

マス・スクリーニングの精度管理に関する研究

(分担研究：ELISA法による血液濾紙中の17-  
ヒドロキシprogesterone測定標準化について)

辻 章夫, 前田昌子

要約：先天性副腎皮質過形成症（CAH）の新生児マス・スクリーニングに用いられている17-ヒドロキシprogesterone（17-OHP）測定用ELISAキットの標準化のための17-OHP標準血液濾紙の作成を行なう。

見出し語：17-ヒドロキシprogesterone、標準品、標準化、基準法

研究目的 血液、尿など複雑なマトリックスである生体試料は、マトリックス効果のため適当な標準物質を選定しなければならない。CAHのマススクリーニングは17-OHPの酵素免疫アッセイ法（ELISA）により実施されている。免疫アッセイでは、試料のマトリックス効果に加えて、使用される抗体、酵素標識体により測定値は著しく影響される。したがって、各社から市販されている17-OHP測定キット間の測定値の変動を解消するため17-OHP標準血液濾紙の作成および基準法の確立を検討する。

研究方法 17-OHP標準血液濾紙の作成は次の表に示す手順に従って検討する。

表1 17-OHP標準血液濾紙の作成

1. 17-OHP標準品

物理・化学的測定による試験

元素分析

赤外吸収スペクトル法

核磁気共鳴スペクトル法

質量スペクトル法

高速液体クロマトグラフ法

ガスクロマトグラフ法

毛細管電気泳動法

2. 17-OHP標準血液

（1次標準物質）

ヒトプール血液からの調整法

基準法の選定

同位体希釈法

GC/MS法

HPLC/MS法

### 3. 17-OHP標準血液濾紙

(2次標準物質)

1次標準物質の17-OHP標準血液から標準血液濾紙の作成法

実用基準法の選定

HPLC/MS

EIA法

### 4. 日常分析法-EIISA法

2次標準物質の17-OHP標準血液濾紙を用い日常分析に用いられている市販キットについて検討

#### 結果および考察

臨床検査の領域では、測定値の変動を解消するため標準物質への関心が高まっている。そのために国際的には、国際標準機構 (International Standard Organization), 国際保健機構 (WHO), 国際臨床化学会 (International Federation of Clinical Chemistry) などがあり、各国にもそれぞれ政府機関、関連学協会の標準化機構がある。わが国では臨床検査関連領域の標準化機構として日本臨床検査標準化協会 (Japan Clinical Chemistry Laboratory Standard Society) があり、種々の臨床検査試験法についての標準化が検討されている。

CAHのマススクリーニングに採用されている17-OHPのEIISA法によるろ紙血液中の17-OHPの測定値はキットにより著しく異なり、その原因が各社により使用されている抗体の特異性、酵素標識17-OHPの反応性の差異などに起因している。従って試料中の17-OHPの真値が測定されていない。マススクリーニングでは、必ずしも真値が測定できなくてもマスとして統計的に処理することにより解決することが出来るが、検査法として

正しい評価が出来ることが望まれる。

マススクリーニングでは、通常の臨床検査と異なりキットに対応したカットオフ値を設定することにより日常の判定を行なうことが可能である。

本研究では研究方法に示したような手順で17-OHP標準血液濾紙を作成する。初年度は標準物質となる17-OHPを数社より入手して物理・化学的測定を行なった。

本年度は標準品を選定した。次年度では、17-OHP標準血液濾紙中の17-OHP測定の基準法 (definitive method) として重水素化17-OHPを調製し、同位体希釈法/マススペクトル法またはガスクロマトグラフィー/マススペクトル法の検討を行ない、1次標準血液濾紙を作成する。

Abstract

Standardization of the determination of 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone  
in dried blood spotted on filter paper by ELISA

Akio Tsuji and Masako Maeda\*

The standardization of ELISA for 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone in dried blood spotted on filter paper have been planed. Several marketed reagent grade 17-OHPs were examined with spectroscopic and chromatographic methods (UV, IR, NMR, GC, GC/MS, HPLC, HPLC/MS, CEP etc). From those results one of them was selected as the standard and used for the first reference material. GC/MS or HPLC/MS will be chosen as the definitive method for 17-OHP in dried blood standard.

---

\* 昭和大学薬学部 (Shool of Pharmaceutical  
Sciences, Showa University)



**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:先天性副腎皮質過形成症(CAH)の新生児マス・スクリーニングに用いられている 17-ヒドロキシprogesterone(17-OHP)測定用 ELISA キットの標準化のための 17-OHP 標準血液濾紙の作成を行なう。