別 紙

2020 年 1 月 25 日

各　　位

一般社団法人 日本臨床化学会
代表理事　 前川 真人

ALP・LD の測定法変更を行うにあたってのご連絡とお願い

拝啓 時下ますますご清栄のこととお慶び申し上げます。平素は、弊会（日本臨床化学会、JSCC）の活動にご協力頂いておりますことに深謝申し上げます。

かねてより関連団体等を通じましてお知らせしておりましたように、標記事項について以下のように切り替えを開始いたします。なお、両測定法が混在して関係者の皆様にご迷惑をおかけしないよう期間内に切り替えていただけるよう啓発を進めていきます。

既に臨床検査関連の学術集会などでは案内を開始致しましたが、変更に関わる説明資料を目的別に作成致しました。是非本件について貴会会員の方々にお知らせいただき、速やかに変更が進みますようお力添えを頂戴致したく存じます。

まずは、略儀ながら書面をもちまして、ご連絡とお願いを申し上げます。

敬 具

記

１．対象項目および変更内容

アルカリホスファターゼ（ALP）および乳酸脱水素酵素（LD）の２項目

JSCC法から国際臨床化学連合（IFCC）の方法への切り替え

２．変更の時期

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します）

３．変更に関わる説明資料

・資料A： ALP、LDの測定法変更の経緯と概要
・資料B： ALP、LD の測定方法の変更に関するリーフレット
・資料C： ALP・LD 測定法変更について（医療従事者向け）
・資料D： ALP・LD 測定法変更について（検査室実務者向け補足説明）
・資料E： ALP、LD の測定方法変更に関する Q and A

上記の別紙２～５は弊会ホームページ http://jscc-jp.gr.jp からダウンロード可能です。

４．パブリックコメント集計結果公開URL

1) ALP　http://jscc-jp.gr.jp/file/pdf/alp_jscc.pdf
2) LD　http://jscc-jp.gr.jp/home/wp-content/uploads/2019/12/LD2019_JSCC.pdf

以 上

資料 A

ALP、LD の測定法変更の経緯と概要

一般社団法人　日本臨床化学会
酵素・試薬専門委員会 ALP プロジェクト
同　　LD プロジェクト

背 景

1980 年頃、ヨーロッパを中心に国際臨床化学連合（IFCC)、ドイツ臨床化学会（GSCC)、スカンジナビア臨朱化学会（SSCC）などで血清酵素活性測定の標準化に向けた活動が盛んに行われた。わが国では一般社団法人 日本臨床化学会（JSCC）が海外の動向と国内の実情を考慮して勧告法を作成した。当時、酵素活性の測定温度は国際的に 30℃で行うべきとの考えで標準法の策定が進められていたことから、JSCC 勧告法も 30℃に設定された。しかし、1994 年には IFCC の標準法が実務と同様に 37℃に変更されたことから、わが国においても JSCC 勧告法の測定温度のみを 37℃に設定した JSCC 常用基準法を構築した[1)]。その後、特定非営利活動法人 日本臨床検査標準化協議会（JCCLS）認証標準物質「常用参照標準物質：JSCC 常用酵素」が頒布されたことによって JSCC 常用基準法を頂点としたトレーサビリティ体系が確立され、JSCC 常用基準法とトレーサブルな市販試薬は「JSCC 標準化対応（法あるいは試薬)」として発売され、国内の 99%前後の検査室で使用されている。

JSCC 勧告法は 2005 年までに AST、ALT、CK、LD、ALP、γ-GT、ChE、AMY の 8 項目が作成されたが、その中の AST、ALT、ALP、LD は IFCC 基準測定操作法（IFCC 法）と反応試薬の組成が異なっているため得られる測定値も異なる。AST と ALT の IFCC 法では試薬にピリドキサル 5'-リン酸(PALP)を含み、アポ酵素もホロ化して測定しているが、PALP の添加により初期吸光度の上昇と安定性の低下が避けられないことから海外においても JSCC 法と同様に PALP 無添加の試薬を使用している施設も少なくない。

しかし、国内の ALP と LD の JSCC 法[2~4)]は反応性が IFCC 法[5~7)]と異なり、後述する理由により疾病と無関係な高値を示すことがある。このこともあり、国際的な治験や臨床研究では ALP と LD は IFCC 法による測定が要求され、一部の検体は海外の検査センターに移送され測定されている。

このような状況のため、JSCC 酵素・試薬専門委員会 ALP プロジェクトは

ALP の測定法を IFCC 法に変更すると提案し[8]、2018 年 11 月に関連する 44 団体にパブリックコメントの募集を行った。その結果、IFCC 法への変更について大筋で賛同が得られ、同時に LD も変更すべきとの意見が寄せられた[9]。これを受けて LD についても IFCC 法に変更する準備を本格化して 2019 年 8 月に関連する 48 団体へパブリックコメントの募集を行った。その結果、LD についても賛同が得られたことから、この 2 項目を同時に IFCC 法に変更することとした[10]。

１．JSCC 法と IFCC 法の相違点について

(1) ALP

ALP の測定は次の反応系によって行なわれている。

(i) 4-ニトロフェニルリン酸＋H_2O $\xrightarrow{\text{ALP}}$ 4-ニトロフェノール*＋リン酸

(ii) 4-ニトロフェニルリン酸＋R $\xrightarrow{\text{ALP}}$ 4-ニトロフェノール*＋R-リン酸

（＊印はアルカリ性で 4-ニトロフェノキサイドイオンになり黄色を呈する）

(i) の反応では供与体基質として 4-ニトロフェニルリン酸(4-NPP)が用いられ、(ii) の反応では緩衝液でもある受容体基質が関わっており、表 1 に示すように JSCC 法では 2-エチルアミノエタノール（EAE）が[2]、IFCC 法では 2-アミノ-2-メチル-1-プロパノール（AMP）が使われている[5,6]。

表 1．ALP 活性測定における JSCC 法と FCC 法の条件比較

	JSCC法　終濃度	IFCC法　終濃度
pH	9.90(30℃)	10.20 ± 0.05/(37℃)
緩衝液の種類	EAE : 1,000 mmol/L	AMP : 750 mmol/L
HEDTA	―	2.0 mmol/L
Zn^{2+}	―	1.0 mmol/L
Mg^{2+}	0.5 mmol/L	2.0 mmol/L
4-nitrophenyphosphate	15.0 mmol/L	16.0 mmol/L
	JSCC法　測定条件	IFCC法　測定条件
測定温度	37.0℃	37.0℃
波長	405 nm	405 nm
バンド幅	2 nm	2 nm
予備加温時間	300 sec	60 sec
待ち時間	60 sec	60 sec
測定時間	120 sec	120 sec

この R の種類によってアイソザイムの反応性が異なり、EAE と AMP では図１のような反応性を示す。EAE で最も反応性の高い小腸型が AMP では最も低い反応性を示し、さらに AMP 350mmol/L の領域では濃度が増すごとに胎盤型の反応性が低下する現象が認められる。

JSCC 勧告法の作成当時は Kind-King 法と同様な反応性を望む意見が臨床系の学会から寄せられ、それに配慮して最終的にEAEを使用することとなった[2)]。これに対して IFCC 法では、血液型が B･O 型で Se（FUT2）が分泌型の場合は高脂肪食後に疾病と無関係に小腸型 ALP が上昇することから[11,12)]、この小腸型 ALP の反応性を低く抑える意図で AMP が選ばれた。ALP プロジェクトメンバーの施設で食後の ALP を JSCC 法で測定した結果を図２に示す。空腹時に採血した検体を A･AB 型と B･O 型の２グループに分けて JSCC 法と IFCC 法の相関を確認すると図３のようになり、B･O 型で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ことが分かる。さらに、IFCC 法では亜鉛を含む試薬処方になっているのに対して JSCC 法では含まないが、高純度化された EAE を用いて調製した JSCC 法試薬では測定値が低下することも明らかになっている[8)]。

