

## 第40回広島県臨床検査精度管理向上研修会

# ALP、LDのIFCC法とは

～ALP、LDのIFCC処方への切り替えに向けて  
知っておきたいこと～

2021年 3月 21日

富士フイルム 和光純薬株式会社

中国営業所 西川 敦子

# 日本の標準化のために . . .

- 日本における基準測定法の設定
- JSCC勧告法
  - : 日本国内における最も基準となる測定法、  
用手法であり基本的に30°Cで測定を行う
- JSCC常用基準法
  - : 勧告法の温度のみを37°Cとした方法
- JSCC標準化対応法 . . . メーカー試薬
  - : JSCC常用基準法と比例互換性を有し、  
ERM又は検量用ERMを介してJSCC常用基準法の  
測定値を正しく伝達できる方法



# 酵素項目 標準化の流れ①

## <単位の統一>

慣用単位 : 測定法の開発者が任意に定めた活性値の表現

Karmen単位、King-Armstrog単位 等

国際単位 : 酵素活性の測定は至適条件で行い、その初速度から基質の変化量を求め

1 分間に 1  $\mu\text{mol}$ の基質の変化を触媒する酵素活性を 1 国際単位 (IU)とする

## <基準となる測定法の制定>

勧告法の制定

AST、ALT、LD、ALP、CK、 $\gamma$ -GT

**J S C C 準拠試薬発売**

\* 準拠試薬 : 勧告法と試薬最終濃度が一致する試薬

## <装置特性の補正>

実測 K ファクターによる活性値の算出

**検量係数設定用  
反応指示物質発売**

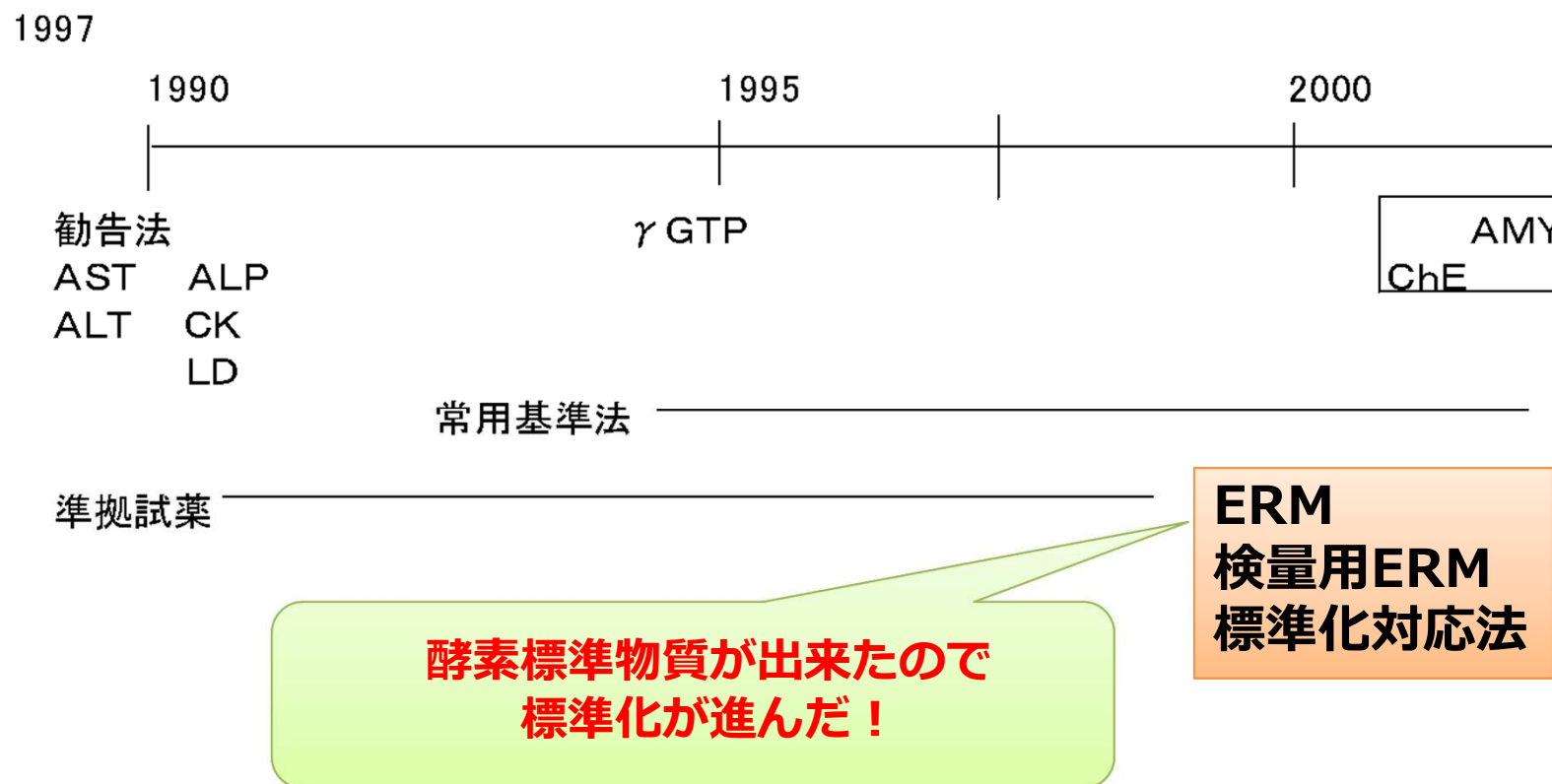
## <酵素標準による標準化>

E R M (常用酵素標準物質) を用いた血清酵素活性測定体系

**酵素キャリブレーションの発売**

# 酵素項目 標準化の流れ②

現在、J S C C 勧告法が設定されている酵素項目は  
**AST ・ ALT ・ LD ・ CK ・  $\gamma$ -GT ・ ALP ・ ChE ・ AMY**



常用基準法 : 勧告法以外の条件を全く変更しないで温度を37度に変更した方法

何故、常用基準法と標準化対応法は、処方が違うのか？

- 常用基準法は『ものさし』としての機能をもつが  
**安定性については考慮されていない**  
ルーチンで使用する標準化対応法は運用の利便性を向上するために、メーカー毎の工夫がされている
  - メーカーの改良ポイント
    - ・ 液状安定化
    - ・ 開封後安定性
    - ・ 測定範囲の向上
    - ・ 反応に影響を与える物質の、影響回避・抑制 など
- ➡ **改良した上で反応性は変わらないように工夫している**

日本国内はJSCC標準化対応法で、ほぼ統一されているが・・・

国際ハーモナイゼーション

検査値のコンピュータビリティ

検査のグローバル化

国際的な治験への参加

日本の測定法（JSCC法）は非常に精度・正確性ともに優れているが、世界的にみると項目によっては**日本独自の測定値**が使われている

# 臨床検査の標準化とハーモナイゼーション

## ★臨床検査の標準化の条件

- ① 標準物質（基準となる物質）
- ② 標準測定法（基準となる測定法） が存在すること

## ★ハーモナイゼーション（調和化）

ハーモナイゼーションは厳密な標準化ではなく  
基準物質の代替品としてプール検体などを用いて  
「標準的な検体であれば全ての検査室で概ね一致する値を示すこと」  
を目標とするもの



# なぜ今IFCC法の試薬が必要？

## ■ ALP JSCC法の現状

- ・ JSCC法はO型、B型のLewis分泌型で高脂肪食後に小腸型ALPが出現し、病態に関係なくALPが高値化する
- ・ 国際的な治験などにおいて、血清ALPはIFCC法での測定値が求められている

## ■ LD JSCC法の現状

- ・ JSCC法とIFCC法で検体や試料によってはLD総活性の測定値に差が生じる
- ・ 国際的な治験などにおいて、血清LDはIFCC法での測定値が求められている

★キーワードは・・・

# \* 補足 : IFCCとは？

**IFCC** (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)  
: 国際臨床化学連合

- ① 加盟各国と協調して、臨床検査における国際的な標準化を図る
- ② 臨床検査における教育・研究の活性化を促進する
- ③ 多様な研究成果を臨床検査として実用化するための情報交流の場としての学術集会を開催する など

項目	JSCC法とIFCC法の相違点
AST、ALT	JSCC法：ホロ酵素のみを対象とした測定法 IFCC法：アポ酵素も測定対象（試薬にピリドキサーリン酸添加）
ALP	受容体基質兼緩衝液：JSCC法はEAE、IFCC法はAMP 亜鉛、HEDTA（アルカリ側で作用するEDTA）：JSCC法は無添加、IFCC法は添加
LD	緩衝液：JSCC法はDEA、30℃でpH8.8、IFCC法はMEG、37℃でpH9.4



- ・ CK、 $\gamma$ -GT、AMYのJSCC常用基準法（JSCC法）はIFCC基準測定法（IFCC法）と同一の測定法とみなせる
- ・ AST、ALT、ALP、LDはIFCC法と反応試薬の組成が異なっており、測定値に差が生じる

# 日本国内におけるIFCC法変更への経緯 **FUJIFILM**

- 日本国内におけるALP-IFCC法へ移行の流れは  
2012年に日本臨床化学会でALP-IFCC法の有用性を  
調査するプロジェクトが立ち上がったのが始まりです
- プロジェクトが進展し、2015年のTHE MEDICAL&TEST JOURNALに  
『2年後一斉変更へ』の記事が掲載され話題となりました
- 2017年にLD-IFCC法へ移行のプロジェクトも発足しました
- 2019年6月のTHE MEDICAL&TEST JOURNALに  
「来年4月から変更開始」の記事が掲載されました

**2020年4月より準備の整った施設から変更開始  
(2020年度末までの変更を目指す)**

# 日本国内におけるIFCC法の状況

## ■ 2019年度の日臨技の参加状況

### 【アルカリ性フォスファターゼ-方法別統計】

単位: 37°C国際単位

除外方法: 除外と±3SD2回除去

試料11: 3456件 / 試料12: 3456件

試料	全試料				除外後: 除外と±3SD2回除去				除外後		除外数	
	件数	平均	SD	CV(%)	件数	平均	SD	CV(%)	最小	最大	件数	%
方法	(01) JSCC標準化対応法											
試料11	3445	292.3	8.1	2.75	3390	292.3	5.8	2.00	274	310	55	1.6
試料12	3445	433.9	13.2	3.05	3392	434.0	8.9	2.05	406	462	53	1.5
方法	(02) IFCC標準化対応法											
試料11	7	199.7	102.9	51.53	7	199.7	102.9	51.53	83	311	0	0.0
試料12	7	295.6	150.2	50.82	7	295.6	150.2	50.82	128	453	0	0.0

### 【乳酸脱水素酵素-方法別統計】

単位: 37°C国際単位

除外方法: 除外と±3SD2回除去

試料11: 3477件 / 試料12: 3477件

試料	全試料				除外後: 除外と±3SD2回除去				除外後		除外数	
	件数	平均	SD	CV(%)	件数	平均	SD	CV(%)	最小	最大	件数	%
方法	(01) JSCC標準化対応法											
試料11	3471	151.7	3.1	2.07	3392	151.7	2.6	1.68	144	159	79	2.3
試料12	3471	416.6	8.5	2.03	3407	416.8	5.7	1.36	399	435	64	1.8
方法	(02) GSCC/IFCC標準化対応法											
試料11	6	147.5	4.8	3.26	6	147.5	4.8	3.26	139	154	0	0.0
試料12	6	429.8	14.2	3.30	6	429.8	14.2	3.30	407	449	0	0.0

