



測定例 ③ 各心臓バイオマーカーとのAUCの比較について (堀 泰智先生との共同研究)

ステージ B1以上を診断するためのAUCの比較では、NT-proANPとANPの差は0.033であり、有意差は認められませんでした。

NT-proANPとNT-proBNPの差は0.094であり、NT-proANPのAUCは有意に高値を示しました (95%信頼区間, 0.03~0.16; P < 0.005)。

ステージ B2以上を診断するためのAUCの比較では、NT-proANPとANPならびにNT-proBNPの差はそれぞれ0.013と0.051であり、有意差は認められませんでした。

ステージ Cを診断するためのAUCの比較では、NT-proANPとANPならびにNT-proBNPの差はそれぞれ0.030と0.021であり、有意差は認められませんでした。

これらのことから、NT-proANPはANPやNT-proBNPと同等の診断精度を持つと考えられます。(論文投稿中)



測定例 ④ 参考基準値について (DSファーマアニマルヘルス(株) 調べ)

5歳以上の犬 (714頭) のうち、採血時の聴診により心雑音が検知されなかった532頭における血中NT-proANPを測定し、参考基準値 (平均±2SD) を算出しました。

全年齢 21.2ng/mL 以下 (n=532、2.9~46.2ng/mL)

- 5~8歳 15.8ng/mL以下 (n=293、3.5~20.6ng/mL) P<0.01 vs 9~12歳, P<0.001 vs 13歳以上
- 9~12歳 20.2ng/mL以下 (n=186、3.3~44.6ng/mL) P<0.01 vs 13歳以上
- 13歳以上 38.0ng/mL以下 (n=53、2.9~46.2ng/mL)



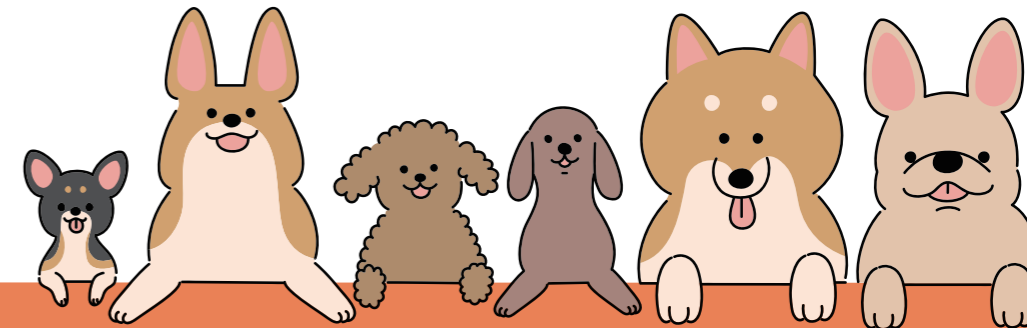
| 全年齢 | 21ng/mL | 40ng/mL |
|--------|---------|---------|
| 5歳~8歳 | 15ng/mL | |
| 9歳~12歳 | 20ng/mL | |
| 13歳以上 | 38ng/mL | |

- ・測定値が参考基準値を超えていれば、必要に応じて各種検査を行うことを推奨します。
- ・測定値が40ng/mLを超えていれば、ACVIM stage B1以上を診断するためのカットオフ値に近い血中濃度となるため、必要に応じた精密検査を推奨します。

NT-proANP を定期的に測定することにより、僧帽弁閉鎖不全症の早期発見に寄与します



■お問い合わせ先 **マルピー・ライフテック株式会社** TEL:072-753-0335



犬 心臓バイオマーカー

NT-proANP

心臓バイオマーカーの1つとして認知されているANPは人用のANP測定キットを用いて測定していますが、犬特異的な測定系は確立されていません。また、血中半減期が短く、採血後にも血漿に含まれる酵素によりANPが分解されるため、ANPの測定にはアプロチニン採血管による採血が必要でした。

弊社とDSファーマアニマルヘルス(株)ではアプロチニン採血管を必要とせず、血中半減期が長い心臓バイオマーカーとしてNT-proANPに着目し、犬特異的な測定系の開発を進めてまいりました。

NT-proANP 測定の特徴

- ① 犬特異的な抗体を用いた検査系です
- ② ANPに比べて血中半減期が長いので、より正確な血中濃度が測定できます
- ③ 心臓バイオマーカーとして、ANP、NT-proBNPと同等の診断精度です
- ④ 特殊な採血管 (アプロチニン採血管など) が不要です
- ⑤ 生化学検査用に採血した血清検体からの測定が可能です

