

コレステロール・中性脂肪常用参照標準物質 JCCRM 223-44 認証書

■ 中性脂肪の認証値の決定方法の変更およびロット更新内容

本認証標準物質の中性脂肪の認証値の決定方法は、前ロット(JCCRM 223-43)までは日本臨床化学会勧告法(JSCC 勧告法)であったが、国際標準化への対応を考慮し、本ロット(JCCRM 223-44)から同位体希釈質量分析法(ID/MS法)に変更した。

また、本認証標準物質の濃度、項目の異なる8種のうち、本ロット(JCCRM 223-44)は、⑥⑦⑧を新たに調製して値付けした。①②③④⑤は前ロット(JCCRM 223-43)と同じであるが、このうち②の認証値も⑥と同時にID/MS法による値とした。

■ 使用方法

本認証標準物質の入ったプラスチックバイアルを立てた状態で静置する。本認証標準物質の温度を常温(25℃付近)とするため、約20分間かけて常温で自然解凍する(加温融解不可)。次にバイアルのキャップを指でつまみ、キャップのネジ締めを確認し、ゆるい場合は増し締めをしてから20回以上ゆっくり転倒混和して完全に均一にする。特に血清中の中性脂肪は均一になりにくいので、本認証標準物質を常温に戻した後は、十分に混和すること。

解凍した本認証標準物質は3時間以内に使用する。常温での放置時間が3時間を超える場合は、冷蔵庫内に保管しその日のうちに使用する。一度解凍したものは、再冷凍して使用することはできない。

■ 使用上の注意

本認証標準物質はヒト血清を原料としており、HBs抗原、HCV抗体およびHIV抗体については検出されていないが、このことは感染性を完全に否定するものではないため、使用に際しては感染の危険があるものとして、患者検体と同様に手袋を着用するなど十分注意をして取り扱う。In vitro use only

■ 製造方法

本認証標準物質の製造に当たっては、CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) C37-A [1]に従い、採血から凍結までの室温時間を5時間以内とした新鮮ヒト血清を原料とした。また、調製は、リポ蛋白変性の生じにくい急速凍結法により検査医学標準物質機構で行った。

■ 保存方法および有効期限

本認証標準物質はドライアイスと共に発送される。到着時にドライアイスが残存していないものは使用できない。到着後、直ちに温度変動の少ない冷凍庫の底の方に保存する。

有効期限 (出荷日から)

HDL、LDL コレステロール	-70℃以下: 1ヵ月	-40℃: 1週間
総コレステロール、中性脂肪	-70℃以下: 6ヵ月	-40℃: 3ヵ月

■ 仕様

- 【品名】 コレステロール・中性脂肪常用参照標準物質
 【測定項目】 血清中の総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪およびLDLコレステロール
 【内容】 8種類、各1本(0.5mL入) 計8本入り

■ 認証書の複製について

書面による承諾がない限り、認証書の一部のみを複製して用いてはならない。

■ 認証日

2019年12月23日

■ 認証機関および認証責任者

本認証標準物質に関する技術管理者および製造管理者は梅本博仁である。

一般社団法人 検査医学標準物質機構
代表理事 梅本博仁

■ 使用目的

本認証標準物質は、臨床検査における血清中の総コレステロール(TC)、HDL コレステロール(HDL-C)、中性脂肪(TG)および LDL コレステロール(LDL-C)測定の基準として用いる。主な使用目的は以下の通りである。

- ・日常検査法の校正および精確さの評価
- ・日常検査法の内部精度管理および外部精度評価

■ 認証値

本認証標準物質の 25 °Cでの認証値および拡張不確かさは表 1 の通りである。中性脂肪の認証値の決定方法は、前ロットまでの日本臨床化学会勧告法 (JSCC 勧告法) から同位体希釈質量分析法(ID/MS 法)へ変更した。

JCCRM 223-44 は⑥⑦⑧を新たに調製して値付けした。①②③④⑤は前ロット JCCRM 223-43 と同じであるが、②の中性脂肪の認証値は ID/MS 法による値に変更した。

