

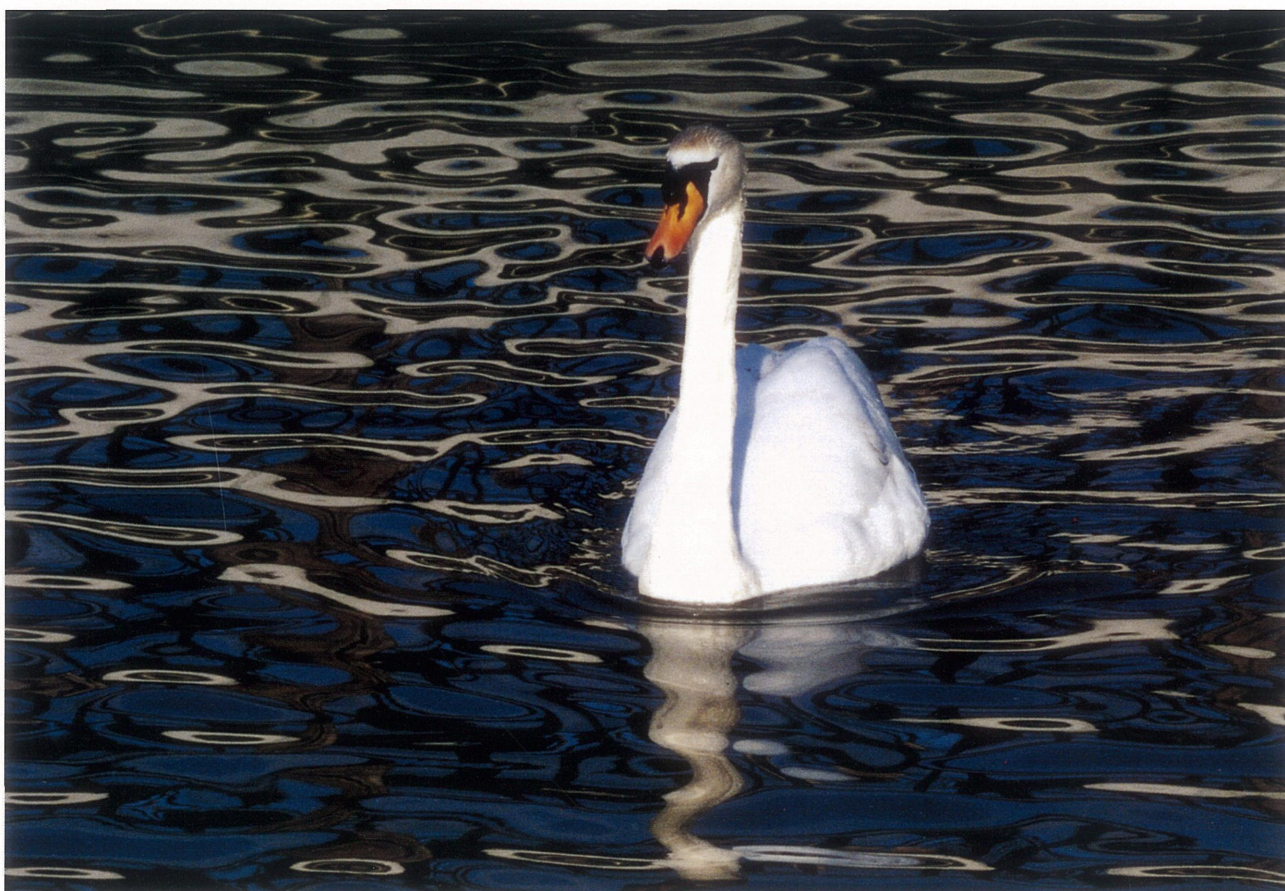
ISSN 0915-9916

Readout

HORIBA Technical Reports

March 2002 ■ No. 24

特集 メディカル・バイオ



HORIBA

医療の現場では、臨床検査の生産性向上のために検査施設や分析機器の大型化・集中化が進んでいます。しかしその一方では、直接診察室や病室に持ち込んですぐに結果を得ることができる小型の検査装置が求められています。ホリバはこのニーズにお応えするため、卓上型の血球計数装置を中心とする各種の医用分析機器を製品化しています。今号では医療の現場や基礎医学の分野で活躍中のホリバの製品や技術の一部をご紹介します。



表紙写真
撮影：松井秀雄氏
(仁科会写真部関西支部)

誌名について
誌名「Readout(リードアウト)」には、「当社が創造・育成した製品・技術を広く世にお知らせし、多くの皆様に読み取っていただきたい」という願いが込められています。

特集 メディカル・バイオ

巻頭言

- 3 「健康で長生き」を願って**
白井誠次

インタビュー

- 4 医療現場の現状と臨床検査機器への期待**
吉田 浩

特集論文

- 11 ホリバ医用グループの製品・技術開発**
河野 猛

インタビュー

- 14 医療現場で活躍するホリバの臨床検査機器**

- 15 Part 1：ありた小児科・アレルギー科クリニックの場合**
有田昌彦

【製品紹介】自動テオフィリン測定装置 LT-110

- 20 Part 2：イギリス ノースウェールズ癌治療センターの場合**
David Gozzard

【製品紹介】自動血球計数 CRP 測定装置 LC-175CRP

特集論文

- 24 自動血球計数装置 PENTRA シリーズ**
杉山庸子

特集寄稿

- 29 北里大学東病院の臨床検査部における自動血球計数装置 LC-5000(PENTRA60)の運用状況**
前田忠伸 / 柳原美智子 / 村上千香子

【技術紹介】外部精度管理プログラム(QCSP)における統計処理

特別寄稿

- 35 むし歯治療の問題点と分析技術への期待**
田上順次

特集寄稿

- 37 むし歯研究におけるイメージング分析の活用方法**
北迫勇一 / 田上順次 / 平石典子 / 奥田真実子 / 二階堂 徹

【製品紹介】光走査型化学顕微鏡 SCHEM™

【製品紹介】X線分析顕微鏡 XGT-2700 シリーズ

特集寄稿

- 45 紫外線誘導しわ形成に対するサンスクリーン製剤の迅速評価法の開発**
花田勝美 / 玉井克人 / 今 浮 / 中野 創 / 原田 研

【製品紹介】蛍光分光測定装置 Spectrofluorometer SPEX Fluorolog-3

- 50 顕微レーザーラマン分光法によるラット頭頂骨無機質成分の測定**
田村典洋 / 寛 光夫 / 伊藤久昭 / 横山政昭

- 54 顕微レーザーラマン分光分析装置 LabRam によるバイオサンプル分析**
横山政昭 / 田村典洋

【製品紹介】顕微レーザーラマン分光装置 LabRam シリーズ

特集論文

- 59 抗原抗体反応を利用した微量化学物質の分析と食品・環境分野への応用**
三宅司郎

知的所有権メモ

社外技術発表リスト

HORIBA World-Wide Network

Feature Bio-Medical Equipment's

HORIBA Technical Reports

Readout

March 2002 No.24

Foreword

- 3** Scientific Approaches to Healthy Longevity Using the Analytical Instruments
Seiji USUI

Interview

- 4** The Current Status of Medical Care Facilities and Expectations of Clinical Testing Devices
Hiroshi YOSHIDA

Feature Article

- 11** The Product and Technological Development Strategies of the Horiba Medical Group
Takeshi KONO

Interview

- 14** Horiba Clinical Testing Equipment—In Use at the Site of Medical Treatment

- 15** Part 1 : In Use at the Arita Pediatric and Allergy Clinic in Japan

Masahiko ARITA

【Product Information】 LT-110 Automated Theophylline Analyzer

- 20** Part 2 : In Use at the North Wales Cancer Treatment Center in England

David Gozzard

【Product Information】 LC-175CRP Automatic Blood Cell Counter Plus CRP

Feature Article

- 24** The Automated Hematology Analyzer PENTRA Series

Yoko SUGIYAMA

Guest Forum

- 29** The Status of LC-5000 (PENTRA60) Automated Hematology Analyzer Use in the Clinical Testing Department of the Kitasato University Higashi Hospital
Tadanobu MAEDA / Michiko YANAGIHARA / Chikako MURAKAMI

【Technical Information】 Statistical Data Processing Applied to External Quality Assessment, QCSP

Guest Forum

- 35** Analyzing Technology of Dental Caries

Junji TAGAMI

Guest Forum

- 37** Research on Dental Caries Using Imaging Analysis

Yuichi KITASAKO / Junji TAGAMI / Noriko HIRAIISHI / Mamiko OKUDA / Toru NIKAIIDO

【Product Information】 SCHEM™ Light Scanning Chemical Microscope

【Product Information】 XGT-2700 X-Ray Analytical Microscope

Guest Forum

- 45** A Trial of Quick Evaluation Method for Photo-protective Sunscreens against Ultraviolet-induced Wrinkle Formation

Katsumi HANADA / Katsuto TAMAI / Atsushi KON / Hajime NAKANO / Ken HARADA

【Product Information】 SPEX Fluorolog-3 Spectrofluorometer

- 50** Measurement on Mineral Components of Rat Calvaria by Means of Lasers Raman Microprobe Spectrometry

Norihiro TAMURA / Mitsuo KAKEI / Hisaaki ITO / Masaaki YOKOYAMA

- 54** Analysis of Biosamples Using the "LabRam" Laser Raman Spectroscopy System

Masaaki YOKOYAMA / Norihiro TAMURA

【Product Information】 LabRam High resolution Raman Microscope Spectrometer system

Feature Article

- 59** Analysis of Trace Amount of Chemical Compounds Utilizing Antigenantibody Reaction and its Application to the Fields of Food and Environment

Shiro MIYAKE

Patents

Technical Report List

HORIBA World-Wide Network

「健康で長生き」を願って

Scientific Approaches to Healthy Longevity Using the Analytical Instruments

生きとし生ける人,万人の願いが「健康で長生き」であることは言うまでもありません。しかし,人は時として病気にかかります。この病気を治すために医学は発展してきました。

一口に病気と言っても千差万別で,治療方法も多岐にわたっています。とくに20世紀の後半には,科学技術の進歩から多くの病因が解明され,医療技術も飛躍的に進歩を遂げました。その一翼を担ってきたのが「分析」であるといっても過言ではないでしょう。

医学の父ヒポクラテスは病人のすぐ横で尿を調べたとされていますが,今日では,病因の特定,治療効果のモニタリング,回復状況の確認など医療のさまざまな場面で臨床検査機器が用いられています。

最近,インフォームド・コンセントの観点からも,EBM(Evidence Based Medicine),つまり「科学的根拠に基づく医療」を推進して,医療の質を向上し,医療の経済性や効率を改善しようという動きが活発化しています。このとき,裏付けとなる科学的な根拠の一つが,各種の分析機器を用いて得られる臨床検査の結果です。

堀場製作所は2003年1月26日に創立50周年を迎えようとしています。この間,分析機器の専門メーカーとして数多くの分析機器を開発し,製品として世に送り出し,産業や社会の発展に寄与してまいりました。

当社は,1996年に臨床検査機器の専門メーカーであるフランスのABX社を,また,1997年には分光分析に必要不可欠となる回折格子技術をベースに各種光学装置の世界のトップメーカーである同じくフランスのジョバンイボン社をホリバグループに加え,分析技術の幅をさらに広げております。

本号では,医療関係を中心としたメディカル・バイオ分野におけるホリバグループの製品・分析技術の一端を,ユーザの先生方からの貴重なご意見や期待とともにご紹介します。

現在,ホリバの分析機器は,メディカル・バイオの基礎研究から臨床の第一線まで幅広く使っていただいておりますが,まだまだ十分とは言えません。

今後は,これらの分析技術の研究開発に努め,お客様のご要望にあった製品を供給していくことが分析・計測機器メーカーの最大の使命と考えています。とくに,これからの臨床検査機器は,医療施設の専門家だけでなく,ご家庭の皆様が手軽にはかれることが大きな課題だと認識しています。

今後も分析技術・製品のさらなる発展を通して,人類永遠の願いである「健康で長生き」できる社会の実現に貢献していきたいと願っています。



臼井 誠次

Seiji USUI

医用システム統括部
統括部長

医療現場の現状と臨床検査機器への期待

The Current Status of Medical Care Facilities and Expectations of Clinical Testing Devices



吉田 浩

Hiroshi YOSHIDA, M.D.

福島県立医科大学

臨床検査医学講座

教授

医学博士

今、日本の医療は転換期を迎えている。医学の目覚ましい進歩が人々に多くの福音をもたらした反面、医療費の財政負担が急増するという問題も生じています。そこで、臨床検査研究の最先端でご活躍中の吉田浩 福島県立医科大学教授に、医療現場の現状と我々臨床検査機器メーカーの今後の課題についてお伺いしました。内科医として診療現場を長く経験された先生は、患者側に立ったケアと同時に、科学的・合理的な医療の必要性を指摘されました。とくに、血液や尿など、モノを対象とする臨床検査は、サイエンティフィックでなければならぬと結ばれました。

Medical treatment in Japan is now in a period of transition. While the phenomenal advancement of medical science is greatly benefiting humankind, it also brings with it the rapidly growing problem of rising financial burden related to medical care, as illustrated in the abundant use of medical testings and medications. To learn more about this situation, we spoke with Dr. Hiroshi Yoshida, M.D., a professor of the Fukushima Medical University, about the current status of medical care facilities, and things Horiba, as a manufacturer of clinical diagnostic equipment, must consider for the future. Dr. Yoshida is currently working in leading clinical testing research. Dr. Yoshida, who has extensive hands-on experience in diagnostic work as a physician, discussed medical care from the patient's standpoint as well as the necessity of scientific, rationalized medical care. In particular, Dr. Yoshida noted that clinical testing for substances, such as blood and urine, must be done in a truly scientific manner.

臨床検査検体サンプリングを科学する

— ご専門の研究内容についてご紹介ください

内科医として臨床の現場を長く経験しまして、その後臨床検査の道に入って今年で15年目になります。主に検体のサンプリングを研究テーマとしています。

実際に臨床の現場を見てきた立場から言いますと、臨床でも検査部でも検体のサンプリングについてのきちんとした対応がされていませんでした。それを感じまして、私は、採血から始まって尿や便を採るといふサンプリングの現状をなんとか改善しなければならないのではないかとということに関心をもってきました。おかげさまで学会でも認められるようになりまして、2000年11月に開催された第47回「日本臨床病理学会」(現「日本臨床検査医学会」)の総会では、総会長講演として「臨床検査検体サンプリングを科学する」というテーマでお話しさせていただきました。

今年ヨーロッパに行って驚いたのは、向こうでは「検査以前の問題」に対する関心が非常に高まっていることでした。そこを通り抜けなければ、きちんとした精度管理に近づかないということをも十分に認識されているように思いました。

以前からTQCということが言われていますが、その原点は、患者の医療のための正しいデータとは何かということ、正しいデータとは患者の病態を反映するものでなければなりません。しかし、検査室内の精度管理はきちんとやられているけれども、それは、検体を受け取ってからの責任はもちましようということ、それ以前のことは何だかわからないというのが現状だと思います。臨床検査は、サンプリングから測定、データ処理まで、全体の精度管理、いわゆるTQCが必要です。そういうことで、私はとくに検査以前の問題が不十分だと感じて、その研究をもやってくるわけです。

そのほかに、薬の効果にも関心をもっていて、あるメーカーの研究所の方と共同で、経皮吸収、つまり皮膚から薬を吸収させる塗り薬、貼り薬の研究をずっとやっています。それから、もともと消化器の診療とかリウマチ、膠原病の診療をやってきたものですから、膠原病の診療は一部今でもやっております、自己抗体についての研究もテーマの一つになっています。

医療は心を持って、臨床検査はサイエンティフィックに

— 医療をめぐる状況は最近どのように変化していますか？

まず、患者さんが大きく変わりつつあります。患者自身が医療情報、医学情報を非常に容易に吸収できる環境になってきたし、また経済的にも余裕ができてきました。しかし、必ずしも医療情報が正確に理解できていない場合があるんですね。ですから、たとえば肝機能が少し悪いとなると肝ガンとか肝硬変とかを心配し、より高度な医療を強く求めることとなります。ときには自宅から1時間も2時間も離れた大病院を目指して行くということになります。命にかかわるかもしれないことだから、当然ベストの医療を受けたいわけですね。

しかし、大病院へ集中しすぎるという問題もあるし、そういう中で、適正な医療が行われているかどうかということに対しての不満も増えています。人間は必ず死ぬという生物としての宿命があるのですが、ついつい、永遠に生きる

のではないかという大きな幻想を抱いてしまうところもありますよね。我々医療関係者が医療を行っても救えないところが必ず出てきますが、それに対する批判が訴訟という極端な形になることもあります。それを是正するのはインフォームド・コンセントしかないのではないかと思います。患者との信頼関係ですね。

また、過度な検査漬け、薬漬けが問題だとも言われていますが、確かに最近の検査項目は多くなっています。ただ、検査漬け、薬漬けと言っても、医者だけが一方的に押しつけているのではなく、患者の方がそれを求めているところもあると思います。

臨床検査項目が多いことには歴史的な背景があります。我々が医者になった30～40年前は検査項目が少なかったので、得られる情報が非常に限られていました。ですから、手術などで生体に大きなストレスをかけなければならない場合には、事前にできるだけ多くの情報を集めようということになってきたわけです。検査によって少しでもおかしいところが見つければチェックして早めの手当てをすることができますし、その患者さんに大きな問題が起こらないようにできるようになってきたのです。でも、それが今になってみると逆にやり過ぎじゃないかと批判されたりもしますけどね。確かに部分的には不要な検査もあるかもしれませんが。今後は、より適切な、必要性の高いものを選んでいくということが臨床検査として求められると思います。

患者さんには本人が培った社会や家族があり、そのような背景を知ること重要ですが、医者は病気を中心に見て正確な評価なり判断なりを下さなければならないので、家族のことや心の問題までうまくケアできないことがあります。しかし、医療というのは、1+1は2という世界ではなくて、1+1が、ときには5になったり、あるいは0.5にしかならなかったりすることもあるわけで、心の問題を加えると、医療は単なるサイエンスではなく人間学だと言えますね。そのなかで、臨床検査は血液や尿という「もの」をいかに正確に測るかが重要ですから、あくまでもサイエンスが基本であるという立場が不可欠だと思っています。

— 適切な医療を受けるためにどうすればよいのでしょうか？

一つはセカンドオピニオンです。アメリカには一人の患者を複数の医師が診断するセカンドオピニオン制度があります。私も、ときどき患者さんから「手術した方がいいと言われたがどうだろうか？」「薬でおさまっているのに切った方がいいと言われたがどうだろうか？」と問われることがあります。その患者さんの主治医の先生は手術が最良の方法だと診断されているのですが、そう問われて私が診察してみると、これは手術の必要はないなと思うことも、やはり実際あるわけです。

大学には、若い医師、中堅の医師がいて、あと教授がいて、ディスカッションしながら決めていくという形をとっていますが、開業医だと自分一人で判断しなければならず、限界があります。ですから、複数の医者の意見を聞いて判断することは非常に重要だと思います。医者の方からも患者さんからもセカンドオピニオンを求めると保険診療に反映するという形をとれば、もっと広がると思いますね。

もう一つは、診療機関の選択です。大病院に患者さんが集中する傾向がありますが、確かに大きな病院は内外からの刺激が多く、常に努力していると思います。しかし、そういうところに風邪をひいただけの人が来るという現状があるわけです。病気にもグレードがありますから、重篤な病気は大病院、通常の軽微な病気は開業医、というように、医療機関の役割分担が必要なのです。開業医もそれぞれに努力されてネットワーク情報をもっていますから、そういうところから適切な病院を紹介してもらうこともできます。いわゆるホームドクターと高度な医療をする所を、患者さんももう少し区別したほうがいいと思います。

検査機器の多様化とエキスパートの活用を

— 今、臨床検査機器はどのようなニーズがありますか？

臨床検査機器のニーズを考える場合、大病院の中央検査室などで使われる大型のものと、中小の医療機関で使われる小型のものとを分けて考える必要があると思います。

まず、大型機器ですが、いま検査室内で使われている大型の検査機器は、それぞれすばらしい性能をもっています。ただ、それを実際に使っている時間はどれくらいかということになると、わりに少ないですね。検査センターでは四六時中使うから非常に効率よく稼動していると思いますが、一般の病院だと、大きな機械を入れても1日に数時間しか働いていないということも現実としてあるわけです。だから、病院の規模に応じたサイズというものが必要なのではないのでしょうか。

また、大型機器でも、複数の病院が共同で使用できればいいかもしれませんが、テリトリーの問題も出てきたりして、日本ではあまり実施されませんね。アメリカのように、一つの病院が中核になって、ブランチ化された医療機関から検体を持ってくるといふふうにするともっと効率がアップすると思います。まあ日本でも、同じ経営者の病院同士の場合はやっているところがありますけれどね。

一方、小型機器の分野ですが、現在多くの開業医は検査を外注委託していますが、それでも1日以上時間がかかっています。とくに検体採取と搬送に時間がかかります。患者さんの病態に関する情報をすぐに知りたいというのが臨床検査の原点ですから、開業医や救急医療の現場などでは、簡便な臨床検査機器の必要性はますます増えると思います。ホリバさんの血球計数とCRP検査を一緒にできる小型の分析装置などは、ますます売れるんじゃないですか。とくに検査技師がゼロのところは一番要求度が高いでしょうね。患者さんが来て、お腹が痛い、熱がある、では白血球とCRPを調べる。これは非常に重要なデータで要求は高いと思いますね。

ただ、臨床検査装置を考えるときに忘れてならないことは、それぞれが多忙な医療業務の中で、このような機器を誰が操作し、管理するのかという点ではないでしょうか。アメリカでは、コーディネータがいて精度管理がきちっとしており、行政がからんでデータの問題を把握して問題を少なくしようという動きが全体的になされていますが、日本はまだまだこれからです。

検査技師は専門的・系統的な教育を非常にきちんと受けています。これは今の医療の中で欠かせない財産です。医者も看護婦も、そういう勉強はしていません。ですから、もっと活用すべきですね。今は、検査技師は検査室で仕事をしていればいいんだという時代ではないと思います。たとえば救急室とか手術室とか各臨床科とか、そういう医療の現場でやれるような能力を備えているんです。アメリカでは検査室が管理している採血士という職種があります。そのように実際の診療の中で、煩雑な業務である採血を検査技師が担当してもいいかもしれないし、緊急検査の領域でも、心電図測定や呼吸の検査などの生理検査も検査技師がもっと行うべきだと思います。そうした要求が今後増えていくのではないのでしょうか。

私は検査技師が幅広く働ける可能性は非常に大きいと思います。残念ながら今は彼らが十分に力を発揮できる体制が整っていないし、とくに公的な機関では規制があって、医師、看護婦、検査技師の各テリトリーを崩しにくい部分があります。そこを改善していく必要があるでしょうね。

— 在宅検査・自己検査の将来性について教えてください

どこまで規制が緩和されるかですが、これは増えていくと思います。しかし、それと同時に、検査機器を使う人が、その検査についてのある程度の基礎知識をもつことも必要です。

最も身近な例が血圧計ですね。血圧が日常的にしょっちゅう変動するということがどの程度理解されているか。20年、30年前は、医者自身、血圧が変動するという認識が乏しかったわけです。今は日内の血圧が測れるようになって、人によっては血圧は1日のあいだに40も50も動くものだということがわかってきたし、「白衣高血圧」などという言葉もできてきて、そういう認識が非常に高まっています。それでも、自分で測ると120だったのに病院で測ると150になったとなると、機械が悪いんじゃないかとか、やっぱり病院に行って測ってもらった方がいいのではないかと思う人はまだ多いと思います。血圧のように測定値が変動するものに関しては、自分で測定器を買って測ることで、かえってノイローゼみたいになってしまうこともあるわけですよ。ですから、そういうことを説明して理解してもらう場が必要だと思います。

また、妊娠診断薬に関して言えば、妊娠しているかどうかを自分で秘密裡に知りたいというのは、まさに切実な願望だと思います。でも、自分で検査して陽性になったので病院に行ったら陰性だった、などということもあります。市場に出ている診断薬の方が感度が高かったりするんですよ(笑)。知りたいという希望はだれでももっていますから、間違いなく自己検査機器の市場はあるし、こういう問題が解決されればますます増えるのではないかと思います。

