

# グリコヘモグロビン分析装置 (HLC-723GHbV A<sub>1c</sub>2.2) の開発 - II

福 永 信 吾  
笠 井 正 信

## Developing of the Automatic Glycohemoglobin Analyzer (HLC-723GHbV A<sub>1c</sub>2.2)-II

Shingo FUKUNAGA  
Masanobu KASAI

A new data processing method utilizing correlation coefficients has been developed for the automatic glycohemoglobin analyzer HLC-723GHbV A<sub>1c</sub>2.2. Using this data processing method, it is quite easy to extract and classify the abnormal data and furthermore to find out the origin of anomaly.

### 1. はじめに

グリコヘモグロビン分析装置HLC-723GHbシリーズは、1983年の発売開始以来、糖尿病診断装置として広く普及し、I型～IIIs型までの装置が上市されて、A<sub>1c</sub>測定用の装置としては事実上の標準機の1つになっている。<sup>1)</sup>

今回開発を行ったHLC-723GHbV A<sub>1c</sub>2.2 (以下、本装置と略す)では、新規ゲルの開発と装置ハードウェア、およびデータ処理ソフトウェアの工夫により、1測定2.2分 (従来のIII、IIIsは3.5分) という高速測定と、高い測定精度、簡単な操作性を実現している。装置の概要やハードウェアの工夫は別の報告 (「グリコヘモグロビン分析装置 (HLC-723GHbV A<sub>1c</sub>2.2) の開発 - I」) にゆずることとし、本報告では、今回の開発において新しく開発されたデータ処理方法の中で、相関係数を用いたクロマトグラム分析について述べる。

### 2. 本装置で得られるクロマトグラム

Fig. 1 に本装置で得られる正常成人血液の典型的ク

ロマトグラムを示す。正常成人の血液中のヘモグロビンは、単一の成分ではなく、HPLCシステムにより Fig. 1 のような各成分に分離される。これらの成分の中で安定型糖化ヘモグロビン成分であるSA<sub>1c</sub>の血液中の含量は、糖尿病の診断や治療の経過観察のために欠かせない日常検査項目となっており、実際に本装置が使用される検査センターや病院などでは多くの患者

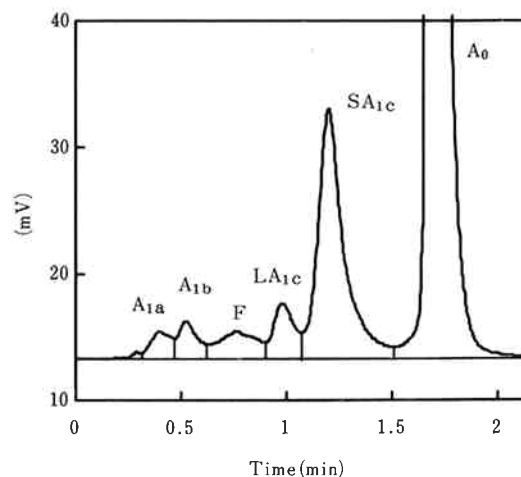


Fig. 1 Chromatograph of a standard sample.

の血液検体が、自動的に処理され、結果が診断や治療に有効に使用されることになる。

しかし、従来のデータ処理方法では、これらの分離ピークのピーク位置やピーク面積（面積パーセント）による情報のみを数値として扱っていたので、クロマトグラムの形状そのものが異常であったような場合は、正常な数値が得られない可能性があった（Fig. 2 参照）。また、これらの異常の判断と原因の解析については、従来のデータ処理方法では、専ら熟練技術者の判断によるしかないという問題点があった。

このような、形状が異常となるクロマトグラムが得られる例としては、以下の2通りが考えられる。すなわち、

- ① 検体に異常がある場合
- ② 装置に異常がある場合

である。①としては、異常ヘモグロビンと呼ばれるものがあるが、これは、分子構造が通常のヘモグロビンと異なる血液のことで、世界的に数百種類の報告例があり<sup>2)</sup>、日本国内では数千人に1人程度の確率で存在することが知られている<sup>3)</sup>。②としては、カラムの劣化などの装置自身に起因して発生するクロマトグラムの異常が考えられる。