表 1a 認証値 (濃度単位 mg/dL)

種類	総コレステロール (CDC レファレンス法)		HDL コレステロール (CDC レファレンス法)		中性脂肪 ^{注1)} (ID/MS 法)		LDL コレステロール (CDC レファレンス法)	
	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ
JCCRM 223-44 ① (TC/L)	141.2	1.5						
JCCRM 223-44 ② (TC/M, TG/M)	173.4	1.8			105.2	2.6		
JCCRM 223-44 ③ (TC/H)	201.9	2.1						
JCCRM 223-44 ④ (HDL-C/L)			47.9	0.7				
JCCRM 223-44 ⑤ (HDL-C/H)			68.8	0.9				
JCCRM 223-44 ⑥ (TG/H)					172.7	4.0		
JCCRM 223-44 ⑦ (LDL-C/M)							100.4	1.9
JCCRM 223-44 ⑧ (LDL-C/H)							129.0	2.0

表 1b 認証値 (濃度単位 mmol/L)

種類	総コレステロール (CDC レファレンス法)		HDL コレステロール (CDC レファレンス法)		中性脂肪 ^{注1)} (ID/MS 法)		LDL コレステロール (CDC レファレンス法)	
	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ	認証値	拡張 不確かさ
JCCRM 223-44 ① (TC/L)	3.651	0.039						
JCCRM 223-44 ② (TC/M, TG/M)	4.484	0.047			1.188	0.029		
JCCRM 223-44 ③ (TC/H)	5.221	0.054						
JCCRM 223-44 ④ (HDL-C/L)			1.239	0.018				
JCCRM 223-44 ⑤ (HDL-C/H)			1.779	0.023				
JCCRM 223-44 ⑥ (TG/H)					1.950	0.045		
JCCRM 223-44 ⑦ (LDL-C/M)							2.598	0.049
JCCRM 223-44 ⑧ (LDL-C/H)							3.336	0.052

不確かさは ISO の指針 (GUM: 計測における不確かさの表現のガイド[2]) に従って、測定の不確かさ (純度標準物質の純度の不確かさ、秤量の不確かさを含む)、均質性および保存安定性の不確かさを合成した合成標準不確かさと包含係数から決定された拡張不確かさ (信頼水準 約 95 %、包含係数 $k=2.0$) である。

注 1) 中性脂肪の認証値はトリオレインに換算した濃度であり、モノ、ジ、トリグリセリドを含み、遊離グリセロールは含まない。

■ 測定方法

本認証標準物質は下記の測定方法に基づき検査医学標準物質機構で測定し、それぞれの濃度を求めた。

- 総コレステロール : CDC レファレンス法 (AK 法) [3],[4]
 HDL コレステロール : CDC レファレンス法 (HDL-C: 超遠心分離-ヘパリン-MnCl₂ 沈澱法) [5],[6]
 LDL コレステロール : Beta Quantification (BQ 法) [7]
 中性脂肪 : 同位体希釈-ガスクロマトグラフィー質量分析法 (ID/GC/MS) [8],[9]

■ 認証値の決定方法

本認証標準物質の認証値の解析および決定は、認証委員会(委員長:桑 克彦 前国立研究開発法人産業技術総合研究所)を組織して行った。

■ トレーサビリティ

総コレステロール、HDL コレステロールおよび LDL コレステロールの校正には、コレステロール標準物質 NIST SRM 911c (純度 99.2% ± 0.4%) を用いた。中性脂肪の校正には、トリパルミチン標準物質 NIST SRM 1595 (純度 99.5% ± 0.2%) を用いた。また、標準液および測定試料の調製には JCSS (計量法校正事業者認定制度) 認定事業者が校正した天秤を用いた。

■ 中性脂肪の測定法変更

本標準物質の中性脂肪の測定法は、前ロットの JCCRM 223-43 までは日本臨床化学会勧告法 (JSCC 勧告法) [10]であったが、本ロットの JCCRM 223-44 から同位体希釈質量分析法 (ID/MS) [8],[9]へ変更した。

