

Primary Care Lecture

知っているようで知らないせかい ～HbA1c～

2025年1月23日(木)
遠別町国民健康保険診療所
江橋 正浩

自己紹介

- 茨城県水戸市うまれ、育ち。生粋のいばらき人妻(茨城県立中央看護学校教員)、長男(酪農学園獣医大学院1年)次男(チェコパラツキー医学部3年)、長女(河合塾水戸校)
 - 自治医大医学部 茨城**25**期
 - 卒後茨城県内で 義務年限9年(病気療養含む) 保健所(2年) **臨床検査(5年)** ドック施設(5年)
 - 2022年 与那国診療所
 - 2023年 フリーランス?(フリーター??)
 - 2024年4月 遠別町国民健康保険診療所
- ※「**えばし**」という名はほとんど茨城?
学生時代のあだな「**EVA**」で覚えてください



臨床検査専門医をご存じですか？

基本領域 (19 領域)

内科 小児科 皮膚科 精神科 外科 整形外科 産婦人科 眼科 耳鼻咽喉科 泌尿器科 脳神経外科 放射線科 麻酔科 病理 **臨床検査** 救急科 形成外科 リハビリテーション科 総合診療科

各学会の会員数及び専門医数等の一覧表

学会名	学会員数	専門医名称	学会認定 専門医数	機構認定 専門医数	日本医学会 加盟学会
-----	------	-------	--------------	--------------	---------------

I. 基本領域専門医 (学会)

日本内科学会	119,272 名	内科専門医	1,733 名	1,733 名	●
		認定内科医	86,903 名	0 名	
		総合内科専門医	37,790 名	0 名	
日本小児科学会	22,951 名	小児科専門医	2,649 名	14,231 名	●
日本皮膚科学会	12,754 名	皮膚科専門医	7,097 名	0 名	●
日本精神神経学会	19,446 名	精神科専門医	10,741 名	1,324 名	●
日本外科学会	40,562 名	外科専門医	24,259 名	1,269 名	●
日本整形外科学会	26,198 名	整形外科専門医	6,216 名	14,227 名	●
日本産科婦人科学会	17,530 名	産婦人科専門医	13,717 名	6,615 名	●
日本眼科学会	15,871 名	眼科専門医	11,512 名	0 名	●
日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会	11,284 名	耳鼻咽喉科専門医	1,046 名	7,285 名	●
日本泌尿器科学会	9,528 名	泌尿器科専門医	5,379 名	1,541 名	●
日本脳神経外科学会	10,418 名	脳神経外科専門医	2,527 名	5,407 名	●
日本医学放射線学会	10,319 名	放射線科専門医	7,975 名	1,101 名	●
日本麻酔科学会	14,222 名	麻酔科専門医	4,819 名	4,583 名	●
日本病理学会	4,840 名	病理専門医	2,726 名	2,046 名	●
日本臨床検査医学会	3,128 名	臨床検査専門医	254 名	378 名	●
日本救急医学会	10,525 名	救急科専門医	5,667 名	1,019 名	●
日本形成外科学会	5,523 名	形成外科専門医	869 名	2,045 名	●
日本リハビリテーション医学会	11,512 名	リハビリテーション科専門医	1,141 名	1,683 名	●

2023年1月時点

臨床検査専門医の特徴

1. 幅広い分野に対応する **知識と技能** を修得できる
2. 多くの診療科や部門との連携を取りやすい
3. 診療が研究に結びつきやすく、 **研究の時間を多く** とれる
4. 受け持ちの入院患者を持たない（ベッドフリー）
5. ワークライフバランスを考えやすく、女性医師にも適している
6. **検体管理加算** などの取得に関わり、病院の経営面に貢献できる

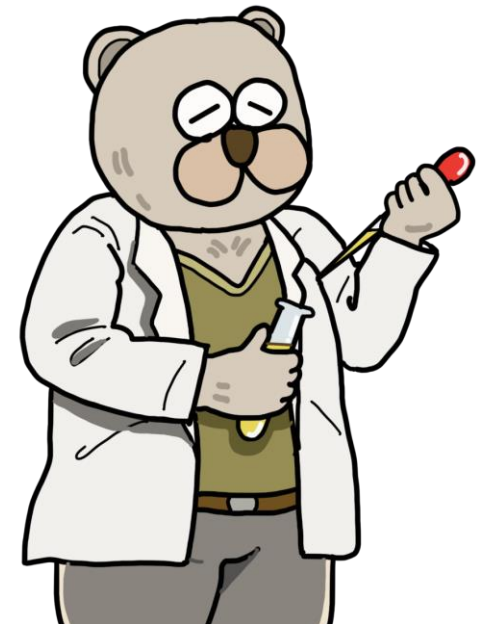
専門医試験

- ①臨床検査医学総論
 - ②一般臨床検査学・臨床化学
 - ③臨床血液学
 - ④臨床微生物学
 - ⑤臨床免疫学・輸血学
 - ⑥遺伝子関連検査学
 - ⑦臨床生理学
- + 実技試験 + 面接

これらの特徴から、他の診療領域の医師が臨床検査専門医を取得することも多く見受けられます。臨床検査医学は 幅広い診療分野に関わります が、それまでに身につけた専門性を生かして活躍しやすい専門医でもあります。また、資格を有することで 検査の質の向上のみならず、病院の経営面でも貢献できる ため、様々な医療機関において重宝される資格といえます。

まずは、検査室に行ってみよう！

- 検査技師さんは**強い味方**。
- まじめで、勉強熱心で、知識もあり、優しい人が多い印象です。
- あと、教え方も上手。
- ただ、奥手(の方が多いの)で、聞きにいかないと教えてくれません。
- どんどん検査室に顔を出し、
顔の見える関係を作りましょう！



さて、本日のテーマ

HbA1c

AということはBもあるの？

1ということは
0とか2もあるの？

A1cということは、
A1aもA1bもあるの？

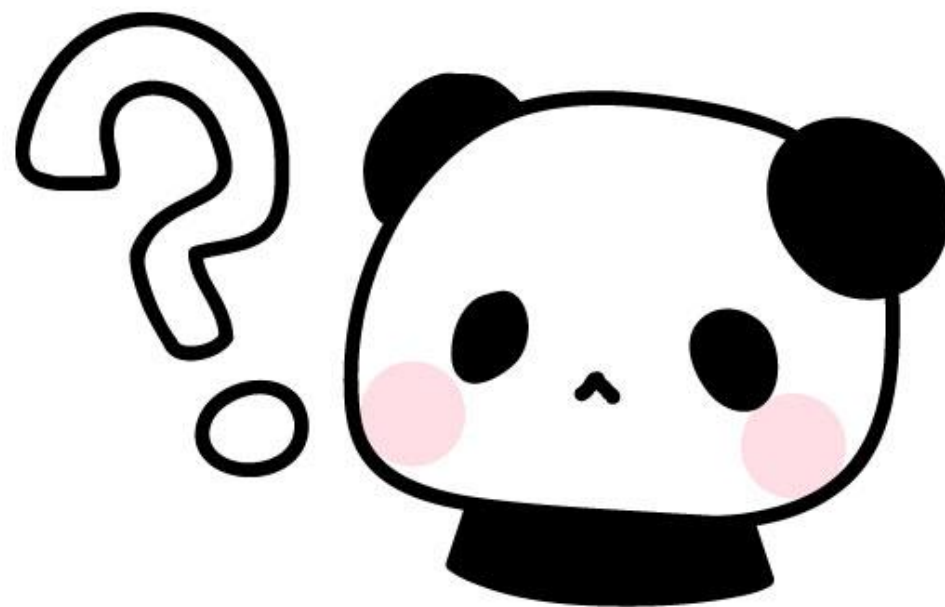
きっかけは、2015年突然に

自治医科大学

臨床検査医学教室

准教授(当時)

からの謎の宿題



GA 20 %

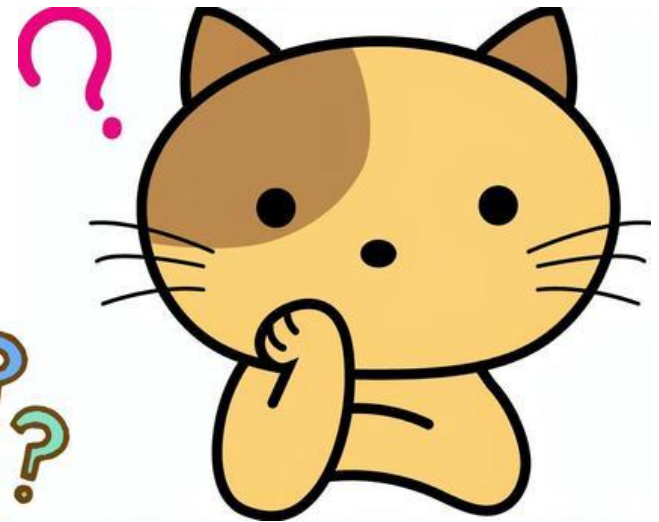
HbA1c HPLC法 9.5%

免疫法 9.0%

この患者、どんな病態？

調べてレポート書いてきて！

ん？ どういうこと？？？？？



全然わからん！



HbA1cって、糖尿病で測るあれ？

•GAってなんだっけ？



•HPLC法とか免疫法とか、
聞いたことないんですけど…



こまったぞ、、、

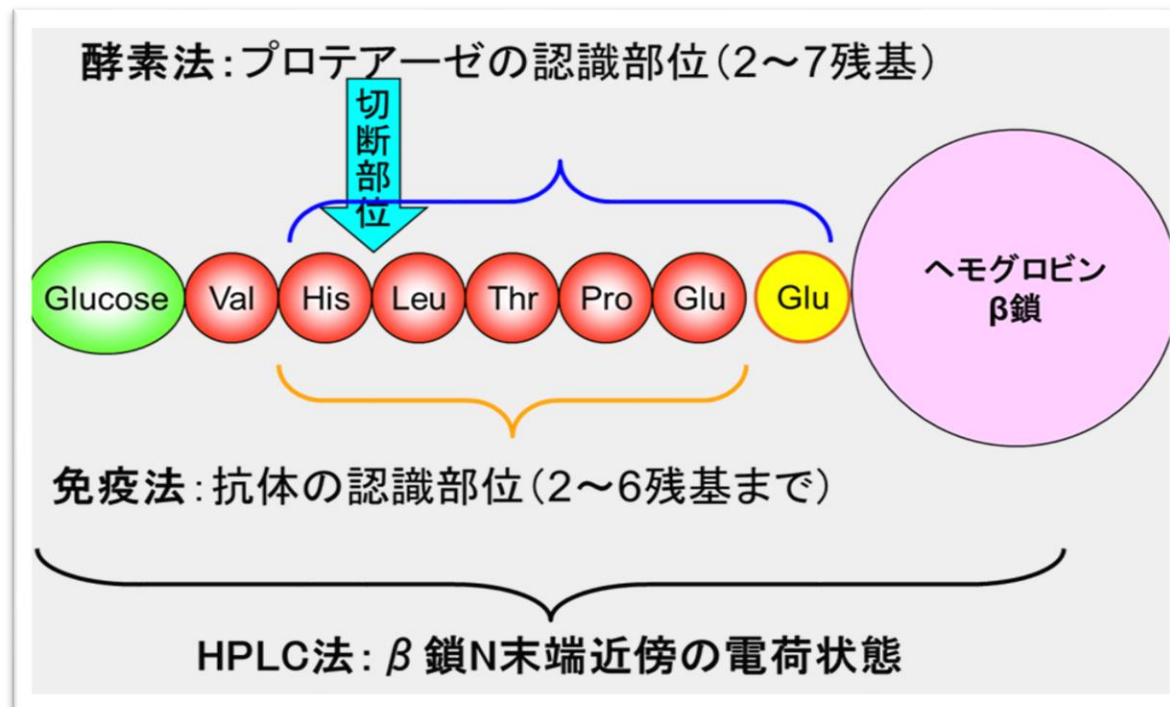
そうだ、技師さんに聞いてみよう！

HbA1cの定義

国際臨床化学連合(International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: IFCC)により

「β鎖N末端のバリンが安定的に糖化されているヘモグロビン：
β-N-(1-deoxyfructosyl)-Hb」と定義されている。

(柏木厚典. 糖尿病入門 HbA1cの国際標準化. DIABETES UPDATE 2012; 1: 24-30.)