本報告のデータ処理方法は、初めてクロマトグラムの形状そのものに着目したものであり、クロマトグラム形状が異常であるかどうかの判断を客観的に行うことができるとともに、異常の原因についても定量的な情報を与える事ができる。

### 3. 相関係数を用いたデータ処理

#### [1] 相関係数

本報告のデータ処理では、クロマトグラムの形状を比較する際に、相関係数と呼ばれる係数を使用する。相関係数は、統計学で2系列のデータの相関を表わすために使用する係数であり<sup>4)</sup>、式(1)で表わされる。

$$C = \frac{\sum X \cdot Y - \frac{\sum X \cdot \sum Y}{n}}{\sqrt{\sum X^2 - \frac{\sum X \cdot \sum X}{n}} \cdot \sqrt{\sum Y^2 - \frac{\sum Y \cdot \sum Y}{n}}} \quad \dots(1)$$

n : データ点数

X, Y : 測定データ

C : 相関係数

相関係数Cは、-1と1の間の値をとるが、特にXがYの定数倍の場合、すなわち2つのクロマトグラムの規格化した形状が同一の場合は-1または1となり、

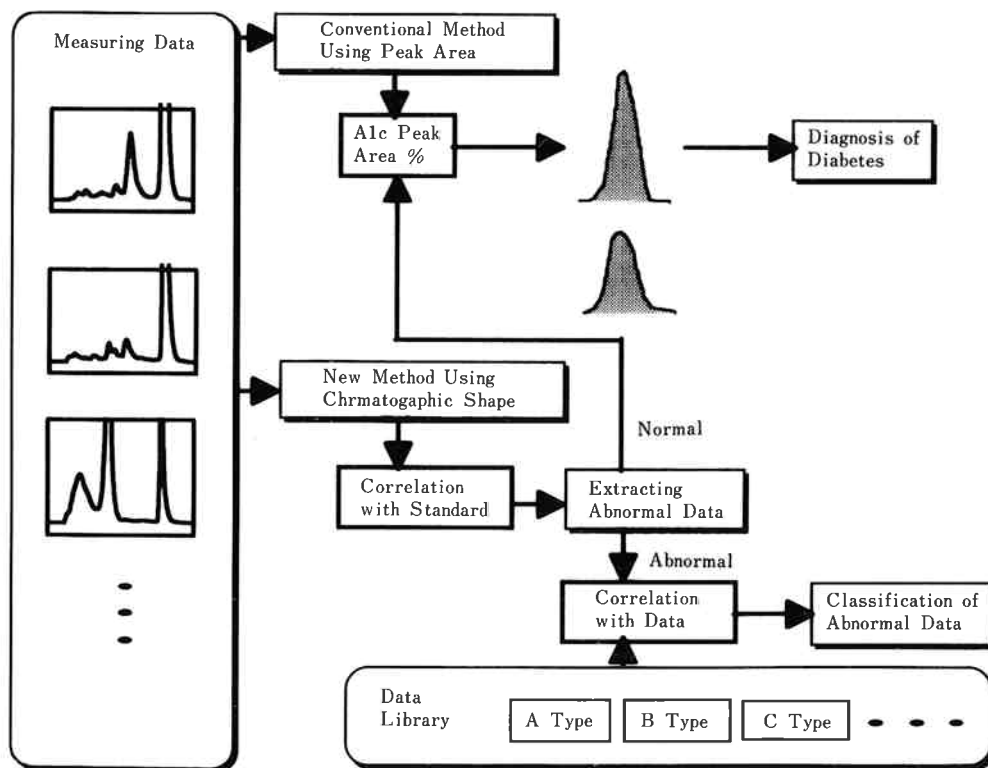


Fig. 2 Flow chart of data processing using correlation coefficient.

