

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

臨床病理 (2015.12) 63(12):1371-1376.

イムノクロマト迅速定量測定試薬「ポイントストリップフェリチン-3000」の基礎評価

渋佐琴恵, 畑山真弓, 土岐康通, 山本昌代, 伊藤巧, 進藤基博, 藤谷幹浩, 新関紀康, 友田豊, 河合優一, Lynda ADDO, 生田克哉

短報

## イムノクロマト迅速定量測定試薬「ポイントストリップフェリチン-3000」の基礎評価

洪佐 琴恵\*1、 畑山 真弓\*1、土岐 康通\*1、山本 昌代\*1、伊藤 巧\*1、進藤 基博\*1、藤谷 幹浩\*1、新関 紀康\*2、友田 豊\*2、河合 優一\*3、Addo Lynda\*1、生田 克哉\*1

\*1 旭川医科大学内科学講座 消化器・血液腫瘍制御内科学講座  
(〒078-8510 北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1番1号)

\*2 旭川医科大学病院 臨床検査・輸血部  
(〒078-8510 北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1番1号)

\*3 ウシオ電機株式会社 バイオメディカル事業部  
(〒210-0855 神奈川県川崎市川崎区南渡田町1-12)

### \*Corresponding author

生田 克哉 Katsuya Ikuta, M.D., Ph.D.

旭川医科大学内科学講座 消化器・血液腫瘍制御内科学分野 (第三内科)

〒078-8510 北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1番1号

Division of Gastroenterology and Hematology/Oncology

Department of Medicine, Asahikawa Medical University

2-1-1-1 Midorigaoka-Higashi, Asahikawa, Hokkaido 078-8510, Japan

Tel: 0166-68-2462

Fax: 0166-68-2469

e-mail: [ikuta@asahikawa-med.ac.jp](mailto:ikuta@asahikawa-med.ac.jp)

**Title (English)**

Evaluation of basic performance of “Point Strip ferritin-3000®” for simple and rapid quantification of serum ferritin

**Abstract**

Serum ferritin is an excellent marker for total iron content in the body and is essential for the diagnosis of iron deficiency or iron overload. Recently, a simple and rapid method, which utilizes immunochromatography for the quantification of serum ferritin, was developed. However, the range of measurement in previous reagents was limited (10-500 ng/mL). This range is rather narrow and is not fully helpful for the diagnosis of iron overload which sometimes occurs as a result of prolonged transfusions, or for monitoring iron contents during iron chelation therapy against iron overload. In the present study we evaluated the basic performance of the newly developed “Point Strip ferritin-3000®”, which can measure serum ferritin in the range of 300-3,000 ng/mL. Coefficient of variation (CV)s of with-in and inter-day assays were in the ranges of 7.3-11.1% and 2.1-5.2%, respectively. Using 87 serum samples obtained from the patients with written informed consents, the correlation coefficient was calculated to be 0.93 compared to the control method. In addition, the quantification of serum ferritin by

“Point Strip ferritin-3000®” was not influenced by bilirubin, hemoglobin, chyle, rheumatoid factor, or ascorbic acid. From our data, “Point Strip ferritin-3000®” is reliable reagent in the range of 300-3,000 mL, and is therefore considered to be useful for the diagnosis of iron overload, as well as for monitoring iron contents during iron chelation therapy. In addition, this quantification method can be easily performed using a small desktop equipment without any special technique, making this system applicable for epidemiological surveys and clinical studies.

#### **Key words**

Serum ferritin (血清フェリチン)、Immunochromatography (イムノクロマト法)、  
Iron overload (鉄過剰症)、Iron chelation therapy (鉄キレート療法)

