

国民健康・栄養調査の血液検査に関する精度管理マニュアル

精度管理マニュアルの基本構造は、内部精度管理による「精密度」管理と外部精度管理による「正確度」管理の両面で構成されることを原則とし、国民健康・栄養調査で得られる成績の経年的な継続性と国際的な互換性を確保することを目標とする。精度管理マニュアルに基づいて作成された精度管理報告書は、簡潔で誰にでも理解してもらえることを旨として、過去 10 年間の精度管理成績を経年的に比較して一覧できるような形で編集する。その後、厚生労働省の所轄課に、報告することとする。

● 精密度の管理では測定値の再現性に重点を置き、エスアールエルにおける内部精度管理システムを基本的に採用する。

【内部精度管理による精密度の評価】

精密度の評価方法

精密度の内部精度管理では、 \bar{X} -R-Rs 管理図法を用いる。精密度を判断する指標として、変動係数 (CV,%) を用いる。精度管理物質の測定値から、各測定項目について 1 測定日当たり 1 個の測定値 (n=1) を無作為に抽出し、最低 20 日間の測定値から変動係数を計算する。変動係数の計算は次式による。

$$\text{変動係数 (CV, \%)} = \frac{\text{標準偏差}}{\text{平均値}} \times 100$$

(1) 国民健康・栄養調査の実施年度における精密度の評価について

実施年度において毎月の変動係数を計算し、表に示す。この成績から変動係数の許容上限として、血液化学検査については平均値+2SD を、また、血液検査については平均値+3SD を設定する。実施年度における 11 月分の変動係数が許容上限を超えない場合に、実施年度における精密度を「良」と判定する。

(2) 経年変動に基づく精密度の評価について

過去 10 年間の内部精度管理における 11 月度分の変動係数を求める。この成績から変動係数の許容上限として、血液化学検査については平均値+2SD を、また、血液検査については平均値+3SD を設定する。実施年度における変動係数が許容上限を超えない場合に、経年的な精密度を「良」と判定する。

● 正確度の管理では測定値の正確性と互換性に重点を置き、エスアールエルが参加している外部精度管理システムを基本的に採用する。

【外部精度管理による正確度の評価】

正確度の評価方法

正確度の外部精度管理では、以下の 3 つの精度管理調査システムによる評価を採用する。

(1) 日本医師会の臨床検査精度管理調査では、「A, B, C, D」の 4 段階方式による相対評価を採用する。

(2) 日本臨床検査技師会の臨床検査精度管理調査では、「A, B, C, D」の 4 段階方式による相対評価を採用する。

(3) CDC と CRMLN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network) による脂質 3 項目を対象とした脂質標準化プログラムでは、CDC による絶対評価を採用する。CDC/CRMLN による絶対評価方式は、国際的な互換性に耐える利点がある。

(4) その他の外部精度管理方式として、米国の CAP (College of American Pathologists)による評価を必要に応じて適用する。

1) 日本医師会の臨床検査精度管理調査に基づく相対評価

日本医師会による臨床検査精度管理調査は毎年 10 月に実施されている。すべての検査項目を対象に、日本医師会の臨床検査精度管理調査における、「A、B、C、D」方式による評価方式を採用する。日本医師会の 4 段階方式は、以下に定義される SDI という指数 (standard deviation index) を用いて評価する方式である。

$$SDI \text{ (偏差度)} = (\text{各施設の測定値} - \text{施設間の平均値}) / \text{施設間の標準偏差}$$

評価基準は「|SDI|」が 1 以内であれば評価 A、1 を超えて 2 以内であれば評価 B、2 を超えて 3 以内であれば評価 C、3 を超える場合は評価 D と判定される。

2) 日本臨床検査技師会の臨床検査精度管理調査に基づく相対評価

日本臨床検査技師会 (以下、日臨技と略) の臨床検査精度管理調査は毎年 6 月に実施されている。日臨技による臨床検査精度管理調査では、「○△×」方式による 3 段階の評価方式である。この 3 段階方式の評価は、それぞれの項目毎に設定された許容範囲をベースにして、許容範囲内にあれば「○」、許容範囲の 2 倍以内にあれば「△」、それ以上は「×」の評価が与えられる。ただし、平成 23 年度の精度管理調査より従来の「○△×」方式から「A,B,C,D」評価に変更された。この方式は、項目毎に基準 (許容誤差範囲) を設けて評価する方式である。

評価 A : 「基準」を満たし、きわめて優れている。

評価 B : 「基準」を満たしているが、改善の余地あり

評価 C : 「基準」を満たしておらず、改善が必要

評価 D : 「基準」から極めて大きく逸脱し、早急な改善が必要

3) CDC/CRMLN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network) に基づく絶対評価

脂質の 3 項目を対象とする。基準分析法で確立された目標値と標準化に参加した分析室の測定値との差 (バイアス) を計算し、CDC の判定基準に照らして正確度の評価を行う。精密度も数値評価が可能となる。この方式は、「A、B、C、D」方式や「○△×」方式と違って、測定精度を直接、数値で評価できる点で絶対評価とみなされ、その評価は国際的に通用する。CDC/CRMLN による精密度と正確度の判定基準を次表に示した。

【CDC の判定基準】

測定項目	精密度 (CV)	正確度 (%Bias)	総合誤差 (%)
総コレステロール	3%以下	±3%以下	8.9%以下
HDL コレステロール	4%以下	±5%以下	13%以下
LDL コレステロール	4%以下	±4%以下	12%以下

表1 国民健康・栄養調査における血液化学検査・血液検査の対象項目の経年推移

	平成9年	平成10年	平成11年	平成12年	平成13年	平成14年	平成15年	平成16年	平成17年	平成18年	平成19年	平成20年	平成21年	平成22年	平成23年	平成24年	平成25年	平成26年
国民健康・栄養調査検体数		6879	5492	5743	5592	5413	5327	3921	3877	4319	4020	4517	4300	3889	3515	14151	3314	3565
西暦	1997年	1998年	1999年	2000年	2001年	2002年	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年
備考				第5次基礎調査														
1 総コレステロール	○	○	○	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
2 HDLコレステロール	○	○	○	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
3 LDLコレステロール											○	○	○	○	○	○	○	○
4 トリグリセライド(中性脂肪)	○	○	○	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○
5 総蛋白	○	○	○	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○
6 アルブミン							○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○
7 クレアチニン				◎								○	○	○	○		○	○
8 グルコース(ブドウ糖)	○	○	○	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○
9 γ-GTP				◎										○	○		○	○
10 尿酸				◎										○	○		○	○
11 尿素窒素				◎														
12 AST(GOT)														○	○		○	○
13 ALT(GPT)														○	○		○	○
14 ヘモグロビンA1c						○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
15 フェリチン							○	○	○	○	○	○	○					
16 TIBC(総鉄結合能)														○	○		○	○
17 血清鉄														○	○		○	○
18 白血球							○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○
19 赤血球		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○
20 血色素量		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○
21 ハマトクリット値							○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○
22 血小板数							○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○

◎は、平成12年(2000年)の第5次循環器疾患基礎調査における測定項目。

H7170による血液化学検査は、平成6年から平成20年までの14年間、実施された。

平成21年からは、H7170から日本電子BM8060に切り替えられた。

表2 SRLの測定精度に対する判定結果

対象項目	Proposed TE Criteria (J Epi. 2013)			平成23年度(2011年)		平成24年度(2012年)		平成25年度(2013年)		平成26年度(2014年)	
	Acceptable	Borderline	Unacceptable	TE	判定結果	TE	判定結果	TE	判定結果	TE	判定結果
TC	< 2.9%	2.9 ~ 5.7 %	≥ 5.8%	1.8%	Acceptable	3.4%	Borderline	2.3%	Acceptable		
HDL-C	< 5.0%	5.0 ~ 9.9 %	≥ 10.0 %	5.3%	Borderline	3.5%	Acceptable	3.1%	Acceptable		
LDL-C	< 5.0%	5.0 ~ 10.0 %	≥ 10.1 %	2.8%	Acceptable	3.7%	Acceptable	2.9%	Acceptable		
TG	< 5.3%	5.3 ~ 10.4 %	≥ 10.5%	4.4%	Acceptable	3.8%	Acceptable	4.0%	Acceptable		
総蛋白	< 3.4%	3.4 ~ 6.6 %	≥ 6.7%	5.8%	Borderline			3.5%	Borderline		
アルブミン	< 3.8%	3.8 ~ 7.6 %	≥ 7.7 %	7.1%	Borderline			5.1%	Borderline		
クレアチニン	< 5.5%	5.5 ~ 10.8 %	≥ 10.9 %	6.2%	Borderline			3.5%	Acceptable		
ブドウ糖	< 3.3%	3.3 ~ 6.5 %	≥ 6.6%	2.6%	Acceptable			3.3%	Acceptable		
GTP	< 4.9%	4.9 ~ 9.7 %	≥ 9.8%	4.9%	Acceptable			5.5%	Borderline		
尿酸	< 3.9%	3.9 ~ 7.7 %	≥ 7.8 %	3.3%	Acceptable			2.6%	Acceptable		
GOT	< 4.6%	4.6 ~ 9.2 %	≥ 9.3 %	3.9%	Acceptable			4.6%	Acceptable		
GPT	< 4.8%	4.8 ~ 9.5 %	≥ 9.6 %	5.6%	Borderline			7.7%	Borderline		
HbA1c	< 3.3%	3.3 ~ 6.5 %	≥ 6.6%	4.0%	Borderline	4.8%	Borderline	4.3%	Borderline		

TE (Total error)= | 正確度 | + 1.96 CV

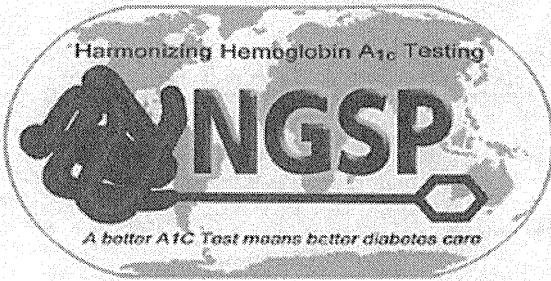
表3 Comparison results of net TG by JMA and target value by GC-IDMS using 2013 survey samples

