

技術論文

心筋トロポニンI測定試薬「アーキテクト[®]・high sensitive トロポニンI ST」の基礎的検討

○中辻 瑞穂 西尾 久明 北川 秀子 村木 一成
 岩崎 由紀 速水 猛 入野 保 大澤 漢宇
 滋賀県立成人病センター 臨床検査部

Key Words

高感度、心筋トロポニンI、アーキテクト、CLIA法

【要 約】

心筋トロポニンIは、急性心筋梗塞ガイドライン（日本循環器学会・2013年）にて、感度・特異度共に最も高い心筋マーカーとして位置付けられている。今回我々は新しく開発された、CLIA法を原理とする血中心筋トロポニンI高感度測定試薬「アーキテクト[®]・high sensitive トロポニンI ST」(hsTnI)の基礎的検討を行った。その結果、同時再現性2.3~3.5%、希釈直線性は50,000 pg/mlまで直線性を確認した。検出限界は従来試薬よりも10倍以上向上した。また、いずれの共存物質の影響も認めなかった。従来試薬との相関性は回帰式 $y = 1.19x - 161.85$ 、相関係数 $r = 0.99$ と高い正の相関性を認めた。健常人参考値は平均1.73 pg/mlとなり、健常人の47%が検出感度以上であった。hsTnIは優れた基礎的性能を示し、日常の測定において有用であることが示唆された。

【はじめに】

心筋トロポニンIは、日本循環器学会の急性心筋梗塞ガイドライン（2013年）にて、最も感度・特異度の高い心筋マーカーとして位置付けられている¹⁾。近年、心筋トロポニンI高感度試薬が開発されたことにより、早期の急性冠症候群診断や、慢性心不全治療など、種々の心疾患の予後評価にも活用されつつある²⁾。今回われわれは、高感度試薬のうち「アーキテクト[®]・high sensitive トロポニンI ST」(アボット ジャパン株式会社) (hsTnI試薬)について基礎的性能評価を行った。

【測定原理および方法】

1. 測定原理

アーキテクト[®]・high sensitive トロポニンI STはCLIA法により血清または血漿中のトロポニンIを検出する2Step免疫測定法である。Step 1で抗トロポニンIモノクローナル抗体固相化磁性粒子と、検体中のトロポニンが反応し複合体を形成する。未反応物質を洗浄後、Step 2でアクリジニウム標識抗トロポニンモノクローナル抗体をさらに反応させ、検体中トロポニンIと結合させる。再び未反応物質を洗浄し、プレトリガー（過酸化水素水）、トリガー（水酸化ナトリウム）を添加することによって発する化学発光を発光強度（RLU）として測光し、濃度を算出する。

2. 方法

hsTnI試薬は添付文書に従い、「ARCHITECT®アナライザー i2000SR」で測定した。管理試料は専用コントロールを使用し、対照試薬は「アーキテクト®・トロポニンI ST」（以下TnI）を用いた。試薬はいずれも同一ロットを使用した。

1) 同時再現性

専用コントロール3濃度を10回同時測定した。

2) 日差再現性

初日のみキャリブレーションを行い、専用コントロール3濃度を25日間連続測定した。

3) 感度・検出限界

検出限界は2SD法で求めた。20 pg/mlの標準液を段階希釈したものを各3重測定し、濃度の測定値の平均値-2SDがブランク濃度+2SDを下回らない最少濃度を検出限界とした。この検出限界を従来TnI試薬とhsTnI試薬で比較した。

4) 希釈直線性

50,000 pg/mlの標準液を10段階希釈し測定した。

5) 共存物質の影響

干渉チェック・干渉チェックAプラス（シスメックス株式会社）を用いて、溶血ヘモグロビン・抱合型ビリルビン・非抱合型ビリルビン・乳び・RFの5項目の影響について検討した。各共存物質の添加量0濃度を100%として測定値±10%の差に影響ありとした。

6) 相関性

当院において、2014年11月12日から2014年12月18日の間でTnI測定依頼のあったEDTA-2Na加血漿の患者検体32例をhsTnI試薬と比較した。

7) 健常人参考値

当院の健常職員32名（男性8名、女性24名、平均44.9歳）を対象として、平均値を算出した。

【結果】

1. 再現性（表1）

同時再現性のCVは2.3~3.5%、日差再現性のCVは3.6~4.5%と、いずれも良好な結果を示した。

表1 再現性

	検体	Mean (pg/ml)	SD (pg/ml)	CV (%)
同時再現性	レベル1	19.2	0.7	3.5
	レベル2	184.6	5.3	2.8
	レベル3	14885.7	340.7	2.3
日差再現性	レベル1	19.9	0.9	4.5
	レベル2	189.0	6.7	3.6
	レベル3	15073.0	614.8	4.1

