◆トピックス◆

FDP-D ダイマー測定の実状と課題

香川 和彦

Current topics of FDP D-dimer assays

Kazuhiko KAGAWA

Key words: FDP D-dimer, standardization, harmonization

香川和彦

1986年 東京医科大学 卒業
1990年 東京医科大学大学院医学博士課程
修了
米国赤十字医学生物学研究所 留学
1992年 東京医科大学 臨床病理学教室
助手
1995年 東京医科大学 臨床病理学教室
(現臨床検査医学講座) 講師

フィブリノゲン・フィブリン分解産物 (FDP) の D ダイマー分画を測定するキットが開発されて 20 年が経過し、その臨床的有用性が取り上げられて久しい。本稿では、臨床検査医学の観点から、FDP-D ダイマー測定の実状と課題についてあらためて整理してみたい。

FDP-D ダイマー測定法の実状

安定化 (架橋化) フィブリン分解産物 (XDP) を含む FDP 全体を捉える測定法 (total FDP ; tFDP または FDP-E) に対して、D ダイマー分画を検出して 1 次・2 次線溶を鑑別しようとする試みは、古くはゲルろ過法や二次元免疫電気泳動法などでおこなわれたが、臨床検査としての実用性を満たさなかった。D ダイマー分画に対するモノクロナル抗体の作成が進むと、1985 年頃から免疫学的原理による測定キットが次々と開発されてきた。

現在、国内で利用できる主な D ダイマー測定キットを表 1 にまとめた。D ダイマーそのものは分解産物であり生物学的活性がないので、モノクロナル抗体を用いた免疫学的原理で検出される。大別すると、用手法による簡便な半定

量的ラテックス凝集法と、定量的なラテックス免疫比濁法、酵素免疫法 (EIA)、蛍光免疫法 (FIA) がある。また免疫クロマトグラフィ法を利用したテストストリップによる迅速検査法も開発されている。これはヘパリン加全血検体をそのまま測定するので遠心分離が不要となり、POCT (point of care testing) として救急医療での利用や、またドライケミストリー検査なので災害時でも活用できる。

いずれの測定キットも、フィブリノゲンとは交差反応をきたさない抗 D ダイマー・モノクロナル抗体を用いるので、検体中にフィブリノゲンが存在していても理論的には反応しない。従って検体としては血清と血漿の両者が利用できることになる。tFDP と同時に測定することが多いので、従来の FDP 専用 (トロンビン・レプチラーゼ・アプロチニン入り) 採血管で血清検体を共用することができる。また最近では血漿 FDP (pFDP) 測定キットが普及してきたため、この場合は 3.2% クエン酸ナトリウム加血漿検体で共用でき、他の多くの凝固線溶系検査にもそのまま使用できる。院内に FDP 専用試験管を常備する必要がなく、また採血量を極力少なくしたい場合にも便利である。

東京医科大学臨床検査医学講座 [〒 160-0023 新宿区西新宿 6-7-1]

Department of Laboratory Medicine, Tokyo Medical University [6-7-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023, Japan]