(2019年度 日臨技臨床検査精度管理調査報告書 方法別統計より抜粋)

## ALP (アルカリホスファターゼ)

- JSCC処方とIFCC処方が一番大きな違いは？
- どのような検体で処方に起因する測定値の違いが生じるの？

# ALP JSCC法とIFCC法の比較

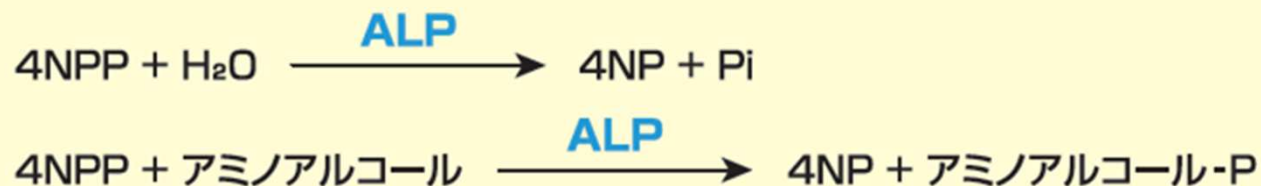
成分	JSCC法	IFCC法
pH	9.90 (30℃)	10.20±0.05 (37℃)
緩衝液 (受容体基質)	EAE : 1,000 mmol/L	AMP : 750 mmol/L
Mg <sup>2+</sup>	0.5 mmol/L	2 mmol/L
Zn <sup>2+</sup>	-	1 mmol/L
HEDTA	-	2 mmol/L
4NPP (供与体基質)	15 mmol/L	16 mmol/L

- JSCC法もIFCC法も基質は4NPP
- EAEもAMPもアミノアルコール系の緩衝液

ALPにおいては、**緩衝液**の選択は非常に重要!!  
でも、どうして?

# ALP試薬における緩衝液の役割

4NPP を基質として使用した ALP 活性測定の原理



加水分解作用では『緩衝液』であり、  
リン酸転移作用では『基質』

## ALPの2つの働き

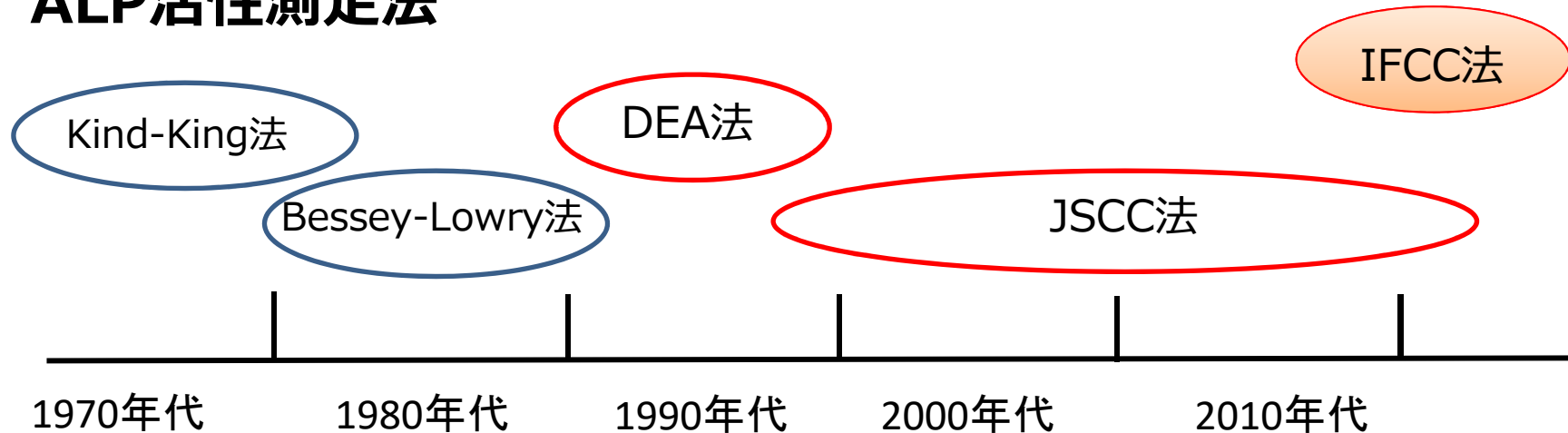
- リン酸モノエステルの加水分解作用
- リン酸基をリン酸受容体へ転移するリン酸転移作用
- リン酸基を受容するアミノアルコールを緩衝液として試薬が組み立てられている
- アミノアルコールの種類によりALPの反応速度やアイソザイムの反応性が異なる



使用する緩衝液（アミノアルコール）によって  
得られるALP活性値が異なる

# 補足：日本国内のALP活性測定法の変遷 FUJIFILM

## ALP活性測定法



ALPの加水分解作用とリン酸転移作用のうち加水分解作用の活性はKind-King法（炭酸緩衝液）、Bessey-Lowry法（グリシン緩衝液）、DEA法、JSCC法（EAE）、IFCC法（AMP）全ての緩衝液で測定されるが、リン酸転移作用の活性は**アミノアルコール系緩衝液**を使用しているDEA法、JSCC法、IFCC法でのみ測定される

# ALPのアイソザイム

## ALPアイソザイムの由来と出現する病態・生理状態

アイソザイム	由来	出現する病態・生理状態
ALP1	肝・胆管細胞膜 (高分子ALP)	閉塞性黄疸、限局性肝障害
ALP2	肝・毛細胆管	肝・胆道疾患 健常成人の主ALP (生理的)
ALP3	骨・骨芽細胞	骨疾患、甲状腺機能亢進症、骨肉腫 小児期の主ALP (生理的)
ALP4	胎盤 腫瘍	妊娠後期 (生理的) 悪性腫瘍
ALP5	小腸	血液型B、O分泌型 (生理的) 肝硬変
ALP6	免疫グロブリン結合性(肝、骨)	潰瘍性大腸炎

### 生理的変動要因



試薬中の緩衝液を変えると  
各アイソザイムの反応速度が変化する



ALP全体としての反応性 (=測定値) も変化する

## 参考：ALPアイソザイムの存在様式

- ・ 成人の肝型：骨型 = 1：1、 \* 1才未満は骨型 95%
- ・ 健常者に含まれる小腸型の割合  
： 平均6.5%（最小0%～最大34.8%）
- ・ 健常者A、AB型に含まれる小腸型の割合  
： 平均2.5%（最小0%～最大9.2%）
- ・ 健常者B、O型に含まれる小腸型の割合  
： 平均10.3%（最小0%～最大34.8%）
- ・ 胎盤型は妊婦や一部の悪性腫瘍の場合のみ血中に現れるので  
**通常血清に含まれるALPアイソザイムは肝型、骨型、小腸型**

# ALPアイソザイムの種類と反応性差

フェニルリン酸を基質とするKind-King変法と4NPPを基質とする各測定法におけるALPアイソザイム活性の比較

	基 質	4NPP		
	測 定 法	IFCC	JSCC	GSCC
	緩 衝 液	AMP	EAE	DEA
ALPアイソザイム				
ヒトプール血清	100	100	100	100
ヒト肝型	100	196	173	171
ヒト骨型	100	123	111	137
ヒト胎盤型	100	182	92	104
ヒト小腸型	100	45	70	35

- ・各測定値におけるプール血清の活性値を100として比較
- ・プール血清および各ALPアイソザイムは、Kind-king変法で同一活性を示す量を使用したとする  
(臨床化学 第19巻 第2号 209-227より抜粋、一部改変)

## ■ 日本臨床化学会 (JSCC) がEAE緩衝液を使用する方法を勧告法として選択した理由

- ・ 各アイソザイムがなるべく均等に測定されること
- ・ 4NPPに対する見かけのKmのpHによる変動が小さいこと
- ・ 各アイソザイムの37℃と30℃の活性比の差が小さいこと

## 参考：小腸型ALPについて

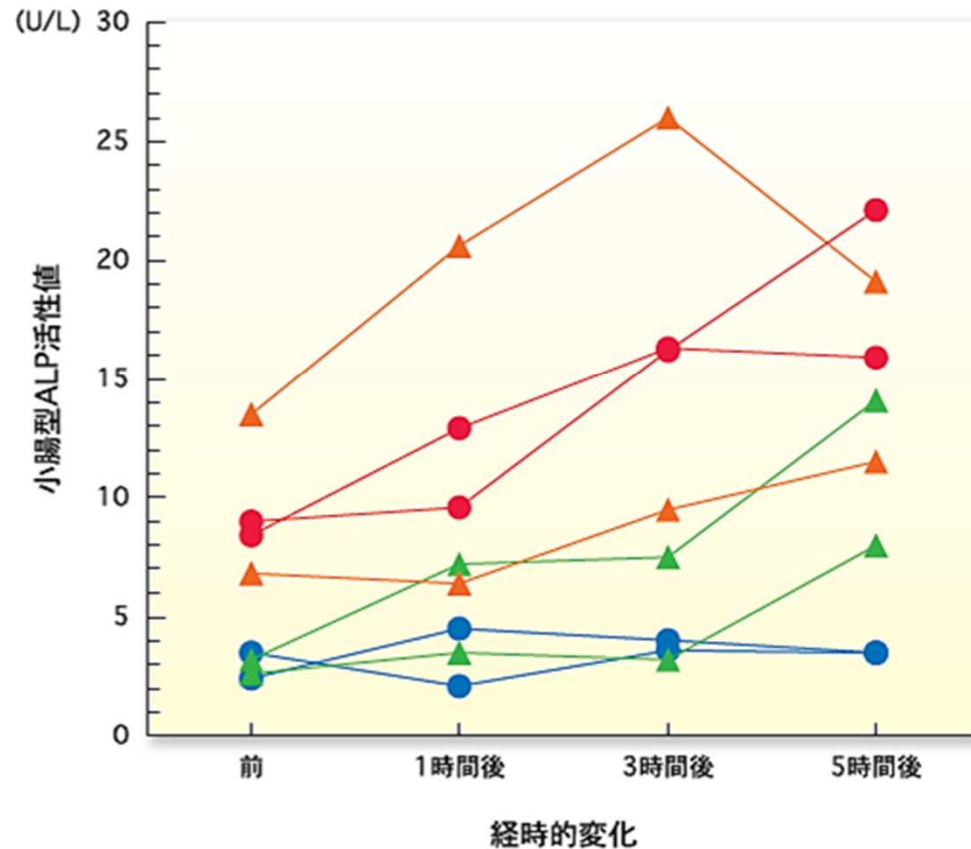
- ・ 小腸型ALP： NIAP（ノーマル、分子量13万ぐらい）  
HIAP（高分子、分子量70万ぐらい）
- ・ HIAP は主にB またはO型で分泌型の人に出現し、  
ABO 血液型に関係なく非分泌型の人では検出されない
- ・ NIAP は空腹時ではB またはO型で分泌型の人のみに見られるが、  
脂肪食後であれば急激に増加してすべての血液型の人で検出される
- ・ NIAPの脂肪食後の増加量はBまたはO型で分泌型グループが  
それ以外の血液型グループに比べ約3倍高値となる

