

LM1010高速液体クロマトグラフ

LM1010 High Performance Liquid Chromatography

松下 美由紀, 橋本 誠, 森川 悟

1. はじめに

LM1010システムは、医療現場からの要望¹⁾により開発された、病院、検査センター、研究機関において生体試料を分析するための高速液体クロマトグラフィーシステム (HPLC-UVシステム) である。2020年2月に一般医療機器として PMDA に届出された (製造販売届出番号22B3X10009000003)²⁾ (図1)。

通常、HPLC 分析においては、検体の適切な前処理方法・測定条件・操作手順の確立のために専門知識や経験が必要となる。また正しい測定結果を得るためには、日常的な性能確認やメンテナンスを行う必要があるが、現場の担当者がこれら全てに対応することは、業務において大きな負担となる。



図1 LM1010高速液体クロマトグラフ

2. LM1010 システムの特長

LM1010システムでは、検体の適切な前処理方法・測定条件・操作手順の確立から日常の精度管理、さらには定期的なメンテナンスを含む、HPLC 分析における煩雑な作業の負担を軽減し、かつ測定者の経験や知識に左右されことなく、安定した結果が得られるようサポートしている。特長を以下に示した。

(1) 作業の効率化

システムの準備から測定、結果入手までの各操作ステップをできるだけ単純化することで、操作のルーチン化を追求した。また、測定に必要な消耗品や一般試薬をセット化して (図2)、共通した測定フローを提供することで (図3)、作業の効率化を図った。

(2) 日常の精度管理

システム起動後、自動コンディショニングから QC (Quality Control) サンプル測定までをワンクリック化することで、測定時のシステム最適化と精度管理を可能とした。

(3) 測定項目の追加

LC 法であるため、現場からの要望により測定項目の追加検討も可能とした。



図2 調製済み一般試薬セット

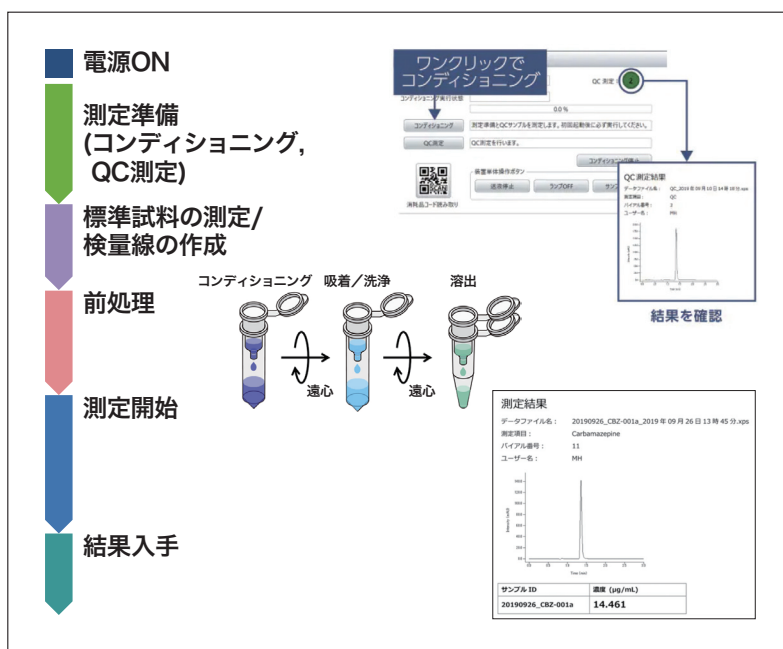


図3 測定フロー(例)

3. 測定の手順

LM1010に移動相と洗浄液をセットしてシステムを起動後、操作画面のコンディショニングボタンをクリックしLM1010用のQCサンプルを測定する。QCサンプル測定がパスすればシステムは正常であり、検体測定をスタートすることが可能となる。QCサンプル測定がパスしない場合はシステムが正常でない可能性があるため、検体測定にはすすむことはできない。ここまですべて測定準備である。測定準備が正常に完了したら、測定項目を選択して標準溶液を測定することで検量線が自動で作成される。その後測定項目ごとに提供している操作手順に従って検体の前処理を行い、LM1010にセットして測定すれば、必要な測定値が得られる(図3)。