## 緒言（背景および目的）

生体にとって鉄は、赤血球のヘモグロビンの構成要素としてだけでなく、全身の細胞の呼吸酵素や DNA 合成酵素などにも必須の金属元素であるが、過剰に存在するとフリーラジカルが産生され生体にとって毒性を示す。そのため、鉄の量的バランスは通常は厳密に保たれている<sup>1)</sup>。しかし、様々な原因でそのバランスが崩れ臨床症状を呈してくる場合がある。鉄の量的バランスを把握するため最も簡便かつ有用なマーカーとして血清フェリチンが現在でも汎用されている<sup>2)</sup>。血清フェリチンは、炎症状態ではその値が上昇してしまうというデメリットはあるが、体内の鉄総量を鋭敏に反映するため、鉄欠乏もしくは逆の鉄過剰状態を診断し、重症度を判定し、さらに治療の効果をモニタリングする上で必須の検査項目である。血清フェリチンの測定にはラジオイムノアッセイ、酵素抗体法、逆受身赤血球凝集反応などが用いられていたが、最近ではラテックス凝集免疫比濁法などを用いた生化学自動分析装置での測定が主流となっている。これに加えて近年イムノクロマト法を用いた血清フェリチン簡易迅速測定装置「ポイントリーダー<sup>®</sup>」が開発され臨床応用された。この方法を用いた血清フェリチン値測定には、10-100 ng/mL および

50-500 ng/mL の範囲での血清フェリチンが測定できる 2 種類のストリップ型試薬が開発されており、鉄欠乏性貧血患者や健常人の血清フェリチン値測定には対応可能であった<sup>3)</sup>。一方、近年鉄過剰症が臨床的に重要視されるようになり、本邦においても輸血後鉄過剰症が臓器障害や予後増悪をもたらすことが明らかにされ<sup>4)</sup>、鉄キレート療法の重要性が増しており、実際に鉄キレート療法により臓器障害や予後の改善が報告されている<sup>5)6)</sup>。本邦の「輸血後鉄過剰症の診療ガイド」では、血清フェリチン値 500 ng/mL 以上で鉄過剰症と診断し、1000 ng/mL 以上で鉄キレート療法が適応となり、鉄キレート療法中は血清フェリチン値を 500-1000 ng/mL の間に保つことが推奨されている<sup>7)</sup>。しかし、これまでの 2 種類のストリップでは、こうした輸血後鉄過剰症の診断や治療効果モニタリングには対応が不可能であった。そこで今回我々は、こうした鉄過剰症の診断および治療モニタリングにも利用可能となるよう 300-3,000 ng/mL を測定範囲として新たに開発された高濃度血清フェリチン測定用試薬「ポイントストリップフェリチン-3000<sup>®</sup>」につき、基礎及び臨床性能評価を行った。

## I. 方法と試料

### A. 対象および測定試料

2013年10月～2014年6月の間、旭川医科大学病院で診療中の87名の患者より文書による同意を得たうえで血清を使用した。なお本検討は旭川医科大学倫理委員会の承認を得て行った。同時再現性、日差再現性、共存物質の影響の検討には、3濃度のヒトプール血清を作成し使用した。

### B. 使用分析装置および測定試薬

装置： デンシトメトリー分析装置「ポイントリーダー<sup>®</sup>」

試薬： 血清フェリチン値測定用ポイントリーダー<sup>®</sup>専用ストリップ型試薬「ポイントストリップ フェリチン-3000<sup>®</sup>」

(以上、いずれもウシオ電機株式会社)

### C. 測定原理および測定手順

測定原理には、金コロイド免疫クロマト法が用いられている(図1)。血清20 $\mu$ Lをポイントストリップ フェリチン-3000<sup>®</sup>に添付されている専用希釈溶液で希釈し、ストリップの端にある検体滴下部位に100 $\mu$ L滴下する。滴下された血清サンプルが

ストリップのコンジュゲートパット中を移動する過程で、サンプル中に含まれる血清フェリチンが金コロイド標識された抗ヒトフェリチン抗体と結合する。標識抗体・血清フェリチン複合体がテストライン形成部においてストリップに固相化されている捕捉用抗体によって捕捉されると、赤色のラインが形成され、そのラインの濃淡をポイントリーダーの画像解析技術を用いて解析し、血清フェリチン濃度が算出される。

