

血糖自己測定用ランセットによる自己採取血を利用した 血中コルチゾール測定法の確立とその臨床応用

畿央大学 健康栄養学科¹, 岡本内科こどもクリニック², 奈良県立医科大学消化器代謝内科³

奈良県総合医療センター糖尿病・内分泌内科⁴, 奈良県立医科大学糖尿病内分泌内科⁵

前原佳代子¹, 佐藤勝紀², 上嶋昌和^{3,4}, 樽松由佳子⁵,
吉治仁志^{1,3}, 岡本新悟^{1,2,3}

MEASUREMENT OF PLASMA CORTISOL USING BLOOD SELF-COLLECTION IS USEFUL FOR OPTIMAL GLUCOCORTICOID REPLACEMENT AND SCREENING IN ADRENAL INSUFFICIENCY

KAYOKO MAEHARA¹, KATSUNORI SATO², MASAKAZU UEJIMA^{3,4}, YUKAKO KUREMATSU⁵,
HITOSHI YOSHIJI^{1,3} and SHINGO OKAMOTO^{1,2,3}

Department of Nutrition, Kio University¹

Okamoto Internal Medicine and Pediatrics Clinic²

Department of Gastroenterology, Nara Medical University³

Division of Endocrinology and Diabetes, Department of Internal Medicine, Nara Prefecture General Medical Center⁴

Department of Diabetes and Endocrinology, Nara Medical University⁵

Received August 17, 2020

Abstract

Adrenal insufficiency is caused by either primary adrenal failure or by hypothalamic-pituitary impairment. Glucocorticoid replacement therapy in patients with adrenal insufficiency is life-saving. However, the patients usually need to visit or be admitted to hospital for monitoring of the temporal pattern of the cortisol level, which is required for the diagnosis and evaluation of the optimal glucocorticoid replacement. To reduce the burden on the patient and to assess the pattern of cortisol level in the patient's daily life, we subjected self-collected blood to the cortisol measurement using a DetectX[®] Cortisol Enzyme Immunoassay Kit. The new measurement was evaluated by comparison with an established in vitro diagnostic Cortisol II that has been introduced in hospitals. Bland-Altman analysis was used for assessing the degree of agreement between two measurements by studying the mean difference and configuring limits of agreement. The bias (mean difference) was 20.01%. This bias was significant, because the line of equality (0%) was not in the confidence interval of the bias. The 95% limits of agreement were from -55.71 to 95.74%. Although the cortisol values obtained with Cortisol II were 1.450 $\mu\text{g}/\text{dL}$ higher on average than those obtained with DetectX, the measurements of DetectX correlated with those obtained with Cortisol II. Therefore, we conducted cortisol measurement using

blood self-collected by patients at home. Plasma cortisol levels in a patient with hypopituitarism responded to administration of hydrocortisone in a dose-dependent manner. A patient who had been diagnosed with depressive disorder did not show the natural cortisol circadian rhythm. Low levels of cortisol during the morning seemed to be a cause of the reduced arousal level. We concluded that the measurement of cortisol using self-collected blood was useful for determining optimal glucocorticoid replacement therapy and screening for adrenal insufficiency.

Key words : cortisol, adrenal insufficiency, blood self-collection

緒 言

副腎皮質機能低下症(以下、副腎不全と称す)は、副腎皮質ホルモンが不足した病態をいう¹⁾。副腎不全は、その障害部位により副腎の障害による原発性と視床下部・下垂体の障害による続発性に分類される。原発性副腎不全、続発性副腎不全のいずれにおいてもcortisol(コルチゾール)の分泌低下を認め、血中コルチゾールが低下する。副腎不全には適切な診断とホルモン補充療法が必須である^{1,2,3,4)}。ホルモン補充療法では、生理的なコルチゾールの分泌量と日内変動に近い至適補充療法が望まれている。そのため、血中コルチゾールの測定は副腎不全の診断や服用しているhydrocortisone(ハイドロコチゾン、コートリル[®])の補充量が適切かどうかを判断するために必須の検査といえる⁵⁾。しかし血中コルチゾールの測定は医療機関の外来での採血となるだけでなく、負荷試験や日内変動では入院での採血が必要となる。患者自身が在宅時に危急を覚えた時や、普段ハイドロコチゾンの服用時の経時的な血液採取は困難であり、臨床医が必要とする患者の日常生活の中での経時的な血中コルチゾール値を得ることが難しい。そこで血糖自己測定で使われているランセットを使って指先から採取された少量の血液をコルチゾールの測定に利用できないかと考えた。自己採血によるコルチゾール測定法が確立されると、血中コルチゾール値でしか評価できない急性副腎不全の診断・予防やハイドロコチゾンの補充量の適正化に、大変有用な情報をもたらす。