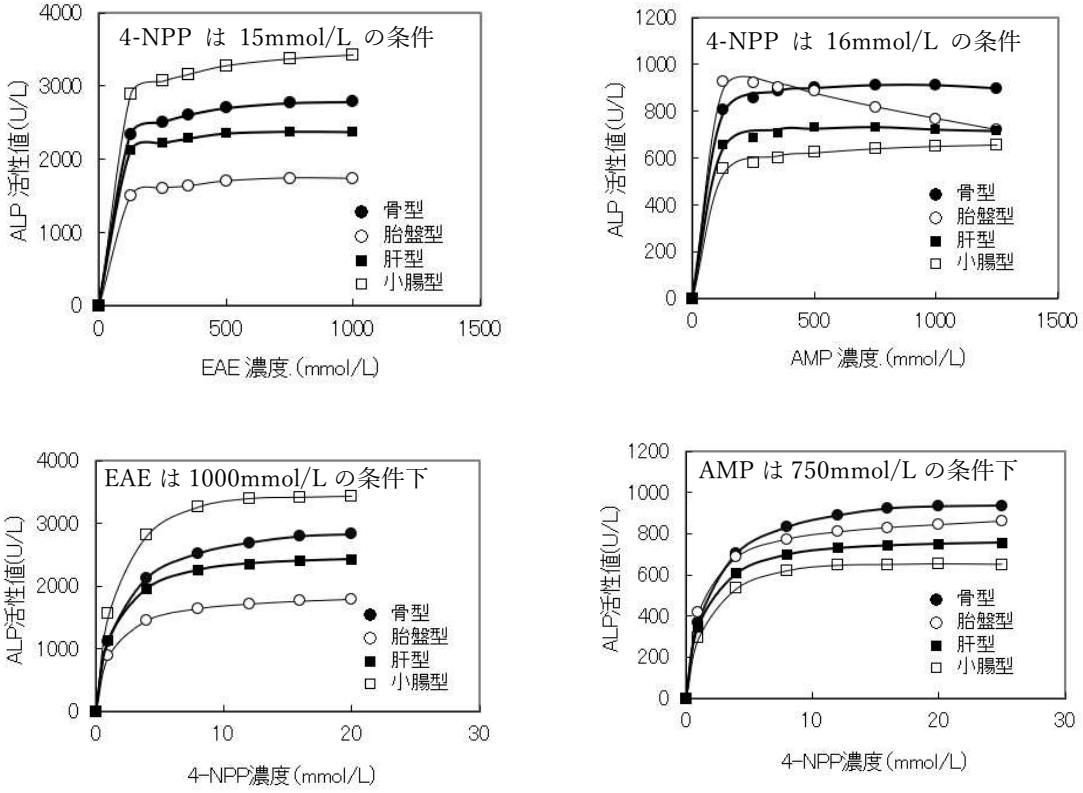

図１．ALP の S－ｖ曲線

このことから勧告法の検討当時、EAE には微量の亜鉛が含まれていた可能性が高く、JSCC 法を継続して使用する場合は、EAE の純度を調べて JSCC 法試薬処方の再検討確認が必要であることも示唆された。

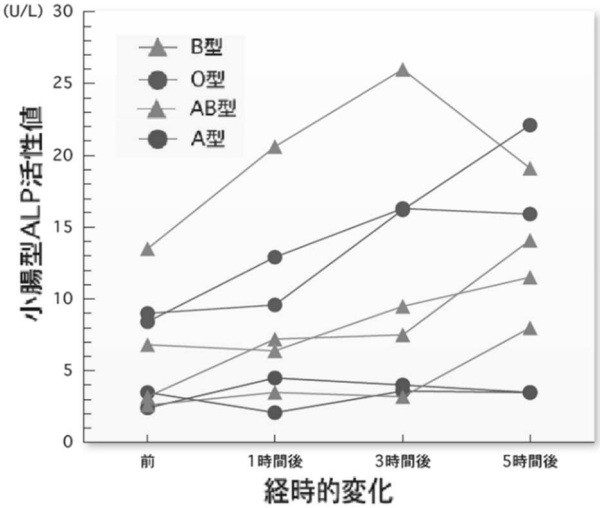

図２．食事の JSCC 法 ALP 値の経時変化

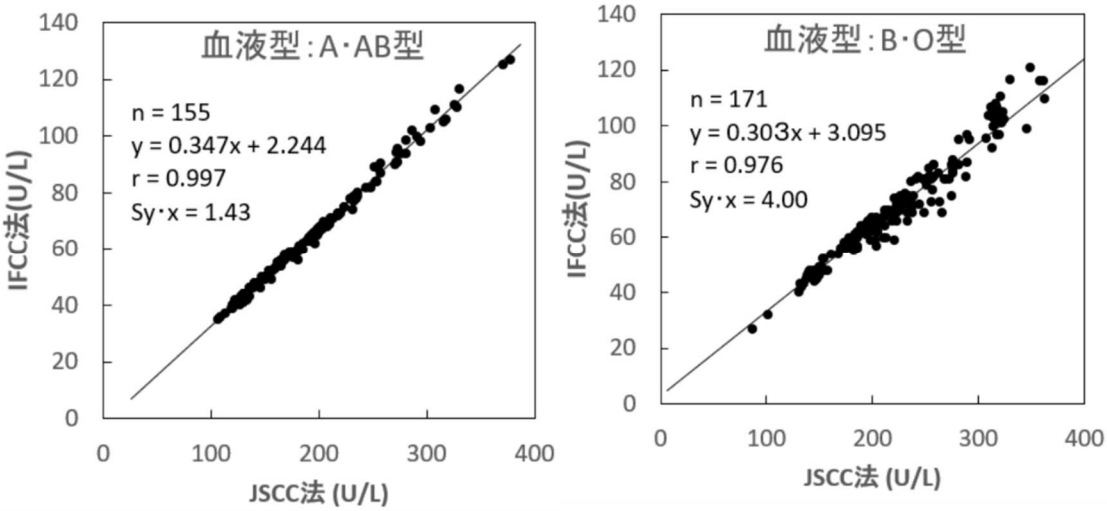

図３．ALP の JSCC 法と IFCC 法の血液型別相関の比較

(2) LD

LD の JSCC 法[3,4]と IFCC 法[7]は緩衝液の種類と pH が異なる（表２）。LD1 と LD2 を精製して pH を変えた試薬で活性値を測定すると図４のようになる。この結果より、LD1 と LD5 の至適 pH が異なり、JSCC 法のジエタノールアミン（DEA）緩衝液 pH 8.8(30℃）は LD５に優位な pH であることが解る。これに対して IFCC 法の N-メチル-D-グルカミン緩衝液 pH 9.4(37℃)は LD１と LD5 の反応性が交差する付近の pH である。特に、JSCC 法では試薬 pH は勧告法の条件の 30℃で 8.8 に設定されており、DEA の *dpKa／dT* が -0.025 であることを考えると 37℃では pH が 8.65 付近であることが推測される。この pH で測定している常用基準法は pH 8.8 の勧告法よりも LD１＜LD５の傾向が強くなっているものと推定される。