ABO 血液型	ルイス式血液型	分泌型・非分泌型	日本人の頻度(%)	HIAP の検出	脂肪食後の NIAP の上昇
B または O 型	Le(a-b+)	分泌型	34.9	多い	高い
	Le(a+b-)	非分泌型	10.7	—	低い
	Le(a-b-)	分泌型	4.1	多い	高い
	Le(a-b-)	非分泌型	1.3	—	低い
A または AB 型	Le(a-b+)	分泌型	33.6	—(または僅か)	低い
	Le(a+b-)	非分泌型	10.3	—	低い
	Le(a-b-)	分泌型	3.9	—(または僅か)	低い
	Le(a-b-)	非分泌型	1.2	—	低い

# 食事がALP測定値に与える影響 (JSCC法)

食事負荷試験による小腸型ALP活性値の変化

(山崎浩和、他、「生物試料分析」第21巻・第2号(1998)別冊より)



- B型、O型の患者の場合、食事負荷後の小腸型ALPの測定値の上昇が顕著にみられる
- 基準範囲においても血液型を考慮する必要があるとの見解もある

● A型  
▲ B型  
● O型  
▲ AB型

## ★血液型依存性高ALPの特徴

- ALPが350~450 U/Lぐらいで、他項目は高くない
- B型かO型

# 食事がALP測定値に与える影響 (緩衝液ごと)

各緩衝液による脂肪食前後のALP活性値の違い

(松下誠、他、Clinica Chimica Acta 319, 49-55, 2002 より)

Methods	Fasting (U/L) <sup>a</sup>	After fatty meal (U/L) <sup>b</sup>	(b-a) / a × 100 (%)	
<i>Blood group B or O secretors (n=36)</i>				
AMP method	63.5 ± 17.4	67.6 ± 17.5	6.5	IFCC
MEG method	83.6 ± 25.4	92.9 ± 26.0	11.1	
DEA method	133.9 ± 37.2	140.3 ± 37.5	4.8	
EAE method	205.8 ± 61.3	229.5 ± 62.1	11.3	JSCC
<i>Other blood groups (n=44)</i>				
AMP method	55.0 ± 14.5	56.1 ± 14.7	2.0	IFCC
MEG method	67.4 ± 18.8	69.3 ± 18.6	2.8	
DEA method	120.6 ± 32.5	121.6 ± 32.7	0.8	
EAE method	168.6 ± 46.9	173.6 ± 47.7	2.9	JSCC

<sup>a</sup> ALP activity at fasting.

<sup>b</sup> ALP activity after fatty meal.

\* IFCC法も小腸型ALPに反応するので、  
B、O型では脂肪食後にALPは高値傾向になるが  
その影響はJSCCよりは少なくなる

# 食事がALP測定値に与える影響 (JSCCとIFCC)

表2 健診検体をJSCC法とIFCC法で測定したときの異常検体数

使用試薬	基準範囲内 <sup>*2</sup>	基準範囲上限以上 <sup>*2</sup>
JSCC標準化対応試薬	445	15 <sup>*3</sup>
IFCC標準測定法の自製試薬 <sup>*1</sup>	451	9 <sup>*4</sup>

(食後の採血, 460名)

\*1: AMP緩衝液濃度 350 mmol/L (2011年改定前の方法)

\*2: JSCC常用基準法: 106~322 U/L,

IFCC標準測定法 (AMP 350 mmol/L): 38~110 U/L

\*3: 15例中 $\gamma$ -GT高値は7例

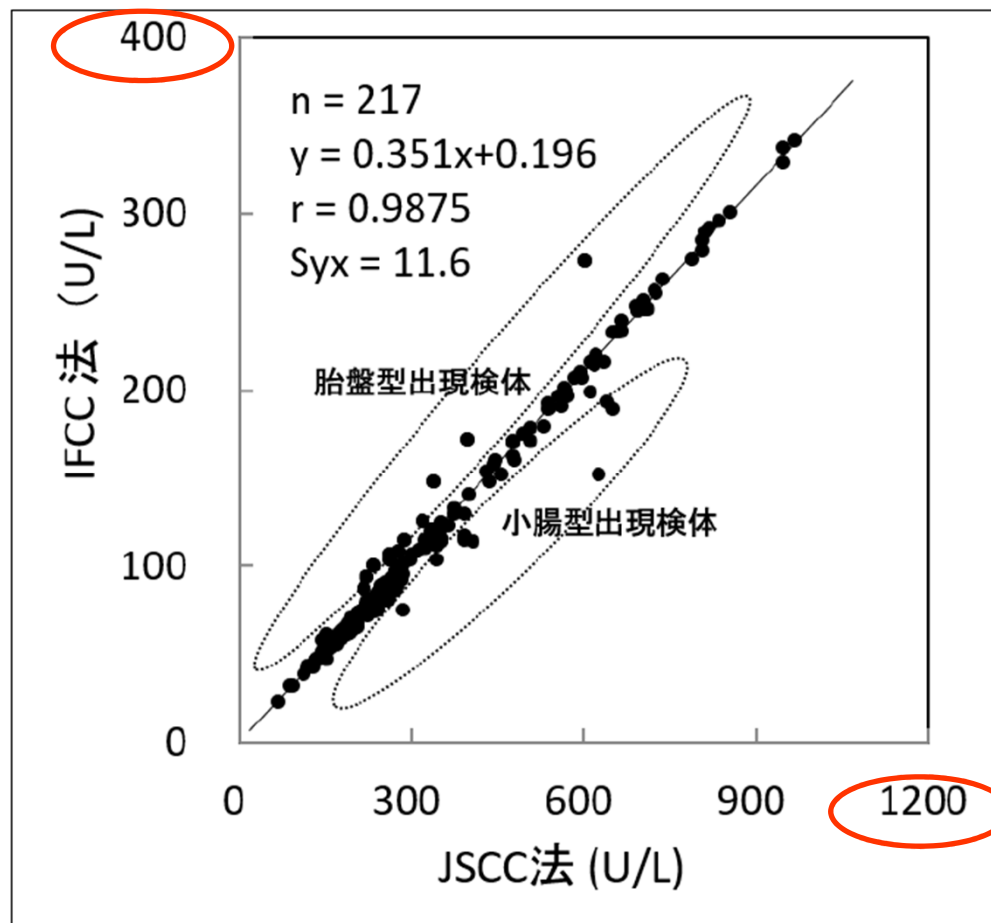
\*4: 9例中 $\gamma$ -GT高値は6例

JSCC標準化対応法の方が  
異常値の出現率が高い  
(肝機能が悪くなくてもALPが  
高値化している検体の割合が多い)

(臨床化学 vol.46 No.2「血清アルカリフォスファターゼ活性測定のJCSS勧告法をIFCC標準測定法にトレーサブルな方法への変更に関する提案」より)

過去においては、小腸性ALPが肝硬変等の診断・モニタリングで有用視されていましたが、今日の肝硬変・慢性肝炎の検査では、フォローアップに必要な検査としてALPは指定されていません  
最近の学会ではEAE緩衝液の小腸ALPに対する反応性の高さ、という有用性は薄れてきていると言われていきます

# JSCC法とIFCC法の相関



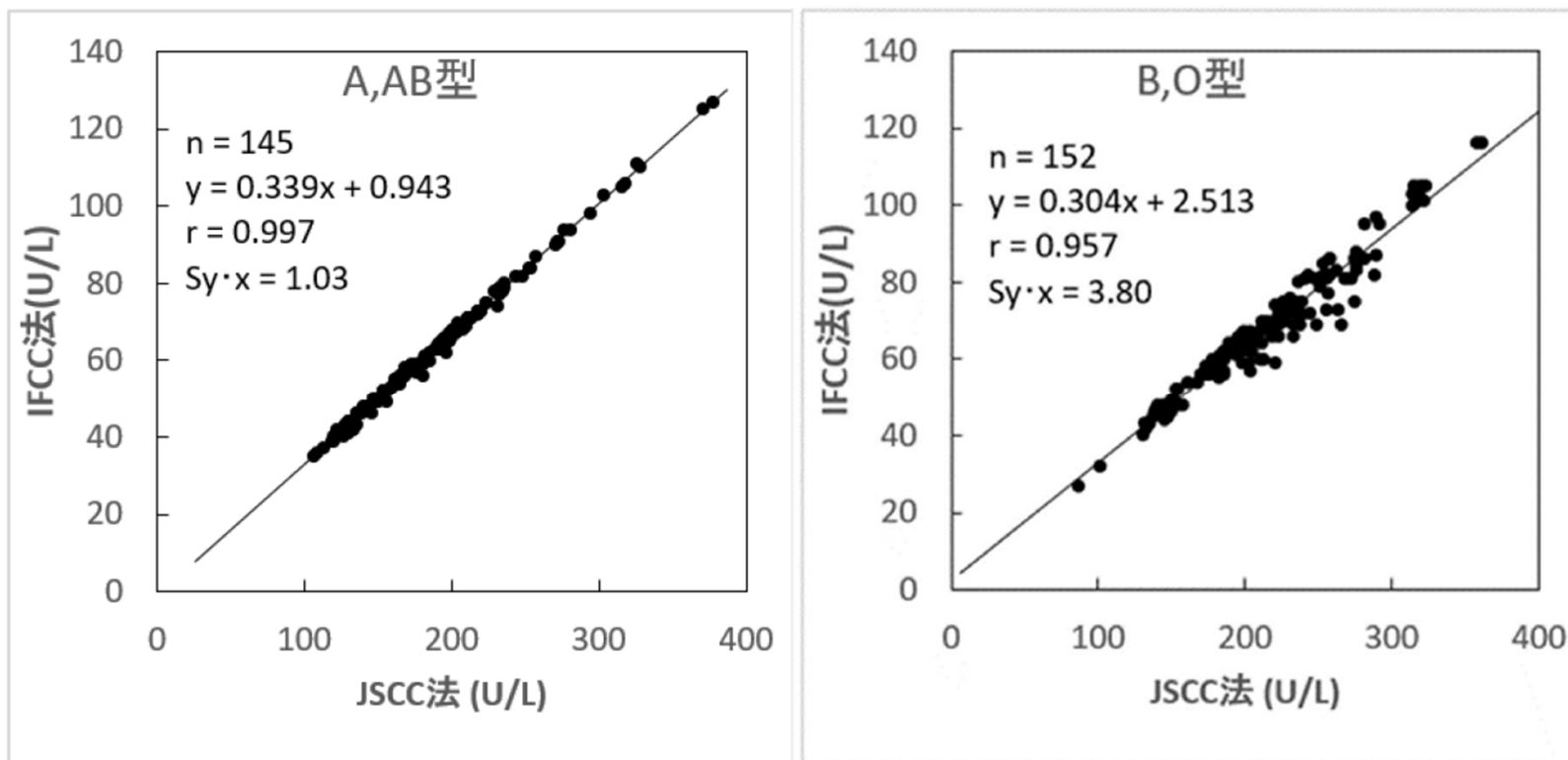
(ALP・LD 測定法変更について - 医療従事者向け - より)

- 相関係数は悪くはないが、**IFCC法の測定値はJSCC法の約1/3程度**
- アイソザイムの反応性による測定値差があるので**検体によっては乖離の程度は異なる**