我々は血糖自己測定で使われているランセットを使って指先から採取された少量の血液を利用した血中コルチゾール測定法を確立し臨床応用を試みたので報告する。

材料と方法

1. 研究対象者

研究対象者は、岡本内科こどもクリニックに受診中の、ハイドロコチゾンの補充療法を続けている原発性・続発性副腎不全の患者および副腎不全の疑いのため受診した患者である。本研究は、岡本内科こどもクリニックおよび畿央大学の倫理委員会の承認を得た後に、2015年9月から2017年6月までの期間に同意を得た対象者から個人情報を含む診療情報および試料(血液)の提供を受けて実施した。

2. 試料収集

試料の収集は、以下の方法で行った。測定法の互換性評価では、外来受診時に血液検査を行った対象者の残余血液を使用した。一部の対象者では、外来で経時的な採血を行って得られた血液のうち、少量をヘマトクリット毛細管(ヘパリン処理)に分注した。血液を遠心分離し、血漿をエッペンチューブに回収し、測定時まで -80°C で冷凍保存した。自己採血によるコルチゾール測定では、対象者が自宅にてランセットを使って指先から採取した少量の血液を使用した。対象者には、外来受診時にランセットの使用法および自己採取血液の保存について説明した(Fig. 1)。対象者は、指定された時間にランセットを使用して自己採取血液をヘマトクリット毛細管(ヘパリン処理)に採取した。1回の採取血液は約30~50 μL 、採取後に毛細管シール用パテ(クレイ)に挿し、冷蔵庫に保管した。外来受診時に自己採取血液を回収、遠心分離した後、分離した血漿をエッペンチューブに回収し測定時まで -80°C で冷凍保存した。

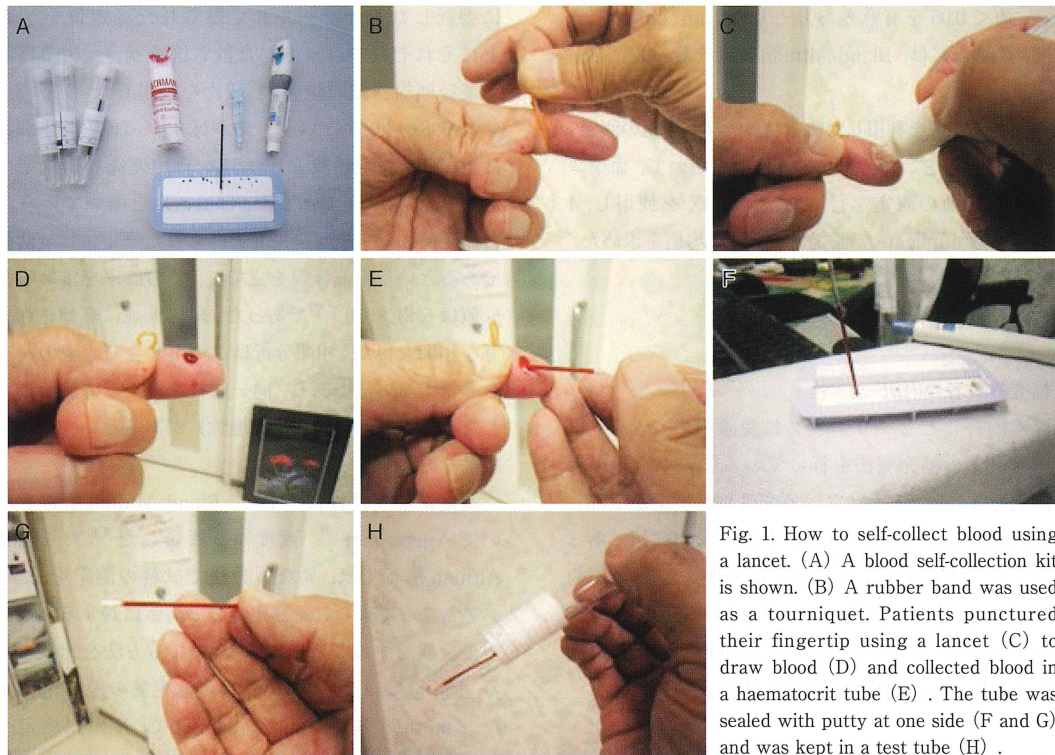


Fig. 1. How to self-collect blood using a lancet. (A) A blood self-collection kit is shown. (B) A rubber band was used as a tourniquet. Patients punctured their fingertip using a lancet (C) to draw blood (D) and collected blood in a haematocrit tube (E). The tube was sealed with putty at one side (F and G) and was kept in a test tube (H).