No.	GC-IDMSによる目標値	JMA surveyによる測定値	JMA %Bias vs. GC-IDMS	SRLによる測定値	SRL %Bias vs. GC-IDMS
6	168.4 mg/dL	169.0 mg/dL (n=2764)	0.36%	168 mg/dL	-0.24%
7	98.3 mg/dL	93.9 mg/dL (n=2766)	-4.48%	94 mg/dL	-4.37%
8	136.9 mg/dL	134.1 mg/dL (n=2764)	-2.05%	133 mg/dL	-2.85%

JMA: 日本医師会

GC-IDMS: 質量分析計

☒ 1 HbA1c certificate of NGSP traceability



Certificate of Traceability

Level I Laboratory Certification

This certifies that National Cerebral and Cardiovascular Center, Department of Preventive Cardiology, using Tosoh G8 has participated in and successfully completed NGSP Level I Laboratory certification and is traceable to the Diabetes Control and Complications Trial Reference method. The comparison was performed with: University of Missouri SRL#9

The system evaluated was:

Instrument: G8	Calibrator Lot: ZS3001	Column Lot: F
Reagent Lot: F8-152Y, F8-251Y, F8-351Y, HW-10Y	Calibrator Assigned Values: 5.79%, 10.94%	

Date of Certification: December 1, 2014

Certification Expires: December 1, 2015

Daniel Smith
NGSP Steering Committee Chair

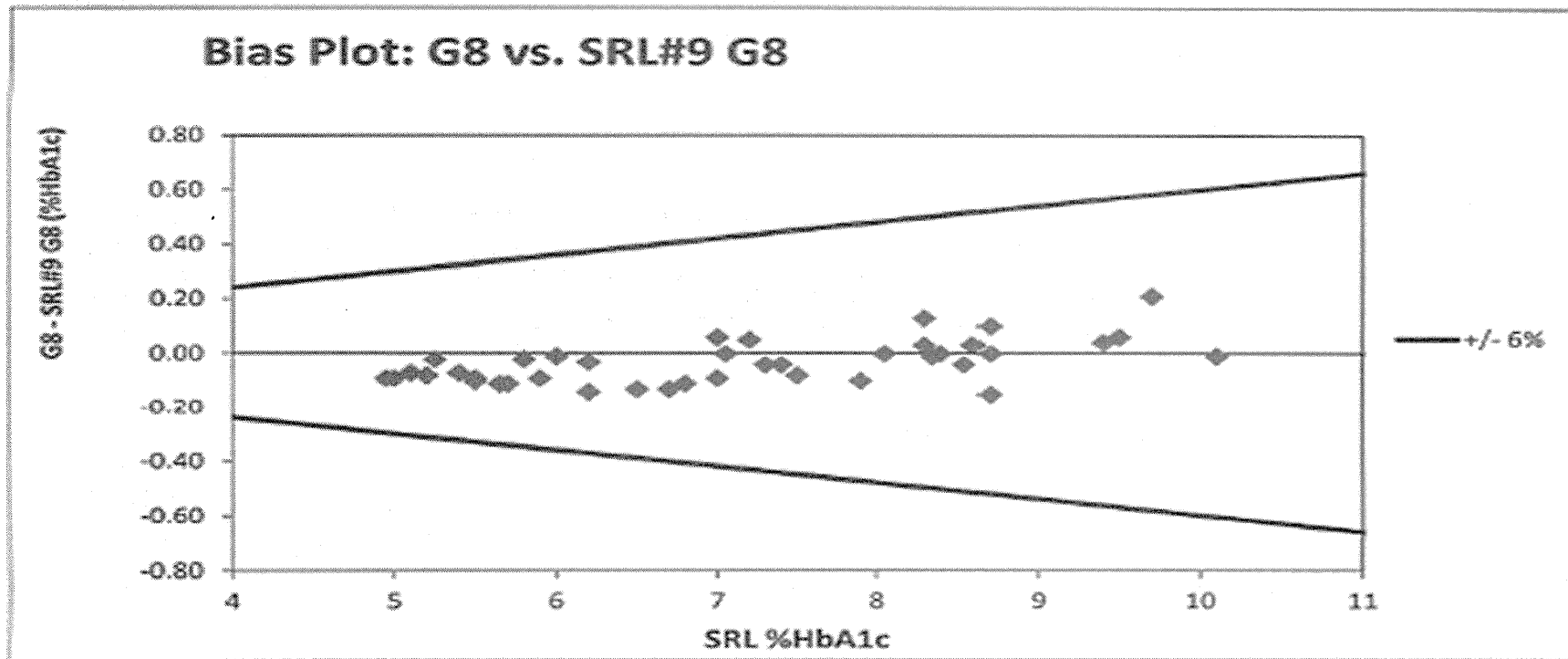
Randie R Little PhD.
NGSP Network Coordinator

Sharon Amalfi
SRL director/ supervisor

☒ 2 Method comparison evaluation report of HbA1c



Method Comparison Evaluation Report



Ⅲ.研究成果の刊行に関する一覧表

論文発表

1	著者名	Masakazu Nakamura, Shinji Yokoyama, Yuzo Kayamori, et al.
	論文題目	HDL cholesterol performance using an ultracentrifugation reference measurement procedure and the designated comparison method
	雑誌名	Clinica Chimica Acta. 2015; 439: 185-190
2	著者名	西 信雄、吉澤剛士、池田奈由、坪田 恵、奥田奈賀子
	論文題目	国民健康・栄養調査の血液検査への協力に関連する要因
	雑誌名	日循予防誌 2015; 50(1):27-34
3	著者名	松下宗洋, 澤田 亨, 中潟 崇, 西 信雄, 奥田奈賀子, 宮地元彦
	論文題目	国民健康・栄養調査の歩数データの特徴
	雑誌名	日本公衆衛生雑誌 2014; 61(11):686-692



HDL cholesterol performance using an ultracentrifugation reference measurement procedure and the designated comparison method[☆]

Masakazu Nakamura^{a,*}, Shinji Yokoyama^b, Yuzo Kayamori^c, Hiroyasu Iso^d, Akihiko Kitamura^d, Tomonori Okamura^e, Masahiko Kiyama^f, Hiroyuki Noda^{d,g}, Kunihiro Nishimura^h, Michikazu Nakaiⁱ, Isao Koyama^a, Mahnaz Dasti^j, Hubert W. Vesper^j, Tamio Teramoto^k, Yoshihiro Miyamoto^l

^a National Cerebral and Cardiovascular Center, Department of Preventive Cardiology, Lipid Reference Laboratory, Japan

^b Nutritional Health Science Research Center, Chubu University, Japan

^c Department of Health Sciences, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University, Japan

^d Public Health, Department of Social and Environmental Medicine, Graduate School of Medicine, Osaka University, Japan

^e Department of Preventive Medicine and Public Health, Keio University, Japan

^f Osaka Center for Cancer and Cardiovascular Disease Prevention, Japan

^g Cancer Control and Health Promotion Division, Health Service Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan

^h National Cerebral and Cardiovascular Center, Department of Preventive Medicine and Epidemiologic Informatics, Office of Evidence-based Medicine and Risk Analysis, Japan

ⁱ National Cerebral and Cardiovascular Center, Department of Preventive Medicine and Epidemiologic Informatics, Japan

^j Division of Laboratory Sciences, National Center for Environmental Health, Centers for Disease Control and Prevention, USA

^k Teikyo Academic Research Center, Teikyo University, Japan

^l National Cerebral and Cardiovascular Center, Department of Preventive Cardiology, Department of Preventive Medicine and Epidemiologic Informatics, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 September 2014

Received in revised form 6 October 2014

Accepted 27 October 2014

Available online 31 October 2014

Keywords:

HDL cholesterol

Ultracentrifugation

Designated comparison method

CDC

CRMLN

ABSTRACT

Background: Accurate high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) measurements are important for management of cardiovascular diseases. The US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN) perform ultracentrifugation (UC) reference measurement procedure (RMP) to value assign HDL-C. Japanese CRMLN laboratory (Osaka) concurrently runs UC procedure and the designated comparison method (DCM). Osaka performance of UC and DCM was examined and compared with CDC RMP.

Methods: CDC RMP involved UC, heparin-MnCl₂ precipitation, and cholesterol analysis. CRMLN DCM for samples containing <200 mg/dl triglycerides involved 50-kDa dextran sulfate-MgCl₂ precipitation and cholesterol determination.

Results: HDL-C regression equations obtained with CDC (x) and Osaka (y) were $y = 0.992x + 0.542$ ($R^2 = 0.996$) for Osaka UC and $y = 1.004x - 0.181$ ($R^2 = 0.998$) for DCM. Pass rates within ± 1 mg/dl of the CDC target value were 91.9 and 92.1% for Osaka UC and DCM, respectively. Biases at 40 mg/dl HDL-C were +0.22 and -0.02 mg/dl for Osaka UC and DCM, respectively.

Conclusions: Osaka UC and DCM were highly accurate, precise, and stable for many years, assisting manufacturers to calibrate products for clinical laboratories to accurately measure HDL-C for patients, calculate non-HDL-C, and estimate low-density lipoprotein cholesterol with the Friedewald equation.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

A low high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) level is a strong biomarker for predicting the risk of cardiovascular diseases (CVD), as demonstrated by several epidemiological studies and clinical trials

[☆] Disclaimer: The results and conclusions in this study are those of the authors and do not necessarily represent the views of the Centers for Disease Control and Prevention.

* Corresponding author at: National Cerebral and Cardiovascular Center, Department of Preventive Cardiology, Lipid Reference Laboratory, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan. Tel.: +81 6 6833 5004; fax: +81 6 6833 5300.

