

●小型グリコヘモグロビン分析計 HLC-723GX の開発

バイオサイエンス事業部 開発部 セパレーションセンター
システム開発 G
東ソーハイテック 生産技術課

村上 卓司
青柳 雄大
江藤 享
河村 真成

1. はじめに

自動グリコヘモグロビン分析計 HLC-723 シリーズは、高速液体クロマトグラフィー法（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（HbA_{1c}）を測定する自動分析計である。同シリーズは 1983 年の発売以来、糖尿病検査装置として広く普及し、現在では HbA_{1c} 分析計の標準機のひとつとなっている。本分析計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-A_{1c}）と安定型グリコヘモグロビン（s-A_{1c}）を短時間で再現性よく分離できる事が特徴であり、最新モデルである G9 は分析時間が 45 秒、処理能力 80 検体/時間の高速・高処理性能有し、高い信頼性と処理能力を必要とする多くの施設で使用されている。

しかし、高速・高処理性能を追求した本分析計は装置サイズや操作性など検体数の少ない個人病院などでは利用しにくい点があった。

自動グリコヘモグロビン分析計 HLC-723GX は検体数の少ない施設向けに開発した小型グリコヘモグロビン分析計である。本機は小型でありながら、HPLC 法の特徴である高い再現性を有し、従来機と同等の測定性能を有している。本報告では、この GX 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。

3. 装置の特徴

GX は検体数が少なく、HPLC 法に不慣れな施設でも安全に使用できるように、装置の小型化と安全装置の強化を行なった。

GX では、これまでの外付けのサンプルローダをやめ、最大搭載数 10 検体のターンテーブル型の小型サンプラを採用することで装置の小型化を行なった。また、同サンプラ部をインターロック機能付きのカバー



図 1 装置外観

表 1 HLC-723GX の主な仕様

測定項目	HbA _{1c} (s-A _{1c})、HbF
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	2.2min / 検体
検出方式	2 波長吸光（検出波長 415nm）
検体使用量	全血 3 μL、希釈溶血液 120 μL
最大検体搭載数	10 検体
注入方法	サンプルループ方式
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	φ 12～φ 15×75～100nm 真空採血管 汎用サンプルカップ
検体 ID 認識	最大 20 桁のバーコード（オプション）
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	USB メモリー
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℃）

で覆うことで、動作中の不要なアクセスを防止し、より安全に使用できる装置とした。

従来機では高速処理を実現するため、検体の前処理においてサンプリング用の精密シリンジ（250 μL）と分注用の大型シリンジ（5mL）の 2 つのシリンジを使用していた。GX では後述する異常ヘモグロビンを分離するために分析時間を 2.2 分/検体としたことにより、前処理時間とともに希釈精度に余裕が生まれた。



図2 ターンテーブル型サンプル部

シリンジの精度と容量、動作速度を再検討した結果、中型シリンジ (2.5mL) のみで希釈可能であることを見出し、装置を簡素化することが可能となった。

表2に、従来機との外寸比較を示す。GXは従来機に比べて設置スペースを約25%削減し、重量で約9Kgの小型軽量化を達成した。

表2 HLC-723GXとHLC-723G8の比較

	外寸 (mm)	重量 (kg)
HLC-723GX	370(W)×525(D)×482(H)	25
HLC-723G8	530(W)×515(D)×482(H)	34

また従来機では、廃液を自然落下により排出するため、廃液タンクを設置台下に設置しなければならなかった。しかしながら、GXではデスク上に装置と廃液タンクを並べて設置できるように送液ポンプによる廃液処理を可能とし、装置設置環境の自由度を高めた。

4. 基本性能

[1] 基本性能

GXは非多孔性陽イオン交換カラム (4.6mmI.D. × 20mm) と3種類の溶離液を用いて、血中ヘモグロビン中に占めるs-A1cの割合を2.2分で測定する。分析結果を図3に示す。健康人では、ヘモグロビンをA1a, A1b, F, L-A1c, s-A1c, A0の6分画に分離し (図3 (A))、異常ヘモグロビン症患者においては、HbD, HbS, HbCおよびこれらに類似する異常ヘモグロビンが存在する場合には、これらのヘモグロビン類を分離し、それぞれH-V0, H-V1, H-V2として報告する (図3 (B) はHbS含有例)。

