

活性型レニンキット「ルミパルスプレスト®レニン」試薬の評価

Evaluation of analytical performance of the active renin kit LUMIPULSE Presto Renin

小川舞子¹⁾, 笠原裕子¹⁾, 飛田明子¹⁾, 吉川直之¹⁾, 小野佳一²⁾, 蔵野信^{1,3)}

要旨 CLEIA法を測定原理とする活性型レニン濃度（ARC）測定試薬の基礎性能および、臨床検体における保存安定性を検討した。精度、検出限界、定量限界はいずれも良好であり、従来法である血漿レニン活性（PRA）と高い相関性を示したことから、本試薬は日常検査への導入に十分な基礎的性能を有していることが考えられた。ARCは室温では8時間以内において安定性を示した一方、4℃および-20℃保管ではcryoactivationの影響により値の変動を認めた。-80℃では変動が少なく、高い安定性を示した。以上より、ARC測定では適切な保存条件の設定が不可欠であることが示唆された。

Key words LUMIPULSE L2400, renin, ARC, storage stability, cryoactivation

1. はじめに

レニンは腎臓傍糸球体細胞から分泌される酵素であり、レニン-アンギオテンシン-アルドステロン系（Renin-Angiotensin-Aldosterone System ; RAAS）の主要因子である^{1,2)}。RAASは、水・電解質バランスや循環血液量の調節、血管収縮作用、交感神経刺激作用などを介して血圧調節に重要な役割を担っており、高血圧症の鑑別、特に原発性アルドステロン症（Primary Aldosteronism ; PA）の診断において、レニン測定は不可欠である³⁾。

従来広く用いられてきた血漿レニン活性（plasma renin activity ; PRA）は、レニンがアンギオテンシノーゲンを基質としてアンギオテンシン I へ変換する反応を利用し、その生成量を指標としてレニン活性を間接的に評価する測定法である。そのため、

PRAは血漿に含まれる内因性のアンギオテンシノーゲンやアンギオテンシン I の影響を受ける点に留意する必要がある。また、酵素活性を測定対象とすることから、反応温度、pHなどの測定条件に大きく依存し、測定にも長時間を要することから、自動化が困難であった。一方、活性型レニン濃度（active renin concentration ; ARC）は活性型レニン分子を直接測定する免疫学的測定法であり、内在性基質の影響を受けず、CLEIA法による迅速かつ自動化測定が可能である。近年では、その利便性や安定性から、臨床現場においてARC測定が普及しつつある^{4,5)}。

一方で、測定法の違いにかかわらず、PRAおよびARCはいずれも、低温保管時におけるcryoactivationの影響により測定値が変動することが知られている⁶⁾。そこで今回我々は、ARC測定試薬「ルミパルスプレスト レニン」の基礎的性能評価を行うと

Received Jul. 16, 2026; Accepted Aug. 24, 2026

Maiko OGAWA¹⁾, Yuko KASAHARA¹⁾,
Akiko TOBITA¹⁾, Naoyuki YOSHIKAWA¹⁾,
Yoshikazu ONO²⁾, Makoto KURANO^{1,3)}

¹⁾ 東京大学医学部附属病院 検査部

〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

Department of Clinical Laboratory, The University of
Tokyo Hospital

7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8655, Japan

²⁾ 国際医療福祉大学 保健医療学部 医学検査学科

〒324-8501 栃木県大田原市北金丸2600-1

Department of Medical technology and science,

International University of Health and Welfare

2600-1, Kitakanemaru, Otawara-shi, Tochigi, 324-8501,
Japan

³⁾ 東京大学大学院医学系研究科内科学専攻病態診断医学
講座臨床病態検査医学

Corresponding Author : Maiko OGAWA

TEL : 03-3815-5411 (内線 38908)