#### **D. 比較対照法**

相関性試験での比較対照法としては、自動分析装置 **HITACHI 7700<sup>®</sup> (P-module)** (日立ハイテクノロジーズ (株)) を使用し、ラテックス凝集免疫比濁法を測定原理とした血清フェリチン測定試薬 **FER-ラテックス X「生研」CN<sup>®</sup>** (デンカ生研) での測定を用いた。また、血清フェリチン値が 1,500 ng/mL 以上の 13 検体では、PBS (pH 7.4) (和光純薬 (株)) を用いて 80%、60%、40%の希釈系列も作成し、希釈系列での相関性も検討した。

#### **E. 共存物質の影響の検討**

遊離型 (F) および抱合型 (C) ビリルビン、溶血ヘモグロビン、乳糜の影響を検討するため干渉チェック A プラス (シスメック



ス（株）を、リウマチ因子の影響を検討するため干渉チェック RF プラス（シスメックス（株））を使用した。また、アスコルビン酸の影響も検討した。

## II. 結果

### A. 同時再現性

同時再現性は、ポイントストリップ フェリチン-3000<sup>®</sup>の2つのロットを使用し、3濃度のプール血清を10回多重測定した。その結果、変動係数（coefficient of variation: CV）は、350 ng/mL 付近の低濃度で 7.30～8.80%、650 ng/mL 付近の中濃度で 7.30～11.10%、2500 ng/mL 付近の高濃度で 8.10～8.90%であった（図2）。

### B. 日差再現性

日差再現性は、3濃度のプール血清を用い、10日間各々3重測定を行い平均値を算出した（図3）。CV値は、350 ng/mL 付近の低濃度で 4.4%、650 ng/mL 付近の中濃度で 5.2%、2500 ng/mL 付近の高濃度で 2.1%であった。

### C. 相関性試験

87 症例の血清検体を対象に、ポイントストリップ フェリチン-3000<sup>®</sup>で測定した血清フェリチン値（y）と、対照法にて測定した血清フェリチン値（x）との相関性を検討した結果、相関係数は 0.93、線形関係式は  $y = 0.97x + 21$  であった（図4A）。特に高濃度の血清フェリチン値 1,500 ng/mL 以上の 13 検体につき、100%、

80%、60%、40%と希釈系列を作成し両法で測定を行ったところ、希釈を行っても良好な直線性が確認された（図4B）。

#### D. 共存物質の影響

共存物質として遊離型（F）ビリルビン、抱合型（C）ビリルビン、溶血ヘモグロビン、乳糜、リウマチ因子、アスコルビン酸の影響を検討した。2濃度のプール血清に対し、各種共存物質の存在下で5重測定を行い、平均値を算出した。遊離型（F）ビリルビンは19.1 mg/dLまで、抱合型（C）ビリルビンは21.9 mg/dLまで、溶血ヘモグロビンは504 mg/dLまで、乳糜は1620 FTUまで、IgM型リウマチ因子は550 IU/mLまで、アスコルビン酸は50 mg/dLまで影響は認めなかった（図5）。

### Ⅲ. 考察

本評価の結果、ポイントストリップ フェリチン-3000<sup>®</sup>の同時再現性・日差再現性は良好であり、日常診療で汎用されている生化学自動分析機を用いたラテックス凝集法による血清フェリチン測定値との相関も非常に良好であることが確認できた。干渉物質の影響も認められず、血清フェリチン定量は問題なく行え、臨床的に十分実用可能であると考えられた。今回評価したポイントストリップ フェリチン-3000<sup>®</sup>は、血清フェリチン 300-3,000 ng/mL の範囲に対応しており、近年本邦の臨床の場で広く行われるようになった輸血後鉄過剰症の診断や鉄キレート療法時の治療効果モニタリングにも十分対応可能であると考えられた。

また、本試薬での測定は、デスクトップで通常電源で使用可能な非常に小型の機器での測定であることから、大型の生化学自動分析装置がない医療施設での鉄過剰症の診断や治療モニタリングにおいて臨床的有用性があるものと考えられた。さらに、非常に簡便な測定方法であり、一検体の測定に必要な時間は 5 分と短く、臨床検査技師だけではなく、広く臨床医や医学研究者にも容易に使用が可能であると考えられ、疫学調査や臨床研究にも有用と考えられた。