3. EIA (競合法) による血中コルチゾール値の測定

血漿コルチゾール値の測定は、DetectX[®] Cortisol Enzyme Immunoassay Kit (K00-H1, ARBOR ASSAYS, 以下 DetectX と称す) を使用した⁶⁾。キットに添付されたアッセイプロトコルに沿って測定した。まず、血漿 3 μ L に等量の dissociation reagent 3 μ L を加えて、コルチゾールと結合している蛋白質を解離させた。その後、サンプル 6 μ L に assay buffer 294 μ L を加えて希釈した。濃度既知のコルチゾールを使用してスタンダードを作成した。マウスに対するヤギ抗体を固相化したプレートのウェルにサンプル 50 μ L、あるいはスタンダード 50 μ L を添加し、さらに各ウェルにコルチゾールとペルオキシダーゼの共役体を 25 μ L、コルチゾール抗体(マウスモノクローナル抗体)を 25 μ L 加えた。室温で 1 時間、シェーカーを用いてプレートを振盪させた。その後ウェルを 4 回洗浄し、TMB (3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン) 基質を 100 μ L 加えて、室温で 30 分間プレートを静置させた。反応停止液を 50 μ L 加えて、発色反応を止めた。高性能フィルタ式マイクロプレートフォトメー

タ (Multiskan FC, Thermo Scientific) を使用し、450 nm で光学的濃度 (吸光度) を測定した。フリーソフトの My Assays (<http://www.myassays.com>) に測定された吸光度を入力し、4 係数ロジスティックモデル曲線を利用して検量線を作成し、吸光度から血漿コルチゾール濃度を求めた。1 試料につき duplicate で測定を行い、平均値を求めた。今回使用したコルチゾール値の単位は μ g/dL である。

既存法による血清コルチゾール値は、BML 社へ委託し、ケミルミコーチゾール II (体外診断用医薬品、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス、以下コルチゾール II と称す) を用いて測定して得られた値である⁵⁾。コーチゾール II による測定は、競合法による化学発光免疫測定である。

4. 血中コルチゾール値の測定法の互換性評価

我々が用いた DetectX による測定法と、コーチゾール II を用いた既存法の互換性について評価を行った。それぞれの測定法から得られた値の relationship (関連性) についてはピアソン係数を求め相関分析を行っ

た. p -値 < 0.05 を有意差ありとした. agreement (一致度) の評価には, Bland-Altman 解析を行った^{7,8,9)}.

5. 自己採取血液を利用した血中コルチゾール値の測定

対象者が自宅で自己採取した血液を用いて, 血漿コルチゾール値の測定を行った. DetectX を使用し, 1 試料につき duplicate で測定を行い, 平均値を求めた.

結 果

1. 研究対象者の内訳

岡本内科こどもクリニックに受診中の, ハイドロコチゾンの補充療法を行っている副腎不全の患者の内訳を Table 1 に示した. 原発性副腎不全が 10 例, 二次性副腎不全 (視床下部・下垂体性) が 98 例であった. ハイドロコチゾンの補充療法中の対象者の約 30% に, ハイドロコチゾンの内服量の増量, 外来でのハイドロコチゾンの点滴, 入院加療といった治療介入を必要とする急性副腎不全の既往があった.

2. 血中コルチゾール値の測定法の互換性評価

85 名の対象者から得た血液を用いて, DetectX を使用した血中コルチゾール値の測定法と既存法の BML 社でのコルチゾール II を用いた測定法の 2 つについて, 関連性と互換性を評価した. 測定に供した血液の採取時間は 8 時 40 分から 21 時 10 分までとさまざまであった.

DetectX を用いて得られた測定値を X 軸, BML 社

に委託しコルチゾール II で得られた測定値を Y 軸上にそれぞれプロットした散布図を描き, 相関係数および回帰曲線の傾き, Y 切片を算出した (Fig. 2). $y=1.0508x+1.0658$ の回帰式が求められ, 相関係数 $R=0.9262$, 決定係数 $R^2=0.8579$, 自由度調整済決定係数 0.8562 ($n=85$) であった. DetectX を用いて得られた測定値とコルチゾール II で得られた測定値は無関係であるという帰無仮説を立てて, その確率を求めると p -値は 6.43×10^{-37} であった. 帰無仮説は棄却され有意な相関を得た. 相関分析は 2 つの異なる事象の関連を評価する方法であり, 同一試料を異なる方法で測定した場合, relationship (関連性) があるという当然の結果であった.

測定法の互換性について, Bland-Altman 解析を用いて Agreement (一致度) を評価した^{7,8,9)}. Bland-Altman 解析では, 異なる方法で試料の測定を行い, ペアとなって得られる測定値の平均値に対する測定値の差を検討することで, 2 つの異なる方法を比較できる. Fig. 3 では, Y 軸に方法間の測定値の差 (method A - method B) を units ($\mu\text{g}/\text{dL}$) で, X 軸に測定ペアの平均値 ($\mu\text{g}/\text{dL}$) をプロットした. method A が既存法の BML 社でのコルチゾール II を用いた測定法, method B が DetectX を用いた測定法である. ペアとなる測定値の差の平均 (mean) を偏り (bias), あるいは系統的誤差 (systemic error) と呼ぶが, 偏りは $1.450 \mu\text{g}/\text{dL}$ であった. 測定値の差の標準偏差 (standard deviation, SD) を精密度 (precision) とい

