



〈技術〉

## 乳酸脱水素酵素活性測定における5社のIFCC試薬と JSCC試薬の比較

大澤 まみ<sup>1,2)</sup>, 松田 将門<sup>2,3,4)</sup>, 星山良樹<sup>2)</sup>, 寺井 崇二<sup>2,4)</sup>

### Comparison between IFCC-based and JSCC-based reagents for measuring lactate dehydrogenase activity in five manufacturers.

Mami Osawa<sup>1,2)</sup>, Masato Matsuda<sup>2,3,4)</sup>, Yoshiki Hoshiyama<sup>2)</sup>, Shuji Terai<sup>2,4)</sup>

**Summary** This study aimed to investigate the performance of five commercial reagents for measuring lactate dehydrogenase (LD) activity based on the primary reference procedure of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). In addition, the obtained characteristics were compared with those of the reagents based on the Japan Society of Clinical Chemistry (JSCC) method. The repeatability, trueness, linearity, and effects of interfering substances between the IFCC- and JSCC-based reagents were found to be comparable. Onboard stability was shorter for IFCC-based reagents than that for JSCC-based reagents, which can be attributed to time-dependent changes in pH after unsealing the bottles. The correlation coefficient between the IFCC- and JSCC-based reagents in 222 clinical samples was >0.98 for every manufacturer. However some samples showed distinct LD values depending on the reagents because of the sample types (plasma/serum) and the predominance of each LD isoenzyme in the samples measured.

**Key words:** IFCC primary reference procedure, lactate dehydrogenase (LD), LD isozyme.

<sup>1)</sup> 新潟大学医学部保健学科検査技術科学専攻  
〒951-8518 新潟市中央区旭町通2番町746

<sup>2)</sup> 新潟大学医歯学総合病院検査部  
〒951-8520 新潟市中央区旭町通1番町754

<sup>3)</sup> 福島県立医科大学保健科学部臨床検査学科  
〒960-8516 福島市栄町10番6号

<sup>4)</sup> 新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学分野  
〒951-8510 新潟市中央区旭町通一番町757番地

連絡先：松田 将門  
福島県立医科大学保健科学部臨床検査学科  
Tel: +81-24-581-5582  
E-mail: masato-m@fmu.ac.jp

<sup>1)</sup> Department of Medical Technology Graduate School of Health Sciences, Niigata University

2-746, Asahimachi-dori, Chuo-ku, Niigata, 951-8518, Japan.

<sup>2)</sup> Medical Laboratory Division, Niigata University Medical and Dental Hospital  
1-754, Asahimachi-dori, Chuo-ku, Niigata, 951-8520, Japan.

<sup>3)</sup> Department of Clinical Laboratory Sciences, School of Health Sciences, Fukushima Medical University  
10-6, Sakaemachi, Fukushima, 960-8516, Japan.

<sup>4)</sup> Division of Gastroenterology and Hepatology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
1-757, Asahimachi-dori, Chuo-ku, Niigata, 951-8510, Japan.

受付日：2023年6月13日

採択日：2023年8月5日

## I. 緒言

乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase: LD) は解糖系最終段階の酵素であり、肝臓や心臓、赤血球など様々な臓器や細胞に存在する<sup>1)</sup>。LDには5種のアイソザイム (LD1, LD2, LD3, LD4, LD5) が存在し、たとえば肝臓ではLD5が多く、各アイソザイムの血中濃度の上昇はそれらが存在する臓器や細胞の障害を反映する<sup>1)</sup>。そのため、各アイソザイムを包括して測定する血中LD活性測定は臓器障害のスクリーニングや治療効果判定に広く用いられている<sup>1-3)</sup>。

本邦におけるLD活性の測定法は諸外国と異なり、グローバルハーモナイゼーションの点から、その変革が必要とされた<sup>3)</sup>。すなわち、本邦で普及している日本臨床化学会 (Japan Society of Clinical Chemistry: JSCC) の勧告法に準拠したJSCC標準化対応法 (以下、JSCC法) から、国際的に広く採用されている国際臨床化学連合 (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: IFCC) の基準測定操作法 (以下、IFCC法) への変更である。両者の違いは緩衝液にあり、JSCC法ではpH 8.8のジエタノールアミン緩衝液が、IFCC法ではpH 9.4のN-メチル-D-グルカミン緩衝液が用いられる<sup>2,6)</sup>。この違いはLDアイソザイムに対する反応性に現れ、JSCC法はLD5に対する反応性が高く、IFCC法はLD1-3に対する反応性が高い<sup>6)</sup>。そのため、例えばLD5が上昇した肝・胆道系疾患では、JSCC法に対応した測定試薬 (以下、JSCC試薬) の方がIFCC法に対応した試薬 (以下、IFCC試薬) よりもLD活性値が高くなる<sup>7-9)</sup>。

本邦のLD活性測定法がJSCC法からIFCC法へ変更されるにあたり、複数の試薬製造会社 (メーカー) からIFCC試薬が上市された。その後、JSCC試薬とIFCC試薬の測定性能を比較評価した結果が複数報告されているが<sup>7-13)</sup>、その多くは、一社のJSCC試薬とIFCC試薬を比較した検討結果であり、複数社のJSCC試薬とIFCC試薬を一度に比較した報告はない。日常検査に用いる試薬を、複数社の試薬から選択できる現状では、各試薬を一度に比較しその特徴を明らかにする必要がある。

本研究では、本邦で入手可能な5社のJSCC試薬とIFCC試薬を対象にその測定性能を調べ、

JSCC試薬とIFCC試薬の方法間差やIFCC試薬のメーカー間差について比較評価した。これまでの研究報告から、JSCC試薬とIFCC試薬ではLDアイソザイムに対する反応性や試薬の開栓後安定性が異なるとされる<sup>7-13)</sup>。そこで本研究では、複数社の試薬と多数の試料を用いてそれらを詳細に調べた。

## II. 方法と材料

### 1. 材料

#### 1) 対象

測定対象は、新潟大学医歯学総合病院検査部にLD活性測定の検査依頼があった患者の測定済み残余検体と市販試料、および書面により同意の得られた健常成人4名の検体である。検体の取扱いを含め、本研究は新潟大学医学部倫理委員会の承認を得て行われた (承認番号: 2020-0021)。