HbA1cの構造模式図
(東ソー株式会社資料より改変)

HbA1c の 歴史

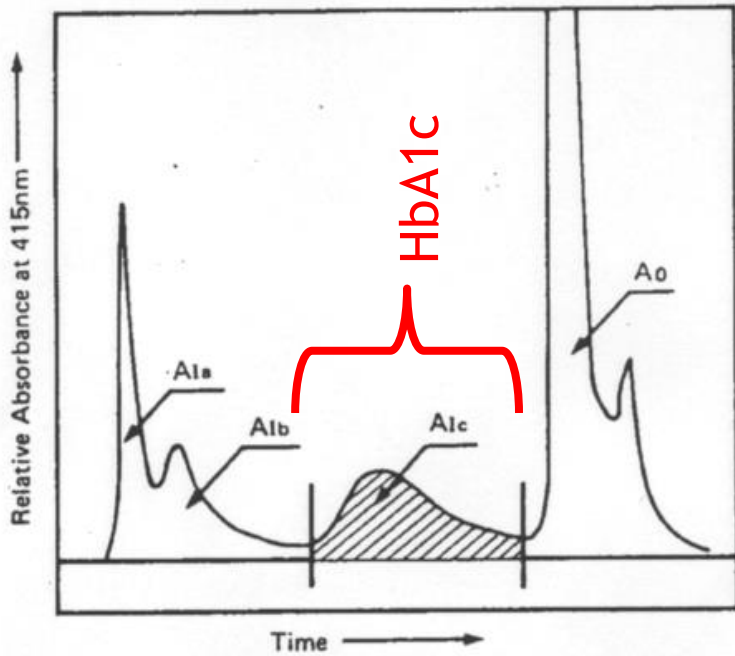
- 1962年
 - **Hb Diabetesの発見:**
山口大学 柴田進 先生
- 1971年
 - ★ **HbA1cの発見:**
イオン交換LC Trivelli法を利用。
- 1983年
- 1984年
 - ★ **DCCT-Study(米国):**
HPLC法にてHbA1c測定を実施。
- 1991年
- 1993年
 - ★ **NGSP標準化(米国):**
中央ラボはHPLC法を採用。
- 1994年
 - ★ **JDS標準化:**
HPLC法 2社装置の平均値で値決め。
HbA1c正常値範囲を設定。
 - ★ **Kumamoto-Study:**
HPLC法にてHbA1c測定を実施
- 1995年
- 2000年
 - ★ **KO500法が国内の基準測定法に認定:**
HPLCシステムで弊社カラムを使用。
- 2005年
- 2006年
- 2009年
 - **コンセンサスステートメント発表(欧米):**
IFCCへの国際標準化が開始。

★: HPLC法

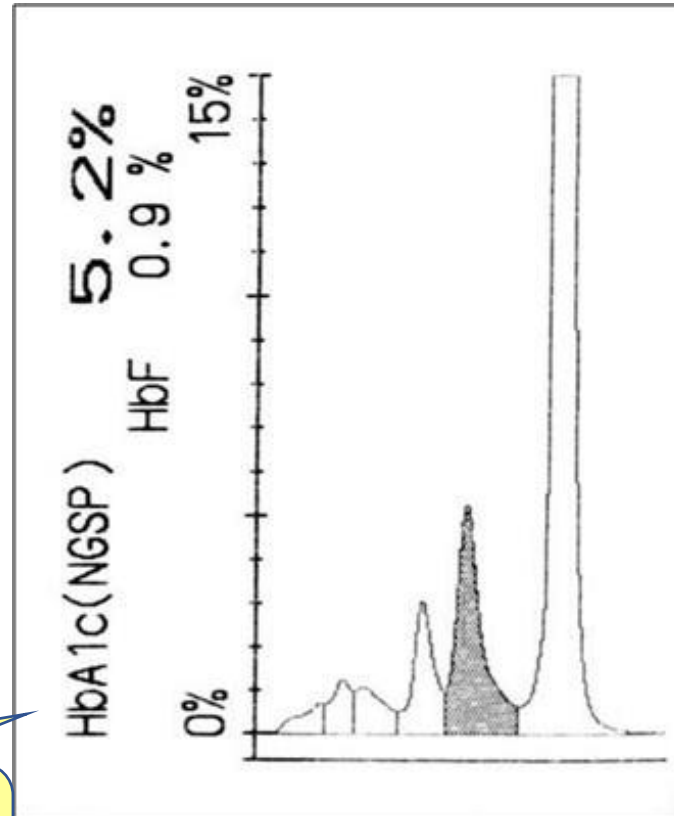
東ソー株式会社
資料より改変

HbA1c測定のコールドスタンダードはHPLC法

最初の測定法: Trivelli's



ルーチン検査: 東ソーG8
(1分/テスト)



基準測定法: KO500法

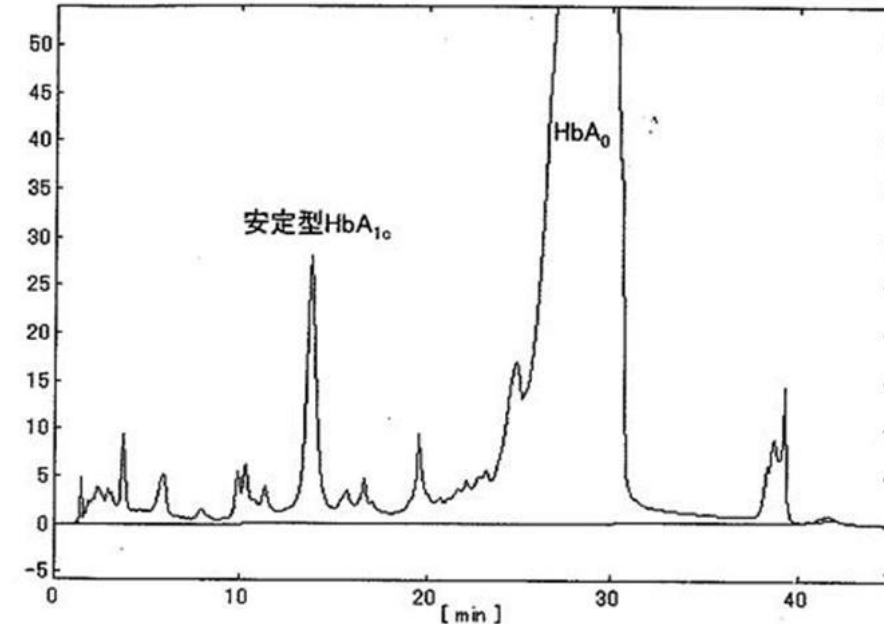


図1 健常人血液のクロマトグラム

HPLC法

(High Performance Liquid Chromatography: 高速液体クロマトグラフィー)

糖の陰性荷電により、**糖化されたHb**は、糖化されていないHbと比べ陽性荷電が減弱する。陽イオン交換カラムを用いたHPLC法では、**糖化により減弱した陽性荷電の差**を利用し、**血中のHbを分離**する¹⁾。

Hbはカラムの持つ荷電との相互作用により、陽性荷電の小さい方から、

A_{1a} ← あったわ、**A1a** !

A_{1b}

HbF

不安定型A_{1c} (レイブル labile-A_{1c}: LA_{1c}⁺)

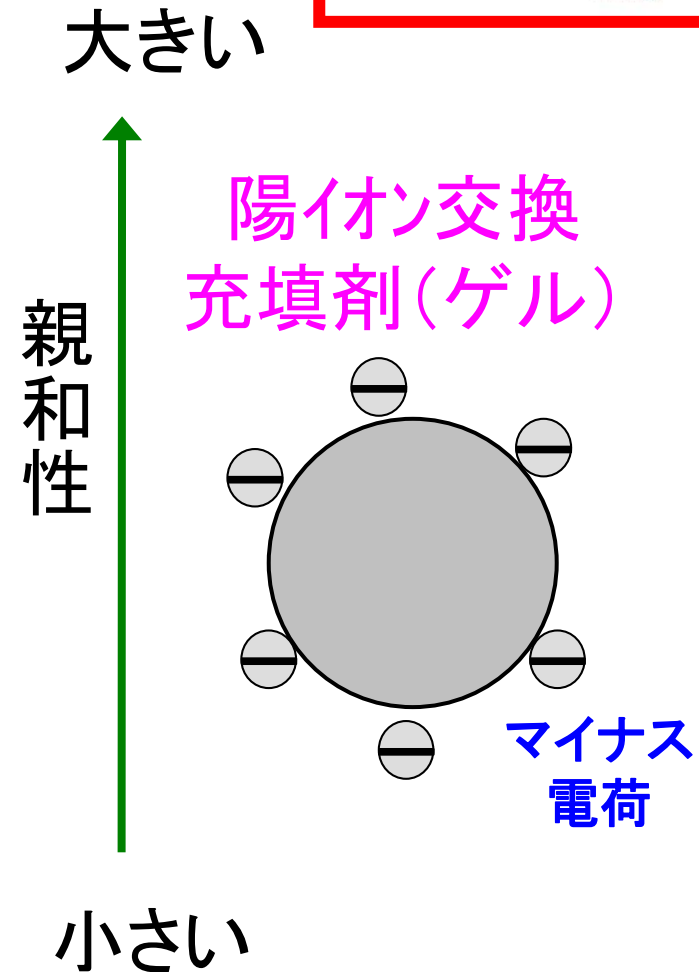
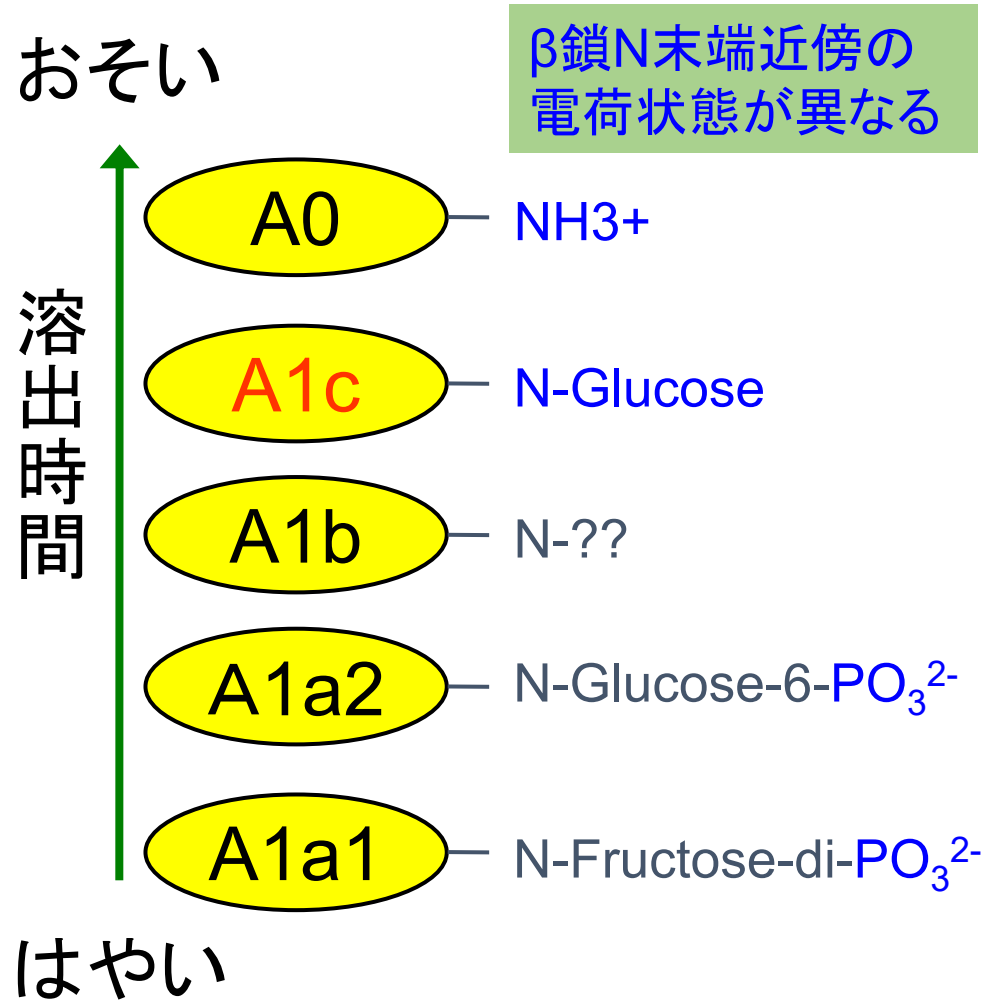
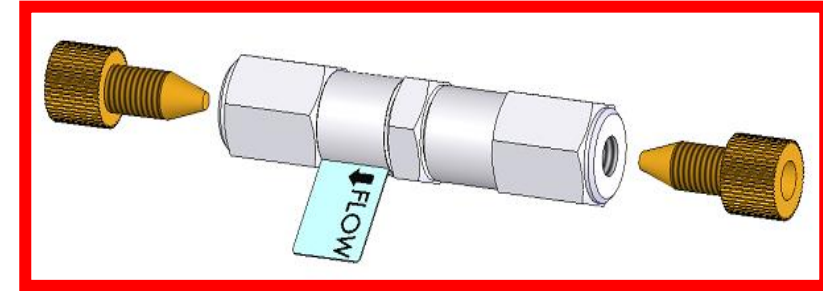
安定型A_{1c} (stable-A_{1c}: SA_{1c})

