

# JCA-ZS050 自動分析装置 クリナライザ BioMajesty™ ZERO によるヘプシジン25測定試薬の 基本性能評価と臨床的有用性の探究

Evaluation of the reagent for measurement of hepcidin-25 by fully automated analyzer JCA-ZS050 and Exploring clinical utility

家原暉恵<sup>1)</sup>, 畑 伸顕<sup>1)</sup>, 糸賀仁美<sup>1)</sup>, 山脇一恋<sup>1)</sup>, 日高 洋<sup>2)</sup>

**要旨** 富士フイルム和光純薬株式会社より、各種汎用自動分析装置に適応したヘプシジン25の測定試薬が新たに開発されたため、JCA-ZS050 自動分析装置 クリナライザ BioMajesty™ ZEROを用いてその基本性能を評価したところ、有用性が確認された。また、患者血清におけるヘプシジン25とフェリチンとの相関性が認められたものの、フェリチンに対してヘプシジン25が幅広い分布を示した。その傾向を分析したところ、血液内科と腎臓内科で相関の傾きが大きく異なる傾向を認めた。本検討が今後ヘプシジン25の臨床的意義の解明の手がかりになるのではないかと考えている。本試薬は認定検査試薬として認可されており、体外診断用医薬品への移行もスムーズであるため、今後ヘプシジン25の新規検査項目としての有用性を見出し、早期に実用化されることに期待したい。

**Key words** hepcidin-25, JCA-ZS050, BioMajesty™ ZERO, fully automated analyzer

## 1. はじめに

ヘプシジンは、肝臓で産生されるペプチドホルモンであり、鉄イオン輸送体の膜貫通蛋白質（フェロポーチン）の分解を誘導して生体内の鉄代謝を制御している。ヘプシジンは、プレプロヘプシジンからプロヘプシジンを経て、ヘプシジン25、ヘプシジン22、ヘプシジン20として血中に存在しており、ヘプシジン25が実際にホルモンとして作用する活性型であり、老化した赤血球が取り込まれたマクロファージにある貯蔵鉄の放出を抑制したり、肝細胞からの鉄供給を抑制する他、腸管からの鉄吸収を抑

制するなどの働きがある。また、ヘプシジン25は鉄飽和シグナルや炎症によって産生が促進され、造血シグナルや低酸素シグナルによって抑制されるなど、様々な因子によって制御されており、近年新たに鉄代謝を調節するホルモンとして注目されているが、その臨床的な有用性は明確化されておらず、既承認の測定試薬もないのが現状である。

今回検討する富士フイルム和光純薬株式会社のヘプシジン25測定試薬は、従来のELISAや質量分析などの測定法と異なり、各種汎用分析装置で測定可能なラテックス比濁法である。また、本試薬は体外診断用医薬品への以降がスムーズな認定検査試薬と

Received Feb. 27, 2023; Accepted Jan. 29, 2026

Akie Iehara<sup>1)</sup>, Nobuaki Hata<sup>1)</sup>, Hitomi Itoga<sup>1)</sup>,  
Ikoi Yamawaki<sup>1)</sup>, Yoh Hidaka<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>大阪大学医学部附属病院 医療技術部検査部門  
Division of Laboratory for Clinical Investigation,  
Department of Medical Technology, Osaka University  
Hospital  
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-15  
2-15, Yamadaoka, Suita City, Osaka Prefecture,  
565-0871

<sup>2)</sup>天満橋甲状腺クリニック

Tenmabashi Thyroid Clinic

〒540-0008 大阪府大阪市中央区大手前1-7-31 OMM  
ビル9階

9F OMM Bldg, 1-7-31, Otemae, Chuo-ku, Osaka City,  
Osaka Prefecture, 540-0008

Corresponding Author: 家原暉恵 (Akie Iehara)

TEL: 06-6879-6691

E-mail: kosugi@hp-lab.med.osaka-u.ac.jp

して認可されており，本項目の臨床的有用性を見出すことにより，早期の臨床応用が期待できる。本検討では，再現性，希釈直線性，測定感度および共存物質による影響を調べ，その基本性能を評価した。さらにフェリチンとの相関性から本項目の臨床的有用性を検証したので以下に報告する。

