

標準物質協議会

# 会報

2014・03  
第 67 号

Japan Association of Reference Materials

## 目次

1. 血漿中アミノ酸分析の臨床的意義と標準物質・・・・・・・・・・ 1
2. CERIにおける無機ガス微量分析・・・・・・・・・・ 1 2
3. 編集後記・・・・・・・・・・ 2 1

本資料は、標準物質協議会が協力機関として平成 25 年 11 月 8 日（金）に開催されました計測標準フォーラム第 11 回講演会の「NMIJ

計量標準セミナー」において味の素㈱の宮野博氏が招待講演としてお話された内容を会報用に編集いただいたものです。

2013年11月8日  
NMIJ計量標準セミナー  
～産業の安全・安心を支える標準物質～

## 血漿中アミノ酸分析の臨床的意義と標準物質

味の素株式会社イノベーション研究所 宮野 博

## 血漿中アミノ酸分析の臨床的意義と標準物質

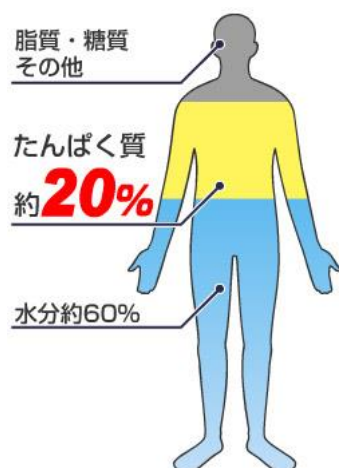
- 血液（血漿）中アミノ酸濃度は疾患で特徴的な変化を示す
- 「アミノインデックス技術」
- 血漿中アミノ酸研究の問題点：採血のタイミングや保存条件でアミノ酸濃度は変動する
- 臨床化学会栄養専門委員会プロジェクト：「血漿アミノ酸濃度の基準範囲設定」の取組み
- まとめ（要望）

2

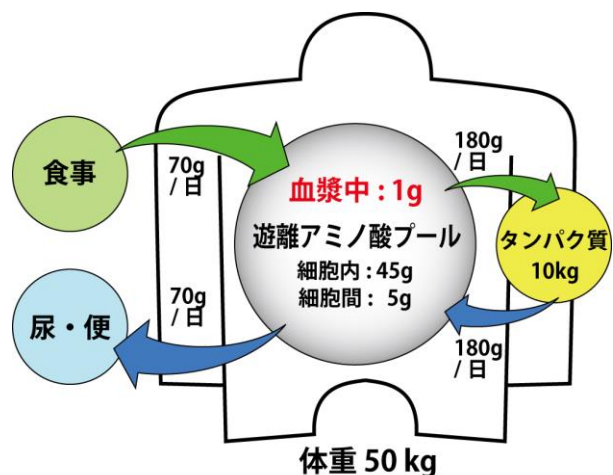
## 生体活動の根源的な生体情報としてのアミノ酸

「三大栄養素」のなかでも、たんぱく質がカラダの中で一番多く「生命活動を行う上で必要不可欠な根源的な栄養素」  
たんぱく質を構成しているのは20種類のアミノ酸であり、代謝、免疫、消化、中枢機能、発達、生体防御、運動機能等、あらゆる生体活動に重要な役割を担う

人のカラダにおける成分構成比



人のカラダにおけるアミノ酸収支



3

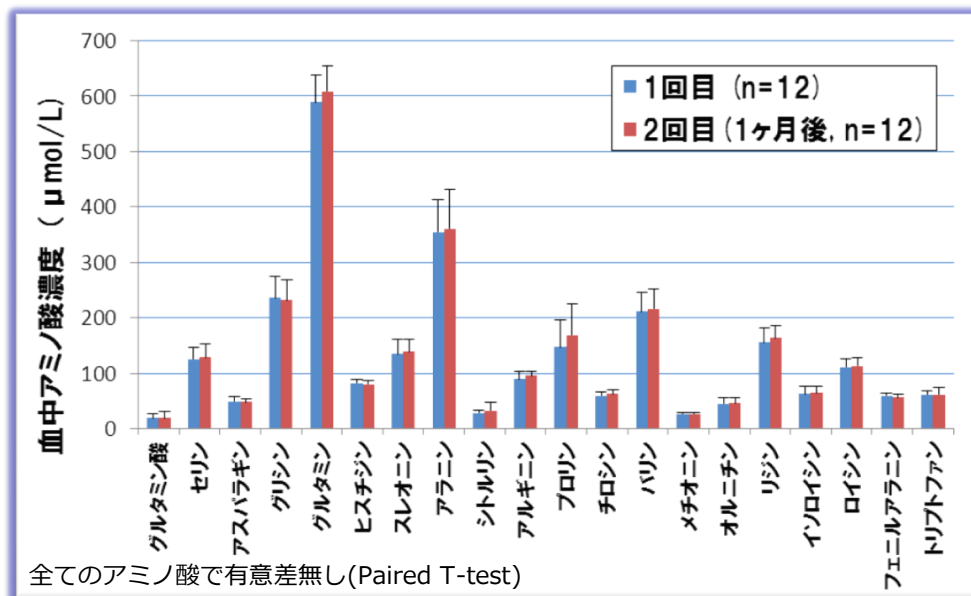
## 血漿中アミノ酸濃度は疾患で特徴的な変化を示す

- 血漿中のアミノ酸濃度はホメオスタシスが維持されている。
- アミノ酸分画測定は、先天的アミノ酸代謝異常症の診断、肝機能不全の重症度判定や治療の指標、栄養状態不良の患者の病態把握などに用いられることが多く、保険の適用を受ける検査項目である。
- また、肝細胞癌、冠状動脈性心臓病、腎不全、糖尿病など、種々の疾患で血液中アミノ酸が特徴的な変化を示すことが報告されている。

