

ドーピング検査における 血液検査の現状と今後の展望

岸川 佳史^{*1}, 川原 貴^{*2}

*1 公益財団法人 日本分析センター アンチ・ドーピング研究所 検査開発グループ：東京都荒川区南千住 6-39-4 (〒116-0003)

*2 公益財団法人 日本分析センター アンチ・ドーピング研究所 所長

キーワード 多項目自動血球分析装置, ドーピング検査, アスリートバイオロジカルパスポート

はじめに

臨床検査分野で最もポピュラーな検査のひとつである自動血球分析装置を用いた血液検査がスポーツ界のドーピング検査に採用されている事はあまり知られていない。また、世界アンチ・ドーピング機構 (World Anti-Doping Agency ; WADA) の認定分析機関および認証分析機関で血液検査が可能な施設は世界で約 30 あり、現在そのすべてでシスメックス社の多項目自動血球分析装置が使用されている。

従来ドーピング検査は尿検査で行われてきたが、近年は血液検査も導入されており、本稿ではその血液検査についての導入背景から現状および今後の展望にわたって紹介する。

ドーピング防止について

2005 年に採択されたユネスコ国際規約「スポーツにおけるドーピング防止に関する国際規約」では、スポーツが健康の保護、道徳教育、文化教育および体育並びに国際的な理解および平和の促進において重要な役割を果たすべきであることを認識し、スポーツにおけるドーピングの撲滅に向けた国際協力を奨励している。

WADA は、世界ドーピング防止プログラムとして、世界ドーピング防止規定、国際基準およびガイドラインなどを策定し、国際協力の調和を図っている。国際基準やガイドラインには運用上だけでなく、技術上の側面でも記載されており、特に技術の面に

おいては科学技術の発展に伴い適宜改定されており、ドーピング防止に万全を期している。

しかし、分析機器の感度向上、新規測定法の開発などによる科学の進歩を適宜取り入れ、様々なドーピング禁止物質の検出方法が開発された現在においても、スポーツ界ではドーピング検査で陽性判定が困難なドーピング禁止物質の使用およびドーピング禁止方法が問題となっている。新規検査法が開発されれば、より陽性判定が困難なドーピング禁止物質や禁止方法が用いられ、いたちごっこである。

持久力向上のドーピングについて

ドーピングには筋力向上、持久力向上、および集中力向上などを目的としたものがあるが、今回は持久力向上のドーピングについての検査側の懸案点を説明する。

持久力向上のドーピング方法は多岐にわたっており、WADA 2014 年禁止表国際基準¹⁾ (図 1) に掲載されている中においてもドーピング検出が困難なものが複数ある。そのうち一つは、禁止物質 S2、ペプチドホルモン、成長因子および関連物質の 1. 赤血球新生刺激物質 (Erythropoiesis Stimulating Agent ; ESA) の使用であり、他は、禁止方法 M1. 血液および血液成分の操作の 1. 自己血輸血がある。

前者は、尿検体におけるリコンビナントエリスロポエチン (Recombinant Erythropoietin ; rEPO) およびその類縁体の電気泳動法を用いたドーピング検査²⁾ (図 2) は確立されているが、投与後検出できる期間が短い



S2. PEPTIDE HORMONES, GROWTH FACTORS AND RELATED SUBSTANCES

The following substances, and other substances with similar chemical structure or similar biological effect (s), are prohibited :

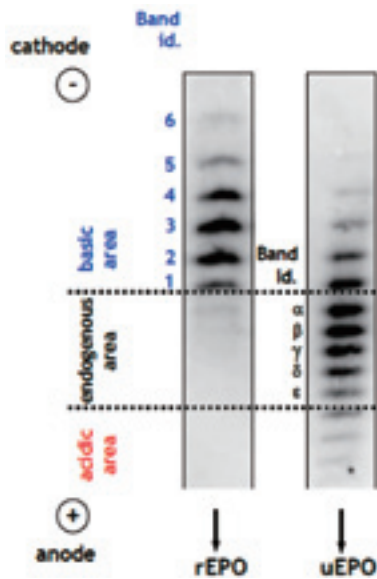
1. Erythropoiesis-Stimulating Agents [e. g. erythropoietin (EPO), darbepoetin (dEPO), hypoxia-inducible factor (HIF) stabilizers and activators (e. g. xenon, argon), methoxy polyethylene glycol-epoetin beta (CERA), peginesatide (Hematide)] ;

M1. MANIPULATION OF BLOOD AND BLOOD COMPONENTS

The following are prohibited :

1. The administration or reintroduction of any quantity of autologous, allogenic (homologous) or heterologous blood or red blood cell products of any origin into the circulatory system.

