

血液分析装置で役に立った技術

Useful Technologies for Clinical Hematology Analyzer

○ 水野義照 (シスメックス株)

Yoshiteru MIZUNO, Sysmex Corporation

Key Words: Hematology Analyzer, Flow cytometer

1. はじめに

健康診断や病院などで行われる血液検査は、患者の検体（血液や尿など）を検査対象とすることから、一般に検体検査と呼ばれる。検査行為が患者人体へ直接影響を与えないことから、種々の分析技術を取り入れた積極的な検査方法が考案されてきた。また現在、多くの血液分析装置は光学式のフローサイトメータ⁽¹⁾ (Flow cytometer) と言える。ここでは“ものづくり基盤技術とは何か”の観点から、血液分析装置を支える個々の技術に着目し、役に立った技術がどのような特徴をもっているか考察したい。

1-1 血液分析一般

血液分析装置の主な機能は、末梢血中の赤血球、白血球、血小板の単なる計数から、血球内の物質を分析し血球の細分類ができるように進化した。現在では血球計数の基本となる8項目（白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球体積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数）に加え、白血球5分類（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球）と有核赤血球、網赤血球などの自動測定が可能である⁽²⁾。

1-2 光学式のフローサイトメータ

血球分類では、レーザーを用いたフローサイトメトリが採用されている。フローサイトメトリとは、血球細胞などの粒子を検出エリア（有感帯）へ一個ずつ通過させ、個々の粒子から得られる種々の信号を検出し、粒子の計数や分類を行う方法である⁽¹⁾。この方法を使った装置はフローサイトメータと呼ばれ、細胞からの散乱光と蛍光を検出する。入射光の光軸に対し低角度（0.5~5°）の散乱光量は細胞の大きさを反映し、高角度（15~150°）の散乱光量は細胞内部の顆粒や表面形状を反映するとされている⁽³⁾。さらに細胞の膜や顆粒、RNA や DNA を染め分ける種々の蛍光染色技術と蛍光測定を組み合わせると細胞の詳細情報を得ることが可能である。システム例をFig.1に示す。

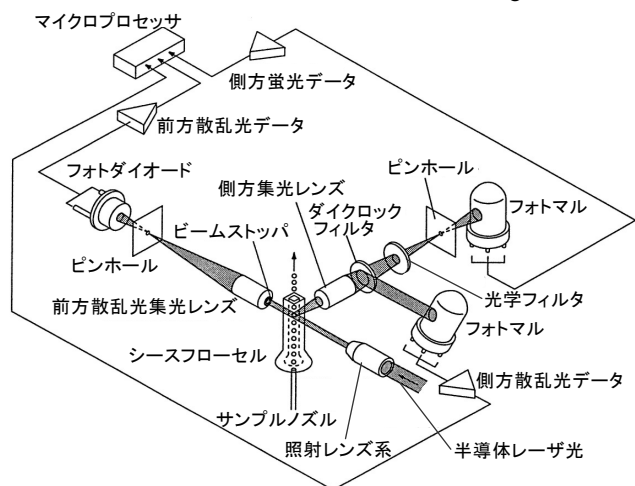


Fig. 1 Structure of flow cytometer

フローサイトメータの機能は大きく分けて、測定サンプル（細胞等）を流すフロー系、レーザーを光源としサンプルに光を照射する光源系、サンプルからの散乱光や蛍光を捉える受光系から成る。一般に蛍光は励起光と分離し S/N 良く検出される。Fig.2 はフローサイトメータによる白血球5分類の例を示す。各血球細胞から得られた散乱光、蛍光信号を基に種々の二次元プロットを行なう。一般にこれらはスクアッタグラムと呼ばれ、ここに現れる集団をクラスターと呼び、個々の細胞がどのクラスターの属するかを検出ゲータから決めていく⁽⁴⁾。

