

多様な臨床検査項目に対応した高感度免疫分析システム

Multi-function Immunoassay System Suitable for Various Analysis

新山也寸志 Yasushi Niiyama

保田健二 Kenji Yasuda

田尾龍治 Ryûji Tao

測定原理

発光標識のついた磁性微粒子に一定の電圧を与えると粒子数に比例した光を発する。

電気化学発光

磁性微粒子

電極



エクルーシス (ECLusys) 2010

■ホルモン検査

(下垂体前葉)
LH
FSH
TSH
PRL

(甲状腺・副甲状腺)
TSH
T₄
FT₄
T₃
FT₃
TBG
TBC
TPO抗体
サイログロブリン抗体

(副腎髄質・副腎皮質)
コルチゾール

(卵巣・子宮)
E₂
プロゲステロン

(精巣)
テストステロン

■ウイルス肝炎
HA抗体
IgM-HA抗体
HBs抗原/抗体
HBc抗体
IgM-HBc抗体
HBe抗原/抗体

■貧血
フェリチン

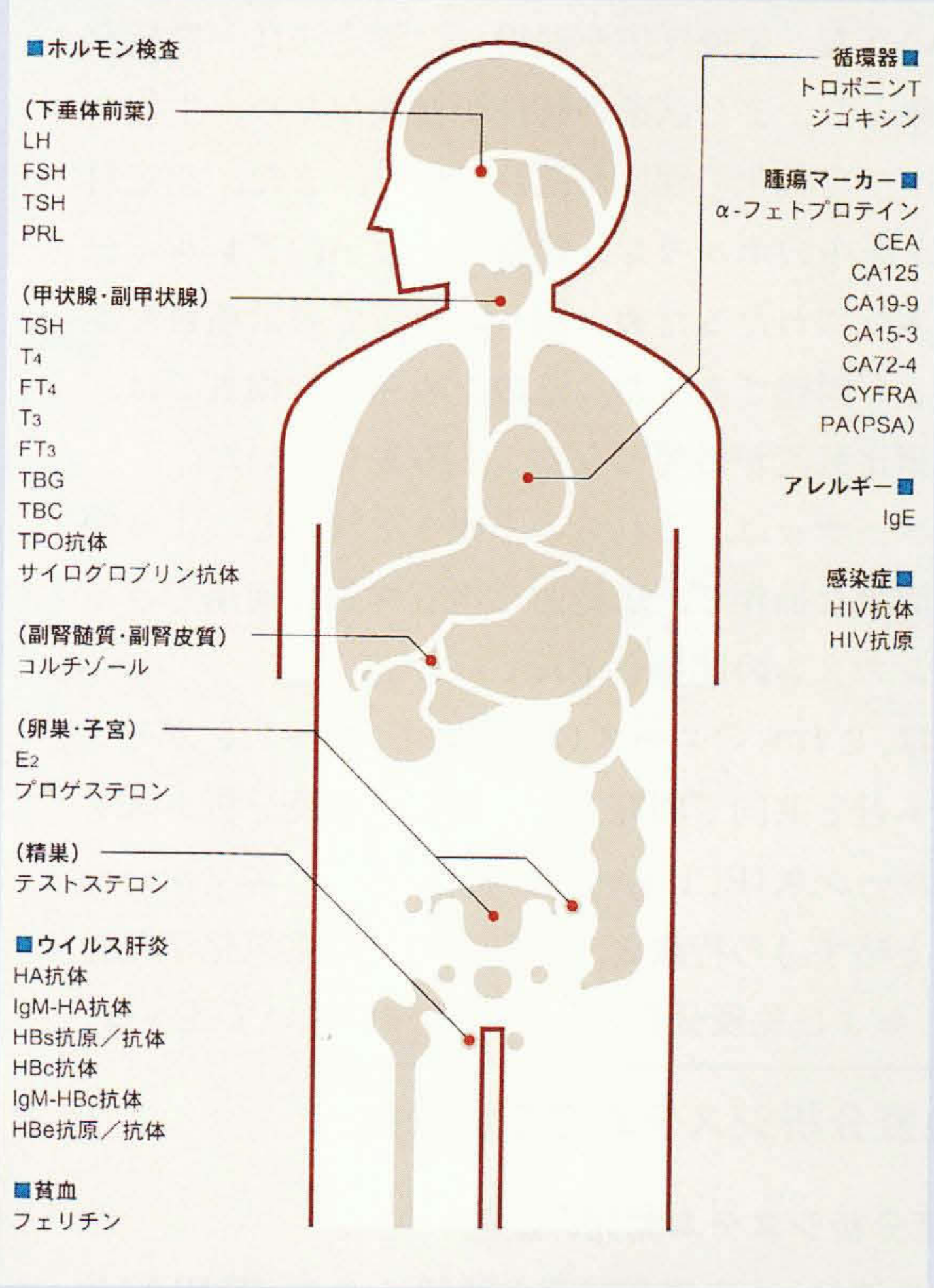
■循環器
トロポニンT
ジゴキシン

■腫瘍マーカー
α-フェトプロテイン
CEA
CA125
CA19-9
CA15-3
CA72-4
CYFRA
PA(PSA)

■アレルギー
IgE

■感染症
HIV抗体
HIV抗原

測定対象と関係臓器・体内部位



免疫分析システム「エクルーシス(ECLusys)2010」と測定対象

エクルーシス(ECLusys)2010は、電気化学発光法を測定原理とした、ベンチトップ型の免疫分析システムである。その測定対象は、血液、尿をはじめとする体液中の各種ホルモン、腫瘍(しゅよう)マーカー、感染症等に起因する抗原・抗体などの微量成分であり、関係臓器・体内部位は脳下垂体、甲状腺をはじめとして、副腎皮質、各種循環器など多岐にわたっている。

