

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6352750号
(P6352750)

(45) 発行日 平成30年7月4日(2018.7.4)

(24) 登録日 平成30年6月15日(2018.6.15)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 15/14 (2006.01)
GO 1 N 33/49 (2006.01)
GO 1 N 33/72 (2006.01)

GO 1 N 15/14 P
GO 1 N 33/49 E
GO 1 N 33/49 G
GO 1 N 33/49 B
GO 1 N 33/72 A

請求項の数 17 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-196279 (P2014-196279)
(22) 出願日 平成26年9月26日(2014.9.26)
(65) 公開番号 特開2016-70658 (P2016-70658A)
(43) 公開日 平成28年5月9日(2016.5.9)
審査請求日 平成29年3月28日(2017.3.28)

(73) 特許権者 390014960
シスメックス株式会社
兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号
(74) 代理人 100111383
弁理士 芝野 正雅
(72) 発明者 山田 和宏
神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号
シスメックス株式会社内

審査官 素川 慎司

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血液分析装置および血液分析方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

血球を含む測定試料を流すフローセルと、
前記フローセルを流れる前記測定試料に、400nm以上435nm以下の波長の光を照射する第1光源と、

前記フローセルを流れる前記測定試料に、610nm以上750nm以下の波長の光を照射する第2光源と、

前記フローセルを流れる血球に前記第1光源からの光を照射することにより得られる第1散乱光を受光する第1受光部と、

前記フローセルを流れる血球に前記第2光源からの光を照射することにより得られる第2散乱光を受光する第2受光部と、

前記第1受光部から出力される信号に基づく第1散乱光情報と、前記第2受光部から出力される信号に基づく第2散乱光情報と、に基づいて、赤血球数、白血球数、およびヘモグロビンに関する値を取得する処理部と、を備える、血液分析装置。

【請求項2】

前記測定試料を調製する試料調製部をさらに備え、

前記試料調製部は、血液検体中の赤血球を溶血せずに前記測定試料を調製する、請求項1に記載の血液分析装置。

【請求項3】

前記処理部は、前記第1散乱光情報および前記第2散乱光情報に基づいて、血小板数を

10

20

取得する、請求項 1 または 2 に記載の血液分析装置。

【請求項 4】

前記処理部は、前記第 1 受光部から出力される信号に基づく第 1 散乱光情報と、前記第 2 受光部から出力される信号に基づく第 2 散乱光情報と、に基づいて、赤血球容積に関する値を取得する、請求項 1 ないし 3 の何れか一項に記載の血液分析装置。

【請求項 5】

前記処理部は、前記第 1 散乱光情報および前記第 2 散乱光情報の組み合わせと、赤血球容積およびヘモグロビン濃度の組み合わせと、の関係を規定する変換情報を用いて、前記第 1 散乱光情報および前記第 2 散乱光情報から、ヘモグロビン濃度に関する値および前記赤血球容積に関する値を取得する、請求項 4 に記載の血液分析装置。

10

【請求項 6】

前記処理部は、前記ヘモグロビン濃度に関する値および前記赤血球数に基づいて、平均赤血球色素濃度を取得する、請求項 5 に記載の血液分析装置。

【請求項 7】

前記処理部は、前記赤血球容積に関する値および前記赤血球数に基づいて、平均赤血球容積を取得する、請求項 4 ないし 6 の何れか一項に記載の血液分析装置。

【請求項 8】

前記処理部は、前記平均赤血球容積および前記赤血球数に基づいて、ヘマトクリット値を取得する、請求項 7 に記載の血液分析装置。

【請求項 9】

前記処理部は、前記平均赤血球色素濃度および前記ヘマトクリット値に基づいて、ヘモグロビン量を取得する、請求項 8 に記載の血液分析装置。

20

【請求項 10】

前記処理部は、前記第 1 散乱光情報および前記第 2 散乱光情報に基づいて、白血球をさらに複数のサブグループに分類して計数する、請求項 1 ないし 9 の何れか一項に記載の血液分析装置。

【請求項 11】

前記測定試料の第 1 の部分を用いて赤血球数を取得し、前記測定試料の前記第 1 の部分よりも多い量の第 2 の部分を用いて白血球数を取得する、請求項 1 ないし 10 の何れか一項に記載の血液分析装置。

30

【請求項 12】

第 1 の時間において前記フローセルを流れる前記測定試料を前記第 1 の部分として前記赤血球数を取得し、前記第 1 の時間より長い第 2 の時間において前記フローセルを流れる前記測定試料を前記第 2 の部分として前記白血球数を取得する、請求項 11 に記載の血液分析装置。

【請求項 13】

前記第 2 の部分に対する処理において、前記第 1 散乱光情報が所定の閾値以下の血球を解析対象から除外する、請求項 11 または 12 に記載の血液分析装置。

【請求項 14】

前記処理部により取得された値を出力する出力部をさらに備える、請求項 1 ないし 13 の何れか一項に記載の血液分析装置。

40

【請求項 15】

前記出力部は、前記ヘモグロビンに関する値とともに、前記第 1 散乱光情報および前記第 2 散乱光情報を座標軸とするスキャッタグラムを表示する、請求項 14 に記載の血液分析装置。

【請求項 16】

前記出力部は、前記ヘモグロビンに関する値とともに、前記赤血球容積に関する値および前記ヘモグロビン濃度に関する値を座標軸とするスキャッタグラムを表示する、請求項 14 または 15 に記載の血液分析装置。

【請求項 17】

50

血球を含む測定試料に、400 nm以上435 nm以下の波長の第1の光と、610 nm以上750 nm以下の波長の第2の光と、をそれぞれ照射し、

前記血球に前記第1の光が照射されることにより得られる第1散乱光と、前記血球に前記第2の光が照射されることにより得られる第2散乱光と、をそれぞれ受光し、

前記第1散乱光に基づく第1散乱光情報と、前記第2散乱光に基づく第2散乱光情報と、に基づいて、赤血球数、白血球数、およびヘモグロビンに関する値を取得する、血液分析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、血液分析装置および血液分析方法に関する。

【背景技術】

【0002】

血液検体を分析する血液分析装置では、一般的に、赤血球、白血球、血小板等の血球の測定が行われる。これらの血球の測定を行うため、たとえば特許文献1に記載の血液分析装置では、赤血球数および血小板数を測定するためのRBC/PLT検出部、血液中の色素量を測定するためのHGB検出部、白血球数を測定するための光学検出部等、測定項目に応じて複数の検出部が設けられている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献1】特開2006-292738号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

ここで、血液分析装置は、測定可能な測定項目は維持しつつ、たとえば検査施設における設置面積を抑制するために、装置の大きさを抑制することが望まれている。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明の第1の態様に係る血液分析装置は、血球を含む測定試料を流すフローセルと、フローセルを流れる測定試料に、400 nm以上435 nm以下の波長の光を照射する第1光源と、フローセルを流れる測定試料に、610 nm以上750 nm以下の波長の光を照射する第2光源と、フローセルを流れる血球に第1光源からの光を照射することにより得られる第1散乱光を受光する第1受光部と、フローセルを流れる血球に第2光源からの光を照射することにより得られる第2散乱光を受光する第2受光部と、第1受光部から出力される信号に基づく第1散乱光情報と、第2受光部から出力される信号に基づく第2散乱光情報と、に基づいて、赤血球数、白血球数、およびヘモグロビンに関する値を取得する処理部と、を備える。

【0006】

本発明の第2の態様に係る血液分析方法は、血球を含む測定試料に、400 nm以上435 nm以下の波長の第1の光と、610 nm以上750 nm以下の波長の第2の光と、をそれぞれ照射し、血球に第1の光が照射されることにより得られる第1散乱光と、血球に第2の光が照射されることにより得られる第2散乱光と、をそれぞれ受光し、第1散乱光に基づく第1散乱光情報と、第2散乱光に基づく第2散乱光情報と、に基づいて、赤血球数、白血球数、およびヘモグロビンに関する値を取得する。

【発明の効果】

【0007】

本発明によれば、小型の血液分析装置を提供することが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【0008】

10

20

30

40

50

【図 1】図 1 は、実施形態 1 に係る血液分析装置の構成を示すブロック図である。

【図 2】図 2 (a)、(b) は、それぞれ、実施形態 1 に係る光学検出部を Y 軸負方向と X 軸正方向に見た場合の模式図である。

【図 3】図 3 (a) ~ (d) は、それぞれ、実施形態 1 に係るフローセル、ビームストップ、ピンホールおよび光検出器の構成を示す模式図である。

【図 4】図 4 (a) は、濃度が低い測定試料を測定したときの検出タイミングを示す図であり、図 4 (b) は、通常濃度の測定試料を測定したときの検出タイミングを示す図である。

【図 5】図 5 (a) は、赤血球に含まれるヘモグロビンの吸収特性を示す図であり、図 5 (b) は、粒子分析のシミュレーション結果を示す図である。

【図 6】図 6 (a) は、実施形態 1 に係る赤血球と、白血球と、血小板とを分類するためのスキャッタグラムであり、図 6 (b) は、実施形態 1 に係るマップ情報を組み込んだ場合のスキャッタグラムであり、図 6 (c) は、実施形態 1 に係る赤血球容積とヘモグロビン濃度を 2 軸とするスキャッタグラムである。

【図 7】図 7 は、実施形態 1 に係る血液分析装置による処理を示すフローチャートである。

【図 8】図 8 は、実施形態 1 に係る出力部に表示される画面を示す図である。

【図 9】図 9 (a) ~ (d) は、実施形態 1 による結果と比較手法による結果との相関性を示す図である。

【図 10】図 10 (a) は、実施形態 2 に係る白血球を分類するためのスキャッタグラムであり、図 10 (b) は、実施形態 2 の変更例に係る白血球を分類するためのスキャッタグラムであり、図 10 (c) は、実施形態 2 に係る好酸球を分類するためのスキャッタグラムである。