XとYが独立の場合、すなわち2つのクロマトグラムの形状がまったく異なる場合は0となる。従って、Cの絶対値または2乗値の大小により、クロマトグラムの形状の「類似度(形状がどれくらい似ているか)」が評価できる。

〔2〕 相関係数を用いたデータ処理の方法

Fig. 2に示すように、従来のピーク面積のみによる情報だけでなく、この相関係数を用いてクロマトグラム形状自身に着目することにより、より多くの情報を得る事ができるようになる。すなわち、2段階の計算を行う事により、次の2段階の情報を得ることが可能となる。

① 標準クロマトグラムと形状の異なる異常データの抽出

② 異常データの分類と発生原因の定量的判断基準  
 まず第1段階として、あらかじめ測定しておいた標準試料のクロマトグラムの一部のデータをX、測定データをYとして相関係数を求め、形状を比較する。ここで、クロマトグラムの一部を使用するのは、糖化ヘモグロビンに特徴的な変化が現れる部分を抽出するためであり、本装置の場合、溶出時間で0.2分~1.5分の部分を使用することで、形状の差が明確になることを実験的に確認している。この相関係数の2乗値があるしきい値より大きい場合は、正常クロマトグラムと見なし、しきい値より小さい場合は、異常クロマトグラムと見なすことにより、標準クロマトグラムと形状が異なるクロマトグラムを客観的に抽出することができる。本装置の場合、しきい値を0.8程度に設定することにより精度よく異常データを抽出することが可能であった。

次に第2段階として、抽出された異常データをX、あらかじめ測定しておいたいくつかの典型的異常データをYとして、相関係数を計算して相関係数の2乗が大きい順にYを並べかえる。これにより、どのクロマトグラム形状にどの程度形状が近いかが明確になり、異常データの分類ができるのみでなく、異常データの原因をある程度定量的に判断することができる。

〔3〕 実測データへの応用

以下に、実測データ (Fig. 3~6) に応用した例を示す。なお、あらかじめFig. 1の標準試料のクロマトグラム、Fig. 7の典型的異常データ(タイプA)、Fig. 8の典型的異常データ(タイプB)が測定されている。

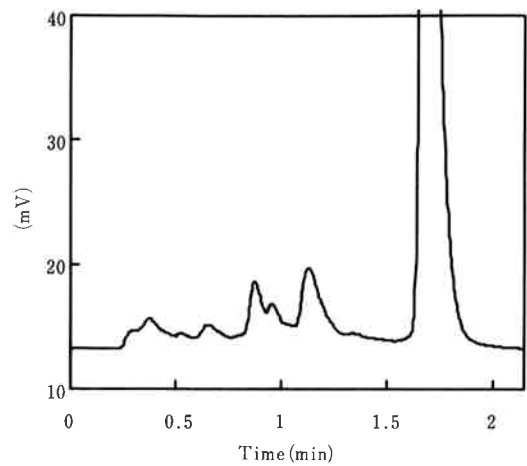


Fig. 3 Chromatographic Data 1 .

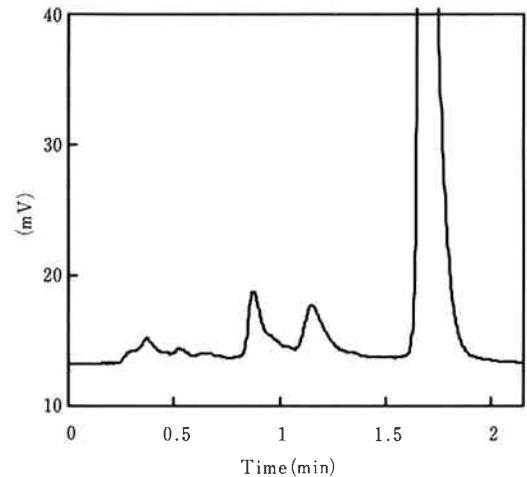


Fig. 4 Chromatographic Data 2 .

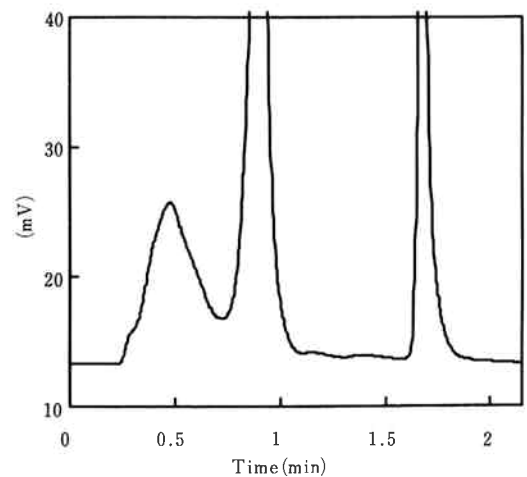


Fig. 5 Chromatographic Data 3 .

