



有限責任中間法人  
HECTEF

福祉・医療  
技術振興会

<http://www.hectef.jp>

# HECTEF

Health Care  
Technology  
Foundation

(有中) HECTEF その役割の重要性とグローバルな活動

## NEWS

2006. 5. No.12



### 臨床検査の標準化を 提供する機関として

有限責任中間法人HECTEF  
(福祉・医療技術振興会)  
理事長 医学博士 櫻林 郁之介

有限責任中間法人HECTEF[(有中)HECTEF]は、その前身の福祉・医療技術振興会として平成6年11月に臨床検査用高位標準物質の開発・製造・検定・頒布を目的として設立されました。初代理事長は河合忠、専務理事 中川甫、常務理事 梅本雅夫であります。その後、2代目理事長 河野均也にその精神は受け継がれて、日本における臨床検査の標準化を実現する具体的な組織が定着してきました。2004年に福祉・医療技術振興会の付属機関の一つであったスタンダードレファレンスセンター(SRセンター)を中間法人化し、続いて2005年に本体である福祉・医療技術振興会も(有中)HECTEFとして法人化しました。

現在までの10数年に及ぶ活動の成果として、日本のデータの均一性は世界に誇れるものとなってきています。もちろんすべての項目でのデータの均一化が達成されているわけではありませんので、これからもできるだけ多くの検査項目が標準化されるように関係各位が努力していかねばなりません。このデータの均一性の達成については、試薬を製造・販売している企業の努力があればこそであります。

これらの努力は最終的には質の高い医療を病める人々のために提供することに繋がるわけですので、その根底にボランティア精神がなければ成り立ちません。

(有中)HECTEFは、このようなボランティア精神を基本として運営されており、日本の臨床検査に携わる機関や人々のために日夜努力を重ねております。

また標準化事業を拡大して会員の方々のためにさらに質の高い均一なデータが出せるよう協力を惜しまない精神に基づいて運営しております。事業を単に拡大してそこから利潤を得ようとする精神があったらそれは徹底的に排除されねばなりません。

これからも、頻用される品目を中心にできるだけ多くの臨床検査項目について標準化を推進する必要があるわけですが、そのためには、日本臨床検査標準協議会(JCCLS)との共同作業が不可欠であります。その理由として、JCCLSは日本の臨床検査標準化の中心的機関であり、それに密接に関連して(有中)HECTEFが存在しているからです。

これからも(有中)HECTEFは、地道な努力を積み重ねながらこの長い道程をこつこつと歩んでいかねばならないと考えております。

(有中)HECTEFが、臨床検査用高位標準物質として頒布している製品をご愛顧頂いている皆様方におかれましても、現在のグローバルな世界標準の流れの中において、格段のご理解とご支援を御願い申し上げると同時に、末長いお付き合いをお願い申し上げる次第であります。



# HDL/LDLコレステロールの直接法に関する日米欧会合とAACCの関連活動について

大阪府立健康科学センター  
U.S.CRM LN脂質基準分析室 中村雅一

## 【はじめに：HECTEFの国際化】

HECTEF NEWSの2005.5.No.11では、福祉・医療技術振興会（HECTEF）の果たす役目は、一つには「臨床検査用標準物質を供給する国家機関に代わる組織」として活動すること、二つには「日常検査の正確さを評価するための比較対照法」を構築する点にある、と記載した。更に、三つの役目としてHECTEFが国際化に向けて積極的に活動することが、加わってきた。本題は、その国際化に向けての活動状況の一環として、AACC（米国臨床化学会）の脂質関連の分科会（LVDD）活動とAACCに連携して開催される「HDL/LDLコレステロールの直接法に関する日米欧会合」に関する報告である。

## 【第一ステージ】

HDLコレステロールとLDLコレステロールの直接法は、世界に先駆けてわが国で開発、製品化された。現在、7社（北から順に、(株)セロテック、デンカ生研(株)、第一化学薬品(株)、協和メデックス(株)、(株)ユーエムエー、和光純薬工業(株)、システムズ(株)）の試薬・校正用標準物質が存在する。直接法は開発各社、それぞれに特徴的な測定原理を背景に、前処理不要の完全自動化日常臨床検査法として、次々に登場した。検体と試薬を混合・反応させ、約10分後には臨床的に応用可能な正確さを持った測定値が得られる。健常な検体を対象とした場合、米国のNCEP（National Cholesterol Education Program）が求める測定精度に関する判定基準を満たし、標準化が可能とされる。試薬メーカーを対象とした脂質標準化プログラムと試薬メーカーが受けた標準化状況の最新情報は、CDCのWebsiteに詳しい。