E-mail address: nakamura.masakazu.hp@ncvc.go.jp (M. Nakamura).

[1–3]. The US National Cholesterol Education Program (NCEP) estimated that each 1% increase in HDL-C may be associated with a 2–4% decrease in the risk of coronary heart disease (CHD), and clinical trials on low-density lipoprotein-lowering therapies have shown that concomitant increases in HDL-C confer an additional independent reduction in the risk of CHD [4]. HDL-C together with low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol, and triglycerides form a lipid panel that is measured in routine patient care to determine and monitor the risk of a patient developing CVD.

Accurate and reproducible HDL-C measurements are of particular importance for correctly and consistently classifying individuals at risk of CVD, as outlined in the clinical guidelines for the subsequent

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2014.10.039>

0009-8981/© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

diagnosis, treatment, and prevention of patients [5–7]. Furthermore, the US NCEP reported [4] that the accuracy of HDL-C was particularly important because (a) the inverse association of HDL-C with the risk of CHD is expressed over a relatively narrow concentration range, (b) the medical decision cut-off point (40 mg/dl) for an increased risk of CHD is at the lower end of the HDL-C concentration range, at which small errors can have a strong impact on patient classification, and (c) the calculation of non-HDL-C [8,9] or LDL-C using the Friedewald equation [10]. Inaccurate HDL-C measurements also lead to errors in the estimation of LDL-C.

Previous studies recommended that the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) reference measurement procedure (RMP) should be used to achieve accurate HDL-C measurements. CDC RMP is a three-step procedure [11,12]: (1) ultracentrifugation (UC) at $d = 1.006$ kg/l to remove triglyceride-rich lipoproteins; (2) precipitation of apo B-containing lipoproteins from the ultracentrifugal infranant with heparin-MnCl₂; (3) measurement of cholesterol in the heparin-MnCl₂ supernatant using the CDC reference method for cholesterol [13]. However, ultracentrifugal measurements of HDL-C have low sample throughput and require equipment that is not commonly available in routine clinical laboratories. Therefore, the Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN) sought to implement a designated comparison method (DCM) [14–16] with the objective of better assisting reagent manufacturers in the calibration of their products so that clinical laboratories could more accurately measure HDL-C for patients, calculate non-HDL-C, and estimate LDL-C with the Friedewald equation.

The CDC UC method has been accepted as the most reliable RMP for HDL-C and the CRMLN DCM is an accurate, robust, transferable and practical method for clinical laboratories and manufacturers. As part of the CRMLN activities, the National Cerebral and Cardiovascular Center at Osaka, Japan has implemented and maintained 1) the UC method, which is same as CDC RMP, for 17 years since May 1997 and 2) DCM for 20 years since April 1994. We measured the performance of both HDL-C reference methods in terms of accuracy and reproducibility after many years using comparisons with CDC RMP.

2. Materials and methods

2.1. Materials

All standardization pools for HDL-C were prepared according to the Clinical Laboratory Standards Institute document C37-A (Preparation and Validation of Commutable Frozen Human Serum Pools as Secondary Reference Materials for Cholesterol Measurement Procedures; Approved Guideline), which implied that no preservatives or no additives were added. All survey pools were blinded to the CRMLN laboratories. They were shipped frozen from CDC and stored at -70 °C before analysis.

HDL-C assays were conducted in the Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases between July 1997 and June 2001, in the Osaka Medical Center for Health Science and Promotion between July 2001 and March 2012, and in the National Cerebral and Cardiovascular Center at Osaka continuously from April 2012 (all laboratories were referred to as the 'Osaka' laboratory).

2.2. Methods

2.2.1. CDC reference measurement procedure for ultracentrifugation

The first step of CDC RMP employed preparative ultracentrifugation (Beckman Coulter, Optima L-70 K and/or Optima XE-90) to remove apo B-containing lipoproteins [11,12]. The methods at CDC and Osaka used 5.00 ml of serum at a density of $d = 1.006$ kg/l (0.195 mol/l NaCl solution) and a 50.4Ti rotor (Beckman Coulter). UC at CDC was carried out for 16.2 h at 120,000 $\times g$ and 18 °C, and at Osaka for 18.5 h at 105,000 $\times g$ and 18 °C. After UC, the top fraction ($d < 1.006$ kg/l)

was removed using tube slicer and the bottom fraction ($d > 1.006$ kg/l) was quantitatively transferred to a 5.00 ml volumetric flask adjusting with 0.15 mol/l NaCl solution [14–16]. In the second step, 1.00 ml aliquots of the bottom fraction were precipitated with 40 μ l heparin (sodium injection, 5000 USP units/ml, Baxter Healthcare Corporation) and 50 μ l manganese reagents (MnCl₂ solution, 1.00 M \pm 0.01 M, SIGMA) [17]. The precipitate was removed for 30 min at 1500 $\times g$ and 4 °C [18–20]. In the third step, HDL-C was determined in the supernatant in duplicate measurements by the Abell-Kendall reference method for cholesterol [13]. The recovered cholesterol value was multiplied by 1.09 to account for the dilution introduced by the addition of the precipitation reagent. Four replicates from each sample were used in comparisons of assay performance.

2.2.2. CRMLN designated comparison method

DCM is a precipitation-based designated comparison method using 50-kDa dextran sulfate (DS)-MgCl₂ as the reagent. DS (stored at 2 to 8 °C. Kept tightly capped in a desiccator in a refrigerator after opening) was obtained from Warnick & Co. and was a special lot (lot#: 162176) for CRMLN use only. All CRMLN laboratories used the same DS lot to minimize potential lot-to-lot variations. MgCl₂·6H₂O (this reagent was highly hygroscopic and had to be dried. A larger amount than was needed was placed in a beaker and dried in an oven at 37 °C for at least one hour) and sodium azide (NaN₃) were obtained from Wako Pure Chemistries Inc. in Japan. The stock solution of DS contained 2.0 g/dl DS including 50 mg/dl NaN₃, while that of MgCl₂ contained 14.22 g/dl including 50 mg/dl NaN₃. The working reagent was prepared by mixing equal volumes. The working solution was stored at 2 and 8 °C [15,16]. Osaka laboratory previously confirmed that it was stable for 3 years.

In the first step, the samples and working reagent were equilibrated to room temperature and mixed at a ratio of 1.00 ml specimen and 0.10 ml working reagent. The samples for DCM required normotriglyceridemic sera including <200 mg/dl in triglycerides because of its limited sedimentation efficiency [16,17]. The samples were then incubated at room temperature for 10–30 min and centrifuged for 30 min at 4 °C at 1500 $\times g$. In the second step, clear supernatants were analyzed using the reference method for cholesterol [13]. The recovered HDL-cholesterol value in the DCM was multiplied by 1.1. HDL-C was assayed in the supernatant in duplicate measurements. Four replicates from one aliquot were used in comparisons of assay performance.

2.3. Performance criteria for HDL-C applied to CRMLN laboratories

The performance criteria for HDL-C applied to the CRMLN lipid reference laboratories are summarized in Table 1. Imprecision is evaluated not in coefficient variation (CV), but in standard deviation (SD, unit: mg/dl), and accuracy is evaluated in bias (mg/dl) from CDC reference value.

2.4. Statistical analysis

We used protocol EP9-A from the Clinical and Laboratory Standards Institute for bias estimation [21] and the STATA12 analysis program for all other calculations.

Table 1
Performance criteria applied to CRMLN lipid reference laboratory using UC method and DCM for HDL-C.

Lipid	Imprecision criterion	Accuracy criterion
HDL-C	Standard deviation ≤ 1 mg/dl	Bias ≤ 1 mg/dl

CRMLN: cholesterol reference method laboratory network. UC: ultracentrifugation. DCM: designated comparison method. HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol.

3. Results

3.1. Accuracy

In the UC procedure at Osaka, the pooled serum with 160 different concentrations (lots) for HDL-C were analyzed among 626 survey samples with 154 survey runs, in which each survey run consisted of 3 to 5 different pools. They were analyzed for 17 years between May 1997 and January 2014. The concentration ranges were 26.9–78.9 mg/dl. In the scatter plots of bias (unit: mg/dl) between Osaka (y) and CDC (x), $y = -0.008x + 0.540$ ($R^2 = 0.017$). The p-values and 95% confidence interval (CI) of the slopes and intercepts were 0.001 and (-0.013, -0.003), and <0.001 and (0.296, 0.784), respectively (Table 2). The Osaka laboratory met acceptable accuracy goals for 91.9% (575 of 626 samples) within ± 1 mg/dl of the CDC reference values (Fig. 1A). Biases between the target values of CDC and the measurements of Osaka at two medical decision points of 40 and 60 mg/dl were 0.22 and 0.06 mg/dl, respectively, both of which were slightly on the positive side. Although the bias and SD scattering of DCM appeared to be slightly better than that of CDC RMP, no significant differences (p-value: 0.05) were observed in the accuracy or precision of the 2 procedures.

In the DCM at Osaka, the pooled serum with 163 different concentrations (lots) for HDL-C were analyzed among 570 survey samples with 147 survey runs, in which each survey run consisted of 3 to 4 different pools. They were analyzed for 20 years between April 1994 and January 2014. The concentration ranges were 20.8–86.0 mg/dl. In the scatter plots of bias (unit: mg/dl) between Osaka (y) and CDC (x), $y = 0.004x - 0.181$ ($R^2 = 0.006$). The p-values and 95% CI of the slopes and intercepts were 0.065 and (-0.0002, 0.007), and 0.062 and (-0.370, 0.009), respectively (Table 2). The Osaka laboratory met acceptable accuracy goals for 92.1% (525 of 570 samples) within ± 1 mg/dl of the CDC reference values (Fig. 1B). Biases between the target values of CDC and measurements of Osaka at two medical decision points of 40 and 60 mg/dl were -0.02 and +0.06 mg/dl, respectively, both of which were slightly biased.