医療機関では、病気の診断などのために各種の検査を実施する。免疫分析(Immunoassay)と呼ばれる抗原・抗体反応(免疫反応)に基づく体内の微量成分の測定法は、人体から血液や尿をサンプリングし、これを分析する臨床検体検査の分野にあり、この分野では非常に重要な位置を占めている。免疫分析は比較的新しい検査技術であることから今も技術革新が続いており、高感度化や試薬の特異性の向上により、いっそう多くの検査項目が、より広い濃度範囲で、またより短時間で測定できるように

なりつつある。

今回、日立製作所は、ベーリンガー・マンハイム社と共同で、「電気化学発光法」という新しい原理に基づく免疫分析システム「エクルーシス(ECLusys)2010」を開発した。多様な検査項目を短時間、高感度で測定できる特徴を持つこのシステムは、病院や健康診断センターなどの医療機関での腫瘍マーカー・ホルモン・感染症などの診断や治療経過観察に活用できる。

1. はじめに

臨床検査は、血漿(しょう)や血清・尿などの体液を分析し、病気の診断や治療の経過観察に役立てるものとして病院などで広く行われている。体液は多数の成分を含むが、臨床検査ではこれらの成分を分離することなく、共存状態下で特定成分だけを分析することが要求される。

今日、生化学検査や免疫学検査では多くの項目が自動化された装置で分析され、その結果が臨床に提供されている。このうち、免疫反応を利用した測定法は、微量な成分を対象とし、また試薬の特性が複雑なため、生化学検査に比べて自動化の程度が遅れていた。また、測定対象が血液、尿中のホルモン、腫瘍マーカー、アレルギー物質など多岐にわたるため、同一の装置で複数項目を測定することが困難であった。そのため免疫学検査では、項目別に測定装置が必要になることも生じていた。

