

6. CAP 調査を中心に

分担研究者 五味 邦英

昭和大学・臨床病理学

1) CAP サーベイについて

臨床検査の外部精度管理調査は、わが国において数多く実施されている。しかし、検査の精度や検査法の標準化を行う場合、単にわが国のみならず国際的な規模での精度管理を実施する必要がある。そこで日本臨床病理学会の精度管理小委員会では、米国の College of American Pathologists (CAP) により毎年実施されている国際的な精度管理への参加を推進している。CAP の国際臨床検査成績評価プログラムは、世界でもっとも規模が大きく、1997 年度には 25,000 施設を越える世界各国の検査施設が参加し、その結果が評価されている。

米国では 1990 年にメディケア、メディケイドおよび CLIA67 該当施設の規制強化により、四半期ごとに 5 テストの精度管理を行うように法律で義務づけられた。この規定に適合するよう CAP サーベイは、項目の入れ替えとテスト数が増加され、現在の評価プログラムとなった。

わが国においても、1996 年に保険診療報酬支払システムに新たに「検体検査管理加算」が導入され、検査部での内部精度管理の実施・外部精度管理への参加と、院内での精度管理委員会による評価等が必要とされている。このような状況下で、現在 CAP サーベイに参加しているわが国の施設数は約 130 施設となっている。今後は、ますます外部精度管理の重要性が再認識され、精度管理の標準化が進むものと考えられる。

現在、わが国で参加している CAP サーベイ調査で「サーベイ A」の内容 (Table 1) は、総合血液検査 [HE]、血液凝固系検査 [CG1]、化学検査 [C3]、臨床顕微鏡検査 [CM] で、それぞれ年 2 回、合計 8 回を実施している。

Table 1 Survey A

検査名 [英略]	分析項目
総合血液検査 [HE]	血球の同定、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血小板、RBC、WBC
血液凝固系検査 [CG1]	活性部分トロンボプラスチン時間、フィブリノーゲン、D-ダイマー、FDP-血漿、FDP:血漿、プロトロンビン時間
化学検査 [C3]	ACP、ALP、ALT/SGPT、AST/SGOT、アルブミン、アンモニア、アミラーゼ、腺アミラーゼ、アポリポプロテイン A1、アポリポプロテイン B、塩素、カルシウム、直接ビリルビン、総ビリルビン、コレステロール、CO2、コルチゾール、CK、クレアチニン、フェリチン、γ-GTP、グルコース、HDL コレステロール、LDL コレステロール、hCG 定量、イオン化カルシウム、鉄、LD、乳酸、リパーゼ、リチウム、マグネシウム、膠質浸透圧、浸透圧、無機リン、カリウム、プレアルブミン、総タンパク、ナトリウム、TIBC、トリヨードサイロニン摂取率、TSH、フリーサイロキシン、総サイロキシン、トランスフェリン、トリグリセライド、尿素、尿酸
臨床顕微鏡検査 [CM]	ビリルビン、尿 hCG、ヘモグロビン、ケトン体、白血球エステラーゼ、亜硝酸塩、尿浸透圧、pH、尿タンパク、ブドウ糖、尿比重、尿沈渣及び体液のスライド

この「サーベイ A」に、さらに白血球分類を加えた「サーベイ A1」を用意した。

「サーベイ A1」は Table 2 に示すように、白血球分類に使用する分析機種により「サーベイ A1-6、-7、-8」が選択できるようになっている。

Table 2 Survey A 1

プログラム名	サーベタイプ
Survey A1	FH6、7、8 (総合血液検査)、CG1 (血液凝固系検査)、C3 (化学検査)、CM (臨床顕微鏡検査)
FH の選択肢	対象機種
A1-6	Coulter STKS、VCS、MAXM、GenS
A1-7	Sysmex NE Series
A1-8	Sysmex SE-9000、SF-3000

この白血球分類のサーベイは、現在多くの検査室で利用されている自動分析装置による白血球分類を比較する上で、大いに参考となる精度管理である。また実際に使用されている機種・施設間差をより明確にでき、標準化を進める第一歩となり得る。また、「臨床化学検査サーベイ」だけに参加される施設のためには、化学検査 [C3] を年 2 回実施している。

CAP サーベイは世界的な外部精度管理で、検査方法の世界的動向を知り、さらに自施設での分析結果を他の方法と比較する事が可能である。また従来の精度管理、特にわが国での外部精度管理においては分析結果

の評価のみに重点が置かれていた。しかし CAP サーベイにおいては、特にスライド写真による診断は教育的要素が大きく、最新な知識の吸収と、形態学においては判定基準<sup>1)</sup>の統一・標準化がはかられている。

## 2) CAP サーベイ参加施設における精度管理調査の標準化への試み

### a) 調査対象および試料

わが国で CAP に参加している 6 施設を対象に、日本・常用酵素標準物質 (JCERM) および精度管理血清を送付し調査を行う。その場合、CAP サーベイでの報告結果と比較し、外部精度管理の標準化を試みる。

### b) 調査内容

調査は臨床化学検査の基幹項目で、AST、ALT、ALP、LD、CK、GGT の測定系が確立している検査項目とする。

### c) 結果の解析

各施設からの JCERM の結果を基準として、精度管理血清での同一項目の値を比較し、外部精度管理による標準化が可能かを検討する。さらに、CAP サーベイでの結果も同様に、項目毎に集計し各施設での測定値を比較検討する。

### d) 評価の基準

まず JCERM の値が、JCERM の 95% 信頼区間内の値として報告されているかを評価する。さらに表示値を真値と考え、真値からのバラツキを評価基準とする。ついで、JCERM の表示活性値を利用して、各施設での精度管理血清の結果を換算し、同様に評価する。この場合、測定法原理、使用している検量物質別に分類して集計する。

### e) これまでに指摘された問題点

CAP サーベイは世界規模での調査で、その結果報告書はわが国の検査の実状にマッチしていなかった。それは、測定試薬をみても、わが国の試薬が登録されておらず分類なしで、その他として集計されるためである。この点は、測定機器の分類におい

ても同様である。しかし、CAP サーベイに参加している施設は、その調査内容の教育的な面を高く評価し利用している。

### f) 問題点への対応

CAP サーベイの全体的な集計は、米国で行われ評価され、その結果が報告されている。そのために、わが国から報告されている結果は、測定原理 (測定試薬) および測定装置 (測定機種) 別の分類で、母集団が少ないために十分に評価されない場合がみられる。そこで、今回標準物質を利用し、わが国の CAP 参加施設での結果を、比較し新たな評価が行えるかを実証する。

### g) 今後のあり方について、問題とされている点

外部精度管理は、自施設の検査結果の正確度を知り、他施設における検査結果との互換性を求めるための管理である。そのためには、測定原理・測定機器による施設間差を知らなければならない。しかし、わが国においては既に、測定機器による精度は十分に小さいことが確認されており、機器間差は解消されているものと考えられる。現在、多くの外部精度管理が毎年行われているが、その評価が標準化されておらず、ただ参加し母集団のどの程度の所に自施設が位置するかの確認に利用されている。

