

大腸癌検診における精度管理向上について

大西 淳一, 佐々木智子, 関谷 千尋¹⁾

札幌社会保険総合病院 検査部 内科¹⁾

便中ヒトヘモグロビンの定量化に伴い、その精度管理が必要とされている。特に採便後のヘモグロビン安定性が精度管理に大きな影響を与えていると考えられている。今回、我々は新たに改良された金コロイドについて、温度依存による製品評価を行った。その結果、100ng/mlの検体では8日間37℃下での安定性が確認され、精度管理上有用であるといえた。また、潜血陽性の患者便をサンプルとして、採便部位による濃度差の差異を調査した。この結果、異なる10カ所の採便ではレンジが20,000ng/mlであり、同一部位の採便ではレンジは2,057ng/mlであった。この結果から、ヘモグロビンは便の表面に不均一に分布しており、数カ所から採便する必要があると考えられた。

キーワード：便潜血検査、ヘモグロビン安定化、精度管理

はじめに

大腸がんの早期発見には、便中ヒトヘモグロビンの測定がスクリーニング検査として有効な方法とされている。しかし、精度管理面から考えると輸送中のヘモグロビン不安定性の問題¹⁾や、採便部位による濃度差の問題²⁾などが存在し、より高い信頼性のためには一層の精度向上が求められている。

一般に採便方法についてはスティック法が利用しやすく、便を緩衝液で溶解させて病院に持ち込み検査部で測定を行う。ただ、この方法は時間がかかるとヘモグロビンの変性が生じ、偽陰性になる可能性があるため、改良が必要とされてきた。本研究は、ヘモグロビンを安定しやすくした改良緩衝液を用いた測定系について実際の便で評価することを目的とした。

また、採便部位による濃度差については大腸がん患者の便を試料とした研究報告のなかで、大腸がんを効率的に検出するためには、便の表面数カ所から擦過採便する方法が最も良いと述べている³⁾。便の数カ所から採取すればヘモグロビン陽性部位を含む確立が高くなるため、より検出できるものと考えられる。以前より便における潜血陽性部位の散在性が証明されており、今回我々は、便潜血陽性患者から

の試料を使用し、その10箇所から採便し各々濃度を測定し、便における潜血濃度の差異を検討した。

方 法

1) ヘモグロビン安定化に関する実験の試料は、当院内で了解の得られた患者便を使用した。測定まで-40℃の条件で保存した。試料調整は通常の採便が1mlの溶解液に対し、4mg採便されることから、100mlの溶解液に対し0.4gの便をプラスチックビーカー内で溶解し、均一化した。均一化した溶液を装置専用の容器に、1mlずつ測定日数分だけ分注した。

溶解液については、ラテックス法の溶解液と、金コロイド法の2種類の溶解液を使用した。両方法とも安定化改良を行った溶解液を使用した。分注を行った容器を4℃、22℃、37℃の温度条件で保存し、毎日同時刻に、11日間測定を行った。測定についてはラテックス法がOCセンサーII、金コロイド法がJIA-HB2010を用いた。測定の液量条件については装置のプロトコールに従って設定した。

2) 採便部位の濃度差異についての試験は、患者より了解の得られた潜血陽性便を使用した。この便表面には肉眼的に血液混入を観察しえなかった。表面

上では陽性部位がわからない同一便の、任意10箇所
の異なる部位から採便した試料と、同じ部位から10
回採便した試料を作成した。この2種類についての
試料を金コロイド法で測定し、採便部位による濃度
比較を行った。採便部位の差異については変動係数
での比較を行った。

結 果

1) 安定化に関する検討

- ① 低濃度試料では、直腸癌患者便の実際便を使用
した。試料を混和したため、初日の濃度は18ng
/mlであった。コントロールのラテックス法で
は、37℃保存では、4日後には19ng/mlから0 ng
/mlになった。金コロイド法では37℃保存でも
濃度値が16.5ng/mlであり10日間安定していた。
また、4℃や22℃保存ではラテックス法では、
5日後に測定初日濃度を100%として15%まで低
下していた。これに対して、金コロイド法では濃
度低下は見られなかった。(図1)
- ② 中濃度試料では、直腸癌患者便試料を使用した。
初期濃度はカットオフ値100ng/mlに近い、91
ng/mlであった。コントロールのラテックス法
では、8日後に初期濃度を100%として、4℃保
存で65.5%、22℃保存で40.3%、37℃保存では