【図 11】図 11 は、実施形態 2 に係る血液分析装置による処理を示すフローチャートである。

【図 12】図 12 は、実施形態 2 に係る出力部に表示される画面を示す図である。

【図 13】図 13 は、実施形態 2 の変更例に係る血小板を分類するためのスキャッタグラムである。

【図 14】図 14 (a) ~ (c) は、実施形態 2 による結果と比較手法による結果との相関性を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0009】

以下に示す実施形態 1、2 は、血液検体に含まれる赤血球、白血球、血小板等を検出し、各血球を計数することにより、血液に関する検査および分析を行うための装置に本発明を適用したものである。

【0010】

<実施形態 1>

図 1 に示すように、血液分析装置 10 は、測定部 10 a と情報処理部 10 b を備える。測定部 10 a は、測定制御部 11 と、検体吸引部 12 と、試料調製部 13 と、光学検出部 14 と、信号処理回路 15 と、を備える。測定制御部 11 は、記憶部 11 a を備える。情報処理部 10 b は、処理部 21 と、出力部 22 と、入力部 23 と、を備える。処理部 21 は、記憶部 21 a を備える。

【0011】

測定制御部 11 は、測定部 10 a の各部が出力する信号を受信し、測定部 10 a の各部を制御する。測定制御部 11 は、情報処理部 10 b と通信を行う。検体吸引部 12 は、検体容器に収容された血液検体を吸引管により吸引する。試料調製部 13 には、試薬 13 a を収容する容器が接続されている。試薬 13 a は希釈液である。試薬 13 a は、測定試料をフローセル 110 に流すためのシース液としても用いられる。試料調製部 13 は、試薬 13 a と、検体吸引部 12 により吸引された血液検体とを混和して、測定試料を調製する。血液検体中の赤血球の形状は、試薬 13 a により球状になる。測定試料の調製は、溶血

10

20

30

40

50

剤と染色剤を用いずに行われる。測定試料は、血液検体中の血球を含んでいる。

【0012】

光学検出部14は、フローセル110と、第1光源121と、第2光源122と、光検出器131～133と、を備える。第1光源121は、フローセル110を流れる測定試料に、第1波長を有する第1の光210を照射する。第2光源122は、フローセル110を流れる測定試料に、第1波長とは異なる第2波長を有する第2の光220を照射する。

【0013】

光検出器131は、第1受光部131aと第2受光部131bを備える。第1受光部131aは、フローセル110を流れる血球に、第1の光210を照射することにより得られる第1散乱光を受光する。実施形態1では、第1散乱光は、第1前方散乱光211である。第2受光部131bは、フローセル110を流れる血球に、第2の光220を照射することにより得られる第2散乱光を受光する。実施形態1では、第2散乱光は、第2前方散乱光221である。光検出器132は、受光部132aを備える。受光部132aは、フローセル110を流れる血球に、第2の光220を照射することにより得られる第2側方散乱光222を受光する。光検出器133は、フローセル110を流れる血球に、第1の光210を照射することにより得られる第1蛍光213を受光する。

【0014】

第1散乱光は、後述する第1側方散乱光212であっても良い。すなわち、第1受光部131aは、第1散乱光として第1側方散乱光212を受光するよう配置されても良い。第2散乱光は、第2側方散乱光222であっても良い。すなわち、第2受光部131bは、第2散乱光として第2側方散乱光222を受光するよう配置されても良い。

【0015】

第1受光部131aは、第1前方散乱光211に基づく信号を出力する。第2受光部131bは、第2前方散乱光221に基づく信号を出力する。光検出器131は、第1受光部131aと第2受光部131bから出力される信号を、信号処理回路15に出力する。受光部132aは、第2側方散乱光222に基づく信号を出力する。光検出器132は、受光部132aから出力される信号を、信号処理回路15に出力する。光検出器133は、第1蛍光213に基づく信号を、信号処理回路15に出力する。光学検出部14については、追って図2(a)、(b)と図3(a)～(d)を参照して説明する。

【0016】

信号処理回路15は、光検出器131～133が出力する信号に基づいて、血球に対応する波形を抽出し、波形のピーク値、幅、面積等を算出する。信号処理回路15は、第1散乱光情報として、第1前方散乱光211に基づく信号から得られた波形のピーク値を算出する。信号処理回路15は、第2散乱光情報として、第2前方散乱光221に基づく信号から得られた波形のピーク値を算出する。信号処理回路15は、第3散乱光情報として、第2側方散乱光222に基づく信号から得られた波形のピーク値を算出する。信号処理回路15は、蛍光情報として、第1蛍光213に基づく信号から得られた波形のピーク値を算出する。

【0017】

第1散乱光を第1側方散乱光212とする場合、第1散乱光情報は、第1側方散乱光212に基づく信号から得られた波形のピーク値となる。第2散乱光を第2側方散乱光222とする場合、第2散乱光情報は、第2側方散乱光222に基づく信号から得られた波形のピーク値となる。

【0018】

信号処理回路15は、第1散乱光情報と、第2散乱光情報と、第3散乱光情報と、蛍光情報とを、測定制御部11に出力する。測定制御部11は、信号処理回路15から出力された情報を記憶部11aに記憶する。血液検体の測定が終わると、測定制御部11は、血球ごとに得られた第1散乱光情報と、第2散乱光情報と、第3散乱光情報と、蛍光情報とを、測定データとして情報処理部10bに送信する。

【 0 0 1 9 】

処理部 2 1 は、情報処理部 1 0 b の各部が出力する信号を受信し、情報処理部 1 0 b の各部を制御する。記憶部 2 1 a は、処理部 2 1 により実行されるプログラムと、各種データとを記憶している。また、記憶部 2 1 a は、処理部 2 1 の作業領域としても利用される。処理部 2 1 は、第 1 散乱光情報と第 2 散乱光情報に基づいて、赤血球数、白血球数、およびヘモグロビンに関する値を取得する。処理部 2 1 は、その他、血球の分類と計数を行い、各種の値を取得する。処理部 2 1 が行う処理については、追って図 7 を参照して説明する。

【 0 0 2 0 】

出力部 2 2 は、文字情報と図形情報を表示するためのディスプレイである。入力部 2 3 は、オペレータによる入力を受け付けるためのキーボードとマウスである。

10

【 0 0 2 1 】

図 2 (a)、(b) に示すように、光学検出部 1 4 は、フローセル 1 1 0 と、第 1 光源 1 2 1 と、第 2 光源 1 2 2 と、光検出器 1 3 1 ~ 1 3 3 と、コリメータレンズ 1 4 1、1 4 2 と、ダイクロイックミラー 1 4 3 と、シリンドリカルレンズ 1 4 4 と、集光レンズ 1 4 5、1 4 6 と、ビームストップ 1 4 7 と、ピンホール 1 4 8 と、コリメータレンズ 1 4 9 と、ダイクロイックミラー 1 5 0 と、集光レンズ 1 5 1 と、分光フィルタ 1 5 2 と、集光レンズ 1 5 3 と、を備える。図 2 (a)、(b) には、便宜上、互いに直交する X Y Z 座標軸が示されている。

【 0 0 2 2 】

図 3 (a) に示すように、フローセル 1 1 0 は、シース液供給口 1 1 1 と、試料ノズル 1 1 2 と、細孔部 1 1 3 と、廃液口 1 1 4 と、を備える。シース液供給口 1 1 1 は、シース液をフローセル 1 1 0 内に供給する。試料ノズル 1 1 2 は、フローセル 1 1 0 内において測定試料を Y 軸正方向に噴射する。測定試料は、シース液に包まれた状態で、細孔部 1 1 3 に形成されている流路 1 1 5 を通って廃液口 1 1 4 へと進む。流路 1 1 5 は、Y 軸方向に延びている。測定試料に含まれる血球は、一列に整列した状態で流路 1 1 5 を通る。

20

【 0 0 2 3 】

図 2 (a)、(b) に戻り、第 1 光源 1 2 1 は、第 1 の光 2 1 0 を X 軸負方向に出射する。第 1 の光 2 1 0 は、レーザ光である。第 1 の光 2 1 0 の波長は、4 0 0 n m 以上 4 3 5 n m 以下に設定される。実施形態 1 では、第 1 の光 2 1 0 の波長は約 4 0 5 n m である。第 1 光源 1 2 1 は、図示しない発光部の半導体層の積層方向が Z 軸方向に一致するように配置される。したがって、第 1 の光 2 1 0 の広がり角は、Z 軸方向において最大となり、Y 軸方向において最小となる。第 1 光源 1 2 1 の出射光軸は、コリメータレンズ 1 4 2 の光軸 2 0 1 に交差する。光軸 2 0 1 は、Z 軸に平行である。

30

【 0 0 2 4 】

第 2 光源 1 2 2 は、第 2 の光 2 2 0 を Z 軸正方向に出射する。第 2 の光 2 2 0 は、レーザ光である。第 2 の光 2 2 0 の波長は、6 1 0 n m 以上 7 5 0 n m 以下に設定される。実施形態 1 では、第 2 の光 2 2 0 の波長は約 6 4 0 n m である。第 2 光源 1 2 2 は、図示しない発光部の半導体層の積層方向が X 軸方向に一致するように配置される。したがって、第 2 の光 2 2 0 の広がり角は、X 軸方向において最大となり、Y 軸方向において最小となる。第 2 光源 1 2 2 の出射光軸は、光軸 2 0 1 に一致している。

40

【 0 0 2 5 】

コリメータレンズ 1 4 1 は、第 1 の光 2 1 0 を平行光に変換する。コリメータレンズ 1 4 2 は、第 2 の光 2 2 0 を平行光に変換する。ダイクロイックミラー 1 4 3 は、第 1 の光 2 1 0 を反射し、第 2 の光 2 2 0 を透過する。ダイクロイックミラー 1 4 3 は、ダイクロイックミラー 1 4 3 によって反射された第 1 の光 2 1 0 の進行方向が、図 2 (b) に示すように、Z 軸方向からやや Y 軸正方向に傾くように配置されている。

