

東ソー自動グリコヘモグロビン分析計HLC-723G8の開発

バイオサイエンス事業部 セパレーションメディア製造部 セパレーションセンター

技術部

東ソー・ハイテック(株)

カスタマーサポートセンター

村上 卓司
 荻野 慎士
 山岸 茂夫
 黒木 瞳
 尾崎 啓二
 松野 隆則
 土本健太郎
 石塚 哲也
 伊藤 義正

1. はじめに

東ソー自動グリコヘモグロビン分析計HLC-723シリーズは、イオン交換HPLC法を用いて糖尿病の臨床検査項目であるグリコヘモグロビン (A_{1c}) を測定する自動分析計である。同シリーズは1983年の発売開始後、計5回のモデルチェンジを経て、糖尿病検査装置として広く普及し、現在では A_{1c} 分析計の標準機の1つとなっている。特に1995年に上市したGHbVからは非多孔性陽イオン交換体カラムを用いて不安定型グリコヘモグロビン ($L\cdot A_{1c}$) と安定型グリコヘモグロビン ($s\cdot A_{1c}$) をカラム上で分離することが可能となり、 $s\cdot A_{1c}$ を再現性良く測定することが可能となった。さらに2000年に上市したG7では分析時間(1.2分) 処理能力50検体/時間の高速・高処理性能を達成した。

しかし、G7上市後も糖尿病患者の増加とともに検体数は増加し続けて、さらなる処理能力の向上が必要となった。加えて診察時の患者負担を低減するため、採血から結果報告までの時間短縮が求められるようになり、測定開始から初検体の結果出力までの時間(1stレポート出力時間)の短縮も診断装置に要求されている。

これらの要望に応えるべく、1stレポートを最短2.0分で出力可能な迅速報告性能と、60検体/時間の処理能力を有する東ソー自動グリコヘモグロビン分析計HLC-723G8を開発・商品化した。本報告では、このG8の主な仕様およびその基本性能を報告する。

2. 装置の外観、仕様

装置の外観を図1に、主な仕様を表1に示す。



図1 装置外観

表1 HLC-723G8の主な仕様

測定項目	HbA _{1c} (s·A _{1c})、HbF、HbA ₁
測定対象検体	全血、希釈溶血液
測定原理	イオン交換高速液体クロマトグラフィー
処理時間	1.0min/検体
検出方式	2波長吸光度(検出波長415nm)
検体使用量	全血3μL、希釈溶血液80μL
最大検体搭載数	90、100、290検体
注入方法	サンプルループ(4μL)
希釈方法	希釈槽にて溶血洗浄液で自動希釈
検体容器形状	12～15×75～100mm真空採血管 汎用サンプルカップ(アダプタ使用)
検体ID認識	最大20桁のバーコード
表示装置	320×240ドットモノクロ液晶ディスプレイ
入力装置	圧力感知式タッチパネル・シートキー
出力装置	サーマルプリンタ
記憶装置	スマートメディア
送液部	シングルプランジャーポンプ
カラム温調	電子冷却(25℃)

3. 迅速測定性能

HPLC法では気泡の混入による送液不良を避けるため、減圧脱気装置を利用している。このため、送液が停止する待機中（STAND-BY状態中）に配管内の溶離液が徐々に濃縮され、待機時間が長くなると初検体が正常に測定できない問題があった。この問題を解消するためには脱気装置を含む配管内の液置換を十分に行うことが必要のため、G7では分析前に2.4分の予備動作を必要とした。

G8は脱気装置の配管容量を半分に削減し、さらに分析に使用する3種類の溶離液のうち、特に分析結果に大きな影響を及ぼす溶離液を重点的に置換することとした。表2に待機直後から同一検体を連続測定した

表2 A_{1c}測定結果に及ぼす待機時間(STABD-BY経過時間)の影響

	STAND-BY経過時間(時間)			
	0	1	2	3
1回目	5.3	5.4	5.4	5.3
2回目	5.3	5.3	5.3	5.3
3回目	5.3	5.3	5.3	5.3
4回目	5.3	5.3	5.3	5.3
5回目	5.3	5.3	5.3	5.3