そこでユーザーは、これらの不便さを解消し、より使いやすく簡単な操作で、広範囲な検査対象に適用できる免疫分析システムの開発を望んでいた。

ここでは、これらのニーズにこたえて、ベーリンガー・マンハイム社と共同で開発した、新しい免疫分析システム「エクルーシス(ECLusys)2010」(以下、「エクルーシス2010」と略す。)の特徴と、それに用いた電気化学発光法の原理、および免疫分析の今後の動向について述べる。

2. 免疫分析システムの市場動向

2.1 免疫分析システム開発の変遷

免疫分析法は、その標識試薬の種類により、(1)RIA(放射免疫分析法)、(2)EIA(酵素免疫分析法)、(3)CLIA(化学発光分析法)などに分けられる。

RIAは、標識試薬としてラジオアイソトープを用いる方法であり、免疫分析システム自動化の第一世代として1970年代に実用化された。

EIAは、標識試薬として酵素を用いる方法であり、放射性物質を使用せず、RIAと比べて試薬の取り扱いが容易なことから、現在、免疫分析の主流となっている。しかし、反応時間が長いこと、最近ニーズが高まっている感染症などの、より高感度な分析が要求される項目への対応が難しいことなどの課題を持つ。

CLIAは、化学発光標識の開発によって最近実用化された方法であり、酵素反応がないためにEIAに比べて測定時間が短い。また測定感度も、高感度な測定が要求されるTSH(甲状腺刺激ホルモン)で、従来の数倍から数十

表1 TSHにみる免疫血清検査の測定感度の変遷

新規な測定法の開発により、測定感度の向上がもたらされる。現在、免疫学分析の主流であるEIAに比べて、電気化学発光法は、数十倍の感度向上が図れる。「エクルーシス2010」は第四世代の感度を達成しうる装置である。

世 代	測定感度	測 定 法
第一世代	1.0 μ IU/mL	RIA
第二世代	0.1 μ IU/mL	EIA
第三世代	0.01 μ IU/mL	CLIA
第四世代	0.005 μ IU/mL	電気化学発光法

注：略語説明

TSH(Thyroid Stimulating Hormone)

RIA(Radioisotope Immunoassay)

EIA(Enzyme Immunoassay)

CLIA(Chemical Luminescence Immunoassay)

倍も向上させることができる(表1参照)。電気化学発光法は、このCLIAの中で、標識試薬の発光を電氣的に起こさせるようにしたものである。

2.2 新たな性能、品質への要求

免疫分析装置の技術開発を進めるうえで改善が要求されている点の多くは、現在、生化学検査の自動化で実現されている事項と同じである。

それは、(1)測定時間が短いこと、(2)緊急検査に対応できること、(3)ほかの検査項目と結合してシステム化が図れること、(4)オペレーションコストが低減できることである。しかし免疫分析では、これらに加えて、(5)高感度であること、(6)広い測定レンジを持っていること、(7)試料どうしの相互混入がないこと、(8)多種多様な測定対象に対応できることのような高度な分析性能が要求される。

以上のような要求を満足するため、新技術である「電気化学発光法」を採用した免疫分析システム「エクルーシス2010」を、ベーリンガー・マンハイム社と共同で開発した。

3. 「エクルーシス2010」の概要

3.1 開発仕様と構成

「エクルーシス2010」は、電気化学発光法を測定原理とする免疫分析システムである。このシステムに用いられている電気化学発光技術は、発光反応とその検出法、および磁性微粒子固相法の組合せから成る。また、このシステムでは、ランダムアクセス方式をとっており、緊急検体に対しても随時対応することができる仕様となっている(表2参照)。この特徴について以下に述べる。

表2 「エクルーシス2010」の主な仕様

「エクルーシス2010」は完全ランダムアクセス方式を採用しており、検体追加や緊急検体に対して随時対応が可能である。また、二次元バーコードによって煩雑な検量線情報などの入力を自動化し、検査室などでの省力化の要求に対応する。

