

〈特集：「生大」コラボ企画Ⅱ（第30回年次学術集会より）〉

序文（巻頭言）：「生大」コラボ企画Ⅱ
「徹底討論！なんでそれなん？ -HbA1c編-」

上田 一仁

Preface: Collaborative project II
“ Thorough discussion on methods of HbA1c measurement ”

Kazuhito Ueda

Summary At the 30th Meeting of the Society of Analytical Bioscience, three speakers talked about the latest advances in the glycosylated hemoglobin (HbA1c) assay. This seminar was conducted in the form of a debate with the audience, as a collaborative project with the 4th Osaka Association of Medical Technologists Congress. Methods of HbA1c measurement are based on several different principles, and each method has its advantages and disadvantages. By participating in this seminar, we could obtain the means to choose between these methods. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) assay allows the rapid measurement and detection of mutant forms of hemoglobin. Since the antibody-based immunoassay and enzyme-based enzymatic assay can be performed using a general-purpose automatic analyzer, a large number of samples can be processed. In contrast, the HPLC assay requires specialized equipment and is not suitable for processing a large number of samples. In addition, the immunoassay may be affected by plasma components, and the enzymatic assays may be affected by enzymatic reaction inhibitors. It is necessary for the user to understand the characteristics of each measurement method and select the measurement method that meets the requirements of the institution. HbA1c measurement is an important laboratory test; however, there are differences between the methods, and the interpretation of the results requires familiarity with the latest developments and practical experience. We hope that this collaborative project will give you an opportunity to turn your attention to a more “SUTEKI” HbA1c measurement.

Key words: Glycosylated hemoglobin, HPLC, Immunoassay, Enzymatic assay

関西医療大学保健医療学部臨床検査学科
〒590-0482 大阪府泉南郡熊取町若葉2-11-1
Tel : +81-72-453-8251
E-mail : ueda@kansai.ac.jp

Department of Medical Technology, Faculty of Health
Sciences, Kansai University of Health Sciences
2-11-1 Wakaba, Kumatori-cho, Sennan-gun, Osaka
590-0482, Japan

糖尿病の診療に有用な検査として、グリコヘモグロビン (HbA1c) がある。現在、HbA1cはその測定環境の違いによって、種々の原理のものが利用されている。「測定環境の違い」とは、糖尿病の専門病院・医院なのか一般の病院・医院なのか、一度に処理すべき検体数はどのくらいなのか、結果を得るまでの時間やコストはどれくらいが望まれるのか、いわゆる医療機関で実施されるのかドラッグストアなどで実施されるのか、などの違いで多岐にわたっている。これまでもたびたび学会や研修会では、異なる原理の測定法について、各メーカーの方々に特徴をご紹介いただくスタイルのシンポジウムや学術セミナーなどの企画が実施されてきた。

一方、今回は生物試料分析科学会年次学術集会 (生物試料) と大臨技医学検査学会 (大臨技) が同時開催されるという状況で、企画を担う立場であったわれわれは何か両学会がコラボして参加者の皆様に有用な情報を提供できないかと知恵を絞っていた。これまでの学会ではあまり経験したことない、新しい企画を模索していく中で、生物試料側のベテラン技師と、大臨技側の若手の間で討論会が出来れば面白いのではないかと。テーマを議論する中で、主要な検査でありながら原理に多様性があり、かつその結果の解釈に知識や経験が必要なHbA1cを取り上げてみようという事になった。しかも、これまでのように各メーカーには自社の長所をご紹介いただくだけでなく、他社の測定法も褒め称えていただくという、斬新な企画とした (今回は2018年度大阪府医師会臨床検査精度管理調査で各測定法のシェアが最も多いメーカーに講演依頼を行った)。そんなわがままなお願いに快くご対応いただいたメーカーの方々には感謝している。公の場ではなかなか本音を述べるができないのは企業の宿命であるので、そこはベテラン技師と若手技師の討論という形をとることで、可能な範囲で演者の方々にも種々のご回答をいただいた。コラボ企画全体は90分間とし、3社には1社あたり20分間の範囲でご講演いただき、討論時間を30分間確保した。本企画はフロアでのやり取りが命であるので、まさかの状況を考慮して、ベテラン技師にはあらかじめ発言をお願いしていたが、そんな心配をよそに、当日はフロアから、特に若手技師か

ら多くのご質問やご提案をいただき、ベテラン技師との「徹底討論」という形にはならなかったが、非常に白熱した時間となった。メーカーの方々にも積極にご発言いただいたため、まだまだ語り合いたいという状況下でタイムオーバーとなった。ちなみに、テーマの「<特集>「生大」コラボ企画」は、生物試料の「生」と大臨技の「大」を合わせ、同時開催学会終了後のビールに思いを馳せる意味を込めて、生物試料学術集会長 (理事長) がネーミングしてくださった。

今回、この誌上ではご講演いただいたメーカーの方々に改めて当日の内容をまとめていただいた。ただ、1社に関しては、コロナウイルス感染拡大の影響で社内事情が許さず、ご執筆いただけないということで、この序文の中で、私が簡単に紹介させていただく。

HbA1cの測定法にはいくつかの原理の異なる方法があり、それぞれに一長一短のあることが知られている¹⁾。その採用率は令和元年度大阪府医師会臨床検査精度管理調査では、HPLC法がおおよそ半数で、免疫法が20%、酵素法が30%程度であった。日立化成ダイアグノスティクス・システムズ株式会社 (日立化成) では、免疫法を原理とするデタミナー[®]L HbA1c と、酵素法を原理とするメタポリード[®]HbA1c を販売している。今回はそのうち免疫法に焦点を当てて紹介する。

