日本臨床検査機器・試薬・システム振興協会に登録されている標準化対応法試薬の現状を調査し、AMYと他の酵素との相違を比較検討した。その結果、AST・ALT・LD・CK・γ-GTおよびALPの6酵素はJSCC勧告法以外の基質となる標準化対応法試薬は登録されていなかった。これに対して、AMY活性測定試薬の合計は17社35試薬で、JSCC勧告法と同一基質となる4,6Et-G7-PNP(9社・16試薬)であり、それとは異なる基質を用いる試薬の合計(13社・19試薬)に比べて少ないものであった。そして、後者の内訳はGal-G5-PNPが4社・7試薬、Benzyl-G5-PNPが1社・1試薬、G3-CNPが4社・4試薬およびGal-G2-CNPが5社・7試薬であった(Table 2)。また、AMYの標準化対応法試薬の特徴は、同一メーカーから基質が異なる複数の標準化対応法試薬が市販されていることであり、その内5社ではJSCC勧告法と同一基質となる試薬、および異なる基質となる試薬の両者を

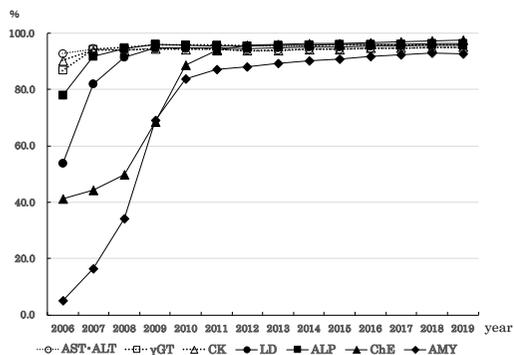


Fig. 1 Trends in the penetration rate of JSCC reference method for the eight major enzymes.

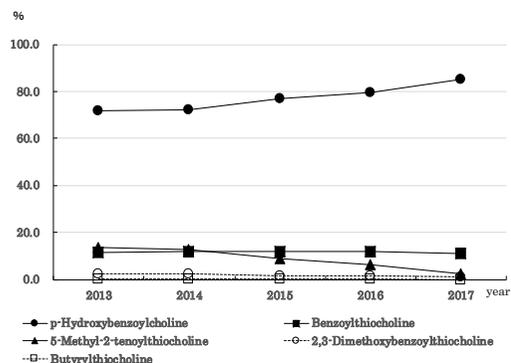


Fig. 2 Trends in the penetration rate of JSCC reference method for measuring cholinesterase activity.

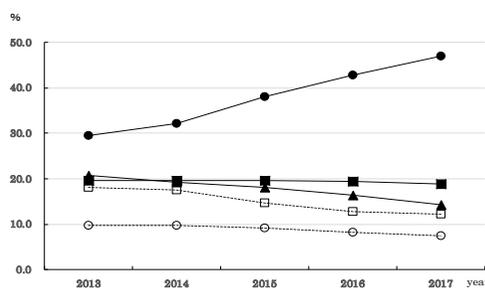


Fig. 3 Trends in the penetration rate of JSCC reference method for measuring amylase activity.

Table 2 List of commercially available reagents for JSCC reference methods of measuring amylase activity

Reagent No.	Reagent name	Manufacture name	Substrate	Block group	Color development group
1	AMY試薬・L コクサイ	シスメックス	Gal-G5-PNP	Galactose	PNP
2	エルシステム・AMY	シスメックス	Gal-G5-PNP	Galactose	PNP
3	AUリージェント AMY	ベックマン・コールター	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
4	Lタイプワコー AMY・IF	富士フイルム和光純薬	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
5	Lタイプワコー アミラーゼ	富士フイルム和光純薬	Benzyl-G5-PNP	Benzyl	PNP
6	セロテック AMY-ML	セロテック	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
7	セロテック AMY-SL	セロテック	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
8	セロテック AMY-CL	セロテック	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
9	セロテック AMY-EL	セロテック	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
10	アキュラスオート AMY-IF	シノテスト	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
11	クイックオートネオ AMY-5	シノテスト	Gal-G5-PNP	Galactose	PNP
12	アクアオートカインス AMY-G3試薬	カインス	G3-CNP	-	CNP
13	アミラーゼ測定試薬 AMY-G3CNP	オリエンタル酵母工業株式会社	G3-CNP	-	CNP
14	オートLミズホ AMY-G2	ミズホメディター	Gal-G2-CNP	Galactose	CNP
15	クオリジェント AMY-G2	積水メディカル	Gal-G2-CNP	Galactose	CNP
16	クオリジェント AMY-G7	積水メディカル	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
17	ビュアオートS AMY-G2	積水メディカル	Gal-G2-CNP	Galactose	CNP
18	ビュアオートS AMY-G7	積水メディカル	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
19	コパス試薬 AMY II	ロシュ・ダイアグノスティックス	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
20	リキテック AMY EPS	ロシュ・ダイアグノスティックス	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
21	シカフィット AMY-G7	関東化学	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
22	シカリキッドN AMY	関東化学	Gal-G2-CNP	Galactose	CNP
23	シカリキッド AMY	関東化学	G3-CNP	-	CNP
24	ダイヤカラー・AMY-L グレクト	東洋紡	Gal-G2-CNP	Galactose	CNP
25	ピアンコーレ・リキッドAMY G2-D	東洋紡	Gal-G2-CNP	Galactose	CNP
26	デタミナーL AMY G2	協和メデックス	Gal-G2-CNP	Galactose	CNP
27	ネスコートVL AMY	アルフレッサファーマ	Gal-G5-PNP	Galactose	PNP
28	ネスコートVL AMY (CP)	アルフレッサファーマ	Gal-G5-PNP	Galactose	PNP
29	フレックスカートリッジ アミラーゼ (N) AMY	シーメンス	G3-CNP	-	CNP
30	自動分析用試薬「生研」 AMY-S	デンカ生研	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
31	AMY-II オート「TBA」	デンカ生研	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
32	AMY-II 「生研」	デンカ生研	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP
33	AMY オート「TBA」	ニッポー	Gal-G5-PNP	Galactose	PNP
34	N-アッセイ L AMY ニッポー	ニッポー	Gal-G5-PNP	Galactose	PNP
35	N-アッセイ L AMY G7 ニッポー	ニッポー	Et-G7-PNP	Ethylidene	PNP

提供しているところであった。特に、JSCC 勧告法とは異なる基質となる Gal-G5-PNP および Gal-G2-CNP を用いた試薬は複数のメーカーから市販されていた。

4. 考察

臨床検査で測定されている微量蛋白には、酵素、腫瘍マーカーおよびホルモンなどの成分が該当する。一般的に、酵素以外の微量蛋白は免疫化学的分析法を用いてその蛋白量として測定することが中心である。これに対して、酵素蛋白は触媒活性を有していることから、その触媒能の強さを活性値として定量して、これを臨床検査データとして活用している。後者の活性値として測定する方法は、蛋白量として測定する前者に比べ、真値が明確となり、基準範囲を共有化することが容易であることに加え抗体を試薬に用いる必要がなく汎用自動分析で測定可能となることなどの利点がある。このような理由から、微量蛋白質の定量検査では、酵素蛋白検査は活性値、そ

れ以外の微量蛋白検査は蛋白重量を測定するという現状の流れが確立されたものと考えられる⁵⁾。

酵素蛋白量を活性値として定量する際の課題は、酵素反応速度が基質の種類、基質濃度、緩衝液の pH および温度などの条件によって変動することから、測定条件によって活性値が大きく変動することにある。そのため、臨床検査データとしての酵素活性値の真値を明確にするため、JSCC は 1989 年より酵素活性測定条件を統一した JSCC 勧告法を設定し、その後、2005 年までに 8 酵素についてその設定がなされている⁶⁻¹³⁾。しかし、現在のこれら 8 酵素における JSCC 勧告法およびそれに比例互換性のある標準化対応法の普及率には差が認められている。そこで、今回 JSCC 勧告法が設定されている主要 8 酵素における日常検査法に利用されている標準化対応法試薬の調査を行った。その結果、AST・ALT・LD・CK・ γ -GT および ALP の 6 酵素は JSCC 勧告法と同一基質となる標準化対応法試薬の普及率がほぼ 100% であ

り、それが85.2%と比較的高かったChEを含めた7酵素とその普及率が46.9%と低かったAMYとの間には大きな相違が認められた。そこで、まず、前者に該当する6酵素について考えてみる。AST・ALT・CKの3酵素は勧告法が設定される1989年以前から基質がほぼ統一されていたことから、現在においてもそれが継続しているものと考えられる。また、LDはJSCC勧告法が設定された当時では、ピルビン酸基質法と乳酸基質法の両者が普及していたこともあり、前述した3酵素に比べ多少の遅れはあったが、その後の勧告法の設定に伴い基質が統一されてきたものと推測できる。そしてこれらの4酵素に共通することは8酵素の中でも基質特異性の高い転移酵素や酸化還元酵素に分類され、設定されたJSCC勧告法とは逆反応を使用した標準化対応法試薬が市販・普及されにくかったことも現在完全に基質が統一されていることの一因と考えることができる。次に、ALPおよび γ -GTの2酵素についても現在普及している標準化対応法試薬はJSCC勧告法と同一となるもののみであった。両酵素は、基質特異性は低いが、勧告法が設定された1989年以前からALPが4-Nitrophenylphosphateで統一、および γ -GTが γ -Glutamyl-4-nitroanilideまたは γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilideで統一されていたことがその理由と推測される。また、これらの6酵素中で、LDおよびALPの2酵素については、2020年4月よりInternational Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) 法への変更が進行しているが、この両酵素についてはこのような勧告法の設定経緯を考慮すれば、今後勧告法とは異なる基質の標準化対応法試薬の普及が継続することは考えにくいものと推測される。一方、JSCC勧告法が設定された1989年当時、基質が異なる多くの測定法が普及していた酵素は加水分解酵素に分類されるChEとAMYである¹⁴⁻¹⁵⁾。この中で、ChEについては基質の相違による活性値(U/L)の変動が大きく、当時最も施設間差の大きな酵素であった。しかし、2003年に4-Hydroxybenzoylcholineを基質とする方法をJSCC勧告法に設定された後は、年々JSCC勧告法の普及率が増加し、今回の調査研究においても現在では勧告法以外の基質が利用されている標準化対応法試薬はかなり減少しているものと考えられた。また、AMYについては、2005年に現在のJSCC勧告法が設定され、標準化対応法試薬の普及率はほぼ100%であり、他の7酵素と同等と考えることは可能と考えられた。しかし、JSCC勧告法と同一基質となる標準化対応法試薬の普及という視点では、他の7酵素と大きな相違が認められた。それは

AMYのJSCC勧告法は4,6-G7-PNPであるが、これを基質とする標準化対応法試薬の普及率は46.9%と半分以下であり、残りの50%以上の施設ではJSCC勧告法と同一基質となる標準化対応法試薬を使用していないことが確認された。このような状況は他の7酵素では認められず、AMYに限定された特徴と考えることができる。

そこで、AMY活性測定用として現在市販されているJSCC標準化対応法試薬の状況を確認するため、2018年度の日本臨床検査機器・試薬・システム振興協会に登録されている試薬の市場調査を行った。その結果、現在登録されているAMY活性測定試薬の合計は17社35試薬で、JSCC勧告法と同一基質となる4,6-G7-PNP(9社・16試薬)であり、それとは異なる基質を用いる試薬の合計(13社・19試薬)に比べて明らかに少ないものであった。そして、後者の内訳はGal-G5-PNP(4社・7試薬)、Benzyl-G5-PNP(1社・1試薬)、G3-CNP(4社・4試薬)およびGal-G2-CNP(5社・7試薬)であった(表2)。ここで、AMYの標準化対応法試薬の特徴は、同一メーカーから基質が異なる複数の標準化対応法試薬が市販されていることであり、その内5社ではJSCC勧告法と同一基質となる試薬、および異なる基質となる試薬の両者を提供していた。特に、JSCC勧告法とは異なる基質となるGal-G5-PNPおよびGal-G2-CNPを用いた試薬は複数のメーカーから市販されていた。

