



一般社団法人
HECTEF

福祉・医療
技術振興会

<http://www.hectef.jp>
Email:info@hectef.jp

HECTEF

Health Care
Technology
Foundation

HDL-C, LDL-C直接法は国際レベルに

NEWS

2009. 6. No.15



さらなる標準化をめざして

一般社団法人 HECTEF
福祉・医療技術振興会(HECTEF)
理事長 医学博士 櫻林 郁之介

一般社団法人HECTEF(福祉・医療技術振興会)の会員の皆様におかれましてはますますご清祥の事とお喜び申し上げます。

昨年12月の新法人法の施行により、当法人も今年4月から有限中間法人から一般社団法人に変更し、これまでの標準化活動や標準物質の頒布等を新法人名で開始しました。気持ちを引き締めて新たな改革に取り組んでいきたいと思っております。標準物質の頒布では今年は新たな物質を加えていく計画で準備を進めております。

また、HECTEFでは、5年前からアメリカのCDC(Center for Disease Control and Prevention)やNIH(National Institute of Health)およびAACC(American Association of Clinical Chemistry)と共に、主にHDL-コレステロールやLDL-コレステロールの直接法の評価を行ってまいりました。今年はそのデータがアメリカから正式に発表される予定になっております。このことにより、現在数社から発売されている試薬の標準化が行われる可能性が出てきました。詳細は中村雅一博士の論文をご覧下さい。

さらに、アメリカ臨床化学会(AACC)の編集委員長であるProf. Nader Rifaiから、学会公式雑誌であるClinical Chemistryの

掲載記事の翻訳・掲載の提案がありました。Dr. Rifaiは雑誌に掲載されている内容を世界規模で知つてもらうために、各国に呼びかけてその国の言葉で翻訳することにより、内容をより理解してもらおうとの考えで企画されました。

種々検討の結果、日本においては当法人が翻訳・掲載を引き受けることとなりました。この企画はHECTEFの学術専門委員会(中嶋克行委員長)が担当し、2009年4月から毎月主としてReviewおよびmini-reviewを中心にして和訳文をホームページに公開していくこととなりました。かならず皆様のお役に立つ情報を提供できるものと確信しております。

このように現在HECTEFでは臨床検査の標準化に関する仕事を続けており、可能な限り世界で販売されている標準品等に関しても手がけていきたいと思っています。また、できるだけ臨床検査に関する世界の情報を提供できるように組織的に手がけていきたいと考えております。今回のClinical Chemistry誌の翻訳もその一環であります、良質の情報を多くの臨床検査に携わる方や臨床検査に興味を持っておられる方々に広く提供できるよう努力をしていく所存ですので、末永く御付き合い頂きたいと思います。



HDLCとLDLCの直接法を評価するための日米共同実験計画

大阪府立健康科学センター脂質基準分析室
CDC/CRMLN Lipid Reference Laboratory
中村 雅一

HDLCとLDLCの直接法(Homogeneous Method)は、世界に先駆けてわが国で開発、製品化され、世界の市場を出回っている。現在、7社(北から順に、(株)セロテック、デンカ生研(株)、積水メディカル(株)、協和メデックス(株)、(株)ユーエムエー、和光純薬工業(株)、シスメックス(株))の試薬・校正用標準物質(キャリブレーター)・管理血清が知られている。直接法は、開発各社がそれぞれに特徴的な反応原理を基に、前処理不要の完全自動化日常臨床検査法として、HDLCが1996年頃から、また、LDLCは1998年頃より臨床検査領域で実用的に使用されるようになった。長らく念願とされた直接法の開発にわが国が先鞭をつけ、日本がほぼ世界を制したことは確かであろう。最も難関とされたLDLCでみれば、米国のリポ蛋白測定に関する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”と記述して、LDLCの直接法の早期開発を促している。LDLCは心血管系疾患のリスクファクターとして重要な意味を持つ。このところを、論文の中でDr. Contoisは“LDL-C has been the cornerstone measurement for assessing cardiovascular risk for nearly 20 years”と記述している。米国の国民病とも言える心筋梗塞を制圧するためにも、LDLCの直接法の早期開発は、国家的命題であることを如実に物語るもので

あろう。それに応える為であろうか、2005年のAACC学会(Orlando)において、CDCのDr. MyersとVirginia Commonwealth University(VCU)のDr. Millerから、全社のHDLCとLDLCの直接法を、「米国が自らの手で直接評価したい」という要望が、AACCに14ある専門分科会の一つであるLipoproteins and Vascular Diseases Division(LVDD)の日本側委員(櫻林、中嶋、中村)に寄せられた。今回の日米共同実験計画は、米国政府の2つの研究機関が、直接、直接法の評価に乗り出した点に大きな意味がある。

