

〈技術〉

新規sIL-2R測定試薬「ナノピアIL-2R」の性能評価

三好 雅士¹⁾、西岡 麻衣¹⁾、中尾 隆之¹⁾、土井 俊夫²⁾

Performance evaluation of “Nanopia IL-2R” for measuring soluble interleukin-2 receptor

Masashi Miyoshi¹⁾, Mai Nishioka¹⁾, Takayuki Nakao¹⁾ and Toshio Doi²⁾

Summary The soluble interleukin-2 receptor is used as an index to evaluate the activity of hematopoietic tumors such as Non-Hodgkin's lymphoma.

In this study, we evaluated the performance of the newly reagent, Nanopia IL-2R.

The coefficients of variation (C.V.) for within-run and between-day precision analyses were 1.0 ~ 2.6% and 1.7 ~ 1.9%, respectively.

The Nanopia IL-2R detection limit was 40.4 U/mL and preserved linearity up to 9320 U/mL.

Upon examination of coexisting substances, only the addition of chyle influenced assay performance.

After opening the Nanopia IL-2R reagent, the measured values increased over time, and an increase of 5.3 to 12.9% was observed over 10 days.

We inferred that one reason for this observation is the improved action of the additive.

Owing to the installation of the Nanopia IL-2R measurement system in an automatic analyzer, the assay provides fast and efficient operation, and we anticipate that this reagent will be applicable to routine use.

Key words: soluble interleukin-2 receptor, automated analyzer, latex agglutination turbidimetry

¹⁾ 徳島大学病院 診療支援部 臨床検査技術部門
(徳島県徳島市蔵本町2丁目50-1)

²⁾ 徳島大学病院 検査部
(徳島県徳島市蔵本町2丁目50-1)

¹⁾ Department of Medical Technology, Tokushima University Hospital
(2-50-1 Kuramoto-cho, Tokushima-shi, Tokushima, 770-8503, Japan)

²⁾ Department of Clinical Laboratory, Tokushima University Hospital
(2-50-1 Kuramoto-cho, Tokushima-shi, Tokushima, 770-8503, Japan)

受付日：2017年10月11日

採択日：2017年10月24日

I. 諸言

可溶性インターロイキン-2レセプター (sIL-2R) は、抗原刺激により活性化されたT細胞およびB細胞に発現するタンパク質である。α鎖 (CD25)、β鎖 (CD122)、γ鎖 (CD132) の3つのポリペプチド鎖から構成され、血中に遊離したα鎖の一部がsIL-2Rとされる¹⁾。

血中sIL-2R濃度は、非ホジキン悪性リンパ腫や成人T細胞性白血病などの造血器腫瘍、関節リウマチなどの自己免疫性疾患において変動する^{1)~3)}。確定診断に用いることはできず、これら疾患の経過観察など活動性の評価指標として使用されている⁴⁾。

測定には専用分析機器を必要とする化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) が一般的に使用されているが^{5),6)}、抗ヒトIL-2R抗体を用いたラテックス免疫比濁法を測定原理とした新規試薬が開発された。

今回我々は、汎用自動分析装置に搭載可能となった新規測定試薬である「ナノピアIL-2R」について性能評価を行ったので報告する。

II. 方法と材料

1. 検討試料

検討には、精度管理用試料IL-2Rコントロール (積水メディカル) および患者検体を使用した。患者検体については、当院検査部に提出され、sIL-2Rが外部委託された50例の患者残余血清を用いた。なお、本検討は徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会の承認後 (承認番号1919)、匿名化し実施した。

2. 試薬および測定機器

ナノピアIL-2R (積水メディカル) について、日立7180形自動分析装置 (日立ハイテクノロジー) を用い、メーカー指定パラメータ (試料: 5.6 μL、第1試薬: 120 μL、第2試薬: 40 μL、2-Point End Assay) にて検討を行った。また、相関用比較対照として、CLEIA法を測定原理とするデータミナー CL IL-2R (協和メデックス) を使用した。

