凝固検査の標準化の必要性和現状

福武勝幸*

Necessity and current state of standardization in blood coagulation tests

Katsuyuki FUKUTAKE

要約: 臨床検査における標準化の目的は、検査結果が正確であり、病院が変わっても、地域が変わっても、国が変わっても科学的に共通の指標として使えるものにすることである。つまり、臨床検査の標準化は同一検査項目の結果を世界共通の指標として利用し、高度な医療を推進するための診断基準や診療ガイドラインを作り、利用するためには必須の作業である。臨床検査の結果は客観性の高い重要な医療情報であり、標準化を推進することによって検査結果の信頼性と普遍性を担保できる環境を整えることが大切である。標準化の目的を最終的に達成するには、その実効を臨床現場の中で確認する必要がある。多くの施設が参加する外部精度管理調査により個々の項目の検査結果の収束状態を確認することは、標準化の状態をモニタリングしていることにもなり、この結果を基に行政機関、製造会社団体、関係学会等が協働することで標準化の継続的改善のサイクルを形成することができる。

Key words: harmonization, collection of blood, PT-INR, APTT, fibrinogen

1. はじめに

臨床検査の標準化の目的は、臨床検査の結果が正確であり、病院が変わっても、地域が変わっても、国が変わっても科学的に共通の指標として使えるものにすることである。つまり、臨床検査の標準化は同一検査項目の結果を世界共通の指標として利用し、高度な医療を推進するための診断基準や診療ガイドラインには必須の作業である。臨床検査は個々の検査項目に新たな診断薬や新たな測定系や検査機

*責任者連絡先:

東京医科大学臨床検査医学分野
〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1
Tel: 03-3342-6111, Fax: 03-3340-5448
E-mail: fukutake@tokyo-med.ac.jp

福武勝幸

1979年3月
東京医科大学卒業
1983年1月
東京医科大学大学院終了
1983年4月
東京医科大学臨床病理学講座助手
1984年4月
米国コネチカット州立大学医学部内科学客員講師
1985年10月
米国赤十字本社血液研究所客員科学者
1988年2月
東京医科大学臨床病理学講座講師
1990年11月
東京医科大学臨床病理学講座助教授
1992年4月
東京医科大学臨床病理学講座主任教授、
東京医科大学病院中央検査部長、輸血部長
2014年4月
東京医科大学臨床検査医学分野主任教授
(名称変更)

器が加わることを繰り返すことにより進歩してきた。その結果、同一検査項目に複数の検査法や診断薬が存在し、検査法・診断薬間で検査結果に乖離が発生していることがある。この際、発生した差が類似物質の測定であっても新たな知見をもたらす科学的に意義のあるものであれば、むしろ新たな検査項目として受け入れるべきであるが、測定性能の向上など技術的変更に基づく差であれば、標準化のルールに従って検査法間の差を受け入れ可能な範囲に抑えるように開発者へ求める必要がある。

一方、臨床検査の結果は種々の疾患の診断、治療の判断基準やモニタリングなどに客観性の高い医療情報として利用されており、標準化を推進することによって検査結果の信頼性と普遍性を担保することが益々重要な課題となっている。言い換えれば、標

標準化を実現することは臨床検査を行う者の責務である。ただし、個々の検査法を標準化しただけでは冒頭に述べた標準化の目的を最終的に達成することはできない。その達成には、標準化の実効を臨床現場の中で確認することが重要である。このための方策として、外部精度管理調査により検査結果の収束状態を確認することで各検査項目の標準化の状態をモニタリングする方法がある。この視点から行政機関、製造会社会体、関係学会等が協力して外部精度管理調査の結果を積極的に利用することは、臨床検査の標準化に継続的改善をもたらす重要な役割を果たすことになる。本稿では主に凝固検査の標準化について、外部精度管理調査の意義を踏まえた現状と課題について総論的に述べる。