ここで、標準化対応法試薬について考えてみる。現在JSCC勧告法およびそれで値付けされた酵素標準物質が整備され、日常検査では勧告法に比例互換性が確認されている標準化対応法を用いて実施している。JSCC勧告法は、真値を明確にして標準物質の値を付けるものさしの機能として設定されているため試薬の安定性および直線性など日常検査として使用することは考慮されていない。そのため、標準化対応法試薬は日常検査の利便性を向上するため試薬の安定性および直線性などが考慮されメーカー毎に試薬の組成が異なることになる。つまり、標準化対応法試薬は、勧告法と比例互換性が保たれているのであれば、あえて勧告法と同一基質を使用する必要はない。今回の調査結果であるAMYの現状はこのような標準化の理論で考えれば十分説明できるものとも考えることができる。しかし、勧告法と同一基質となる標準化対応法の普及率が50%以下であること、複数のメーカーがJSCC勧告法(基質は4,6-G7-PNP)とそれ以外の基質を用いる標準化対応法試薬の両者を市販していることには違和感があり、このような状況はAMY活性測定の特有の問題点が共存しているものと推測される。それは、合成基質に使用されるPNPの乖離定数は7.1付近である

AMYの至適pHにより近いため、このPNPを用いるJSCC勧告法は試薬のpH変動の影響を受けやすいこと¹⁶⁾、およびS型に対するP型の反応性はJSCC勧告法でやや低値となること¹⁷⁻¹⁸⁾、などが勧告法と同一基質となる検査法を選択した場合の問題点と考えることもできる。標準化対応法試薬に使用される基質のアイソザイム反応性の差については、検量用酵素標準物質に値付けをする際に、総AMY活性に占めるP型の反応性を考慮することで、尿検体を含む広いAMYアイソザイム分布に対応できる校正効果が期待できることが報告されている¹⁸⁾。今後は、合成基質に使用される発色剤(PNP・CNP)および緩衝液のpHの組み合わせとpH変動に伴う活性値への影響について検討する予定である。

5. 結論

今回、JSCC勧告法が設定されている主要8酵素を対象に現在普及している標準化対応法に使用される基質の調査を実施した。その結果、JSCC勧告法と同一基質となる標準化対応法試薬の普及率は、AST・ALT・LD・CK・ γ -GTおよびALPで100%、またChEで85.2%であったのに対して、AMYでは46.9%と低値であった。そこで、現在市販されているAMY活性測定試薬の市場調査を行ったところ、JSCC勧告法と同一基質となる46Et-G7-pNPが9社・16試薬であり、それとは異なる基質を用いる試薬の合計の13社・19試薬に比べて明らかに少ないものであった。このような現状は、AMY活性測定の至適pHやP型とS型アイソザイムの反応性の相違に関わる問題を考慮しているものと推測された。

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

- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論. 勧告法総集編2012年度版 2012; 1-6
- 日本医師会. 令和元年度第53回臨床検査精度管理調査結果報告書. 2019; 105-111
- 日本臨床衛生検査技師会. 平成30年度日臨技臨床検査精度管理調査. アミラーゼ・方法・試薬別統計2018
- 日本臨床検査機器試薬システム振興協会. JACLaS製品一覧. 2019; 82-105
- 松下誠. タンパク質と核酸・遺伝子をはかる 蛋白質の酵素化学的分析法. ぶんせき 2018; 46-51
- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論-アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ-. 勧告法総集編2012年度版 2012; 16-39
- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論-アラニンアミノトランスフェラーゼ-. 勧告法総集編2012年度版 2012; 16-39
- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論-クレアチニンキナーゼ-. 勧告法総集編2012年度版 2012; 16-39
- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論-アルカリホスファターゼ-. 勧告法総集編2012年度版 2012; 16-39
- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論-乳酸デヒドロゲナーゼ-. 勧告法総集編2012年度版 2012; 16-39
- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論- γ -グルタミルトランスフェラーゼ-. 勧告法総集編2012年度版 2012; 16-39
- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論-コリンエステラーゼ-. 勧告法総集編2012年度版 2012; 16-39
- 日本臨床化学会. ヒト血清中酵素活性測定法の勧告法総論-a-アミラーゼ-. 勧告法総集編2012年度版 2012; 16-39
- 渡辺和夫, 太子馨, 田端省三ほか. 兵庫県における酵素活性測定値統一化への試み(第2報)LAP, CHE, AMY. 医学検査 1995; 44: 1012-1017
- 中島康仁, 藤本一満, 猪田虎猛久ほか. 健常者データを用いたAMY, ChEの基準範囲設定の試み. 医学検査 2007; 56: 130-134
- 浦山修, 奥村伸生, 松下誠ほか. 最新臨床検査学講座, 臨床化学検査, 第3版, 医歯薬出版株式会社; 東京, 2016; 224-264
- 斎藤翠, 藤田孝, 石川隆志ほか. 「シカフィットG7」の性能評価およびIFCC/JCCLS-SOP法に対する各社アミラーゼ試薬の反応性評価. 日本臨床検査自動化学会会誌 2015; 40: 229-238
- 井秀明. 各社アミラーゼJSCC標準化対応法試薬のアイソザイムに対する反応性の検証. 医学と薬学 2008; 59: 1093-1100

「BNPコントロール シオノギ」の基礎的性能評価および 精度管理における臨床的有用性に関する検討

A study for the basic performance of 「BNP control SHIONOGI」 and
clinical usefulness in precision control

篠原亮太¹⁾, 土筆智晶¹⁾, 藤村善行¹⁾, 中崎広子¹⁾, 内田一弘¹⁾, 棟方伸一¹⁾, 狩野有作¹⁾²⁾

要旨 2018年に施行された医療法の一部改正により、検体検査における精度の確保や品質保証が推奨・義務化され、日常的な精度管理や外部精度管理調査に対する重要性がより一層高まり、精度管理試料をどのように選択するかが重要となっている。「BNPコントロール シオノギ」はマトリックスの影響を抑えるためヒト血漿をベースとして、血中におけるヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド (Brain Natriuretic Peptide : BNP) と proBNP の存在比を考慮して設計された汎用性の高い精度管理試料であり、検討結果から「BNPコントロール シオノギ」は試料としての基礎的性能が十分確保されており、内部・外部精度管理への活用が期待できると考えられた。

Key words BNP control SHIONOGI, BNP, proBNP, precision control

1. はじめに

ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド (Brain Natriuretic Peptide : BNP) は、心筋 (主として心室) に負荷が生じることで増加する proBNP を前駆体とし、proBNP [1-108] が生理活性を有する BNP [77-108] および非活性のヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体 N 端フラグメント proBNP (N-terminal proBNP) [1-76] に切断され血液中に分泌される¹⁾²⁾³⁾ (Fig. 1)。健康人の血漿中 BNP 濃度は極めて低いが、慢性および急性心不全患者ではその重症度に応じて著明に増加することから、BNP の臨床的意義として、心室機能および心不全の病態把握に高い有用性が示されている¹⁾⁴⁾。

しかし、血中には BNP と同一の構造を含む proBNP も存在し、BNP 測定値の上昇に伴い、その内に占める proBNP の比率が増加することが近年の研究で明らかとなっている⁵⁾⁶⁾⁷⁾。そして、この proBNP は BNP と交差反

応性を示すため、BNP の定量値は BNP と proBNP の総量であることを考慮する必要がある⁷⁾⁸⁾⁹⁾。よって、臨床へ信頼性の高い BNP 測定結果を報告するためには、日常的に行われる内部精度管理において、実際の患者検体と同様な proBNP の存在を考慮した精度管理試料を用いることが望ましいと考えられる。

また、免疫測定において、多くの項目では基準となる標準物質や測定法が存在せず、測定系の標準化がなされていないのが現状である。このため、日本臨床衛生検査技師会や日本医師会などの各団体により実施されている外部精度管理調査において、試薬間差に関する報告が行われている¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。BNP 測定に関しても、大森ら¹³⁾¹⁴⁾や、船附ら¹⁵⁾が試薬間差について報告している。

このような試薬間差が確認される測定においては、臨床判断に混乱を生じさせないため、標準化やハーモナイゼーション (調和化) が求められている¹⁰⁾¹¹⁾。しかし、調査を主催する団体により用いる試料が同一ではなく、

Received May 19, 2021; Accepted Mar. 22, 2022

Ryota SHINOHARA¹⁾, Tomoaki TSUKUSHI¹⁾, Yoshiyuki FUJIMURA¹⁾, Hiroko NAKAZAKI¹⁾, Kazuhiro UCHIDA¹⁾, Shinichi MUNAKATA¹⁾, Yuhsaku KANO¹⁾²⁾

¹⁾北里大学病院 臨床検査部

²⁾北里大学医学部 臨床検査診断学

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kitasato

University Hospital

²⁾Kitasato University, School of Medicine, Laboratory Medicine

〒252-0375 神奈川県相模原市南区北里1-15-1

Corresponding author : 篠原亮太

TEL : 042-778-7725

E-mail : shino029@kitasato-u.ac.jp

調査試料の構成成分によって測定系に影響が生じるマトリックス効果により、試薬・機器との関係に由来し反応性が異なる¹⁶⁾ことから、異なる団体での調査結果を標準化の取り組みへ活用することは困難な状況となっている¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。よって、標準化に向けた外部精度管理においても、選択する調査試料が非常に重要であると考えられる。

2018年12月に施行された医療法の一部改正において、検体検査における精度の確保や品質保証が推奨・義務化されたことから、日本臨床衛生検査技師会、病院等の医療機関、検査センターなどにおいては内部・外部精度管理に対する重要性の認識が一層高まっている。こうした観点からも、精度管理に適した汎用性の高い精度管理試料が求められている。

今回、BNP測定において日常的に行われる内部精度管理の他、外部精度管理調査などへの活用が可能な汎用性の高い精度管理試料の選択を目的とし、ヒト血漿をベースとして血中におけるBNPとproBNPの存在比を考慮して設計された「BNPコントロール シオノギ」⁵⁾¹⁷⁾に注目し、内部・外部精度管理に使用する上で必要な基礎的性能評価を実施したので報告する。

2. 材料および方法

1) 精度管理試料および調製・使用方法

(1) 検討試料

検討試料はBNPコントロール シオノギ(塩野義製薬株式会社)(以下、シオノギ)であり、精製水で溶解調製後冷蔵保管、調製日中に使用した。

(2) 対照試料

対照試料として、汎用精度管理試料についてはLiquichek Cardiac Markers Plus LT(バイオ・ラッド

ラボラトリーズ株式会社)(以下、Liquichek)を使用し、融解調製後冷蔵保管、調製後8日以内に使用した。

各測定試薬の専用精度管理試料として、ルミパルスプレストBNPにおいてはLPコントロール・BNP(富士レリオ株式会社)(以下、LP)を使用し、精製水で溶解調製後冷蔵保管、調製後6日以内に使用した。Eテスト「TOSOH」II(BNP)免疫反応試薬においては、東ソーコントロールセット(心疾患)(東ソー株式会社)(以下、東ソー)を使用し、精製水で溶解調製後冷蔵保管、調製後7日以内に使用した。

2) 測定試薬/機器

ルミパルスプレストBNP/LUMIPULSE L2400(富士レリオ株式会社):以下、ルミパルス

Eテスト「TOSOH」II(BNP)免疫反応試薬/AIA-1800ST(東ソー株式会社):以下、Eテスト

なお、本検討の測定試薬にはルミパルスを主として使用し、後述の同時再現性、製品Lot間差においては、試薬間差の確認を兼ねEテストを併用した。

3) 検討方法

(1) 同時再現性

ルミパルスにおいて、シオノギ(Level 1.2)、Liquichek(Low.1.2)、LP(L.H)について各連続10重測定を行い、変動係数(CV)を求めた。

Eテストにおいても同様に、シオノギ(Level 1.2)、Liquichek(Low.1.2)、東ソー(L.H)について各連続10重測定を実施してCVを求めた。

また、それぞれの精度管理試料に設定されている参考値に対し、定量値の一致率を求め比較した。なお、Liquichekにおいては、ルミパルスとEテストに対する参考値が設定されてないため、一致率は算出していない。

(2) 日差再現性

ルミパルスにおいて、シオノギ(Level 1.2)、Liquichek(Low.1.2)、LP(L.H)について各2重・連続6日間測定を行い、CVを求めた。

なお、各試料の使用方法に則り、シオノギについては測定日毎に試料の溶解調製を行い、LiquichekとLPについては全日共通の試料を使用した。

(3) 調製後安定性(短期)

シオノギ(Level 1.2)各7本を溶解調製し、これを各濃度で合わせてプール試料とし、13本に分注した。このうち、各濃度1本ずつを保存0時間試料として直ちに凍結(-80℃)した。次に、各濃度7本ずつを冷蔵(5℃)保存し、0.5、1、2、4、6、8、24時間後に凍結した。また、各濃度で5本ずつを室温(24℃)保存し、0.5、1、2、4、6時間後に凍結した。そして、冷蔵保存24時間後の

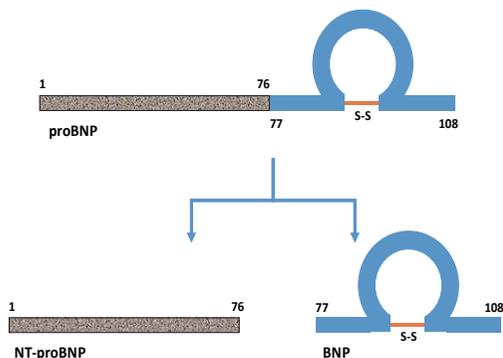


Fig. 1 Synthesis of proBNP to BNP

試料を凍結した1時間後、凍結した試料を一斉に融解し、ルミパルスで2重測定を行った。保存0時間試料の測定値を基準値とし、これに対する各保存時間後試料における測定値から残存率を求めた。

(4) 調製後安定性 (長期)

シオノギ (Level 1.2) 各3本を溶解調製し、これを各濃度で合わせてプール試料とし、4本に分注した。このうち、各濃度1本ずつを保存0時間試料として、直ちにルミパルスで2重測定した。調製後直ちに3本ずつを凍結 (-80℃) 保存した試料をそれぞれ7, 14, 28日後に融解し、ルミパルスで2重測定を行った。保存0時間試料の測定値を基準値とし、これに対する各保存期間後試料における測定値から残存率を求めた。

なお、(4)において測定日は異なるが、同一検量線にて測定した。

(5) 調製者間差

シオノギ (Level 1.2) について、異なる3名が溶解調製をそれぞれ行い、ルミパルスにおいて各3重測定を行った。

(6) 製品Lot間差

シオノギ (Level 1.2) の異なる3ロット (Lot No.