Table 1. The patients with primary and secondary adrenal insufficiency in this study

分類	主な原因	症例数
原発性副腎不全 (副腎性)	アジソン病	2
	先天性副腎皮質過形成症	7
	両側副腎摘出術後 (異所性 ACTH 症候群)	1
続発性副腎不全 (視床下部・下垂体性)	下垂体腫瘍術後	34
	頭蓋咽頭腫術後	14
	ラトケ嚢胞	8
	シーハン症候群	4
	下垂体茎断裂	4
	先天性 (遺伝子異常)	2
	自己免疫性	4
	ACTH 単独欠損症 (分泌不全症を含む)	11
	特発性下垂体機能低下症	5
	ステロイド離脱症候群	10
	クッシング症候群術後	2

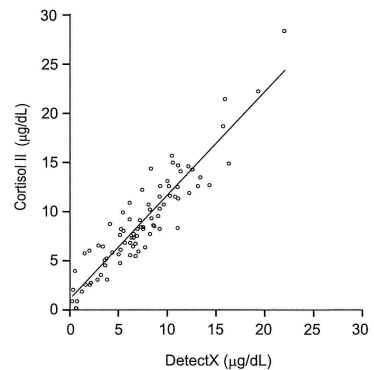


Fig. 2. A scatter plot of cortisol concentration measured with ACS-E cortisol II and a DetectX Cortisol Enzyme Immunoassay Kit. The regression line between the two measurements is shown as a solid line.

うが、精密度は 1.906 $\mu\text{g}/\text{dL}$ であった。方法間の測定値の差は正規分布すると考えられるため、平均値 $\pm 1.96 \times \text{SD}$ (bias $\pm 1.96 \times \text{precision}$) の範囲に 95% の測定値が収まる。この範囲を 95% 一致限界 (95% limits of agreement, LOA) といい、LOA は -2.286 ~ 5.186 $\mu\text{g}/\text{dL}$ であった。Bland-Altman 分析で得られる LOA は対象数 (n) によって変化するため、信頼区間 (confidence interval, CI) を算出することが推奨されている。偏りの信頼区間は 1.039 ~ 1.861 $\mu\text{g}/\text{dL}$, LOA の下端の信頼区間は -2.0998 ~ -1.574 $\mu\text{g}/\text{dL}$, LOA の上端の信頼区間は 4.474 ~ 5.898 $\mu\text{g}/\text{dL}$ であった。

Fig. 4 では、Y 軸に方法間の測定値の差をパーセント、つまり (method A - method B) / average (%) をプロットした⁹⁾。X 軸に測定ペアの平均値 ($\mu\text{g}/\text{dL}$)

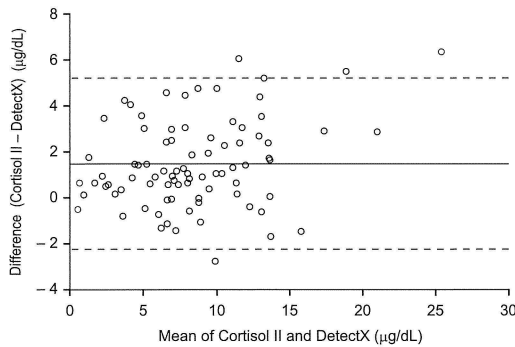


Fig. 3. Bland-Altman plot displaying the assays. The difference between the two paired measurements is plotted against the mean of the two measurements. The solid line represents bias (mean of difference) and the dashed lines represent the 95% limits of agreement, from $-1.96 \times \text{SD}$ to $+1.96 \times \text{SD}$.

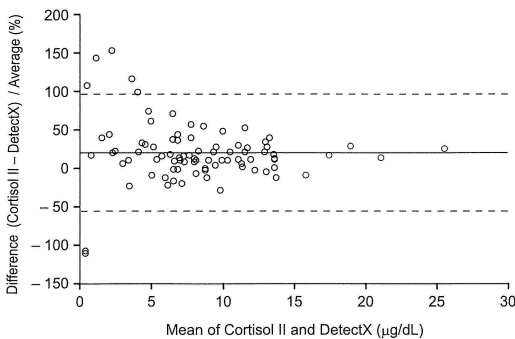


Fig. 4. Bland-Altman plot representing the same data as Fig. 3. The difference between the two paired measurements is plotted, as a percentage of the values, against the mean of the two measurements. The solid line represents bias and the dashed lines represent the 95% limits of agreement.