それから、血糖値の在宅検査は医者の指示のもとにやっていますね。これは管理ができていますが、医療の専門家の管理や指導が何もない状態で在宅検査機器や自己検査機器が売り出されると、データに対する責任を誰がもつのか、フォローアップをどうするのかという問題が起こります。使う側にも、ある程度の知識を与えてもらわないと、患者自らが大きな不安に陥ってしまうことにもなりかねないので、かなりの準備や規制が必要だと思います。でも方向としては増えてもいいのではないかと思うし、実際増えるのではないかと思っています。

無侵襲，細胞レベルの臨床検査へ

— 今後の臨床検査の方向性を教えてください

私が以前から関心をもっているのは、いかに侵襲を少なくするかということです。日本の治療学の分野では、とくに内視鏡を使う領域で非常に進展があるし、また、レントゲンから始まった画像診断の領域での超音波検査のように、革命的・爆発的な変革もたらされているのですが、我々の領域である臨床検査ではまだそこにまで至っていません。何かそういう画期的な発明・発見があればと切に願っております。

数年前の臨床化学会・冬季セミナーで無侵襲検査についてのシンポジウムを行いましたし、また昨年の臨床病理学会総会でも、無(低)侵襲検査の現状把握と将来の展望ということでシンポジウムを組んだのですが、あまり反響はなかったですね。ちょっと早過ぎたテーマかなと思っているんですが、無侵襲的に臓器組織の情報が得られないかというのは究極的な目的ですが、こういう発想は現時点からすると10年、20年早いのかもかもしれませんが、臨床の現場からそういう期待はもち続けなければならないし、そういう要求をしていくことが必要だと思っています。

今後の臨床検査の方向としては、一つは、近赤外線や赤外線を用いた方法が利用されるんじゃないでしょうか。現実、血糖の測定に関しては、とくにヨーロッパでそういう機器が開発されて市場に出はじめています。たとえば管腔臓器の粘膜表面の、ガンなどによる変化を、内視鏡検査に応用するような形で診断ができるようになると思います。血管系の診断には無侵襲方式が採用されてきています。

何かそういう、他の分野の画像診断とか内視鏡に結び付けて、生体の現場で起きている生化学的な反応をもう少し客観的に定量的にとらえることができるようになれば非常にいいと思います。ホリバさんのFTIRの機械でガン診断が可能だという雑誌記事を見ましたが、そういった長年の技術をお持ちのホリバさんのような会社が貢献してくださることを期待したいですね。

もう一つは、細胞レベルの臨床検査です。薬を飲んだときに薬効を発揮するのは細胞レベルですが、実際には血中レベルでしか我々はデータを得られません。血中レベルとはいえマイクロのレベルだから、まあ似たような動態をするだろうという想像でやっているわけですね。だけど、たとえば肝臓の中の細胞やその周辺の状況が血中にどう反映されているかとなると、そこから出てきた少量のものが血中に入ってしまうと薄まってしまうわけで、急性疾患以外の検査データはあてにならないということが多いわけです。ですから、問題は慢性期の病態をどうするかということですね。

組織中のレベルと血中のレベルが、ものによっては合わないというのは当然です。しかし、だからといって、血中のレベルと合わないからまったくあてにならないということではないと思います。たとえば、一つの臓器は実質、間質、血管、リンパ管などで構成されていますので、局所を総合的なレベルで判断する方が本当は正しいのかもしれない、ということです。そういう発想が今ほとんどできていないわけです。今、通常やっている範囲の臨床検査は血中レベルをゴールドスタンダードにしていますから。

しかし、それが果たしていいのかどうか。私は、ここから脱皮するというか、飛躍することに目標を定めるべきではないかと思っています。糖のような

小さい分子は血中から組織中へ移行しやすいですが、たんぱくや脂質などになると、そうは簡単に出入りができません。そうになると、どうも血中レベルと合わないという問題になります。だから、将来は、細胞レベルの臨床検査の方が病気に対して正しい情報を得られるのではないかと考えています。しかし、それが可能になるには10年20年では足りないかもしれませんね。

百見は一体験にしかず

— 最後に、先生のお好きな言葉をお聞かせください

これは実習の時にいつも学生に言っている言葉なのですが、患者さんの心のできる限り近づくべきだという意味で、「百聞は一見にしかず」、さらに「百見は一体験にしかず」ということです。病気をしてみないと、なかなか患者さんの気持ちはわからないものです。この言葉も私自身が何回か病気をした経験に基づいています。

臨床検査の世界は、「もの」を正確に測る立場としてサイエンスを基本にするわけですが、我々臨床検査医は、医療従事者として患者の立場に立ちながら、かつサイエンティフィックでなければならないと思っています。

— ありがとうございました

ホリバ医用グループの製品・技術開発

The Product and Technological Development Strategies of the
Horiba Medical Group

河野 猛

要旨

医療制度が大幅な見直しを迫られている中、臨床検査機器メーカーもまた大きな転換期にある。量と質と、そしてスピードの同時追求である。ホリバの医用グループは、小型の血液検査機器を中心として、ポイント・オブ・ケア・テスト市場にビジネスを展開している。本稿では、臨床検査機器をとりまく市場環境に変化に対して、我々が、現在どのように取り組み、今後対応しようとしているのかについて紹介する。

Abstract

Systems for medical treatment are undergoing major reconsideration, and the manufacturers of clinical testing devices are experiencing a period of great transition. Today, there is a demand for the simultaneous realization of quantity, quality and speed. With compact blood testing devices as a weapon, the Horiba Medical Group is working to develop business in the field of “point of care testing.” In this paper, we present an introduction to what projects the Medical Group currently has underway, and what measures the Medical Group is planning to implement, with respect to the changes taking place in the market environment of clinical testing devices.

1 はじめに

臨床検査は、今、大きな転換期を迎えている。量と質と、そしてスピードの同時追求である。

医学の目覚ましい発展と健康保険制度の充実は、健康で長生きできる社会を実現した。しかし、一方で、医療費の急増をもたらし、国家財政を窮地に陥らせている。厚生労働省は、医療費削減の重要施策の一つとしてすでに欧米では導入されているDRG-PPS¹⁾や、クリティカルパス²⁾など包括的医療システムの導入推進を検討しており、これには臨床検査項目の厳選や保険点数の包括化も含まれている。

このような臨床検査を取り巻く社会・経済環境が激変する中、ホリバの医用グループもまた大幅な変革を進めている。「お客様が望まれる製品を、適正な価格で、すばやく提供する」というメーカーとしての基本姿勢は変わらないが、激変する市場ニーズに対して、いかに速く、グローバルかつきめ細かく対応するかが最大の課題となっている。

本稿では、血液検査装置を中心に、ホリバ医用グループの製品・技術開発戦略を紹介する。

2 臨床検査の生産性向上と小型機器へのニーズ

医療機関では、加速度的に増大する検体数・検査項目に対して、自動検査機器の導入や施設の集中化など、「臨床検査の生産性向上」で対処してきた。しかし、一方では、検査システムの導入費用が増大し、また、診療現場と検査室との間の距離が拡大するなどの問題も発生している。

「病院へ行くと検査結果待ち時間が非常に長くて疲れる。」とよく言われる。最近では、この傾向は、大病院よりむしろ、院内の情報化が充分でない中小規模の病院の方が強い。長い検査待ちは、患者ばかりでなく、速やかな診断、治療を施したい医師や看護婦など診療側にも相当のストレスを与える。

大手の医療機関では、これらの課題解決のために、高度な自動検査機器の導入、FMS・プランチラボ化³⁾、さらには、施設全体の情報ネットワーク化などにより、臨床検査の生産性向上を図っている。一方、資金的に対応が難しい開業医などは、専門の検査センターを活用して、コスト削減を図っている。

一方、これらの生産性向上の取り組みが進むに従い、診療現場と臨床検査室との距離が遠くなり新たな問題を生み出している。

必要な検査を、その場で実施し、正確な診断をただちに下すことが臨床検査の基本である。たとえば、救急患者のように検査の遅れが人命に関わる場合もある。また、薬注効果を連続的に監視したい場合もある。このようなケースでは、機器を手術室や病室に持ち込む必要がある。

個人の医院では、患者の目で検査し説明することにより、医師に対して高い信頼が寄せられる。また、自らが採血し検査装置を操作し、生のデータを見つめることにより、打診や触診と同様、意外な情報が得られる可能性もある。

しかし、上に述べたような大型化した検査システムは、臨床検査の基本に必ずしも合致しているとは言いがたく、迅速で小回りのきく検査機器やシステムの構築がますます重要になっている。

ホリバの医用グループは、今後の検体検査市場のダイナミックな変革に追従すべく、開発・生産・販売において役割を明確にし、最も効率のよいグローバル化を図っている。

3 自動血球計数装置 PENTRA シリーズ

ABXの開発したPENTRAシリーズは、「必要な検査を、必要な時に、精度良く、短時間、簡便に」をキーワードとしたスタンドアロンタイプの白血球分類機能付き自動血球計数装置である。

臨床検査機器メーカーには、集中(ラボ・テスト)と分散(ポイント・オブ・ケア・テスト⁴⁾)の2種類の対応が求められている。前者は、主に検査技師などの分析の専門家がユーザであり、後者は医師や看護婦等、患者に近い場所で利用される方々が対象となる。

PENTRAシリーズには、白血球5分類機としては開業医から小病院市場を狙ったPENTRA60からラボ市場を対象としたPENTRA120まであらゆるセグメントに対応できる商品群を持つ。周辺機能としては、血液形態検査では欠かすことのできない、塗抹染色標本作成装置もシリーズに組み込まれている。

両者が求められる検査機器は、正確で信頼性の高いことは当然として、仕様や機能はそれぞれの用途によって異なるが、なかでもPENTRA60は他社にないセグメントの商品で、中小の医療機関をターゲットにした自動血球計数装置である。詳細を本誌の別稿(24~28ページ)に示す。

さらに、要求される機能は機器が使われる地域(国)によっても異なる。たとえば、医師、検査技術者、オペレータなどの役割分担が明確な欧米地域では、操作性の良さがより重視されるのに対し、職務担当の流動性の高い日本では、性能・精度の高さがより求められる。

ホリバの医用グループは、全世界の市場を3分割する日(堀場製作所)・欧(ABX S.A.)・米(ABX, Inc.)の3極を拠点に、世界各国に生産・販売・サービスの拠点を置き、それぞれの市場ニーズにきめ細かく対応している。

4 メディカルプラスの発想

ホリバは自動血球計数CRP測定装置LC-270CRPを1998年に製品化した。本機は、全血検体をサンプルホルダーにセットするだけの簡単な操作で、血算8項目(WBC, RBC, Hgb, Hct, PLT, MCV, MCH, MCHC)と、免疫血清項目であるC反応性たんぱく(CRP)濃度測定とが同時に測定可能な、世界初の小型血液分析装置である。

血算の中でも白血球数は炎症のプライマリ検査指標として幅広く採用されている。一方、CRPは、急性の組織損傷、感染症診断の有効な指標である。これら二つの指標が同時に得られることにより、より適確ですばやい診断が可能となる。また、少量の血液採取で複数の検査が可能になり、患者への負担を軽減される。

本装置は、測定原理の異なる二つの機能を一台の装置にコンパクトにまとめた設計、生産技術の優秀さもさることながら、「血算は血液検査部門で、CRPは生化学・免疫検査部門が別々に行うものである。」という既存の概念を取り払った。とくに、炎症診断で迅速性を必要とする内科小児科の開業医や、中小病院の緊急検査部門において高い評価を得た。

臨床検査分野では後発メーカーのホリバの血液検査機器が確固たる地位を築くことができたのは、LC-270CRPを生み出した「メディカルプラスの発想」のおかげである。

また、CRP検査が炎症診断で一般的な日本市場だけでなく、欧米市場に対しても従来のESR(血沈)検査市場をCRP検査に置き換えるべく、欧米市場向けにMICROS CRP(白血球3分類機能付き)をABXから販売を開始し、グローバル製品として位置付けている。

5 外部精度管理 QCSP

ホリバは血球計数装置の外部精度管理プログラムQCSPサービスを行っている。

生体試料を扱う臨床検査機器から正しい検査結果を得るためには、機器の適正な保守管理が欠かせない。大規模な検査施設では、専門の技師が、日々得られる検査データを解析し、自施設の品質管理(内部精度管理)を行っている。さらに、医師会などが実施するコントロールサーベイ⁵⁾にも参加し、他の施設との比較・調整(外部精度管理)も行っている。

一方、中小の医療機関では医師や看護婦たちが忙しい合間をぬって測定し、メンテナンスも行っている。このため、自施設だけで十分な精度管理を実施することは難しく、適切な品質管理のための支援が求められている。

ホリバは、検査機器本体だけでなく、お客様の施設における精度管理を含めたトータルサービスこそがお客様満足（CS）の基本であると考えている。QCSPは、当社の自動血球計数装置をお使いいただいているお客様から検査データを送っていただき、データ処理を施すことによって、その機器が適正に稼働しているか否かをチェックしていただくための外部精度管理サービスである。QCSPとオンコールサービスとが相まつことにより、当社の製品を安心してお使いいただけるものと確信している。

6 21世紀への展開

ホリバの医用グループは、堀場製作所創業以来の基盤技術であるpHメータや赤外線ガス分析技術をベースとした電解質分析装置（SERAシリーズ）や呼気ガス分析計がルーツである。1996年に血球計数装置の専業メーカーのABX社が加わって以来、当グループの業容は大きく発展している。この発展の原動力は、世界市場を前提として、仕様はスタンドアロンタイプに絞り込む、まさしく「Think Global Act Local」の実践の成果だと考えている。

一方で、臨床検査装置をとりまく環境は激変している。量と質と、そしてスピードの同時追求である。ホリバは、現有市場のさらなる深耕と関連分野への製品拡大を目指して、積極的にビジネス展開をはかっている。そして、この積極策の源は、コア・テクノロジーをベースとした研究開発であり、既存の枠を超えたアライナンスである。

ホリバグループのひとつであるABXの臨床検査部門における中長期的戦略の一つとして、血液学検査装置への新しい分析技術の取り込みが欠かせない。ホリバグループの技術的な強みは、お客様のニーズの徹底した調査と高いコストパフォーマンス性を実現させるアッセンブル技術であり、それに新たな分析手法を加味することで他社と差別化を図ることである。

ABXでは欧州の大学との共同開発を積極的に推し進めており、近い将来、大型機で画期的な製品を投入する計画である。一方、ホリバでは、品質を重点に置いた生産技術を駆使した小型機のグローバル戦略製品の開発を進めている。さらに、微細加工技術を応用したまったく新しいセンサデバイスの開発も進めており、この成果を臨床検査の分野へ展開することも検討している。

以上、ホリバ医用グループの製品・技術開発の戦略を紹介した。これらは、お客様に当社の製品をご愛用いただけてこそ、実現、発展できるものである。今後とも一層のご支援、ご鞭撻を願っている。

脚注

- 1) DRG-PPS(Diagnostic Related Group-Prospective Payment System：診断群別包括支払)
 - 一つの疾患群ごとに一定の医療費が設定され、検査・治療内容に関係なく患者の支払額が決まっているシステム。1983年に米国で導入が始まり、現在、日本でも試行中。
- 2) クリティカルパス
 - 入院指導から、検査、治療、退院まで、一連の医療行為をまとめたスケジュール表のこと。患者と医療機関の双方の合理的な理解に役立つと期待されている。
- 3) FMS・プランチラボ
 - 主に大病院が行っている臨床検査業務の外注委託方式のこと。FMS(Facility Managed System)は病院が検査技師と建物を提供し、検査センターが検査業務を実施する方式。プランチラボは病院内に検査スペースを借用し、検査センターが一切の検査業務・経営管理をとりしきる方式。
- 4) ポイント・オブ・ケア・テスト(POCT)
 - 専用の検査施設外で実施する臨床検査の総称。医療スタッフが実施するベッドサイド・テスト、患者自身が行うセルフ・テスト、小規模の医療機関内での検査(POLT)などがある。
- 5) コントロール・サーベイ
 - 同じサンプルを多数の検査機関が測定し、得られた実測値を比較・解析する精度管理調査のこと。



河野 猛

Takeshi KONO

医用システム営業部
部長

医療現場で活躍するホリバの臨床検査機器

Horiba Clinical Testing Equipment—In Use at the Site of Medical Treatment

血液検査は最も基本的な臨床検査項目です。ますます増大する検査に対応するために、中央検査室に検査機器を集中したり、検査業務を院外の専門機関に委託して効率化が図られています。しかし、集中化・委託が進むにしたがい、治療現場と検査現場の距離が遠くなってしまうデメリットも出ています。ホリバは、「患者さんのすぐ隣で、迅速、かつ的確な臨床検査の実現」を目指して、小型で使い易い臨床検査機器の開発を続けています。これらの製品が、医療現場でどのように使われ、役立っているのだろうか？ こんな素朴な疑問を抱き、ホリバの検査機器をお使いいただいているお二人の先生にお話を伺いました。お一人は、ありた小児科・アレルギー科クリニックの有田昌彦先生です。有田先生は、救急車で運ばれてきた喘息患者をテオフィリン濃度を監視しながら治療できたと緊急検査の有効性を指摘されました。そして、イギリスのノースウェールズ癌治療センターのDr. David Gozzardからは、小型の自動血球計数装置の導入後は、患者さんへの負担が減り、医師や検査技師も余裕をもって診療にあたることができるなど、診察室の様子がガラリと変わったとコメントをいただきました。

Part 1 有田昌彦先生 : ありた小児科・アレルギー科クリニック

Part 2 Dr. David Gozzard : Consultant Hematologist at the North Wales Cancer Treatment Center(NWCTC), England

Blood testing is one of the most fundamental clinical tests. To handle the growing scope of blood testing, efforts are being made to increase efficiency by concentrating testing equipment in a central testing room, or by contracting the testing work out to specialized organizations. However, this growing centralization and out-sourcing has in turn given rise to certain disadvantages, including a growing distance between the site of treatment and the site of testing. With the aim of “achieving quick and accurate clinical testing right beside the patient”, Horiba has continued the development of compact and easy-to-use clinical testing equipment. With the simple questions, “How are these products being used?” and “Are they useful?”, we interviewed two doctors who are using Horiba testing equipment. One of the doctors is Dr. Masahiko Arita, of the Arita Pediatric and Allergy Clinic. Dr. Arita was able to monitor the concentration of theophylline while treating an asthma patient brought in an ambulance, and he points out the effectiveness of emergency testing. Dr. David Gozzard of the North Wales Cancer Treatment Center in England comments that the introduction of a compact automated blood cell counter has alleviated the burden on patients, and allowed doctors and clinical technicians to treat patients with less pressure, creating a big change in the atmosphere of the treatment room.

ありた小児科・アレルギー科クリニックの場合

小児科，とくにアレルギーをご専門とされた経緯をお聞かせください

小児科を選んだのも，小児アレルギーをやり始めたのも，まったく偶然のことでした。大学を卒業するときに，1年上の先輩から「小児科に來いよ！」と行きつけの居酒屋で誘われ，先輩とウマが合って，それじゃといった流れで決めました。

小児科に入って1年くらい経ったときに，広島で小児科を開業していた母親から海外旅行に行くので留守番をしてくれと頼まれ，軽い気持ちで母の代わりに診察したのですが，いざやってみると大変でした。喘息の患者さんが何人か来られて，てんてこまい。これは喘息の治療を覚えた方がいいなと思って，当時大学で喘息を専門にしていた先生に紹介していただいて，国立小児病院へ勉強に通うようになりました。国立小児病院と大学との間を行ったり来たりしているうちに仲間が増えてくるし，定着した患者さんもできてきて足が洗えなくなっちゃったというのが正直なところですよ。

始めたのはこんなきっかけでしたが，いろいろな人脈も広がってきたし，やりがいもあって，今はすごくよかったですと思っています。大学で25年ほど治療と研究を続け，5年半前に広島で「ありた小児科・アレルギー科クリニック」を開業しました。ただ，子供の患者さんが中心なので，本当は「小児アレルギー」と限定して，「ありた小児アレルギー科」と標榜したいところです。

小児アレルギーについて教えてください

近年，小児のアレルギー疾患がますます増えています。小児喘息の患者は1960年代に1%台だったのが，1990年代には5%台前後にもなっています。ところが，アトピー性皮膚炎や喘息を完治させる薬はまだありません。結局，医師の役割は，本来子供さんが持っている治癒力をどううまく引き出すか，また発症にかかわる悪化因子にどう対応していくか，といったアシストをすることだろうと思います。

私は，アトピー性皮膚炎の患者さんの治療の際にはヤケドを例に出して説明します。軽いヤケドの場合は，とくに何もしなくても患者さん自身が持っている再生能力によって治ります。しかし，ヤケドの程度がひどかったり，感染を起したりするとケロイドとして残ってしまいます。アトピー性皮膚炎もこれと同じで，スキンケアなどを基本とした指導を主体にしながら，また子供の再生能力の範囲を超えたときには，ステロイド外用薬による症状の抑制が必要ということです。

喘息患者の家族には少し違った例え話をします。喘息は400メートルハードル競走のようなものだと思います。スタートラインに立ったときが発病で，ゴールが治るということだと仮定しますと，この喘息レースは子供自身が走り切らないと，ゴールにたどり着けません。誰も代わりに走ってやることはできないですね。しかも，このレースには途中にいくつものハードルがあり，それを飛び越えて走らなければなりません。子供が飛び越えられる能力よりもハードルの高さが高ければ，絶対にゴールにたどり着くことはできません。そこで，ハードルを越えら



有田昌彦
Masahiko ARITA, M.D.

