

直接法による濾紙血17-OHP濃度測定における注意点  
— 濾紙血保存条件と測定値を中心として —  
(分担研究：副腎過形成症スクリーニングの実施に伴う諸問題の検討)

下澤和彦<sup>\*1</sup>、北川照男<sup>\*2</sup>、松本 勝<sup>\*3</sup>

〔要約〕濾紙血の保存条件と直接法による濾紙血17-OHP濃度の実測値との関係について検討した結果、室温や37℃下2～4週では、非特異的な吸光度の上昇のために、実際より低く測定されたが、-20℃あるいは4℃下では10週までは明らかな変化は認めなかった。このことは、マススクリーニングでは、検体濾紙血の保存状態が悪いと容易に偽陰性をまねく危険性を示唆しており、測定用の標準濾紙血も含め濾紙血の取扱いには十分注意する必要がある。

〔見出し語〕濾紙血17-OHP濃度、直接法、保存条件、

〔研究目的〕

長期にわたり室温で保存されていた先天性副腎過形成症(CAH)患児の濾紙血検体で、濾紙血17-OHP濃度が直接法と抽出法とで逆転(直接法<<抽出法)を認めた経験から、濾紙血の保存条件が、ことに直接法による測定値に及ぼす影響について検討した。

〔研究方法〕

検体および対照：濾紙血検体として、「栄研 17-OHP 7 ELISA」の標準濾紙血のうち、

60、20、6および 0 ng/ml血清(各々30、10、3、0 ng/ml全血)の濃度のものを用いた。また、新生児検体として正出生体重児約 200名と低出生体重児約20名の濾紙血も用いた。

測定：主に「栄研 17-OHP 7 ELISA」によったが、新生児検体は「エンザアレート「17 $\alpha$ -OHPマススクリーニング」」で測定した。また、直接法での変化のみならず抽出法での変化も同時に検討した。

濾紙血保存条件：-20、4、室温、25およ

\*1:東京医科歯科大学医学部小児科(Dept. of Pediatr., Fac. of Med., Tokyo Med. & Dent. Univ.)、\*2:日本大学医学部小児科(Dept. of Pediatr., Sch. of Med., Nihon Univ.)、\*3:東京都予防医学協会(Tokyo Health Service Association)

び37℃下で、18週間まで保存した。

保存条件の評価：測定値の変化は、-20℃保存の濾紙血による標準曲線から求めた値で評価した。0 ng/mlの濾紙血（ゼロディスク）については、吸光度の変化について検討した。

#### 〔研究結果〕

(1) 標準濾紙血：図1に示したように、直接法では、37℃で2週間、25℃と室温では4週間目から、濾紙血17-OHP濃度の明らかな低下を認めた。抽出法では、漸減傾向は認めるものの10週間は安定であった。

(2) ゼロディスクの吸光度：直接法でのゼロディスクの吸光度は、-20、4℃では大きな変化はなかったが、室温、25あるいは37℃では、保存期間が長くなるにつれて明らかに上昇した。すなわち、直接法による測定値の低下は、非特異的な吸光度の上昇のためと推察される。

(3) 実際の測定値：表1に室温保存下での新生児濾紙血17-OHP濃度の変化を示したが、直接法では、正出生体重児、低出生体重児ともに、保存期間が長くなるにつれて測定値は低下するが、抽出法ではこのような傾向を認めなかった。

#### 〔考察〕

直接法による測定値は、種々の水溶性ステロイドの交叉反応性のために抽出法に比べ高値となるのが一般的である。この傾向は、ことに、 $3\beta\text{-OH-}\Delta^5$ の硫酸抱合体の血中濃度の高い新生児期（特に未熟児）に強い。しかしながら、直接法による測定値が抽出法のそれより低くなる

現象が、ことに長期間保存されていたC AH等の濾紙血検体で多いことが半明してきた。この原因として、一時は、濾紙血中の17-OHPの安定性が問題視されたが、この現象が直接法に限ったものであることから他の原因によるものであることが推察された。

今回の検討から、保存による直接法測定値の低下は、ELISA法において非特異的に吸光度を増加させる物質が、室温以上の劣悪な保存環境では出現し、かつ時間とともに増加するためであることが半明した。濾紙血中での17-OHPの安定性は、抽出法測定値が少なくとも10週間は低下しなかったことより証明されたが、4℃下でも10週間を越えると徐々に低下するため、-20℃での保存が適当と考えられた。

