

標準物質溶解液温度の影響に関する検証

◎田中 駿輔¹⁾、森本 隆行²⁾、松川 裕司²⁾、中村 友紀子²⁾、山崎 真一²⁾
広島大学病院 診療支援部¹⁾、広島大学病院²⁾

【はじめに】2021年に実施された広島県臨床検査精度管理調査の臨床化学分野にて、一部試料の全対象項目が高値傾向となる事例を経験した。該当試料は凍結乾燥品を冷水にて溶解する調整方法であり、溶解時のピペット操作に関し検証を行った。その結果、ピペット操作や溶解液の温度の違いにより吸引量に差が見られる事が判明した。今回我々はこの事例をもとに、試料の溶解条件の違いに関して検証を行い、若干の知見を得たので結果を報告する。

【対象試料と項目】精度管理調査に使用されていた試料と溶解条件が類似している Aalto EC（極東製薬工業株式会社）を用い、ALP, AST, ALT, AMY, P-AMY, ChE, CK, LD, γ -GT について評価した。

【装置及び使用機材】測定には、BioMajestJCA-BM6070(日本電子)、試料の溶解には、EppendorfReference-2 機械式ピペット、ピペットチップ（ep TIPS）を使用した。

【方法】試料を①～④の条件下で溶解し、対象9項目を2重測定し比較検討を行った。①冷水を用いプレリンスあり
②冷水を用いプレリンスなし③冷水を用いチップも冷蔵し

プレリンスあり④室温の水を用いプレリンスあり

【結果】当院では Aalto EC で校正を行っている ChE の結果から、②で調整した試料の正確性が高いと判断した。他の8項目に関しても常用参照標準物質である JSCC 常用酵素を使用し正確性に問題がないことを確認した②と比較した場合、①では1.3～3.1%、③では1.6～3.9%高値となり、④では逆に0.6～3.5%低値となった。なかでもCKは、②と比較した場合-3.5～3.0%と大きな変動が見られた。

【まとめ】今回の検討では、溶解液の温度やプレリンスの有無により、測定結果に違いが見られた。本来のピペット操作では、分注する溶解液で数回プレリンスを行うことにより正確度が向上するとされている。しかし、冷水の場合はプレリンスを実施する事でチップの温度が下がり、吸引量が低下することが示唆された。今回の検証では、冷水を溶解液とする際にはプレリンスなしの使用が正確性の高い結果となった。今後、他メーカーのピペットチップでも同様の事象が見られるか、また粘稠度の違う試料を用いた比較など引き続き検証を行う予定である。連絡先 082-257-5548

精度管理の異常を契機に反応槽脱気モジュールの異常を発見した事例

◎福永 竜也¹⁾、石原 沙也加¹⁾、中島 雅博¹⁾、空谷 尚美¹⁾、田中 美樹¹⁾
地方独立行政法人 広島市立病院機構 広島市立舟入市民病院¹⁾

【はじめに】

当検査室では生化学自動分析装置 LABOSPECT006（日立）を使用している。今回、膵臓アミラーゼ（P-AMY）で精度管理データ・ブランクデータ・反応タイムコースのバラツキ事例を経験した。原因について精査したので報告する。

【方法・結果】

以下の原因を疑い確認試験を実施した。

1) 試薬の劣化；試薬交換し、同時再現性試験を実施したが、再現性は不良であった。また、交換前の試薬を同機種別機にて同時再現性試験を行ったところ、再現性は良好であった。

2) プローブコンタミネーション；P-AMY 単独で同時再現性試験を実施しバラツキを認めたため、プローブコンタミの可能性は除外された。

3) メンテナンス不良；反応セル・ランプの劣化等を疑いメンテナンスを一通り実施したが、改善されなかった。

【考察】

P-AMY のみで精度管理異常を認めたため、試薬の問題を強

く疑ったが、1) の結果から、機器側に問題があると推測された。2) の結果から他試薬からのコンタミネーションも除外された。メンテナンスも一通り実施したが、データの改善・原因の究明には至らなかった。メーカーに上記データ・実機を確認頂いたところ、反応槽の脱気モジュールが異常を来し、反応槽内に微細な気泡が発生していた事が明らかとなった。気泡が光路を遮り、吸光度のバラツキが生じ、データ不良を起こしていた。そこで他の項目の反応タイムコースを確認すると P-AMY 同様にバラツキを認めた。早期に P-AMY のデータ異常に気がつき原因を究明できたことで、データ異常が多項目に及ぶのを防止することができたと考える。

【まとめ】

P-AMY の精度管理異常の究明から反応層脱気モジュール不良を発見した。精度管理・ブランクデータの変化を注意深く観察し、異常データがある場合には反応タイムコースを確認することの重要性を再認識した。

連絡先 082-232-6195(内線 471)

新規大腸癌バイオマーカーとしての軸索誘導因子 **netrin-1** の有用性評価

◎佐野 好実¹⁾、中山 寛尚¹⁾
広島国際大学 保健医療学部 医療技術学科 臨床検査学専攻¹⁾

【目的】軸索誘導因子 **netrin-1** とそのレセプター群（少なくとも7種）は、元々は神経軸索の伸長や方向性を規定する分子として同定されたが、近年では **netrin-1** が腫瘍細胞とその周辺組織（微小血管ネットワーク、細胞外基質や炎症など）に影響を与える癌微小環境制御因子であることが分かってきた。そこで本研究では、大腸癌患者組織および血清における **netrin-1** 発現量を精査し、大腸癌バイオマーカーとしての有用性を評価した。

