



Development of a New Chemiluminescent Enzyme Immunoassay Using a Two-Step Sandwich Method for Measuring Aldosterone Concentrations

by Yoshinori Ozeki ¹ , Yukie Tanimura ¹ , Satoshi Nagai ¹ , Takuya Nomura ¹ ,
 Mizuki Kinoshita ¹ , Kanako Shibuta ¹ , Naoki Matsuda ¹ , Shotaro Miyamoto ¹ ,
 Yuichi Yoshida ¹ , Mitsuhiro Okamoto ¹ , Koro Gotoh ¹ , Takayuki Masaki ¹ ,
 Kengo Kambara ² and Hiroataka Shibata ^{1,*}

論文内容：

<はじめに>

原発性アルドステロン症(PA)は二次性高血圧において最も頻度が高く、本態性高血圧に比べて心血管疾患や慢性腎臓病などのリスクが高いことが分かっています。PAの診断においてはスクリーニング検査、機能確認検査を実施し、局在診断として選択的副腎静脈サンプリング(AVS)が実施されています。これら全ての検査において血中アルドステロン濃度が重要であることから、実臨床において正確かつ迅速なアルドステロン濃度測定が求められます。血中アルドステロン濃度はこれまでラジオイムノアッセイ法(RIA法)で測定されていましたが、近年では化学発光酵素免疫測定法(CLEIA法)での迅速な測定が可能となりました。従来のCLEIA法はRIA法と検査値の高い相関が認められている一方で、日本内分泌学会が認証標準物質として設定しているLC-MS/MSと測定値の差も指摘されています。

富士フィルム和光純薬より2ステップサンドイッチ法を用いた新たな血中アルドステロン濃度測定キットが開発されたことから、今回の研究では新規検査の精度について実臨床の検体を用いて評価しました。

<方法>

新規測定法は従来法と同じくCLEIA法を原理としますが、2種類の異なる抗体を用いたサンドイッチ法である点が異なります。測定法の概略図をfig.1に示します。

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27症例75検体を用いて新CLEIA法、LC-MS/MS法、RIA法、従来CLEIA法における血中アルドステロン濃度の測定結果を解析しました。

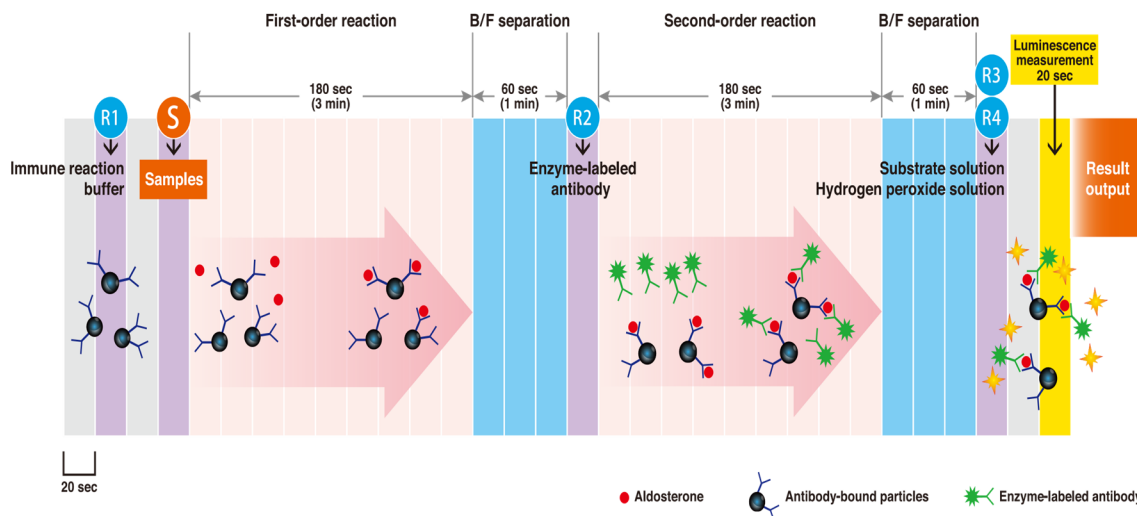


Fig.1 Schematic representation of aldosterone concentrations measurement using a two-step sandwich method

<結果と考察>

検査精度が改善したことにより新 CLEIA 法の検出範囲は 3-3200pg/mL に拡大され、これまでは難しかった低値測定や AVS など高濃度検体の測定の際に行っていた希釈回数を減少することが可能となりました(従来 CLEIA 法の検出範囲は 50-1600pg/mL)。

そして今回の研究検体において、新 CLEIA 法と LC-MS/MS 法における高い相関が確認されました (Fig. 2)。

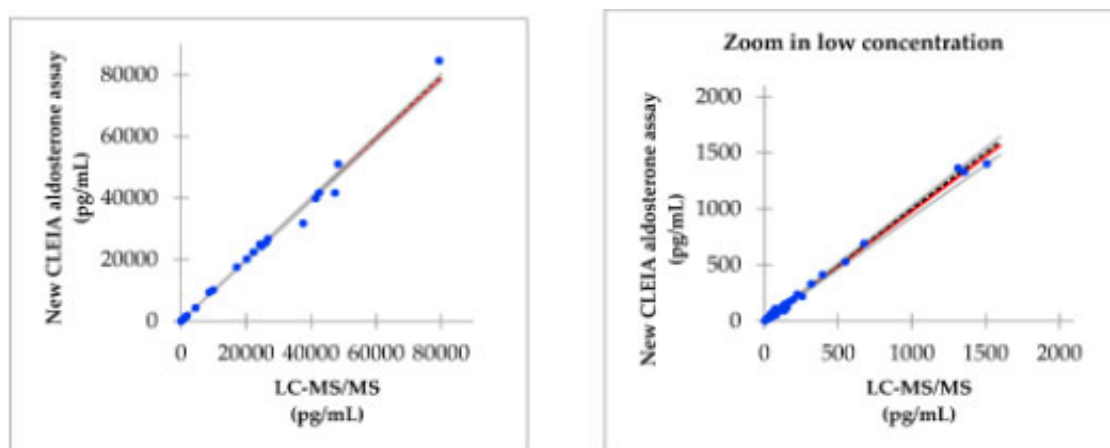


Fig. 2 新 CLEIA 法 vs LC-MS/MS

一方で新 CLEIA 法と従来 CLEIA 法および RIA 法の間には測定値に一定の差を認め、従来 CLEIA 法、RIA 法と比較してアルドステロン濃度が低値でした (Fig. 3)。