9002, 9005, 9007) を溶解調製し、ルミパルスとEテストにおいて各3重測定を行った。

また、それぞれの精度管理試料に設定されている参考値に対し、定量値の一致率を求め比較した。

3. 成績

(1) 同時再現性

ルミパルスにおいて、シオノギのCVは1.13~1.16%であり、LiquichekとLPの0.74~1.44%と同等の結果であった (Table 1)。

Eテストにおいて、シオノギのCVは2.54~3.86%であり、Liquichekと東ソーの2.77~5.96%と同等の結果が確認された。

また、参考値に対する定量値の一致率については、ルミパルスとEテストそれぞれにおける専用精度管理試料に関しては、両濃度ともに一致率が98.1~103.4%であった。他方、シオノギでは、ルミパルスにおいて112.4~121.4%と高値傾向、Eテストにおいて82.8~87.0%と低値傾向を示した。Liquichekについても、ルミパルスにおいてEテストよりも高値傾向であることが確認された。

Table 1 Within-run precision (n=10)

測定試薬	ルミパルスプレストBNP						Eテスト「TOSOH」II (BNP)							
	シオノギ		Liquichek		LP		シオノギ		Liquichek		東ソー			
Lot No.	9005		23880	67601	67602	9E 0105		9005		23880	67601	67602	JX49653	
Level	1	2	L	1	2	L	H	1	2	L	1	2	L	H
mean (pg/mL)	43.1	203.4	20.8	42.5	254.5	41.4	202.9	30.9	149.8	15.3	34.0	206.5	37.2	476.0
max (pg/mL)	44.1	206.2	21.2	43.1	257.0	42.5	207.5	32.9	155.6	16.4	35.7	215.2	39.8	507.0
min (pg/mL)	42.4	200.3	20.5	41.7	251.2	40.8	199.7	29.4	144.2	13.8	32.2	197.1	35.6	440.5
SD (pg/mL)	0.50	2.31	0.25	0.52	1.88	0.52	2.92	1.19	3.81	0.91	1.31	5.71	1.46	17.67
CV (%)	1.16	1.13	1.22	1.22	0.74	1.26	1.44	3.86	2.54	5.96	3.86	2.77	3.93	3.71
参考値 (pg/mL)	35.5	181.0	-	-	-	40.7	199.6	35.5	181.0	-	-	-	36.0	485.0
参考値一致率 (%)	121.4	112.4	-	-	-	101.9	101.7	87.0	82.8	-	-	-	103.4	98.1

Table 2 Between-day precision (n=12/6 days)

コントロール	シオノギ		Liquichek		LP			
	Level	1	2	L	1	2	L	H
mean (pg/mL)		43.9	205.9	20.6	42.2	251.5	41.6	203.3
max (pg/mL)		45.5	210.8	21.0	44.6	255.3	42.9	208.4
min (pg/mL)		42.5	201.5	20.1	40.4	245.3	40.5	198.5
SD (pg/mL)		0.72	2.72	0.34	1.20	3.03	0.64	2.96
CV (%)		1.64	1.32	1.63	2.85	1.21	1.54	1.46

なお、ルミバルスについては、当院に設置されているもう1台の機器においても同等の結果が得られた。

(2) 日差再現性

ルミバルスにおいて、シオノギのCVは1.32~1.64 %であり、LiquicheckとLPの1.21~2.85 %と同等の結果が確認された (Table 2)。

(3) 調製後安定性 (短期)

冷蔵保存の場合、両濃度において、保存6時間後までの残存率は93.5~100.6 %となり、10 %以内の減少に留まったが、保存8~24時間後での残存率は70.0~88.9 %となり、10 %以上の減少が確認された。

室温保存の場合、両濃度において、保存2時間後まで

の残存率は90.6~99.5 %となり、10 %以内の減少に留まったが、保存4~6時間後での残存率は80.5~89.9 %となり、10 %以上の減少が確認された (Table 3)。

(4) 調製後安定性 (長期)

Level 1.2ともに28日後までの残存率は、99.2~101.5 %であった (Table 4)。

(5) 調製者間差

Level 1において、調製者間の平均値は44.7 pg/mL、CVは0.98 %であった。Level 2において、調製者間の平均値は208.8 pg/mL、CVは1.37 %であった (Table 5)。

(6) 製品Lot間差

ルミバルスにおいて、Level 1におけるLot間の平均

Table 3 Stability after preparation (short term)(n=2)

Level	保存条件	-	保存時間(h)							
			0	0.5	1	2	4	6	8	24
1	冷蔵 (5 °C)	mean (pg/mL)	42.1	42.1	41.9	40.7	39.4	39.9	37.3	29.5
		残存率 (%)	100.0	99.9	99.5	96.6	93.5	94.8	88.5	70.0
	室温 (24 °C)	mean (pg/mL)	42.1	41.4	40.3	38.2	36.2	33.9	-	-
		残存率 (%)	100.0	98.3	95.6	90.6	86.0	80.5	-	-
2	冷蔵 (5 °C)	mean (pg/mL)	199.0	199.6	200.2	195.7	190.0	189.2	176.9	144.6
		残存率 (%)	100.0	100.3	100.6	98.3	95.5	95.1	88.9	72.6
	室温 (24 °C)	mean (pg/mL)	199.0	198.1	192.3	184.7	178.9	173.4	-	-
		残存率 (%)	100.0	99.5	96.6	92.8	89.9	87.1	-	-

Table 4 Stability after preparation (long term)(n=2)

Level	保存条件	-	保存期間 (day)			
			0	7	14	28
1	凍結 (-80 °C)	mean (pg/mL)	41.9	42.3	41.5	41.9
		残存率 (%)	-	101.1	99.2	100.1
2	凍結 (-80 °C)	mean (pg/mL)	198.8	201.2	199.6	201.9
		残存率 (%)	-	101.2	100.4	101.5

Table 5 Table 5 Between-preparator precision (n=3)

Level	1	2
調製者 ① mean (pg/mL)	45.2	209.2
調製者 ② mean (pg/mL)	44.5	211.4
調製者 ③ mean (pg/mL)	44.4	205.7
mean (pg/mL)	44.7	208.8
SD (pg/mL)	0.44	2.87
CV (%)	0.98	1.37

値は45.1 pg/mL, CVは2.99 %であった。Level 2におけるLot間の平均値は208.3 pg/mL, CVは1.28 %であった。

他方, Eテストにおいて, Level 1におけるLot間の平均値は30.4 pg/mL, CVは0.49 %であった。Level 2におけるLot間の平均値は149.4 pg/mL, CVは1.55 %であった (Table 6)。

4. 考察

今回, 「BNPコントロール シオノギ」を用いた同時再現性については, 汎用精度管理試料のLiquichekや各測定試薬の専用精度管理試料と同等な結果となり, 良好な再現性を示した。

日差再現性については, LPとLiquichekは全測定において同一の試料を使用した, シオノギについては使用方法に則り測定日毎に溶解調製し, 計6本のバイアルにおいて測定を実施した。測定条件にこのような差があったにも関わらず, 同等な結果が得られたことから, 管理試料の前処理 (溶解調製) による誤差やバイアル間差が測定値に影響を与えないことが示唆された。

また, シオノギの使用に関しては, 溶解調製後は冷蔵保存し, 測定日中に使用すること, もしくは-20℃以下での凍結保存 (4週間安定) がメーカーから推奨されている。今回, 調製後安定性 (短期) の結果から, 冷蔵保存の場合は調製から8時間以降で10%以上の減少が確認された。室温保存の場合は調製から4時間後には10%以上の減少が確認された。よって, 精密な精度管理を行う上では, 試料の安定性を踏まえて冷蔵保存の上, 調製後の時間経過に十分注意を払う必要があると考えられた。

調製後安定性 (長期) の検討に関しては, -80℃での凍結保存の場合では調製から28日後までの残存率が99.2~101.5%であり, メーカーが推奨する保存期間と

同等の結果が得られた。よって, 必要量を一度にまとめて調製する場合, 調製後に適量へ分注して凍結保存し, 4週間以内に使用する方法が適切であると考えられた。なお, このような凍結保存後の使用をする際には, 調製後安定性 (短期) の結果を踏まえ, 試料の解凍後は速やかに測定を実施する必要があると考えられる。

日差再現性や調製者間差, Lot間差のバラツキも収束していたことから, 管理試料の前処理 (溶解調製) による誤差やバイアル間差は良好であり, 試料の均質性が保たれていることが示唆された。

以上より, シオノギは内部精度管理試料としての性能を十分有することが確認された。

また, 免疫測定において標準物質と管理試料の組成 (原料) が同一であれば, ヒト試料の分析が良好であることの判断には至らず, 実際の臨床検体における検査過誤を見逃す可能性があると考えられる¹⁸⁾。したがって, 内部精度管理試料はヒト試料と反応性が近似することが望ましいと考えられる。さらに, ISO 15189の5.6.2.2における精度管理物質の選択について, 「試薬又は装置メーカーから提供された管理物質のかわりに, 又は追加して, 独立した第三者の管理物質の使用を考慮することが望ましい」とされており, いわゆるサードパーティコントロールの使用が推奨されている¹⁸⁾。

実際に, 同時再現性の検討において, 各試薬の専用精度管理試料はその参考値に概ね一致していたが, シオノギについてはルミパルスでは参考値に対し高値傾向, Eテストでは低値傾向を示し, 試薬間差が確認され, Lot間差の検討においても同様の傾向が確認された。両試薬を含む現在国内外で汎用されているBNP測定試薬においては, サンドイッチ免疫測定法を測定原理としており, BNP分子のアミノ酸配列における異なる2つの部分を特異的に認識する抗体を用いることで, BNPの定量測定が可能となっている¹⁵⁾。今回使用した専用精度管理試料

Table 6 Between-Lot precision (n=3)

測定試薬		ルミパルスプレスト BNP		Eテスト「TOSOH」II (BNP)	
Level		1	2	1	2
Lot No. mean (pg/mL)	9002	46.5	210.3	30.6	149.6
	9005	43.8	205.3	30.4	151.6
	9007	45.0	209.4	30.3	147.0
mean (pg/mL)		45.1	208.3	30.4	149.4
SD (pg/mL)		1.35	2.67	0.15	2.31
CV (%)		2.99	1.28	0.49	1.55

は、それぞれの標準物質と同様の組成であり、各社独自の標準物質で精度管理が行われており、それに基づいた値付けがされているため、参考値とも概ね一致する結果を示したことが考えられる。他方、シオノギについては、各専用精度管理試料とは組成が異なるため、ルミパルスとEテストにおける使用抗体の認識部位の違いやproBNPとの交差反応性の違いから、試薬間差が生じたことが考えられた。本観点からも、「BNPコントロール シオノギ」を内部精度管理試料として選択する必要性が考えられた。