測定原理	電気化学発光免疫測定法
分析方式	ランダムアクセス方式
最大分析項目数	15項目
検体架設数	30検体(ディスクタイプ) 100検体(ラックタイプ) 緊急検体随時対応可能
試薬反応時間	9 min, 18 min
処理能力	毎時約90テスト
サンプル量	50 μL以下(1テスト当たり)
サンプリング方式	ディスポーザブルチップ自動交換式
試薬形状	液状試薬(調整不要) 蒸散防止機能(試薬ボトル自動開閉)
試薬情報管理	二次元バーコードによる自動入力
ディスプレイ	8.4インチカラー液晶
入力	タッチスクリーン キー入力
出力	外部プリンタ(オプション)
外形寸法・重さ	(幅)1,200×(奥行)750×(高さ)650(mm) ベンチトップ型 約170 kg

3.2 測定原理

(1) 固相

このシステムの免疫反応では、固相として磁性微粒子を用いている。この磁性微粒子はサンプルや試薬とともに反応容器中で加温され、免疫複合体を形成する。この免疫複合体を含む懸濁液(けんだくえき)は図1に示すように、磁石の作用によって測定チャンバ内の電極上に導入される。この後、一定の電圧を与えることにより、電気化学発光反応が行われる。

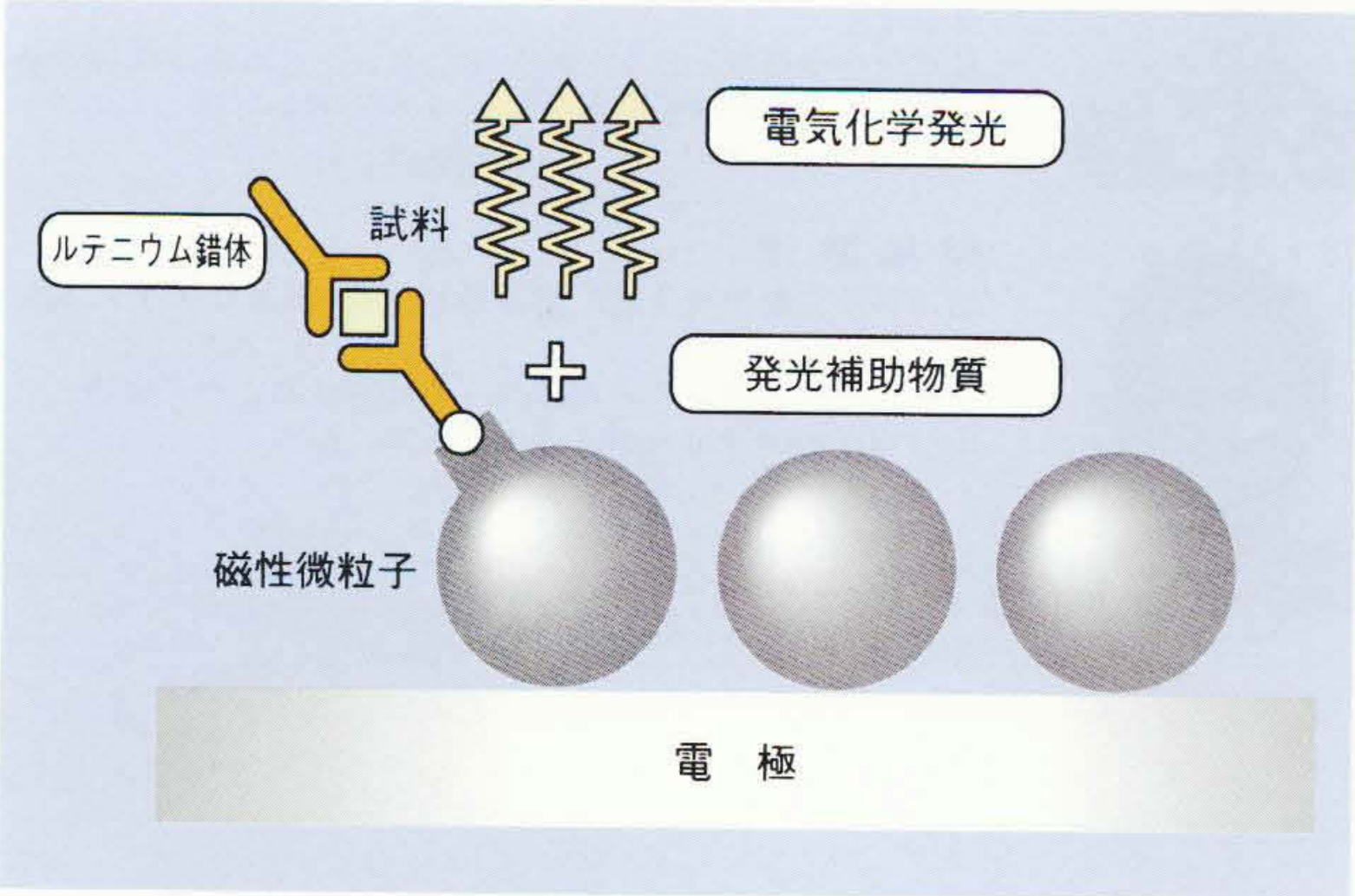


図1 電気化学発光の原理

電極上に捕捉されたルテニウム錯体、試料、および磁性微粒子の結合した免疫複合体は、一定の電圧を与えることにより、発光補助物質の作用で発光する。この発光量は免疫複合体の量に比例する。

(2) 発光反応と検出法