ありた小児科・
アレルギー科クリニック 院長
元昭和大学 医学部 小児科
助教授
医学博士

れるように、抗炎症薬など薬の力を借りてハードルの高さを下げている間に、その子供自身が越えていくことができるように手伝ってやるのが治療であると思うのです。背が伸びれば、自然にハードルを越えやすくなります。そうやって子供がレースを完走するまで、投薬や環境整備という形でのお手伝いをするのが私たちの役割ではないでしょうか。

喘息治療上の注意点を教えて下さい

どの程度の発作が、どのくらいの間隔で繰り返して起こるかということによって重症度が決まります。そして、治療は重症度によって決定されます。その治療は、さらに長期管理のための治療と急性増悪期の治療があり、これらを組み合わせることで症状をまず抑えて、日常生活が健康児と同じように営めるようにすることから始まります。このときに、発作は夜間から明け方にかけての時間帯が多いので、日々の発作の状態が主治医にうまく伝わっていなければ、重症度を過小評価したり、逆に過剰な評価をしてしまうと、必要のない薬を与え続けてしまうという問題が生じます。

この点からも中等症～重症の患者さんでは、喘息日誌は最低限必要です。子供の場合は、親が喘息日誌をつけて治療のときに病院に持参して、主治医はそれを見て子供さんの状況を確認しながら次の処方計画を立てます。それと喘息日誌は、投薬の効果を確認する上でも役立ちます。薬を飲む前から記録しておけば、投薬開始後、2週間なり1か月なり経ったところで症状の改善があるかないかを確認すれば、有効性の評価ができます。医師はもちろんのこと、患者さん自身も、やっぱりこの薬は効いているんだなということがわかるのではないのでしょうか。さらに薬のコンプライアンスを高めるという効果もあるし、患者さんが薬を納得して使うということにもつながります。だから、喘息日誌は非常に大切です。

日常の診療における臨床検査の役割を教えてください

臨床検査は客観性を求めてよくやります。小児では症状の進行も回復も速いですから、子供の状態を適宜的確に評価するためには検査データが重要な指標になります。

たとえば、感染症であればまず白血球の数を調べます。それによって、バクテリアによるものなのかウィルスによるものなのかということも、ある程度はめやすをつけることができます。またCRPの反応によって、重症感染が隠れていないかどうかはその場でわかります。もちろん、血液検査だけでなく原因を知るために、咽頭培養などもよくやります。

またアレルギーの患者さんの重症度を評価して、それに見合った薬を処方しようとする時に、患者さんの訴えや理学所見だけで判断すると客観性に欠けることがあります。喘息の場合には、先に述べた喘息日誌に加えて、測定可能な年齢であれば肺機能が必要で、自宅でピークフローを測って喘息日誌に測定結果を書いてもらっています。朝夕の変化の状態や毎日決めた時間の測定結果を見て、テオフィリンなどの治療薬の投与を調整します。しかし、喘息日誌は主観も入りますので、テオフィリン投与量の微調整が必要な場合には、血中のテオフィリン濃度を測定することになります。



テオフィリンは合併症や併用薬剤などによってクリアランスに変化をもたらすことがあり、症状に合わせた血中濃度の厳密な管理が必要な薬です。たとえば、インフルエンザなど熱が出たときには少し減量するとか、あるいはエリスロマイシンやクラリスロマイシンなどの抗生剤と併用する場合にも微調整しています。

このように、臨床検査によって病気を正確に診断することができ、そこで初めて治療の方針が決まります。やはり、科学的な手順を1つ1つ踏んでいくことが非常に大事だと思います。



開業医が検査機器を設置されるメリットを教えてください

まずは緊急検査です。大学の臨床検査部には多くの種類の大きな検査機器が設置されていますが、開業医の場合は、資金的な制約もあって、個々の医院で持つのは専門分野に関連の深い機器に限られます。しかし、とくに症状の経過が早い乳幼児では、緊急検査が必要な場合も少なくありません。私どもでは、ホリバさんの自動血球計数CRP測定装置や自動テオフィリン測定装置を含め、いくつかの小型自動検査装置を使っていますが随分役立っています。

つい先週のことですが、2歳の患者さんが、一度吐いて熱が出たということで来院してきたので、採血して測ってみると白血球が33900/ μ l、CRPが7.6mg/dl。さらに、翌日にはCRPが10mg/dlを越えていました。結局は肺炎球菌性肺炎で、朝晩の抗生剤の点滴で治りましたが、院内ですぐに白血球とCRPを測ることができるので大変助かりました。大学であれば、夜間に患者の状態が悪くなった時にはいつでもみられますが、医師が1人しかいない開業医ではいつでも来なさいと言うのはなかなか大変です。早め早めにチェックし、4、5日しても解熱しなかったらもう1回調べてみます。そういう意味では、白血球とかCRPは大学にいるときよりはるかに測定する機会が増えています。

これは数カ月前のことですが、救急隊員が真っ青になるほどの重症喘息発作を起こした患者さんが運ばれてきたことがありました。この方はアスピリン喘息の既往があり、それを知らずに歯医者さんがアスピリンを処方され、意識障害をとまなうほどの発作を引き起こしたものです。当然、スラロイド薬の大量投与とともに、アミノプリンの点滴静注を行い、何度もテオフィリンの濃度を測りながら治療しました。いずれにしても、テオフィリンのクリアランスには個人差があり、投与量と血中濃度が比例しない人もいますので測定は大事です。

もう一つは検査結果の信頼性の確認です。大学にいたころ、外注した検査データをもとに学会で発表したことはありませんでした。必ず自分で測ったデータを使いました。というのは、時々とんでもない数字が出てくる場合があり、それをどう吟味するのかというのが重要です。自分でおかしいと思ったものは自分で測定する。そういう姿勢がサイエンスをやる者の基本ではないかと思っています。

検査装置機器メーカーへのご要望やアドバイスをお願いします

当たり前のことですが、まず、測定データが正しく再現性があることです。さらに全血で測定できるなど、検体の前処理を含めてできる限り操作を簡略化し、突発的なトラブルにもすばやくキッチリと対応していただきたい。また、開業医は狭いスペースを使わざるをえない場合が多く、温度・湿度管理も難しいことが多いのです。そういった点で省スペース、機器の自動温度調整が図られているというのは嬉しいですね。それから、忘れてならないのが試薬です。試薬の有効期限はランニングコストに直結します。

私は、医療というのは結局ヒューマン対ヒューマンだと思っています。なんとか助けてほしいとやってくる患者さんに対して、できる限り真面目にこたえてあげたい。そして、その患者さんのことをより多く知ろうとします。検査装置はその1つの手段として私たちの手助けをしてくれています。とくに私どもではテオフィリン測定装置は必需品ですね。自分がやりたい仕事にぜひとも必要な機械であるし、それによってうまくいった患者さんもたくさんいます。ホリバさんには、今後も我々の仕事のサポートをしてくれる優れた装置作りを期待しています。

ありがとうございました

自動テオフィリン測定装置 LT-110



喘息の治療に使用される薬剤にテオフィリンがあります。患者にテオフィリンを継続投与し、その血中濃度を一定に維持すれば、喘息発作を抑えることができます。

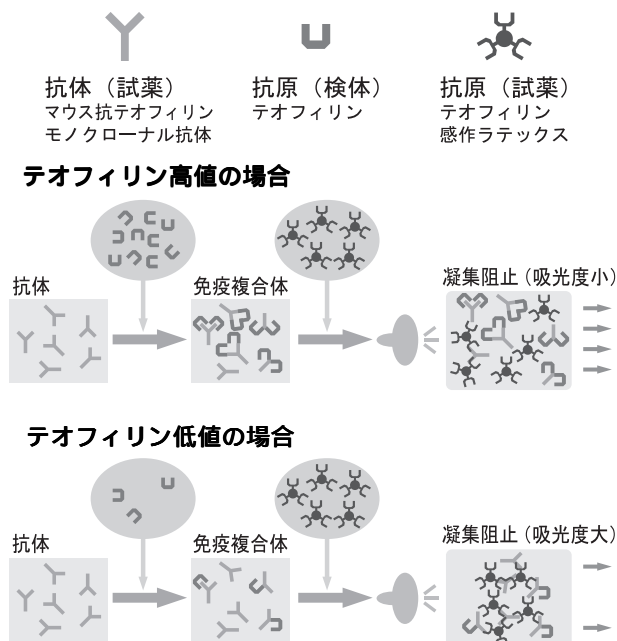
LT-110は、このテオフィリン濃度を、安全性はもとより、手軽に迅速かつ正確に測定できる装置です。

喘息の治療に使われるテオフィリンの代謝速度には個人差があり、実際に血中濃度をモニタリングし、個人ごとに最適量を決めて処方することが求められています。LT-110なら、患者一人ひとりの体質に合わせて薬の処方を決める医療、いわゆるテーラーメイド医療に貢献します。

LT-110は、手軽で操作も簡単、しかも精度の高さが特長。大規模病院における大型機のバックアップ用をはじめ、喘息専門開業医、呼吸器外来やアレルギー外来での使用に最適だといえます。

測定原理：ラテックス凝集阻止法

検体をマウス抗テオフィリンモノクローナル抗体と反応させると抗体とテオフィリンが反応し、免疫複合体を形成。この免疫複合体にテオフィリン感作ラテックスを反応させると、感作ラテックスと検体中のテオフィリンが競合的に結合するため、テオフィリン濃度に比例してラテックス凝集反応が阻害されます。この凝集反応過程の濁度変化をもとに検体中のテオフィリン濃度を計測します。



特長

- 約9分の迅速測定を実現。その場で結果が得られ、迅速な診断と的確な処置を助けます。
- 全血、血漿、血清、いずれも前処理なしで測定できます。
- 測定キーを押すだけの簡単操作。さらに、専用試薬を用いるので試薬調合も不要で、どこでもだれでも簡単に扱え、緊急時にも役立ちます。
- 結果は見やすい大型液晶画面に表示。
- 原理は、精度、特異性に優れたラテックス凝集阻止法を採用。わずか4μLの血液から高精度な測定が可能で、大型の汎用装置と同等の精度を実現しています。
- 底面積289×410mmのコンパクトボディに、試薬、廃液ボトル、プリンタを内蔵。わずかな置き場所に対応します。
- 最新100検体のデータを記憶できます。
- アラーム機能が充実。各種センサが装置の状態を常にチェックしており、エラーメッセージでトラブルを未然に防ぎます。

主な仕様

測定項目	テオフィリン
測定対象	全血、血清、血漿
検体吸引量	4μL
測定範囲	1.0 ~ 30.0μg/mL
再現性	CV5 %以内(10.0μg/mL)
寸法 (mm)	289(W) × 415(H) × 410(D)
質量	約18kg
消費電力	100VA以下

Part 2

イギリス ノースウェールズ癌治療センター
の場合

Dr. David Gozzard

Consultant Hematologist at the
North Wales Cancer Treatment
Center (NWCTC), England

Specialties include Hematology
and Laboratory and Medical
Computer Systems

ノースウェールズ癌治療センターのご紹介をお願いします

当センターは、2000年6月に開設されノースウェールズ全地域の患者さんの診察を行っています。それまでは、この地域における放射線による癌の治療は、マンチェスターのクリスティー病院とウィラルのクラッターブリッジ病院が行っていました。そこで、我々は12年も前から自前のセンターが持てるように努力を続け、やっと実現しました。

現在、当センターの放射線科には線形加速器が2台、通常電圧の加速器が1台あります。入院ベッドは、病棟に20床、外来用短期専用ベッドが16床、そして一日中診察に追われている外来患者診察室があります。

センターには5人の放射線専門医と、わたしを含めた2名の血液学の専門医が配属されています。この他に、看護員、レントゲン技師およびサポートスタッフとで専門家チームを構成して、医療スタッフと密に連携を取り合っています。

月平均600件の外来、さらに、毎年2000件の新しい症例に対応していますのできわめて忙しく働いています。

血液検査装置はどこに置いておられますか？

当センターにはホリバグループのひとつであるABX社製の自動血球計数CRP測定装置MICROS CRPが2台導入されており、それらを我々自身が使っています。1台は短期入院の患者さんの部屋に置いており、最近購入した2台目の装置は外来診察室に置いています。

この装置は、当センターが開設した当日からずっと同じ場所で順調に稼働しています。実は、当初ちょっとした事件がありました。開設初日、中央検査室にサンプルを送り込む気送管にトラブルが発生しましたが、みんなで対応しなんとか間に合いました。これは、我々が病棟で3ヶ月間この装置を使っていた経験を持ち合わせていましたから、みんな落ち着いて対応できました。本当のところは、初日から使えたので、ほっと胸をなで下ろしたと言うのが本音ですけどね(笑)。

MICROS CRP導入の目的を教えてください

まず第一は、化学療法を施してもよいか否かの臨床的な判断です。血液の検査結果によって、患者さんの骨髄が薬物の副作用に対応できるかどうかを決めます。

二番目は、患者さんがそのまま帰宅できるのか、あるいはひょっとして感染症にかかっていないか、入院が必要になるのかなどの判断です。CRPの検査によってそうした判断が可能になります。

また、CRPの測定は、わたしが臨床的に正しい診断を下す際に、専門医としてのわたしの判断に自信を持たせてくれます。つまり、CRP値が上昇している場合には、患者さんの体調が悪く、精密検査のために入院を考えなければならないこ

とがわかります。逆に、CRPの働きによって濃度が正常になった患者さんは退院させてあげることできます。また、ベッドの使用状況の管理や、患者さんが利用できるベッドを確保することもできます。

導入する前はどのような状況でしたか？

本装置を導入する前は、血液サンプルを検査するためにはいちいち中央検査室に持っていかねばなりません。検査には約2時間かかりますから、この間、患者さんたちは診察室でじっと待っていなければなりません。ご想像いただけるように、関係者全員が検査結果の戻ってくるのをひたすら待ち続けるのですから、当然、非常にストレスを受けてしまいます。もちろん、当の検査室自体も困っていました。というのは、検査作業をしている間ずっと、医局から検査結果の催促の電話がかかり続けていましたから。

外来の患者さんは、センターの検査システムがどのようになっているのを知ると、早い目に予約を取り、採血してもらい結果を待つことになります。以前は、診察の予約を入れている患者さんの30人中20人は、早く採血してもらえるように朝の9時にやっこられました。もちろん、患者さんは採血技師が仕事を始めるのを待たなければならぬのですが。

さらに、診察を担当する医師にとっても気の重い日々でした。というのは、診察室に次の患者さんに入ってもらおうとドアを開けると、順番待ちの患者さんがずらっと並んでいるのが見えます。患者さんたちは、次こそは自分の番ではないかと期待しながら待ちかまえておられますから。

導入後はどのように変わりましたか？

我々のすべての業務に大変役立っています。

まず、早朝の締め切りに間に合うようになりました。たとえば、病棟では患者さんの採血を朝一番に実施すると、朝9時に始まる病棟回診に間に合うように検査結果が戻ってきます。また、リバプールに血液生成物の注文を、朝9時半の締め切りに間に合わせなければならないという問題もなくなりました。

外来では化学療法を受けにくる患者さんを診察していますが、患者さんに中央検査室から検査結果が戻ってくるのを待ってもらう必要はありません。患者さんの治療を進めてよいかどうかもすぐにわかります。また、投薬の順番もうまくつながるようになりました。このように、治療現場でMICROS CRP分析器を導入したことにより、病院内のすべての流れが非常にスムーズになりました。

なかでも最も根本的な変化が見られたのは外来患者さんです。一日に診察する患者さんの数は今も同じですが、すべての点で以前よりはるかにうまくコントロールされており、一度に待っていただく患者さんの数はわずか2、3人になっています。

患者さんは来院すると、まず採血します。それから、患者さんの前で採血専門技師がMICROS CRPにサンプルを注入すると、ただちに検査結果がプリントアウトされます。長い間病院に通っている患者さんたちにとっては、この大きな変化は信じられないようです。

病院のスタッフたちは、仕事上のストレスが解消できたと大変喜んでいます。医師や看護婦たちは、毎日この分析器検査装置を使い、また日常的にメンテナンスを行っていますが、実に単純な操作ですみます。実は、先日も我々のミスから1週間分の試薬を使い果たしてしまったのです。それで、仕方なく古い検査装置に逆戻りしたのですが、それはもう、みんな苛立ってしまいました。

今後の期待とアドバイスをお願いします

実は、導入当初はこの装置の信頼性に疑問を持つ人もいました。この人は、病院内の別の部署でよく似た検査装置を使っていたことがあり、その時にあまり良くない経験をされたようです。正確な結果を得ることは検査プロセス全体の質にかかってきます。

我々が検査装置を評価する際のキーポイントは、UK NEQAS (United Kingdom National External Quality System : イギリス国家外部精度管理機関) が提供する標準サンプルを使って診察室の検査装置で測定し、その値が検査室と同じになるかどうかです。検査室からは精度管理用のサンプルを送ってきますが、代わりに我々の方からは鏡検が必要なサンプルを検査室に送ります。検査室のスタッフは、MICROS CRPから得られた結果に我々が満足すると診察室でのストレスが解消され、結果的に彼らもまた恩恵にあずかれることに気付いたようです。なぜなら、我々からの催促の電話はもう受けなくていいからです。

このように、MICROS CRPは、検査室を患者さんのすぐそばに運び、分析検査の待ち時間をなくすなど、診察室を静かにがらりと変えてくれました。最近、治療の質を顕著に改善したことにより、MICROS CRPが癌治療臨床理事会の推奨項目として選ばれました。

ありがとうございました

自動血球計数 CRP 測定装置 LC-175CRP

炎症疾患，感染症など，緊急性の高い検査や，経過観察の際に有効な指標となるのが，白血球数とC反応性たんぱく（CRP）の測定結果です。LC-175CRP は，血球計数，白血球3分類とCRP定量測定的全19項目を，同時にしかも迅速に測定できる自動血球計数CRP測定装置です。



炎症疾患，感染症の早期診断・経過観察に有効な指標である白血球数とCRPの測定は，従来別々の装置で行って来ました。LC-175CRP は，血球計数用の1容器（EDTA入り）だけでこれら両方の測定を可能（世界初）にしました。測定項目は，CRP定量測定と血球計数の基本8項目と白血球3分類になっています。

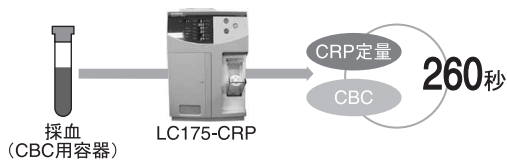
主な特長は，検体の前処理が不要で，緊急時にも対応できること。またサンプルホルダを内蔵しており，サンプル吸引ミスの追放に貢献。さらに，検体吸引量はわずか18μLを実現しており，採血量の確保が難しい小児にも最適なこと。動作音は小さく抑えられ，試薬を内蔵するのでコンパクトに設計されており，置き場所を選びません。

これらの特長をもつLC-175CRPは，時間短縮，コスト低減はもちろん，廃棄物削減まで可能にしており，初期診断用として，特に中小医療機関で威力を発揮します。

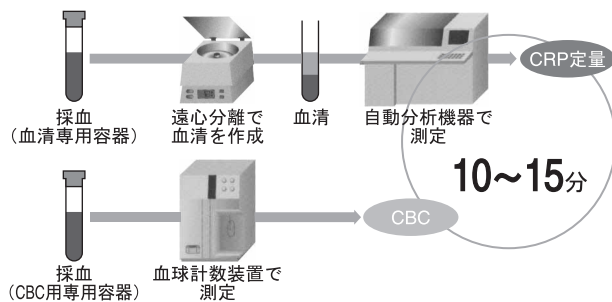
特長

1. 検体の遠心分離や希釈，温度調節などこれまで行われていた前処理が不要で，緊急時に最適。
2. 各種検体容器に対応するサンプルホルダを採用し，サンプル吸引ミスを追放。
3. 血液のついたサンプルノズルを自動洗浄。
4. 空圧源に独自技術のエアシリンダーを採用し，静音と安定した圧力供給を両立。診察室内，ベッドサイドなど設置場所が大きく広がります。
5. コンパクトボディに希釈液を除く5種類の試薬を内蔵。設置場所を選びません。
6. 吸引量，全血18μLという微量サンプルで検査が可能のため，耳たぶなどからの微量の採血でも検査でき，小児科など，幼児の検査にも最適。
7. 最新50検体分のデータを記憶（オプション）。
8. QCモードで，30回分のコントロール血液の測定結果を自動的に記憶（オプション）。

LC-175CRP



従来機器



主な仕様

測定モード	CBCモード（血算項目のみ） CBC + CRPモード（血算項目 + CRP項目） QC（CBC）モード（精度管理用） QC（CRP）モード（精度管理用）
測定項目	WBC, LYM%, LYM#, MON%, MON#, GRA%, GRA#, CRP, RBC, Hgb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, PDW, PCT, MPV, 白血球3分類粒度分布図, 赤血球粒度分布図, 血小板粒度分布図
測定原理	WBC, RBC, Hct : 電気抵抗法 Hgb : シアンメトヘモグロビン法 CRP : ラテックス免疫比濁法 rate 法
検体量	CBCモード 10μL CBC+CRPモード 18μL QC（CBC）モード 10μL QC（CRP）モード 18μL
測定時間	CBCモード 75秒 CBC+CRPモード 260秒 QC（CBC）モード 75秒 QC（CRP）モード 260秒

自動血球計数装置 PENTRA シリーズ

The Automated Hematology Analyzer PENTRA Series

杉山庸子



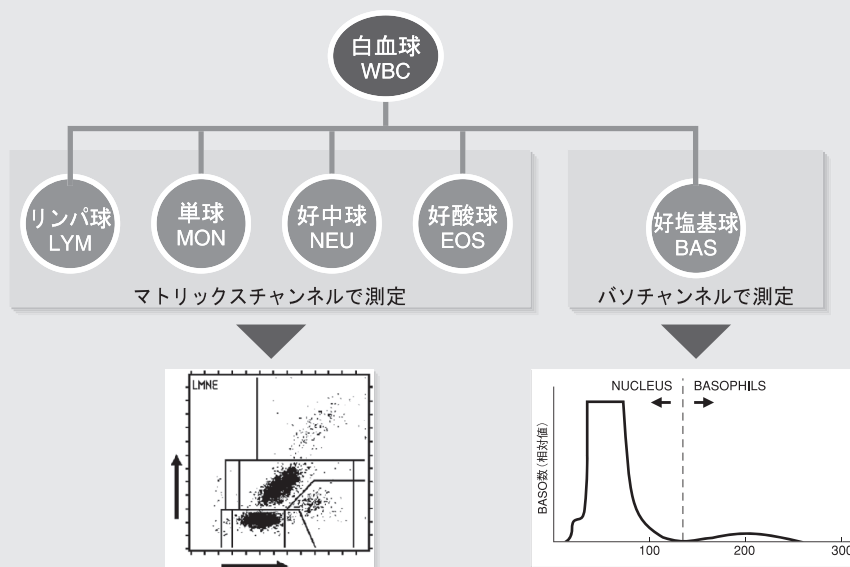
PENTRA60 <LC-5000>



PENTRA120 <LC-140>



PENTRA120RETIC <LC-141>



PENTRAシリーズを支える ホリバのキーテクノロジー

1. DHSS™
フローセル内で細胞の容積と内容を測定するための電気抵抗法と吸光度測定を組み合わせたホリバの技術
2. MDSS™
各測定に必要な最少限の検体だけを吸引し、最少の検体量でも正確な測定を可能にしたホリバの技術
3. 染色技術
正確で明瞭な白血球分類と優れた経時安定性を可能にしたホリバの技術

要旨

血液検査は最も基本的な臨床検査項目としてますます重要となっている。堀場製作所は、「必要な検査を、必要なときに、精度良く、短時間に、簡便に」をコンセプトに各種の血液検査装置を開発し、市場に提供している。自動血球計数装置 PENTRA シリーズは、白血球 5 分類から網赤血球の計測まで、用途に合わせて機種を選択する小型で高精度な血液分析装置である。本稿では、これらの装置の中核をなす DHSS™ や MDSS™ などの特長的な分析・サンプリング技術を紹介する。

Abstract

Blood analysis is growing increasingly important as one of the most fundamental types of clinical testing. Based on the key concept of providing “Quick, easy and precise testing, when and where needed,” Horiba has been developing and marketing a variety of hematology analyzers. The PENTRA Series of automated hematology analyzers is a series of compact, high-precision blood analyzers for a variety of applications ranging from leucocyte 5-part differential analysis to reticulocyte analysis. In this paper, we provide an introduction to the special analytical and sampling technologies of these devices, such as the DHSS™ (Double Hydrodynamic Sequential System) and MDSS™ (Multi Distribution Sampling System) that form the core of the devices.

