

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07853

研究課題名（和文）死体血HbA1c値測定におけるPOCT（臨床現場即時検査）機器の誤差要因

研究課題名（英文）Error factors for point-of-care testing (POCT) instruments in measuring postmortem blood HbA1c levels

研究代表者

加藤 菜穂 (Naho, Kato)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：20457766

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000円

研究成果の概要（和文）：法医取扱事例の糖尿病補助診断に関し、測定原理の異なるHbA1c測定用POCT（臨床現場即時検査）機器の誤差要因や傾向と利用可能性を検討するため、法医剖検例の血液検体及び種々の処置を施したボランティア提供血検体での測定値を、ラテックス凝集（以下LC）法による外注検査値と比較した。ポロン酸アフィニティ法機器は貧血及び一酸化炭素（以下CO）中毒検体で高値を示し、測定光波長の影響が示唆された。LC法機器は貧血及び濃縮血検体で測定エラーを呈した。これら両機器は検体洗浄処置により誤差が解消された。陽イオン交換高速液体クロマトグラフィ機器は血液性状によらずやや高値を示すほか、重度CO中毒で高値を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HbA1cは死後変化が少なく長期保存後も比較的安定とされ、法医剖検例の糖尿病補助診断に利用されることも多い。糖尿病性昏睡は糖尿病合併症の中でも死因たりうる病態であり、生前診断されていない、または診断されていても血糖コントロールが不良であった可能性を知る手段として、POCT（臨床現場即時検査）機器の利用には意義がある。一方で、生体試料での検査目的に開発されたPOCT機器を法医取扱事例に利用する場合、検査結果の解釈には生体試料との差異を考慮する必要がある。本研究では測定原理の異なるPOCT機器による測定値の特徴や誤差要因を比較検討したことで、法医検体に適した機器や使用法を提案できた。

研究成果の概要（英文）：In order to investigate error factors, trends, and the possibility of using a POCT (Point-of-Care Testing) device for HbA1c measurement with different measurement principles for the auxiliary diagnosis of diabetes in forensic autopsy cases, we compared the measured values of blood samples from forensic autopsy cases and various treated blood samples from various treated volunteers with those of an outsourced latex coagulation (LC) method. The boronate affinity (BA) assay showed higher values in anemia and carbon monoxide (CO) intoxication samples, suggesting the influence of light wavelength. LC assay showed measurement errors in anemia and concentrated blood samples. The error values of BA and LC instrument measurement were eliminated by washing the samples. The cation-exchange high-performance liquid chromatography instrument showed a slightly high value regardless of blood condition and a high value in severe CO intoxication.

研究分野：法医学

キーワード：死体血HbA1c値 臨床現場即時検査機器 ポロン酸アフィニティ法 高速液体クロマトグラフィ法 ラテックス凝集法 誤差要因

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

法医学検体では、生体で有用性が高く評価されている検査法であっても、死後変化や検体長期保存に影響で利用しにくい場合がある。糖尿病は他臓器に病変を生ずる慢性疾患であるが、未診断者あるいは治療からドロップアウトした患者においても糖尿病性ケトアシドーシスや非ケトン性高浸透圧性昏睡などの合併症による急死のリスクがあるため、しばしば法医学の取扱い対象となる。HbA1c は死後変化が少なく長期保存後にも比較的安定とされ、法医学検体の糖尿病補助診断に利用されることも多い検査項目であるが、検査会社に外注すると結果報告まで数日を要し迅速性に欠ける。近年、POCT (point-of-care testing: 臨床現場即時検査) 機器が広く普及している中で、法医学検体に適した機器や利用法は明らかではなかった。POCT 機器での HbA1c 測定値が正確であるならば、より根拠を持った剖検当日の死因推定が可能となるほか、死体検案現場での応用も可能となる。

このため本研究に先立ち、2016年に導入した HemoCue®HbA1c501 アナライザ (ラジオメーター株式会社, ボロン酸アフィニティ法) を利用し、法医学検体から採取した血液の HbA1c 値を外注検査結果と比較したところ、多くの検体では外注検査からの代替が可能と考えられた反面、高度貧血例や一酸化炭素 (CO) 中毒事例で著明に高値を示す例が散見され、測定原理に起因する可能性を検討する必要があると推察した。

2. 研究の目的

測定原理の異なる複数の POCT 機器で測定された死体血 HbA1c 値に差異が生じる条件を検討することで、死体血を含めた特異な状況下にある血液からの糖尿病診断に適した測定法や前処理法と限界を明らかにし、法医学実務現場での POCT 活用に寄与することを目的とする。

