

表1 HbA1cの測定がなされた対象者数 (40-64歳; 2003, 2004年国民健康・栄養調査)

	n		n		n		n
1 北海道	227	13 東京	341	25 滋賀	112	37 香川	100
2 青森	56	14 神奈川	308	26 京都	117	38 愛媛	107
3 岩手	86	15 新潟	174	27 大阪	351	39 高知	43
4 宮城	112	16 富山	66	28 兵庫	294	40 福岡	206
5 秋田	75	17 石川	87	29 奈良	47	41 佐賀	51
6 山形	110	18 福井	64	30 和歌山	52	42 長崎	81
7 福島	114	19 山梨	24	31 鳥取	64	43 熊本	128
8 茨城	184	20 長野	138	32 島根	31	44 大分	96
9 栃木	110	21 岐阜	174	33 岡山	176	45 宮崎	69
10 群馬	122	22 静岡	173	34 広島	130	46 鹿児島	94
11 埼玉	235	23 愛知	403	35 山口	105	47 沖縄	60
12 千葉	167	24 三重	86	36 徳島	14		

図1a 有病率(%)に関する95%信頼区間 (HbA1c \geq 6.1 or 治療)

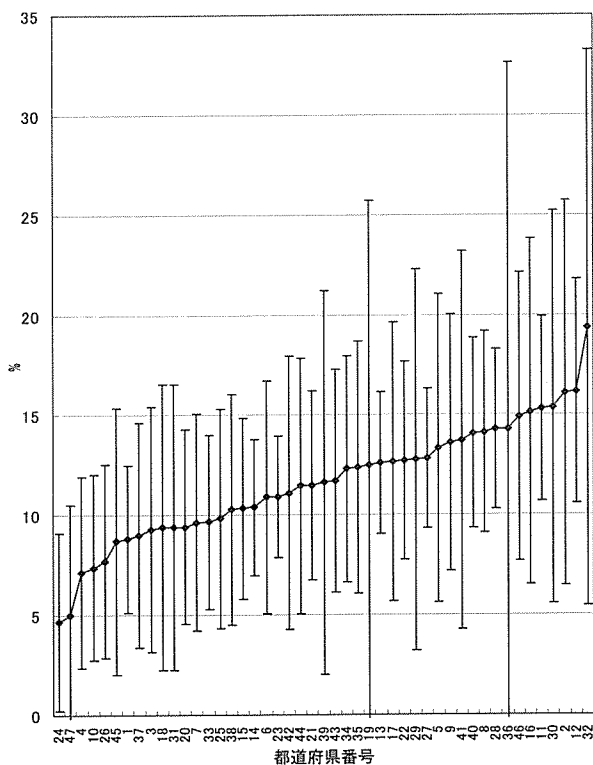


図1b 都道府県別平均値と95%信頼区間 (HbA1c)

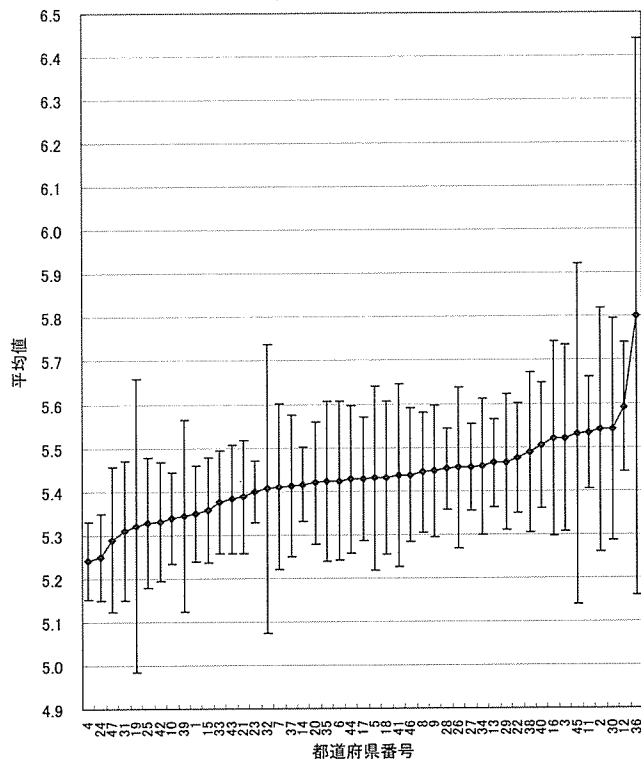


図1c 都道府県別有病率(%)と平均値との関係 (HbA1c)

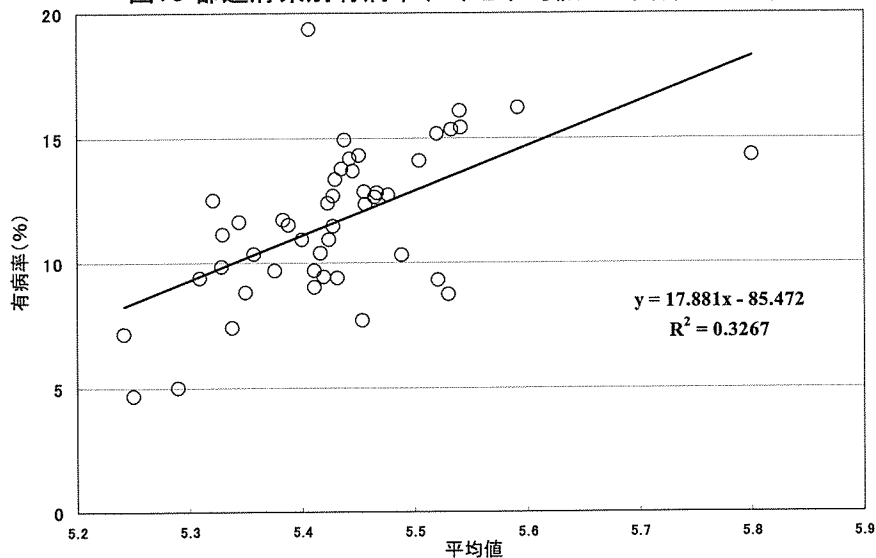


表2 体重・身長の測定がなされた対象者数 (20-64歳; 2000-2004年国民健康・栄養調査)

	n		n		n		n
1 北海道	844	13 東京	1704	25 滋賀	231	37 香川	262
2 青森	187	14 神奈川	1751	26 京都	358	38 愛媛	321
3 岩手	261	15 新潟	521	27 大阪	1230	39 高知	118
4 宮城	305	16 富山	254	28 兵庫	895	40 福岡	779
5 秋田	207	17 石川	229	29 奈良	222	41 佐賀	169
6 山形	256	18 福井	196	30 和歌山	150	42 長崎	142
7 福島	285	19 山梨	108	31 鳥取	125	43 熊本	344
8 茨城	599	20 長野	398	32 島根	138	44 大分	266
9 栃木	362	21 岐阜	533	33 岡山	413	45 宮崎	225
10 群馬	330	22 静岡	662	34 広島	520	46 鹿児島	248
11 埼玉	962	23 愛知	1370	35 山口	222	47 沖縄	212
12 千葉	988	24 三重	244	36 徳島	72		

図2a 該当者割合(%)と95%信頼区間
(BMI ≥ 25 kg/m²)

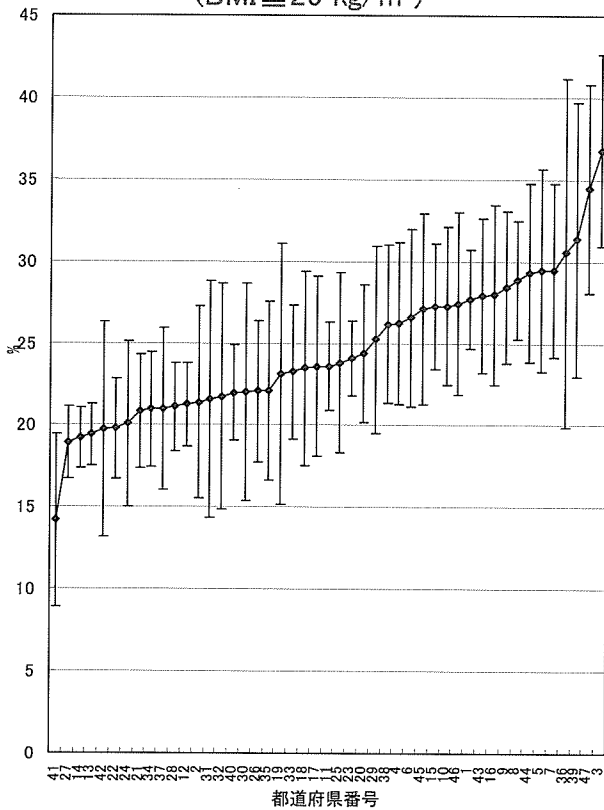


図2b 都道府県別平均値と95%信頼区間
(BMI)

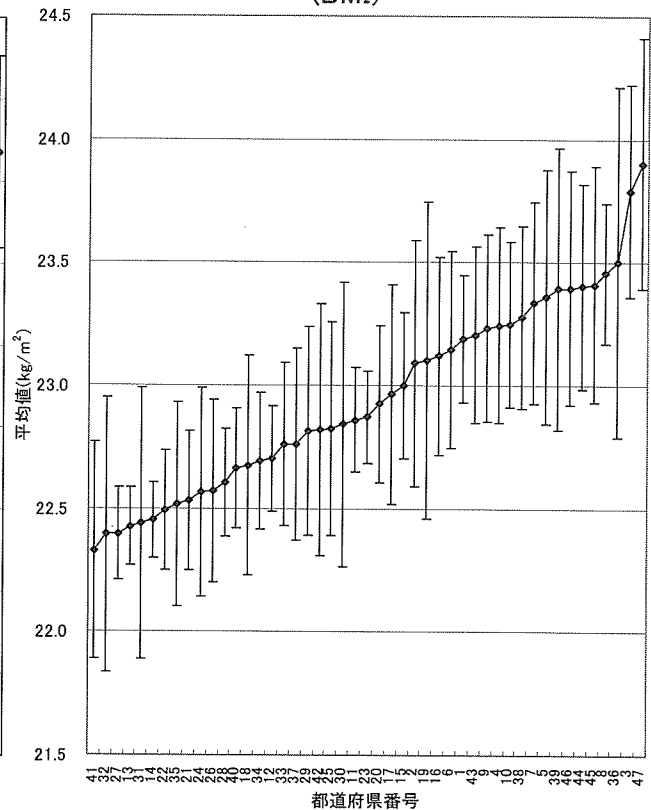


図2c 都道府県別該当者割合(%)と平均値との関係
(body mass index (BMI))

