

多項目実用参照物質 (MaCRM)

しの はら かつ ゆき
篠原 克幸
Katsuyuki SHINOHARA

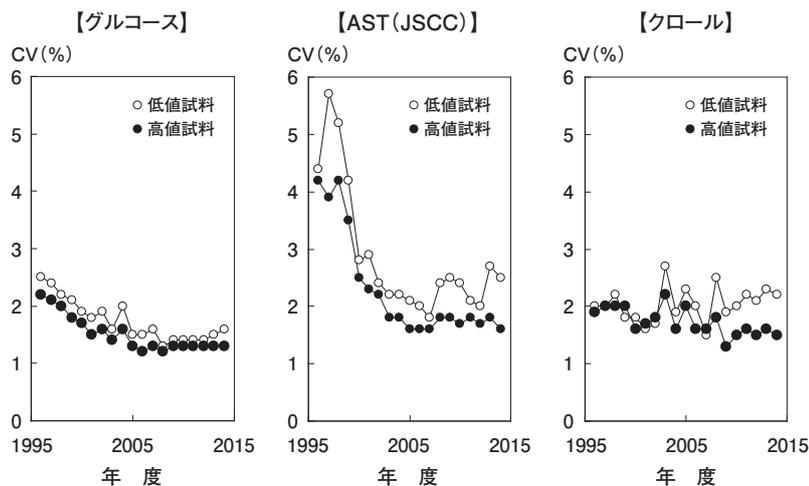
はじめに

近年わが国の医療は、医療機関の機能分担を柱に、患者が必要に応じて診療所や病院の間を行き来する医療連携システムで運営されている。したがって何時でも何処でも同じ臨床検査値を報告することが求められ、実際に基本的な検査項目では検査値の標準化が実現している。検査値の標準化が進展したのは、日本臨床化学会 (JSCC) が 1989 年に定めたヒト血清中酵素活性の勧告法¹⁾ や 1997 年に頒布開始された常用酵素標準物質などの認証標準物質の功績が大きく、臨床検査室は試薬メーカーが開発した標準化対応試薬キットを利用することで簡単に標準化データを得られるようになった。個々の検査室に残された課題は定期的に正確さを確認することであり、そ

のための試料として日本臨床検査標準協議会 (Japanese Committee for Clinical Laboratory Standards, JCCLS) は多項目実用参照物質 (Multianalyte Conventional Reference Material, MaCRM) を開発した。開発の経緯、性能など MaCRM-001 について紹介する。

I. 外部精度管理調査にみる施設間誤差

測定値の標準化を目指した近年、外部精度管理調査の解析においても方法・試薬別の評価から項目一括評価へと変化してきた。図 1 に日本臨床衛生検査技師会の精度管理調査における変動係数 (CV) の推移を示す。ドライケミストリー以外の回答すべてを区分せずに集計したところ、1995 年から 2005 年ま



ドライケミストリーを除く全方法の一括集計における変動係数の推移を示す

図 1 日臨技精度管理調査における変動係数の推移

での10年間でグルコースやASTの施設間CVは半減し、1%～3%程度になっている。この間の変化は、試薬メーカーが認証標準物質を試薬キットの上位標準としたこと、つまり認証標準物質の成果と考える。残念ながらクロールについては20年間、大きな変化がない。

II. 認証標準物質の役割

認証標準物質はすべての試薬キットの上位標準物質として機能する。つまり日常検査の正確さの源であり、試薬キットを製造するメーカーにとっては不可欠な物質である。表1に主な臨床化学検査項目の認証標準物質を示す。標準物質は項目間で干渉するリスクを避けるため、数項目を対象とするに留まる。

III. 正確さの確認

臨床検査室は、標準化対応の試薬キットと指定のキャリブレーションを正しく使用することによって標準化された測定値を得ることができる。ただし、それだけで十分ではなく、自ら測定値の正確さを確認することが必要となる。外部精度管理調査がその役を担っているが、多くは年に1回の実施であり、しかも評価結果を得るまでに数カ月を要する。したがって、記録を残す意味では有効だが、即応性には欠ける。そこで臨床検査室が任意に正確さの確認を行う場合、これまでは認証標準物質を入手し測定する方法が採られてきた。しかし、認証標準物質は日常検査の上位標準物質であるので認証値とその不確かさ