3.2. Precision

In the scatter plots of SD between Osaka (y) and CDC (x), y (SD, mg/dl) = $0.002x$ (CDC reference value) + 0.270 [n: 626, $R^2 = 0.006$]. The p-value and 95% CI for the slope were 0.056 and (-0.00005, 0.0036), respectively. The p-value and 95% CI for the intercept were <0.001 and (0.179, 0.360), respectively (Table 2). The Osaka laboratory met acceptable precision goals for 97.9% (613 of 626 samples) within ± 1 mg/dl. The maximum SD at Osaka UC was 2.3 mg/dl (Fig. 2C).

In the scatter plots of SD between Osaka (y) and CDC (x), y (SD, mg/dl) = $0.001x$ (CDC reference value) + 0.218 [n: 570, $R^2 = 0.005$].

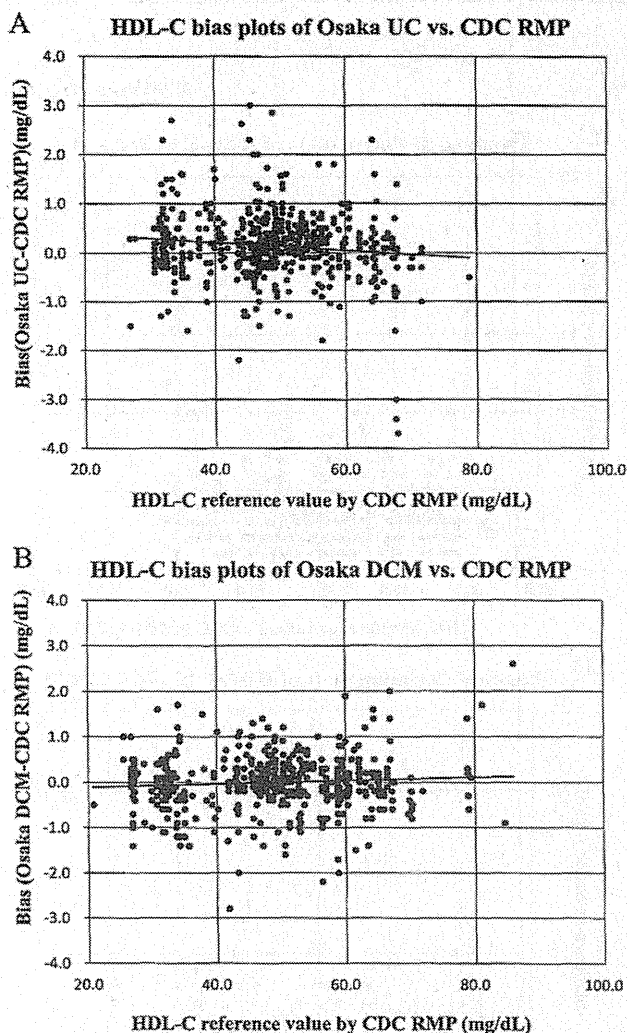


Fig. 1. A: HDL-C bias plots of Osaka UC vs. CDC RMP. The y-axis indicates the bias (mg/dl) of Osaka UC compared to the CDC reference value and the x-axis indicates the CDC RMP HDL-C reference value. CDC: The US Centers for Disease Control and Prevention. HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol. UC: Ultracentrifugation. B: HDL-C bias plots of Osaka DCM vs. CDC RMP. The y-axis indicates the bias (mg/dl) of the Osaka DCM compared to the CDC reference value and the x-axis indicates the CDC RMP HDL-C reference value. CDC: The US Centers for Disease Control and Prevention. HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol. DCM: Designated comparison method.

Table 2
Regression analysis of the bias between Osaka (y) and CDC (x) and imprecision for HDL-C over time (unit: mg/dl).

Parameter	HDL-C method	Number of samples	Slope (95%CI)	Intercept (95%CI)	R ²	Time period
Accuracy	UC	626	-0.008 (-0.013, -0.003) p = 0.001	0.540 (0.296, 0.784) p < 0.001	0.017	May 1997 to January 2014 (17 years)
	DCM	570	0.004 (-0.0002, 0.07) p = NS	-0.181 (-0.370, 0.009) p = NS	0.006	April 1994 to January 2014 (20 years)
Precision	UC	626	0.002 (-0.00005, 0.0036) p = NS	0.270 (0.179, 0.360) p < 0.001	0.006	May 1997 to January 2014 (17 years)
	DCM	570	0.001 (-0.0001, 0.002) p = NS	0.218 (0.162, 0.275) p < 0.001	0.005	April 1994 to January 2014 (20 years)

UC: ultracentrifugation, DCM: designated comparison method.

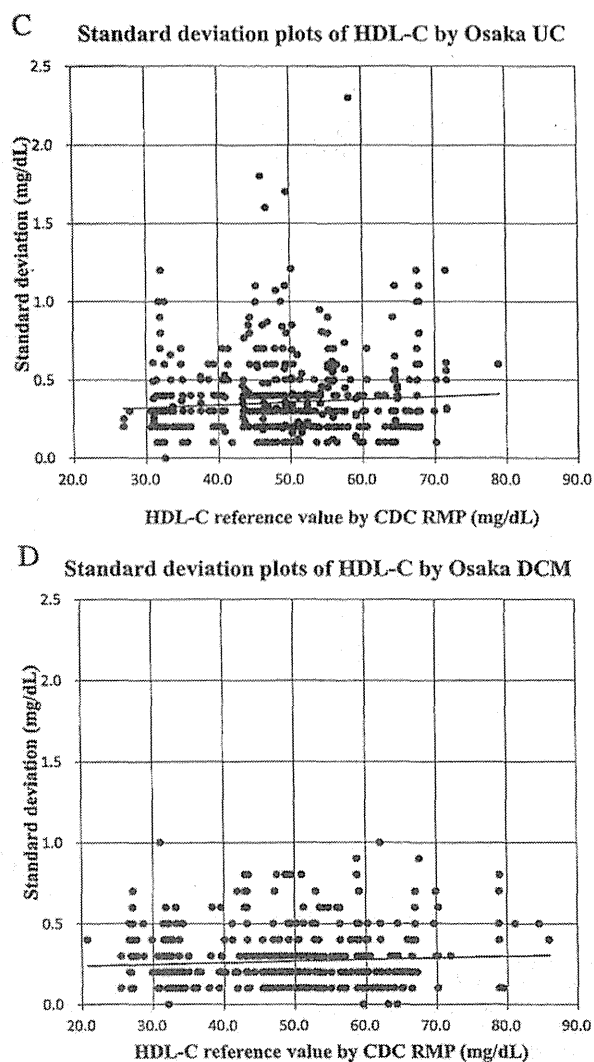


Fig. 2. C: Standard deviation plots of HDL-C by Osaka UC. The y-axis indicates the SD (mg/dl) of the Osaka UC method compared to the CDC reference value and the x-axis indicates the CDC RMP HDL-C reference value. CDC: The US Centers for Disease Control and Prevention. HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol. D: Standard deviation plots of HDL-C by Osaka DCM. The y-axis indicates the SD (mg/dl) of the Osaka DCM compared to the CDC reference value and the x-axis indicates the CDC RMP HDL-C reference value. CDC: The US Centers for Disease Control and Prevention. HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol. DCM: Designated comparison method.

The p-value and 95% CI for the slope were 0.083 and (−0.0001, 0.002), respectively. The p-value and 95% CI for the intercept were <0.001 and (0.162, 0.275), respectively (Table 2). The Osaka laboratory met acceptable precision goals for 100.0% (all 570 samples) within ± 1 mg/dl. The maximum SD at Osaka DCM was 1.0 mg/dl (Fig. 2D).

3.3. Long-term bias (mg/dl) plots by the UC method and DCM at Osaka

Fig. 3E shows the bias (mg/dl) plots of Osaka UC HDL-C vs. CDC RMP at each run for 17 years. The minimum value of the bias was −3.7 mg/dl while the maximum value was 3.0 mg/dl. The x-axis indicated the survey run number between May 1997 and January 2014 with 154 runs and the y-axis indicated the bias (mg/dl) of Osaka UC HDL-C vs. CDC RMP. The acceptable criteria for the accuracy of HDL-C were within ± 1.0 mg/dl of the target value of CDC. Each survey run consisted of 3 to 5 CDC pools for the HDL-C analysis.

Fig. 3F shows the bias (mg/dl) plots of Osaka DCM HDL-C vs. CDC RMP at each run for 20 years. The minimum value of the bias was −2.8 mg/dl while the maximum value was 2.6 mg/dl. The x-axis indicated the survey run number between April 1994 and January 2014 with 147 runs and the y-axis indicated the bias (mg/dl) of Osaka DCM HDL-C vs. CDC RMP. The acceptable criteria for the accuracy of HDL-C were within ± 1.0 mg/dl of the target value of CDC. Each survey run consisted of 3 to 4 CDC pools for the HDL-C analysis.

4. Discussion

Previous epidemiological studies and clinical trials were based on the results of large scale population studies using the UC method for HDL-C, which were, in turn, based on the heparin-MnCl₂ precipitation method. However, an inherent problem with this precipitation method is the inability to sediment all the centrifuged lipoproteins [18,19], which mainly affects triglyceride-rich lipoproteins included in turbid or milky diseased specimens. Therefore, the UC procedure merits the elimination of interference [20,22].

High-density lipoprotein (HDL) represents a mixture of heterogeneous macromolecules and physicochemical particles. No primary certified standards or measurement procedures are currently available for HDL-C in order to establish the metrological traceability of HDL-C measurements to SI. However, UC-based CDC RMP has been the reference method of HDL-C measurements for practical use. DCM was established to better meet needs related to faster sample turnaround and higher throughput [16]. Both methods are now used to assure the accuracy of testing performed in patient care and research. However, it is important to understand the limitations of the DCM, especially with samples containing high levels of triglycerides. Therefore, it will be necessary and important to maintain the UC-based reference method and its standardization when encountering diseased and complicated samples.