4. 応用例－感染症治療における抗菌薬の血中濃度測定－

感染症の治療薬に使用される抗菌薬で表1に示す項目については、必要なタイミングに1検体あたり30分程度の所要時間で薬物血中濃度の測定が可能である。抗菌薬の使用においては、治療のための目標血中濃度域が狭い薬物を対象としてTherapeutic drug monitoring (TDM) が推奨されている。

－以下は参考文献(3)より引用－

「Therapeutic drug monitoring (TDM)とは、初期投与と設計から関わり、投与開始後に薬物の血中濃度を測定し、投与設計を見直すことにより、安全で有効な治療を行うことである。目標血中濃度域が狭い薬物が対象となり、抗菌薬ではグリコペプチド系薬、アミノグリコシド系薬、抗真菌薬ではボリコナゾールが対象となる。」

表1 LM1010システムで測定できる抗菌薬(2021年9月現在)

薬物名	分類
バンコマイシン	抗MRSA薬
リネゾリド	抗MRSA薬
ボリコナゾール	抗真菌薬
ファビピラビル	抗ウイルス薬

一例として、バンコマイシンとボリコナゾールの測定結果を以下に示した。

4-1. バンコマイシン（グリコペプチド系薬）の測定例

バンコマイシン標準溶液で検量線を作成後(図4)、市販の標準血清にバンコマイシンを添加し、1 µg/mL、50 µg/mL、100 µg/mL バンコマイシン添加血清とした疑似検体を測定した(図5)。

この結果は、図2に示した一般試薬セットを使用して、提供している操作手順書(テクニカルレポート: AS/LM-012 操作

手順編⁴⁾に従って測定した結果である。1 ～ 100 $\mu\text{g/mL}$ バンコマイシン添加血清の測定真度は、94.4 ～ 95.5%，精度は 1.25 ～ 6.58%であった(表 2)。

また、図6には、LM1010による疑似検体定量値 ($\mu\text{g/mL}$ 、縦軸)とバンコマイシン添加血清 ($\mu\text{g/mL}$ 、横軸)の相関について示した。寄与率(R^2)は0.999と良好な結果が得られた。

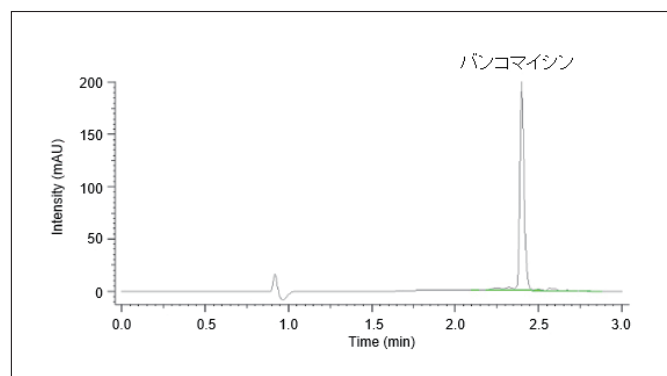


図4 100 $\mu\text{g/mL}$ バンコマイシン標準溶液のクロマトグラム

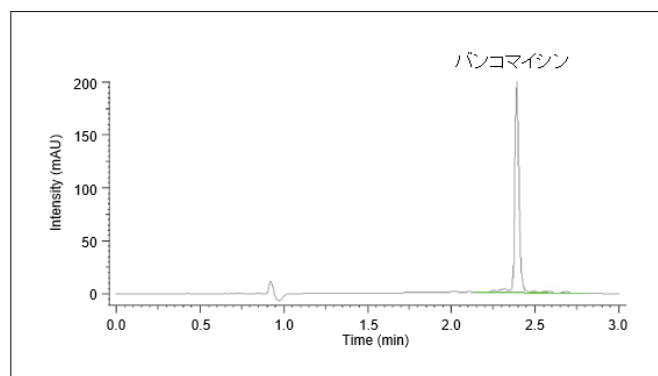


図5 100 $\mu\text{g/mL}$ バンコマイシン添加血清のクロマトグラム
(疑似検体の前処理から測定までは、操作手順書に従った)

表2 LM1010 によるバンコマイシン添加血清の定量結果(平均値)

サンプル	定量値 ($\mu\text{g/mL}$)	真度 (%)	精度 (% RSD)
100 $\mu\text{g/mL}$ 標準溶液	100	—	—
ブランク血清 (n=3)	0	—	—
1 $\mu\text{g/mL}$ 添加血清 (n=5)	0.946	94.6	6.58
50 $\mu\text{g/mL}$ 添加血清 (n=5)	47.748	95.5	1.25
100 $\mu\text{g/mL}$ 添加血清 (n=5)	94.419	94.4	2.69

