

フェリチン測定試薬「イアトロ フェリチン」 改良試薬の性能評価

Performance analysis of a ferritin analysis reagent “Iatro Ferritin”.

小林 亮¹⁾, 関根かりん¹⁾, 田中真輝人^{1,2)}, 鈴木瑛真^{1,2)}, 近藤 崇¹⁾, 遠藤明美¹⁾,
高橋 聡^{1,2)}

要旨 測定範囲を拡大したラテックス凝集免疫比濁法を測定原理とする「イアトロ フェリチン」について基本的性能を評価した。

併行精度, 室内再現精度は良好な結果が得られた。希釈直線性は従来試薬を超える2,500 ng/mLまで得られた。検出限界, 定量限界は従来と同等であり, 共存物質の影響および高値検体測定時におけるプロゾン現象の見逃しも認められなかった。ECLIA法との相関性を調べた結果, 本試薬で低値傾向が認められた。本試薬は従来試薬よりも測定範囲が広く, 日常検査に有用な試薬であると考えられた。

Key words Ferritin, Iatro Ferritin, Latex agglutination turbidimetric immunoassay

1. はじめに

フェリチン (Ferritin: FER) は三価の鉄イオンがアポフェリチンと結合した, 分子量約45万の可溶性の鉄貯蔵蛋白である。FERは体内の鉄代謝において重要な役割を担っており, 血中FER濃度は全身の貯蔵鉄量を反映するとされている^{1,2)}。また, 血中FER濃度は鉄欠乏性貧血において低値となることから, 貧血の型別に用いられている。一方, 悪性腫瘍や炎症性疾患では血中濃度が上昇することが報告されており³⁾, これらの疾患における診断補助および経過観察に広く用いられている。現在, FERの測定には化学発光法を測定原理とした測定試薬や, ラテックス免疫比濁法を測定原理とした汎用自動分析装置に搭載可能な試薬など, 様々な測定試薬が用いられている⁴⁾。前者は高感度で広い測定範囲を有

するものの, 専用の機器が必要であり, 測定時間が長いという問題点がある。一方, 後者は測定時間が短く迅速性に長けるものの, 測定範囲が化学発光法と比して劣る場合がある。近年, 測定範囲を拡大したラテックス免疫比濁法を測定原理とするFER測定試薬「イアトロ フェリチン」の改良試薬が開発された。そこで, 今回我々は, その性能評価を行ったので報告する。

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血清を用いた。なお, 本研究は札幌医科大学附属病院臨床研究審査委員会の承認を得て実施した (承認番号 342-243)。

Received Jun. 3, 2024; Accepted Jul. 29, 2024

Ryo KOBAYASHI¹⁾, Karin SEKINE¹⁾, Makito TANAKA^{1,2)}, Ema SUZUKI^{1,2)}, Takashi KONDO¹⁾, Akemi ENDOH¹⁾, Satoshi TAKAHASHI^{1,2)}

¹⁾ 札幌医科大学附属病院 検査部

Division of Laboratory Medicine, Sapporo Medical University Hospital.

²⁾ 札幌医科大学医学部 感染制御・臨床検査医学講座
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
South-1, West-16, Chuo-ku, Sapporo, 060-8543, Japan.

Corresponding author: 小林 亮

TEL: 011-611-2111 (内線36430)

FAX: 011-622-8502

E-mail: r.kobayashi@sapmed.ac.jp

2) 測定試薬および機器

検討試薬にはフェリチンキット イアトロ フェリチン (PHC株式会社) を用い, 自動分析装置 LABOSPECT 008a (株式会社日立ハイテク) で測定した。対照試薬には, 電気化学発光免疫測定法 (Electro Chemiluminescent Immunoassay: ECLIA) を測定原理とする, エクルーシス試薬 フェリチン (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) およびラテックス免疫比濁法を測定原理とする FER-ラテックス RX「生研」(株式会社カインス) を用い, それぞれcobas 8000 e801 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) およびLABOSPECT 008a で測定した。