## 2. 対象

### 1) 検体

フェリチンの検査依頼があった当院外来および入院患者の検体を用いた。本研究は大阪大学医学部附属病院倫理審査委員会の承認を得て行った（承認番号：21041）。

### 2) 測定機器

JCA-ZS050 自動分析装置 クリナライザ BioMajesty™ ZERO（日本電子株式会社）

### 3) 試薬

ヘプシジン25測定試薬および検討に用いた各種試薬類は表に示す通りである（Table 1）。

### 4) 測定原理

本法の原理は，ラテックス凝集免疫比濁法である。まず，検体に緩衝液およびラテックス試液を反応さ

せると，検体中のヘプシジン25とラテックス試液中の抗ヒトヘプシジン抗体感作ラテックスが特異的な抗原抗体反応を起こし濁りを生じる。濁度は検体中のヘプシジン25濃度に比例するため，この濁度の変化を測定することにより検体中のヘプシジン25濃度を求める。

## 3. 結果

### 1) 精密さの確認

2濃度のヘプシジン25 コントロールセットおよび2濃度のプール血清をそれぞれ1日10重測定し併行精度を求めた結果，CV 1.4%～2.5%であった（各コントロールの平均値は22.93, 73.13 ng/mL，各プール血清の平均値は25.86, 62.79 ng/mL）（Table 2）。また，同様のコントロールを用い，1日1重測定で計10日間測定し室内再現精度を求めた結果，CV 3.7%～5.7%であった（各コントロールの平均値は23.50, 75.24 ng/mL，各プール血清の平均値は27.75, 63.53 ng/mL）（Table 3）。

### 2) 希釈直線性

2濃度のプール血清についてそれぞれ専用希釈液を用いて10段階希釈を行い，これらを各々2重測定

Table 1 List of reagents

試薬名・構造等	メーカー
測定試薬 ヘプシジン25測定試薬（ラテックス） ①緩衝液 ②ラテックス試液 抗ヒトヘプシジン25抗体 （マウスモノクローナル抗体、ラットモノクローナル抗体）感作ラテックス	
校正試薬 ヘプシジン25 キャリブレーションセット（5濃度）	富士フイルム和光純薬株式会社
コントロール ヘプシジン25 コントロールセット（2濃度）	
専用希釈液 LT用希釈液	
	D-Biotin
その他 干渉チェック・Aプラス 干渉チェック・RFプラス	シスメックス株式会社

Table 2 Within-run reproducibility for the hepcidin-25 assay

Hepcidin-25		control		pool	
		L	H	L	H
Within-run reproducibility (n=10)	Mean (ng/mL)	22.93	73.13	25.86	62.79
	Max (ng/mL)	23.9	76.1	26.4	64.1
	Min (ng/mL)	21.9	69.9	25.4	61.1
	SD (ng/mL)	0.58	1.54	0.37	1.10
	CV (%)	2.5	2.1	1.4	1.7

Table 3 Between-day reproducibility for the hepcidin-25 assay

Hepcidin-25	control		pool	
	L	H	L	H
Mean (ng/mL)	23.50	75.24	27.75	63.53
Max (ng/mL)	26.0	82.3	29.3	66.6
Min (ng/mL)	21.9	71.7	26.1	58.5
SD (ng/mL)	1.34	3.49	1.03	2.52
CV (%)	5.7	4.6	3.7	4.0