A₀

6分画に分離され、総Hbに対するSA_{1c}分画の割合から、HbA1cが算出される²⁾

HPLCの測定原理: Hb成分との親和性

カラム



HLC-723G8 での測定結果と各成分

SA1c値をHbA1c値として報告

* GLYCOHEMOGLOBIN REPORT *

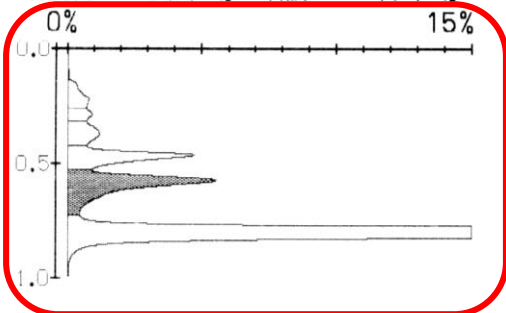
2012/04/01 14:01
TOSOH CORPORATION V05.10
NO: 0001 SL 0001 - 01
ID: 0001 - 01
CAL(NJ)= 1.0000X + 0.0000

NAME	%	TIME	AREA
FP	0.0	0.00	0.00
A1A	1.0	0.23	8.30
A1B	0.6	0.29	5.24
F	1.4	0.38	12.22
LA1C+	3.5	0.47	29.57
SA1C	5.5	0.58	47.32
A0	88.0	0.79	750.76
TOTAL AREA			853.41

HbA1c(NGSP) 5.5%

HbA1c(JDS) 5.1%

HbA1 7.1% HbF 1.4%



A1a



A1b



HbF



LA1c



SA1c

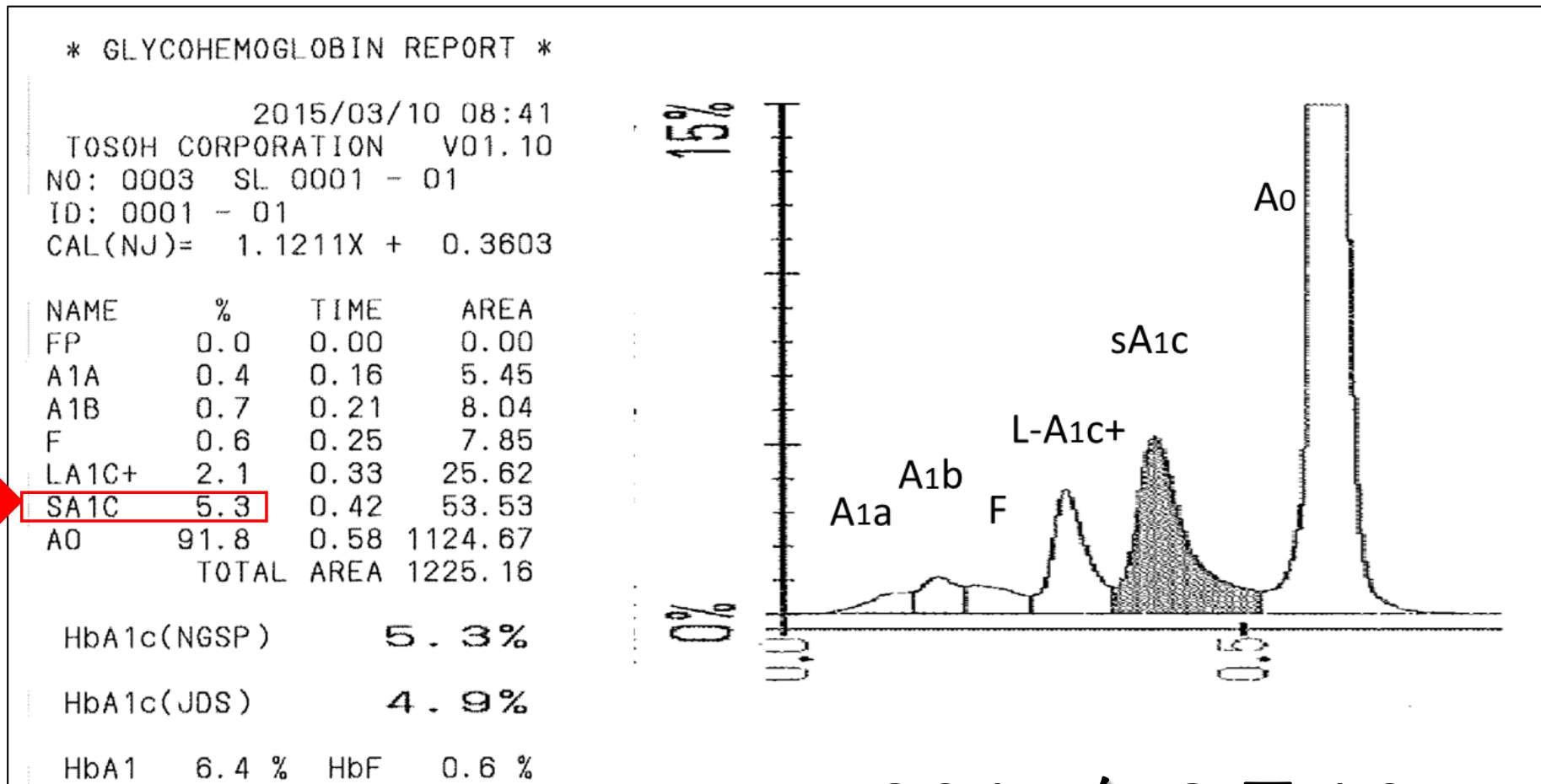


A0



HPLC法

(High Performance Liquid Chromatography : 高速液体クロマトグラフィー)



2015年3月10日の自分

- **JDS** (Japan Diabetes Society) 日本独自で用いられてきた値
- **NGSP** (National Glycohemoglobin Standardization Program) 海外(米国)で用いられる値
- **2011年10月1日付け**で社団法人検査医学標準物質機構がNGSPの基準測定施設の認証を取得し、以下の式で**換算できる**ようになった。

$$\text{HbA1c(NGSP)}(\%) = 1.02 \times \text{HbA1c(JDS)}(\%) + 0.25\% \quad (1)$$

$$\text{HbA1c(JDS)}(\%) = 0.980 \times \text{HbA1c(NGSP)}(\%) - 0.245\% \quad (2)$$

- 換算式(1)より、HbA1c(JDS)(%)が
 - 4.9%以下 : $\text{HbA1c(NGSP)}(\%) = \text{HbA1c(JDS)}(\%) + 0.3\%$
 - 5.0から9.9% : $\text{HbA1c(NGSP)}(\%) = \text{HbA1c(JDS)}(\%) + 0.4\%$**
 - 10.0から14.9% : $\text{HbA1c(NGSP)}(\%) = \text{HbA1c(JDS)}(\%) + 0.5\%$
- 換算式(2)より、HbA1c(JDS)(%)が
 - 5.2%以下 : $\text{HbA1c(JDS)}(\%) = \text{HbA1c(NGSP)}(\%) - 0.3\%$
 - 5.3から10.2% : $\text{HbA1c(JDS)}(\%) = \text{HbA1c(NGSP)}(\%) - 0.4\%$**
 - 10.3から15.2% : $\text{HbA1c(JDS)}(\%) = \text{HbA1c(NGSP)}(\%) - 0.5\%$

免疫法(ラテックス凝集法)

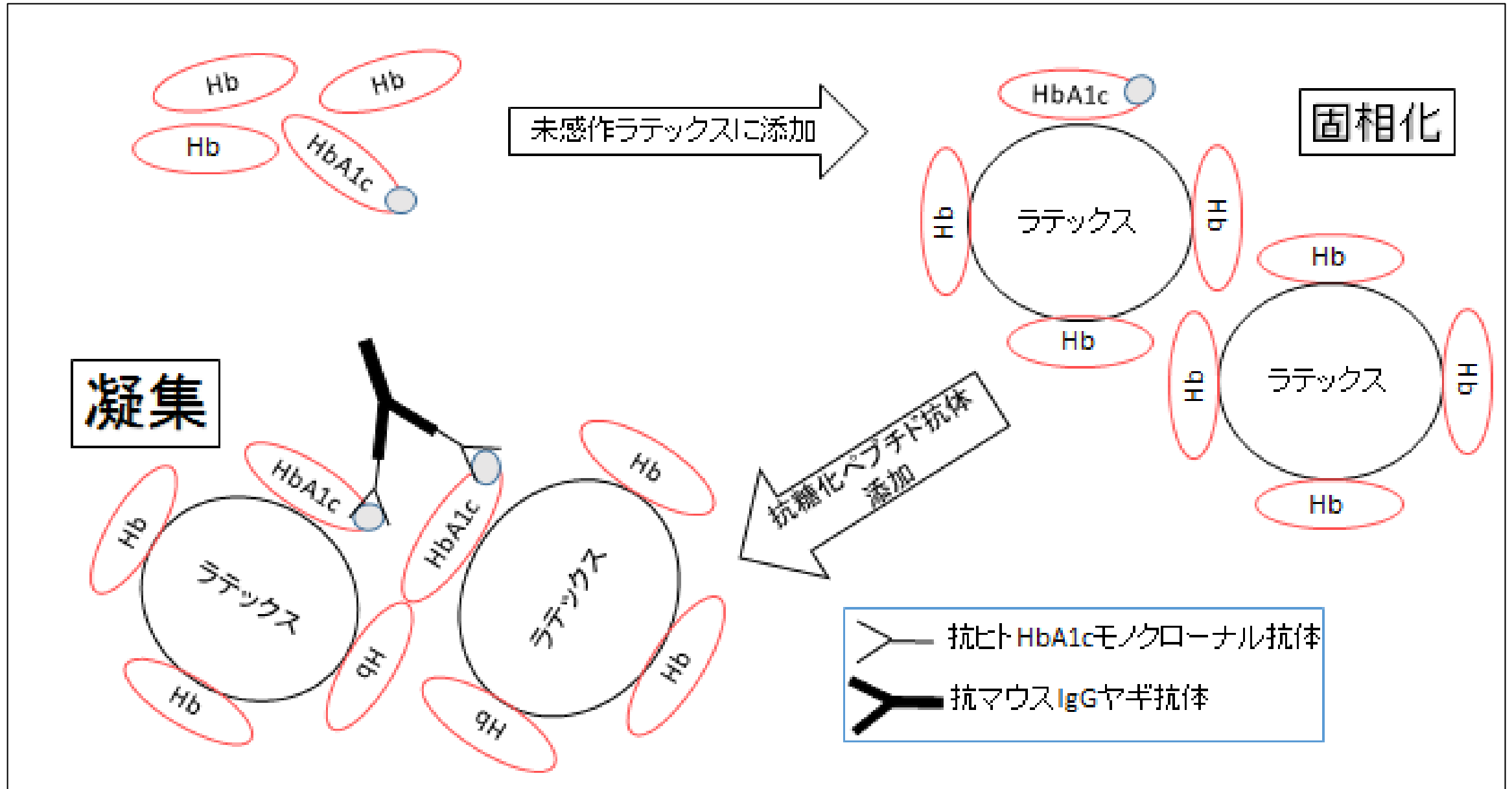
未感作ラテックス液中に溶血させた試料を添加すると、HbA_{1c}と他のHb蛋白が競合してラテックス表面に吸着し、固相化される。