図4にGXで得られたs-A1c値とG7またはG8で得られたs-A1c値との相関を示す。相関係数はいずれも $r = 0.999$ 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。

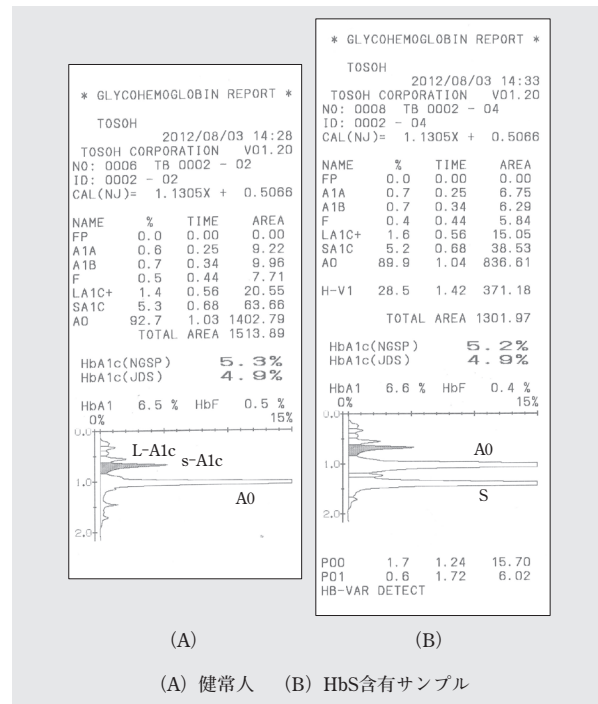


図3 HLC-723GXの測定結果レポートとクロマトグラム

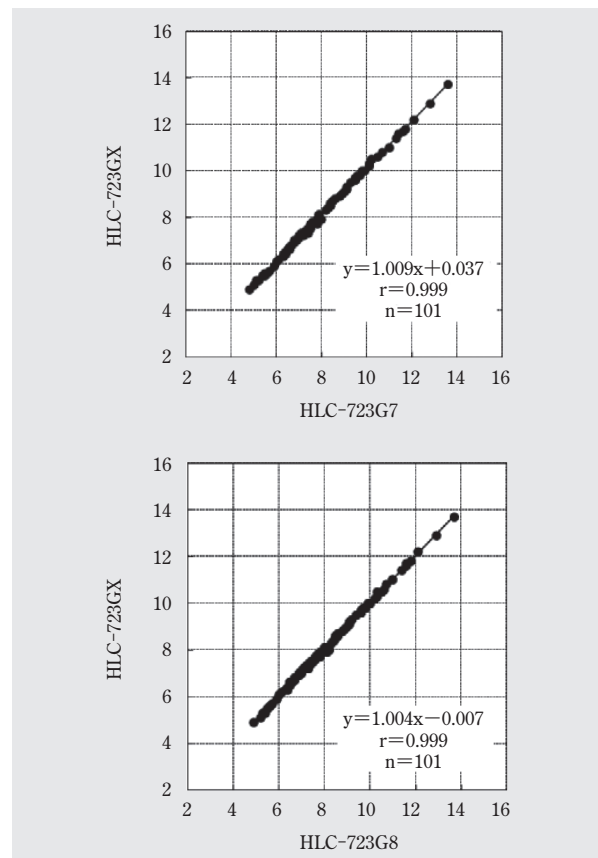


図4 HLC-723GXと前モデルG7、G8とのs-A1c(%)の相関性

s-A1c値の異なる検体で評価した結果、すべての検体で連続再現性、日差再現性ともにCV0.9%以下の良好な再現性を示した。

表3 s-A1c (%) の再現性結果

連続再現性 (n=10)			
	L	M	H
平均値	5.40	7.99	10.50
SD	0.00	0.03	0.00
CV (%)	0.0	0.4	0.0
日差再現性 (n=10)			
	L	H	
平均値	5.34	10.42	
SD	0.05	0.06	
CV (%)	0.9	0.6	