健診者の JSCC 法と IFCC 法の相関は図５に示すように JSCC 法の共用基準範囲[3]の LD の上限値の 222 U/L 付近までの測定値は両者に差が認められない。JCCLS 認証標準物質 CRM-001d の LD の認証値は JSCC 法で 406 U/L、IFCC 法で 430 U/L となっており、JSCC 法に対して IFCC 法が約 6%高くなっている。しかし、この CRM-001d は LD１のみの組成であるのに対して患者検体は LD１以外に LD２と LD3 も含んでおり、この H サブユニットを含むアイソザイム組成により JSCC 法と IFCC 法の 6%程度の反応性の差が相殺されているものと思われる。肝疾患など、LD5 が出現する検体では、図５のように乖離が生じ、LD５が高比率の検体では IFCC 法が JSCC 法よ 10～20%の低値となる。

表２．LD 活性測定条件の各国勧告法の比較

方法	P → L			L → P		
	GSCC	SSCC	SFBC	JSCC	GSCC	IFCC
発表年	1972	1974	1982	1989	1994	1994
緩衝液 種類	リン酸	トリス-EDTA	トリス	DEA	MEG	NMG
濃度(mM)	50	50(トリス) 5(EDTA)	80	300	325	325
pH	7.5	7.40	7.20	8.80	9.40	9.40
乳酸 (mM)	—	—	—	60	50	50
NAD+ (mM)	—	—	—	6	10	10
ピルビン酸(mM)	0.6	1.2	1.6	—	—	—
NADH (mM)	0.18	0.15	0.20	—	—	—
NaCl (mM)	—		200	—	—	—
測定温度 (℃)	25	37	30	30	37	30

DEA, ジエタノールアミン-塩酸；NMG, N-メチル-D-グルカミン

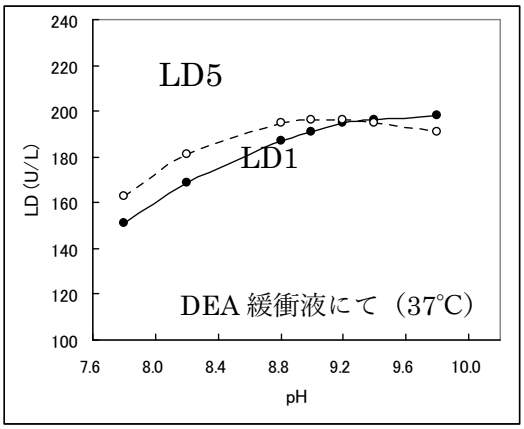

図４．各 pH での LD1,5 の反応性

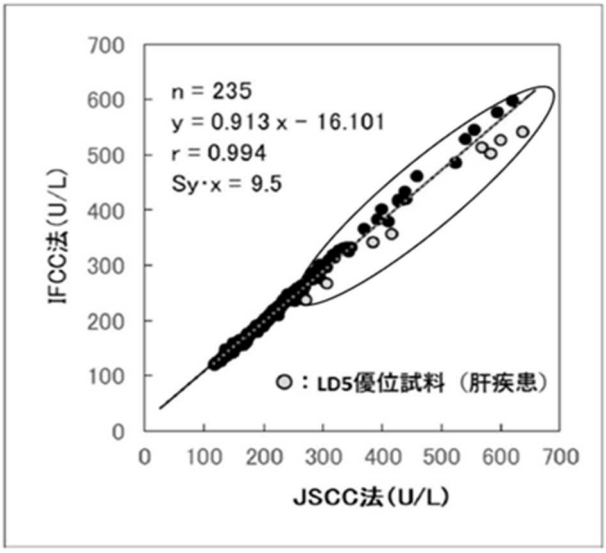

図５．LD の JSCC 法と IFCC 法の相関

２．基準範囲について

(1) ALP

現在、JCCLS の提示している ALP の現状の JSCC 法の共用基準範囲は 106～322 U/L であるが [13]、健診検体において基準範囲の上限値を超す検体の比率が JSCC 法で明らかに IFCC 法より高い。これは血液型 B・O 型の Se（FUT2）分泌型で小腸型 ALP が出現しているためと考えられる。この現象が一因で、ALP の JSCC 法の各施設の基準範囲上限値にはかなりの幅があり、日本臨床衛生検査技師会精度管理調査でも共用基準範囲の採用率が低い。今回の測定法変更により、血液型に起因する小腸型 ALP の影響はかなりの改善が期待される。

IFCC 法への変更により、JSCC 法に対して測定値が約 1/3 になるため、臨床側への十分なアナウンスが必要である。ALP プロジェクトが求めた日本人の基準範囲は以下のようになった。

・男女（18～65 歳）：38～113 U/L
・男性（18～65 歳）：42～113 U/L
・女性（18～44 歳）：35～ 94 U/L
・女性（45 歳以上）：42～126 U/L

IFCC の基準測定操作法の報文では、男性（20 歳以上）：43～115 U/L、女性（18~49 歳）：33～98 U/L とされており [6]、これに近似した値が得られている。

(2) LD

LD では 2019 年８月に実施されたパブリックコメント募集で公表されているように、現行の JSCC 法で求めた JCCLS 共用基準範囲（124～222 U/L）[13]を変更する必要はないとの結論に至った。

３．換算係数について

(1) ALP

受容体基質の差によってアイソザイムの反応性が大きく異なり、さらに小腸型 ALP の出現程度が血液型によってことなることから、一律な換算係数の設定は不可能である。しかし、測定法変更前後の値を比較する必要性は排除できない。健常者および JSCC 法で 1,000 U/L 以下の患者血清で血液型が極端に偏らない標本から回帰式を求めた。JSCC 法の測定値をｘ、IFCC 法の測定値をｙとすると

$y = 0.35x$ ・・・・・ ①式

$x = 2.84y$ ・・・・・ ②式

となった。上述したように異なる測定試薬ではアイソザイムの反応性が異なるため厳密な換算係数の設定は不可能であることから傾き(a)のみの換算係数とした。この換算式は概算的用途においてのみ利用可能とする。Ｂ・Ｏ型（特に Se（FUT2）分泌型および妊婦では乖離度が大きくなる。

(2) ＬＤ

ＬＤにおいては検体中の LD5 の比率に左右されるため換算は行わないとの見解に至った。

結　語

標準化の進歩により、ALP・LD の測定値が利用される分野が拡大し、データの取り扱いが複雑になっている。その変更作業は多岐に及び、困難さを増している。しかし、この変更により測定値の臨床的意義の向上とグローバルハーモナイゼーションがもたらされる。診断、治療、予防医学における価値を高めるための変更であるため、各施設での診療部門への説明を含めた変更を進めていただきたい。