#### 2) 測定試薬および機器

測定試薬は、JSCC試薬として「Lタイプワコー LD・J」(Wako-JSCC、富士フイルム和光純薬社)、「クイックオート ネオ LD」(Shino-JSCC、シノテスト社)、「シカリキッド LDH J」(Kanto-JSCC、関東化学社)、「セロテック LD-LP」(Sero-JSCC、セロテック社)、および「イアトロ LQ LDH レートII」(LSI-JSCC、LSIメディエンス社)を用いた。また、IFCC試薬として、各JSCC試薬と同社の「Lタイプワコー LD・IF」(以下、Wako-IFCC、富士フイルム和光純薬社)、「シグナスオート LD IF」(Shino-IFCC、シノテスト社)、「シカフィット LD-IFCC」(Kanto-IFCC、関東化学社)、「セロテック LD-IF」(Sero-IFCC、セロテック社)、および「イアトロ LD-IF」(LSI-IFCC、LSIメディエンス社)を用いた。

測定機器は、臨床化学自動分析装置TBA-2000FR (キヤノンメディカルシステムズ社)を用いた。各試薬の測定パラメータは各製造元から提供されたものを用いた。

### 2. 方法

以下の8項目を調べ、測定結果を統計学的に解析した。多重測定においては平均値を以って評価した。

## 1. 併行精度

2濃度の市販試料（QAPトロール1X, 2X、シスメックス社）と3濃度の自家調製プール血漿（moderate, high, very high）を各試薬でそれぞれ20回連続測定し、変動係数（coefficient of variation: CV）を求めた。なお、各プール血漿のLDアイソザイム（アガロースゲル電気泳動法、外注検査（委託先：LSIメディエンス社）として実施）はLD1, LD2, LD3, LD4, LD5の順に、moderateでは26.7%, 36.2%, 20.2%, 8.4%, 8.5%、highでは29.5%, 34.8%, 19.5%, 8.5%, 7.7%、very highでは19.4%, 25.0%, 16.3%, 9.7%, 29.6%であった。

## 2. 試薬のオンボード安定性

併行精度の評価で用いた5試料を各試薬で1日1回2重測定し、35日間断続的に実施した。また、初日と35日目に各試薬の測定パラメータに基づいて第一試薬と第二試薬を混合しそのpHを測定した。自家調製プール血漿は調製したあと小分けして-80℃で凍結保存し、用時融解して測定した。試薬設置日にキャリブレーションを実施し、初日以降はブランク補正のみ実施した。各試薬での各試料の測定につき、初日の測定値に対する各測定日の測定値の割合を求め、既報を参考に100 ± 5%以内の変動を許容範囲とした<sup>7-8,12)</sup>。

## 3. LD1、LD5 に対する反応性

LD1とLD5の市販精製品（Lactate Dehydrogenase 1 (LDH-1), 5 (LDH-5), Lee Biosolutions Inc., MO, USA）を希釈して各試薬で3重測定した。各社につき、JSCC試薬での測定値に対するIFCC試薬での測定値の比（IFCC/JSCC）を求めた。なお、各試料の当該アイソザイム含有率は95%以上であり、LDH-1はヒトの赤血球、LDH-5はヒトの肝臓由来であった。

## 4. 正確性

日本臨床検査標準協議会（Japanese Committee for Clinical Laboratory Standards: JCCLS）の常用参照標準物質（JSCC常用酵素、JCCLS CRM-001d）を各試薬で10回連続測定した。その測定値をJSCCクオリティマネジメント専門委員会が提供する「定量測定法のバリデーション算出用プロ

グラム（Validation-Support/Excel Ver.6）（以下、バリデーションプログラム）」を用いて評価した。

## 5. 測定範囲

測定範囲の上限値と下限値について次の指標を調べた。上限値について、希釈直線性の上限値を指標に、LD活性が高値（約2500 U/L）の自家調製プール血漿を0.9%生理食塩液（以下、生理食塩液、大塚製薬社）で10段階希釈し、各試料を各試薬で3重測定した。下限値について、検出限界（limit of detection: LoD）と定量限界（limit of quantitation: LoQ）を調べた。LoDは、別途用意した自家調製プール血漿を生理食塩液で希釈してLD活性値を約10 U/Lに調製し、これを生理食塩液で10段階希釈して生理食塩液および各希釈試料を各試薬で10回連続測定した。各試料の連続測定における平均値（mean）と標準偏差（standard deviation: SD）を算出し、生理食塩液におけるmean + 2.6SD値より各希釈試料におけるmean - 2.6SD値が上回る濃度からLoDを求めた<sup>13)</sup>。LoQは、LD活性値が約2-28 U/Lの15試料を測定し、バリデーションプログラムを用いてCV10%点で求めた。

## 6. 共存物質の影響

共存物質として乳び、抱合型ビリルビン、遊離型ビリルビン、および溶血がLD活性測定に及ぼす影響を調べた。乳びと各ビリルビンの影響評価では干渉チェック・Aプラス（シスメックス社）を用いた。添付文書に従い、各物質を自家調製プール血漿（LD活性値は約185 U/L）に添加し、各試薬で3重測定した。溶血の影響評価では、全血を凍結融解して溶血サンプルを調製する方法を参考に検討した<sup>14,15)</sup>。健常成人4名から得たヘパリンリチウム加全血をそれぞれ凍結融解して溶血させそれを生理食塩液で段階希釈して被験者毎にヘモグロビン（hemoglobin: Hb）濃度が0-10000 mg/Lの溶血試料を調製し、それを各人のヘパリンリチウム加血漿（Hb濃度は0 mg/L）に添加してHb終濃度が0-1000 mg/Lの溶血試料を調製し各試薬で3重測定した。各共存物質を含まない試料のLD活性値に対する各試料の測定値の割合を求め、100 ± 5%以内の変動に影響なしと判断した<sup>7-8,10)</sup>。