そこで、同じ物差し (標準物質) を用いて、正確度を適正に評価することができれば、本来の外部精度管理の有用性を明らかにでき、参加施設の自己評価への資料を提供できるものと思われる。

今回の CAP サーベイでのフィールド調査は、外部精度管理による正確度を従来、適切に評価できなかった問題点を解決できる、第一歩となるかもしれない。

文献 1) 伊藤機一: CAP サーベイにおける尿沈渣の回答の参加全施設と日本参加施設との相違. 臨床病理 44: 281・285, 1996

## II. 外部精度管理調査と施設の評価の関係

### 1. 国際的動向

分担研究者 河合 忠

国際臨床病理センター

#### A. 外部精度管理調査の海外での導入状況

臨床検査結果の施設間差を明らかにしたのは、第二次世界大戦後まもなく1947年に Belk and Sundermann が実施した調査である。すなわち、米国ペンシルベニア州の臨床検査室に同一の調査試料を配布して、日常広く行われている化学検査項目についての検査結果を集計した成績が大きな施設間変動を示した。その後、世界各地で同様な調査が行われ、臨床検査結果の施設間変動がにわかに注目を浴びるようになった。1954年、国際臨床化学連合 (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) で Wootton and King が行った国際的調査でも例外ではなかった。

米国では、上記の Belk and Sundermann の調査結果を重視し、CAP(College of American Pathologists)が1949年から外部精度管理調査をはじめ、米国のみならず世界各国からの参加があり、現在では世界でも最大規模のプログラムを提供している。1967年に Clinical Laboratory Improvement Act(臨床検査室改善法)が制定されて以後、1970年代に入ると多くの州政府も外部精度管理プログラム (proficiency testing, 熟達度試験) を実施している。さらに、1988年に行われた CLIA'88 の法改正を機に、行政指導のために外部精度管理での成績が一層重視されるようになった。

ヨーロッパ圏では、英国が1960年代

後半から全国的精度管理調査を組織的にはじめ、フランス、ドイツ、オランダなども始まった。ヨーロッパ連合の発足とともに European Committee for Standardization(CEN、ヨーロッパ標準委員会)が標準化活動を始め、外部精度管理調査のためのヨーロッパ規格を提案したが、その基礎となったのは英国の規格である。しかし、CEN 自体がヨーロッパ各国に外部精度管理調査を実施しているわけではなく、現在でも各国が独自に実施している。

オーストラリア圏では、初期には英国の組織に参加する形で始まったが、現在ではオーストラリア王立病理学会 (Royal College of Pathologists of Australasia, RCPA) の主導で始まったプログラムが全国共同体である NATA が外部精度管理調査事業など幅広い臨床検査の標準化を進めている。シンガポール、香港、などは英国またはオーストラリア圏の精度管理調査に参加している。

アジア圏では、日本に次いで比較的早くから関心を寄せたのは韓国である。韓国は1970年代から韓国臨床病理学会 (Korean Society of Clinical Pathologists, KSCP) を中心に韓国精度管理学会を発足して全国的レベルで外部精度管理調査を実施している。中国では、中国検験中心 (National Clinical Laboratory Center) によって部分的に外部精度管理調査を実施してきているが、いまだ全国的レベルでのサーベイは始まっていない。

国際団体としては、国際臨床化学連合 (IFCC)、世界病理学・臨床検査医学会連合 (World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine,

WASP)、国際純正応用化学連合 (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC)、国際血液学標準化委員会 (International Council of Standardization in Haematology, ICSH) などが外部精度管理実施のための指針作成、教育などに活動しているが、国際的な規模での外部精度管理調査事業については限界がある。世界保健機関 (World Health Organization, WHO) も特に開発途上国を目標とした活動を続けているが、CAP および WASP の支援によって試験的に国際外部精度管理評価システム (External Quality Assessment Scheme, EQAS) を導入しているに過ぎない。

## B. 海外における外部精度管理調査の実施方法と評価法の概要

外部精度管理調査の実施方法には、1) 参加施設に調査試料であることを明らかにして実施する Open EQA 方式と 2) 参加施設に調査試料であることがわからないようにして実施する Blind EQA 方式とがある。また、Open EQA 方式は、さらに調査試料を郵送する Mail EQA 方式と査察官が持参して直ちに検査する立ち入り EQA とが行われている。しかし、大規模な外部精度管理調査では Mail EQA 方式を採用している場合が通常の実施方式となっている。

評価法については、先進国の場合はおおむね調査結果を評価・評点する熟達度試験 (proficiency testing) の形式を採用している。開発途上国では一般的にサーベイまたはサーベイランス (継続的調査) の形式をとっており、国際的調査の場合にも同様である。熟達度試験の形式をもっとも強力に推進しているのは米国であって、

CLIA'88 施行後は臨床検査室の認定条件として適切な熟達度試験に参加し、規定以上の評価を受けていることが挙げられている。一部のヨーロッパ各国で熟達度試験結果が医療保険報酬支払いの条件としている場合がある。今後、ヨーロッパ連合において熟達度試験結果が臨床検査室認定制度にどのように政策に反映されるかは未定である。

評価規準の設定方法については、参加施設の平均値を採用している場合がほとんどであって、一部の成分分析 (信頼できる標準物質と基準分析法が存在するもの) と定性検査において目標値設定が行われているに過ぎない。また、検査結果の評点規準 (grading) については、参加施設集団における統計的標準偏差 (statistical standard deviation) を採用している場合がほとんどである。しかし、一部の検査項目については“固定変動係数 (%)”あるいは“固定許容値”を設定しているが、その場合であってもいわゆる“専門家集団”の経験的な合意に基づいている。日本医師会主催の外部精度管理調査では、独自の統計的手法を開発し、“現状の検査室での平均的測定法内変動域”を求め、それを評点規準としている。いずれにしても、評価法に関する国際的規格または指針がまだ確立されていないのが現状である。

## C. 外部精度管理調査への海外での評価

1998年、英文文献のうち1987年以降に出版された163件についての S. Shahangian による詳細な再評価結果が報告されている (Shahangian, S: Proficiency Testing in Laboratory Medicine: Uses and Limitations, Arch Pathol Lab Med

122:15-30, 1998)。すなわち、外部精度管理調査（熟達度試験）の長所、短所について以下のとおりまとめている。

- (1) 臨床検査の質的改善と教育方法として重要な役割を有している
- (2) 検査室の日常業務を評価する理想的な外部精度管理調査はなく、どのような工夫をしてもさまざまな限界がある
- (3) 他の方法と組み合わせて臨床検査の質的改善に利用すべきである
  - ・地域調査では、時に“blind”方式を採用する
  - ・調査試料を工夫するとともに、必要に応じ新鮮試料を使用する
  - ・迅速な成績報告に心がけ、コンピュータ集計と評価は不可欠である。

## 2. 外部精度管理と施設の評価

主任研究者 菅野 剛史

浜松医科大学・臨床検査医学

### 1. まえがき

外部精度管理調査は、我が国では日本医師会を始めいろいろな団体で行われてきた。その中で、施設の評価を実施している群と、実施していない群に分けると、古くから確実に実施していた調査が日本医師会の調査であり、日本衛生検査所協会の調査も施設に対する適切か否かを表示するためにも評価を伴うものであった。また、日本総合健診医学会で行う調査でも健診施設の適否を判断する意味から付帯的な評価が実施されている。この3者の評価法などを比較しながら外部精度管理調査のあり方を考えることとしたい。