免疫法…もしくは日立化成の場合は免疫凝集比濁法…は、HbA1cに対する特異的な抗体を用いて、抗原抗体反応により測定を行う方法である。すなわち、未感作ラテックス液中に溶血試料を添加し、検体中に存在する総Hbをラテックス表面に吸着させ、固相化する。HbとHbA1cの未感作ラテックスへの吸着の程度には差がないため、ラテックス表面に固相化されるHbA1c量は、検体中に存在する総Hb中に占めるHbA1cの比率に比例する。次にヒトHbA1cに特異的なモノクローナル抗体を添加し、ラテックス-HbA1c-抗ヒトHbA1cマウスモノクローナル抗体複合体を形成させる。その後、この複合体を抗マウスIgGヤギ抗体によって凝集させる。凝集量はラテックス表面に固相化したHbA1c量に依存し、検体中に存在する総Hb中

に占めるHbA1cの比率(%)は凝集量の差となって表れるため、これを吸光度の変化量として測定することによりHbA1cの比率(%)を測定することができる。このように免疫法はHbA1c β鎖N末端を特異的に認識する抗体を用いているため、HbA1cに特異性の高い測定が可能となる。それ故、修飾ヘモグロビンの影響や、変異ヘモグロビンの影響を受けにくいという特徴がある。また、汎用の生化学自動分析装置に搭載可能であり、専用の機器を必要としない。加えて、この方法は省スペース、簡便性等が求められるPoint of Care Testing (POCT) 機器への適応も可能であり、既に多くの診療所やクリニックで導入されている。「グリコヘモグロビンA1cキット メディダスHbA1c K」が適応でき、全血1 μLで3検体同時測定が可能な「A1c iGear K」や1レーンタイプだが、設置面積がはがき2枚分の大きさというコンパクト設計で、測定時間を約5分と従来機より短縮させた「A1c iGear Quick K」などが販売されている。

一方で、用いる抗体が認識する部位に変異がある異常ヘモグロビンの場合は正しい値が得られないことが報告されている²⁾。これは HbA1c 測定に限らず、「抗体」を用いて行われる測定系では多かれ少なかれ経験する異常反応である。また試薬として使用するラテックス粒子に目的とするヘモグロビン以外の物質が吸着したり、リウマトイド因子や高濃度の免疫グロブリンの存在が誤差要因となることも知られている。加えて、HPLC法では検出可能な異常ヘモグロビンや高HbF症の確認は困難である。これらの長所・短所を正しく把握した上で導入することが望まれる。

日立化成ダイアグノスティックス・システムズ株式会社は、前身の協和メデックス時代に、京都大学・摂南大学と共同でHbA1cを直接酸化できる酵素の創製に成功している³⁾。近い将来、酵素法の新しいラインアップが登場してくるかもしれない。また、序文という限られたスペースの中でHPLC法に関しては詳細な「チャームポイント」の紹介が出来なかったが、同時開催学会の企業演題のセッションで「キャピラリー電気泳動法を応用したHbA1c分析装置「The Lab 001」」のご報告をいただいていた。この後、東野先生が詳しくご紹介していただけるはずで

あるが、これまでのHPLC法の短所が解消され、小型で簡便な分析装置であり、かつHPLC法と同等の迅速性・精確性および情報提供能力を兼ね備えたものであり、HPLC法の進化も止まらない。一方で、市販の管理試料で発見できなかった分析装置の異常に関する報告がある⁴⁾など従来型のHPLC法も更なる進化が求められている。

HbA1c測定は臨床検査の中ではなくてはならない検査項目である。しかし、方法間差が存在し、その結果の解釈には最新の知識と経験が必要となる。現在、国際的な標準化の動きが加速している。今回のコラボ企画が、より「素敵な」HbA1c測定に目を向けるきっかけになれば幸いである。

文献

- 1) 石橋みどり：糖尿病関連指標検査 (1) ヘモグロビンA1c (HbA1c). プラクティス, 32: 29-32, 2015.
- 2) 古家美幸、古賀正史、石橋みどり、豊田充宏、辻井 悟：免疫法で測定した HbA1c が偽高値を示し抗糖尿病薬を投与された非糖尿病の異常ヘモグロビンHbCの1例. 糖尿病, 59: 463-468, 2016.
- 3) Noriyuki Ogawa, Takehide Kimura, Fumi Umehara, Yuki Katayama, Go Nagai, Keiko Suzuki, Kazuo Aisaka, Yukie Maruyama, Takafumi Itoh, Wataru Hashimoto, Kousaku Murata & Michio Ichimura : Creation of haemoglobin A1c direct oxidase from fructosyl peptide oxidase by combined structure-based site specific mutagenesis and random mutagenesis. Scientific Reports doi: 10.1038/s41598-018-37806-x, 2019.
- 4) 橋本佳明、二村 梓、正親真美、久米幸夫：凍結乾燥試料による精度管理で見つけることができなかったHPLC法によるHbA1c測定値の異常について. 臨床病理, 67: 322-325, 2019.
- 5) 佐藤麻子：糖尿病の診断基準とHbA1c. 医療検査と自動化, 45: 3-8, 2020.
- 6) 石橋みどり：HbA1cのその後. 臨床検査, 63: 1400-1405, 2019.