## 7. 検体種の影響

検体種として血漿と血清の違いが測定に及ぼす影響を調べた。LD活性の測定依頼があった患者のうちヘパリンリチウム加血漿と血清が同時に採血された患者37名の血漿と血清を各社のJSCC試薬とIFCC試薬で測定した。その統計解析では、測定原理（水準数2; JSCC法とIFCC法）と検体種（水準数2; 血漿と血清）、試薬製造元（水準数5; Wako, Shino, Kanto, Sero, LSI）を被検者内要因とした反復測定の3要因分散分析を用いた。統計解析の有意水準は $\alpha = 0.05$ とし、多重比較においてはBonferroni補正を用いた。なお、各試薬とも添付文書上の測定対象は、血漿または血清と記載されていた。

## 8. 相関性

日常検査として依頼されたLD活性測定後のヘパリンリチウム加血漿222検体をそのまま各試薬で測定した。相関性の評価としてバリデーションプログラムを用い、次の組み合わせにおける相関係数と標準主軸回帰式を求めた：各社のIFCC試薬とJSCC試薬、各IFCC試薬間、および各JSCC試薬間。IFCC試薬とJSCC試薬の相関性評価では標準主軸回帰式から求めたIFCC試薬の理論値が実測値と $\pm 15\%$ 以上乖離した検体を乖離検体と定義し<sup>9)</sup>、検体量が確保できた乖離検体ではその原因をアガロースゲル電気泳動法を用いて調べた。

## Ⅲ. 結果

### 1. 併行精度

2濃度の市販試料（QAPトロール1X（約160 U/L）と2X（約395 U/L））および3濃度の自家調製プール血漿（moderate（約225 U/L）、high（約410 U/L）、very high（約730 U/L））のいずれの試料においても、各試薬のCV（%）は1.0%未満であった（Table 1）。

### 2. 試薬のオンボード安定性

JSCC試薬では、どの試薬も35日間の安定性を認めた（Fig. 1-A）。一方、IFCC試薬では、各社で安定期間が異なり、また測定試料によっても安定期間は異なった（Fig. 1-B）。各IFCC試薬につき、

許容範囲が保たれた期間は、Kanto-IFCCは4日間、LSI-IFCCは17日間、Sero-IFCCは25日間、Wako-IFCCとShino-IFCCは35日間であった。

各試薬の開封初日のpHは、Wako, Shino, Kanto, Sero, LSIの順に、JSCC試薬では8.7, 8.6, 8.6, 8.7, 8.9であり、IFCC試薬では9.4, 9.4, 9.5, 9.4, 9.5であった。35日目のpHは、同様のメーカー順に、JSCC試薬では8.6, 8.4, 8.4, 8.5, 8.4であり、IFCC試薬では9.1, 9.2, 9.3, 9.2, 9.1であった。

### 3. LD1、LD5に対する反応性

LDH-1では、各社のIFCC/JSCC比は1.01-1.09であり、各社ともIFCC試薬での測定値の方が大きかった（Table 2）。LDH-5では、各社のIFCC/JSCC比は0.59-0.82であり、各社ともJSCC試薬での測定値が大きかった（Table 2）。

### 4. 正確性

各試薬とも平均値の95%信頼区間に認証値が含まれていた（Table 3）。また、いずれの試薬においても平均測定値と認証値の絶対差（ $\Delta m = \text{測定値} - \text{認証値}$ ）はJSCCが定めるLDの許容誤差限界（4.4%）以内であった（Table 3）。

### 5. 測定範囲

測定上限につき、各試薬とも良好な希釈直線性を認め、その上限値は、分析装置でエラーフラグが付いた値も許容すればJSCC試薬で2419-2562 U/L、IFCC試薬で1864-2614 U/Lであり、エラーフラグが付いた値を除くとJSCC試薬で1987-2419 U/L、IFCC試薬で1298-2322 U/Lであった（Table 4）。エラーフラグの内容は、フレックスレート観測区間を利用して演算されたという内容であった。フレックスレート観測区間とは高値検体のときに主観測区間よりも前に設けた観測区間の吸光度変化量を使用して活性値を演算する機能であり、装置の取扱説明書でデータの採用は可能とされている。測定下限につき、各試薬のLoDはJSCC試薬で1.7-3.8 U/L、IFCC試薬で2.5-3.6 U/Lであり、またLoQはJSCC試薬で2.5-7.0 U/L、IFCC試薬で3.3-12.2 U/Lであった（Table 4）。

Table 1 Repeatability

<b>A.</b>										
Reagents	Wako-JSCC	Shino-JSCC	Kanto-JSCC	Sero-JSCC	LSI-JSCC	Wako-IFCC	Shino-IFCC	Kanto-IFCC	Sero-IFCC	LSI-IFCC
Mean (U/L)	161	158	158	157	157	161	161	164	157	165
SD (U/L)	0.7	0.6	0.6	1.4	0.7	0.6	0.9	0.8	0.6	0.4
CV (%)	0.5	0.4	0.4	0.9	0.4	0.4	0.6	0.5	0.4	0.3
<b>B.</b>										
Reagents	Wako-JSCC	Shino-JSCC	Kanto-JSCC	Sero-JSCC	LSI-JSCC	Wako-IFCC	Shino-IFCC	Kanto-IFCC	Sero-IFCC	LSI-IFCC
Mean (U/L)	396	389	391	390	384	399	403	410	389	401
SD (U/L)	2.0	1.1	1.2	1.8	0.8	0.7	1.7	1.4	1.1	1.3
CV (%)	0.5	0.3	0.3	0.5	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.3
<b>C.</b>										
Reagents	Wako-JSCC	Shino-JSCC	Kanto-JSCC	Sero-JSCC	LSI-JSCC	Wako-IFCC	Shino-IFCC	Kanto-IFCC	Sero-IFCC	LSI-IFCC
Mean (U/L)	228	226	227	226	224	224	230	230	224	225
SD (U/L)	0.9	0.5	1.0	0.9	0.8	1.1	0.8	0.7	0.9	1.0
CV (%)	0.4	0.2	0.4	0.4	0.4	0.5	0.3	0.3	0.4	0.4
<b>D.</b>										
Reagents	Wako-JSCC	Shino-JSCC	Kanto-JSCC	Sero-JSCC	LSI-JSCC	Wako-IFCC	Shino-IFCC	Kanto-IFCC	Sero-IFCC	LSI-IFCC
Mean (U/L)	419	417	419	417	371	423	429	427	423	378
SD (U/L)	1.7	1.1	1.4	2.9	0.9	1.8	1.4	1.3	0.7	0.9
CV (%)	0.4	0.3	0.3	0.7	0.2	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2
<b>E.</b>										
Reagents	Wako-JSCC	Shino-JSCC	Kanto-JSCC	Sero-JSCC	LSI-JSCC	Wako-IFCC	Shino-IFCC	Kanto-IFCC	Sero-IFCC	LSI-IFCC
Mean (U/L)	738	744	747	763	740	728	713	708	718	698
SD (U/L)	2.5	1.8	1.6	3.1	1.7	3.1	2.1	2.1	2.6	2.1
CV (%)	0.3	0.2	0.2	0.4	0.2	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3