**B、O型で小腸型が優位な検体では低め、  
妊婦で胎盤型が増加している検体では高めに乖離する**

# 血液型別のJSCC法、IFCC法の相関

\* 朝食を摂取していない健診検体



(ALP・LD 測定法変更について - 医療従事者向け - より)

- B、O型は高脂肪食後に限らず  
小腸型ALPが出現して乖離検体が多い

# ALP : 基準範囲と換算係数

- 基準範囲について

- ・ JSCC法 : 106 ~ 322 U/L (共用基準範囲)
- ・ IFCC法 : 38 ~ 113 U/L (臨床化学会から共用基準範囲として提案)
  - \* JSCC法で共用基準範囲を求めた方法と同様の方法で算出した  
(共用基準範囲用の試料の測定も実施した)

- 換算係数について

- ・ 換算式ではなく換算用の係数を設定 (切片は設けなかった)

\* B、O型の検体の比率によって回帰式の傾きと乖離の程度が異なるので  
実測値に合致する換算係数を得ることは困難  
\* ほぼ肝型と骨型の検体と仮定した場合の換算係数

$$\begin{aligned} \text{IFCC} &= 0.35 \times \text{JSCC} \\ \text{JSCC} &= 2.84 \times \text{IFCC} \end{aligned}$$

小腸型優位、胎盤型優位を除いた  
限定的な条件での換算係数

# 補足：LD,ALP-IFCCの共用基準範囲が追加

JCCLS 共用基準範囲

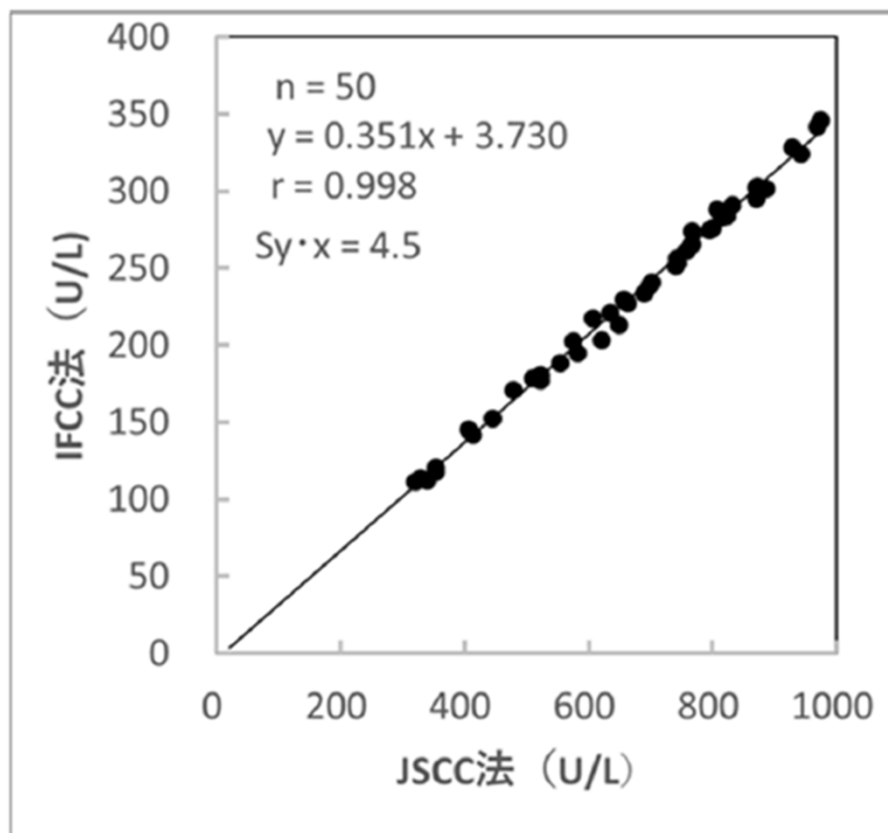
項目名称	項目	単位	下限	上限			
白血球数	WBC	10 <sup>3</sup> /μL	3.3	8.6			
赤血球数	RBC	10 <sup>6</sup> /μL	M	4.35	5.55		
			F	3.86	4.92		
ヘモグロビン	Hb	g/dL	M	13.7	16.8		
			F	11.6	14.8		
ヘマトクリット	Ht	%	M	40.7	50.1		
			F	35.1	44.4		
平均赤血球容積	MCV	fL	83.6	98.2			
平均赤血球色素量	MCH	pg	27.5	33.2			
平均赤血球色素濃度	MCHC	g/dL	31.7	35.3			
血小板数	PLT	10 <sup>3</sup> /μL	158	348			
総蛋白	TP	g/dL	6.6	8.1			
アルブミン	Alb	g/dL	4.1	5.1			
グロブリン	Glb	g/dL	2.2	3.4			
アルブミン、グロブリン比	A/G		1.32	2.23			
尿素窒素	UN	mg/dL	8	20			
クレアチニン	Cr	mg/dL	M	0.65	1.07		
			F	0.46	0.79		
尿酸	UA	mg/dL	M	3.7	7.8		
			F	2.6	5.5		
ナトリウム	Na	mmol/L	138	145			
カリウム	K	mmol/L	3.6	4.8			
クロール	Cl	mmol/L					
カルシウム	Ca	mg/dL					
無機リン	IP	mg/dL					
グルコース	Glu	mg/dL					
中性脂肪	TG	mg/dL					
総コレステロール	TC	mg/dL					
HDL-コレステロール	HDL-C	mg/dL	M	38	90		
			F	48	103		
LDL-コレステロール	LDL-C	mg/dL	65	163			
総ビリルビン	TB	mg/dL	0.4	1.5			
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	AST	U/L	13	30			
アラニンアミノトランスフェラーゼ	ALT	U/L	M	10	42		
			F	7	23		
乳酸脱水素酵素#	LD	U/L		124	222		
			アルカリホスファターゼ	ALP(JSCC)	U/L	106	322
			ALP(IFCC)	U/L	38	113	
γグルタミルトランスフェラーゼ	γGT	U/L	M	13	64		
			F	9	32		
コリンエステラーゼ	ChE	U/L	M	240	486		
			F	201	421		
アミラーゼ	AMY	U/L		44	132		
			M	59	248		
クレアチン・ホスホキナーゼ	CK	U/L	F	41	153		
				0.00	0.14		
α反応性蛋白	CRP	mg/dL					
鉄	Fe	μg/dL	40	188			
免疫グロブリン	IgG	mg/dL					
免疫グロブリン	IgA	mg/dL					
免疫グロブリン	IgM	mg/dL					
補体蛋白	C3	mg/dL	50	200			
補体蛋白	C4	mg/dL	73	138			
ヘモグロビンA1c	HbA1c	% (NGSP)	4.6	6.0			

乳酸脱水素酵素#	LD	U/L	124	222
アルカリホスファターゼ	ALP(JSCC)	U/L	106	322
	ALP(IFCC)	U/L	38	113

# 乳酸脱水素酵素(LD)の基準範囲は、JSCC法でもIFCC法でも使用できます。

# 乳幼児検体における相関と基準範囲

## • 小児検体のJSCC法とIFCC法の相関図



- 新生児および小児の場合、JSCC法とIFCC法の相関は成人に比べて非常に良好 (小腸アイソザイムの割合が低い)
- 基準範囲は既報の小児の基準範囲に換算係数0.35で変換した値を使用できる (IFCC法の値=JSCC法値×0.35)

(ALP・LD 測定法変更について – 検査室実務者向け補足説明 – より)

## ALP (アルカリホスファターゼ)

### ● JSCC処方とIFCCの処方の一番大きな違いは？

→ 試薬の緩衝液として、IFCCでは『AMP』、  
JSCCでは『EAE』を使用している!!

### ● どのような検体で処方に起因する測定値の違いが生じるの？

→ JSCC処方よりIFCC処方の測定値の方が低くなる（約1/3）が  
測定値の挙動は検体中のアイソザイムによって異なる  
（特に小腸型アイソザイムの反応性が大きく異なる）

## ① 健康診断

B、O型の一部で頻発する傾向にあった疾患と関連しないALP上昇の多くが解消され、肝および骨疾患の臨床的意義が向上する

## ② 肝疾患

JSCC法ではノイズ的要素が高かったB、O型の一部に出現する小腸型ALPの反応性がIFCC法では低く抑えられるので、肝疾患への特性が増し、生理的変動幅も縮小する

## ③ 骨疾患

乳児期および小児期の低ホスファターゼ症の診断において、世界的に情報共有が可能となり、治療ガイドラインの有用性が向上する  
癌の骨転移や慢性腎疾患などの骨代謝異常の指標の1つとして海外も含めた利用価値が向上する

## ④ 妊婦

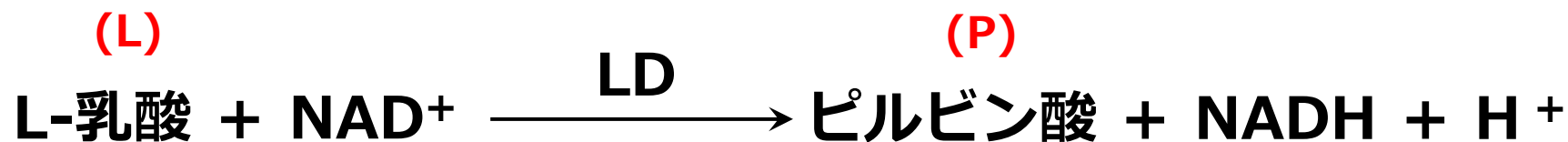
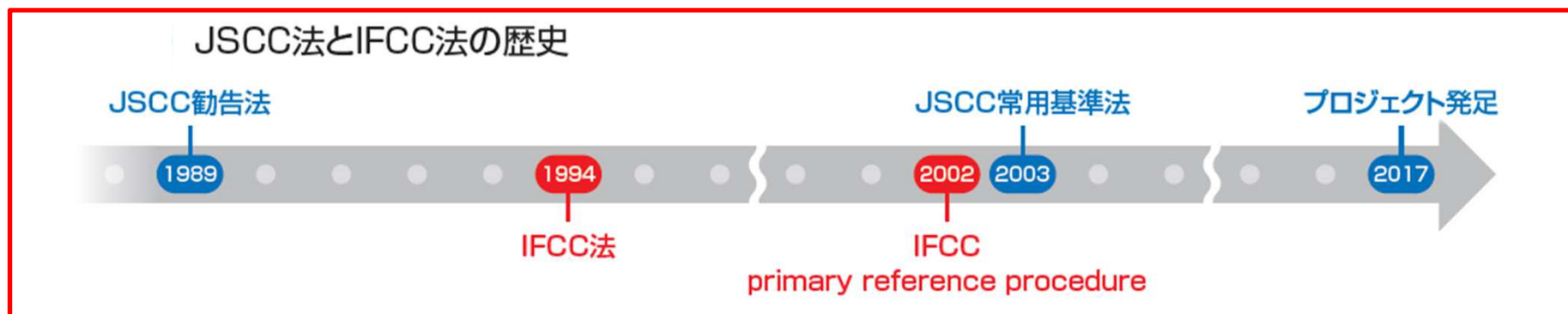
JSCC法と比較してIFCC法では胎盤型の反応性が高くなる  
妊娠週の経過に伴い胎盤型が増加し、肝型との比率も変化するのでJSCC法とIFCC法の相関は一律にならない（回帰直線の上方向に乖離）

