

臨床試験申請書

平成 年 月 日

広島大学医学部・歯学部附属病院長 殿

診療科（部）名：

診療科（部）長：

印

責任医師 職名：

氏名：

印

記

医薬品等名				
研究題目				
研究目的及び内容				
目標とする症例数	症例			
研究予定期間	平成 年 月 日 ～平成 年 月 日			
責任医師				
分担医師	職名	氏名	職名	氏名
倫理委員会承認月日				
審査資料	<input type="checkbox"/> 実施計画書No. : (版数： , 作成年月日) <input type="checkbox"/> 症例報告書 (版数： , 作成年月日) <input type="checkbox"/> 同意文書及びその他の説明文書 (版数： , 作成年月日) <input type="checkbox"/> 被験者の募集手順に関する資料 <input type="checkbox"/> 治験薬概要書 (版数： , 作成年月日) <input type="checkbox"/> 被験者の安全等に係る報告 <input type="checkbox"/> 被験者への支払いに関する資料 <input type="checkbox"/> 健康被害に対する保証に関する資料 <input type="checkbox"/> 責任医師及び分担医師の履歴書 <input type="checkbox"/> 予定される治験費用に関する資料 <input type="checkbox"/> 治験の現況の概要に関する資料 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>			
備考				

臨床試験審議依頼書

平成 年 月 日

広島大学医学部・歯学部附属病院長 殿

住所：
 施設名：
 施設代表者名： 印
 診療科（部）名：
 責任医師氏名： 印

医薬品等の受託臨床研究を下記のとおりを実施したいので申請します。なお、本臨床研究は、広島大学医学部・歯学部附属病院受託臨床研究審査委員会が承認し、これに基づく広島大学医学部・歯学部附属病院長から決定通知がされた後に実施します。

記

研究題目		
研究目的及び内容		
目標とする症例数	症例	
研究予定期間	平成 年 月 日～平成 年 月 日	
分担医師の氏名及び 分担業務の内容	氏 名	分 担 業 務 の 内 容
研究協力者の氏名及び 分担業務の内容	氏 名	分 担 業 務 の 内 容
備考（当院との協力体制 などについて）	本試験は広島大学医学部・歯学部附属病院、脳神経内科（代表 松本昌泰教授）にて計画されている大規模臨床試験（J-STARS）と同一のプロトコルを用いて臨床試験を実施するものである。	
依頼者連絡先	住所：〒 宛先：	
施設担当者名	所属： 氏名： 電話番号： FAX 番号：	

Ⅱ 分担研究報告書

頸動脈硬化プラークの性状に及ぼす炎症機転の関与

分担研究者 北川一夫 大阪大学大学院病態情報内科学

研究要旨

頸動脈超音波検査で観察されるアテロームプラークの超音波輝度と血液中炎症マーカー濃度との関連を検討した。血清高感度CRP濃度、インターロイキン6濃度とプラーク輝度との間には負の相関が見られ、プラークの低輝度化、不安定プラーク発生への炎症機転の関与が示唆された。

A. 研究目的

頸動脈超音波検査で見られる低輝度プラークは、脳梗塞発症のリスクであり不安定プラークと考えられる。また、高感度CRPをはじめとした炎症マーカーは心血管疾患発症の独立した予測因子であることが明らかになっている。本研究では頸動脈プラーク輝度と血液中炎症マーカー濃度との関連を明らかにする事を目的とした。

B. 研究方法

当科で頸動脈超音波検査を施行された患者のうち、厚さ1.3mm以上のプラークを有する246例とした。プラークの超音波輝度はintegrated backscatter解析(IBS)を用いて定量的に評価した。また年齢、性別、既知の動脈硬化危険因子を評価し、血液中の炎症マーカーとしては血清高感度CRP(hs-CRP)、インターロイキン6(IL6)濃度を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究では患者より採血し、炎症マーカー濃度を測定するため、予め本研究の主旨、血液検査での測定項目を説明し文書での同意を得た。また本研究プロトコールは当大学の倫理委員会での承認を得ている。

C. 研究結果

頸動脈プラーク輝度は、男性で有意に低く、HDLコレステロール値と負の相関、プラーク厚と正の相関を示した。高感度CRP濃度($r=-0.14$, $P=0.03$)、IL6濃度($r=-0.28$, $P<0.001$)は共にプラーク輝度と負の相関を示した。年齢、性別、既知の動脈硬化危険因子、プラーク厚で補正すると、高感度CRP濃度とプラーク輝度との関連性は有意でなくなったが($\beta=-0.12$, $P=0.06$)、IL6濃度は補正後も依然として有意にプラーク輝度と負の関連を示した($\beta=-0.21$, $P=0.003$)。

D. 考察

従来の研究では、頸動脈プラーク輝度は、男性、プラークのサイズ、HDL コレステロール値、中性脂肪値と関連を認めることが報告されていた。しかし、近年、心血管イベントの発症に深く関わる事が明らかになった炎症マーカー濃度との関連を明らかになっていなかった。本研究はハイリスク患者を内科的に管理する上で、既知の動脈硬化危険因子の管理のみならず動脈硬化プラークのサイズ、性状の観察、血液中炎症マーカー濃度測定の有用性を示すものと考えられる。

E. 結論

頸動脈プラーク超音波輝度と血液炎症マーカー濃度は負の関連を示す事を明ら

かにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yamagami H, Kitagawa K, Nagai Y et al. Higher levels of interleukin-6 are associated with lower echogenicity of carotid artery plaque. Stroke 2004;35:677-681.