電気化学発光法では、化学発光標識としてRu(ルテニウム)金属の錯体化合物を用いている。この標識は、従来のEIAで用いられる酵素や他の発光標識と比べて安定性に優れている。この発光標識は電極の表面で酸化還元反応を受けて励起状態になり、これが基底状態に戻るときに発光する。このときの光量は測定対象となる物質の量に比例するため、発光量を光電子増倍管などで検出することにより、濃度未知物質を定量することができる。また、この反応が電圧を印加したときだけサイクリックに行われるので、感度の向上が容易に図れる。

3.3 「エクルーシス2010」の特徴

「エクルーシス2010」の幾つの特徴のうち、電気化学発光検出技術と固相試薬のコンビネーションによって達成された特徴について以下に述べる。

(1) 測定時間が短いこと

EIAに比べて基質を分解する反応がないため、測定時間が短い。

(2) 高感度であること

従来の発光と異なり、発光種が消耗しないで効率の良い発光が得られるため、微量物質の測定ができる。従来法よりも数倍から数十倍以上の高感度である。

(3) 広い測定レンジを持つこと

発光反応の全過程を電極制御で行えるため、再現性の良い発光が得られる。その直線性は、pmol濃度からμmol濃度までの広範囲で確保できる。

(4) 多様な測定対象に対応できること

固相と抗体の間で、一般的な抗原抗体反応よりも結合力の強いビオチン-アビジン反応を利用し、固相には1種類の磁性微粒子を用いた。これは一般的なすべての測定プロトコルに適用できるので、甲状腺等のホルモン、腫瘍マーカー、感染症(ウイルス、細菌等)など、広い検査対象での応用が可能である。