27.9%の抗原性保持率であった。これに対し、金
コロイド法では、8日後に初期濃度を100%とし
て、4℃保存で113%、22℃保存で88.4%、37℃
保存89.6%の抗原性保持率であった。(図2)

- ③ 高濃度試料では、潰瘍性大腸炎患者の実際便を
使用した。初期濃度は12,720ng/mlであった。
コントロールのラテックス法では、8日の初期濃
度を100%とした抗原性保持率は、4℃保存で92.5
%、22℃保存で74.7%、37℃保存で28.9%であ
った。金コロイド法では、8日後の初期濃度を100
%とした抗原性保持率は4℃保存で100.3%、22
℃保存で80.0%、37℃保存で31.2%であった。
(図3)

2) 採便部位による潜血濃度差異の検討

潜血陽性便を試料とした採便部位による試験につ
いては、便中に潜在するヘモグロビンは不均一であ
ることが考えられた。便表面の同一部位から10カ所
採便した濃度値の平均値は1125ng/mlで変動係数
は52.2%であった。また、異なる10カ所から採便し
た場合はさらに変動が大きかった。平均値は4,875
ng/mlで、変動係数は151.8%であった。異なる
10カ所の変動幅は、95ng/mlから20,064ng/mlで
あり、20,000ng/mlの幅がみられた。(表1) 患者