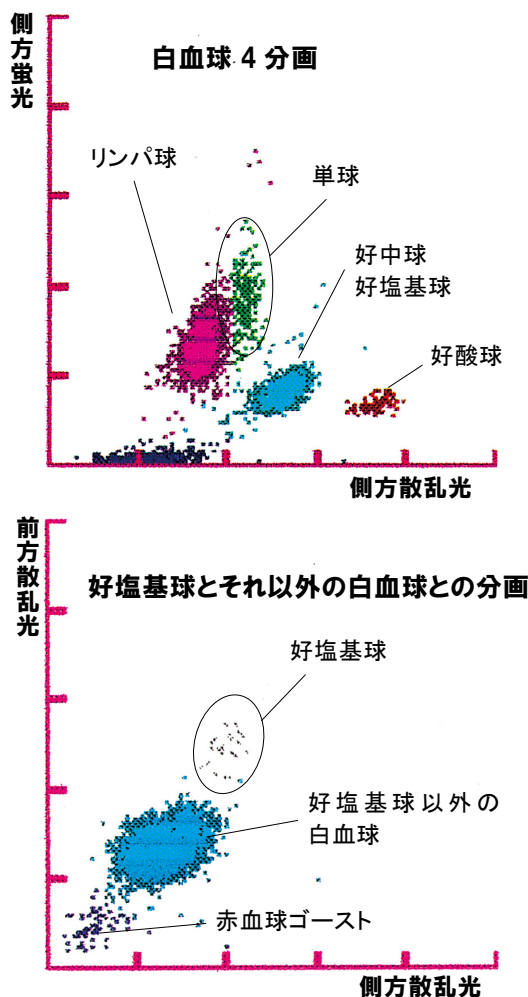


Fig. 2 Scattergram of WBC 5-part differential

2. フローサイトメータを支える技術

2-1 シースフロー (Sheath flow)

測定を精度良く、かつ高速で行うためには、血球細胞を検出部の検出エリアへ正確、かつ速く導く必要がある。そこで、血球細胞を含む液体サンプルとこれを包み込むシー

ス（鞘）液とを狭まり管へ層流条件で流すシースフローと呼ばれる流体制御が適用される。サンプル液は整流作用により一定の位置を高速かつ細い流れとなって流れる。このシースフローは 1953 年 Crosland-Taylor により初めてフローシステムに取り入れられた⁽³⁾。このように狭まり管を用いたシースフローは、フローサイトメータに必須の基盤技術と言える。Fig.3 にシースフローのイメージ図を示す。血液分析の場合、サンプル液流れの幅は 10~20 μ m 程度に絞り込んでいる。また、サンプル液の流速は数 m/sec~20m/sec にも達している。

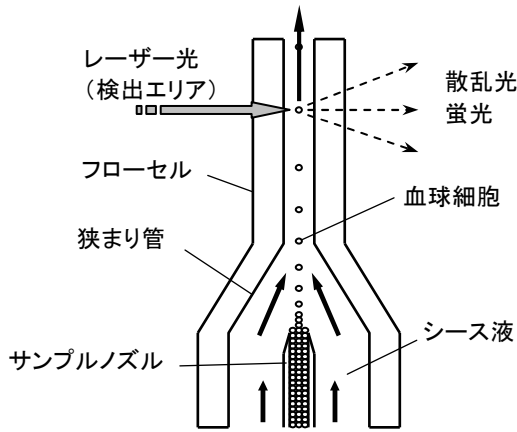


Fig. 3 Sheath flow

2-2 血液の定量、希釈バルブ（サンプリングバルブ）

シースフローで流すサンプル液は、一定量の血液に希釈や染色を施したもので、分析情報が多いほど複数の希釈染色チャンネルが必要となる。そこで、1 回の血液分取（分注）で効率的に多種サンプル液を作製できるサンプリングバルブ（仮称）が考案された。これはセラミック製で、Fig.4 に示すように 2 枚の固定円盤に挟まれた可動円盤が一定の角度で回転する構造をもつ。可能円盤は回転の同心円上に血液を定量するための穴をもつ。一方、固定円盤には、血液が Fig.4 の図(a)の矢印が示す経路で吸引されるように、穴および配管が施されている。血液吸引後、可能円盤を回転させると一定体積の血液を切り出すことができ、回転後は血液の入った穴が希釈液ラインに繋がるよう配管されている。血液を希釈液とともに押し出すことで、正確な血液の希釈、攪拌が可能となる。可能円盤に多数の穴を設けることで、複数チャンネルの希釈を同時に行うことができる。