また、外部精度管理調査においても、調査試料をどのように選択するかが非常に重要である。調査試料のマトリックスと試薬・機器ごとの関係に由来する反応性の問題から、調査試料は実際の患者検体と性状や反応性が可能な限り同様なプール試料を用いることが望まれる。しかし、プール試料に用いる患者検体の選定や設定した目標値への試料調製、また各施設へ配布・測定が実施されるまでの安定性の確保などが、実際に調査試料を作製する上で非常に大きな課題である。

BNP測定においては、船附¹⁵⁾は測定試薬間の測定値のバラつきとして、低濃度域と比較して高濃度域における試薬間差のバラつきの大きさについても指摘している。本要因として、proBNPがBNP濃度依存性に測定値へ影響を与えることにより、各試薬で使用されている抗体とproBNPとの交差性の差異が、試薬間差の重要な要因の1つとなる可能性が考えられた。よって、より実際の臨床検体に近い状態で調査をするためには、proBNPの存在比率についても考慮する必要があると考えられる。

このように外部精度管理調査試料を選択する上で重要となる課題について、シオノギに関しては、ヒト血漿から作製されたことで試薬・機器ごとのマトリックスの影響を抑えられ、血中におけるBNPとproBNPの存在比についても考慮して設計されていることから、調査試料として適していることが考えられる。

今回、日差再現性や調製者間差、Lot間差におけるバラツキが収束していたことから、管理試料としての均質性が保たれていることが考えられた。また、調製後の安定性についても確認されたことから、複数の施設に配布し測定を実施する外部精度管理調査に用いる試料として有用であることが考えられた。

更に、同時再現性と同様にLot間差の検討結果からも、ルミパルスとEテストにおいて試薬間差が確認されたことから、今回使用した測定試薬以外でも試薬間差が生じることが推測される。こうした試薬間差を調査し把握す

ることがBNP測定の標準化・調和化につながると考えられ、その調査試料としてシオノギを選択する有用性が考えられる。

これについては今後の課題として、シオノギの測定値における試薬間差が、実際の臨床検体の測定値における試薬間差を反映しているのかについて、検証する必要があると考えられた。

また、日本においては超高齢社会を迎えており、団塊世代が75歳以上となる2025年には、高齢の心不全患者が急増する心不全パンデミックの到来が危惧されている¹⁹⁾²⁰⁾。著しく増加する高齢者医療における効率的な医療資源運用の観点から医療施設間における患者データの共有化は必須と考えられ、BNP検査の精度管理の必要性がより一層高まることが予測される¹⁵⁾。よって、臨床に信頼性の高い検査結果(測定値)を提供するためにも、各施設における精確性・信頼性が保証された検査精度の維持、測定値の施設間差および試薬間差の軽減について積極的に取り組む必要性があり、こうした状況についてもシオノギの有用性が考えられた。

以上より、「BNPコントロール シオノギ」は、BNP測定において日常的に行われる内部精度管理、外部精度管理調査などへの活用が可能な精度管理試料として、臨床的有用性を有すると考えられた。

5. 結論

医療法の一部改正により、各医療機関よりこれまで以上に精確性・信頼性の要求が高まりつつある。BNP測定においては、臨床現場へより信頼性の高い測定結果を報告するためには、検体中のproBNPの存在も考慮した精度管理の実施が有用であると考えられる。今回、「BNPコントロール シオノギ」は、汎用性の高いコントロールとして日常的な内部精度管理に活用が可能な性能を十分有することが確認された。外部精度管理調査などに使用する上での性能も保たれており、実際の臨床検体の組成を反映した調査試料として適していることが考えられた。よって、本試料を外部精度管理調査に活用し、試薬・施設間差を評価することで、検査精度向上への貢献が期待できることが考えられた。

今後は、外部精度管理調査の結果から、標準化およびハーモナイゼーション(調和化)の取り組みへの活用の可能性について検討していきたい。

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) 薦本尚慶, 新BNPと日常検査, 斎藤能彦編, 南江堂: 東京, 2005.
- 2) Saito Y, Nakao K, Itoh H, et al. Brain natriuretic peptide is a novel cardiac hormone. *Biochem. Biophys. Res Commun* 1989;158:360-368.
- 3) Mukoyama M, Nakao K, Saito Y, et al. Human brain natriuretic peptide, a novel cardiac hormone. *Lancet* 1990;335:801-802.
- 4) 泰江弘文, 吉村道博, 城ヶ崎倫久ほか. 特集 血管内皮細胞による収縮・弛緩調-その病態生理学的意義 ANPとBNPの臨床的意義. *最新医学* 1992;47:93-101.
- 5) Masuta K, Funatsuki K, Inoue Y, et al. A mixture of glycosylated proBNP and BNP-32 is a suitable calibrator for BNP immunoassays. *Open J Clin Diagn* 2019;9:51-63.
- 6) Nishikimi T, Okamoto H, Nakamura M, et al. Direct immunochemiluminescent assay for proBNP and total BNP in human plasma-proBNP and total BNP levels in normal and heart failure. *PLoS One* 2013;8:e53233.
- 7) Nishikimi T, Minamino N, Ikeda M, et al. Diversity of Molecular Forms of Plasma Brain Natriuretic Peptide in Heart Failure-Different proBNP-108 to BNP-32 Ratios in Atrial and Ventricular Overload. *Heart* 2010;96:432-439.」
- 8) Amy K.Saenger, Olaia Rodriguez-Fraga, Ranka Ler, et al. Specificity of B-Type Natriuretic Peptide Assays : Cross-reactivity with Different BNP, NT-proBNP, and proBNP peptides. *Clinical Chemistry* 2017;63:351-358.
- 9) 太田規央, 堀井一清. BNPの精度管理とその意義-臨床現場をとりまく現状を踏まえて- 医療と検査機器・試薬 2020; 第43巻1号別冊:38-43.
- 10) 斎藤篤, 岡田健, 西浦明ほか. 免疫血清項目におけるハーモナイゼーションの可能性についての検討第1報. *医学検査* 2018;Vol.67 No.2:189-195.」
- 11) 斎藤篤, 木下敬一郎, 河野久ほか. 免疫血清項目におけるハーモナイゼーションの可能性についての検討 第2報. *医学検査* 2018;Vol.67 No.2:196-203.
- 12) 岡本明紘, 菊地良介, 鈴木敦夫ほか. 愛知県における臨床検査精度管理調査の現状と今後の展望-免疫血清検査部門の調査結果と課題. *医学検査* 2020; Vol.69 No.3:381-388.
- 13) 大森智弘, 當銘良也, 今村ちさほか. BNP(brain natriuretic peptide)の検討で明らかになったメーカー間差. *臨床検査* 2011;55:928-32.
- 14) 一ノ谷英憲, 加藤秀樹, 遠藤美紀子ほか. アーキテクトi2000SRとパスファーストを用いたBNP測定比較検討. *日本臨床自動化学会誌* 2013;38:332-35.
- 15) 船附賢三, 増田景一, 井上洋子ほか. BNP測定試薬における国内評価検討の実施. *臨床病理* 2019; 第67巻:1103-1108.
- 16) 社団法人日本臨床衛生検査技師会 精度管理調査評価法検討・試料検討ワーキンググループ. 臨床検査精度管理調査の定量検査評価法と試料に関する日臨床技指針.
- 17) 増田景一. BNP測定試薬用の精度管理物質「BNPコントロール シオノギ」について. *生物試料分析* 2021; 第44巻第5号:69-76.
- 18) 坂田裕二, 篠原克幸. 管理血清とISOへの取り組み. *生物試料分析* 2020; 第43巻第3号:186-192.
- 19) 上嶋健治. 心不全パンデミックに備える: 疫学から予防・リハビリテーションまで. *総合健診* 2020;47巻5号:8-14.
- 20) 瀬戸明, 高山忠輝. 心不全パンデミックに向けての心不全地域連携における大学病院の役割. *日本医学雑誌* 2020;79巻4号:241-245.
- 21) 篠原克幸. コントロール血清の特性と応用. *日本臨床自動化学会誌*2018;Vol.43 No.1:3-11.

感染症迅速遺伝子検査システムのご紹介

The principle of rapid gene analyzer system for infectious diseases

藤本聖人

1. はじめに

本邦における感染症遺伝子検査に対する環境は、新型コロナウイルス感染症によって大きく様変わりし、遺伝子検査が多くの施設で開始された。今後、With/After Corona時代に向かう中で、臨床検査室においては(1)測定結果が短時間で報告できること、(2)1台の検査で多くの項目を測定できることなどが求められる。本稿では遺伝子検査装置のうち、高速PCRを特長としたGENECUBE[®] (モデルC)を用いた機器の特長と、主な測定項目について紹介する。

2. 原理と特長

本機器 (Fig. 1) は2021年4月に販売を開始した。最大12検体を24アッセイまで同時に測定できる。また、4項目まで同時測定が可能である。機器は、検体・試薬・消耗品を所定の位置にセットして測定開始すると、試薬の分注・遺伝子の増幅・検出、結果判定までを自動で行う。測定項目によって違いがあるが、最長約25分で測定が完了する¹⁾。

測定原理は、PCR (Polymerase Chain Reaction) 反応を採用している。増幅したPCR産物をQProbe法による融解曲線を実施して検出している。PCR反応は試料溶液中の温度変化が速やかに行えるように、表面積を大きくさせた専用プラスチックキャピラリーを使用すること、短時間反応に耐えうるKOD[®] DNAポリメラーゼを採用することで高速反応を実現している²⁾³⁾ (Fig. 1)。

Kiyoto FUJIMOTO

東洋紡株式会社 診断システム事業部

〒530-0001 大阪市北区梅田1-13-1

大阪梅田ツインタワーズ・サウス

TEL : 06-6348-3335 FAX : 06-6348-3833

E-mail : kiyoto_fujimoto@toyobo.jp

QProbeによる検出は対象の核酸配列と相補的な配列を有したQProbeが、標的配列に結合すると蛍光が消光する現象を利用している。結合した状態で温度上昇させると、結合したQProbeが解離して蛍光を発する。この蛍光強度の変化を測定し、目的遺伝子の有無を検出する。本反応は、標的配列に一塩基の変異があると、変異がない場合よりも蛍光強度の変化が低温側で生じるため、変異の有無が検出可能である。

反応容器内では、2種類の蛍光波長を用いて検出している。標的遺伝子の検出と同時に内部標準物質 (インターナルコントロール) を測定することで、試料の夾雑物などによる増幅不良を検知する。

GENECUBE[®]の専用試薬には体外診断用医薬品として、2021年10月現在、10品目が販売中である (Table 1)。研究用試薬であるジーンキューブ[®]テストベーシックと任意のプライマー・プローブを組み合わせて、様々な遺伝子の検出にも利用できる (Table 1)。

3. 測定試薬について

1) マイコプラズマ・ニューモニエ測定試薬、百日咳測定試薬

ジーンキューブ[®]・マイコプラズマ・ニューモニエ試



Fig. 1 GENECUBE[®] (モデルC) 機器外観

Table 1 GENECUBE® 体外診断用医薬品

製品名	測定項目
ジーンキューブ®MTB	結核菌群(主に <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)検出
ジーンキューブ®MAC	非結核性抗酸菌(<i>M. avium</i> / <i>M. intracellulare</i>)の検出(非分別)
ジーンキューブ®MAI	非結核性抗酸菌(<i>M. avium</i> / <i>M. intracellulare</i>)の検出(分別可)
ジーンキューブ®マイコプラズマ・ニューモニエ	マイコプラズマ肺炎
ジーンキューブ®クラミジア・トラコマチス	性器クラミジア症
ジーンキューブ®ナイセリア・ゴノレア	淋病
ジーンキューブ®mecA	血流感染症 (MRSA(mecA))
ジーンキューブ®C.difficile	クロストリジオイデス・ディフィシル産生トキシンB(<i>tcdB</i>)
ジーンキューブ®HQ SARS-CoV-2	SARS-CoV-2
ジーンキューブ®FluA/B	インフルエンザA型/B型

薬は咽頭ぬぐい液（鼻咽頭ぬぐい）や喀痰中の *M. pneumoniae* を、ジーンキューブ®百日咳（近日発売予定）は、*B. pertussis*, *B. parapertussis* を検出対象とする試薬である。

採取されたスワブ検体から簡単な前処理（約1分）の後、GENECUBE®で測定を実施し、約35分で結果が得られる。検体採取から結果報告まで約1時間での報告が可能であり、培養等が困難である本菌の迅速検出に貢献できるものと思われる。ジーンキューブ®・マイコプラズマ・ニューモニエ試薬は、*M. pneumoniae* マクロライド耐性機序とされる、リボソーム50Sサブユニット中の23S rRNA 配列の点変異の部分（23S rRNA ドメインV）の領域を標的部位にしており、該当領域の変異を確認することができる。また、ジーンキューブ®百日咳は、百日咳菌とパラ百日咳菌を区別できる試薬設計となっている。

2) MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 検出試薬

ジーンキューブ®MRSA（近日発売予定）は *Staphylococcus aureus* に特異的な *nuc* 遺伝子（thermostable nuclease）と、主なメチシリン耐性遺伝子である *mecA* 遺伝子の検出を行う。対象は、血液培養陽性となった培養液および、陽性となった血液培養液由来のコロニーである。検体を試料溶解液で希釈・懸濁した試料を測定し、血液培養陽性試料から約1時間で結果が判明する。*nuc* 遺伝子と *mecA* 遺伝子の測定結果の組み合わせで、本遺伝子によるMRSA、MSSA (Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*)、MR-CNS (Coagulase Negative *Staphylococcus*)、MS-CNSの存在を確認できる。そのため、培養陽性後、グラム染色結果とほぼ同じタイミング

で結果報告し、適正な抗菌薬を用いた治療へ活用できる。

3) クロストリジオイデス・ディフィシル毒素遺伝子検出試薬

ジーンキューブ®C. difficile は、*Clostridioides difficile* の毒素遺伝子 (*tcdB*) を標的遺伝子にしている。*Clostridium difficile* 感染症 (CDI) は院内感染管理において感染対策と適切な治療が重要であり、2017年7月に日本臨床微生物学会より、検査アルゴリズムについて発表されている⁴⁾。PCR阻害物質に対し強い耐性を持つ、専用のKOD® DNA polymeraseを用いて、患者便検体を簡便な前処理（約5分）を実施したのち、機器測定を実施し、約30分で結果が得られる。

4. 終わりに

遺伝子検査機器は、これまで多くの装置が開発・販売されている。従来に比べて短時間報告ができる機種も増加している。これら遺伝子検査の特性を理解して、各検査室に合った運用をしていくことが必要であると思われる。臨床検査分野においては、これまでの検査を補い、診断・治療へさらなる貢献をしていく方法として、益々拡大していくことが期待されている。

文献

- 1) Kiyasu Y, Akashi Y, Sugiyama A et al. A Prospective Evaluation of the Analytical Performance of GENECUBE® HQ SARS-CoV-2 and GENECUBE® FLU A/B". *Molecular Diagnosis & Therapy* 2021;25(4):495-504.
- 2) 川嶋洋介, 全自動遺伝子解析装置「GENECUBE」を用いた遺伝子解析法. *臨床病理* 2018;66:529-

- 535.
- 3) Kitabayashi M, Nishiya Y, Esaka M et al. Gene cloning and polymerase chain reaction with proliferating cell nuclear antigen from *Thermococcus kodakaraensis* KOD1. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2002;66:2194-2200.
- 4) 公益社団法人日本化学療法学会・一般社団法人日本感染症学会編, Clostridioides (*Clostridium*) *difficile* 感染症診療ガイドライン, 日本化学療法学会雑誌 2020;68:1-107.

糞便検査における多項目同時測定を実現した 小型の分析装置『OCセンサーCeres®』

"OC-SENSOR Ceres®", a compact analyzer for fecal test,
realization of a simultaneous measurement with multiple parameters

阿久津 敏

『OC センサーCeres®』は、糞便検査における多項目同時測定を実現した小型の移動式ディスクリット方式臨床化学自動分析装置であるとともに、便潜血測定装置でもある。装置外観をFig. 1に示す。

栄研化学株式会社は、1987年に便潜血検査関連製品を発売してから、およそ30年間、多くのお客様に当社製品をご愛顧いただき、便潜血検査の分野において高いシェアを有している。しかし、近年、ヘモグロビン（以下、Hb）だけでなく、新たな糞便中のバイオマーカーがにわかに注目を浴びるようになり、糞便検査における多項目同時測定が求められる時期にきていると考え、今回、この『OCセンサーCeres®』を開発、発売するに至った。

「Ceres（ケレス）」という名称は、太陽系の準惑星およびローマ神話の大地の女神を由来としている。コンパクトで小回りが利くという利点を有していること、そして3代目の小型便潜血測定装置として長年蓄積されたノウハウを反映して、大地に根を下ろした落ち着いた風格を有するということをイメージして命名したものである。

装置構成としては、前面に、測定者に応じて画面の垂直角度を調整することができるコントロールパネルがあり、その右側に10検体ラックを2本架設可能なラック架設部がある。測定時、架設したラックが装置内部に移動し、従来機種と同様、採便容器が穿刺、スクイズアップされてサンプリングが行われる。装置内部には、左奥に

反応テーブル、その手前に試薬保冷庫があり、装置上部にはプリンターと洗浄ボトル等の架設部がある。

本装置の主な特徴をFig. 2に示す。

一点目は、省スペース化の実現、すなわち軽量・小型の便潜血測定装置であるという点である。幅36cm、奥行き57cmと、ほぼ新聞紙1ページ分のスペースに設置することができる省スペース設計となっている。

二点目は、多項目同時測定の実現である。ランダムアクセス機能による最大3項目の同時測定が可能であり、現在、唾液中および糞便中Hb、糞便中トランスフェリン、糞便中カルプロテクチン（以下FC）を測定するそれぞれの試薬を発売している。なお、FC測定試薬は、2020年9月にラテックス凝集比濁（LA）法で診療報酬点数を取得した比較的新しい測定試薬である。この項目は、近年、増加傾向にある炎症性腸疾患の診断補助および潰瘍性大腸炎の病態把握の補助を目的として測定され、受診者の内視鏡検査による負担の軽減、疾患に対する治療への寄与が期待されている。

三点目は、自動化による操作性の向上である。試薬等は、試薬保冷庫に架設するだけでバーコード情報が自動



Fig. 1 装置外観

Satoshi Akutsu

栄研化学株式会社 マーケティング推進室

マーケティング一部

〒110-8408 東京都台東区台東4-19-9 山口ビル7

TEL : 03-5846-3281 FAX : 03-5846-3291

E-mail : satoshi_akutsu@eiken.co.jp

- 省スペース化の実現
 - ・ 軽量・小型の便潜血測定装置
- 多項目同時測定を実現
 - ・ ランダムアクセス機能による最大3項目同時測定が可能
- 自動化による操作性の向上
 - ・ バーコードによる試薬情報の管理機能
 - ・ 全自動希釈再検機能
- ユーザビリティの強化
 - ・ 8.4インチ液晶タッチパネルによる操作性向上
 - ・ 試薬情報等をリアルタイムで確認可能

Fig. 2 主な特徴



- A) OC-カルプロテクチン‘栄研’
- B) カルプロテクチンキャリプレート‘栄研’
- C) QC-カルプロテクチン-L‘栄研’
QC-カルプロテクチン-H‘栄研’

Fig. 3 試薬, キャリプレート, コントロールの一例

Table 1 基本仕様

項目	仕様
基本的な動作原理	ラテックス凝集反応時の透過光の変化量を検出し、検体中の目的物質を測定
処理能力	最大90テスト/時間(40秒サイクル)
検体架設	20検体: 10本掛専用ラック2本(専用採便容器、サンプルカップ共用)
再検	自動再検機能、希釈再検機能 希釈倍率: 1倍、10倍、20倍、100倍、200倍、400倍
測定セル	ディスプレイザブル11連プラスチック成形セル(5個架設)
試薬架設	試薬保冷庫に試薬3セット(R1、R2)、検体希釈液2本架設可能(各20 mLボトル)
検量線方式	液状多点キャリプレート(6点検量線)
検体分注	ノンディスプレイザブル検体サンプリング方式(ノズル洗浄機能付き)
試薬分注	ノンディスプレイザブル試薬サンプリング方式(ノズル洗浄機能付き)
攪拌	ミキサー回転方式(洗浄機能付き)
保冷システム	試薬架設部(24時間制御)ペルチエ保冷システム
保温システム	反応テーブル シリコンラバーヒーター保温方式
光源	発光ダイオード(波長660 nm)
検出器	フォトダイオード
入力	カラー液晶(8.4インチ)、タッチパネル日本語対話方式
データメモリー	検体: 5,000テスト、コントロール: 1,000テスト
出力	本体内蔵: サーマルプリンター、外部出力: RS-232C、USB、Ethernet
バーコード	ラックバーコード・検体バーコード読取り、試薬バーコード読取り、ハンディバーコードリーダー(オプション)
寸法	W: 約360 mm x D: 約625 mm x H: 約545 mm
重量	約43 kg
使用環境条件	温度: 15~30 °C(分析中は±2 °C以内の変動)、湿度: 20~80 % (結露がないこと)
適合規格・法令	医薬品医療機器等法
製造販売届出番号	13B1X90003010015

※ Ethernet は富士ゼロックス株式会社の登録商標です

的に読み取られ、ロット番号、使用期限、残量等の管理を行うことができる。ハンディバーコードリーダー(オプション)を用いれば、キャリブレーターやコントロールのケースに表示している情報バーコードを読み込むことで、使用期限やロット番号等の情報を登録、管理することも可能である。

また、希釈再検の条件を事前に設定することで、測定結果に応じた希釈再検を自動で行うことが可能である。一方、希釈再検に伴いディスプレイを消費すること、希釈再検が終了するまでラックを取り出せないこと等から、測定後、あらためて条件を設定して、希釈再検を行うことも可能としている。

四点目は、ユーザビリティの強化である。8.4インチの液晶パネルを採用し、「MENU画面」から使用頻度の高い各画面に容易に変遷可能であり、測定状況が確認できる「分析中メイン画面」、試薬架設や検量線の有無等を確認する「試薬セット画面」、コントロール測定条件を設定する「QC測定画面」では、試薬残量等をリアルタイムに確認することもできる。また、検量線作成操作の簡略化、試薬の架設登録順での自動選択機能等も、ユーザビリティ向上を目的として、あらたに設計された。

本装置の基本仕様を Table 1 に示す。

R1, R2試薬および検体希釈液を20 mLボトルに統一し、R1, R2試薬をセットで使用することで、測定精度が向上した。また、試薬架設部を回転させ試薬を混和することで、長期架設安定性が向上している。さらに、キャリブレーター、コントロールはHbを含む全項目液状品であり、調製不要で迅速に使用することが可能である。

Fig. 3に、試薬、キャリブレーター、コントロールの一例を示す。

検体(糞便)を採取する採便容器は、既存のS採便容器を用いる。本容器は、①便懸濁液をフィルターを過すことで便残渣物の影響を軽減、②らせん状の溝を有する採便棒とスリキリ部により採便精度が向上、③オーバーキャップ構造により便のはみ出しを軽減等の特徴を有する。また、各施設の状況に応じて、1日法用・2日法用、採便シート付、バーコード付等、様々な剤型が揃っている。

さらに、当社では、一年に一回、外部精度管理調査「EQCS-Net®」を実施しており、例年800施設以上が参加されている。今後も、より多くの施設の参加が期待される。

『OCセンサーCeres®』は、従来機種の優れた性能を継承し、さらに進化した、使いやすさと高機能を有した新しい小型便潜血測定装置^{1),2)}であり、今後、消化管疾患の検査に大いに活用いただけるものと考えている。

文 献

- 1) 岩井 美樹, 堀田 真希, 前田 育宏ほか. 便潜血検査で用いる新しい小型の移動式ディスクリット方式臨床化学自動分析装置「OCセンサーCeres」の基本性能の検討. 機器・試薬 2021;44(3):258-264.
- 2) 土屋 蘭菜, 武田 孝太, 林 信子ほか. 免疫学的便潜血測定装置の性能評価の検討. 機器・試薬 2021;44(3):265-270.