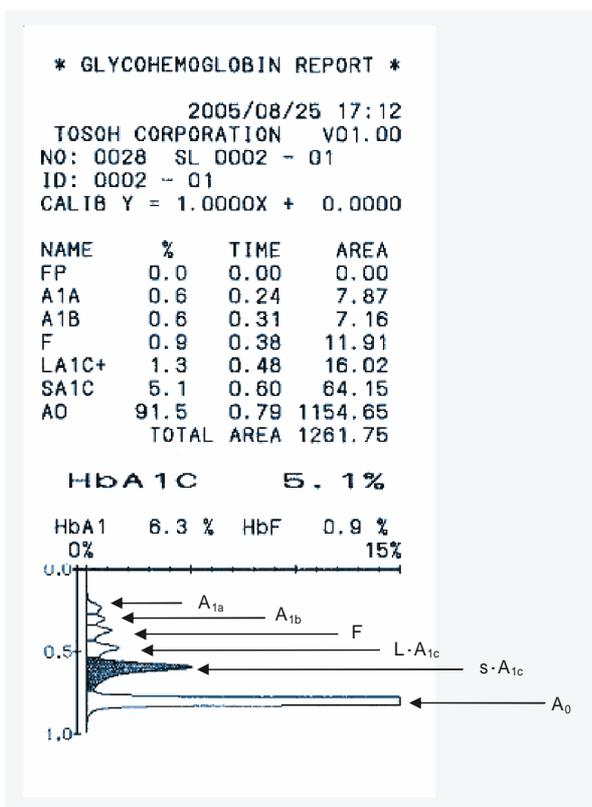


図2 HLC-723G8の測定結果レポートとクロマトグラム

結果を示す。待機状態が3時間経過しても初測定の結果と以降の測定の結果に差はなく、1.0分の予備動作で初検体を正確に測定できるようになった。これにより1stレポート出力時間を2.0分まで短縮することができた。

4. 基本性能

[1] 基本性能

オートサンプラとカラム間の配管容量を低容量化することで、G7と同じカラムサイズ(4.6mm I.D. × 20mm)を用いて、G7で1.2分を要した分析時間を1.0分に短縮することが可能となった。クロマトグラムを図2に示す。G7と同じく、ヘモグロビンをA_{1a}, A_{1b}, F, L-A_{1c}, s-A_{1c}, A₀の6分画へ分離可能である。図3にGHbV、G7とのA_{1c}(%)の相関を示す。

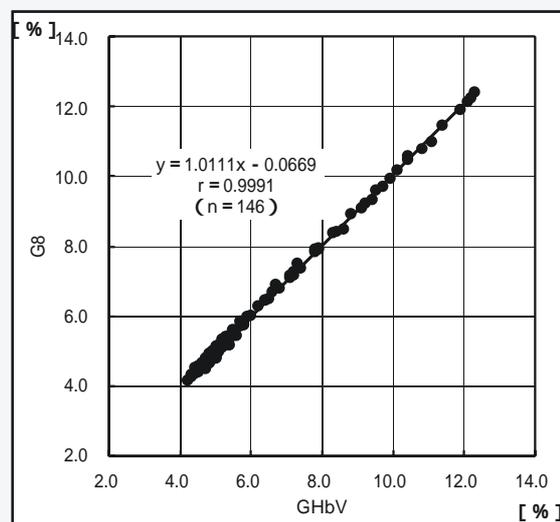
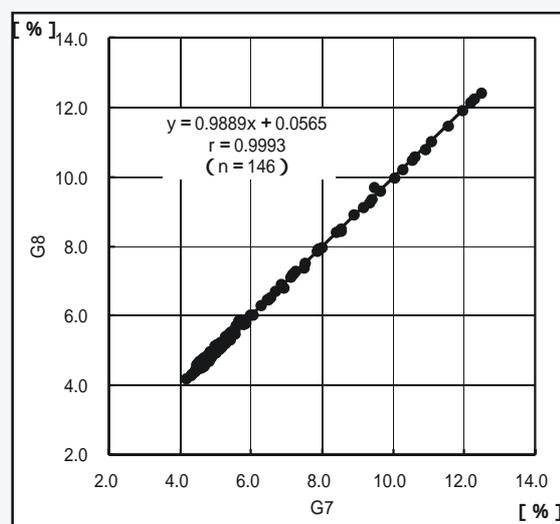