### 2. 外部精度管理評価の現実

#### a) 日本医師会精度管理調査

日本医師会の精度管理調査では、調査当初から、武見医師会長の強い意向で、評価を行うことを前提としてきた。基本的に評価の方法はこれまでに3つの方式に大別できる。

①第一期は、評価の規準が専門家による判断で平均値からの定められた偏位で設定されたり、目標的な値を大学病院などの基幹施設の平均値で設定した時代

②第二期は、測定法別の分類を、原理別、キット別などで設定し、同一集団の数を設定しながら、その群の分布から平均値と標準偏差で評価規準を設定した時代

③第三期は、測定法別の分類を厳格にし、一群の集団を20施設以上とし、さらに現時点での測定の水準を考慮し、全施設の80%が含まれる測定法の間施設の施設内変動の平均値を

共通変動係数とし、それを変動幅として各測定法群の平均値からの共通変動係数の幅を評価規準とする方法である。現時点での技術水準を考慮し、精密さの優れた方法出では多くの施設が優れた施設と評価され、精密さの劣る測定法では優れた施設は少なく評価される。今日までの評価規準の設定法として優れたものと考えるが、この成果を検証中である。

#### b) 日本総合健診医学会精度管理調査での評価方式

一年に4回の試料が配布され、その4回の結果から、Proficiency testing (熟達度試験)に近い概念で、参加施設を優良施設として認定することを目的として施設の評価が行われている。健診施設では、受診者は健常者であるのが大部分であることから、健常域と要観察域の判別には、日差を超えた精密度さが要求される。したがって、精度管理調査が始められると同時に精密さの評価が厳しく実施された。

調査の内容としては、熟達度の評価を中心に年4回配布されるのは、生化学検査の試料である。これに加えて、血球計測、尿一般検査、免疫学的検査ABO方血液型検査、便潜血検査の試料が4回中にランダムに加えられ配布されている。評価規準は、当初は測定方法別での計測値の分布から平均値とSDの評価方式であった。しかし、平成5年度より健診という特殊性から実測値で評価規準を作成するのではなく、スコア値(クリニカルユニット)を利用した評価法となっている。この概念は、計測値が、その施設の正常値(基準範囲)のどの位置に存在するかの評価法であり、健診のような場

合には非常任重要な概念である。

$$\begin{aligned} & (\text{測定値} - \text{基準範囲の中央値}) \times \\ & 10 / (\text{基準範囲} \times 1 / 4) \\ & + 100 = \text{スコア値} \end{aligned}$$

としてスコア値を計算する。さらに、このスコア値をもって評価規準を決めることになる。この考え方は、測定法依存性のある検査項目で、正しく基準範囲（正常範囲）が求められているならば、どの健診施設でも同じスコア値を示すように考慮された評価方法であり、健診施設にとっては優れた評価方式である。また、配付試料に階調試料を利用し、希釈系列で真値に代わる評価を行う工夫をしている。さらにこの階調での段階別試料は配布先を電算機で管理し異なった系列の試料を配布することで、いわゆる精度管理調査の報告事前連絡を防止しよとする試みも加えられている。

このことは、健診施設で不合格の評価が為されると、健診機関としての機能が果たせなくなることから、精度管理試料の計測値について、事前に連絡し合うなどの不正行為が目立ったことに起因するが、現実の問題として評価のあり方よりも参加施設の対応の法が問題である。

このような背景から、健診の施設が独自の評価規準を作成してきた経緯は十分理解できるし、また、それだけ精密さを要求されて結果のものであることは重要なことである。この評価方法、評価規準は、一施設が経年的に精密度を保持しているか否かを評価するには優れたものである。しかし、一施設の計測値が一施設のみで終始する時代は再考されねばな

らない時期が到達したのである。健診の計測値が他の医療機関で活用され始めたのである。病／診連携、診／診連携、健診機関と診療機関の連携が行われつつあるのである。いずれかの時点で、この健診のグループでも真値の評価に試行することが期待され始めているのである。

c) 日本衛生検査所協会（日衛協）の外部精度管理調査

日衛協の外部精度管理調査は、昭和49年度より開始された。当初の調査は現在の協会の前身である全国臨床検査所協会の呼びかけで開始され、日本衛生検査所協会（社）が設立されて継続されている。

評価は、調査が開始された時点から平均値（M）と標準偏差（SD）で行われ、 $M \pm SD$ を good performance として評価した。当初、臨床化学検査15項目から発足しているが、調査項目が増え、今日では、臨床化学20項目、血液学、血清学、微生物学に及んでいる。

評価の規準は

$M \pm 1SD$ 以内のもの	5点
$M \pm 1SD$ を越え、 $2SD$ 以内に入るもの	4点
$M \pm 2SD$ を越え、 $3SD$ 以内に入るもの	2点
$M \pm 3SD$ を越えるもの	0点

として評価している。

この評価法は当初は自主的な自己点検方式も併用したが、医療関連事業の中で優良施設を設定するようになって、調査母体が評価する形式に変わっていった。

### 3. 評価に伴う問題点

施設を評価することで多くの問題が生じてきた。それらは、優秀施設と認定されることのための事前協議

であり、いわゆる不正行為である。  
これらの評価は、どのような方法で行われていようと、ペーパーテストによる評価ではないことで、明らかに施設の熟達度の評価である。

精度管理は、管理内容を考え、内在する測定法の誤差要因を解析し、見いだしたらそれを除去し、より精密な分析を実施する事にある。



### III. 測定体系確立と外部精度管理調査で 正確さの追求

#### 1. 酵素関連の酵素標準物質の正確性追求 への効果

分担研究者 伊藤 啓

北里大学医療衛生学部 臨床化学

#### A. 研究目的

臨床化学検査の中で酵素活性値測定は重要な項目である。しかしこの施設間差は大きく、医療関係者のみならず、患者にも混乱を与えていることが指摘されている。アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 1), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 2), 乳酸デヒドロゲナーゼ (LD) 3), アルカリ性ホスファターゼ (ALP) 4), クレアチンキナーゼ (CK) 5) と  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ ( $\gamma$ -GT) 6) については、日本臨床化学会 (JSCC) において勧告法がまとめられ、ほかの学術団体の協力もあって、これら測定値の施設間差はかなり小さくなってきた。しかし、測定方法の面からのみの施設間差の改善にも限度がある。標準酵素液の使用により、さらに施設間差を大幅に小さくすることができ、各施設における同時再現性の値と同じレベルまで到達することが可能なことは、県および全国レベルで実験的に証明されてきている 7)。

このように大部分の意見としては施設間差の是正の決め手は標準酵素液の使用にあると考えられるようになってきた 8~12)。また適当な酵素試料を標準に使用することにより、いままで法外な施設間差を施設内差の水準にまで低下することが可能なことも報告されている 12 ~ 14)。このような背景のもとで、1992 年の JSCC 夏期セミナーにおいて、酵素項目の標準化の方向についての提言の中で酵素標準物質についての話題が提供された。同年 10 月開催された