をプロットした。偏りは 20.01%, 測定値の差の精密度 (SD) は 38.64%, LOA は -55.71 ~ 95.74% であった。偏りの信頼区間は 11.68 ~ 28.35% であった。2つの方法で同じ値が得られるとした場合の 0% の線が偏り (mean) の信頼区間の範囲内でないことから、偏りは有意であると判断された。LOA の下端の信頼区間は -70.15 ~ -41.28%, LOA の上端の信頼区間は 81.31 ~ 110.18% であった。

2つの測定法の関連性は高いが、既存法であるコルチゾール II の測定値は、DetectX で得られた測定値に比べて、平均して 1.450 $\mu\text{g}/\text{dL}$, 2つの測定法の平均値の約 20%, 高い値を示すことがわかった。

3. 外来で採取した血中コルチゾール値の経時的変化

次に外来で経時的に採取した血液の一部を、自己採取血液と同様のプロセスでヘマトクリット毛細管 (ヘパリン処理) に採取した。遠心分離した後、DetectX で血漿コルチゾール値を測定し、既存法のコーチゾール II を用いた測定値と比較した。Fig. 5 は corticotropin-releasing hormone (CRH) 負荷試験を行った症例での血中コルチゾール値の経時的変化である。CRH 投与前 (0 min) に採血を行い、その直後に CRH 100 μg を静脈注射し、以後 15 分、30 分、60 分、120 分と経時的に採血を行った。DetectX で得られた測定値は CRH に反応して 30 分後まで増加した。コーチゾール II で得られた測定値は CRH に反応して 60 分後まで増加した。その後、コルチゾール値は DetectX と

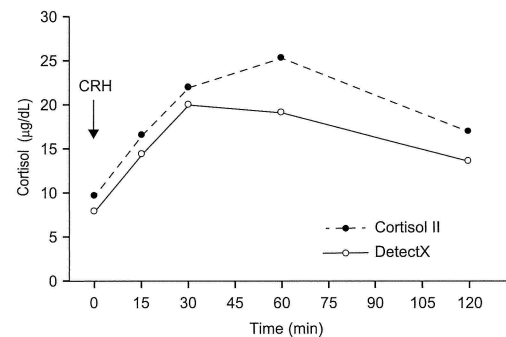


Fig. 5. Individual cortisol patterns after corticotropin-releasing hormone (CRH) administration. Cortisol curves obtained using Cortisol II (dotted line) and DetectX (solid line) are shown for a patient after intravenous administration of CRH 100 μg . Samples were collected before (0 min) and 15, 30, 60 and 120 min after CRH administration.

コルチゾールⅡとともに120分後に低下した。互換性評価で示されたように、既存法のコルチゾールⅡの測定値に比べてDetectXの測定値は少し低い値であった。

Fig. 6はハイドロコチゾン負荷試験を行った症例での血中コルチゾール値の経時の変化である。ハイドロコチゾン服用前(0h)と、ハイドロコチゾン10mg服用後に1時間ごとに6時間まで採血をした。コルチゾールⅡとDetectXの測定値はともにハイドロコチゾンに反応して1~2時間にかけて増加し、その後漸減した。コルチゾールⅡの測定値に比べてDetectXの測定値はわずかに低い値を示したが、非常に近似した経時的な変化を示した。

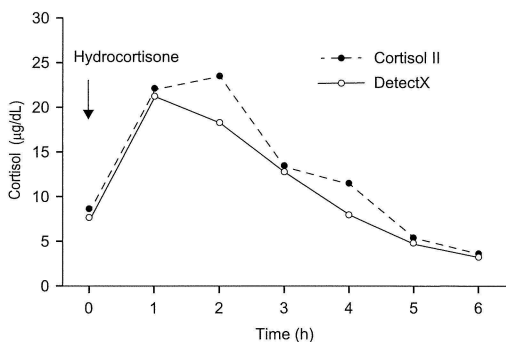


Fig. 6. Individual cortisol patterns after hydrocortisone administration. Cortisol curves obtained using Cortisol II (dotted line) and DetectX (solid line) are shown for a patient after oral administration of hydrocortisone 10 mg. Samples were collected hourly before (0 h) and after hydrocortisone administration.

4. 自宅での自己採取血液を利用した血中コルチゾール値の測定

患者が自宅で自己採取した血液を使用して、ハイドロコチゾンの補充量の評価に利用できるかを試みた。対象者は下垂体機能低下症のため、ハイドロコチゾン補充療法を受けている。対象者は、外来受診時にランセットの使用法および自己採取血液の保存について説明を受けた後、自宅にて起床時(6時)と、起床後できるだけ速やかにハイドロコチゾン服用し、服用後1時間ごとに7時間(7~13時)まで、ランセットを使用して血液をヘマトクリット毛細管(ヘパリン処理)に採取した。Fig. 7は対象者自らが自宅で自己採取した血液を使用して、DetectXで得られたハイドロコチゾン服用前後の血漿コルチゾール値の経時の変化である。Fig. 7Aはハイドロコチゾン4mg、