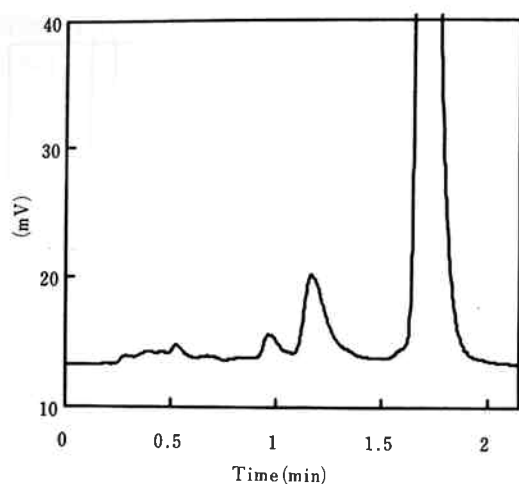


Fig. 6 Chromatographic Data 4 .

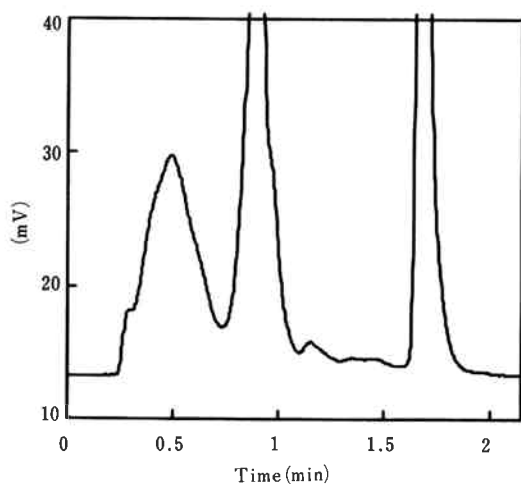


Fig. 7 Type A abnormal chromatographic data.

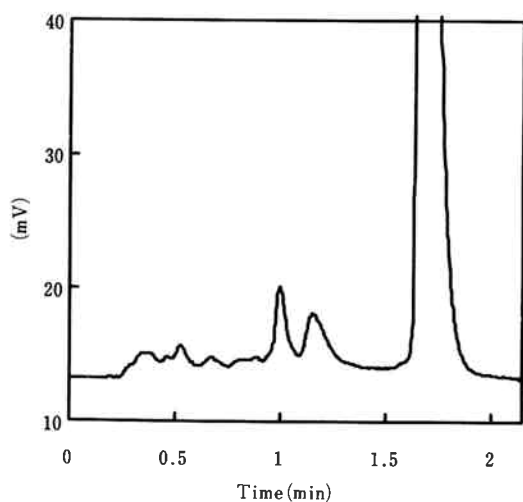


Fig. 8 Type B abnormal chromatographic data.

## (1) 異常データの抽出

まず、実測データ1~4 (Fig. 3~6) と標準試料のクロマトグラムとの相関係数を0.2~1.5分の間で計算すると、Table 1 の様になる。0.8をしきい値とすると、データ1、2、3が標準データと形状が異なる異常データと判定される。実際にデータ1、2、3のクロマトグラムを示すFig. 3、4および5と、正常な標準クロマトグラムであるFig. 1を比較すると、溶出時間1分強の部分のピーク形状が大きく異なる異常クロマトグラムであることが分かる。これに対してデータ4のクロマトグラムであるFig. 6では、このピークが若干低いものの、全体の形状は標準クロマトグラムに近く、正常なクロマトグラムであると考えられる。

## (2) 異常データの分類

次に、異常クロマトグラムと判定されたデータ(1、2、3)について、あらかじめ測定しておいた2種類の典型的異常データとの相関係数を先程と同じように、0.2~1.5分の間で計算してみる。なお、Fig. 7のタイプAは、新生児の血液を試料とした場合に観測されるクロマトグラムであり、Fig. 8のタイプBは、先に述べた異常ヘモグロビンの試料を測定した場合に観測されるクロマトグラムである。