4

## 血漿中のアミノ酸濃度はホメオスタシスが維持

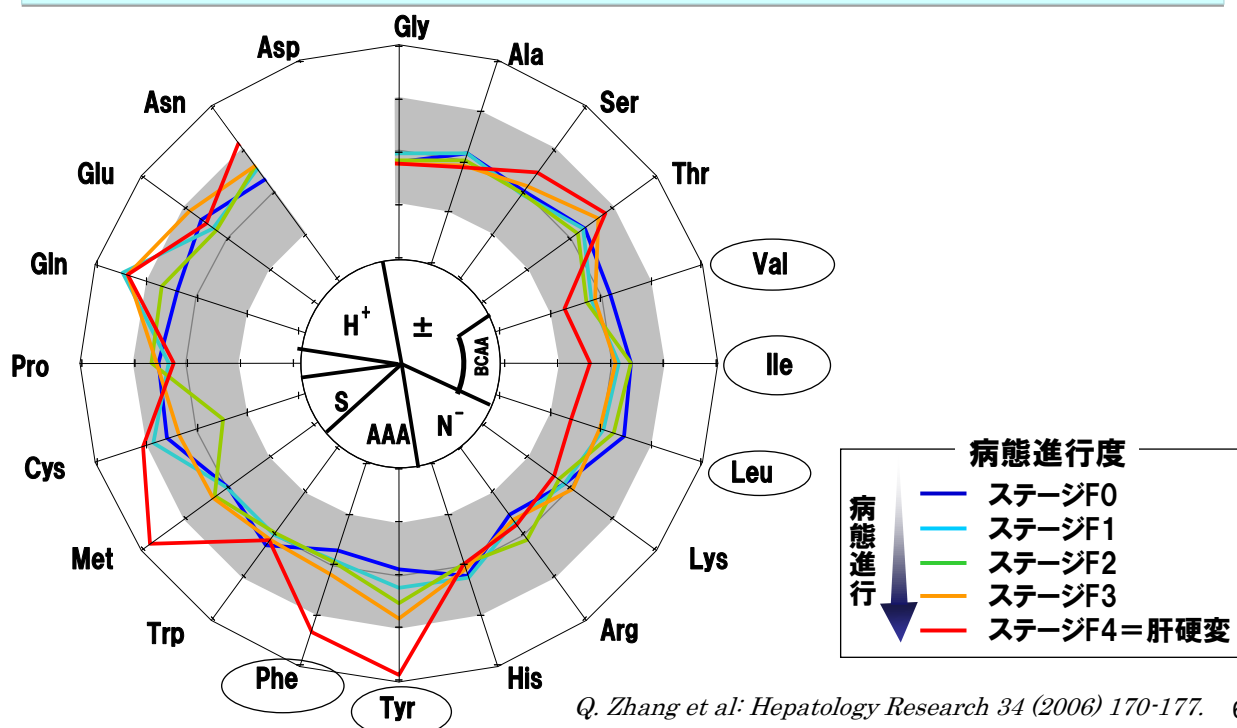
血漿中アミノ酸濃度は種類によって異なるが、早朝空腹時（いわゆる健康診断採血）では、採血日が異なっても、同一アミノ酸に濃度差は生じず、高い恒常性が維持されている。



5

## 肝疾患患者に特徴的な血漿中アミノ酸変化

肝疾患患者は、病態が進行するにしたがって、アミノ酸比率が変化する。  
(それぞれのアミノ酸濃度の正常範囲はグレーの帯で表されている。)



## 疾患で血液アミノ酸プロファイルが変動することはよく知られていた

### ■ 肥満・糖尿病・心血管疾患

- Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat. Med.* 2011 17(4):448-53.
- Branched-chain amino acid levels are associated with improvement in insulin resistance with weight loss. *Diabetologia.* 2012 55(2):321-30.
- Association of a peripheral blood metabolic profile with coronary artery disease and risk of subsequent cardiovascular events. *Circ Cardiovasc Genet.* 2010 3(2):207-14
- A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab.* 2009 Apr;9(4):311-26

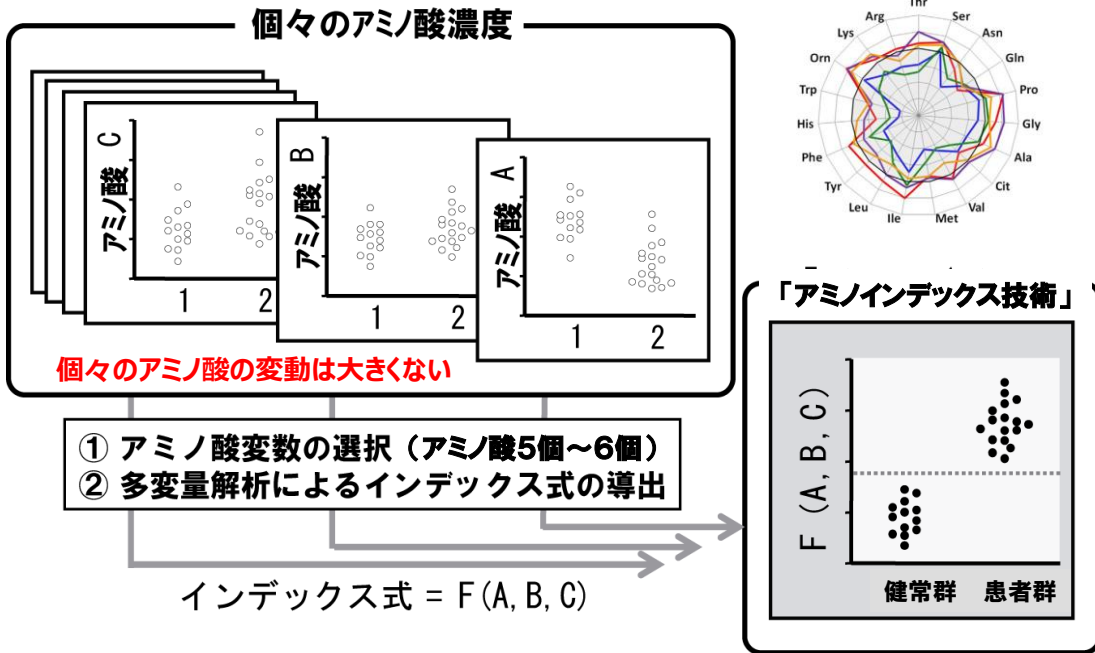
### ■ がん

- Plasma free amino acid profiling of five types of cancer patients and its application for early detection. *PLoS One* 2011 6(9):e24143.
- Serum methionine metabolites are risk factors for metastatic prostate cancer progression. *PLoS One.* 2011 6(8):e22486.
- Feasibility of identifying pancreatic cancer based on serum metabolomics. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011 20(1):140-7.
- Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature.* 2009 457(7231):910-4.
- Early detection of recurrent breast cancer using metabolite profiling. *Cancer Res.* 2006. 70(21):8309-18

### ■ 他疾患

- 肝臓疾患 (*Lancet* 1976) ・リウマチ (*Mediators Inflamm.* 2010) ・慢性腎不全 (*Hypertens Res.* 2010) ・変形性膝関節症 (*Ann Rheum Dis.* 2010) ・炎症性腸疾患 (*PLoS One.* 2011) etc.