以上のことが実際のスクリーニングに及ぼす影響は決して小さくない。1つは、直接法で初回測定を行う場合に（多くはそうである）、保存条件が悪いと患者を正常と判定するいわゆる偽陰性をまねく危険のあることである。このことは特に気温や湿度の高い季節では、留意する必要があるだろう。いま1つは、標準濾紙血の保存条件が悪いと、正常者でも高く測定されることである。

日常のスクリーニング業務では、劣悪な保存環境に長期放置されることはまずないと思われるが、特殊な検体ほど長期間保存されかつ後日に再測定される可能性が高いため、精度管理の面からも以上のことを銘記しておく必要がある。

図1. 保存条件と標準濾紙血17-OHP濃度の変化との関係

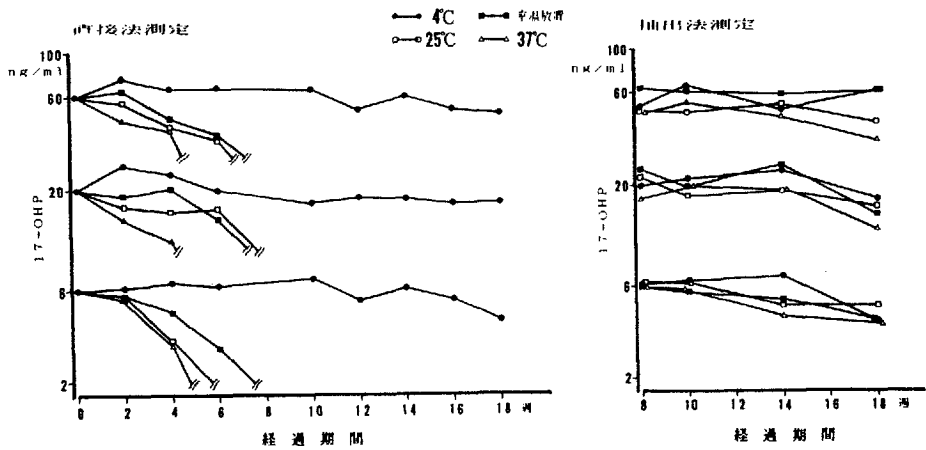


表1. 室温保存下での新生児濾紙血17-OHP濃度の変化

保存期間 (月)	直接法		抽出法
	正常新生児	低出生体重児	低出生体重児
0	19.2±9.5 (n=200)	42.8±29.9 (n=24)	4.0±4.8 (n=24)
1	—	30.5±29.2 (n=20)	4.4±5.5 (n=20)
2	10.1±4.0 (n=200)	43.3±39.5 (n=24)	3.3±5.4 (n=24)
3	—	22.6±17.2 (n=27)	4.5±4.9 (n=27)
4	7.2±4.7 (n=218)	26.9±15.3 (n=15)	4.7±4.1 (n=15)

(ng/ml血清)

## ABSTRACT

How Does Storage Condition of Dried Blood Spot Affect on Blood Spot 17-Hydroxyprogesterone Measurement?

K. Shimozawa<sup>\*1</sup>, T. Kitagawa<sup>\*2</sup>, M. Matsumoto<sup>\*3</sup>

We examined how storage condition of dried blood spot affects on the direct 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) measurement by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), with the intention of establishing an accurate and stable assay method in a neonatal mass screening for steroid 21-hydroxylase deficiency. The values measured by extraction method using diethylether as a solvent were not changed for 10 weeks or more in any storage conditions (-20° to 37°C). By direct method, on the other hand, the values started to fall from 2 to 4 weeks of storage in room temperature, 25° or 37° C, while the values were almost stable in chilled condition (4° to -20°C). We considered that this fall in the direct assay method was caused from non-specific rise of optical density in the ELISA, resulting to give unexpected low values, because the optical density of blood spot not containing 17-OHP rose gradually as to duration of storage. The results obtained indicate that the dried blood spot should be carefully stored in chilled condition, if not, a false negative result may be occurred in neonatal mass screening.



## 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



[要約]濾紙血の保存条件と直接法による濾紙血 17-OHP 濃度の実測値との関係について検討した結果、室温や 37 下 2~4 週では、非特異的な吸光度の上昇のために、実際より低く測定されたが、-20 あるいは 4 下では 10 週までは明らかな変化は認めなかった。このことは、マススクリーニングでは、検体濾紙血の保存状態が悪いと容易に偽陰性をまねく危険性を示唆しており、測定用の標準濾紙血も含め濾紙血の取扱いには十分注意する必要がある。