この申し入れから2年後に、HDLCとLDLCの直接法を評価するための詳細な日米共同実験計画(US-Japan Evaluation of Homogeneous HDL and LDL Cholesterol Methods)が策定され、日本側はHECTEFを窓口として、米国側はPBFRを窓口として、両者間でCollaborative Research Agreementが交換・調印され、計画は実行に移されることになった。共同実験計画の主たる目的は、その中で“The purpose of the project is to document the trueness and specificity, relative to the beta-quantification reference measurement procedure, of the current generation of homogeneous methods for measuring HDL and LDL cholesterol in human serum”と述べられているように、CDCの基準分析法によって確立された目標値を基準にして、現行の直接法の「正確性と特異性」を明

らかにする点にある。実験内容の概略は、以下の通りである。血液は、National Institutes of Health (NIH) 及びVCUの2病院で採取されることになった。血清は、採血後1～2時間後に遠心分離され、その後4～8℃で保冷して、CDCとVCUに輸送され、採血後24～48時間以内に測定された。検体は、「個人の、新鮮な、患者検体のみ」を材料とした。疾病別の内容は、健常人が37名、心血管系疾患・腎疾患・肝疾患及び脂質異常症を示す137名の計174名であった。7社の直接法によるHDLCとLDLCは、2008年5月頃より、Dr. Millerを責任者とするVCUの分析室において、専用の分析装置(日立917)により1検体につき3重測定が行われた。分析装置は、試薬メーカーから提出されたパラメーターを含む使用説明書とキャリブレーターの表示値と管理血清の許容値に忠実に従って、運用されたことは言うまでもない。一方、基準分析法による測定は、LDLCがCDCの分析室でBeta-quantification法により、また、HDLCはCRMLNの基準分析室の一つであるPacific Biometrics Institute (PBI)で比較対照法 (DCM) により2重測定された。他の血液化学検査項目はVCUで、電気泳動所見はBerkeley Heart Laboratoryで得られた。更に、全ての検体は-70℃で凍結保存されている。2008年6月には、日本側委員の一人である中嶋が自らVCUの分析室を視察した。その視察報告によれば、本計画を遂行するために専任の検査技師が配置され、良好な分析環境の下で測定されていることが確認されている。

CRMLNの基準分析室が行う標準化では、患者からの検体採取は困難なために、どうしても試薬メーカーのボランティア社員の検体に頼らざるを得ない。大阪府立健康科学センターの認証試験では、約80%の検体は電気泳動的に見て正常パターンを示す。このような健常検体を対象にした場合、HDLCもLDLCもCDCの判定基準を満たす。このことは、過去10年余にわたり

CRMLNで実証されてきた。これに対し、日米共同実験計画では、健常人よりも脂質異常症、あるいは、肝・腎疾患の患者に重点を置いて検体が採取された。米国においても、患者から採取された侵襲性を伴う試料を用いる介入研究では、倫理指針をクリアすることは相当に困難であった。検体の採取は、必ずしも計画通りには進まず、想定以上に時間がかかった。とりあえず、米国臨床化学会 (AACC) が2008年7月にWashington DCで開催されることから、中間発表がされることになった。中間発表は、2008年7月29日(火)、VCUのDr. Millerにより、AACCのLVDDの公式発表会であるInternational Lipoprotein Standardization Forum (Renaissance Washington DC Hotel) の場において、92検体分の測定精度が公表された。このForumでの参加者は約60名で、日本側責任者として、櫻林、中嶋、中村の3名が同席した。中間発表は目標検体数のおよそ60%の成績であったことから、その後も追加の検体、特に脂質異常症例を中心とした測定が実施され、2008年12月中にはすべての測定は終了した。2009年1月時点では、HDLCで174例、LDLCでは外れ値を除外したことにより172例の測定値が得られ、その後Dr. Caudillを中心とする解析グループに送られた。

ここで、これまでの知見を整理しておきたい。第1に、HDLCやLDLCの直接法は、「個人の、新鮮な、ヒト検体」を対象として、試薬メーカーの使用説明書に忠実に従ったとき、正確性に優れた測定値が得られるように設計されている。これが大原則である。この条件下においても、脂質異常症例などの検体での測定値の乖離は避けられない。第2に、「個人の、新鮮な、ヒト検体」と「何回も凍結保存や濾過を繰り返したり、不特定多数の検体をプールしたり、更には凍結保存材や安定化剤などの添加をするというような工作が施された検体(これを、Processed Materialと表

現する)」を比較検討すると、両者間で有意な差が観察されるケースが少なくない。つまり、Processed Materialの検体では、正確度にズレが認められ、それをそのまま信用すると間違った方向に導かれる可能性が高い。間違っても、Processed Materialの測定成績から、新鮮な個人の患者血清の測定値を補正したり、修正をすることは、慎むべきであろう。Processed Materialを使用した場合のサーベイにおいて、検体の違いにより、評価が全く食い違うケースが発生し、その結果、臨床検査室を困惑させることになる。構造的に変性し易いリポ蛋白の標準物質(ゴールドスタンダード)を製造することは、大変魅力のある研究テーマである。単に新鮮なヒト血清を原材料として基準分析法で目標値を決めれば済むという程度の生易しさでは製造できない。標準物質と称する製品を利用する際には、その物質の入手源・製造方法の明確な開示・正確性の保証・マトリックスの違いによる影響などに十分な注意が必要である。それでも、個人個人でマトリックスの異なるどのような個人血清に対しても、標準物質が正確な測定値を跳ね返すという保証はまだ得られていない。それほどゴールドスタンダードの製造は難しい。今回の日米共同実験は、このような問題に対する一つの回答でもある。第3に、「個人の、新鮮な、ヒト検体」と「-70℃で凍結保存された個人血清」とを比較検討した成績は、意外と少ない。このような検体は、疫学調査や臨床試験や研究分野等で発生する場合が少くない。たとえば、離島やへき地などのフィールドで検体が採取されたり、輸送機関などの利便性が悪いなど、現地でやむを得ずドライアイスで凍結保存せざるを得ない場合がある。このような問題に答えを出すために、凍結保存された検体を対象に追加実験が行われることになった。これが、Freeze-Thaw Evaluationである。検体は、健常者から36例、脂質異常症例の検体から40例が抽出され、HDLCとLDLCが測定されることになった。1回凍結による個人検体