(<http://www.cdc.gov/labstandards/crmln.htm>)

少しばかり年配の検査技術者ならばご記憶のことと思われるが、一昔前までは、HDLの測定では沈殿法によるHDLの分離が不可避であり、また、LDLでは超遠心が避けられなかった。用手法から見れば、直接法は画期的な測定法であろう。

「世界に先駆けてわが国で開発された」と前述したが、勿論、欧米でも手を拱いていた訳ではない。文献を遡れば、わが国よりももっと早く直接法の初期の原理に関する論文や可能性についての報告を見つける。欧米では、それを製品化するためのもう一つの工夫と熱意が、足りなかつたように見受けられる。資料からは、水面下において日米欧間で熾烈な先陣を巡る開発競争があったことが伺える。

如何せん、直接法の開発の凱歌は日本が制したことは事実であろう。その中でも最も難関とされたLDLで見れば、米国のリボ蛋白測定に関するNCEPのワーキンググループの座長を務めたDr. Bachorikは、1995年のClinical Chemistry (CC) の特別報告の中で、“New methods for LDL-cholesterol measurement should be developed. Such methods should be capable of quantifying LDL-cholesterol directly. (新しいLDLコレステロールの測定法の開発が望まれる、しかも、その新法は直接法であるべきだ)”と記述する。彼は、特別報告を通じて米国を代表する形で、LDLコレステロールの直接法の早期開発を督励している。このことは、LDLの測定は、米国の国民病とも言える心筋梗塞の制圧のためにも緊急の国家的命題であったことを、如実に物語る。

HDLの直接法の開発の可能性について、熊本大学の杉内等がCCに独創的な論文を発表してから既に11年が経過し、同様にLDLでは8年が経過した。このことから、試薬開発の可能性と応用に至るこれまでの過程は、直接法の「第一ステージ」とでも呼べるのではないだろうか、と考える。

## 【第二ステージ】

リボ蛋白異常のある病的検体を対象とした場合、直接法は測定上の各種の制限を抱える。これまでに乖離に関する多くの問題提起がなされてきた。各社各様に測定原理が異なる上に、いったいどのような反応メカニズムで乖離が発生するのか、それが臨床的にどのようなインパクトを与えるのかなどについて、学術的な考察が系統的

にされた形跡はほとんどない。直接法に関わる多くの未知の問題点は、未だ十分に明らかにされていない。

このことから、直接法は、より深い解明の求められる「第二ステージ」に差し掛かったと理解する。試薬メーカー各社は、測定上の制約や特質などについて、現在、どこまで明らかになっているのか、どこがまだ明らかになっていないのか、ということに関して、継続的に情報提供を果たすことが求められている。

そのような説明責任を果たせるのは、試薬の組成・濃度・反応形態・製造方法・試薬貯法を熟知している試薬メーカーのみではなかろうか。私どもが、関心のある主なテーマは、以下のような内容である。

1. IDL含有検体の特異性と測定上の制約
2. beta-VLDL含有検体の特異性と測定上の制約
3. 高Lp(a)含有検体の特異性と測定上の制約
4. 肝機能異常検体に対する特異性と測定上の制約
5. Lp-X出現検体に対する特異性と測定上の制約
6. 高TG検体に対する反応性と測定上の制約
7. 高ApoE検体の特異性と測定上の制約
8. LDLに対する直接法の反応性
9. VLDLに対する直接法の反応性
10. small dense LDLに対する特異性と測定上の制約

### 【なぜ日米欧会合を開くのか】

このような直接法の抱える問題点の多くは、各社の診断薬研究グループ、あるいは、カスタマーサービスセンターに内外から寄せられる興味ある病的検体を精査研究する中で、得がたい情報が日々蓄積されていることと思われる。このような貴重な情報を放置する手はない。各社とも、情報を整理集約して、是非とも公開して頂きたいと強く期待する。

そこで、この課題を解決するための一つの手段として、櫻林（自治医科大学大宮医療センター教授）、中島（米国Tufts大学客員教授）、ならびに、中村（大阪府立健康科学センター 脂質基準分析室、US National Cholesterol Reference Method Laboratory Network ディレクター）が日本側準備委員として、日米欧による標準化会合を、AACC学会と並行して開くことを企画した。