3. 研究の方法

測定原理の異なる HbA1c 用 POCT 機器として、次の 3 機種を選定した。

HemoCue®HbA1c501 アナライザ (ラジオメーター株式会社, ボロン酸アフィニティ法): 2016年に導入済

MultiCare アナライザ (株式会社マルコム/SD Biosensor, Inc, ラテックス凝集法): 新規導入
RC20 (積水メディカル株式会社, 陽イオン交換高速液体クロマトグラフィ法): 新規導入
比較対象として、株式会社 SRL に依頼した HbA1c 値 (ラテックス凝集法) を用いた。

1) 剖検体から採取した血液検体による測定値の比較検討 (福島医大一般倫理審査整理番号: 一般 2020 - 067)

対象: 2020年9月~2023年3月末までの剖検体から採取された血液のうち、死後1週間以内で腐敗がない48検体。

収集データ: HbA1c (3機種のうち2機種以上・外注), Hb 値 (外注), 血清を分離できた検体についてはグリコアルブミン, 1,5AG, 血糖値を外注検査, 生前の糖尿病診断状況や治療内容

外注検査による HbA1c 値を基準とした各 POCT 機器による測定値との差を Wilcoxon 符号付順位和検定で比較し、危険率 5% で有意とした。相関係数はスピアマン順位相関係数検定で産出した。

2) ボランティア提供血を用いた実験的処置後測定値の比較検討 (福島医大一般倫理審査整理番号: 一般 2021-310)

成人ボランティア 5 名から EDTA・2K チューブに採取した血液につき、基礎データを取得後、実験的に次の処置を行い、複数種類の検体を作成した。

A. 希釈 (n=15): 全血を生理食塩水または血漿で適宜希釈

B. 濃縮 (n=7): 全血を遠心分離 (3,000rpm × 15min) し血漿を可及的除去

C. CO 付加 (n=17): 50mL のポリプロピレンチューブに血液 3mL を入れ、CO 純ガス (太陽日酸 JFP) を噴霧・混和後、未処理の全血と混和して CO 飽和度調整

D. 洗浄 (n=5): 全血 100 μL に生理食塩水 1mL を加え、Vortex 後遠心分離 (2,000rpm × 2min) した血球層 (SRL 社が HbA1c 検査前に実施する前処理法)

収集データ: HbA1c (3機種, 外注), Hb 値 (外注, ただし洗浄検体を除く), CO-Hb 飽和度 (分光光度法により測定)。

外注検査による HbA1c 値を基準とした各 POCT 機器による測定値との差を Wilcoxon 符号付順位和検定で比較し、危険率 5% で有意とした。

4. 研究成果

HbA1c 測定値は HemoCue > RC20 > MultiCare 外注検査の順であり、いずれの POCT 機器検査値も外注検査値より有意に大きいと判定された。

いずれの POCT 機器も、検査に使用する血液量が少ないため、多少の凝血を含む血液検体であ

っても測定可能な場合が多い。ただし検体への Hb 含有量に大幅なムラがあると、測定値の信頼性が損なわれることとなる。

HemoCue は検討 1・2 のいずれにおいても、貧血検体と CO-Hb 高値の検体で HbA1c 値が異常高値を示す恐れがあることが示された。他機と異なり測定光の波長が 415nm の 1 カ所であることや、総 Hb を測定後にリンス液を流してポロン酸樹脂と結合した HbA1c を測定するという検査設計上、HbA1c がその他の Hb と分離されにくい可能性がある。MultiCare は検査前の煩雑な操作により検体のラテックス樹脂との混和が不十分となり、貧血検体はもちろん正常～濃縮血であっても測定エラーが発生する可能性がある。安定した手技を習得するほか、Hb 値を調整して使用することも検討すべきである。

RC20 は、外注検査値よりほぼ全例で高値を示すものの相関係数は約 0.83 と高いため、今回得られた +0.69 程度の差を含み置くことにすれば、比較的正確な判定が可能と考えられる。ただし CO-Hb 高値の検体では異常高値を呈する場合がある。

HemoCue と MultiCare においては、簡易な洗浄処置で外注検査値に近い測定値が得られることが示され、法医検体に対する上記の欠点を補える可能性がある。

測定結果の安定性は高いが高額な RC20 は、法医現場に新規に導入する機器としては現実的ではない。現状では安価な MultiCare か HemoCue について、各機種別の測定結果の特徴を加味しつつ、検体の前処理（洗浄）を実施しながら利用するのが相応と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加藤菜穂, 西形里絵, 渡邊美和子, 武田紗希, 林王真美, 白坂由美子, 黒田直人
2. 発表標題 死体血HbA1c測定における各種POCT（臨床現場即時検査）機器の誤差要因の比較検討
3. 学会等名 第106次日本法医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤菜穂, 西形里絵, 武田紗希, 林王真美, 白坂由美子, 黒田直人
2. 発表標題 死体血HbA1c測定における各種POCT（臨床現場即時検査）機器の誤差要因の比較検討（第2報）
3. 学会等名 第107次日本法医学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------