検体中にはラテックス量と比べ過剰の総Hbが存在し、また、HbA_{1c}と他のHb蛋白の未感作ラテックスへの吸着には差がないため、ラテックス表面に固相化されるHbA_{1c}量は、溶血試料中のHbA_{1c}の比率を反映する。

次に、固相化したHbA_{1c}に特異的な抗ヒトHbA_{1c}モノクローナル抗体を添加し、ラテックス-HbA_{1c}-抗ヒトHbA_{1c}マウスモノクローナル抗体複合体を形成させる。この複合体を抗マウスIgGヤギ抗体で凝集させると、**吸光度が変化**する。吸光度の変化量を利用し、HbA_{1c}の比率を測定する。

この方法には複数の試薬があり、それぞれ抗体の抗原認識部位が異なる。データミナーL HbA_{1c}[®] (協和メデックス) では、抗ヒトHbA_{1c}モノクローナル抗体が、β鎖N末端の6位までのアミノ酸を認識する³⁾。

免疫法



酵素法

はじめに、前処理で赤血球を溶血させ、**Hb**をメト化する。

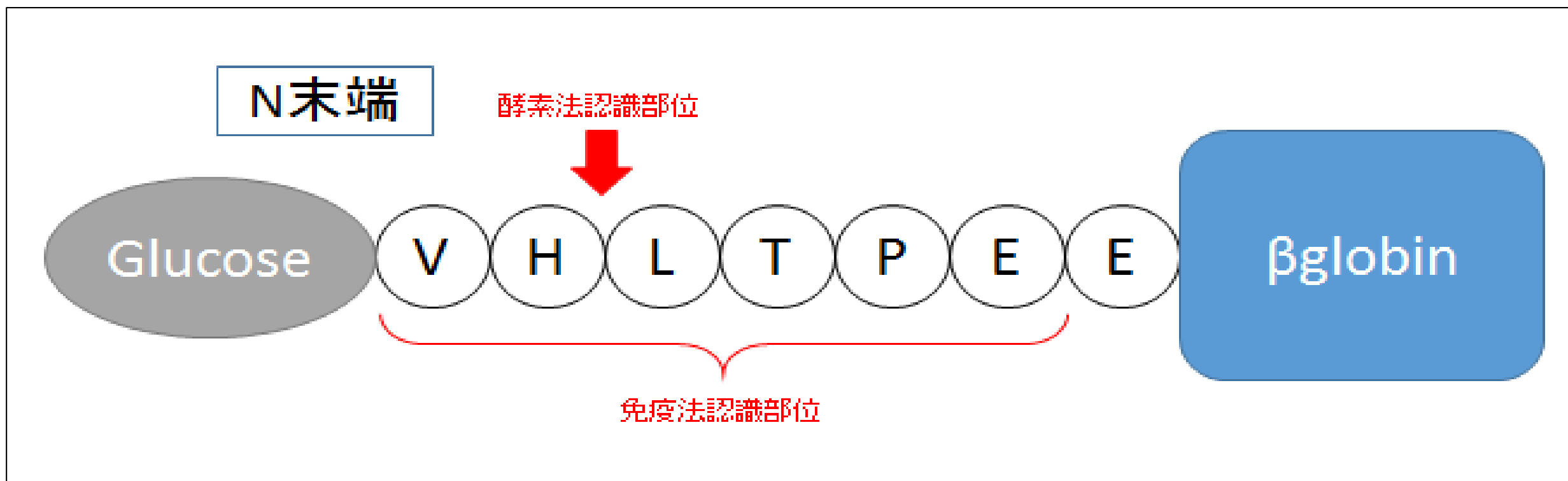
次に、**プロテアーゼ**を添加して**HbA1cβ鎖N末端の糖化ジペプチド (fluctosyl - Valine - Histidin: f-VH)**を切り出す。

f-VHにフルクトシルペプチドオキシダーゼを反応させ、過酸化水素水を生成させる。この過酸化水素水に、ペルオキシダーゼと発色色素を反応させて生じる青色色素の吸光度を測定し、**HbA1c濃度**を求める。

一方で、メト化Hbの吸光度を測定し、**Hb濃度**を求める。

以上の、**Hb濃度**と**HbA1c濃度**の割合から、HbA1c (%) を算出する⁴⁾。

酵素法



GA グリケイティッド アルブミン (Glycated Albumin : 糖化アルブミン)

- ブドウ糖が結合したアルブミンのこと。
- アルブミンの半減期は17日と短いため、
短期間（2-3週間）の血糖値の変化を鋭敏に反映する。
- 赤血球の寿命に関係なく、使用できる。

正常値 : 12.3% ~ 16.9%

GAとHbA1cの大雑把な換算式

$$\text{HbA1c}(\%) = \text{GA} \div 3$$

(Masafumi Koga and Soji Kasayama; Endocrine Journal 2010, 57 (9), 751-762)

(参考)韓国のデータ

HbA1c 5.868%以上

$$\text{グリコアルブミン}(\%) = -9.609 + 3.720 \times \text{HbA1c}(\%)$$

HbA1c 5.868%未満

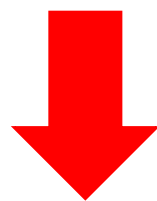

$$\text{グリコアルブミン}(\%) = 6.960 + 0.8963 \times \text{HbA1c}(\%)$$

Development of an HbA1c-Based Converter Equation for Estimating Glycated Albumin in a Korean Population with a Wide Range of Glucose Intolerance (2014 Apr 22;9(4):e95729. doi: [10.1371/journal.pone.0095729](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095729))

GA		20 %
HbA1c	HPLC法	9.5%
	免疫法	9.0%

$$\text{GA}/\text{HbA1c} = 20/9.5 = \underline{2.1}052631\dots$$

あれ、2.1だと、3よりずいぶん小さいぞ??

 GA/HbA1c 

HbA1cが実際の血糖コントロールに比べ**高値**

疾患や病態	GA	HbA1c (HPLC)	HbA1c (免疫法)	GA/HbA1c (HPLC)比	GA/HbA1c (免疫法)比	HbA1c HPLCと免疫法の関係
①血糖コントロールの急激な改善	—	↑	↑	低下	低下	乖離しない
②食後血糖改善薬での治療	—	↑	↑	低下	低下	乖離しない
③鉄欠乏性貧血	—	↑	↑	低下	低下	乖離しない
④BUNの上昇(50mg/dl以上)	—	↑	—	低下	変化しない	HPLC > 免疫法
⑤大量のビタミンCやアスピリンの投与	—	↑	—	低下	変化しない	HPLC > 免疫法
⑥慢性のアルコール中毒	—	↑	—	低下	変化しない	HPLC > 免疫法
⑦HbFの高値	—	↑	—	低下	変化しない	HPLC > 免疫法
⑧異常ヘモグロビンの一部	—	* 1	* 1	* 2	* 2	* 3

—:理論上、実際の血糖コントロールと乖離しない

↑:理論上、実際の血糖コントロールに比べ高値となる

↓:理論上、実際の血糖コントロールと比べ低値となる

*1:理論上、高値、低値のいずれもとりに得る。また、実際の血糖コントロールと乖離しない場合もある。

*2:理論上、上昇する場合も、低下する場合もいずれもあり得る。また、変化しない場合もある。

*3:理論上、乖離する場合も、乖離しない場合もいずれもあり得る。

病態解説1

① 血糖コントロールの急激な改善

GAとHbA1cの血中半減期は、それぞれ17日と36日であり、**GAの方がHbA1cと比べ、実際の血糖コントロールの変化に応じて迅速に変動する⁵⁾**。血糖コントロールが急激に改善した場合は、GAの方が低下するスピードが早いため、GA/HbA1cが低下する。

② 食後血糖改善薬での治療

アルブミンは、ヘモグロビンと比べ**糖化速度が約10倍速い**。そのため、GAは、HbA1cと比べ空腹時血糖よりも食後高血糖を反映しやすい⁶⁾。

食後血糖改善薬や超速効型インスリン治療で食後血糖が改善した場合は、HbA1cに比べてGAで改善がより顕著にみられ、GA/HbA1c比が低下する。

病態解説2

③ 鉄欠乏性貧血

鉄欠乏性貧血では、鉄欠乏により十分にHbが合成できないため赤血球の寿命が延長し、HbA1cが実際の血糖コントロールに比べ高値となる⁷⁾。

④ BUNの上昇 (50mg/dl以上)

BUNが高値の場合、尿素から生じるシアン酸によりカルバミル化Hbが増加する。HPLCカラムによっては、カルバミル化HbがA1c分画と重なる位置に溶出され、HbA1cが実際の血糖コントロールに比べて高値となる⁸⁾。

病態解説3

⑤ 大量のビタミンCやアスピリンの投与

大量のビタミンCやアスピリンを投与した場合、アセチル化Hbが増加する。HPLC法では、アセチル化Hbの溶出ピークがA1c分画に重なるため、HbA1cが、実際の血糖コントロールに比べて高値となる⁹⁾。

⑥ 慢性のアルコール中毒

慢性のアルコール中毒では、アセトアルデヒド化Hbが生成される。HPLC法では、アセトアルデヒド化HbはA1c分画の近傍に溶出するため、HbA1cが実際の血糖コントロールに比べて高値を示す⁹⁾。

⑦ 成人の胎児ヘモグロビン (fetal hemoglobin: HbF) の高値

成人のHbFは、通常総ヘモグロビンの1%以下である。HPLCでは、HbFのピークはHbA1cの近傍にみられるため、血液疾患などによりHbFが増加すると、見かけ上HbA1cが高値となり、実際の血糖コントロールと乖離する⁹⁾。

