

【発表概要】

第15回アルツハイマー病臨床試験会議 (CTAD)

Effects of pre-analytical parameters on plasma β -amyloid level

発表者	石木 健吾 ¹ 、山下 和人 ¹ 、渡部 俊介 ¹ 、三浦 雅央 ¹ 、岩永 茂樹 ¹ 、佐藤 利幸 ¹ ¹ シスメックス株式会社、中央研究所
発表概要	<p>背景</p> <p>アルツハイマー病 (AD) の血液バイオマーカーは、従来の神経画像や脳脊髄液 (CSF) バイオマーカーと組み合わせて診断を補助する有用な手法として期待されている。特に、血漿アミロイド β_{1-42} ($A\beta_{42}$) とアミロイド β_{1-40} ($A\beta_{40}$) の比は、脳内 $A\beta$ 病理と関連することが知られている。そのため、$A\beta$ を標的とした疾患修飾薬の臨床試験における被験者選定に役立つ可能性がある。我々はこれまでに、全自動免疫測定プラットフォーム HISCL™ シリーズを用いて、血漿中の $A\beta_{40}$ と $A\beta_{42}$ を特異的に検出できる測定法を開発している。この測定法は、アミロイド陽電子放出撮影法 (PET) によって判定された脳内 $A\beta$ 病理を高い性能で予測した。</p> <p>しかし、血漿中の $A\beta$ は不安定であることが広く知られており、その測定値は外部要因や測定機器、サンプルの取り扱いなどの検体前処理の影響を受けると報告されている。特に、検体の採血条件や保存条件は血漿中 $A\beta$ 濃度の値に影響を及ぼし、結果の誤った解釈を招く可能性がある。</p> <p>したがって、臨床試験において信頼性の高いデータを得るためには、検体の前処理が血漿 $A\beta$ 濃度に及ぼす影響を明らかにする必要がある。</p> <p>目的</p> <p>HISCL シリーズで測定した血漿 $A\beta$ 濃度に対する検体の前処理による影響を明らかにすることを目的とした。</p> <p>方法</p> <p>血液検体は、健常人ボランティアから K2EDTA 採血管を用いて採取した。遠心分離後、直ちに HISCL シリーズを用いて血漿 $A\beta_{40}$ および $A\beta_{42}$ 濃度を測定し、血漿 $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 比を算出した。</p> <p>室温 (RT) または 4°C での採血から遠心分離までの時間、RT または 4°C での測定までの血漿保存の時間、凍結融解回数、融解の条件、融解した血漿の測定までの</p>

保存時間、血漿を保存するチューブの材質やメーカーの種類、使用するチップの種類、チューブの移し替え回数など、11種類の検体前処理条件が血漿 Aβ42/Aβ40 比に与える影響を比較した。

結果

採血後 RT で 2 時間、4°C で 6 時間の静置は血漿 Aβ42/Aβ40 比に影響を与えなかった。また、血漿分離後、4°C で 18 時間保存しても血漿 Aβ42/Aβ40 比は変化しなかった。血漿分離後は試料の保存時間が長くなるほど、もしくは保存温度が高くなるほど、血漿 Aβ42/Aβ40 比が減少する傾向が認められたが、設定した基準を超える影響は認めなかった。続いて、血漿を融解した後に RT で保存する時間に関しても評価したが、4 時間まで影響は認められなかった。加えて、3 回までの凍結融解は基準条件と比較して血漿 Aβ42/Aβ40 比に大きな変化を与えなかった。融解条件として、RT と 37°C での融解を比較した。この際、37°C の条件はウォーターバス、ドライブロックインキュベーター、エアインキュベーターを用いて検証した。その結果、どの融解条件も血漿 Aβ42/Aβ40 比には影響しなかった。さらに血漿 Aβ42/Aβ40 比は、チューブのメーカー、ピペットチップの種類、1 回までのチューブの移し替えの影響を受けなかった。

結論

本研究では、HISCL シリーズで測定した血漿 Aβ42/Aβ40 比に対する 11 の検体前処理条件の影響を評価した。今回の評価において、血漿 Aβ42/Aβ40 比に最も影響する因子は血漿分離後の試料保存時間と温度であった。これらの結果は、検体の前処理条件に関する他の測定プラットフォームを使用した過去の報告と一致していた。

本研究は HISCL を用いた血漿 Aβ 測定のための検体前処理条件の確立に貢献すると考えられ、本結果に基づいて検体の前処理条件を確立することで、これまでに示してきた我々の血漿 Aβ 試薬の高いアミロイド PET 予測性能を臨床試験でも達成できる可能性がある。

セッション

Poster, Clinical Trials: Biomarkers including plasma (LP74)