(5) スタット、緊急検査に対応できること

完全ランダムアクセス方式を採用しており、検体追加や緊急検体に対して随時対応することが可能である。

(6) 試料どうしの相互混入がないこと

サンプリング法としてディスポーザブルチップ自動交換方式を採用し、試料や試薬の相互混合をなくしている。

(7) オペレーションコストが低減できること

試薬情報管理を二次元バーコードを用いて行っており(図2参照)、煩雑な検量線情報の入力、試薬の残量や有効期限などの管理を自動化している。

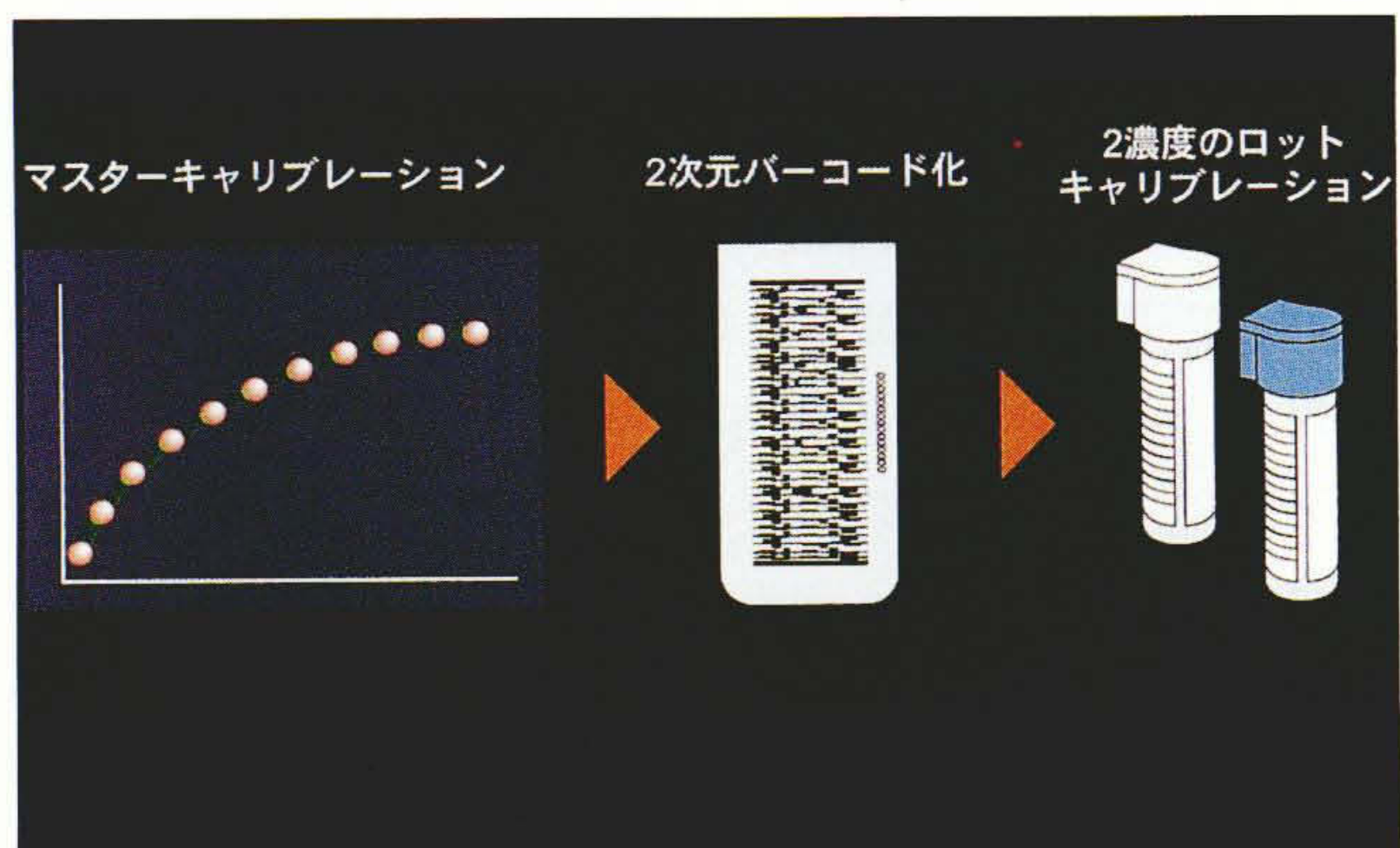


図2 「エクルーシス2010」におけるキャリブレーション

各測定項目試薬に対する詳細な検量線データ(マスターキャリブレーション)を2次元バーコード化し、装置上で使用される2濃度の標準液ボトルに添付する。このデータを必要に応じて、各試薬のロットキャリブレーションに使用する。