【 0 0 2 6 】

シリンドリカルレンズ 1 4 4 は、第 1 の光 2 1 0 と第 2 の光 2 2 0 を X 軸方向にのみ収束させる。集光レンズ 1 4 5 は、第 1 の光 2 1 0 と第 2 の光 2 2 0 を Y 軸方向に収束させ

50

て、フローセル110の流路115の位置に合焦させる。また、集光レンズ145は、第1の光210と第2の光220をX軸方向に収束させて流路115のZ軸負側の位置に合焦させる。これにより、流路115には、図3(a)に示すように、X軸方向に細長いビーム形状で、第1の光210と第2の光220が照射される。

【0027】

図2(b)に示すように、ダイクロイックミラー143によって反射された第1の光210は、Z軸方向からY軸方向にやや傾いた方向に進むため、流路115における第1の光210の照射位置202は、第2の光220の照射位置203よりもY軸正方向にずれている。第2の光220の照射位置203は、光軸201上にある。

【0028】

照射位置202の血球に対して第1の光210が照射されると、第1の光210が照射された血球から、第1前方散乱光211と、第1側方散乱光212と、第1蛍光213が生じる。第1前方散乱光211の波長と第1側方散乱光212の波長は、第1の光210の波長と略同じである。照射位置203の粒子に対して第2の光220が照射されると、第2の光220が照射された血球から、第2前方散乱光221と、第2側方散乱光222と、第2蛍光223が生じる。第2前方散乱光221の波長と第2側方散乱光222の波長は、第2の光220の波長と略同じである。

【0029】

測定試料の調製において染色剤が用いられていないため、第1蛍光213と第2蛍光223は、自家蛍光に相当するものである。後述する実施形態2では、好酸球から生じる自家蛍光である第1蛍光213に基づいて、好酸球の分類を行う。

【0030】

集光レンズ146は、第1前方散乱光211と第2前方散乱光221に対して色収差を補正する機能を備える。集光レンズ146は、第1前方散乱光211と第2前方散乱光221をピンホール148の位置に集光させる。また、集光レンズ146は、第1の光210と第2の光220の一部であって血球に照射されずにフローセル110を透過した光を、ビームストッパ147の位置に集光させる。図2(b)に示すように、集光レンズ146の光軸は、Z軸と平行であり、且つ、光軸201からY軸正方向にずれている。これにより、第1前方散乱光211の中心を通る光線は、集光レンズ146を透過した後、Z軸正方向からややY軸負方向に傾く方向に進む。第2前方散乱光221の中心を通る光線は、集光レンズ146を透過した後、Z軸正方向からややY軸正方向に傾く方向に進む。

【0031】

図3(b)に示すように、ビームストッパ147は、開口147a、147bと遮光部147cと、を備える。開口147a、147bの形状は、半円形状である。遮光部147cは、開口147aと開口147bの間に形成されている。ビームストッパ147は、光を透過しない薄板状の部材によって構成されている。ビームストッパ147は、第1の光210および第2の光220のX軸方向の焦点位置に配置される。これにより、第1の光210と第2の光220は、遮光部147c上でY軸方向に長いビーム形状となり、遮光部147cによって遮光される。第1前方散乱光211と第2前方散乱光221の大部分は、開口147a、147bを介してビームストッパ147を通過する。

【0032】

図3(c)に示すように、ピンホール148は、Y軸方向に並ぶ2つの孔148a、148bを備える。第1前方散乱光211は、孔148aの位置に集光され、第2前方散乱光221は、孔148bの位置に集光される。第1前方散乱光211と第2前方散乱光221は、それぞれ、孔148a、148bを通り抜ける。

【0033】

図3(d)に示すように、光検出器131は、フォトダイオードである。第1受光部131aと第2受光部131bは、同一平面上に配置されている。光検出器131は、第1受光部131aに照射された第1前方散乱光211に基づく信号と、第2受光部131bに照射された第2前方散乱光221に基づく信号とを出力する。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 4 】

図 2 (a) に戻り、コリメータレンズ 1 4 9 は、第 1 側方散乱光 2 1 2 と、第 2 側方散乱光 2 2 2 と、第 1 蛍光 2 1 3 と、第 2 蛍光 2 2 3 とを、平行光に変換する。コリメータレンズ 1 4 9 の光軸は、フローセル 1 1 0 の流路 1 1 5 を通る X 軸に平行な直線と一致する。ダイクロイックミラー 1 5 0 は、第 2 側方散乱光 2 2 2 を Z 軸正方向に反射し、第 1 側方散乱光 2 1 2 と、第 1 蛍光 2 1 3 と、第 2 蛍光 2 2 3 とを透過する。

【 0 0 3 5 】

集光レンズ 1 5 1 は、ダイクロイックミラー 1 5 0 により反射された第 2 側方散乱光 2 2 2 を集光する。光検出器 1 3 2 は、フォトダイオードである。光検出器 1 3 2 は、受光部 1 3 2 a に照射された第 2 側方散乱光 2 2 2 に基づく信号を出力する。分光フィルタ 1 5 2 は、第 1 側方散乱光 2 1 2 と第 2 蛍光 2 2 3 を吸収し、第 1 蛍光 2 1 3 を透過する。集光レンズ 1 5 3 は、分光フィルタ 1 5 2 を透過した第 1 蛍光 2 1 3 を集光する。光検出器 1 3 3 は、アバランシェフォトダイオードである。光検出器 1 3 3 は、第 1 蛍光 2 1 3 に基づく信号を出力する。

【 0 0 3 6 】

次に、第 1 散乱光情報と第 2 散乱光情報とを対応付ける方法について説明する。

【 0 0 3 7 】

図 2 (b) を参照して説明したように、第 1 の光 2 1 0 の照射位置 2 0 2 と、第 2 の光 2 2 0 の照射位置 2 0 3 とは、互いに Y 軸方向にずれている。流路 1 1 5 内の血球は、照射位置 2 0 3 から照射位置 2 0 2 へと流れる。したがって、照射位置 2 0 3 において血球に第 2 の光 2 2 0 が照射されてから、照射位置 2 0 2 において同じ血球に第 1 の光 2 1 0 が照射されるまでには、所定のタイムラグがある。このため、第 1 の光 2 1 0 により生じた第 1 前方散乱光 2 1 1 に基づく第 1 散乱光情報と、第 2 の光 2 2 0 により生じた第 2 前方散乱光 2 2 1 に基づく第 2 散乱光情報とを解析に用いる場合には、同一の血球から生じた第 1 散乱光情報と第 2 散乱光情報とを互いに対応付ける必要がある。

【 0 0 3 8 】

図 4 (a) に示すように、濃度が低い測定試料を測定したとき、第 2 前方散乱光 2 2 1 の検出タイミングと第 1 前方散乱光 2 1 1 の検出タイミングは離散的になる。この場合、通常、1 つの血球に基づく第 2 前方散乱光 2 2 1 の検出タイミングと第 1 前方散乱光 2 1 1 の検出タイミングとの間の期間に、次の血球に基づく第 2 前方散乱光 2 2 1 の検出タイミングが入ることはない。したがって、第 2 前方散乱光 2 2 1 の検出タイミングの次に到来する第 1 前方散乱光 2 1 1 の検出タイミングを、同一血球に対する検出タイミングとして対応づけることができる。

【 0 0 3 9 】

図 4 (a) の例では、検出タイミング $T_{21} \sim T_{23}$ が、それぞれ、検出タイミング $T_{11} \sim T_{13}$ に対応づけられる。同一血球に基づく検出タイミングの時間差は、何れの血球の場合も略同じである。したがって、たとえば、互いに対応づけられた 2 つの検出タイミングの時間差 t_1 、 t_2 、 t_3 を取得し、これら時間差を平均することにより時間差 t を算出する。こうすると、時間差 t を、各血球に対する第 2 前方散乱光 2 2 1 と第 1 前方散乱光 2 1 1 との検出タイミングの時間差として用いることができる。

【 0 0 4 0 】

図 4 (b) に示すように、通常濃度の測定試料を測定したとき、第 2 前方散乱光 2 2 1 の検出タイミングと第 1 前方散乱光 2 1 1 の検出タイミングとが混在し合うことになる。この場合、同一の血球に基づく第 2 前方散乱光 2 2 1 の検出タイミングと第 1 前方散乱光 2 1 1 の検出タイミングとを対応付けることは難しい。しかしながら、フローセル 1 1 0 を流れる測定試料の速度は、濃度が高い場合と濃度が低い場合とで略同じである。よって、濃度が低い場合に取得された時間差 t を、濃度が高い場合の同一血球に基づく第 2 前方散乱光 2 2 1 の検出タイミングと第 1 前方散乱光 2 1 1 の検出タイミングとの時間差として用いることができる。図 4 (b) の例では、時間差 t を用いることにより、検出タイミング T_{2n} 、 T_{2m} が、それぞれ、検出タイミング T_{1n} 、 T_{1m} に対応づけられる

10

20

30

40

50

。

【 0 0 4 1 】

実施形態 1 では、測定を行う前に、濃度が低い試料をフローセル 1 1 0 に流して、予め時間差 t を取得しておき、実際の測定時に、同一の血球に基づく第 2 散乱光情報と第 1 散乱光情報とを、順次、時間差 t を用いて対応づける。同様に、実際の測定時に、同一の血球に基づく第 2 散乱光情報と蛍光情報とを、順次、時間差 t を用いて対応づける。このように、予め取得した時間差 t を用いることにより、同一の血球に基づく全ての情報を対応づけることができる。

【 0 0 4 2 】

次に、赤血球から生じる第 1 前方散乱光 2 1 1 と、赤血球以外の血球から生じる第 1 前方散乱光 2 1 1 との違いについて説明する。赤血球以外の血球は、白血球と血小板を含む。