2. 感度・検出限界（図1）

hsTnI試薬の検出限界は1.25 pg/ml、TnI試薬は15.6 pg/mlであり、hsTnI試薬の検出限界の向上が確認できた。

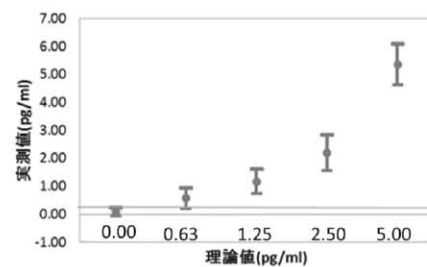


図1-1 hsTnI試薬の検出限界

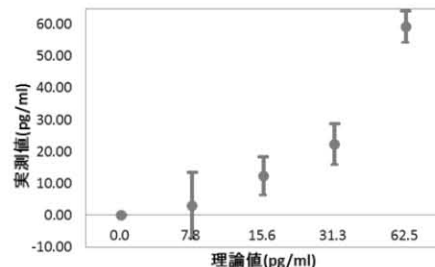


図1-2 従来TnI試薬の検出限界

3. 希釈直線性（図2）

希釈直線性は終点まで直線性が得られた。

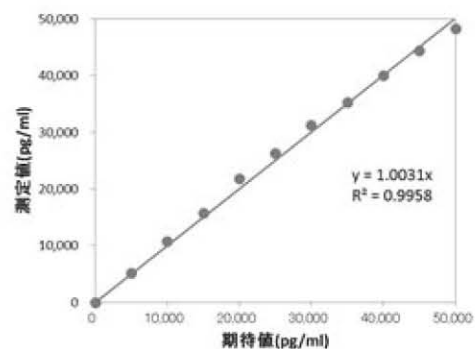


図2 希釈直線性

4. 共存物質の影響 (図3)

共存物質は溶血ヘモグロビン490 mg/dl、抱合型ビリルビン 21 mg/dl、非抱合型ビリルビン 185 mg/dl、乳び 1450 FTU、RF 500 IU/lの各濃度まで影響は認めなかった。

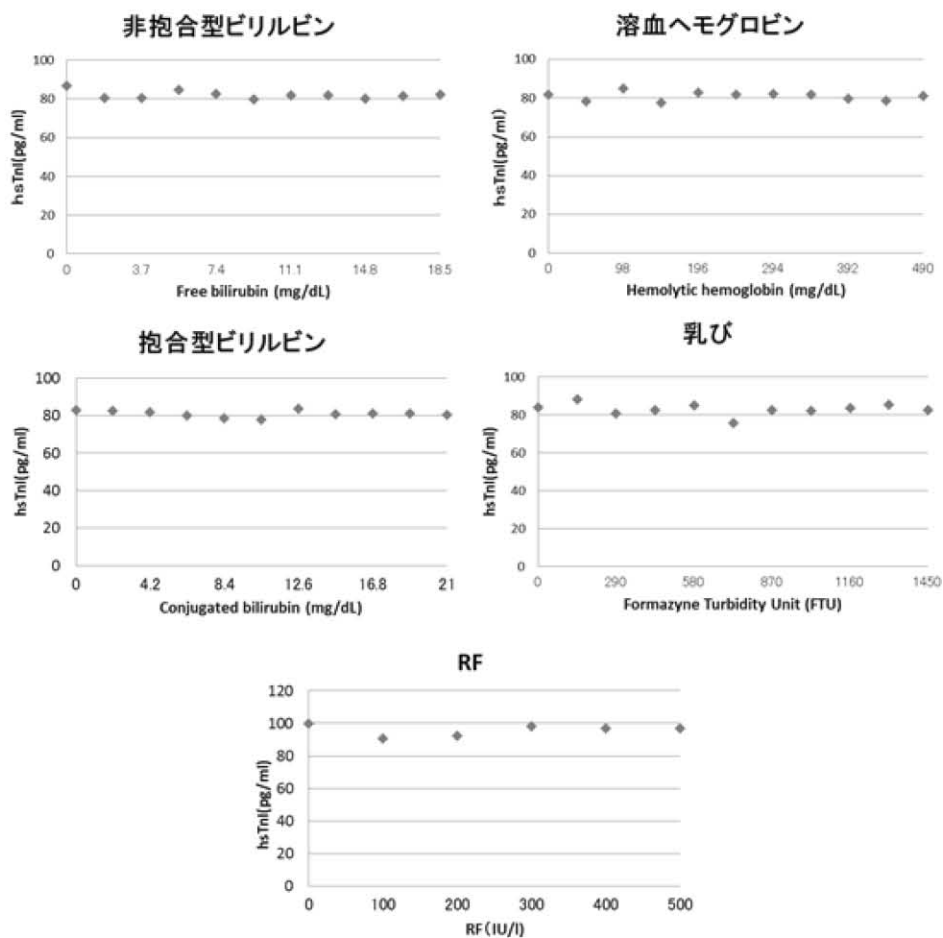


図3 共存物質の影響

5. 相関性 (図4)

相関性は回帰式 $y=1.19x - 161.85$ 、相関係数 $r= 0.99$ となった。1,000 pg/ml以下の低濃度域では、回帰式 $y=0.90x - 0.19$ 、相関係数 $r=0.98$ と高い正の相関性を認めた。