Tel: 03-3342-6111 (内線 5087) Fax: 03-3340-5448 e-mail: kazz@tokyo-med.ac.jp

表1 国内で利用できる主なDダイマー測定試薬

測定原理	試薬名	参考基準値	製造
ラテックス凝集法	イアトロDD/Eテスト	<1.0 μ g/ml	三菱化学ヤトロン (MKI)
	フィブリノスチコン	<0.5 μ g/ml	日本ビオメリュー (BMJ)
	Dダイマー測定用試薬「RD」	<0.5 μ g/ml	ロシュ・ダイアグノスティックス
	ラビディアD-dimer II	<200ng/ml	AGEN
ラテックス免疫比濁法	エルピアエースD-Dダイマー II	<1.0 μ g/ml	三菱化学ヤトロン (MKI)
	イアトロエースD-Dダイマー II	<1.0 μ g/ml	三菱化学ヤトロン (MKI)
	オートダイマーテスト	$\leq$ 0.2 μ g/ml	日本ビオメリュー (BMJ)
	MDA用イアトロエースD-Dダイマー II	$\leq$ 1.0 μ g/ml	日本ビオメリュー (BMJ)
	STA用ライアテストDダイマー	$\leq$ 0.4 μ g/ml	ロシュ・ダイアグノスティックス
	コバス試薬Dダイマー	$\leq$ 1.0 μ g/ml	ロシュ・ダイアグノスティックス
	ティナクアントDダイマー	$\leq$ 0.5 μ g/ml	ロシュ・ダイアグノスティックス
	リアスオート・Dダイマー ネオ	<1.0 μ g/ml	シスメックス
	エルピアD-Dダイマー	<1.0 μ g/ml	シスメックス
	ナノピアDダイマー	$\leq$ 1.0 μ g/ml	第一化学薬品
	LATECLE Dダイマー試薬	$\leq$ 1.0 μ g/ml	カイノス
	ランピアラテックスDダイマー	$\leq$ 1.0 μ g/ml	極東製薬
酵素免疫法	アセラクロムDダイマー	$\leq$ 400ng/ml	ロシュ・ダイアグノスティックス
	Dダイマーテスト「コクサイ」・F	$\leq$ 0.5 μ g/ml	シスメックス
蛍光免疫法	バイダスアッセイキットDダイマー2	<500ng/ml	日本ビオメリュー (BMJ)
	エバテストDダイマー	<1.0 μ g/ml	日水製薬
免疫クロマト法	カーディアック試薬Dダイマー	<0.5 μ g/ml	ロシュ・ダイアグノスティックス

D ダイマーは、血栓の存在を示唆する代表的マーカーとして、深部静脈血栓症 (DVT) や肺塞栓症 (PE) の除外診断、播種性血管内凝固症 (DIC) の診断基準 (表2) などに導入され臨床的に活用されている。旧厚生省 DIC 診断基準 (1992 年) では血清 FDP をスコアリング項目とし、補助的検査成績・所見のひとつとして D ダイマーが高値であることが含まれているが、どの程度を高値とするかは明言されていない¹⁾。また国際血栓止血学会／標準化委員会 (ISTH/SSC) の提案した DIC 診断基準 (2001 年) では、D ダイマーは FDP や可溶性フィブリン (SF) と同格に扱われスコアリングに関与しているが、具体的な数値設定はされていない²⁾。いずれの診断基準においても、D ダイマー値の解釈は主観的な判断に任されていることになる。このように曖昧な表現にせざるを得ない背

景には、D ダイマーの特性に起因する問題点があることを理解しなければならない。

FDP-D ダイマー測定の特性と問題点

D ダイマーを含めた FDP 測定の特性と問題点を図1にまとめた。FDP 全般の特性は、生物学的活性を有しない多様性 (heterogeneity) に富んだ抗原の集合であることと、線溶が亢進すると出現する分子マーカーであることである。従って測定上の問題点としては、絶対的な標準物質 (primary standard) が存在せず、凝固因子活性の定量検査のように正常検体の単純な希釈列を用いて検量線を作成できないことがあげられる。各測定キットには定量化の根拠となる calibrator (D ダイマー標準品) が指定されているが、ある測定法の calibrator が他の測定法

表2 播種性血管内凝固 (DIC) 診断基準の比較

項目	旧厚生省診断基準(1992年)		ISTH/SSC 診断基準(2001年) overt - DIC		ISTH/SSC 診断基準(2001年) non - overt - DIC	
	基礎疾患	+1	必須	不問	基礎疾患	+2
臨床症状	臓器症状 出血症状	+1 +1 +1				
血小板数 ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	$8 < \leq 12$ $5 < \leq 8$ $5 \geq$	+1 +2 +3	$5 < < 10$ $5 >$	+1 +2	血小板数 ($\times 10^4/\mu\text{l}$) PT (sec) FDP, FDPD dimer, SF	-1 0 +1
血清FDP ($\mu\text{g/ml}$)	$10 \leq < 20$ $20 \leq < 40$ $40 \leq$	+1 +2 +3	FDP, FDPD dimer, SF 中等度増加 著明増加	+2 +3	global coagulation test	増加 短縮 減少
血漿fibrinogen (mg/dl)	$100 < \leq 150$ $100 \geq$	+1 +2	100 >	+1	antithrombin protein C TAT complexes その他	増加 正常 低下 増加
PT	$1.25 \leq < 1.67$ $1.67 \leq$	+1 +2	sec $3 < < 6$ $6 <$	+1 +2	特異的項目 (specific criteria)	減少 減少 増加
DIC		≥ 7		≥ 5		