Fig. 7Bはハイドロコチゾン8mgを服用したときの結果である。いずれの服用量において服用1時間後に血中コルチゾール値がピークに達し、それ以降低下した。DetectXで得られた測定であるため、コルチゾールⅡの測定値に比べてやや低い値であることが推測されるが、ハイドロコチゾンの服用量に依存した血漿コルチゾール値の推移を捉えることができた。これらの結果は、患者自らが自宅で自己採取した血液をハイドロコチゾンの補充量の評価に利用できることを示唆している。

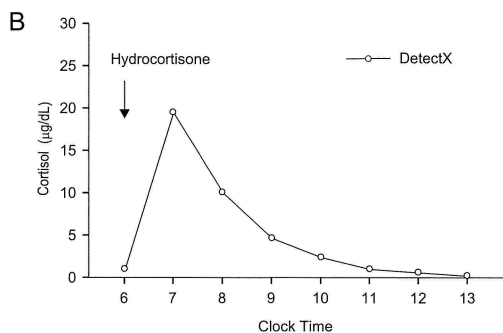
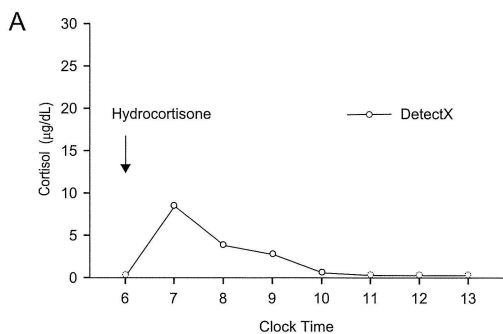


Fig. 7. Cortisol measurement using blood self-collected by a patient at home. A cortisol curve was obtained using DetectX. Samples were collected hourly before (6 am) and after oral administration of hydrocortisone 4 mg (A) and 8 mg (B). Cortisol level < 0.2 µg/dL is depicted as a dotted circle.

Fig. 8は、他院でうつ病の診断を受けた症例である。主訴に覚醒障害がある。副腎皮質機能不全が疑われたため、同意取得後、外来でランセットの使用法および自己採取血液の保存について説明を行った。自宅で対象者が血液を採取し、DetectXを用いて血漿コルチゾール値を測定した。朝、自力で起床できない対象者は家人に起こしてもらい1時間ごとに6時から8時まで自己採血を行ったが、その後覚醒状態が保てず入

眠した。昼過ぎに自然に覚醒し、13時から21時までほぼ1時間ごとに自己採血を行った。通常の健常人に観察されるコルチゾールの日内変動のパターンでは、深夜から早朝にかけて漸増し、8時から9時ごろにかけて最大値に達し、その後減少する²⁾。しかし、対象者の6時、7時、8時の血漿コルチゾール値は、5.4 µg/dL、3.9 µg/dL、3.4 µg/dLと極めて低かった。これらの血中コルチゾール値は、早朝血中コルチゾール基礎値のスクリーニング基準によると、4 µg/dL未満の原発性および続発性副腎皮質機能低下症の可能性が極めて高い、あるいは4 µg/dL以上から18 µg/dL未満の原発性および続発性副腎皮質機能低下症の可能性を除外できないグレーゾーンに相当した⁴⁾。各種負荷試験による鑑別診断が必要な症例であることが判明した。また、自然に覚醒した後の13時の血中コルチゾール値は15.1 µg/dLと比較的高い値であったが、対象者のコルチゾールの日内変動は健常人に観察されるコルチゾールの日内変動と異なるパターンであった。対象者は2年間にわたり精神科で治療を受けているが、終日眠く、昼過ぎまで起きることができない状況が続いている。午前中に十分量のコルチゾールが分泌されていないことが対象者の活動性の低下に関係していることを示唆する結果であった。

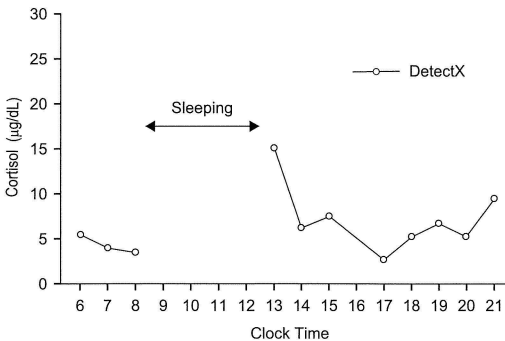


Fig. 8. Cortisol measurement using blood self-collected by a patient who had been diagnosed with depressive disorder for two years. A cortisol curve was obtained using DetectX. The patient was suffering from arousal disorder and failed to self-collect blood in the morning (was sleeping).