10

【 0 0 4 3 】

光が照射されることにより粒子から生じる散乱光は、M i e 散乱理論によれば、その粒子の粒径と屈折率とにより定まる。屈折率は、実数部と虚数部からなる複素数により表すことができる。すなわち、複素屈折率を m 、屈折率を n_r 、吸収を n_i とすると、複素屈折率 m は、以下の式により算出できる。

【 0 0 4 4 】

$$m = n_r + i n_i$$

【 0 0 4 5 】

上記式によれば、複素屈折率 m は吸収 n_i に応じて変化するため、光に対する粒子の吸収度合いが異なれば、屈折率も異なることになる。よって、異なる種類の粒子が互いに異なる吸収度合いを有する場合、これら粒子に対して光を照射すると、生じる散乱光も互いに異なったものとなる。

20

【 0 0 4 6 】

赤血球に含まれるヘモグロビンは、図 5 (a) に示すような吸収特性を有する。図 5 (a) において、横軸はヘモグロビンに照射される光の波長を示し、縦軸は吸収係数を示している。図 5 (a) には、酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの吸収係数がそれぞれ示されている。赤血球中のヘモグロビンは、酸素化ヘモグロビンと、脱酸素化ヘモグロビンとが混在した状態にあり、一般的には、静脈血のヘモグロビン酸素飽和度は約 7 5 %、すなわち、酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの存在比率が 3 対 1 となっている。このため、血液検体に含まれる赤血球では、酸素化ヘモグロビンの性質が支配的となる。

30

【 0 0 4 7 】

波長が 4 0 0 n m 以上 4 3 5 n m 以下の範囲では、酸素化ヘモグロビンの吸収係数は、他の波長帯に比べて数段大きくなっている。一方、波長が 6 1 0 n m 以上 7 5 0 n m 以下の範囲では、酸素化ヘモグロビンの吸収係数は、他の波長帯に比べて数段小さくなっている。すなわち、第 1 の光 2 1 0 に対する赤血球の吸収度合いと、第 2 の光 2 2 0 に対する赤血球の吸収度合いとの差は、大きいものとなる。他方、赤血球以外の血球はヘモグロビンを含んでいないため、第 1 の光 2 1 0 に対する赤血球以外の血球の吸収度合いと、第 2 の光 2 2 0 に対する赤血球以外の血球の吸収度合いとの差は、小さいものとなる。

40

【 0 0 4 8 】

以上のことから、赤血球と、赤血球以外の血球とでは、第 1 の光 2 1 0 に対する吸収度合いと、第 2 の光 2 2 0 に対する吸収度合いとの差が顕著に異なる。したがって、赤血球と、赤血球以外の血球とでは、第 1 の光 2 1 0 が照射される場合に生じる第 1 前方散乱光 2 1 1 の強度と、第 2 の光 2 2 0 が照射される場合に生じる第 2 前方散乱光 2 2 1 の強度との差も異なるものとなる。具体的には、赤血球では、第 1 散乱光情報は、第 2 散乱光情報よりも小さくなり易い。赤血球以外の血球では、第 1 散乱光情報と第 2 散乱光情報は、同程度になり易い。

【 0 0 4 9 】

50

次に、粒子分析のシミュレーションについて説明する。

【0050】

本シミュレーションを以下の条件で行った。前方散乱光を受光する光学系のNAを0.22とした。前方散乱光を受光する光学系として、集光レンズ146と、ビームストップ147と、ピンホール148と、光検出器131とを備える光学系を用いた。ビームストップ147における遮光部147cのX軸方向の幅を0.3mmとした。フローセル110とビームストップ147との間を6mmとした。フローセル110に照射する第1の光210および第2の光220のY軸方向における幅を10 μ mとした。本シミュレーションでは、赤血球と同様の性質を有する81個の球状粒子と、血小板と同様の性質を有する4個の球状粒子とを設定した。これら粒子に対して所定波長のレーザー光を照射することにより生じる前方散乱光の強度を、シミュレーションにより算出した。

10

【0051】

本シミュレーションでは、赤血球と血小板に相当する粒子に、波長405nmの第1の光210と、波長640nmの第2の光220とを照射した。これにより得られた各粒子に対応する第1散乱光情報と第2散乱光情報とを、図5(b)に示すスカッタグラム300上にプロットした。スカッタグラム300の横軸と縦軸は、それぞれ、第1散乱光情報と第2散乱光情報である。

【0052】

続いて、赤血球に相当する粒子に基づいて、スカッタグラム300に、マップ310を設定した。マップ310の2軸は、赤血球容積とヘモグロビン濃度である。マップ310は、赤血球容積の値がV30~V150であり、ヘモグロビン濃度の値がHC22~HC46である81個の粒子に基づいて作成されている。マップ310の格子の交点は、各粒子がプロットされた位置である。マップ310は、赤血球が分布する範囲に相当する。健常者の赤血球では、概ね、赤血球容積がV60~V120であり、ヘモグロビン濃度がHC31~HC37である。続いて、血小板に相当する粒子に基づいて、スカッタグラム300に、分布線320を設定した。分布線320は、体積の値がV0.5~V33である4個の粒子に基づいて作成されている。

20

【0053】

本シミュレーションの結果から、被検者から採取される赤血球も、マップ310内に分布すると考えられ、被検者から採取される血小板も、分布線320上に分布すると考えられる。

30

【0054】

本シミュレーションの結果において、赤血球の分布を示すマップ310は、血小板の分布を示す分布線320よりも、左上に位置しており、マップ310と分布線320とが重なり合わない。これは、上述したように、赤血球に含まれるヘモグロビンにより第1の光210が吸収され、第1散乱光情報が第2散乱光情報に比べて小さくなっているためと考えられる。被検者から採取される血小板の体積が大きいと、この血小板は、分布線320の延長線321に位置付けられる。しかしながら、延長線321もマップ310と重なり合わないため、延長線321上の血小板はマップ310と重ならない。したがって、本シミュレーションの結果に基づけば、血小板の体積が大きい場合でも、赤血球と血小板を精度良く弁別できる。

40

【0055】

血小板と白血球は、概ね同様の屈折率を有していると考えられ、ヘモグロビンを有しないという点でも同様の性質を有している。このため、白血球も、概ね分布線320と延長線321上に分布すると考えられる。白血球は血小板に比べて大きいため、白血球は血小板よりも、第1散乱光情報と第2散乱光情報が大きい領域に位置付けられる。したがって、本シミュレーションの結果に基づけば、白血球はマップ310と重なりにくいいため、赤血球と白血球を精度良く弁別できる。

【0056】

よって、実施形態1のように第1の光210と第2の光220を用いると、赤血球と、

50

白血球と、血小板とを精度良く分類できることが分かる。

【 0 0 5 7 】

実施形態 1 では、図 6 (a) に示すように、スキャッタグラム 4 0 0 に設定した領域 4 1 0、4 2 0、4 3 0 を用いて、赤血球と、白血球と、血小板とを分類する。スキャッタグラム 4 0 0 には、各血球から得られた第 1 散乱光情報と第 2 散乱光情報とに基づいて、各血球がプロットされている。スキャッタグラム 4 0 0 の横軸と縦軸は、それぞれ、第 1 散乱光情報と第 2 散乱光情報である。領域 4 1 0、4 2 0、4 3 0 は、それぞれ、赤血球と、白血球と、血小板とが分布する領域である。スキャッタグラム 4 0 0 において第 2 散乱光情報が閾値 V_1 以下の部分は、ノイズを含む信号のため除去されている。

【 0 0 5 8 】

図 6 (a) に示すように、赤血球は分布曲線 4 0 1 に沿うように分布し、白血球と血小板は分布曲線 4 0 2 に沿うように分布する。分布曲線 4 0 2 は、図 5 (b) の分布線 3 2 0 と延長線 3 2 1 に対応する。このように、実測値において、分布曲線 4 0 1、4 0 2 は、互いに異なる角度で延びており交わらないため、領域 4 1 0、4 2 0、4 3 0 は、互いに重なりにくい。

【 0 0 5 9 】

ここで、図 5 (b) に示すマップ 3 1 0 は、赤血球と同様の性質を有し、赤血球容積の値が $V_{30} \sim V_{150}$ であり、ヘモグロビン濃度の値が $HC_{22} \sim HC_{46}$ である 8 1 個の粒子に基づいて作成された。したがって、図 6 (b) に示すように、スキャッタグラム 4 0 0 の赤血球に対応する領域 4 1 0 に、赤血球容積とヘモグロビン濃度とを示すマップ情報を組み込むことにより、領域 4 1 0 内の各血球について、赤血球容積とヘモグロビン濃度とを取得できる。なお、図 6 (b) は、便宜上、図 6 (a) のスキャッタグラム 4 0 0 において第 1 散乱光情報が小さい部分を示している。

【 0 0 6 0 】

具体的には、図 6 (b) に示すように、実際の測定で得られたスキャッタグラム 4 0 0 に、マップ情報を含む領域 4 1 0 を適用する。そして、領域 4 1 0 を、領域 4 1 0 に含まれる血球と共に展開して、図 6 (c) に示すスキャッタグラム 5 0 0 を作成し、スキャッタグラム 5 0 0 上のプロット位置に基づいて、血球ごとに赤血球容積とヘモグロビン濃度とを取得する。スキャッタグラム 5 0 0 において、横軸はヘモグロビン濃度を示し、縦軸は赤血球容積を示す。

【 0 0 6 1 】

より具体的には、処理部 2 1 の記憶部 2 1 a は、変換情報を記憶している。変換情報は、変換テーブルと変換プログラムから構成される。変換テーブルは、図 6 (b) に示す領域 4 1 0 内の 8 1 個の交点が、図 6 (c) に示すスキャッタグラム 5 0 0 のどの位置にプロットされるかを示すテーブルである。変換プログラムは、図 6 (b) に示す領域 4 1 0 の交点の間に位置する粒子を、交点との距離に基づいてスキャッタグラム 5 0 0 上の位置に変換するためのプログラムである。すなわち、変換情報は、第 1 散乱光情報および第 2 散乱光情報の組み合わせと、赤血球容積およびヘモグロビン濃度の組み合わせと、の関係を規定する情報である。処理部 2 1 は、変換情報を用いて、第 1 散乱光情報および第 2 散乱光情報から、赤血球容積とヘモグロビン濃度とを取得する。