病態解説4

⑧ 異常Hb

異常Hbは、主にグロビン鎖を構成するアミノ酸配列の置換により電気的変化をきたす¹⁰⁾。HPLC法では、異常Hb由来の糖化HbがHbA1cよりも早く(または遅く)溶出し、HbA1cのピークと分離して検出された場合に、HbA1c値が実際の血糖コントロールと比べ低値となる¹¹⁾¹²⁾。また、異常Hb由来の糖化Hbのピークが、HbA1cのピークと重なった場合に、HbA1c値が、実際の血糖コントロールより高値になるか測定不能となる¹²⁾¹³⁾。免疫法では、β鎖N末端から6位までのアミノ酸の変異がある場合に、HbA1c値が、実際の血糖コントロールと乖離する可能性がある¹⁴⁾。また、糖化の亢進する異常Hbや不安定Hbの場合は、HPLC法と免疫法の両方で、実際の血糖コントロールとHbA1c値が乖離する可能性がある¹⁴⁾。

GAが実際の血糖コントロールに比べ**低値**

疾患や病態	GA	HbA1c (HPLC)	HbA1c (免疫法)	GA/HbA1c (HPLC)比	GA/HbA1c (免疫法)比	HbA1c HPLCと免疫法の関係
⑨ネフローゼ症候群	↓	—	—	低下	低下	乖離しない
⑩甲状腺機能亢進症	↓	—	—	低下	低下	乖離しない
⑪副腎皮質ステロイドの投与	↓	—	—	低下	低下	乖離しない
⑫高度肥満	↓	—	—	低下	低下	乖離しない

—:理論上、実際の血糖コントロールと乖離しない

↑:理論上、実際の血糖コントロールに比べ高値となる

↓:理論上、実際の血糖コントロールと比べ低値となる

*1:理論上、高値、低値のいずれもとり得る。また、実際の血糖コントロールと乖離しない場合もある。

*2:理論上、上昇する場合も、低下する場合もいずれもあり得る。また、変化しない場合もある。

*3:理論上、乖離する場合も、乖離しない場合もいずれもあり得る。

病態解説5

⑨ ネフローゼ症候群

⑩ 甲状腺機能亢進症

⑪ 副腎皮質ステロイド投与

上記の3つの病態では、アルブミン代謝が亢進するため、GAが実際の血糖コントロールに比べて低値となる⁵⁾⁹⁾。

⑫ 高度肥満

高度肥満ではアディポサイトカインの分泌が亢進し、アルブミンの異化が亢進するため、GAが実際の血糖コントロールに比べて低値を示すと考えられている⁵⁾。

この症例では？

GA		20%
HbA1c	HPLC法	9.5%
	免疫法	9.0%

そもそもどれが正しい
データなんだ??

$$\frac{\text{GA/HbA1c(HPLC)}}{\text{HbA1c(HPLC)}} = 2.10\dots \quad \text{低下}$$

$$\frac{\text{GA/HbA1c(免疫法)}}{\text{HbA1c(免疫法)}} = 2.22\dots \quad \text{低下}$$

HbA1c(HPLC法)とHbA1c(免疫法)の値が乖離

この症例では？

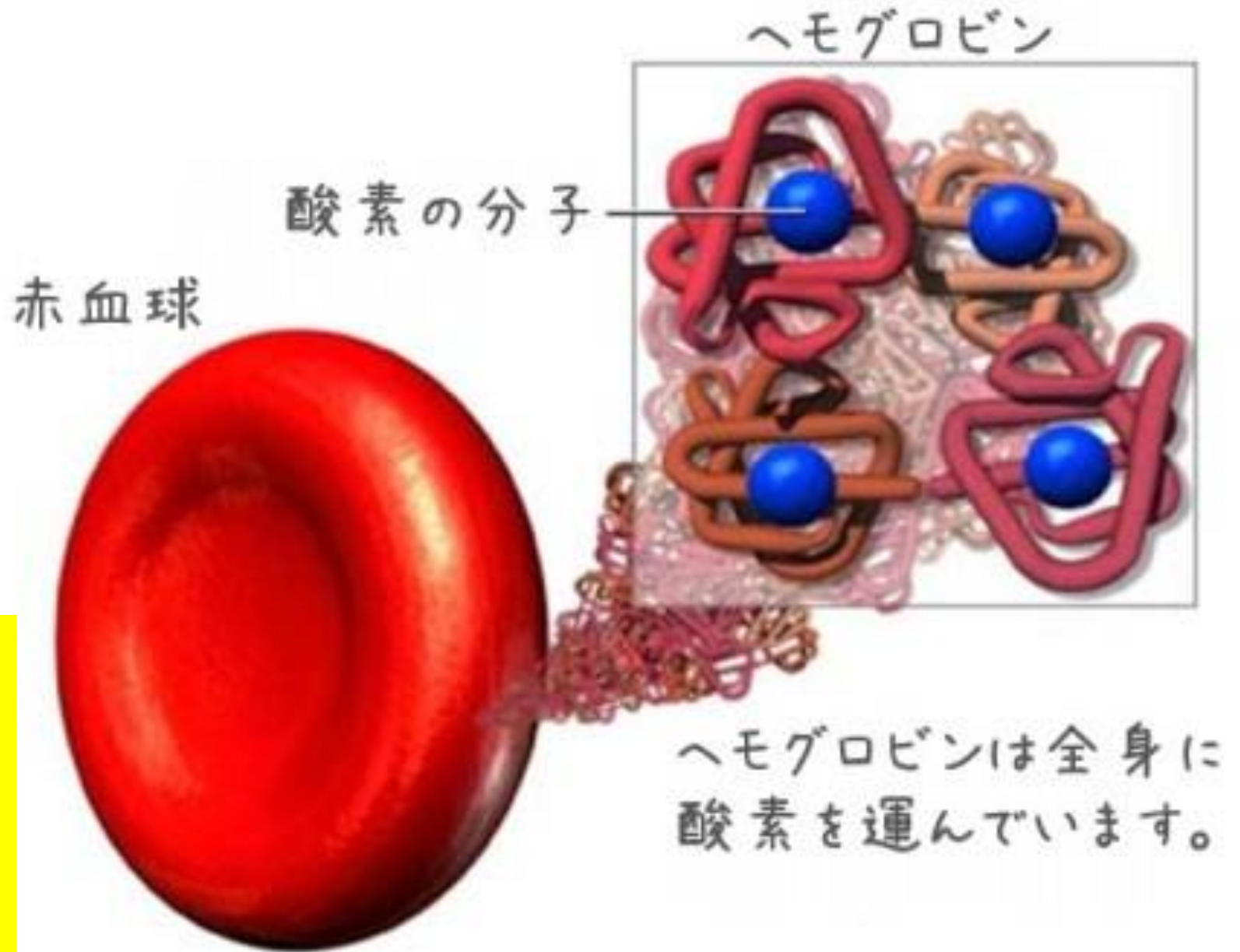
疾患や病態	GA	HbA1c (HPLC)	HbA1c (免疫法)	GA/HbA1c (HPLC)比	GA/HbA1c (免疫法)比	HbA1c HPLCと免疫法の関係
①血糖コントロールの急激な改善	-	↑	↑	低下	低下	乖離しない
②食後血糖改善薬での治療	-	↑	↑	低下	低下	乖離しない
③鉄欠乏性貧血	-	↑	↑	低下	低下	乖離しない
④BUNの上昇(50mg/dl以上)	-	↑	-	低下	変化しない	HPLC > 免疫法
⑤大量のビタミンCやアスピリンの投与	-	↑	-	低下	変化しない	HPLC > 免疫法
⑥慢性のアルコール中毒	-	↑	-	低下	変化しない	HPLC > 免疫法
⑦HbFの高値	-	↑	-	低下	変化しない	HPLC > 免疫法
⑧異常ヘモグロビンの一部	-	* 1	* 1	* 2	* 2	* 3
⑨ネフローゼ症候群	↓	-	-	低下	低下	乖離しない
⑩甲状腺機能亢進症	↓	-	-	低下	低下	乖離しない
⑪副腎皮質ステロイドの投与	↓	-	-	低下	低下	乖離しない
⑫高度肥満	↓	-	-	低下	低下	乖離しない

というわけで、、、

異常ヘモグロビン症のようだ

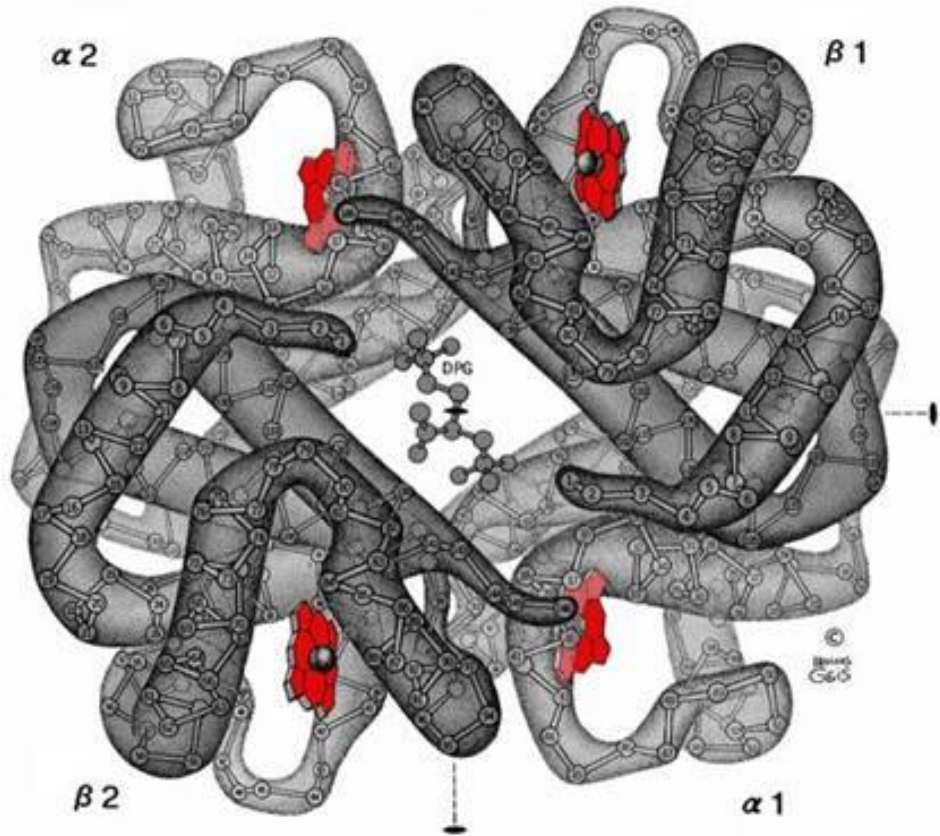


異常 ヘモグロビン とは？



赤血球って、すごく
かわいくないですか？
この形のクッションが欲しいと
検査研修中から思っていました。

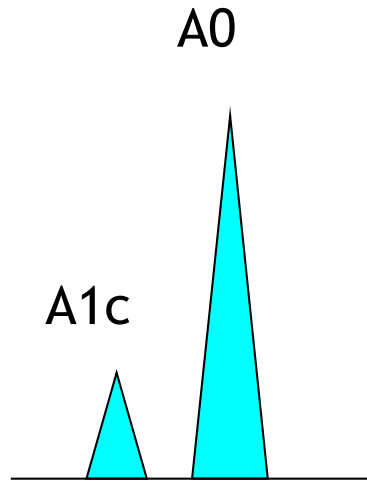
赤血球かわいいと思えたら、
検査医の資質が十分あります！



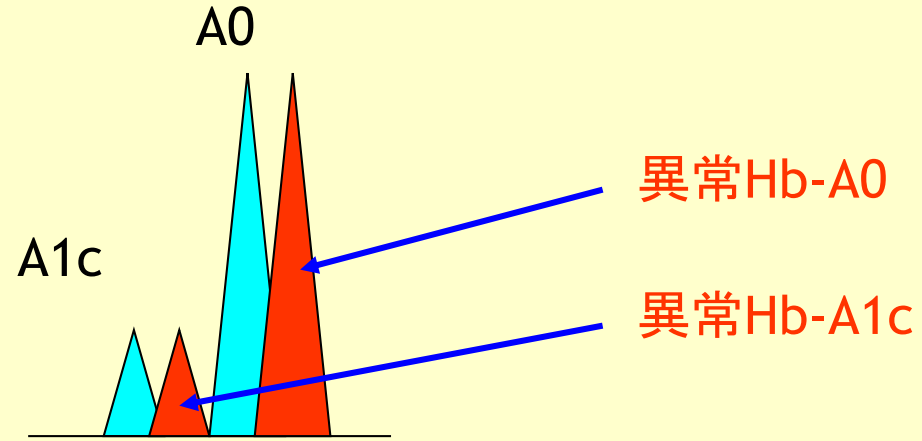
- 通常と異なったアミノ酸配列の α 鎖、 β 鎖から構成されるヘモグロビン(Hb)の総称。
Hb中の1アミノ酸が置換されている場合が多く、1000種類以上が発見されている。
- Hb中のアミノ酸の置換により、Hbのコンフォメーションや表面電荷が通常と異なるため、HPLCでは正常なクロマトグラム波形を描かない場合が多く、正確なHbA1cを測定することが難しい。
ただし、クロマトグラム波形に変化があるため、異常Hbの検出が可能。
- 免疫法や酵素法でも、HbA1c測定へ影響する場合があります、異常Hbの検出は難しい。