# 「アミノインデックス技術」とは



8

## アミノインデックス<sup>®</sup>

健康状態や病気の可能性を  
明らかにする技術を活用した解析サービスが  
アミノインデックス<sup>®</sup>です。

### アミノインデックス<sup>®</sup>とは

血液中のアミノ酸濃度を測定することで、健康状態や病気の可能性を明らかにする技術を活用した解析サービスがアミノインデックス<sup>®</sup>です。

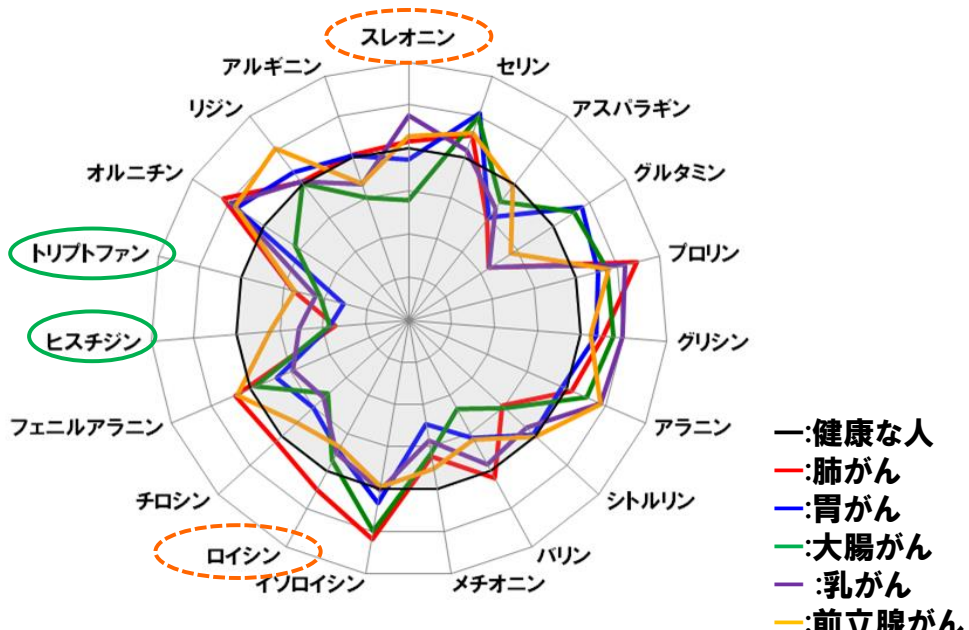
例えばスポーツ選手の疲労度をアミノインデックス<sup>®</sup>で調べ、競技の種目ごとに最適なトレーニング法や食事提案をしたり、高齢者の栄養管理に用いるなど、アミノインデックス<sup>®</sup>の今後の可能性はとてもひろがっています。

## アミノインデックス<sup>®</sup> がんリスク スクリーニング

AICS = AminoIndex<sup>®</sup> Cancer Screening

9

# がん患者の血漿中アミノ酸濃度バランスの変化



○ がん種共通の変化 Trp: トリプトファン, His: ヒスチジン  
 ○ がん種ごとに特徴的な変化 Thr: スレオニン, Leu: ロイシン

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0024143>

## AICSの報告書書式

**男性AICS [4種] :**  
 胃がん、肺がん、大腸がん、  
 前立腺がん

**女性AICS [5種] :**  
 胃がん、肺がん、大腸がん、  
 乳がん、子宮がん・卵巣がん\*

**女性AICS [2種] :**  
 乳がん、子宮がん・卵巣がん\*

**aminoindex アミノインデックス** **アミノインデックス報告書AICS**

性別: 男 年齢: 65歳

検査結果: AICS (胃) 5.8, AICS (肺) 2.3, AICS (大腸) 0.9, AICS (乳腺) 3.8, AICS (子宮・卵巣) 8.5

項目	検査結果	ランクA	ランクB	ランクC
AICS (胃)	5.8		*	
AICS (肺)	2.3	*		
AICS (大腸)	0.9	*		
AICS (乳腺)	3.8		*	
AICS (子宮・卵巣)	8.5			*

検査結果区分: ランクA (0.0~4.9), ランクB (5.0~7.9), ランクC (8.0~10.0)

有病率: ランクA (0.03~0.07%), ランクB (0.13~0.21%), ランクC (0.40~1.16%)

有病者数: ランクA (8,000人に2.0~5.3人), ランクB (1,500人に1.9~3.2人), ランクC (500人に2.0~5.8人)

※ AICSは、血中のアミノ酸濃度バランスを解析することによって、がんに関連しているリスクを予測するものであり、がんの有無を直接診断する検査ではありません。したがって、検査結果が「ランクC」でも、がんに罹患しているとは断定できません。がんに罹患すると予測されるアミノ酸濃度バランスは、がんの種類によって異なります。AICSは、その他の検査結果とともに総合的に判断されるものです。本検査結果の解釈や必要な精密検査に関しては、医師にご相談ください。

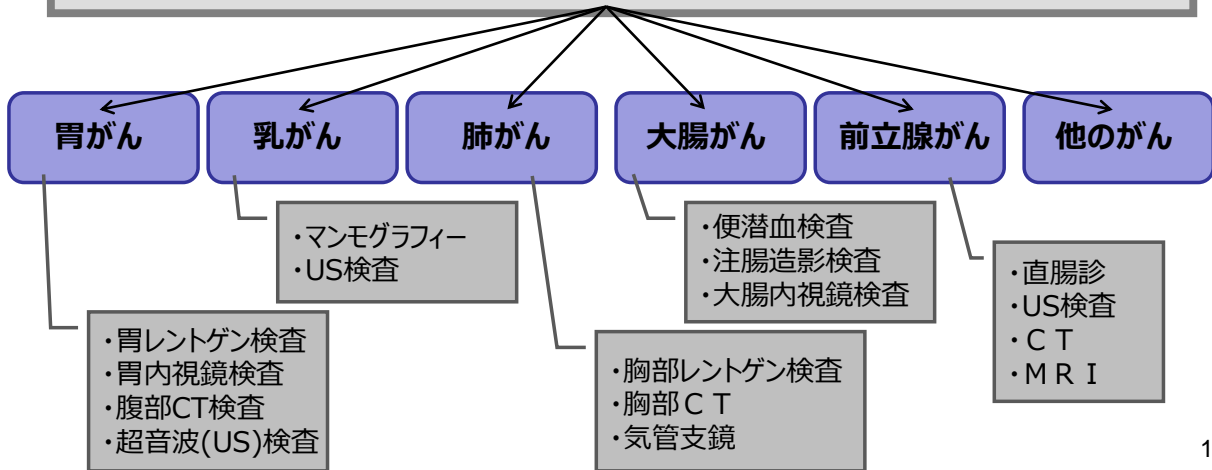
※ 子宮がん・卵巣がんは、子宮頸がん、子宮体がん、卵巣がんのいずれかのがんであるリスクについて予測することができますが、それぞれのがんのリスクについては区別できません

# がんのリスクスクリーニングマーカー

## アミノインデックス<sup>®</sup>がんリスクスクリーニング (AICS)

がんを見つける (確定診断) 検査はなく、がんである可能性を拾い上げる (リスクスクリーニング) 検査

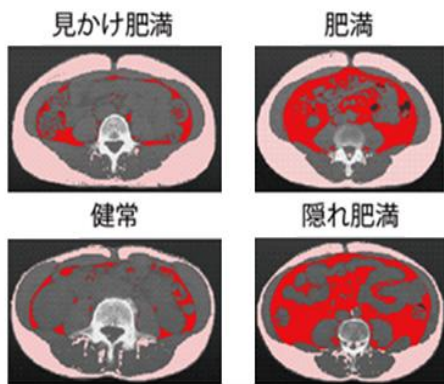
- 採血による簡便な検査であり、健康診断で同時に受診できる
- がんの種類や組織型に左右されず、一度の採血で複数のがんを検査できる
- 早期がんの状態が検出できる



