

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2012～2014

課題番号：24256003

研究課題名(和文) 国際連携による臨床検査基準値データベースの構築と検査診断エビデンスの共有化

研究課題名(英文) International collaboration toward establishment of reference value database for common use in evidence-based laboratory diagnosis

研究代表者

市原 清志 (ICHIHARA, Kiyoshi)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10144495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,000,000円

研究成果の概要(和文)：臨床検査の基準範囲設定法の不統一が問題となっている。そこで研究代表者は2011年国際臨床化学連合・基準範囲判断値委員会の事業として、世界規模の多施設共同基準値調査を企画した。その目的は、国際的に共用可能な調査プロトコルの策定、実データに基づく最適な統計処理法の確立、標準化・調和化に対応した基準範囲の算出、人種・地域差など基準値の変動要因の解明である。2014年度末の時点で5大陸16ヶ国が参加、調査の完了した10ヶ国の基準範囲を最新の統計処理法で設定した。また共通のパネル試料の測定結果に基づき基準値を統合し・データベース化した結果、検査診断で有用な様々な臨床検査値の変動要因を明らかとした。

研究成果の概要(英文)：The methodologies for derivation of reference intervals (RIs) of clinical laboratory tests remain controversial. This investigator launched an international collaborative multicenter study on reference values (RVs) as a project of Committee on Reference Intervals and Decision Limits of International Federation of Clinical Chemistry. Its aims are 1) elaboration of internationally sharable protocol for conducting RI study, 2) establishing optimal statistical methods for derivation of RIs, 3) ensuring standardization of derived RIs, and 4) exploration of sources of variation (SV) of RVs. By March 2015, 16 countries from 5 continents collaborated and RIs of 10 countries have been derived so far by new reliable methods. The reference values of each country were gathered and dynamically aligned to each other based on test results of the serum panel measured in common. A variety of SV of RVs have been revealed, which are all relevant for the practice of evidence-based laboratory diagnosis.

研究分野：臨床検査診断学

キーワード：基準範囲 EBLM 標準化 生理的変動要因 多施設共同調査 国際臨床化学連合 パネル血清

1. 研究開始当初の背景

基本的な臨床検査の標準化は達成されたが、検査値判読の目安となる基準範囲は施設毎に異なる。そこで基準範囲設定の諸問題を解決すべく国際臨床化学連合(IFCC)に、2005年基準範囲判断値委員会(C-RIDL)が発足した。その目的は、設定の方法論を明確にし、多施設共同の設定作業に向けて学術環境を整備することであった。その試みとして、応募者が調整役となりアジア太平洋臨床生化学連合(APFCB)の支援を得て、2009年に日本を含む東南アジア9ヶ国で主要95検査を対象に調査を実施した(検査試薬メーカー4社の支援と科研費H21~3年基盤B海外学術調査を得て実現)。その結果、測定値の標準化に対応した共有基準範囲を多数検査で設定できた[9,8]。一方で、約20検査項目では、人種・生活環境により基準値に差が生じることを解明した。また、各検査の生理学的変動要因、検査値の相互関連に関する検査診断の知見を多数得た。

2. 研究の目的

上記の実績から、研究代表者が2010年C-RIDLの委員長に選ばれ、同様の調査を世界規模で行う計画を提案した。その目的は、(1)基準値調査を国際的に多施設共同で調和化して行う方法論を確立することで、特に、当時議論が多かった基準個体の選別法・統計処理方法を最適化すること、(2)設定する基準範囲を可能な限り標準化対応とすること、(3)各国の基準値を統合し、人種差・地域差などの生理学的変動要因を解明すること、(4)得られた国別・性別・年代別基準範囲や基準値の生理学的変動に関わる情報は、検査診断の重要なエビデンスであり、それを広く利用できる環境を構築することにある。

これらの目的を実現するために必要な基本方針として、多施設共同の基準値調査実施に必要な世界共通プロトコルをC-RIDLで協議して策定、国別の基準範囲設定に必要な試薬調達、調査実施経費、データ解析・統計処理作業を支援、標準化対応検査に対し各国の測定値を認証標準品で校正、共通試料(健常者血清パネル)を作成し、その比較測定により測定試薬間差を方法間比較(回帰分析)により相互調整、各国の基準値をデータベース化し、測定値の地域間差・試薬間差に対応した検査診断のエビデンスの探索とその利用システムをWeb上に構築することである。