## 酵素活性の処方間差：LDの場合

### LD(乳酸デヒドロゲナーゼ)

- JSCC処方とIFCC処方が一番大きな違いは？
- どのような検体で処方に起因する測定値の違いが生じるの？

# LD JSCC法とIFCC法



**JSCC法、IFCC法ともに反応はL → Pの正反応**

- ・ 測定機器の性能規格が緩やか
- ・ 反応がP → Lと比べて直線的に進行する
- ・ 内因性ピルビン酸消去の予備加温を必要としない

## JSCC処方とIFCC処方の比較

37℃だとpH8.65ぐらい

測定方法	基質	緩衝液	pH
JSCC勧告法	L-乳酸 (60 mM)	ジエタノールアミン (DEA)	8.8 (30℃)
IFCC法	L-乳酸 (50 mM)	N-メチルグルカミン (MEG)	9.4 (37℃)

- JSCC処方とIFCC処方の基質は共にL-乳酸を使用している
- JSCC処方とIFCC処方では緩衝液とpHが異なる



JSCC法とIFCC法では反応pHの違いからアイソザイムに対する反応性の差が生じ、検体や試料のアイソザイム構成によってはLD総活性の測定値に差が生じる

- ・血清中LDはアミノ酸組成の異なるH型（心筋型）とM型（骨格筋型）の2つのサブユニットからなる4量体
- ・電気泳動法で陽極側からLD1（H4）、LD2（H3M1）、LD3（H2M2）、LD4（H1M3）、LD5（M4）に分画される

## ■ 高値を示す疾患

### ・ LD1、2型優位

溶血性貧血、悪性貧血、心筋梗塞 など

### ・ LD2、3型優位

白血病、悪性リンパ腫、筋ジストロフィ、多発性筋炎、膠原病、ウイルス感染症、肺癌、胃癌など

### ・ LD2、3、4、5上昇

2、3型優位と同じ原因、悪性腫瘍 など

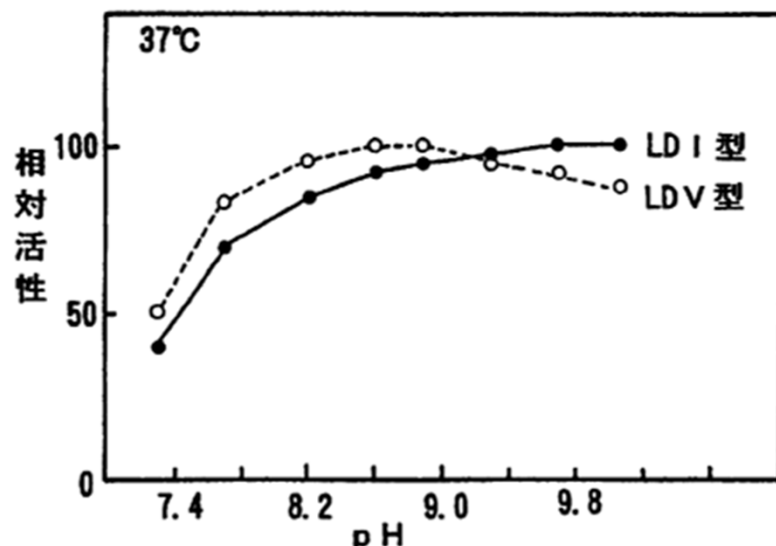
### ・ LD5上昇

急性肝炎、肝硬変、肝細胞癌、前立腺癌、急性横紋筋壊死、皮膚腫瘍 など

### ・ アノマリーパターン

免疫グロブリンとの結合

## 各pHにおける反応性 (LD1、LD5)



IFCC法 : 最終反応pH=9.4 (37°C)

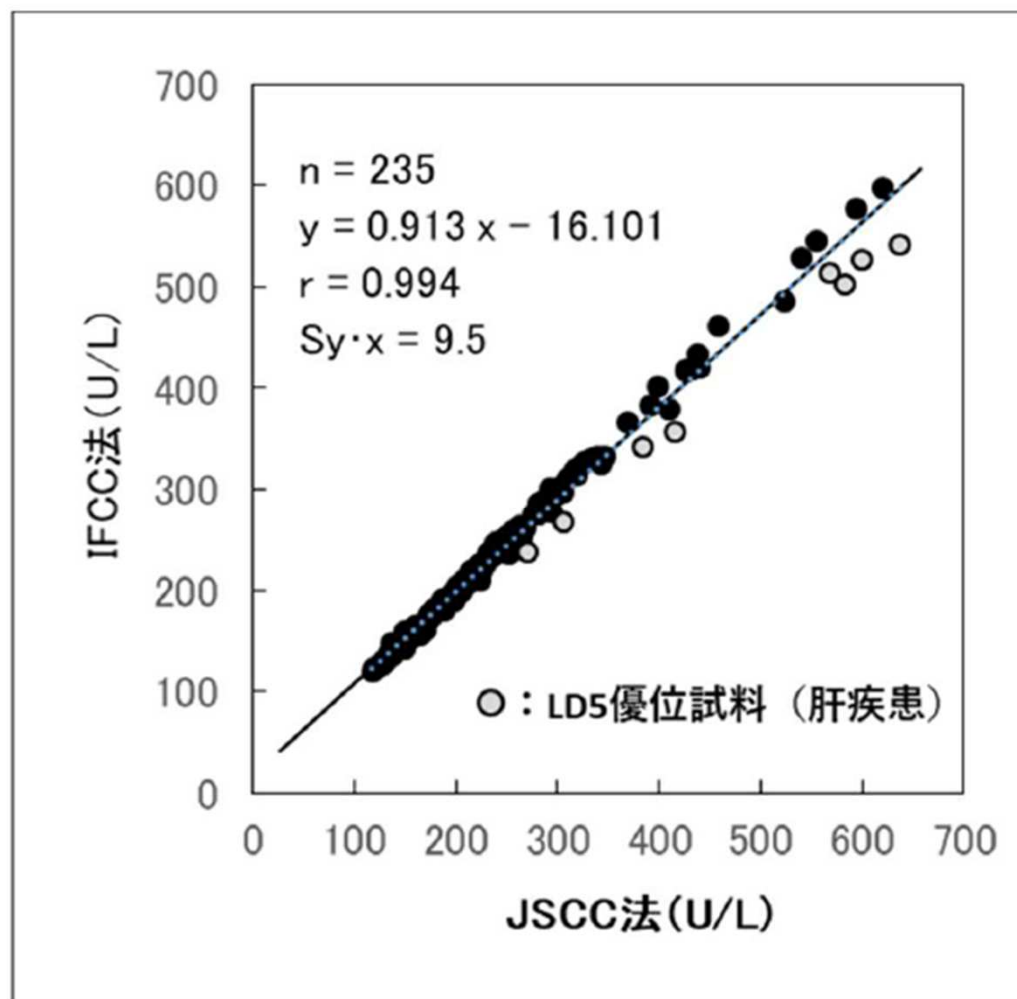
JSCC法 : 最終反応pH=8.8 (30°C)

JSCC法とIFCC法では反応pHの違いによりLD1~LD5の反応性に差がでる

(ALP・LD 測定法変更について - 検査室実務者向け補足説明 - より抜粋)

- ・ pHをアルカリ側に移動するとLD I 型アイソザイムの活性は高値になる
- ・ 通常の検体中のアイソザイムはI ~ III型が多い
- ・ 現行のJSCC処方pHはV型の至適pH (pH8.8付近) の設定でありI ~ III型の至適pH (pH9.4付近) からは外れている

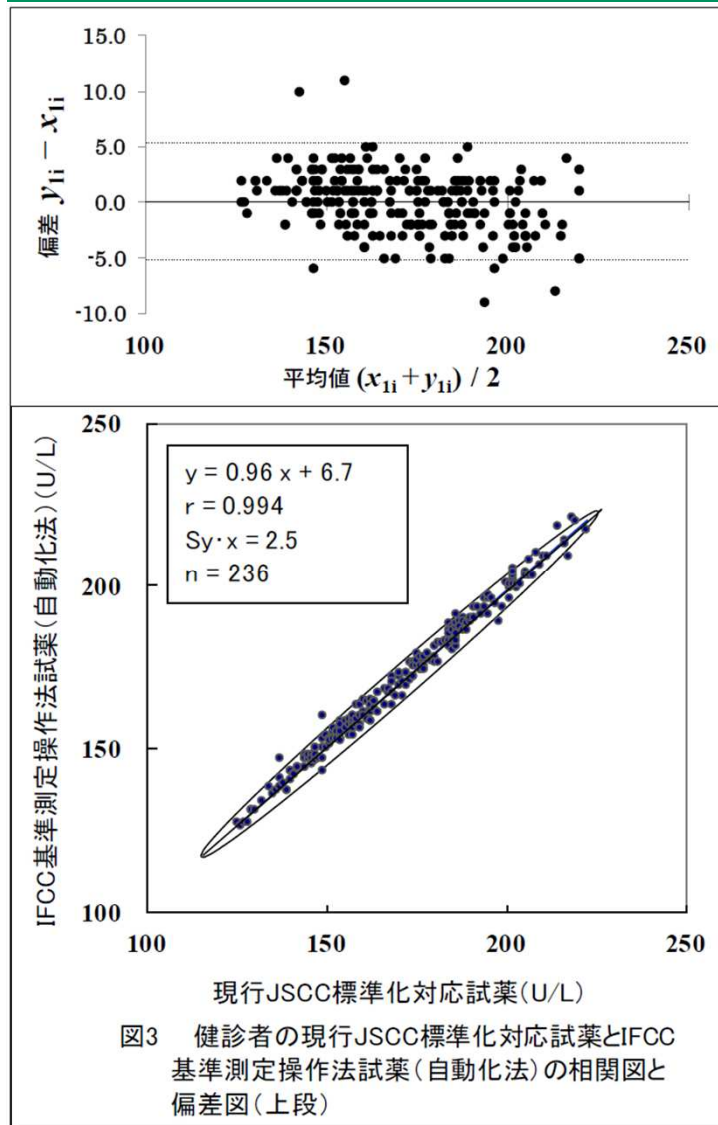
# JSCC法とIFCC法との相関



(ALP・LD 測定法変更について - 医療従事者向け - より抜粋)

**相関性は良好だがLD5が優位な検体では  
IFCC法は低値傾向になる**

# LD : 基準範囲と換算係数



## ● 基準範囲について

- ・ IFCC法と現行JSCC法試薬の健常者の相関性は良好
- ・  $Sy \cdot x$  (回帰式からのIFCC法測定値の標準偏差)は2.5U/LでLDの個人の生理的変動幅( $1/2Sp=8.5U/L$ )よりも小さかった
- ・ 健常者でのIFCC法とJSCC法の差は誤差範囲内
- ・ 現行JSCC法の**LD共用基準範囲124~222U/L**をほぼそのまま使用する予定

## ● 換算係数について

- ・ 検体中のLD5の比率に左右されるので  
**換算は行わない**
- ・ アイソザイム検査でLD5が50%程度の血清ではJSCC法よりIFCC法が11~14%程度低値を示すと言われている