の影響(Freeze-Thaw Effects)の結果が期待される。このFreeze-Thaw Evaluationは、2009年3月に実施される予定である。

今後の予定としては、日米共同実験に関するまとめとしての報告書の作成、Clinical Chemistryへの投稿のための論文化、第41回日本動脈硬化学会総会・学術集会(2009年7月17日、下関、海峡メッセ下関)でのNIHのDr. Remaley *1による招待講演、並びに、VCUのDr. Millerがシカゴで開催される2009年のAACCのInternational Lipoprotein Standardization Forumで結果を公表するスケジュール(Title: Performance of Current Homogeneous Methods for HDL and LDL Cholesterol: The Final Results; Greg Miller, PhD, Virginia Commonwealth University, Richmond, VA, USA; 2009/07/21(火)午後6時~9時30分, Hyatt Regency Chicago Columbus Hall)が組まれている。

日米共同実験においては、日本の7社の試薬メーカーから試薬・校正用標準物質(キャリブレーター)・管理血清等が数回にわたって米国に無償供与され、更に実験の遂行に必要な財政的支援も受けた。日米共同実験への対応は、わが国の試薬メーカーが社会的責任上なすべき義務ととらえてご協力いただいたと理解している。ここに、紙上を借りて、篤く御礼を申し上げる次第である。

*1) Dr. Remaley

Section Chief, Lipoprotein Metabolism Section, Vascular Medicine Branch, NHLBI, National Institutes of Health, Bethesda, MD

◆◆◆

AACC-LVDD Special Events During the 2009 Annual AACC Meeting Chicago, IL

◇ **LVDD Executive Committee (Board) Meeting**

Sunday, July 19 8:00am—11:00am Hyatt Regency Chicago Hotel (Columbian Room)

◇ **Annual LVDD Dinner Meeting CURRENT TOPICS IN CARDIOVASCULAR DISEASE**

Monday, July 20 5:30pm—9:30pm Hyatt Regency Chicago Hotel (Columbus Hall A, B, C, D)

LVDD members are invited to celebrate the division's 20th anniversary during an evening of socializing and science. Following dinner there will be two scientific presentations. The first will address enzyme cycling and its clinical application for the homocysteine test. Homocysteine is an emerging new risk factor for cardiovascular disease and stroke that can be tested virtually on any automated clinical chemistry analyzer. The second talk , on recent advances in cardiovascular risk testing, will discuss the relative merits of alternative measures for LDL cholesterol and describe results of recent trials for the inflammatory markers CRP and Lp-PLA2.

☆ **Enzyme Cycling and Its Clinical Application for the Homocysteine Test**

Chong Yuan, Ph.D., Diazyme Laboratories, San Diego, CA

☆ **Recent Advances in Cardiovascular Risk Testing : Lipids, Lipoproteins, and Inflammation**

Joseph P. McConnell, Ph.D., The Mayo Clinic and Foundation, Rochester, MN

◇ **INTERNATIONAL LIPOPROTEIN STANDARDIZATION FORUM**

Tuesday, July 21 6:00pm—9:30pm Hyatt Regency Chicago Hotel (Columbus Hall K, L)

Sponsored by the AACC Lipoproteins and Vascular Diseases Division (**LVDD**).

Cosponsored by the Japan Health care Technology Foundation (**HECTEF**) and Pacific Biometrics Research Foundation (**PBRF**).

LVDD members are invited to join international leaders in a discussion of recent findings related to lipoproteins, with a focus on new technologies and standardization efforts. The first presentation will look at CETP inhibitor, which is considered a potential lipoprotein-modifying agent, and will summarize the differences of lipoprotein phenotypes by CETP inhibitor from those in genetic CETP deficiency. The second presentation will discuss the current technology of lipid/lipoprotein testing based on results of the **US-Japanese cooperative study**.

☆ **Prospect of CETP Inhibitor**

Akihiro Inazu, M.D., Kanazawa University, Kanazawa, Japan

☆ **Performance of Current Homogeneous Methods for HDL and LDL Cholesterol : The Final Results**

Greg Miller, Ph.D., Virginia Commonwealth University, Richmond, VA