4. 免疫分析システム

近年、免疫分析システムでも、検査室の自動化に対応することが大きなニーズとなってきた。このため、「エクルーシス2010」では、ラックと呼ばれる検体のキャリヤをそのままシステムに導入できるオプションを用意している。さらに、システム化の効果を上げるため、2台の「エクルーシス2010」間を、ラックの自動搬送を行うコンベヤで接続することもできる。このコンベヤタイプのシステムでは、最大30項目まで同時に分析することができる。

今後は、近年、検査室に導入が進んでいる臨床検査自動化システムへの展開も計画している。

5. おわりに

ここでは、電気化学発光法という新しい原理に基づいて、ベーリンガー・マンハイム社と共同で開発した免疫分析システム「エクルーシス2010」について述べた。

病院や健康診断センターなどの医療機関での腫瘍マーカー・ホルモン・感染症などの診断や治療経過観察に、このシステムが活用できるものと思われる。

今後も、要素技術を生かして、高速化、高感度化を目

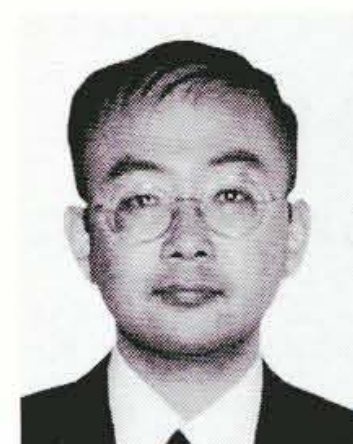
指すとともに、システム構築技術の充実を図り、ユーザーニーズである経済性に優れたシステム作りに取り組んでいく考えである。

終わりに、この論文の執筆にあたっては、ベーリンガー・マンハイム社の関係各位から資料提供、およびご指導をいただいた。ここに厚くお礼を申し上げる次第である。

参考文献

- 1) クラウス・エルラー：電気化学発光法(ECL)によるイムノアッセイシステムの開発, JJCLA, Vol. 20, No. 3 (1995)
- 2) 堀井, 外：電気化学発光全自動免疫測定装置「エクルーシス2010」による甲状腺関連検査の検討, JJCLA, Vol. 20, No. 1(1997)
- 3) Gary F. Blackburn, et al.: Electrochemiluminescence Detection for Development of Immunoassays and DNA Probe Assays for Clinical Diagnostics, Clin. Chem., Vol.37, No.9(1991)
- 4) 山本：イムノアッセイ装置の現状と今後, Bio Industry, Vol.13, No.1(1996)
- 5) 鎌田：イムノアッセイの自動化, 臨床化学, 24(1995)
- 6) A, J. Bard: Electrogenerated Chemiluminescent Determination of Oxalate, Anal. Chem., 55(1983)

執筆者紹介



新山也寸志

1982年日立製作所入社、計測器事業部 バイオメディカルセンター 所属
現在、免疫分析システム検出器の開発に従事
日本臨床検査自動化学会会員
E-mail: niyama@cm. naka. hitachi. co. jp



保田健二

1982年日立製作所入社、計測器事業部 バイオメディカルセンター 所属
現在、免疫分析システム検出器の開発取りまとめに従事
農学博士
日本化学会会員、日本分析化学会会員、日本臨床病理学会会員、日本生化学会会員、アメリカ化学会会員
E-mail: yasuda@cm. naka. hitachi. co. jp



田尾龍治

1978年日立製作所入社、計測器事業部 医用システム本部 設計部 所属
現在、免疫分析システム設計、開発取りまとめに従事
E-mail: tao@cm. naka. hitachi. co. jp