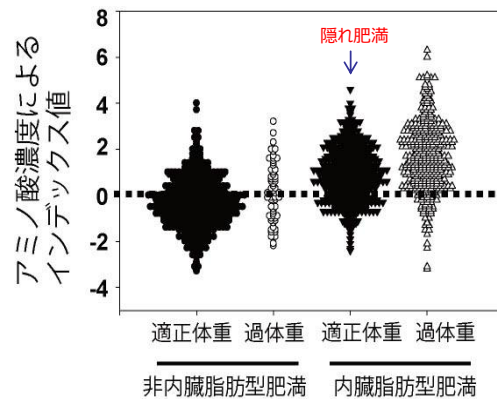
12

## 生活習慣病領域でのアミノインデックス<sup>®</sup>

血中アミノ酸濃度により、「特定健診」の検査基準であるウエスト周囲径では見つけづらい「内臓脂肪蓄積者」の発見が可能であることを大規模試験により明らかにし、国際肥満研究学会の発行するClinical Obesity誌に発表しました  
インスリン抵抗性も早期に発見可能もあります。



(赤は内臓脂肪、ピンクは皮下脂肪を示す)



注) 隠れ肥満 (非肥満者の内臓脂肪蓄積者) の検出感度は、ウエスト周囲径の46%に対して、「アミノインデックス技術」では73%と高感度。内臓脂肪面積が100 cm<sup>2</sup>以上か否かで内臓脂肪型肥満か否かを区分し、BMIが25以上かそれより少ないかで過体重か否かを区分。

13

アミノ酸と疾病や健康・栄養の関係について議論し、その臨床的な意義を探索、拡大、普及することを目的に、2010年に発足しました。

臨床現場におけるアミノ酸測定技術、情報処理などについてのサイエンスを向上させ、アミノ酸を指標として疾患と健康状態の把握の改善を図り、ひいては広く人の健康の向上に寄与したいという大きな目標を掲げています。最新のアミノ酸学の勉強会として、あるいは会員間の情報交換の場として、さらにはアミノ酸と健康に関する新しい知見の発信の場として活動を進めていきたいと考えています。(HPより転載)



14

## 血漿中アミノ酸研究の問題点： 採血のタイミングや保存条件でアミノ酸濃度は変動する

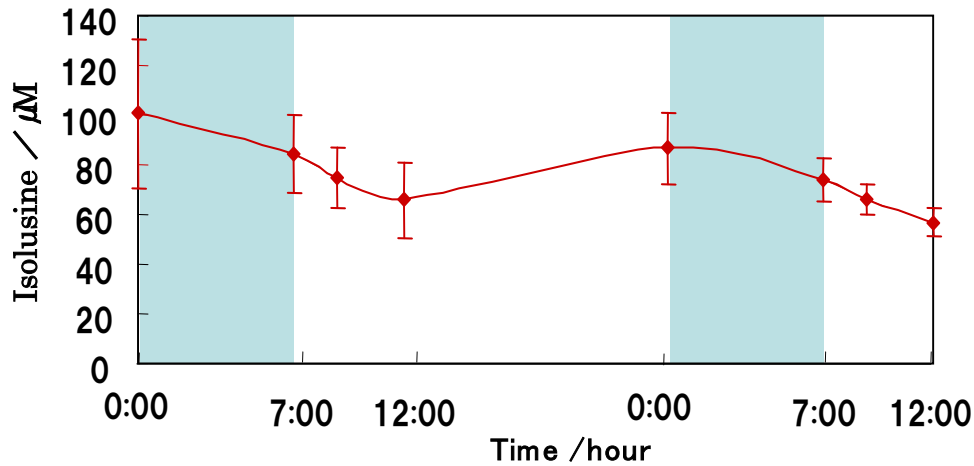
- 血漿中アミノ酸濃度はいくつかの疾患で重要なパラメータとなりうるようになってきた。
- これまでの疾患と血中アミノ酸変動との関連を示す研究には、前処理法が明記されていないもの、採血管内の血液や血漿中でアミノ酸が安定に保存されたかどうか検証できないものが多い。
- 血液および血漿中のアミノ酸の安定性については以下の知見がある。
  - 血漿中アミノ酸にはサーカディアンリズムがあり、1日に30%程度変動するものがある。
  - タンパク質摂取によりアミノ酸濃度は高くなり、食後すぐの採血はその影響をうける。
  - 血液中にはアミノ酸代謝酵素が多く、血球を分離せずに室温で放置すると多くのアミノ酸が分解する。
- 血漿中のアミノ酸濃度の安定な測定方法は定められておらず、そのため、診断、指標設定、病態把握の基礎となるアミノ酸濃度の基準範囲に関する信頼のおける学術的な調査・研究例はない。

15



# 血漿中アミノ酸のサーカディアンリズム：イソロイシン

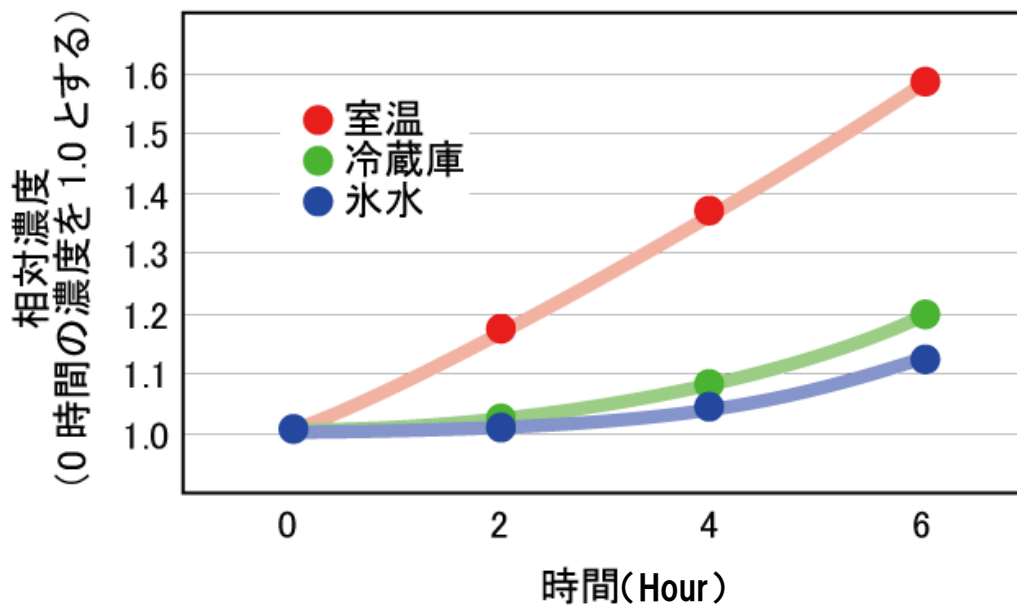
血漿中アミノ酸の中には、1日に30%も変動するものがある。  
また、アミノ酸濃度は食事の影響も受けやすいので、早朝空腹時の採血がのぞましい。