変更に必要な情報は日本臨床化学会ホームページに掲載し、順次、更新を行う予定である。

文　献

1）日本臨床化学会：血清中の酵素活性測定標準化の推進に関する指針　指針Ｉ

日本臨床化学会常用基準法(JSCC 常用基準法), 臨床化学, 23:335-340, 1994.
2) 日本臨床化学会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法－アルカリホスファターゼ(ALP)－, 臨床化学, 19:209-227.1990.
3) 日本臨床化学会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法－乳酸デヒドロゲナーゼ(LD)－, 臨床化学, 19:228-236.1990.
4) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の常用基準法－乳酸デヒドロゲナーゼ(LD)－, 臨床化学, 32:81-85.2003
5) N.W.Tietz, et al.：IFCC method for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 5. IFCC Method for Alkaline Phosphatase. IFCC Document Stage 2. Draft 1, Clin Chem Clin Biochem, 21: 731-748, 1983
6) Schumann G, et al.：IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37℃. Part 9: reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase, Clin Chem Lab Med, 49: 1439-1446, 2011.
7) Schumann G, et al.：IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37℃. Part 3. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Lactate Dehydrogenase, Clin Chem Lab Med, 40: 643–648, 2002.
8) 日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会：血清アルカリホスファターゼ (ALP) 活性測定の JSCC 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, 臨床化学, 46:138-145, 2017.
9) 日本臨床化学会:パブリックコメント「血清アルカリホスファターゼ（ALP）常用基準法改定に関する意見の募集について」に対する報告書. http://jscc-jp.gr.jp/file/pdf/alp_jscc.pdf
10) 日本臨床化学会：ALP、LD の測定方法が変わります. http://jscc-jp.gr.jp/file/2019/alpld1.pdf
11) Beckman L.: Associations between human serum alkaline phosphatases and blood groups, Acta Genet, 14:286-297, 1964.
12) 松下 誠, 他：血清アルカリ性ホスファターゼ活性と血液型との関係. 臨床化学, 30:217-222, 2001.
13) 日本臨床検査標準協議会基準範囲共用化委員会編：日本における主要な臨床検査項目の共用基準範囲案－解説と利用の手引き－. http://www.jccls.org/techreport/public_20190222.pdf

資料 B

ALP、LDの測定方法が変わります

＊2020年4月1日より準備の整った施設から変更開始します。

日本国内のALP、LDの測定方法が
世界的に普及している測定方法に変わります。
これにより、日本国内の測定値は
各国の測定値と互換性を持つことになり、
検査のグローバル化が進みます。

現行測定法：JSCC法　（JSCC：日本臨床化学会）
新測定法：IFCC法　（IFCC：国際臨床化学連合）

ALPは測定値が現行法の約1/3になります。

	現行測定法	新測定法
成人男女	106～322 U/L	38～113 U/L

LDは測定値、共用基準範囲ともに現行法と変わりません。

＊詳細については下記のホームページ、文献をご参照ください。

*ALP・LD 測定法変更について(医療従事者向け)　http://jscc-jp.gr.jp/file/2019/alpld2.pdf
*ALP・LD 測定法変更について(検査室実務者向け補足説明) http://jscc-jp.gr.jp/file/2019/alpld3.pdf
*ALP・LD 測定法に関する Q&A　http://jscc-jp.gr.jp/file/2019/alpld4.pdf

（一社）日本臨床化学会
ver. 1.0　(2019.11.21)

資料 C

ALP・LD 測定法変更について
― 医療従事者向け ―

ver. 1.0 （2019.11.21）

日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会
ALP プロジェクト・LD プロジェクト

目 次

1. はじめに ---------- 2
2. なぜ変更するのか ---------- 2
3. 変更による利点 ---------- 3
4. 変更に関する注意点 ---------- 4
5. 変更後の基準範囲について---------- 4
6. 換算係数について ---------- 4
7. 主な領域および疾患データの変更後の値について ---------- 5
文 献---------- 6

１．はじめに

日本臨床化学会（JSCC）では、関連団体・学会からもご賛同をいただき、ALP と LD の常用基準法を国際臨床化学連合（IFCC）の基準測定操作法と同一の測定法（IFCC 法）に変更することと致しました。2020 年 4 月 1 日より準備の整った施設から変更を開始し、1 年間での達成を目指します。本稿では、測定法変更の目的と従来の測定値との関係、さらに変更に基づく利点と注意点、新たな測定法での基準範囲について記載致します。ご一読の上、ご理解とご協力を賜りますよう、お願い致します。

２．なぜ変更するのか

(1) ALP

わが国の ALP 測定法（JSCC 法）は小腸型 ALP の反応性が高い試薬処方が採用されています[1)]。血液型が B,O 型で Se（Fut2）が分泌型の人（B,O 型の約 8 割）では病気と無関係に血中に小腸型 ALP が出現することから、JSCC 法はその影響で臨床的意義が認められない高値が出現する場合があります[2)]。この傾向は脂肪食後に大きく表れると言われていますが、ALP プロジェクトの調査では、朝食をとらずに来院した健診者の空腹時検体でも B,O 型では小腸型 ALP の出現に起因した JSCC 法と IFCC 法の乖離現象が確認されています（図１）。

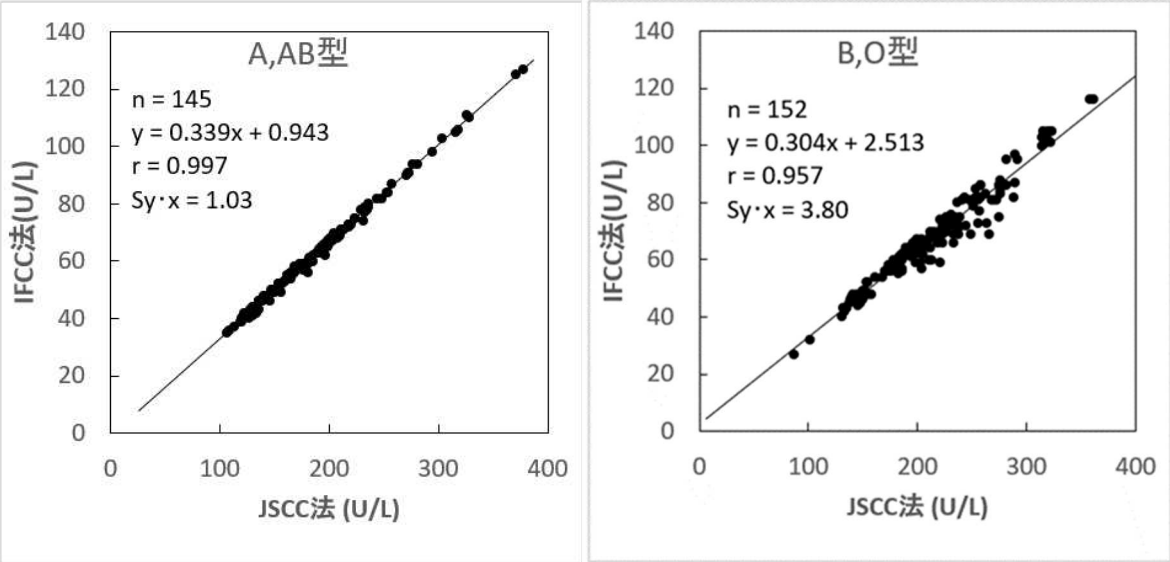

図１．健診者における血清 ALP の血液型別 JSCC 法と IFCC 法の相関図

また、胎盤型 ALP は小腸型とは逆に IFCC 法に比べて JSCC 法では反応性が低いという特徴があります。これらの理由により患者検体の JSCC 法による測定値は IFCC 法と比較すると図２のような乖離が生じます。このことから、

日本の ALP 測定値は、国際的な治療指針を利用する場合や治験データとしての利用に支障をきたしているのが実情です。

(2) LD

わが国の LD 測定法（JSCC 法）はアイソザイムの LD5 が相対的に高く測定されます。これに対して、海外では IFCC の基準測定操作法の測定条件で LD1 と LD5 がほぼ同等に測定される方法(IFCC 法）を用いています。そのため JSCC 法で測定している現在は、LD5 の割合が高い症例で IFCC 法より高値傾向を示します（図 3)。