2. 学会発表

山上宏 ほか、炎症マーカーと頸動脈超音波輝度との関係。第22回日本脳神経超音波学会（大阪），2003

厚生労働科学研究費補助金
(効果的医療技術の確立推進臨床研究事業)
研究報告書

退院時転帰が良好であった高脂血症を伴うアテローム血栓
性脳梗塞およびラクナ梗塞の臨床的特徴に関する検討
(J-STARS-C)

研究協力者 野村栄一 広島大学病院救急部 助手
同 小林祥泰 島根大学医学部神経・血液・膠原病内科 教授
Japan Standard Stroke Registry Study Group (JSSRS group)

研究要旨

我が国で実施される HMGCoA 阻害薬 (スタチン) による脳梗塞再発予防効果を検討する大規模臨床試験 (J-STARS) の症例選択基準作成の参考データを得ること、および登録が期待される患者群の臨床的特徴を明らかにする目的で、退院時転帰が良好であった高脂血症を伴う初発脳梗塞の臨床的特徴について検討した。対象は JSSRS study group による脳卒中データバンクに登録された初発の脳梗塞患者のうち、NINDS 分類によりアテローム血栓性脳梗塞あるいはラクナ梗塞と診断され、退院時の ADL が modified Rankin scale で 0-3 であった 1487 例である。これらを高脂血症の有無により 2 群に分類し、他の生活習慣病、虚血性心疾患の既往等の割合について比較を行った。その結果、高脂血症を伴う群は伴わない群に比べ、有意に発症時の年齢が低く (65.3 歳 vs 68.4 歳)、高血圧 (70.9% vs 61.0%)、糖尿病 (42.2% vs 25.7%) の合併率が高かった。虚血性心疾患の既往 (10.5% vs 9.4%)、アテローム血栓性脳梗塞の占める割合 (42.8% vs 46.4%) については有意差を認めなかった。高脂血症を伴う群の相対頻度は年齢の上昇とともに低下するが、45 歳以上 80 歳以下の間に高脂血症を伴う群の 90.6% が含まれた。結論として、J-STARS で登録が期待される退院時転帰が良好の高脂血症を伴う初発脳梗塞は発症年齢が低く、高血圧、糖尿病の合併率が高かった。脳卒中データバンクのデータを解析することは、J-STARS の症例選択基準作成および登録が期待される患者群の臨床的特徴の予測に非常に有用であった。

A. 研究目的

我が国で計画され、2004年3月より症例登録が開始された「脳血管疾患の再発に対する高脂血症治療薬のHMGCoA阻害薬の予防効果に関する研究 (Japan Statin Treatment Against Recurrent Stroke; J-STARS)」の症例選択基準の作成、あるいは登録が期待される患者群の臨床的特徴を明らかにするためのデータを得る目的で、日本脳卒中協会の脳卒中データバンク部門に登録されたデータから、退院時転帰が比較的良好であった高脂血症を伴うアテローム血栓性脳梗塞およびラクナ梗塞を抽出し、その臨床的特徴について検討した。本研究は、J-STARSの予備調査的横断研究と位置づけ、J-STARS-C (cross sectional study) と呼称することとした¹⁾。

B. 研究方法

日本脳卒中協会の脳卒中データバンク部門^{2),3)}に2002年までに登録された初発の脳梗塞のうち、NINDS分類でアテローム血栓性脳梗塞あるいはラクナ梗塞と診断され、退院時のADLがmodified Rankin scaleで0-3であった1487例を抽出し検討の対象とした。これらをまず高脂血症の有無により2群に分類し、高脂血症を伴う群について年齢分布、治療の有無等を詳しく検討するとともに、両群の年齢、性別、他の生活習慣病、虚血性心疾患の既往の割合、アテローム血栓性梗塞の占める割合等について比較検討した。統計学的解析

二群間の比較はMann-Whitneyの検定および χ^2 二乗独立性の検定を用いた。(倫理面への配慮)

本研究は日本脳卒中協会の脳卒中データバンクに既に登録されたデータを活用して行われた。このシステムでは、患者データはコンピューターに入力するが、データの提出時は個人情報 を消去したファイルを作成する提出用データ作成機能が整備されている。また、このコンピューターソフトにより個人情報を消去した患者データを収集し解析するシステムは、島根医科大学の医の倫理委員会により承認され、厚生科学研究費補助金による研究が行われた(脳卒中急性期患者データベースの構築に関する研究、主任研究者 小林祥泰)。本研究はJ-STARSとJSSRS groupの協同で行われるが、データはJSSRS groupに参加している者(野村栄一)により解析されるので、個人情報等が新たに漏洩するおそれはない。