ID/MS 法による中性脂肪の測定は、SI トレーサブルな定量法として総グリセリドおよび遊離グリセロールを各々測定して、総グリセリド値から遊離グリセロール値を差し引くため、JSCC 勧告法に比べて精確性が高い。SI へのトレーサビリティが確保できる ID/MS 法を採用することにより、国際標準化への対応および継続的に安定な認証値の提供が可能となる。なお、JSCC 勧告法と ID/MS 法による測定値の相対バイアスは、総グリセリド値および中性脂肪値共に 1~2% である。

参考

■ 血清の性状

本認証標準物質は、異常リポ蛋白 (LpX、LpY 等)、脂質異常症 (VLDL レムナント等) を含まないヒト血清を原料としており、その性状を下表に示す。本表の値は日常検査法で測定した参考値であるため、精確さの評価に用いることはできない。

測定項目	種類 (JCCRM 223)								単位	測定方法
	44①	44②	44③	44④	44⑤	44⑥	44⑦	44⑧		
	TCL	TCM:TGM	TCH	HDL-C/L	HDL-C/H	TG/H	LDL-C/M	LDL-C/H		
総蛋白	7.1	7.3	7.3	7.0	7.0	7.0	6.8	7.2	g/dL	Biuret 法
アルブミン	4.3	4.5	4.5	4.4	4.4	4.2	4.2	4.3	g/dL	BCG 法
リポ蛋白(a)	32.5	16.8	17.0	5.8	5.0	3.9	5.0	14.5	mg/dL	LA
アポリポ蛋白 E	2.6	3.5	3.3	2.8	2.7	4.5	2.9	3.8	mg/dL	TIA
HDL	38	31	38	35	47	30	32	30	%	ポリアクリルアミドゲル 電気泳動法
LDL	41	45	44	41	34	35	38	42	%	
IDL	9	12	10	7	6	15	8	10	%	
VLDL	12	12	8	17	14	21	21	18	%	
尿酸	5.7	5.9	6.2	5.2	5.2	5.0	6.2	4.8	mg/dL	酵素法
総ビリルビン	0.3	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.3	mg/dL	バナジン酸化法
ヘモグロビン	4 以下	4 以下	9	4 以下	4 以下	4 以下	4 以下	4 以下	mg/dL	スペクトル計算法

■ ロットの継続性の確認

総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロールおよび中性脂肪について、各項目とも 3 種の日常検査法で本ロットと前ロットをそれぞれ測定した結果、ロットの継続性が確認できた。

■ コlestest N HDL による HDL-C 測定例

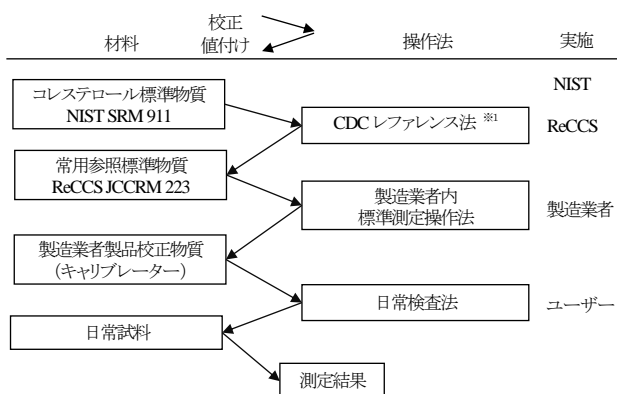
HDL-C 測定キットのコレステスト N HDL の場合、新鮮血清であっても採血後の室温での経過時間とともに LCAT が作用し、HDL-C が高値となる。JCCRM 223-44④⑤の 2 濃度とも、原料血清について採血後の時間を限界まで削減した結果、コレステスト N HDL による HDL-C 測定値と認証値の差を約 1 mg/dL 以下に収めることが可能となった。また、性状の表から、223-44④⑤の HDL-C 検体はアポリポ蛋白 E が少なく、アポ E リッチ HDL-C も問題になる量とは考えられない。本認証標準物質を測定して得られたコレステスト N HDL 測定値が以下の値であれば、実検体においてバイアスが小さい測定値が得られていると言える。

