

Re-Assessment of the Oral Salt Loading Test Using a New Chemiluminescent Enzyme Immunoassay Based on a Two-Step Sandwich Method to Measure 24-Hour Urine Aldosterone Excretion

Yoshinori Ozeki¹, Mizuki Kinoshita¹, Shotaro Miyamoto¹, Yuichi Yoshida¹, Mitsuhiro Okamoto¹, Koro Gotoh¹, Takayuki Masaki¹, Kengo Kambara² and Hirotaka Shibata^{1*}

論文内容：

<はじめに>

2021年3月にアルドステロン濃度の従来測定法であったラジオイムノアッセイ法(RIA法)の測定キットが日本で供給中止となりました。4月以降は、サンドイッチ法を用いた化学発光酵素免疫測定法(CLEIA法)を用いて精度の高いアルドステロン測定が可能になっています。当科と富士フィルム和光純薬の共同研究で、血中アルドステロン濃度に対する新規測定法の検討を行い、精度の解析と併せて、新規検査法では従来法より検査値が低くなることを論文報告しました(Diagnostics. 2021;11(3):433)。

検査法の切り替えにより血中アルドステロン値が低くなったため、日本内分泌学会から「原発性アルドステロン症診療ガイドライン 2021」が発表されました。ガイドラインでは原発性アルドステロン症(PA)のスクリーニングおよび機能確認検査のカットオフ値が暫定的に変更されています。今回の研究では新規検査法における尿中アルドステロン濃度測定への応用および機能確認検査の一つである経口食塩負荷試験のカットオフ値に関して臨床検体を用いて評価を行いました。

<方法>

尿中アルドステロン濃度における新規測定法は、血中濃度測定と同様に2種類の異なる抗体を用いたサンドイッチ法を用いています。

抗アルドステロンモノクローナル抗体結合粒子に、検体中のアルドステロンを反応させ、次いでペルオキシダーゼ標識抗アルドステロン免疫複合体モノクローナル抗体を反応させる

と、「抗体結合粒子-アルドステロン-酵素標識抗体」の免疫複合体が形成されます。抗体結合粒子に結合した酵素の量はアルドステロン濃度に比例するため、その酵素活性を化学発光試薬で測定することにより、検体中のアルドステロン濃度を求めることができます。

本研究では当科に入院した 115 症例の蓄尿検体(男性 60 名、女性 55 名)を用いて新規検査法(新 CLEIA 法)、LC-MS/MS 法、RIA 法における尿中アルドステロン濃度の測定結果を比較解析しました。

また、経口食塩負荷試験(OSLT)の負荷基準である尿中 Na \geq 170 mEq/day を満たした 51 検体を用いてカットオフ値の検討を行いました(PA 群 43 症例 vs 非 PA 群 8 症例)。追加解析として、選択的副腎静脈サンプリング(AVS)で局在診断の確定している PA 26 症例における尿中アルドステロン濃度の検討も行いました(片側性 10 症例 vs 両側性 16 症例)。