合計点数による基準は明言されていない

では非常に低値になったり、全く測定できないことがある³⁾。これはモノクロナル抗体の特異性や反応性が、測定キットごとに異なるためである。また calibrator が同じ $\mu\text{g/ml}$ 単位を使用している、純化 D ダイマー分画による DD units と、フィブリン塊の材料となった血漿フィブリノゲン量で表現する FEU (fibrinogen equivalent units) があり、理論的には 1FEU は 2DDunits に相当することも確認しておく必要がある³⁾。さらに測定原理や装置の差異や、同一キットでも血清検体と血漿検体による差異の問題などがある。これらの複雑な要因が D ダイマーの測定法間差を発生させ、さらに標準化を困難にしていることになる。試薬間差を是正する何らかの標準化の方法論が確立されないと、測定法や病態ごとに異なるカットオフ値を、どのように調整して診断基準や診断指針などに盛り込むか、という課題も解決されない。

FDP-D ダイマーの測定法間差の問題と解決への方向性

— standardization から harmonization へ —

D ダイマー測定法の個別の検討では、それぞれが血栓症の診断に有用であることを報告しているが、次第に測定法間差の問題が指摘されはじめた⁴⁾⁻⁶⁾。Meijer らは血栓止血関連検査の外部精度管理組織 (ECAT Foundation) の結果から、測定法間でのばらつきが著しいことを指摘している⁷⁾。この問題は ISTH/SSC でも 1990 年代終わり頃から議論されるようになり、標準化の必要性が議論されるようになってきた。しかし、フィブリン塊をプラスミンで分解させて得た純化 D ダイマーを 1 次標準試料として標準化 (standardization) する試みは成功していない⁸⁾。2000 年からは独立して D ダイマー検討部会が設置され、Dempfle らはいろいろなフィブリン分解産物検体を多種類の測定キットを比較する The Fibrin Assay Comparison Trial (FACT)⁹⁾

を継続して報告してきた。日本の試薬メーカーも参加した FACT round4 の成績が 2005 年に報告され、高分子分解産物を含む各種病態の患者プール血漿検体を測定して数学的に換算処理すれば、測定法間差は調整 (harmonization) でき得るとの方向性を結論付けている。また各測定キットにおける DVT 除外診断のカットオフ値設定のためにも、凍結乾燥患者プール血漿による calibrator の確立が必要であると提言している。

本邦でも、日本臨床検査医学会と日本検査血液学会の標準化委員会・血栓止血検査小委員会では、国内試薬メーカーの参加と協力で、FDPおよびDダイマーの試薬間差の是正に向けた基礎的検討が始められている。この検討ではECATやFACTと同様に患者検体を利用するが、おおよその濃度別に患者血清をプールして、8階調の標準管理血清セットを作製している¹⁰⁾。各管理血清のDダイマーを各試薬で測定するが、絶対値を確定できないので、各試薬の5回

平均値の中央値を各管理血清のコンセンサス値として暫定している。暫定コンセンサス値と各試薬の実測値を、直線回帰式で換算して試薬間差を調整するという方法であり、いわゆる試薬間の harmonization である (図 2)¹¹⁾。第 5 回日本検査血液学会学術集会 (2004 年) における標準化委員会中間報告では、高濃度領域の実測値はばらつきが大きくなる傾向があるが、低濃度領域では標準管理血清による harmonization の可能性が示唆されている。特に基準値前後から低濃度領域にかけて試薬間差が是正されることができれば、各種病態におけるカットオフ値の設定や、診断基準における重症度分類などに大きく貢献できるものと考えられる。