#### IV. 結語

「ポイントストリップ フェリチン-3000®」は、300-3,000 ng/mL と幅広い濃度域で血清フェリチンの測定を可能としており、基本性能も良好であった。本試薬により、免疫クロマト法を用いた血清フェリチン簡易迅速検査における測定範囲がこれまでより大きく広がり、鉄過剰症の診断や治療に貢献することが期待され、さらに疫学調査や臨床研究にも有用と考えられた。

## 文献

1. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, et al. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell* 2010; 142: 24-38.
2. 内田立身. 血清フェリチン測定とその臨床的意義. *臨床検査* 2001; 45: 727-32
3. 内田立身. 鉄欠乏性貧血の治療方針. 編集 日本鉄バイオサイエンス学会治療指針作成委員会 鉄剤の適正使用による貧血治療指針 改訂[第2版]. 札幌：響文社； 2009. P. 10-7
4. Takatoku M, Uchiyama T, Okamoto S, et al. Retrospective nationwide survey of Japanese patients with transfusion-dependent MDS and aplastic anemia highlights the negative impact of iron overload on morbidity/mortality. *Eur J Haematol* 2007; 78: 487-94.
5. Cappellini MD, Porter J, El-Beshlawy A, et al. Tailoring iron chelation by iron intake and serum ferritin: the prospective EPIC study of deferasirox in 1744 patients with transfusion-dependent anemias. *Haematologica*. 2010; 95: 557-66.
6. Gattermann N, Finelli C, Porta MD, et al. Deferasirox in iron-overloaded patients with transfusion-dependent myelodysplastic syndromes: Results from the large 1-year EPIC study. *Leuk Res* 2010; 34: 1143-50.
7. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 特発性造血障害に関する調査研究班（平成20年度）（研究代表者：小澤敬也）. 輸血後鉄過剰症の診療ガイド

## **Figure legends**

### **Figure 1**

Principle of the measurement of serum ferritin utilizing gold colloid immunochromatography