図1. WADA 2014 年禁止表国際基準 (表紙と一部抜粋)



rEPO : リコンビナントエリスロポエチン
uEPO : ヒト体内に元々あるエリスロポエチン

図2. エリスロポエチンの等電点電気泳動
WADA Technical Document - TD2014EPO より一部抜粋

ものもある。また、ドーピング判定が困難な例として、rEPO バイオシミラーを使用したケース、rEPO およびその類縁体を低濃度で使用する手法を用いたケース、そもそも尿検体に含まれる rEPO およびその類縁体濃度が低く検出が困難であるケースなどが

挙げられる。後者の禁止方法に対しては、いくつかの研究的な試みがありドーピング検出法がないわけではないが、検出は困難である。

2014 年 9 月にキセノン・アルゴンが禁止表国際基準の禁止物質 S2. ペプチドホルモン、成長因子およ

び関連物質の1. 赤血球新生刺激物質 (Erythropoiesis Stimulating Agent ; ESA) に指定された。持久力向上のドーピングを巡り選手側が新たな使用を考案し、WADA は 2014 年の途中にも関わらず Version 2.0 として WADA 2014 年禁止表国際基準を改訂するという迅速さで対応した。このキセノン・アルゴンはドーピング検出が困難なケースとして挙げられる。

ドーピング検査の新規ロジックについて

近年のドーピング検査では、禁止物質や禁止方法そのものを科学的に立証する直接法と並行して、アスリートバイオロジカルパスポート (Athlete Biological Passport ; ABP) というアスリート個人の生物学的指標を継続的に記録し、生理学的にありえない指標の変化を検知し、ドーピングか否か科学的に判断する間接法も導入されている³⁾。現在 ABP には血液検査で分析される血液学的モジュールと尿検査で分析されるステロイドモジュールの二つがある。

この ABP には、大きく二つの目的がある。一つ目は特別なドーピング検査の対象となるアスリートを特定すること、二つ目は禁止物質や禁止方法の使用を ABP のデータから追及することである。

血液検査の ABP 結果では、直接法では検出困難なドーピングである低濃度 rEPO 投与、自己血輸血、また禁止物質に最近追加されたキセノン・アルゴンなども検知できる可能性があり、ドーピング防止としてこの新規ロジックに大きな期待が寄せられている。

ABP における血液検査の内容について

現在、ABP は二つの要素で構成されており、2009 年 12 月に血液学的モジュール、2014 年 1 月にステロイドモジュールの運用が全世界的に普及されている。ABP 血液学的モジュールは、持久力向上を目的としたドーピングに対応するものであり、一般的な血液検査で測定される HGB、RET% といった主に赤血球系の指標 (図 3) が適用されている。



2.1. Haematological Markers

The following *Markers* are considered within the ABP Haematological Module :

HCT :	Haematocrit
HGB :	Haemoglobin
RBC :	Red blood cell count
RET% :	The percentage of reticulocyte
RET# :	Reticulocytes count
MCV :	Mean corpuscular volume
MCH :	Mean corpuscular haemoglobin
MCHC :	Mean corpuscular haemoglobin concentration
RDW-SD :	Red cell distribution width (standard deviation)
IRF :	Immature reticulocyte fraction

図 3. WADA ABP 運用ガイドライン (表紙と一部抜粋)

具体的な ABP における血液検査の特徴的な実施内容は、採血後 48 時間以内に測定すること、1 検体あたり 2 回測定を実施し再検基準内であれば 1 回目の測定を結果報告すること、などが挙げられ、WADA ガイドラインに記載されている。再検基準は、HGB [g/dL] で 0.1g/dL までの差が許容とされ、RET% [%] で、1 回目が 1.00RET% より大きい場合で 0.25RET%、1 回目が 1.00RET% 以下の場合で 0.15RET% までの差が許容とされ、それ以上の差であれば、再測定として再度 2 回測定を実施する事となっている。