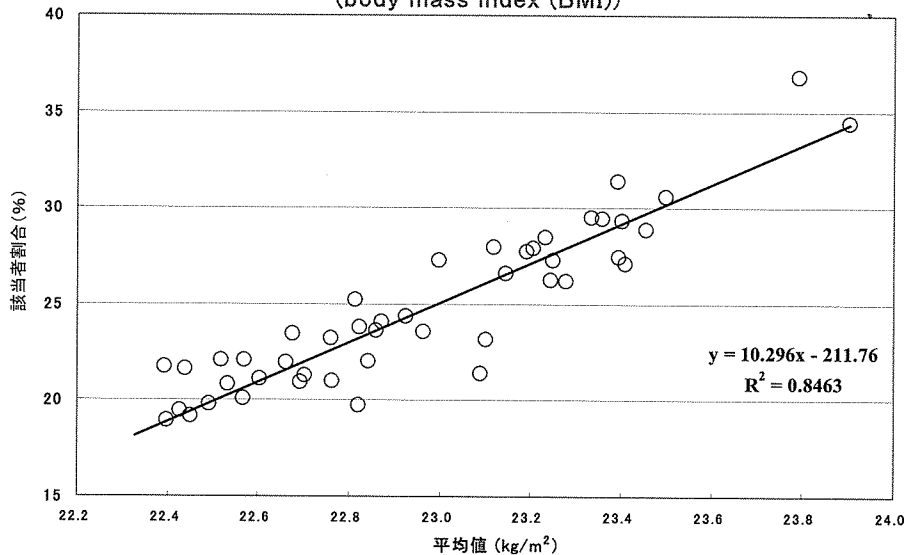


表3 食事摂取量調査がなされた対象者数 (20-64歳;2001-2004年国民健康・栄養調査)

	n		n		n		n
1 北海道	1074	13 東京	1996	25 滋賀	325	37 香川	267
2 青森	252	14 神奈川	1881	26 京都	513	38 愛媛	334
3 岩手	312	15 新潟	551	27 大阪	1506	39 高知	145
4 宮城	376	16 富山	271	28 兵庫	1101	40 福岡	968
5 秋田	246	17 石川	252	29 奈良	239	41 佐賀	212
6 山形	285	18 福井	275	30 和歌山	230	42 長崎	218
7 福島	347	19 山梨	183	31 鳥取	183	43 熊本	386
8 茨城	706	20 長野	407	32 島根	152	44 大分	304
9 栃木	400	21 岐阜	607	33 岡山	475	45 宮崎	250
10 群馬	337	22 静岡	755	34 広島	604	46 鹿児島	304
11 埼玉	1409	23 愛知	1679	35 山口	330	47 沖縄	272
12 千葉	1106	24 三重	318	36 徳島	90		

図3a 該当者割合(%)と95%信頼区間

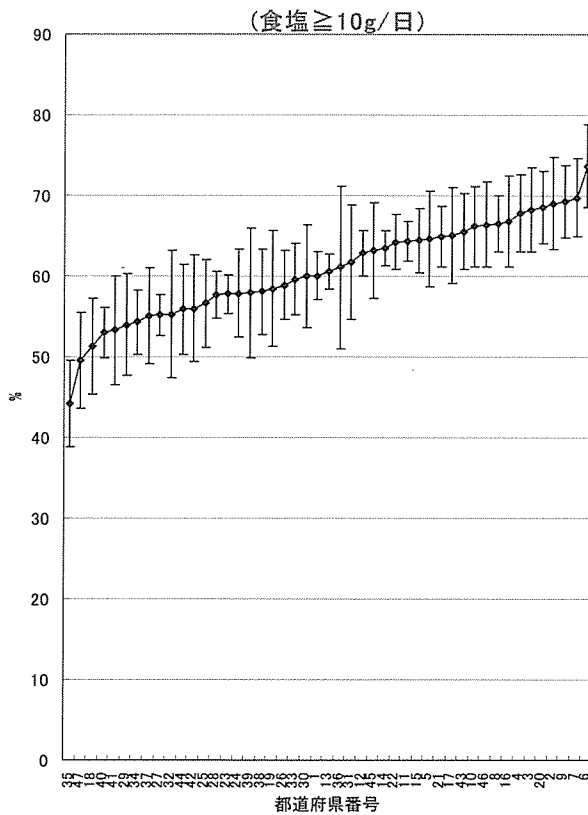


図3b 都道府県別平均値と95%信頼区間

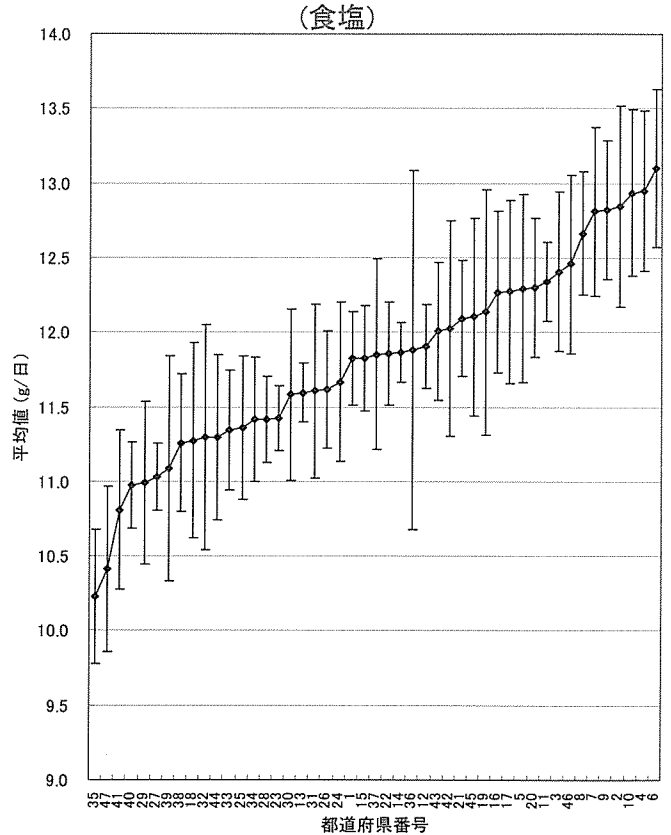


図3c 都道府県別・該当者割合(%)と平均値との関係(食塩)

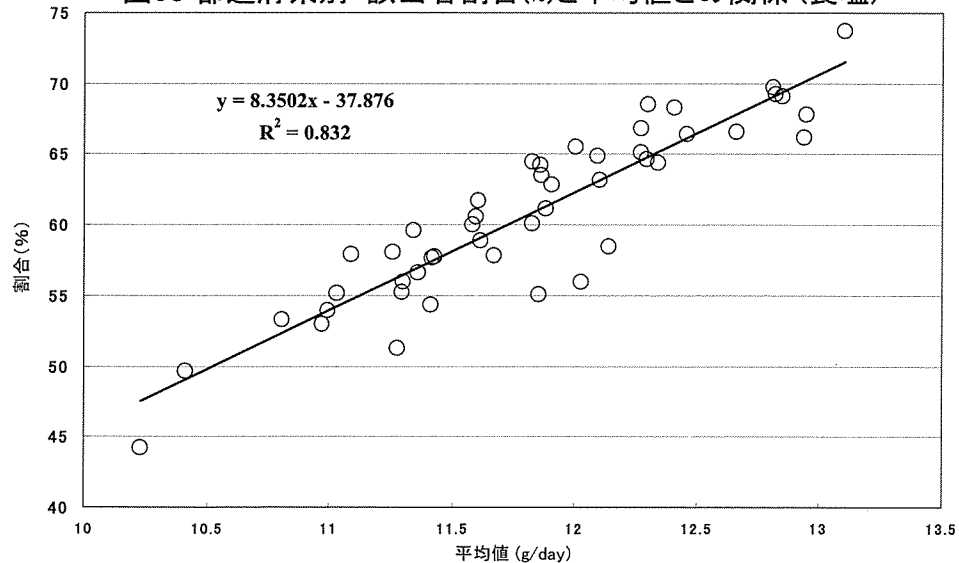


図4a 割合(%)と95%信頼区間
(脂質エネルギー比 $\geq 25\%$)

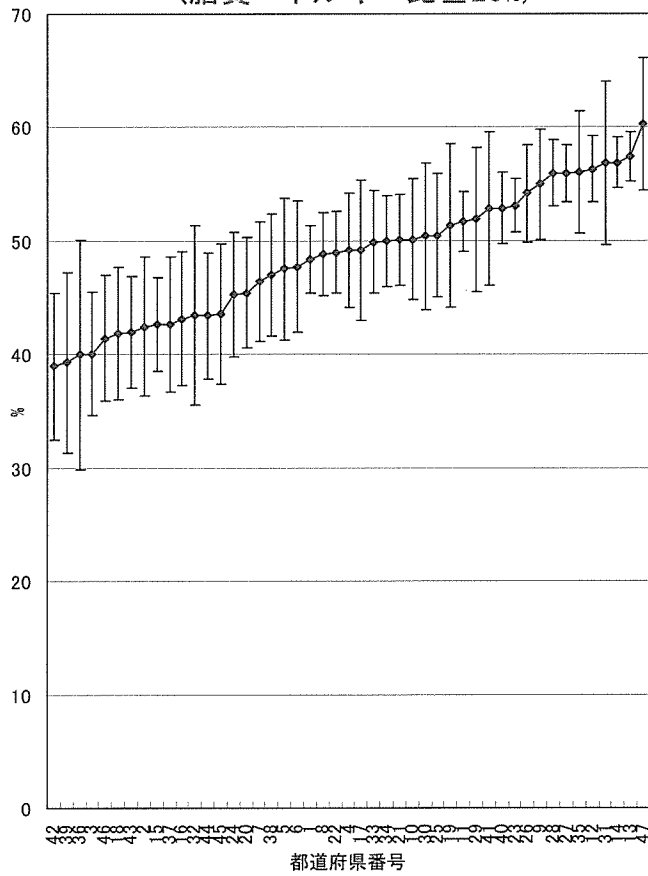


図4b 都道府県別平均値と95%信頼区間
(脂質エネルギー比)