C. 研究結果

全症例および高脂血症の有無により分けた2群の臨床背景を表1および2に示す。高脂血症を伴う群は伴わない群に比べ有意に脳梗塞の発症年齢が低く($p<0.0001$)、高血圧($p=0.0002$)、糖尿病($p<0.0001$)を有する割合が高かった。発症時の脳梗塞の重症度は高脂血症を伴う群でJSS($p=0.047$)、NIHSS($p=0.01$)とも有意に低かった。一方で、性別、毎日の喫煙あるいは飲酒者の頻度、心房細動あるいは虚血性

心疾患の既往を有する割合，アテローム血栓性脳梗塞の占める割合，退院時の mRs, JSS, NIHSS および入院日数については有意な差を認めなかった。

高脂血症を伴う群について，その治療の有無，治療内容について検討したところ，9%が食事療法，38%が薬物療法を行われていたが，残りの53%は未治療であった。

次に全症例および高脂血症の有無別に年齢分布を検討した(表3)。年齢の上昇とともに高脂血症を伴う群の

相対頻度は低下していく傾向がみられた。高脂血症を伴う群では40歳以上60歳未満に30.6%の症例が含まれていた。

J-STARS では本研究の結果を参考に，症例の選択基準の対象年齢を，高脂血症を伴う群の90.6%を含むことができる45歳以上80歳以下に設定した。本研究の高脂血症有り群において年齢を45歳以上80歳以下に限定した場合の臨床背景を表4に示す。

表1 全症例および高脂血症の有無別の臨床背景 (1)

	全症例	高脂血症		p値
		無し	有り	
年齢 (平均±標準偏差)	67.4±11.0	68.4±10.9	65.3±11.0	<0.0001
男性の占める割合 (%)	63.1	64.2	60.8	n. s.
高血圧 (%)	64.1	61.0	70.9	0.0002
糖尿病 (%)	30.9	25.7	42.2	<0.0001
心房細動 (%)	4.2	4.6	3.2	n. s.
虚血性心疾患 (%)	9.8	9.4	10.5	n. s.
飲酒 (毎日) (%)	34.9	35.9	32.8	n. s.
喫煙 (毎日) (%)	39.3	39.5	38.8	n. s.

表2 全症例および高脂血症の有無別の臨床背景 (2)

	全症例	高脂血症		p値
		無し	有り	
アテローム血栓性脳梗塞の割合	45.3	46.4	42.8	n. s.
入院時JSS (平均±標準偏差)	1.8±3.2	2.0±3.4	1.5±2.7	0.047
退院時JSS (平均±標準偏差)	0.5±1.9	0.6±2.0	0.4±1.6	n. s.
入院時NIHSS (中央値)	3	3	3	0.01
退院時NIHSS (中央値)	1	1	1	n. s.
退院時mRs (中央値)	1	1	1	n. s.
入院日数 (平均±標準偏差)	27.2±28.3	28.2±30.3	25.1±23.3	n. s.

表 3 全症例および高脂血症の有無別の年齢分布

年齢幅 (以上, 未満)	全症例		高脂血症無し		高脂血症有り		全症例に対する 高脂血症有り群の相対頻度
	症例数	%	症例数	%	症例数	%	
15-20	1	0.07	1	0.01	0	0	0.0
20-25	0	0	0	0	0	0	
25-30	1	0.07	1	0.01	0	0	0.0
30-35	3	0.2	1	0.01	2	0.4	0.7
35-40	10	0.67	6	0.6	4	0.9	0.4
40-45	12	0.81	7	0.7	5	1.1	0.4
45-50	47	3.2	30	2.9	17	3.6	0.4
50-55	127	8.5	64	6.3	63	13.5	0.5
55-60	171	11.5	113	11.1	58	12.4	0.3
60-65	192	12.9	129	12.6	63	13.5	0.3
65-70	252	16.9	176	17.4	76	16.3	0.3
70-75	263	17.7	177	17.4	86	18.4	0.3
75-80	204	13.7	154	15.1	50	10.7	0.2
80-85	127	8.5	97	9.5	30	6.4	0.2
85-90	62	4.2	54	5.3	8	1.7	0.1
90-95	14	0.9	10	1.0	4	0.9	0.3
95-100	0	0	0	0	0	0	
100-105	0	0	0	0	0	0	
105-110	0	0	0	0	0	0	
110-115	1	0.07	0	0	1	0.2	1.0

表 4 45 歳以上 80 歳以下の高脂血症を伴う群の臨床背景

年齢 (平均±標準偏差)	64.4±8.9
男性の占める割合 (%)	61.2
高血圧 (%)	71.6
糖尿病 (%)	44.0
心房細動 (%)	3.3
虚血性心疾患 (%)	10.9
アテローム血栓性脳梗塞の割合	42.1
飲酒 (毎日) (%)	33.8
喫煙 (毎日) (%)	40.0