【 0 0 6 2 】

変換情報は変換テーブルのみから構成されても良い。この場合の変換テーブルは、図 6 (b) に示す領域 4 1 0 の格子間がさらに所定数だけ分割されている場合に、さらに多くの交点が、スキャッタグラム 5 0 0 のどの位置にプロットされるかを示すテーブルである。この場合、分割する数を増やすことにより、変換情報の容量が大きくなるものの、変換精度を高くできる。

【 0 0 6 3 】

次に、血液分析装置 1 0 による処理について図 7 を参照して説明する。図 7 中、ステップ S 1 1 ~ S 1 7 は、測定制御部 1 1 の制御のもとで行われ、ステップ S 2 1 ~ S 2 4 は、処理部 2 1 の制御のもとで行われる。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 4 】

血液分析装置 1 0 が起動されると、図 4 (a)、(b) を参照して説明したように、予め時間差 t が取得される。取得された時間差 t は、測定部 1 0 a の記憶部 1 1 a に記憶される。

【 0 0 6 5 】

図 7 に示すように、ステップ S 1 1 において、血液検体と試薬 1 3 a とが混和され、測定試料が調製される。この場合の測定試料の調製は、溶血剤と染色剤が混和されることなく行われる。

【 0 0 6 6 】

ステップ S 1 2 において、測定試料がフローセル 1 1 0 に流される。ステップ S 1 3 において、第 1 の光 2 1 0 と第 2 の光 2 2 0 が、フローセル 1 1 0 を流れる測定試料に照射される。フローセル 1 1 0 を流れる血球に第 1 の光 2 1 0 が照射されることにより得られる第 1 前方散乱光 2 1 1 と第 1 蛍光 2 1 3 とが、第 1 受光部 1 3 1 a と光検出器 1 3 3 により受光される。フローセル 1 1 0 を流れる血球に第 2 の光 2 2 0 が照射されることにより得られる第 2 前方散乱光 2 2 1 と第 2 側方散乱光 2 2 2 とが、第 2 受光部 1 3 1 b と受光部 1 3 2 a により受光される。

10

【 0 0 6 7 】

ステップ S 1 4 において、測定制御部 1 1 は、第 2 散乱光情報が図 6 (a) に示す閾値 V 1 より大きいかなかを判定する。閾値 V 1 は微小な値に設定されており、ノイズを含む信号を除くために用いられる。ステップ S 1 4 において Y E S と判定すると、ステップ S 1 5 において、測定制御部 1 1 は、時間差 t に基づいて、同一の血球から生じた第 1 散乱光情報と、第 2 散乱光情報と、第 3 散乱光情報と、蛍光情報とを互いに対応付けて、記憶部 1 1 a に記憶する。他方、ステップ S 1 4 において N O と判定すると、測定制御部 1 1 は、この場合の血球の情報を記憶せず、処理をステップ S 1 6 に進める。

20

【 0 0 6 8 】

ステップ S 1 6 において、測定制御部 1 1 は、ステップ S 1 4 が最初に開始されてから所定時間が経過したか否かを判定する。測定制御部 1 1 は、所定時間が経過するまで、血球ごとにステップ S 1 4、S 1 5 の処理を繰り返し行う。ステップ S 1 6 において Y E S と判定すると、ステップ S 1 7 において、測定制御部 1 1 は、記憶部 1 1 a に記憶した測定データを、情報処理部 1 0 b に送信する。

30

【 0 0 6 9 】

ステップ S 2 1 において、処理部 2 1 は、測定部 1 0 a から測定データを受信したか否かを判定する。ステップ S 2 1 において Y E S と判定すると、ステップ S 2 2 において、処理部 2 1 は、図 6 (a) に示すスキッタグラム 4 0 0 に基づいて、領域 4 1 0、4 2 0、4 3 0 の血球数を計数し、それぞれ、赤血球数と、白血球数と、血小板数とを取得する。

【 0 0 7 0 】

ステップ S 2 2 では、説明の便宜上、スキッタグラム 4 0 0 上に領域 4 1 0、4 2 0、4 3 0 を設定し、領域 4 1 0、4 2 0、4 3 0 の血球数を計数している。しかしながら、スキッタグラム 4 0 0 と領域 4 1 0、4 2 0、4 3 0 を必ずしも作成する必要はなく、領域 4 1 0、4 2 0、4 3 0 の血球数をデータ処理により取得しても良い。

40

【 0 0 7 1 】

後述する処理においても同様である。すなわち、ステップ S 2 3 においても、スキッタグラム 5 0 0 を必ずしも作成する必要はなく、各値をデータ処理により取得しても良い。ステップ S 2 0 1 においても、スキッタグラム 4 0 0 と領域 4 1 0、4 3 0 を必ずしも作成する必要はなく、領域 4 1 0、4 3 0 の血球数をデータ処理により取得しても良い。ステップ S 2 0 2 においても、スキッタグラム 7 0 0 と領域 7 1 0、7 1 1、7 1 2、7 1 3 を必ずしも作成する必要はなく、領域 7 1 0、7 1 1、7 1 2、7 1 3 の血球数をデータ処理により取得しても良い。ステップ S 2 0 3 においても、スキッタグラム 7 3 0 と領域 7 3 1 を必ずしも作成する必要はなく、領域 7 3 1 の血球数をデータ処理によ

50

り取得しても良い。

【0072】

続いて、ステップS23において、処理部21は、変換情報を用いて、スキッタグラム400の領域410を、図6(c)に示すスキッタグラム500に変換する。これにより、処理部21は、領域410内の赤血球ごとに、赤血球容積とヘモグロビン濃度を取得する。

【0073】

さらに、ステップS23において、処理部21は、以下の各値を取得する。ステップS22で取得した赤血球数をRBCとして、処理部21は、平均赤血球容積すなわちMCVと、平均赤血球色素濃度すなわちMCHCとを求める。MCVは、スキッタグラム500における全粒子の赤血球容積の和を、RBCで割ることにより算出される。MCHCは、スキッタグラム500における全粒子のヘモグロビン濃度の和を、RBCで割ることにより算出される。処理部21は、平均赤血球色素量すなわちMCHを、 $MCV \times MCHC$ により算出する。処理部21は、ヘマトクリット値すなわちHCTを、 $MCV \times RBC$ により算出する。処理部21は、ヘモグロビン量すなわちHGBを、 $HCT \times MCHC$ により算出する。HGBは、 $MCH \times RBC$ によっても算出できる。

【0074】

このように、処理部21は、ヘモグロビンに関する値、すなわち、MCHCと、MCHと、HGBとを取得し、赤血球容積に関する値、すなわち、MCVと、MCHと、HCTとを取得する。

【0075】

ステップS24において、処理部21は、図8に示す画面600を、出力部22に表示する。画面600は、リスト601~603と、図6(a)、(b)に示すスキッタグラム400と、図6(c)に示すスキッタグラム500と、を含む。リスト601~603は、ステップS22、S23で取得した値を含む。オペレータは、画面600を参照することにより、測定結果を視覚的に把握できる。画面600には、図8に示すような2軸からなるスキッタグラムだけでなく、他のパラメータの軸がさらに追加された3軸からなるスキッタグラムを含んでも良い。

【0076】

実施形態1によれば、処理部21は、赤血球ごとに赤血球容積とヘモグロビン濃度を算出してスキッタグラム500を作成し出力部22に表示している。後述する比較手法では赤血球を溶血してヘモグロビンを測定していたが、実施形態1では赤血球ごとに個別の信号を基に解析を行うことができるため、より高精度な分析が可能となる。また、赤血球容積とヘモグロビン濃度を示すスキッタグラム500から、各赤血球がどのように分布しているかも把握できる。この赤血球の分布情報からオペレータは測定した検体に対して種々の判断を行うことも可能となる。

【0077】

実施形態1によれば、溶血と染色を行うことなく測定試料を調製し、血球を測定するための光学検出部14を用いて、赤血球と、白血球と、血小板とを分類し、ヘモグロビンに関する値を取得できる。これにより、溶血剤と染色剤が不要であるため、測定に要するコストを低減でき、環境負荷を抑えることができる。血液分析装置10が備える試薬としては、希釈液である試薬13aのみであるため、さらに、測定に要するコストを低減でき、環境負荷を抑えることができる。

【0078】

実施形態1によれば、別途、ヘモグロビンを測定するための検出部を備える必要がなく、赤血球と血小板を測定するための検出部を備える必要がないため、血液分析装置10を小型化できる。白血球の分類を行うための検出部と、ヘモグロビンを測定するための検出部とを別々に用意することなく、白血球の分類とヘモグロビンの測定とで光学検出部14を共用するため、血液分析装置10を小型化できる。

【0079】

10

20

30

40

50

次に、実際に取得されたM C V、M C H C、M C H、H G Bの精度を検証する。

【 0 0 8 0 】

この検証では、異なる被検者から採取された156の血液検体に基づいて、実施形態1により得られた結果と、溶血剤と染色剤等の試薬を用いて各測定項目のための測定試料を調製し、それぞれR B C / P L T検出部、H G B検出部、および白血球数を測定するための光学検出部を用いて測定を行う比較手法により得られた結果とを比較する。比較手法では、シスメックス株式会社製の多項目自動血球分析装置X N - 1 0 0 0を用いて測定を行った。