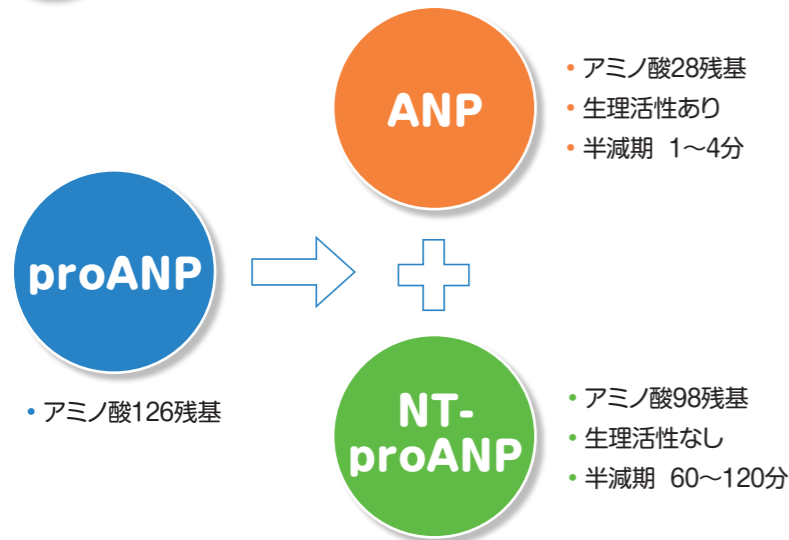


マルピー・ライフテック

<https://www.m-lt.co.jp/>



NT-proANPとは



| | NT-proANP | ANP |
|-------|-----------|---------------|
| 合成・分泌 | 主に心房 | |
| 検体 | 血清※1 | EDTA-アプロチニン血漿 |
| 検体の保存 | 凍結※2 | 凍結 |
| 特異性 | 犬特異的 | 人特異的(犬交差性あり) |
| 半減期 | 60~120分 | 1~4分 |

※1 EDTA血漿での検査も可能ですが、弊社は血清検体のみ測定を行います。
 ※2 採血当日の検査であれば冷蔵検体での測定も可能です。

NT-proANPは心房筋細胞の粗面小胞体でpreproANPとして合成され、ゴルジ装置でアミノ酸126残基のproANPとなり分泌顆粒内に貯蔵されます。放出時には、生理活性をもたないN末端側アミノ酸98残基 (NT-proANP) と生理活性を持つC末端側アミノ酸28残基 (ANP) が1対1で切り離され放出されます。

ANPは本来の受容体であるナトリウム利尿ペプチド受容体 (natriuretic peptide receptor; NPR) に結合して、循環系から急速に消失するので、半減期が短く、血中濃度の正確な測定は困難を伴います。一方、NT-proANPは受容体による代謝を受けないので半減期が長く、血中濃度の正確な測定が容易なためANPの動態を推測しやすいことが大きな特徴です。

NT-proANPは左心不全によって顕著に上昇することが知られており、右心不全ではあまり上昇しないため、犬の心疾患で最も多い僧帽弁閉鎖不全症 (MVD) のバイオマーカーとして有用であると考えられています。