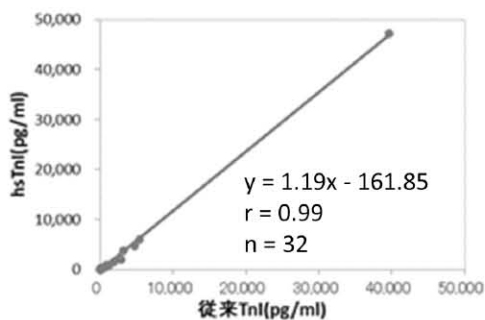


図4 hsTnI試薬と従来TnI試薬の相関性

6. 健常人参考値 (図5)

当院の健常職員32名(男性8名、女性24名、平均44.9歳)を対象としたところ、平均値は1.73 pg/mlであった。検出限界以上の値となったのは32名中15名(47%)であった。

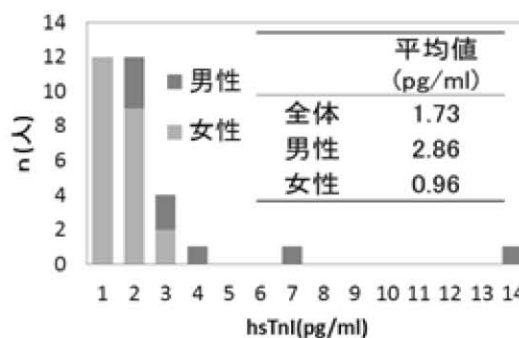


図5 健常人参考値

【考 察】

今回、心筋トロポニン I 測定試薬「アーキテクト[®]・high sensitive トロポニン I ST」の基礎的検討を行った。その結果、同時再現性2.3~3.5%、日差再現性3.6~4.5%、希釈直線性は50,000 pg/mlまで直線性を確認した。また、いずれの共存物質の影響も認めなかった。従来試薬との相関性は回帰式 $y=1.19x-161.85$ 、相関係数 $r=0.99$ と高い正の相関性を認めた。本検討において、hsTnIは良好な基礎的性能を示した。検出限界は従来試薬の15.6 pg/mlから1.25 pg/mlとなり、10倍以上向上した。

hsTnI試薬では健常人32名のうち、15名(47%)が検出感度以上という結果であった。高感度試薬の定義である「健常人の50%以上が測定可能」という評価基準³⁾には届かなかった。この理由として、対象には基準値の低い女性が多い点や、母数が十分でない点が考えられ、今後さらに検討を加えていきたい。

一方、従来試薬では健常人のうち検出限界以上のものは存在しなかった。hsTnI試薬は、従来試薬よりも多くの健常人の心筋トロポニンI測定が可能となったことで、個々の正常範囲や、より正確な健常人の99パーセントイル値が明らかとなった。野村らによると、急性冠症候群の診断において、心電図所見では鑑別診断が困難であり、心筋トロポニンIの軽度上昇が鑑別に有意であった一例が示されている⁴⁾。高感度心筋トロポニン I がより早期の急性冠症候群の診断や潜在的心血管障害の発見に寄与することが期待される。

また近年、心筋トロポニンIは急性冠症候群診断のみならず、種々の心筋障害や肺疾患、心筋毒性のある薬剤で上昇すること、さらに慢性心不全や肺疾患患者においても独立した予後予測に有意なマーカーであることが報告されている^{5) 6)}。

以上のことから、高感度心筋トロポニンIは他検査所見では発見できなかった心血管障害の早期発見に役立つこと、また微少な上昇を測定できるようになったことで心筋障害の度合いをとらえることが期待できる。そのため、心筋トロポニンIが上昇する

疾患や病態について、より詳細に解明することが必要である。

【結 語】

本検討において、アーキテクト[®]・high sensitive トロポニン I STは優れた基礎的性能を示し、検出限界の向上を認めた。その結果、日常の測定において有用であることが示唆された。

【参考文献】

- 1) ST上昇型急性心筋梗塞の診療に関するガイドライン (2013年改訂版) : http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2013_kimura_h.pdf (2015年11月閲覧)
- 2) 慢性心不全ガイドライン (2010年改訂版) : http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2010_matsuzaki_h.pdf (2015年11月閲覧)
- 3) Apple FS *et al.*: " A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard" ,*Clin Chem*,2009;55:1303-1306.
- 4) 野村 由紀子,他:「術前の急性心筋梗塞発症に気づけなかった緊急手術の1症例」,*麻酔*,2013;62:1426-1429.
- 5) Demir N *et al.*: " The value of cardiac troponins in diagnosis and differential diagnosis of pulmonary embolism" ,*J Pulmon Resp Med*,2012;28 doi:10.4172/2161-105X,1000134.
- 6) Aronow WS *et al.*: " Prevalence of increased cardiac troponin I levels in hospitalized patients with pneumonia and in-hospital mortality in patients with increased versus normal cardiac troponin I levels" ,*Open Journal of Cardiology*,2012;3-1.