Iso et al. in the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS) have conducted epidemiological studies on the prevention of and reductions in cerebral strokes and heart diseases among Japanese individuals for over 50 years [2,9]. During this time, we have experienced various changes for HDL-C in assay principles from the old precipitation methods to new homogeneous methods, in instruments from manual operation to automatic analyzers, in reagents from strong acids to mild enzymes, and in calibrators from cholesterol standards in alcohol to serum-based materials. All these changes have influenced the precision and accuracy of HDL-C measurements. Therefore, it is of utmost importance to ensure reference methods providing an accuracy basis for clinical measurements remain consistent and stable over time. This is achieved by maintaining a network of reference laboratories. In the present study, we assessed the measurement performance and limits of the UC and DCM methods for HDL-C at Osaka.

The homogeneous HDL-C reagents now widely adopted have several advantages: they are fully automated on various analytical instruments, have good precision, triglycerides do not need to be measured, and non-fasting samples may potentially be used. However, Miller et al. [23] and Miida et al. [24] reported some limitations when comparing these assays against the UC-RMP. Deventer et al. found that non-HDL cholesterol showed improved accuracy for cardiovascular risk score classification over that of direct or calculated LDL cholesterol in a dyslipidemic population [25]. Non-HDL-C is calculated as [total cholesterol − HDL-C]. Therefore, accurate HDL-C will be a key factor in obtaining accurate non-HDL-C values. Since non-HDL-C was previously reported to be superior to LDL-C in predicting the risk of CVD risk [8,9], it will be recommended as a primary screening test in the future by Japanese authorities.

Recent discovery that serum/plasma HDL-C markedly and selectively increased by up to 15% over the past 20 years among Japanese individuals [26] raised concerns regarding consistencies in HDL-C measurements in Japan. According to the Japanese National Health and Nutritional Survey, the average HDL-C levels of males and females

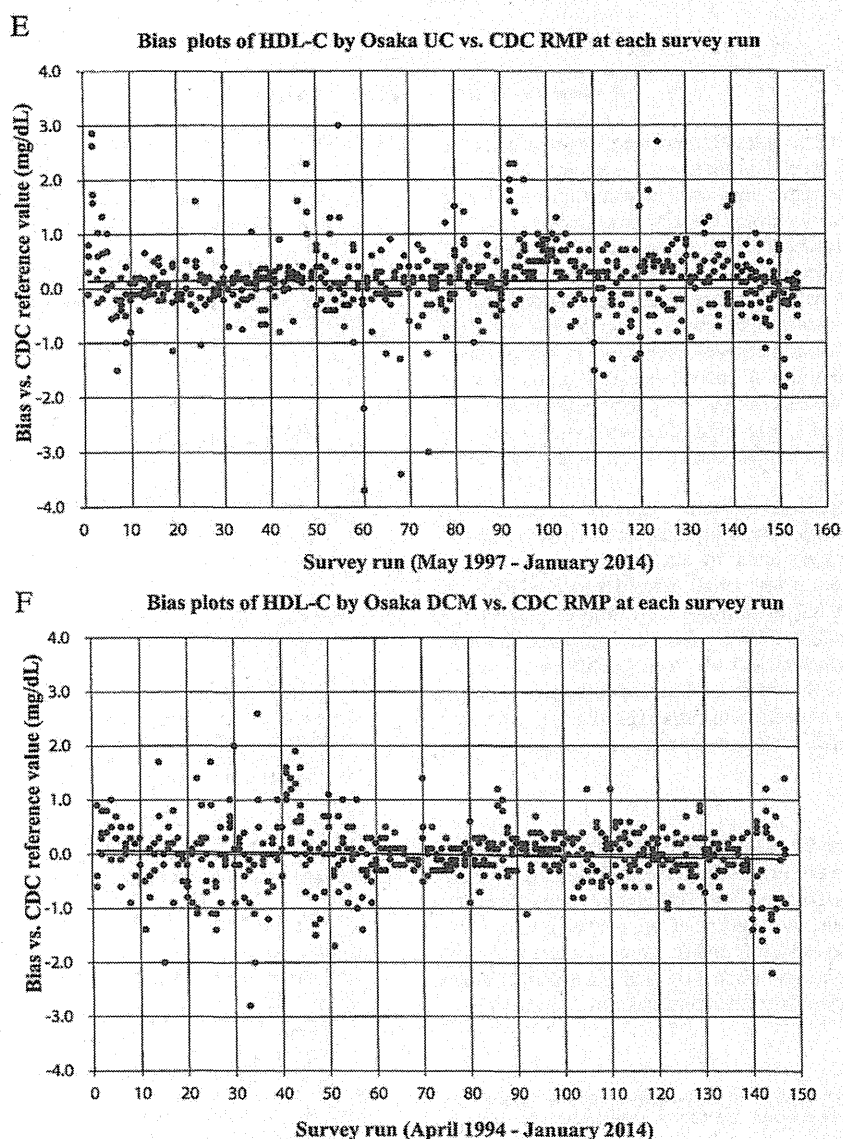


Fig. 3. E: Bias plots of HDL-C by Osaka UC vs. CDC RMP at each survey run. The y-axis indicates the bias (mg/dl) of Osaka UC compared to the CDC reference value and the x-axis indicates each survey run (May 1997–January 2014). CDC: The US Centers for Disease Control and Prevention. HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol. F: Bias plots of HDL-C by Osaka DCM vs. CDC RMP at each survey run. The y-axis indicates the bias (mg/dl) of Osaka DCM compared to the CDC reference value and the x-axis indicates each survey run (April 1994–January 2014). CDC: The US Centers for Disease Control and Prevention. HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol.

reached 55 and 65 mg/dl in 2012, which were markedly higher than those in Western countries [27]. We tentatively concluded that this could not be attributed to a drift in the standardization of HDL-C measurements in Japan because the increase was continuous over several time points when new assay reagents and systems were introduced. Furthermore, similar findings were reported for plasma apoA-I concentrations that were independently measured [26]. However, the underlying reasons for this phenomenon and its outcome on public health in Japan remain unknown. This is a unique and perhaps important finding for world public health; therefore, it should be extensively investigated in association with recent trends and changes in various aspects of Japanese lifestyles and medical/public health environments. It is also extremely important to monitor Japanese HDL-C levels carefully for years hereafter. Therefore, methods to measure HDL-C parameters must be established based on reliable standardization and stabilization for international consistency through CRMLN activities [16].

Since 1996, 7 Japanese reagent manufacturers have developed new homogeneous methods for HDL-C to replace the old precipitation-based methods [20]. These methods present new calibration challenges

Table 3
Performance criteria applied to clinical laboratory and manufacturer for HDL-C.

Parameter	Criterion
R^2	>0.975
Bias at 40 mg/dl	≤5%
Bias at 60 mg/dl	≤5%
Average % bias	≤5%
Average absolute % bias	≤5%
Among-run CV	≤4%
t-test of bias	Not significant at $\alpha = 5\%$
Within-method outliers	1 allowed
Between-method outliers	None allowed, but may eliminate one sample

because they use different principles that include detergents or surfactants to quantify HDL-C level. Homogeneous methods that do not require a sample pretreatment step are being introduced all over Japan and are used in many clinical laboratories. Based on the HDL Cholesterol Certification Protocol for Manufacturers (November 2002) by CRMLN, we conducted protocols 10 times every 2 years since 1996 using standardized DCM as a reference to Japanese manufacturers, and all manufacturers successfully met the performance criteria (Table 3). However, further accuracy improvements in homogeneous HDL-C methods will be required in several diseased samples derived from patients with dyslipidemia [28], which may require an increased use of the UC-RMP instead of the DCM. Unsolved issues associated with homogeneous methods remain and have yet to be examined in detail.

In conclusion, the UC method and the DCM for HDL-C at Osaka were found to be highly accurate, precise, and stable for many years, and assist reagent manufacturers in calibrating their products so that clinical and epidemiological laboratories can accurately measure HDL-C for patients and in research, calculate non-HDL-C, and estimate LDL-C with the Friedewald equation. DCM is a simpler equivalent reference method that has been consistent with CDC RMP for 20 years. However, the traceability of HDL-C should be accomplished by performing a method comparison with a fresh split sample because matrix interactions can severely affect HDL-C measurements.

Acknowledgments

This work was supported by a Health and Labour Sciences Research Grant, Japan (Comprehensive Research on Lifestyle-Related Diseases Including Cardiovascular Diseases and Diabetes Mellitus) from the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan. The authors would like to thank Dr. Katsuyuki Nakajima and Dr. Ikunosuke Sakurabayashi for their valuable comments and discussion, and Ms. Yukari Ichikawa for her excellent help in providing the references and manuscript.

