

簡便かつ高感度なエタノールアミンリン酸測定を 用いた測定法の開発 ～うつ病マーカーの学生指導への応用～

河野 弥季^{1,2)} 木内 幸子³⁾ 大澤 進¹⁾ 清宮 正徳¹⁾
栢森 裕三⁴⁾ 外園 栄作⁴⁾ 赤堀 ゆきこ^{1),5)}

¹⁾国際医療福祉大学成田保健医療学部医学検査学科, ²⁾九州大学医学系学府保健学専攻,
³⁾千葉科学大学危機管理学部医療危機管理学科, ⁴⁾九州大学大学院医学研究院保健学部門
検査技術分野, ⁵⁾千葉大学真菌医学研究センター

利益相反の有無：なし

※この演題に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

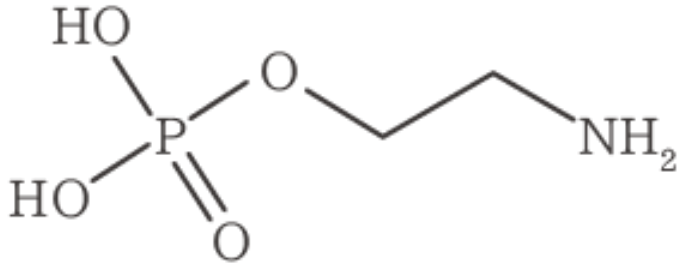
◆背景-①◆

うつ病は我が国において深刻な問題のひとつである

- 自殺やうつ病がなくなった場合の経済的便益の推定額は単年で約2兆7千億円*
- 早期治療で回復の可能性が高いが、早期発見が難しい現状

エタノールアミンリン酸 (Ethanolamine phosphate; EAP) を測定する方法

◆背景-②◆



Ethanolamine phosphate

- 大うつ病のマーカーとして重要性が発表された (感度82%, 特異度95%)*
- うつ状態におけるカットオフ値は **1.5 $\mu\text{mol/L}$**
- キャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析 (CE-TOFMS) や酵素を用いた測定法**が発表されている

