

脂質検査の標準化の現状

順天堂大学医学部 臨床検査医学

三井田 孝

JCCLS学術集会(平成22年 8月28日, 東京)

脂質検査の標準化の現状

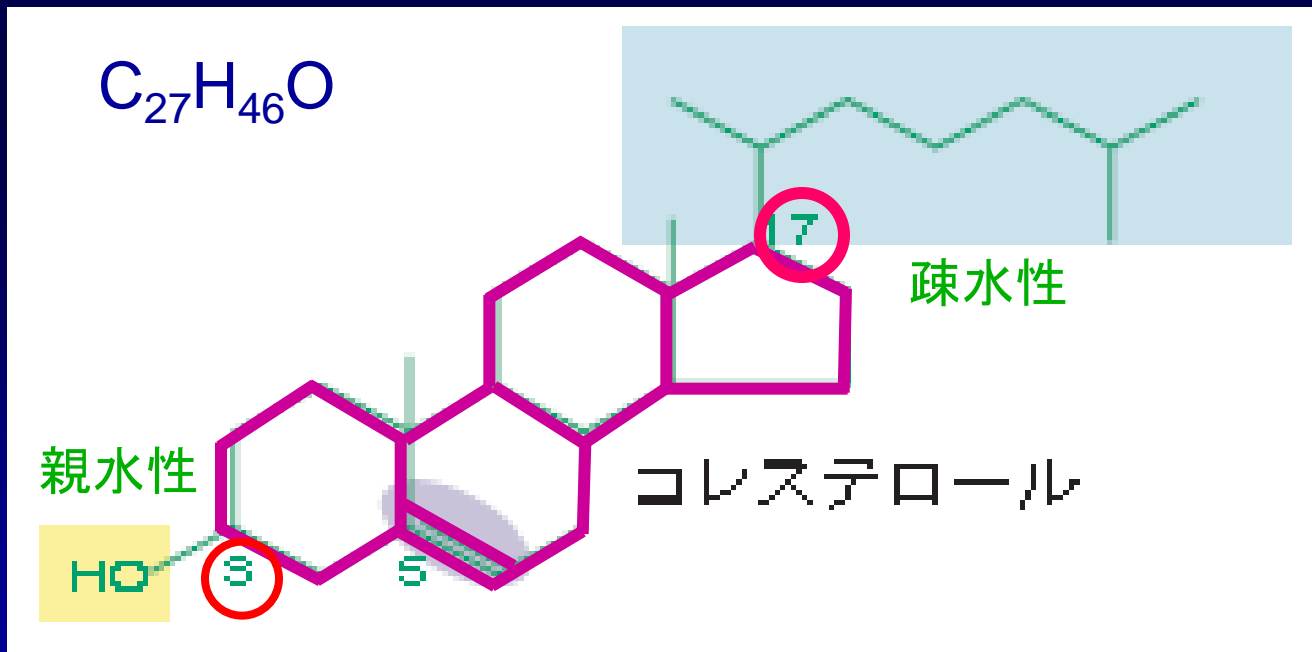
- 標準化からみた脂質検査
- HDL-Cの標準化の現状と問題点
- LDL-Cの標準化の現状と問題点