E-mail : ogawam-lab@h.u-tokyo.ac.jp

もに、臨床検体中におけるARCの安定性について検討したので報告する。

2. 材料および方法

1) 対象

東京大学医学部附属病院検査部に提出された患者検体の残余血清および血漿68例および管理試料を使用した。なお、本研究は富士レビオ株式会社との共同研究契約に基づき、東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会の承認を得て実施した。(審査番号: 2019300NI-24)

2) 測定試薬および測定機器

検討試薬「ルミパルスプレスト®レニン」(富士レビオ株式会社)を使用し、免疫発光測定装置「ルミパルス®L2400」(富士レビオ株式会社)にて測定した。

対照試薬は、EIA法を測定原理とするPRA測定試薬「レニン活性キット「ヤマサ」」(ヤマサ醤油株式会社)を用いた。

3) 測定原理

「ルミパルスプレスト レニン」の測定原理は、CLEIA法により血清及び血漿のARCを検出する2ステップサンドイッチ法である。第1反応として、抗体結合粒子に結合した抗レニンモノクローナル抗体と検体中に含まれる活性型レニンによる免疫複合体が形成される。洗浄後、第2反応として抗レニンモノクローナル抗体を介して結合した検体中の活性型レニンと、アルカリホスファターゼ標識抗レニンモノクローナル抗体(酵素標識抗体)による免疫複合体が形成される。再び洗浄ののち、基質を添加し、463 nmに発光極大を持つ光の発光量を測定する。

4) 検討内容

(1) 併行精度

管理試料3濃度を同一ロット試薬にてそれぞれ連続10回測定し、変動係数(CV)を算出した。

(2) 室内再現精度

管理試料3濃度を同一ロット試薬にて1日1回、10日間測定し、変動係数(CV)を算出した。

(3) 検出限界

低濃度(0.373 pg/mL)患者血清を測定試料とした。検体は採取後速やかに遠心分離を行い、 -80°C で保管したものを融解し、専用キャリブレーションの0濃度を用いて、2~128倍に段階希釈した。各希釈試料につき $n=10$ で測定を行い、専用キャリブレーション0濃度における発光強度の平均値 $+3\text{SD}$ と、試料の発光強度の平均値 -3SD が重ならない最小濃度(3SD法)を検出限界とした。

(4) 定量限界

(3)と同一の低濃度患者血清で作成した希釈系列を用いてPrecision profileを作成し、測定値のCVが10%以下である試料濃度のうち最小濃度を定量限界として推定した。

(5) 相関性試験

(i)血清・血漿相関性試験

検体種間でのARC値を比較するため、本検討試薬を用いて、11名の患者から同時採取された血清・血漿検体を測定した。血清・血漿ともに採取後の遠心分離を直ちに行い、測定管へ分注したものを閉栓し、測定まで室温にて保管した。測定は、採取当日中(遠心分離後0~7時間以内)に両者同時に行った。

(ii)PRAとの相関性試験

患者血清61例について、検討試薬で測定したARCと、同一患者の血漿を対照試薬で測定したPRAの相関性を確認した。血清・血漿ともに採取後の遠心分離は直ちに行った。血清ARCについては採取当日中に測定を行い(分離して室温保管し、1~7時間以内に測定)、血漿PRAは外注先への出検のため、分離後即時 -20°C で保管したのちに、基本的に採取と同日または翌日に融解され、測定が実施された。

(6) 保存安定性

患者血清10例(ARC: 4.84~73.16 pg/mL, -80°C 保管はうち4例, ARC: 6.51~58.53 pg/mL)を室温($22\sim 24^{\circ}\text{C}$)、 4°C 、 -20°C 、 -80°C でそれぞれ保存し、以下の時系列にて測定を実施した。

なお、室温と 4°C の検体は測定用試験管1本にまとめて分注したものを保管・測定し、 -20°C と -80°C の検体は、測定回数分に分注したものを保管し、測定ポイントごとに融解して測定を行った(Fig. 1)。融解は、室温下で転倒混和機に搭載し10~15分間の転倒混和によって行った。