D. 考察

2004年3月より「脳血管疾患の再発に対する高脂血症治療薬の HMGCoA 阻害薬の予防効果に関する研究 (Japan Statin Treatment Against Recurrent Stroke; J-STARS)」の症例登録が開始されている。本研究はこの J-STARS の実施計画作成にあたり、症例選択基準の作成や登録が期待される患者群の臨床的特徴を明らかにする目的で行われた。

J-STARS では、臨床的に高脂血症と診断されている心原性脳塞栓症以外の虚血性脳卒中と診断された外来通院患者を対象としているため、まず退院時転帰が比較的良好であった初発のアテローム血栓性脳梗塞およびラクナ梗塞の臨床的特徴を高脂血症の有無別に検討した。その結果、高脂血症を伴う群は伴わない群に比べ有意に発症年齢が低く、高血圧、糖尿病を有する割合が高かった。高血圧を有する割合は 70.9%、糖尿病を有する割合は 42.2% と非常に高く、これらは脳卒中の再発に大きな影響を与えると考えられるため、J-STARS ではこれらの有無で層別して登録割付を行うこととなった。

高脂血症は大血管の動脈硬化を促進し、虚血性心疾患の重要な危険因子であることが多くの研究により明らかにされているが、今回対象とした患者群においては両群で虚血性心疾患を有する割合は 10% 程度で有意な差を認めなかった。また、アテローム血栓性脳梗塞の占める割合は両群で有

意差は認めないものの、むしろ高脂血症を伴う群で低値であった。本研究では J-STARS で設定された 45 歳以上 80 歳以下という年齢基準にあう症例を抽出しその臨床的特徴を検討した。しかし、J-STARS では同意日前 30 日以内に血清コレステロール値が 180mg/dl 以上 240mg/dl 以下であること、冠動脈疾患を有し、かつスタチンの投与が必要と考える患者は除外する等の基準があり、本研究で含まれている重症の高脂血症患者の多くは除外される。これらのことから、J-STARS では、高脂血症としては比較的軽症で、大血管の動脈硬化はそれほど進行していないが、高血圧、糖尿病の合併等による細小動脈硬化を既に有することにより小血管病変を発症した患者が多く登録されることが予想される。これらの患者群にスタチンを投与することにより、脳梗塞の再発を減少させることができるか、また減少させるとすれば大血管病変だけでなく小血管病変の発症も減少させることができるか検討することは大きな意義を有すると思われる。

現在、J-STARS に先行して、観察研究の J-STARS-L¹⁾ が 2003 年の 9 月より開始されている。これは、前向きの症例登録による追跡調査を行い、虚血性脳血管障害後の心血管イベントの発症、特に脳卒中の再発と高脂血症の既往の有無あるいはスタチンの使用の有無等の関係を統計学的に検討することを目的としている。J-STARS はスタチン非投与群の脳卒中発症率を

5%と仮定して必要症例数を算出しているが、J-STARS-Lの登録症例の中で、J-STARS の症例登録基準に合致するものを抽出し、スタチン非投与あるいは投与群の年間脳卒中再発率などの情報を得ることができ、成果が期待される。

E. 結論

脳卒中データバンクのデータを解析することは、J-STARS の症例選択基準作成および登録が期待される患者群の臨床的特徴の予測に非常に有用であった。

F. 文献

- 1) 松本昌泰. 脳血管疾患の再発に対する高脂血症治療薬の HMGCoA 阻害薬の予防効果に関する研究. 厚生科学研究費補助金, 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業. (平成 14 年度報告書)
- 2) 小林祥泰. 脳卒中急性期患者データベースの構築に関する研究. 厚生科

学研究費補助金, 健康科学総合研究事業. (平成 12 年度報告書)

- 3) 小林祥泰. 脳卒中急性期患者データベースの構築に関する研究. 厚生科学研究費補助金, 健康科学総合研究事業. (平成 13 年度報告書)

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

厚生労働科学研究費補助金
(効果的医療技術の確立推進臨床研究事業)
研究報告書

脳血管疾患の再発に対する高脂血症治療薬の HMGCoA
阻害剤の予防効果に関する研究----脂質検査の標準化

研究協力者 中村 雅一、大阪府立健康科学センター脂質基準分析室 ディレクター

研究要旨

本研究班では、約 110 の医療施設を対象に高脂血症治療薬の投与による臨床試験が実施される。血液化学検査の中でも脳血管疾患等の危険因子とされる項目、特に総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロールなどの脂質の測定値の信頼性は、米国の国立研究機関である CDC が主催する国際脂質標準化プログラムを通じて標準化(認証)されて始めて裏付けられる。欧米の疫学研究や臨床試験において、CDC を起点とする脂質の標準化は研究遂行上の前提条件とされる。大阪府立健康科学センターは、わが国では CDC を中心とした国際脂質標準化のネットワーク(CRMLN)に参加する唯一の脂質基準分析室であり、1992 年の正式登録以来 11 年を経過し、世界中の試薬メーカーや臨床検査室を対象とした標準化の認証資格を有する。本研究では、この認証資格を背景に世界に通用する水準で脂質の標準化を実施し、もって本班で得られる学術成果が国際的な評価に耐えられるように精度管理面から支援することにある。