### **Figure 2**

Within-day precision of the measurement of serum ferritin

### **Figure 3**

Inter-day precision of the measurement of serum ferritin

### **Figure 4**

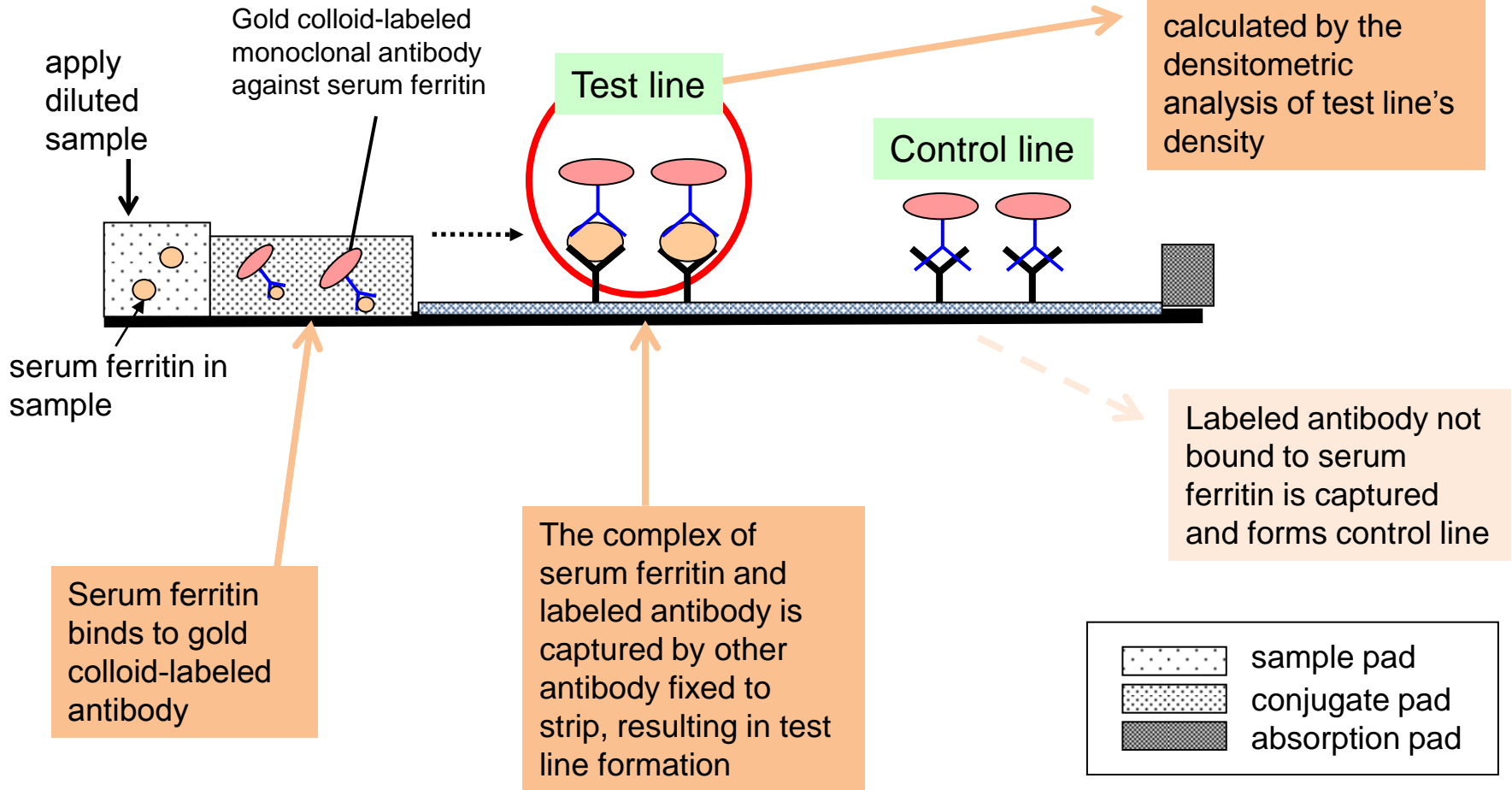
Correlation between serum ferritin values determined by immunochromatography (Point Reader) and those by latex agglutination method utilizing autoanalyzer (HITACHI 7700). A: all samples, B: Dilution series of 13 samples that showed serum ferritin values of 1,500 ng/mL and above

### **Figure 5**

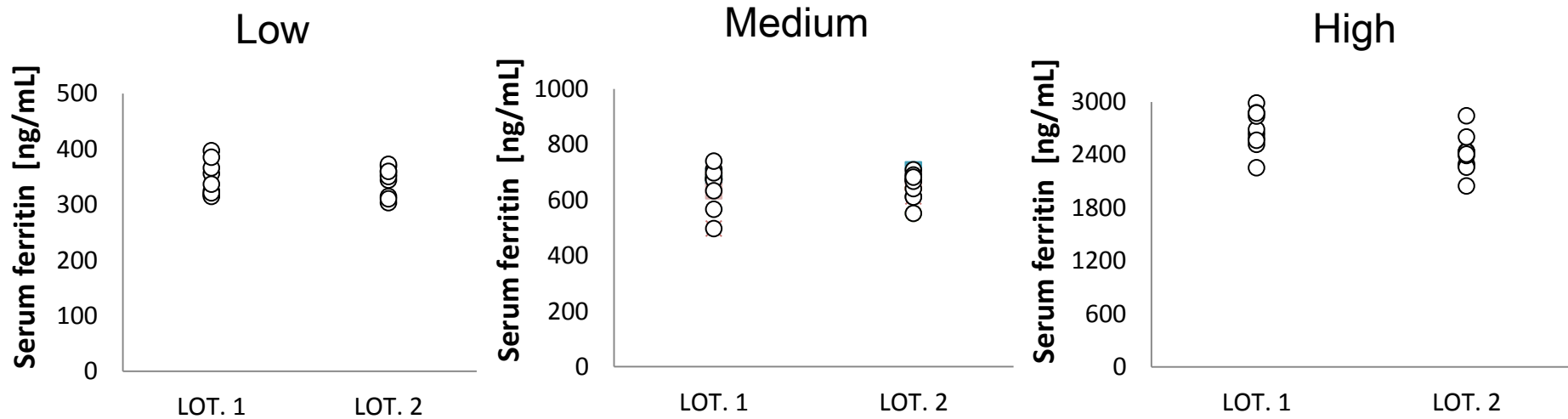
Interferences of coexistent substances.