- ・室温: 4, 6, 8, 24, 72時間
- ・ 4°C : 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 72時間
- ・凍結(-20°C および -80°C): 4, 8, 24, 72時間, 168時間(1週間)

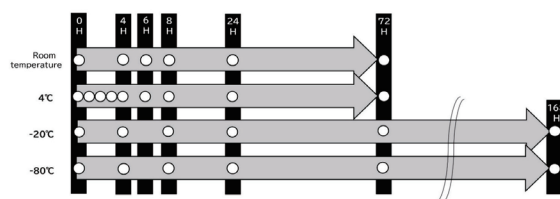


Fig. 1 Flowchart of the storage stability measurement

保存0時間値を比較対象に、ARC値が基準範囲内(2.21~39.49 pg/mL)と基準範囲以上の群に分け、経過時間ごとの変化率の平均(%)および標準偏差を算出した。

3. 検討成績

(1) 併行精度

CVは0.7~0.9%であった(Table 1)。

(2) 室内再現精度

CVは1.5~1.8%であった(Table 2)。

(3) 検出限界

3SD法により検討した結果、専用キャリブレーション濃度の平均値+3SDと試料の平均値-3SDが重ならなかったのは、低濃度患者試料を16倍希釈した0.023 pg/mLであった(Fig. 2)。

(4) 定量限界

Precision profileから求めた、測定値のCV 10%以下となる濃度は0.064 pg/mLであった(Fig. 3)。

(5) 相関性試験

(i) 血清・血漿相関性試験

同一患者の血清(y)と血漿(x)のARCは、回帰式 $y=1.06x-0.01$ 、相関係数 $r=1.00$ であった(Fig. 4)。

(ii) PRAとの相関性試験

検討試薬で測定したARC(y)と対照試薬で測定したPRA(x)の相関性(n=51)は、 $y=4.51x+0.87$ 、相関係数 $r=0.97$ であった(Fig. 5)。なお、PRAが測定下限値未満となった10例分は除外して回帰分析を行った。

(6) 保存安定性

ARCは室温保管で経時的に低下傾向となり、4℃

Table 1 Repeatability

	Mean (pg/mL)	SD (pg/mL)	CV (%)
Low	10.32	0.09	0.9
Middle	51.87	0.35	0.7
High	526.22	4.17	0.8

(n=10)

Table 2 Intermediate precision

	Mean (pg/mL)	SD (pg/mL)	CV (%)
Low	9.97	0.15	1.5
Middle	50.19	0.91	1.8
High	513.33	9.19	1.8

(n=10)