1 はじめに

小型の血液分析装置PENTRAシリーズは、最少量の検体で、白血球5分類まで各種の血液検査をスピーディーに行うことができる。診断に有効な検査結果をその場で得られるため、診療の迅速化に役立つことが期待される。さらに、夜間や緊急用、またバックアップ用としても幅広く使用されている。

PENTRAシリーズには、用途に応じて最適の機種を選択できるように、次のような機種が用意されている。

- 1)白血球5分類付き自動血球計数装置としては世界最小の PENTRA60 <LC-5000> (図1a)
- 2)オートサンプラー付きのPENTRA120 <LC-140>(図1b)
- 3)白血球5分類に加え、網赤血球12項目の測定までが可能なPENTRA120RETIC <LC-141>(図1c)



a) PENTRA60 <LC-5000>



b) PENTRA120 <LC-140>



c) PENTRA120RETIC <LC-141>

図1 自動血球計数装置PENTRAシリーズ

本シリーズでは、白血球分類にDHSS™(Double Hydrodynamic Sequential System)や、微量検体測定のためのMDSS™(Multi Distribution Sampling System)など当社独自の技術を採用しており、正確で信頼性の高い臨床検査を実現した。また、白血球の分類に染色技術を採用しているため、細胞を機能別に染色でき、採血後の経時安定性にも優れている。さらにPENTRA60 <LC-5000>は、溶血剤としてシアンフリー試薬も選択可能である。

2 測定原理，測定技術

PENTRAシリーズでは測定対象に応じた最適の測定原理，測定技術を採用している。

- 1)白血球数，赤血球数，血小板数の測定：電気抵抗法
- 2)ヘモグロビンの濃度測定：シアンメトヘモグロビン法および界面活性剤ヘモグロビン法
- 3)白血球分類：電気抵抗法と吸光度測定を組み合わせたDHSS™技術
- 4)網赤血球の測定：電気抵抗法+レーザ蛍光発光法

2.1 電気抵抗法

白血球数，赤血球数，血小板数は，血液細胞を等張性希釈液に懸濁させ，細胞がアパーチャを通過するとき生じる電気抵抗のパルスの形状から血球を分別し，パルス数からそれぞれの血球の数を計測する(図2)。

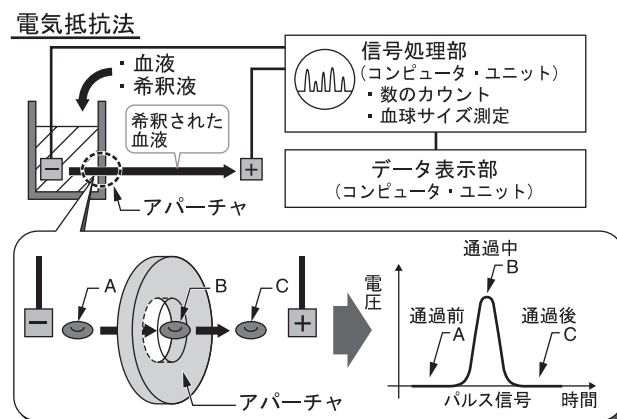
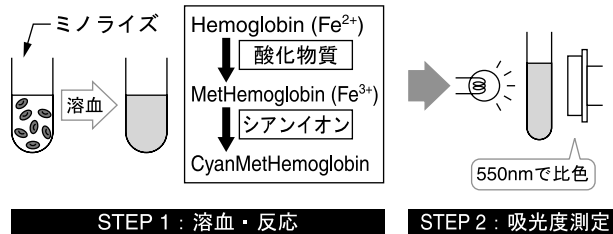


図2 白血球数，赤血球数，血小板数の測定原理 (電気抵抗法)

2.2 シアンメトヘモグロビン法と界面活性剤ヘモグロビン法

(1) シアンメトヘモグロビン法

ヘモグロビンの濃度は、血液に溶血剤を添加し、溶出したヘモグロビンに溶血剤中のシアンイオンを結合させ、生成したシアンメトヘモグロビンの量を吸光度 (550nm) から求める (図3)。



STEP 1: 溶血・反応

STEP 2: 吸光度測定

図3 ヘモグロビン濃度の測定原理 (シアンメトヘモグロビン法)

(2) 界面活性剤ヘモグロビン法

PENTRA60 < LC-5000 > では、溶血剤の選択によってシアンメトヘモグロビン法と界面活性剤ヘモグロビン法の2通りの測定方法が選択可能である。

界面活性剤ヘモグロビン法を選択した場合、血液に溶血剤を添加し、ヘモグロビンを溶出させ、界面活性剤によって立体構造を変化させ、550nmの波長での吸光度から、ヘモグロビンの濃度を求める。

2.3 DHSS™ 技術

DHSS™ 技術はフローセル内で細胞の大きさと内容を測定するための電気抵抗法と吸光度測定を組み合わせたホリバ独自の技術である。

まず、脂質染色液であるクロラゾールブラックEを含んだ当社独自の染色試薬で検体を処理すると、検体中の赤血球が溶血し、同時に、各細胞はその機能に応じて脂質染色される。前処理された検体はフローサイトメータに運ばれ、電気抵抗測定部によって細胞の容積が、光学的測定部によって細胞の内部構造が測定される。電気抵抗による容積測定と光学的測定との間に200マイクロ秒の時間差を与えることで、気泡や静電気などに起因する測定誤差を除くことができる。

このようにして得られた各細胞の容積と吸光度の情報を2次元のマトリクス (LMNEマトリクス) にプロットし、白血球の分類を行う (図4)。なお、好塩基球は、専用のチャネルで電気抵抗法によって測定される。

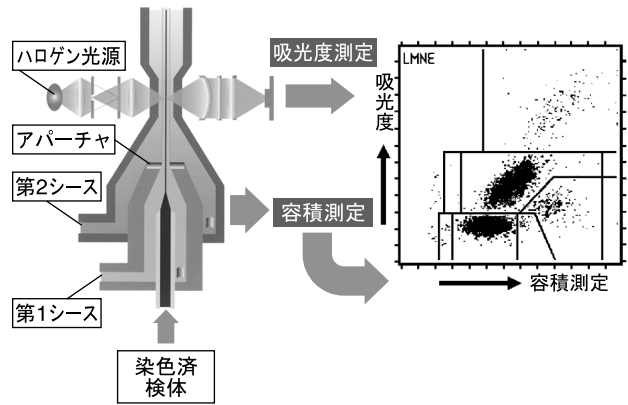


図4 白血球の分類方法 (DHSS™ 技術)

2.4 レーザ蛍光発光法

LC-141での網赤血球測定は、電気抵抗による容積測定と、フローサイトメトリーによる蛍光強度の測定の組み合わせで行う。まず、蛍光核酸染色試薬であるチアゾールオレンジを用いて網赤血球内のRNAを特異的に染色し、次に検体をフローサイトメータに送る。フローサイトメータ内でアルゴンイオンレーザー (488nm) の照射を受けて発生した蛍光 (530nm) の強度から、網赤血球の数と成熟度を測定する。またその容積は電気抵抗法を用いて測定する。このようにして得られた各細胞の容積と蛍光強度から、網赤血球の成熟度と容積、個数を測定する (図5)。

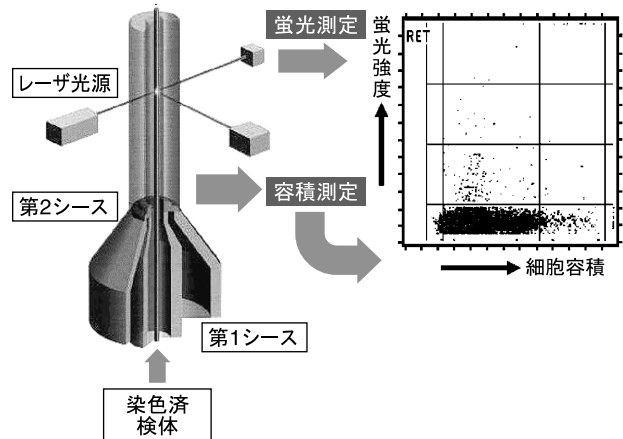


図5 フローサイトメータ部での網赤血球の測定

3 微量サンプリング技術 MDSS™

PENTRA60 < LC-5000 > では、MDSS™ という当社独自の技術を用いることで、各測定に必要な最少限の検体だけを吸引し、最少の検体量でも正確な測定を可能にした (図6)。



図6 PENTRA60 < LC-5000 > のサンプル吸引量と用途

吸引された検体は、各測定系に対応する専用のチャンパーに分注され、必要な希釈倍率に希釈され、測定に用いられる。それぞれのチャンパーに分注された検体は、各チャンパー内の円周に沿って流れている試薬の中に投入される (図7)。試薬をチャンパー内の円周に沿って流すことで、試薬と検体の完全な混合が可能になり、血液の粘性による誤測定を防ぐことができる。

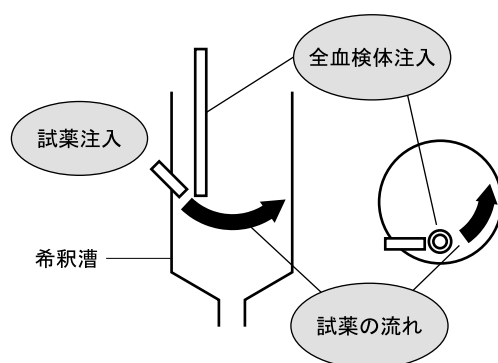


図7 PENTRA60 < LC-5000 > 測定チャンパー内の試薬の流れ

4 PENTRAシリーズの特長

(1) 簡単な操作 (日本語対応)

PENTRA60 < LC-5000 > , PENTRA120 < LC-140 > , PENTRA120 RETIC < LC-141 > とともに操作はディスプレイを見ながら行う対話方式であり、誰にでも簡単に測定が行える。とくに、PENTRA60 < LC-5000 > は日本語表記なので、より簡単に操作が可能である。

(2) 信頼性の高い染色技術

PENTRAシリーズでは、白血球分類に特異性の高い脂質染色を採用しており、細胞を機能面から測定できる。また細胞内の脂質分布は長時間安定であることから採血後の経時安定性にも優れている。

(3) 高速測定

PENTRAシリーズでは、白血球分類の結果を1分以内に得られる。即時に結果が得られるので、すばやく、的確な処置が取れる。とくに網赤血球の測定は従来のフローサイトメータでの方法と比較し、全血のまま前処理なしで高速測定できる。

(4) オートサンプラー

PENTRA120 < LC-140 > , PENTRA120 RETIC < LC-141 > は1つのラックに10本の採血管をセットできるラック式のオートサンプラーを採用している。最大15段まで搭載でき、最大150検体をフルオートで処理できる。そして、ラックごとに360度回転させる転倒混和を行い、理想的な攪拌が可能である。

また、バーコードによる検体管理により完全なランダムアクセスも可能である。さらに、オートサンプラーによる自動測定中でも、1検体だけの割り込みが可能なので、緊急の測定にも対応可能である。

(5) 自動再検機能

異常な検体が見つかった場合や測定系に問題が発生した場合にはメッセージを表示し、自動的に再検査を行う。もちろん、再検査を行う条件は任意に設定が可能である。

(6) 微量検体測定

PENTRA60 < LC-5000 > では、MDSS™ 技術の採用により白血球の分類が全血わずか53 μ Lで行える。CBCのみならず30 μ Lで行える。小児や老人など十分な血液が得られにくい患者の検体でも全血で測定が可能である。また、少ない検体量で測定できるため、残った検体を鏡検など、他の検査にも使用することが可能である。

(7) シアンフリー溶血試薬の採用

PENTRA60 < LC-5000 > では、溶血剤としてシアンメトヘモグロビン法を用いた試薬とシアンフリー試薬とを選択可能である。

表 1 に PENTRA シリーズの主な測定項目を示す。

WBC :白血球数	RBC :赤血球数	PLT :血小板数
LYM%#:リンパ球	Hgb :ヘモグロビン量	MPV :平均血小板容積
MON%#:単球	Hct :ヘマトクリット値	PCT:血小板クリット値
NEU%#:好中球	MCV:平均赤血球容積	PDW:血小板粒度分布幅
EOS%#:好酸球	MCH:平均赤血球 ヘモグロビン量	
BAS%#:好塩基球	MCHC:平均赤血球 ヘモグロビン濃度	
LIC%#:大型幼若細胞	RDW:赤血球粒度 分布幅	
ALY%#:異形リンパ球		

a) PENTRA60 < LC-5000 > , PENTRA120 < LC-140 > ,
PENTRA120RETIC < LC-141 > の共通測定項目

RET%#:網赤血球	IMM%:幼若網赤血球	
RetL%-r	RetM%-r	RetH%-r
CRC :補正網赤血球	MRV:平均網赤血球容積	MFI :平均蛍光強度

b) PENTRA120RETIC < LC-141 > のみの項目

表 1 PENTRA シリーズの主な仕様



杉山庸子

Yoko SUGIYAMA

医用システム営業部

5 おわりに

近年、臨床検査室では検査のシステム化が進み、検査機器を搬送ラインで接続したトータルシステムの構築が盛んであるが、一方で、患者のベッドサイド、診療現場などでの即時検査も重視され始めている。ホリバでは「必要な検査を、必要なときに、精度良く、短時間に、簡便に」をコンセプトに臨床検査用測定装置の開発、提供を行っている。

PENTRA シリーズは小型ながら白血球5分類、さらに網赤血球の測定まで可能で、即時検査に貢献できる製品として市場に投入した製品であり、また、超微量検体での測定、静音動作など、医療従事者だけでなく、患者のQOLにも配慮している。今後、PENTRA シリーズが医療の現場に貢献できる場がさらに広がることを願っている。

北里大学東病院の臨床検査部における 自動血球計数装置 LC-5000(PENTRA60)の運用状況

The Status of LC-5000 (PENTRA60) Automated Hematology Analyzer Use in the
Clinical Testing Department of the Kitasato University Higashi Hospital

前田忠伸* , 柳原美智子* , 村上千香子*

* 北里大学東病院

血球計数機器は大小の施設に関わらず、診療に直結した形で導入されている。そして分析の対象となるのが血液といういわばナマモノの細胞であり、時間との戦いの中で精度の高い検査結果が迅速に報告されなければならない。そのことにより適切な診断と治療効果に寄与できるものと考えている。本稿では、北里大学東病院において、日勤帯の至急および夜間、休日帯で使用している堀場製作所の自動血球計数装置 LC-5000(PENTRA60)の運用および現況について述べる。

Automated Hematology Analyzers are being introduced into all types of medical facilities, regardless of size, as a device directly related to medical care. These devices analyze blood, raw cells as it were, so a Automated Hematology Analyzer must battle with time to quickly report highly precise test results. The ability to achieve this can contribute to accurate diagnoses and effective medical treatment. In this paper, we discuss the practical application and current status of the Horiba LC5000 (PENTRA60) Automated Hematology Analyzer, which is being used in emergency cases during daytime hours and for testing during nighttime and holiday hours at the Kitasato University Higashi Hospital.

1

はじめに

北里大学東病院は大学本病院より約600メートルに近接し、昭和61年4月に開院した消化器疾患治療センター、神経・運動器疾患治療センター、精神神経疾患治療センターの3センターを軸とする580床からなる大学病院である。当臨床検査部は、検体検査係として血液検査2名、免疫血清検査2名、輸血検査2名、一般検査2名、細菌検査2名、至急検査1名、検体受付1名の正職員8名、臨時職2名、パート職員2名の計12名、生理検査係に超音波検査4名、呼吸器検査2名、循環器検査3名、平衡聴覚検査1名、神経・筋検査1名、脳波検査4名で正職員13名、臨時職2名の計15名と治験センター出向の臨時職3名を含む総勢30名の人員となっている。

ところで、日常業務における血液検査は、普通検査と至急のフラッグが付いているものとに区別し、個別に検査が進められる。その中で、至急依頼の血算・白血球分類のものが堀場製作所の自動血球計数装置 LC-5000(PENTRA60)により測定されている。ホリバグループのひとつである ABX 社製の至急用血球計数機は2代目であり、先の機器を合わせると、堀場製作所とは早10年のお付き合いとなる。LCシリーズはコンパクトな中にも精度の高さを感じさせる上、「さすがフランスらしいデザイン」で収められ、フリーメンテナンスと簡単な操作性が売りで「機械に弱い人や慣れない人」でも扱える。とくに至急検査では、複雑なパラメータは必要とせず、操作のシンプル性や迅速性と精度が優先する機器でなければならないと考える。そこで、当検査部における日勤帯、夜間帯、休日での至急検査機器としての LC-5000 の運用を次に述べる。

2

検査システムと検査結果の報告

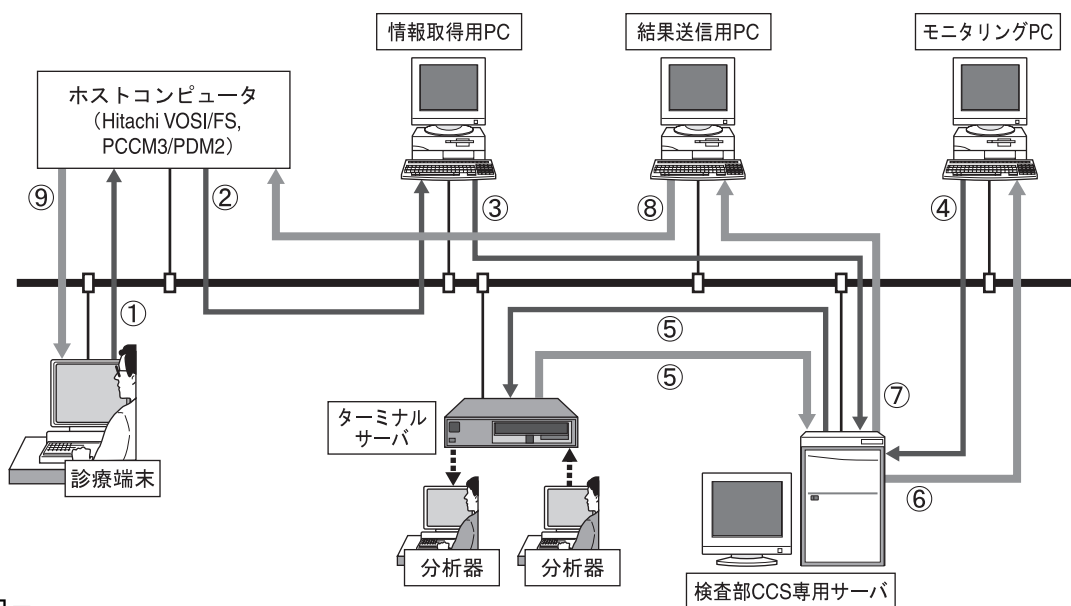
当院における検体検査CSSシステムの概要と構成は次の通りである(図1)。

至急フラッグが付与された検査結果は、PC端末において、転送処理を行うとホストコンピュータへの書き込み操作と同時にラベルプリンタより結果値が印字出力される。オンライン上ではいつ結果が出たのかわかりがたいところもあるが、印字出力することで結果を認識できる利点もある。

ところで夜間、休日時間帯に提出される検体はとくに状

態が芳しくない患者さんの検体であり、異常値を示すのが当たり前と思われる。そのため検査結果が即治療に反映されるものとして報告の際には十分な注意が必要と考える。データチェックは前回値を参考にし、再検査についても基準を設けて実施するのが望ましい。表1に当検査部のLC-5000での再検査基準を示す。

また、機器附属のグラフィックプリンタでマトリックスやヒストグラムを随時確認し、印字された数値に*マークや!マークが付与された場合は測定値の信頼性に欠けるため、再度確認が必要である。再検査された測定値には数値の後に/Tおよび/Rを付与する。



検査のフロー

医師からのオーダ情報・キャンセルの指示を「ホストコンピュータ(Hitachi VOS1/FS)」のキューファイルに格納する(ホストプログラム)。
 格納されたデータを「検査部CSS専用サーバ」に送信する(クライアントプログラム)。
 送信されたデータは『CSS用データベース』および『分析器通信用データベース』に加工される(クライアントプログラム)。
 検査部内の「モニタリングPC」から「検査部CSS専用サーバ」への指示により、『分析器通信用データベース』の検査依頼情報を「分析器」に送信する(クライアント/サーバプログラム【ソケット通信】)。
 「検査部CSS専用サーバ」とターミナルサーバ(Seiko NS-2230)間は、ソケット接続したRS232c-TCP/IPにより、依頼情報・結果情報を送/受信する(サーバプログラム【ソケット通信】)。

「モニタリングPC」は「分析器」との通信状態・異常値結果などを監視できる(クライアント/サーバプログラム【ソケット通信】)。
 「分析器」から報告された結果情報は、正常値内であれば検査技師の指示なしに「ホスト」に結果を送信するための「結果送信用PC」に送られる。一方、正常値を外れた結果は検査技師の送信指示により送られる(クライアント/サーバプログラム【ソケット通信】)。
 「結果送信用PC」は「検査部CSS専用サーバ」から送られてくる結果情報を「ホスト」に送信する(クライアント/サーバプログラム【ソケット通信】)。
 ホストにて結果情報が参照可能になる。

図1 北里大学東病院の検体検査CSSシステム

	初診時	前回値との比較時
WBC	2000 以下・15000 以上	著しい変動
Hgb	10.0 以下・18.0 以上	1.0 以上の変動
MCV	70.0 以下でPLTに/R付与	5.0 以上の変動
MCHC	30.0 以下・35.6 以上	30.0 以下・35.6 以上 (前回値に関係なく)
PLT	10.0 以下(表示値は100)	正常域からの変動(減少)

表1 LC-5000による再検査の判定基準

3

日常のメンテナンスと精度管理

メンテナンスは、機器が24時間稼働しているため、早朝に機器調整として自動洗浄後、シャットダウンとスタートアップを行う。自動洗浄は30検体ごとに行うように設定しているが、検体数から特殊洗浄を週2回実施している。

精度管理は内部精度管理として管理血球3種類用いて二重測定を毎日2回実施し、 \bar{X} -Rとして管理している。そしてキャリブレーション用としてLC-5000の表示値が添付さ

れたものを用いて確認している。また普通と至急と2種類の機器を使用しているため、機器間の相関を前日の患者検体6件を用いて相互に測定し、比較確認を行っている。

外部精度管理としては日本医師会、日本臨床衛生検査技師会、神奈川臨床衛生検査技師会の精度管理調査に参加し、評価を行っている。また各メーカーによる個別の精度管理調査にも参加している。

4

同時再現性と機種間の相関性

LC-5000で同一患者検体を連続10回測定し、同時再現性をみたところ、変動係数(CV)は、WBC・CV=1.85%、RBC・CV=1.03%、HGB・CV=0.81%、HCT・CV=1.03%、PLT・CV=3.72%と良好な値であった。日常患者検体115件について、Coulter社製の自動血球測定装置(STKS)でも測定し、両者の相関関係を図2に示す。

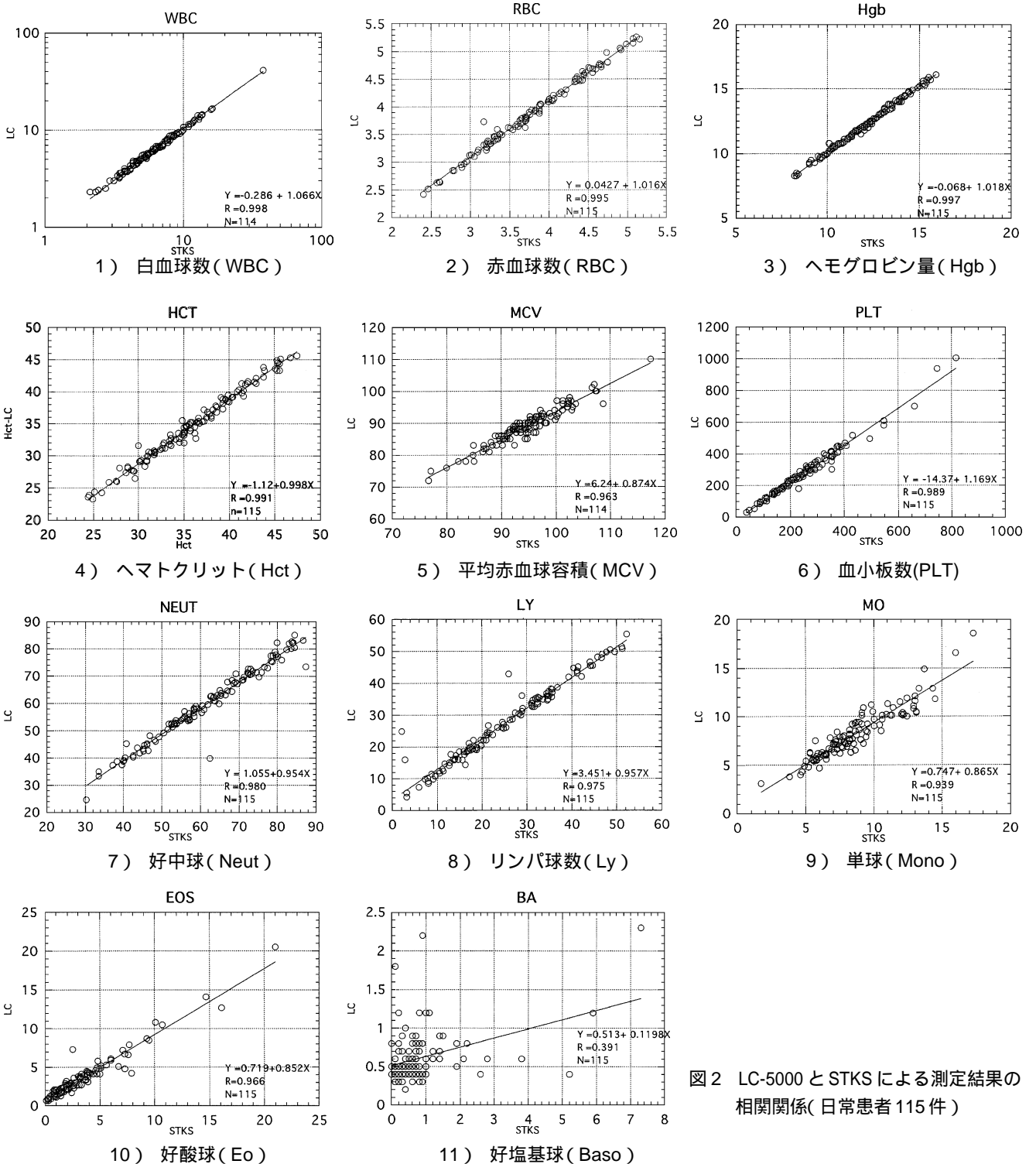


図2 LC-5000とSTKSによる測定結果の相関関係(日常患者115件)