3. 測定原理

抗ヒトIL-2Rマウスモノクローナル抗体および抗ヒトIL-2Rラットモノクローナル抗体感作

ラテックスを用いた凝集免疫比濁法である。

抗原抗体反応による凝集を吸光度変化として、主波長570 nm、副波長800 nmにて測定することにより、sIL-2R濃度を測定する。

III. 検討内容

1. 同時再現性

2濃度の精度管理用試料を連続20回測定し、同時再現性を確認した。

2. 日差再現性

初回測定時のみキャリブレーションを実施、2濃度の精度管理用試料を5日間 (n=2) 測定し、日差再現性を確認した。

3. 希釈直線性

高濃度試料を生理食塩水にて10段階に希釈、各2重測定し、希釈直線性を確認した。

4. 検出限界

低濃度試料を生理食塩水にて10段階に希釈、各試料について10重測定を実施し、2.6SD法にて検出限界を確認した。

5. 共存物質の影響

干渉チェックAプラス (シスメックス) および干渉チェックRFプラス (シスメックス) をプール血清に添加し、共存物質の影響を確認した。

6. 試薬開封後安定性

初回キャリブレーション実施以降、一切キャリブレーションを実施せず、2濃度の精度管理用試料を30日間 (n=2) 測定し、試薬開封後の安定性について確認した。

7. 相関

患者残余血清50例を用い、CLEIA法であるデータミナー CL IL-Rとの相関を確認した。

IV. 結果

1. 同時再現性

2濃度の精度管理用試料を連続20回測定した平均値および変動係数は、Mean: 491.6 ~ 2107.0 U/mL、C.V. (%) : 1.0 ~ 2.6%であった (Table 1-a)。

2. 日差再現性

2濃度の精度管理用試料を5日間 (n=2) 測定した平均値および変動係数は、Mean: 477.5 ~

Table 1. Precision

Within-run (n=20)		
	Control I	Control II
Mean (U/mL)	491.6	2107.0
S.D. (U/mL)	12.85	21.50
C.V. (%)	2.6	1.0
Between-day (Day 5 / n=2)		
	Control I	Control II
Mean (U/mL)	477.5	2033.7
S.D. (U/mL)	8.12	37.61
C.V. (%)	1.7	1.9

2033.7 U/mL、C.V. (%) : 1.7 ~ 1.9%であった (Table 1-b)。

3. 希釈直線性

sIL-2R高濃度試料を用いて希釈直線性を評価した結果、9320 U/mLまでの直線性が確認できた。なお、理論値との比較において若干のシグモイド傾向が認められた (Fig. 1)。

4. 検出限界

低濃度試料を用い、2.6SD法にて検出限界を評価した結果、検出限界値は40.4 U/mLであった (Fig. 2)。

5. 共存物質の影響

干渉チェックAプラスおよび干渉チェックRFプラスを用い、共存物質の影響を確認した結果、

ビリルビンC : 20 mg/dL、ビリルビンF : 20 mg/dL、ヘモグロビン500 mg/dL、RF : 550 IU/mLまでの添加による影響は認められなかった。

一方で、乳びの添加においては濃度依存的に測定値が低下し、3300ホルマジン濁度の添加にて-9.1%の変動を認めた (Fig. 3)。

6. 試薬開封後安定性

試薬開封後より経時的な高値傾向を呈し、10日経過時において、初回値に比し5.3 ~ 12.9%、30日経過時では10.2 ~ 21.6%の上昇を認めた (Fig. 4)。

7. 相関

CLEIA法との相関を確認した結果、回帰式は $y=1.00x+21.2$ 、相関係数 $r=0.999$ となり、良好な相関が得られた。また、極端な乖離検体も認められなかった (Fig. 5)。