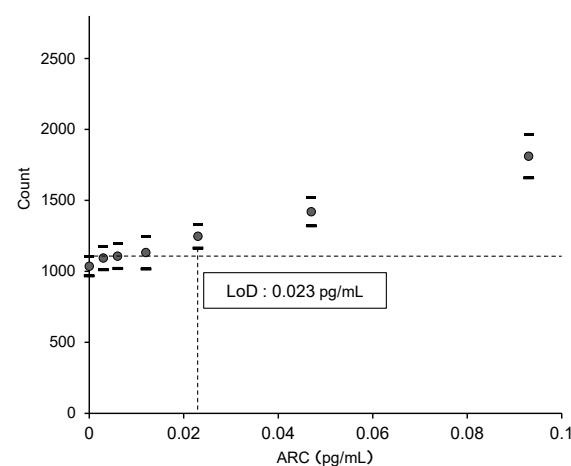


Fig. 2 Limit of Detection

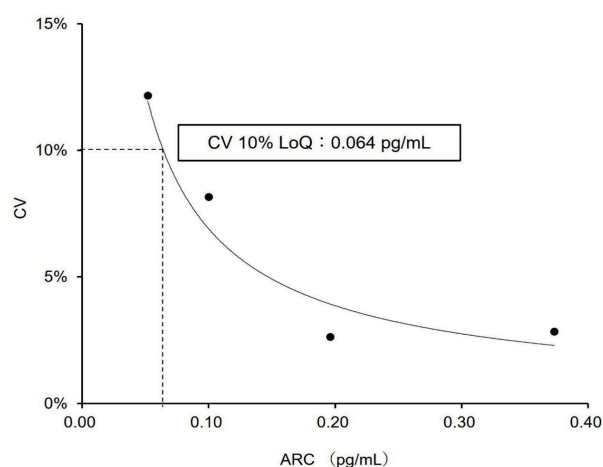


Fig. 3 Limit of Quantitation

※Validation-Support-V64にて作成

では上昇傾向が認められた。-20℃では保管開始から値の上下動が大きく、検体ごとに変化率はばらついていた。-80℃では値が安定し168時間（1週間）の保管で変化率±10 %以下であった（Fig. 6）。

4. 考察

検討試薬「ルミパルスプレスト レニン」は、併行精度、室内再現精度のいずれも良好であり、検出

限界についても、添付文書記載の性能を十分に満たしていた。血清・血漿相関性試験では血清と血漿のARC値は良好な相関性を示し、検体種による差異は認められなかった。当院では血清を用いる検査項目が多く、検体処理効率の向上が期待できることから、本検討は血清を用いることとした。なお、ARCの血漿中での安定性については、-80℃保存下で安定であることが既に報告されている⁷⁾。本研究