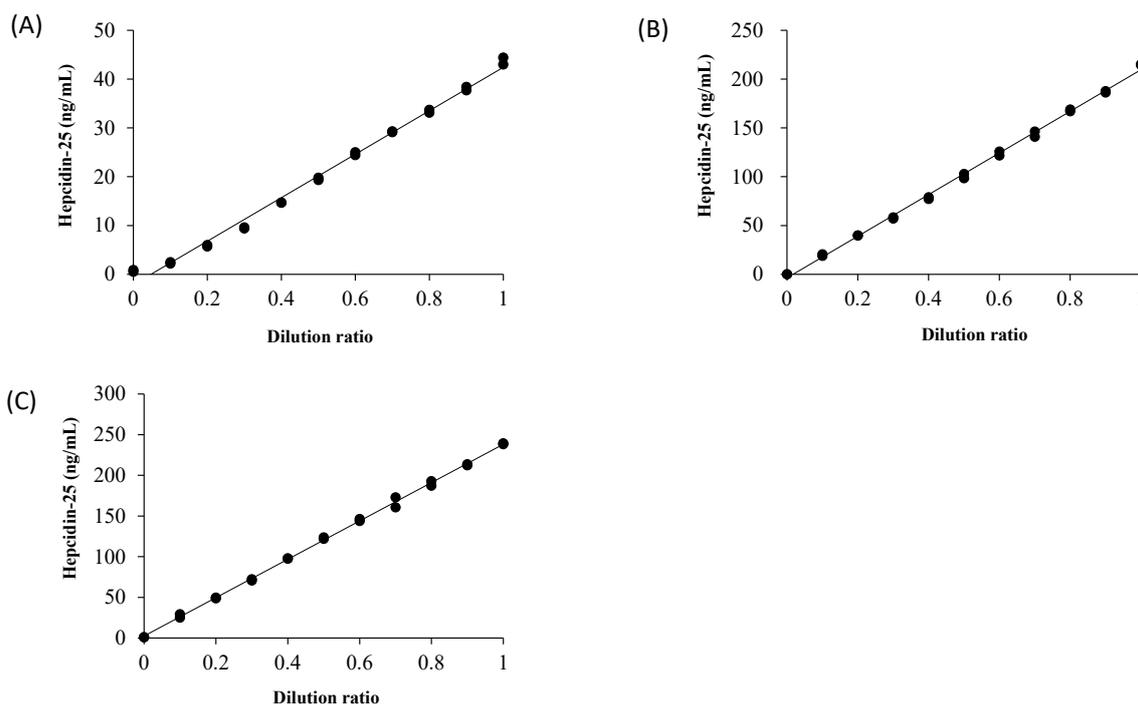


Fig. 1 Effects of serum dilution on linearity for the hepcidin-25 assay

A : Low concentration pooled serum, B : High concentration pooled serum, C : Antigen solution dissolved in negative serum

した結果をプロットして希釈直線性を確認したところ、およそ210 ng/mLまで直線性が得られた。また、ヘプシジン高値試料（陰性血清<sup>(\*)</sup>にヘプシジン25抗原を溶解したもの）および希釈液として陰性血清<sup>(\*)</sup>を用いて、同様に10段階希釈を行い希釈直線性を確認したところ、およそ230 ng/mLまで原点を通る直線性が得られた（Fig. 1）。

(※)ヘプシジン25が3.0 ng/mL未満のもの。

### 3) 測定感度

12濃度のプール血清を調製して各々5日間2重測定し、横軸を測定値の平均値 (ng/mL)、縦軸をCV (%) としてPrecision Profileを作成して定量限界を算出した。CV10 %定量限界は2.52 ng/mLであった（Fig. 2）。