3) 評価内容

(1) 併行精度

3濃度のプール血清を20回連続測定し, 併行精度を調べた。

(2) 室内再現精度

-80℃で凍結保存した併行精度と同一の試料を, 15日間1日2回測定を行い, 室内再現精度を求めた。

(3) 希釈直線性

FER濃度が理論値2,500 ng/mLの高値試料を用い, 生理食塩水にて10段階希釈後, 各系列を3重測定し希釈直線性を検証した。

(4) 検出限界 (Limit of detection: LoD)

FER濃度10.0 ng/mLの試料を生理食塩水にて10段階希釈後, 各系列を10重測定して得られた主波長と副波長の吸光度の差を用い, 2.6SD法により検出限界を求めた。

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

6濃度の低濃度試料を5日間2重測定し, Precision profileを作成後, 変動係数 (Coefficient of variation: CV) が10%となる濃度を求め, 定量限界とした。

(6) プロゾーン現象の有無

FER濃度83,018 ng/mLの高値試料を用い, 最大256倍までの希釈系列を作成後, 各系列を測定しプロゾーン現象発生の有無を検証した。

(7) 共存物質の影響

干渉チェックAプラス, 干渉チェックRF (いずれもシスメックス株式会社) および自家調製溶血試料を用い, 抱合型ビリルビン, 遊離型ビリルビン, 乳び, リウマトイド因子 (Rheumatoid factor: RF), 溶血ヘモグロビンの影響を検証した。プール血清に5段階希釈した各共存物質を添加後, 3重測定を行い, 未添加時の測定値を100%とし, 共存物質添加による測定値の変動を調べた。

(8) 対照試薬との相関性

100件の患者血清を本試薬および対照試薬で測定し, 測定値の相関性を解析した。

(9) 結果の解析

各測定性能の解析には, 日本臨床化学会により提供され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-V61を用いた⁵⁾。

3. 成績

1) 併行精度

CVは1.1~3.1%であった (Table 1)。

2) 室内再現精度

CVは1.3~2.7%であった (Table 2)。

3) 希釈直線性

2,500 ng/mLまで直線性が認められた (Fig. 1)。

4) LoDおよびLoQ

LoDは5.0 ng/mL, LoQは7.5 ng/mLであった (Fig. 2, 3)。

5) プロゾーン現象発生の有無

理論値約20,754.5 ng/mLの4倍希釈検体測定時より, 測定値の低下が認められた。また, 理論値約5,188.6 ng/mLの16倍希釈検体測定時より, プロゾーン現象発生のデータアラームの発生を確認した (Fig. 4)。

6) 共存物質の影響

いずれの共存物質添加時においても, 未添加時の測定値より濃度依存性の変動はなく, 測定値の変動は最大でも3.3%であり, 検討範囲内において測定値への影響は認められなかった (Fig. 5)。

Table 1 Repeatability.

	Low	Medium	High
Mean (ng/mL)	26.8	138.6	587.3
SD	0.8	1.6	8.5
CV (%)	3.1	1.1	1.5

Table 2 Intermediate precision.

	Low	Medium	High
Mean (ng/mL)	28.9	132.2	585.9
SD	0.8	1.7	11.6
CV (%)	2.7	1.3	2.0

7) 対照試薬との相関性

FER-ラテックス フェリチンとの相関性は、相関係数(r)は0.99と良好で、標準主軸回帰式は $y = 1.04x + 7.30$ と測定値も概ね一致していた (Fig. 6)。また、エクルーシス試薬 フェリチンとの相関性は、 $r = 0.99$ と良好であった一方、標準主軸回帰式は $y = 0.64x + 9.97$ と、本試薬で低値となる傾向が認められた。