【 0 0 8 1 】

図9(a)~(d)の縦軸は、それぞれ、実施形態1により得られた値を示す。図9(a)~(d)の横軸は、それぞれ、比較手法により得られた値を示す。図9(a)~(d)のグラフには、実施形態1による値と、比較手法による値とをパラメータとして、それぞれ、156の血液検体に対応する点がプロットされている。図9(a)~(d)のグラフには、156の血液検体に対応する点の近似直線が示されている。図9(a)~(d)には、横軸をxとし縦軸をyとした場合の近似直線の式、および、実施形態1による結果と比較手法による結果との相関係数Rの値が示されている。近似直線の傾きと相関係数の値は、何れも1に近づくほど、実施形態1による結果と比較手法による結果との相関性が高くなる。

10

【 0 0 8 2 】

図9(a)、(c)、(d)に示すように、M C Vと、M C Hと、H G Bでは、実施形態1による結果と比較手法による結果との相関性は、比較的高い。一方、図9(b)に示すように、M C H Cでは、実施形態1の結果と比較手法の結果との相関性は、やや低い。しかしながら、実施形態1の場合、M C V × M C H Cにより算出されるM C Hは、M C V、M C H Cよりも相関性が高く、M C H × R B Cにより算出されるH G Bは、M C Hよりも相関性が高い。さらに、M C H CよりもH G Bの方が、臨床的な重要度が高い。よって、実施形態1による結果は、溶血剤と染色剤等の試薬を用いて測定試料を調製する比較手法による結果に置き換えて使用可能なレベルの精度を有すると言える。

20

【 0 0 8 3 】

< 実施形態2 >

実施形態2では、実施形態1と同様に溶血と染色を行うことなく測定試料を調製した後、測定試料をフローセル110に流し、赤血球と血小板の情報を取得する処理と、白血球の情報を取得する処理とを順に行う。実施形態2では、血液分析装置10の構成は、実施形態1と同様であり、血液分析装置10による処理が、後述するように実施形態1と比べて一部変更される。

30

【 0 0 8 4 】

実施形態2の場合、赤血球と血小板の分類については、実施形態1と同様、図6(a)のスキャッタグラム400において領域410、430を設定することにより行う。一方、白血球の分類については、第1散乱光情報が閾値V2より大きい血球のみを取得し、図10(a)に示すスキャッタグラム700を作成する。スキャッタグラム700の横軸と縦軸は、スキャッタグラム400と同じである。スキャッタグラム700に設定した領域710を用いて白血球を分類する。さらに、領域710内に設定した領域711、712、713を用いて、それぞれ、リンパ球と、単球と、顆粒球とを分類する。

40

【 0 0 8 5 】

リンパ球と、単球と、顆粒球の分類は、領域710内の血球に基づいて、図10(b)に示すスキャッタグラム720を作成して行っても良い。スキャッタグラム720の横軸と縦軸は、それぞれ、第3散乱光情報と第1散乱光情報である。スキャッタグラム720に設定された領域721、722、723は、それぞれ、リンパ球と、単球と、顆粒球とが分布する領域である。

【 0 0 8 6 】

さらに、スキャッタグラム700において、領域710内の血球に基づいて、図10(c)

50

c) に示すスキャッタグラム730を作成する。スキャッタグラム730の横軸と縦軸は、それぞれ、蛍光情報と第1散乱光情報である。スキャッタグラム730に設定した領域731を用いて好酸球を分類する。好酸球は、第1の光210が照射されると自家蛍光を発するため、図10(c)に示すように、スキャッタグラム730上において他の白血球よりも蛍光情報が大きい領域に分布する。スキャッタグラム730の縦軸は、第2散乱光情報でも良い。

【0087】

図11に示すように、実施形態2の測定部10aによる処理は、図7に示す実施形態1の測定部10aによる処理と比較して、ステップS16に代えてステップS101が追加され、ステップS101とステップS17の間に、ステップS102~S104が追加されている。実施形態2の情報処理部10bによる処理は、実施形態1の情報処理部10bによる処理と比較して、ステップS22に代えてステップS201が追加されており、ステップS23とステップS24の間に、ステップS202、S203が追加されている。以下、実施形態1と異なるステップを説明する。

10

【0088】

ステップS101において、測定制御部11は、ステップS14が最初に開始されてから第1の時間が経過したか否かを判定する。測定制御部11は、第1の時間が経過するまでステップS14、S15を繰り返し行う。これにより、第1の時間においてフローセル110を流れる測定試料を第1の部分とすると、第1の部分に基づく血球に関する情報が取得される。第1の部分に基づく血球に関する情報は、赤血球と血小板の分類で用いられる。測定制御部11は、測定試料をフローセル110に流す処理と、測定試料に第1の光210と第2の光220とを照射し各光の光を受光する処理とを、継続する。

20

【0089】

ステップS102において、測定制御部11は、第1散乱光情報が図10(a)に示す閾値V2より大きいかが否かを判定する。ステップS102においてYESと判定すると、ステップS103において、測定制御部11は、同一の血球から生じた第1散乱光情報と、第2散乱光情報と、第3散乱光情報と、蛍光情報とを互いに対応付けて、記憶部11aに記憶する。これにより、第1散乱光情報が閾値V2以下の血球が、解析対象から除外される。

【0090】

ステップS104において、測定制御部11は、ステップS102が最初に開始されてから第2の時間が経過したか否かを判定する。第2の時間は、第1の時間よりも長い。測定制御部11は、第2の時間が経過するまでステップS102、S103を繰り返し行う。これにより、第2の時間においてフローセル110を流れる測定試料を第2の部分とすると、第2の部分に基づく血球に関する情報が取得される。第2の部分に基づく血球に関する情報は、白血球の分類で用いられる。

30

【0091】

測定試料中の白血球は赤血球に比べて数段少ない。しかしながら、第2の時間は第1の時間よりも長く、フローセル110を流れる測定試料の速度は一定であることから、第2の部分の量は、第1の部分の量よりも多い。したがって、ステップS102~S104において、白血球に関する情報を十分に取得できるため、白血球の分類と計数の精度を高めることができる。図10(a)のスキャッタグラム700に示すように、赤血球に関する大部分の情報が記憶部11aに記憶されないため、記憶部11aの記憶容量を効率良く利用できる。

40

【0092】

試料調製部13において濃度の異なる2つの測定試料を用意し、低濃度の測定試料を用いて赤血球に関する情報と血小板に関する情報を取得し、高濃度の測定試料を用いて白血球に関する情報を取得しても良い。この場合も、白血球に関する情報を十分に取得できる。

【0093】

50

ステップS201において、処理部21は、図6(a)に示すスキャッタグラム400に基づいて、領域410、430の血球数を計数し、それぞれ、赤血球数と血小板数とを取得する。この場合のスキャッタグラム400は、測定試料の第1の部分から得られた情報に基づくものである。

【0094】

ステップS202において、処理部21は、図10(a)に示すスキャッタグラム700に基づいて、領域710、711、712、713内の血球数を計数し、それぞれ、白血球数と、リンパ球数と、単球数と、顆粒球数とを取得する。スキャッタグラム700は、測定試料の第2の部分から得られた情報に基づくものである。ステップS203において、処理部21は、図10(c)に示すスキャッタグラム730に基づいて、領域731 10

【0095】

このように、処理部21は、第1散乱光情報と第2散乱光情報に基づいて、領域710を設定することにより白血球を分類して計数する。処理部21は、第1散乱光情報と第2散乱光情報に基づいて、領域711~713を設定することにより白血球をさらに3つのサブグループに分類して計数する。処理部21は、第1散乱光情報と、第2散乱光情報と、蛍光情報に基づいて、領域731を設定することにより好酸球を分類して計数する。

【0096】

ステップS24において、処理部21は、図12に示す画面610を、出力部22に表示する。画面610は、リスト611~613と、図6(a)、(b)に示すスキャッタグラム400と、図6(c)に示すスキャッタグラム500と、図10(a)に示すスキャッタグラム700と、図10(c)に示すスキャッタグラム730と、を含む。リスト611、613は、ステップS201、S23で取得した値を含む。リスト612は、ステップS202、S203で取得した値を含む。 20

【0097】

測定試料の第2の部分を用いて、白血球と血小板に関する情報を取得しても良い。この場合、ステップS102において、測定制御部11は、第2散乱光情報が閾値V1より大きい場合に、各光に基づく情報を記憶する。処理部21は、測定試料の第1の部分から得られた情報に基づいて、赤血球について分類と計数を行い、測定試料の第2の部分から得られた情報に基づいて、白血球と血小板について分類と計数を行う。第1の部分よりも多い量の第2の部分を用いて、白血球と血小板に関する情報を取得するため、赤血球よりも数の少ない白血球と血小板について、分類と計数の精度を高めることができる。 30

【0098】

測定試料の第1の部分と第2の部分測定した後、さらに第3の時間だけ測定試料の第3の部分測定しても良い。この場合、第3の時間は、第1の時間よりも長く、第3の部分の量は、第1の部分の量よりも多い。測定制御部11は、第2散乱光情報が閾値V1より大きく且つ閾値V3より小さいときに、各光に基づく情報を記憶部11aに記憶する。処理部21は、図13に示すスキャッタグラム800に基づいて、領域810内の血球数を計数し、血小板数を取得する。スキャッタグラム800の横軸と縦軸は、スキャッタグラム400と同じである。スキャッタグラム800は、第3の部分から得られた情報に基づくものである。 40

【0099】

次に、実際に取得されたリンパ球数と、単球数と、顆粒球数の精度を検証する。

【0100】

この検証では、異なる被検者から採取された8つの血液検体に基づいて、実施形態2に基づく処理によって得られた結果と、溶血剤と染色剤等の試薬を用いて測定試料を調製する比較手法によって得られた結果とを比較する。

【0101】

図14(a)~(c)の縦軸は、それぞれ、実施形態2により得られた血球の全体の血球に占める比率を示す。図14(a)~(c)の横軸は、それぞれ、比較手法により得ら 50