図3 GHb8と前モデルG7、GHbVとのs-A_{1c}(%)の相関性

相関係数はいずれも $r = 0.999$ 以上であり良好な相関性を示した。

表3に連続再現性と日差再現性の結果を示す。

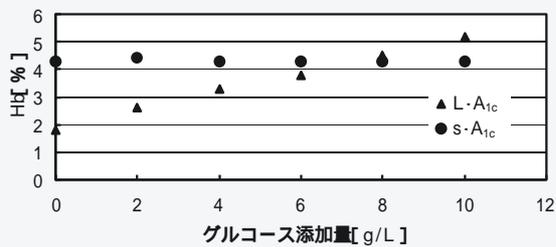
$A_{1c}(\%)$ の異なる検体で評価した結果、すべての検

表3 $s\text{-}A_{1c}(\%)$ の再現性結果

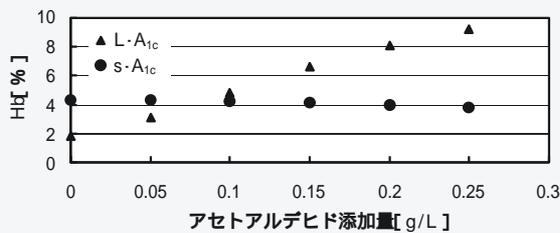
連続再現性 (n=10)			
	L	M	H
平均値	5.15	7.45	9.76
SD	0.04	0.05	0.03
CV(%)	0.72	0.73	0.27

日差再現性 (n=10)		
	L	H
平均値	5.21	9.75
SD	0.04	0.07
CV(%)	0.79	0.74

不安定型グリコヘモグロビンの影響



アルデヒド化ヘモグロビンの影響



カルバミル化ヘモグロビンの影響

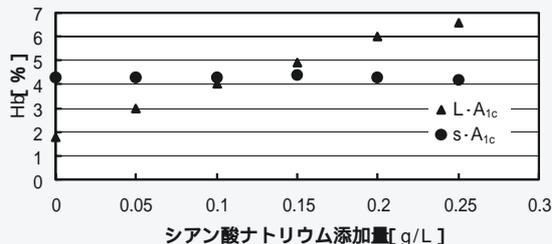


図4 修飾ヘモグロビンが $s\text{-}A_{1c}(\%)$ に及ぼす影響

体で連続再現性、日差再現性ともに CV1.0% 以下の良好な再現性を示した。

[2] 修飾ヘモグロビンの影響

試料は健康人血に所定量のグルコース、アセトアルデヒド、シアン酸ナトリウムを添加し、35℃ で1時間インキュベートし調整した。図4に結果を示す。

(1) 不安定型グリコヘモグロビンの影響

グルコース添加量の増加とともに $L\text{-}A_{1c}$ が増加するが、 $s\text{-}A_{1c}$ 値は添加量 10 g/L までは変化せず、影響のないことを確認した。

(2) アルデヒド化ヘモグロビンの影響

アルデヒドを添加した場合も $L\text{-}A_{1c}$ が増加することから、アルデヒド化ヘモグロビンも $L\text{-}A_{1c}$ と一緒に溶出していることがわかる。 $s\text{-}A_{1c}$ 値への影響はアルデヒド添加量で 0.2 g/L まで認められなかった。