4. 考察

今回我々は、ラテックス免疫比濁法を測定原理としたFER測定試薬「イアトロ フェリチン」改良試薬の基礎的性能について評価を行った。併行精度お

よび室内再現精度は、ラテックス免疫比濁法を測定原理としたFER測定試薬の性能評価を行った既報と同等の結果であった^{5,6)}。希釈直線性を検証した結果、2,500 ng/mLまでの良好な直線性を認め、改良前試薬の約1,000 ng/mLと比較し、2倍以上の測定上限の拡大を確認した⁶⁾。当院において、2023年1月~12月にFERの検査依頼のあった全10,905件のうち、238件が1,000 ng/mL以上2,500 ng/mL未満であった。これらの従来試薬で希釈再検が必要であった検体が、本試薬では再検を行うことなく報告が可能である。また、2,500 ng/mL以上10,000 ng/mL未満の検体が99件、10,000 ng/mL以上20,000 ng/mL未満の検体は10件であり、従来試薬では3%を

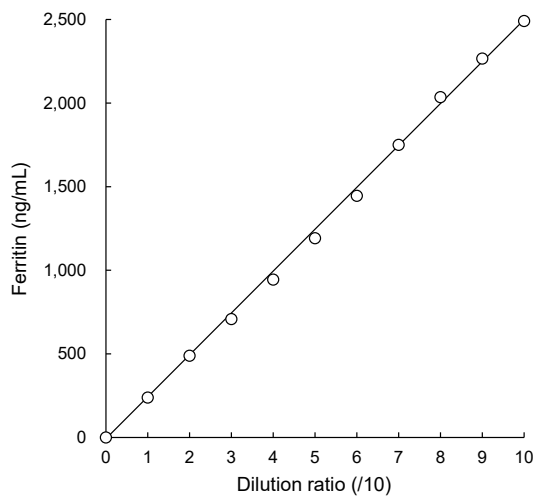


Fig. 1 Dilution linearity.

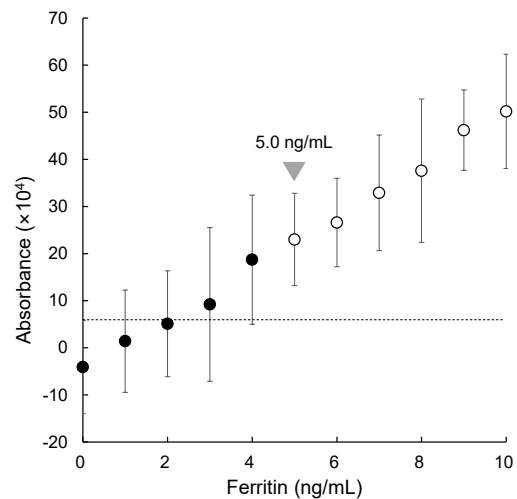


Fig. 2 Limit of detection.

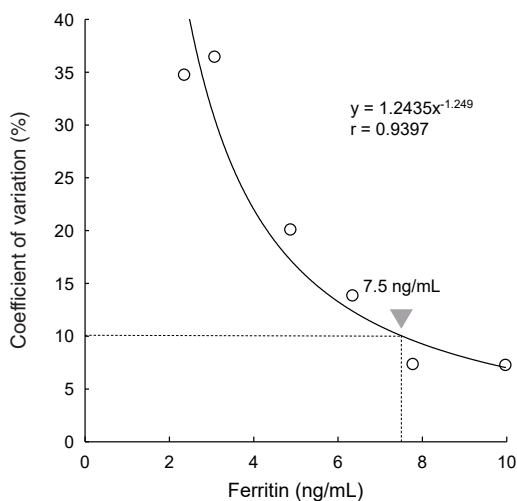


Fig. 3 Limit of quantification.

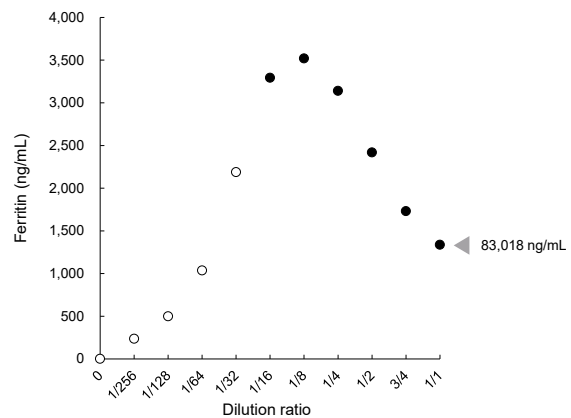


Fig. 4 Prozone phenomenon.