IoT機能を活用した血液ガス分析装置のカスタマーリンクシステム

Customer link system for blood gas analyzers utilizing IoT functions

星島 康

要旨 血液ガス分析は緊急を要する病態解析の主要な検査となっているため24時間365日測定可能な状態を維持されている必要がある。近年IoT が様々な産業分野へ浸透し、臨床検査分野においてもIoTの活用に伴う種々の視点からの革新が進んでいる。本稿では㈱テクノメディカが長年培ってきたセンサー技術とIoT技術を駆使し、新しいカスタマーリンクシステムを搭載した血液ガス分析装置GASTAT-700Modelについて、その活用事例を紹介する。

Key words 血液ガス分析, IoT機能, 装置管理メンテナンス

1. はじめに

内閣府からのSociety 5.0においてもIoT技術、イノベーション技術、AI技術、ロボット技術による新たな社会が提唱されている。今回提案するIoT機能については、これまでの社会では知識・情報の共有、連携が不十分であったものに対して、IoTで全てのヒトとモノがつながり新たな価値が生まれる社会が望まれている。これは医療分野においても同様の流れとなっている。

血液ガス分析は呼吸機能、酸塩基平衡異常を評価するための検査項目であり、緊急を要する病態解析の主要な検査となっている。そのため血液ガス分析装置は24時間365日測定可能な状態を維持されている必要がある。その一方で血液ガス分析装置は臨床検査室のみならずICUや手術室、緊急検査室等、各所に複数台設置されることもあり、専門の臨床検査技師以外でも装置管理や測定が行われる。複数台の装置は院内の回線を通して装置状態や測定データを一元管理している例もあるが、これは専用のPC上（設置場所）のみでの確認となるため、

弊社コールセンター（サービス員）が装置状況を直接把握することはできない課題がある。

2. IoT機能によるカスタマーリンクシステム

血液ガス分析装置GASTAT-700Modelに搭載したIoT技術に基づく新しいカスタマーリンクシステムは、コールセンター（サービス員）と装置本体およびお客様（装置管理者）がファイルサーバを介して結び付けられており、双方向でコミュニケーションを取りながら装置の安定稼働を維持するシステムである。装置本体からの情報はクラウド上にアップされ、そのアップされたデータをお客様やコールセンター（サービス員）が携帯端末等で確認することが出来る（セキュリティ対策の面からも直接装置との接続は行わない方式を採用している）。装置本体は消耗品の交換時期の他に測定センサーの感度を随時経時的にチェックし、突然エラー状態になり測定不能となる前にアラートを表示する機能を有している。装置内にあらかじめ設定された判定値に達すると、装置側からその情報が登録された電子メールアドレスに報知され、エラー状態で測定不能な状態となる前に適切なメンテナンス、保守を行うためのツールとなり得る。また、定期メンテナンスを実施する際にも事前に装置状態を確認しておくことで適正なメンテナンスを実施するための情報を得ることができる。更に同様の装置情報をコールセンター（サービス員）も把握できるため、装置がエラー状態となる前に適切なメンテナンスを実施することも可能となり、突発的なエラーで緊急対応が必要な時でも装置情報を共有し、適切な指示や対応を実施することができる。コールセンター（サービス員）とお客様で情報を

Yasushi HOSHIJIMA

株式会社テクノメディカ 研究開発本部

TechnoMedica Co.,Ltd. R&D Headquarters

〒224-0041 横浜市都筑区仲町台5-5-1

5-5-1 Nakamachidai, Tuzuki-ku, Yokohama. 224-0041,

Japan

TEL : 045-948-1961

E-mail : sales@technomedica.co.jp

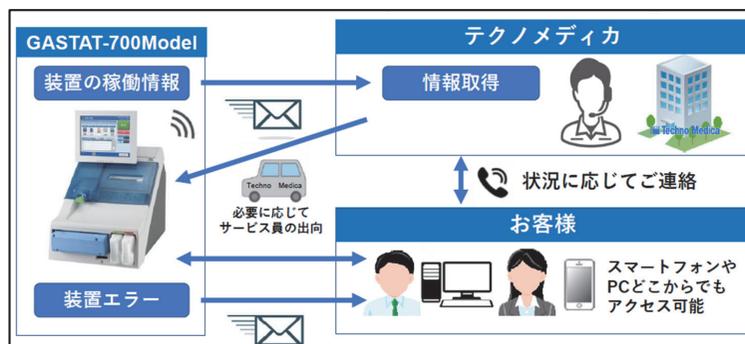


Fig. 1 Basic operation of IoT technology

共有しているので、お客様に対して状況に応じて電話などで連絡を取り一次対応を依頼することができます。それでも改善されない場合は必要に応じてサービス員の出向を手配する仕組みとなっている (Fig. 1)。

本機能を活用することによって得られた実例を以下に示す。

- ① アラート履歴、キャリブレーション履歴、消耗品の交換履歴からトラブルを未然に防ぐことができる。
 - ・電解質項目のキャリブレーションのリトライ動作が開始、確認するとRef電極が推奨の交換期限を大幅に経過していたためRef電極交換をお客様にお願いして復旧した。
 - ・Hb項目のキャリブレーションエラーが数日に1回ほど出始めて、Hb用測定セルの洗浄を実施してもらい復旧した。
 - ・遠方の施設やコロナ禍で接触を避ける施設でも装置状態が確認できた。
- ② お客様に対応を依頼して復旧しているか状況確認ができる。
 - ・Ref電極交換後からキャリブレーションがとれない状況においてIoT機能で電極電位を確認すると振り切れている状況であった。電極を振って再装着することで改善されたことを確認できた。
- ③ 突発的な装置トラブルでオンコールが入ったが装置状態を確認してトラブル状況や原因まで把握できる。
 - ・トラブルシューティングに必要な装置データや消耗品の交換状況を事前に確認することができ早期の復旧(ダウンタイム短縮)が可能であった。
- ④ 施設を訪問した後(夜間や翌朝)に問題なく稼働しているか確認できる。
 - ・翌日に再訪問することなく装置状態を確認できた。

⑤ 発生頻度が極稀な現象でも監視ができる。

- ・定期訪問の事前に装置状態を確認できるので、適切な作業を効率的に実施できた。

3. IoT機能による精度管理カスタマーサービス

装置の内部精度管理としてQC試料を測定した結果を測定センサーの感度情報や液センサーの情報と合わせて定期的に診断、報告書を提出するカスタマーサービスを実施している。これまでは、まとまった測定データの提出に基づく月1回の報告実施であったが、IoT機能を使用することでリアルタイムの装置状態の把握、内部質管理データや各センサーの情報も確認できるため、単日ではなく月ごとのデータ推移も確認可能となった。今後はこれらの情報も含めたサービスを計画している。

4. まとめ

(株)テクノメディカ血液ガス分析装置GASTAT-700Modelに搭載したIoT技術に基づく新しいカスタマーリンクシステムは、弊社コールセンターと装置本体およびお客様(装置管理者)がファイルサーバを介して結び付けられているシステムを構築した。本システムは装置情報をコールセンター(サービス員)も把握できるため、装置がエラー状態となる前に適切なメンテナンスを実施依頼、結果を確認することが可能となった。また突発的なエラーで緊急対応が必要な時でも装置情報を共有し、適切な指示や対応を実施することが可能となった。

今後はIoT機能を展開して検査データの共有や結果に基づくAI解析を組み合わせることで地域格差のない医療の提供の手段として期待される。

ISO/IEC 17043認定の外部精度保証サービス 「バイオ・ラッドEQASプログラム」の紹介

Introduction of Bio-Rad EQAS PROGRAM, a proficiency testing
which is accredited in accordance with the recognized ISO/IEC 17043: 2010

植村 康浩

要旨 「バイオ・ラッドEQASプログラム」は、1年間を1サイクルとして参加するISO/IEC 17043（技能試験に対する一般要求事項）に認定されたバイオ・ラッド ラボラトリーズ（以下、バイオ・ラッド）が提供する外部精度保証サービスで、参加者は1サイクルに12本（輸血検査は9本）のブラインド試料を測定し、インターネット経由で結果を提出する。結果提出の締め切り後、速やかに是正改善に役立つレポートが提供される。バイオ・ラッドEQASプログラムは、臨床化学、血中薬物、感染症、輸血検査など17プログラム、200項目以上の技能試験が準備されている。

Key words 技能試験, 検査室間比較, ISO/IEC 17043, ISO 15189

1. はじめに

検査室にとって技能試験（外部精度管理調査）は、検査データの正確性の確認は元より、検査結果の品質を確保する上で重要なツールとして、国内のみならず世界中で受け入れられている。また、日々の内部精度管理と、定期的な技能試験への参加は、検査結果の精度及び品質を確保するための手段として積極的な活用が求められている。

技能試験のサンプルは、日常検査の品質管理という観点から、検査前後のプロセスを含めて可能な限り患者サンプルと同様に取り扱い、実務に準じた手順で検査を行う。検査室は、結果提出後に届く報告書を確認し、結果が評価基準を逸脱している場合は、速やかに是正措置に取り掛かり原因を究明し問題を解決する必要がある。

2. ISO/IEC 17043(技能試験に対する一般要求事項)

技能試験とは、検査室（試験所）間比較を行い、参加した複数の検査室の結果から、事前に定めた評価基準に従い結果を判定するものである¹⁾。検査室は、他の検査室と結果を比較することで、自施設のパフォーマンスを監視し、必要に応じて是正や見直しをしなければならない。ISO/IEC 17043は、技能試験プログラムを提供する組織に対する要求事項で、技能試験プログラムの開発、運用、検査室間比較を実施する能力を備え、かつ、特定の種類の技能試験項目に関する専門知識を有する組織が認定される²⁾。日本適合性認定協会は、ISO 15189の技能試験に関する要求事項に「臨床検査室間比較はISO/IEC 17043に基本的に一致する」という基準を示している³⁾。バイオ・ラッドEQASプログラムは、A2LA（米国試験所認定協会）よりISO/IEC 17043の認定を受けたバイオ・ラッドが提供する外部精度保証サービスである。

3. バイオ・ラッドEQASプログラム概要

「バイオ・ラッドEQASプログラム」（以下、EQAS）は、1年間を1サイクルとして参加するISO/IEC 17043（技能試験に対する一般要求事項）認定の世界的な外部精度保証サービスで、臨床化学、血中薬物、感染症、輸血検査など17プログラム、200項目以上の技能試験が準備されている（Table 1）。EQASでは、1サイクルで12

Yasuhiro UEMURA

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

診断薬マーケティング部

CDG Marketing, Bio-Rad Laboratories K.K.

〒140-0002 東京都品川区東品川2-2-24

天王洲セントラルタワー20F

Tennoz Central Tower 20F, 2-2-24 Higashi-Shinagawa,
Shinagawa-Ku, Tokyo, 140-0002

Table 1 バイオ・ラッドEQASプログラム

検査区分	プログラム名
1. 一般検査項目	尿検査
2. 血液学的検査	血液検査 凝固検査
3. 生化学的検査 I, II	臨床化学 尿化学 脂質検査 血液ガス ヘモグロビンA1c 循環器疾患マーカー イムノアッセイ 腫瘍マーカー
4. 免疫学的検査	血清蛋白 輸血検査 HIV/肝炎マーカー Syphilis/シャーガス ToRCH/EBV/MuMZ
5. 薬物	TDM

本のサンプル（輸血検査では9本）が提供される。サンプルは、使用する測定機器や試薬の指示に従って患者検体と同様に、毎月1本ずつ（輸血検査では4ヶ月おきに3本ずつ）測定する。測定結果は、精度管理用コントロールポータルサイトQCNetの「EQAS Online & レポート」（Fig. 1）より提出する。結果提出の締め切り後、是正改善に役立つレポートが速やかに提供される。また、1サイクル終了後には、エンドオブサイクルレポートと成績証明書が発行される。

4. EQASプログラム参加フロー

EQAS参加フローを Fig. 2 に示す。

- ① EQASは、参加者が希望するプログラムの商品を注文するところからスタートする。
- ② 注文情報が入ると初期セットアップのためにEQASプログラム係が参加者に連絡を取り「EQAS登録申込フォーム」をEメールで送信する。参加者は内容を確認の上、参加者及び装置・試薬情報を入力して返信する。なお、装置・試薬に変更があった場合、参加者自身でも編集は可能である。
- ③ 初期セットアップ完了の連絡が参加者に届いたら、EQAS Online & レポート（以下、EQAS Online）

より装置・試薬の情報に間違いがないか確認する。なお、初期セットアップは、EQASに装置・試薬の登録がある場合は数日、登録がない場合は2~4週間ほどの時間を要する。

- ④ 商品が届いたらサイクルの終了まで適切な温度で保管する。なお、該当プログラムの商品は新しいサイクルがスタートするタイミングでリリースされる。サイクルの途中からでも商品の在庫があれば購入、参加は可能である。
- ⑤ 結果提出の締め切り日までに、使用する測定機器や試薬の指示に従って患者検体と同様に試料を測定する。
- ⑥ 測定結果は、締め切り日までにEQAS OnlineのData Entryより入力する（Fig. 3）。締め切り前であれば修正は何回でも可能である。
- ⑦ レポートは、結果入力が締め切られてから3日後に発行される。
- ⑧ EQAS OnlineのReportsよりレポートを閲覧及びダウンロードして結果を確認する。参加者は、検査室間比較の結果を確認して、必要に応じて是正措置を計画、実行し、その内容を記録する。