図1 低濃度検体の保存安定性

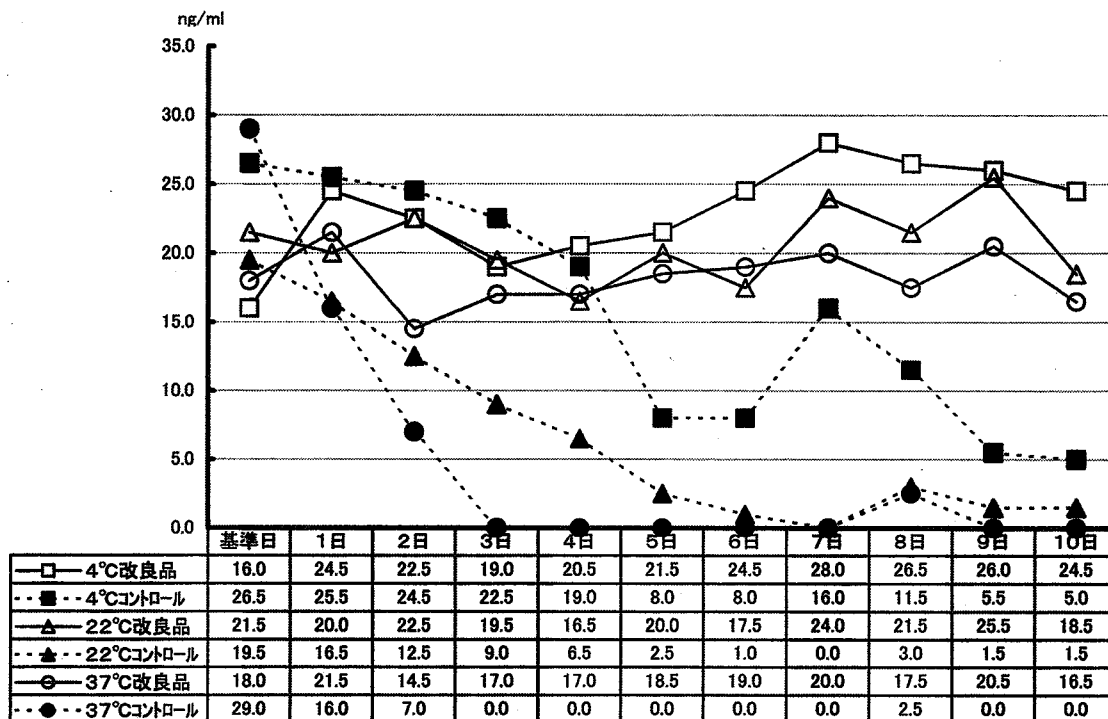


図2 中濃度検体の保存安定性

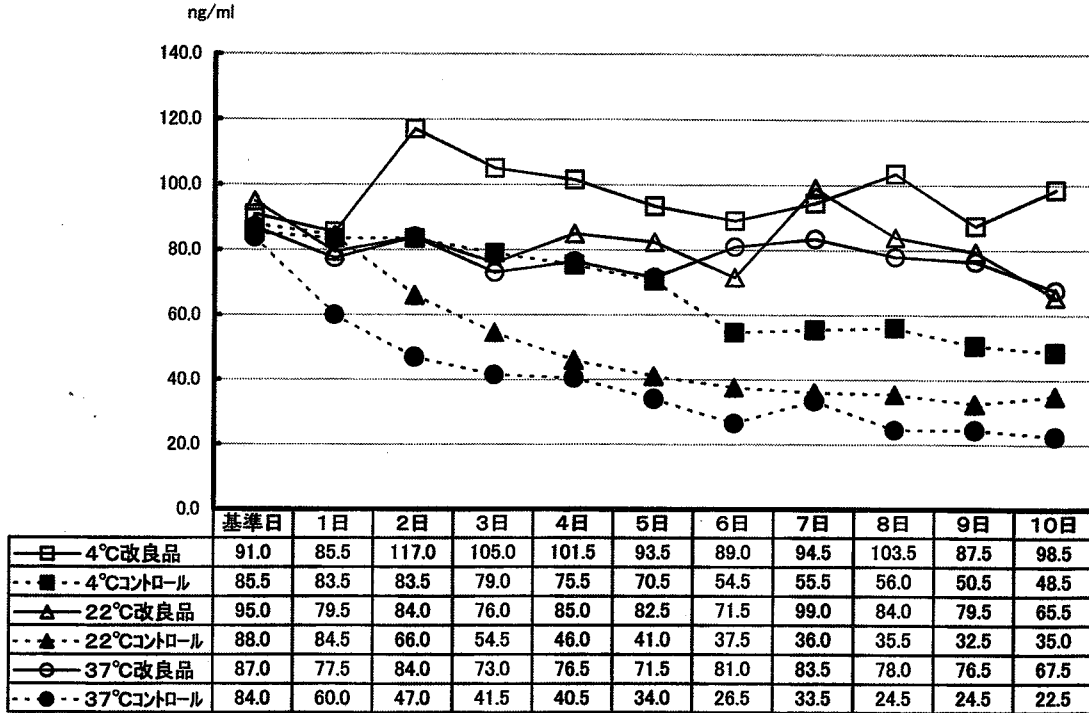
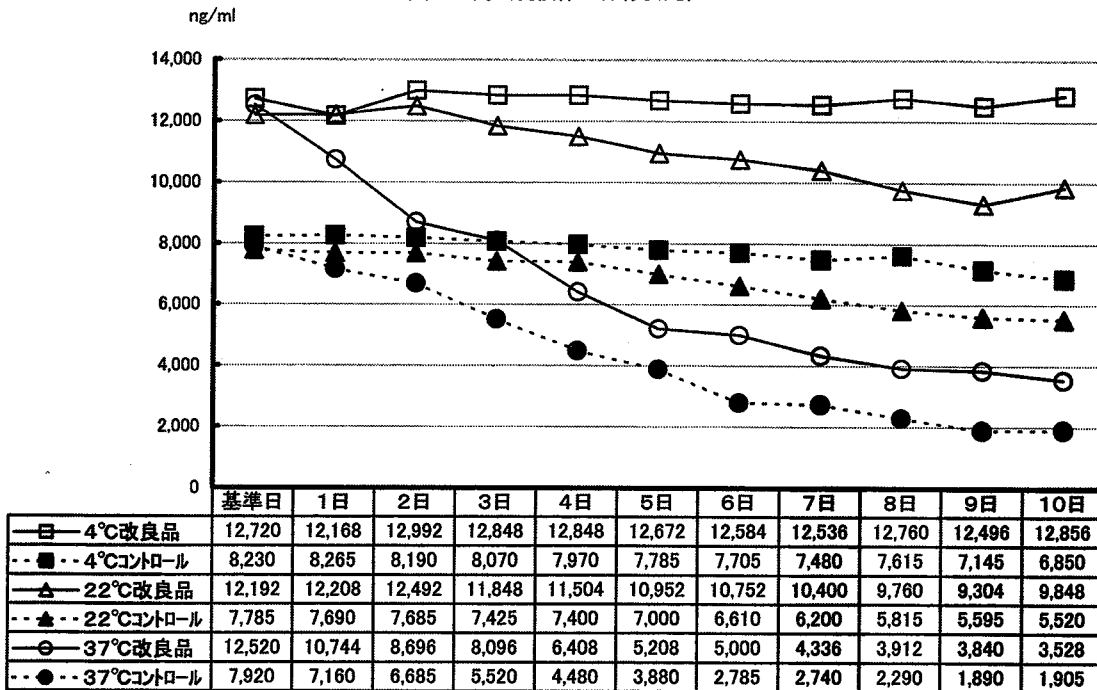