考 察

1. 自己採取血液での血中コルチゾール測定法の確立

本研究では、血糖測定用ランセットを用いた自己採取血液を利用した血中コルチゾール値の測定法を確立

した。DetectXで得られた値は、既存法のコーチゾールIIを用いた測定法で得られた値に比べると、わずかに低い値になる傾向を認めたが良好な相関があった。コーチゾールIIとDetectXは、ともに抗コルチゾール抗体を利用した競合法であるが、それぞれの測定で用いる抗体、スタンダード用のコルチゾール、コルチゾール値の換算に発光量の測定あるいは吸光度の測定を用いるか、測定機器、測定場所、測定者などの違いにより偏りを認めた。国内外で抗コルチゾール抗体を利用した複数の免疫学的測定法が体外診断薬として使用されているが、キットによる変動が報告されている⁵⁾。しかし、本研究で比較した測定での偏りはわずかであり、自己採取血液を利用した血中コルチゾール値の測定法は臨床応用が十分可能であると考ええる。

2. 自己採取血液を利用した血中コルチゾール測定の有用性

自己採取血液を利用した血中コルチゾール測定法の利点として、副腎不全患者の日常生活におけるコルチゾール値を得ることが挙げられる。患者自身が血糖測定用ランセットを使うことにより、在宅時に危急を覚えた時や、普段ハイドロコーチゾンの服用時の経時的な試料収集を可能にする。それらの自己採取血液を利用することにより、臨床医が必要とする患者の日常生活の中での経時的な血中コルチゾール値を得ることができる。副腎不全の治療では、ハイドロコーチゾンを2回あるいは3回に分けて経口投与し、できる限り生理的なコルチゾールの分泌量と日内変動に即した補充療法が推奨されている。ホルモン補充療法により生命予後が飛躍的に改善された副腎不全であるが、副腎不全の患者にはQuality of Life (QOL)の低下、代謝異常、死亡率の増加が報告されており、これらは生理的なグルココルチコイドの分泌から離れた補充療法に関係していることが考えられている^{2, 3, 10, 11)}。患者が日常生活の中でハイドロコーチゾンの服用前後の経時的な血液の採取を行い、それらの試料を用いて得られた血中コルチゾールの測定値は、生理的なグルココルチコイドの分泌に近づけるためのハイドロコーチゾンの至適な補充量と投与回数の設定に有用である。

また、自己採取血液を利用したコルチゾール測定法は、患者の負担を軽減できる。まず血糖測定用ランセットを使うことにより、1回の採血量を減らすことができ

る。我々が使用した DetectX の測定に必要な検体量は血漿 3 μ L と少量である。患者がヘマトクリット毛細管（ヘパリン処理）に半量程度の血液（30 μ L）を注入できれば、測定に十分な血漿を得ることができる。体外診断用医薬品のコルチゾール II を用いた測定法で 1 回の測定に必要な血清は 20 μ L であるが、通常の医療機関における検査では、採血管 1 本分の血液を必要に応じて経時的に数本採取する。さらに長時間にわたる外来での採血または入院検査は、患者が医療機関で過ごす時間や患者の経済的な負担を増す。自己採取血液を試料として利用できれば、これらの負担も軽減できる。

自己採取血液を利用した血中コルチゾール測定は、診断に至っていない、あるいは他の診断に隠された副腎不全のスクリーニングに有用である。副腎不全では、患者の訴えに特異性が低いことも多く、副腎不全を念頭に置かないと診断に至らないことも起こりうる¹²⁾。うつ病の診断を受けた対象者に、生理的なコルチゾール値の日内変動を認めなかった。覚醒障害のため 1 時間ごとの自己採血は午前中に中断されたが、自己採取血液から得られたコルチゾールの測定値は、早朝時におけるコルチゾールの分泌低下が対象者の主訴である活動性の低下に関与していることを示している。活動性の低下やそれに付随する不定愁訴を訴える患者を対象に自宅で血液を経時的に収集してもらい、その血液を試料として血中コルチゾール値を測定することは、日常生活での患者の状態を把握し活動低下に潜む副腎不全を見出す方法としても有用である。

3. 今後の課題

血糖測定用ランセットを用いることで、対象者自らが自宅で少量の血液を収集し、ハイドロコチゾンの至適補充量の決定や対象者の状態を把握するために有用なデータを得る道筋は確立できた。しかし、対象者は外来に自己採取した血液を届ける必要があり、血中コルチゾール値の測定には研究室で数時間を要する。血糖測定器のように、自己採取した血液をその場で測定して値を得ることができない。コルチゾール値の測定に供する試料には、血液をはじめ、尿、唾液、毛髪が挙げられる^{1, 2, 13)}。採血に比べて、尿、唾液、毛髪は侵襲がないという利点があるが、いずれの試料も測定法としては血液と同様に競合法をベースとしており、試料収集直後に測定値を患者にフィードバックする