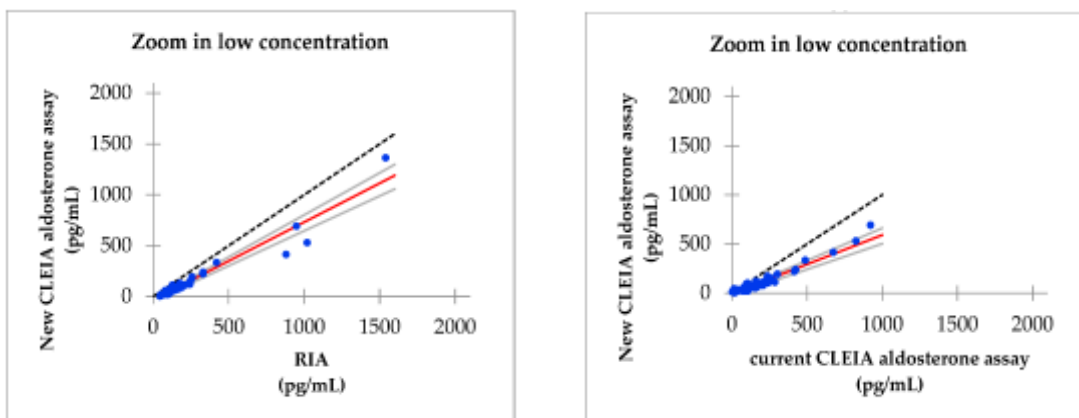


Fig. 3 新CLEIA法 vs RIA法

新CLEIA法 vs 従来CLEIA法

今回の結果を元に算出されたRIA法と新CLEIA法における換算式は以下の通りです。

$$\text{New CLEIA (pg/mL)} = 0.765 \times \text{RIA (pg/mL)} - 33.7$$

2021年3月にRIA法におけるアルドステロン測定キットが廃止されることから、今後はCLEIA法が重要な役割を占めます。実臨床の検体において新規試薬を用いた血中アルドステロン濃度はLC-MS/MS測定値との高い相関を認め、新規検査が臨床において有用であることが示されました。しかし、本邦における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はRIA法を元に設定されていることから、今後の課題として新規検査法を用いたカットオフ値の設定が必要になります。カットオフ値の設定においては本論文でのRIA法との換算式が有用であると考えます。

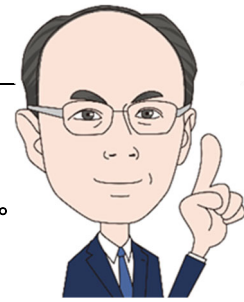
尾関コメント：

血中アルドステロン濃度の新規検査法について柴田教授のご指導のもとで論文化という形にできたことを大変嬉しく思っています。我々は実臨床で日常的に血中アルドステロン濃度を測定していますが、より精度の高い検査法が開発されたことは原発性アルドステロン症の診断治療の大きな一歩になると考えています。検査システムが切り替わっていくと予想される重要な局面で今回のような報告ができましたが、短時間でより多くの検体が必要であったため、同意書の取得や検体採取において病棟関係の先生方には非常に助けて頂きました。本論文にご協力して頂きました多くの先生方および富士フィルム和光純薬関係者の皆様に改めて感謝申し上げます。今後も尿検体のアルドステロン測定やカットオフ値の検証など追加報告が出来るよう励んで参ります。

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。日常診療でアルドステロンの迅速かつ正確な測定は原発性アルドステロン症をはじめ様々な病態の診断にかかせません。2021年3月末で長年用いられてきたRIA (Radioimmunoassay) 法による測定を業者が中止して、今後は3つの会社（富士フィルム和光純薬、富士レビオ、日立化成）がいずれも新しいCLEIA法 (Chemiluminescent enzyme immunoassay) で測定することになります。それにあたり、この3月までの測定値から大幅にアルドステロン濃度が低い値に変更になるので日常診療上、大変重要な問題です。RIA法もCLEIA法もアルドステロンに対する抗体を用いた抗原抗体反応による測定ですが、新しいCLEIA法ではアルドステロンに対する2種類の抗体を用いてサンドイッチのように複合体を形成したものを測定するという原理です。レニンはずでにサンドイッチ法CLEIAで測定されていましたが、アルドステロンのようなステロイドホルモンの測定にはサンドイッチ法の適応は難しいと考えられてきました。抗体を用いたホルモン濃度測定は質量分析 (LC-MS/MS 法) で測る正確な値とはどうしても乖離があるとされてきましたが、今回の新しいCLEIA法によるアルドステロン測定値はLC-MS/MSと極めて良い相関を認めることもわかりました。今までのRIA法による測定値との換算式も導き出すことができ、今後の原発性アルドステロン症のスクリーニングにおけるPAC>120pg/mLがPAC>60pg/mLに変更されたりと実臨床でのエビデンスの構築と今後のガイドライン改訂が必要になります。今回の論文はそれらの基本になる論文でガイドラインなどにも引用されるべき重要な論文です。