れた血球の全体の血球に占める比率を示す。図14(a)~(c)のグラフには、実施形態2による値と、比較手法による値とをパラメータとして、それぞれ、8つの血液検体に対応する点がプロットされている。図14(a)~(c)のグラフには、8つの血液検体に対応する点の近似直線が示されている。図14(a)~(c)には、横軸をxとし縦軸をyとした場合の近似直線の式、および、実施形態2による結果と比較手法による結果との相関係数 R^2 の値が示されている。近似直線の傾きと相関係数の値は、何れも1に近づくほど、実施形態2による結果と比較手法による結果との相関性が高くなる。

【0102】

図14(a)、(c)に示すように、リンパ球と顆粒球では、実施形態2による結果と比較手法による結果との相関性は、比較的高い。したがって、実施形態2によれば、リンパ球と顆粒球の結果は、溶血剤と染色剤等の試薬を用いて測定試料を調製する比較手法と、同程度の精度を有することが分かる。一方、図14(b)に示すように、単球では、実施形態2による結果と比較手法による結果との相関性は、やや低い。しかしながら、実施形態2において、血液検体の希釈度と、第2の時間とを調整すれば、実施形態2による単球の結果と比較手法による単球の結果との相関性が高められる可能性がある。

10

【符号の説明】

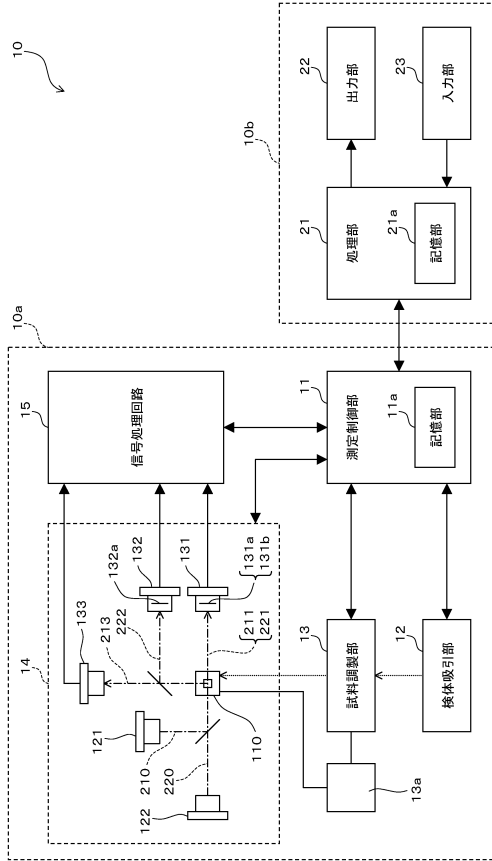
【0103】

- 10 ... 血液分析装置
- 13 ... 試料調製部
- 21 ... 処理部
- 22 ... 出力部
- 110 ... フローセル
- 121 ... 第1光源
- 122 ... 第2光源
- 131a ... 第1受光部
- 131b ... 第2受光部
- 210 ... 第1の光
- 211 ... 第1前方散乱光
- 220 ... 第2の光
- 221 ... 第2前方散乱光
- 400、500、700 ... スキャッタグラム