図3 高濃度検体の保存安定性



便の異なる10カ所の採便では、カットオフ値を下回る値から200倍の濃度まで範囲が広がった。

考 察

採便後の日数変化をみると低濃度、中濃度、高濃度検体全てにヘモグロビン低下を見たが、温度依存性に低下する傾向が強かった。ヘモグロビンの濃度

低下については温度依存による高次構造の変化が主な要因であると考えられており、大腸がんスクリーニングにおける採便後の輸送については、高温輸送を避ける必要があると考えられる。

ただ、今回の我々の検討のように抽出液を改良すると、輸送中のヘモグロビン変性を防止することが可能となるので、大腸癌検診の郵送法も可能になる。

表1 採便部位による差

採便部位	同一部位	異なる部位
1	1,070	283
2	679	95
3	771	798
4	926	428
5	925	17,264
6	1,180	732
7	993	20,064
8	1,123	2,848
9	2,736	2,528
10	847	3,712
平均値	1,125	4,875
SD	586.9	7398.6
CV%	52.17	151.76

つまりカットオフ値付近の便検体について、どうしても問題になるのであるが、8日後の37°C保存安定性でみるとコントロール法の27.9%に対し、改良法は89.6%の保持率であった。このようなヘモグロビンの高次構造の保持については、構造維持に関与する物質の存在が考えられているが、それについてはいまだ同定されていない。ただ、今回の検討では低濃度検体の場合、改良型抽出液は37°C保存でも8日間高次構造の保持が見られたが、高濃度検体では、改良型抽出液で37°C保存では8日後の保持率は31.2%であった。これは、安定化に関与する物質が低濃度検体では全てのヘモグロビンに作用し、高濃度検体では一部のヘモグロビンに作用していたことが考えられる。

今後は、構造保持に関与すると予想される、ホルディングタンパク質などが単離されることにより、一層ヒトヘモグロビン安定化が得られるものと思われる。一方、便中に含まれる消化液などの分解酵素

などの関与も考えられており、その抑制も有効と予想されるが、今はまだ明らかにされていない。

便潜血陽性の患者便を試料とした採便部位の濃度差は20,000ng/mlあったことから、便中に分布するヘモグロビンは不均一であることが考えられる。採便部位によっては、カットオフ値を下回り陰性と判定される可能性がある。採便に際してはこの不均一性を考慮して、数カ所から採便を行うなど、対策が必要と考えられた。

結 語

便潜血検査の精度管理向上のために、抽出液中のヘモグロビン安定性の試験を行った。コントロールの方法に対し、改良型の抽出液では、37°Cの保存条件であっても8日間の安定化が確認された。しかし12,000ng/mlなどの高濃度試料については低下した。低濃度検体では低下しなかったことから、実用的には問題がないと考えられた。今度はさらにヘモグロビン不安定化のメカニズムを明らかにする必要性が考えられた。

文 献

- 1) Jerome B. SIMON: Occult Blood Screening for colorectal carcinoma: A Critical Review. *Castroenterology* 88 No. 3: 820-837 1985
- 2) 春日井達造、植田美津江、通木俊逸ほか: 便潜血検査における温度、湿度及び時間的経過の便中Hbの反応に及ぼす影響に関する研究、*日消集検誌*31巻1号 14-36 1993
- 3) 今井信介: 大腸癌および大腸腺腫患者糞便の免疫学的便潜血反応陽性部位、*日本大腸肛門病会誌* 43 1142-1153 1990

The Study of Occult Blood Accuracy Management

Junichi OHNISHI, Tomoko SASAKI

Department of Clinical Laboratory, Sapporo Social Insurance General Hospital

Chihiro SEKIYA

Department of Internal Medicine, Sapporo Social Insurance General Hospital

The gold-colloid method, a test detecting fecal occult blood, is useful for screening colon cancer. In the test, feces must be well preserved to quantify the data. Thus, the extraction buffers has been improved for the purpose. In this study, we examined a recently developed extraction buffer in respect of temperature-dependent degradation of hemoglobin in the samples. As results, the buffer produced stable results after preserving samples with 100ng/ml hemoglobin at less than 37°C for eight-days, suggesting of good quality of the buffer in stabilizing samples.

Further, we examined the variation of the results by sampling different parts of the feces from patients with hepatocellular carcinoma. As results, the data of ten samples from different parts varied as much as 200,000ng/ml, however ten samples from fixed part varied only 2,057ng/ml. In conclusion, the distribution of hemoglobin on the surface of feces is uneven and it is important to obtain samples from several parts of the feces.