The measured samples included QAP-Trol 1X (A) and 2X (B), in-house pooled plasma with different concentrations of lactate dehydrogenase (LD): moderate (C), high (D), and very high (E). Abbreviation: SD, standard deviation; CV, coefficient of variation.

Table 2 Sensitivity to LD1 and LD5 depending on the JSCC- and IFCC-based reagents among manufacturers

Samples	LDH-1		LDH-5	
	LD (U/L)	Ratio(IFCC/JSCC)	LD (U/L)	Ratio(IFCC/JSCC)
Reagents				
Wako-IFCC	133	1.09	168	0.82
Wako-JSCC	122		205	
Shino-IFCC	128	1.04	164	0.70
Shino-JSCC	123		235	
Kanto-IFCC	130	1.07	139	0.59
Kanto-JSCC	122		236	
Sero-IFCC	128	1.05	166	0.73
Sero-JSCC	122		226	
LSI-IFCC	125	1.01	148	0.61
LSI-JSCC	124		241	

'Ratio (IFCC/JSCC)' represents the ratio of LD activity measured using IFCC-based reagents to that measured using JSCC-based reagents.



Table 3 Trueness

Reagents	Wako-JSCC	Shino-JSCC	Kanto-JSCC	Sero-JSCC	LSI-JSCC	Wako-IFCC	Shino-IFCC	Kanto-IFCC	Sero-IFCC	LSI-IFCC
Certified value (U/L)	406 ± 8					430 ± 11				
Mean (U/L)	406.8	402.0	406.9	408.6	400.8	434.8	436.9	427.9	432.3	422.2
95% confidence interval (U/L)	398.2-415.4	393.9-410.1	398.8-415.0	400.4-416.8	392.5-409.0	423.3-446.4	425.6-448.3	416.5-439.4	421.2-443.4	410.8-433.6
$\Delta m$ (U/L)	0.8	4.0	0.9	2.6	5.2	4.8	6.9	2.1	2.3	7.8
(%)	(0.2)	(1.0)	(0.2)	(0.6)	(1.3)	(1.1)	(1.6)	(0.5)	(0.5)	(1.8)

Certified values were documented in the reference material (JCCLS CRM-001d) insert. Mean, 95% confidence interval, and  $\Delta m$  were calculated using the Validation-Support/Excel (Ver.6) provided by JSCC committee. The  $\Delta m$  (%) was the percentage of the  $\Delta m$  (U/L) to the certified values.

Table 4 Measurement range

Reagents	Wako-JSCC	Shino-JSCC	Kanto-JSCC	Sero-JSCC	LSI-JSCC	Wako-IFCC	Shino-IFCC	Kanto-IFCC	Sero-IFCC	LSI-IFCC
Upper limit										
with error flag (U/L)	2419	2419	2519	2509	2562	1864	2609	2614	2350	2599
without error flag (U/L)	2419	2419	1987	2003	2001	1298	2322	2322	1573	1830
Lower limit										
LoD (U/L)	3.8	1.7	2.0	3.1	2.6	2.6	2.9	2.5	2.6	3.6
LoQ (U/L)	7.0	5.1	2.5	7.0	4.8	3.3	12.2	5.7	6.9	7.0

Upper limit indicates the upper values of the dilution linearity examination using samples with extremely high LD activity. For some reagents, the measured values in the samples with high LD activity were accompanied by error flags. Lower limits are represented by LoD and LoQ.

Abbreviation: LoD, limit of detection; LoQ, limit of quantification.

## 6. 共存物質の影響

いずれの試薬も乳びは1610 FTU、抱合型ビリルビンは197 mg/L、遊離型ビリルビンは195 mg/Lまで影響を認めなかった。一方、溶血ではどの試薬もHb濃度が100 mg/Lから影響を認め、Hb濃度依存性に正誤差を認めた(Fig. 2)。

## 7. 検体種の影響

3要因分散分析の結果、測定原理×検体種×試薬製造元の交互作用に有意差を認め ( $P < 0.001$ )、事後検定から、JSCC法とIFCC法それぞれにおける検体種×試薬製造元の単純交互作用は有意であった (どちらも  $P < 0.001$ )。その後の検定から、JSCC法では、Wakoのみ検体種の単純・単純主効果が有意であったが ( $P = 0.003$ )、他の試薬製造元では有意でなかった (Shino:  $P = 0.539$ , Kanto:  $P = 0.531$ , Sero:  $P = 0.359$ , LSI:  $P = 0.883$ ) (Fig. 3A)。つまり、Wakoでは血漿の測定値が血清より有意に高かったが、他の製造元では血漿と血清の測定値に有意差を認めなかった。一方、IFCC法では、どの製造元でも検体種の単純・単純主効果が有意であり (Wako:  $P = 0.008$ , Shino:  $P$

$< 0.001$ , Kanto:  $P < 0.001$ , Sero:  $P < 0.001$ , LSI:  $P < 0.001$ ) (Fig. 3B)、血漿の測定値が血清より有意に高かった。