第 32 回 JSCC 年会においても“日本臨床化学会血清酵素活性測定勧告法の日常検査への適用方法と臨床評価”と題したワークショップが討議された。更に 1993 年の JSCC 夏期セミナーにおいてはワークショップ“酵素標準物質の規格とその活用”が取り上げられ、熱心に討議された結果、この問題は早急に学会として検討することが必要で、特に JSCC 酵素専門委員会で検討し対応すべきであるとの提案がなされた。

一方、国際臨床化学連合 (IFCC) 酵素委員会においても酵素活性測定標準法のための標準物質の役割に注目し、1990 年から検討が始められた 15)。この国際会議に日本の意見を反映させるためにも早急にわが国独自の見解を持つべきであり、このプロジェクトの展開は急を要すると思われた。この ERM については幾つかの総説がすでに報告されている 16 ~ 22)。

このような現実のもとで、認証酵素標準物質が設定されていないために数社の試薬メーカーが商品 (標準物質) を開発し、市販ないしは市販準備中となるという状況が生まれてきた。これらの商品は素材が異なるだけでなく、表示値も各社独自のものであるために、整合性が失われる危惧があり、事実そうした問題が報告されていた。このような問題は JSCC 酵素専門委員会において討論され早急に標準物質に対応することの必要性が認められたので、JSCC 学術連絡委員会に酵素専門委員会からプロジェクトの提案がなされ学術連絡委員会として取り組むことが決定された。1994 年 3 月、課題“酵素活性測定用標準物質 (ERM) の確立に関する研究”で、1994 年度厚生省科学研究費 (医療研究事業) に申請し、また 1994 年 7 月“酵素活性測定用標準物質の確立に関する研究”のプロジェクトのもとに、2 年間の限定期間で研究が開始された。度重なる検討の末、日本臨床化学会

はとりあえず認証常用酵素標準物質（認証ERM）の作製を目標として、認証ERMの定義、規格、表示値の決定法、またその信頼限界、表示値の認証法、認証ERMの便用法などについて提案した<sup>23)</sup>。また、日本臨床検査薬協会の協力を得て、ERM製造のためのワーキンググループ（責任者：菅野剛史）を組織し、規格の検討、候補物質の作製を行った。現在第一ロットの有効期限がまじかになったため、第二ロットの準備に取り掛かっている。ここでは、この酵素標準物質の外部精度管理調査の標準化に対する有効性について検討した。

## B. 研究方法

### a. 酵素活性測定法

日常臨床検査としての化学計測は、検体とともに基準となる物質（標準物質）を同時測定してそれらの結果を比較することによって行われるから、計測値の信頼性は使用する標準物質の信頼性にほとんど依存している。このように、標準物質は化学量の“物差し”と言える物であるが、法的規制がないために臨床化学検査でも、これはほかの産業分野と同様にほとんど確立されていない。酵素は蛋白分子であるので質量濃度で表されるべきであるが、一部を除き大部分は触媒活性濃度で表されている。この場合、計測数値は速度で活性として表現されている。この酵素活性値と酵素量が正しく比例するには測定環境の整備が重要であり、誤差の発生要因となっている。血糖値の測定と同様に標準品を使用することにより、測定環境由来の誤差の軽減を図ることは可能と考えられる。

### b. 測定法の分類

日本医師会の調査では1994年度より、種々の酵素検査の調査試料には、ヒト由来調整酵素試料を利用することが実現し

ている。そのために、試料依存性と考えられる誤差要因が著しく減少し、AST、ALTなどの項目では、全ての試料で精密度が著しく向上し、施設間の格差は著しく改善された。これは、日本臨床化学会が提示した酵素活性測定に関する勧告法と勧告法に基づいた“準拠試薬”が市販された成果でもある。さて、この成果の上に、日本臨床検査標準化協議会（JCCLS）が、日本認証酵素標準物質（JCERM）を市場に供給した。今年度の調査には、そのJCERMの効果が更に期待された。このような背景から、今年度は調査した全ての酵素活性を国際単位表示の実測値で評価を試みている。この日本医師会の臨床検査精度管理調査の要点をまとめると

① 今年度から測定法の分類には標準化対応法の概念を用いている。この考え方は、ある特定の測定法が、日本臨床化学会の勧告法と比例互換性が認められるならば、その測定法は、勧告法の計測値を伝達することが可能であるから、計測値が伝達された条件を提示すれば、それを日本臨床化学会勧告法標準化対応法（JSCC標準化対応法）と呼ぶことができると定義されている。

この考え方に従うと、標準化対応法は、JSCC標準化対応法だけでなく、それぞれ対応する各勧告法で値付けされた酵素標品を用いることによりIFCCおよびSSCC標準化対応法も存在しうる。

② したがって、測定法の分類方法は新たな概念の下に作成されている。したがって、アミラーゼはまだ日本臨床化学会が勧告法を提示していないためJSCC標準化対応法は存在しない。しかし、IFCCは勧告法を提示したのでIFCC標準化対応法は存在する。また、コリンエステラーゼでは標準化対応法は存在しない。

③ 今年度より各酵素でJCERMを利用したトレーサビリティの確認の調査を追加し

ている。この意味は、認証標準物質でトレーサビリティが確認されていることは正確さを確認していることにつながるという考え方である。AST、ALT では確認した群と、非確認の群があまり差はないが、その他の酵素では明らかに変動も少なく、平均値にも差がある。

#### ④ 評価規準の再点検の必要性

日本臨床化学会の勧告法が提示され、日本常用酵素標準物質 (JCERM) で値付けがなされている項目では標準化対応法で測定法の分類を行なっている。標準化対応法が該当しない項目では別に個別に調査されている。AMY においては、基質別に分類した後にさらに企業別の分類を加えたが、一つの群で、同一企業で分類しても、2 峰性を示す群があった。原因は国際単位と報告単位に対する理解の不十分さである。企業別に分類しなくても基質別分類だけで十分変動の少ない群が存在したが、企業別まで細分して調査している。同様にコリンエステラーゼについても国際単位で報告されている施設のみで評価している。記載の依頼を報告単位と国際単位での 2 重報告とし、国際単位の表現に慣れるような猶予期間をおいたにもかかわらず、 $\Delta$  pH 単位での記載、不明な慣用単位での記載は誤登録など担当者の不理解など問題点が認められた。マニュアルの整備、および勧告法および ERM の整備がこの問題を解決する一つの方策である。

#### C. 研究成果

全体で調査試料が整備され、標準物質が提示されることにより、JCERM に含まれる酵素活性においては施設間の計測値の差が著しく減少している。一方、試料が整備され試料依存性の誤差要因が排除されると、同一測定法での変動が減少し、キット間格差が目立つようになっている。このキ

ット間差は、アルカリ性ホスファターゼに関しては、緩衝液 EAE の製品上の問題が原因であることは判明している。しかし、格差が解消しつつあるとはいえ、 $\gamma$ -GT (GGT)、CK で観察された格差については今後調査する必要があると考える。