5

日勤帯、休日および夜間時間帯の運用

機器の運用にあたっては、至急以外の外来を中心とした大量検体を処理するためにSTKSを使用し、OPE至急、外来至急、病棟至急として提出された100件を超える検体をLC-5000にて随時測定報告している。

日勤帯では、測定に携る技師が日替わりで担当し、受付(到着確認)測定・結果確認・結果報告を接続するパソコンを用いて行っている。

また休日および夜間帯においては、月にして2回程度の割合ではあるが、総勢30名の技師が交替で従事している。勤務体制は当直者1名が平日勤務から引き続き17:10～翌8:30の勤務し、10:00を持って勤務免除としている。日直者は8:30～17:10の勤務で1名の交替制の管理宿直体制となる。

なお、取り扱い検査項目については、血算一式、血液ガス、尿化学、輸血業務を並行して行い、LC-5000での検査件数は夜間帯で10件程度、日直時で30件程度となっている。

6

おわりに

臨床機器の使用にあたっては、機器の原理、血液学的知見を熟知し、メンテナンストレーニングを受けた技師が専属で行うのが最も適切である。

しかし日勤帯はともかく、休日や夜間帯においては大勢の技師がかかわり、日常業務とは異なった業務体制となる。ましてや中小規模の施設においては、業務の掛け持ちが当たり前であり、単純な作業の中にも多種多様のやり方が発生し、関わる人間多いほどマニュアル化されたシステムでの運用が必要となる。

そこで重要なことは複雑な操作で大掛かりな測定機器ではなく、第一に操作が簡便であること、第二に測定値においても信頼を得られる精度の高いものでなくてはならないということである。その点から言っても、LC-5000は、当検査部のような日勤帯の至急、夜間および休日帯での使用や比較的検体数の少ない施設での日常検査に充分耐えうる操作性や精度に優れた機器であると考ええる。



前田忠伸

Tadanobu MAEDA

北里大学東病院
臨床検査部

柳原美智子

Michiko YANAGIHARA

北里大学東病院
臨床検査部

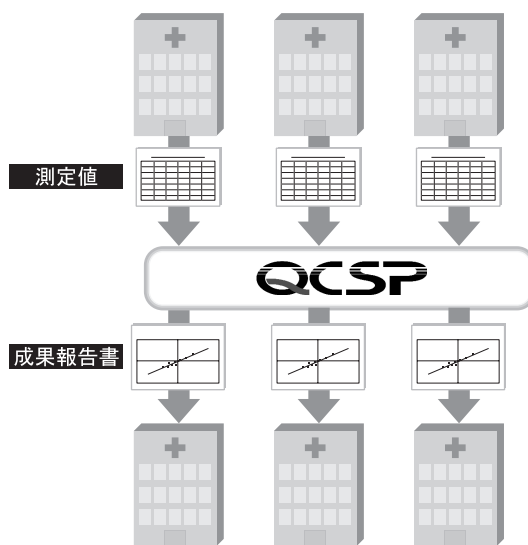
村上千香子

Chikako MURAKAMI

北里大学東病院
臨床検査部

外部精度管理プログラム (QCSP) における統計処理

臨床検査分野では、外部精度管理 EQC と呼ばれる品質活動が行われています。EQC は、いくつかの検査施設が同じ試料を同じ条件で測定し、測定結果を互いに比較することにより、検査結果の妥当性を確認し、施設間の互換性を高めるために実施されます。ホリバはお客様サービスの一つとして、当社の血球計数装置をお使いいただいているお客様に対して、外部精度管理プログラム (QCSP) を提供しています。ここでは、QCSP の中でも統計処理の中心となる反復切断法、標準偏差の短縮率補正、短縮率補正 / 反復抽出法について解説します。なお、QCSP の詳細は、本誌のバックナンバー Readout No.23 (2001 年 9 月発行) をご参照ください。



【QCSP】

QCSP は、ホリバの血球計数装置をお使いいただいている検査施設を対象とした精度管理サービスです (図1)。このサービスの目的は、当社の製品がお客様の施設で正しく稼働していることを確認し、施設間の関連データを提供することです。

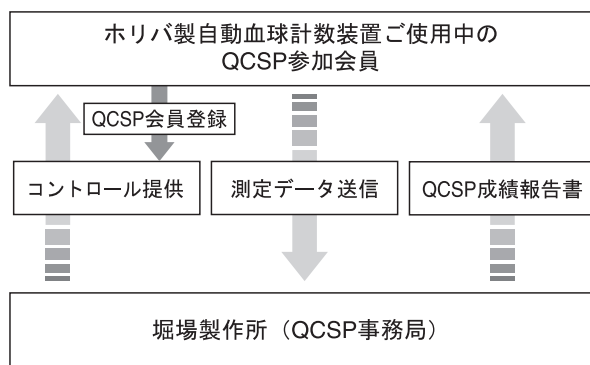


図1 QCSP の流れ

QCSP では、各施設から集められた測定データ (図2) に統計学的処理を施し、より客観的なデータに加工してそれぞれの施設に成績報告書 (図3) としてお返しします。これにより、施設間での自施設の位置付けが明確になり客観的な評価ができます。また、万一異常が発見された場合に、ホリバがすばやく対応できるのは当然です。

コントロール・データ記入用紙 (LC-140, LC-141, LC-5000用)

登録番号	2345		入カエリア									
施設名	堀場診療所											
機種	LC-141											
コントロールタイプ	LC-140											
コントロール用紙No.	01070											
測定日 平成13年8月10日												
コントロールレベル: LOW												
WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT	MPV	PCT	PDW	
3.8	3.04	8.4	16.1	53	27.6	52.0	9.0	157	4.5	0.071	6.8	
LYM%	MON%	NEU%	EOS%	BAS%	ALY%	LC%	LYM#	MON#	NEU#	EOS#	BAS#	ALY#
44.1	9.0	46.6	0.2	0.2	1.1	0.7	1.81	0.36	1.80	0.01	0.01	0.04
コントロールレベル: NORMAL												
WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT	MPV	PCT	PDW	
6.8	5.12	15.0	45.2	88	29.3	33.1	14.8	252	7.9	0.199	12.1	
LYM%	MON%	NEU%	EOS%	BAS%	ALY%	LC%	LYM#	MON#	NEU#	EOS#	BAS#	ALY#
26.2	5.2	68.1	0.3	0.2	1.5	1.0	0.37	4.61	0.02	0.02	0.10	

図2 データ入力の一例

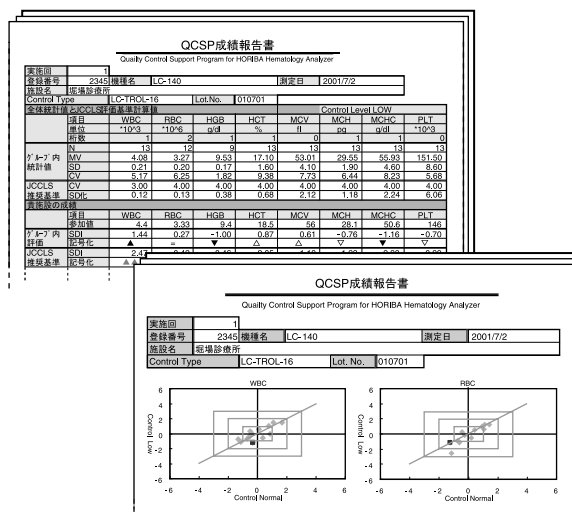


図3 成績報告書の一例

【反復切断法】

QCSPでは、「同じ試料を、同じ測定装置、同じ条件で測れば、得られるデータ群は正規分布するはずだ」との前提に立って統計処理を行っています。

正規分布をしているデータの評価には、通常、標準偏差指数(SDI)が用いられています。そして、i番目の施設のSDI_iは次式のように定義されます。

$$SDI_i = (X_i - MV) / SD$$

X_i : 第i番目の施設の応募値
 MV : 平均値
 SD : 標準偏差

従来 臨床検査の精度管理において実測データを統計処理するときには、反復切断法を使って極端な異状値を除外することによって検定精度を高めていました。まず、母集団全体を対象としてMVとSDを計算します。次に、中心値から一定の範囲($n(\text{Cutoff})SD$)を越えたデータを取り除いて、再度MVとSDを計算し直します。さらに、これらの処理をn回(切断回数)繰り返すことによって、精度を高めてやろうという統計処理方法です。

ところが、この計算方法は、 $n(\text{Cutoff})SD$ の値をいくらにするか、切断を何回繰り返すのか、どんどん小さくなるSDをどのように補償するかなどに関して明確な基準がなく、このために処理結果が客観性に欠ける点がありました。

そこでQCSPでは、次のような方法で従来の反復切断法がもつ欠点の解決を図りました。

【標準偏差の短縮率の補正】

反復切断法によって所定の範囲を越えるデータを除外して計算を繰り返していくと、見かけのSDが小さくなり、除外してはならないデータまで外してしまう危険が出てきます。

そこでQCSPでは、理想的な正規分布をする多数(1,000,000個)のデータ群を発生させ、小刻みに $n(\text{Cutoff})$ を変えながらSDを求め切断定数表(表1)を作成後、この表から $n(\text{Cutoff})$ での切断定数を求め、切断されたデータ群のSDをこの切断定数で割り、元の母集団のSDを推定する(短縮率補正)ようにしました。表1に示すように、短縮定数の逆数が臼井の推奨値^[1]と一致しています。

たとえばnを2.50とした場合には、切断後の観察可能な標準偏差(切断短縮率)は0.9546であることがわかります。

切断試行標準偏差	切断後の観察可能標準偏差	切断後の残率	観察可能標準偏差の逆数	臼井の推奨値 ^[1]
4.00	0.9995	0.9999		
3.50	0.9970	0.9995		
3.00	0.9866	0.9973	1.0136	1.01
2.90	0.9826	0.9963	1.0177	1.02
2.80	0.9775	0.9949	1.0230	1.02
2.70	0.9713	0.9931	1.0296	1.03
2.60	0.9637	0.9907	1.0376	1.04
2.50	0.9546	0.9876	1.0475	1.05
2.40	0.9438	0.9836	1.0595	1.06
2.30	0.9311	0.9786	1.0740	1.07
2.20	0.9162	0.9722	1.0914	1.09
2.10	0.8991	0.9643	1.1122	1.11
2.00	0.8796	0.9545	1.1368	1.14
1.96	0.8711	0.9500		
1.50	0.7427	0.8664		
1.00	0.5396	0.6827		

表1 切断短縮定数表(一部)

【短縮率補正 / 反復抽出法】

さらに、QCSPでは、異常値を切断(除却)するのではなく抽出し、偏差の計算は毎回すべての母集団から行います。これにより、繰り返しを重ねるたびにMVとSDが一定値に収束します。また、SDの初期設定値は大きくても小さくても関係ない点が本法の利点です。

短縮率補正と反復抽出によりデータが収束する様子を図4に示します。この例では、母集団を理想的な正規分布からなる3集団の混合(N=1000, MV=0, SD=1とN=100, MV=4, SD=0.5とN=100, MV=-5, SD=1)から主成分の群を選択し、1.96SDIというCutoffで切り続けたら、目的値にきわめて近い1.00というSDを得ました。

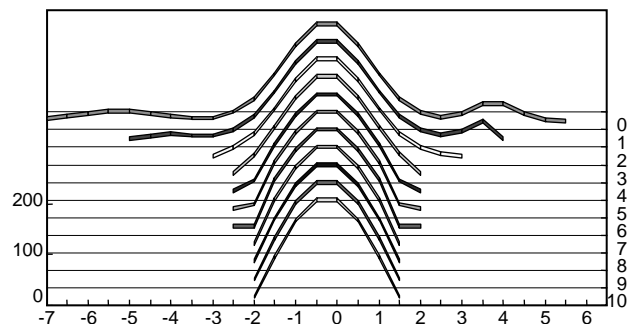


図4 データが収束する様子

参考文献

[1] 臼井敏明「正常値計算法：反復切断補正法における切断係数の選択」臨床病理, Vol.29, No.3, P.319-322 (1981)

むし歯治療の問題点と分析技術への期待

Analyzing Technology of Dental Caries

田上 順次

Junji TAGAMI, D.D.S., Ph.D.
東京医科歯科大学大学院 教授
う蝕制御学分野
歯学部附属歯科技工士学校長
歯学博士



むし歯予防とその治療法の開発改良は目覚ましく、多くの最先端技術が応用されている。予防可能な疾患であること、初期のむし歯は歯質が再石灰化して元に戻ることに、治療する必要のないむし歯があること、麻酔なしで無痛的に治療ができること、一回の治療で白い歯にすることが可能であることなど、そのイメージは大きく変わってきている。むし歯に関する情報が蓄積、整理され、先端技術の導入が進んだ結果である。しかしながら、さらに改善の余地が残されているのが、より正確なむし歯の診断法、診断基準の確立であり、分析的な手法の導入に期待が高まっている。

むし歯に関する研究では、古くから走査型電子顕微鏡や透過電子顕微鏡のほか、X線回折などの分析技術が導入されており、主としてエナメル質や象牙質の構造変化が検討されてきている。これによってむし歯による歯質の変化は理解されてきたが、臨床場においてむし歯を診断する時には、別の判断基準が必要になる。むし歯の診断には適切な基準がなく、WHOが提唱する方法はう窩（むし歯によりできた実質欠損）の有無を基準としており、これでは初期のむし歯に適切に対応することは難しい。探針により手指の感触で判断する方法も採用されているが、術者により診断が異なってしまうことも多い。

治療の際にはまた別の問題がある。エナメル質は脱灰により消失するが、象牙質のむし歯は、脱灰が進んでもコラーゲンが残るので軟化した歯質となる。このような場合に、どこまでを除去すべきかという問題が長く議論されている。判断のためには硬さと色程度しか歯科医には情報がない。除去すべき歯質を染色する方法も開発されているが、明確でない症例も多い。いずれも歯科医の経験に基づく技術に依存するものである。むし歯自体、変化に富むものであり、非常に進行の早いものもあれば、進行がほとんど停止してしまったむし歯もある。当然対策も異なるべきものである。残念ながら、膨大なむし歯に関する研究結果が活用されずに、むし歯の治療法は歯科医の経験やカンに支えられている部分が多い。その結果として、治療してみて初めて診断がついたとか、治療する必要のない歯を治療した、あるいは除去しなくてよい部分まで犠牲にしてしまったということが、かなり日常的に行われているかもしれない。

世界的な傾向としてむし歯治療におけるMinimal Intervention（最小限の外科的侵襲）の重要性が唱えられている。しかしながらその具体策として客観性のあるむし歯の診断法はいまだ提唱されていない。むし歯の診断、除去すべき病巣の診断に、分析技術が導入されれば、客観的な判断が可能となり、より生体に対する侵襲の少ないむし歯治療が可能となる。

「正確な診断に基づいた治療」,これこそが臨床の王道である。むし歯は酸による脱灰という明白な病態である。硬さや色の变化などはむし歯の間接的な指標であり,むし歯本来の指標ではない。歯質の酸性度や破壊の程度を分析できれば,これこそがまさにむし歯そのものの診断となる。

pHイメージ顕微鏡やX線分析顕微鏡の改良開発により,歯学研究への応用も活発になりつつある。これらの分析機器により,これまであいまいで,術者の経験やカンに頼っていたむし歯診断が,客観的に数値化されることになる。さらに期待が膨らむのは,こうした分析技術が臨床に応用できる可能性をもっていることである。むし歯の治療に使用される金属や高分子材料に関しても,分析技術は多くの情報をもたらしてくれる。口腔内は化学的な刺激や温度変化など苛酷な環境であり,材料が劣化して,変色,破折,腐蝕といったことが生じる。微量に溶出する金属イオンや分解産物,分子,元素など生体への為害性を考える上でも,きわめて重要な情報源となる。生体内組織や細胞内においても環境が変化し,さまざまな生命活動が活性化されたり,抑制されたりすることもわかってきている。技術革新が進めばこのような微細な領域での解析が可能になり,生命現象の解明や,新しい医学の展開につながることを期待される。

医学領域の進歩は診断技術の進歩によってもたらされたものが多い。悪性腫瘍の治療率が近年著しく向上したのは,早期発見,早期診断が可能になった結果だとも言われている。歯科医療の分野でも同様に,今後の分析技術の進歩と応用に対する期待が高まっている。

Analyzing Technology of Dental Caries

Many kinds of analyzing technology, such as SEM, TEM and X-ray analysis, have been applied for research on dental caries. Although valuable information regarding the caries has been obtained, the diagnosis of dental caries in the clinical situation is still conventional and empirical, which is supported by the experience of clinicians. Color, hardness and texture of the lesion are only the indicator of caries for the clinician. However, they are indirect indicators of caries. Chemical and structural tissue changes are considered to be the essential indicators of caries. New analyzing technology such as pH imaging microscopy and X-ray analytical microscopy is expected to provide an innovative change in the field of dental research and diagnosis of caries. The diagnosis of caries with these technologies is believed to be more objective and reliable than the conventional method, which enables us to apply minimal invasive caries treatment. Dental materials can also be appropriately evaluated with the analyzing technologies to detect the regeneration and elution of various substances.

むし歯研究におけるイメージング分析の活用方法

Research on Dental Caries using Imaging Analysis

北迫勇一*，田上順次*，平石典子*，奥田真実子*，二階堂 徹*

*東京医科歯科大学大学院

従来，むし歯の臨床診断は，主に視診，触診，透過X線診断など，術者の主観的な判断のもと行われてきたが，定量性や客観性の点で十分ではない。近年，イメージング機能を有するpH測定技術やX線分析技術が開発されており，より定量的かつ客観的なむし歯診断法や治療法の確立に寄与できるものと期待される。そこで，筆者らは，堀場製作所が開発した光走査型化学顕微鏡とX線分析顕微鏡を使って，(1)むし歯の進行度の定量的評価，(2)歯科用接着性修復材料の評価，(3)フッ素徐放性むし歯修復材料の評価など，歯科分野での可能性を検討し，良好な結果を得た。本稿では，これらの研究結果を報告し，今後の期待と課題を述べる。

Clinical diagnosis of dental caries has relied on the techniques such as visual examination, tactile examination, and transmissive X-ray diagnosis. These methods are neither quantitative nor objective because they are mainly based on the clinical experience of dentists. On the other hand, new kinds of pH or X-ray measurement technique having an imaging function is expected to develop more quantitative and objective clinical treatment of dental caries. The authors have investigated the potential for using a pH-imaging microscope and an X-ray analytical microscope developed by HORIBA for (1) quantitative evaluation of the degree of dental caries, (2) evaluation of adhesive properties of dental restorative materials, and (3) evaluation of fluoride-releasing materials on inhibitory effect for dental caries. In this article, we describe the results obtained in these evaluations and discuss the scope of the imaging technologies in dental research.

1

はじめに

近年，むし歯に対する歯科医のアプローチが大きく変わりつつある。その変化の1つとしてむし歯予防に対する意識の向上が挙げられる。この変化は，歯の健康が日常生活の質を維持し，高める上で重要な意味をもつことが認識され始めた結果であり，むし歯の診断と治療に重点がおかれてきた歯科医の役割も大きく変えるものである。

一方，むし歯の診断と治療についても，その手法に変化が生まれつつある。従来，むし歯の診断は，視診，触診，X線診断といった歯科医の主観に頼るところが大きかったが，近年，診断基準として定量的な指標を用いる試みが行われるようになってきた。加えて，むし歯の治療も，疑わ

しき部分をすべて削り取るという手法に対して，歯科用修復材料の進歩とともに，できる限り歯を残す治療法が提案され普及しつつある^[1]。

しかし，一方では，このような新しいアプローチの妥当性については，基礎的な歯科研究のレベルで十分に検証されていないのが現状である。この妥当性の検証を行うために，歯科研究に携わる著者らは，“科学的根拠をわかりやすく説明すること”そして，“より定量的な指標を示すこと”が重要であると考えている。そこで，著者らはこれら2つの要求を満たす研究ツールとして，堀場製作所で近年開発されたpHイメージング顕微鏡（光走査型化学顕微鏡）とX線分析顕微鏡を用いて，将来を先取りしたむし歯の予防，診断，治療に寄与する研究を行っている^[2-5]。

2

光走査型化学顕微鏡およびX線分析顕微鏡によるむし歯の進行度の定量的評価

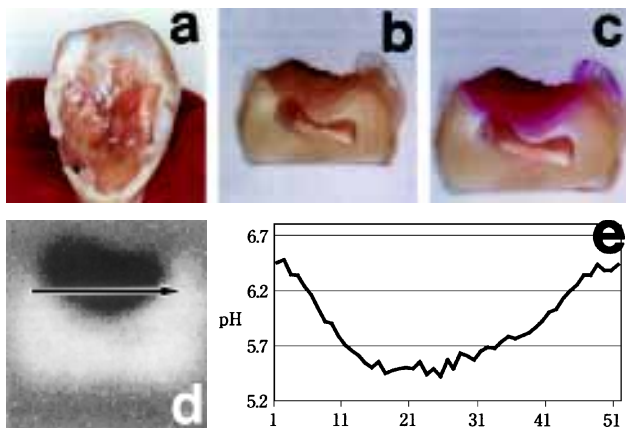
光走査型化学顕微鏡およびX線分析顕微鏡は、試料を真空や乾燥状態に晒すことなく、前者はサンプル表面のpH分布を、後者はサンプルを透過するX線量とサンプル内の元素分布を、それぞれ可視化できる装置である^[6-8]。本研究では、むし歯を有するヒト新鮮抜去大白歯について、2つの分析装置を活用しむし歯の進行度の定量的評価を試みた。

2.1 pH イメージング分析

まず、光走査型化学顕微鏡を用いた分析では、歯冠部に中等度から高度のむし歯を有するヒト新鮮抜去大白歯 20本を試料とし、患者年齢、むし歯発生部位、進行形態および臨床症状を参考に、急性むし歯と慢性むし歯に分類した。次に、これらのむし歯を嚙む方向にスライスし、光走査型化学顕微鏡のセンサ上に形成した薄い寒天ゲルフィルムの上に測定面を接触させ、ゲルフィルムに形成されるpHを二次元測定して、サンプル表面のpH分布を可視化した。さらに、pHイメージング分析を行ったむし歯罹患領域を、むし歯検知液を用いて染め出し、pH画像と肉眼による観察結果とを比較検討した。

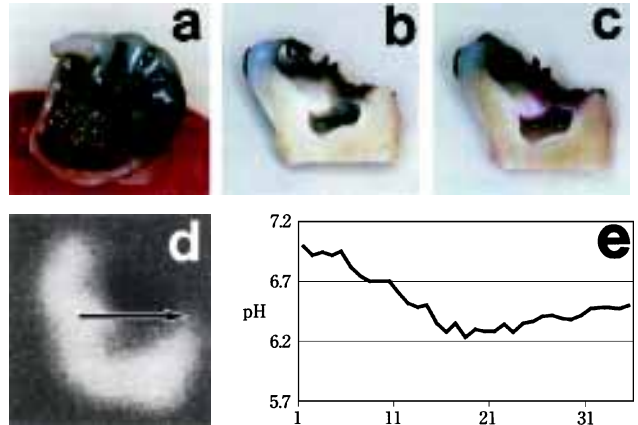
得られたpH分布画像と、むし歯検知液で染めた試料の写真を図1, 2に示す。pH分布画像上、ゲルフィルムに試料の健全領域が接している領域のpH値は、6.8-7.3とほぼ中性を示した。これに対して、むし歯罹患領域が触れた領域では、急性ならびに慢性むし歯ともにpH値の低下が認められた。急性むし歯では最小pH値 5.4 - 5.8(図1)を、慢性むし歯では最小pH値 6.3 - 6.6(図2)を示した。