また、血漿と血清それぞれにおける測定原理×試薬製造元の単純交互作用も有意であり (どちらも  $P < 0.001$ )、その後の検定から、血漿では、Wakoのみ測定原理の単純・単純主効果 (つまりJSCC試薬とIFCC試薬の方法間差) に有意差を認めなかったが ( $P = 0.305$ )、ShinoとKanto、Sero、LSIでは有意差を認め (いずれも  $P < 0.001$ )、JSCC試薬よりIFCC試薬での測定値が有意に高かった。一方、血清では、どの試薬製造元においてもJSCC試薬とIFCC試薬の方法間に有意差を認めなかった (Wako:  $P = 0.169$ , Shino:  $P = 0.135$ , Kanto:  $P = 0.112$ , Sero:  $P = 0.334$ , LSI:  $P = 0.099$ )。

## 8. 相関性

各社のJSCC試薬 (x軸) とIFCC試薬 (y軸) の相関性評価では相関係数 $r$ は0.9883–0.9986、標準主軸回帰式の傾きは1.02–1.05であった(Fig. 4)。また各IFCC試薬間の相関係数 $r$ は0.9937–0.9997、回帰式の傾きは0.98–1.02であり、各JSCC試薬間

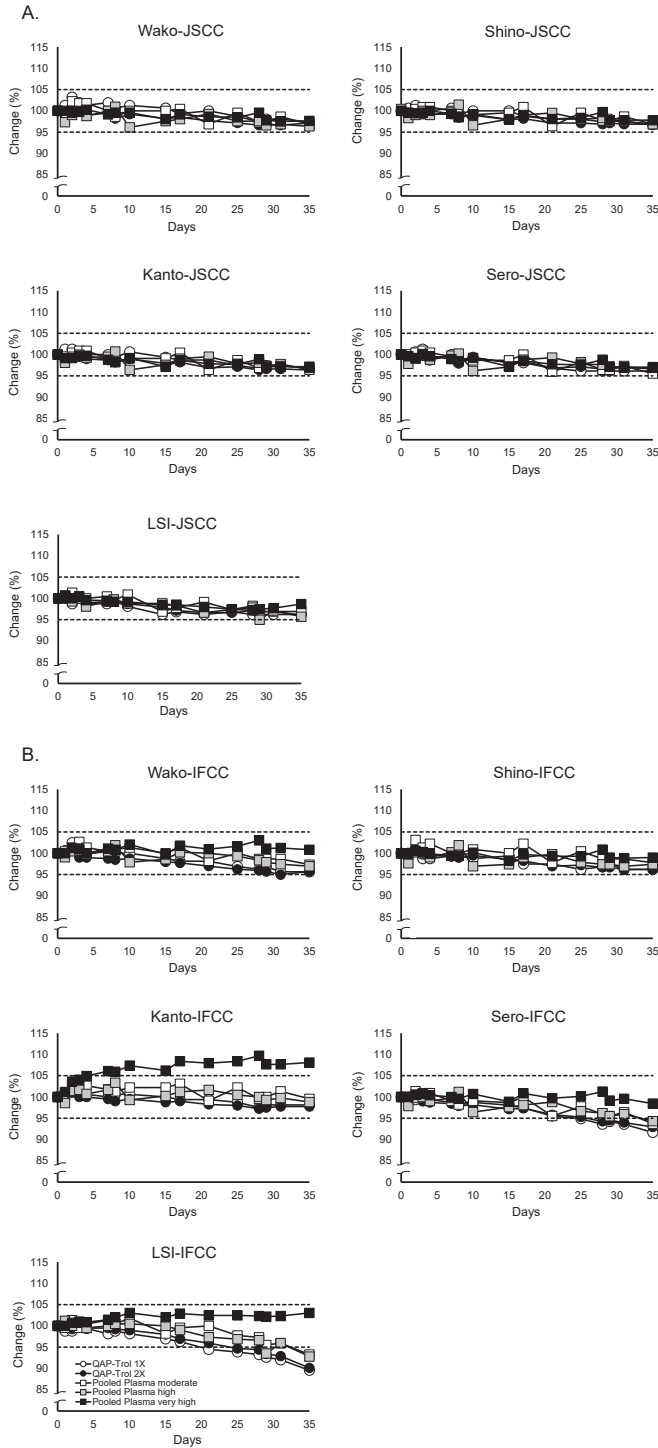


Fig. 1 Onboard stability on the TBA-2000FR analyzer  
 JSCC-based (A) and IFCC-based (B) reagents were examined. 'Change' represents the percentage of LD activity at each measured day to that at day 0. The dashed lines represent the upper and lower limits that are within the acceptable range for 'Change.'