また、国際的な治験では ALP 同様、国内の測定値が受け入れられないため海外へ検体を送って測定している状況もあります。

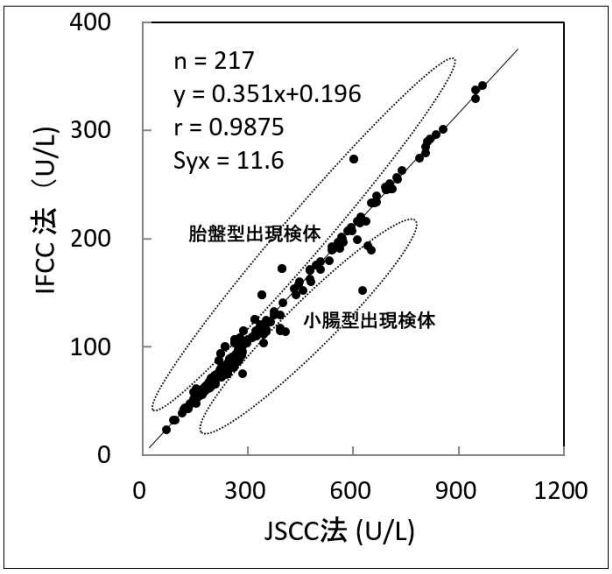

図２．無作為の抽出した患者検体での JSCC 法と IFCC 法の相関図

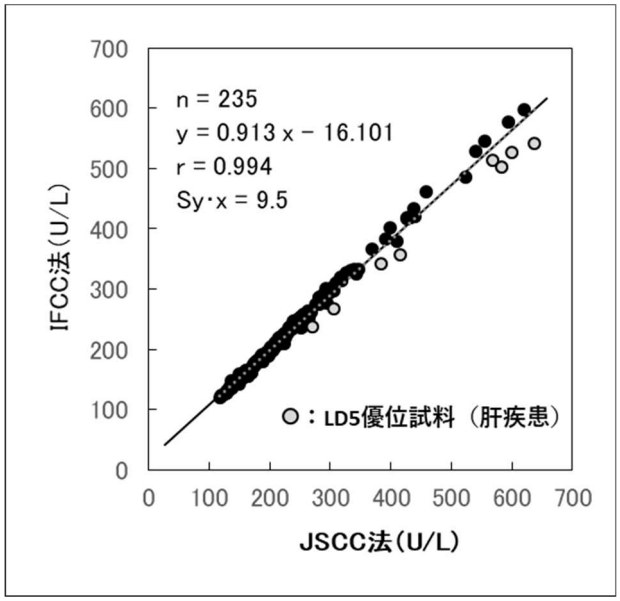

図 3. 血清 LD の JSCC 法と IFCC 法の相関図

３．変更による利点

(1) ALP

① 上記１に記した理由で疾患と無関係な上昇が軽減し、肝・骨疾患の臨床的意義が向上します。

② 測定値を海外と共有化でき、国際的な治験や治療への参画時に利便性が向上します。

(2) LD

① 世界に通用する測定値となり、海外と測定値の共有化ができます。

② 変更前後の測定値の差が軽微であり、健常者の測定値は許容誤差範囲内の変化であることから、現状の共用基準範囲を変更する必要はありません。

４．変更に関する注意点

(1) ALP

・測定値が現行の 1/3 程度の数値になります。

・変更前後の値の換算には限界があります。IFCC 法に変更することで血液型 B,O 型では小腸型 ALP を含む検体で低めになり、逆に妊婦では胎盤型 ALP が増加することにより高めに測定されます（図２参照)。

・ALP アイソザイム試薬についても IFCC 法に対応した新しい処方のものが発売されますので、その IFCC 法に対応した試薬での測定が必要です。

(2) LD

・LD5 優位検体では現行の JSCC 法に対して低めの活性になります（LD5 が 50%の症例では測定値の差は 20%未満)。

５．変更後の基準範囲について

(1) ALP

成人男女：38～113 U/L

なお、新生児および小児については、既報の小児の基準範囲 [10]を次の項で示す換算係数で変換した値が利用できます。

(2) LD

下記の現行法の共用基準範囲 [11]を変更せずに適用します。

成人男女：　124～222 U/L

６．換算係数について

(1) ALP

図１に示す理由により、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ため、実測値に合致する換算係数を得ることは困難ですが、ほぼ肝型と骨型の検体と仮定した場合の換算係数は以下となります。

・JSCC 法測定値から IFCC 法測定値に換算： 0.35 倍

・IFCC 法測定値から JSCC 法測定値に換算： 2.84 倍

ただし、小腸型 ALP や胎盤型 ALP が増加する症例では、換算値は実測値から乖離しますので、ご留意ください（図２参照)。

妊婦の場合にも妊娠週数が増すごとに胎盤型の出現が増すため、上記換算係数を使用すると実測値との差が大きくなります。

(2) LD

換算せずそのままの測定値を使ってください。

7．主な領域および疾患での変更後の値について

(1) ALP

① 健康診断

血液型 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します。

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 を低く抑えることから、肝疾患への特性が増し、生理的変動も縮小します。

③ 骨疾患

ALP は乳児期および小児期の低ホスファターゼ症（Hypophosphatasia；HPP)の診断に欠かせませんが、海外と同一の測定法となることから、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します。

癌の骨転移や慢性腎疾患などの骨代謝異常の指標の一つとして海外も含めた利用価値が向上します。

④ 妊婦

従来の JSCC 法に比較して IFCC 法では胎盤型の反応性が高くなります。妊娠週数が増すと胎盤型が増加し、肝型との比率も変化することから JSCC 法と IFCC 法の相関は一律にはいかず、図 2 の相関図に示したように回帰直線の上方向に乖離します。

(2) LD

LD5 が少ない場合は、JSCC 法と IFCC 法でほぼ違いはありませんが、LD5 が増加するに従い、IFCC 法で低めになることにご留意ください。

① 心疾患

心筋に多く含まれる LD1 および LD2 が優位であり、変更後は若干高値傾向になります。

② 血液疾患

白血病では、LD2 および LD3 が優位とされています。そのため変更後の測定値の変動は許容誤差範囲内です。

③ 肝疾患

肝疾患では、LD5 が優位となるため、変更後の測定値は 10～20%低値傾向になります。

文　献

1）日本臨床化学会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法－アルカリホスファターゼ(ALP)－，臨床化学，19: 209-227, 1990.

2）松下 誠，他．血清アルカリ性ホスファターゼ活性と血液型との関係，臨床化学，30：217-222, 2001.

3）N.W.Tietz, et al.：IFCC method for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 5. IFCC Method for Alkaline Phosphatase. IFCC Document Stage 2. Draft 1, Clin Chem Clin Biochem, 21: 731-748, 1983.

4) Schumann G, et al.：IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9: reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase, Clin Chem Lab Med, 49: 1439-1446, 2011.

5）日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会：血清アルカリホスファターゼ（ALP）活性測定の JSCC 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，臨床化学，46：138-145, 2017.

6）日本臨床化学会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法－乳酸デヒドロゲナーゼ(LD)－，臨床化学，19: 228-236, 1990.

7）日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の常用基準法－乳酸デヒドロゲナーゼ(LD)－，臨床化学，32: 81-85, 2003.

8）日本臨床化学会：血清中の酵素活性測定標準化の推進に関する指針　指針 I 日本臨床化学会常用基準法（JSCC 常用基準法），臨床化学，23： 335-340, 1994.

9）Schumann G, et al.：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, Clin Chem Lab Med, 40: 643–648, 2002.

10）田中　敏章、他：潜在基準値抽出法による小児臨床検査基準範囲の設定、日本小児科学会雑誌，112: 1117-1132, 2008.