3. 研究の方法

(1) 共通プロトコルの策定

RI設定のための調査法を国際的に調和化すべく、対象となる基準個体の選別基準、採血条件、測定条件をC-RIDLが協議して策定した[10]。その要点は次の通りである。

基準個体の選別：基準個体候補者を緩い基準で募集し、検査値に基づき潜在病態を2次除外する方式(潜在異常値除外法:LAVE法)を採択。なお、対象者が総合的に健常と見なされる場合は、定期的な薬剤服用者を許容するが、検査項目毎に薬剤の服用状況により2次除外を行う。

基準値の変動要因の分析：RI層別化の必要性の判定には、分散分析法に基づく群間差指数(SDR)[5]を採用、同時に重回帰分析により確認する。

基準範囲の設定法の比較：基準範囲(=基準値の中央95%信頼区間:95%CI)の設定にはパラメトリック法(P法:Box-Coxべき乗変換法により分布を正規変換し、その平均値 m 、標準偏差SDを利用して95%CIを推定)を採用、従来法(ノンパラメトリックNP法:大きさ順に並べ替えた基準値の95%CIを推定)でも比較する。また基準範囲上下限値の90%CIを常に経験法(bootstrap法)により推定し、算出された基準範囲の信頼性を表示する。

(2) 調査・分析の実施体制

国当たり500例以上を目標症例数とし参加を求め、H27年3月時点で5大陸16ヶ国が参加(後述)している。国別に多施設共同で対象者を募集し、国内の1~2カ所の中央測定施設で一括測定を行う。調査対象検査は、各国で自由に決めるが、主要生化学検査25項目(TP, Alb, Urea, UA, CRE, TBil, Glu, TCho, TG, HDL-C, LDL-C, Na, K, Cl, Ca, IP, Mg, Fe, AST, ALT, LD, ALP, GGT, CK, AMY)、免疫比濁検査8項目(CRP, IgG, IgA, IgM, C3, C4, Tf, TTR)、イムノアッセイ検査18項目(AFP, CEA, CA125, PSA, Ferritin, Insulin, Cortisol, Estradiol, Progesterone, Testosterone, hLH, hFSH, PRL, TSH, FT4, PTH, VitB12, Folate)20項目の測定はできるだけ世界共通で行う。調査に必要な試薬はメーカーから提供を受け、募集採血経費の一部を本科研費により支援する。測定後のデータは、データセンターとなる研究代表者の研究室(山口大)に全て集結し、国別解析・国間比較解析を行う。

(3) パネル血清の作成と測定値の国際比較

各国の基準値データを集積し、相互比較する手段として80試料よりなる共通試料(パネル血清)をC-RIDLが作成。標準主軸回帰法により、任意の国の値に全測定値を揃えて比較する方式[11]を採択。それを自動的に行うデータマネジメントシステム(DMS)を開発。さらに、パネル血清内の個別試料に基準測定操作法で値付けを行い、各国の基準範囲設定値の標準化を的確に行えるようにした。H26年には、新しいパネル血清(多国籍健常者からの100試料で構成)を作成、検査値の値付けをよりの確に行い、世界規模調査の拡大に備えつつ、臨床検査の標準化・調和化に広く活用できる標準試料とした。



図 1 BC: Beckman Coulter; Ab: Abbott; Ro: Roche; Si: Siemens; Sy: Sysmex; J&J: Jonson and Johnson; Diasys;



(4) 基準値データベースの Web 利用

集積した基準値の相互関係や、生理的変動要因に関わる情報は、検査診断の拠り所となる重要なエビデンスであり、それを Web 上で自在に利用できる情報システムを開発した。そのベースに DMS を置き、ユーザが任意の国を指定し、その国の値に動的に揃えて基準値を国際比較できることを特徴とする。

(5) 汎用基準範囲設定ソフトウェアの開発

基準範囲設定に必要なデータ処理と関連のグラフ作成を、多様なオプション (P 法 vs. NP 法; LAVE 法; 性差・年齢差を表す SDR の自動算出; 基準範囲の 90%CI 推定; 年代別基準範囲設定) を指定して実行できるソフトウェア (RI-Master) を開発する。