# LD JSCC法とIFCC法の違い：まとめ

## LD (乳酸脱水素酵素)

### ● JSCC法とIFCC法の一番大きな違いは？

→ 試薬の緩衝液とpHが違う

IFCC処方の緩衝液は『MEG』、pH9.4

JSCC処方緩衝液は『DEA』、pH8.8

### ● どのような検体で処方に起因する測定値の違いが生じるの？

→ JCSS法とIFCC法で相関性は大きく変わらないが

IFCC法はJSCC法よりLD1～3が優位に反応、

LD5は反応が弱い

\* アイソザイムの割合によっては測定値差が生じる検体もある

## ★LD5が少ない場合はJSCC法とIFCC法で測定値に大きな差は生じない

### ① 心疾患

心筋に多く含まれるLD1およびLD2が優位であり、IFCC法はJSCC法より若干高値傾向になる

### ② 血液疾患

白血病ではLD2およびLD3が優位とされている。  
両アイソザイムの反応性はJSCC法とIFCC法で大きな違いは無いので測定値の変動は許容誤差範囲内である

### ③ 肝疾患

肝疾患ではLD5が優位となるため、IFCC法ではJSCC法よりも10～20%低値傾向になる

(参考：ALP・LD 測定法変更について - 医療従事者向け -)

- JSCC常用基準法をIFCCの基準測定法と同一の測定法（IFCC法）に変更する
  - \* 2020年4月1日より準備の整った施設から変更を開始、1年間での達成を目標としている
- JSCC常用酵素CRM-001dにIFCC法によるALP値、LD値が認証値として追加された
- 関連団体へのパブリックコメントを実施
- 各学会・団体への啓蒙活動を実施
  - \* 臨床化学会から「[ALP、LD変更ガイドライン](#)」を発行

日臨技の協力も得て啓蒙活動を行う  
日衛協向け及び、開業医向けの案内資料も作成し、  
変更の案内を積極的に進める  
厚労省への説明も臨床化学会が行う予定

# 測定法変更作業について～臨床化学会より～<sup>FUJIFILM</sup>

- 項目名称の略称について

- IFCC法での測定値であることを明確にする意図でプロジェクトでは以下の略称を推奨している

ALP (IFCC) あるいは ALP\_IFCC  
LD (IFCC) あるいは LD\_IFCC

- 精度管理について

- ALP ～ 測定値が1/3程度になるので管理限界の見直しが必要  
精度管理試料に胎盤由来ALPが添加されている場合は通常の患者検体と反応性が異なることも注意が必要
- LD ～ 使用している管理試料のLDアイソザイムがLD1～3からなる試料であれば、現行のJSCC法と測定値は大きく変わらない  
患者検体による前回値チェックや項目間チェックを行う場合は肝疾患（LD5優位）検体に配慮が必要

- ・ IFCC処方試薬の準備 (CRM-001dにトレーサブル)

- ・ キャリブレーションの値付け

- ・ 自社コントロールにおける測定値の確認

- ・ 各種基礎データの確認  
(バリデーション報告書を作成)

- ・ 各地域での勉強会の実施

- ・ 試薬検討の相談

などなど

# 和光 IFCC試薬の基礎データ

- Lタイプワコー ALP IFCC
- Lタイプワコー LD・IF

# JCCLS CRM-001dにIFCC法の認証値が設定 FUJIFILM

2018年8月作成

## JCCLS 認証標準物質 常用参照標準物質：JSCC常用酵素

Reference Standard-JSCC Enzyme

(JCCLS Certified Reference Standard for Enzyme of JSCC method)

[田：日本・常用酵素標準物質 JCCLS certified enzyme reference material]



**認証書**  
JCCLS CRM-001d



日本臨床化学会 (JSCC) は1989年および1994年にヒト血清中のAST、ALT、CK、ALP、LD、活性測定の方法を提示した。本品はこれらJSCC勧告法をもとに提示されたJSCC常用基準法に伝達するための標準物質であり、日本臨床化学会学術連絡委員会の規格に則り作られたものである。なお、AMY及びIFCC-ALP、IFCC-LDについては、IFCC-SOP法37℃に基づいた申請書のとおり常用参照標準物質：JSCC常用酵素として認証する。

### 【適用範囲】

本常用参照標準物質：JSCC常用酵素 (JCCLS CRM-001d) は、ISO 17511 (2003) によるトレーサビリティの二次校正物質に相当し、製造業者社内標準測定操作法 (製造業者自社推奨測定法) のための校正物質として適用する。使用に際しては必ず添付取扱説明書の記載に従って使用する。

### 【認証値及び不確かさ】

JCCLS CRM-001d の認証値および不確かさは以下の通りである。

測定温度：37℃

項目名	認証値 (U/L)	拡張不確かさ (U/L)*1
AST	160	±4
ALT	158	±4
CK	425	±10
ALP	424	±13
LD	406	±8
γ-GT	153	±5
AMY	344	±9
*2 IFCC-ALP	153	±6
*2 IFCC-LD	430	±11

\*1 認証値は、ISO Guide 35 に基づいた方法により決定した。不確かさの成分は、均質性と実験誤差成分、校正に用いた標準物質の不確かさ、および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。

\*2 IFCC-ALP 及び IFCC-LD 値は ISO Guide 35 に準じて値付けを行っているが、標準物質生産者としての認定範囲外の項目である。

**JSCC常用酵素 (JCCLS CRM-001d) に  
IFCC-ALP、IFCC-LDの認証値が  
設定されました  
(2018年8月作成 認証書より)**

### 【認証値及び不確かさ】

JCCLS CRM-001d の認証値および不確かさは以下の通りである。

測定温度：37℃

項目名	認証値 (U/L)	拡張不確かさ (U/L)*1
AST	160	±4
ALT	158	±4
CK	425	±10
ALP	424	±13
LD	406	±8
γ-GT	153	±5
AMY	344	±9
*2 IFCC-ALP	153	±6
*2 IFCC-LD	430	±11

\*1 認証値は、ISO Guide 35 に基づいた方法により決定した。不確かさの成分は、均質性と実験誤差成分、校正に用いた標準物質の不確かさ、および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。

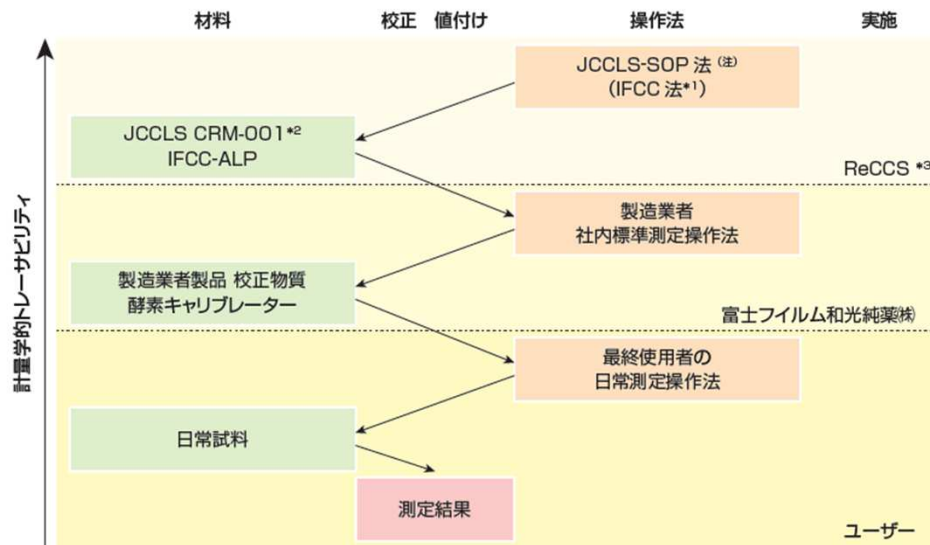
\*2 IFCC-ALP 及び IFCC-LD 値は ISO Guide 35 に準じて値付けを行っているが、標準物質生産者としての認定範囲外の項目である。

**ALP-IFCC法、LD-IFCC法の  
トレーサビリティ体系が確立された**

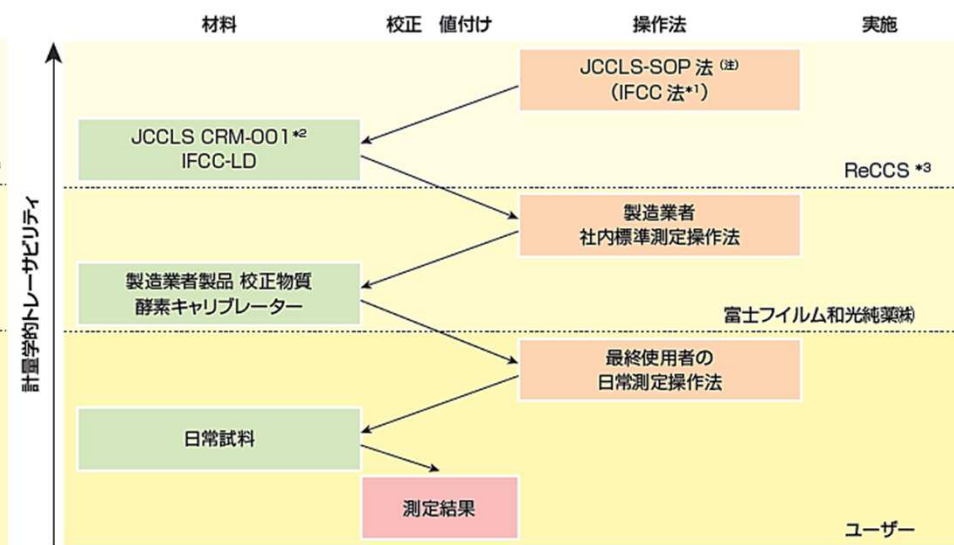
# Lタイプワコー ALP IFCC

## Lタイプワコー LD・IF トレーサビリティ

試薬名：Lタイプワコー ALP IFCC  
 製造業者製品 校正物質：酵素キャリブレーター (code：416-57191)



試薬名：Lタイプワコー LD・IF  
 製造業者製品 校正物質：酵素キャリブレーター (code：416-57191)



(注) IFCC-SOP 法に準じ作成した JCCLS-SOP 法  
 \*1 IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C: Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clin Chem Lab Med 2011; 49(9): 1439-1446  
 \*2 JCCLS 認定標準物質・常用参照標準物質：JSOC 常用酵素  
 \*3 一般社団法人 検査医学標準物質機構

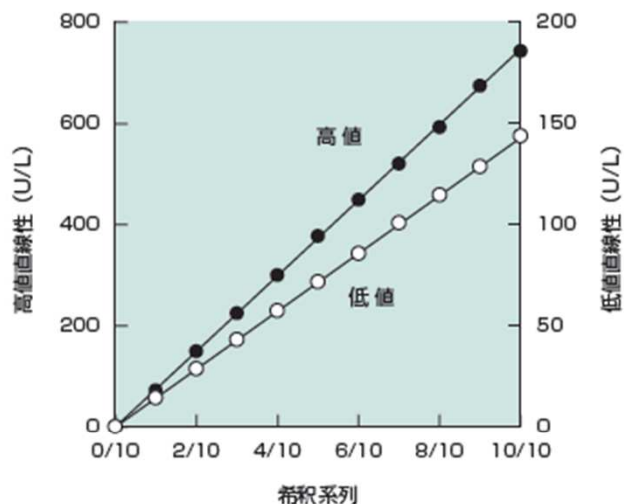
(注) IFCC-LD は IFCC-SOP 法に準じ作成した JCCLS-SOP 法にて測定\*2  
 \*1 Clin Chem Lab Med 2002; 40(6):643-648. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C Part 3. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Lactate Dehydrogenase  
 \*2 JCCLS 認定標準物質・常用参照標準物質：JSOC 常用酵素  
 \*3 一般社団法人 検査医学標準物質機構