日米欧会合の第一回目は2004年のロサンゼルスのAACC学会で、第二回目は2005年のフロリダ州のオーランドのAACC学会で開催された。直接法は、世界中のユーザーと研究者の関心のあるテーマだけに、控えめにみても、予想以上の大きな反響と成果が得られた。このような会合を通じて、世界のユーザーを対象にした情報公開を試みることは、日本のみならず、世界のいろいろな

意見や考え方に対する接することになり、情報公開をする試薬メーカー各社に対する信頼度を増すと共に、試薬メーカーが更に高品質の試薬の創出と改良に向かう契機になれば、準備委員として喜びにたえない。

以下の内容は、AACCの脂質関連の分科会(LVDD)活動とAACCに連携して開催される「HDL/LDLコレステロールの直接法に関する日米欧会合」に関する簡単な経過報告である。

### 【第一回の日米欧会合(ロサンゼルス)】

第一回目の「HDL/LDLコレステロールの直接法に関する日米欧会合」は、第56回AACC学会（開催期間：2004.7.25～7.29、開催地：ロサンゼルス、主会場：Los Angeles Convention Center）に連動して開催された。2004年7月26日（月）には、AACCの13ある分科会の一つで、脂質の専門分科会であるLVDD（Lipoproteins and Vascular Diseases Division）による専門家の交流会（Mixer, Westine Bonaventure, PM 5:30～9:30）があった。学会参加者の懇親会を米国ではMixerと呼ぶが、このような席で専門家同士の交流が図られ、表彰式やホットニュースに関する講演が催される。懇親会に出席することによって、CDCやNIHなど世界の第一線で活躍する人たちに会うことができる。貴重な情報交換の場であるが、残念ながら日本からの参加者は多くはない。

2004年の交流会では、2年に1回、脂質の分析活動で顕著な業績をした評価として、2004 Geraldo Cooper Awardが中村に授与された。交流会に続いて、LVDDの講演が2題提供された。一つは、CDCのDr. Cooperによって「1950年から2000年に至る50年間のリポ蛋白の研究業績」を経年的に評価する話題の提供、二つはNIHのDr. Remaleyによって「リポ蛋白代謝、特にApo Eと病態との関連性に関する基礎研究成果」に関する話題の提供であった。2題とも、基本的な問題点の整理をする上で、示唆に富む内容であった。

翌2004年7月27日（火）、シアトルのPBRF（Pacific Biometrics Research Foundation、会長：Mr. Russell Warnick）とHECTEF（理事長：櫻林郁之介）の共同主催による第一回目の日米欧会合が“*The 1st US-Japan Joint Meeting-Standardization of Direct LDL-C Methods*”のテーマの下に開催された（場所：Hyatt Regency Los Angeles, PM 7:00～10:00）。出席者は、日米欧から約40名の参加があった。

この会合において、開催責任者の一人である櫻林は、日米欧の臨床分析化学者が会合して、直接法の問題点を中心に、率直且つ自由な意見の交換を図ることが、国際交流と絶えまなき技術の向上を期する上で、極めて大切

なことであることを強調した。会合での講演は、3題準備された。

1題目は、もう一人の開催責任者であるMr. Warnickが、CC 2002;48:1812-1815に寄稿した“Lack of agreement of homogeneous assays with the Reference Method for LDL-Cholesterol may not indicate unreliable prediction of risk for cardiovascular disease”を基礎資料として、LDL直接法とその基準分析法であるBQ (Beta- Quantification) 法の抱える基本問題を明らかにして、その運用上の注意を喚起した。

2題目は、「HECTEFにおけるLDL基準分析法の開発、特にHDL分離用のデキストラノ硫酸の国産化とその物理的・化学的特性」、並びに、レムナントに関わる問題点として“Specificity of apo E-rich serum by homogeneous HDLC reagents and of IDL-containing serum by homogeneous LDLC reagents for six Japanese manufacturers”的テーマの下に、中村が2種類の関連情報の提供をした。

3題目は、Virginia大学のDr. Millerが、CC 2002;48:489-498に掲載された“Performance of four homogeneous direct methods for LDL-cholesterol”的論文内容をベースに、LDL直接法の総合誤差がNCEPの評価基準に適合しないケースの存在について、熱のこもった講演をした。