コレステスト N HDL HDL-C キットによる参考値	
JCCRM 223-44④	JCCRM 223-44⑤
49 ± 2.0 mg/dL	70 ± 2.5 mg/dL

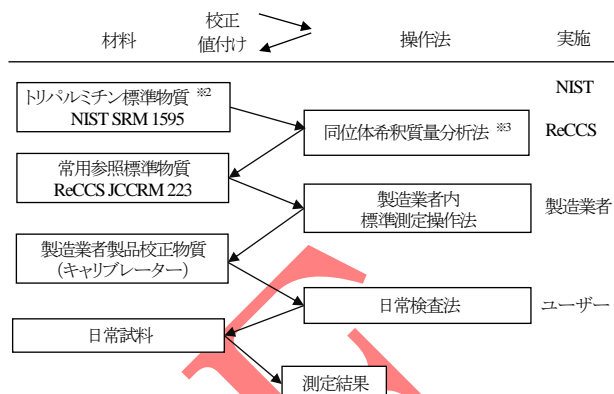
■ トレーサビリティ体系図

本認証標準物質を用いたトレーサビリティ体系は以下の通りである (JCCRM 223-44 から適用)。

1) 総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール



2) 中性脂肪



※1 総コレステロールは AK 法、HDL コレステロールは超遠心分離-ヘパリン-MnCl₂沈澱法、LDL コレステロールは Beta Quantification (BQ 法)である。

※2 前ロットの JCCRM 223-43 までは、NMIJ 認証標準物質 NMIJ CRM 6009-a (トリオレイン)

※3 前ロットの JCCRM 223-43 までは、JSCC 勧告法

■ 参考文献

- [1] CLSI Publication C37-A. Preparation and validation of commutable frozen human serum pools as secondary reference materials for cholesterol measurement procedures; approved guideline: CLSI, Wayne, PA, 1999.
- [2] Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement. ISO/IEC Guide 98-3 (JCGM 100:2008).
- [3] Abell LL, et al, A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. J Biol Chem 1952;195:357-366.
- [4] 藤野章子, 梅本雅夫. 高速液体クロマトグラフィーを用いた Abell-Kendall 法におけるけん化率の検討. 臨床化学 1995;24:175-178.
- [5] N Rifai, GR Warnick, MH Daminczak. Handbook of lipoprotein testing, 2nd Ed. pp.227-230, AACC Press, 2000, Washington DC.
- [6] Warnick GR, Albers JJ. Heparin-Mn²⁺ quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol: An ultrafiltration procedure for lipemic samples. Clin Chem 1978;24:900-904.
- [7] Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol. Clin Chem 1995;41:1414-1420.
- [8] Ellerbe P, Sniegoski LT, Welch MJ. Isotope dilution mass spectrometry as a candidate definitive method for determining total glycerides and triglycerides in serum. Clin Chem, 1995;41:397-404.
- [9] Bernert JT Jr, Bell CJ, McGuffey JE, Waymack PP .Determination of "free" glycerol in human serum reference materials by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr 1992;578:1-7.
- [10] 日本臨床化学会試薬専門委員会. 血清中の中性脂肪濃度測定 の勧告法. 臨床化学 1996;25:39-51.

一般社団法人 検査医学標準物質機構 (ReCCS)

<http://www.reccs.or.jp/>

〒225-0012 神奈川県横浜市青葉区あざみ野南 1-3-3

(注文・一般) TEL 045-530-9107 FAX 045-530-9036

(技術内容) TEL 045-530-9109 FAX 045-530-9036

本機構は標準物質認証機関 ISO 17034、臨床検査基準測定機関 ISO 15195 および
試験所および校正機関 ISO/IEC 17025 として認定されています。