2. 臨床検査の標準化

臨床検査の標準化を厳密に行うには、まず適切な検査原理を基にした基準分析法を確立することから始まる。そして、一般的な標準化プロセス(図1)¹⁾は、純化精製された適切な一次標準物質(国際認証標準物質)を準備し、この標準物質を原器として正確な測定を行う系を確立する。次いで実用基準分析法と一次標準物質によって値付けされた二次標準物質を作製し、二次標準物質により値付けした日常検査法による検体の測定を行うという流れが必要である。この流れの中で、標準物質の値を遡って検証できるトレーサビリティの概念が重要であり、また逆に下方へと転送を可能にするトランスファービリティの概念も重要とされている。このように構成された標準化の流れに沿って、世界で生産されている診断薬や検査機器が基準分析法による検査結果と同等の結果を示すことにより標準化は完了する。実際の臨床検査室で用いる標準物質はさらに下位の三次標準物質となることもあるが、上位へのトレーサビリティが確保されていれば目的を果たしていることになる。各測定施設では内部精度管理を行い検査の正確性と精度を確認すると共に、第三者により実施される外部精度管理調査(多施設が同一検体を測定して検査結果を集計する調査)に参加することにより、当該施設が採用した検査法自体の性能、参加施設全体の技術水準や当該検査法の標準化の完成度

図1 標準化の基本的プロセスと外部精度管理(文献1より引用改変)

が確認できる。そして、同様に標準化された様々な測定法を用いた検査施設が同一検体を測定した結果がある程度の収束を示せば標準化の完成を確認したことになる。同時に当該施設は自施設の検査技術の位置を確認し、検査技術の継続的な改善に役立てることができる。

臨床検査は、このような経過を経て、一定水準の正確性と普遍性を保証できる条件を確立することで、全ての医療施設が診療に必要なエビデンスの構築に貢献し、またその成果を利用することができるようになる。しかし、現実の医療における臨床検査の実態は必ずしもそうではなく、「標準化」の実現は理想的な到達目標として留まっている場合が少なくない。とくに本稿のテーマである凝固検査については様々な困難があるため、標準化あるいはそれに代わるものとしてのいわゆるハーモナイゼーションの推進に向けた関係者の更なる努力が必要である²⁾。それらの作業は地味で長期を要するものであるが非常に重大な意義を持っており、臨床検査を担当する者としての責務である。

表 凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス(要点)³⁾

採血管	容器の素材は、プラスチック製もしくはシリコン処理済みガラス製を使用 抗凝固剤には、0.105～0.109 M(3.13～3.2%)クエン酸ナトリウム溶液を使用 許容採血量は公称採血量±10%までとし、クエン酸ナトリウム溶液と血液の比率は1:9 患者のヘマトクリット値(Ht)が55%以上の場合はクエン酸ナトリウム溶液量を調整
採血	JCCLSの標準採血法ガイドライン GP4-A2に従う 真空採血、注射器採血のいずれの組み合わせも使用可 最低限の血流うっ滞(駆血帯処置)で清潔に穿刺 個別の状況に応じて対応することも可能とするため、21～23 Gの注射針あるいは翼状針を使用 ヘパリンが混在する静脈ライン使用不可 採血針を用いた真空採血：一番目に凝固検査用採血管もしくは血清用採血管(トロンビン使用のもの以外)を採血 翼状針を用いた真空採血：1番目にダミーの採血管もしくは他の検査用採血管を採血 注射器採血：一番目に凝固検査用採血管に血液を分注 正確な血液量が採血管に流入したことを確認し、血液と抗凝固剤は速やかに5回程度泡立たぬよう転倒混和。なお、内径の細い採血管では転倒による空気層逆転を目視にて確認後転倒混和を実施
操作(搬送)	1時間以内に血液試料を室温で遠心、血漿分離、必要に応じて凍結、ドライアイスで搬送。 遠心は1,500 G以上で最低15分、18～25℃で行い、血漿中残存血小板が1万/μL以下であることを確認。 遠心後に凝固、黄疸、 <i>in vitro</i> の強度溶血、高脂血・混濁試料は検査不可を考慮
保存と調整	4℃での長時間保存は避け、4時間以内に分析(測定) 凍結保存が必要な検体はO-リングが付いたネジまき式ポリプロピレン管に保存、 長期間の場合は、-75℃以下で保存を推奨 自動霜取りの冷凍庫は止血系検体に使用不可 分析・測定前に37℃水浴中で急速融解し(通常は1-2 ml 試料を水浴で溶かすのに3-5分)、クリオプレシペータを再懸濁するため、緩やかに攪拌し、速やかに測定

3. 臨床検査室の管理体制と標準化

臨床検査の標準化の範囲は、検査中だけではなく検査前から始まり検査後の対応にまで及ぶ必要がある。すなわち、検査依頼、検体採取、検体調整、検査実施、結果報告そして結果の利用の全行程をくまなくカバーする必要がある。広い意味での標準化作業はこれらの全ての行程について行わなければならない。そうした意味での臨床検査室の標準化は国際規格 ISO 15189(臨床検査室-品質と能力に関する特定要求事項)に基づいた臨床検査室の能力を認定する事業などにより実施されており、認証施設においては高い透明性の中で臨床検査の均質性の確保や品質保証に必要な継続的な改善活動が行われている。2016年の診療報酬改定において「国際標準検査管理加算」が新設されたことにより、国際規格に基づく技術能力の認定を受けている場合に、診療報酬の加算が認められたことはわが国の臨床検査室に大きな影響を与えると思われる。この加算を取得するには、ISO 15189の基幹項目および非基幹項目の認定取得