もちろん臨床的検証によりデータを集積して、この方法論の妥当性を評価する作業を繰り返さなければならない。そして calibrator や管理血清などの標準代用検体の QC (品質管理) をどのように行うか、また評価されるべきかという課題は、harmonization の根幹に関わるも

*文献11)を一部改変

図2 Harmonizationの理論(実測値からコンセンサス値への変換)*

のだけに特に重要である。

FDP-D ダイマー測定の後

ISTH/SSCでは、2006年以降にキャリブレーションによるharmonizationの成否が報告されるであろう。本邦でも引き続き標準化委員会の検討が行われ、また2006年度には、日本血栓止血学会にもISTH/SSCに対応する標準化委員会が設置されるので、日本臨床検査医学会や日本検査血液学会との連携により、基礎から臨床まで包括的な検討が期待される場所である。

おわりに

多施設での比較研究などでDダイマー値を解釈する場合、この検査法の厳密なstandardizationは不可能であり、測定法間のharmonizationの模索が始まったばかりであるということは、常に認識しておく必要がある。

文 献

- 1) 青木延雄, 長谷川淳: DIC診断基準の「診断のための補助的検査成績, 所見」の項の改訂について. 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班. 昭和62年度研究報告書, 1988, p37-41.
- 2) Taylor Jr FB, Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M: Towards Definition, clinical and Laboratory Criteria, and a Scoring System for Disseminated Intravascular Coagulation on behalf of the Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation(DIC) of the International Society of Thrombosis and Haemostasis(ISTH). Thromb Haemost 86: 1327-1330, 2001.
- 3) Reber G, de Moerloose PH: D-dimer assays for the exclusion of venous thromboembolism. Semin Thromb Haemost 26: 619-624, 2000.
- 4) Freyburger G, Trillaud H, Labrousse S, Gauthier P, Javorschi S, Bernard P, Grenier N: D-dimer strategy in thrombosis exclusion. A gold standard study in 100 patients suspected of deep venous thrombosis or pulmonary embolism: 8 DD methods compared. Thromb Haemost 79: 32-37, 1998.
- 5) van der Graaf F, van den Borne H, van der Kolk M, de Wild PJ, Janssen GW, van Uum SH: Exclusion of deep venous thrombosis with D-dimer testing—comparison of 13 D-dimer methods in 99 outpatients suspected of deep venous thrombosis using venography as reference standard. Thromb Haemost 83: 191-198, 2000.
- 6) Schutgens RE, Haas FJ, Gerritsen WB, van der Horst F, Nieuwenhuizen HK, Biesma DH: The usefulness of five D-dimer assays in the exclusion of deep venous thrombosis. J Thromb Haemost 1: 976-981, 2003.
- 7) de Mant MP, Meijer P, Nieuwenhuizen W, Haverkate F, Kluit

- C: Performance of semiquantitative and quantitative D-dimer assays in the ECAT external quality assessment program. *Semin Thromb Hemost* **26**(6) : 625-630, 2000.
- 8) Nieuwenhuizen W: A reference material for harmonization of D-dimer assays. Fibrinogen Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* **77** : 1031-1033, 1997.
- 9) Dempfle CE, Zips S, Ergul H, Heene DL: Fibrin Assay Comparison Trial study group: The Fibrin Assay Comparison Trial (FACT): evaluation of 23 quantitative D-dimer assays as basis for the development of D-dimer calibrators. *Thromb Haemost* **85**(4): 671-678, 2001.
- 10) Fukutake K, Nakayama H, Nishiwaki K, Oyo Y, Baba Y, Tanabe H, Koshihara K, Kagawa K, Amano K: Standardization of assays for plasma fibrin-fibrinogen degradation products. *J Thromb Haemost.* **3**(Suppl. 1): P0800, 2005
- 11) Meijer P, Kluft C: The harmonization of quantitative test results of different D-dimer methods. *Semin Vasc Med* **5** : 321-327, 2005.