[2] 修飾ヘモグロビンの影響

s-A1c 測定値に対する各種修飾ヘモグロビンの影響を調べるため、健常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、アセチルサリチル酸を添加し、35℃で1時間インキュベートし調整したものを試料として測定した。図5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-A1cが増加するが、s-A1c値は添加量10g/Lまでは変化せず、影響のないことを確認した。

(2) カルバミル化ヘモグロビンの影響

シアン酸ナトリウムを全血に添加してインキュベートするとシアン酸とヘモグロビンが反応しカルバミル化ヘモグロビンが生成する。GXではカルバミル化ヘモグロビンはL-A1cと一緒に溶出するため、シアン酸ナトリウムの添加量が増加するとともにL-A1cは増加する。しかし、s-A1c値はほぼ一定で、本試験ではカルバミル化ヘモグロビンの影響はシアン酸ナトリウム添加量で0.25g/Lまで認められなかった。

(3) 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に増加するアルデヒド化ヘモグロビンはL-A1cと一緒に溶出し、添加量の増加とともにL-A1cは増加する。しかし、s-A1c値はほぼ一定で、本試験ではアルデヒドの影響は添加量で0.25g/Lまで認められなかった。

(4) アセチル化ヘモグロビンの影響

アセチルサリチル酸を添加した場合にアセチル化ヘモグロビンが生成するが、本試験ではアセチルサリチル酸を0.50g/Lまで添加したが、L-A1c、s-A1cともに変化は認められなかった。