4. 研究成果

(1) 参加国と測定項目調査結果

H24 年度に 5 カ国 5655 名 (トルコ 3188・日本 650・サウジ 835・USA500・中国 482 名)、H25 年度に 7 ヶ国 7401 (USA 追加 395・南アフリカ 1200・インド 512・アルゼンチン 520・中国追加 3154・ロシア 800・フィリピン 820) の基準値のデータが集積され、主要臨床検査約 40 項目を対象に国別の基準範囲を設定した。H26 年度は新たにネパール・ケニア・ナイジェリア・バングラディッシュ・パキスタン・マレーシア・エジプトが加わり調査が進行中である (図 1)。

(2) 基準範囲設定法の比較検証結果

国別に、基準範囲設定を P、NP 法で行い、それぞれ LAVE 法の有無で計 4 通りに行ったところ、10 ヶ国のデータから、統計学的方法論の適性につき、次の 2 点の事実が明白となった。

LAVE 法の必要性: 健常者における潜在異常値の頻度が少ない検査項目 (albumin, urea,

creatinine, Na, K, Ca, 等) では、LAVE 法の効果は全く認めず、逆に頻度の高い潜在病態 (代謝症候群、等) に影響される検査項目 (glucose, triglyceride, ALT, γ GT, CRP 等) では、LAVE 法の効果が顕著に見られた。

P 法、NP 法の比較: NP 法の基準範囲上限値は一般に P 法のそれよりも高めに設定される傾向を大多数の項目で認めた。この傾向は LAVE 法を適用しない場合により顕著であった。

これらの実データに基づく比較検証により、本プロジェクトで採用した基準範囲設定方式、特に LAVE の利用が、緩い条件下での基準個体を募集せざるを得ない状況下での基準範囲設定調査において有用と判断された。