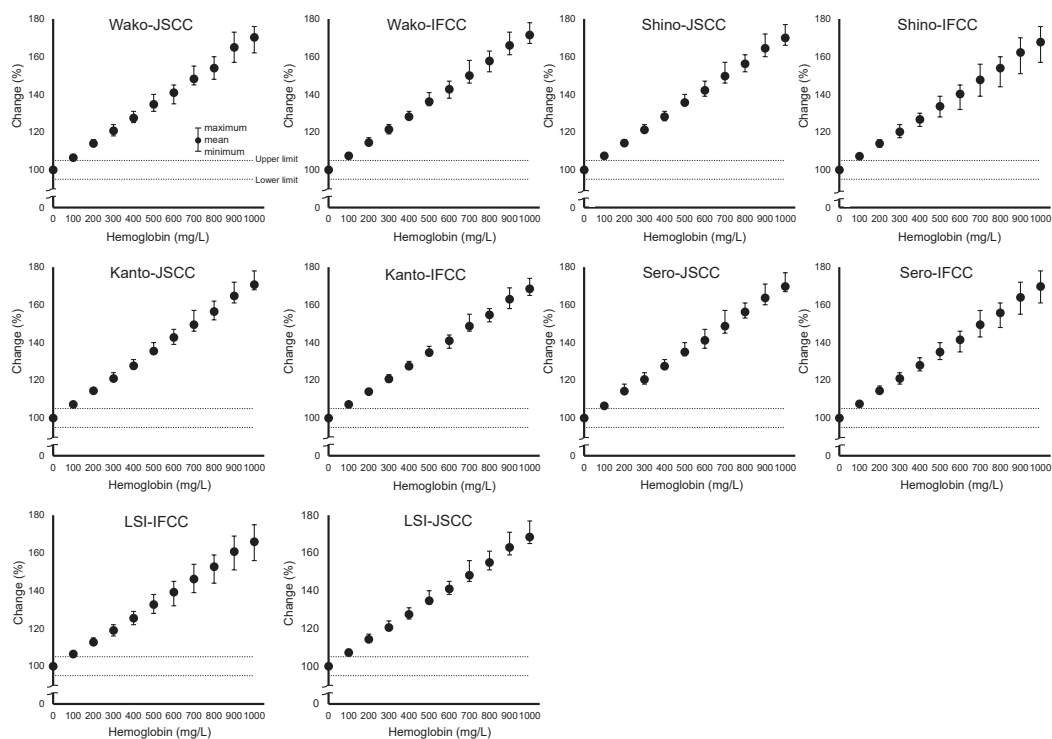


Fig. 2 Effects of hemolysis in LD activity measurement

“Change” means the percentage of LD activity values measured in hemolysis samples to those in non-hemolysis samples. The degree of hemolysis was represented as hemoglobin concentration. The black circles, upper bars, and lower bars represent the mean, maximum, and minimum values in the four subjects, respectively. The dashed lines indicate the upper and lower limits within acceptable ranges.

の相関係数 $r$ は0.9991–0.9999、傾きは1.00–1.03であった。各社のJSCC試薬とIFCC試薬における乖離検体数を調べたところ、Wakoでは0件、Shinoでは11件（5.0%）、Kantoでは10件（4.5%）、Seroでは10件（4.5%）、LSIでは13件（5.9%）であった。乖離の原因を精査したところ、IFCC試薬での測定値が大きい検体のうち、顕著な乖離を認めた検体（Fig. 4の▲印）は、LD1: 18.4%, LD2: 37.3%, LD3: 27.2%, LD4: 10.8%, LD5: 6.3%であり、相対的にLD1-3が多くてLD5が少なく、患者は本態性血小板血症のある担癌患者であった。JSCC試薬での測定値が大きかった検体（Fig. 4の◆印）では、LD1: 10.6%, LD2: 15.1%, LD3: 18.7%, LD4: 23.2%, LD5: 32.4%であり、LD5が多く含まれていた。

#### Ⅳ. 考察

本研究では複数社のJSCC試薬とIFCC試薬を対象に、その測定性能を調べ比較した。結果、オンボード安定性と相関性の評価で試薬間差（メーカー間差）を認めた。IFCC試薬のオンボード安定性は試薬間で大きく異なり、既報と同様<sup>9,12</sup>、経時的な測定値低下を認め、また本研究では経時的な測定値上昇も認め、この原因として試薬のpHの変化や測定試料のLDアイソザイムの構成が考えられた。各社ともJSCC試薬とIFCC試薬の相関性は相関係数 $r > 0.988$ と高い相関性を認めたが、既報と同様<sup>3,7-13</sup>、検体中のLDアイソザイムの構成による乖離を認め、その程度には試薬間差を認めた。その他の測定性能は各社で同等であった。いずれのIFCC試薬も、日常検査に用いる際は各試薬の特徴を考慮し、自施設の日常



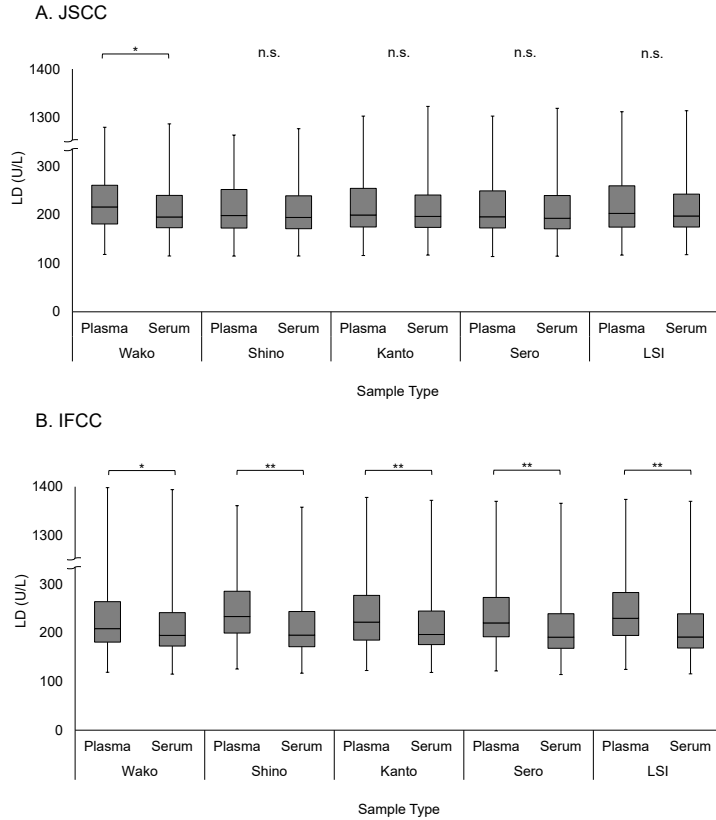


Fig. 3 Impact of sample type in LD activity measurement among manufacturers  
LD activity in plasma and serum samples was measured using JSCC-based (A) and IFCC-based (B) reagents. \* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$ , n.s. not significant

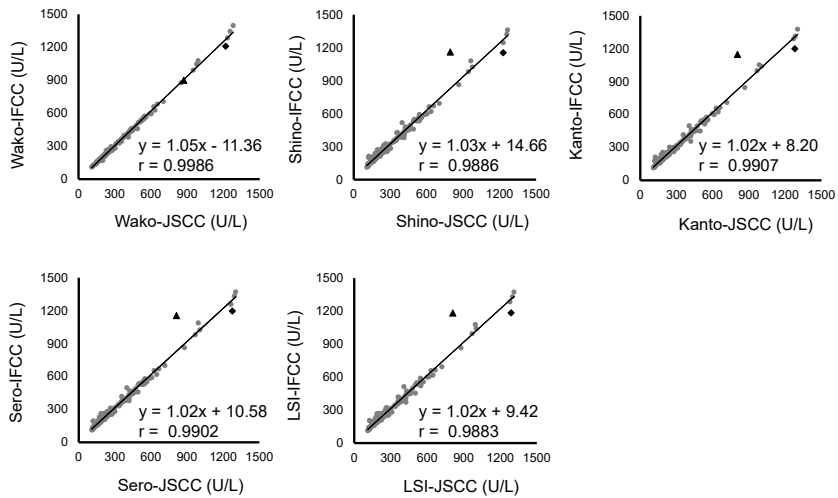


Fig. 4 Correlation  
LD activities measured using JSCC-based and IFCC-based reagents are plotted along X-axis and Y-axis, respectively. The black-triangle and black-diamond symbols represent the samples with marked inter-reagents differences in LD activity.