標準化からみた脂質検査

- 単独の物質か複合体か
- 検体採取後の安定性はよいか
- 正確に定量できる基準物質があるか
- 基準測定法が確立されているか

コレステロール

- ステロイド骨格を持ち親水性と疎水性の部分がある。
- OH基に脂肪酸が結合したエステル型と結合していない遊離型がある。
- 冷所の保存で安定である



Defenitive Method



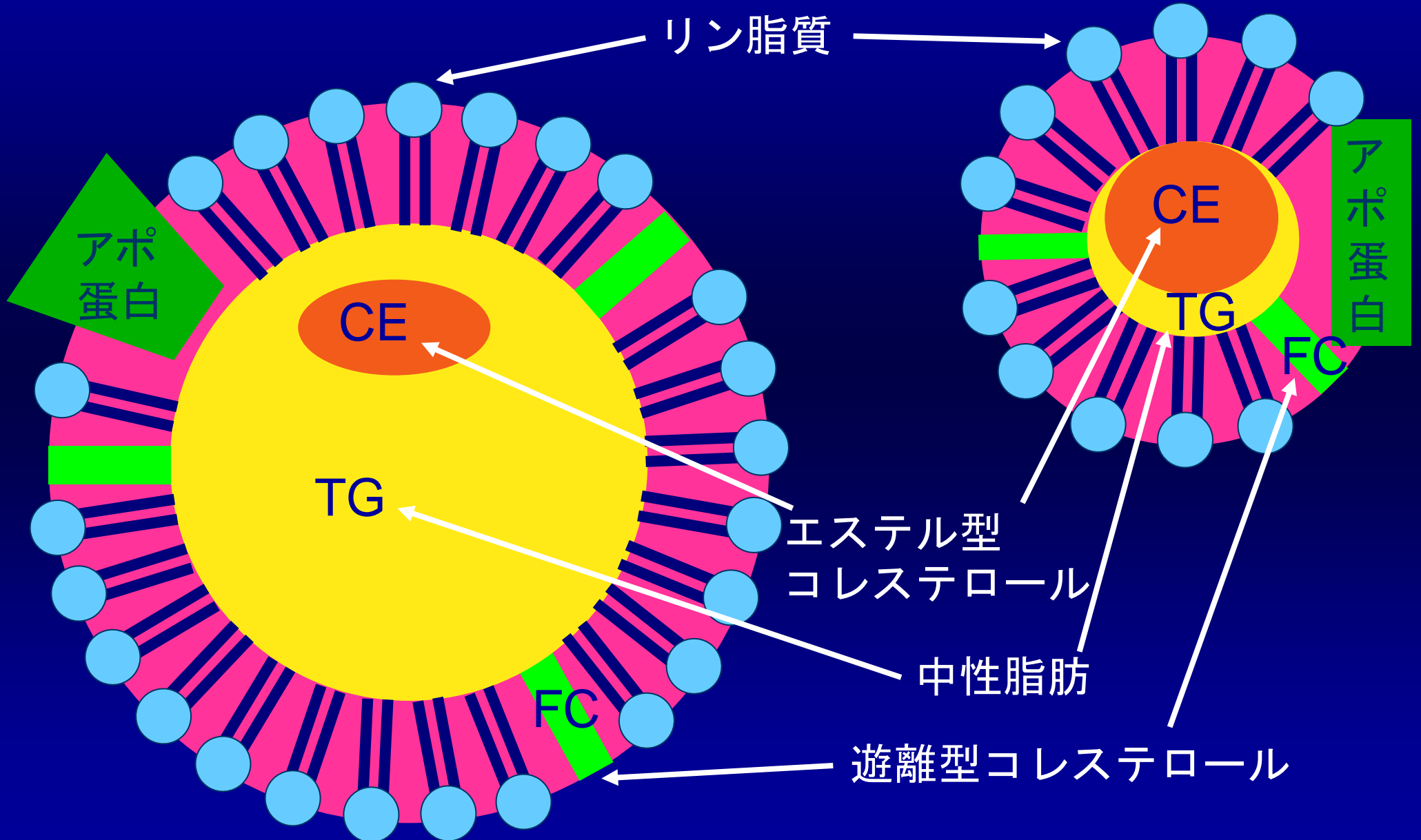
ID-MS

CDC Reference Method



Abell-Kendall Method

リポ蛋白の構造



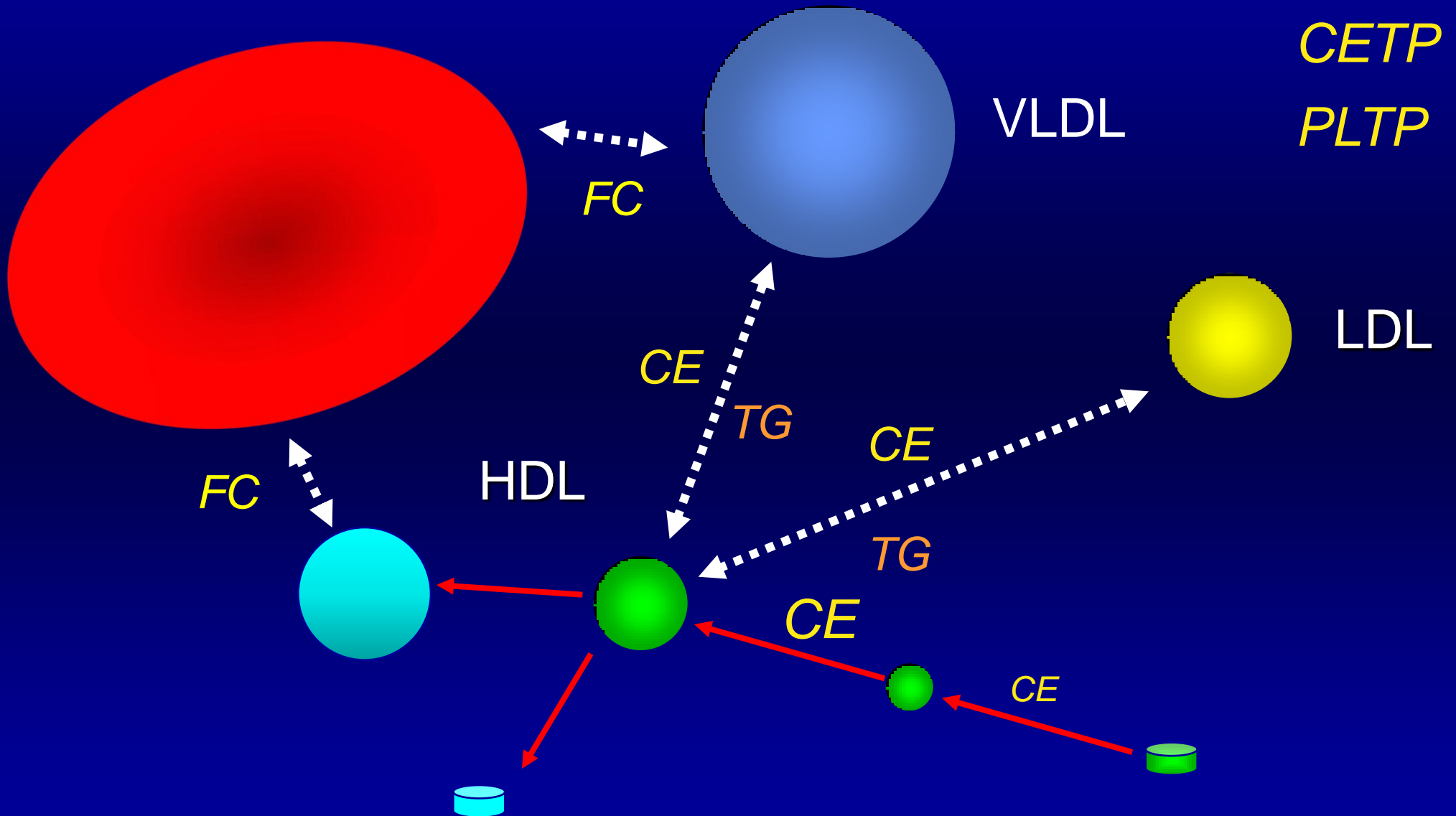
リポ蛋白の性質

分 画	比 重 (d)	直径 (nm)	脂質含量 (%)	脂質組成 (%)		
				Chol	TG	PL
CM	~ 0.950	100 ~ 1,000	98	7	84	7
VLDL	0.950 ~ 1.006	30 ~ 80	90	19	50	21
IDL	1.006 ~ 1.019	25 ~ 30	82	45	28	9
LDL	1.019 ~ 1.063	20 ~ 25	75	45	10	20
HDL	1.063 ~ 1.210	7.0 ~ 10	50	22	4	24