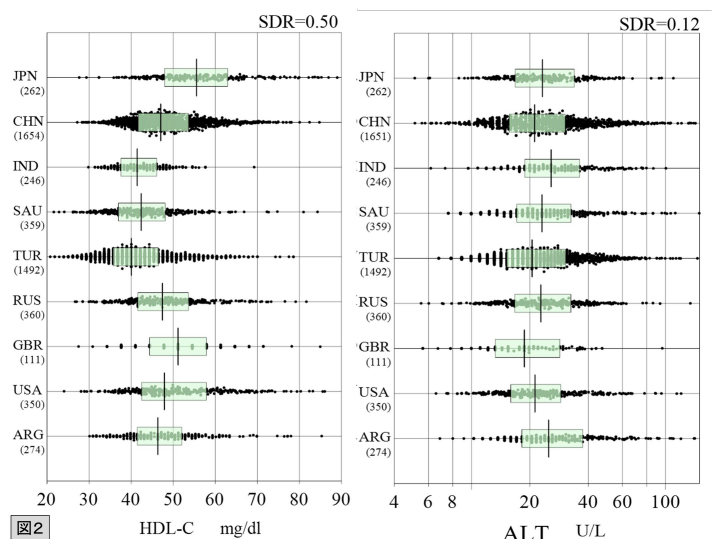


図 2

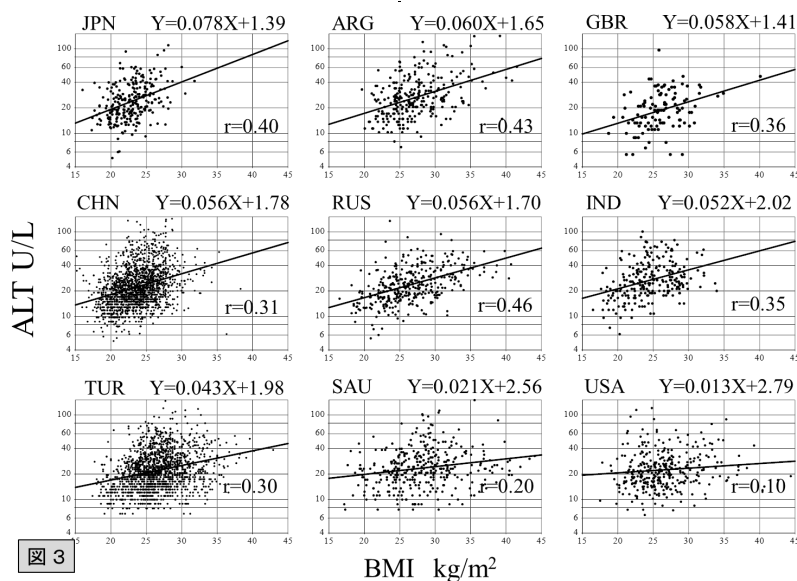


図 3

(3) 基準値の統合と国際比較

パネル血清の測定値の国間比較を DMS により自動的に行い、かつ標準化対応検査では測定値を割付値に再校正する形で、非対応項目では任意の国（試薬）を指定してそれに全ての国の値を揃える形で、基準値を統合できるようになった。この結果、クレアチニン、尿素、炎症マーカー検査の多くで、栄養マーカー検査の一部で基準値に明瞭な国間差が存在することを明らかとした。図 2 は、統合後の 9ヶ国の HDL-C と ALT を比較した例である。群間差 SDR より、前者では国間差が明瞭であるが、後者では国間差を認めない。

(4) 基準値の変動要因分析と導出されたエビデンスの Web 利用システムの開発

性、年齢、肥満度 (BMI)、飲酒、喫煙が最も大きな基準値の変動要因であることを多くの検査項目で確認した。性・年齢については基準範囲の層別化設定に反映した。BMI については、その影響を受けやすい項目 (ALT, γ GT, TG, CRP) について、国別に BMI と基準値の関係を回帰直線で表すと、前 3 者ではその傾きに大きな国間差を認めしたが、CRP ではその傾向を認めなかった。図 3 は、BMI と ALT の相関を、国別に見た相関図で、上段の日本やアルゼンチンでは BMI の変化で、ALT が大きく変化するが、下段の米国やサウジでは、BMI が変化しても ALT はあまり変化しない。ここで、図 2 に示したごとく、ALT の基準値には国間差を認めないという事実を照らして考えると、BMI には大きな国間差があっても、その ALT への影響が国によって異なり、結果的に ALT の基準範囲は世界共通で利用できることになる。データは示さないが、BMI の HDL-C への影響にも大きな国間差を認めしたが、図 2 の HDL-C の国間差は遺伝的なものと考えられ、BMI で補正しても国間差を強く認め、国別の基準値が必要と判明した。

こういった知見は、いずれも検査診断のエビデンスとして有用であり、集積された基準値に個人特性情報を合わせて DMS で制御して Web 上で利用可能な情報勝利環境を試作した。

(5) RI-Master の制作と配布

本プロジェクトで採用された統計処理方式をそのまま実行できるソフトウェア RI-Master を H26 年 11 月に福岡で開催した研究班会議（国内 12 名；国外 14 ヶ国 18 名が参加）にて無料リリースした。

(6) 成果の展望

この世界規模基準値調査への参加希望国がさらに増えつつあるが、新パネル血清を十分数確保しており、かつ DMS が大規模データに対応しているため、今後の発展に十分対応できる体制が整っている。また本研究で開発した RI-Master を利用すれば、独立して調査を実施する場合でも、基準範囲を容易に設定できるようになる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

1. Yamakado M, Ichihara K, Matsumoto Y, Ishikawa Y, Kato K, Komatsubara Y, Takaya N, Tomita S, Kawano K, Takada K, Watanabe K. Derivation of gender and age-specific reference intervals from fully normal Japanese individuals and the implications for health screening. **Clin Chim Acta** 2015; 446: 105–14
doi:10.1016/j.cca.2015.04.037. 査読有
2. Shimizu Y, Ichihara K. Sources of variation analysis and derivation of reference intervals for ALP, LDH, and amylase isozymes using sera from the Asian multicenter study on reference values. **Clin Chim Acta** 2015; 446:

- 64–72. doi: [10.1016/j.cca.2015.03.034](https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.03.034). 査読有
3. Wang X, [Ichihara K](#), Xu G, Itoh Y. Call for the use of a common equation for glomerular filtration rate estimation in East and South-east Asia. **Clin Biochem** 2014; 47:1214–19. doi: [10.1016/j.clinbiochem.2014.05.058](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.05.058). 査読有
 4. Ozarda Y, [Ichihara K](#), Aslan D, et al (全 57 名). A multicenter nationwide reference intervals study for common biochemical analytes in Turkey using Abbott analyzers. **Clin Chem Lab Med** 2014; 52:1823–33. doi: [10.1515/cclm-2014-0228](https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0228). 査読有
 5. [Ichihara K](#). Statistical considerations for harmonization of the global multicenter study on reference values. **Clin Chim Acta** 2014; 432: 108–118. doi: [10.1016/j.cca.2014.01.025](https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.025). 査読有
 6. Wang X, [Ichihara K](#), Xu G, Itoh Y. The influence of non-specificity of the creatinine assay on eGFR. **Clin Chem Lab Med** 2013; 51:e223–e224. doi: [10.1515/cclm-2013-0289](https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0289). 査読有
 7. Yamamoto Y, Hosogaya S, Osawa S, [Ichihara K](#), Onuma T, Saito A, Banba K, Araki H, Nagamine Y, Shinohara K, Okada G, Matsumoto H, Oguri T, Gonaikawa S, Iwagami M and Japanese Association of Medical Technologists. Nationwide multicenter study aimed at the establishment of common reference intervals for standardized clinical laboratory tests in Japan. **Clin Chem Lab Med** 2013; 51(8): 1663–7. doi: [10.1515/cclm-2012-0413](https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0413). 査読有
 8. [Ichihara K](#), Ceriotti F, Mori K, Huang YY, [Shimizu Y](#), et al. The Asian project for collaborative derivation of reference intervals: (2) results of non-standardized analytes and transference of reference intervals to the participating laboratories on the basis of cross-comparison of test results. **Clin Chem Lab Med** 2013; 51(7):1443–57. doi: [10.1515/cclm-2012-0422](https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0422). 査読有
 9. [Ichihara K](#), Ceriotti F, Tam TH, Sueyoshi S, Poon PM, Thong ML, et al. The Asian project for collaborative derivation of reference intervals: (1) strategy and major results of standardized analytes. **Clin Chem Lab Med** 2013; 51(7):1429–42. doi: [10.1515/cclm-2012-0421](https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0421). 査読有
 10. Ozarda Y, [Ichihara K](#), Barth J, Klee G. Protocol and standard operating procedures for common use in the worldwide multicenter study on reference values. **Clin Chem Lab Med** 2013; 51(5):1027–40. doi: [10.1515/cclm-2013-0249](https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0249). 査読有
 11. [Ichihara K](#), Ozarda Y, Klee G, Straseski J, Baumann N, Ishikura K. Utility of a panel of sera for the alignment of test results in the worldwide multicenter study on

reference values. **Clin Chem Lab Med** 2013; 51(5):1007–25. doi: [10.1515/cclm-2013-0248](https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0248). 査読有

12. Itoh Y, [Ichihara K](#), Kishi K, Hosogaya S, Yamada T. Preparation of highly purified monomeric human serum albumin as secondary reference material for standardization of urinary albumin immunoassays. **Clin Chim Acta** 2012; 413: 175–81. doi: [10.3109/15563650.2011.617306](https://doi.org/10.3109/15563650.2011.617306). 査読有

【学会発表】(計 12 件)

1. [Ichihara K](#). The IFCC global multicenter study on reference values: its objectives and current status. All Russian Congress of Laboratory Medicine, Oct 1, 2014, in Moscow, Russia (開会式特別講演)
2. [Ichihara K](#). Biological variations: essential knowledge for the practice of EBLM. The 11th Philippine Council for Quality Assurance of Clinical Laboratory, Sep 24, 2014, Manila, Philippines. (開会式特別講演)
3. [Ichihara K](#). Essential knowledge on biological sources of variation for the practice of EBLM. MedLab Asia Pacific 2014 in Singapore, Feb 18, 2014, Singapore, Singapore (招待講演)
4. [Ichihara K](#). The strategy and implication of the global study. Sy, Singapore mposium: The IFCC global multicenter study on reference values: An Asian perspective. 13th Congress of Asia-Pacific Fed of Clin Biochem, Oct 29, 2013, Bali, Indonesia.(企画, 演者).
5. [Ichihara K](#). 1) The global multicenter study on reference values and its strategy for harmonization of the results. 2) Essential statistical methods for analyzing sources of variations in laboratory tests, The 13th Conference of Asian Network for Clinical Laboratory Standardization (ANCLS), Nov 14, 2013, Ho Chi Minh City, Vietnam (IFCC 派遣講師)
6. [Ichihara K](#). Establishing reference intervals is an imperative but challenging task. The XII National Congress of Biochemistry, Oct 9, 2013, Buenos Aires, Argentina (基調講演; IFCC 派遣講師)
7. [Ichihara K](#). "Course on Multivariate Analysis for EBLM", Seminar for South African Association for Clinical Biochemistry, Jul 31~Aug 1, 2013, Cape Town, South Africa (招待講演)
8. [Ichihara K](#). "The challenge and perspective of the on-going global study on reference values", Laboratory Medicine Congress 2013, Jul 31, 2013, Cape Town, South Africa (招待講演)
9. [Ichihara K](#). "What is an optimal protocol for the IFCC global study on reference values?", Industrial Workshop, The 12th Asian Society

of Clin Pathology and Laboratory Medicine,
Dec 1, 2012, Kyoto, Japan (7-ワークショップ 企画, 演
者)