A. 研究目的

本班の約 110 の医療施設を対象に CDC/CRMLN による国際脂質標準化プログラムを適用し、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロールなどの脂質の測定値を標準化して、測定成績解析上の基礎資料を提供することを研究目的とする。

B. 研究方法

CDC/CRMLN は、臨床検査室を対象とした総コレステロールの標準化プログラムとして Certification Protocol for

Clinical Laboratories(June 1994)を、また、試薬メーカーを対象とした総コレステロールの標準化プログラムとして Total Cholesterol Certification Protocol for Manufacturers(November 2002)を考案した。これらのプログラムを運用できるのは、CRMLN(Cholesterol Reference Method Laboratory Network)に登録されて、認証資格を有する世界 8 カ国から成る計 10 施設(2004 年 03 月現在)の脂質基準分析室に限定される。臨床検査室を対象とした総コレステロールの標準化プログラムでは、臨

床検査室で規定濃度を持つ6濃度（100～200 mg/dLの濃度域で2濃度、200～240 mg/dLの濃度域で2濃度、240 mg/dL以上の濃度域で2濃度の計6濃度）の新鮮ヒト血清を準備し、この血清を臨床検査室では1濃度につき2重測定を日常分析法で3日間測定、また、基準分析室（大阪府立健康科学センター）では総コレステロールの基準分析法であるAbell-Kendall法により単一測定をして目標値を確定し、臨床検査室で測定された成績と目標値の両者を比較検定ソフトに入力・解析することによって、臨床検査室の測定精度を判定する。一方、試薬メーカーを対象とした総コレステロールの標準化プログラムでは、試薬メーカーで規定濃度（120～180 mg/dL及び261～400 mg/dLの濃度域でそれぞれ必要検体数の20%、181～220 mg/dL及び221～260 mg/dLの濃度域でそれぞれ必要検体数の30%を占めるように配分）を持つ最低40検体以上の新鮮ヒト血清を準備し、この血清を試薬メーカーでは1検体につき2重測定を1ヶ月間で5回測定、また、基準分析室ではAbell-Kendall法で二重測定をして目標値を確定し、試薬メーカーで測定された成績と目標値の両者を比較検定ソフトに入力・解析することによって、試薬メーカーの測定精度を判定する。世界的に認容されている総コレステロールの判定基準は、米国のNCEP（National Cholesterol Education Program）に準拠する。それによれば、臨床検査室と試薬メーカー共に、正確

度は目標値の±3%以内、精密度は変動係数で3%以下に収まることが要求される。この条件を満たした場合、CDCは標準化とみなし、精度保証の裏づけとしての認証書が交付される。認証書の有効期限は、臨床検査室が6ヶ月間、試薬メーカーは2年間である。

一方、CDC/CRMLNは、試薬メーカーを対象としたHDLコレステロールの標準化プログラムとしてHDL Cholesterol Certification Protocol for Manufacturers(November 2002)を考案した。この標準化プログラムでは、試薬メーカーで規定濃度（20～29 mg/dL、30～39 mg/dL、40～49 mg/dL、50～59 mg/dL及び60～69 mg/dLの濃度域でそれぞれ最低5検体が含まれるように配分）を持つ最低40検体以上の新鮮ヒト血清を準備し、この血清を試薬メーカーでは1検体につき2重測定を1ヶ月間にわたり5回測定、また、基準分析室では比較対照法で二重測定をして目標値を確定し、試薬メーカーで測定された成績と目標値の両者を比較検定ソフトに入力・解析することによって測定精度を判定する。HDLコレステロールの判定基準は、米国のNCEP（National Cholesterol Education Program）に準拠する。それによれば、臨床検査室と試薬メーカー共に、正確度は目標値の±5%以内、精密度は変動係数で4%以下に収まることが要求される。この条件を満たした場合、CDCは標準化とみなし、認証書が交付される。試薬メーカーに対する認証書

の有効期限は2年間である。一方、臨床検査室を対象とした HDL コレステロールの標準化プロトコルは存在しない。HDL コレステロールと LDL コレステロールについては、各基準分析室の自主的な運用に付託されている。この信託を受けて、大阪府立健康科学センターは独自に臨床検査室向けの HDL コレステロールの標準化プロトコルとして HDL-Cholesterol Evaluation Protocol for Clinical Laboratories(October 2001)を、また、LDL コレステロールの標準化プロトコルとして LDL-Cholesterol Certification Protocol for Clinical Laboratories(October 2001)を開発した。HDL コレステロールでは、規定濃度を持つ6濃度(39 mg/dL 以下の濃度域で2濃度、40~59 mg/dL の濃度域で2濃度、60~75 mg/dL 以上の濃度域で2濃度の計6濃度)の新鮮ヒト血清を、臨床検査室では日常分析法で1回に各濃度につき4重測定をし、また、基準分析室では CRMLN の比較対照法(DCM)により目標値が確定され、比較検定ソフトに入力・解析されて測定精度が判定される。次に、LDL コレステロールでは、規定濃度を持つ6濃度(119 mg/dL 以下の濃度域で2濃度、120~139 mg/dL の濃度域で2濃度、140 mg/dL 以上の濃度域で2濃度の計6濃度)の新鮮ヒト血清を、臨床検査室では日常分析法で1回に各濃度につき4重測定をし、また、基準分析室では CRMLN の基準分析法(Beta-Quantification)により目標値が確