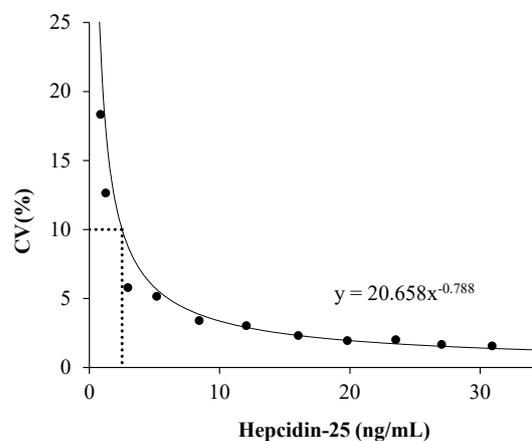


Fig. 2 The lower limit of quantification

#### 4) 共存物質の影響

2濃度のプール血清を使用し、干渉チェック・A プラス、干渉チェック・RF プラス、D-BiotinおよびO型赤血球破碎液（以下、溶血液）を用いて、ビリルビンF（遊離型ビリルビン）、ビリルビンC（抱合型ビリルビン）、乳び（ホルマジン濁度）、ヘモグロビン、リウマトイド因子、ビオチンおよび溶血液による測定値への影響を調べた。D-Biotinについては、純水で溶解したものをビオチン溶液、ブランクを純水とした。また、溶血液は、ヘパリン採血したO型患者の赤血球をプールして、生理食塩水で数回洗浄した後、 $-80^{\circ}\text{C}$ にて凍結して溶血させ、生理食塩水で濃度調節して調製し、生理食塩水をブランクとした。各系列について2重測定した結果をプロットした。結果には、乳びの単位はFTU（ホルマジン濁度単位）、ヘモグロビンおよび溶血液の単位はmg/dL（ヘモグロビン濃度）として表記した。

ビリルビンFは19.1 mg/dL、ビリルビンCは21.2 mg/dL、乳びは1,610 FTU、ヘモグロビンは490 mg/dL、リウマトイド因子は500 IU/mL、ビオチンは10  $\mu\text{g/mL}$ 、溶血液は500 mg/dLまで影響が認められなかった（Fig. 3）。

#### 5) フェリチンとの相関性

相関性の評価は 標準主軸回帰、およびPearsonの相関係数（無相関検定）で評価した。フェリチンの依頼のあった検体について、ヘプシジン25とフェリチンの相関性を検討したところ、 $n=147$ 、回帰式 $y=0.122x+9.08$ 、相関係数 $r=0.463$ （ $p<0.05$ ）であ

り、依頼科別においても検討したところ、血液内科では $n=53$ 、回帰式 $y=0.065x+6.51$ 、相関係数 $r=0.858$ （ $p<0.05$ ）、腎臓内科では $n=47$ 、回帰式 $y=0.418x-0.81$ 、相関係数 $r=0.929$ （ $p<0.05$ ）であった（Fig. 4）。

#### 4. 考察

今回、JCA-ZS050 自動分析装置 クリナライザ BioMajesty™ ZEROを用いたヘプシジン25測定試薬の基本性能評価を行った。再現性においては、並行精度のCVが最大で2.5%、室内再現精度が最大で5.7%と良好であった。また、希釈直線性については、専用希釈液を用いた場合に切片が原点より若干マイナスに偏っていることから、専用希釈液のマトリックスが反応過程に影響している可能性が考えられた。この点に関しては改良の余地があるものの、実際に希釈を実施するのはレンジオーバーであった場合であるため、臨床的に問題となる可能性は低いと考えられる。測定感度については、取扱説明書における測定下限値3.0 ng/mLを満たす結果となった。干渉物質については、検討の範囲内においては測定値への影響が認められなかった。

フェリチンとの相関性については、全検体において有意な相関を認めたものの、分布が幅広く二極化する傾向にあることから、他の変動要因の存在が考えられた。そこで、依頼科別で傾向の違いがあるかを確認したところ、フェリチン検査の主な依頼科である血液内科と腎臓内科の間で相関の傾きが明らか