# Lタイプワコー ALP IFCC

## 基礎データ

### II. 直線性



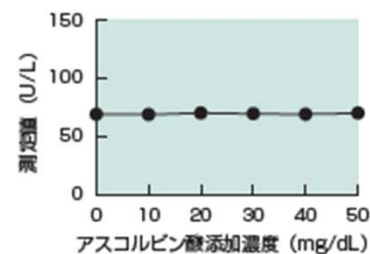
### IV. 同時再現性

	試料1	試料2	試料3
n	20	20	20
mean	15.7	89.7	671.4
R	1	1	9
SD	0.3	0.4	2.4
CV (%)	1.7	0.5	0.4

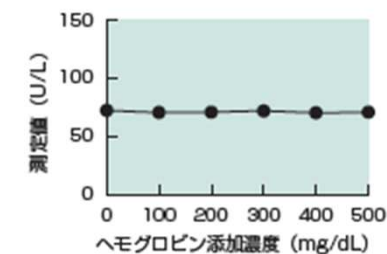
・ 2012年6月から販売しています

### V. 共存物質の影響

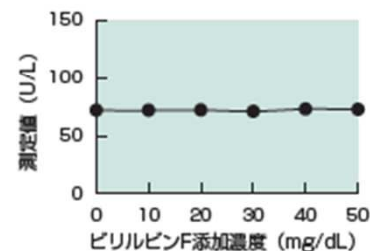
#### アスコルビン酸の影響



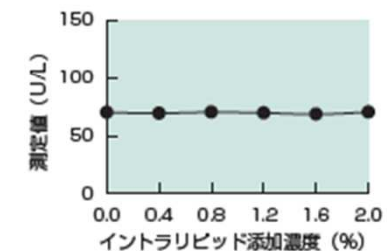
#### 溶血の影響



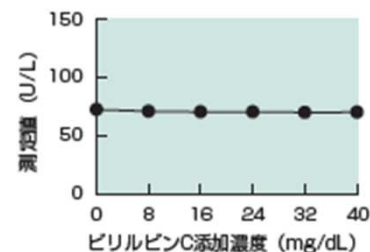
#### ビリルビンFの影響



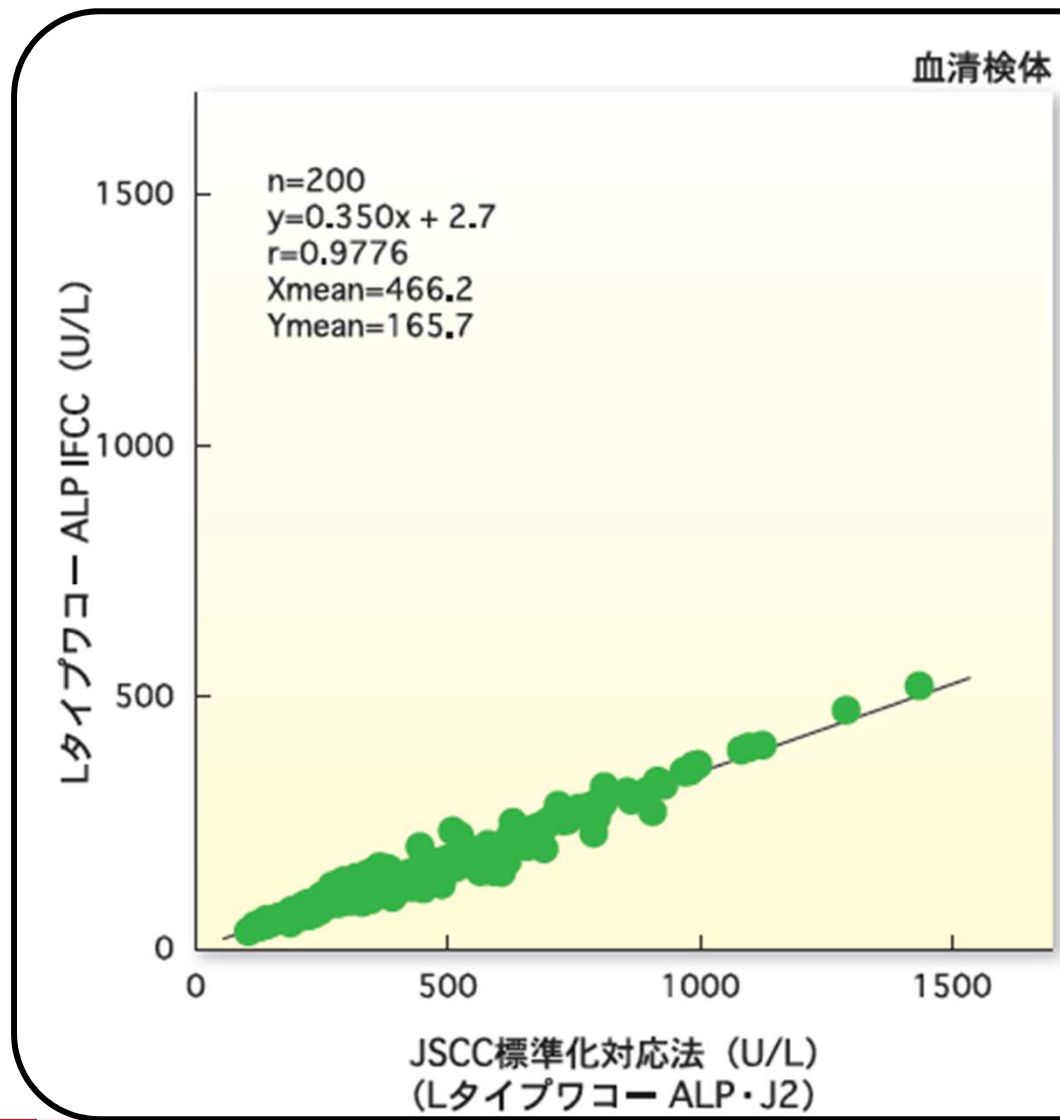
#### 乳びの影響



#### ビリルビンCの影響



# 相関データ ～現行試薬との比較～



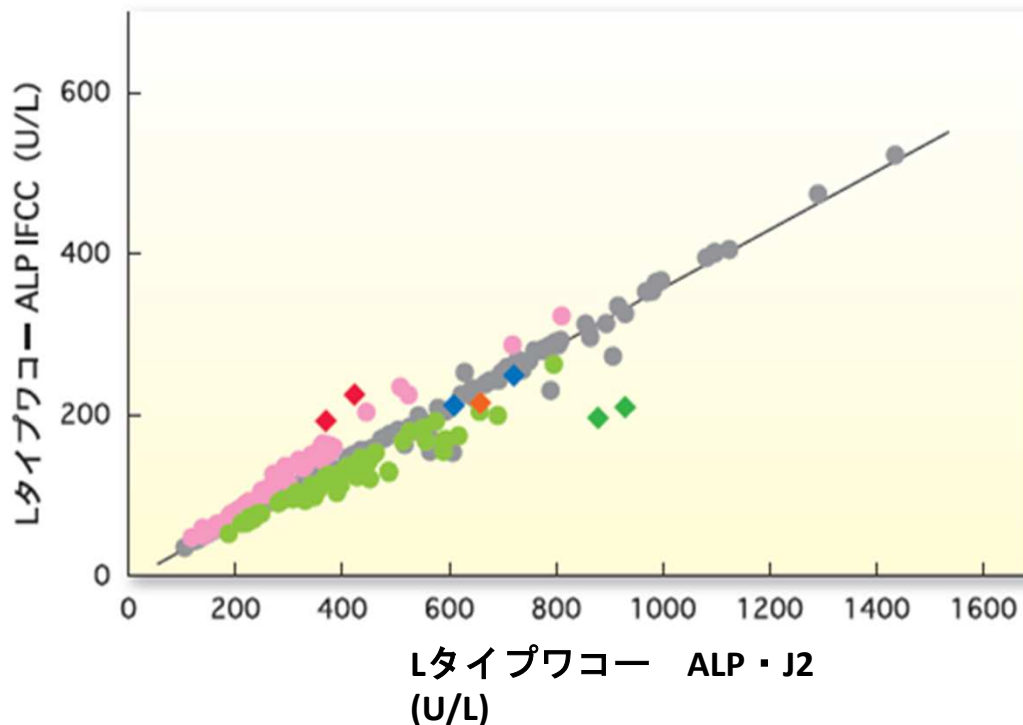
相関性は概ね良好だが  
JSCCとIFCCでは、  
測定値が全く異なる



**IFCC法の測定値は  
JSCC法の測定値の  
『約1/3』のイメージ**

アイソザイムごとの反応性の  
差もあるため、検体ごとに  
測定値差は異なる

# 相関データ ～現行試薬との比較～



- 低値を拡大し、血清検体を
  - 一般検体
  - 胎盤性ALP優位検体
  - 小腸性ALP優位検体
  - 各アイソザイムに分けてプロット

血清検体	ALPアイソザイム
● 一般検体	◆ 肝性ALP
● 胎盤性ALP優位検体	◆ 骨性ALP
● 小腸性ALP優位検体	◆ 胎盤性ALP
	◆ 小腸性ALP

## ● ALPアイソザイムの反応性

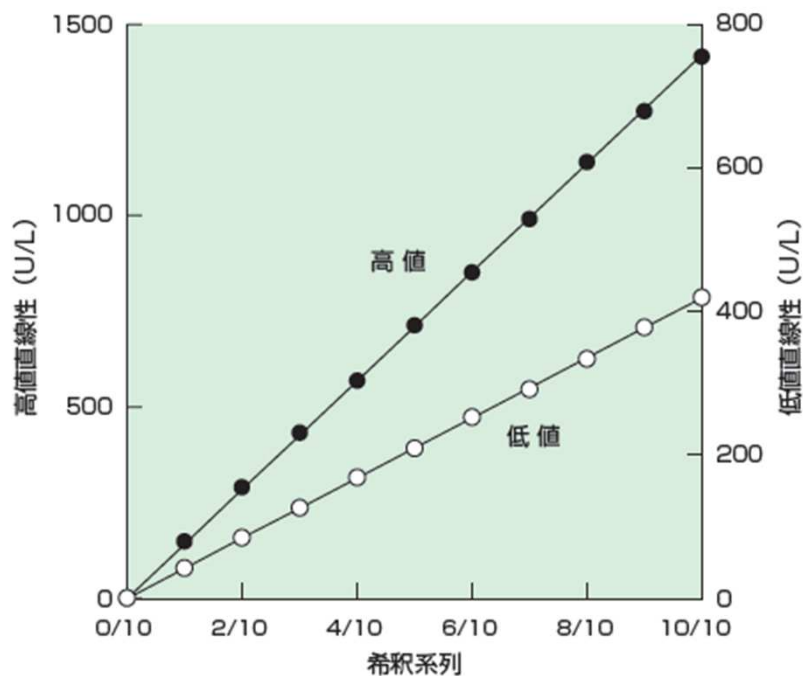
	本法	基準法	(参考)
	Lタイプワコー ALP IFCC	IFCC法* (自動化法)	JSCC標準化対応法 (Lタイプワコー ALP・J2)
肝性ALP	211.7	210.2	608.8
骨性ALP	214.9	214.0	658.0
胎盤性ALP	192.6	192.3	369.6
小腸性ALP	209.9	207.4	929.4