が表示されているだけで、正確さの許容限界は記されていない。多大な労力をかけ認証標準物質を測定しても、評価基準が存在しないので正確さの確認ができたとはいえない。唯一、常用酵素標準物質：JSCC 常用酵素 (JCCLS CRM-001c) が、測定法評価に用いる許容限界値を提示している²⁾。そこで、臨床検査室が自ら測定値の正確さを確認するための物質として、JCCLSは多項目実用参照物質 (MaCRM) の開発を企画した。

IV. MaCRM

1. MaCRMの特徴と製造方法

MaCRM-001は多くの臨床検査室が測定している臨床化学30項目を対象とする。表1に示したグルコースや尿酸、尿素窒素、クレアチニンの含窒素成分、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、マグネシウム、無機リン、鉄の電解質・金属、総コレステロール、中性脂肪、HDLコレステロール、LDLコレステロールの脂質、AST、ALT、ALP、LD、アミラーゼ、CK、 γ -GT、コリンエステラーゼの酵素、CRP、アルブミン、IgG、IgA、IgM、総タンパクの蛋白成分、および総ビリルビンである。マトリックスの影響が小さくヒト血清と反応性が近似するプール血清であり、多くの方法・試薬を対象に正確さの許容限界を示すのが最大の特徴である。そもそも標準化された項目が対象であることから、1濃度のみとした。

MaCRM-001は「献血血液の研究開発等での使用

表1 主な臨床化学検査項目の認証標準物質

項目名	認証標準物質		項目名	認証標準物質	
Glu	JCCRM 521		AST	JCCLS CRM-001	
UA					
UN					
Cre					
Na	JCCRM 111	JCCRM 321	Amy		
K					
Cl					
Ca	JCCRM 324		ChE		JCCLS CRM-002
Mg			CRP		IRMM ERM-DA474
IP			Alb		IRMM ERM-DA470k
Fe	JCCRM 322				
TCho	JCCRM 211	JCCRM 223	IgG		
TG	JCCRM 224		IgA		
HDL-C			IgM		
LDL-C			TP		
			TBil		

に関する指針³⁾により日本赤十字社から提供された検査残余血清を主原料に、**図2**の方法で製造する。まず、感染症検査陰性の検査残余血清をプールし-70℃以下にて保管する。このプール血清を流水中で融解し、膜型血漿分離器にて一次濾過すると、大分子の脂質や細菌などが除かれ清澄な原料血清が得られる。原料血清は対象とする臨床化学・免疫化学30項目を測定し、各種成分が規格に合致するようグルコースやヒト型酵素など必要な物質を添加する。再度、膜型血漿分離器にて濾過、pH調整し容器

器に分注する。分注容器は、測定する際の利便性を考慮し採血容器とし、-70℃以下にて保管する冷凍品である (**図3**)。

2. MaCRM-001の反応性

MaCRMの最も重要な性能は、ヒト血清と反応性が近似することである。**図4**にグルコースの主要な測定方法・試薬における反応性を示す。横軸に協力施設から得た測定値の中央値を、縦軸に個々の測定法・試薬の測定値をとると、ドライケミストリーでさ