【方法】日本鋼管福山病院の協力の下（倫理委員会にて当該研究の承認済）、大腸癌患者組織検体25例および血清検体（大腸癌患者31例、健常者30例）を採取した。**Netrin-1** およびレセプター群の遺伝子発現量は定量PCRにて解析した。血清中 **netrin-1** および **VEGF-A** 濃度測定はELISA (**netrin-1**, **Abbexa** 社 ; **VEGF-A**, **R&D** 社)を用いた。

【結果】大腸癌患者の組織片（癌部と非癌部）における **netrin-1** 遺伝子発現解析を行ったところ、癌部では非癌部に比べて **netrin-1** 遺伝子発現量が有意に低下していることが明らかとなった ($p < 0.05$)。また、**netrin-1** レセプター7種

のうち、5種においても同様に癌部で遺伝子発現が低下していた。さらに血清中 **netrin-1** 濃度を測定したところ、健常者では **438.6 pg/mL** であったのに対して大腸癌患者では **330.1 pg/mL** と有意に低下していた ($p = 0.0028$)。ROC解析の結果、ROC曲線下面積が **0.710** ($p = 0.0065$)、カットオフ値が **293.8 pg/mL** と算出された。一方で、同血清を用いて大腸癌治療標的分子である血管内皮増殖因子 **VEGF-A** 濃度を測定すると、大腸癌患者群で有意に上昇しており **netrin-1** と逆相関していることが明らかとなった。

【考察】大腸癌患者では、癌組織および血清中の **netrin-1** 発現量が低下していることが明らかとなった。**Netrin-1** は癌微小環境制御因子として大腸癌の発生や進展に関与すると考えていたが、他の癌種と異なり発現が抑制されていることは想定外であり、大腸癌に特異的な **netrin-1** 制御システムの存在が示唆された。今後は大腸癌の進行の程度を示すTNM分類との相関や、既存の大腸癌マーカーとの相関を精査して **netrin-1** を標的とした大腸癌マーカーへの臨床応用を目指す。（連絡先：0823-70-4640）

動脈硬化症の未病指標としての相対的酸化ストレス度

◎鎌田 理緒、中本 碧¹⁾、本木 由香里²⁾、金重 里沙²⁾、野島 順三²⁾
山口大学大学院¹⁾、山口大学医学部²⁾

【目的】生体は、「ここまでが健康で、ここからが病気」と明確に区別できず、健康と病気の間「未病」という状態があると推測される。「健康⇒未病⇒病気」の過程において、迅速かつ客観的に「未病」状態を把握できる臨床検査が確立されれば疾病の発症を予防するための指標となるが、現在の臨床検査では未病の指標となる検査項目は確立されていない。本研究では特に相対的酸化ストレス度が動脈硬化症の未病指標の一つとして有用か検討した。

【対象】理化学研究所にて、研究の趣旨、実施する検査項目、研究参加に伴うリスク、データの保管・利用方法などについて十分に説明した後、研究参加の同意が得られ、試験参加条件を満たした被験者一般人ボランティア 1073 名(男性 463 名、女性 610 名、年齢 19~77 歳、平均年齢 44.96 歳)

【方法】一般臨床検査 37 項目に加え、①酸化ストレス値：diacron-Reactive Oxygen Metabolites(d-ROMs)テスト、②抗酸化力値：Biological Antioxidant Potential(BAP)テスト、③相対的酸化ストレス度：Oxidation Stress Index：(OSI)。酸化ストレス値と抗酸化力値のバランス比を表す OSI は、d-ROMs 値

÷BAP 値×8.85(補正係数)で計測した。

【結果】被験者 1073 人を一般臨床検査値の異常項目数により 5 グループに分類し、グループ毎に d-ROMs, BAP, OSI を比較した。その結果、一般臨床検査値の異常項目数が多いグループほど、酸化ストレス値が高く、抗酸化力値が低い結果であり、相対的酸化ストレス度は、臨床検査値の異常項目数の増加と関連して有意に上昇していた。我々は、一般臨床検査値の中でも特に収縮期血圧、拡張期血圧、内頸動脈：Intima Media Thickness(IMT)の 3 項目と酸化ストレスの関連に着目した。d-ROMs 値が 420 unit 以上の亢進群では正常群と比較して内頸動脈 IMT が有意に増加していた。一方、BAP 値が 2200 μ mol/L 以下の低下群では正常群と比較して収縮期血圧、拡張期血圧、および内頸動脈 IMT が有意に増加していた。そして OSI が 1.5 以上の亢進群では正常群と比較して収縮期血圧および内頸動脈 IMT が有意に増加していた。

【考察】相対的酸化ストレス度の亢進は、収縮期血圧の上昇および内頸動脈の肥厚など心血管系における健康から未病への進行に関連している可能性が示唆された。