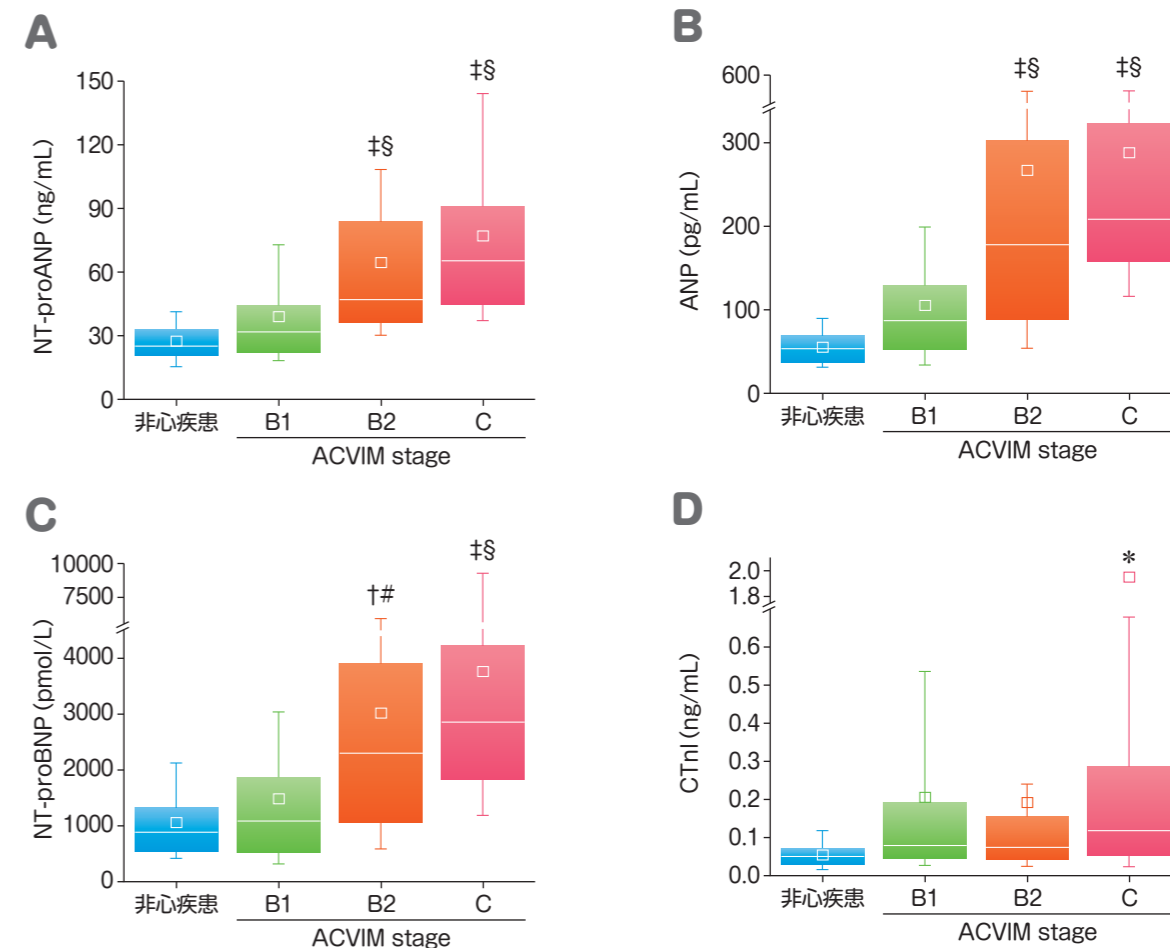
犬心臓バイオマーカーの比較について

| 主に心房 | 主な増加要因 | 検体 | 保存条件 | 測定法 | 測定装置 | 特異性 |
|-----------|-----------------|-----------------|---------|-------|----------------|-----|
| NT-proANP | 心房の負荷増大(左心房で顕著) | 血清またはEDTA血漿 | 冷凍または冷蔵 | ELISA | 汎用マイクロプレートリーダー | 犬 |
| ANP | 心房の負荷増大(左心房で顕著) | アプロチニン添加血漿 | 冷凍 | CLIA | 自動化測定機器 | 人 |
| NT-proBNP | 心室の負荷増大 | 血清またはEDTA血漿 | 冷凍または冷蔵 | ELISA | 汎用マイクロプレートリーダー | 犬 |
| D Dimer | フィブリン血栓 | クエン酸血漿 | 冷凍 | ラテックス | 自動化測定機器 | 人 |
| cTnl | 心筋細胞壊死 | ヘパリン血漿またはEDTA血漿 | 冷凍 | CLIA | 自動化測定機器 | 人 |
| H-FABP | 心筋細胞壊死 | 血清 | 冷凍 | ラテックス | 自動化測定機器 | 人 |

犬の心臓バイオマーカーはほとんどが人用測定系を使用しており、犬特異的な測定系はNT-proANPとNT-proBNPのみです。また、犬に多いMVDの初期には左心房の負荷が増大するため、ANPまたはNT-proANPが心臓バイオマーカーとして適していると考えられます。ANPの測定には特殊な採血管(アプロチニン添加血漿)と専用の自動化測定機器が必要です。しかし、NT-proANPは特殊な採血管が不要であり、汎用マイクロプレートリーダーがあれば測定が可能であることから、MVDのバイオマーカーとして利便性・操作性に優れたバイオマーカーであると言えます。



測定例 ① 各種心臓バイオマーカーとの比較について(堀 泰智先生との共同研究)



*: $P < 0.05$ vs 非心疾患群, †: $P < 0.01$ vs 非心疾患群, ‡: $P < 0.001$ vs 非心疾患群,
 #: $P < 0.05$ vs stage B1群, §: $P < 0.01$ vs stage B1群

NT-proANPはMVD犬のACVIMステージと一致して、重症度が高いほど高値を示しました。また、ANPやNT-proBNPと一致した変動を示しました。NT-proANPはEDTA血漿を用いて測定し、母集団には既に心不全治療を受けている症例も含まれています。(論文投稿中)



測定例 ② 各ACVIMステージの診断精度について(堀 泰智先生との共同研究)

| | ≥stage B1 | ≥stage B2 | ≥stage C |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| カットオフ値 | >42.2 | >39.7 | >43.3 |
| AUC | 0.81 | 0.83 | 0.79 |
| 標準誤差 | 0.0419 | 0.0364 | 0.0426 |
| 95%信頼区間 | 0.72-0.89 | 0.76-0.90 | 0.70-0.87 |
| z statistic | 7.28 | 9.13 | 6.74 |
| P値 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| 感度 (%) | 55.9 | 79.0 | 80.0 |
| 特異度 (%) | 96.2 | 77.3 | 68.4 |

NT-proANPを用いてACVIM ステージB1以上を診断するための診断精度は中程度の高さであることから、胸部レントゲン検査や心エコー検査の補助診断法として有用であると考えられます。(論文投稿中)