### 【第二回の日米欧会合(オーランド)】

第二回目の「HDL/LDLコレステロールの直接法に関する日米欧会合」は、第57回AACCとIFCCの共同学会（開催期間：2005.7.24～7.28、開催地：オーランド、主会場：Orange County Convention Center）と連携して開かれた。2005年7月25日（月）には、LVDDの懇親会（Mixer, The Rosen Centre, PM5:30～9:30）があった。この席で、臨床化学の研究分野で著名な研究業績を残した評価として、2年に1回与えられる2005 Zak AwardがDr. Russell Tracyに授与された。このZak賞は、コレステロールの測定法で昔おなじみの（塩化第二鉄酢酸硫酸反応）によるKilliani反応を開発したBennie Zak教授に因んで設けられた栄誉ある賞である。余談になるが、わが国では、なぜかこの方法をZak-Henry法と呼称するが、米国でHenryと言ってもまったく通じないという経験をしたことがある。欧米では、Zak法あるいはIron(鉄)法で通用する。Dr. Zakは、昨年、87歳で死去した。Zak賞に続いて、分析化学の著名な功績、特に独創的な論文発表に対して与えられる2005年のPBRF賞が、杉内に与えられた。

(<http://www.aacc.org/divisions/lipids/awards.stm>)

このPBRF賞は、2003年に日本人では初めてRemnant Lipoproteinの測定法を開発した中島克行氏（当時、日本

抗体研究所）に与えられ、今回の杉内氏が二人目に当たる。

以上に見てきたように、LVDDには2年に1回のZak賞とCooper賞が交互に、また、毎年対象となるPBRF賞の3賞がAACCのLVDDの公式の賞として、準備されている。私どもは、この日米欧会合や現在準備中のAACCの日本支部（AACC local section in Japan）などのチャンネルを通じて、これまで臨床化学の分野で大きな貢献をしたにも拘らず、なぜか世界に認められないわが国の分析化学者の推薦をすることによって、その優れた業績が欧米で広く認められるように受賞のための支援をしたいと考えている。

懇親会に統いて、LVDD関連の講演が2題行われた。一つは、Zak賞を授与されたDr. Tracyが「動脈硬化の進展における脂質と炎症の関連性」について話題を提供し、また、二つはDr. McConnellが「心血管疾患における炎症マーカー、特にリポ蛋白関連性Phospholipase A2の果たす役割」について、最新の情報提供を行った。二つの話題共に、今日的な話題である炎症と動脈硬化の関連性に関する最新の知見を披露された点で、極めて有意義であった。

翌2005年7月26日(火)は、HECTEFとPBRFの共同主催による第二回目の日米欧会合が“The 2nd US-Japan Joint Meeting-Standardization of Direct HDL-C and LDL-C Methods by Japanese Manufacturers”的テーマで開催された（場所：The Rosen Centre, PM7:00～9:00）。出席者は、日米欧から昨年の1.5倍に当たる約60名が参加した。この会合において、開催責任者の一人である櫻林とMr. Warnickは、昨年に引き続き、日米欧三者の臨床化学に携わる分析者同志が会合して、直接法の抱える様々な問題点を中心に、率直且つ自由な意見交換を図ることが、国際交流と更なる技術の向上を図る上で、極めて大切なことを再強調した。

講演に先立って、中村がHDL試薬とLDL試薬の抱える問題点、特に第二ステージを通じて今後解決されなければならない前述の10項目の問題点の解明を期待する旨の基調講演を行い、試薬メーカーからの積極的な情報公開を促した。会合での講演は、4題用意された。

1題目は、CDCの基準分析室の技術責任者であるDr. Parvin Waymackが、CDCのLDL基準分析法であるBQ法と管理血清の経年変化とその推定原因に関する興味ある成績が披露された。これに対して、欧州グループからは管理血清中のLDLの長期安定性に関する質問が集中した。

残る3題のうち、2題は日本の試薬メーカー（第一化学、協和メデックス）からの情報提供、との1題は米国和光からの話題提供であった。第一化学は、米国駐在の古

関守氏が「直接法の原理、基本性能の紹介の他、ファルマシア製カラムを用いたHPLC法による異常検体 高TG、LpX、高Lp(a)などの解析検討結果」について講演し、また、協和メデックスの柏原典彦氏は“Reactivity of Cholesterol in Homogeneous LDL-C Assay”というテーマで、IDLおよびLp(a)分画の反応性、異常リポ蛋白であるLp-XおよびLp-Y分画に対する反応性、CDCのBQ法との相関性などに関し、試薬メーカーとしてどのように把握し、今後どのように改良するのかなどについて、興味ある報告があった。一方、米国和光からは、新規に開発されたブロックポリマー(HDL-X、LDL-Y)を用いたHDL-C/LDL-C測定試薬の完全消去法としての基本性能を中心に、興味あるデーターが示された。