16

# 採血後グルタミン酸濃度は変化する

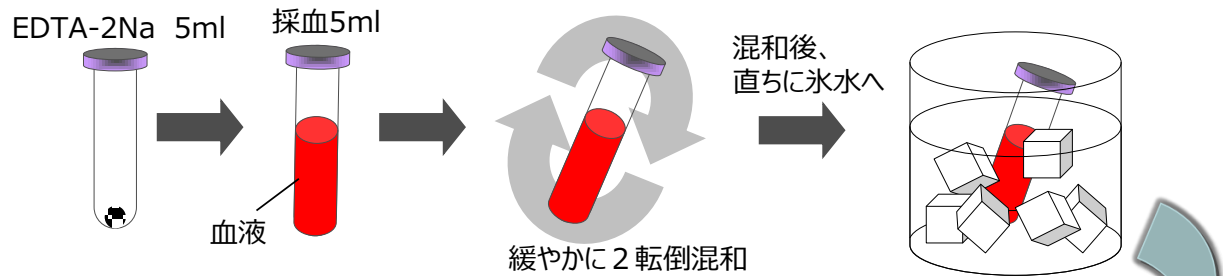
血液中には不安定な成分が多いが、アミノ酸もそのひとつである。  
グルタミン酸の場合、採血後、室温に放置すると、グルタミンが分解しグルタミン酸となり、時間の経過とともにその濃度が高くなる。



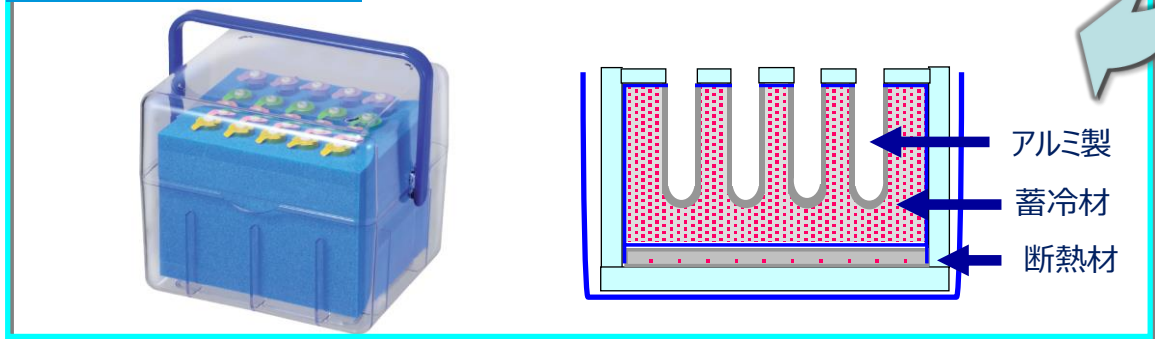
17

# 理想的なアミノ酸測定用検体の取り扱い方

血液中のアミノ酸を安定化するには、採血直後に血液を氷水冷ししなければならない。しかし、実際の採血現場では氷を用意することも氷水を維持することも容易ではない。そのため、氷水冷と同じ能力を有する採血管冷却デバイスの使用が推奨される。



## キューブクーラー®



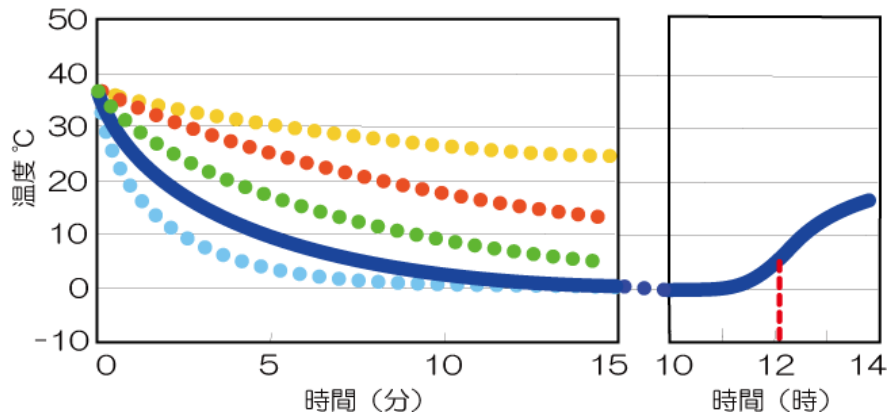
18

## 「キューブクーラー」：急速冷却、長時間保冷

キューブクーラーでは氷水とほぼ同じスピードで血液は冷却され、採血管内のアミノ酸は安定である。  
10時間以上、0℃の状態で保管でき、現場での長時間にわたる採血にも有用性が高い。



- 室温
- 冷蔵庫
- 氷
- 冷却容器
- 氷水



急速冷却

長時間保冷

19

## 臨床化学会栄養専門委員会プロジェクト： 「血漿アミノ酸濃度の基準範囲設定」の取組みの紹介

- 男女、幅広い年齢層にわたり、統計的解析に耐えうる数の健常人の血漿中アミノ酸濃度を正確に測定し、基準となる濃度範囲を設定することを目的としている。
- 採血～測定的全工程を標準化することが重要である。
- また、アミノ酸測定の正確性においては、アミノ酸標準物質（およびアミノ酸標準物質の混合溶液）の供給は特に重要であり、プロジェクトの中で、支援していく。

涓原 博（東邦大学医療センター大橋病院臨床検査部）

橋詰 直孝（和洋女子大学家政学群生活科学系）

桑 克彦（産業技術総合研究所）

市原 清志（山口大学大学院医学系研究科保健学専攻病態検査学講座）

宮野 博（味の素株式会社イノベーション研究所基盤技術研究所）

安東 敏彦（味の素株式会社健康事業ケア本部アミノインデックス部）

門脇 基二（新潟大学自然科学系生命・食料科学系列農学部（日本アミノ酸学会））

遠藤 文夫（熊本大学大学院小児科学分野）

朽久保 修（神奈川県予防医学協会）

### まとめ（要望）

- 血漿中アミノ酸濃度はいくつかの疾患で特徴的な変化を示す重要なパラメータであり、肝機能不全の重症度判定、栄養状態不良の病態把握に利用されてきた。
- 最近の研究で、血漿中アミノ酸のインバランスが、がんのリスクスクリーニングに有用であることが示されている
- 採血時期や保存条件で血液中のアミノ酸濃度は変化するので、体内の状態を正しく反映するためには、変動要因を考慮した「採血から測定に至るバリデートされたプロトコル」が必要である。
- 男女、幅広い年齢層にわたり、統計的解析に耐えうる数の健常人の血漿中アミノ酸濃度を正確に測定し、基準となる濃度範囲を設定する作業を臨床化学会ですすめている。
- 臨床的に意義のあるアミノ酸のトレーサビリティ連鎖の根幹となる「SIトレーサブルなアミノ酸標準物質」およびその「混合溶液」の供給は、信頼性の高い結果を受診者に示すために不可欠である。