参加者は、サイクルの終了まで⑤~⑧のプロセスを繰り返し行う。

5. EQASプログラムの評価方法

EQASの評価方法は、検査項目ごとに、A. ピアグループ（同一の装置及び試薬）、B. 測定方法（同一の測定原理）、C. すべての結果のそれぞれの集団で統計量が示され、その結果から自己評価を行う。輸血検査は正解と比較を行う。なお、評価に必要な参加者数（N）は9以上である。

1) 定量検査の場合

上記A. B. C.の各集団におけるZスコア（（検査室の結果—集団の平均値）／集団の標準偏差）が算出される。参加者は提出結果のZスコアを確認して自己評価を行う。Zスコアが2.0未満の場合は許容と判断できる。2.0以上の場合には許容限界を超えていると判断して是正措置の計画を考慮する。（Table 2）

2) 定性検査の場合

上記A. B. C.の各集団におけるコンセンサス（80%以上の同一の回答）が計算される。参加者は提出結果がコンセンサスの内か外にあるか確認して自己評価を行う。輸血検査は正解（Reference）と比較して自己評価を行う。コンセンサスは最も多い回答結果から計算される（Fig. 4）。80%に満たない場合は隣接する回答を含めて再度



EQAS Online & レポートは、QCNet (www.qcnet.com/jp) よりアクセスする。

Fig. 1 「EQAS Online & レポート画面」アクセス画面

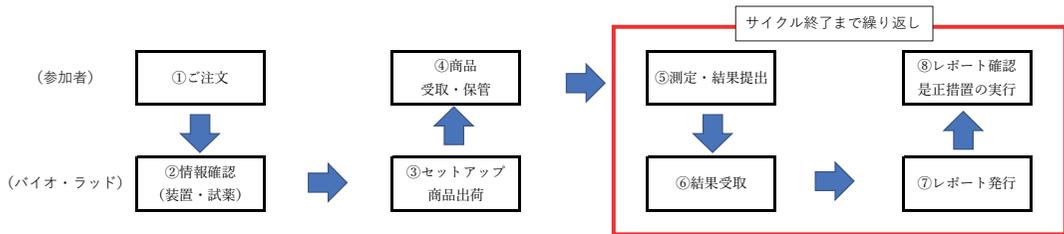
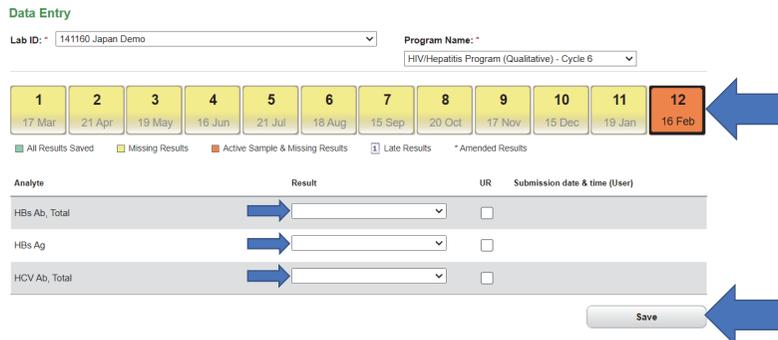


Fig. 2 バイオ・ラッドEQASプログラム参加フロー



図上段の1~12はサンプル試料の番号を、番号の下の日付は締め切り日を示す。

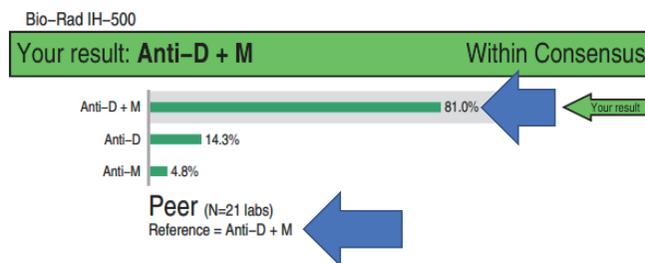
図中段、中央のResultに結果を入力する。

結果の入力が完了したら、図下段、右下のSaveをクリックする。

Fig. 3 結果入力画面 (例) HIV/肝炎マーカープログラム 測定項目: HBs抗体, HBs抗原, HCV抗体

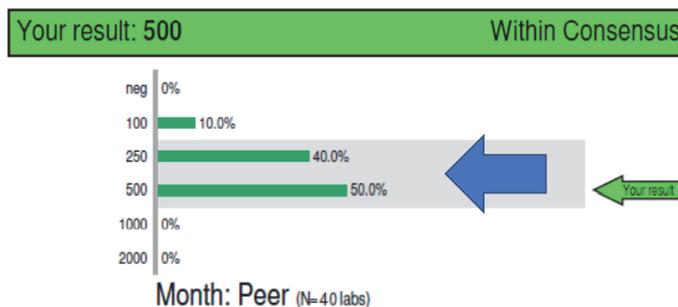
Table 2 バイオ・ラッドEQASプログラム評価方法 Zスコア

Zスコア	解釈
0	集団と完全な一致
≤ 1.25	許容範囲内
1.25 – 1.49	許容範囲～許容限界 ※測定システムの調査が必要な場合あり
1.50– 1.99	許容限界内 ※測定システムの調査を推奨
≥ 2.0	許容限界外 ※是正措置が必要



参加ラボ (N=21) の81.0%がAnti D+ Mを選択 (正解=Referenceは、Anti D+M)
「Your result」は、参加施設が報告した結果を示す。

Fig. 4 定性サンプルレポート (例) 輸血検査プログラム 不規則抗体同定検査



N=40の50.0%が500、40.0%が250を選択。合計90.0%でコンセンサス形成
Your result (緑の矢印) は、参加施設が報告した値を示す。

Fig. 5 定性サンプルレポート (例) 尿検査プログラム 尿糖

Table 3 バイオ・ラッドEQASプログラム レポートの種類

レポート	適用	説明
サンプルレポート	定量/定性	検査室のパフォーマンスに関する簡潔なレポート
エンド・オブ・サイクルレポート	定量	サイクル終了時に検査室間のバイアスの観点から総合的な評価をするためのレポート
品質仕様レポート	定量	検査室が選択した品質仕様（生物学的変動等）に基づいた評価をするためのレポート
品質仕様サブグループレポート	定量	科学的または規制による品質仕様に基づいたグループの検査室のパフォーマンスを確認するためのレポート
測定方法サマリーレポート	定量	測定方法のパフォーマンスを確認するためのレポート
サブグループレポート	定量/定性	あらかじめ設定したグループ内の個々の検査室のパフォーマンスが確認できるエクセルベースのレポート

Table 4 成績証明書及び合格証明書の発行条件（1サイクルあたり）

適用	条件
定量	Zスコア3.0以内のデータが9回以上
定性	コンセンサス内のデータが9回以上
輸血検査	コンセンサス内のデータが6回以上



Fig. 6 成績証明書

計算し、80%以上に達するまで繰り返し計算される。コンセンサスが成立するとヒストグラムの背景がグレーで表示される (Fig. 5)。80%に満たない場合は、ノーコンセンサスとなる。

6. EQASレポート及び証明書

EQASでは、主に、サンプル試料ごとに発行されるサンプルレポートとサイクルの最終サンプルを提出した後に発行されるエンド・オブ・サイクル レポートの2種類がある。それぞれのレポートは、結果提出の締め切り後、前者は3日後、後者はおよそ2週間後に発行される。

サンプルレポートはあらかじめ測定登録した項目ごとに発行されるため、参加者及びプログラムによってはレポートのページ数が膨大になるが、カバーシート（表紙）に結果概要が表示されるため、参加者は是正の要不要を簡単に把握できる。カバーシートに警告表示があった場合、サンプルレポート中のサンプルサマリーレポートを確認すると装置別及び項目ごとに検査室間比較の結果が一覧表示されており、逸脱があった項目及び結果が確認できる。その他にも利用可能なレポートが準備されている (Table 3)。

EQASでは、主に、3種類の証明書が発行される。新しいサイクルに登録すると検査室間比較プログラムに参加予定であることを証明する「登録証明書」が発行される。証明書は、サイクルの1番目の試料の結果締め切り後に発行されるサンプルレポートに掲載される。またサイクル終了後には、一定の条件をクリアした参加者に発行される「成績証明書」(Fig. 6)と「合格証明書」の2種類がある。いずれもサイクル終了後に発行されるエンド・オブ・サイクル レポートに掲載される (Table 4)。

7. おわりに

国内の技能試験は、日本医師会、日本臨床検査技師会、それぞれの都道府県支部主催の外部精度管理調査が一般的であるが、これらに含まれない項目はCAPサーベイ (College of American Pathologists : 米国病理学会) や

代替アプローチ(メーカーサーベイ、クロスチェック等)でカバーしているのが現状である。

今回紹介したバイオ・ラッドEQASプログラムは、200項目以上をカバーするISO/IEC 17043認定の技能試験であることから、ISO 15189認定検査室だけでなく、毎月参加できる技能試験として、すべての臨床検査室に有用な外部精度保証サービスである。

文 献 (公益財団法人日本適合性協会より)

- 1) JIS Q 17025, 試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項
- 2) JIS Q 17043, 適合性評価—技能試験に対する一般要求事項
- 3) JAB RM300-2010, 認定の基準についての指針 – 臨床検査室 –

「IH-Central」- 24時間安心・安全な輸血検査体制の構築に貢献

”IH-Central” - To establish management system for 24-hour safe and secure transfusion -

湯浅隼人

1. はじめに

近年、輸血検査におけるヒューマンエラー回避とリスクマネジメントの向上、輸血関連業務の拡大に伴う輸血検査業務の効率化等を目的に自動輸血検査機器が普及しています。また、輸血業務を管理するための部門システムの導入が進み、自動輸血検査機器等の検査データをオンライン連携して正確かつ効率的に活用し、輸血検査の安全性向上が図られています。日本輸血・細胞治療学会が実施した「令和元年度血液製剤使用実態調査」によると、輸血部門システム（検査システム・輸血管理システム）を導入している施設は、4587施設中1,729施設（37.69%）となっており、病床数300床以上規模では97.42%の施設において輸血部門システムが使用されています。さらに、「JAHIS医療情報システムの患者安全ガイド（輸血編）Ver.2.0」や「日本赤十字社血液製剤発注システム」の新Versionがリリースされる等、デジタル化による輸血業務の更なる安全性向上、効率化が推進されています。

2. IH-Central

「IH-Central」とは、輸血業務に関わるデータの電子化・集約管理を実現し、輸血検査の安全性向上および輸血業務の効率化に貢献するための弊社ソフトウェア製品群の

総称であり、

- ・輸血管理システム「バイオ・ラッド輸血管理システムⅢ」（以下BRBTSⅢ）」
- ・データ管理制御システム「IH-Com」（以下IH-Com）」
- ・測定結果リモート参照システム「IH-Web」（以下IH-Web）」
- ・リモートメンテナンスシステム「BRiCare」（以下BRiCare）」

で構成されます。

3. 輸血業務の安全性向上・効率化への支援

BRBTSⅢは、見やすい画面デザインと簡便操作が特長で、日当直者や不慣れな方が安心して使用できるように設計されています。また、「JAHIS医療情報システムの患者安全ガイド（輸血編）Ver.2.0」に準拠し、不規則抗体・同定検査の特異性推定・同定の業務効率化をサポートする機能（抗体同定支援システム）、ISO15189取得支援としてバイオ・ラッドの輸血検査装置で測定した精度管理の結果や試薬情報の管理機能、血液製剤用保冷庫の温度管理機能等を搭載しており、輸血業務に関わるデータの電子化（ペーパーレス化）および輸血業務の更なる効率化を支援します（Fig. 1）。

IH-Comは、バイオ・ラッドの輸血検査装置を最大4台まで集約管理可能で上位システムとのオンライン、結果の前回値チェック、自動承認、データ送信、反応像の保存を行うと共に、精度管理用試薬IH-QCキット、赤血球試薬の保冷機能（24時間7日間のオンボードマネジメント）のモニタリングにより、輸血検査の精度保証と品質確保に寄与します（Fig. 2）。

また、安全性の高いVPN（Virtual Private Network）環境を活用したりリモート支援システム「IH-Web」、 「BRiCare」を使用することで、輸血検査に不慣れな日当直者への院外からの輸血業務専任者による検査結果の

Hayato YUASA

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
マーケティング本部 診断薬マーケティング部
〒140-0002 東京都品川区東品川2-2-24
天王洲セントラルタワー20階
TEL：03-6361-7070
E-mail：hayato_yuasa@bio-rad.com