ここでは、今年度調査での GGT、CK の IFCC (JSCC) 標準化対応法でのキット間格差を表 1、表 2 としてまとめた。(表 1、表 2) n 数の大きなキットを代表とすると、平均値でのズレが大部分解消している。

表 1. GGT キット間の平均値、CV (試料 3)

企業	N	平均値	CV
A	89	153.3	4.4
B	319	154.6	2.8
C	75	151.1	4.1
D	97	151.8	3.2
E	111	151.5	4.0
F	10	170.9	1.7

表 2 CK キット間の平均値、CV (試料 3)

企業	N	平均値	CV
A	331	248.4	3.0
B	124	254.3	3.1
C	207	244.6	4.0
D	225	240.5	5.3
E	252	243.8	3.5
F	233	242.5	4.1

#### a. AST、ALT

AST、ALT に関しては、いずれの試料においても精密度の点で変動係数で 4% 以下に管理されている。このような精密度の保証は AST においては平成 8 年 (1996 年) 以降連続して認められた現象である。さらに、今年度のトレーサビリティの調査で、日本認証酵素標準物質 (JCERM) を利用した群を正確度の保証された群と考えると、JCERM を利用していない施設でも計

測定料の平均値に有意差を認めていない。表3にAST測定系でのJCERMの使用効果を示した。変動係数でも平均値でも有意の差を認めていない。正確度の保証された分析が日常的に実施されていると考えてよい。

表3 AST活性測定でのJCERMの効果

試料	群	N	平均値	SD	CV
1	a	1685	28.7	1.0	3.4
	b	198	28.9	1.0	3.4
2	a	1682	48.8	1.5	3.0
	b	196	49.1	1.6	3.2
3	a	1681	115.2	2.7	2.1
	b	197	115.4	2.4	2.1
4	a	1687	110.7	2.7	2.4
	b	197	110.2	2.7	2.4

a 群は検量用 ERM 使用(企業標準物質)

b 群は JCERM 使用

#### b. LD

JSCC 群が、全体の 23.2 % を占めるようになった。分析の精密さは、JCERM の効果と思われるが、JSCC 群が最も優れており、W-LD、GSCC、SSCC 群がこれに続いている。JSCC 群のなかで、トレーサビリティを JCERM で確認した施設は、14.2 % であった。また、計測値の平均値では、確認施設と非確認施設で差が認められた。表4にASTと同様に JCERM の利用効果を表4. LD活性測定でのJCERMの効果

試料	群	N	平均値	SD	CV
1	a	457	189.3	5.8	3.1
	b	79	187.6	5.3	2.8
2	a	458	177.6	6.0	3.4
	b	79	185.7	4.9	2.8
3	a	457	482.6	15.6	3.2
	b	79	479.2	11.7	2.5
4	a	456	374.8	11.6	3.1
	b	79	371.9	9.3	2.5

a 群は検量用 ERM 使用(企業標準物質)

b 群は JCERM 使用

#### c. ALP

JSCC 法は全体の 50.1 % を占めており、かつ JCERM でトレーサビリティを確認した施設は JSCC 群の、11.5 % であった。測定法を比較すると SSCC、GSCC 群は、それぞれ 23.8、17.6 % であり、緩衝液は同じであるが平均値でわずかに GSCC 群が高値を示している。また、トレーサビリティの確認群と非確認群の間には、計測値の平均値でも、精密さでも有意な差が認められた。しかし、精密さの点では両群で差はあるもののわずかである。表5にその結果を示してある。

表5 ALP活性測定でのJCERMの効果

試料	群	N	平均値	SD	CV
1	a	1019	116.5	6.9	5.1
	b	137	120.5	5.2	4.3
2	a	1019	386.1	21.3	5.5
	b	136	400.0	19.0	4.7
3	a	1018	585.3	28.7	4.9
	b	136	606.2	23.0	3.8
4	a	1020	606.3	33.5	5.5
	b	136	627.5	27.5	4.4

a 群は検量用 ERM 使用(企業標準物質)

b 群は JCERM 使用

まとめた。確認群は非確認群よりも、精密さでも優れていた。これらの現実から半数以上の施設で正確度の保証のために JCERM が利用されることを期待したい。

#### d. GGT

IFCC / GSCC 法は、全体の 51.1 % を占めるようになった。一方、分析の精密さは、ビトロス(ドライケミストリー)がもっと優れ、IFCC / JSCC 法がこれに続いた。

JCERM でトレーサビリティを確認した施設群は、精密さで優れており、変動係数で4%以下となっている。トレーサビリティを確認した群と、非確認群では、精密さの他に計測値の平均値にも有意の差が認められた。表6にこれらの結果をまとめた。

表6 GGT 活性測定での JCERM の効果

試料	群	N	平均値	SD	CV
1	a	1005	293.8	13.4	5.0
	b	144	269.4	8.1	3.0
2	a	1004	93.1	4.3	4.6
	b	144	94.3	2.9	3.1
3	a	1003	224.4	10.8	4.8
	b	144	227.8	6.3	2.8
4	a	1008	151.6	7.3	4.8
	b	144	153.7	4.4	2.9

a 群は検量用 ERM 使用(企業標準物質)

b 群は JCERM 使用

e. アミラーゼ (AMY)

アミラーゼには日本臨床化学会 (JSCC) 勧告法が設定されていないので JSCC 標準化対応法の概念が適用されない。しかし、IFCC からは勧告法が提示されたので、IFCC 標準化対応法は存在しうる。精密度も幾つかの方法で CV 4% を切る成績がえられているものもある。重要なことは、一般的に古い基質での成績の単位を引き継いで単位を換算して報告し、同一測定法群の中に加えると、著しい乖離を生ずる施設が存在することである。

これが、同一測定法群の変動を悪くしている。勧告法の提示がもっとも望まれる酵素

の一つである。

f) CK

CK では GGT と同様に、IFCC / JSCC 法が 72.1% を占めている。ほかは GSCC の方法であり、20.5% に過ぎない。この二つの方法は、計測値の平均値が近似し、有意差も認めず、かつ精密度もほぼ同様であった。

JCERM を用いてトレーサビリティの確認を行った施設は、IFCC / JSCC 群の中の 9.4% であった。確認群と非確認群とは計測値の平均値でも、精密さでも有意の差が認められた。表 7 にこの結果を示した。

表7 CK 活性測定での JCERM の効果

試料	群	N	平均値	SD	CV
1	a	1370	88.4	4.1	4.6
	b	147	90.6	2.3	3.6
2	a	1370	138.0	6.1	4.4
	b	149	141.4	4.8	3.4
3	a	1368	245.0	10.5	4.3
	b	140	250.9	9.0	3.6
4	a	1371	424.7	18.2	4.3
	b	147	435.4	13.8	3.2

a 群は検量用 ERM 使用(企業標準物質)

b 群は JCERM 使用

g. コリンエステラーゼ

アミラーゼと同様に、JSCC 勧告法がなく標準化対応法の概念が適用しない。利用されている主な基質はブチルチオコリン (BTC)、2,3 ジメトキシベンゾイルチオコリン (DMBTC)、p-ヒドロキシベンゾイルコリン (pOHBC)、ジヒドロキシベンゾイルコリン (DOHBC) の 4 種である。