A: bilirubin F, B: bilirubin C, C: hemoglobin, D: chyle, E: rheumatoid factor, F: ascorbic acid

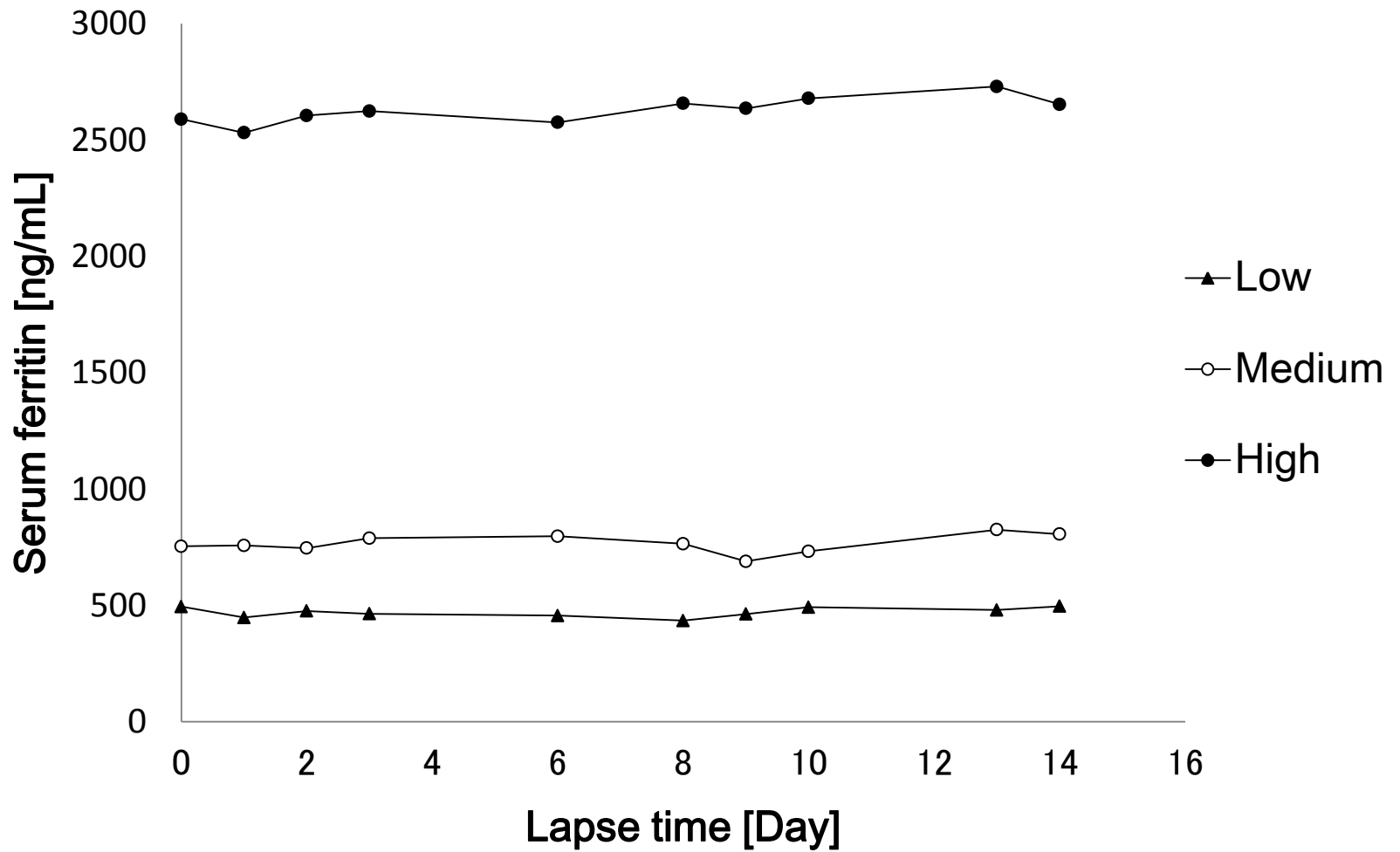