また、WADA 認定分析機関および認証分析機関は、CSCQ (Quality Control Center Switzerland) 主催の外部精度管理プログラムへの毎月参加が必須であり、測定項目及び測定回数など WADA ガイドライン (図 4) に記載されている。

ABP における血液検査の最新の統計について

全世界集計のドーピング検査最新統計⁴⁾より、ABP における血液検査数 (年間) および推移を表 1、図 5 に示す。血液検査数は年々増加しており、2013 年実施数は 23,877 件、前年比 +31% の伸びであった。伸び率は過去 2 年の 60% 超を下回っているが、今後も実施数は増えていくことが予想される。

2013 年に実施されたオリンピックスポーツでの ABP における血液検査の内訳を表 2 に示す。オリンピックスポーツで 22,453 件あり、これは全体の実施数 23,877 件の 94% にあたる。Cycling が 7,429 件で件数は一番多く、他のスポーツと比較して競技会 (In-Competition ; IC) 割合が高い傾向にある。持久力

4. External Quality Assessment Scheme

The Laboratories (or as otherwise approved by WADA) shall take part in and meet the requirements of the WADA External Quality Assessment Scheme (EQAS) for blood variables. The external quality controls shall be analyzed seven (7) times consecutively, and then the mean results of the following blood variables (full blood count) shall be returned :

Red Blood Cell (Erythrocyte) Count	RBC
Mean Corpuscular Volume	MCV
Hematocrit	HCT
Haemoglobin	HGB
Mean Corpuscular Haemoglobin	MCH
Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration	MCHC
White Blood (Leukocyte) Count	WBC
Platelet (Thrombocyte) Count	PLT
Reticulocytes Percentage	%RETI

図 4. WADA ABP 運用ガイドライン (一部抜粋)

表 1. ABP における血液検査数 (年間)

2013 Anti-Doping Testing Figures / Athlete Biological Passport (ABP) Report - Blood Analysis より抜粋

Year	ABP Samples* Analyzed	% Increase Year to Year
2009	6,082	—
2010	6,610	9%
2011	10,795	63%
2012	18,223	69%
2013	23,877	31%

*ABP をサポートするために収集された血液サンプル数を表しており、必ずしもアスリート数を反映しているものではない

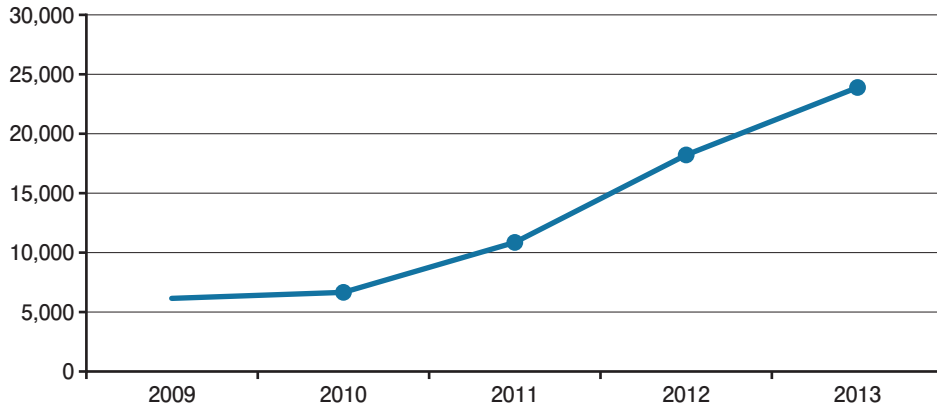


図5. ABPにおける血液検査数（年間）の推移

2013 Anti-Doping Testing Figures / Athlete Biological Passport (ABP) Report - Blood Analysis より抜粋

表2. ABPにおける血液検査数（2013年）オリンピックスポーツ上位10選

2013 Anti-Doping Testing Figures / Athlete Biological Passport (ABP) Report - Blood Analysis より表作成

Sport	IC*1	OOO*2	Total	%
Cycling	2,632	4,797	7,429	33%
Athletics	174	5,028	5,202	23%
Skiing	161	2,279	2,440	11%
Aquatics	105	1,131	1,236	5.5%
Skating	211	902	1,113	5.0%
Triathlon	38	935	973	4.3%
Biathlon	155	662	817	3.6%
Football	2	724	726	3.2%
Rowing	125	583	708	3.2%
Tennis	97	204	301	1.3%
	3,739	18,714	22,453	