検査の現状（検体数など）に適する試薬を選択することが望まれる。

試薬のオンボード安定性は、JSCC試薬では各社で同等であったが、IFCC試薬では大きなメーカー間差を認めた。IFCC試薬におけるオンボード安定性の変化は、測定値の経時的な低下および上昇に現れた(Fig. 1B)。経時的な低下はこれまでも報告されており、その一因として試薬のpHが酸性側に傾くpHの経時変化が指摘されている<sup>9,12)</sup>。IFCC法のpHは9.4とJSCC法よりアルカリ性側であり、またそのpHはLD1に至適とされ、pHが酸性側に変化するにつれその反応性は低下する<sup>9)</sup>。具体的には、pH9.8-8.9において、LD1ではpH9.8からpH8.9へと酸性側に変化するにつれ反応性が徐々に低下する<sup>9)</sup>。一方、LD5ではpH9.8からpH9.2へと酸性側に変化するにつれ反応性が大きく上昇しpH9.2からpH8.9にかけては反応性が低下する<sup>9)</sup>。そのため、本検討で用いた試料のうち、LD1を相対的に多く含む試料（自家調製プール血漿moderate, high）では経時的低下を認めたと考えられた。一方、LD5を相対的に多く含む試料（自家調製プール血漿very high）では、Kanto-IFCCでは許容範囲を逸脱する上昇を認めLSI-IFCCでは許容範囲内ながらも上昇傾向を認めた(Fig. 1B)。両試薬の開封後のpHは9.5であり他3社のIFCC試薬（いずれもpH9.4）よりpHが0.1ほどアルカリ性側である。この0.1の違いはLD5に対する反応性に大きく影響し(Table 2)、またKanto-IFCCとLSI-IFCCのオンボード安定性検討の初日のLD活性測定値は他3社のIFCC試薬での測定値より低かった。各社のIFCC試薬ともpHは経時的に酸性側に変化したが、Kanto-IFCCとLSI-IFCCでは初日の測定値が低かったため初日の測定値に対する各測定日の測定値の割合（すなわち変化率）が上昇として現れたと考えられた。以上より、各試薬のオンボード安定性の変化の原因として、試薬のpHやその変化の程度、LD1やLD5に対する反応性の違いなどが考えられ、これは過去の報告<sup>9,12)</sup>でも指摘されており日常検査で注意が必要とされる。なお、アイソザイム反応性に影響する要因はpHのみならず、試薬中の基質や補酵素の濃度なども指摘されており<sup>9)</sup>、それらとの複合的な影響も示唆される。

各社ともJSCC試薬とIFCC試薬の相関係数はr

> 0.988と高い相関性が認められたが、乖離検体を認めた。乖離検体のうち、JSCC試薬での測定値がIFCC試薬より高い検体では、既報<sup>11,13)</sup>と同様にLD5が多く含まれていた。JSCC試薬はIFCC試薬よりLD5に対する反応性が高く<sup>3,6)</sup>、本研究結果でも各社のJSCC試薬はIFCC試薬よりLD5に対する反応性が高かった(Table 2)。一方、IFCC試薬での測定値がJSCC試薬より高いことによる乖離も認め、その検体ではLD1-3の含有率が高く、これはIFCC試薬がLD1-3に反応性が高いという報告<sup>6)</sup>と整合する。JSCC試薬とIFCC試薬での測定値の乖離は、例えば肝胆道系疾患でLD5が上昇したり心疾患でLD1,2が上昇するなど患者の病態が原因である場合が多いが<sup>1,3,7-8)</sup>、他にも、測定に用いる検体種の影響も指摘されており、血漿検体ではIFCC試薬での測定値がJSCC試薬より高くなる乖離が報告されている<sup>12)</sup>。本研究でも検体種の影響を調べたが、Wako以外の4社では、血漿ではIFCC試薬での測定値がJSCC試薬より有意に高かった。なお、どのメーカーも、血清ではIFCC試薬とJSCC試薬での乖離を認めなかった。本研究の相関性検討では血漿検体を用いており、WakoではJSCC試薬とIFCC試薬の間で乖離検体を認めなかったが他4社では乖離検体を認め、その一因として検体種の影響も示唆された。

血漿をJSCC試薬とIFCC試薬で測定した際の乖離の原因として、遠心後の検体を直接サンプリングする際に検体表面に存在する残存血小板などを反応セルに持ち込むことが指摘されている<sup>12)</sup>。この血小板が試薬中の界面活性剤により壊れ、血小板中のLDが遊出することによる偽高値が報告されている<sup>16)</sup>。本研究でも、どのメーカーにおいても、IFCC試薬では血漿での測定値が血清より有意に高かった(Fig. 3B)。なお、JSCC試薬では、Wakoのみ血漿の測定値が血清より有意に高かった(Fig. 3A)。この方法間差やメーカー間差の原因を調べるため、試薬中に界面活性剤を含むか否か、含む場合は界面活性剤の種類や濃度について各メーカーに問い合わせたところ、各メーカーともJSCC試薬とIFCC試薬に界面活性剤を含むとの回答を得たがその種類や濃度は開示してもらえなかった。本研究で対象としたメーカーが発売する他の検査項目（アルカリフォスファターゼ）の試薬ではメー