異常ヘモグロビンの測定モデル

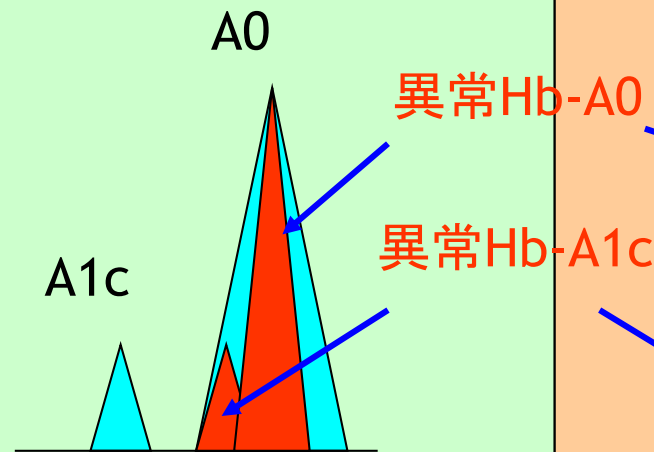
正常なクロマトグラム



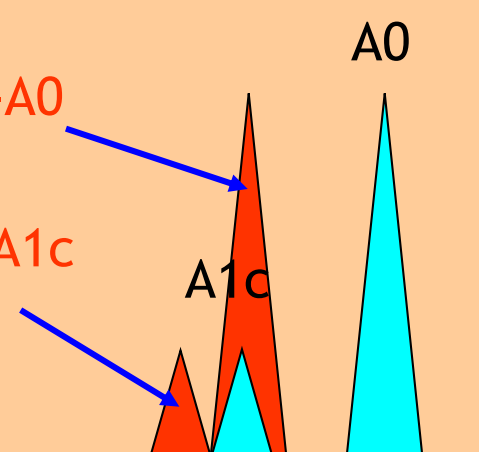
典型的な異常ヘモグロビン(Hb)の
クロマトグラム



A1cが低値となる例



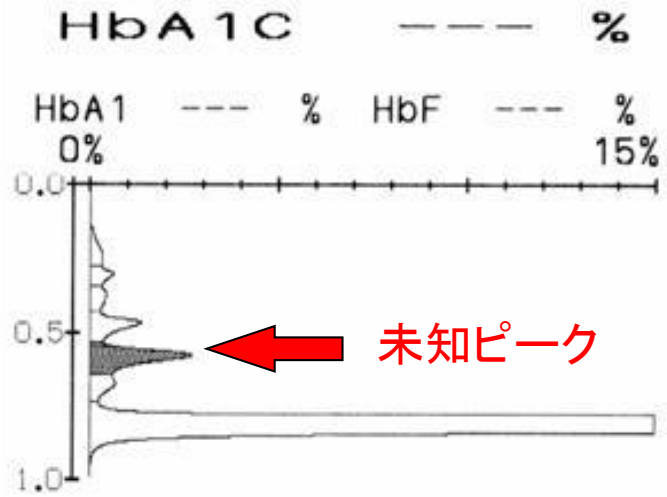
A1cが高値となる例



異常ヘモグロビン検体の測定結果(例)

未知ピーク(P00)が発生

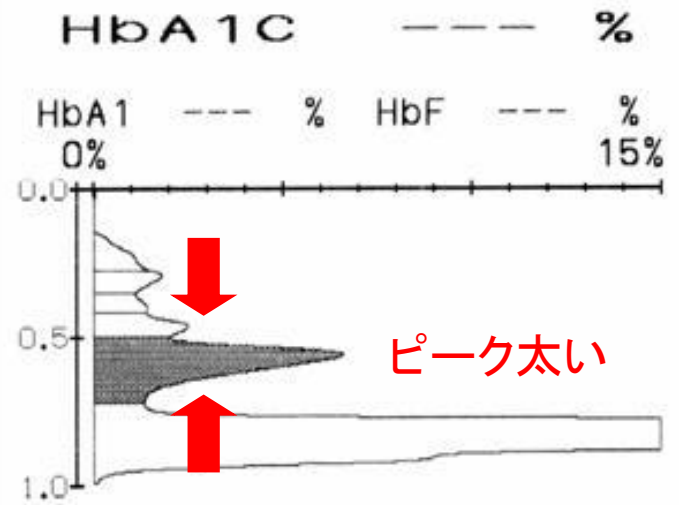
NAME	%	TIME	AREA
FP	0.0	0.00	0.00
A1A	0.4	0.24	6.60
A1B	0.4	0.31	7.01
F	0.5	0.38	7.37
LA1C+	1.1	0.47	17.55
SA1C	2.7	0.58	35.79
AO	94.5	0.81	1472.29
TOTAL AREA			1557.28



P00	0.7	0.68	10.68
UNKNOWN PEAK			

ピーク形状が変化(太い)

NAME	%	TIME	AREA
FP	0.0	0.00	0.00
A1A	0.8	0.23	8.05
A1B	0.9	0.30	9.04
F	0.6	0.40	6.33
LA1C+	1.3	0.47	13.34
SA1C	6.6	0.56	61.16
AO	90.6	0.80	947.97
TOTAL AREA			1045.89



COLUMN CHECK

HbA1c値が低値の場合

HbA1c値と血糖値を比較してください

<HbA1c低値検体の留意点>

● 低血糖

- HbA1c値と血糖値の間に乖離がないか確認

● 血球寿命の短縮によるHbA1c低値

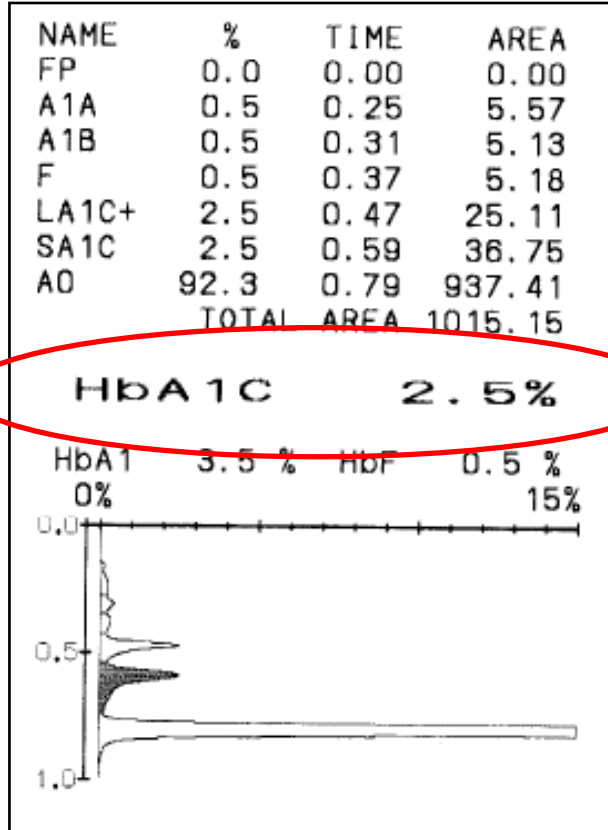
- 古い血球(安定型A1c高値)が減り、新しい血球(安定型A1c低値)の比率が増えるため、血糖値に比べてHbA1c値が低値となる

● 増血剤(エリスロポエチンなど)の投与によるHbA1c低値

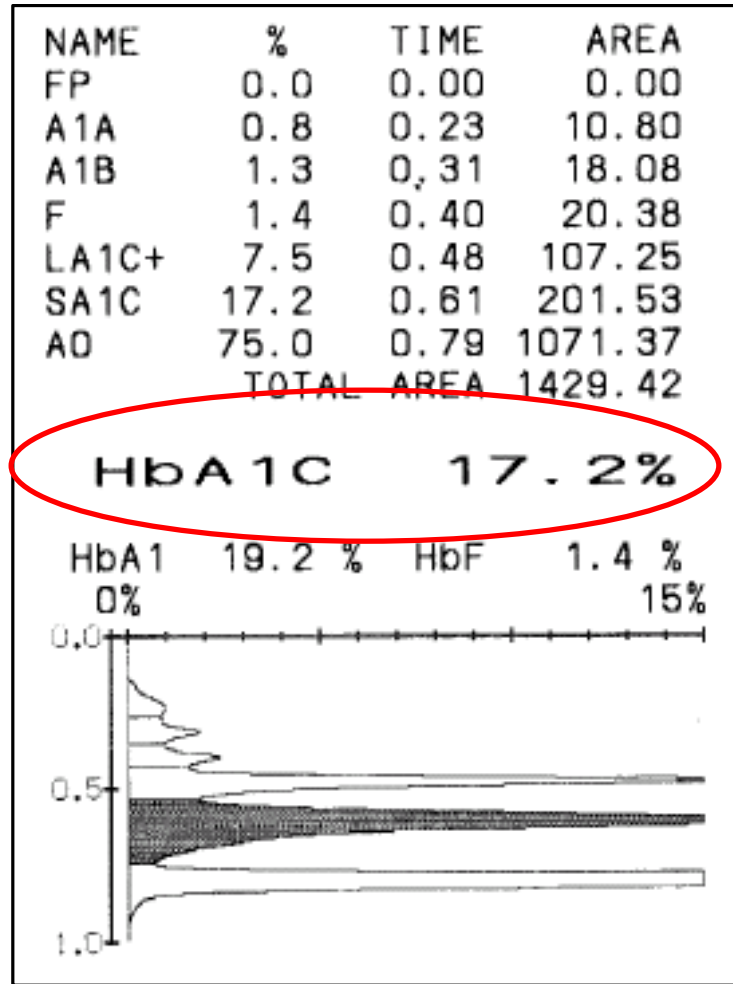
- 造血剤の投与により、新しい血球の比率が増加するため、血糖値に比べてHbA1c値が低値となる