データ1に関する結果をTable 2に示す。Table 2に示したように、データ1 (Fig. 3のクロマトグラム) は、タイプAの異常クロマトグラムと非常に高い相関を示す一方で、標準クロマトグラムやタイプBの異常クロマトグラムとの相関は非常に低い事が分かる。この結果から、データ1の試料はタイプAの試料と同じ、新生児の血液であることがわかる。

Table 1 Correlation between measured data and standard data

Measured data	C <sup>2</sup>	Judgments
Data 1 (Fig. 3)	0.175	Abnormal
Data 2 (Fig. 4)	0.245	Abnormal
Data 3 (Fig. 5)	0.042	Abnormal
Data 4 (Fig. 6)	0.874	Normal

Table 2 Correlation between Data 1 and typical abnormal data

Measured data	C <sup>2</sup>
Type A (Fig. 7)	0.927
Standard (Fig. 1)	0.042
Type B (Fig. 8)	0.001

次に、データ2に関する結果をTable 3に示す。Table 3に示したように、データ2 (Fig. 4のクロマトグラム)は、タイプBの異常クロマトグラムと比較的高い相関を示す一方で、標準クロマトグラムやタイプAのクロマトグラムとの相関は比較的低いことがわかる。この結果から、データ2の試料はタイプBの試料と同じ種類の異常ヘモグロビンの試料である可能性が高い事が推測される。

データ3に関する結果Table 4の結果をみると、標準、タンブA、タイプBのどのクロマトグラムとの相関もほぼ同様の低い値を示しており、データ3はタイプA、でもタイプBでもない未知の原因による異常(例えば、タイプBと違う種類の異常ヘモグロビン)を持ったクロマトグラムであると推測される。

#### 4. まとめ

以上述べてきたように、本報告のデータ処理方法によれば、異常データの抽出と、異常データの原因の解明を定量的に行うことが可能である。異常データの分

類では、今回2種類の異常データ(タイプA、B)のみを例として上げたが、より多くの異常クロマトグラムを使用することにより、より正確に異常の原因を解明できるようになる。例えば、異常ヘモグロビンについても国内で、分子構造が決定されたものだけでも約130種あり、これらについてのデータをライブラリ化し積み上げて行くことにより、異常ヘモグロビンの種類をも同定できる可能性を持っている。さらに、カラムの劣化や吸引不良など装置自身の原因による異常データも加えれば、異常クロマトグラムが測定された場合の原因解析が容易となり、速やかに適切な処理を施すことが可能である。

現時点では、本装置は発売直前であり、データの蓄積も少ないため、本報告のデータ処理機能は、まだ搭載されていない。しかし、測定データの蓄積が増えれば増えるほど、判断精度が向上していくため、今後、データの蓄積が進み、異常データのデータベース化が可能になった段階で、装置への搭載を実現して行きたいと考えている。

また、本報告のデータ処理方法そのものは、グリコヘモグロビン測定装置のクロマトグラムに対してのみでなく、一般の汎用HPLC装置のクロマトグラムに対しての応用も当然可能である。例えば、装置の異常時のクロマトグラムをデータベース化しておけば、異常原因をすばやく、的確に判断できるなど、幅広い応用が考えられる。

#### 文 献

- 1) HLC-723GHbV A<sub>1c</sub>2.2 技術資料 (1996)
- 2) IHIC variablt list, Hemoglobin, 12, 207 (1988)
- 3) 原野昭雄, 遺伝, 42, 29 (1988)
- 4) 玉虫文一也編, 理化学辞典 第3版増補版, 750 PP

Table 3 Correlation between Data 2 and typical abnormal data

Measured data	C <sup>2</sup>
Type B (Fig. 8)	0.350
Standard (Fig. 1)	0.175
Type A (Fig. 7)	0.122

Table 4 Correlation between Data 3 and typical abnormal data

Measured data	C <sup>2</sup>
Type B (Fig. 8)	0.285
Type A (Fig. 7)	0.263
Standard (Fig. 1)	0.245



著 者

氏名 福永信吾

Shingo FUKUNAGA

入社 昭和63年4月1日

所属 東ソー・ハイテック(株)

出向

設計課



著 者

氏名 笠井正信

Masanobu KASAI

入社 平成元年4月1日

所属 科学計測事業部

技術部

開発課