血液中のリポ蛋白は採血直後から変化する

- LCAT
 - コレステロールを遊離型→エステル型へ変換
 - LDLとHDLに存在
 - 血中のリポ蛋白のコレステロールを基質とする
- CETP
 - リポ蛋白のエステル型コレステロールとTGを1 : 1で交換
 - TG-rich リポ蛋白の量により転送量は変動
 - 我が国で欠損症多い
- PLTP

採血後のリポ蛋白の変化



HDL-Cの標準化

- 沈殿法によるHDL-Cは、試薬間の値のばらつきが大きく、測定者による値の違いも無視できなかつた
- ホモジニアス法HDL-Cは、測定値のばらつきがかなり収束してきたが、ApoEを含むHDLを測りこむべきかについてはコンセンサスが得られていない
- 凍結血清や管理血清をサーベイに使えない

ApoE-rich HDLをHDL-Cに含めるべきか

- ApoE-rich HDLとApoE-poor HDLが、動脈硬化に対して同じ影響を与えるのか未確定
- ApoE-rich HDLは保存により変化するため、in vitroの実験で意義を証明するのが困難
- BQ法 (ヘパリンマンガン法)の上清のHDL-CはApoE-rich HDLをどの程度沈殿させているか検証が必要
- 今後簡便な測定法の開発と、臨床データの蓄積が不可欠