References

- [1] Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 1989;79: 8–15.
- [2] Kitamura A, Iso H, Naito Y, et al. High-density lipoprotein cholesterol and premature coronary heart disease in urban Japanese men. *Circulation* 1994;89:2533–9.
- [3] Okamura T, Hayakawa T, Kadowaki T, et al. The inverse relationship between serum high-density lipoprotein cholesterol level and all-cause mortality in a 9.6-year follow-up study in the Japanese general population. *Atherosclerosis* 2006;184: 143–50.
- [4] Warnick GR, Wood PD, for the National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. National cholesterol education program recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: executive summary. *Clin Chem* 1995;41:1427–33.
- [5] Stone NJ, Robinson J, Lichtenstein AH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:1–84.
- [6] Perk J, Backer GD, Gohlke H, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). *Eur Heart J* 2012;33:1635–701.
- [7] Japan Atherosclerosis Society. Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases; 2012.
- [8] Okamura T, Kokubo Y, Watanabe M, et al. Low-density lipoprotein cholesterol and non-high-density lipoprotein cholesterol and the incidence of cardiovascular disease in an urban Japanese cohort study: the Suita study. *Atherosclerosis* 2009;203: 587–92.
- [9] Kitamura A, Noda H, Nakamura M, et al. Association between non-high-density lipoprotein cholesterol levels and the incidence of coronary heart disease among Japanese: the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS). *J Atheroscler Thromb* 2011;18:454–63.
- [10] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499–502.
- [11] High-Density Lipoprotein Cholesterol Reference Method. Clinical Chemistry Standardization Activity, Division of Environmental Health Laboratory Sciences National Center for Environmental Health and Injury Control, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia July 1991:30333 revised July 1991.
- [12] Hainline Jr A, Karon J, Lippel K, editors. Manual of laboratory operations: lipid and lipoprotein analysis. , HEW Pub. No. (NIH) 75-628 (rev.), US Government Printing Office Publication No. 1982-361-132:678, 2nd ed. Bethesda, MD: National Heart, Lung and Blood Institute, Lipid Research Clinics Program; 1982.
- [13] Abell LL, Levy BB, Brodie BB, et al. A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. *J Biol Chem* 1952;195: 357–66.
- [14] Warnick GR, Albers JJ. A comprehensive evaluation of the heparin–manganese precipitation procedure for estimating high density lipoprotein cholesterol. *J Lipid Res* 1978;19:65–76.
- [15] High density lipoprotein cholesterol designated comparison method using a modified dextran sulfate–magnesium chloride reagent, as performed by the Cholesterol Reference Method Laboratory Network, CDC; 1994.
- [16] Kimberly MM, Leary ET, Cole TG, et al. Selection, validation, standardization, and performance of a designated comparison method for HDL-cholesterol for use in the Cholesterol Reference Method Laboratory Network. *Clin Chem* 1999;45: 1803–12.
- [17] Cobbaert C, Zwang L, Ceriotti F, et al. Reference standardization and triglyceride interference of a new homogeneous HDL-cholesterol assay compared with a former chemical precipitation assay. *Clin Chem* 1998;44:779–89.
- [18] Burstein M, Scholnick HR. Lipoprotein–polyanion–metal interactions. *Adv Lipid Res* 1973;11:67–108.
- [19] Burstein M, Legmann P. Lipoprotein precipitation. *Monogr Atheroscler* 1982;11: 1–131.
- [20] Warnick GR, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clin Chem* 2001;47:1579–96.
- [21] Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS EP9-A. Vol. 15 No. 17; December 1995.
- [22] Warnick GR, Kimberly MM, Waymack PP, et al. Standardization of measurements for cholesterol, triglycerides, and major lipoproteins. *Labmedicine* 2008;39:481–90.
- [23] Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, et al. Seven direct methods for measuring HDL and LDL cholesterol compared with ultracentrifugation reference measurement procedures. *Clin Chem* 2010;56:977–86.
- [24] Miida T, Nishimura K, Okamura T, et al. Validation of homogeneous assays for HDL-cholesterol using fresh samples from healthy and diseased subjects. *Atherosclerosis* 2014;233:253–9.
- [25] van Deventer HE, Miller WG, Myers GL, et al. Non-HDL cholesterol shows improved accuracy for cardiovascular risk score classification compared to direct or calculated LDL cholesterol in a dyslipidemic population. *Clin Chem* 2011;57:490–501.
- [26] Yokoyama S, Ueshima H, Miida T, et al. High-density lipoprotein levels have markedly increased over the past twenty years in Japan. *J Atheroscler Thromb* 2014;21:151–60.
- [27] Carroll MD, Kit BK, Lacher DA, et al. Trends in lipids and lipoproteins in US adults, 1988–2010. *JAMA* 2012;308:1545–54.
- [28] Nakamura M, Koyama I, Iso H, et al. Measurement performance of reagent manufacturers by Centers for Disease Control and Prevention/Cholesterol Reference Method Laboratory Network lipid standardization specified for Metabolic Syndrome-Focused Health Checkups Program in Japan. *J Atheroscler Thromb* 2009;16:756–63.

原 著

国民健康・栄養調査の血液検査への協力に関連する要因

西 信雄*¹ 吉澤剛士*² 池田奈由*¹
坪田 恵*¹ 奥田奈賀子*³

要約 国民健康・栄養調査の血液検査は対象世帯の20歳以上の世帯員について身体状況調査会場で実施しており、調査会場への来場を必須とする。そのため、世帯単位で回答可能な栄養摂取状況調査に比べて血液検査の協力率は低い。本研究は、国民健康・栄養調査の血液検査への協力に関連する要因を明らかにすることを目的とした。平成22年国民健康・栄養調査の20歳以上の全協力者8,015人（男性3,740人、女性4,275人）を対象とした。血液検査への協力に関連する要因を大きく社会人口学的要因（居住市町村の人口規模、職業）、生活習慣（喫煙習慣、飲酒習慣、身体活動）、循環器疾患危険因子の指摘（メタボリックシンドローム、高血圧、糖尿病、高コレステロール血症）の3つに分けて、ロジスティック回帰モデルにより分析した。なお、男女とも若年者で血液検査に協力する者の割合が低いため、年齢で調整した。血液検査への協力と関連していたのは、社会人口学的要因では、男女とも居住市町村が大規模であることと比較して中規模（オッズ比（95%信頼区間）：男性1.43（1.22-1.68）、女性1.38（1.19-1.60））あるいは小規模であること（男性1.53（1.29-1.82）、女性1.33（1.13-1.55））、職業では事務サービス業と比較して男女の農林水産業（男性2.19（1.58-3.01）、女性2.65（1.61-4.36））と男性の家事・無職（1.58（1.28-1.96））であった。生活習慣では、女性の非喫煙（1.46（1.16-1.83））と男女の身体的に活動的であること（男性1.68（1.41-2.00）、女性2.03（1.69-2.44））であった。循環器疾患危険因子の指摘では、男性のメタボリックシンドロームなし（0.76（0.64-0.90））と男女の高コレステロール血症なし（男性0.71（0.61-0.83）、女性0.73（0.64-0.85））でオッズ比が1より小さく、これらを指摘されたことがある者の方が血液検査に協力する可能性が高いという結果であった。結論として、男女とも人口規模が小さい市町村に居住していることや農林水産業に従事していること、身体的に活動的であることが血液検査への協力に関連していることが明らかとなった。

キーワード：国民健康・栄養調査，血液検査，協力率，人口規模，身体活動
（日循予防誌 50：27-34，2015）

I. 緒 言

厚生労働省により毎年11月に実施されている国民健康・栄養調査の結果は、健康日本21（第二次）の目標設定の根拠になるなど、わが国の健康増進施策の策定、評価に大きな役割を果たしている¹⁾。また、平成12（2000）年まで10年に一度実施されてきた循環器疾患基礎調査は、国民健康・栄養調査（当時は国民栄養調査）の対象者に実施されたものであり（平成22（2010）年は厚生労働省指定研究班

が後継調査として「循環器病の予防に関する調査（NIPPON DATA2010）」を実施）、国民健康・栄養調査は循環器疾患とその危険因子の予防対策を検討する上で重要な位置を占めている²⁾。

国民健康・栄養調査を構成する3つの調査、すなわち身体状況調査、栄養摂取状況調査、生活習慣調査のうち、栄養摂取状況調査と生活習慣調査は調査票を被調査世帯に事前に配付して記入を依頼するのに対し、身体状況調査は被調査者自身が調査会場に来場することが必須であり、身体状況調査、その中でも血液検査の協力者数は栄養摂取状況調査や生活習慣調査の協力者数と比べて少ない³⁾。国民健康・栄養調査の対象地区は厚生労働統計親標本から抽出されており、親標本が共通の国民生活基礎調査とレ

*¹ 国立健康・栄養研究所国際産学連携センター
（〒162-8636 東京都新宿区戸山1-23-1）

*² 聖学院大学学生総合支援センター

*³ 人間総合科学大学健康栄養学科

受付日 2014年10月22日・受理日 2015年1月19日

コードリンテージを行うことにより、国民健康・栄養調査の各調査の協力率を推定することが可能である。平成15(2003)年から平成19(2007)年の調査について個人単位の協力率を検討した結果では、栄養摂取状況調査が61.3%、生活習慣調査が63.1%、身体状況調査が53.2%であり、身体状況調査の血液検査の協力率は34.4%であった⁴⁾。またこれらの協力率は女性が男性より高く、20歳代が最も低く、配偶者ありの者が配偶者なし(未婚・死別・離別)の者に比べて高かった。ただ、国民健康・栄養調査の全協力者のうち、血液検査に協力した者の特性を明らかにした研究はこれまで行われていない。そこで本研究は、国民健康・栄養調査の血液検査への協力に関連する要因を明らかにすることを目的とした。

II. 方 法

平成22年国民健康・栄養調査の20歳以上の全協力者8,015人(男性3,740人、女性4,275人)を対象とした。血液検査への協力の有無については、全血の採血管による血色素量(ヘモグロビン)と血清の採血管による総コレステロール値のいずれかの結果がある者を協力者、それ以外を非協力者とした。

血液検査への協力に関連する要因を、大きく社会人口学的要因(居住市町村の人口規模、職業)、生活習慣(喫煙習慣、飲酒習慣、身体活動)、循環器疾患危険因子の指摘(メタボリックシンドローム、高血圧、糖尿病、高コレステロール血症)の3つのグループに分けた。

社会人口学的要因のうち、居住市町村の人口規模は対象地区が含まれる市町村の人口規模のことであり、各調査票に記入された市郡番号(1:12大都市・23特別区、2:人口15万人以上の市、3:人口5~15万人の市、4:人口5万人未満の市、5:町村)をもとに、大規模(1と2)、中規模(3)、小規模(4と5)の3つに分けた。職業は、栄養摂取状況調査票に記入された仕事の種類をもとに、事務サービス業(1:専門的・技術的職業従事者、2:管理的職業従事者、3:事務従事者、4:販売従事者、5:サービス職業従事者、6:保安職業従事者)、農林水産業(7:農業従事者、8:林業従事者、9:漁業従事者)、運輸製造業(10:運輸・機械運転従事者、11:生産工程従事者)、学生(21:

その他の学生)、家事・無職(12:家事従事者、13:その他)の5つに分けた。

生活習慣のうち、喫煙習慣は国民健康・栄養調査の報告書⁵⁾にしたがい、これまで合計100本以上または6ヶ月以上たばこを吸っている(吸っていた)者のうち、現在(この1ヶ月間)毎日吸う、またはときどき吸っていると回答した者を喫煙習慣ありとし、それ以外の者を喫煙習慣なしとした。飲酒習慣も報告書⁵⁾にしたがい、週に3日以上飲酒し、飲酒日1日あたり1合以上を飲酒すると回答した者を飲酒習慣あり、それ以外の者を飲酒習慣なしとした。身体活動については、「あなたはふだんの生活において、歩行、そうじ、階段ののぼりおり、子どもと遊ぶなど身体を動かしていますか。」という問いに対して、「いつもしている」または「ときどきしている」と回答した者を活動的、「あまりしていない」または「ほとんどしていない」と回答した者を非活動的とした。

循環器疾患危険因子の指摘については、生活習慣調査の「あなたはこれまでに医療機関や健診で内臓脂肪症候群(メタボリックシンドローム)といわれたことがありますか。」という問いに対して、「あり」と回答した者をメタボリックシンドロームの指摘あり、「なし」と回答した者をメタボリックシンドロームの指摘なしとした。同様に、高血圧(血圧が高い)、糖尿病(「境界型である」、「糖尿病の気がある」、「糖尿病になりかけている」、「血糖値が高い」なども含む)、血中コレステロール(総コレステロールまたはLDLコレステロール)が高いといわれたことの有無により、それぞれ高血圧、糖尿病、高コレステロール血症の指摘の有無とした。

分析は、まず各変数の分布を血液検査の有無別に求め、カイ二乗検定を行った。次に血液検査への協力の有無(0:非協力、1:協力)を目的変数、各要因を説明変数とするロジスティック回帰分析を行った。各要因について年齢(70歳以上を基準とする20-29歳、30-39歳、40-49歳、50-59歳、60-69歳のダミー変数)で調整した年齢調整オッズ比(95%信頼区間)と、年齢と各グループの全要因で調整した多変量調整オッズ比を求めた。なお、各分析で欠損値のある者を除外した。

国民健康・栄養調査のデータは、厚生労働大臣に

表1 国民健康・栄養調査（平成22年）における血液検査の有無別にみた対象者の特性

	男 性					女 性				
	血液検査あり	血液検査なし		P値*1		血液検査あり	血液検査なし		P値*1	
年齢										
20-29歳	75	4.7%	294	13.7%	<0.001	105	4.6%	277	13.8%	<0.001
30-39歳	162	10.1%	415	19.4%		323	14.2%	304	15.2%	
40-49歳	175	11.0%	400	18.7%		308	13.5%	318	15.9%	
50-59歳	259	16.2%	351	16.4%		392	17.2%	297	14.8%	
60-69歳	462	28.9%	347	16.2%		566	24.9%	346	17.3%	
70歳以上	464	29.1%	336	15.7%		580	25.5%	459	22.9%	
計	1,597	100.0%	2,143	100.0%		2,274	100.0%	2,001	100.0%	
居住市町村の人口規模*2										
大規模	686	43.0%	1,134	53.1%	<0.001	1,023	45.0%	1,063	53.3%	<0.001
中規模	503	31.5%	573	26.8%		699	30.7%	519	26.0%	
小規模	408	25.5%	429	20.1%		552	24.3%	413	20.7%	
計	1,597	100.0%	2,136	100.0%		2,274	100.0%	1,995	100.0%	
職業										
事務サービス業	597	37.9%	951	49.0%	<0.001	808	35.7%	751	42.2%	<0.001
農林水産業	142	9.0%	70	3.6%		75	3.3%	22	1.2%	
運輸製造業	280	17.8%	511	26.3%		103	4.5%	100	5.6%	
学生	6	0.4%	53	2.7%		8	0.4%	34	1.9%	
家事・その他	551	35.0%	357	18.4%		1,270	56.1%	872	49.0%	
計	1,576	100.0%	1,942	100.0%		2,264	100.0%	1,779	100.0%	
喫煙習慣										
あり	460	28.9%	720	34.7%	<0.001	150	6.6%	201	10.4%	<0.001
なし	1,130	71.1%	1,354	65.3%		2,116	93.4%	1,735	89.6%	
計	1,590	100.0%	2,074	100.0%		2,266	100.0%	1,936	100.0%	
飲酒習慣										
あり	595	37.4%	702	33.8%	0.013	150	6.6%	140	7.2%	0.232
なし	996	62.6%	1,375	66.2%		2,119	93.4%	1,796	92.8%	
計	1,591	100.0%	2,077	100.0%		2,269	100.0%	1,936	100.0%	
身体活動										
非活動的	254	16.0%	483	23.2%	<0.001	232	10.2%	366	18.9%	<0.001
活動的	1,337	84.0%	1,595	76.8%		2,037	89.8%	1,571	81.1%	
計	1,591	100.0%	2,078	100.0%		2,269	100.0%	1,937	100.0%	
メタボリックシンドロームの指摘										
あり	394	24.7%	400	19.2%	<0.001	227	10.0%	156	8.1%	0.016
なし	1,198	75.3%	1,678	80.8%		2,041	90.0%	1,780	91.9%	
計	1,592	100.0%	2,078	100.0%		2,268	100.0%	1,936	100.0%	
高血圧の指摘										
あり	647	40.7%	613	29.5%	<0.001	681	30.0%	520	26.8%	0.013
なし	944	59.3%	1,466	70.5%		1,589	70.0%	1,418	73.2%	
計	1,591	100.0%	2,079	100.0%		2,270	100.0%	1,938	100.0%	
糖尿病の指摘										
あり	276	17.3%	263	12.7%	<0.001	204	9.0%	137	7.1%	0.013
なし	1,316	82.7%	1,815	87.3%		2,066	91.0%	1,799	92.9%	
計	1,592	100.0%	2,078	100.0%		2,270	100.0%	1,936	100.0%	
高コレステロール血症の指摘										
あり	568	35.7%	539	25.9%	<0.001	824	36.3%	495	25.6%	<0.001
なし	1,024	64.3%	1,539	74.1%		1,445	63.7%	1,442	74.4%	
計	1,592	100.0%	2,078	100.0%		2,269	100.0%	1,937	100.0%	

*1 P値はカイ二乗検定による。

*2 大規模：人口15万人以上の市、中規模：人口5～15万人の市、小規模：人口5万人未満の市、町村

調査票情報の二次利用申請を行い、承認を得て利用した。

Ⅲ. 結 果

国民健康・栄養調査に協力した者のうち血液検査に協力した者の割合は、男性が42.7% (1,597人/3,740人)、女性が53.2% (2,274人/4,275人)であった。血液検査の有無別に年齢階級別の分布をみると、男女とも若年者で血液検査なしの者の割合が高かった (表1)。女性の飲酒習慣を除き、各変数について男女とも血液検査の有無別に分布に有意差

を認めた。

ロジスティック回帰分析の結果、血液検査への協力と有意に関連していたのは、社会人口学的要因では、男女とも居住市町村が大規模であることと比較して中規模あるいは小規模であること、職業では事務サービス業と比較して男女の農林水産業と男性の家事・無職であった (表2)。女性の家事・無職は、多変量調整オッズ比のみが有意であった。また、男性の学生と有意な負の関連があった。

生活習慣では、女性の非喫煙と男女の身体的に活動的であることであった (表3)。飲酒習慣について

表2 国民健康・栄養調査 (平成22年) における社会人口学的要因について見た血液検査への協力に関するロジスティック回帰分析の結果

	男 性		女 性	
	年齢調整オッズ比 (95% CI)	多変量調整オッズ比 (95% CI)	年齢調整オッズ比 (95% CI)	多変量調整オッズ比 (95% CI)
居住市町村の人口規模*1				
	(n=3,733)	(n=3,518)	(n=4,269)	(n=4,043)
大規模	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
中規模	1.43 (1.22-1.68)	1.42 (1.20-1.68)	1.38 (1.19-1.60)	1.37 (1.18-1.60)
小規模	1.53 (1.29-1.82)	1.49 (1.24-1.79)	1.33 (1.13-1.55)	1.32 (1.12-1.56)
職 業				
	(n=3,518)	(n=3,518)	(n=4,043)	(n=4,043)
事務サービス業	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
農林水産業	2.19 (1.58-3.01)	1.92 (1.38-2.66)	2.65 (1.61-4.36)	2.42 (1.47-4.00)
運輸製造業	0.91 (0.76-1.09)	0.87 (0.72-1.04)	0.86 (0.64-1.16)	0.83 (0.61-1.11)
学 生	0.35 (0.15-0.85)	0.35 (0.15-0.86)	0.46 (0.21-1.03)	0.49 (0.22-1.09)
家事・無職	1.58 (1.28-1.96)	1.56 (1.26-1.94)	1.16 (1.00-1.36)	NS 1.18 (1.01-1.38)

*1 大規模：人口15万人以上の市、中規模：人口5～15万人の市、小規模：人口5万人未満の市、町村

表3 国民健康・栄養調査 (平成22年) における生活習慣について見た血液検査への協力に関するロジスティック回帰分析の結果

	男 性		女 性	
	年齢調整オッズ比 (95% CI)	多変量調整オッズ比 (95% CI)	年齢調整オッズ比 (95% CI)	多変量調整オッズ比 (95% CI)
喫煙習慣				
	(n=3,664)	(n=3,660)	(n=4,202)	(n=4,197)
あ り	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
な し	1.06 (0.91-1.23)	1.04 (0.90-1.22)	1.46 (1.16-1.83)	1.42 (1.13-1.79)
飲酒習慣				
	(n=3,668)	(n=3,660)	(n=4,205)	(n=4,197)
あ り	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
な し	0.92 (0.80-1.07)	0.93 (0.81-1.08)	1.07 (0.84-1.37)	1.03 (0.80-1.32)
身体活動				
	(n=3,669)	(n=3,660)	(n=4,206)	(n=4,197)
非活動的	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
活 動 的	1.68 (1.41-2.00)	1.67 (1.40-1.99)	2.03 (1.69-2.44)	2.01 (1.68-2.41)