定され、比較検定ソフトに入力・解析されて測定精度が判定される。HDL コレステロールと LDL コレステロールの判定基準は、総コレステロールと同様に NCEP に準拠する。HDL コレステロールでは正確度は目標値の $\pm 5\%$ 以内、精密度は変動係数で4%以下に、また、LDL コレステロールでは正確度は目標値の $\pm 4\%$ 以内、精密度は変動係数で4%以下収まることが求められる。この判定基準を満たした時、標準化されたとみなされ、大阪府立健康科学センターから1年間有効の認証書が発行される。

本班において脂質標準化の対象となる110施設のうち、107施設の検体は臨床検査センターの一つである SRL(東京都八王子市、免疫化学部 生化学課)に委託分析を、残る3施設が自施設で検体分析をすることとされる。そこで、SRLについては、総コレステロール、HDL コレステロール、及び、LDL コレステロール共に、試薬メーカー用の標準化プロトコルに従うことを求め、SRL以外の3施設については臨床検査室用の標準化プロトコルで標準化することを求めた。

(倫理面への配慮)

脂質の標準化の実施に当たって、倫理面への問題は無い。

C. 研究結果

【SRLの標準化成績】

SRLにおける総コレステロールの測定条件は、分析装置が日立 7170 型自

動分析機器、試薬が和光純薬の L-Type Wako CHO・H(試薬1の Lot No.=AH489、試薬2の Lot No.=AG848)、キャリブレーターがデンカ生研の Liquid Abnormal Plus(表示値=245 mg/dL、Lot No.=VAB01301)であり、その標準化期間は2004年02月26日から2004年03月25日までの1ヶ月間(1回目の測定日=2004年02月26日、2回目の測定日=2004年03月04日、3回目の測定日=2004年03月11日、4回目の測定日=2004年03月18日、5回目の測定日=2004年03月25日)であった。その結果、総コレステロールの正確度は CDC の目標値に対する%バイアスで -0.1%、精密度は変動係数(Among-run CV)で 0.6%を示し、その結果総合誤差は 1.4%と計算される。これらの測定精度は、CDC の判定基準を十分に満たす。この成績により、CDC は2004年02月26日から2006年02月26日までの2年間有効の認証書を発行すると通告してきた。

SRL における HDL コレステロールの測定条件は、分析装置が日立 7170 型自動分析機器、試薬が第一化学薬品の Cholestest N HDL(試薬1の Lot No.=117REA、試薬2の Lot No.=114RDA)、キャリブレーターが第一化学薬品の Cholestest N Calibrator(表示値=57 mg/dL、Lot No.=118RGA)であり、その標準化期間は2003年11月05日から2003年12月18日までの約1ヶ月半(1回目の測定日=2003年11月05日、2回目の測定日=2003年11月13日、3回目の測定

日=2003年11月20日、4回目の測定日=2003年12月04日、5回目の測定日=2003年12月18日)に及んだ。その結果、HDL コレステロールの正確度は CDC の目標値に対する%バイアスで +1.0%、精密度は変動係数(Among-run CV)で 1.7%を示し、その結果総合誤差は 4.4%と判明した。これらの測定精度は、CDC の判定基準を十分に満たす。この成績により、CDC は2003年11月05日から2005年11月05日までの2年間有効の認証書を発行した。

【SRL 以外の臨床検査室の標準化成績】

一方、自らの施設の検査室で検体分析をする計画である3施設については、そのうちの1施設のみが脂質3項目の標準化を平成15年度中に終了した。その結果、総コレステロールでは正確度が -0.8%、精密度は変動係数で 0.6%、HDL コレステロールでは正確度が +0.1%、精密度は変動係数で 0.8%、また、LDL コレステロールでは正確度が -2.6%、精密度は変動係数で 0.4%を示した。これらの測定精度は、いずれも CDC の判定基準を満たした。この施設に対する認証有効期間は、総コレステロールが2004年02月25日から2004年08月25日までの6ヶ月間、HDL コレステロールが2004年03月11日から2005年03月11日までの1年間、また、LDL コレステロールは2004年03月12日から2005年03月12日までの1年間である。

SRL と臨床検査室の3施設共に、同一

の判定基準を満たす限りにおいて相互矛盾はなく、測定値の互換性並びに国際的な相互比較性は確保される。以上のことから、多施設の分析室を対象とした標準化をしても、複数の施設で収集された成績を解析する際の支障にはならない。