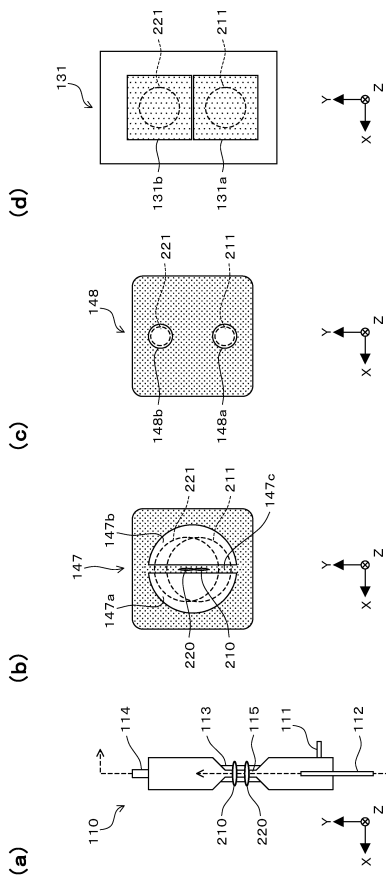
20

30

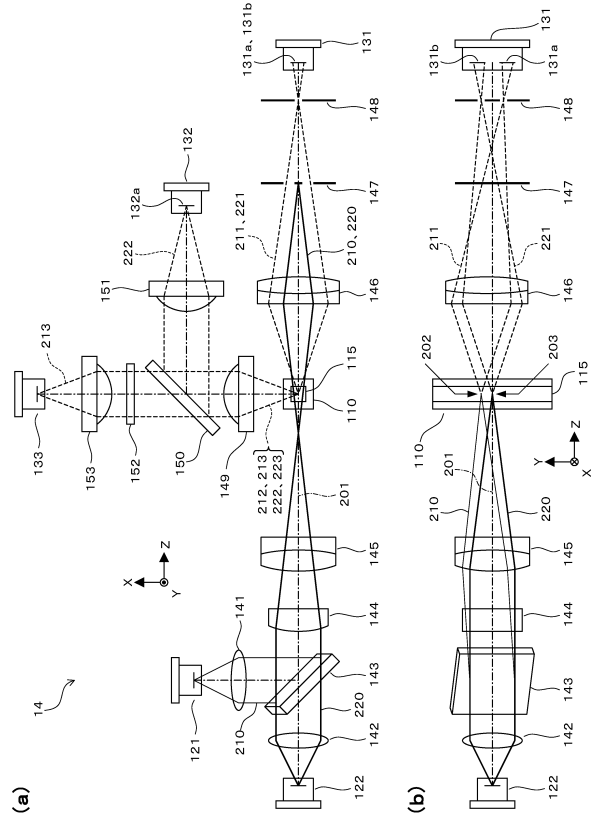
【図1】



【図3】

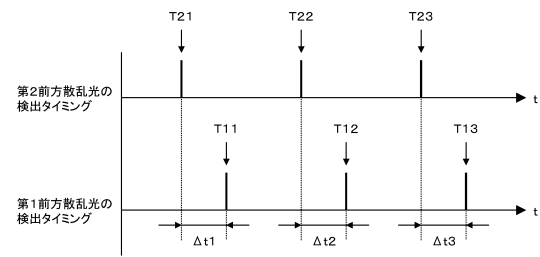


【図2】

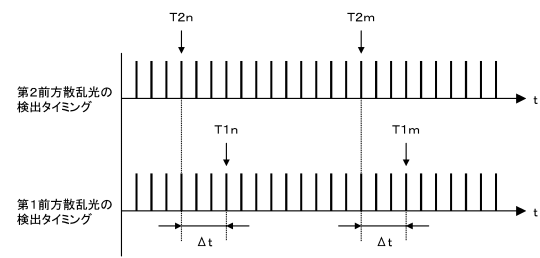


【図4】

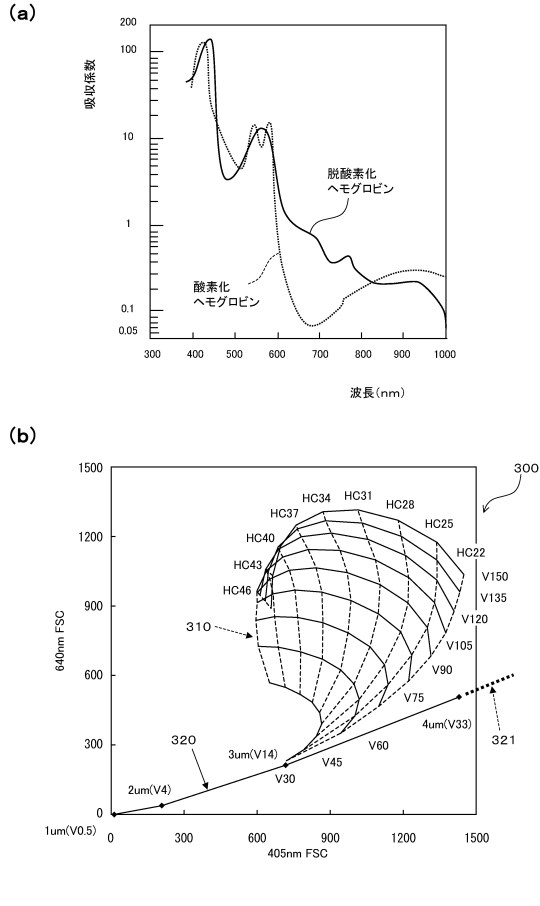
(a) 濃度が低い測定試料を測定したとき



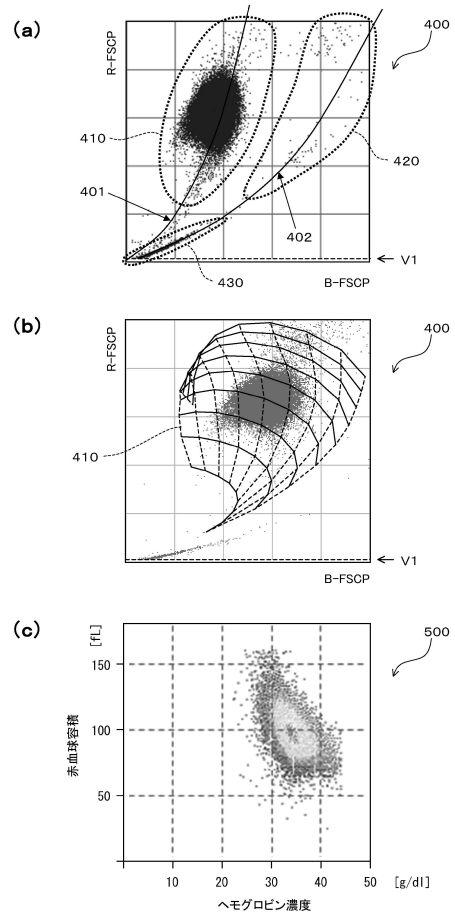
(b) 通常濃度の測定試料を測定したとき



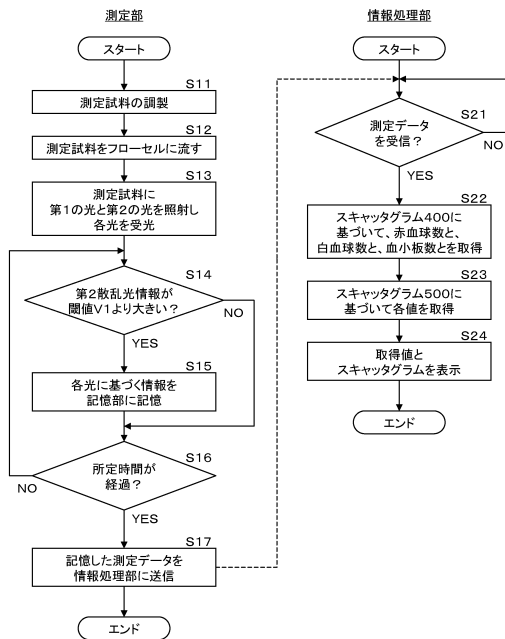
【図5】



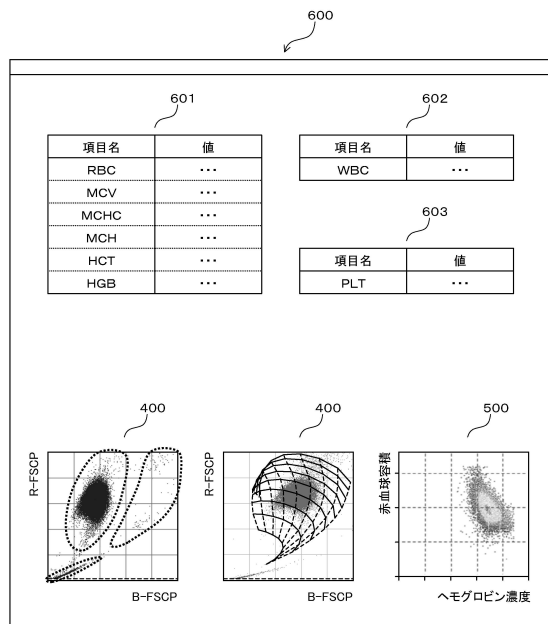
【図6】



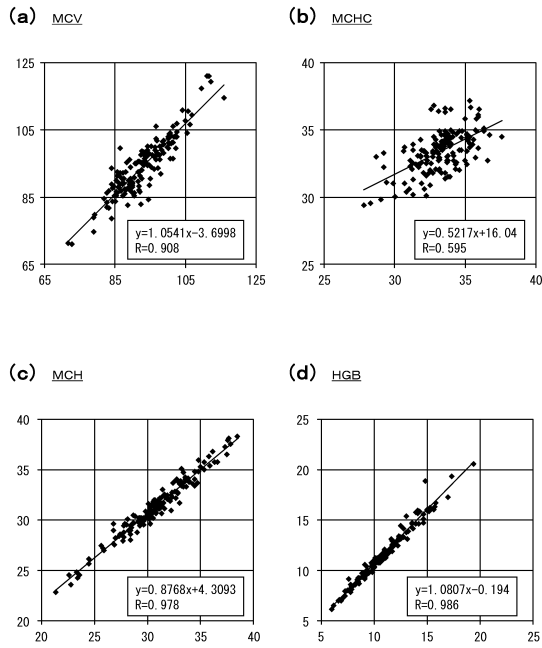
【図7】



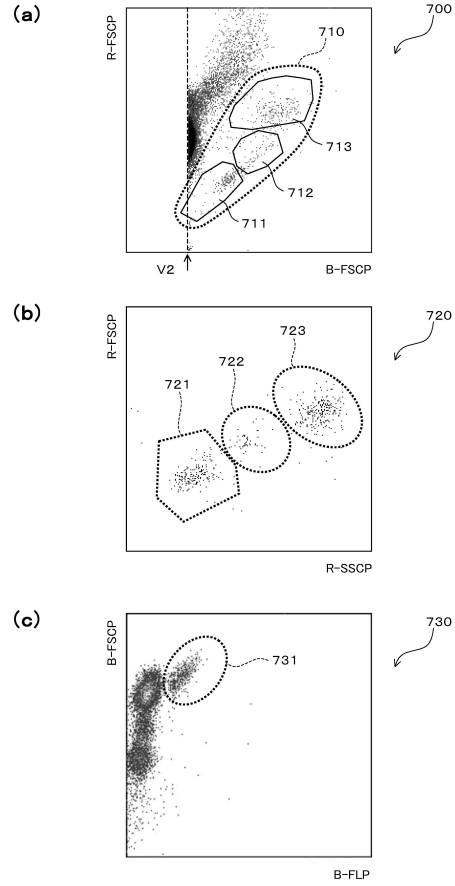
【図8】



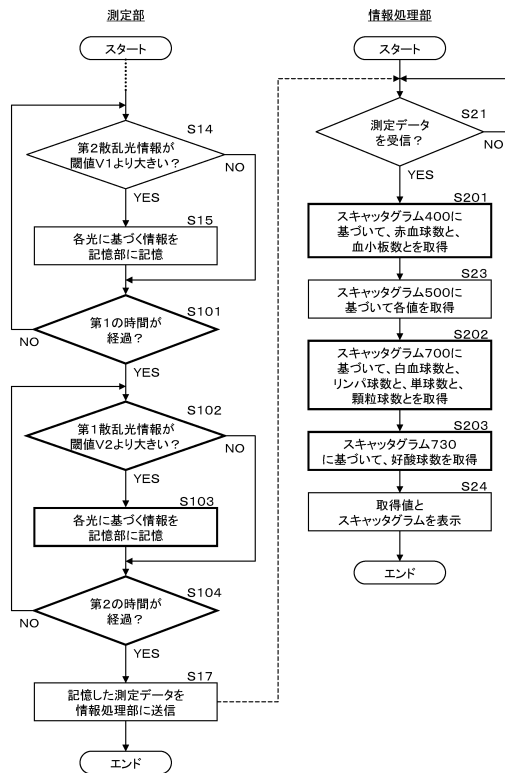
【図9】



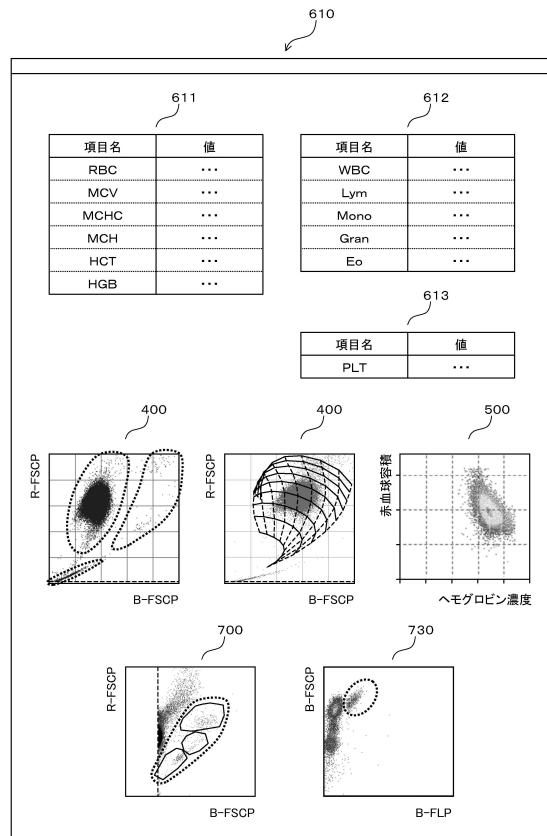
【図10】



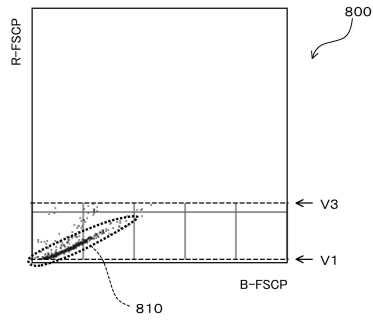
【図11】



【図12】

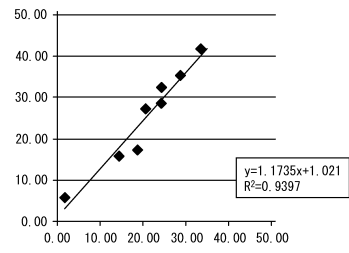


【 図 1 3 】

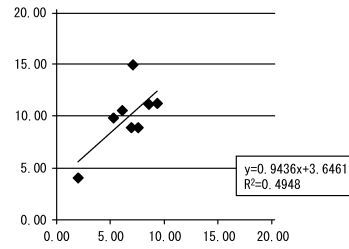


【 図 1 4 】

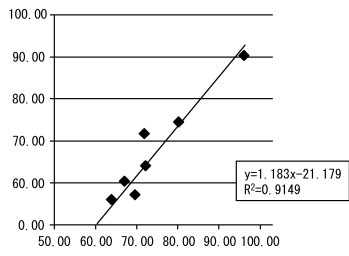
(a) リンパ球



(b) 単球



(c) 顆粒球



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 15/14 C

(56)参考文献 特開昭58-115346(JP,A)
特開平04-188045(JP,A)
特開平08-054388(JP,A)
特表2008-525151(JP,A)
国際公開第2014/038399(WO,A1)
特開2002-277381(JP,A)
特表2008-537136(JP,A)
国際公開第2006/065987(WO,A1)
特開2012-168192(JP,A)
S Reitz他, Determination of micro-litre volumes with high accuracy for flow cytometric
blood cell counting, Meas Sci Technol, 2010年, Vol.21 No.7 Page.074006,1-9

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G 0 1 N 15 / 0 0
G 0 1 N 33 / 49
G 0 1 N 33 / 72