● 異常ヘモグロビン

- A0ピークの中に異常ヘモグロビンのピークが隠れており、血糖値とHbA1c値が乖離する



HbA1c値が高値の場合



HbA1c値と血糖値を比較してください

<HbA1c高値検体の留意点>

• 高血糖

- HbA1c測定値と血糖値の間に乖離がないか確認

• 異常ヘモグロビン

- SA1cピーク付近に異常Hbピークが在り、クロマトグラム上に異常が認められないが、血糖値と乖離する場合がある

- クロマトグラムの縦軸は最大15%。
- SA1c15%以上の検体ではピークが欠けてしまうが、測定は正確に行われている。

異常ヘモグロビン発見のポイント

① HPLC法測定結果⇒装置フラグで確認可能

- ・クロマトグラムに異常があるか？ ⇒ 未知ピーク(P00)に注意
- ・HbA1cのピーク形状に異常があるか？ ⇒ ピークが太い(肩がある)

② SA1c値が血糖値や前回値と極端に乖離していないか？

⇒血糖異常値、HbA1c正常範囲など

【注】血糖値との乖離の留意点

- ・貧血治療開始時
- ・赤血球寿命の影響(貧血などでHbA1c低値傾向)
- ・異常ヘモグロビンの影響

HbA1cだけではなく、
ときどきは、
Hb値もきちんと測定し
ておくことが大事。
HbA1cは万能ではない

HbA1c取り扱い の注意点

ル状態の指標となる(24頁:血糖コントロールの指標 参照)。耐糖能正常者の基準値はHbA1c(NGSP)4.6~6.2%[HbA1c(JDS)4.3~5.8%]^{注1)}である^{注2)}。赤血球寿命との関連があり、出血、鉄欠乏性貧血の回復期、溶血性疾患や肝硬変などで低値をとり、またさまざまな異常ヘモグロビン症でも平均血糖値と乖離した値になるので注意を要する(表1)。

〔表1〕 HbA1c値と平均血糖値の間に乖離があるとき

HbA1c値が高め	HbA1c値が低め	どちらにもなりうるもの
<ul style="list-style-type: none">● 急速に改善した糖尿病● 鉄欠乏状態	<ul style="list-style-type: none">● 急激に発症・増悪した糖尿病● 鉄欠乏性貧血の回復期● 溶血(赤血球寿命↓)● 失血後(赤血球生成↑), 輸血● エリスロポエチンで治療中の腎性貧血● 肝硬変	<ul style="list-style-type: none">● 異常ヘモグロビン症

HbA_{1c} 値低値乖離例に見いだされた Hb Toranomom ヘテロ接合体を有する 2 型糖尿病の 2 例

井島 廣子*¹ 宮崎眞理子*² 川口はるみ*² 橋口 和子*² 西村 博之*³
江口 朝子*³ 池田亜須香*⁴ 陣内 秀昭*⁵ 梶原 敬三*⁵ 陣内 富男*⁵

[糖尿病 50(7) : 499~503, 2007]

生化学検査

FPG	217 mg/dl
PPG	328 mg/dl
HbA _{1c} (HPLC)HA-8160	<u>6.4%</u>
HbA _{1c} (HPLC)HLC-723G8	9.1%
HbA _{1c} (アフィニティー)	8.5%
HbA _{1c} (LA)(ラテックス凝集:免疫)	9.9%
GA	<u>27.5%</u>
TP	6.3 g/dl
ALB	3.7 g/dl

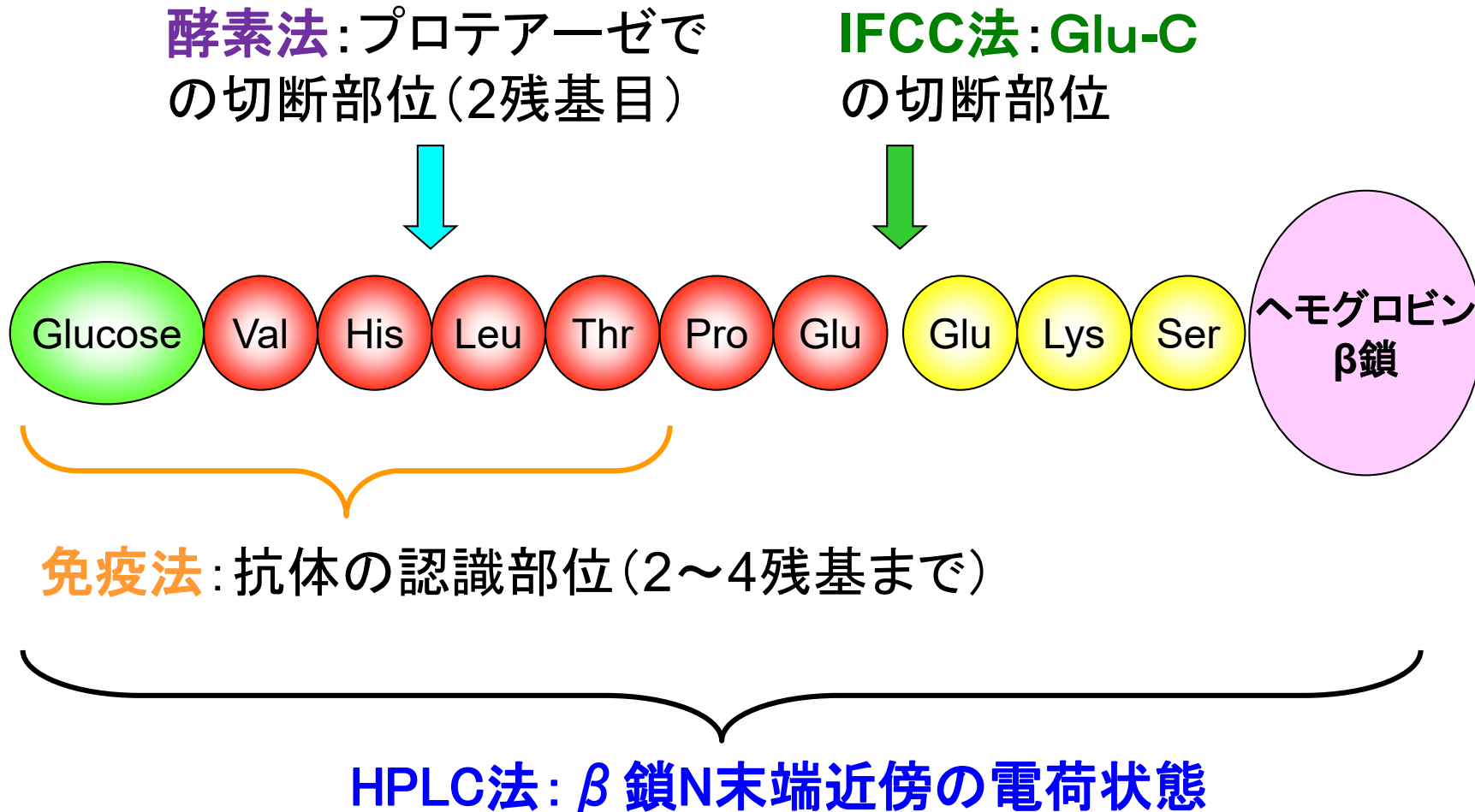
各測定法での症例比較

GAからの推測HbA_{1c}値

9.1%

各測定法の認識部位の違い

HbA1c測定では、SA1c成分(A0のβ鎖N末端にグルコースが結合した成分)を選択的に測定する必要がある。



皆さんなら

どんな検査を追加しますか？

- ①問診や、一般的な血液検査、生化学検査により、表に挙げた異常Hb以外の原因を除外する。
- ②酵素法によるHbA1c値を測定する。酵素法では、β鎖N末端から7位までを認識するため¹⁴⁾、本症例では実際の血糖コントロールと乖離する可能性が高いと予想される。
- ③HPLC法によるHbA1c値を、他社の機器あるいは、同じ会社の機器で旧型や新型の機器で測定する。測定値の変動の仕方により、過去に報告された異常Hbとの対比が可能な場合がある¹⁶⁾。

異常Hb診断に必要な検査①

① 高分離HPLC法

汎用されているHPLC法によるHbA1cの分析時間は約1分間である。また、高分離HPLC法の分析時間は約40分である。そのため、実際の血糖コントロールと汎用HPLC法でのHbA1c値に乖離はあるものの、異常ピークが検出されなかった例で、高分離HPLC法を用いることにより異常ピークが検出でき、異常Hbを疑うきっかけとなる場合がある¹⁷⁾。

② 異常Hbを検出するためのスクリーニング検査

ヘモグロビン分画や、等電点電気泳動、逆相高速液体クロマトグラフィーにより、異常Hbが存在する可能性を指摘できる場合がある。ヘモグロビン分画では、異常Hbの量が少ない場合や、血液を溶血させる状態によっては検出が困難な場合も多い。また、すべての異常Hbを検出しうるスクリーニング検査はない¹⁰⁾。

③ 不安定Hbを検出するための検査

イソプロパノール沈殿試験や、熱変性試験、Heinz小体生成試験などが挙げられる¹⁰⁾。

異常Hb診断に必要な検査②

④異常Hbのアミノ酸一次構造解析

異常Hbの異常ペプチドを単離し、アミノ酸組成を分析する。その後、正常なペプチドと比較し、アミノ酸置換を推定する¹⁸⁾。

⑤ソフトイオン化質量分析

グロビンをトリプシンで消化し、逆相HPLCにかけ、イオン化質量分析を行う。グロビン α 鎖、 β 鎖の異常鎖と正常鎖が混ざった状態で酵素消化し、ペプチドの質量数とアミノ酸配列を記録し、正常と異なるイオン質量のペプチドを見つける。イオンの質量数差からアミノ酸配列が求められ、異常Hbのアミノ酸変異を見つけることができる¹⁹⁾。

⑥遺伝子解析

末梢血buffy coatから単離したDNAを用いてPCR法を行い、得られた増幅産物についてSSCP (single strand conformation polymorphism)法、ダイレクトシーケンス法、クローニングシーケンス法などを実施し、遺伝子の塩基配列異常の検出と決定を行う¹⁰⁾。

さて、検査医師として、これからどうする？

この症例では、**β鎖N末端から6位までのアミノ酸に変異がある異常Hb、あるいは糖化の亢進する異常Hb**が疑われる。

まず①の**高分離HPLC法**を推奨する。異常ピークが認められた場合は、過去のデータと対比を行う。

高分離HPLC法で、異常ピークが認められた場合も、認められなかった場合も、引き続き⑤の**ソフトイオン化質量分析**を推奨する。これで、アミノ酸変異を見つけることができ、既に報告されている異常Hbのアミノ酸配列と合致すれば、この時点で診断がつく可能性がある。

ソフトイオン化質量分析で診断が困難であった場合は、**遺伝子解析**を推奨する。遺伝子解析では、末梢血液から単離できない極度に不安定な異常Hbを検出できる可能性がある。また、未知の異常Hbの発見につながる可能性がある。

茨城県立中央病院の場合(2014)

【茨城県立中央病院での血糖管理指標検査について】

使用機器：HbA1c(HPLC法)

HLC-723G9 (東ソー)

GA

TBA2000FR (TOSHIBA)

7/16783

÷ 1/2397

2014年1年間のHbA1c測定件数は**16,873件**であり、そのうちクロマトグラムに異常ピークが認められ、高分離HPLC法で解析を行ったのは、**10検体(7症例)**であった(下表)。

表のうち、症例3は高分離HPLCで異常ピークが認められ、異常Hbが強く疑われた。

※汎用HPLC法では検出困難な異常Hbがあることを考慮すると、症例3以外にも異常Hb症例が存在する可能性があると考えられる。

	ID	年齢	性別	診療科	基礎疾患	HbA1c(東ソー)	Glu	GA	解析理由
1	1890350	53	M	血液内科	再生不良性貧血	6.5	113	14.4	HbF区分大
2	2557496	48	M	内分泌	1型糖尿病(初)	17.6	327	58.6	HbA1c20%越え
3	2239465	49	F	膠原病	MCTD、SS	5.7			unknown peak
4	2586749	73	F	総合診療	統合失調、低Alb	3.9	74		unknown peak
5	457972	59	M	脳外科	SAH	5.4	139		unknown peak
6	1925741	83	M	循環器内科	労作性狭心症s/o	5.1	108		unknown peak
7	473357	68	M	膠原病	RA	5.5	161		unknown peak