**検体のアイソザイム比率により  
測定値差の程度は異なる**

\* IFCC primary reference procedure 1993

# Lタイプワコー LD・IF 基礎データ

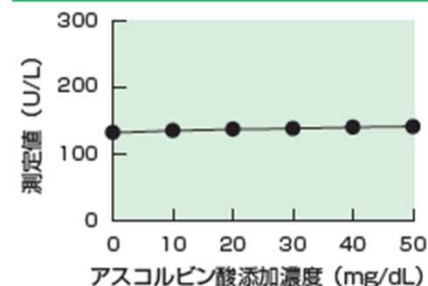
## II. 直線性



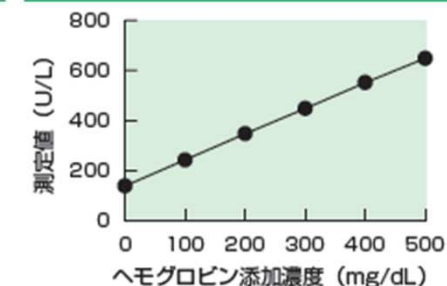
現行のJSCC標準化対応法試薬と  
基礎データは同等

## V. 共存物質の影響

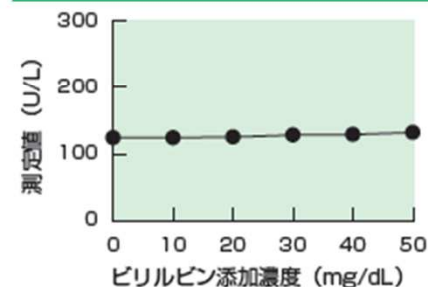
### アスコルビン酸の影響



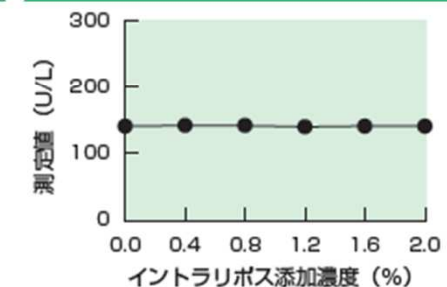
### 溶血の影響



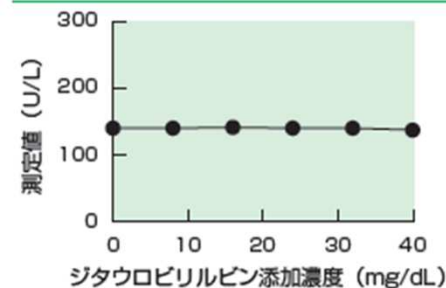
### ビリルビンFの影響



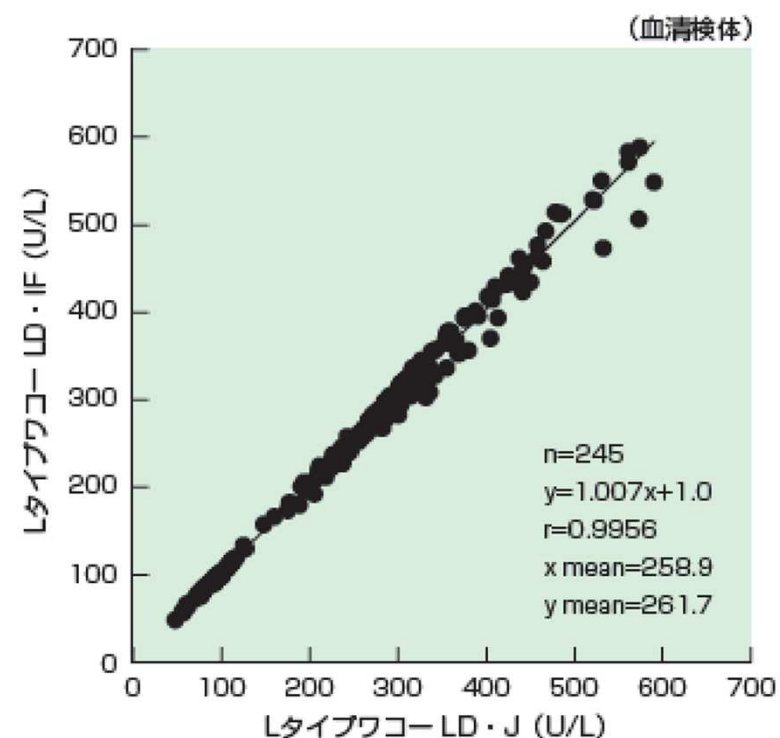
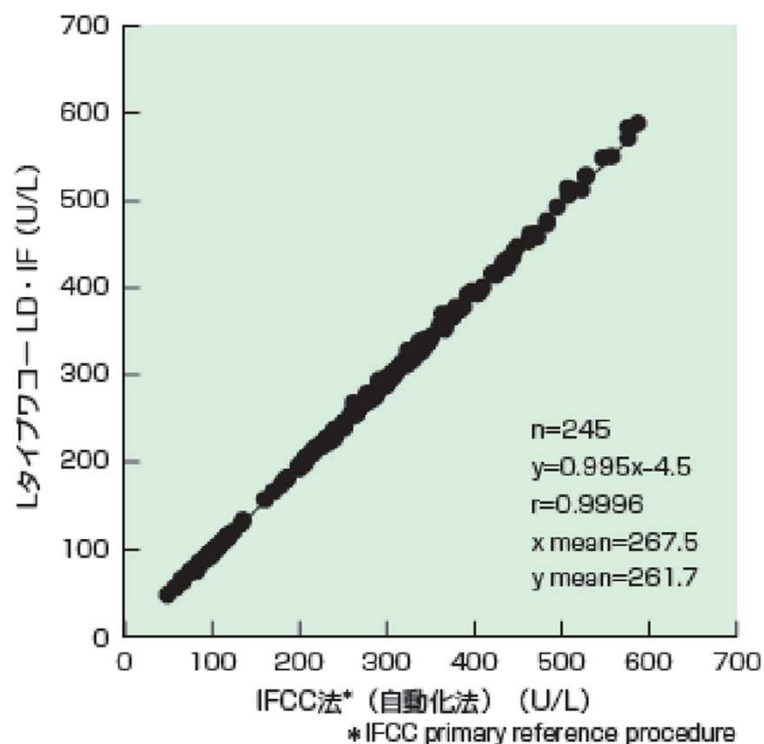
### 乳びの影響



### ビリルビンCの影響



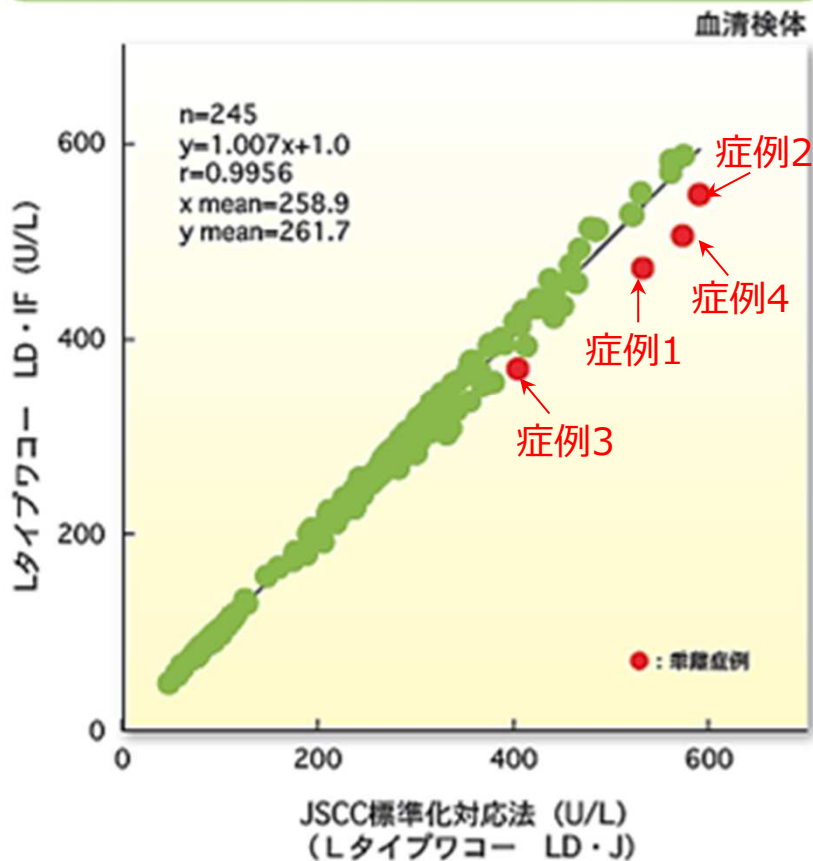
## I. 相関性



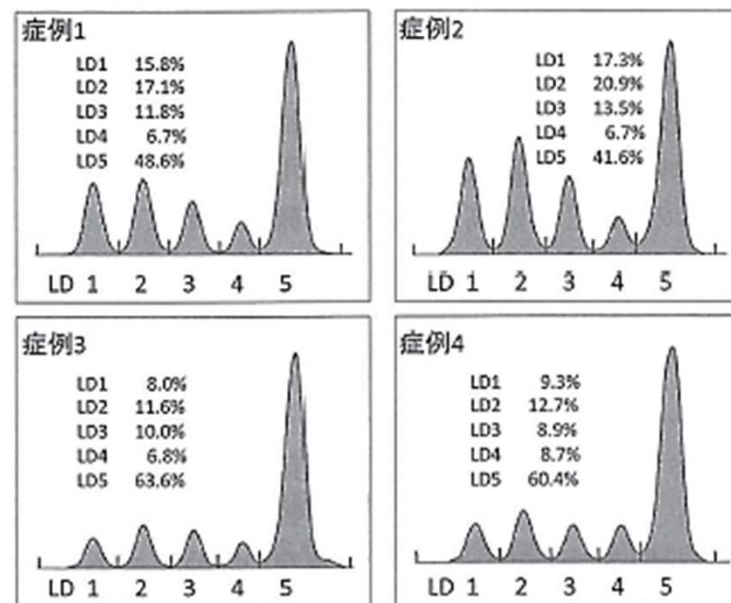
- IFCC法との相関性は非常に良好
- 現行のLタイプワコー LD・Jとの相関は検体によって測定値差が見られる

# 現行法（JSCC標準対応法）との相関

(参考) JSCC標準化対応法との相関



乖離した症例のLDアイソザイム



測定値差が大きい検体は  
 いずれも肝機能障害を伴う  
**LD5型高値検体**であった

	Lタイプワコー LD・IF	IFCC法* (自動化法)	Lタイプワコー LD・J
症例 1	473	483	533
症例 2	548	549	591
症例 3	370	364	405
症例 4	506	508	574



**ご清聴ありがとうございました**