Transfer of sample



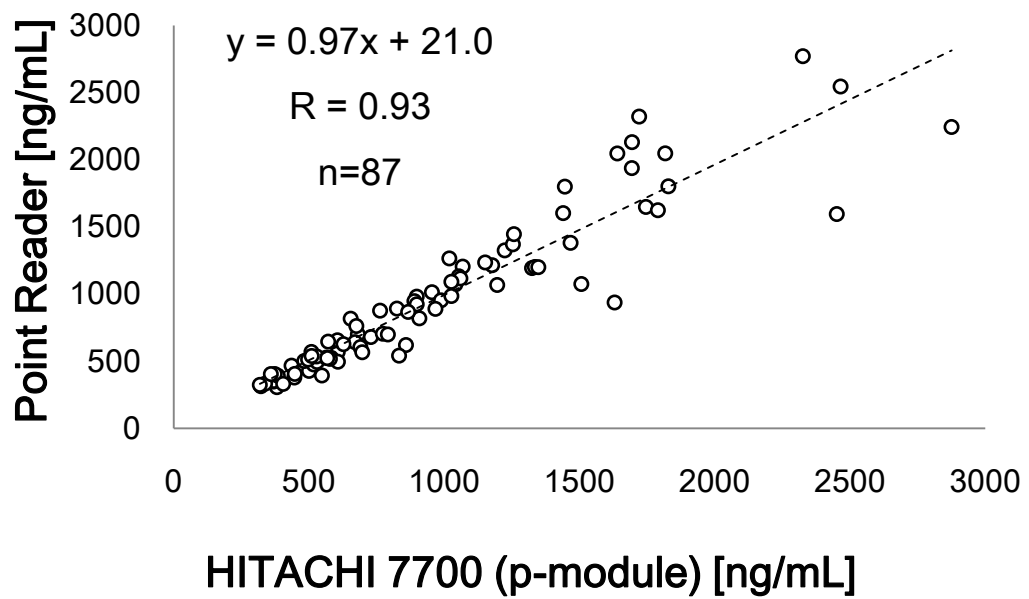
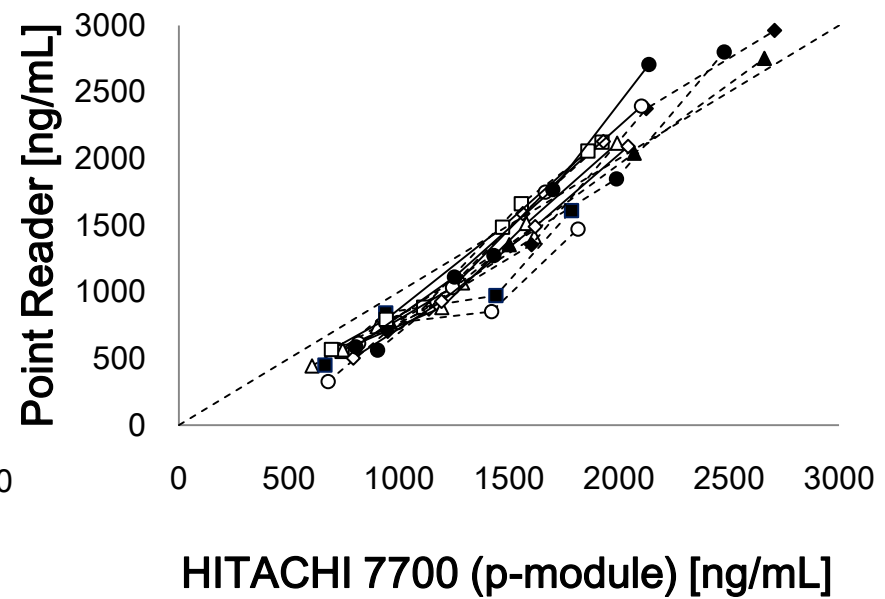