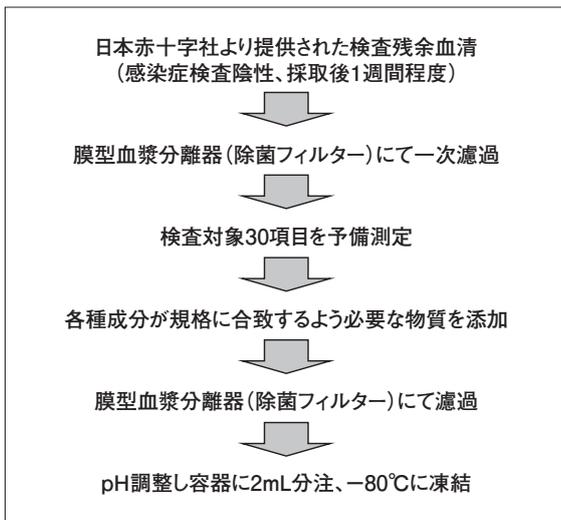


図2 MaCRM-001の製造方法



図3 MaCRM-001

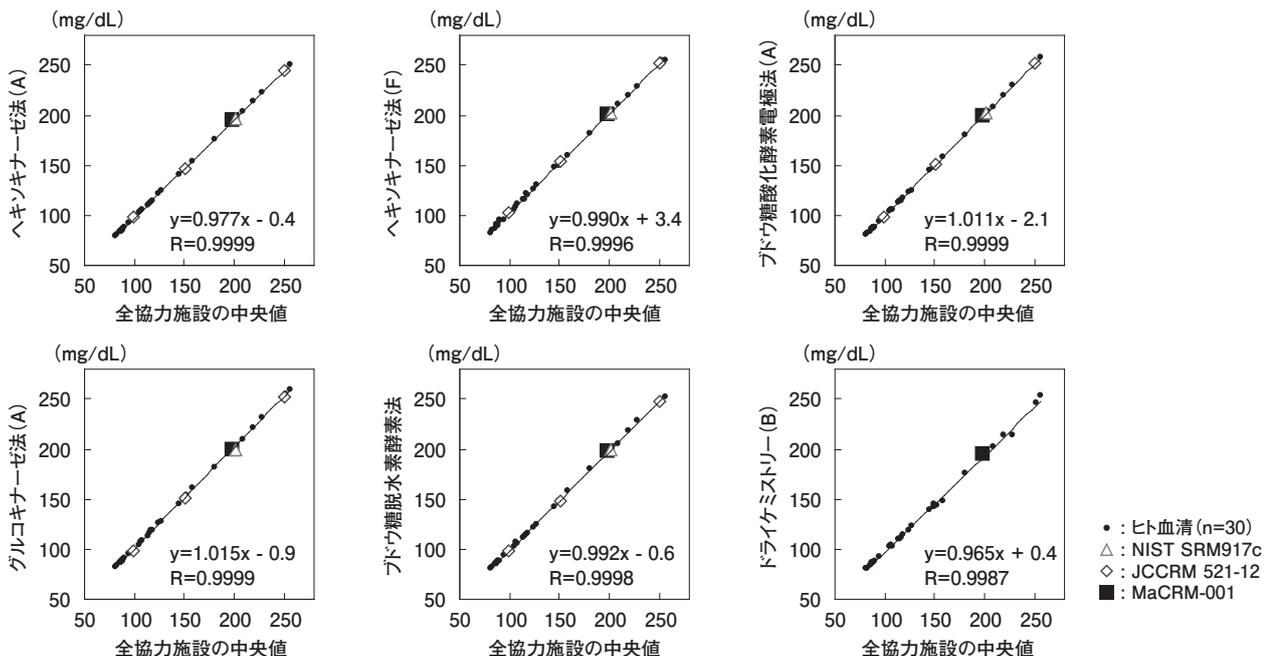


図4 MaCRM-001の反応性 (グルコース)

え相関係数 0.9987 と高い相関性を示し、MaCRM-001 は多くのヒト血清を代表する試料と考えられる。また個々の関係式における傾きや切片のわずかな差が是正されれば、施設間誤差 1% 程度のグルコースにおいても検査値標準化がさらに進展する可能性を示唆する。図 5 には HDL コレステロールの反応性を示す。こちらは相関係数 0.9789 ~ 0.9969 とグルコースほどには一致しない。個々のヒト血清においても方法・試薬によって数%の測定値差が生じており、MaCRM も同様である。HDL コレステロールは単一のものではないので、グルコースのように各種の方法・試薬で一致する測定値を得ることはできない。

3. MaCRM-001 の認証値

MaCRM-001 の成分の表示値 (JCCLS 認証値) は、JCCLS、米国標準技術研究所 (National Institute of Standards and Technology, NIST)、欧州連合標準研究所 (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM)、検査医学標準物質機構 (Reference Material Institute for Clinical Chemistry Standards, ReCCS) の認証標準物質を上位標準物質として用い、ISO ガイド 35 に基づいた方法により決定した。日常検査が利用対象であるので、国内の臨床

検査室や日本臨床検査薬協会の協力を得て主要な方法・試薬と自動分析装置を用いて多施設共同実験とした。不確かさの成分は、多施設共同実験での誤差成分と均質性 (バイアル間差)、校正に用いた上位標準物質の不確かさ、および保存安定性を含む総合的な拡張不確かさ (包含係数 $k=2$) として示した。さらに正確さ (真度) 評価の許容限界は、認証値の不確かさ、および多施設における室間再現条件での技術水準 (施設間精度) を合成し設定した。

表 2 にグルコースと HDL コレステロールの認証値および真度評価の許容誤差の計算結果を示す。グルコースでは NIST SRM917c、JCCRM 521-12 の 2 種類の認証標準物質を上位標準物質とし、共同実験施設の日常検査法を校正した。各施設は、MaCRM-001 を 3 バイアル、各五重測定し、試験精度とバイアル間差を計算した。NIST SRM917c を上位標準物質とした場合、参加 11 施設の試験精度 (CV に相当する相対値) は 0.33%、バイアル間差は 0.38%であった。さらに上位標準物質の不確かさ 0.20% と、日本臨床衛生検査技師会 (日臨技) 標準化事業の基幹施設において MaCRM 試作品を 3 年間にわたり測定した結果から算出した保存安定性 0.33% を合成し、合成標準不確かさ 0.63% を得た。これにより認証値 (共同実験の平均値) 197.5mg/dL とその拡張不確か