Closed circle (●) indicates the appearance of prozone phenomenon alarms in the analyzer.

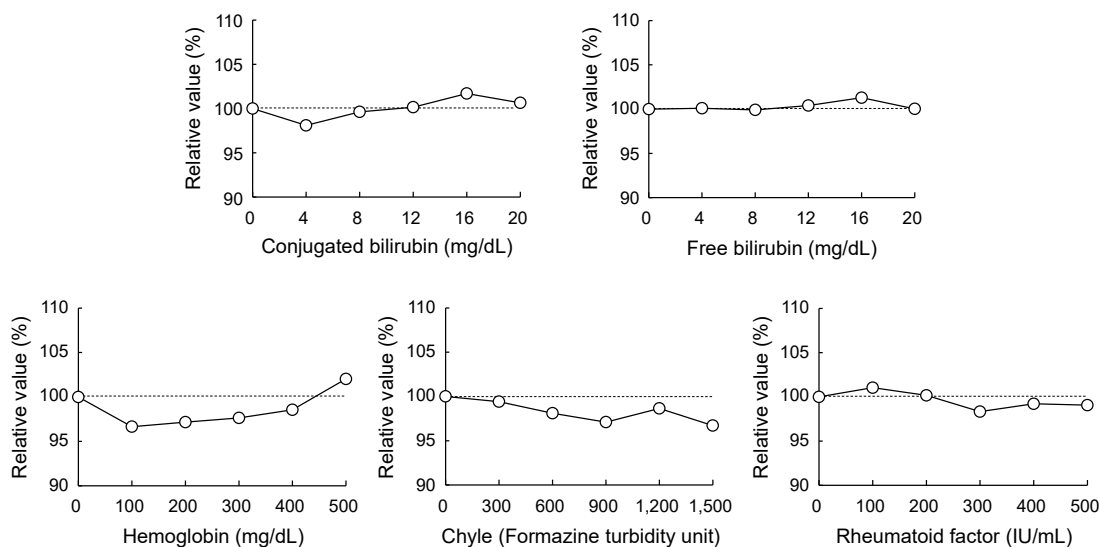


Fig. 5 Effects of interfering substances.

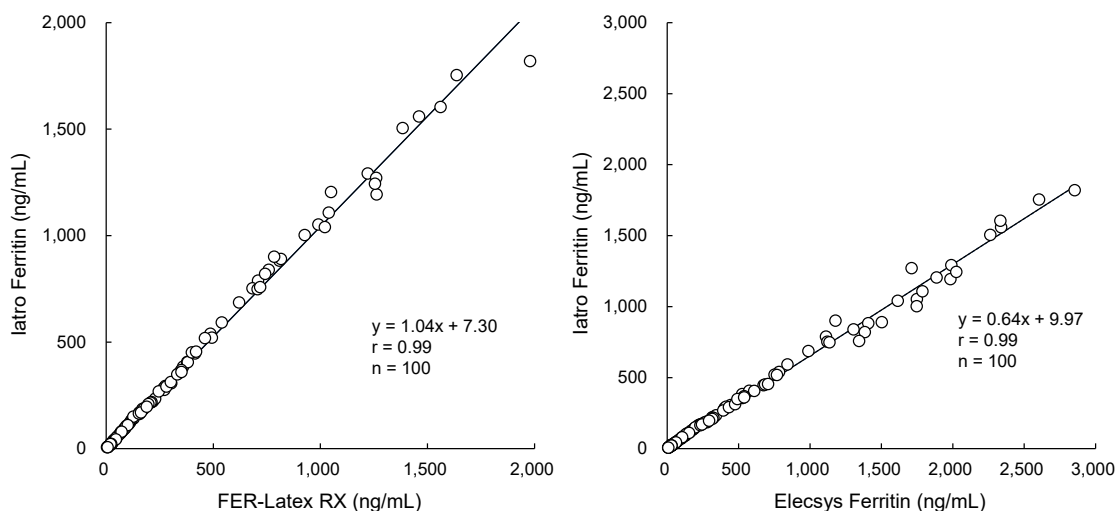


Fig. 6 Correlation between measurement values of "Iatro Ferritin" and each control reagent.

