

論文の内容の要旨

氏名：宮 下 徹 夫

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Study of a newly developed high-performance liquid chromatography analyser for glycosylated haemoglobin measurements in blood containing haemoglobin variants in the Japanese population
(日本人にみられるヘモグロビンバリエント含有血液を用いた新型グリコヘモグロビン測定用 HPLC の検討)

背景: ヘモグロビン A1c (HbA1c) 測定では、陽イオン交換カラムを用いた高速液体クロマトグラフ (High Performance Liquid Chromatograph, HPLC) による方法が普及している。

しかし、当施設で使用している HLC-723G8 型 (G8, 東ソー(株)) のような短時間で HbA1c 測定が可能な HPLC では、グロビン鎖遺伝子の先天性異常により産生されるヘモグロビンバリエント (Hb variant) が存在する血液で正しい測定値を得ることは困難であり、誤診の原因にも繋がりがねない。わが国で見いだされる Hb バリエントは、海外に比べ多彩であるが頻度は約 2,500 人に一人と少なく、無症状なものが主流であり HbS や HbC といった世界的に主要なものはほとんど見られない。しかし近年、糖尿病患者の増加にともない HbA1c 測定に影響を及ぼす Hb バリエントの存在は無視できない状況となってきた。そこでこのような Hb バリエントを含む可能性のある血液試料を、HbA1c 測定用 HPLC の不安定型ヘモグロビン A1c 画分値と空腹時血糖値との相関関係を利用して抽出し、高分解 HPLC により Hb バリエントの存在を確認する 2つのステップからなる検出法(当施設方式)を独自に開発して Hb バリエントを検出してきた。しかしこの方法は検査装置の改造を伴うので、メーカーのサポートを受けられず、多くの施設で利用することは困難である。最近このような背景から、Hb バリエント検出が可能な HbA1c 測定用 HPLC である HLC-723GX 型(GX, 東ソー(株))が開発された。この装置は、海外向けの G8 Variant mode に基づいた仕様であり、海外で高頻度に発見される HbD, HbS, HbC を HbA0 より遅い溶離時間に分離して補正し、正しい HbA1c 測定値が得られるというが、海外仕様の HbA1c 測定用 HPLC が、日本人にみられる Hb バリエントに有効かどうかの研究報告は見当たらない。

目的: 本研究の目的は、当施設方式により発見された Hb バリエントを含む患者血液を用いて、新しく開発された海外仕様に基づく GX が装置単独で、わが国でみられる Hb バリエントに対して当施設方式と同等に利用可能か研究することである。

方法: GX の基礎的検討では、測定値の再現性、直線性、従来装置との相関および化学修飾ヘモグロビンの影響について調べた。また、日常検査で発見された 39 例の Hb バリエント含有検体を用いて GX における HbA1c 測定値に対する影響について検討した。

結果: HbA1c 測定の同時・測定間再現性は変動係数 (Coefficient of Variation, CV) 1.0%以下と良好で幅広い測定レンジが確認され、従来機種ともよく相関し化学修飾ヘモグロビンによる影響も認めなかった。海外で高頻度に検出される HbD や HbS と同様な電氣的性質をもち HbA0 より遅い溶離時間に溶出される Hb バリエントは分離され補正された HbA1c 値が得られ、Hb バリエントの影響を受けないとされる G8 Boronate Affinity mode や免疫学的測定法による測定値にほぼ一致した。HbA0 より早いか、HbA0 の溶離時間近くに溶出される Hb バリエントや HbE を含む血液試料のほとんどは GX の HbA1c 測定値が偽低値を示した。また一部の Hb バリエントは全く分離されず、その存在を見落として誤診の原因に繋がる危険があることが確認された。

結論: GX や海外仕様の HbA1c 測定用 HPLC は HbS や HbC などのような電氣的性質の Hb バリエントを含む血液では正しい HbA1c 測定が可能であるが、日本人にみられる多彩な Hb バリエントの影響は回避が困難であることが明らかとなった。また一部の Hb バリエントは分離されないことが確認され、更なる改良が期待された。これらの装置をわが国で用いる場合には、当施設方式のような Hb バリエント検出法を併用する必要があると、東南アジアに多くみられる HbE の分離モードも別途備えておくべきであると結論した。本研究では以上のような新規知見を見出し、特に臨床現場での実践に直結する臨床検査医学領域の発展に貢献すると考える。