<問題点>

CE-TOFMS法：煩雑な前処理や高価な装置を要する

酵素法：感度が十分でない

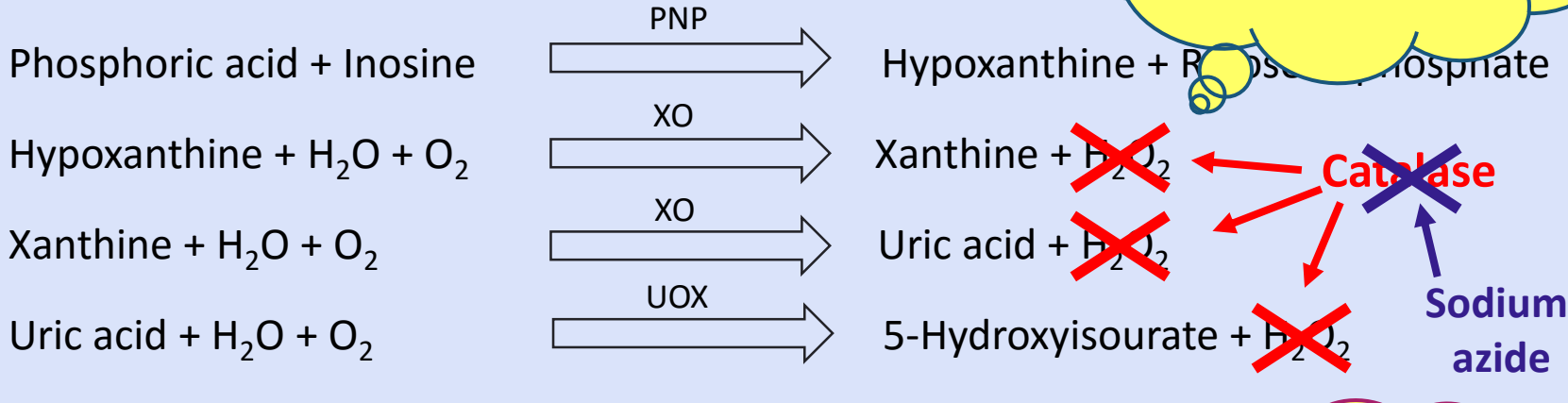
◆目的◆

**簡便で高感度な
エタノールアミンリン酸の
酵素的測定法を構築する**

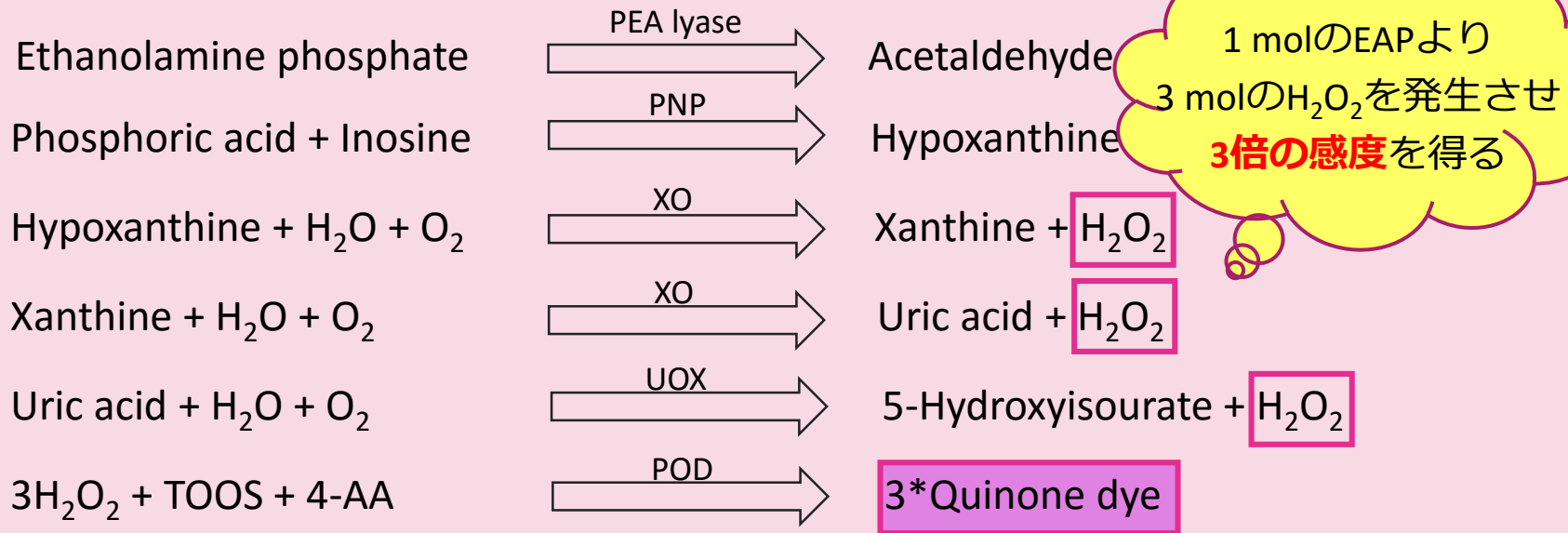
◆測定原理◆

血清中に存在する
リン酸, ヒポキサンチン,
キサンチン, 尿酸を
あらかじめ消去する

消去反応



本反応



◆ 試薬組成・測定条件 ◆

R1	Concentration
4-AA	60 $\mu\text{mol/L}$
UOX	3.24 U/mL
XO	5.6 U/mL
PNP	2.854 U/mL
Inosine	1.75 mmol/L
Catalase	550 U/mL
pH8.0, 0.1 M HEPES	
R2	Concentration
TOCS	9.2 U/mL
Sodium azide	0.5%
PEAllyase	4 U/mL
pH8.0, 0.1 M HEPES	