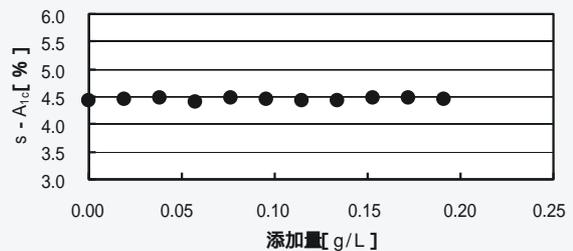
(3) カルバミル化ヘモグロビンの影響

カルバミル化ヘモグロビンもアルデヒド化ヘモグロビン同様に $L\text{-}A_{1c}$ 分画に溶出した。 $s\text{-}A_{1c}$ 値への影響はシアン酸ナトリウム添加量で 0.25 g/L まで認められなかった。

[3] 干渉物質の影響

遊離型ビリルビン (ビリルビン F)、抱合型ビリルビン (ビリルビン C)、乳皮およびアセチルサリチル酸の影響を図5及び図6に示す。

遊離型ビリルビン



抱合型ビリルビン

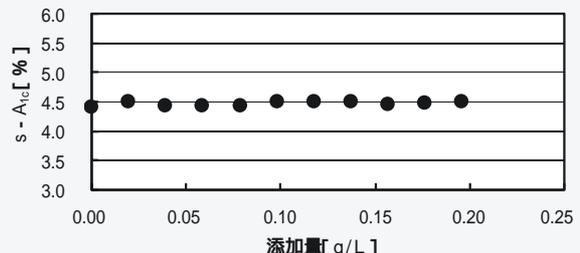


図5 干渉物質(ビリルビン)が $s\text{-}A_{1c}(\%)$ に及ぼす影響

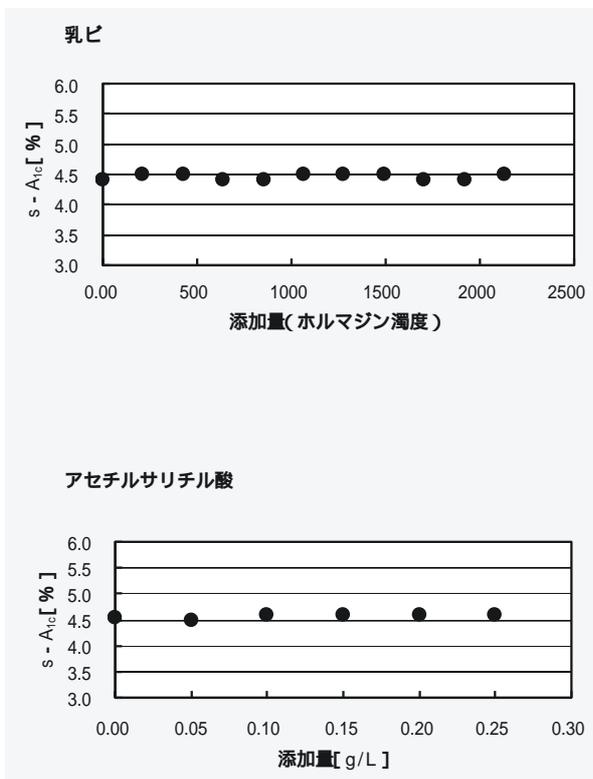


図6 干渉物質(乳ビ、アセチルサリチル酸)が $s-A_{1c}$ (%)に及ぼす影響

遊離型ビリルビンは0.19 g/Lまで、抱合型ビリルビンは0.20 g/Lまで、乳ビは2100ホルマジン濁度まで添加の影響を受けなかった。

アセチルサリチル酸添加試料は添加後、35 で1時間インキュベートしたのち測定したが、添加量0.25g/Lまで影響を認めなかった。

5.まとめ

G8は2.0分で1stレポートを出力可能な迅速測定と60検体/時間の高処理能力を実現した自動グリコヘモグロビン分析計である。本開発品は修飾ヘモグロビンおよび干渉物質の影響を受けず、日差再現性はCV1%以下と再現性に優れ、信頼性の高い測定が可能である。前モデルであるGHbVおよびG7と高い相関性を維持していることから、高い信頼性と多検体処理が必要とされる検査室において幅広く利用されるものと期待される。