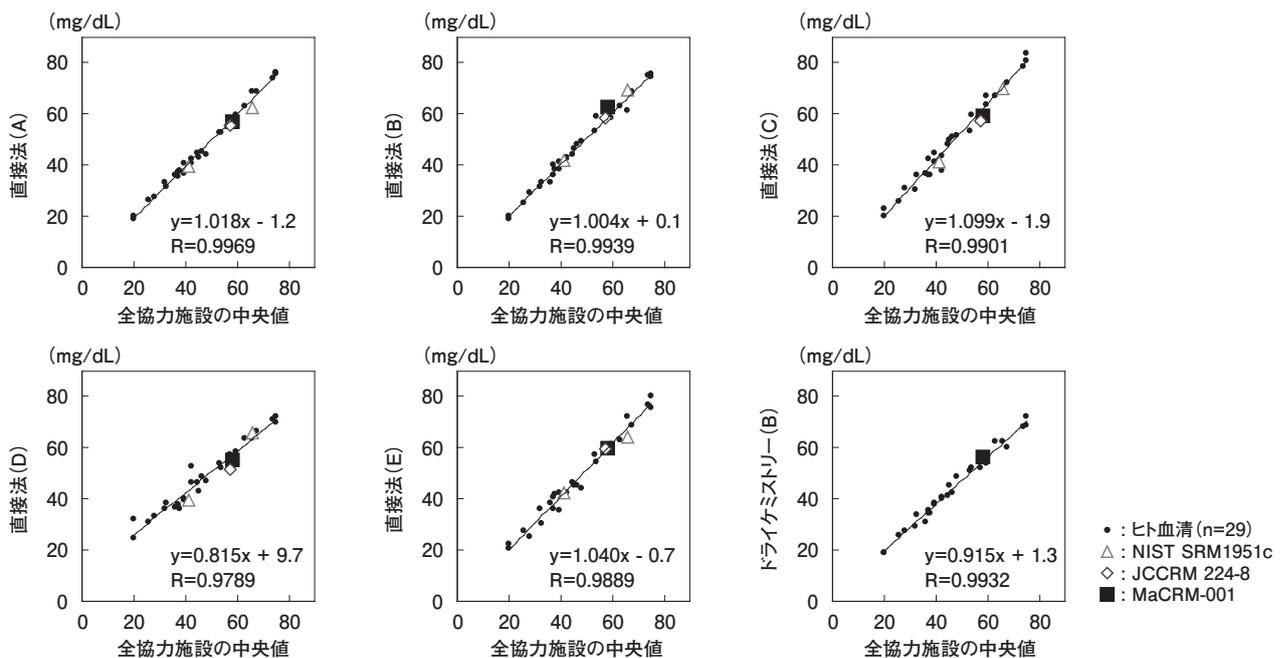


図 5 MaCRM-001 の反応性 (HDL-C)

表2 MaCRM-001 不確かさ推定のためのバジェット表

項目名 (単位)	上位標準物質	試験 施設数	認証値	拡張 不確かさ ($k=2$)	試験 精度	バイアル 間差	上位 標準	保存 安定性	合成標準 不確かさ	施設間 精度	真度評価の 許容誤差	
					相対値(%)					(%)	(%)	(%)
グルコース (mg/dL)	NIST SRM917c	11	197.5	± 2.5	0.33	0.38	0.20	0.33	0.63	1.28	2.9	± 5.6
	JCCRM 521-12	14	198.4	± 3.0	0.29	0.29	0.53	0.33	0.75	1.28	3.0	± 5.9
HDL-C (mg/dL)	NIST SRM1951c	9	58.0	± 2.1	0.96	0.33	1.31	0.79	1.84	3.71	8.3	± 4.8
	JCCRM 224-8	11	58.0	± 1.4	0.64	0.00	0.72	0.79	1.25	3.71	7.8	± 4.5

