

学生優秀発表賞受賞者：本山めぐみ 演題番号 114

HPLC-ポストカラム BCG 誘導体化法を用いた Alb 測定 の 検 討

本山 めぐみ^{*1§} 上山 純^{*1} 石川 裕介^{*2} 野村 洗司^{*1}

松本 祐之^{*3} 松下 正^{*3} 涌澤 伸哉^{*1}

I. 目 的

血清アルブミン (Alb) の日常検査法は、主にブロムクレゾールグリーン法 (BCG 法) と改良型ブロムクレゾールパープル法 (改良型 BCP 法) である。後者は還元型 Alb (HMA) を酸化型 Alb (HNA) に変換することで HMA と HNA との反応差を解消した方法で、Alb に対する特異性が高く日常検査法として普及しつつある。しかし、改良型 BCP 法は薬剤投与の影響等が指摘されており、原因究明にはまず HMA および HNA を分別定量できる測定法の確立が必須であり、本研究では妨害物質の影響なく、簡便に HMA および HNA を検出できる HPLC 法の確立を目指した。

II. 方 法

現在は HMA および HNA の分析に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いているが、夾雑物質がクロマトグラムに影響するとの報告がある。本研究では、HPLC にて HMA および HNA を分離したのちに BCG を用いて検出する HPLC-ポストカラム BCG 誘導体化法を立案し、この測定法の各種評価を行った。分離カラム shodex asahipak ES-502 を 2 本連結し、移動相には 50 mM *N*-methylpiperazine-HCl (pH 4.8) + 40 mM Na₂SO₄ +

エタノール (Et) を用いた。移動相中 Et 濃度・サンプル注入量等の最適条件を検討し、再現性や HMA および HNA の保存性を確認した。

III. 結果と考察

移動相中 Et 含有量を検討した結果、3% Et において分析開始 13 分に HMA、21 分に HNA のクロマトピークを検出し、ピーク分離が最良であったことから至適 Et 濃度は 3% とした。血清注入量を 2, 5 および 10 μ L で検討した結果、2 > 5 > 10 μ L の順で分離が良好であったが、2 μ L では検出下限値以下の低濃度 Alb 血清が存在したため、5 μ L を至適量とした。最適条件にて健常人血清検体を測定したところ、UV 検出法では尿酸の妨害ピークが Alb ピークに干渉したが本測定法に干渉ピークは見られなかった。本測定法は良好な希釈再現性、同時再現性 (CV% < 13%) および日差再現性 (CV% < 6%) を示し、また患者血清を用いて改良型 BCP 法との相関を観察した結果、相関係数 0.9932 (r^2) であり良好な相関を示した。

IV. ま と め

本測定法は、一般健常人および患者血清中 HMA および HNA を再現性よく検出できる方法であることが示唆された。

^{*1} 名古屋大学医学部保健学科 [§] motoyama.megumi@f.mbox.nagoya-u.ac.jp、

^{*2} 名古屋大学医学部附属病院医療技術部臨床検査部門、^{*3} 同 検査部・輸血部