11）日本臨床検査標準協議会基準範囲共用化委員会編：日本における主要な臨床検査項目の共用基準範囲―解説と利用の手引き―，
http://www.jccls.org/techreport/public_20190222.pdf

資料Ｄ

ALP・LD 測定法変更について
－ 検査室実務者向け補足説明 －

ver. 1.0 （2019.11.21）

日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会
ALP プロジェクト・LD プロジェクト

目　次

１．ALP の基準範囲上限付近での挙動について---------- 2
２．ALP 測定における乳幼児検体の JSCC 法と IFCC 法の関係---------- 2
３．LD の試薬 pH と相対活性の関係---------- 3
４．LD は現状の共用基準範囲を変更せずに使用する根拠---------- 4
５．変更作業について---------- 5
文　献---------- 6

１．ALP の基準範囲上限付近での挙動について

ALP 測定では、「①ALP・LD 測定法変更について－ 医療従事者向け ―」の図１，２に示したように小腸型と胎盤型が出現した検体では現行の JSCC 法と IFCC 法で乖離が生じます[1)]。現行の JSCC 法では、血液型 B・O 型の検体において疾患とむずびつかない上昇が認められる事例が散見されましたが、IFCC 法に変更することによりこの現象は軽減します。表 1 は 40 歳以下が 85%で女性が 79%の健診者での２法の比較結果ですが、B・O 型において有意に高い基準範囲上限以上の頻度は IFCC 法では低下しています。

表１．健診者における現行 JSCC 法と IFCC 法での基準範囲上限以上を示した測定値の出現数の比較

血液型	測定法	基準範囲内[注1]	基準範囲上限以上
A・AB型	現行JSCC法	552	1
	IFCC法	552	1
B・O型	現行JSCC法	542	8
	IFCC法	547	3

注１：IFCC法は38～113U/L、現行JSCC法は106～322U/L

２．ALP 測定における乳幼児検体の JSCC 法と IFCC 法の関係

新生児および小児の場合、図１に示すように JSCC 法と IFCC 法の相関が成人に比べて非常に良好なことから、既報の小児の基準範囲[2)]を換算係数 y =0.35 x （ x ：JSCC 法の値、 y ：IFCC 法の値）で変換した値が利用できます。

実際にこの換算した IFCC 法値と IFCC 標準化対応試薬にて自動分析機にて実際に測定した値の相関を図２に示します。良好な相関であることが分かります。

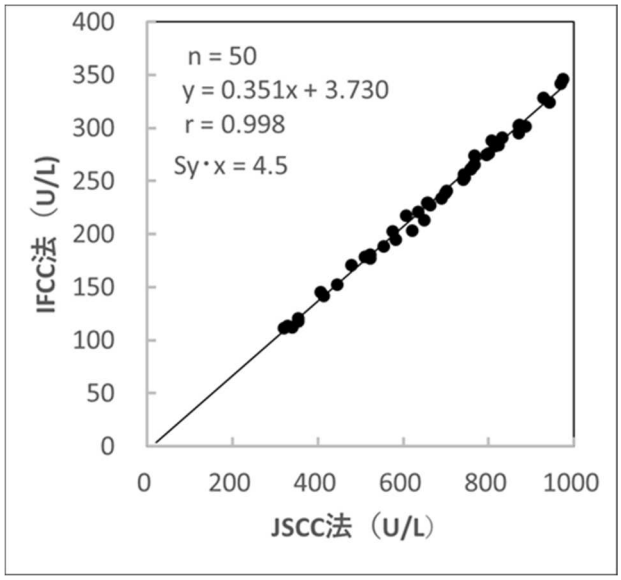

図 1．小児検体の JSCC 法と IFCC 法の相関図

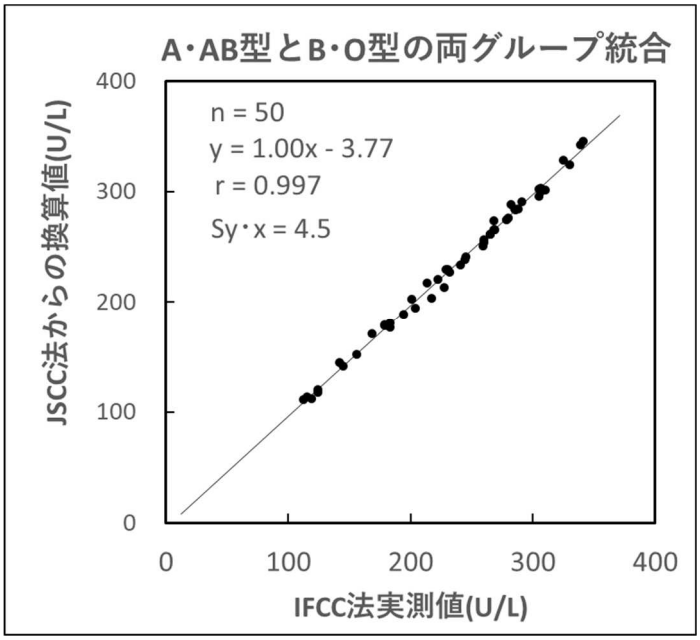

図 2. 乳幼児検体の JSCC 法測定値を IFCC 法値に換算した値と IFCC 法実測値の相関

3． LD の試薬 pH と相対活性の関係

JSCC 常用基準法の試薬は 30℃で pH 8.8 に調製しているため、測定温度の 37℃では pH が 8.65 付近となり pH 8.8 よりも LD1＜LD5 の傾向が大きくなります。

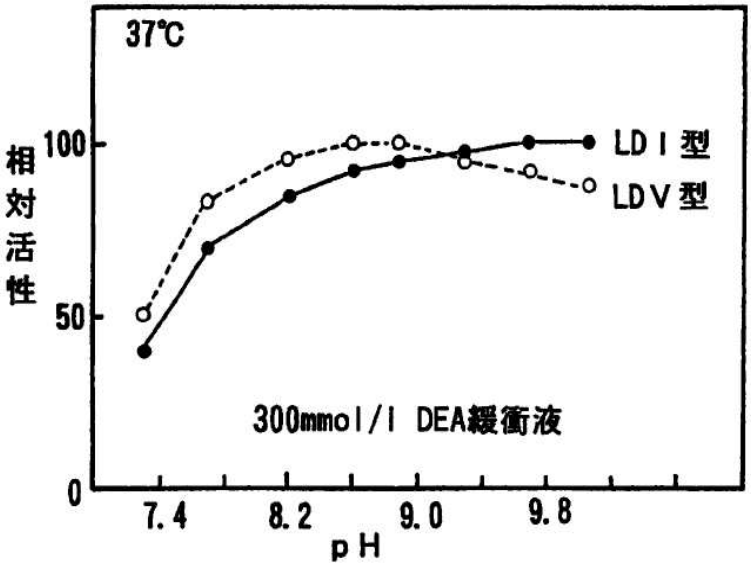

図 3. LD 1 と LD5 の p H 反応特性（DEA 緩衝液によるデータ）[3)]

４．LD は現状の共用基準範囲を変更せずに使用する根拠

健診者 236 名の測定を実施したところ、図 4 に示すように IFCC 基準測定操作試薬 JSCC 標準化対応試薬を用いて自動化法で測定した健常者の活性値は良好な相関を示しています。この相関における Sy･x は 2.47 U/L で個人の生理的変動幅(1/2Sp = 8.5 U/L)に比較してはるかに小さい値でした。また、標準主軸回帰による Bootstrap 法では、信頼区間と有意水準を 0.05 とした場合、傾きの信頼区間は、0.94686～0.9761、切片の信頼区間は、4.17704～9.12603 となりました。