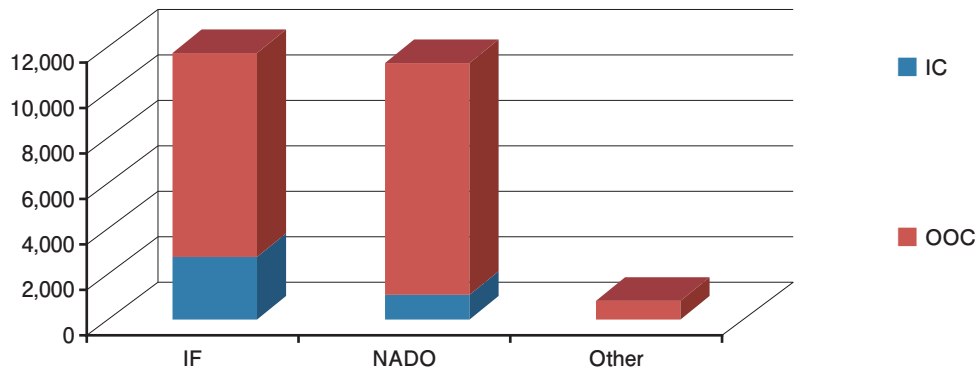
*1 IC (In-Competition) : 競技会 (時)

*2 OOO (Out-of-Competition) : 競技会外

系の記録競技が上位を占める傾向があるが、8番目にFootball、10番目にTennisと球技スポーツの中にも件数が多いものもある。ABPにおける血液検査は競技会外 (Out-of-Competition ; OOO) で実施される傾向にある。

検査機関 (Testing Authority) と IC、OOO を区分した集計を図6、表3～5、に示す。件数は国際競技連盟 (International Federation ; IF) が11,773件で、国内ドーピング防止機関 (National Anti-Doping Organization ; NADO) が11,275件であり同程度であったが、IC割合はIFが2,731件で23%、NADOが1,095件で9.7%であり約2倍高い傾向が見られた。IF内の件数は国際自転車競技連合 (International Cycling Union ; UCI)

が顕著に高く5,246件で45%を占めており、次いで国際陸上競技連盟 (International Association of Athletics Federations ; IAAF) が2,877件で24%、国際スキー連盟 (International Ski Federation ; FIS) が1,605件で14%、上位3団体で83%を占めている。IFの中でも競技によってIC割合が異なっており、UCIは5,246件中2,280件で43%と高く、IAAFは2,877件中17件で0.59%、FISは1,605件中0件で0%と低い。NADOはIFのUCIのように件数が突出した組織は無く、一番件数が多いロシアアンチ・ドーピング機構 (Russian Anti-Doping Agency ; RUSADA) でも1,766件で16%であった。



IF (International Federation) : 国際競技連盟
 NADO (National Anti-Doping Organization) : 国内ドーピング防止機関
 IC (In-Competition) : 競技会 (時)
 OOC (Out-of-Competition) : 競技会外

図6. ABP における血液検査数 (2013 年) 試験機関 (Testing Authority)
 2013 Anti-Doping Testing Figures / Athlete Biological Passport (ABP) Report - Blood Analysis より抜粋

表3. ABP における血液検査数 (2013 年) 国際競技連盟上位 10 選
 2013 Anti-Doping Testing Figures / Athlete Biological Passport (ABP) Report - Blood Analysis より一部抜粋

ADAMS Code	International federations	IC	OOC	Total	%
UCI	International Cycling Union	2,280	2,966	5,246	45%
IAAF	International Association of Athletics Federations	17	2,860	2,877	24%
FIS	International Ski Federation	0	1,605	1,605	14%
FINA	Fédération Internationale de Natation	1	469	470	4.0%
ISU	International Skating Union	106	336	442	3.8%
FISA	International Rowing Federation	115	218	333	2.8%
ITF	International Tennis Federation	96	167	263	2.2%
IBU	International Biathlon Union	64	175	239	2.0%
ITU	International Triathlon Union	16	72	88	0.7%
ISMF	International Ski Mountaineering Federation	0	56	56	0.5%
Totals		2,731	9,042	11,773	