D. 考察

欧米の先進諸国では、心・血管疾患等を対象とした疫学研究や臨床試験を実施する場合、リスクファクターとされる脂質、特に総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロールなどの測定値を標準化することは、研究の前提条件として慣例化している。事実、公表される最近の論文は、例外なく CDC の標準化を受けたことが記述されている。その際に適用される基準が、WHO を背景として CDC 及び CRMLN が主宰する脂質標準化プログラムであり、これが世界標準とみなされる。CDC の判定基準を満たした測定結果は、正確度と精密度が数値で直接明らかにされることにより、複数の施設間、あるいは、研究成績間で相互比較性（互換性）があると理解されている。

大阪府立健康科学センターは、1992年 07 月以来今日まで国際脂質標準化のネットワークである CRMLN の正式メンバーであり、2ヶ月に1回の割合で CDC が実施する認証資格試験に合格することによって、2004年 03 月現在、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、及び、

トリグリセライドに対する認証資格を保有し、世界中の試薬メーカーや臨床検査室の標準化を実施する資格を有する。このような認証資格を背景に、本研究班の検体分析の 97% を担当する SRL と残りの 3% の検体分析を担当する 3 臨床検査室の中から 1 臨床検査室を対象に標準化を実施したところ、CDC の判定基準を満たす良好な精度を確認することが出来た。今後に残す課題として、SRL については 2004年 04 月中に試薬メーカーを対象とした LDL コレステロールの標準化を、また、残る 2 施設の臨床検査室については平成 15 年度中にも標準化を完了する予定である。

E. 結論

CDC/CRMLN に由来する脂質標準化プロトコルに基づいて、国際的な比較に耐えられる水準での標準化を開始した。現在のところ、本研究班の検体分析の 97% を担当する SRL では総コレステロールと HDL コレステロールの 2 項目で、また、残りの 3% の検体分析を担当する 3 臨床検査室の中から 1 臨床検査室で、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロールの 3 項目において、いずれも標準化が完結していることを確認した。

F. 文献

Bennett ST, Eckfeldt JH, Belcher JD, Connelly DP. Certification of cholesterol measurements by the National Reference Method Laboratory Network with routine

clinical specimens: Effects of network laboratory bias and imprecision. Clin Chem 1992;38:651-657.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura M, Sato S and Shimamoto T. Improvement in Japanese Clinical Laboratory Measurements of Total Cholesterol and HDL-cholesterol by the US Cholesterol Reference Method Laboratory Network. J of

Atherosclerosis and Thrombosis 2003;10:145-153.

- 2) 中村雅一、佐藤眞一、嶋本喬. 動脈硬化疫学研究における検査標準化、特集 動脈硬化とガイドライン. Pharma Medica 2003;21:25-30.

2. 学会発表

なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

脳血管疾患の再発に対する高脂血症治療薬の HMGCoA 阻害剤の予防効果に関する研究 ----高感度 CRP 検査の標準化

研究協力者 中村 雅一、大阪府立健康科学センター脂質基準分析室 ディレクター

研究要旨

CRP は、急性炎症時のモニタリング以外に、動脈硬化症などの慢性炎症時のマーカーとしても測定の対象とされてきた。特に、CRP の高値傾向は、虚血性心疾患の新しい独立した危険因子として最近注目されているところであり、本研究のテーマからみても高感度 CRP の測定は重要である。本研究班では、79 の医療機関を対象に高感度 CRP を測定する計画である。CRP の予知因子としての測定には、特に低濃度域を高い精度と再現性で測定できる高感度測定法が必須であり、その適用に当たってはかなり厳密な標準化が求められる。しかしながら、高感度 CRP の基準分析法が確立されていない現状から観れば、CDC/CRMLN による脂質の標準化ほど、完成度の高い内容の標準化は期待し難い面も残る。このような制約を前提として、79 施設の精密度の把握と測定値の互換性の検討を課題として標準化を実施した。

A. 研究目的

本班の約 79 の研究協力施設において高感度 CRP の測定を行う。これらの測定施設を対象に高感度 CRP の測定値を標準化して、測定成績解析上の基礎資料を提供することを研究目的とする。

B. 研究方法

CRP の測定は、血清中の蛋白質が測定の対象である。中でも、高感度 CRP は、CRP の濃度で 100~200 ug/dL 付近

の低濃度域を高い精度で測定することを目標とする。加えて、高感度 CRP の標準化は、基準分析法も一次標準物質(Primary Standard)も確立していない状況下で進めることにならざるを得ない。この現状においては、脂質の標準化ほど、厳密な標準化は期待し難い。世界的にみても、確立された高感度 CRP の標準化プログラムは存在しない。そこで、高感度 CRP の測定をする他の研究班(都島班:循環器疾患の予防に向けての炎症反応指標の応用、