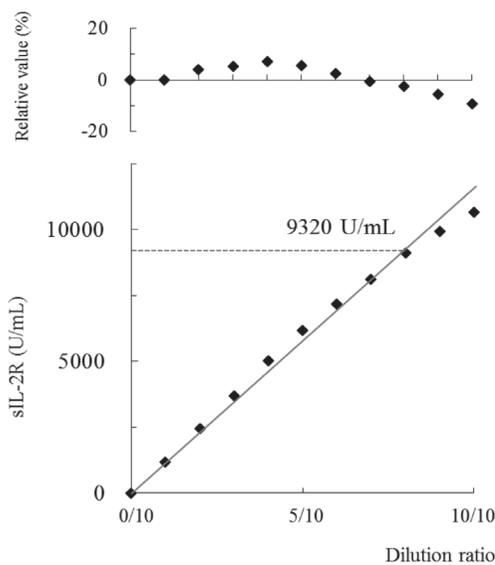


Fig. 1 Dilution linearity

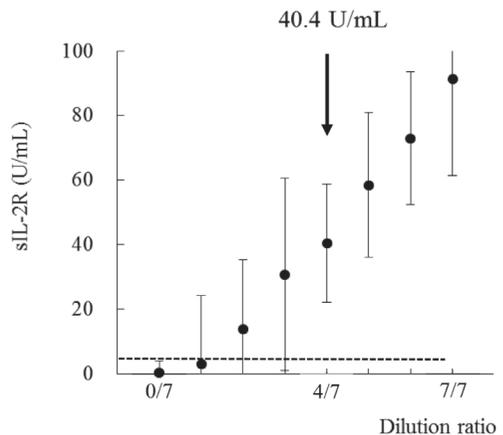


Fig. 2 Detection limit

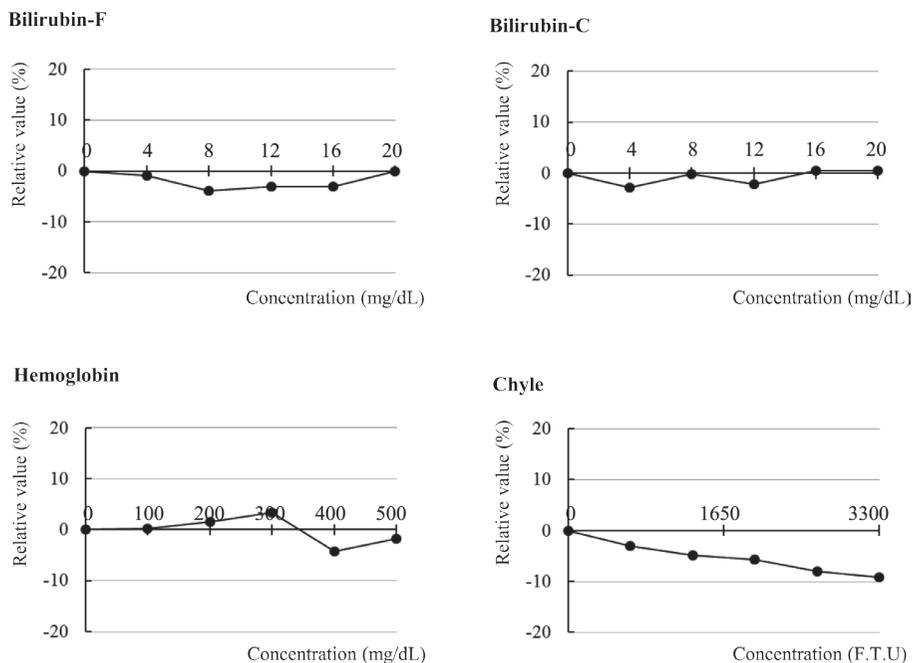


Fig. 3 Effect of interfering substances

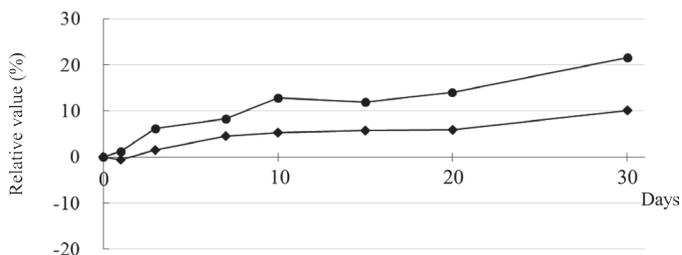


Fig. 4 Stability of reagents after opening

● : Control I ◆ : Control II

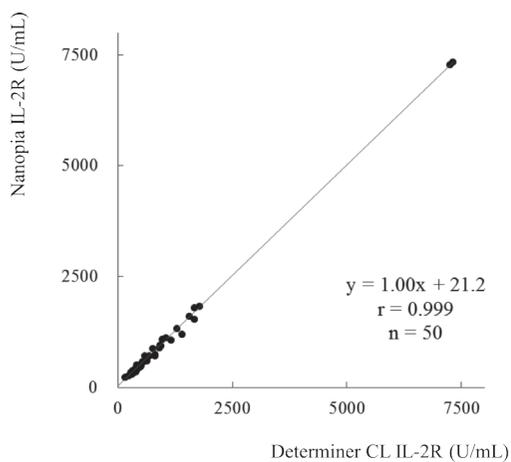


Fig. 5 Correlation

V. 考察

同時再現性、日差再現性は良好な結果であった。

希釈直線性の検討においては、9320 U/mLまでの直線性が確認できた。また、検出限界の検討においては、40.4 U/mLまでの定量性が確認できたことから、本試薬の測定範囲は40.4 ~ 9320 U/mLと評価した。CLEIAを原理に用いる測定試薬においては、100,000 U/mLを超える直線性を有する試薬も存在する⁷⁾。高濃度域の測定においてはCLEIA法が有利であるものの、日常検査においては十分な測定範囲を有するものと考えられた。