<結果と考察>

尿中アルドステロン濃度において新規検査法と日本内分泌学会が認定する標準検査法である LC-MS/MS 法との高い相関が確認されました (Fig. 1)。

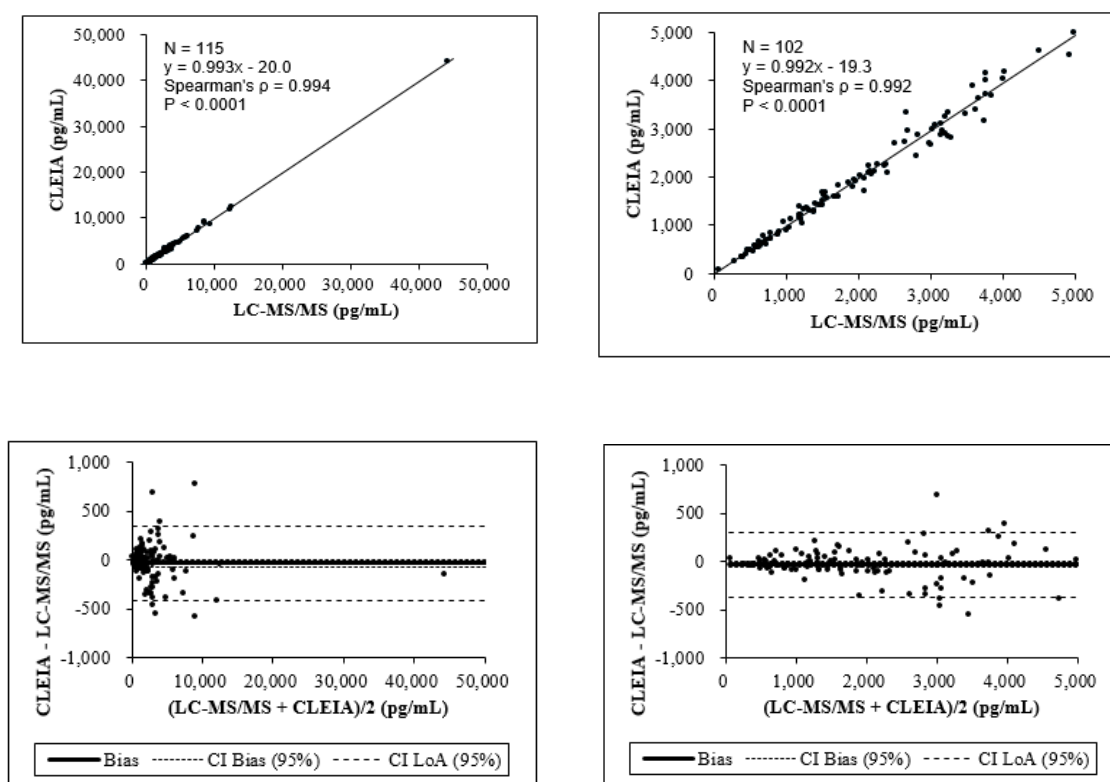


Fig. 1 新 CLEIA 法 vs LC-MS/MS

一方で血中アルドステロンと同様に従来の RIA 法との間には測定値に一定の差を認め、RIA 法と比較して尿中アルドステロン濃度が低値でした (Fig. 2)。

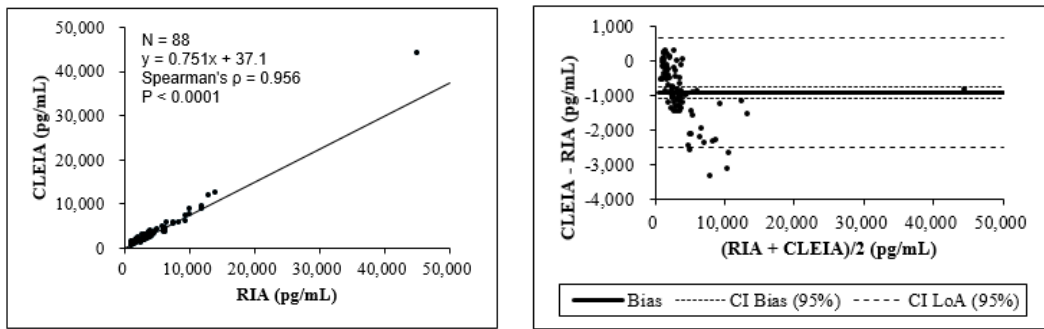


Fig. 2 新CLEIA法 vs RIA法

これらの結果を踏まえると、PA診断における従来のカットオフ値はRIA法に基づいて設定されていることから、検査法に併せたカットオフ値の再設定が必要と考えられます。そのため、新規尿中アルドステロン測定キットを用いてOSLTの再評価を行いました。ROC曲線から求められた診断カットオフ値は $3\mu\text{g}/\text{日}$ であり、従来の $8\mu\text{g}/\text{日}$ と比較して極めて低値でした(Fig. 3)。

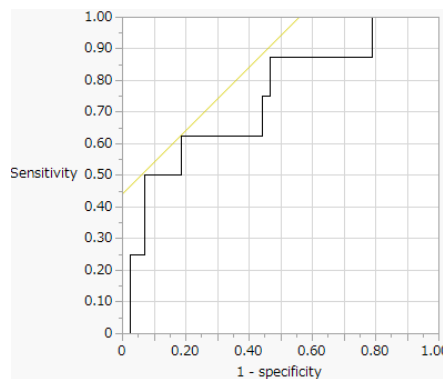


Fig. 3 The receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for oral sodium loading test cut off value