10. Ichihara K. "IFCC global study on reference values: the strategy and perspectives" . Pathology Conference Afric PATHPOINT 202, Sep 29, 2012, Cape Town, South Africa (招待講演)
11. Ichihara K. "The Current Status of IFCC Global Study on Reference Values and Its Perspective" . 24th Annual Congress of Turkish Biochemical Association, Sep 26, 2012, Konya, Turkey (招待講演)
12. Ichihara K. "An intensive course on statistics: from basics to multivariate analyses by use of visual software", as a Preconference Workshop, The 3rd National Genetic Diseases Conference 2012, May 2, 2012, Ras Al Khaimah, United Arab Emirates. (学会企画セミナー講師)

〔図書〕(計 0 件)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

市原 清志 (ICHIHARA , kiyoshi)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号 : 10144495

(2) 研究分担者

野島 順三 (NOJIMA , Junzo)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号 : 30448071

清水 慶久 (SHIMIZU , Yoshihisa)
山口大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号 : 80403674

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

Asia

Dr Jian Guo (Beijing Hospital, Beijing, **China**)
Dr Ling Qiu (Beijing Union Medical College, Beijing, **China**)
Dr Liangyu Xia (Beijing Union Hospital, Beijing, **China**)
Mr Reynan Rolle (Univ of San Agustin, Iloilo, **Philippines**)
Dr Elina Raja (Hospital Kuala Lumpur, **Malaysia**)
Dr Tester Ashavaid, and Dr Swarup Shah (P.D. Hinduja National Hospital Medical Research Center, Mumbai, **India**)
Mr Binod Yadav (Institute of Medicine Teaching Hospital, Katomanzu, **Nepal**)
Dr Firoz Ahmed, Ms. Asifa Kumkum, and Dr

Anowar Hossain (International Center for Diarrheal Disease Research, Dhaka, **Bangladesh**)

Dr Farooq Ghani and Dr Lena Jafri (Aga Kahn Univ, Karachi, **Pakistan**)

Prof. Dilshad Khan (Armed Force Institute of Pathology, Rawalpindi, **Pakistan**)

Dr Anwar Borai (King Khalid National Guard Hospital, Jeddah, **Saudi Arabia**)

Europe

Prof. Yeşim Özarda (UludagUniv, Bursa, **Turkey**)

Dr Svtlana Evgina and Dr Anna Ruzhanskaya (Beckman Coulter Russia, Moscow, **Russia**)

Dr Julian Barth (Leeds Infirmary, Leeds, **UK**)

Prof Gerhard Schumann (Univ of Hannover, **Germany**)

Prof Lothar Siekman and Dr Anja Kessler (Bonn Medical Univ, **Germany**)

Prof Børge Nordestgaard (Copenhagen Univ, **Denmark**)

Africa

Prof. Rajiv Erasmus, Dr Mariza Hoffmann (Univ of Stellenbosch, Tygerburg, **South Africa**)

Mr. Francoise Smit (Cape Peninsula Univ of Technology, Cape Town, **South Africa**)

Dr Geoffrey Omuse (Aga Khan Univ Hospital Nairobi, **Kenya**)

Dr Ola Elgadar (Univ Alexandria, **Egypt**)

Dr Heba Baz (Univ Cairo, **Egypt**)

America

Dr. Joseph Marci (Hamilton General Hospital, Hamilton, **Canada**)

Prof. George Klee (Mayo Clinic, Mn, **US**)

Dr Joely Straseski (Univ of Utah, Salt Lake City, **US**)

Dr Kimber Stanhope (Univ of California Davis, **US**)

Prof. Laura Schreier (Univ of Buenos Aires, **Argentina**)

Dr Daniel N Bustos (Univ of Buenos Aires, **Argentina**)