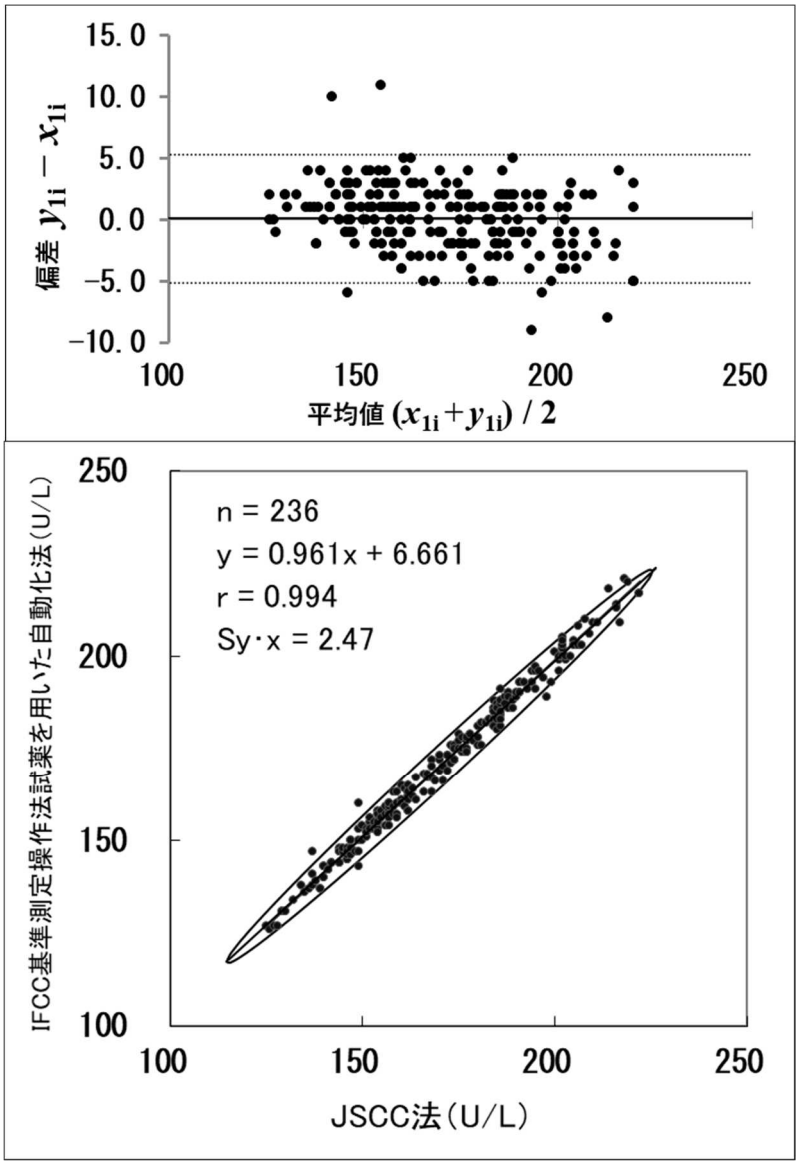

図４．現行 JSCC 標準化対応試薬と IFCC 基準測定操作法を用いた自動分析機による測定値の相関図と偏差図（上段）

切片の信頼区間は、4.17704～9.12603、切片が 1.0 をまたぐ形になっていませんが、信頼区間を基に算出した値は、下限値は 124.4 から 133.1 U/L、上限値は 215.3 から 226.8 U/L となります。

このことから、改定 JSCC 常用基準法に現行の共用基準範囲がそのまま適用できるとの判断に至りました。なお、CRM-001 d と患者検体で JSCC 法と IFCC 法の値の比率が若干異なるにも関わらず、患者検体では基準範囲付近において両測定法同等で値が得られる理由は両者のアイソザイム組成の違いによるものと考えられます。

５．変更作業について

(1) 変更時期

日本臨床化学会としては 2020 年 4 月 1 日から ALP と LD の測定法を変更されることを推奨します。2 つの方法が国内で混在していますと、データの解釈に混乱が生じますので、できるだけ短期間での変更が望ましいと考えています。

(2) 項目略称の表現について

項目略称は次のようにします。

ALP(IFCC)、LD(IFCC)

ただし、使用コンピュータの文字数制限等により下記表記も可とします。

ALP_IFCC、LD_IFCC

コンピュータシステム上 7 文字以上の設定ができない場合は、JSCC か IFCC かを誰もが識別できるように配慮してください（例えば、ALP_IF、LD_IF として、その略称の意味を院内に周知して使用するなど）。なお、項目名の表記形式は ALP と LD で合わせることを原則とします。

(3) コンピュータシステムマスタ設定

① ALP

項目の並びを現状と同一にするためには現状の ALP を分画タイプとする方策も選択肢の一つと考えられます（現状の ALP と項目順を並べるマスタ設定についてはシステム担当とご相談ください）。

一時的に、変更した IFCC 法での測定値と、その値を JSCC 法値に換算して表示する場合、基本的には換算値が入る項目を分画タイプ等で新たに設けて、それを計算項目として自動的に入力されるようにします。自施設の責任において換算値の項目を設ける場合は、その項目名を ALP_JS ｶﾝ、あ

るいは ALP_J ｶﾝ などとして実測値ではないことが分かる工夫をすべきです。JSCC 法への換算値を併記する場合は、反応性の違いにより換算に限界があることを臨床側に周知して数カ月以内の短期間限定の併記に留めるべきです。

② LD

現行法の共用基準範囲[4)]を適用できることから、測定法の変更に際しては下記の二方策から各施設により選択してください。

a. 項目コードを新規に設定する。

この場合は ALP の設定に準じた対応策をとってください

b. 現行の項目コードを使用して項目名称と測定試薬のみ変更する。

この場合、以下の点に注意してください。

・コンピュータシステムの機能上、LD_IFCC などに変更した項目名称が過去のデータ表示にも適用される場合は上記 a の項目コードの変更を原則とします。

・LD5 の優位試料では、時系列で乖離がありますので、変更日時の臨床側への周知が必須です。

文　献

1）日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会：血清アルカリホスファターゼ（ALP）活性測定の JSCC 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，臨床化学, 46：138-145, 2017.

2）田中　敏章、他：潜在基準値抽出法による小児臨床検査基準範囲の設定、日本小児科学会雑誌 112: 1117-1132, 2008.

3）日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の常用基準法－乳酸デヒドロゲナーゼ(LD)－．臨床化学 32: 81-85, 2003.

4）日本臨床検査標準協議会基準範囲共用化委員会編：日本における主要な臨床検査項目の共用基準範囲―解説と利用の手引き―.
http://www.jccls.org/techreport/public_20190222.pdf

ALP・LD 測定法変更に関わる Q and A

ver. 2.0 （2020.2.）

日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会
ALP プロジェクト・LD プロジェクト

1. ALP

Q1：現在使用中の JSCC 標準化対応試薬をそのまま使用して、IFCC 法の表示値が付いているキャリブレータで校正して、その測定値を IFCC 値とすることができますか。

A1：トレーサビリティが担保されないため換算値を IFCC 法の値として報告することはできません。ALP の JSCC 法は IFCC 法とアイソザイムの反応性も異なることから今回の変更の必要性が生じました。

Q2：現在、基準範囲は施設独自の数値を用いています。この施設独自の基準範囲を 0.35 倍して換算して新たな基準範囲としても良いでしょうか。

A2：JSCC 法では B・O 型で血中に出現する小腸型 ALP を高感度に測定することから健常者でも高めの値が出現します。そのため、共用基準範囲の上限値より大きい数値を基準範囲の上限としている施設が多いのが現実です。しかし、IFCC 法ではこの B・O 型で出現する小腸型 ALP の反応性が低くなります。このことから今回設定した共用基準範囲を積極的に採用して頂きたいと考えています。