ことは困難である。また非侵襲的に収集できる試料の測定値は、必ずしも血中のコルチゾール値を反映しないとの報告もあり^{1, 2)}、日本内分泌学会の副腎不全症の診療指針では、コルチゾールと adrenocorticotrophic hormone (ACTH) の血中基礎値の測定を行い、各種の負荷試験、画像検査を参考にして総合的に診断することを推奨している⁴⁾。2018 年、スタンフォード大学のグループが非侵襲的な試料の汗を利用した装着型のコルチゾール測定器の開発を報告した¹⁴⁾。抗コルチゾール抗体を用いてコルチゾールそのものを測定する競合法と異なり、コルチゾールを特異的に結合する膜を利用して、膜に結合したコルチゾールが汗に含まれる電解質の移動を妨げることを利用して、コルチゾール値を求める装置である。このような膜を利用した測定が血液にも利用でき、既存の体外診断薬に劣らないコルチゾールの測定値を得ることができれば、臨床医は患者の日常生活でのコルチゾール値を即時に把握でき、よりよい治療や管理につなげることが可能になる。患者自らが採取した血液を使い、その場で速やかに正確なコルチゾール値を得ることができる簡易な測定装置の開発が望まれる。

結 論

患者自らが自宅でランセットを使用して採取した少量の血液を用いた血中コルチゾール測定法を確立した。日常生活で自己採取した血液によって得られた血中コルチゾール値は、ハイドロコチゾン補充療法を行っている患者の至適な補充量と投与回数設定に有用であった。また、活動性の低下やそれに付随する不定愁訴を訴える患者を対象に、副腎不全をスクリーニングする方法としても有用であることが示唆された。

謝 辞

本研究は、岡本内科こどもクリニック研究助成金と畿央大学個人研究費の助成を受けたものである。

利 益 相 反

論文内容に関連し、開示すべき COI 関係にある企業などはない。

文 献

- 1) Charmandari E., Nicolaides N. C., and Chrousos G. P. : Adrenal insufficiency *Lancet*, **383** ; 2152-2167, 2014.
- 2) Marianne Øksnes M., Ross R., and Løvås K. : Optimal glucocorticoid replacement in adrenal insufficiency *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, **29** ; 3-15, 2015.
- 3) Johannsson G., Falorni A., Skrtic S., Lennernäs H., Quinkler M., Monson J. P., and Stewart P. M. : Adrenal insufficiency: review of clinical outcomes with current glucocorticoid replacement therapy *Clin Endocrinol (Oxf)*, **82** ; 2-11, 2015.
- 4) Yanase T., Tajima T., Katabami T., Iwasaki Y., Tanahashi Y., Sugawara A., Hasegawa T., Mune T., Oki Y., Nakagawa Y., Miyamura N., Shimizu C., Otsuki M., Nomura M., Akehi Y., Tanabe M., and Kasayama S. : Diagnosis and treatment of adrenal insufficiency including adrenal crisis: a Japan Endocrine Society clinical practice guideline [Opinion] *Endocr J.*, **63** ; 765-784, 2016.
- 5) Hawley J. M., Owen L. J., Lockhart S. J., Monaghan P. J., Armston A., Chadwick C. A., Wilshaw H., Freire M., Perry L., and Keevil B. G. : Serum cortisol: an up-to-date assessment of routine assay performance *Clin Chem*, **62** ; 1220-1229, 2016.
- 6) Maria Bergquist M., Lindholm C., Strinholm M., Hedenstierna G., and Rylander C. : Impairment of neutrophilic glucocorticoid receptor function in patients treated with steroids for septic shock *Intensive Care Med Exp*, **3** ; 59, 2015.
- 7) Bland J. M., and Altman D. G. : Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement *Lancet*, **i** ; 307-310, 1986.
- 8) Bland J. M., and Altman D. G. : Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading *Lancet*, **346** ; 1085-1087, 1995.
- 9) Giavarina D. : Understanding Bland Altman analysis *Biochem Med*, **25** ; 141-151, 2015.
- 10) Anna Crown A., and Lightman S. : Why is the management of glucocorticoid deficiency still controversial: a review of the literature *Clin Endocrinol*, **63** ; 483-492, 2005.
- 11) Mazziotti G., Formenti A. M., Frara S., Roca E., Mortini P., Berruti A., and Giustina A. : Management of endocrine disease: Risk of overtreatment in patients with adrenal insufficiency: Current and emerging aspects *Eur J. Endocrinol*, **177** ; R231-R248, 2017.
- 12) Hiroi N., Yoshihara A., Sue M., Yoshino G., and Higa M. : Central adrenal insufficiency and diabetes insipidus misdiagnosed as severe depression *Clin Med Insights Case Rep*, **3** ; 55-58, 2010.
- 13) Perogamvros I., Keevil B. G., Ray D. W., and Trainer P. J. : Salivary cortisone is a potential biomarker for serum free cortisol *J Clin Endocrinol Metab*, **95** ; 4951-4958, 2010.
- 14) Parlak O., Keene S. T., Marais A., Curto V. F., and Salleo A. : Molecularly selective nanoporous membrane-based wearable organic electrochemical device for noninvasive cortisol sensing *Sci Adv*, **4** ; eaar2904, 2018.