住民および患者集団の炎症指標と動脈硬化に関する研究)と共同して、2班に共通した互換性の検討を進めることにした。

【外部精度管理プログラムのデザイン】

高感度 CRP の外部精度管理プログラムは、2003 年 1 月に Dade Behring 社から提案された「BN システムによる hsCRP 標準化測定法の提案」をベースに、これに一部修正を加えて新たに考案した。本プログラムは、外部精度管理と内部精度管理に関する統計学的背景として、分析施設の変動係数(CV)を 2%と仮定し、Statistical Power を 80%、両側有意水準を 0.05 として測定精度を検出することを目標に設計された。長期間の測定値の観察を目的とした高感度 CRP 用の外部精度管理プログラムが、これまでにわが国で実施されたことはない。平成 15 年度においては、平成 15 年 5 月と平成 15 年 11 月の 2 回に分けて実施する予定である。

【外部精度管理の参加施設】

本班において高感度 CRP を測定する 79 施設の中、77 施設からの検体は臨床検査センターの一つである SRL(東京都八王子市)に委託分析を、残る 2 施設は自施設での測定が計画されている。SRL は前述の都島班で実施した外部精度管理プログラムに 2003 年 5 月と 11 月の 2 回に涉って参加した。しかしながら、自施設で測定を予定し

ている 2 箇所の臨床検査室からの参加は、まだ実現していない。

【外部精度管理血清と内部精度管理血清の構成】

外部精度管理：大阪府立健康科学センターで脱脂処理(脱脂処理剤は、Dade Behring 社からの提供による)された外部精度管理血清は、1 測定日当り検体 1 から検体 5 までの 5 濃度の血清(血清量は、1 バイアルにつき 1 mL)を 1 組として、5 日間(計 25 本)、各濃度について日常検体と同時にアトランダムに 4 重測定することとした。内部精度管理：外部精度管理血清が測定された 5 日間を含めて、最近 20 日間の各施設における内部精度管理血清(内部精度管理血清の選定は、施設の任意による)の測定日当り 1 個の測定値(n=1)の報告を求めた。

【評価基準】

正確度：外部精度管理血清の正確度と精密度を評価するための指標として、世界的に認められた判定基準は存在しない。高感度 CRP では絶対基準法あるいは標準測定法は存在しないので、ゴールドスタンダードまたは一次標準物質を基準にみため、Outlier 処理を受けた平均値から目標値を設定することとした。この場合の目標値は、合意値である。そこで、本班及び都島班に共通する判定基準として、各施設の平均値が目標値の $\pm 10\%$ 以内に収まるように設定した。 $\pm 15\%$ 以上乖離した場合には、修復操作として、血漿蛋

白国際標準品(CRM470)の提供を始めとして、Dade Behring 社による機器、試薬、測定条件、試料、操作法、メンテナンスなどを受けることが出来るように配慮した。

精密度：AHA/CDC Scientific Statement(Circulation, 2003;107:499-511)によれば、高感度CRPの精密度(Interassay precision)は変動係数(CV)で<10%が目標とされる(濃度範囲：30-1000 ug/dL)。本班及び都島班においてもこれを適用した。

(倫理面への配慮)

hsCRPの標準化の実施に当たって、倫理面への問題は無い。

C. 研究結果

本報告書では、平成15年05月に実施した1回目の精度管理成績を中心に記述した。同年11月実施の2回目の成績は、現在、解析・評価中であるので、次年度で報告する。

【SRLの測定条件】

SRLにおける高感度CRPの測定条件は、測定機器がBN II自動分析装置、測定試薬がN-ラテックスCRP(Lot No.=167538A)、校正用血清がN CRP Standard(Lot No.=191941(1630 ug/dL))、内部精度管理血清が自家調整コントロール血清(Lot No.=033211)、測定期間は2003年05月23日から2003年06月07日に至る約2週間であった。

【SRLの正確度・精密度について】

正確度：本班に先行して実施した都島班における9施設の集計結果を基に、目標値から見た時の高感度CRPの許容範囲を計算して、表1に示した。次に、都島班において施設別に許容範囲に入るケースを判別分類したところ、全ての参加施設の平均値は、目標値±7%の範囲に収まることが明らかとなった。SRLの測定精度は、検体1の平均値が51.6 ug/dL(n=20, CV=0.81%)、検体2の平均値が97.2 ug/dL(n=20, CV=1.33%)、検体3の平均値が263.3 ug/dL(n=20, CV=0.99%)、検体4の平均値が286.2 ug/dL(n=20, CV=1.44%)、及び、検体5の平均値は385.2 ug/dL(n=20, CV=1.03%)であった。目標値と比較した場合、SRLにおける5濃度の血清の平均値は平均-4.3%と低値を示すが、前述した目標値±7%の許容範囲に収まる。

精密度：外部精度管理におけるSRLの変動係数は1.12%、また内部精度管理血清による変動係数は2.49%であった。外部精度管理による精密度は、前項の研究方法で設定した精密度の評価基準を満たしたが、内部精度管理では2%をわずかに超える成績であった。

D. 考察

【血漿蛋白の標準化に関する基本的な考え方(標準化と精度保証)】

抗原抗体反応を利用した免疫化学的測定法において、その測定値に影響を与える因子として、1)標準物質の値付