が必要であるため、現在、多くの施設が認定取得を目指しており、臨床検査室の管理体制についての全国的な標準化が期待される。

4. 検体の採取と調整

臨床検査において、先ず重要なのは検体の採取と調整である。とくに凝固検査では血漿を検体とすることが主であり、血漿分離に際して比重が小さいために血漿中に残存しやすい血小板数を少なく抑える必要がある。また、検査対象として不安定な酵素活性を利用することが多いために採取後短時間での検査を実施するだけでなく、凍結保存や融解の方法などにも細心の注意が必要である。採血方法は国内でJCCLSの標準採血法ガイドライン GP4-A2が策定されており、血漿調整にはCLSIの推奨方法が用いられてきた。また、最近、日本検査血液学会標準化委員会凝固検査標準化ワーキンググループによって「凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス」³⁾として提唱され、採血管の選択、採血方法、血漿分離操

作、保存と融解についての詳細な条件が設けられ、検体の厳密な調整方法が明確となった。これからの凝固検査の標準化は本コンセンサスを参照して各施設における検査体制を再確認することが出発点である。

5. 臨床検査の標準化と精度管理調査

臨床検査の項目毎に実施された標準化が実際に効果を上げているかを確認する手段として多施設が参加する外部精度管理調査が果たす役割は重要である。外部精度管理調査は、本来、参加施設が自身の検査技術の位置を確認し、検査技術の継続的な改善に役立てることを目的とするが、測定法間差、診断薬間差や機器間差など系統的な異常が発生した場合には、標準化の未実施や不徹底、測定方法の問題、標準化の方法自体の不備等、新規検査法と標準物質・基準検査法との関係では検出できない問題を発見する有効な手段でもある。一方、同様に標準化された様々な診断薬を用いた検査施設が、外部精度管理に参加して同一検体を測定した結果が、十分な収束を示せば標準化の完成を確認したことになる。臨床検査は、このような経過を経て、一定水準の正確度と普遍性を保証できる条件のもとに多施設が利用する環境を形成することで、全ての医療施設が診療に必要なエビデンスの構築に貢献し、またその成果を利用することができるようになる。

6. 外部精度管理調査の応用

標準化の達成状況を見るための外部精度管理調査の応用として具体例を紹介する。平成27年度の日本医師会の臨床検査精度管理調査⁴⁾に採用されている血液凝固検査項目はプロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、フィブリノゲンの3項目のみであるが、約2,000施設が参加する血液凝固検査に関する大きな精度管理調査となっている。プロトロンビン時間はワーファリン治療のためにISI-INRという特別な手法を用いてデータの共通評価を可能にし、治療の安全確保に大いに貢献した例である。図2にプロトロンビン時間のINRについての集計結果を引用するが、一部の診断薬で大きな

施設間差が認められているだけでなく、メジャーな診断薬間でも平均値に10%程度のINRの差が観察されている。これは施設間差の基準である目標値 $\pm 25\%$ 以内の範囲内ではあるがINRを共通化する上で最も重要なISIの設定方法の細部において、技術的手順の標準化に問題が残っているためメーカー間差を生じている可能性が高く、まだ改善の余地が残っていると思われる。

活性化部分トロンボプラスチン時間においては、図3に示すように診断薬と機器の組み合わせにより様々な群が存在しており、標準化のためにはまだまだ多くの工夫が必要であると思われる。この系をいっそう複雑にしているのは、それぞれの診断薬が凝固因子活性、ヘパリンなどの抗凝固薬やループスアンチコアグラントに対して異なった感受性を持ち、検査の目的も異なっているために一様に補正することが難しいという特殊な事情があり標準化には更なる困難が予想される。

フィブリノゲンは唯一標準化が完了した検査項目であり、基準検査法としてのトロンビン時間法とWHOの標準物質が整備されているが、図4の双値図のように2濃度間の相関性は良いものの約10%程度の差を示す高値群と低値群が存在しており、また主要な相関関係から外れている群もある。標準化が完了した検査項目についてはこうした知見を基に、基準検査法と比較することにより、診断薬に使われる標準物質の値付けやトロンビンの活性値などの影響因子を調査し、継続的改善を図ることが重要である。