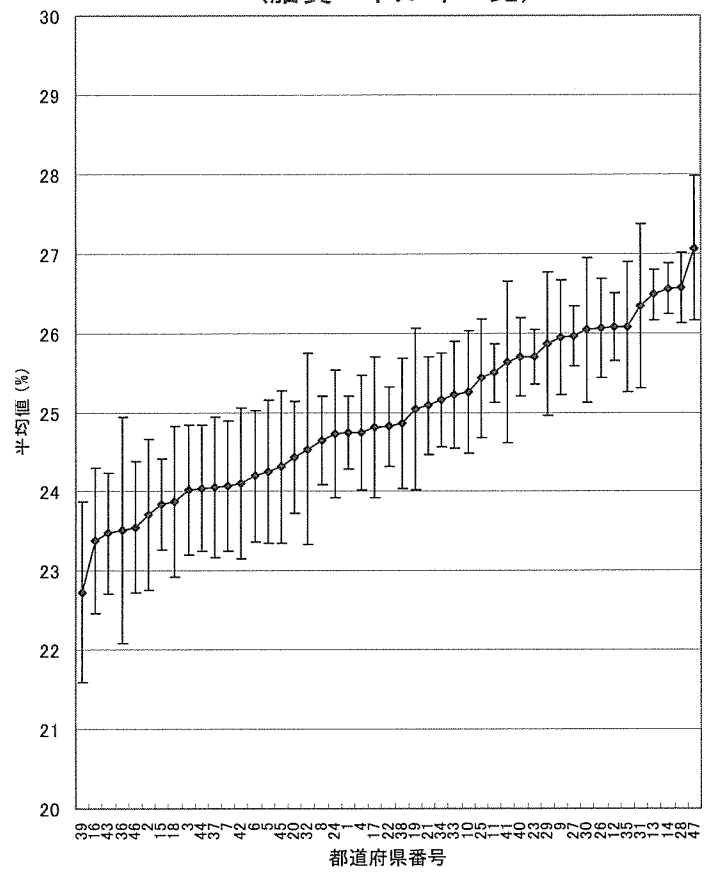


図4c 都道府県別該当者(%)と平均値との関係(脂質E比)

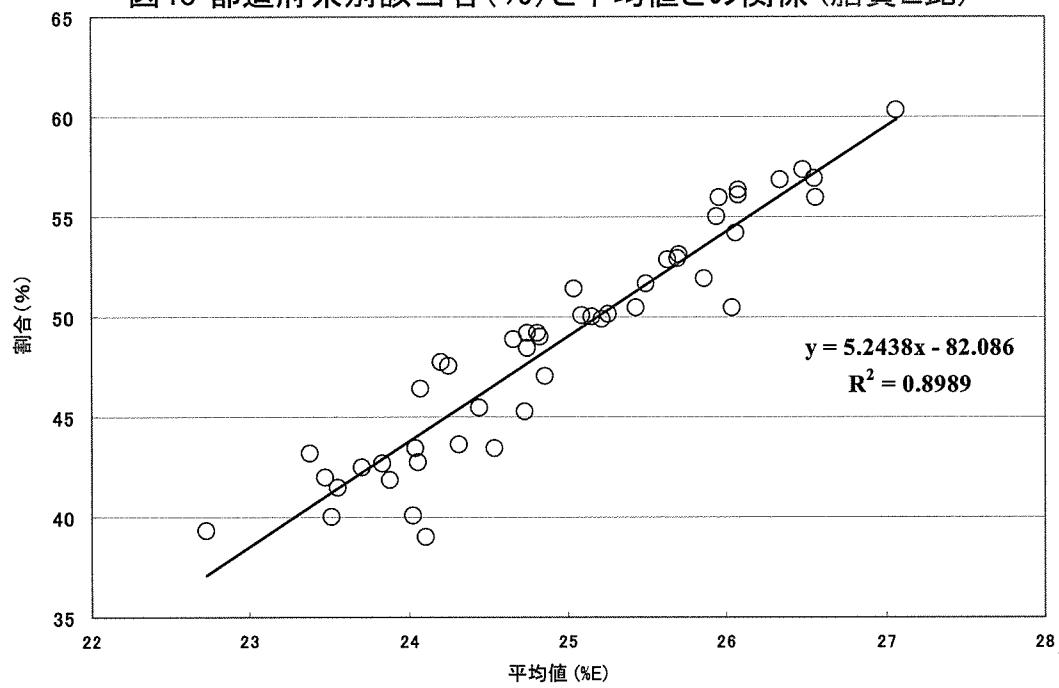


図5a 該当者割合(%)と95%信頼区間
(野菜 \geq 350g/日)

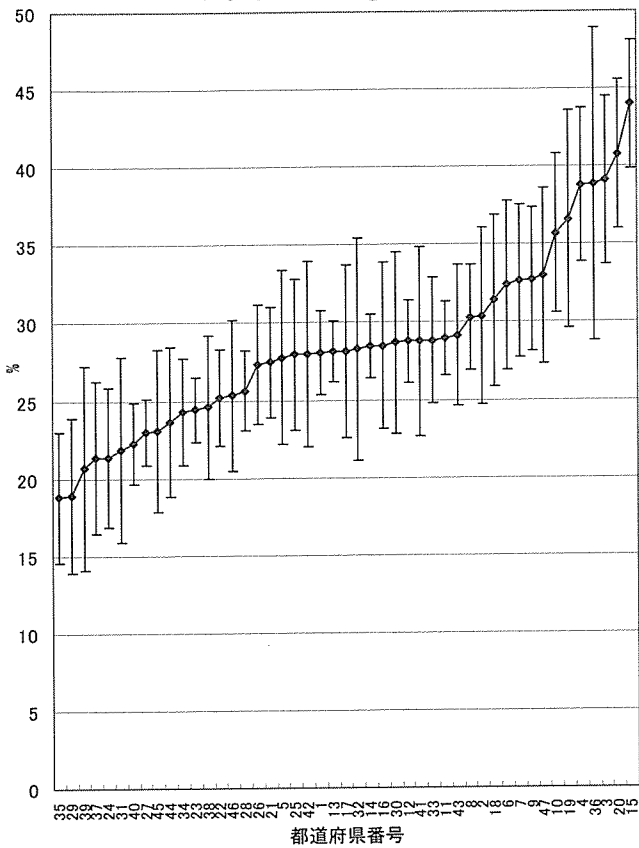


図5b 都道府県別平均値と95%信頼区間
(野菜摂取量)

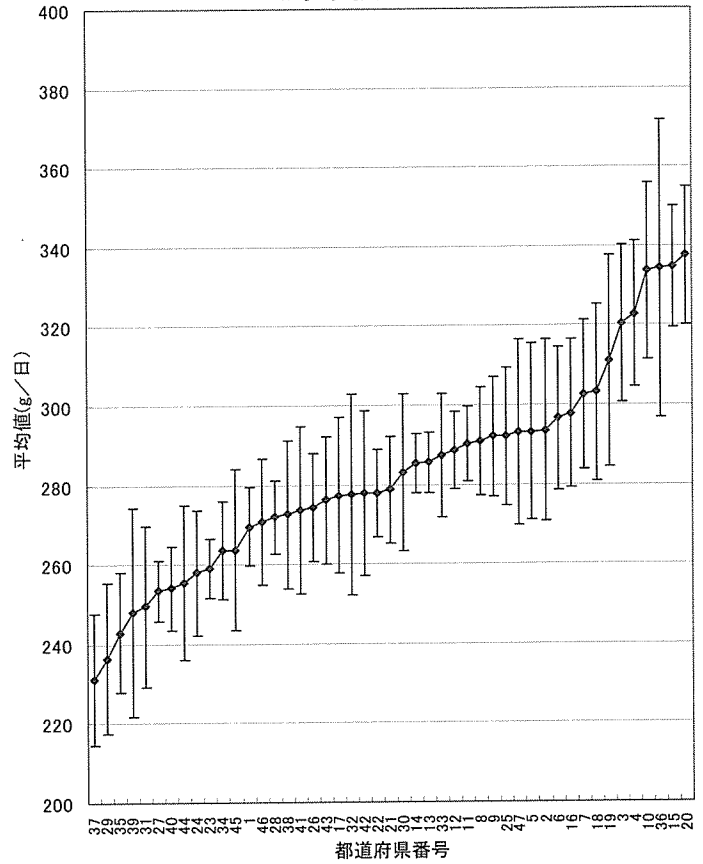


図5c 都道府県別該当者割合(%)と平均値との関係
(野菜摂取量)

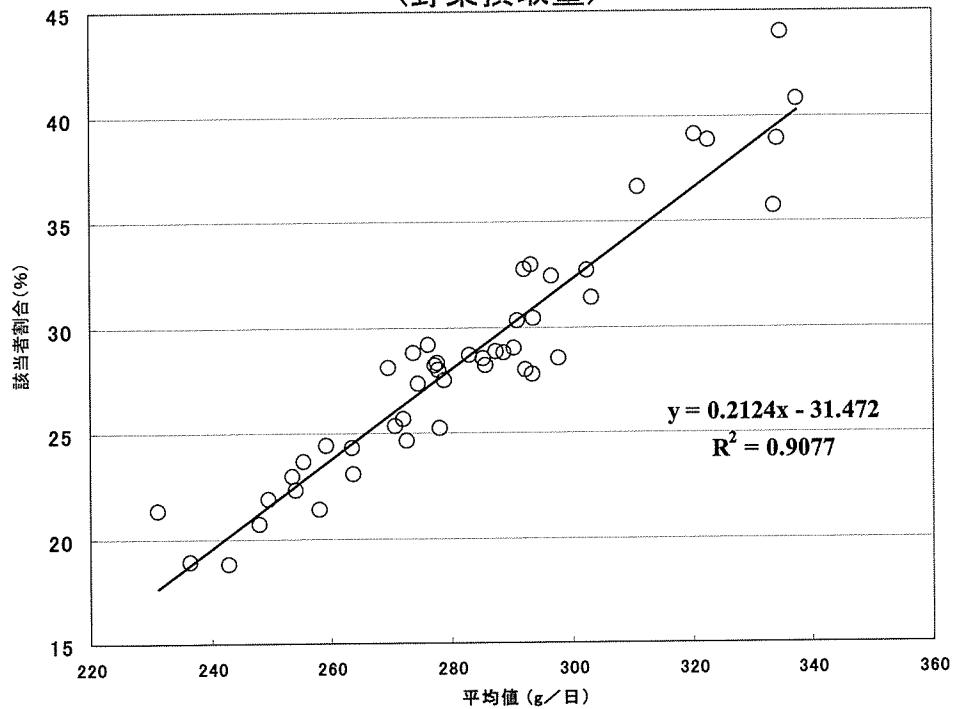


表4 歩数の測定がなされた対象者数 (20-64歳, 2000-2004年国民健康・栄養調査)