特定健診項目（血液8項目）

- 中性脂肪（トリグリセライド）
- HDLコレステロール
- LDLコレステロール
- AST (GOT)
- ALT (AST)
- γ -GTP
- 空腹時血糖
- HbA1c

特定健診におけるLDL-C測定法の問題点

- 必ずしも空腹時に採血をしない特定健診では、ほとんどの施設でLDL-Cをホモジニアス法で測定している(従来はTC, TG, HDL-C)。
- 特定健診の血液検査項目には、精度管理をすることが求められているが、LDL-CやHDL-Cには標準物質がなく、ホモジニアス法は標準化されていない。
- マトリックス効果のため、コントロールサーベイの結果を見ても、各施設の測定値がどの程度収束しているのかを知ることが困難である。

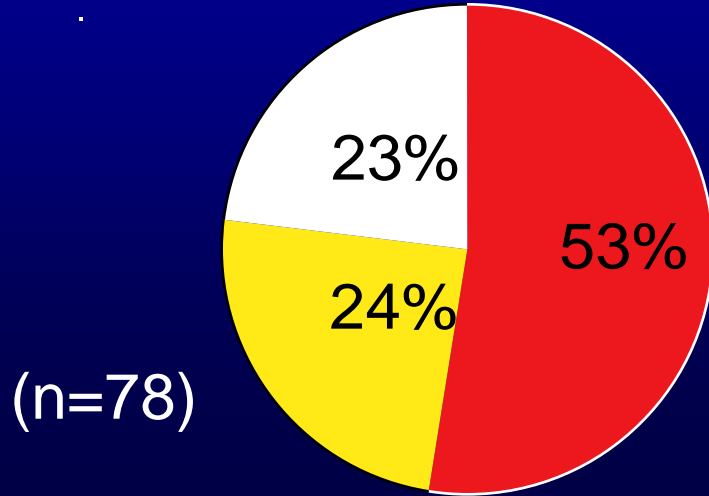
2007年版ガイドライン本文中の記載

-以下のような診断の手順を提案する。TC値が220mg/dLを超えている場合には、Friedewaldの式に基づきLDL-C値を計算する。.....（TG値が400mg/dL以上の場合には直接測定法にてLDL-C値を求めることが勧められる）。

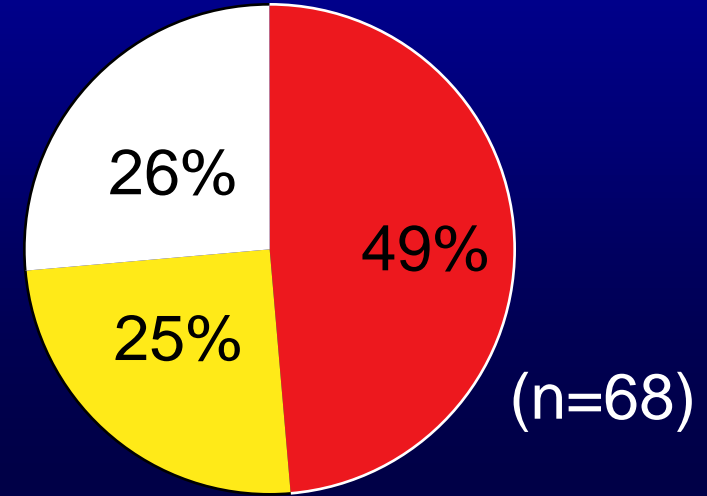
(動脈硬化性疾患予防ガイドライン2007年版より抜粋)