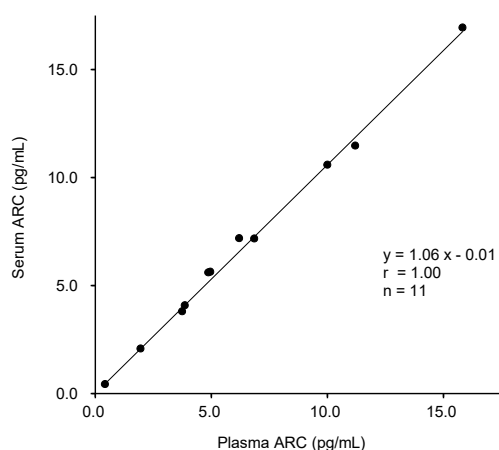


Fig. 4 Correlation between plasma and serum ARC

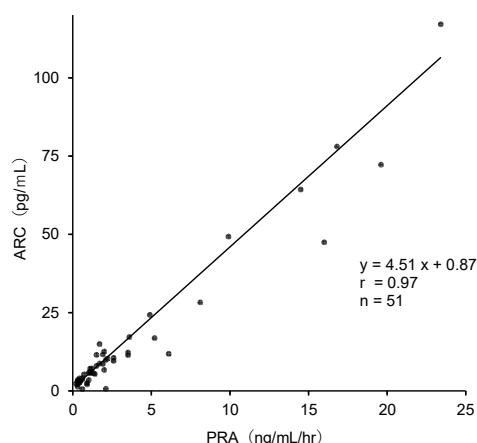


Fig. 5 Correlation between PRA and serum ARC

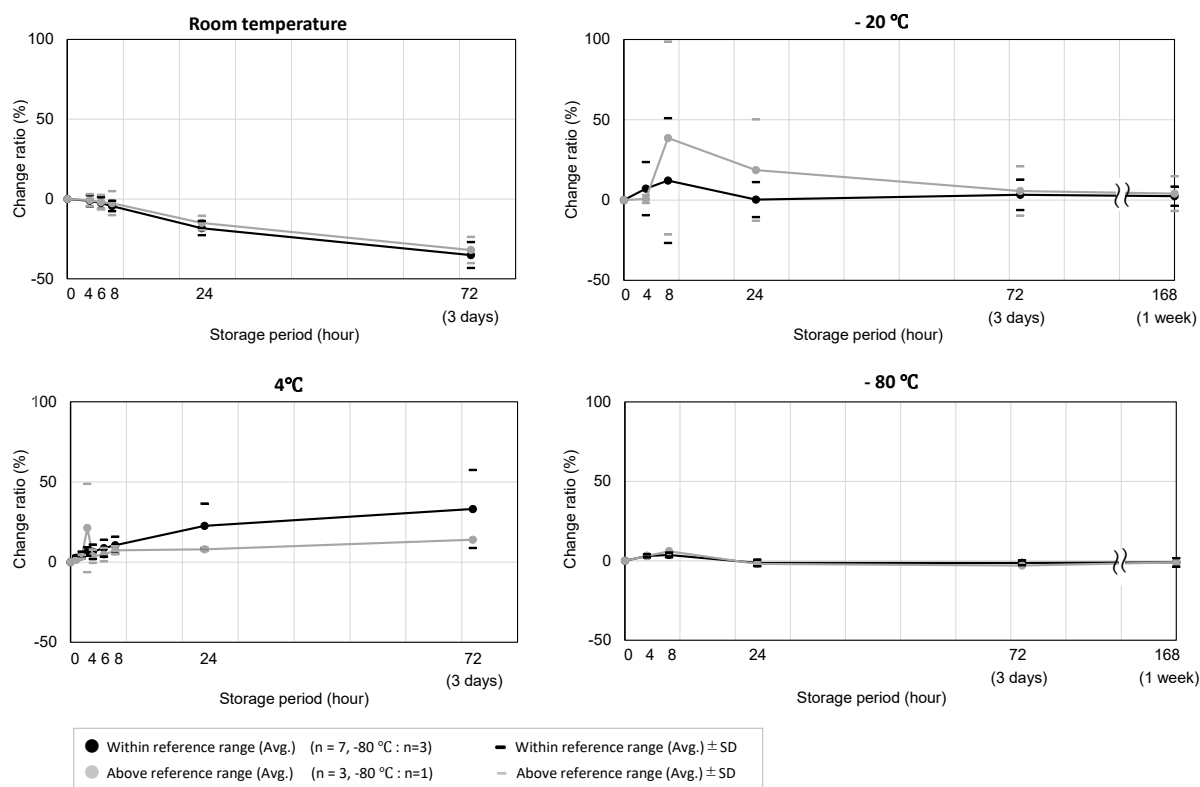


Fig. 6 Storage stability on serum ARC

では処理効率の観点からARC測定に血清を用いたが、血漿を用いる場合においても適切な保存条件下ではARCの安定性が維持されるものと考えられる。

PRAとの相関性試験では、相関係数 $r=0.97$ と良好な結果が得られた。また、回帰式の傾きが4.51であったことは、ARC値はPRA値の約4~5倍を示すとする既報と一致していた⁴⁾。今回の検討ではPRAとARCとの間に著しい乖離を示す検体はなかったが、PRAが基質であるアンギオテンシノーゲン及び酵素反応による生成物であるアンギオテンシンI濃度や安定性の影響を受けるため、結果の評価の際には慎重さが求められる。アンギオテンシノーゲンが増加する因子としては、妊娠やクッシング症候群での生合成亢進が挙げられ、一方、減少する因子としては肝疾患による産生低下などが知られている。このため、これらの病態では、結果の解釈に留意する必要がある。ARCは、レニンを抗原とする免疫学的測定法により測定され、レニンそのものの量を反映する。さらに低レニン濃度域の測定感度が高いため、原発性アルドステロン症などレニンが低下する病態の経過観察に有用と言える。

保存安定性の検討では、室温保管において経時的に低下する傾向が認められたが、日常検査で想定される8時間までの変化率はいずれの検体においても10%以内であり、採血当日の追加検査には十分対応可能と考えられた。一方、4℃保管下では経時的な上昇傾向を認め、24時間後には基準範囲の検体で平均23%、高値の検体で平均10%の増加を示した。また、-20℃保管では、検体ごとに値の増減および変動幅にばらつきが認められ、一定の傾向は確認できなかった。試験管内では、0~5℃の低温環境やpH2~3の酸性条件下において、レニンの前駆体であるプロレニンに蛋白の構造変化が生じ、可逆的にレニン様の酵素活性を持つことが知られている(cryoactivation)^{8,9)}。この結果、プロレニンもレニンとして測定され、測定値上昇の原因となる。さらに、-20℃保管においても同様のcryoactivationが生じることが報告されており^{10,11)}、本検討でも凍結に至る温度下降の過程においてcryoactivationが誘導され、測定値が変動したと考えられた。