これを同一測定法として、企業別の分類を加えると、各群で変動係数が 10% をきることになる。

D. 結語

1) 今年度の日本医師会での調査にコリンエステラーゼを加えて、全項目で計測値の実数(国際単位)での評価を実施している。

2) 日本臨床化学会の勧告法が提示されている項目では、酵素標準物質の使用が可能となったため標準化対応法の概念を利用し、かつ、正確さの点検の点からトレーサビリティの確認も調査した。確認されている群の正確さ、精密さは優れたものであった。

3) LD、ALP、GGT、CK では酵素標準物質による確認群と、非確認群では平均値にも差が認められた。

4) 標準化対応法の適用しない AMY、ChE でも同一測定法群を作成すると、精密さで

は、十分評価できる結果が得られた。したがって勧告法の提示と酵素標準物質の使用により十分精度を向上する可能性が示された。

#### 【引用文献】

- 1) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法—アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST). 臨床化学 18 : 231-249, 1989
- 2) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法—アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT). 臨床化学 18 : 250 - 262, 1989
- 3) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法—乳酸デヒドロゲナーゼ (LD). 臨床化学 19 : 228-246, 1990
- 4) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法—クレアチンキナーゼ (CK). 臨床化学 19 : 184-208, 1990
- 5) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法— $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ ( $\gamma$ -GT). 臨床化学 24 : 106-121, 1995
- 6) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法—酵素活性測定法総論、臨床化学 18 : 231-249, 1989
- 7) 小川善資, 小林紀美江, 伊藤 啓：神奈川県における LDH 活性測定の現状と問題点. 神臨技誌 27 : 46-54, 1992
- 8) 小川善資, 木村孝司, 牧瀬淳子, 他：常用酵素標準物質 (ERM). 臨床検査 41 : 433-440, 1997
- 9) Moss DW : Enzyme standardization the way forward? Ann Clin Biochem 34 : 13-16, 1997
- 10) 桑 克彦：酵素標準標品. 筑波医短大研報 13 : 1-11, 1992
- 11) 片山善章：共通キャリブレーターを用いる施設間是正の実際. Wed. Technol., 20 : 1032-1038, 1992
- 12) 畑義治・他：酵素活性統一化へ向けてのアプローチ. 生物試料分析, 27 : 1-74, 1992.
- 13) Kudo, T. et al. : Interlaboratory discrepancies in alkaline phosphatase measurements and the effect of using "Enzyme reference". Biol. Sci., 15 : 133-137, 1992.
- 14) 西川洋子・他：Creatine kinase 活性測定における施設間差是正. 生物試料分析, 15 : 143-149, 1992.
- 15) 河合忠, 菅野剛史：“WHO / IFCC meeting conference materials and reference measurement system in laboratory medicine”の報告. 臨床病理, 43 : 187-196, 1995.
- 16) 小川善資：酵素活性測定における施設間差の現状と酵素標準物質の効果と問題点. 生物試料分析, 15 : 103-111-112, 1992.
- 17) Marui, Y. et al. : Multi-enzyme reference material from established human cell lines and human sources. Clin. Chem. Acta, 233 : 19-38, 1995.
- 18) Eto, A. et al. : Multienzyme control serum (Seraclea HE) containing human enzymes from established cell lines and other sources. 1 : Preparation and properties. Clin. Chem., 41 : 872-880, 1995.
- 19) Nakano, N. et al. : Multienzyme control serum ( Seraclea HE) containing human enzymes from established cell lines and other sources. 2 : Evaluation as candidate working enzyme reference material for alanine and aspartate aminotransferase. Clin. Chem., 41 : 881-891, 1995.
- 20) Moss, D.W. : Enzyme reference materials : their place in diagnostic enzymology. Ann. Biol. Clin. 52 : 143-146, 1994.
- 21) Moss, D.W. : Enzyme standardization the

way forwards ? Ann. Clin. Biochem.,34 :  
13-16, 1997.

22) Moss,D.W. et al. : Reference materials  
inchnical enzymology: preparation,  
requirements and practical interest. Ann. Biol.  
Clin. ,52 : 189-198, 1994.

「CRM470」その性状および本邦導入の影響効果

研究協力者 伊藤喜久  
自治医科大学臨床病理

#### まとめ

CRM470 (Certified Reference Material 470) は国際臨床化学連合(IFCC)がアメリカ病理医会(College of American Pathologists; CAP)との協力で作製した、血清蛋白測定の標準化のための新しい国際標準品で、欧州連合標準化事務局(BCR)において470番目に認証(Certified)された標準品であることからこの名がある。健常人のプール血清をベースとしており、臨床上重要な主要血清蛋白成分15成分の表示値が設定されている。米国ではCAPの標準物質の流れを踏まえて、RPPHS (Reference Preparation for Proteins in Human Serum) Lot5の名称を用いており、一方、本邦では欧州から初めて導入されたことからCRM470の呼び名をそのまま用いている。日本では1998年、JCCLS (日本臨床検査標準協議会)により認証され、正式に日本国内標準品となっている。CRM470は日本において広く普及されるのにもとない、いかに外部精度管理調査に有効利用するか、国内外でその方法と評価法のスキーム作りに向けて活動が始められようとしている。

#### はじめに

血漿蛋白の個別成分の測定は、抗原抗体反応の原理にもとづく。抗原とこれに対応する抗体が至適比率で結合し抗原抗体複合体が形成され、あらかじめ値付けされた検量物質(キャリブレーター)から抗原抗体複合体を介し表示値がサンプル中の対応抗原に伝達する行為が、日常行われている免疫学的測定法の基本原理となる。

測定の標準化は、世界のいかなる検査室で測定しても同一結果を得るための総合的な

精度保証活動であり、とりわけ測定の領域における精度と正確性の向上が中心的課題となる。このうち精度に関しては製品として企業レベルで、さらに検査室の検討段階で十分確認検討がなされており、今やほとんどのシステムで目標が達成されていると思われる。標準化の実現の成否は、今や正確性の向上であり、CRM470の登場の真の目標はここにある。

ここでは、血漿蛋白測定標準品CRM470の特徴、導入の影響効果、これまでの研究活動から標準化へ向けての問題点について、外部制度管理との関連性も踏まえて考察してみる。

#### CRM470誕生の経緯

免疫学的測定法では抗原、抗体、異なる原理の機器、試薬、希釈液などマトリックスなどが複雑に相互作用しており、酵素反応のような絶対基準となる測定法や、測定条件の設定などから標準化を進めるのは不可能である。そこで、免疫化学的な測定法においては、共通の標準品をまず定め、ここから各システム内、さらには各システム間の標準化を進める方法がとられてきた。その中心となったのが、WHO、米国のUSNRPなどの一次標準品であるが、表示値の値付けが異なり単位が前者が国際単位、後者が質量濃度と異なり、しかも成分によっては枯渇をきたすなどの問題の結果、相互の互換性が必ずしも満足行く状態とは言えず、米国と欧州から作製されるシステムの間では、キャリブレーターの段階ですでに互換性がなく世界レベルでの標準化に大きな足かせとなっていた(1)。