<測定条件>

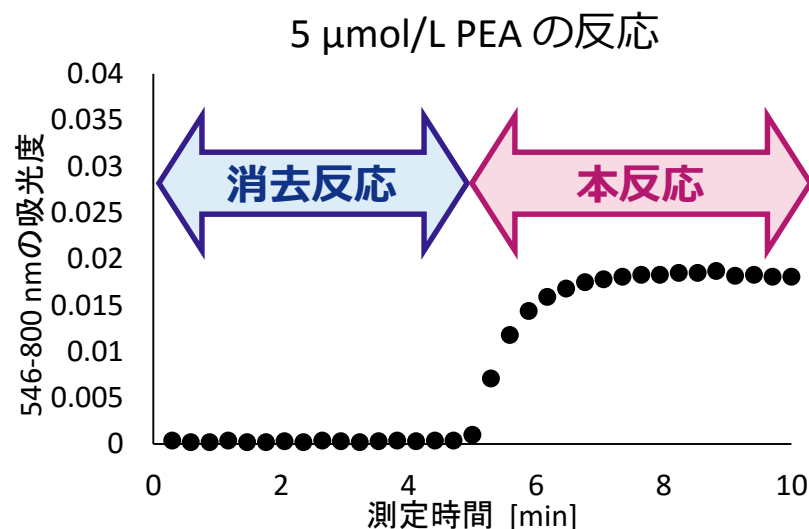
R1: 120 μL

R2: 60 μL

sample: 30 μL

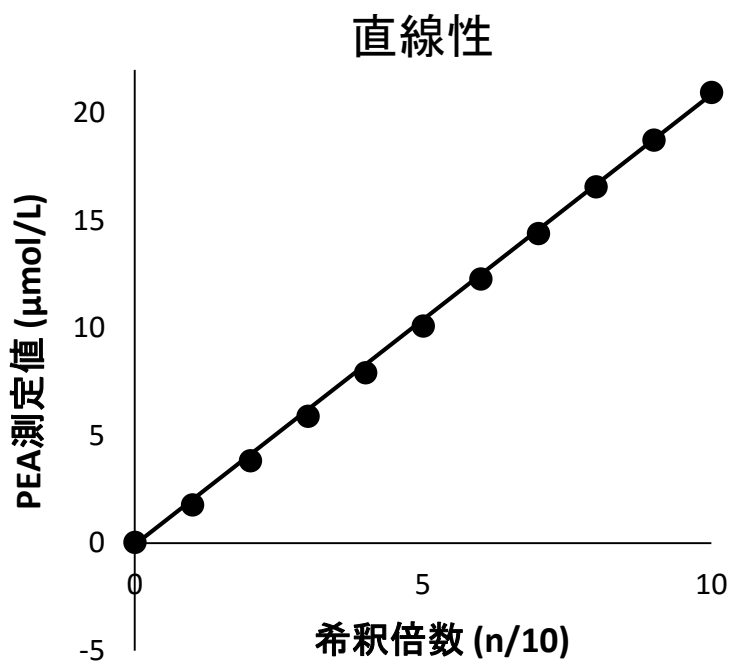
副/ 主: 800/ 546 nm

測定機器: HITACHI 7180

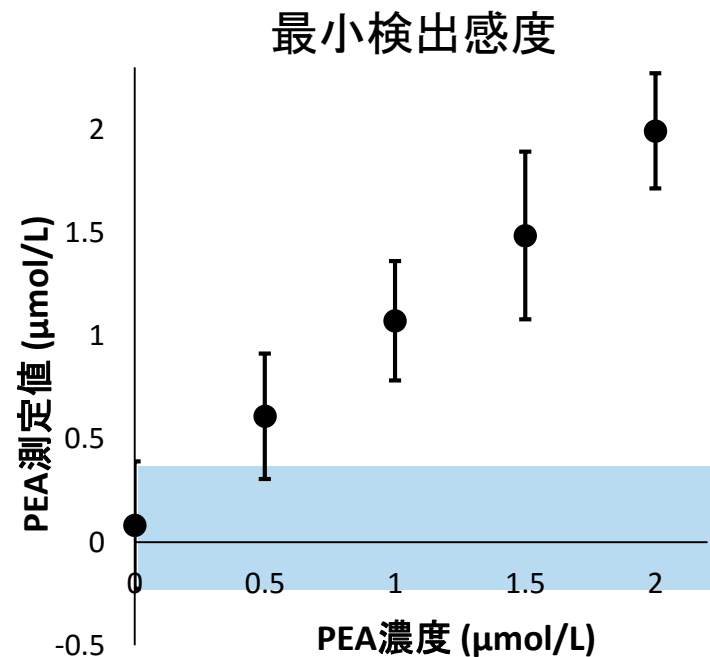


◆結果-①◆

直線性と最小検出感度の結果を示す



⇒ 20 μmol/Lまでの直線性が確認できた

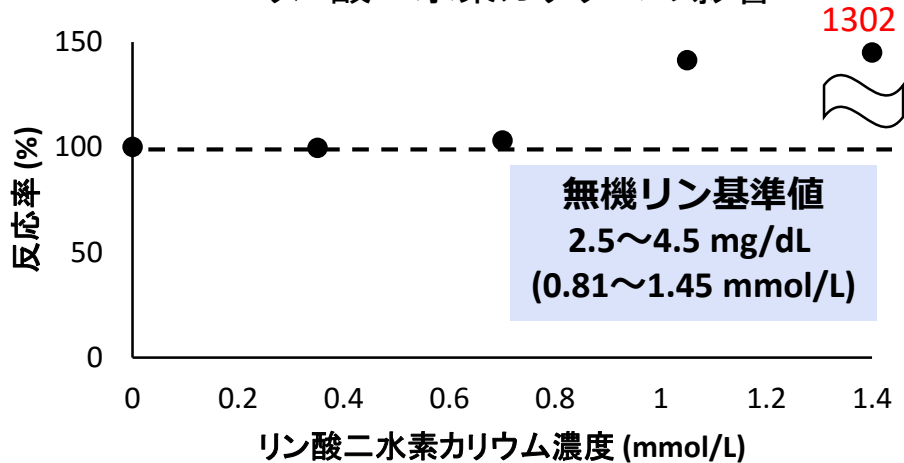


⇒ 最小検出感度は1 μmol/L

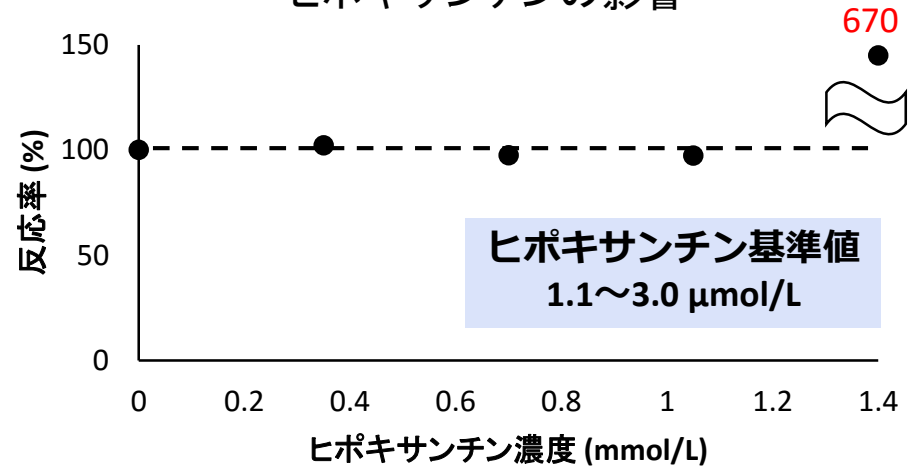
◆結果-②◆

内因性物質の影響を確認する

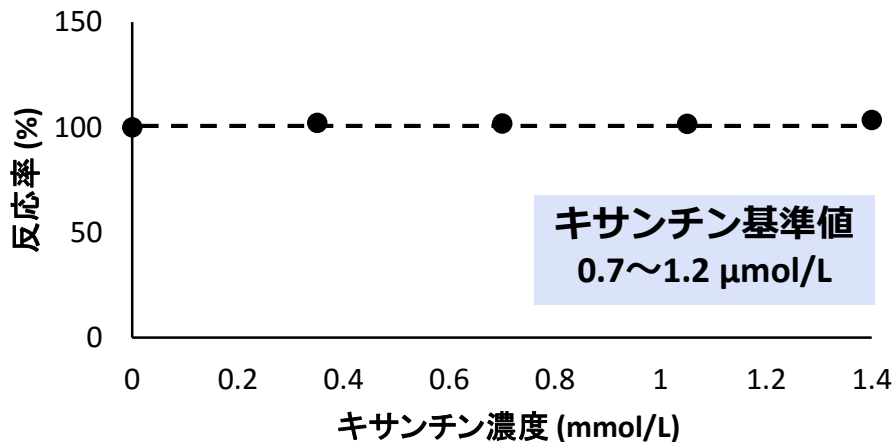
リン酸二水素カリウムの影響



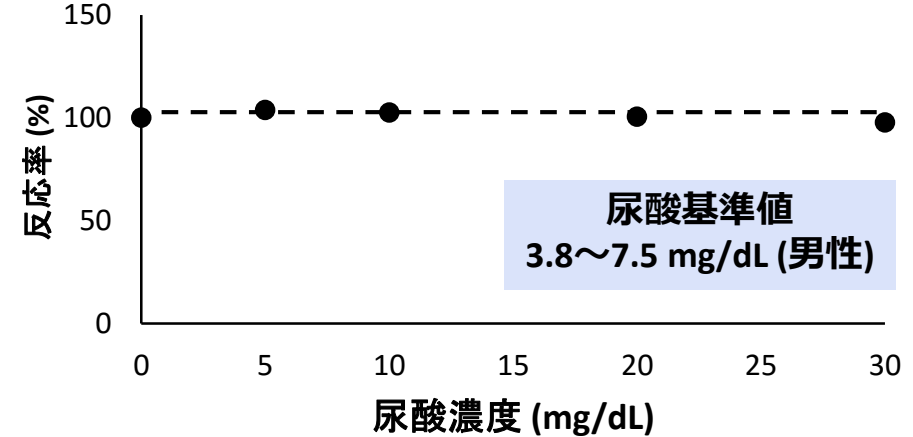
ヒポキサンチンの影響



キサンチンの影響



尿酸の影響