また、凍結検体の融解過程による影響を考慮し、融解方法についても比較検討を行ったが、室温での転倒混和による融解と流水融解(2例)、ならびに室温での転倒混和と融解のみと融解後3500rpm×5分間遠心処理(3例)のいずれの比較においても、明らかな差は認めなかった。一方で、-20℃保管検体では4時間後および8時間後に変動幅が大きく、保

管庫の開閉などによる温度変化の影響から、各検体が完全凍結に至るまでの時間に差異が生じた可能性も考えられた。これに対し、-80℃保管では、168時間(1週間)後までARC値の変化率 $\pm 5\%$ 以内で推移し、高い安定性を示した。これは、検体が急速に凍結されることでcryoactivationが抑制され、ARC値が安定して保持されたためと考えられた。

5. 結論

検討結果より、本試薬は、基礎的性能評価において良好な結果を示し、日常検査への導入に十分適した性能を有すると考えられた。また、自動分析装置へ搭載可能であり、血清を用いて測定出来ることから、他項目と併せた診察前検査への活用にも有用であると思われる。一方、ARC測定では、低温環境下で生じるcryoactivationの影響に留意する必要がある。特に採血翌日以降に測定を行う場合には、測定値の変動を最小限に抑えるため、検体を急速凍結し、-80℃で保存することにより正確な測定値が担保出来ると考えられた。

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) 吉本貴宣, 平田結喜緒. レニン-アンジオテンシンシステム. 臨床検査 2008;52(11):1326-1329.
- 2) Qureshi S, Hamid M. Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS). Journal of Akhtar Saeed Medical & Dental College 2025;7:45-52.
- 3) 柴田洋孝. 内分泌性高血圧. 日本臨牀 2020;78(2):321-327.
- 4) 日本内分泌学会「原発性アルドステロン症診療ガイドライン策定と診療水準向上」委員会 原発性アルドステロン症診療ガイドライン2021 診断と治療社;東京, 2021
- 5) 松村充子, 伊東裕之, 嶋田昌司ほか. 化学発光酵素免疫測定法を用いた活性レニン濃度およびアルドステロン濃度測定のパフォーマンス評価. JJCLA 2019;44(1)47-53.
- 6) 上市裕子, 小川舞子, 飛田明子ほか. 自動化学発光酵素免疫分析装置Accuraseedによるレニン及びアルドステロン測定の基礎的性能評価. 医学検査 2020;69(4):623-630.

- 7) Özcan Ö, Hillebrand J, Elzen W, et al. Blood collection tubes with protease inhibitors to prevent falsely high renin concentrations due to cryoactivation. *Clinica Chimica Acta* 2025;577;120486
- 8) Jean E.Sealey, Carol Moon, John H, et al. Plasma prorenin: cryoactivation and relationship to renin substrate in normal subjects. *The American Journal of Medicine* 1976;61(5);731-738.
- 9) Hsueh WA, Baxter JD. Human Prorenin. *Hypertension* 1991;17(4);469-477.
- 10) Özcan Ö, Hillebrand J, Elzen W, et al. The Clinical Impact of Sample Storage at -20°C on Renin Reference Intervals and Aldosterone-Renin Ratio Calculations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2024;109(6);e1472-e1475.
- 11) Bonnitcho P, Rigdwell M, Ward P, et al. Standard -20°C freezer storage protocols may cause substantial plasma renin cryoactivation. *Clin Chem Lab Med* 2023;61(8):1428-1435.