	n		n		n		n
1 北海道	1032	13 東京都	1811	25 滋賀県	312	37 香川県	264
2 青森県	237	14 神奈川県	1813	26 京都府	482	38 愛媛県	315
3 岩手県	298	15 新潟県	522	27 大阪府	1352	39 高知県	130
4 宮城県	349	16 富山県	252	28 兵庫県	1011	40 福岡県	907
5 秋田県	229	17 石川県	250	29 奈良県	223	41 佐賀県	203
6 山形県	276	18 福井県	266	30 和歌山県	209	42 熊本県	201
7 福島県	336	19 山梨県	177	31 鳥取県	179	43 長崎県	374
8 茨城県	651	20 長野県	390	32 島根県	147	44 大分県	294
9 栃木県	375	21 岐阜県	581	33 岡山県	460	45 宮崎県	242
10 群馬県	325	22 静岡県	714	34 広島県	580	46 鹿児島県	300
11 埼玉県	1331	23 愛知県	1594	35 山口県	305	47 沖縄県	248
12 千葉県	980	24 三重県	310	36 徳島県	81		

図6a 該当者割合(%)と95%信頼区間
(歩数 ≥ 10000歩/日)

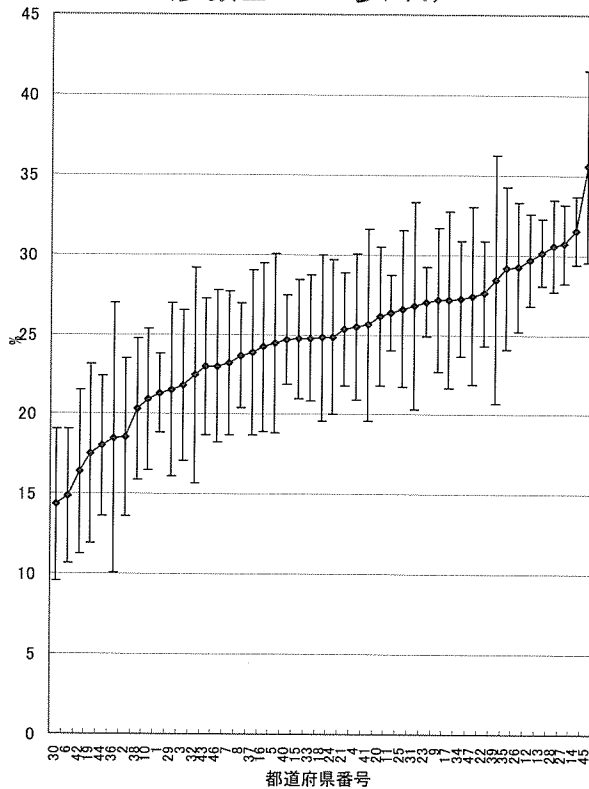


図6b 都道府県別平均値と95%信頼区間
(1日の歩数)

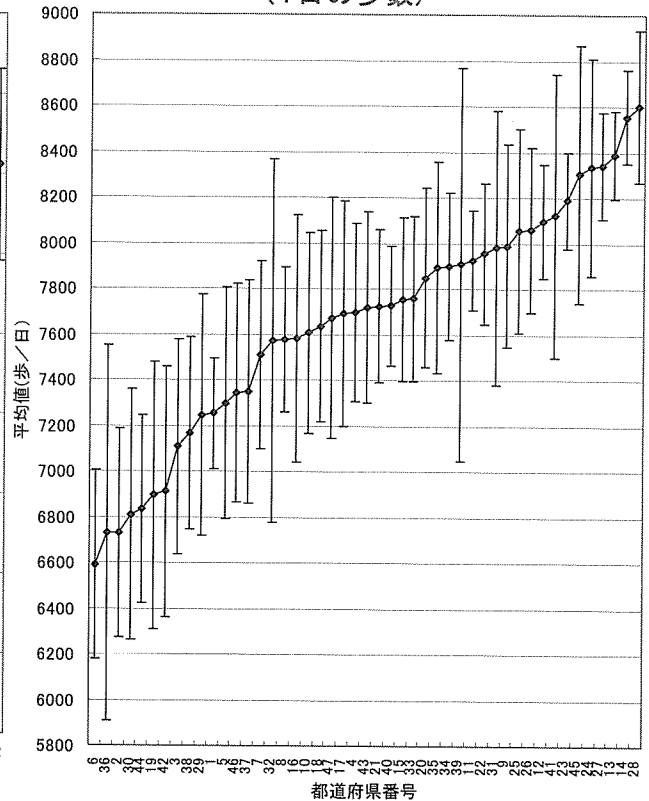
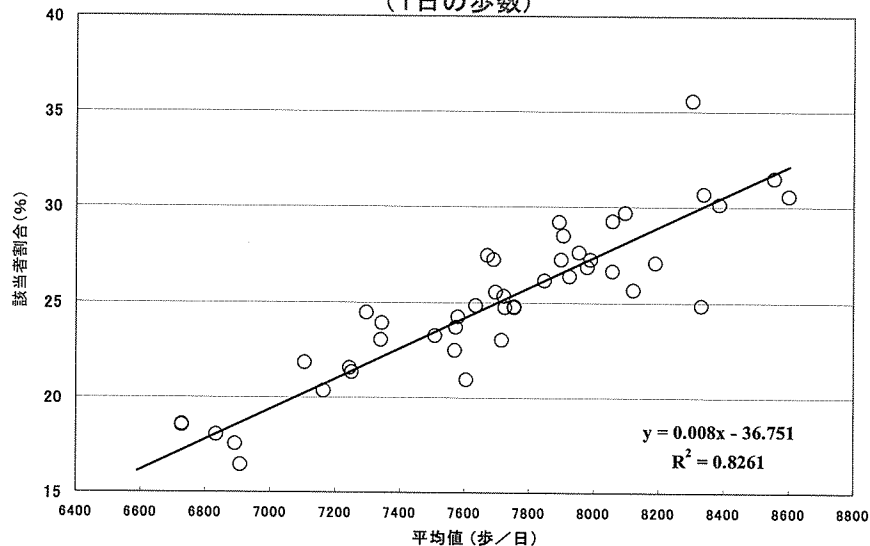


図6c 都道府県別該当者割合(%)と平均値との関係
(1日の歩数)



E. 健康危険情報

この研究において健康危険情報に該当するものはなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hara K, Matsushita Y, Horikoshi M, Yoshiike N, Yokoyama T, Tanaka H, Kadowaki T. A proposal for the cutoff point of waist circumference for the diagnosis of metabolic syndrome in the Japanese population. *Diabetes Care* 2006; 29(5): 1123-1124.
 - 2) Nakagami T, Tominaga M, Nishimura R, Yoshiike N, Daimon M, Oizumi T, Tajima N. Is the measurement of glycosylated hemoglobin A1c alone an efficient screening test for undiagnosed diabetes? *Japan National Diabetes Survey. Diabetes Res Clin Pract* 2006; Oct 16
 - 3) 須藤紀子, 吉池信男:健康教育プログラムが2型糖尿病患者の血糖コントロールに及ぼす影響のメタ分析. *栄養学雑誌* 2006 ; 64(6)309-324
 - 4) 吉池信男, 渋谷克彦:肥満と糖尿病～その疫学的研究～. *Adipo Science* 2007;3(4):401-409
 - 5) 吉池信男, 藤井紘子, 猿倉薫子:日本における糖尿病の現状－. *Diabetes Frontier* 2006 ; 17 (2) : 184-189
- ### 2. 学会発表
- 1) Yoshiike N. Epidemiological aspects of obesity and metabolic syndrome in Japan / Evidences for defining cut-off point for obesity in Japan: Asian Metabolic Syndrome Consensus Meeting, 2006.4.15, Seoul, Korea.
 - 2) Yoshiike N. Prevention and Control of NCDs in Japan - New era for total approaches towards healthier eating and physical activity- : The 4th Asian Congress of Dietetics, 2006. 4.25., Manila, Philippine.
 - 3) Yoshiike N. Obesity prevention strategy and program in Japan: Prevention and management of obesity in Korea, Korea Center for Disease Control & Prevention, 2006.6.23, Seoul, Korea.
 - 4) Yoshiike N. National strategy and programs for obesity control in Japan: Seoul Forum, The 4th Asian Conference on Obesity, 2007. 2. 9, Seoul, Korea.
 - 5) Yoshiike N. Situations and preventive strategies of obesity and metabolic syndrome in Japan: The 4th Asian Conference on Obesity, 2007. 2. 10, Seoul, Korea.
 - 6) Yoshiike N. Risk factors for chronic diseases in National Health and Nutrition Survey, Japan: International Symposium on National Nutrition

Survey Data and Nutrient Database for Risk Factors for Chronic Diseases, 2007.3.16, The Korean Society of Community Nutrition, Korea Health Industry Development Institute, Seoul, Korea.