表4. ABP における血液検査数 (2013年) 海外の国内ドーピング防止機関上位10選

2013 Anti-Doping Testing Figures / Athlete Biological Passport (ABP) Report - Blood Analysis より一部抜粋

ADAMS Code	National Anti-Doping Organizations	IC	OOB	Total	%
RUSADA	Russian Anti-Doping Agency	464	1,302	1,766	16%
ASADA	Australian Sports Anti-Doping Authority	70	1,563	1,633	14%
NF-F	National Federations*-France	174	1,224	1,398	12%
NADA	German National Anti-Doping Agency	0	1,069	1,069	9%
USADA	United States Anti-Doping Agency	62	724	786	7%
SUI-NADO	Antidoping Switzerland	5	601	606	5%
ADN	Anti-Doping Norway	103	473	576	5%
UKAD	UK Anti-Doping	9	486	495	4%
ADoP	Autoridade Antidopagem de Portugal	1	494	495	4%
CHINADA	Chinese Anti-Doping Agency	103	357	460	4%
Totals		1,095	10,180	11,275	

表5. ABP における血液検査数 (2013年) その他

2013 Anti-Doping Testing Figures / Athlete Biological Passport (ABP) Report - Blood Analysis より一部抜粋

ADAMS Code	Other Sport Organizations	IC	OOB	Total	%
Totals		9	820	829	

今後の展望について

ABP における血液検査は前述の通り、異常な ABP 結果から禁止薬物・禁止方法の使用といったドーピング違反を追及するという以外に、ABP 結果から特別なドーピング検査対象となるアスリートを識別・特定するといった効果がある。例えば、尿検査では全員に必須項目ではない rEPO ドーピング検査を血液検査の ABP 結果から追加する事が可能となる。しかしながら、血液検査の ABP 結果から rEPO ドーピング検査を追加する事に関しては、体内の rEPO 特にエポエチンでは半減期が半日以下と短いため、アスリートから採血した後に検査ラボに搬送し血液検査を実施してから追加検査の有無を判断し、再度アスリートから採尿するのでは時間がかかってしまい、追加検査を実施したとしても rEPO の検出が困難となる可能性が高い。

アスリートから採血した後に、その現地で血液検査が実施可能となると、直ちに再度アスリートから採尿し rEPO ドーピング検査を追加するといった戦略的なドーピング検査計画が可能となる。

公益財団法人日本分析センターは車両を用いた移動検査システムを構築し、2012年10月に「恒久的施設 及び 恒久的施設以外の施設(移動式施設を含む)」で ISO/IEC17025 試験所認定(図7)、2012年11月に「mobile unit “Doping Control Station Car”」で WADA 認証(図8)を取得し、アスリートから採血後の現地における即時検査を行っている。移動検査システムの WADA による認証は世界で唯一かつ初めてであり、WADA ラボ空白地域にこのような移動検査システムが利用できれば全世界的なドーピング防止に効果的であると評価されており、世界的水平展開のニーズもあり、今後の展開も期待される。



図7. ISO / IEC17025 認定



図8. WADA 認証

おわりに

日本では車両を用いた移動検査システムという新たな試みで世界のドーピング防止に貢献する動きがある。また、シスメックス社の自動血球分析装置は世界中で実施されているドーピング血液検査に使用されており、その検査数も拡大傾向にあり、今後さらなる検査精度の向上、グローバルな精度保証の仕組みが望まれる。

参考文献

- 1) The World Anti-Doping Code THE 2014 PROHIBITED LIST INTERNATIONAL STANDARD Version 2.0 (revised 2014 version)
- 2) WADA Technical Document-TD2014EPO. Ver.1.0
- 3) Athlete Biological Passport Operating Guidelines & Compilation of Required Elements. Version 4.0. November 2013
- 4) 2013 Anti-Doping Testing Figures / Athlete Biological Passport (ABP) Report-Blood Analysis

Current Status of Hematological Testing in Doping Control Test and its Future Foresight

Yoshifumi KISHIKAWA^{*1}, Takashi KAWAHARA^{*2}

*1 Japan Chemical Analysis Center, Doping Analysis & Methodology Development Group : 6-39-4, Minami-senju, Arakawa-ku, Tokyo, 116-0003, Japan

*2 Japan Chemical Analysis Center, Director

Key Words

Hematology Analyzer, Doping Control Test, Athlete Biological Passport (ABP)