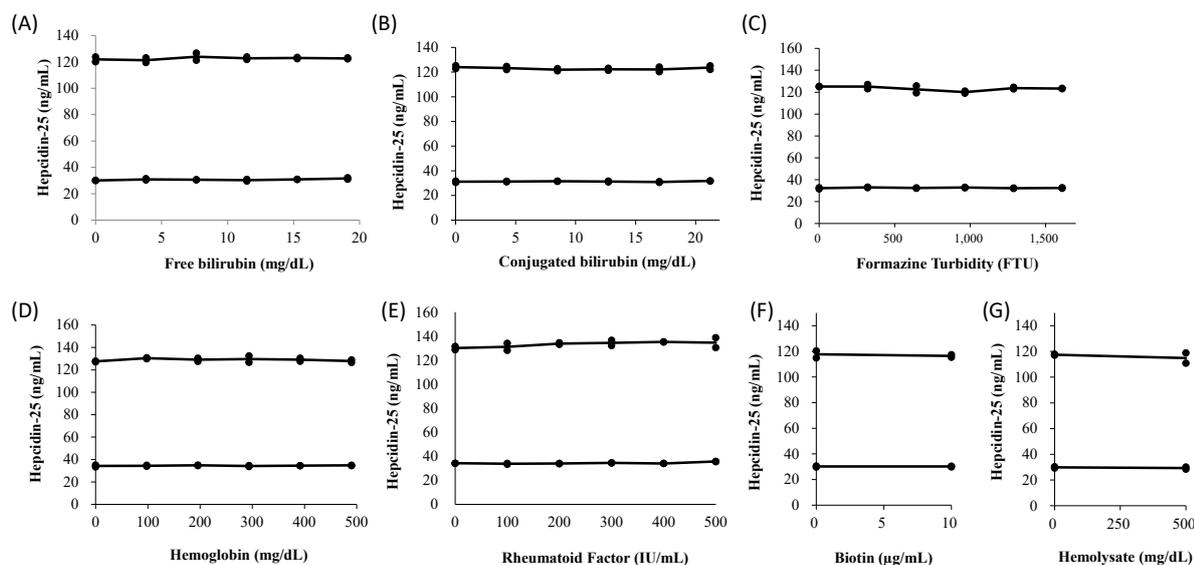


Fig. 3 Effect of possible interfering substances in serum on the hepcidin-25 assay

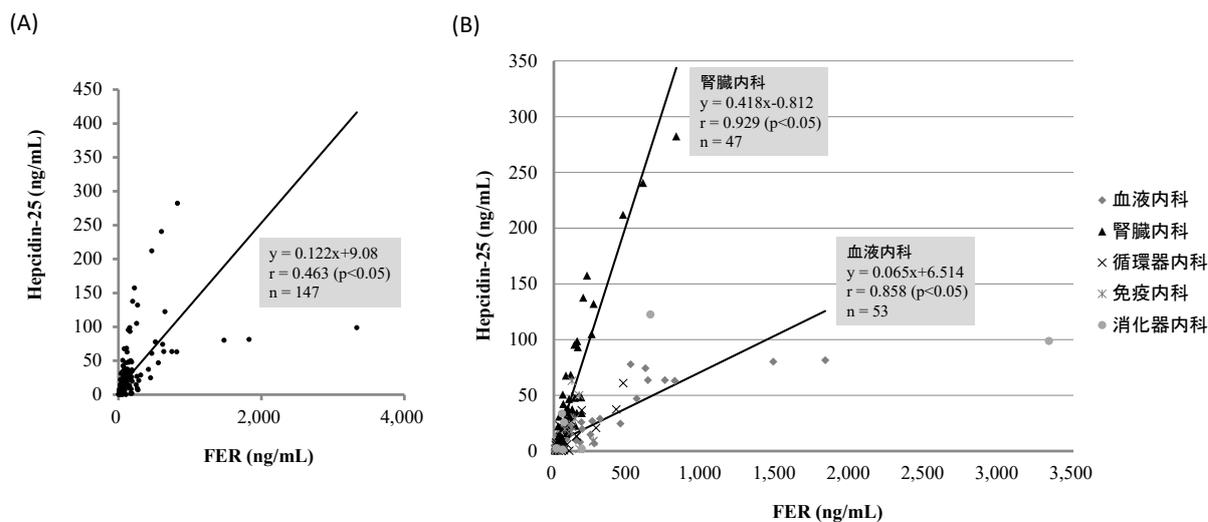


Fig. 4 Correlations between ferritin (FER) and hepcidin-25  
A : Correlation of all samples, B : Correlation by medical department