PA診断における大きな変化として、「原発性アルドステロン症診療ガイドライン 2021」で診断カットオフ値の暫定的な変更が行われました。その中では当科が以前報告した血中アルドステロン濃度に関する論文も引用されています。OSLTにおけるカットオフ値は尿中アルドステロン濃度 $\geq 8\mu\text{g}/\text{日}$ から $\geq 6\mu\text{g}/\text{日}$ へと低く設定されました。しかし、 $6\mu\text{g}/\text{日}$ という数値は別のCLEIA検査キットで算出されたRIA法からの換算式によって暫定的に設定された値であり、今回の研究のような臨床検体を用いた検討はまだ行われていません。今後は検体数を増やした上での更なる検討を行い、カットオフ値の検証が必要と考えます。

また、PAにおいて片側病変はその重症度から手術適応となる病態であり、AVSによる局在診断がPA治療において重要な役割を担っています。しかし、AVSはその侵襲性と専門性から実施できる施設が限られており、様々な臨床所見(年齢、血清K値、副腎腫瘍)を元にAVSを必要としない症例の鑑別が可能との報告もみられます。尿中アルドステロン濃度は24時間のアルドステロン排泄を反映するため、PAの重症度と相関するとも報告されています。今

回の研究では、局在診断の一つの参考所見として OSLT を解析したところ、片側病変と両側病変のカットオフ値は尿中アルドステロン濃度 $\geq 9.4 \mu\text{g}/\text{日}$ でした。しかし、今回は少ない症例での解析であり、症例数の蓄積およびその他の臨床所見と組み合わせた追加解析も必要と考えます。

尾関コメント：

新規検査キットを用いた富士フィルム和光純薬との共同研究として、柴田教授のご指導のもとで今回のような論文を報告することができました。原発性アルドステロン症の機能確認検査の一つである経口食塩負荷試験において尿中アルドステロン濃度測定は極めて重要です。今回の研究結果から新規検査キットは実臨床において尿中アルドステロン濃度測定に有用であり、新規検査キットの承認後より迅速かつ精度の高い尿中アルドステロン濃度測定が可能になります。

ここ数年の PA 診断における大きな変化の中で、大分県から新ガイドラインにも関連する報告を行うことができました。多くの蓄尿検体を必要としたため、同意書の取得や検体採取において病棟関係者の方々に多くのお力添えをしていただき大変感謝しております。また、本論文にご協力して頂きました先生方および富士フィルム和光純薬関係者の皆様にも改めて感謝申し上げます。

今後の展望として PA 診断におけるカットオフ値の再検証を含めた追加研究を計画しております。

HIRO'S EYE

内分泌糖尿病内科・病院特任助教 尾関良則先生

内分泌糖尿病内科病棟チーム、富士フィルム和光純薬開発部との合作。



尾関先生、論文アクセプトおめでとう！

この論文は、富士フィルム和光純薬の開発部との共同研究で始めた研究です。2021年3月に、新しい CLEIA 法によるアルドステロン測定キット「アキュラシード・アルドステロン S」の性能について血清、血漿を用いて検証した論文を *Diagnostics* に発表した後、今回は蓄尿検体を用いた 24 時間尿中アルドステロン排泄量の測定の性能を検証した内容です。

尿中アルドステロンは主に原発性アルドステロン症の機能確認検査の 1 つの経口食塩負荷試験で用いており、「原発性アルドステロン症診療ガイドライン 2021」では CLEIA と RIA のキット間の換算式を用いて、24 時間尿中アルドステロンが $6 \mu\text{g}$ 以上の時に陽性と記載されました。しかし、これは実際の患者の臨床検体を用いて設定されたものではないことから、我々は自験例の 24 時間尿を用いて検討したところ、カットオフ値は $3 \mu\text{g}/\text{日}$ 以上（感度 63%、特異度 82%）でした。今後、多施設での検証が必要となりますが、診療ガイドラ

インの適正カットオフ値は CLEIA では見直す必要があります。診断に直結する臨床研究で
前報に続いて貴重な報告です。 (柴田洋孝)