※注意※ 診療報酬(大人の事情)関係

HbA1c 49点

グリコアルブミン(GA) 55点

HbA1c、GA、1,5-AGのうち**いずれかを同一月中に合わせて2回以上実施した場合は、月1回に限り主たるもののみ算定**できる。

ただし、『妊娠中の患者、1型糖尿病患者、経口血糖降下薬の投与を開始して6月以内の患者、インスリン治療を開始して6月以内の患者等については、いずれか1項目を月1回に限り**別に**算定できる。(保医発第0305001号)』

異なる方法で測定した特定健診における HbA1c 値の比較

合屋佳世子¹⁾ 今門啓恵²⁾ 石橋みどり³⁾ 古賀正史⁴⁾

要 約

目的：我々は健診時に酵素法で測定したHbA1c(酵素法-HbA1c)がHPLC法で測定したHbA1c(HPLC-HbA1c)に比し偽低値を示すことを報告した。我々の関連施設のはくほう会セントラル病院の特定健診における検査施設のHbA1c測定法は2017年2月にHPLC法から酵素法に変更となった。今回、我々は上記の病院の特定健診を2015年2月から2019年1月に受診した非糖尿病者を対象にして、測定法の変更に伴うHbA1c値への影響について調査した。

方法：2015年2月から2019年1月を1年刻みの4期間に分け、HPLC法での測定期間、HPLC法から酵素法へ変更となった測定期間、酵素法での測定期間において同一受診者のHbA1c値への影響を調査した。なお、健診のHPLC-HbA1cはフッ化ナトリウム含有採血管(血糖管)を用いて全血HbA1cを測定し、酵素法-HbA1cは血糖管を用いて血球層のHbA1cを測定した。

結果：酵素法-HbA1cはHPLC-HbA1cに比し有意に低値を示し、同一受診者における隣接期間の比較ではHPLC法から酵素法に変更となった期間においてHbA1c値が有意に低下した。

結論：HbA1c値はHPLC法から酵素法への変更に伴い、有意に低値を示した。我々の既報の知見を踏まえると、酵素法-HbA1cの低値の原因は検査施設への検体の運搬に伴う溶血に起因すると考えられた。

キーワード HbA1c, 酵素法, HPLC 法, 特定健診

たった3行から病態を探れる、それが検査の世界！

GA		20 %
HbA1c	HPLC法	9.5%
	免疫法	9.0%

人は嘘をつく(つける)

検査は嘘をつかない(つけない)

検査で見えてくる病態は、核心につながる！！

一緒にもっと検査の世界を勉強してみませんか？

Take Home Message

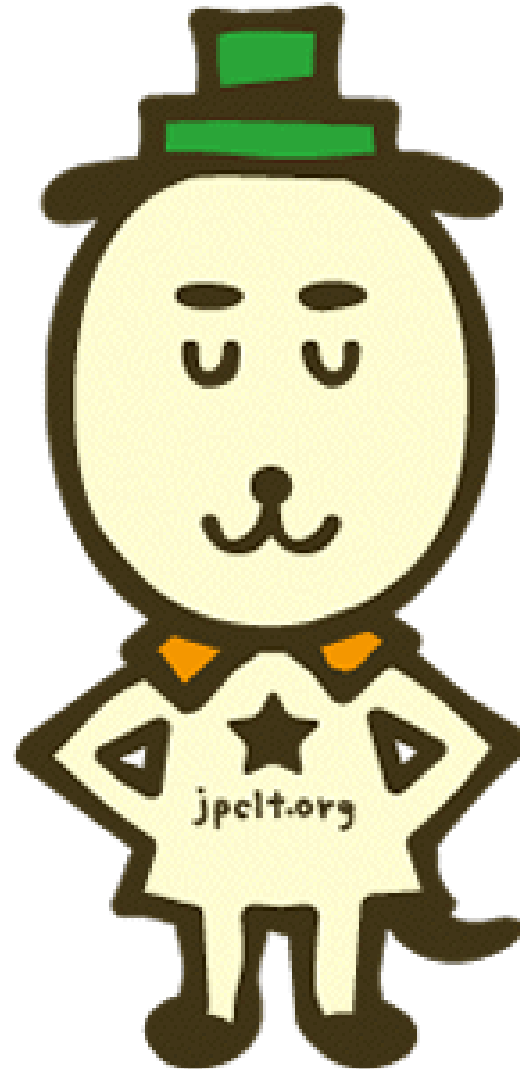


- 臨床検査室には、ちよくちよく行こう！
- 検体は自分で持っていくようにするといい。
- 臨床検査技師さんを味方につける！
- 技師さんはなんでも教えてくれるし、
なんでも調べてくれる最強の仲間です！
- Hb1cが自分の施設で何法で測られているのか知る。
- HbA1cは万能ではなく、測定上の欠点があると知る。
- 検査の世界は面白いよ～一緒に勉強しませんか？

りんしょう犬さん

「りんしょう犬さん」は臨床検査振興協議会から広報活動の特命を受けたスーパードッグ。安心できる医療の構築に必要な信頼できる臨床検査を提供するシステムを親しみやすく紹介します。

普段は帽子をかぶった風変わりな検査技師だが時には国民、時にはドクターなど様々に変身し、それぞれの立場になり、頼もしい正義の代弁者となるのである。

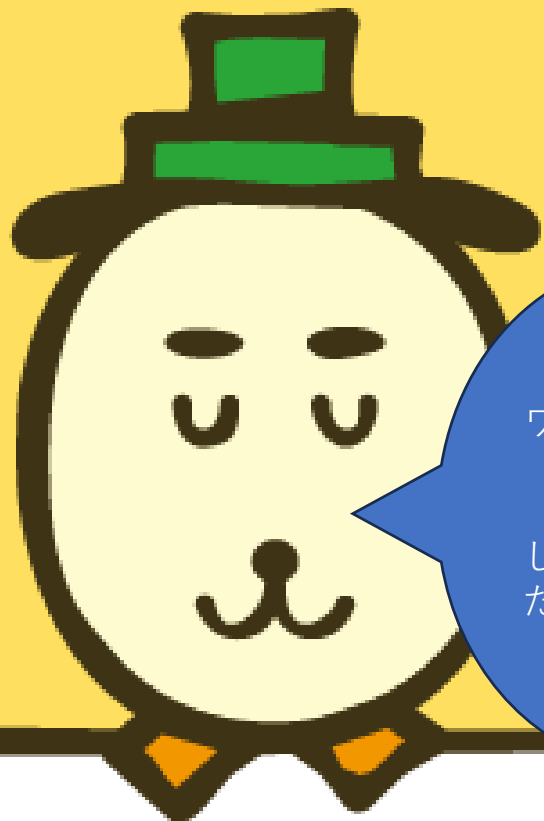


生年月日 2005年12月28日
(身体検査の日)

血液型 1・2D1D2
犬の血液型は13種類以上
あると言われている

身長 145センチ
体重 55キロ
特技 採血
趣味 献血

「緑の帽子には秘密が隠されている」



ぼくが、
ワンワンワン
ン
1111
しか言えなかつ
たからという説
もあるよ！

検査で守るあなたの健康

11月11日は
臨床検査の日

臨床検査振興協議会は、
11月11日を臨床検査の日と制定し、
国民の皆さんに、臨床検査が、
病気の早期発見や早期治療に
つながる有用なものであることを
広く知っていただくために
広報活動をスタートしました。

臨床検査で不可欠な+(プラス),-(マイナス)を組み合わせた
十一月十一日を臨床検査の日としました。

ご清聴(成長)
ありがとう
ございました！



- 臨床検査医に少し興味がでた方、
- どこで、どのような
研修したらいいのか
知りたい方、是非お気軽にご連絡を！

遠別町国民健康保険診療所

manam_ihinachi_ace@yahoo.co.jp



参考文献

- 1) 柏木厚典. 糖尿病入門 HbA_{1c}の国際標準化. DIABETES UPDATE 2012; 1: 24-30.
- 2) 宮本博康, 染谷茜, 吉澤辰一 他. HPLC法によるHbA_{1c}測定におけるHbF補正の注意点や補正域と有用性に関する検討. 医学検査 2013; 62: 3-9.
- 3) 柿沼泰久, 大藤正和. 新しい診断基準—国際化をめぐって Question デタミナーL HbA_{1c}「デタミナーL HbA_{1c}」の測定原理と基礎的検討について教えてください. 肥満と糖尿病 2010; 9: 434-6.
- 4) 泉雅子, 大井加代子, 黒田雅頭 他. 酵素法を用いた汎用自動分析装置用グリコヘモグロビン測定試薬「ノルディアHbA_{1c}」の性能評価. JJCLA 2009; 34: 902-10.
- 5) 古賀正史. グリコアルブミン、フルクトサミン. 総合臨牀 2008; 57: 1922-7.
- 6) 佐久間伸子, 大村昌夫, 斉藤寿一. 食後血糖や血糖変動の推定は? 肥満と糖尿病 2008; 7: 818-20.
- 7) Coban E, Ozdogan M, Timuragaoglu A. Effect of Iron Deficiency Anemia on the Levels of Hemoglobin A_{1c} in Nondiabetic Patients. Acta Haematol 2004; 112: 126-8.
- 8) Cas W. W, Kor M, Tjeerd de Haann, et al. Carbamylated Hemoglobin Interference in Glycohemoglobin Assays. Clinical Chemistry 1999; 45: 438-40.
- 9) 糖尿病専門医研修ガイドブック 改定第3版. 東京: 診断と治療社; 2007. p.151-4
- 10) 村上純子. 異常ヘモグロビン. 日本臨牀 2010; 68巻増刊号1: 821-4.
- 11) 古賀正史, 村井潤, 曾我純子 他. 人間ドック受診時にHbA_{1c}の異常低値を契機に発見した異常ヘモグロビン5例の解析. 糖尿病 2013; 56: 841-8.
- 12) Ijima H, Jinnouchi H, Hamaguci K, et al. Cases with Hb Toranomom show abnormal HbA_{1c} levels measured by upgraded high-performance liquid chromatography models. Diabetol Int 2011; 2: 202-7.
- 13) 中西豊文. 異常ヘモグロビン-血糖マーカー値乖離の原因としての可能性. 臨床検査2013; 57: 1515-21.
- 14) 榎わか菜. 貧血や異常ヘモグロビンの人のHbA_{1c}は? 肥満と糖尿病 2013; 9: 372-4.
- 15) 古賀正史. 異常ヘモグロビンにおけるHPLC法と他の方法で測定したHbA_{1c}値の乖離について. 糖尿病 2014; 57: 923-5.
- 16) 石黒旭代, 山内露子, 今田龍市 他. ヘモグロビンA_{1c}値の測定方法間差の現状. 医学検査 2014; 63: 767-72.
- 17) 成瀬桂子, 小林泰子, 中村信久 他. 日常検査用HPLC法HbA_{1c}測定におけるs-A_{1c}とAoピーク間の波形異常より発見された異常ヘモグロビン症の1例. 糖尿病 2014; 57: 118-23.
- 18) 原野恵子, 原野昭雄. 異常ヘモグロビンの精査. Medical Technology 1997; 25: 697-704.
- 19) 清水章. 変異蛋白質の質量分析による検出-臨床検査への応用-. 臨床病理 2003; 51: 29-42.