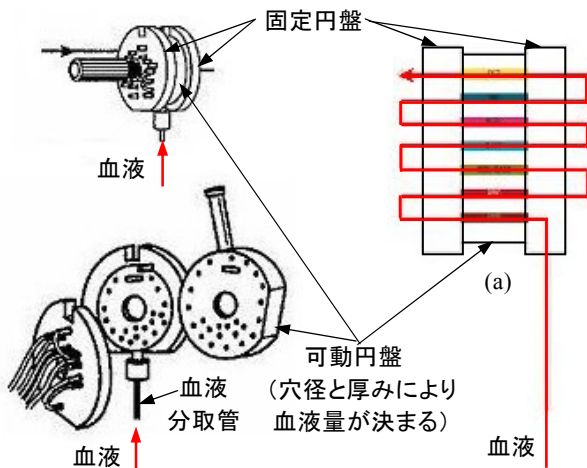


Fig. 4 Sampling valve

2-3 エアオペレートバルブ

2-2 における多種のサンプル液の作製には、流体を制御するための複雑な回路と、それを構成する多くの流路切替バルブが必要となる。特に血液分取管の洗浄廃液や染色反応後の廃液が流れるバルブ内では、シール面での固着や固形成分の堆積による流路詰まりが発生しやすい。このような現象は検査の中断や間違った結果報告に繋がるリスクが高く、血液分析装置では致命的な欠陥となる。そこで Fig.5 に示すように、弁体をエア圧力で駆動させるバルブが有用である。小型のソレノイド電磁弁でエアを切り替えて弁体を駆動させるので、弁体の駆動力やストロークを大きくできる。よって、固着や詰まりが発生しにくく、ソレノイドが小さいことで省電力、高耐久となる。これによりフローサイトメータの信頼性は向上する。

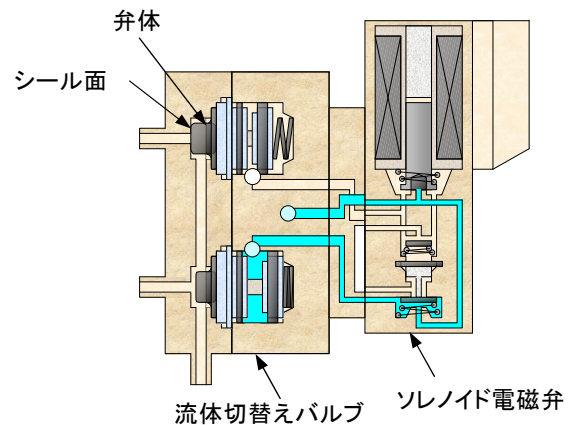


Fig. 5 Air operated valve

3. まとめ

フローサイトメーター自体が細胞や粒子の分析に有用なシステムであることは、日本サイトメーター学会の存在やその活動を見ても明らかである。一方、フローサイトメータが十分な機能や性能を発揮するためには、今回の報告のように、これを支える多くの技術が必要である。ここでは主に流体制御に関連するものを紹介したが、電気制御、得られた検出信号の処理、さらに適切なアルゴリズムでスキッチングプログラムを完成させる解析技術などもこれに該当する。これら基盤技術の特徴は以下のように整理できる。

- ・ フローサイトメータ、シースフローから
⇒ 活用範囲が広く、汎用性があること
- ・ サンプリングバルブから
⇒ 精度を出しやすく、効率が良いこと。
- ・ エアオペレートバルブから
⇒ 省エネルギーで、信頼性が高いこと。

参考文献

- (1) 天神美夫, 高橋 学, 野村和弘, フローサイトメーターハンドブック, (株)サイエンスフォーラム (東京), 1984.
- (2) 藤本敬二, 当社の血球計数装置の測定原理の概要, *Sysmex Journal*, vol.22, no.1, pp. 43-60, 1999.
- (3) Howard M. Shapiro, *Practical Flow Cytometry*, Third Edition, WILEY-LISS, p.6, 1995.
- (4) シスメックス (株) 開発本部, 多項目自動血球分析装置XE-2100の概要, *Sysmex Journal*, vol.22, no.1, pp. 76-84, 1999.