7. 凝固検査の標準化への課題

検査法の標準化を実現する基本的条件として、測定原理が明確で単一物質の直接測定が可能であり、測定対象とする物質について国際認証標準物質が確立され、基準分析法が定められていなければならない。血液凝固分野の検査で単一物質の測定に該当するは、フィブリノゲン、アンチトロンビン、プラスミノゲン、プラスミンインヒビターやその他の各凝固因子、凝固阻止因子の定量、トロンビンアンチトロンビン複合体などの分子マーカーである。しかし、WHOの国際認証標準物質が存在するのはフィブリ

図2 平成27年度日本医師会精度管理調査 INR(文献4より一部改変)

ノゲン, 第VIII因子, 第IX因子, 第II因子, 第VII因子, 第X因子に留まっており, 他の物質については国際的に通用する標準物質は存在しない. このうち単一物質に対する特異的測定法が確立されているのはトロンビンによる凝固反応を利用したフィブリノゲン測定のみである. 他の凝固因子の活性測定は凝固1段法を基本としているので, 反応系が複雑であり多因子の影響を受けることから診断薬間差が大きく, 真の意味での基準分析法を確立するのは非常に難しい. 一方, 発色性合成基質を利用した第VIII因子や第IX因子の測定は試薬成分の調整が可能であることから標準化できる可能性があり, 複数の製品が上市される際には標準化の推進を強く望むものである.

8. まとめ

血液凝固検査では標準化が容易でない検査が多いが, 既に標準物質が用意され標準化が可能な検査項目については, 診断薬メーカーは積極的に標準化に参加し, 臨床検査室も協力しなければならない. また, 臨床検査を活用して診断基準や治療ガイドラインなどエビデンスに基づく医療を遂行するためには, 臨床検査の標準化は欠くことができない要件で

図3 平成27年度日本医師会精度管理調査 APTT(文献4より引用)

図4 平成27年度日本医師会精度管理調査 フィブリノゲン値(文献4より引用)

あり, 推進しなければならない. がさらに, 厳密な意味での標準化を推進するには, 第三者組織による外部精度管理調査の結果などを参照し, 外部精度管理調査により個々の項目の検査結果の収束状態を確

認することは、標準化の状態をモニタリングしていることにもなり、この視点に立って行政機関、製造会社団体、関係学会等が協力することで臨床検査の標準化に継続的改善のサイクルを形成することができる。

一方で、フィブリン分解産物などの厳密な標準化が困難な測定原理や測定対象を持つ検査を、臨床の場で広く活用するためには、標準化に代わる手法としてのハーモナイゼーション(調和化)^{2,5)}により、臨床的にほぼ同一の意味を示す検査結果を同様の数値で示すなど、臨床医が混乱なく解釈できるように表示方法の工夫などを行い、結果表示の共通化を進める必要がある。さもないと、同じ目的を持ちながら施設毎に異なる検査値を示すことになり、医学的な判断基準も共通の基準とすることができず別々に設定され、結果として医療の質の向上を障害し、場合によっては患者に不利益を及ぼすことになる。このような障害の発生を最小限に留めるために、厳密な意味での標準化が困難な検査項目に対してはハーモ

ナイゼーション(調和化)という考え方が必要であり、積極的に導入に取り組まなくてはならない。

著者の利益相反(COI)の開示：

福武勝幸：役員・顧問職社員など(エスアールエル)、臨床研究(治験)(中外製薬, Octapharma, CSL ベーリング), 研究費(受託研究, 共同研究, 寄付金等)(バクسالタ, シミック, ノボノルディスクファーマ)

文献

- 1) 桑克彦：臨床化学検査の測定体系，日臨検自動化会誌，**34 Suppl**: 11-37, 2009.
- 2) 福武勝幸：凝固検査の標準化 臨床病理レビュー，血液検査編，臨床検査 Yearbook 2009. 東京，宇宙堂八木書店，2009, 162-166.
- 3) 日本検査血液学会標準化委員会凝固検査標準化ワーキンググループ：凝固検査検体取り扱いに関するコンセンサス，日検血会誌 **17**: 149-157, 2016.
- 4) 平成 27 年度日本医師会臨床検査精度管理調査報告書
- 5) 福武勝幸：凝固検査の標準化とハーモナイゼーション，臨床検査 **60**: 166-170, 2016.