- 7) Yoshiike N, Nozue M, Hayashi F, Miyoshi M, Arai Y, Yoshita K. Birth cohort analysis on body mass index in Japanese male adults from the National Health and Nutrition Survey: Community-based Obesity Prevention, International Conference of Obesity- Satellite Conference, 2006. 9. 2, Geelong, Australia.
- 8) Miyoshi M, Hayashi F, Arai Y, Nozue M, Yoshiike N. Regional characteristics of secular changes in obesity-related lifestyle behavior in Japan: 1st World Congress of Public Health Nutrition, 2006.9.30, Barcelona, Spain.
- 9) Sudo N, Yoshiike N. Effects of health education on glycemic control of type 2 diabetic patients: a meta-analysis: Asia Pacific EBM Network Conference 2006, 2006.11.9, Hong Kong, China
- 10) Inoue S, Takamiya T, Yoshiike N, Shimomitsu T. Physical Activity among the Japanese - Results of the National Health and Nutrition Survey 2003: International Congress on Physical Activity and Public Health, 2006. 4. 18, Atlanta, USA.
- 11) Takamiya T, Inoue S, Yoshiike N, Shimomitsu T. Trends in the physical activity levels among the Japanese population -Results of the National Health and Nutrition Survey, Japan: International Congress on Physical Activity and Public Health, 2006.4.18, Atlanta, USA.
- 12) 井上茂, 下光輝一, 吉池信男 :日本人におけるメタボリックシンドロームの現状 : 第61回体力医学会大会, 2006.9.26.兵庫県神戸市.
- 13) 戸次真智子, 早瀬仁美, 大内愛子, 久野真奈見, 松永泰子, 吉池信男 : 食事記録調査結果の分かりやすい提示方法の検討 : 第53回日本栄養改善学会学術総会, 2006.10.26.茨城県つくば市.
- 14) 横山徹爾, 由田克士, 齋藤京子, 石脇亜紗子, 吉池信男 : 国民健康・栄養調査における栄養素等の習慣的摂取量の分布の推定 : 第65回日本公衆衛生学会総会, 2006.10.26.富山県富山市.
- 15) 井上茂, 石井香織, 大谷由美子, 小田切優子, 高宮朋子, 吉池信男, 下光輝一 : 歩数計・加速度計の装着時間の分布－測定バイアスの可能性について : 第17回日本疫学会学術総会, 2007.1.26.広島県広島市.

G. 知的財産権の出願・登録状況

この研究において、知的財産権に該当するものはなかった。

資 料

- 1) Nakagami T, Tominaga M, Nishimura R, Yoshiike N, Daimon M, Oizumi T and Tajima N. Is the measurement of glycated hemoglobin A1c and efficient screening test for undiagnosed diabetes? Japan National Diabetes Survey. *Diabetes Res Clin Pract.* 76:251-256, 2007
- 2) 中村雅一: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. HECTEF NEWS, 2006. 5. No. 12
- 3) 中村雅一: CRMLN の標準化から見た HDL コレステロール直接法の現状と課題. 臨床化学. 2006 Vol. 35 Supp. 1.
- 4) 中村雅一: 国民健康・栄養調査における血液検査結果の経年的モニタリングシステム (第 2 報). 日本公衆衛生雑誌, 第 53 巻, 第 10 号, 平成 18 年 10 月
- 5) Nakamura M. Third Joint Meeting on Lipoprotein Measurement and Standardization, 2006.07.25, Chicago.
- 6) 吉池信男, 渋谷克彦: 特集 糖尿病とアディポサイエンス 臨床『肥満と糖尿病～その疫学的研究～』. *Adiposcience*.2007.Vol.3.No4
- 7) Hayashi F, Takimoto H, Yoshita K, Yoshiike N. Perceived body size and desire for thinness of young Japanese women: a population-based survey. *British Journal of Nutrition* (2006), 96, 1154-1162



Is the measurement of glycated hemoglobin A1c alone an efficient screening test for undiagnosed diabetes? Japan National Diabetes Survey

Tomoko Nakagami^{a,*}, Makoto Tominaga^b, Rimei Nishimura^c, Nobuo Yoshiike^d,
Makoto Daimon^e, Toshihide Oizumi^e, Naoko Tajima^c

^aDiabetes Center, Tokyo Women's Medical University, 8-1, Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan

^bDepartment of Laboratory Medicine, Yamagata University School of Medicine, Yamagata, Japan

^cDivision of Diabetes, Metabolism and Endocrinology, Department of Internal Medicine,
Jikei University School of Medicine, Japan

^dNational Institute of Health and Nutrition, Japan

^eDepartment of Neurology, Hematology, Metabolism, Endocrinology and Diabetology,
Yamagata University School of Medicine, Japan

Received 26 June 2006; received in revised form 31 July 2006; accepted 1 September 2006

Available online 17 October 2006

Abstract

The aim of the study was to assess the screening test properties of HbA1c for undiagnosed diabetes (DM) according to the 1999-WHO criteria and its relevance of the Japan National Diabetes Survey Cut-off points for possible and probable DM: HbA1c \geq 5.6 and 6.1%. Screening properties of HbA1c predicting undiagnosed DM was examined and compared with that of fasting plasma glucose (FPG) in 1904 Funagata-town inhabitants aged 35–89 years old. The prevalence of previous DM, undiagnosed DM, and impaired glucose regulation (IGR) were 5.5, 6.0, and 18.6%, while the prevalence of probable and possible DM were 7.7 and 5.4%. The area under the receiver operating characteristic curve for undiagnosed DM was similar between HbA1c (0.856 [95% CI: 0.812–0.899]) and FPG (0.902 [0.869–0.936]). HbA1c of 5.6% gave a sensitivity of 56.5%, a specificity of 95.1%, positive and negative predictive values of 44.2 and 97.0%, and a proportion of people above the cut-off point of 8.2%. True positive tests were significantly higher with mean levels of BMI, fasting, and 2-h plasma glucose, and HbA1c, but lower with mean levels of high-density-lipoprotein cholesterol than in false negative tests. The measurement of HbA1c alone may be efficient to screen undiagnosed DM and the cut-off point of 5.6% might be proper with respect to screening tests properties for undiagnosed DM, and prediction of vascular complications in Japan.

© 2006 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Hemoglobin A1c; Diabetes; Screening; Japan

Abbreviations: BMI, body mass index; FPG, fasting plasma glucose; 2-h PG, 2-h plasma glucose; HDL, high-density-lipoprotein; IFG, impaired fasting glucose; IGR, impaired glucose regulation; IGT, impaired glucose tolerance; NPV, negative predictive value; OGTT, oral glucose tolerance test; JDS, Japan Diabetes Society; JNDS, Japan National Diabetes Survey; PPV, positive predictive value; ROC, receiver operating characteristic; WHO, World Health Organization

* Corresponding author. Tel.: +81 3 3353 8111; fax: +81 3 3417 3434.

E-mail address: nakagami@dmc.twmu.ac.jp (T. Nakagami).

0168-8227/\$ – see front matter © 2006 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

doi:10.1016/j.diabres.2006.09.015

1. Introduction

In Japan, stable glycated hemoglobin (HbA1c) was standardized in the mid 1990s by the Japan Diabetes Society (JDS) [1] and has been used to estimate the number of people with possible and probable diabetes (DM) in the Japan National Diabetes Survey (JNDS) [2]. In this survey, probable DM was defined as HbA1c over 6.1% or under treatment for DM, and possible DM was defined as HbA1c between 5.6 and 6.0% among those without treatment for DM [2]. These cut-off points for HbA1c were chosen with respect to equivalent diagnostic cut-off points for fasting plasma glucose (FPG) and 2-h plasma glucose (2-h PG) in an oral glucose tolerance test (OGTT) for undiagnosed DM in health-check examination data [2]: HbA1c of 6.1% corresponded to the diabetic 2-h PG value in an OGTT in the linear regression analysis [3], whereas an HbA1c range between 5.6 and 6.1% showed a sensitivity of 80% and a specificity of 70% for undiagnosed DM (Sasaki, unpublished data). Then, according to the JNDS performed in 2002, the total number of people having probable and possible DM has been estimated as 7.4 and 8.8 million among the Japanese general population over 20 years old [2]. However, it is unknown to what extent these cut-off points for HbA1c accurately estimate the number of people with full DM based on glucose cut-offs according to the World Health Organization (WHO) criteria [4]. Thus, we assess the screening test properties of HbA1c for undiagnosed DM and the relevance of the JNDS cut-off points, in the general population-based data from the Funagata study.

2. Subjects and methods

Details of the Funagata study have been published elsewhere [5]. Briefly, the Funagata study is a population-based study designed to clarify risk factors, related conditions, and consequences of Type 2 DM. In Funagata, an agricultural area 400 km north of Tokyo, the population aged 35–89 years was 4644 in 2001. From 2000 to 2002, 3972 inhabitants aged 35–89 years registered in the study and 1918 inhabitants (participation rate: 48.3%) participated. Of those, 1904 inhabitants (men: 43.3%, age: 61 ± 12 years old (mean \pm S.D.)) over 35 years were analysed for this study.

After overnight fast, all subjects had blood samples drawn from the antecubital vein for measurement of FPG and 2-h PG on a standard 75 g OGTT (Trelan-G[®], Shimizu Pharmaceutical, Shimizu), HbA1c, and other biochemical tests from 16th June 2000 to 7th July 2002. Blood samples were assayed at the laboratory in Yamagata University Hospital. Blood was transferred to fluoride-heparin tubes and kept cold until centrifugation and separation of plasma at 2500 rpm (within 6 h). Plasma was frozen immediately, stored at -20°C , and

subjected to automated glucose analysis by the glucose dehydrogenase method (GA1160; Arkray, Kyoto). Intra-assay coefficient of variation for glucose was 0.8% at 72 mg/dl and 0.6% at 238 mg/dl. Sample aliquots for HbA1c analysis were placed in EDTA tubes, kept cold until processing (within 6 h) and measured by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method (HA-8150; Arkray, Kyoto [manufactured reference range: 2–16%]) after the standardized calibration from the JDS [1]. Intra-assay coefficient of variation for HbA1c was 1.0% at values 5.2 and 10.5%. The JDS assigned HbA1c values are converted to the National Glycoprotein Standardization Program (NGSP) assigned values by following the formula [6]: NGSP value (%) = JDS value (%) + 0.3 (%). Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by squared height (m^2), and systolic and diastolic blood pressures were measured in the sitting position after a 5-min rest using a mercury sphyngomanometer. Total cholesterol, triglyceride, and high-density-lipoprotein (HDL) cholesterol were measured by cholesterol oxidase method, enzymatic method, and direct method, respectively.

In this study, subjects who were previously diagnosed as DM or undiagnosed DM who had FPG ≥ 126 mg/dl and/or 2-h PG ≥ 200 mg/dl on an OGTT by the WHO criteria [4] were considered as DM, whereas those who had FPG 110–125 mg/dl and/or 2-h PG 140–199 mg/dl on an OGTT by the WHO criteria [4] were considered as impaired glucose regulation (IGR). Subsequently, people were classified according to glucose categories based on cut-off points of HbA1c applied by the JNDS [2]: probable DM, people under treatment for DM, or those with HbA1c $\geq 6.1\%$ without treatment for DM; possible DM, people with HbA1c 5.6–6.0% in those without treatment for DM; not abnormal, people with HbA1c $< 5.6\%$ in those without treatment for DM.