一方、急性むし歯ではpH値が低下した部位とむし歯検知液染色部分とが肉眼的にほぼ一致したが、慢性むし歯では表面に黒褐色の強い着色が認められ、pH分布画像上でむし歯相当部分と認識された領域をむし歯検知液での染色性を判定することが困難な場合があった。



a: 被験歯
b: 被験歯半切測定面
c: むし歯検知液染め出し面
d: pH分布画像(はpH測定ライン)
e: pHのラインスキャンプロファイル

図1 急性むし歯染色写真とpH分布像*



a: 被験歯
b: 被験歯半切測定面
c: むし歯検知液染め出し面
d: pH分布画像(はpH測定ライン)
e: pHのラインスキャンプロファイル

図2 慢性むし歯染色写真とpH分布像*

2.2 脱灰量の測定

次に、同じ試料を光走査型化学顕微鏡とX線分析顕微鏡とで測定し、むし歯罹患部のpH値変化と歯質脱灰量の相関関係を検討した。ここでは、歯冠部に中等度のむし歯を有するヒト新鮮抜去大白歯110本について、患者の年齢、むし歯進行形態および臨床症状を参考に、急性むし歯(n=22)または慢性むし歯(n=88)に分類した。

まず、前述同様、スライスしたサンプルを、光走査型化学顕微鏡でむし歯領域を走査して最小pH値が得られる部位を特定し、X線分析顕微鏡を用いてその領域のX線透過量分布を可視化した。得られたX線透過画像から、健全歯質領域のX線透過量に相当する信号値(Gi)と最小pHを示した部位のX線透過量に相当する信号値(Gc)を求め、両者の比($G_{xam} = G_c / G_i$)を算出した。X線透過量は試料中のミネラル量が多い程小さくなり、逆に、少ない程大きくなる。したがって、 G_{xam} の値はむし歯によって脱灰されたミネラル量の指標になると考えられる。

X線分析顕微鏡による脱灰量の測定結果は、急性むし歯で $G_{xam} = 4.94$ 、慢性むし歯では $G_{xam} = 2.32$ となり、急性むし歯の方が脱灰量が多いことを確認できた。また、pHイメージング分析で得られたう蝕部分の最小pH値と G_{xam} との相関関係をピアソン分析により検討した。この結果、急性むし歯では強い相関関係($r = 0.8079$)が認められたが、慢性むし歯では弱い相関関係($r = 0.0775$)であった(図3)。

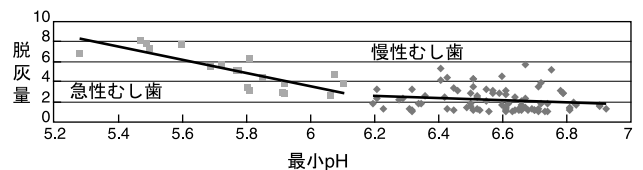


図3 むし歯の最小pHと脱灰量との相関関係

急性むし歯では、むし歯原因細菌によって産生された酸による脱灰が活発であると予想され、これがpH値の変化と脱灰量の変化の双方に影響し、強い相関関係を示したと考えられる。一方、慢性むし歯では、むし歯原因細菌の活動性が低下し、さらに唾液からのミネラルの再沈着も生じるため(再石灰化)、相関関係が弱かったものと考えられる。

以上のように、光走査型化学顕微鏡では、歯の健全部分とむし歯部分とを定量的に識別可能であることに加え、むし歯領域の最小pH値をpH分布画像から得ることで、むし歯の進行程度(急性または慢性むし歯)が把握できることが明らかになった。このことは、pH値による定量的むし歯診断法の確立の可能性を示すものであり、新たなむし歯診断法を構築していく上で、臨床的価値が非常に高いものと考えられる。

一方で、X線分析顕微鏡による脱灰量の評価は、pHイメージングによって得られた知見を裏付けするものであり、今後、pHを指標としたむし歯診断法の信頼性をより高めることに貢献できると考えられる。

現在、むし歯の検出や進行度の確認には、むし歯検知液が用いられている。しかし、慢性むし歯では自然着色が強いため、むし歯検知液の染色部分が適切に認識できないことがある。一般にこのようなケースでは、染色部を含めて強い自然着色部分をすべて削除するよう推奨されているが、これでは健全歯質部まで切削されてしまう恐れもある。pH値を応用したむし歯活動性診断法が確立されれば、歯質削除量の大幅な減少を積極的に促す治療へと導き、8020運動(コラム参照)にも大いに貢献するものと思われる。

また、このような新規概念の歯科むし歯活動性診断法を確立し、臨床の場で定着させるためにも、本実験で行ったような2つのイメージング技術で同一のサンプルを評価でき、その相関を確認できたことは、大変意義深いことである。

さらに、光走査型化学顕微鏡とX線分析顕微鏡は、サンプルに特殊な表面処理が不要で、大気下で繰り返し測定できる。この点は、臨床サンプルの入手が困難な歯科分野の研究では、非常に有効な分析法である。

3

光走査型化学顕微鏡による歯科用接着性修復材料の評価

歯科分野におけるpH値は、むし歯の発生研究以外にも、むし歯治療に用いる接着性修復材料の酸処理効果のめやすとして馴染みが深い。そこで著者らは、唾液汚染前後ならびに汚染部に対する再処理による一連のpH変化を、光走査型化学顕微鏡にて観察した^[9]。

実験にはヒト新鮮抜去健全大臼歯を用い、噛む方向と直交する方向にスライスしたサンプルを作成した。センサへの取り付けは前述した方法と同じである。まず、処理をされていないサンプル表面のpH分布を測定し、その後同じサンプルの全面に酸処理剤を塗布し、処理面の半分を唾液で汚染させた後、表面のpH分布を測定した。引き続き唾液汚染部には汚染除去を目的とした再酸処理を施し、残り半分の領域には水洗後に再酸処理を試みた。

その結果、酸処理にともない低下したサンプル表面のpH値は、唾液汚染により中性側に戻るが、再度酸処理を行うとpH値がもとの酸処理後のpH値まで回復していく。この過程が、視覚的にも明瞭に観察された(図4)。

高性能で簡便な歯科用接着性修復材料の開発により、むし歯の部分だけを取り除く治療が主流となりつつある。接着材を用いるむし歯治療では、pH値2.0前後に調整された低pH酸処理材で修復領域歯表面の酸処理が行われる。よりよい治療予後を確保するためには、この表面処理を確実に行うことが最も重要となる。しかしながら、ヒト口腔内には唾液等のさまざまな分泌液が存在し、表面処理後の被着面が汚染される可能性がある。これまで、唾液汚染による歯科用接着材の接着強さ低下や汚染後の表面形態に関する研究は数多く報告されているが、唾液汚染後の表面性状ならびにその後の対策方法に関する細かな検証はなされていない。今後、本研究におけるpHイメージングによる分析法が、より高性能な歯科用接着剤の開発と評価に貢献できるものと考えられる。

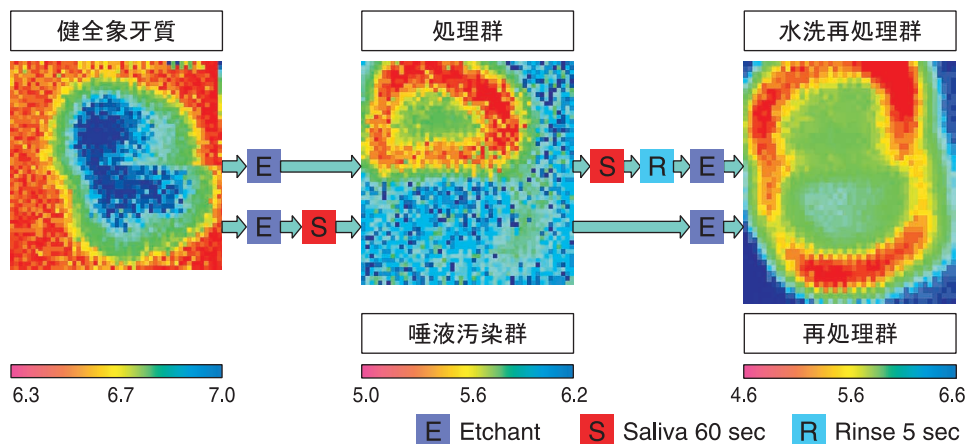


図4 リン酸エッチャントによる象牙質表面のpH変化

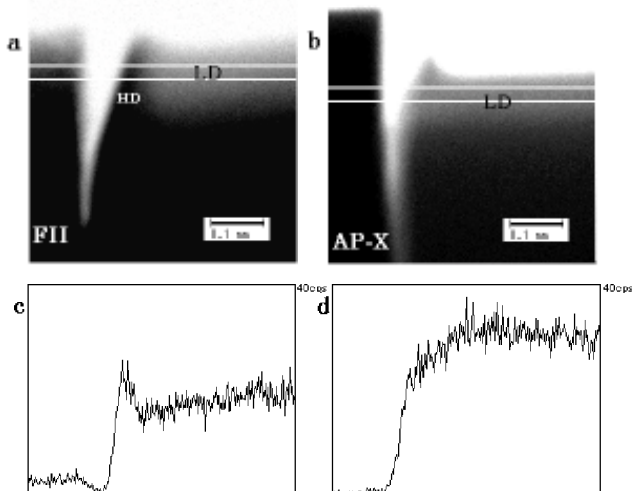
4

X線分析顕微鏡によるフッ素徐放性むし歯修復材料の評価

近年、むし歯予防にフッ素の応用が着目され、フッ素徐放性むし歯修復材料のむし歯発生抑制効果に関する研究が多く報告されている。著者らは、新しいアプローチとして、X線分析顕微鏡を用いて、フッ素徐放性修復歯の修復物周囲における透過X線撮影と、Ca濃度分析を試みた^[10]。代表的なフッ素徐放性材料(FII: グラスアイオノマーセメント)ならびにフッ素徐放性のない材料(AP-X: コンポジットレジン)を用いてむし歯修復周辺部を形成し、レーザ顕微鏡で観察されたむし歯発生抑制部について、X線分析顕微鏡による観察した。この結果、図5に示すように、レーザ顕微鏡で観察されたむし歯発生抑制部にX線不透過性を有する層が確認され、さらにその部分のCa濃度は、健全歯に比べて高くなっていることが判明した。

現在、フッ素徐放性材料の評価には、フッ素徐放性材料修復後のむし歯を*in vitro*の酸性環境下にさらし、修復周辺部に人工的にむし歯を発生させる方法が各種考案されている。そして、むし歯の発生状況の評価には、偏光顕微鏡、マイクロラジオグラフィー、硬さの測定等が用いられているが、これらは試料作製に手間を要し、さらにはアルコール脱水など試料ダメージも懸念される。

本研究で用いたレーザ顕微鏡とX線分析顕微鏡とを組み合わせた分析手法は、これら既存の手法の欠点を解消し、簡単かつ明瞭なフッ素徐放性材料の評価法として今後活用されていくことが期待できる。



a: FII : グラスアイオノマーセメント(フッ素徐放性材料)の透過X線像
 b: AP-X: コンポジットレジン(非フッ素徐放性材料)の透過X線像
 c: FII : グラスアイオノマーセメント(フッ素徐放性材料)のCa濃度分布
 d: AP-X: コンポジットレジン(非フッ素徐放性材料)のCa濃度分布
 HD : High density area (= むし歯発生抑制部)
 LD : Low density area

図5 フッ素徐放性修復歯の修復物周囲における透過X線像とCa濃度分布

5

おわりに

歯科研究分野における光走査型化学顕微鏡とX線分析顕微鏡の応用例について、著者らの研究成果の一部を紹介した。光走査型化学顕微鏡にX線分析顕微鏡による評価を加えることにより、pH値を用いたむし歯活動性診断の妥当性を示すことができた。pH値のイメージ測定によって、削るべきむし歯や部位を明らかにする、つまり、むし歯の診断から、処置、処置後の予後審査まで、むし歯処置をトータルにサポートできるものと思われる。さらに、光走査型化学顕微鏡による歯科用接着性修復材料の評価や、X線分析顕微鏡によるフッ素徐放性むし歯修復材料の評価は、今後の歯科材料開発およびそれらを用いたむし歯治療法の革新に大いに貢献するものと期待できる。

さらに、本報で紹介したイメージング技術が、今後の歯科医療ならびに歯科学生教育の発展に貢献するとともに、最終的には、国民のむし歯予防意識の向上や、むし歯患者の治療負担軽減へ寄与することを期待する。

なお、これらの成果は、再現性が高くかつ簡便なむし歯診断方法として、国際歯科学会においても大いに注目を集めている(2001年 IADR / Lion Award Cariology 部門 2001年6月27日受賞, International Association for Dental Research において国際レベルの優れた研究および若手研究者を奨励する学術賞を受賞)。

参考文献

[1] 田上順次, 島田康史, 北迫勇一, 中島正俊, 二階堂徹, 大槻昌幸: う蝕治療における接着. 接着歯学 18, 154-159, 2000.
 [2] Kitasako Y, Hiraishi N, Nakajima M, Nikaido T, Tagami J and Nomura S: In vitro surface analysis of active and arrested dentinal caries in sliced extracted human teeth using a pH-imaging microscope. Operative Dentistry (in press).
 [3] 北迫勇一, 平石典子, 中島正俊, 二階堂徹, 田上順次, 野村聡: 半導体シリコンセンサーを用いた光走査型化学顕微鏡によるヒト抜去う蝕象牙質の表面観察. 日本歯科保存学雑誌 44, 56-63, 2001.
 [4] 北迫勇一, 二階堂徹, 田上順次, 池田健一, 光成京子, 野村聡: 半導体シリコンセンサーを用いる pH イメージング顕微鏡によるヒトの歯の表面観察. 分析化学 49, 325-327, 2000.
 [5] 平石典子, 北迫勇一, 二階堂徹, 田上順次, 野村聡: pH イメージング顕微鏡及び X 線分析顕微鏡によるう蝕象牙質の表面観察. 日本歯科保存学雑誌 44(秋季特別号), 110, 2001.

- [6] Nomura S, Mitsunari K, Nakao M, Kohno Y and Matsuki R: Estimation of plant leaf response to acid solutions using a pH-imaging microscope. G.I.T. Imaging & Microscopy 2, 59-61, 2000.
- [7] Nomura S: Review of pH Measurement (5) ; pH Measurement a la Carte. PNE 143, 903-907, 1998.
- [8] Nomura S: Review of pH Measurement (6) ; Recent Development in pH Measurement. PNE 143,1295-1302, 1998.
- [9] Hiraishi N, Kitasako Y, Nikaido T, Nomura S and Tagami J: Effect of saliva contamination on pH-value and Bond-strength on dentin. Journal of Dental Research 80:658,2001.
- [10] Okuda M, Pereira PNR, Nikaido T and Tagami J: Evaluation of in vitro secondary caries using confocal laser scanning microscope and X-ray analytical microscope. American Journal of Dentistry (in press).

* 北迫勇一ほか

「半導体シリコンセンサを用いた pH イメージング顕微鏡によるヒト抜去う触象牙質の表面観察」
日本歯科保存学雑誌 Vol.44 No.1(2001)より転載



北迫 勇一

Yuichi KITASAKO, DDS, M.D.

東京医科歯科大学大学院
医歯学総合研究科
歯学博士



田上 順次

Junji TAGAMI, DDS, M.D.

東京医科歯科大学大学院
医歯学総合研究科
教授
歯学博士

平石 典子

Noriko HIRAISHI, DDS, M.D.

東京医科歯科大学大学院
医歯学総合研究科
歯学博士

奥田 真実子

Mamiko OKUDA, DDS, M.D.

東京医科歯科大学大学院
医歯学総合研究科
歯学博士

二階堂 徹

Toru NIKAIDO, DDS, M.D.

東京医科歯科大学大学院
医歯学総合研究科
講師
歯学博士

コラム 1 8020 運動とむし歯の予防

歯の健康は、日常生活の質を維持し、高める上で重要な意味をもっています。近年、むし歯は生活習慣病の1つと認定され、適切なむし歯予防法の確立が急務となっています。厚生労働省と日本歯科医師会は、来たるべき高齢化社会に向けて、80歳になっても20本以上の自分の歯を保とうという「8020運動：ハチ・マル・ニー・マル」が10年以上前から展開されています。各方面で8020運動を推進したおかげで、近年、小児のむし歯が減りつつありますが、いまだにその目標は達せられていません。

むし歯発生のリスクは、個々の患者ごとに異なり、ブラッシング不良、食事習慣、歯の強度、唾液の量と質、歯並びなど多岐にわたります。むし歯が予防可能な疾患であるからこそ、患者ごとのむし歯リスクを適切に分析し、各々のリスクに応じた予防処置を行っていくことが重要となっています。

コラム 2 むし歯とpH

歯科分野では、臨界pH、唾液や歯垢のpHなど、pH値はむし歯発生の指標として馴染み深いものです。むし歯は、ミュータンス連鎖球菌を代表とするむし歯原因菌によって産生された酸によって歯の表面が溶解(脱灰)することにより発生します。歯の主成分のハイドロキシアパタイトは、pHがある値(臨界pH)より低くなると溶け始め、その値は5.5とされています。

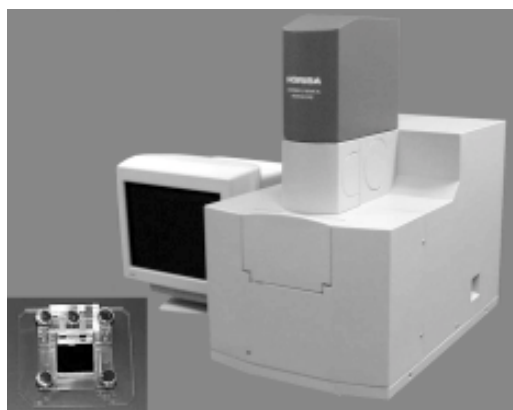
食事中は、むし歯原因菌が糖を代謝して酸を産生すると、歯垢内のpHが低下し、歯の溶解を促進します。一方、食間時は、酸産生量が低下し、歯垢内のpHは中性付近まで回復します。ここが、むし歯予防には食後の歯磨き励行が第1条件だといわれている理由です。

むし歯のない人の口腔内歯垢ではpH値が5.2～6.7であるのに対し、重度のむし歯患者さんの場合には4.0～5.2まで低下すると報告されています。また、フッ素のむし歯原因菌阻害作用はpHが低い方が強く、むし歯原因菌の活動性に影響を与える各種酵素には至適pHが存在します。

このように、むし歯の発生や進行過程(活動性)では、pH値が大きく影響しています。

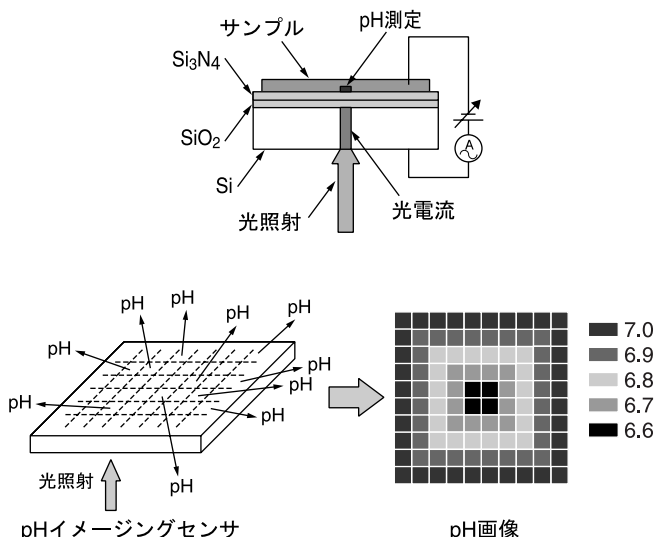
光走査型化学顕微鏡 SCHEM™

酸性，アルカリ性など水溶液の性質を表す pH 値。固体表面においてこの pH 値を定量的に測定し，pH 画像として表示するというイメージング(画像化)技術を用いた光走査型化学顕微鏡です。この技術を用いれば，固体表面分析において，これまで得られなかった情報を得ることができます。



シート状，繊維状，粒状などの固体サンプルの測定対象を，pH イメージングセンサ上に形成したゲルフィルムに接触させます。測定対象の表面状態に応じた pH 変化が，ゲルフィルム上に形成されます。このゲルフィルム中の pH 変化を，平面型のセンサで複数点において測定します。複数点での pH 値をイメージング(画像化)することで，これまで得られなかった情報を得ることができます。

応用例としては，環境分析関連では模擬土壌中のプロトン移動の観察，植物研究ではサクラの葉に対する酸性雨影響の評価，合金の対腐食性の評価，化粧品関連では毛髪化粧品の毛髪への残留評価，さらには大腸菌コロニーの代謝観察といった微生物の各種研究まで，さまざまな分野への応用が可能です。



特長

1. pH イメージングセンサは，半導体シリコンを採用。
2. 100μm の分解能で，複数点 pH 測定を実現。
3. 得られた pH 値から，測定点の位置座標に対応した pH 画像を表示。
4. 固体表面の pH 分布による分析や，溶液，ゲル膜，充填層中のプロトン移動の可視化による解析が可能。

主な仕様

装置機能	pH 分布の二次元マッピング (pH 依存の電気信号の複数点測定)
測定対象	繊維状の物質，粒状の物質，シート状の物質など
サンプル形状	1cm ² あたり 5g 以下の質量で 15mm × 15mm 以内の大きさ
マッピング分解能	100μm (テストパターンを使った電気信号により評価)
走査速度	pH 画像中の 1 画素あたり 10ms (100μm ピッチでの測定時)
最大画素数	512 × 512 まで任意に設定可能
光学像観察	デジタルスティルカメラ
本体サイズ(mm)	460(W) × 800(D) × 800(H)
本体重量	約 65kg

X線分析顕微鏡 XGT-2700 シリーズ

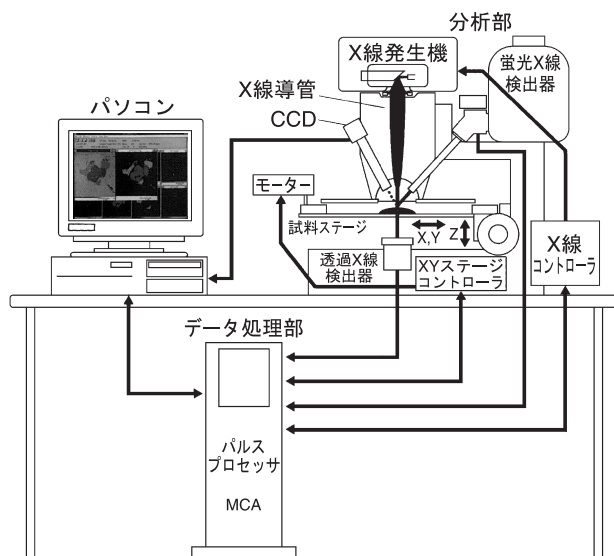
蛍光X線の元素判別能力, レントゲンの透視能力, 顕微鏡の観察能力の3つの能力をもつX線分析顕微鏡です。生体組織や鉱物の分析, 半導体や電子部品関連の各種解析, 品質管理など, 幅広い分野での研究活動を強力にサポートします。



特別な前処理なしに, 試料の構成元素と内部構造の解析を同時に行うことができるX線分析顕微鏡XGT-2700。世界で初めて10 μ mの空間分解能をもつ高輝度マイクロビームを実現した独自のX線導管(XGT)を採用し, 微小な試料でも美しいマッピングが得られるなど, 高精度な測定を可能にしています。

主な特長は, 元素マッピング像と透過X線像が同時に得られることや試料を選ばないこと。しかも大気中で非破壊測定が可能なので, 貴重な試料や水分を含む試料などにも対応できます。また, windows対応でスムーズな操作を実現しています。

植物, 小動物などの生体組織や鉱物の分析から, 半導体パッケージ, 電子部品などの各種解析, 品質管理まで, さまざまな分野で最先端の研究活動をサポートします。



特長

1. 元素マッピング像と, 透過X線像が同時に得られます。
2. 試料の前処理なしに, 大気中で非破壊・非汚染の測定が可能。
3. 試料を選ばず, 生体などでも分析可能。
4. Na(ナトリウム) から U(ウラン) まで31元素を同時マッピング。
5. 100 mm \times 100mm のサンプルをそのまま分析可能。オプションとして200mm \times 200mm のステージを用意。
6. 10 μ m / 100 μ m の点分析, 微小領域から広領域までの面分析に対応。

主な仕様

装置機能	蛍光X線元素分析, 蛍光X線元素マッピング像, 透過X線像, 光学顕微鏡像
対象元素	Na ~ U
測定対象	研究開発 / 材料開発, 生体の検査, 品質管理 / 異物分析, 不良解析
試料の大きさ	最大 30(H)mm, 最大質量 500g (100mm ステージの場合) 最大質量 3kg (200mm ステージの場合)
走査範囲	最小 512 \times 512(μ m) ~ 最大 100 \times 100(mm) (100mm ステージの場合) 最小 512 \times 512(μ m) ~ 最大 200 \times 200(mm) (200mm ステージの場合)
2次元空間分解能	最小 10 μ m
XGT 種類	10 μ m および 100 μ m
光学像観察	約 30 ~ 100 倍
システム全サイズ(mm)	2100(W) \times 1000(D) \times 1350(H)
システム全重量	約 270kg
その他	前処理不要, 大気中非破壊測定

紫外線誘導しわ形成に対する サンスクリーン製剤の迅速評価法の開発

A Trial of Quick Evaluation Method for Photo-protective
Sunscreens against Ultraviolet-induced Wrinkle Formation

花田勝美^{*}, 玉井克人^{*}, 今 浮^{*}, 中野 創^{*}, 原田 研^{*}

^{*}弘前大学

光老化, とくにしわの抑制を目的としたサンスクリーン製剤の開発が行われているが, その評価には長期間を要する。そこで日光弾性線維症の発現を迅速に把握できる実験系が求められている。ここでは中波長紫外線 UVB が誘導するエラスチン・プロモーター活性を蛍光で観察する実験系の作成を試みた。その結果, UVB 誘導エラスチン・プロモーター活性の UVB 照射量依存性を蛍光で観察することができた。すなわち, 迅速かつ簡便にエラスチン成分の豊富な日光弾性線維症の発現を定量できる可能性が示唆された。ホリバグループのひとつであるジョバンイボン社(アメリカ)製の光ファイバー付き蛍光分光測定装置 SPEX Fluorolog-3 による注入細胞の蛍光の定量はサンスクリーン製剤の迅速評価に有用となることが示唆された。

For the purpose of prevention of photoaging causing deep wrinkle formation, a great number of sunscreens against broadband spectra of solar ultraviolet (UV) have been produced. However, *in vivo* evaluation of sunscreens for anti-photoaging requires a long period. In the present experiment, a new evaluation system has been tested. Mouse fibroblast (3T3) transferred human-elastin promoter linked to Green Fluorescent Protein (GFP) reporter gene was cultivated. After exposure to UVB, green fluorescence intensity of 3T3 was observed. In addition, after injection of the cells into the mouse skin, fluorescence intensity was measured using SPEX Fluorolog-3 model 322 spectrofluorometer fitted with an optical attachment (Jobin Yvon Inc., Edison, NJ, USA). The cultured cells emitted green fluorescence in UVB-dose dependent manners. The fluorescence of injected cells was measurable from the surface of mouse skin. The result indicates the quantitative measurement of fluorescence intensity of cells injected to mouse skin might be useful for the quick and easy evaluation of solar elastosis formation and protective effect of sunscreens.