カーにより界面活性剤が異なると指摘されており<sup>14)</sup>、LD試薬においてもメーカー間で界面活性剤が異なる可能性がある。血漿液面に存在する血小板等の持ち込みは検体を十分に遠心しても起こることがあり<sup>17-18)</sup>、生化学検査における適切な遠心条件（1200×g-1700×gで10分以上）<sup>19)</sup>に従った本研究（1570×gで10分間遠心）でも血漿検体においてJSCC試薬とIFCC試薬の乖離を認めた。検査室で実施可能な工夫としては、たとえばLD測定では血清を使ったり、血漿を使う場合はLDの測定順序を後ろにするなどの対応がある<sup>17)</sup>。本研究では、既報<sup>12)</sup>と同様に血漿を用いることによるJSCC試薬とIFCC試薬の測定値の乖離が認められ、さらに、多数の試薬を一度に評価することでその乖離にメーカー間差があることが明らかになった。

本研究では複数社のJSCC試薬とIFCC試薬の測定性能を一度に調べ、その特徴を明らかにした。各試薬の併行精度はこれまでの報告と同等であり<sup>7-10,12)</sup>、またいずれの試薬も正確性が保証された（Table 3）。どの試薬もHb濃度依存性に正誤差を認めたが、これは溶血による赤血球中のLD遊出が原因である<sup>1)</sup>。各試薬の測定範囲は、JSCC法とIFCC法の方法間で、またメーカー間で大きく異なった（Table 4）。測定上限と下限について、JSCC法の方が優れるメーカーがあればIFCC法が優れるメーカーもある。なお、IFCC準拠法の測定上限は約600 U/Lとされるが<sup>3)</sup>、各社のIFCC試薬の測定上限はそれより高い。日常検査に用いる試薬を複数社の中から選択できる現状では、一度に多数の試薬を対象に、同一試料を測定して同一指標で評価することで、自施設にとってより適切な試薬を選択できると考えられる。

## V. 結語

5社のJSCC試薬とIFCC試薬の測定性能を調べた結果、メーカーによりオンボード安定性と相関性の結果が異なった。IFCC試薬はJSCC試薬より安定期間が短く、また安定期間にメーカー間差を認めた。相関性の評価では、検体中のLDアイソザイムの構成や検体種によりJSCC試薬とIFCC試薬で測定値に乖離を認め、その程度はメーカー間で異なった。他の測定性能はメー

カー間で同等であった。いずれのIFCC試薬も日常検査に用いる際は各試薬の特徴を理解し、自施設に適する試薬を選択する必要がある。

本論文内容に関連する著者らの利益相反：なし

## 文献

- 1) 前川真人: 最新 酵素・アイソザイム検査 測定法とその臨床的意義 乳酸デヒドロゲナーゼ (LD). 臨床病理レビュー, 116:81-89, 2001.
- 2) 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勧告法-乳酸デヒドロゲナーゼ-. 臨床化学, 19:228-246, 1990.
- 3) 山館周恒, 荒木秀夫, 山崎浩和: ALP, LDのJSCC常用基準法をIFCC標準化対応法へ. 東京都医学検査, 47:160-168, 2019.
- 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, 32:81-97, 2003.
- 5) Bais R, Philcox M: IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase (L-lactate: NAD<sup>+</sup> oxidoreductase, EC 1.1.1.27). J Automat Chem, 16:167-182, 1994.
- 6) 山館周恒, 中山智祥: JSCC常用基準法の課題. 臨床病理, 64:544-549, 2016.
- 7) 梅森祥央, 高橋祐輔, 浅沼康一ほか: LD活性測定におけるIFCC対応法試薬の基礎的検討. 医療検査と自動化, 45:181-186, 2020.
- 8) 梅森祥央, 田中真輝人, 高橋祐輔ほか: 自動分析装置コバスpro<503>によるLDおよびALP IFCC法対応試薬の基礎的検討. 医療検査と自動化, 46:76-81, 2021.
- 9) 石崎早織, 清宮正徳, 鈴木芳武ほか: LD活性測定におけるIFCC対応検討試薬の性能評価. 臨床化学, 47:34-40, 2018.
- 10) 藤本文志, 城田正則, 秋山功ほか: L-タイプワコー LD・IF試薬の基本性能の評価と基準範囲に関する検討 乳酸脱水素酵素活性測定のIFCC法とJSCC法の比較. 医学検査, 69:570-576, 2020.
- 11) 田中満里奈, 山口奈摘美, 巖崎達矢ほか: JSCC法およびIFCC法におけるLD<sub>1</sub>とLD<sub>2</sub>の反応性の相違に関する検討. 医療検査と自動化, 45:250-254, 2020.
- 12) 傍島麻由, 寺田祥, 正司浩規ほか: シグナスオートALP IFおよびシグナスオートLD IFの基礎的性能評価. 医療検査と自動化, 46:575-581, 2021.
- 13) 川述由希子, 酒本美由紀, 梅村明ほか: IFCC法対

- 応試薬 (LD・ALP・AST・ALT) の基礎的性能評価. 臨床化学, 50:117-123, 2021.
- 14) 森田祐貴、松田将門、南野徹: IFCC標準測定法に対応した4社のALP活性測定試薬の特性と測定性能の解明. 医療検査と自動化, 45:155-167, 2020.
- 15) Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, et al.: Interference of blood cell lysis on routine coagulation testing. Arch Pathol Lab Med, 130:181-184, 2006.
- 16) 飯塚儀明:ヘパリンリチウム入り真空採血管による測定値への影響. 医学検査, 54:887-894, 2005.
- 17) 伊藤幸紀、廣田雅子、栗原由利子ほか: 生化学自動分析装置における血漿検体用採血管からの直接サンプリングによる測定値への影響. 医療検査と自動化, 47:20-28, 2022.
- 18) Bakker AJ, Bakker A, Renting-Wiering H.: Cellular content in plasma of Becton-Dickinson lithium-heparin tubes: cause of unreliable results in the IFCC-recommended lactate dehydrogenase method. Ann Clin Biochem, 43:510-512, 2006.
- 19) 河野正臣: 臨床化学検査でピットフォールに落ちないために 検査前 測定前処理 (遠心、マイクロフィブリンの影響など). Medical Technology, 48:587-589, 2020.