

3) 神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおける精度管理

— 精密検査における HPLC による尿中 VMA, HVA の測定 —

高杉 信男, 佐藤 泰昌, 花井 潤師

(札幌市衛生研究所)

1. 目 的

神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおいて、高速液体クロマトグラフィ (HPLC) を用いた定量法は、測定値の精度も高く、尿中 VMA の他に HVA 等の他の代謝産物も同時に測定でき、発見精度も高いことから、主として本症の精密検査に、また一部では本症のスクリーニングにと広く用いられている。

従ってその測定値の信頼性および全国レベルでのデーターの比較等からも HPLC 測定における精度管理の意義は大きい。

HPLC における尿中 VMA, HVA 測定値は大別すると、尿の前処理による HPLC 用試料の調製、HPLC による試料の分離と検出、および尿中含有量の算出との三行程を経て出されるもので、データのバラツキの原因も各行程ごとに生じる。

そこで神経芽細胞腫マス・スクリーニングの精密検査における尿中 VMA, HVA 測定に関して、その精度管理をより効果的に行うことを目的として、尿の前処理法及び尿中含有量算出の標準的統一法を作製した。

2. 対象項目

本精度管理は、尿中の VMA, HVA の 2 項目について行う。

3. 統一測定法 (案)

尿を酢酸エチルにより 2 回抽出したものを試料とし、HPLC に注入し、絶対検量線法によって定量する。

操 作 法

- 1) 尿又は希釈した尿 0.5 ml を共栓試験管にとる。
- 2) 3N-HCl 0.2 ml を加え pH 1 以下とする。ただし pH 1 以下の酸性尿を用いた場合は蒸留水 0.2 ml を加える。
- 3) NaCl 約 0.5 g を加え飽和とする。
- 4) 酢酸エチル 1.5 ml を加え、5 分間シェーカーで振とう抽出する。
- 5) 3,000 rpm で 3 分間遠心分離後、酢酸エチル層 (上層) を他の容器 (バイアルびん等) にできるだけ分取する。
- 6) 次に酢酸エチルを 1.5 ml 加え、同様に振とう抽出、遠心分離後、上層をできるだけ分取し、さきの酢酸エチル層に合わせる。
- 7) 合した酢酸エチル層を窒素 (又は空気) 気流下、あるいは約 40°C の水浴などで蒸発乾固する。
- 8) 検出器の感度にあわせた量で溶解する。
- 9) その適量を HPLC に注入する。

10) 定量は2点以上の絶対検量線法(標準液を前処理せず直接HPLCに注入し検量線をかき)で行う。

注意事項

- 1) HPLCの使用機器, 検出器, HPLC条件等は全て自由とする。従って, 測定感度は, 最初の尿量及び最後の溶解量, HPLCへの注入量によって調整する。
- 2) 本法における回収率は, VMAでおよそ90%, HVAで95%であるが, 回収率による補正は行わない。
- 3) 操作1における抽出容器は10ml 共栓遠心管並びにこれと同程度のものを使用する。
- 4) 操作8で溶解した後は速やかにHPLCへ注入するようにする。
- 5) 測定結果は全て $\mu\text{g/ml}$ で表示する。

4. まとめ

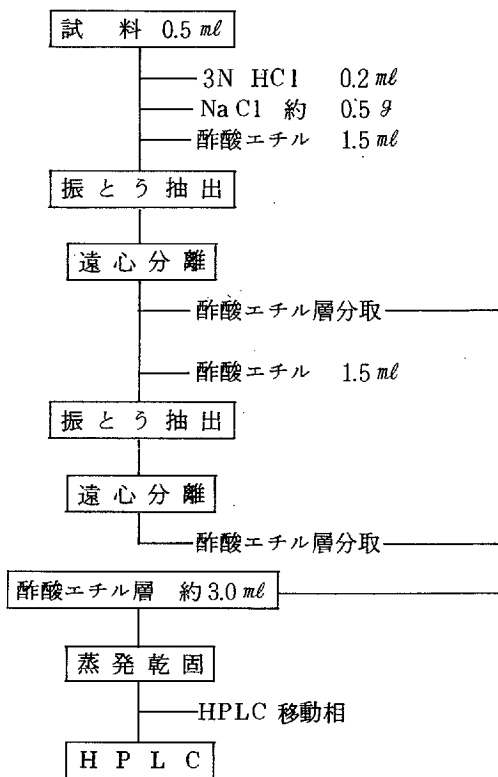
以上述べた統一法は, 神経芽細胞腫の精密検査として, 尿中VMA, HVA測定を行う場合の最も標準的で, 実用可能な方法として提案した。従ってこの方法による精度管理において, 測定値が著しく異った場合は, 試料注入後の主としてHPLCの各条件等に問題があると考えられる。

そしてまた, 本法による測定値を基本として, さらに簡便で精度の高い測定法の開発も望まれるところである。

今後, HPLCに関する精度管理としては, 本症のVMA, HVA値による判定がクレアチニン比で行うべきであることから^{1), 2)}, クレアチニン測定に関する精度管理も必要であると思われる。しかる後, ろ紙尿を材料としたHPLCによる本症スクリーニングのための精度管理にまで発展していくべきであると考えられる。

文 献

- 1) 高杉信男他: 日本医事新報, 3216号; 28, 1985
- 2) 佐藤泰昌他: 日児誌, 89; 2665, 1985



— 尿の前処理法フローチャート —



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



1. 目的

神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおいて、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を用いた定量法は、測定値の精度も高く、尿中VMAの他にHVA等の他の代謝産物も同時に測定でき、発見精度も高いことから、主として本症の精密検査に、また一部では本症のスクリーニングにと広く用いられている。

従ってその測定値の信頼性および全国レベルでのデータの比較等からも HPLC 測定における精度管理の意義は大きい。

HPLC における尿中 VMA,HVA 測定値は大別すると、尿の前処理による HPLC 用試料の調製,HPLC による試料の分離と検出、および尿中含有量の算出との三行程を経て出されるもので、データのバラツキの原因も各行程ごとに生じる。

そこで神経芽細胞腫マス・スクリーニングの精密検査における尿中 VMA,HVA 測定に関して、その精度管理をより効果的に行うことを目的として、尿の前処理法及び尿中含有量算出の標準的統一法を作製した。