そこでIFCCでは1980年代から広範なサーベイ調査を展開して、この結果をもとに新たな国際的標準品の作製に着手し、2年間の共同作業とBCRの認証により誕生したのがCRM470である。

なお日本においては、旧国立予防衛生研究



所が中心にWHOを一次標準品として、IgG, IgA, IgM, CRPなどの国内標準品が作製され、これにより国内における標準化が推進された。その後CRM470の導入の際には、きわめて短時間にスムーズに国内標準品としての導入を可能とした。

#### CRM470の特徴

これまでの国際標準品の問題点反省のもとに作製されており、きわめて優れた特性を有する国際標準品と断言できる。著者もCRM470の評価検討を日本で最初に行い、その特性を確認、さらには新たな特性の発見、個別成分測定のための標準品としてのみならず、臨床蛋白検査の全ての標準品としての利用の可能性を実験データから説いた(2)。CRM470の主な特徴を表1にまとめておく。CRM470は、今や血清蛋白主要成分免疫学的測定法の唯一無二の世界の実質的には一次標準品と言い切つてよい。

CRM470作製の意義は、標準品の作製法、表示値の設定法を確立して、BCRからの作製報告書に詳細に明示しており、一次標準品から測定キャリブレーターに至るまでの、標準品、標準物質の作製の標準化を実現したことである。日常のキャリブレーター、精製品などの免疫学的挙動や表示値の正確性の評価など、免疫学的測定法評価のための基本的な考え方と実際の応用が具体的に明示されており、標準化の基本的な考え方が明確に示されている点である。

#### CRM470の作製法の概要

CRM470の作製は、健常血清の収集、血清の処理と精製CRPの添加、凍結乾燥処理、安定性、物理化学的性状の検討、最後に表示値の決定からなる(図1)。

健常血清の収集は欧州の血液センターから健常者389名から平均180mlの血清を得て、肉眼的観察、生化学検査、病原微

生物の抗原、抗体検査異常がなく、RF, M蛋白など蛋白測定阻害因子のない血清が選択されており、マトリックスをヘブス緩衝液に置換するまでに、イヌリン処理によるC3cへの変換、エアロシルによる脱脂操作、滅菌・殺菌処理などを経て凍結乾燥処理されている。

最終的に出来上がったものについて、一連の処理により血清中に存在する本来のものとは比べどの程度物性、構造が維持されているかあるいは変化がみられるか、SDS-PAGE, 交差電気泳動法、Western blot法などにより個々の成分について解析が行われ、この結果、ほとんど全ての成分が影響を受けないことが示された。

作製後今年で7年目にはいるが、-70℃から20℃までの保存条件下では、全く安定性に変化が認められないことが明らかにされている。再構成後での安定性も良好であり、2-8℃、20℃では安定性に変化のないことも確かめられている。

表示値の設定は、一次標準品としてWHO, USNRPを用い、標準品の在庫のないものについては精製蛋白を新たに置いてこれをgolden standardとして直接値付けを行った(表2)。WHOは国際単位、USNRPは質量単位で表されておりここからCRM470は2種類の単位の表示がなされている。なお精製蛋白からは質量濃度で表されており、今後新たに標準化される成分は主に質量濃度となると予想される。

表示値の設定法は、一次標準品と精製蛋白とは異なるが、基本的な考えは1)高い精度と正確性の両方を考慮した値付けであること、2)標準物質が不足した状況であったためCRM470自体の希釈曲線(直線)を6点作製し、ここから一次標準品と精製蛋白をサンプルとして測定、それぞれの間のproportionalityを基準とする、3)希釈誤差を最小限とするために直接希釈、重

量測定としている、4) 各測定システムで一定の基準に合格した成分について平均±1SDを求めてこれを表示値としているなどである。

#### CRM470の日本における評価

CRM470の基本評価は著者らにより、本邦で初めて行われた(3)。故S Baudner教授より、9本のCRM470を分与していただき、これをもとに基礎検討を重ねた。これまで明らかにした点は1) 安全性の確認、2) 物理化学的性状が血清中のnativeなものに近似していること、3) 純水を加えて再構成した後の安定性、4) 表示値の移行の正確性など示し、これまでの国内標準品の高い信頼性も同時に確認した。国内の学会誌に公表して、CRM470のJCCLSによる国内標準品としての認証に基礎データを与えた。

#### CRM470の導入と影響効果

日本国内標準品自体が量的にも不足になりつつあり、また項目的にも種類が少ない状況の中で、CRM470の完成、導入は日本にとってもあらゆる面で福音であったように思われる。従ってCRM470を国内標準品としたことは、国際的標準化活動への参加の転機と言う意味からも、きわめて必然的な流れであった。またこの時期にほぼ一致してNCCLSから基準範囲設定法のガイドラインが出されたことは、CRM470関連成分の基準範囲の設定に向けて大きな流れを形成し、日本における血清蛋白標準化活動全体に新たな時代を形成するに至った。

とりわけ、BCR報告書に準じて表示値の正確伝達法の導入、市原らによるNCCLSガイドラインに基づく基準範囲設定法の確立とその共有、CRM470を中心に蛋白検査全体の標準化を推進する基本理念の誕生などが、これまでにはない新しい成果として挙げられる(4)。

日本臨床化学会専門委員会の活動の一環として、各企業に健常者血清を配布してそれぞれのシステムにより基準範囲の設定を行った。ここではIgGを一例に示す。CRM470導入以前では各社がそれぞれ独自の方法で独自のキャリブレーターで測定しており、基準範囲は600-2000mg/dlを越えてかなりバラツキが見られる。これに対して新しいキャリブレーターを用いて、市原らによって確立された基準範囲を設定では、750-1900mg/dlと測定法間のバラツキはかなり縮小されている。この結果から、欧州での調査結果でも予想されたように、キャリブレーターの表示値をCRM470から値付け直すことにより、測定法間でのバラツキはかなり縮小されたと判断される(図2)。しかしデータ結果を詳細に読み直すと、これらに準拠して作成されたキャリブレーターによってもなおバラツキは存在しているのも厳然とした事実として見逃せない。C3、C4測定に見られるように、測定成分の物理化学的な性状を反映しているのは確実である。しかし、それにもまして測定精度やランダムエラーなどの誤差を考慮しても、系統的な因子が関与していると予想され、もしそうだとすれば、この機序の解明こそが、CRM470によるより高い正確性の向上に結びつくものと考えられる。おそらくは多因子の相互作用によるものとして、今後施行が予定される外部精度管理調査の結果解釈に、少なからぬ影響効果を及ぼすものと思われ、特に測定システムの持つ問題点の検討を中心に据えて、詳細な検討が望まれる。

#### 今後の動向

IFCCの動向としては、1999年にIFCC血漿蛋白委員会にIgG subclassに関する小委員会を発足させて標準化を開始する予定である。今後精製蛋白成分を標準品として