# CERIにおける無機ガス微量分析

一般財団法人化学物質評価研究機構

化学標準部 秋間 大

1

## 背景：無機ガス微量分析の依頼



### 無機ガスの精確な分析



依頼サンプルに対して、ガス中無機成分の濃度の値付け試験を実施

従来

精度で評価

不確かさで評価

2

# 目的

無機ガス微量分析に関して、  
基準ガス調製の不確かさ、測定の不確かさ等を評価し、  
依頼サンプルの測定値の不確かさを明らかにする

## 測定対象成分・濃度

- \* 成分: 水素 (H<sub>2</sub>)、窒素 (N<sub>2</sub>)、酸素 (O<sub>2</sub>) 及びアルゴン (Ar)
  - \* 希釈ガス: ヘリウム (He)
  - \* 濃度: 10 vol ppm
- (⇒H<sub>2</sub>+N<sub>2</sub>+O<sub>2</sub>+Ar / He)

3

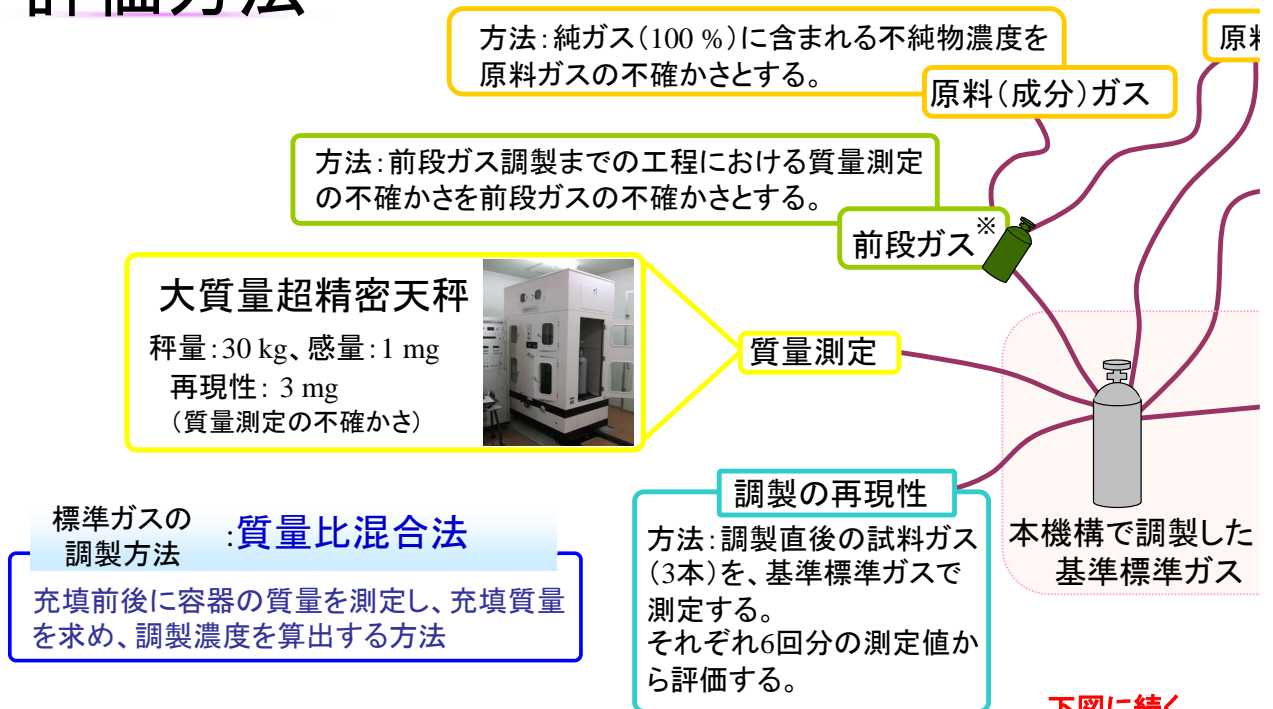
# 分析装置及び条件



ガス分析に特化したGC-MS

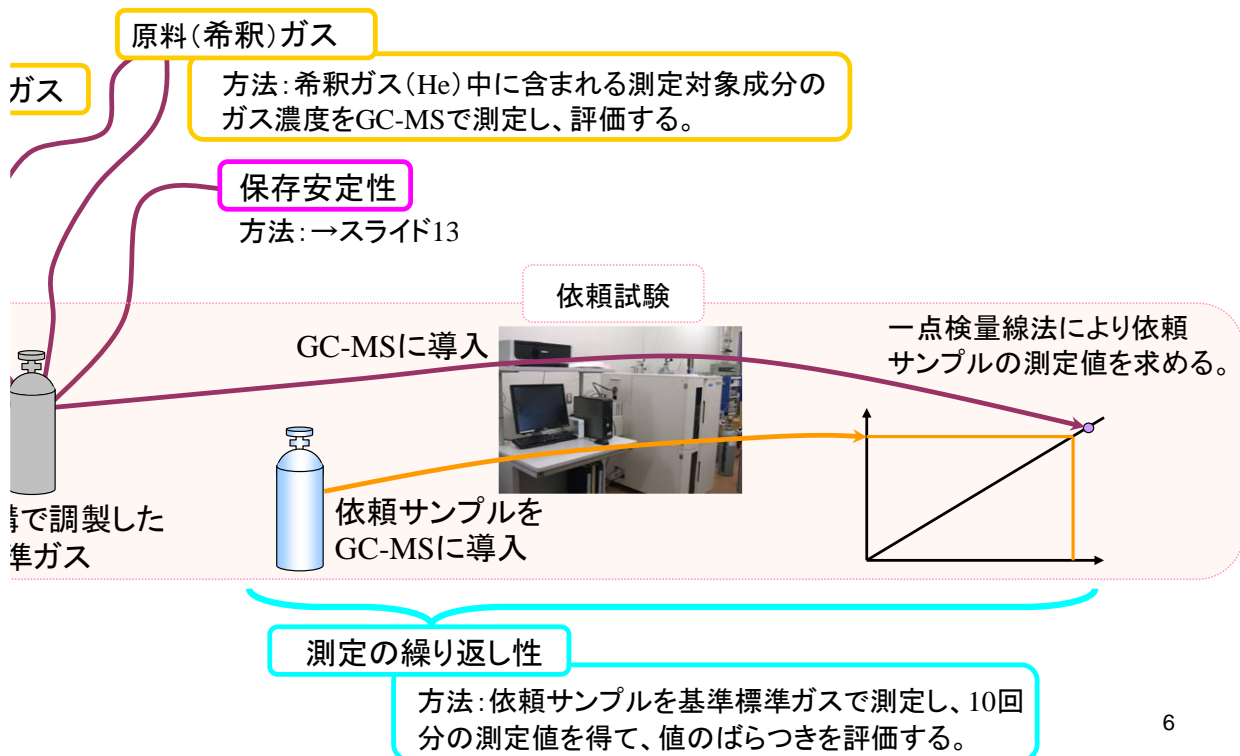
装置名・型式	ガスクロマトグラフ質量分析計 L-400G-GC (キャノンアネルパテクニクス株式会社)
導入量	1 mL
カラム	モレキュラーシーブ5A(60-80 mesh), 2m × 2.2 mm I.D.
カラムオープン温度	80 °C
キャリアーガス流量	He 20 mL/min
質量分析部	四重極形