高Chol血症の診断に使う検査値

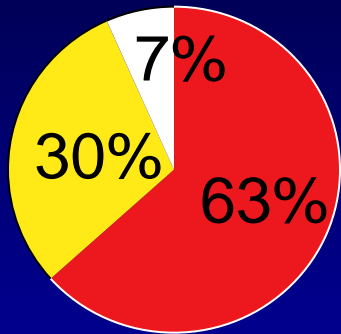
開業医



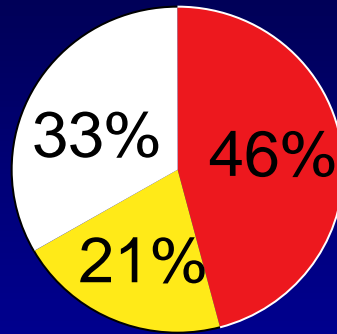
勤務医



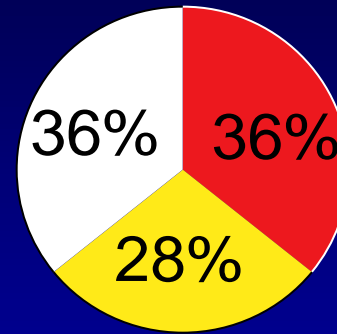
空腹時採血



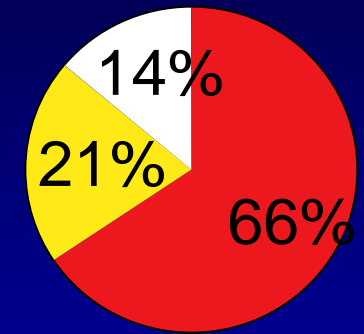
随時採血



空腹時採血



随時採血



LDL-Cの測定法

- β -Quantification 法 (BQ法)
 - CDC (Centers for Disease Control and Prevention) が組織する国際ネットワークであるCholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN) で用いられているLDL-Cの標準化のための方法
- Friedewaldの式
- ホモジニアス法
- その他
 - 定量的超遠心法 (回収率が100%でない)
 - HPLC法 (多数の検体を処理するのに不適)
 - 電気泳動法

NCEPが定義しているLDL-Cとは？ (National Cholesterol Education Program)

- BQ (β -Quantification)法で求めたLDL-C
- IDL-Cを含む
- Lp(a)を含む

- LDL-C測定法
 - Bias \leq 4%
 - CV \leq 4%
 - Total Error \leq 12%

CDC/CRMLNによる認証方法の概要

- 検体は新鮮な人血清を使用
- 空腹時検体が望ましい
 - Free of lipemia (乳びではない?)
- 検体数は40本以上
- 条件は、LDL-Cが4つの範囲をカバー
(<100 , $100-130$, $131-160$, $161-400\text{mg/dL}$)
- 認証施設へ24時間以内に輸送
- 検体が到着したら、同時にBQ法とホモジニアス法でLDL-Cを測定 (24時間以内)

LDL-Cホモジニアス法

- β -quantification 法との相関は良好 (しかし、認証時にはTGが高い検体や食後の検体での検討はされていない)
- 試薬によりIDLに対する試薬の反応性が異なる
 - N, IIa型ではあまり問題ない
 - III型高脂血症のようにIDLが増加し、真のLDLが低下している場合は、測定値に不一致あり
 - IV型の検体で試薬間の差が大きい (AACCCと日本臨床化学会との共同研究)

Fridewaldの式

$$\text{LDL-C} = \text{TC} - \text{TG}/5 - \text{HDL-C}$$

- 空腹時かつ、TG<400mg/dLの場合に適用可
- TG値から、VLDL-C値を推定
 - カイロミクロンがある場合は使えない (食後)
 - VLDLの組成 (TC/TG比が一定であることが条件)
 - TGが200mg/dLを越えると推定値が不正確となる
- HDL-Cが正確に測定できることが必須
 - コントロールサーベイが困難 (標準物質・アポE-rich HDL)

LDL-Cの真値と誤差を生ずると推定される原因

- Friedewaldの式
 - TGが高い検体では、VLDL-Cの真値より大きな値をTCから引くためLDL-Cが低めに算出される
- LDLホモジニアス法
 - IDLが高い検体では、試薬間差が大きい
 - TGが高いと試薬間差が大きい
- BQ法
 - HDL-Cとして測り込まれるアポE-rich HDL は、その濃度に個人差があり、保存にも不安定

日米共同研究の対象患者と測定開始日

- 健常者 37例
- 患者 138例 (特殊な症例も含む)
 - PBC 6名
 - 無 β リポ蛋白血症 1名
 - カイロミクロン停滞症 1名
 - LCAT欠損症 1名
 - Niemann-Pick病 (B型) 1名
 - Erdheim Chester病 1名
- 24-48時間後に測定

ま と め

- 採血後に変化し続けるリポ蛋白中のコレステロールの測定には高度の技術を要する
- LDL-Cホモジニアス法が食後や高TG血症の検体でもBQ法の値に一致しないという懸念がある
- LDL-Cホモジニアス法の正確性について、臨床検体で検証することが求められている