Tfレセプター、シスタチンCなどが対象成分として準備中である。成分と構造特性上が同一あるいは近似して、また免疫化学的挙動が一致していれば、均一性が高く、大量に準備が可能で利用性の高いrecombinant 蛋白が一次標準品、二次標準品、キャリブレーターに至るまで同一物質によって可能となり、標準化の正確性の向上に大きな第一歩が踏み出されることになる。このような背景もあり、シスタチンCではrecombinant 蛋白の利用が初めて公式に標準化に登場する予定である。現在、日本検査所協会の外部精度管理調査においては今年から初めて、rCRP（オリエンタル酵母）の5点希釈系列を作製し、サーベイ物質として、免疫学的挙動、とくに直線性と正確性の評価を行う新しい方式を導入、有効性を実験中である。このデータ結果から、本格的に正確性の評価につながる科学的、統計的に客観性の高い調査方法の確立を目指す予定である。

おわりに

CRM470は国際臨床化学連合が作製した血漿蛋白測定のための国際標準品である。先進国を中心に広範な蛋白成分個別測定の標準化活動が展開されてきており、関連成分の測定値の正確性の向上が目指され、各民族、地域の基準範囲設定が広範に進められる時代を迎えている。国際的な外部精度アセスメントなどが企画されている現在、どこまでをもって正確性の実現とするか、言い換えれば許容限度の設定の見極めが必要とされ、このためには各測定システムの系統誤差のさらなる究明が望まれる。

文献

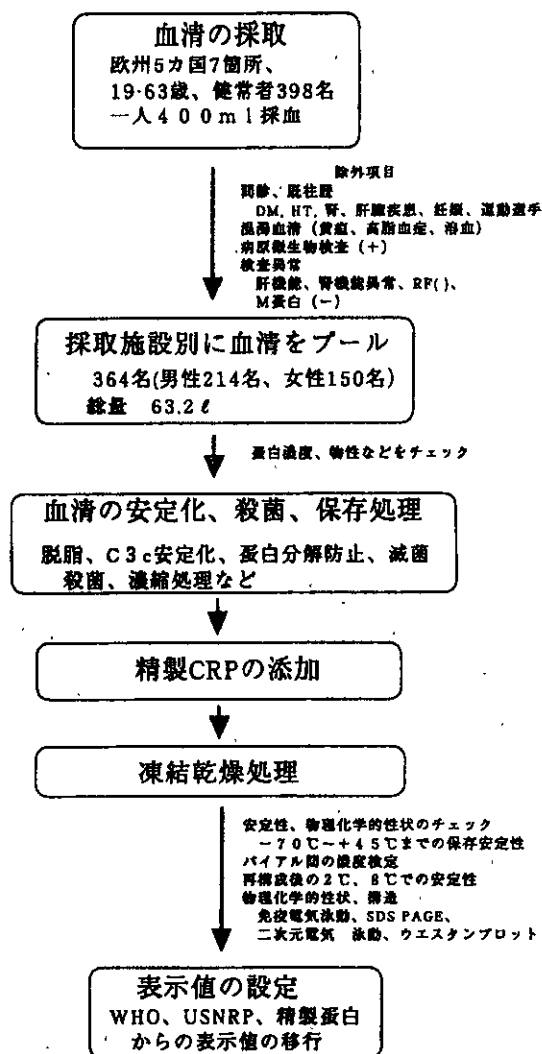
1) 伊藤喜久、河合 忠: IFCC 血漿蛋白国際標準品 (CRM470/RPPHS) 一開発の経緯、特徴および日本への導入経過—臨床病理特集 101:24-37,1996.

2) Whicher JT, et al: New international preparations for proteins in human serum (RPPHS). Clin Chem 40:934-939, 1994.

3) Itoh Y, et al.: Serum Protein Standardization Project in Japan: Evaluation of an IFCC Reference Material (RPPHS/CRM470) and Establishment of Reference Intervals. J Clin Lab Analysis 11: 349-352, 1997.

4) Ichihara K, Kawai T: Detection of reference intervals for 13 plasma proteins based on IFCC international preparation (CRM470) and NCCLS proposed guideline (CP28-P, 1992). J Clin Lab Analysis 10:110-117, 1996.

図1 CRM470の作製法の概要



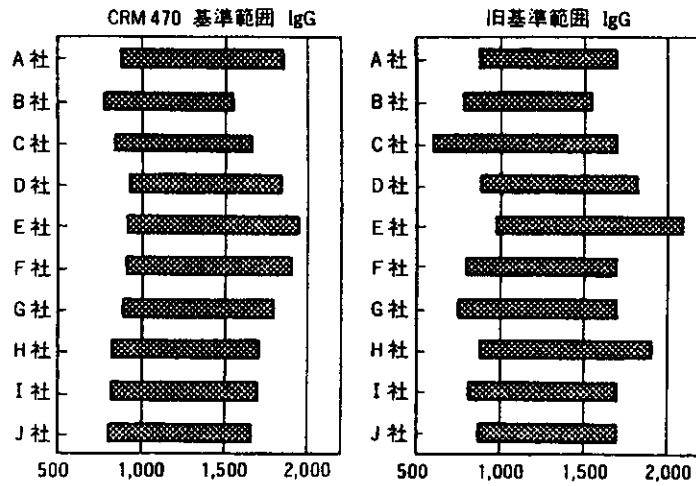


図2 CRM 470 に準拠したキャリブレーターによる血清 IgG 基準範囲の設定

CRM 470 導入によりばらつきはかなり解消されている。

表1 CRM 470 において標準化された蛋白成分とその表示値

蛋白	g/l	IU/ml
$\alpha_1$ -アンチキモトリプシン	0.245 (1)	
トランスサイレチン	0.243 (1)	
アルブミン	39.7 (2)	97 (4)
$\alpha_1$ -酸性糖蛋白	0.656 (1)	
$\alpha_1$ -アンチトリプシン	1.206 (1)	91 (4)
セルロプラスミン	0.205 (2)	67 (4)
$\alpha_2$ -マクログロブリン	1.64 (2)	79 (4)
ハプトグロビン	0.893 (2)	
トランスフェリン	2.45 (1)	100 (4)
C3c	1.091 (2)	89 (4)
C4	0.151 (2)	60 (5)
CRP	0.0392 (3)	0.0392 (3)
IgG	9.68 (2)	117 (6)
IgA	1.96 (2)	125 (6)
IgM	0.797 (2)	105 (6)

標準物質 (1) 精製蛋白, (2) 米国国内標準品 (USNRP),  
(3) WHO CRP, (4) WHO 6 種類血清蛋白,  
(5) WHO 補体, (6) WHO IgG, IgA, IgM

表2 CRM470の特性

1. 世界中 (BCR, CAP, JCCLS) の認証が得られている。
2. 1 パイアル中に 14 種類の蛋白が標準化
  - a) 新しい成分の標準化の拡大が可能
  - b) 表示値の既存の標準品, 精製蛋白からのトランスファプロトコールによる移行
  - c) 表示値の単位が質量単位と国際単位の 2 種類に統一
3. 20°C 以下の保存温度での長期間安定性 (3 年間)
4. 再構成後の 2 週間までの安定性
5. 脂質成分によるマトリックス効果の防止
6. 総数 4 万本と十分な供給量
7. 安全性の保証
8. 作製法の文書での公開