# 評価方法



※前段ガス: 目的のガスの調製に使用するガスで、目的成分を含むもの

5



6

# 不確かさの評価

## 評価する不確かさ要因

- ①原料(成分・希釈)ガスの不確かさ
- ②質量測定の不確かさ
- ③前段ガスの不確かさ
- ④調製の再現性の不確かさ
- ⑤測定の繰り返し性の不確かさ
- ⑥保存安定性の不確かさ

7

## 結果①:原料ガス(成分ガス)の不確かさ

\* 不純物全てを成分ガスの不確かさとする

➡不純物濃度(100% - 純度(%))

例) H<sub>2</sub>の場合

$$100\% - 99.99999\% = 0.00001\%$$

成分	規格値(%)	不純物濃度(%)	原料ガスの不確かさ(%)
H <sub>2</sub>	≥99.99999	< 0.00001	0.00001
N <sub>2</sub>	≥99.9995	< 0.0005	0.0005
O <sub>2</sub>	≥99.9	< 0.1	0.1
Ar	≥99.999	< 0.001	0.001

8

## 結果①: 原料ガス(希釈ガス)の不確かさ

\* 希釈ガス(He)中に含まれる成分ガスの濃度を評価する

He純度: 99.9995 % 以上

成分	規格値(ppm)	測定値(ppm)	希釈ガスの不確かさ <sup>※2</sup> (%)
H <sub>2</sub>	-	< 0.006 <sup>※1</sup>	0.06
N <sub>2</sub>	< 0.1	0.04	0.4
O <sub>2</sub>	< 0.05	0.02	0.2
Ar	-	< 0.0005 <sup>※1</sup>	0.005

※1 定量下限

※2 希釈ガスの不確かさ: 相対値(%) = 測定濃度/対象濃度 × 100

9

## 結果②: 質量測定の不確かさ



### 大質量超精密天秤

秤量: 30 kg、感量: 1 mg

再現性: 3 mg

10 vol ppm H<sub>2</sub>+N<sub>2</sub>+O<sub>2</sub>+Ar / He を調製する際の、大質量超精密天秤での質量測定の不確かさ

相対値 単位 (%)

成分	質量測定の不確かさ
H <sub>2</sub>	0.05552
N <sub>2</sub>	0.05552
O <sub>2</sub>	0.05552
Ar	0.05552

0



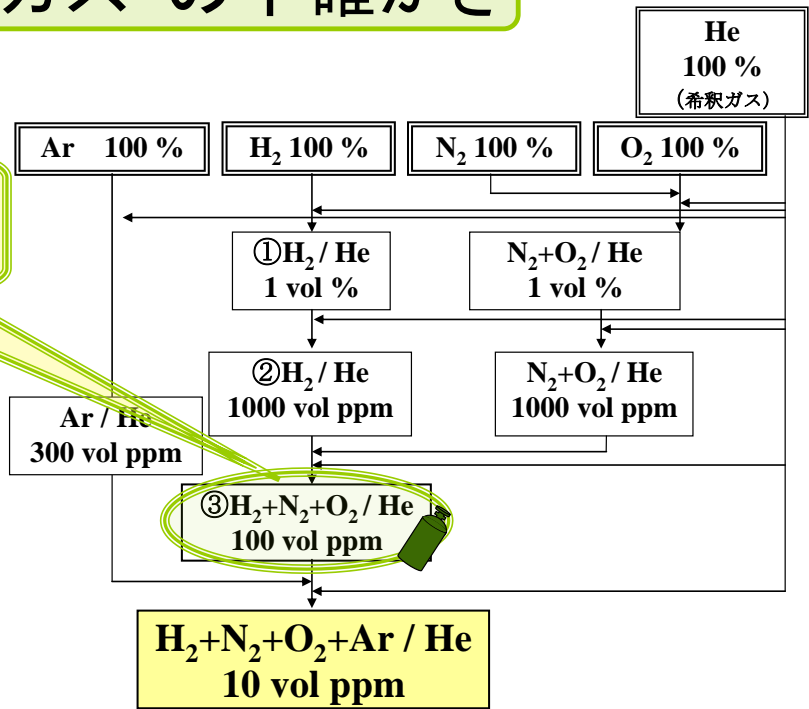
# 結果③：前段ガス※の不確かさ

例) H<sub>2</sub>

100%から希釈していく過程での不確かさ(①、②、③の調製時)を有する。

相対値 単位 (%)

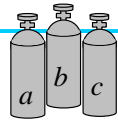
成分	前段ガスの不確かさ
H <sub>2</sub>	<b>0.3667</b>
N <sub>2</sub>	<b>0.03824</b>
O <sub>2</sub>	<b>0.03414</b>
Ar	<b>0.03066</b>



11

# 結果④：調製の再現性の不確かさ

\* 試料ガス3本それぞれ6回分の測定値を得る



\* 測定値の平均値と質量比混合法による調製値との偏差※を求め

3本それぞれ

$$\sqrt{\frac{\text{3本の偏差の平方和}}{3}}$$

H<sub>2</sub>、N<sub>2</sub>、O<sub>2</sub>、Ar  
それぞれ成分ごとに評価

相対値 単位 (%)

成分	調製の再現性の不確かさ
H <sub>2</sub>	<b>0.1321</b>
N <sub>2</sub>	<b>0.1332</b>
O <sub>2</sub>	<b>0.1024</b>
Ar	<b>0.2946</b>

※ 偏差=(調製値 - 平均値)/ 平均値 × 100 (%)

12

## 結果⑤: 測定の繰り返し性の不確かさ

例) H<sub>2</sub> 10.917 vol ppm (調製値)

単位 (vol ppm)		測定値
1	10.943	
2	10.968	
3	10.920	
4	10.986	
5	10.902	
6	11.044	
7	10.849	
8	10.971	
9	11.099	
10	11.076	