#### 【日米合同LDL-C標準化懇話会(福岡)】

過去2回開かれた日米欧会合は、年に1回、米国内でのみ開催される上に、必ずしも直接法を開発した全7社が揃い踏みをしている訳ではない。これを補完する意味でも、日米欧会合の日本版を開催することになった。

その機会として、第52回日本臨床検査医学会総会(開催期間：2005.11.16～11.20、開催地：福岡、主会場：福岡国際会議場)が選ばれた。その為の日米合同LDL-C標準化懇話会は、2005年11月18日（金）、福岡サンパレス (PM12:00～2:00)において、米国からPBRF会長のMr. Warnick、日本からは日本臨床検査医学会総会の学長を務めた濱崎直孝九州大学医学部教授、(独)産業技術総合研究所の千葉光一先生ら総計20名を迎えて開催された。懇話会の冒頭、濱崎教授と千葉先生から、丁重な激励の挨拶があった。続いて、中村が「LDL-C標準操作法の構築(Establishment of LDL-Cholesterol Standard Procedure by HECTEF)」のテーマの下に、現在、HECTEFの「LDL-C RMS技術検討会」で審議されているLDLの標準操作法の構築に関する基本的考え方を説明し、同席したMr. Warnickに意見を求めた。彼は、BQ法はLDLのみならず、Lp(a)やVLDL分画も微量含まれる点で必ずしもLDLの真値を示さない点の再指摘と、直接法が超遠心による比重サイドから測定されるBQ法とは原理的に違う点(Direct LDL separations may be more “physiological” than UCと表現)をどのように捉えるのか、LDLに問題点が多い中での最も現実的な対応は過去の症例対照研究との整合性に待つべきというような点について、論評があった。これらの諸点については、2005年11月18日当日、Mr. Warnickは学会の教育講演における“Lipoprotein Analysis: Present and Future”と題する講演でも、その重要性を指摘していた。一方、試薬メーカーからの発言として、4社からの情報開示があった。

第一に、第一化学の齊藤和典氏が「Reactivity of Cholestest LDL: Analytical Approach to Poly-Disperse Lipoproteins」と題して第一化学のコレステストLDLの反応性を中心に述べ、

第二にデンカ生研の伊藤康樹氏は「Assay Principle and Characteristics of Denka Seiken Direct LDL Assay」と題してデンカ生研のLDLテストの測定原理を中心に展開し、

第三にシスメックスの岸浩司氏は「Homogeneous Assays for Serum HDL and LDL-cholesterol Levels by Enzyme Inhibition Method using 4-sulfonyl calyx(8)arene and Cholesterol Dehydrogenase」と題して、特異性を有するエステラーゼとカリクスアレン誘導体をコレステロール脱水素酵素に組み合わせた測定法の説明を行い、

第四に和光純薬の櫻曜氏は「The Development of a novel LDL-cholesterol Assay Method」と題して、最近、和光純薬で新規に開発されたLDL測定法の反応機序に関する説明があった。これら4社の発表は、日ごろ、容易に聞くことの出来ない極めて興味ある、示唆的な内容であったと評価したい。

#### 【第三回の日米欧会合(シカゴ)の予定】

第三回目の日米欧会合は、今年の第58回AACC学会(開催期間：2006.7.23～7.27、開催地：シカゴ)に連動して開催の予定であり、目下、そのテーマと開催日時・場所を日米間で詰めているところである。詳細が決定されれば、HECTEFホームページを通じて案内される。

私ども日米欧会合の準備委員は、今後、直接法の試薬の改良を期して行くためにも、営業サイドではなく、直接法の試薬開発に自ら携わった開発技術者から「わが社の試薬の特色はどこにあるのか、わが社の試薬の測定系のどの点に開発の力点が置かれているのか、わが社の試薬の測定限界はどこにあるのか、検査室の技術者にはどのような点に留意して試薬を取り扱ってもらいたいのか、今後どのような点に改良の余地を残しているのか」というような点について、率直に耳を傾けてみたいと考える。わが国や欧米の試薬の利用者と提供者が、率直で自由な意見の交換をする国際協調の場が生まれてくることを、願うものである。同時に、より良い改良に向けて、7社間で競争原理が働くことも大切と考える。わが国発のHDLやLDLの直接法が、正しく活用されて、患者への診断・治療・予防にいささかでも貢献することが出来れば、望外の喜びである。今年のシカゴにおける第3回の日米欧会合に、一人でも多くの日本からの参加者を期待する。