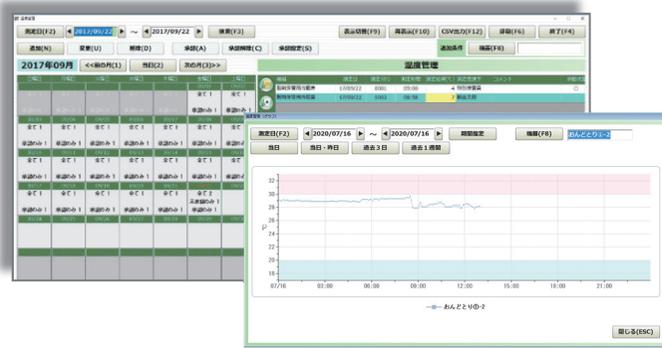


Fig. 1 BRBTS III 血液製剤用保冷库温度管理機能画面イメージ

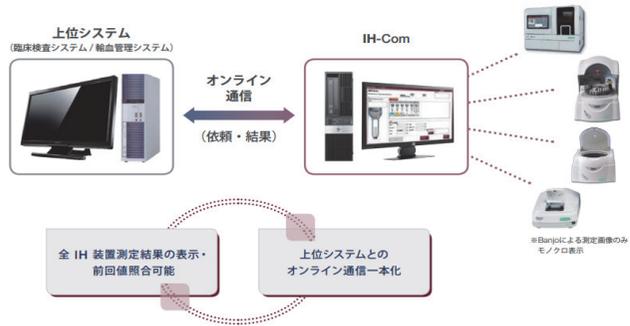


Fig. 2 IH-Com接続イメージ

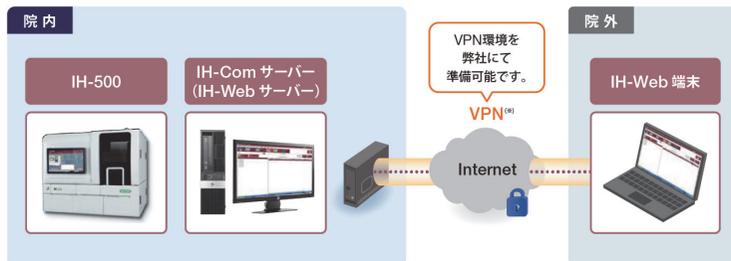


Fig. 3 IH-Web接続イメージ

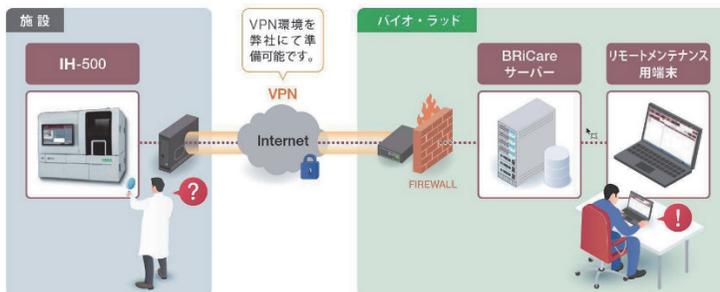


Fig. 4 BIRiCare接続イメージ

確認・判定の遠隔サポート (IH-Web), 装置トラブル時の弊社テクニカルサービスによる遠隔サポート (BIRiCare) を可能にし, コロナ禍においても迅速な結果報告, ダウンタイムの削減により, 24時間安全・安

心な輸血検査の維持を支援します (Fig. 3, 4)。

IH-Centralはご施設の輸血業務のデジタル化推進, および, 更なる安全性向上・効率化を支援し, 24時間安全・安心な輸血検査体制の構築に貢献します。

一般社団法人日本医療検査科学会
2021年度 第7回理事会 議事録

- 開催日時： 2022年1月9日（日）13時00分～15時00分
 開催場所： 金沢大学大学院（石川県金沢市宝町）
 出席者： 和田隆志理事長、萩原三千男理事、大川龍之介理事、萱場広之理事、
 谷直人理事、末岡榮三朗理事、清宮正徳理事、高橋聡理事
 中山智祥理事、日高洋理事、藤巻慎一理事、村上正巳理事、
 柳原克紀監事
 出席方法： 理事長を除き、web会議システムを利用して参加した。なお、出席役員
 全員について、本総会の開催中に回線切断、音声不良等の不具合はな
 かった。
 欠席者： 内海健監事
 議長： 和田隆志理事長
 議事録作成者： 佐久間良太

議 題

1. 理事長挨拶
 和田理事長より、ご参集頂いたことへの謝辞があった。
2. 報告事項
 - 2-1. 総務職務報告（萩原副理事長）（資料1-2）
 事務局事務員諸手当について、資料に基づき報告があった。
 - 2-2. 地域担当理事からの報告（各理事）
 - 1) 北海道・東北地区
 評議員の推薦の検討および本会への入会を勧めていると報告があった。
 - 2) 関東地区
 企業の方へ個人会員の入会を勧め、評議員としてご尽力頂ける様にしたいと報
 告があった。
 - 3) 東海・北陸地区
 本会への入会を勧めていき活動を活発化させたいとの報告があった。
 - 4) 近畿地区
 評議員の推薦を行い、審議をいただく予定であるとの報告があった。
 - 5) 中国・四国地区
 評議員の推薦をした。
 - 6) 九州地区
 九州地方会合同総会および第36回春季セミナー開催の準備を進めているとの
 報告があった。

2-3. メール審議報告(石川)(資料3)

「日本臨床検査標準協議会への年会費支払いについて」「認定 POC コーディネーター試験合格者について」のメール審議を行い、審議の結果承認されたと報告があった。

2-4. 九州地方会合同総会について(末岡理事)(資料4-5)

九州地方会合同総会について、資料に基づき報告があり内容を確認した。

2-5. 第36回春季セミナーについて(末岡理事)(資料6)

第36回春季セミナーについて、資料に基づき説明があり内容を確認した。現状ではハイブリッド開催を予定しているとの報告があった。

2-6. 強制退会者報告(佐久間)(資料7)

資料に基づき説明があり、2019年度より年会費未納者を対象に退会処理を行うと報告があった。

2-7. 第53回大会オンデマンド視聴について(石川)(資料8)

第53回大会オンデマンド視聴について、資料に基づき報告があった

2-8. その他

特になし

3. 審議事項

3-1. 評議員推薦(日高理事)(資料9-14)

6名分の評議員推薦があり資料に基づき説明があった。審議の結果申請通り承認された。

3-2. 議事録確認(中山理事)(資料15-22)

各委員会の議事録内容の確認を行い、審議の結果申請通り承認された。

3-3. 学術委員会より委員異動申請(遺伝子P技術委員会)(日高理事)(資料23)

遺伝子・プロテオミクス技術委員会より委員の異動申請があった。資料に基づき説明があり、審議の結果申請通り承認された。

3-4. 学術委員会委員長について-POC技術委員会、国際交流委員会-(和田理事長)(資料24-25)

POC技術委員会および国際交流委員会より次期委員長の推薦があった。資料に基づき説明があり、審議の結果申請通り承認された。

3-5. 他学会からの開催案内について(和田理事長)(資料26)

第12回チェリー Blossam シンポジウムの開催告知の依頼があった。資料に基づき説明があり、審議の結果申請通り承認され HP に掲載する事となった。今後この様な事案に関しては理事長と副理事長にて判断をする、判断が難しい場合は理事会またはメールでの審議を行う事となった。

3-6. 学会沿革について(石川)(資料27)

学会沿革についての資料を確認した。審議の結果申請通り承認され、HP に掲載する事となった。

3-7. 会員からの要望（一般検査）について（萱場理事）

日本医療検査科学会の委員会活動や演題発表等で一般検査に関する括りが曖昧になっているとの意見があったとの報告があった。審議の結果、第54回大会にて一般検査の枠を追加し問題意識を明確にする事となった。また一般検査に関する興味関心のある方を集めWGを作成し、学会の理念に沿った形の活動内容を検討する事となった。WGの議長として清宮理事が担当する事となり、参加メンバーを推薦し1月末までにメール審議にて決定する事とした。

3-8. 第54回大会について（日高理事）（資料28-30）

第54回大会の開催概要および日程について資料に基づき説明があった。ASCPaLM（アジア臨床病理・臨床検査医学会）との同時開催を計画しており併せ準備を進めているとの報告があり、審議の結果申請通り承認された。また第17回ASCPaLMの大会長である宮地先生（東海大学）に同時開催に関する案内の掲載についての確認を取る事とした。

3-9. 編集委員推薦者と退任希望者（高橋理事）（資料31）

編集委員会の委員推薦および退任希望者について資料に基づき説明があり、審議の結果申請通り承認された。

3-10. 第37回春季セミナーの日程について（藤巻理事）

第37回春季セミナーについて、以下の日程・会場にて準備を進めていると報告があり、審議の結果申請通り承認された。

日程：2023年4月15日（土）～16日（日） 会場：仙台国際センター

3-11. その他

特になし

4. その他

- ・次回の理事会：4月16日（土）春季セミナー会場（Zoom接続あり）

以上

2022年2月18日

一般社団法人日本医療検査科学会

議長 和江 隆志 

議事録署名人 柳原克紀 
(出席監事)

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^{-15} = f (femto)

10^{-12} = p (pico)

10^{-9} = n (nano)

10^{-6} = μ (micro)

10^{-3} = m (milli)

10^{-2} = c (centi)

10^{-1} = d (deci)

10 = da (daca)

10^2 = h (hecto)

10^3 = k (kilo)

10^6 = M (mega)

10^9 = G (giga)

10^{12} = T (tera)

10^{15} = P (peta)

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. 共著者で非会員がいる場合は「臨時会員入会届」を提出済であるか
3. 同じ内容の論文を他誌に発表していないか
4. 研究倫理に関して投稿規定に沿っているか
5. 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
6. 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
7. 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年間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) _____ ⑧

(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)

(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) _____ ㊞
(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
シーメンズヘルスケア・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	861-8038	熊本県熊本市東区長嶺東8-14-30
アポットジャパン(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 KAITEKI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
セラビション・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
日本水産(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
ビオメリュー・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	三重県三重郡菟野町大強原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3-57 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4年4月30日現在)

編集後記

本号には、総説1編、原著論文1編、技術論文9編、第53回大会機器・試薬セミナー要旨5編が掲載されています。

総説は、「がんのリキッドバイオプシー」について杏林大学医学部臨床検査医学の大塚弘毅先生、大西宏明先生がご専門の立場から執筆されています。がんの早期発見、予後予測、治療法の選択、進行状況のモニタリング、治療効果の判定などの目的で臨床応用が進んでいる血中循環腫瘍DNA (circulating tumor DNA: ctDNA) を解析するリキッドバイオプシーの最近の進歩についてわかりやすく解説されています。保険適用となり、広く用いられつつあるリキッドバイオプシーについて理解を深めることができる総説をお読みください。

原著論文1編は、BNP測定試薬の基本性能およびBNP前駆体に対する交差反応性の検証に関する論文です。技術論文9編は、ラテックス免疫比濁法を原理とするTATの基本性能評価、IL-6測定の基礎的検討と臨床的意義、Time in range及び平均血糖値由来のestimated

A1c、下垂体ホルモンの基礎的検討、尿定性分析装置4機種における尿定性値の比較、プレセプシンの基本性能及び臨床評価、プロカルシトニン測定試薬の基礎的性能評価と希釈液評価、精度管理調査からみた主要8酵素における標準化の現状、BNP精度管理試料の基礎的性能評価と精度管理における臨床的有用性に関する論文となっています。いずれの論文も、詳細に検討された本誌に相応しい充実した内容となっています。

日本医療検査学会第53回大会は、2021年10月8日～10日に長崎大学の柳原克紀大会長の下バシフィコ横浜で開催されました。本号には、機器・試薬セミナーの糞便検査、感染症迅速遺伝子検査、血液ガス分析、外部精度保証プログラム、輸血管理システムに関する要旨5編が掲載されています。

本号を読者諸氏の業務ならびに研究に役立たせていただければ幸いです。

(村上正巳)

「医療検査と自動化」編集委員会

編集委員長 高橋 聡

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、大川龍之介、大久保滋夫、長田 誠、上岡樹生、萱場広之、栢森裕三、康 東天、小飼貴彦、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、外園栄作、菱沼 昭、日高 洋、藤巻慎一、前田育宏、松下 誠、松村 聡、三島清司、三橋知明、柳原克紀、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3号 (通巻第264号) 2022年6月1日発行

発行 一般社団法人 日本医療検査科学会

制作 「医療検査と自動化」編集委員会

発行人 和田隆志

〒113-0033 東京都文京区本郷2-31-2

事務所 〒113-0033 東京都文京区本郷4-2-5

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

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

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

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