Individuals with previously diagnosed DM were included in total DM estimate but excluded from the analyses of screening properties. The area under the receiver operating characteristic (ROC) curve [7] for HbA1c and FPG predicting undiagnosed DM was compared. The performance of HbA1c and FPG in relation to identify undiagnosed DM included sensitivity: percentage of individuals with undiagnosed diabetes who had a positive screening test; specificity: percentage of individuals without undiagnosed diabetes who had a negative screening test; predictive values for positive (PPV): percentage of individuals with screening test positive who had undiagnosed diabetes; and negative (NPV): percentage of individuals with screening test negative who had non diabetes, and the proportion of people with above the cut-off value.

Sum total number was estimated and compared between people with possible plus probable DM applied by the JNDS, and those previously diagnosed plus undiagnosed DM defined by the WHO criteria [4], after age-adjusting for the projected Japanese population on 1st October 2002 [8].

Cardiovascular disease (CVD) risk profiles were compared between true positive tests (HbA1c $\geq 5.6\%$ in those with undiagnosed DM) and false negative tests (HbA1c $< 5.6\%$ in those with undiagnosed DM) by Student's *T*-test.

The study was approved by the International Review Board of Yamagata University and informed consent to participate was obtained from the participants.

SPSS for Windows Version 14.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) was used for statistical analysis. *p*-Values were based on two-sided tests and the cut-off point for statistical significance was $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Distribution of people according to glucose categories applied by the JNDS and the 1999-WHO criteria

The crude prevalence of previously diagnosed DM, undiagnosed DM, and IGR according to the 1999 WHO criteria were: 5.5% (105/1904), 6.0% (115/1904), and 18.6% (354/1904) among 1904 inhabitants aged 35–89 years (Table 1). Whereas the crude proportion of people classified as possible and probable DM according to the glucose categories applied by the JNDS were: 5.4% (103/1904) and 7.7% (146/1904) (Table 1). The prevalence of all DM increased with deterioration of glucose categories applied by the JNDS (Table 1) while the prevalence of IGR was highest in possible DM (35.0%) and lowest in probable DM (4.8%). Forty-four percent of people with undiagnosed DM and the 88% with IGR were included in the glucose category of not abnormal applied by the JNDS.

3.2. ROC curve analysis for HbA1c predicting undiagnosed DM

Fig. 1 shows the ROC curve for HbA1c and FPG predicting undiagnosed DM among 1799 individuals

without previously diagnosed DM. The AUC of the ROC curve for HbA1c (0.856 [95% confidence interval; 0.812–0.899]) predicting undiagnosed DM was similar to that for FPG (0.902 [0.869–0.936]). FPG gave a sensitivity of 64.3% (74/115), a specificity of 95.3% (1605/1684), and the proportion of people above the cut-off of 8.5% (153/1799) with a cut-off value ≥ 110 mg/dl (IFG level) (Fig. 1). A similar sensitivity (62.6%) and specificity (92.5%) for HbA1c corresponded to HbA1c of 5.5%, where 2S.D. above the mean HbA1c for people with normal glucose by the WHO criteria ($4.9 \pm 0.3\%$) (Fig. 2).

3.3. Performance characteristics of HbA1c for undiagnosed DM

The JNDS cut-off point of HbA1c $\geq 5.6\%$ gave a sensitivity of 56.5% (65/115), a specificity of 95.1% (1602/1684), a PPV of 44.2% (65/147), a NPV of 97.0% (1602/1652), and the proportion of people above the cut-off point of 8.2% (147/1799) (Table 1 and Fig. 2). At HbA1c value of 5.3% where maximizing sensitivity plus specificity, the sensitivity, specificity, PPV, NPV, and the proportion of people above the cut-off point were: 77.4% (89/115), 82.1% (1382/1684), 22.8% (89/391), 98.2% (1382/1408), and 21.7% (391/1799) (Figs. 1 and 2). The PPV, 100 – NPV, and the proportion of people above the cut-off level increased with higher HbA1c (Fig. 2).

3.4. Estimated number of people with DM based on the JNDS cut-off points in the Funagata study

After age-adjusting for the projected Japanese population in 1st October 2002, the respective numbers

Table 1

Distribution of people according to glucose categories defined by the JNDS and the 1999-WHO criteria among 1904 inhabitants aged 35–89 years in the Funagata-town inhabitants during the period between year 2000 and 2002

Glucose category by JNDS	Glucose category according to the 1999 WHO criteria					Overall
	Plasma glucose (mg/dl) On a 75 g OGTT	Normal, FPG < 110 and 2-h PG < 140	IGR, FPG 110–125 or 2-h PG 140–199	Undiagnosed DM, FPG ≥ 126 or 2-h PG ≥ 200	Previously diagnosed DM	
HbA1c (%)						
Not abnormal	<5.6	1291	311	50	3	1655
Possible DM	5.6–6.0	35	36	30	2	103
Probable DM	≥ 6.1	4	7	35	1	47
Probable DM	Treated DM	0	0	0	99	99
	Overall	1330	354	115	105	1904

Possible DM: HbA1c 5.6–6.0% in people without treatment for diabetes. Probable DM: people under treatment for diabetes and/or those with HbA1c $\geq 6.1\%$ in people without treatment for diabetes.

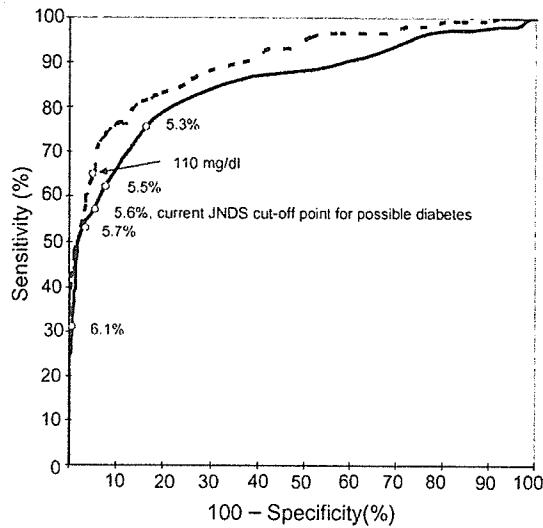


Fig. 1. Receiver-operating characteristic curves for HbA1c and FPG corresponding undiagnosed diabetes defined 1997-WHO criteria among 1799 Funagata-town inhabitants. Straight line: AUC for HbA1c predicting newly diagnosed diabetes. Dotted line: AUC for FPG predicting newly diagnosed diabetes.

of people with probable and possible DM have been estimated as 4.8 and 3.4 million, and the sum total of 8.2 million was larger than the 7.4 million who actually had DM by the WHO criteria. When the cut-off point of HbA1c for possible DM was raised from 5.6 to 5.7%, the total number of people with all DM was estimated as 7.2 million.

3.5. Comparison of CVD risk profiles between true positive tests and false negative tests

Undiagnosed DM identified at HbA1c $\geq 5.6\%$ (true positive tests) were significantly higher with mean levels of BMI (25.7 kg/m^2 versus 24.4 kg/m^2 , $p < 0.05$), FPG (136 mg/dl versus 107 mg/dl , $p < 0.005$), 2-h PG (263 mg/dl versus 224 mg/dl , $p < 0.005$), and HbA1c (6.5% versus 5.2% , $p < 0.005$) but lower with mean levels of HDL cholesterol (53 mg/dl versus 60 mg/dl , $p < 0.05$) than undiagnosed DM unidentified at HbA1c $\geq 5.6\%$ (false negative tests).

4. Discussion

HbA1c is a reliable index of glucose metabolism over the 1–2 months before testing [9–11], and the prevalence of diabetic retinopathy in relation with HbA1c has a similar pattern to the relation with FPG and 2-h PG on a 75 g OGTT [12–14]. However, its use as a screening test for undiagnosed DM remains inconclusive [15–18]. Since the measurement of HbA1c does not require fasting, the JNDS is currently using HbA1c for an estimation of number of people with DM [2]. In the Funagata study, the predictability of HbA1c for undiagnosed DM defined by the WHO criteria [4] was almost the same as FPG. However, the glucose categories of probable DM and possible DM based on HbA1c applied by the JNDS were not identical to the glucose categories of diabetes and IGR based on plasma

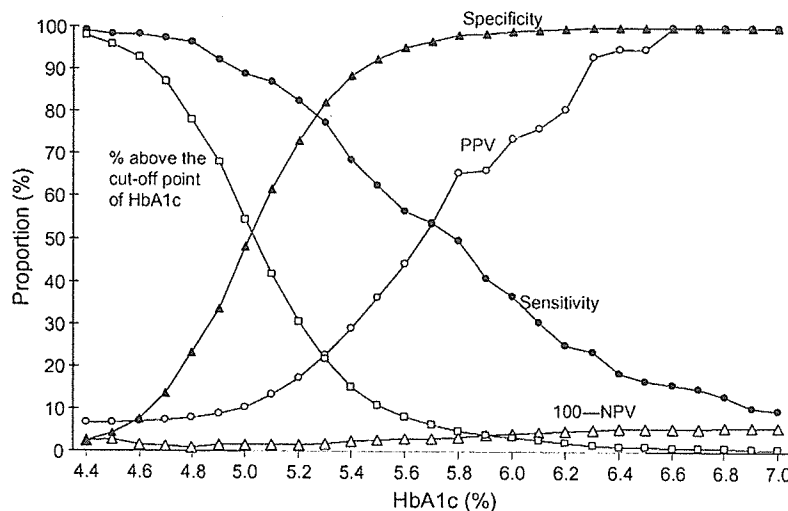


Fig. 2. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), 100 – negative predictive value (NPV), and the proportion of people above the cut-off point of HbA1c for undiagnosed diabetes, according to different HbA1c concentrations among 1799 Funagata-town inhabitants without previously diagnosed diabetes. Black circle: sensitivity. Black triangle: specificity. White circle: PPV. White triangle: 100 – NPV. White square: % of people above the cut-off point of HbA1c.

glucose according to the WHO criteria [2]. The cut-off point of HbA1c $\geq 5.6\%$ as possible plus probable DM gave a very high specificity (95%) and a moderate sensitivity (57%), and PPV (44%) for undiagnosed DM. Identified cases of DM using this cut-off point had worse glucose metabolism and lipid profile than those unidentified. Thus, using the current cut-off point of possible DM in the JNDS might be relevant for the identification of the higher risk of vascular complications among those with undiagnosed DM in Japan.