合成標準不確かさ：

JCCLS 不確かさ計算プログラム1にて算出(試験精度²+バイアル間差²+上位標準物質の不確かさ²+保存安定性²)^{1/2}

真度評価の許容誤差

$2 \times (\text{合成標準不確かさ}^2 + \text{施設間精度}^2)^{1/2}$

保存安定性(3年間)、施設間精度：

日臨技標準化事業における基幹施設の「MaCRM 試作品」測定値から算出

さ±2.5mg/dLとなった。さらに本来の目的である正確さ(真度)評価の許容誤差は、日臨技標準化事業の基幹施設におけるMaCRM 試作品の施設間精度1.28%を合成し、±5.6mg/dLとなった。以上のことから、NIST SRMを上位標準とする試薬キットを利用している施設は、MaCRM-001の測定値が $197.5 \pm 5.6\text{mg/dL}$ であれば標準化された測定値を得ていると判断できる。

同様にNIST SRM1951cとJCCRM 224-8を上位標準としたHDLコレステロールでは、反応性の項で述べたとおり方法・試薬間の測定値差があることから、認証値の不確かさ、施設間精度ともグルコースに比べ大きく、NIST SRMを上位標準とする試薬キットの許容範囲は $58.0 \pm 4.8\text{mg/dL}$ となった。このように多様性のある検査項目においては、MaCRM-001の許容誤差は大きくなり、また測定値が高い限界付近にあったとしても必ずしもヒト血清の測定値が高いとは言えない。MaCRM-001利用にあたって注意すべきことである。

4. MaCRM-001 利用の実際

九州地区において毎年9月、精度管理調査試料に目標値を設定している。従来は認証標準物質を測定して目標値設定協力16施設の測定値の正確さを確認していたが、昨年はMaCRM-001を正確さ確認物質として試用した。延べ480項目(30項目×16施設)のうち、MaCRM-001の測定値が許容範囲を超えたのは6項目であった。カルシウム1施設、鉄1施設、HDLコレステロール2施設、CRP1施設、IgG1施設のうちHDLコレステロール以外は当該施設の他

試料の測定値も同様の傾向があったので、当日の測定結果を反映していると考えられる。HDLコレステロールでは2施設とも高値にわずかに外れ、同じ試薬を使う他の施設もすべて許容上限付近の測定値であり、他の試料が必ずしも他社試薬より高い測定値ではないので、若干の反応性の差が疑われる。

この若干の反応性の差は、前項で述べたとおりMaCRM-001利用にあたって注意すべき点である。臨床検査項目のうち対象が均質なものはグルコースなど限られた項目だけであり、多様性のある項目は方法・試薬間誤差が大きくなる宿命を持つ。日本人の平均と言っている献血の際の検査残余血清をプールし主原料とするMaCRMでも、完全には解決できない。

おわりに

主要な臨床化学検査項目は、標準化対応試薬によって施設間誤差の極めて小さな標準化測定値が得られるようになった。欠かすことのない内部精度管理によって測定値の妥当性は常にモニターされるが、管理試料のロット変更時や少しずつの測定値変化は気付きにくい。そこで、各検査室は定期的に測定値の正確さを確認することが必要となる。これまで、一般の臨床検査室が測定値の正確さを確認するための試料は存在しなかった。一部の市販精度管理試料には、特定の試薬・装置による参考値が示されているが、他の試薬・装置においてそのまま利用可能とは限らない。MaCRM-001は国内で利用されている大半の方法・試薬でヒト血清と変わらない反応

性を示しており、1本で主要30項目の正確さが確認できる。多くの方法・試薬で反応性が一致することを最重視したため安定化剤を加えなかったため、 -70°C 以下での保管が必要であるが、デュープフリーザーのない施設は測定日を決めてMaCRMを入手することで利用可能と考える。 $15\sim 25^{\circ}\text{C}$ の水道水中に浸漬し解凍、静かに転倒混和するだけで測定可能である。多くの臨床検査室で定期的に測定し、安心できる測定値を報告していただきたい。

MaCRMの概要は英文誌に投稿、受理された⁴⁾。興味のある方は、ご一読いただきたい。

文 献

- 1) 日本臨床化学会. 臨床化学報告法総集編. 日本臨床化学会; 2012.
- 2) 日本臨床検査標準協議会. 常用参照標準物質: JSCC常用酵素(JCCLS CRM-001c)を用いた測定法の不確かさの評価と許容限界について. JCCLSホームページ.
- 3) 厚生労働省. 献血血液の研究開発等での使用に関する指針; 2012.
- 4) Shinohara K, Hamasaki N, Takagi Y, et al. Multianalyte Conventional Reference Material (MacRM): A Useful Tool for Nationwide Standardization of Laboratory Measurements for Medical Care. "A Model Study in Japan". *Clinical Chemistry*. 2016; 62(2): 392-406.