◆結果-③◆

再現性を確認する

Within-run (n=20)

Between-run (n=10)

	Low	Middle	High		Low	Middle	High
Mean (μmol/L)	0.99	1.97	10.87	Mean (μmol/L)	1.00	1.98	10.79
SD (μmol/L)	0.081	0.069	0.096	SD (μmol/L)	0.068	0.060	0.169
CV (%)	8.17	3.53	0.88	CV (%)	6.80	3.05	1.56
Max	1.24	2.10	11.08	Max	1.11	2.09	11.03
Min	0.88	1.81	10.69	Min	0.85	1.91	10.54
Range	0.36	0.29	0.39	Range	0.26	0.18	0.49

◆まとめ◆

- EAP の酵素的測定法を新たに構築した
- EAP 濃度20 $\mu\text{mol/L}$ までの直線性を確認した
- 最小検出感度は**1 $\mu\text{mol/L}$** であった
- リン酸二水素カリウム **0.7 mmol/L** (無機リン換算で 2.2 mg/dL), ヒポキサンチン **1.05 mmol/L**, キサンチン 1.4 mmol/L, 尿酸 30 mg/dLまで反応に影響がなかった
- 同時再現性, 日差再現性は低濃度でばらつきが大きい結果となった

◆今後の課題◆

□うつ状態におけるEAPのカットオフ値は**1.5 $\mu\text{mol/L}$**

⇒最小検出感度1 $\mu\text{mol/L}$ では十分ではない

□無機リンは基準値の範囲内でも**消去不可**であった

⇒反応液中の試料の容量が大きい(全量210 μL に対し
試料30 μL)

超高感度発色系の開発

◆謝辞◆

ご清聴ありがとうございました

本研究は黒住医学研究財団より第24回研究助成金を受けて実施されました

PEAllyaseの提供に関し, ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ
株式会社に厚く御礼申し上げます

Purine nucleoside phosphorylase, Urate oxidaseの提供に関し, 旭化成ファーマ
株式会社に厚く御礼申し上げます