The appropriate cut-off of HbA1c for defining the true prevalence of DM in a population is important for public health planning and action. In the Funagata study, the glucose categories of possible and probable DM applied by the JNDS did not correctly estimate the number of people with IGR and DM in Japan. Because the glucose categories of probable and possible DM based on HbA1c are not identical to the glucose categories of DM and IGR based on plasma glucose on an OGTT, respectively. However, the cut-off point of HbA1c for possible DM could be used to estimate number of people with undiagnosed plus diagnosed diabetes.

In terms of agreement about diagnosis of DM, the maximum agreement was found at HbA1c of 5.3%, with a sensitivity of 77% and a specificity of 82%, in our study. Whereas HbA1c of 5.6% gave a sensitivity of 57% and a specificity of 95%, and thus, not surprisingly, total agreement of diagnosis was different from that found at HbA1c of 5.3%. Moreover, the predictability of DM given positive test result (i.e. PPV) at HbA1c of 5.3% was half of that at HbA1c of 5.6%. Since total agreement of diagnosis of DM was similar at HbA1c of 5.6 and 5.7, the former cut-off point gave 3% higher sensitivity (57% versus 54%) and 9% lower PPV (44% versus 53%) than the latter cut-off point. However, the PPV at HbA1c of 5.6% seemed to be still moderate. Thus, the choice of HbA1c of 5.6% as a cut-off point may be reasonable to detect more people with undiagnosed DM in Japan.

The diagnostic screening cut-off points should be decided by their relevance for likelihood of complications. The Hisayama study [19] has reported that HbA1c had a similar predictability of future retinopathy to 2-h PG or FPG, and the optimal HbA1c associated with future retinopathy was 5.7% with a sensitivity of 87% and a specificity of 90%. This study also identified the threshold of mean HbA1c associated with prevalence of retinopathy at a range between 5.5 and 5.8%. However, a longitudinal study of Pima Indians [12] has shown a clear cut-off for mean HbA1c of 7.0% (6.7% in our country), above which the incidence of retinopathy

steeply increased. In the cross-sectional data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey [14], prevalence of retinopathy started to increase at a range of mean HbA1c between 5.9 and 6.2% (5.6–5.9% in our country), which has an almost similar level to the Hisayama study. Thus, our results, together with findings of others, suggest that the current JNDS cut-off point may be reasonable with respect to the prediction of retinopathy in Japanese living in Japan.

A recent population-based study from the U.K. [20] has demonstrated a graded increase in all-cause and CVD mortality across the population range of HbA1c, independent of other CVD risk factors. The same holds true with FPG and 2-h PG [21]. So far, there is no available data confirming the continuous relationship between the population range of HbA1c and CVD in our country. However, the cut-off point of HbA1c associated with CVD risk might be lower in comparison to microvascular complications, as even lesser impairments of glucose regulation are already associated with an increased CVD risk [22].

The treatment goal of HbA1c is practically important as a screening cut-off when the disease is present and identified. In Japan, the upper limit of good control of HbA1c in diabetic patients was less than 6.5% [23] because the Kumamoto study showed that diabetic retinopathy and nephropathy rarely occurred among diabetic patients with lower than this cut-off point [24]. However, those subjects were all previously diagnosed cases with mean duration of diabetes of 6.5–6.6 years [24] and the treatment target among newly diagnosed cases has not yet been identified.

HbA1c has been established as a strongest risk factor for microvascular complications in patients with DM [25], and FPG, 2-h PG, and HbA1c are continuous risk factors for developing CVD [20–22]. Thus, people with DM identified by the JNDS cut-off point for possible DM were at higher risk for vascular complications than those unidentified, since the former group had worse glucose and HDL cholesterol profiles than the latter group.

In conclusion, measurement of HbA1c seems to be as efficient as measuring FPG to screen people with undiagnosed DM. The current screening cut-off point of HbA1c of 5.6% may be reasonable, with respect to screening properties of undiagnosed DM, as well as prediction and prevention of vascular complications in Japan.

Competing interests

None declared.

Acknowledgements

This analysis has been carried out with the support of the grant for the Study Group of Evaluation of settings and accuracy of different indicators in the National Health and Nutrition Survey in Japan (for N.Y.) from the Japanese Ministry of Health, Welfare and Labour. The Grant-in-Aid for Scientific Research (C) (2) (15590958) (for T.N.) by the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology supported a part of the analysis.

We thank all participants and staff who took part in the Funagata study for making this analysis possible.

References

- [1] K. Shima, J. Endo, M. Oimomi, I. Oshima, Y. Omori, Y. Katayama, et al., Interlaboratory difference in GHb measurement in Japan—the fourth report of the GHb Standardization Committee, the Japan Diabetes Society, *J. Jpn. Diab. Soc.* 40 (1997) 321–326 (In Japanese).
- [2] Ministry of Health, Labour and Welfare. National Diabetes Survey, 2002, http://www.health-nct.or.jp/data/menu05/toukci/tonyo_h14.pdf (In Japanese).
- [3] C. Ito, R. Maeda, S. Ishida, H. Sasaki, H. Harada, Correlation among fasting plasma glucose, two-hour plasma glucose levels in OGTT and HbA1c, *Diab. Res. Clin. Pract.* 50 (2000) 225–230.
- [4] World Health Organization: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. Part 1. Diagnosis and Classification of diabetes mellitus, Geneva, World Health Organization, Department of Non-communicable Disease Surveillance, 1999.
- [5] M. Daimon, T. Oizumi, T. Saitoh, W. Kameda, A. Hirata, H. Yamaguchi, et al., Decreased serum levels of adiponectin are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese Population: the Funagata study, *Diab. Care* 26 (2003) 2015–2020.
- [6] M. Tominaga, H. Makino, G. Yoshino, K. Kuwa, I. Takei, Y. Aono, et al., Japanese standard reference material for JDS Lot 2 haemoglobin A1c. I. Comparison of Japan Diabetes Society-assigned values to those obtained by the Japanese and USA domestic standardization programmes and by the International Federation of Clinical Chemistry reference laboratories, *Ann. Clin. Biochem.* 42 (2005) 41–46.
- [7] J.A. Hanley, B.J. McNeil, The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve, *Radiology* 143 (1982) 29–36.
- [8] Statistics Bureau, Projected Japanese Population in 1st October 2002, <http://www.stat.go.jp/data/jinsui/2002np/zuhyou/05k3f-3.xls> (In Japanese).
- [9] K.H. Gabbay, K. Hasty, J.L. Brislow, R.C. Ellison, H.F. Bunn, P.M. Gallop, Glycosylated haemoglobin and long term blood glucose control in diabetes mellitus, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44 (1977) 859–864.
- [10] D.E. Goldstein, Is glycosylated hemoglobin clinically useful? *N. Engl. J. Med.* 310 (1984) 384–385.
- [11] D.M. Nathan, D.E. Singer, K. Hurxthal, J.D. Goodson, The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay, *N. Engl. J. Med.* 310 (1984) 341–346.
- [12] D.R. McCance, R.L. Hanson, M.A. Charles, L.T.H. Jacobsson, D.J. Pettitte, P.H. Bennett, et al., Comparison of test for glycosylated haemoglobin and fasting and two hour plasma glucose concentration as diagnostic methods for diabetes, *BMJ* 308 (1994) 1323–1328.
- [13] M.M. Engelgau, T.J. Thompson, W.H. Herman, J.P. Boyle, R.E. Aubert, S.J. Kenny, et al., Comparison of fasting and 2-hour glucose and HbA1c levels for diagnosing diabetes: diagnostic criteria and performance revised, *Diab. Care* 20 (1997) 785–791.
- [14] C.L. Rohlfing, R.R. Little, H.M. Wiedmeyer, J.D. Engkand, R. Madsen, M.I. Harris, et al., Use of GHb (HbA1c) in screening for undiagnosed diabetes in the U.S. population, *Diab. Care* 23 (2000) 187–191.
- [15] E. Lester, The clinical value of glycosylated hemoglobin and glycosylated plasma proteins, *Ann. Clin. Biochem.* 26 (1989) 213–219.
- [16] R.D. Forrest, C.A. Jackson, J.S. Yidkin, The glycohemoglobin assay as a screening test for diabetes mellitus: the Islington Diabetes Survey, *Diab. Med.* 4 (1987) 254–259.
- [17] R.L. Hanson, R.G. Nelson, D.R. McCance, J.A. Beart, M.A. Charles, D.J. Pittitt, et al., Comparison of screening tests for non-insulin dependent diabetes mellitus, *Ann. Intern. Med.* 53 (1993) 2133–2140.
- [18] C. Glümer, T. Jorgensen, K. Borch-Johnsen, Targeted screening for undiagnosed diabetes reduces the number of diagnostic test. *Inter* 99(8), *Diabet. Med.* 21 (2004) 874–880.
- [19] M. Miyazaki, M. Kubo, Y. Kiyohara, K. Okubo, H. Nakamura, K. Fujikawa, et al., Comparison of diagnostic methods for diabetes mellitus based on prevalence of retinopathy in a Japanese population: the Hisayama Study, *Diabetologia* 47 (2004) 1411–1415.
- [20] K.T. Khaw, N. Wareham, S. Bingham, R. Luben, A. Welch, N. Day, Association of hemoglobin A1c with cardiovascular disease and mortality in adults: the European prospective investigation into cancer in Norfolk, *Ann. Intern. Med.* 14 (2004) 413–420.
- [21] T. Nakagami, the DECODA Study Group, Hyperglycaemia and mortality from all causes and from cardiovascular disease in five populations of Asian origin, *Diabetologia* 47 (2004) 385–394.
- [22] DECODE, Study Group, Is the current definition for diabetes relevant to mortality risk from all causes and cardiovascular and non-cardiovascular diseases? *Diab. Care* 26 (2003) 688–696.
- [23] Japan Diabetes Society: Guideline for Treatment of Diabetes Mellitus 2006–2007, Tokyo, Japan, Japan Diabetes Society, 2006 (In Japanese).
- [24] M. Shichiri, H. Kishikawa, Y. Ohkubo, N. Wake, Long-term results of the Kumamoto study on optimal diabetes control in type 2 diabetic patients, *Diab. Care* 23 (Suppl. 2) (2000) B21–B29.
- [25] UKPDS, Group, Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group, *Lancet* 352 (1998) 837–853.