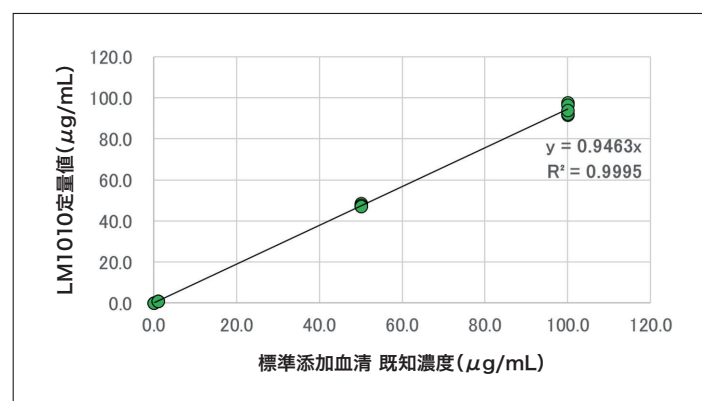


図6 LM1010による定量値($\mu\text{g/mL}$)とバンコマイシン添加血清($\mu\text{g/mL}$)の相関

4-2. ポリコナゾール (抗真菌薬) の測定例

ポリコナゾールは抗真菌薬の中で唯一 TDM 対象薬となっている。

ポリコナゾール標準溶液で検量線を作成後(図7)、市販の標準血清にポリコナゾールを添加し、1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ ポリコナゾール添加血清とした疑似検体を測定した(図8)。

この結果は、図2に示した一般試薬セットを使用して、提供している操作手順書(テクニカルレポート: AS/LM-004 操作手順⁵⁾)に従って測定した結果である。1 ～ 5 $\mu\text{g/mL}$ ポリコナゾール添加血清の測定真度は、99.6 ～ 104.2%，精度は 0.63 ～ 1.02%であった(表 3)。

また、図9には、LM1010による疑似検体定量値 ($\mu\text{g/mL}$ 、縦軸)とポリコナゾール添加血清 ($\mu\text{g/mL}$ 、横軸)の相関について示した。寄与率(R^2)は0.998と良好な結果が得られた。

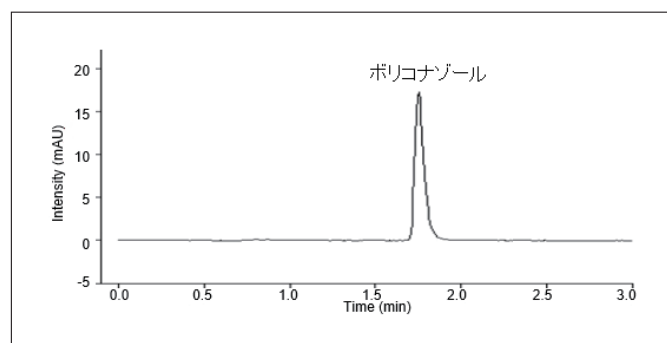


図7 5 µg/mLポリコナゾール標準溶液のクロマトグラム

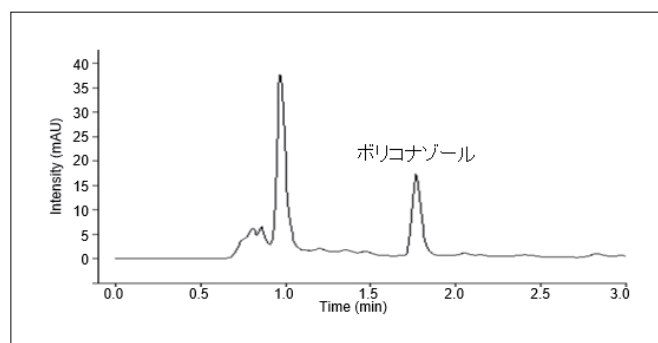
図8 5 µg/mLポリコナゾール添加血清のクロマトグラム
(疑似検体の前処理から測定までは、操作手順書に従って行った)

表3 LM1010 によるポリコナゾール添加血清の定量結果(平均値)