表4 国民健康・栄養調査（平成22年）における循環器疾患危険因子の指摘について見た血液検査への協力に関するロジスティック回帰分析の結果

	男 性		女 性	
	年齢調整オッズ比 (95% CI)	多変量調整オッズ比 (95% CI)	年齢調整オッズ比 (95% CI)	多変量調整オッズ比 (95% CI)
メタボリックシンドロームの指摘 (n=3,670)		(n=3,668)	(n=4,204)	(n=4,200)
あり	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
なし	0.76 (0.64-0.90)	0.82 (0.69-0.98)	0.94 (0.75-1.17)	0.99 (0.79-1.24)
高血圧の指摘 (n=3,670)		(n=3,668)	(n=4,208)	(n=4,200)
あり	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
なし	0.94 (0.81-1.10)	1.01 (0.87-1.19)	1.13 (0.97-1.32)	1.18 (1.01-1.38)
糖尿病の指摘 (n=3,670)		(n=3,668)	(n=4,206)	(n=4,200)
あり	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
なし	1.02 (0.84-1.24)	1.12 (0.92-1.37)	0.93 (0.74-1.18)	0.97 (0.76-1.23)
高コレステロール血症の指摘 (n=3,670)		(n=3,668)	(n=4,206)	(n=4,200)
あり	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)	1.00 (基準)
なし	0.71 (0.61-0.83)	0.74 (0.63-0.86)	0.73 (0.64-0.85)	0.72 (0.62-0.84)

ては、男女とも血液検査の有無と有意な関連を認めなかった。

循環器疾患危険因子の指摘では、男性のメタボリックシンドロームなしと男女の高コレステロール血症なしでオッズ比が1より小さく、これらを指摘されたことがある者の方が血液検査に協力する可能性が高いという結果であった（表4）。なお、高血圧の指摘は、女性の多変量調整オッズ比のみが有意であった。

IV. 考 察

平成22年国民健康・栄養調査の結果をもとに、国民健康・栄養調査の血液検査への協力に関連する要因を検討した。その結果、居住市町村の人口規模や職業、身体活動性等が関連していることが明らかとなった。国民健康・栄養調査への協力に関連する要因についてはすでに報告があるが⁴⁾、国民健康・栄養調査の中の血液検査への協力に関連する要因に関する報告は本研究が初めてである。本報告は、国民健康・栄養調査の血液検査の結果を解釈する上で、重要な資料となると考えられる。

社会人口学的要因では、居住市町村の人口規模が大規模の者に比べて中規模あるいは小規模の者ほど血液検査に協力していることが明らかとなった。ま

た、職業では事務サービス業の者に比べて農林水産業の者ほど血液検査に協力していた。これらより、都市部より農村部あるいは漁村部において血液検査の協力率が高かったことがわかる。農林水産業従事者は、人口規模が中規模あるいは小規模の市町村で多く（データ示さず）、居住地で仕事をしているのに対して、事務サービス業従事者は居住地から離れた職場に通勤をしている者が多いと考えられる。居住市町村の人口規模が大きい者あるいは事務サービス業従事者において血液検査の協力率を高めるには、身体状況調査の実施日時を早朝や休日にも設定するなどの対策が必要であると考えられる。平成22年国民健康・栄養調査報告では、地域ブロック別あるいは職業別の栄養摂取状況調査対象者数が掲載されているが、協力率については示されていない⁵⁾。血液検査も含めて、個別の調査の協力率が報告書に示されることが望まれる。なお、本研究では地域ブロックと居住市町村の人口規模の関連が強いため、居住市町村の人口規模を用いて分析を行った。

生活習慣では、女性の非喫煙者と男女の活動的な者で血液検査の協力率が高いことが示された。身体活動については、整形外科的な疾患を有する者に限らず、不活動傾向にある者が身体状況調査の会場に来場せず、血液検査に協力していないことが考えら

れる。つまり、血液検査の協力者が健康的な者に偏っていることが示唆される。また、喫煙はHDLコレステロール値の低下⁶⁾ および血糖あるいはヘモグロビンA1c値の上昇⁷⁾の要因であることが報告されている。国民健康・栄養調査報告においてHDLコレステロール値とヘモグロビンA1c値はメタボリックシンドロームの基準に、またヘモグロビンA1c値は糖尿病の基準に用いられており、女性の喫煙者における血液検査の協力率が低いことにより、喫煙者の割合が9%程度と低いものの³⁾、メタボリックシンドロームや糖尿病の有病率が低めに推定されている可能性がある。

一方、循環器疾患危険因子の指摘については、男性でメタボリックシンドローム、男女で高コレステロール血症の指摘を受けたことがある者の方が血液検査に協力する可能性が高いことが明らかとなった。男性では喫煙習慣による差を認めなかったが、本結果よりメタボリックシンドロームの有病率を高め推定している可能性があり、女性とは逆の結果となった。なお、循環器疾患危険因子の指摘については生活習慣調査票に採用された質問に基づいており、血圧値で診断される高血圧や尿検査でも指摘可能な糖尿病と違い、血液検査が必須のメタボリックシンドロームや高コレステロール血症を指摘されたことで健康への意識が高まったことと血液検査への協力が何らかの関連を示したとも考えられる。

血液検査への協力の有無別に、身体状況調査における身体計測値や血圧値を比較する検討は行わなかった。その理由の一つとして、国民生活基礎調査とのレコードリンケージにより求めた国民健康・栄養調査の協力率が、栄養摂取状況調査で61.3%、生活習慣調査で63.1%、身体状況調査で53.2%であったように³⁾、身体状況調査の対象者がすでに標本として偏っていることが挙げられる。また別の理由として、腹囲を自己申告したかどうかと血液検査への協力の有無には関連がみられ(データ示さず)、国民健康・栄養調査の腹囲を自己申告した者では、調査員が計測した者に比べて腹囲が低値であるだけでなく、身長が高値であることなどをすでに報告⁸⁾しているためである。

血液検査への協力に関するロジスティック回帰分析の結果は、年齢調整オッズ比と、社会人口学的要

因、生活習慣、循環器疾患危険因子の指摘の各グループにおける多変量調整オッズ比を示した。3つのグループの全変数を用いた多変量解析の結果は、各グループの多変量調整オッズ比と大きな差を認めなかった。

なお、本研究は平成22年のデータのみを用いたが、それは10年に一度実施されてきた循環器疾患基礎調査の該当年として、循環器疾患危険因子の指摘に関する項目や身体活動に関する項目が含まれていたためである。また、循環器疾患基礎調査の後継調査として平成22年国民健康・栄養調査に合わせて実施された「循環器病の予防に関する調査(NIPPON DATA2010)」は、身体状況調査会場で同意の得られた20歳以上の2,898人(男性1,239人、女性1,659人)を対象として心電図検査等を実施している⁹⁾。これらの対象者は、本研究で血液検査ありとした3,871人(男性1,597人、女性2,274人)の一部であると考えられるため、本研究の結果はNIPPON DATA2010の対象者の特性に関して有用な情報となると考えられる。

結論として、国民健康・栄養調査の血液検査への協力には、男女とも人口規模が小さい市町村に居住していることや農林水産業に従事していること、身体的に活動的であることが関連していることが明らかとなった。国民健康・栄養調査の血液検査の結果を解釈する際には、血液検査に協力している者に関して本研究で得られた特性を考慮することが必要である。また、今後人口規模が大きな市において、血液検査の協力率を上げる方策を検討する必要がある。

(本論文の要旨は、第50回日本循環器病予防学会学術集会：一般演題において発表した。)

謝 辞

本研究は、平成26年度厚生労働科学研究費補助金(循環器疾患・糖尿病等生活習慣対策総合研究事業(循環器疾患・糖尿病等生活習慣対策政策研究事業))H24—循環器等(生習)—一般—005(研究代表者：西 信雄)の助成を受けた。

文 献

1) 西 信雄, 奥田奈賀子. 健康日本21(第二次)の目

- 標設定における国民健康・栄養調査. 保健医療科学, 2012; 61: 399-408.
- 2) 西 信雄, 三浦克之. 国民健康・栄養調査／循環器疾患基礎調査の概要. 日本循環器病予防学会編, 循環器病予防ハンドブック第7版. 東京: 保健同人社, 2014; 322-342.
 - 3) 厚生労働省健康局がん対策・健康増進課栄養指導室. 平成24年国民健康・栄養調査報告. 厚生労働省, 2014.
 - 4) 西 信雄, 中出麻紀子, 猿倉薫子, 他. 国民健康・栄養調査の協力率とその関連要因. 厚生指標, 2012; 59(4): 10-15.
 - 5) 厚生労働省健康局がん対策・健康増進課. 平成22年国民健康・栄養調査報告. 厚生労働省, 2012.
 - 6) Kuzuya M, Ando F, Iguchi A, et al. Effect of smoking habit on age-related changes in serum lipids: a cross-sectional and longitudinal analysis in a large Japanese cohort. *Atherosclerosis* 2006; 185: 183-190.
 - 7) Morimoto A, Ohno Y, Tatsumi Y, et al. Risk of smoking and body mass index for incidence of diabetes mellitus in a rural Japanese population. *Prev Med* 2012; 54: 341-344.
 - 8) 吉澤剛士, 奥田奈賀子, 西 信雄. 国民健康・栄養調査の身体状況調査における自己申告値の検討. *日循予防誌*, 2013; 48(3): 173-181.
 - 9) 三浦克之 (研究代表者): 厚生労働省科学研究費補助金循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業「2010年国民健康栄養調査対象者の追跡開始 (NIPPON DATA2019) とNIPPON DATA80/90 の追跡継続に関する研究」平成22年度総括・分担研究報告書, 2010.