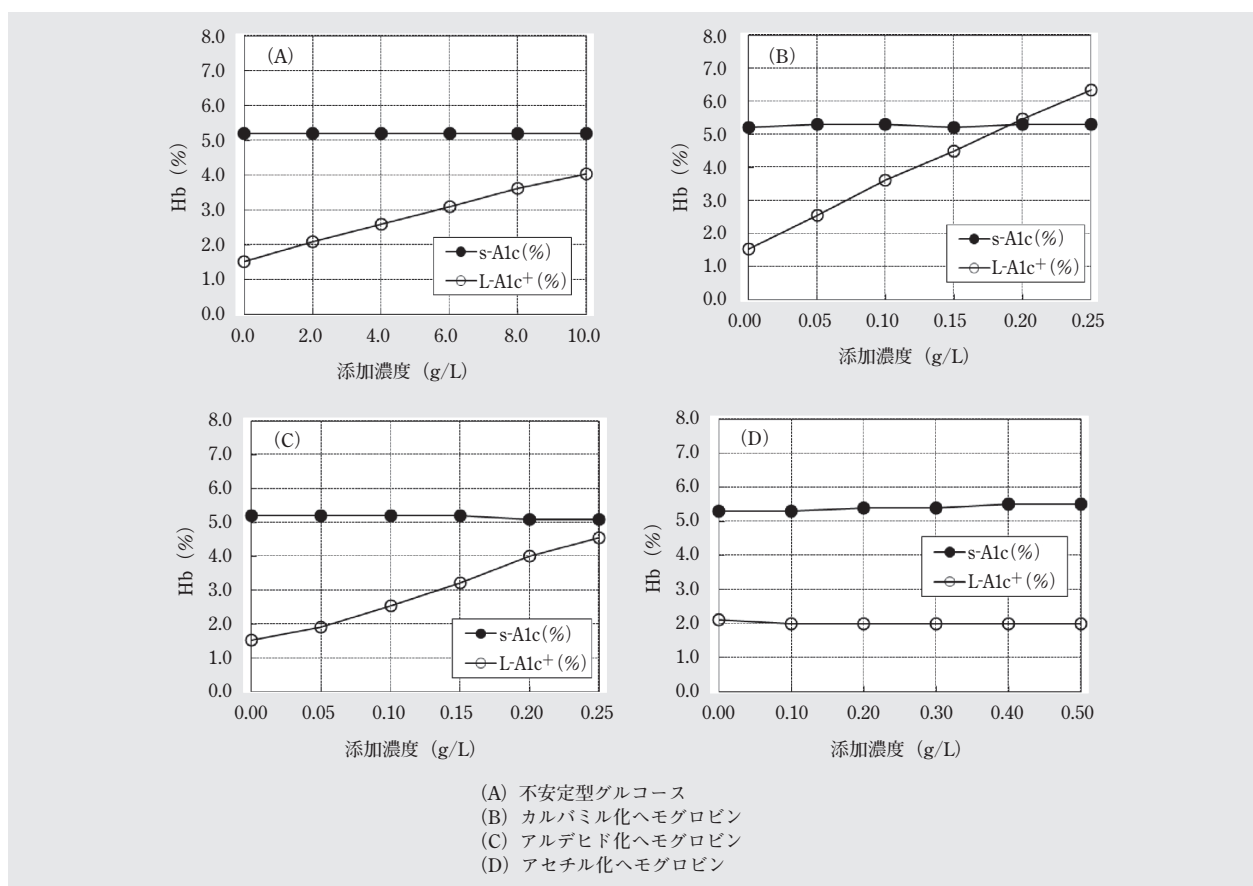


図5 修飾ヘモグロビンがs-A1c (%) に及ぼす影響

[3] 共存物質の影響

血液中に高濃度で共存する可能性のある物質として、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）、トリグリセリドを全血に添加して、s-A1c 値に対する影響を調べた。結果を図 6 に示す。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、トリグリセリドは 20g/L まで添加の影響を受けなかった。

れまで HPLC 法を利用していない施設において幅広く利用されるものと期待される。

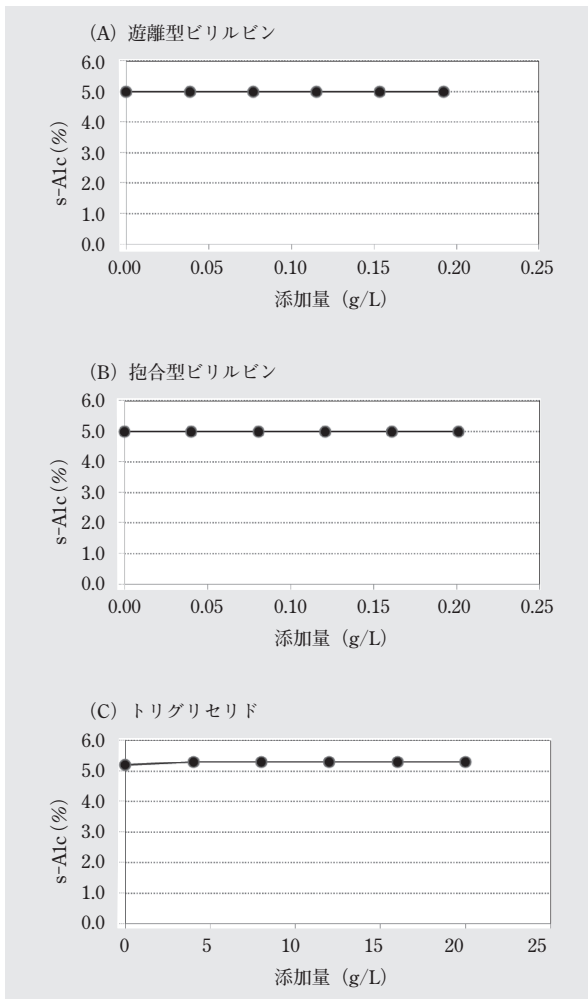


図 6 干渉物質がs-A1c (%)に及ぼす影響

5. まとめ

GXはこれまで検体数が少なく HPLC 法を利用できなかった施設向けに新たに開発した小型グリコ分析計である。小型分析計でありながら、多検体高処理能力機種と同様に高い再現性を有し、修飾ヘモグロビンおよび干渉物質の影響を受けずに s-A1c を測定可能である。また、3種の異常ヘモグロビンも分離可能であり、信頼性の高い測定が可能である。前モデルである G7 および G8 と高い相関性を維持しているため、こ