試料ガスのうち1本について  
**10回分**の測定値を得る

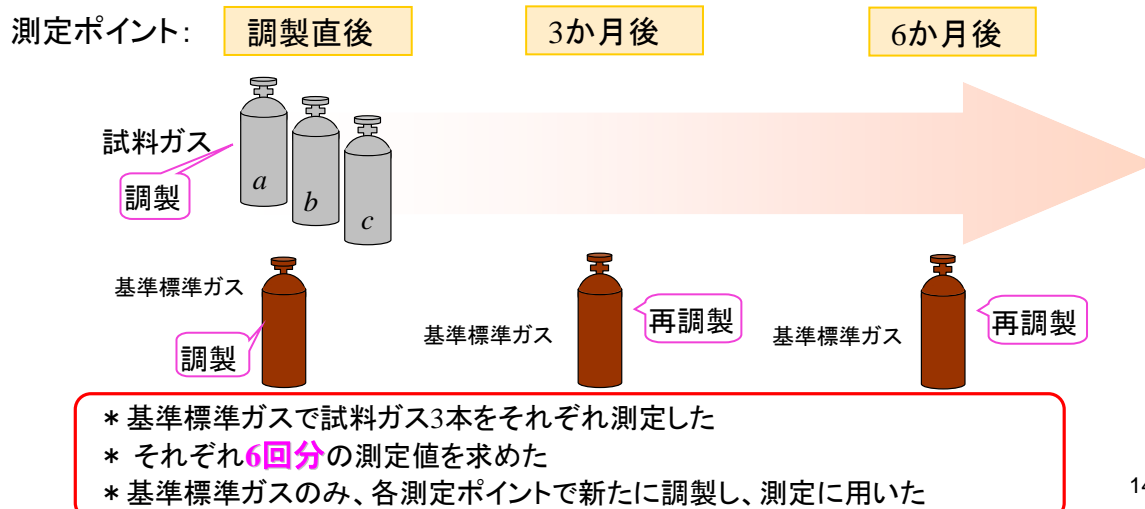
成分ごとに  
**実験標準偏差**を求める

相対値 単位 (%)	
成分	測定の繰り返し性の不確かさ
H <sub>2</sub>	<b>0.7211</b>
N <sub>2</sub>	<b>0.4695</b>
O <sub>2</sub>	<b>0.6525</b>
Ar	<b>0.5897</b>

13

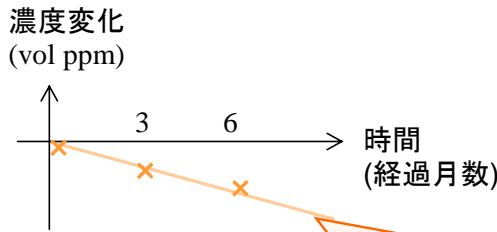
## 保存安定性の評価方法

標準ガスは、時間の経過と共に濃度変化を起こすことがある。そのため依頼試験で値付けに使用する基準標準ガスは、通常6か月から1年ごとに新たに調製し、使用している。保存安定性評価用に調製した3本の試料ガスについて、調製直後、3か月後及び6か月後に基準標準ガスを用いて測定した。



14

# 結果⑥: 保存安定性の不確かさ



\* 6か月間の経時濃度変化の分散と標準偏差を求め、不確かさを評価する

経時濃度変化を定量化

濃度変化と経過時間が直線の関係と仮定したときの傾き:  $\beta$

$$\sigma_0^2 = \frac{1}{T} \int_0^T (\beta t)^2 dt = \frac{\beta^2}{3} T^2$$

$t$ : 時間

$T$ : 初期値と最終測定値との時間間隔

$\sigma_0^2$ : 6か月間の経時濃度変化の分散

相対値 単位 (%)

成分	保存安定性の不確かさ
H <sub>2</sub>	0.2265
N <sub>2</sub>	0.1725
O <sub>2</sub>	0.1314
Ar	0.1186

15

# 結果: 不確かさの合成

相対値 単位 (%)

	原料ガス		質量測定	前段ガス	調製の再現性	測定の繰り返し性 (GC-MS)	保存安定性
	成分ガス	希釈ガス					
H <sub>2</sub>	0.00001	0.06	0.05552	0.3667	0.1321	0.7211	0.2265
N <sub>2</sub>	0.0005	0.4	0.05552	0.03824	0.1332	0.4695	0.1725
O <sub>2</sub>	0.1	0.2	0.05552	0.03414	0.1024	0.6525	0.1314
Ar	0.001	0.005	0.05552	0.03066	0.2946	0.5897	0.1186

相対値 単位 (%)

	合成標準不確かさ	拡張不確かさ (k=2)
H <sub>2</sub>	0.8543	1.8
N <sub>2</sub>	0.6577	1.4
O <sub>2</sub>	0.7126	1.5
Ar	0.6728	1.4



16

## まとめ

(10 vol ppm H<sub>2</sub>+N<sub>2</sub>+O<sub>2</sub>+Ar / He)

サンプルの測定値における不確かさを明らかにした

拡張不確かさ**2.0 % (k=2、相対値)**以下で測定が可能

⇒信頼性の向上

⇒今後はおお客様のご要望により、  
不確かさを付与して評価・報告することが可能

## 今後の予定

- \* 試料ガスの調製1年後の保存安定性の不確かさを評価する
- \* 1 vol ppmに関して、10 vol ppmと同様の試験を進める

17

## 編集後記

会報第67号をお届けいたします。

第67号では冒頭でもご紹介しました味の素㈱の宮野 博氏の講演内容をお伝えしました。血漿中の各種アミノ酸を分析することによってがん発生を予想できるということで今後の発展を期待したいものです。

今回67号をお届けしましたが私が「会報」の編集を手掛けてちょうど10年になります。最初は2004年11月に発行しました第42号です。内容は、斉藤 剛氏、千葉 光一氏の「第27回 ISO/REMCO 会議への出張報告」、渡邊 卓朗氏、加藤 健次氏の「産総研における有機標準ガスの開発について」と見学会報告でした。このころはまだ印刷、製本を業者にまかせており、書面もモノクロでした。54号からCERIで作製し、カラー版にしました。42号から67号までの間に執筆いただいた方は延べ93名にのぼりました。皆様に感謝申し上げます。今後はさらに紙面の充実を図りたいと思いますので皆様のご協力を賜りますようお願いいたします。  
(松本)

### 【訃報】

財団法人化学品検査協会（現：一般財団法人化学物質評価研究機構）元常務理事で標準物質協議会の設立にも参画し、昭和58年から平成10年までの長きにわたり副会長を務め、標準物質協議会の発展に多大な貢献をされました福地俊典様が平成25年6月11日にご逝去されました。享年96歳でした。皆様にお知らせするとともにご冥福をお祈り申し上げます。

（事務局が訃報を承知したのは昨年12月であったためお知らせが遅くなりました）

〒345-0043

埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野 1600 番地

一般財団法人化学物質評価研究機構内

標準物質協議会 事務局 松本保輔

Tel. 0480-37-2601 Fax. 0480-37-2521

E-mail matsumoto-yasusuke@ceri.jp