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.CRMLN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、三つ目の役目として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)、シスメックス(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発見する。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、足りなかっ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 (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】

リポ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らうか。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年のロサンゼルスでの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、世界中のユーザーや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出来る。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 Gerald 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ン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”のテーマの下に、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”の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(オランダ)】

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:オランダ、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荣誉ある賞である。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。

懇親会に続いて、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”の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、極めて大切なことであることを再強調した。

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、あとの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、協和メデックスの栢原典彦氏は“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測定試薬の完全除去法としての基本性能を中心に、興味あるデータが示された。

【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会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、第一化学の斉藤和典氏が「Reactivity of Cholestest LDL: Analytical Approach to Poly-Disperse Lipoproteins」と題して第一化学のコレストテスト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、

第四に和光純薬の檜曜氏は「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ほしいのか、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。

生理的変動を基本とした許容誤差規準

1. はじめに

検査データの生理的変動には、個体内生理的変動と個体間生理的変動が存在する。

北村(1966)¹⁾は、個人の生理的変動幅を調べることに、個体内生理的変動が個体間生理的変動に比べて著しく狭い成分のあることに着目し、個体内生理的変動の標準偏差の1/2を測定誤差の許容規準とすることを提唱した。その後Cotlove(1970)²⁾も生理的変動について検討を行い同様の考え方を提唱している。

1976年米国College of American Pathologists (CAP)は、健常者集団から疾患患者を同定することを目的とするスクリーニング検査における精密さの目標を $CV \leq 1/2$ ($CV_I^2 + CV_G^2$)^{1/2}と規定し、これを長期的な精密度の規準とすること、及び個人を対象とした単一又は多項目検査における精密さの目標を $CV \leq 1/2 CV_I$ と規定し、これを短期的な精密度の規準とすることを勧告した³⁾。

1992年、欧州における臨床化学の試薬及び分析システムの評価に関する欧州グループ(略称:EGE-Lab)は、総精密度について $CV \leq 1/2 CV_I$ あるいは精度管理調査で得られた現行の技術水準(state-of-the-art)の上位20%の施設の変動以内、及びかたよりについて $bias \leq 1/4$ ($CV_I^2 + CV_G^2$)^{1/2}あるいはもしこれが厳しい場合はこのかたよりの2倍以内という規準を勧告している⁴⁾。これらの規準の中で、北村が最初に提案した分析の精密さを生理的変動の標準偏差の1/2以下とする考え方は、現在国際的にも基本的な規準として理解され広く活用されている。

この解説の参考に用いた書籍⁶⁾の著者であるFraserは、上記欧州グループによる勧告論文⁴⁾の主筆者でもあり、1980年代初頭⁵⁾以来臨床生化学検査の分析上の目標に関する多くの論文を発表しており、その著書である検査データの生理的変動—原理から実践へ—⁶⁾は彼の研究の集大成でもある。

2. 検査結果の変動要因

報告される検査結果の変動要因は、1) 分析前変動、2) 分析時変動、3) 固有の生理的変動の3因子に大別できる。

1) 分析前変動

患者に関連する変動(患者の状態、摂食の有無、体位、運動などが関連する)

試料採取に関連する変動(試料のタイプ、搬送、保存などが関連する)

2) 分析時変動

偶然誤差(測定値のばらつきとなって現れる誤差で測

定の精密さに関連する)

系統誤差(測定値のかたよりになって現れる誤差で測定

の正確さに関連する)

3) 固有の生理的変動(個体内生理的変動)

各個人の恒常性調節点周囲の変動を個体内生理的変動という。恒常性調節点は個人により異なり、恒常性調節点の個人間の差を個体間生理的変動という。

3. 生理的変動に関するデータ

1) 個体内及び個体間生理的変動の平均値の求め方

- ①明らかに健康なボランティアグループを募集
- ②各個人から一定の時間間隔で連続的な試料を採取
- ③各試料を分析用に保存
- ④各試料を同一分析法で分析
- ⑤結果を統計的解析法である分散分析法(ANOVA)により個体内生理的変動の平均値及び個体間生理的変動の平均値を計算

2) データベース

生理的変動の平均値に関するデータについては種々の報告がある。わが国では、飯塚ら(1992)⁷⁾、細萱ら(1994)⁸⁾の報告が広く知られている。外国では、代表的なデータベースとしてRicosら(1999)⁹⁾の膨大なデータベースがあり、現在インターネットで検索が可能である。

(<http://www.westgard.com/guest17.htm>)

Fraserは、現在個体内生理的変動に関する多くの報告があるが、対象者の数、検討期間、方法論、検討を実施した国に関係なく不変であるという仮説が少なくとも血清成分についてはあてはまる事実を述べ、この不変性は個体内生理的変動が単一の動物種(ヒト)における定量的推定であるから驚くことはない述べている。そこで各検査室が自分たちのデータを作成するために労力を割くよりも既に存在するデータベースを活用することを勧めるとともに、Ricosらのデータの一部を著書⁶⁾に掲載している。

4. 生理的変動に基づく許容誤差規準

Fraserは、生理的変動に基づく許容誤差規準を1) 精密さの許容誤差、2) かたよりの許容誤差、3) 許容総誤差の3種類に分類し、さらにそれぞれの許容誤差について、(1) 望ましい性能、(2) 最適性能、(3) 最低限の性能の3段階に分類している。以下にその概要を述べる。

1) 精密さの許容誤差

分析の精密さを個体内生理的変動の標準偏差(又は変動係数)の1/2以下とする考え方が基本となっている。

検査室で測定される全ての分析成分は、前述のごとく検査前変動、検査時変動、個体内生理的変動の影響を受けるが、検査前変動は無視できる程度という前提をおくと、総変動 (CV_T) は以下の式で表すことができる。

$$CV_T = (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$$

ただし、CV_A:分析の変動、CV_I:個体内生理的変動いま、分析の変動が個体内生理的変動の1/2であるとすると、この式は以下のように表すことができる。

$$CV_T = [(1/2 \times CV_I)^2 + CV_I^2]^{1/2} = (5/4 \times CV_I^2)^{1/2} = 1.118CV_I$$

すなわち分析の変動が個体内生理的変動の1/2であれば、個体内生理的変動が分析の変動により11.8%の揺らぎを生じることを示している。

Fraserは、この規準を望ましい性能と呼び、その前後に最適性能、最低限の性能を設け、以下の3段階の評価規準を設定している。

(1) 望ましい性能 (desirable performance) :

$$CV_A < 0.50CV_I$$

(2) 最適性能 (optimum performance) :

$$CV_A < 0.25CV_I$$

(3) 最低限の性能 (minimum performance) :

$$CV_A < 0.75CV_I$$

2) かたよりの許容誤差

Fraserは、かたよりを個体内生理的変動 (CV_I) と個体間生理的変動 (CV_G) を加算 [(CV_I²+CV_G²)^{1/2}] したものと定義し、そのかたよりに係数を乗じて、以下の望ましい性能、最適性能、最低限の性能の3段階に分類した。

(1) 望ましい性能 (desirable performance) :

$$B_A < 0.250 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

(2) 最適性能 (optimum performance) :

$$B_A < 0.125 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

(3) 最低限の性能 (minimum performance) :

$$B_A < 0.375 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

3) 許容総誤差

Fraserは、総誤差を個体内生理的変動 (CV_I) とかたより [(CV_I²+CV_G²)^{1/2}] を加算したものと定義し、精密さの許容誤差及びかたよりの許容誤差を加算し、その許容総誤差を片側95%信頼区間で表し、以下の望ましい性能、最適性能、最低限の性能の3種類に分類した。

(1) 望ましい性能 (desirable performance) :

$$TEa < 1.65 (0.50CV_I) + 0.250 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

ただし、TEa:分析上の総誤差、1.65:片側95%信頼区間のSDの倍数 (1.65SD)

(2) 最適性能 (optimum performance) :

$$TEa < 1.65 (0.25CV_I) + 0.125 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

注:現在の技術及び方法論を使用して望ましい性能を

容易に満たすことができる分析成分についてこの規格を用いる(例えばCK活性、中性脂肪など)⁶⁾。

(3) 最低限の性能 (minimum performance) :

$$TEa < 1.65 (0.75CV_I) + 0.375 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

注:現在の技術及び方法論を使用して望ましい性能を容易に満たすことができない分析成分についてこの規格を用いる(例えば血清カルシウム、ナトリウム、クロールなど)⁶⁾。

5. 従来の評価規準との関連性

精度管理調査結果は、一般的に参加施設の報告値から計算された同一測定法群 (peer group) の平均値、標準偏差を基本として評価されている。具体的には、評価規準は標準偏差 (SD) の倍数で評価段階を設定し、1SD未満をA、1SD~2SD未満をB、2SD~3SD未満をC、3SD以上をDとしているのが一般的である。しかし、近年の分析技術の向上の結果として項目により peer groupの標準偏差が極めて小さい例がみられ、必要以上に厳しい評価となることが問題となっている。

そこで、報告単位幅での補正や一部の項目について固定評価規準を適用するなどの試みが行われている。これらの試みは特定のプログラム又は特定の地域に限定されるという問題点が残る。今後、共通の根拠に基づいたグローバルな評価規準を想定した場合、個体内、個体間生理的変動を基本とした評価規準は、検討に値するのではないかと考えている。従来の評価法による結果と比較検討を行った上で活用する時期が来ているように思われる。

なお、紙面の都合で参考文献の表題はやむなく割愛させていただきました。

6. 参考文献

- 1) 北村元仕:医学の歩み、59分冊:383-394,1966.
- 2) Cotlove E et al: Clin Chem 16:1028-1032, 1970.
- 3) Elevitch R, ed: CAP Conference Report, 1976.
- 4) Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Ricos C, Haeckel R: Eur J Clin Chem Clin Biochem 30:311-317, 1992.
- 5) Fraser CG: Prog Clin Pathol 8:101-122, 1981.
- 6) Fraser CG著 (中甫訳): 医歯薬出版 (東京), 2004.
- 7) 飯塚儀明、堀越晃:医学検査 41:1708-1714, 1992.
- 8) 細萱茂美、久米章司:第14回日本臨床化学会夏期セミナー抄録 118a-123a, 1994.
- 9) Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez a, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M: Scand J Clin Lab Invest 59:491-500, 1999. (中甫)