Q3：暫くの間は JSCC 法と IFCC 法の両者で測定すべきでしょうか。

A3：その必要はありません。ALP の場合、IFCC 法に変更後に参考までに従来の JSCC 値を表示する必要がある場合は、一時的に IFCC 法測定値を 2.84 倍して JSCC 法への換算値として表示する対応策も考えられます。この場合、JSCC 法と IFCC 法の反応性の差から換算には限界があり、特に B・O 型の換算値は実際の JSCC 法測定値より低値を示す事例があることを臨床側にアナウンスしておく必要があります。

Q4：ALP 測定法の変更とアイソザイム検査の関係はどのように考えるべきか。

A4：現在、国内で使用されている ALP アイソザイム試薬を販売しているのは 1 社のみであり、そのメーカーにて IFCC 法に対応したアイソザイム検査試薬が発売される予定と聞いています。検査センターには 2020 年 4 月から当分の間、現行法と IFCC 法に対応した新試薬による測定の両者から選択して依頼できる体制をとって頂くよう要望する予定です。

Q5：使用しているコンピュータシステムの項目略称が最大 6 文字の制限になっているのですが。

A5：ALP_IF、LD_IF として、その略称の意味を院内に周知して使用してはどうでしょうか。

Q6：JSCC 法と IFCC 法は両者とも同一の基質（4 -ニトロフェニルリン酸、4 -NPP）なのに測定値が 3 倍以上異なるのはなぜか。

A5：この測定系では両者とも下記の 2 種類の反応が関与しています。

(1) 4-ﾆﾄﾛﾌｪﾆﾙﾘﾝ酸＋H_2O $\xrightarrow{\text{ALP}}$ 4-ﾆﾄﾛﾌｪﾉｰﾙ*＋ﾘﾝ酸

(2) 4-ﾆﾄﾛﾌｪﾆﾙﾘﾝ酸＋R $\xrightarrow{\text{ALP}}$ 4-ﾆﾄﾛﾌｪﾉｰﾙ*＋R-ﾘﾝ酸

（＊印はｱﾙｶﾘ下で 4-ﾆﾄﾛﾌｪﾉｷｻｲﾄﾞｲｵﾝとなり黄色となる）

（1）の反応は 4-ニトロフェニルリン酸(4-NPP)を供与体基質とした反応系で、(2）の反応は緩衝液でもある R が受容体基質として関わっています。R として、JSCC 法では 2-エチルアミノエタノール（EAE）が、IFCC 法では 2-アミノ-2-メチル-1-プロパノール（AMP）が使われています。この受容体基質の違いによって各アイソザイムが異なった反応性を示します。

Q7：当面、現状の JSCC 標準化対応法の試薬を使って、測定値を換算（あるいは CRM-001d の IFCC 値を使ってキャリブレーション）して IFCC 法の値として報告して良いでしょうか。

A7：上の A1 と A7 で説明しましたように受容体基質の差によって ALP アイソザイムの反応性が大きく異なり一律な換算では実際に測定した IFCC 法の値と乖離するケースが発生します。今回、JSCC 法は血液型が B･O 型で Se（FUT2）が分泌型の場合に疾病と無関係に血中に出現する小腸型 ALP の反応性が大きいことが測定法変更の経緯の一つです。

Q8：ガイドラインには、『2020 年 4 月 1 日より準備の整った施設から変更を開始し、1 年間での達成を目指します。』との記載がありますが、試薬供給体制が整うまで JSCC 試薬の暫定使用は可能でしょうか。

A８：遅れる場合でもその期間が最短になるように試薬供給がなされた時点でスムーズな変更に努めてください。

Q9：IFCC 法による血清アルカリホスファターゼ活性の基準範囲設定はどのように決定したのでしょうか。また、共用基準範囲になりますか。

A9：日本臨床検査標準協議会基準範囲共有化委員会編「日本における主要な臨床検査項目の共用基準範囲-解説と利用の手引き-」とマッチした採血条件で採血された検体を用いました。

http://www.jccls.org/techreport/public_20190222.pdf

2020 年 1 月に JCCLS 共用基準値として承認され、JCCLS の URL に掲載れました。

http://www.jccls.org/2020013103_1.pdf

Q10：IFCC 法による血清アルカリホスファターゼ活性の男女別基準範囲はありますか。

A10：男女別に算出した基準範囲は以下のようになっています。

・男女（18～65 歳）： 38～113 U/L
・男性（18～65 歳）： 42～113 U/L
・女性（18～65 歳）： 36～109 U/L
・女性（18～44 歳）： 35～　94 U/L
・女性（45～85 歳）： 42～126 U/L

Q11：健診データを健保団体へ報告する際に JLAC10 のコードが使われていますが、そのコードは追加されますか。

A11：一般財団法人 医療情報システム開発センター （MEDIS-DC）に測定法変更についてご説明し、ALP と LD の IFCC 法による測定項目コードを追加していただくことになっています。また、そのデータを受け取る健保団体側のシステムにそのコードを設定して頂く必要があることから、厚労省と相談しながら進めています。

Q12：アイソザイムの染色試薬を変更すべきでしょうか。

A12：Q 4 に対する回答で、IFCC 法に対応したアイソザイム検査試薬が発売される予定との情報を紹介していますが、アイソザイム染色試薬に対してプロジェクトは次のように考えております。

アイソザイム染色は、血清蛋白分画や脂質分画の染色と異なり、一定時間内の反応生成物からパーセントを算出しています。また、総活性値を測定している JSCC 法において各アイソザイムが均等に反応しているとするも言えません。ALP アイソザイム結果が総活性値と矛盾が生じないよう染色液は途中で JSCC 常用基準法に合わせた経緯があります。これは、骨型 ALP(BAP)を電気泳動を用いて測定して ALP 活性値×ALP3 分画（%）から骨型 ALP を活性値で求めることも保険点数[D007-25 ）：96 点]で認められていることをとも考慮しなければならない現状でもあります。

２．LD

Q1：CRM001d の認証値ですが JSCC 法と IFCC 法で 6%ほど IFCC 法が高値ですが、基準範囲を変更しなくてよいのでしょうか。

A1：CRM001 は、アイソザイム LD1 のみで作製されております。実際の測定試料は、アイソザイム LD1 から LD5 が存在するため、基準範囲付近では JSCC 法と IFCC 法で同等の測定値となります。

Q2：LD5 が多く含まれる試料で、JSCC 法が高値となるとのことですが、どのくらい乖離するのでしょうか。

A2：LD5（%）が 40%を超えるような検体では、IFCC 法より JSCC 法が 10～

20%ほど高値となります。LD5（%）が 70%を占める検体では 30%近く乖離する場合もあります。

Q3：試薬の pH がアルカリ側ですが、開封後 1 ヶ月以上使用可能でしょうか。

A3：開封後の試薬をそのまま分析装置にセットして使用する場合は、分析を実施しない夜間帯などには蓋をした状態で保管することをお薦めいたします。ALP・LD 共に組成が変更になりますので、詳細は使用している試薬のメーカーに確認願います。

Q4：JSCC 法と IFCC 法で測定値に乖離する例が少ないのであれば、試薬を変更する必要はないと思うのですが。

A4：アイザイムの LD5 が多く含まれる検体では、測定値が乖離することと、どの検体で LD5 の割合が多いか不明ですので、IFCC 法試薬に変更する必要があります。

＊質問が寄せられ次第、順次追加していきます。