超える希釈再検率が、本試薬の導入により約1%に低下することが期待され、報告時間の短縮に寄与可能と考えられた。検出限界および定量限界については従来と同等の成績を有しており^{6,7)}、測定上限が拡大してもなお、低値域の精度は十分に保たれていた。また、高値検体測定時におけるプロゾーン現象発生の有無を確認した結果、理論値20,754.5 ng/mより測定値の低下を認めたものの、プロゾーン現象発生のデータアラームが出現するため、偽低値を誤報告する可能性は極めて低いと考えられた。共存物質の影響については、検討範囲内において測定値への

影響を認めず、良好な成績が得られた。対照試薬との相関について検討を行った結果、本試薬と同じくラテックス免疫比濁法を原理とする測定試薬とは良好な相関性が得られ、測定値も概ね一致しており、同様に測定値を評価可能と考えられた。一方、ECLIA法を原理とする測定試薬との相関性は良好であったものの、本試薬において約25%低値となる傾向を認めた。これらの結果は、FER測定試薬における測定値比較を行った既報と同等であった⁴⁾。FERの不均一性に加え、現在用いられているFER測定試薬において使用している標準物質や、抗体の

反応性の違いにより測定値に差が生じているとされている⁴⁾。現在、保存期の慢性腎臓病患者において、FER濃度100 ng/mL以下が鉄補充療法の目安とされていることや⁸⁾、輸血後鉄過剰症の指標としてFER濃度1,000 ng/mLが用いられており⁹⁾、さまざまな疾患の診療における指標としてFER濃度が用いられている。そのため、測定に用いる試薬間で臨床評価に差が生じる可能性があるため、FER測定値の標準化、ハーモナイゼーションが課題として挙げられる。

5. 結論

測定範囲を拡大したFER測定試薬「イアトロフェリチン」の基本性能は良好であり、特に化学発光法に匹敵する測定範囲を有しており、日常検査に有用であると考えられた。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) Jacobs A, Miller F, Worwood M, et al. Ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. *Br Med J* 1972;4:206-208.
- 2) Harrison PM, Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta* 1996;1275:161-203.
- 3) Wei Wang, Mary Ann Knovich, Lan G. Coffman, et al. Serum Ferritin: Past, Present and Future. *Biochim Biophys Acta* 2010;1800:760-769.
- 4) 日本臨床化学会血漿蛋白専門委員会. 血清フェリチン測定ハーモナイゼーションに向けた研究: 患者個別検体での測定成績. *臨床化学* 2022;51:199-205.
- 5) 日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会. Validation-Support/Excel-V63. http://jccc-jp.gr.jp/?page_id=1145.
- 6) 小野田千紘, 加賀谷栄美, 紙谷宜行, 他. 汎用自動分析装置に搭載可能なフェリチン測定試薬「イアトロフェリチン」の基本性能 ~測定試薬間差に関する検討~. *日本臨床検査自動化学会誌* 2006;31:784-789.
- 7) 山本裕之. ラテックス凝集免疫比濁法を用いた新規血中フェリチン測定試薬FER-ラテックスRX「生研」の有用性検討. *医学と薬学* 2020;77:1435-1441.
- 8) 日本腎臓学会. エビデンスに基づくCKD診療依ガイドライン2023. 東京医学社 2023.
- 9) 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業 特発性造血障害に関する調査研究班. 輸血後鉄過剰症の診療参照ガイド令和4年度改訂版.