共存物質の検討においては、乳びの添加によってのみ測定値への影響が認められた。反応過程の解析から、異常反応や濁度上昇による影響は否定されたが、測定値低下の原因は解明できなかった。極度の乳び検体においては、測定値低下の可能性があることを認識し、影響を回避する必要があると考えられた。

キャリブレーション未実施のオンボード安定性の検討では、試薬開封後、経時的な測定値の上昇が認められた。低濃度域においては10日経過時で10%を超える変動を認め、精度管理試料によるトレンドの監視や定期的なキャリブレーションが必須であると考ええる。上昇の原因として、開封後の時間経過に伴う試薬濃縮により、反応が亢進した可能性がある。検査室の温度管理や使用頻度による開封期間の差異など、施設環境により変動の程度は異なると考えられるため、適切な内部精度管理の実施が望まれる。

デタミナー CL IL-Rとの相関は良好であり、大きく乖離する検体も認められなかった。他にもCLEIA法を用いた測定試薬は普及しているが、これら試薬間の相関も良好であり^{6),7)}、測定原理や標準物質に起因する方法間差は小さいものと考えられた。ただし抗原抗体反応を原理とする試薬においては、HAMA (Human anti mouse antibody) に代表される異好性抗体による影響は不可避であり、臨床症状との不一致や測定方法間での乖離が認められた場合には、吸収試験等の精査が必要であると考ええる。

本試薬はCLEIA法に比し、直線性上限の低下や共存物質の影響が存在する反面、汎用自動分析装置に搭載することによる測定時間の半減、効率化といった大きな利点が存在する。特に、中枢神経原発悪性リンパ腫や血管内リンパ腫といった、悪性度が高く臨床進行が早い疾患においては、sIL-2Rの迅速報告は診断治療を左右する重要な事項である⁸⁾。運用に関するいくつかの留意点はあるものの、院内導入による臨床貢献度は高いと考えられた。

VI. 結語

ナノピアIL-2Rにおける基礎的性能は良好であった。生化学項目との同時報告が可能となったことから、診療前検査として用いることもでき、診断補助や経過観察における臨床への貢献も大きいものとする。運用の効率化や集約化にも繋がり、日常検査において有用である。

文献

- 1) Yasuda N, Patrik KL, Stephen CK et al: Soluble interleukin 2 receptors in sera of Japanese patients with adult T cell leukemia mark activity of disease. *Blood*, 71: 1021-1026, 1988.
- 2) Seon AJ, Sang-Hyun H, Chulhun LC et al: Clinical relevance of elevated levels of serum soluble interleukin-2 receptor alpha (sIL-2R α) in patients with Non-Hodgkin's lymphoma. *Korean J Lab*, 30: 600-605, 2010.
- 3) 杉本英弘、橋本儀一、鈴木 享、他：種々の病態における血清可溶性インターロイキン2受容体値の臨床的有用性について. *臨床病理*, 44: 176-182, 1996.
- 4) 山本譲司、張替秀郎：可溶性インターロイキン2受容体. *診断と治療*, 97: 1916-1917, 2009.
- 5) 丹部絵梨、松岡康弘、守田和樹、他：全自動化学発光免疫測定装置「CL-JACK NX」専用試薬「デタミナー CL IL-2R」の基本性能. *機器・試薬*, 37: 649-657, 2014.
- 6) 伏見美津恵、雨宮憲彦、風間文智、他：新しく開発された可溶性インターロイキン受容体 (soluble Interleukin-2 receptors: sIL-2R) 測定試薬の基礎的検討. *医学と薬学*, 73: 875-883, 2016.
- 7) 古川亜紀、川崎誠司、杉町光彦、他：全自動臨床検査システムSTACIA専用試薬「ステイシア CLEIA IL-2R」の基本性能評価. *機器・試薬*, 39: 263-269, 2016.
- 8) 萩原宏之、岡 秀宏、原 敦子、他：中枢神経系に発生した悪性リンパ腫と全身性リンパ腫病変. *北里医学*, 42: 111-117, 2012.