に異なっており、今後詳細な検討を進める上で何らかのヒントになるのではないと思われる興味深い結果となった。

今回用いた腎臓内科依頼の検体の患者背景は大半がCKDであり、腎臓でのクリアランス低下によるヘプシジン25の排泄低下や腎性貧血などを背景にヘプシジン25濃度の上昇が起こっていると考えられた。eGFRが低下するとともに腎性貧血の頻度は増加し、eGFRが60 mL/min/1.73m<sup>2</sup>以下になると統計学的に有意に腎性貧血が認められ、30 mL/min/1.73m<sup>2</sup>以下になると多くの患者で腎性貧血を発症すると言われている<sup>1)</sup>。腎性貧血でEPO産生が低下すると、造血における鉄利用の減少の結果、血清鉄濃度が上昇することに伴ってヘプシジン25濃度が上昇し、貯蔵鉄からの鉄供給が抑制されるため、結果的に貯蔵鉄の増加につながってフェリチン濃度が上昇すると考えられている<sup>2)</sup>。今回解析に用いた患者検体のうち、ヘプシジン25が100 ng/mLを超えるような検体はeGFR < 15 mL/min/1.73m<sup>2</sup>の末期腎不全に当たる透析患者が大半を占めていた。また、CKD患者においては炎症性サイトカインであるIL-6を介してヘプシジンの産生が促進することが知られており、それに伴って鉄利用障害によるフェリチン濃度の上昇が起こっている可能性も考えられる<sup>3)</sup>。以上のことから、ヘプシジン25の濃度は腎機能に依存する部分大きいことが推察された。

一方で、血液内科においては、造血器腫瘍の患者

が多くを占めており、これらの患者にみられる骨髄造血障害は、腎性貧血と同様、鉄利用の減少の結果ヘプシジン25濃度が上昇すると言われており<sup>4)</sup>、その結果フェリチン濃度が上昇する。その他、鉄芽球性貧血や、再生不良性貧血等の種々の貧血の患者検体が含まれており、疾患の内訳が幅広く、非特異的なフェリチンの増加が目立っていると思われる。特に、これらの疾患に伴う貧血は輸血に頼らざるを得ないケースもあり、今回の相関の傾きに大きく影響したのではないかと考えられた。

以上のことから、JCA-ZS050 自動分析装置 クリナライザ BioMajesty™ ZEROを用いたヘプシジン25測定試薬の基本性能は良好であると判断した。今後、ヘプシジン25の臨床的有用性をさらに詳細に検討するために、検体数を増やして、他の検査項目や患者背景を含むデータベースを用いて多変量解析などを行っていきたいと考えている。

最後に、ヘプシジン25は今や生体内における鉄代謝を説明する上では不可欠な存在となっており、貧血やその他の鉄代謝関連疾患の診断や病態把握、治療効果のモニタリングなどに役立つ新規のマーカーになる可能性が期待される。さらに、海外においては鉄代謝異常に対する治療薬としてヘプシジン25のアゴニストやアンタゴニストの開発・研究および臨床試験が進められているなど、その注目度は益々高まっている。今後さらなるヘプシジン25の臨床的有用性を見出すべく検討を続けたい。

#### 4. 結語

JCA-ZS050 自動分析装置 クリナライザ BioMajesty™ ZEROによるヘプシジン25測定試薬の基本性能は良好であった。今後、ヘプシジン25のさらなる臨床的有用性が解明されることに期待したい。

#### 謝辞

本研究の遂行にあたり、富士フイルム和光純薬株式会社の皆様に多大なご助言、ご協力を頂きました。厚く御礼申し上げます。

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) 南学 正臣. 腎性貧血. 日本内科学会誌 2012;101:1318-1324
- 2) 友杉 直久. ヘプシジンと腎性貧血. 日本内科学会誌 2016;105:2450-2457
- 3) Babitt JL, Lin HY. Molecular mechanisms of hepcidin regulation : implications for the anemia of CKD. Am J Kidney Dis 2010;55:726-741.
- 4) Kanda J, Mizumoto C, Kawabata H, et al. Serum hepcidin level and erythropoietic activity after hematopoietic stem cell transplantation. Haematologica 2008;93:1550-1554