1

はじめに

しわの形成には「光老化」と「自然老化」の2つの機序が存在する。露出部である顔面では皮膚の肥厚と深く刻まれた「しわ」がみられ、「光老化」優位の像を示す。

光老化の結果としてみられる「しわ」の最も特徴的な組織学的変化は, 日光弾性線維症であり, 慢性紫外線曝露による皮膚の劣化の代表的所見となっている。日光弾性線維症では真皮上層に限局して弾性線維様成分の集塊像がみられるが, 正常の弾性線維の機能を果たさず「はり」のない皮膚となり, 結果として光老化によるしわ形成の要因となるものと考えられている。

弾性線維はエラスチンやフィブリリンにより構成され, 線維芽細胞により産生されるが, 近年, これら成分の発現におよぼす紫外線の影響に関して分子生物学的解明がなされている。

図1には紫外線によるしわの形成機序, 日光弾性線維症形成の分子生物学的メカニズムを示した。すなわち, 中波長紫外線(UVB)や長波長紫外線(UVA)は線維芽細胞に作用し, 種々の生物学的活性を引き起こしうる。

UVB 照射はエラスチン産生にあずかるエラスチン mRNA を誘導し, かつ, エラスチンプロモーターの活性を増加させることが知られている^[1]。また, UVA 照射は真皮の基質の変性にあずかるコラゲナーゼやストロメライシ

ン-1のmRNA^[2]を増加させることも知られており,コラーゲンの変性が代償性にエラスチン様成分の発現を増加させるものと考えられている。

これらの事実はしわの形成にはUVB, UVAの両紫外線が促進的にはたらくことを意味する。このため光老化の抑制を目的とした,サンスクリーン製剤の開発に努力が払われている。

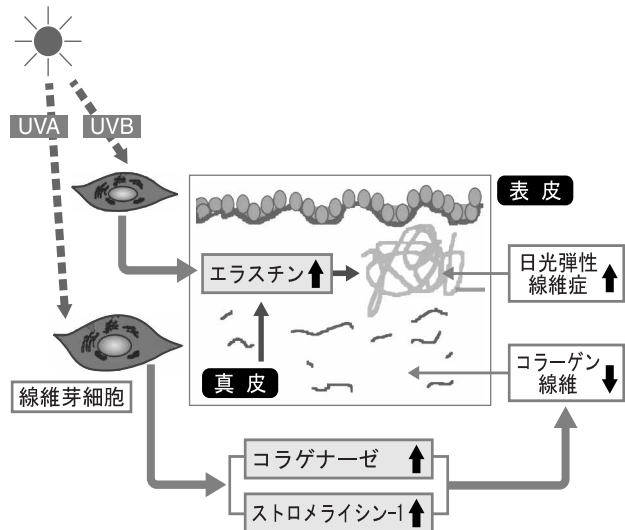


図1 紫外線による「しわ」の形成機序

さて, *in vivo*で光老化抑制に対するサンスクリーン製剤の評価を実行するためにはしわ形成の実験系が必要となる。実際に,ヘアレスマウスを用い,紫外線シミュレータによるしわ形成が試みられ,サンスクリーン製剤を塗布したマウスでは明らかなしわの抑制効果がみられるという。

いずれにしても,実験的なしわ形成には4~8カ月という長期間を要していて,このことがサンスクリーン製剤開発の障害となっている。

そこで日光弾性線維症の発現を迅速に把握できる実験系が求められ,これまで,ヒト・エラスチン・プロモーター遺伝子を組み込んだトランスジェニック・マウスが作成され,サンスクリーン製剤の紫外線防御能の検討に用いられている^[3]。しかし,前述の系では,マウスの作製・維持,定量の煩わしさがあり,実用化を鈍らせている。

今回は,さらに迅速,簡便かつ感度の高い手技を探るべく,UVBが誘導するエラスチン・プロモーター活性を蛍光で観察することを試みた。

2

実験方法

(1)ヒト・エラスチン・プロモーターの蛍光たんぱく (GFP)発現ベクターへの組み込み

エラスチン・プロモーター/GFP発現ベクターの作製に先立ち,ヒト genomicDNA のエラスチン・プロモーター部位約 840bp を PCR (ポリメラーゼ連鎖反応)法で増幅するため,primerを合成し,そのprimerを用い,ヒト genomicDNA を鋳型として PCR で増幅した。PCR 産物を組み込んだ GFP 発現ベクターを制限酵素で消化後,ゲル電気泳動を行った(図2)。

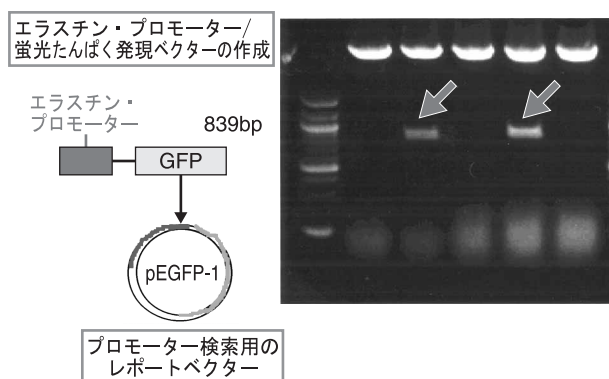


図2 エラスチン・プロモーター導入の確認

(2)プロモーター検索ベクターの3T3 マウス線維芽細胞 への導入

今回の導入細胞には3T3細胞 マウス線維芽細胞 を用い,リポゾーム法(DOTAP法)を用いてGFP発現ベクターを導入した。

(3)発現ベクター導入3T3細胞への紫外線照射

プロモーター検索ベクター導入3T3細胞に対して,導入24時間後に紫外線(UVB)20mJ/cm²および40mJ/cm²を照射し,さらに24時間培養後蛍光顕微鏡にて3T3細胞の蛍光たんぱく発現の有無を観察した。次いで,UVB照射後,マウス皮下に照射3T3細胞を注入,ホリバグループのひとつであるジョバンイボン社(アメリカ製)の光ファイバー付き蛍光分光測定装置(SPEX Fluorolog-3)にて,マウスの外表より蛍光強度を定量化した。

3

結果

図2(右)にはエラスチン・プロモーター/GFP発現ベクターのゲル電気泳動の結果を示した。

840bp付近にバンドが観察され、実際にエラスチン・プロモーターが組み込まれていることが確認された。導入3T3細胞では、UVB 20mJ/cm²および40mJ/cm²照射により、3T3細胞は細胞質に産生GFPの強い蛍光を示し、その蛍光はUVBの照射量依存性に強度を増した(図3)。in vivoにおける蛍光はエラスチン・プロモーター/GFP発現ベクター導入細胞を注入した部位で有意に高かった(図4)。

4

考察

今回の実験では、3T3細胞を用いたin vitroの実験系の開発からin vivo評価への応用可能な点を明らかにした。今後は、エラスチン・プロモーター/GFP発現ベクターを導入したマウス線維芽細胞を注入後、実際に同部位にサンスクリーン製剤を塗布、外表からUVBを照射し、その後の蛍光強度を蛍光分光測定で定量化することで、サンスクリーンの製剤の効果をin vivoで観察する予定である。

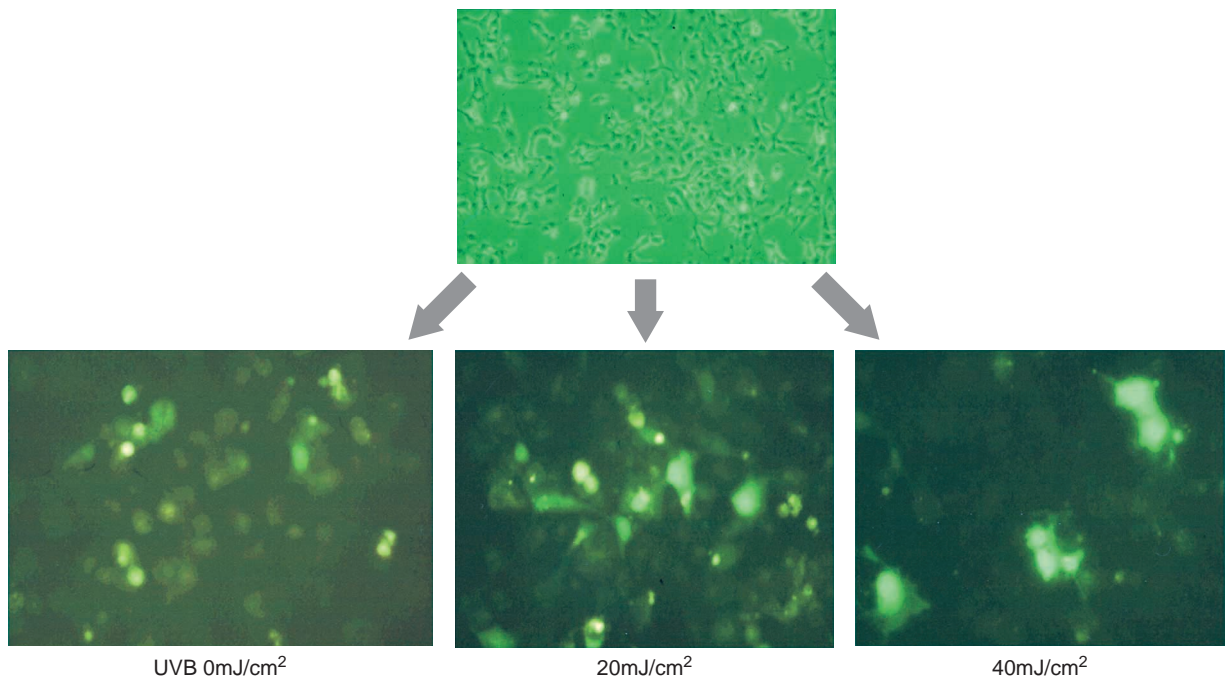


図3 UVB誘導蛍光蛋白(GFP)の発現

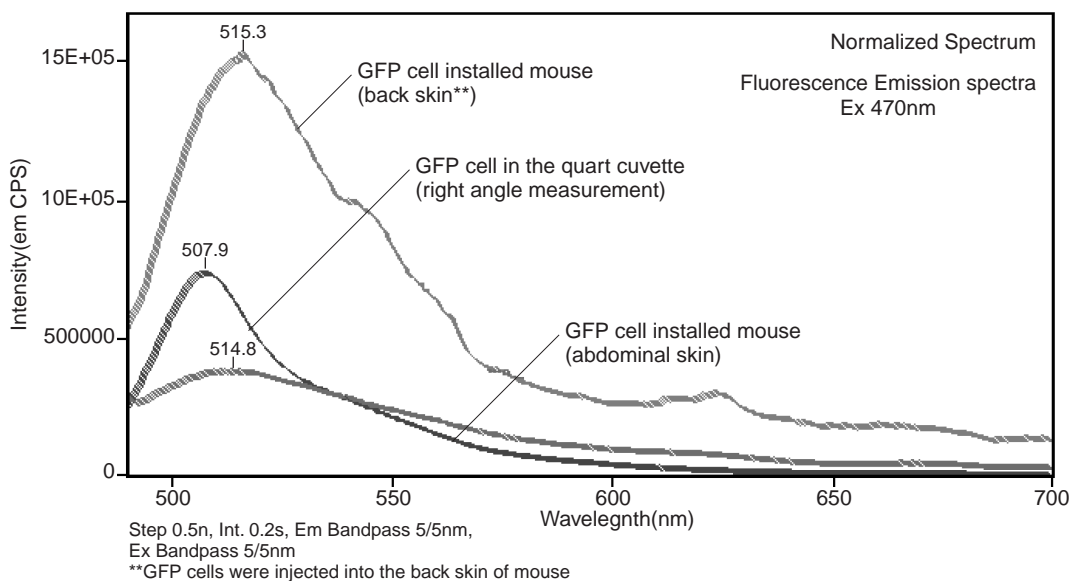


図4 UVBを照射3T3細胞の蛍光強度

5

まとめ・結語

1. UVB 誘導エラスチン・プロモーター活性を照射量依存性の蛍光量で観察することができた。
2. 迅速かつ簡便に日光弾性線維症の発現を定量できる可能性が示唆された。すなわち, *in vivo* の実験系に応用することにより, 光老化防止を目的とするサンスクリーン製剤の開発に有用となることを明らかにした。
3. この評価法を実行するために, 皮下注入細胞の蛍光を光ファイバー付き蛍光分光測定装置 (SPEX Fluorolog-3) にて皮表から定量した結果, 明らかなる有意差を認め, 満足すべき成績が得られた。

参考文献

- [1] Bemstein EF, Qiu Y, Tanai K, Shepley KJ, Resnik KS, AJhang H, Tuan R, Mauviel A. Uitto J: "Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin", *J. Invest Dermatol*, 103: 182-186, 1994.
- [2] Sawamura D., Ohta T., Hanada K., Ishikawa H., Tamai A., Yazima H., Meng X., Nomura K. Hashimoto I., Mauviel A., Uitto J., "Involvement of the AP-1 site within the 5-flanking region of the stromelysin-I gene in induction of the gene expression by UVA irradiation", *Arch Dermatol Res*, 288(10):628-632, 1996.
- [3] Bernstein EF., Brown DB., Takeuchi T., Kong SK., Uitto J., "Evaluation of sunscreens with various sun protection factors in a new transgenic mouse model of cutaneous photoaging that measures elastin promoter activation", *J. Am. Acad. Dermatol*, 37(5 Pt 1):725-729. 1997.



花田 勝美

Katsumi HANADA, M. D.

弘前大学
医学部 皮膚科教室
教授
医学博士

玉井克人

Katsuto TAMAI, M. D.

弘前大学
医学部 皮膚科教室
助教授
医学博士

今 浮

Atsushi KON, M. D.

弘前大学
医学部 皮膚科教室
講師
医学博士

中野 創

Hajime NAKANO, M. D.

弘前大学
医学部 皮膚科教室
講師
医学博士

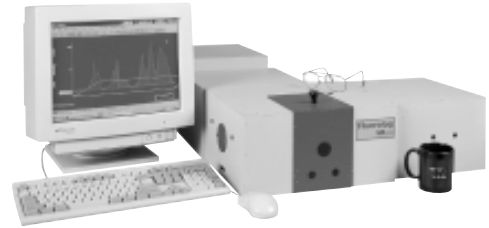
原田 研

Ken HARADA, M. D.

弘前大学
医学部 皮膚科教室
助手
医学博士

蛍光分光測定装置 Spectrofluorometer SPEX Fluorolog-3

蛍光分光法は、物理、化学、生物、食品、生化学、医薬、医学などの広範囲にわたって応用されている分光分析法です。SPEX Fluorolog-3は、光源、分光器、検出器を実験の目的、測定波長範囲、予算に合わせて選ぶことができるモジュール方式の蛍光分光測定装置です。



SPEX Fluorolog-3は、迷光特性(スペクトル純度)、感度、波長領域などの各種パラメータに応じてコンポーネントを選択できます。これにより、フレキシブルなシステム構築が可能で、装置のグレードアップも容易です。さらには、コンピュータによる完全自動化で、装置のセットアップや波長校正、測定条件の保存、データの解析処理を簡単に行えるのも特長です。

また、励起側分光器の後ろに変調器を配置することで、ピコ秒蛍光寿命測定システムも構築できます。このシステムは、エネルギー移動、ダイナミック偏光解消、その他多くの時間分解依存型アプリケーションに対応できます。

超高感度、高精度、簡便性を追求したSPEX Fluorolog-3は、光学関連技術に優れた実績をもつホリバグループのジョバンイボン社(アメリカ)から提供します。

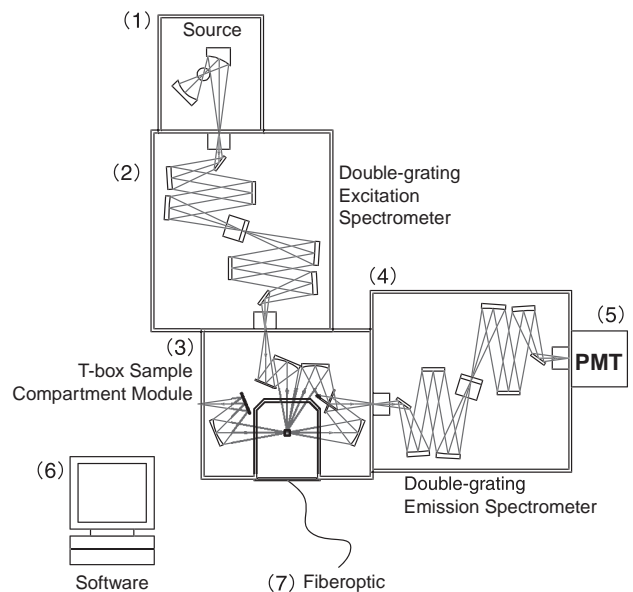
特長

1. 光子計数法を採用しているため超高感度を実現、超低濃度試料の測定が可能。
2. 測定時間を短縮し、多数の測定を可能にする高速スキャンを採用。
3. 電源スイッチを入れるだけで測定準備がOK、特別な光学調整は不要。簡単な波長校正を実現。測定設定を保存できるので測定条件の設定ミスを防ぎます。
4. 光ファイバーバンドルアタッチメントを装着することで *in vivo* サンプルングを実現。その他多様なアクセサリアタッチメントで、多様なアプリケーションに対応。
5. 試料、測定条件に適したコンポーネントを組み立てによるカスタムメイド装置。



装置 SPEX Fluorolog-3(モデル FL3-22)の 基本構成の一例

究極の低迷光分光システムを採用。励起側および蛍光側分光部にダブルグレーティング分光器を配置しているため、脂質やたんぱく質などの生体試料、半導体、粉体またはリンなどの固体試料からの散乱光を完全に除去できます。ダブルグレーティング分光器の採用により、高いS/N比とともに高分解能が実現できます。オプションの自動中間スリットをつけることで迷光の戻りはいっそう低減されます。



- (1) 450W Xe CW ランプ・ランプハウジング・電源
- (2) 励起側ダブルグレーティング分光器
- (3) リファレンス検出器付き T 型試料室
- (4) 蛍光側ダブルグレーティング分光器
- (5) 光子検出用 PMT
- (6) 電子系統およびソフトウェア
- (7) 光ファイバーバンドルアクセサリ

顕微レーザーラマン分光法による ラット頭頂骨無機質成分の測定

Measurement on Mineral Components of Rat Calvaria
by Means of Lasers Raman Microprobe Spectrometry

田村典洋* , 筧 光夫* , 伊藤久昭** , 横山政昭***

* 明海大学 , ** 城西大学 , *** 株式会社堀場ジョバンイボン

生体アパタイトの形成過程において、その前駆物質として amorphous calcium phosphate (ACP), brushite, octacalcium phosphate (OCP) の存在が指摘されている。しかしながら、これらの前駆物質の生体試料内での存在確認はほとんどなされていない。生体アパタイト前駆物質の *in vivo* 試料での検出・確認を目的として、異なる成長段階のラットの頭頂骨を試料として顕微レーザーラマン分光法による検討を行った。ラット頭頂骨試料および合成標準試料ともに低温プラズマ灰化処理を行った hydroxyapatite (HA), β -calcium pyrophosphate (β -CPP), および β -tricalcium phosphate (β -TCP) ではプラズマ灰化処理による変化はみられなかった。一方、OCP および brushite の場合は灰化処理により変化が観察された。プラズマ灰化処理した胎児および新生児試料から得られたラマンスペクトルは、同様に灰化処理した OCP のラマンスペクトルとよく一致した。また、6日齢の試料では、HA に類似したスペクトルが得られ、12週齢の試料では、HA に特徴的なスペクトルが得られた。さらに 1000°C 熱処理した新生児試料のスペクトルは、HA に基づくピークおよび OCP を 1000°C で熱処理したときに得られる β -TCP に基づくピークを示した。本研究において、ラット頭頂骨の形成初期には HA の前駆物質として OCP の存在を示唆する結果が得られた。

It has been proposed that a precursor such as amorphous calcium phosphate (ACP), brushite, octacalcium phosphate (OCP) might exist in the early stage of the formation process of biological apatite for a considerable time. However, it hardly has been confirmed the existence of these precursors *in vivo*. The present study was designed to examine the presence of the precursor minerals of hydroxyapatite (HA) in rat calvaria by Raman microprobe spectrometry. Spectral measurements were performed on the rat calvaria and synthetic standards after plasma ashing and heat treatment at 1000°C. The results did not show that plasma ashing and heat treatment at 1000°C cause any changes in the synthetic HA, β -CPP and β -TCP. However, in the case of OCP and brushite, spectral changes were observed after plasma ashing. Spectral patterns of samples obtained from both embryonic and newborn rats were shown to be similar to those of OCP. On the other hand, both the 6-day-old and the 12-week-old rat samples gave the spectra similar to HA. Furthermore, the spectrum from newborn sample treated at 1000°C showed the peaks combined with both HA and β -TCP generated from OCP. In this study, it is assumed that OCP might exist as an intermediary during the process of HA development in the rat calvaria.