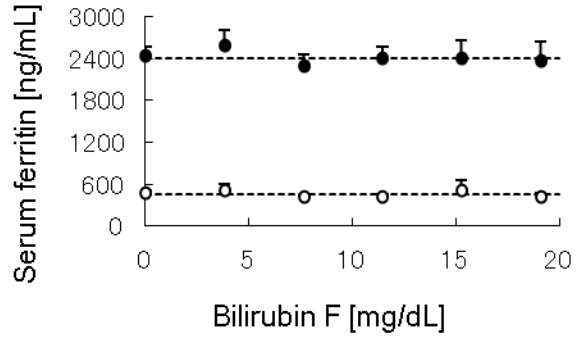
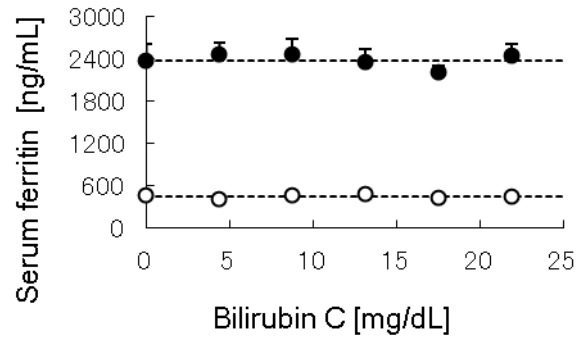
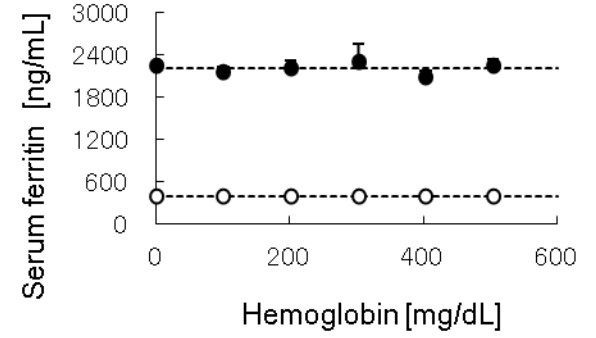
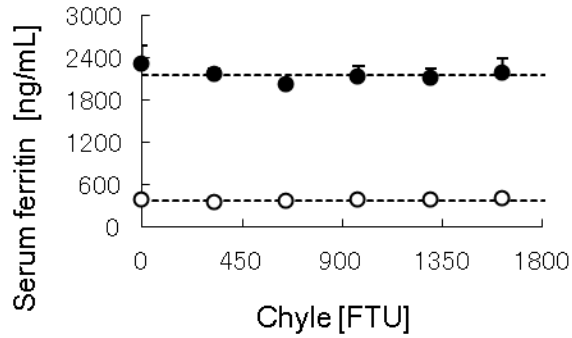
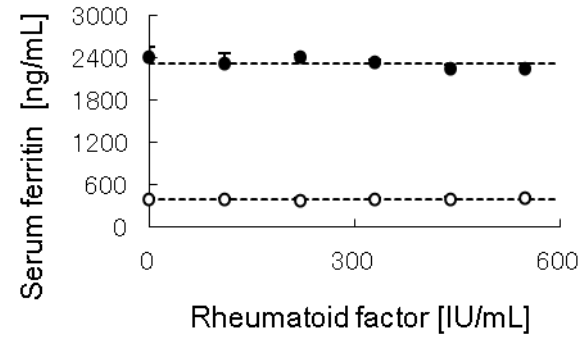


Mean (ng/mL)	343.7	343.9	655.6	651.1	2682	2400
SD (ng/mL)	30.4	25.3	72.7	47.3	217.7	213.2
CV(%)	8.80%	7.30%	11.10%	7.30%	8.10%	8.90%



	0	1	2	3	6	8	9	10	13	14	Mean	CV
Low	494.4	447.9	475.7	463.9	456.1	434.8	462.8	492.0	480.1	496.1	470.4	4.4%
Midium	753.6	757.4	746.1	788.7	797.2	764.6	688.7	732.1	825.2	805.9	766.0	5.2%
High	2589.5	2530.9	2605.1	2623.7	2575.2	2657.0	2635.3	2678.7	2729.5	2652.7	2627.8	2.1%

**A****B**

**A****B****C****D****E****F**