サンプル	定量値 (µg/mL)	真度 (%)	精度 (% RSD)
5 µg/mL 標準溶液	5.0	—	—
ブランク血清	0.215	—	—
1 µg/mL 添加血清 (n=5)	0.996	99.6	0.73
2 µg/mL 添加血清 (n=5)	1.995	99.8	0.63
5 µg/mL 添加血清 (n=5)	5.211	104.2	1.02

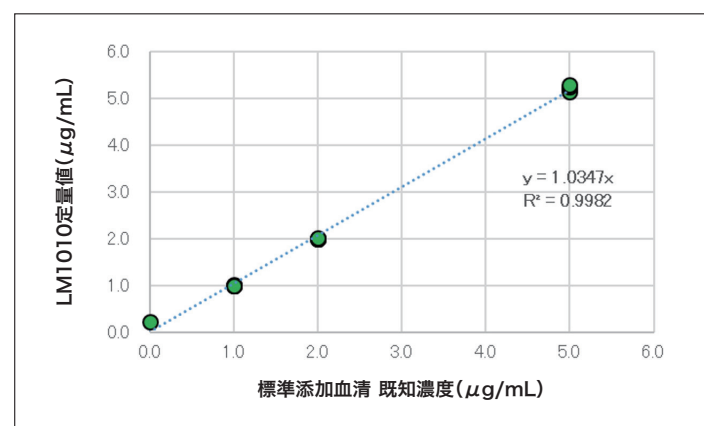


図9 LM1010による定量値(µg/mL)とポリコナゾール添加血清(µg/mL)の相関

5. LM1010システムの活用

ポリコナゾールのように薬物血中濃度の管理が求められる薬物では、必要なタイミングに合わせて迅速な測定を実現することにより、薬物治療の最適化に貢献できる可能性が期待される。

－以下は参考文献(3)より引用－

「ポリコナゾールはほとんどの施設で外注検査となっており、血中濃度の結果を得るまでに、投与開始から考えると1週間以上かかる。前もって遺伝子多型解析を実施し、その結果に基づいて投与設計ができていれば、安全にポリコナゾールを使用できる。また、LM1010高速液体クロマトグラフの最大の利点の一つとしてポリコナゾールの測定ができることが挙げられる。所有しておけば、その日のうちに測定結果が得られるため、検査結果で患者状態の悪化や肝障害の発現が見られたら、5-7日まで待たず、すぐに血中濃度を確認し、ポリコナゾールの増量または減量、他剤への変更をその日のうちに決められ、ポリコナゾールの治療最適化に貢献できる。」

6. おわりに

LM1010システムでは、採血後の血清（あるいは血漿）検体において、1検体あたり30分程度の所要時間で薬物濃度の測定結果が得られる。緊急時や迅速対応が必要とされるタイミングに測定することで、薬物治療の最適化に貢献できる可能性が期待される。今後、これまで以上に現場のニーズに注力しながら、測定項目の追加やシステムの改善について継続して検討を進めていきたい。

表4 LM1010システムで測定できるその他の項目(2021年9月現在)
(参考)

薬物名	分類
カルバマゼピン	抗てんかん剤
フェニトイン	抗てんかん剤
ラモトリギン	抗てんかん剤
ジゾピラミド	不整脈用剤
リドカイン	不整脈用剤
メキシレチン	不整脈用剤
プロカインアミド	不整脈用剤
ソタロール	不整脈用剤
プロパフェノン	不整脈用剤
フレカイニド	不整脈用剤
ミコフェノール酸	免疫抑制剤
パゾパニブ	抗がん剤
カフェイン	鎮痛剤

参考文献

- 1) 森川剛, 「病院内での薬物血中濃度分析のための実用的な HPLC システムの開発」, *THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS*, Vol.63, No.2 (2020).
- 2) LM1010 高速液体クロマトグラフ 添付文書 2021年7月改訂 (第3版).
- 3) 松元一明, 「AS 活動を推進するために遺伝子解析と薬物血中濃度を活用しよう!」, *THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS*, Vol.65, No.1 (2022).
- 4) LM1010 高速液体クロマトグラフによるバンコマイシンの測定, *Technical Report*, AS/LM-012.
- 5) LM1010 高速液体クロマトグラフによるポリコナゾールの測定, *Technical Report*, AS/LM-004.

著者紹介

松下 美由紀, 橋本 誠, 森川 悟

(株)日立ハイテクサイエンス サービス販促部 サービス販促二課