福井大学リポジトリ
UNIVERSITY OF FUKUI REPOSITORY

Analytical and clinical validation of rapid chemiluminescence enzyme immunoassay for urinary thioredoxin, an oxidative stress-dependent early biomarker of acute kidney injury

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2020-09-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 横井, 靖二 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/00028494

別紙様式第 11 号（第 14 条関係）

学位論文審査の結果の要旨

※ 整理番号		ふりがな 氏　　名	よこい　せいじ 横井　靖二
学位論文題目	Analytical and clinical validation of rapid chemiluminescence enzyme immunoassay for urinary thioredoxin, an oxidative stress-dependent early biomarker of acute kidney injury（急性腎障害の酸化ストレス依存性早期バイオマーカーである尿中チオレドキシンの迅速化学発光酵素免疫測定法の分析的および臨床的検証）		
審 査 委 員	主査　横山修　印 副査　松岡達　印 副査　岩野正之　印		

【研究の目的】ICU に入室する急性腎障害(AKI)は血液透析が普及した現在も死亡率 42.8%と高いままである。理由として現在診断に用いられている血清クレアチニンは腎機能障害の結果蓄積した老廃物を見ているため治療介入のタイミングを逸していることが挙げられる。AKI をより早期に診断するための鋭敏な検査法が望まれている。尿中チオレドキシン（TXN）は酸化ストレスに関連し AKI の早期より高値を呈する。化学発光酵素免疫測定法（CLEIA）は、従来の酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）よりも測定が迅速である。CLEIA 法による尿中 TXN の迅速測定系を開発し、分析的および臨床的に検証を行った。

【方法】CLEIA 法で既知濃度の TXN 検体を測定して標準曲線を作成した。次に共存する妨害物質（リウマチ因子、溶血ヘモグロビン、乳び、遊離ビリルビン、および結合ビリルビン）の影響を調べ、検出限界（Limit of detection; LOD）および定量下限(Limit of quantification; LOQ)を調べた。pH の影響を検討するために、HCL と NaOH で検体の pH を 4～10 の範囲に滴定し、尿中 TXN を測定した。同一検体を連続測定し同時再現性と日差再現性を調べた。他臓器の酸化ストレスの影響を評価のため 17 人の健常人、34 人の AKI 患者および 61 人の酸化ストレス関連疾患患者（脳梗塞、心筋梗塞、低酸素血症、AKI と同ステージの慢性腎臓病（CKD））の尿中 TXN 濃度を CLEIA 法および ELISA 法で測定し、ROC 曲線解析を行った。

【結果】CLEIA 法での標準曲線は良好なシグモイド用量反応曲線を示した。分析内再現性、分析間再現性、直線性はいずれも許容範囲内であった。共存物質の影響は、溶血ヘモグロビンのみで干渉を認めた。尿中 TXN の LOD は 0.22 ng/ml、LOQ は 0.5 ng/ml であった。pH の影響は pH 4.0 で尿中 TXN は有意に低値を示したが、ｐH8.0 に戻すと、ｐH 調整前の TXN 濃度に復帰した。尿中 TXN は健常者より AKI 患者で有意に高く、カットオフ値 15.6 ng/mL での感度 0.85、特異度 0.94 であった。腎臓以外の酸化ストレス疾患患者では尿中 TXN の増加はなかった。CKD 患者より AKI 患者の尿中 TXN 値が有意に高値であった（$p<0.05$）。4 時間以上を要した従来の ELISA 法に比べ、CLEIA 法では 6 分という迅速測定が可能となった。

【考察】溶血ヘモグロビンが測定値に影響を与えることが明らかになった。酸性尿<pH 6.0 の条件では CLEIA システムを用いた TXN 値は低値を示し、pH 調整緩衝液での希釈が重要であることが判明した。

【結論】尿検体を pH 調整後に測定することで、正確かつ再現性をもって尿中 TXN 濃度を測定できた。AKI に関連する酸化ストレスを迅速に定量できる臨床検査法を確立した。

以上の知見により、本学学位論文として十分価値のあるものと認める。

（令和　2 年　8 月 20 日）

別紙様式第 12 号（第 14 条関係）

最終試験の結果の要旨

※ 整理番号		ふりがな 氏　　名	よこい　せいじ 横井　靖二
学位論文題目	Analytical and clinical validation of rapid chemiluminescence enzyme immunoassay for urinary thioredoxin, an oxidative stress-dependent early biomarker of acute kidney injury（急性腎障害の酸化ストレス依存性早期バイオマーカーである尿中チオレドキシンの迅速化学発光酵素免疫測定法の分析的および臨床的検証）		
審査委員	主査　横山修　印 副査　松岡達　印 副査　岩野正之　印		

上記の者に対し，口頭／筆答により，学位論文を中心とした関連分野について試問を行った結果合格／不合格と判定した。

（令和　2 年　8 月　20 日）