1

はじめに

生体におけるアパタイト結晶の形成は、いくつかの前駆物質を経て形成されると考えられている。しかしながら、多くの研究者により電子顕微鏡観察、X線回折法、赤外分光法及びラマン分光法などを用いて、前駆体鉱物の存在を証明する試みがなされたが、その存在についての十分な証拠は得られていない。これらの存在を直接検出、証明するには技術的困難さをともなうのが現状である。そこで、著者らは、前駆物質の熱に対する安定性の違いを利用して、間接的に *in vivo* 試料での検出を試みている。今回は、異なる成長段階にあるラット頭頂骨を試料として顕微ラマン分光法による検討を行った。

2

実験

装置としてはホリバグループのひとつであるジョバンイボン社製の顕微レーザーラマン分光装置 LabRam を用い、He-Ne レーザ(励起波長: 632.8nm, 出力 5mW)を光源として測定した。頭頂骨はラットより切り出した後、実体顕微鏡下、骨周辺の軟組織等を取り除き、蒸留水で洗浄後、室温で乾燥した。次いで、有機物を除去する目的で低温プラズマ灰化装置(270W, 90cm³/min of O₂, 8時間)にて処理したもの、およびこれらをさらに 1000°C に加熱処理したものを試料とした。HA (hydroxyapatite)³⁾、OCP (octacalcium phosphate)⁴⁾、β-CPP (β-calcium pyrophosphate)⁵⁾、β-TCP (β-tricalcium phosphate)⁴⁾などの合成標準試料については、同様に灰化処理および 1000°C 加熱処理を行ったものと未処理のものの両方を測定し比較検討に用いた。

3

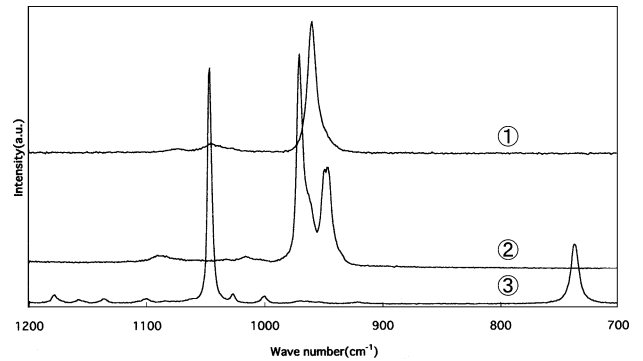
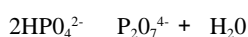
結果および考察

3.1 合成標準試料の灰化処理

合成 HA、β-CPP および β-TCP は灰化処理によってまったく変化が見られず、それぞれに特徴的なラマンスペクトルを与えた(図1)。

一方、OCP の場合は、灰化処理前は 968cm⁻¹(vs)と 960cm⁻¹(s)に doublet のピーク⁵⁾、1010cm⁻¹(w)および 1050cm⁻¹(w)にピークを示したが、処理によって 965cm⁻¹(vs)に一本のピークと 1010cm⁻¹(sh)および 1035cm⁻¹(w)にピークを与えることがわかった(図2、)。

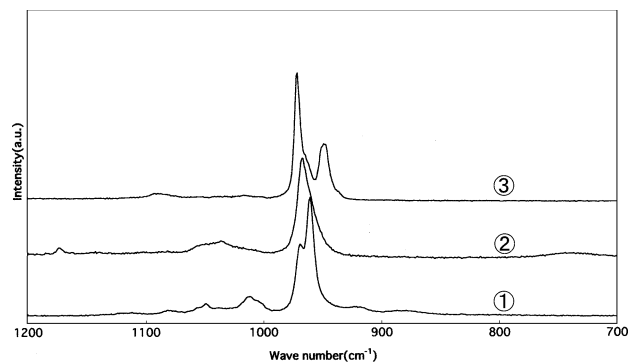
また、brushite⁶⁾ の場合には、987cm⁻¹(vs)と 875cm⁻¹(w)にあったピークが灰化処理によって消失し、1047cm⁻¹(vs)と 736cm⁻¹(m)にピークが観察された(図3)。このスペクトルは、β-CPP のスペクトルと一致することから、灰化処理により次の様な反応が起こったと考えられた。



HA[960cm⁻¹(vs), 1044cm⁻¹(w)]
 -TCP[946cm⁻¹(s), 948cm⁻¹(s), 970cm⁻¹(vs)]
 -CPP[736cm⁻¹(m), 1047cm⁻¹(vs)]

HA、-TCPおよび-CPPはプラズマ灰化処理前と処理後でもまったく変化がなかった。
 さらに1000°C加熱処理によっても変化が観察されなかった。

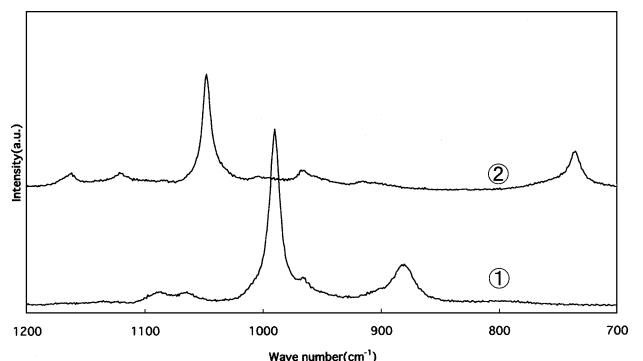
図1 合成標準試料(灰化処理前)のラマンスペクトル



未処理 プラズマ灰化処理後 1000°C加熱処理後

プラズマ灰化処理により960 cm⁻¹(s)と968 cm⁻¹(vs)の doublet のピークが、965cm⁻¹に1本の強いスペクトルに変化した。さらに1000°C加熱処理では946cm⁻¹(s)、948 cm⁻¹(s)と970 cm⁻¹(vs)にピークを示し、-TCPに一致したスペクトルが観察された。

図2 プラズマ灰化および 1000°C 加熱処理による OCP のラマンスペクトルの変化



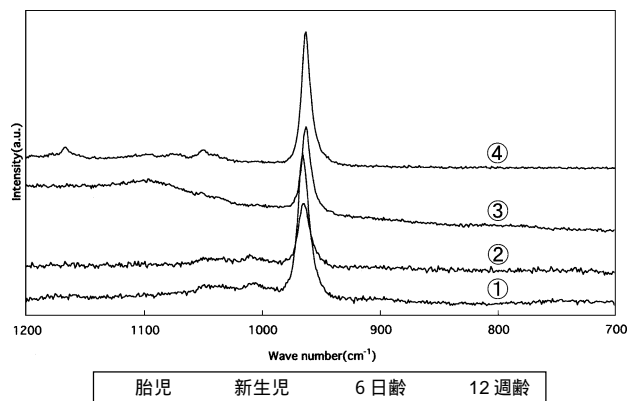
未処理 プラズマ灰化処理後

灰化処理により、875cm⁻¹(w)と987cm⁻¹(vs)のピークが消失し、736cm⁻¹(m)および 1047cm⁻¹(vs)にピークが観察された。さらに1000°C熱処理でも変化はなく、-CPPに一致したスペクトルが観察された。

図3 プラズマ灰化処理による brushite のラマンスペクトルの変化

3.2 頭頂骨試料の灰化処理

胎児(妊娠19日)および新生児試料では 965cm^{-1} (vs), 1010cm^{-1} (w)および 1035cm^{-1} (vw)にピークが観察された。ここで観察されたピークはOCPを灰化処理して得られたスペクトルによく一致することがわかった。また,6日齢の試料では 960cm^{-1} (vs)にピークが観察され,HAに類似したスペクトルが得られた。さらに,12週齢の試料では 960cm^{-1} (vs)および 1044cm^{-1} (w)にピークが観察され,HAに特徴的なスペクトルが得られた(図4)。



胎児(妊娠19日)および新生児試料では 965cm^{-1} (vs), 1010cm^{-1} (w)および 1035cm^{-1} (vw)にピークが観察された。これらのスペクトルはOCPを灰化処理して得られたスペクトルと一致した。また,6日齢の試料では 960cm^{-1} (vs)にピークが観察され,HAに類似したスペクトルを示した。さらに,12週齢の試料では 960cm^{-1} (vs)および 1044cm^{-1} (w)にピークが観察され,HAに特徴的なスペクトルを示した。

図4 プラズマ灰化処理によるラット頭頂骨試料のラマンスペクトル

3.3 合成標準試料の1000°C加熱処理

合成HA, β -CPPおよび β -TCPは1000°C加熱処理によってまったく変化が見られず,それぞれに灰化処理後と同様の特徴的なラマンスペクトルを与えた(図1)。

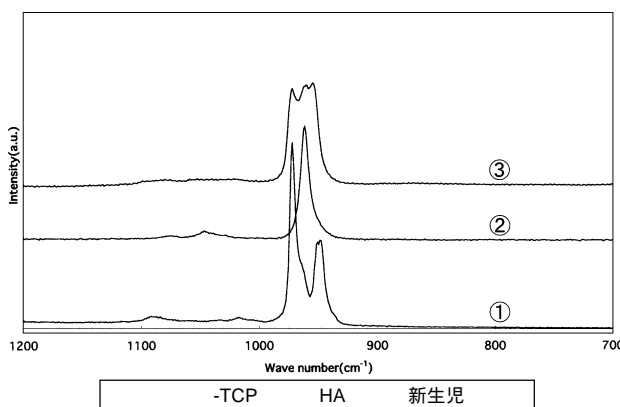
一方,OCPの場合は,1000°C加熱処理によって 946cm^{-1} (s), 948cm^{-1} (s), 970cm^{-1} (vs)にピークを示し,処理前後で全く異なるスペクトルが観察された(図2)。これは β -TCPのスペクトルと一致することから β -TCPが生成されたと考えられた。

また,brushiteの場合には,灰化処理後観察されたスペクトルは1000°C加熱処理によっても変化が見られず,合成標準試料の β -CPPのスペクトルと一致していた(図1-および図3-)。

3.4 頭頂骨試料の1000°C熱処理

胎児,新生児の頭頂骨試料では,1000°C熱処理により, 971cm^{-1} (vs), 959cm^{-1} (vs)および 953cm^{-1} (vs)にピークをもつスペクトルが観察された。新生児試料において得られたスペクトルを図5に示した。これらのピークは,HAおよび β -TCPに基づくものと考えられた。

これらの結果から新生児ラット頭頂骨試料中にOCPが存在していることが推察された。



新生児の頭骨試料では,1000°C熱処理により, 971cm^{-1} (vs), 959cm^{-1} (vs)および 953cm^{-1} (vs)にピークをもつスペクトルが観察された。これらのピークはHAおよび β -TCPに基づくものとして考えられた。

図5 1000°C熱処理による新生児ラット頭頂骨試料のラマンスペクトル

4

まとめ

プラズマ灰化処理して得られた胎児(妊娠19日)および新生児試料のラマンスペクトルは同様に灰化処理したOCPのラマンスペクトルと一致した。また,6日齢および12週齢の試料ではHAに特徴的なスペクトルが観察された。1000°C加熱処理した新生児試料からはHAおよび β -TCPに基づくラマンスペクトルが得られた。以上のことから,ラット頭頂骨の形成初期段階においてOCPがHAの前駆物質として存在することが強く示唆される結果が得られた。

なお,本研究によって得られた結果は,生体試料中の無機質成分の検索に,顕微レーザーラマン分光法が極めて有用であることをしている。

なお,本稿の結果の一部は第4回分析化学東京シンポジウム・2000 機器分析東京討論会(東京)にて発表済みであり後に原著として投稿の予定である。

脚注

- 1)HA(hydroxyapatite): $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
- 2)OCP(octacalcium phosphate): $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- 3) β -CPP(β -calcium pyrophosphate): $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$
- 4) β -TCP(β -tricalcium phosphate): $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
- 5)ピーク強度 vs : very strong, s : strong, m : medium, w : weak, vw : very weak
- 6)Brushite : $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



田村典洋

Norihiro TAMURA, M.D.

明海大学
歯学部
歯学博士



笥 光夫

Mitsuo KAKEI, PhD

明海大学
歯学部
理学博士



伊藤久昭

Hisaaki ITO, M.D.

城西大学
薬学部
医学博士



横山政昭

Masaaki YOKOYAMA

株式会社堀場ジョバンイボン
アプリケーション・エンジニア

顕微レーザーラマン分光分析装置 LabRam による バイオサンプル分析

Analysis of Biosamples Using the “LabRam” Laser Raman Spectroscopy System

横山政昭* , 田村典洋**

* 株式会社堀場ジョバンイボン ** 明海大学

生体サンプルを乾燥させることなく測定できるラマン分光分析はバイオの分野でも注目されていた。しかし、今までの装置は測定テクニックが煩雑で、研究者からは敬遠されてきた。顕微レーザーラマン分光分析装置 LabRam は、こうしたラマン分光分析に対する多くの研究者のニーズに応え、必要以上の波数分解能・低波数測定能を抑え、迅速・簡便・高感度を実現した顕微専用ラマン装置である。ここでは、ホリバグループのひとつであるジョバンイボン社(フランス)製の顕微レーザーラマン分光分析装置 LabRam を用いた測定例を紹介し、バイオサンプルに対するラマン測定の有用性を述べる。

Although Raman spectroscopic analysis has attracted attention in biological fields because of its ability to measure biosamples without drying them, the complexity of the measurement technique required by previous instruments has prevented this method from coming into wide use among researchers. Responding to the needs of many researchers for convenient Raman spectroscopic analysis, the LabRam laser Raman spectroscopy system eliminates unnecessary resolution wave number and low wave number measurement to achieve a quick, convenient, high-sensitivity Raman system. In this article I would like to present an example of measurement using the LabRam laser Raman spectroscopy system, which is manufactured by Jobin Yvon S. A., and discuss the effectiveness of Raman spectroscopy in measuring biosamples.

1

はじめに

物質の組成や化学構造を分析する汎用法として、赤外線吸収分光分析(IR分光分析)とラマン分光分析が一般的である。いずれも化学結合の振動エネルギー状態を測定する手法であるが、パソコンの普及した今日ではフーリエ変換赤外分光分析(FTIR)が最も身近な化合物(とくに有機物)の機器分析法になっている。しかし、IR分光分析は水やガラスの赤外線吸収による影響が強いため、バイオ分野の分析(とくに *in vivo* 分析)には制限がある。一方、ラマン分光分析は励起光および測定光(ラマン散乱光)としてこれらの妨害が少ない可視光を使えるため、バイオの分析に有効である。

しかし従来のラマン分光分析装置は微弱なラマン散乱を捕らえるため、装置が複雑で測定に長時間を要するなど問

題が多かった。また、微弱なラマン散乱を捕らえ易くするため、励起エネルギーを強くすると、サンプルへのダメージが大きくなるという欠点に加え、蛍光の強いサンプルの場合は、肝心のラマン散乱が確認しにくいという問題もあり、バイオ分野には十分に普及していない。

ホリバグループのひとつであるジョバンイボン社(フランス)では、最近のレーザー技術や CCD 検出器を駆使して、より少ない照射での高感度・短時間測定を実現した顕微レーザーラマン分光分析装置 LabRam を製品化した。本装置は、ラマン分光分析になじみの薄い研究者・技術者でも容易に使いこなせるように設計されており、バイオの分野における基本的な機器分析装置の一つとして注目されている。

2

バイオ分野の実測例

2.1 ゆで卵の白身の分析

生体サンプルのラマン分光分析とIR分光分析における水分の影響を比較する場合、両者の差は、ゆで卵の各部位を測定した例を示すとわかりやすい。

ゆで卵の薄皮を LabRam とホリバ製 FTIR (FT-700) で分析すると、いずれもたんぱく質に由来するピークを持つスペクトルが得られる(図1・および図2・)。

黄身を同様に2種類の分析方法で測定すると、たんぱく質と各種色素等のピークが加算されたやや複雑なスペクトルが得られる(図1・および図2・)。2つのスペクトルを比較するといずれの測定方法にも共通するピークをいくつか確認でき、どちらの測定方法も同じ化学結合のエネルギーを測定していることが示唆される。

ところが、白身を測定すると、2つの測定方法による結果には明らかな違いが生ずる。ラマンスペクトルはたんぱく質由来のピークを示し、薄皮のラマンスペクトルと類似している(図1・)。それに対しFTIRで測定すると、得られるスペクトルはほとんど水のスペクトルと同じで、 1600cm^{-1} 付近のたんぱく質に由来するピークが隠蔽されてしまう(図2・)。ゆで卵の白身は多量に水分を含んだたんぱく質であり、このような状態でのたんぱく質を測定することが目的の場合は、水の影響を受けにくいラマン分光分析が目的の測定に適している。反対に有機物中に含まれる水を確認する場合などはFTIRの方が目的に適合している。

バイオサンプルの多くは、生命活動に由来したもので、乾燥させると変質する物が多く、湿潤環境下での測定が望まれる。水分を含んだ状態で、水分以外の物質の情報を得易いラマン分光分析は多くのバイオサンプル測定に適した分析方法である。

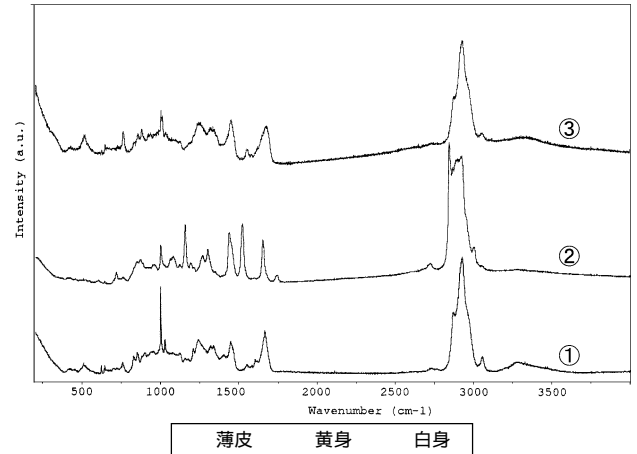


図1 ゆで卵各部位のラマンスペクトル

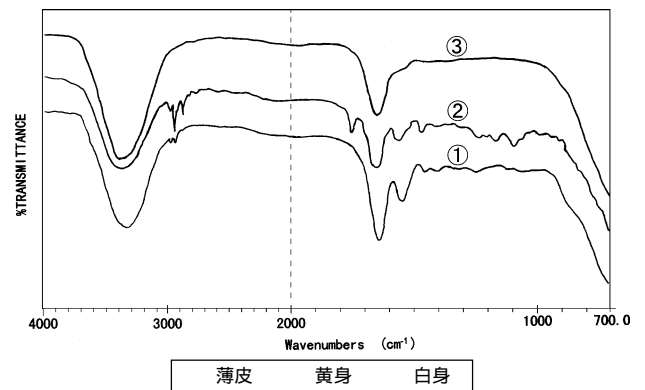


図2 ゆで卵各部位のIRスペクトル

2.2 子供用栄養補助食品中の鉄化合物の形態分布の測定

顕微レーザーラマン分光分析装置 LabRam を用いて、湿潤状態における鉄化合物の形態分布を測定した例がある。これは子供の鉄栄養補助食品に含まれている鉄の酸化物の形態分布をラマン分析(マッピング測定)で調べたものである。鉄の酸化物は一般的に、Hematite(Fe_2O_3] 三酸化鉄] と Magnetite(Fe_3O_4] 四酸化鉄] の2種類の存在形態が知られており、形態によって溶解度や体内吸収率、体内転流速度などが変わってくる可能性がある。そこで、子供用栄養補助食品中の鉄酸化物の形態分布を LabRam で測定した。

Hematite は 400cm^{-1} に、Magnetite は 670cm^{-1} にそれぞれ特徴的なピークを有し、両者に共通して 190cm^{-1} にピークが存在する。これらをそれぞれマッピングすることで鉄酸化物の2種類の形態がどのように分布しているか把握することができた(図3)。さらにこの状態から、消化酵素の添加・生体内環境変化模試(pH, 酸化還元電位等)など、研究の目的に応じて追求していくことも可能であろう。

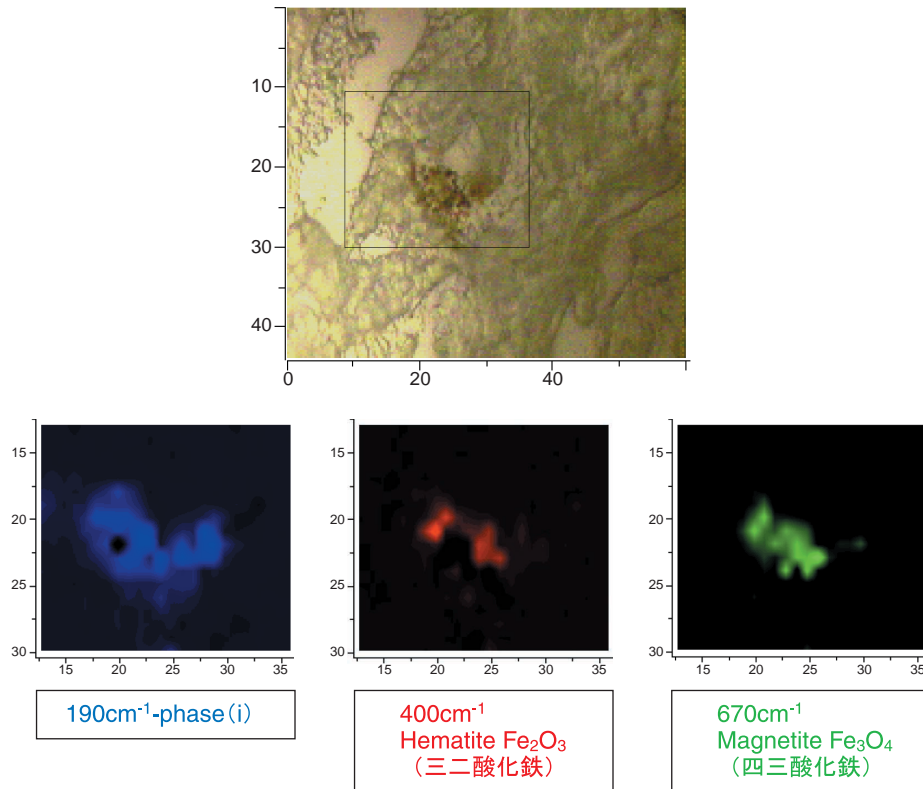


図3 LaRam による子供用鉄補給栄養補助食品の鉄酸化状態の測定例

3

バイオサンプルに有効な測定手法

3.1 効果的な熱発散

ラマン分光分析においては、励起光のエネルギーが高いためサンプルによってはダメージを受ける恐れがある。ダメージは主に光照射によるサンプルの急激な温度上昇が原因であり、うまく熱を逃がすことができればほとんどの問題は解決する。とくにバイオサンプルでは、「サンプルを水中に入れて測定する」「サンプルが充分湿潤な状態で測定する」など水を利用した方法が有効である。乾燥したサンプルでも水に浸潤させて測定すると多くの場合、サンプルのダメージを軽減できる。

また、サンプルをカバーガラスのような薄いガラスで覆って測定すると、水分の蒸発を防ぐ。ガラスにより照射エネルギーが若干弱くなる。熱がガラスを伝わって逃げ易くなる。といったサンプルのダメージを抑える効果が期待される。

このように水・ガラス越しの測定が可能というラマン分光分析の最大の特徴を利用して、サンプルのダメージを防ぐことができる。

3.2 励起光の波長選択による蛍光影響の除去

蛍光による妨害もラマン測定の問題の一つである。バイオサンプルの場合、乾燥することによって蛍光が強くなる物質も多く、湿潤状態で測定することで蛍光妨害の回避になることもある。ラマン分光分析ではサンプルから発する蛍光により、ラマンピークが隠蔽されることがある。とくにバイオサンプルでは、乾燥させることで蛍光の影響を強くしてしまう場合が少なくない。

蛍光妨害の回避の最も有効な方法は、励起光の波長を変える方法である。ラマンスペクトルは励起光とラマン散乱光のエネルギー(波数)の差で求められるため、励起波長をシフトすればラマン散乱光の波長もシフトする。しかし、蛍光は励起波長が変化しても蛍光波長に変化はない。したがって、ラマン散乱光の波長が蛍光波長とずれるように励起光の波長を切り替えて測定すると、蛍光による妨害影響を取り除くことができる。

図4に緑茶のペットボトルのラマンスペクトルを示す。これを514nmの緑色のレーザーで励起してラマンスペクトルを測定すると、緑色の蛍光に隠れてしまいPET固有のラマンピークは確認しにくい(図4・①)。一方、785nmの近赤外線での励起した場合は、きれいな緑色PET固有のラマンスペクトル(PETと色素等添加物のピーク)が得られる(図4・②)。

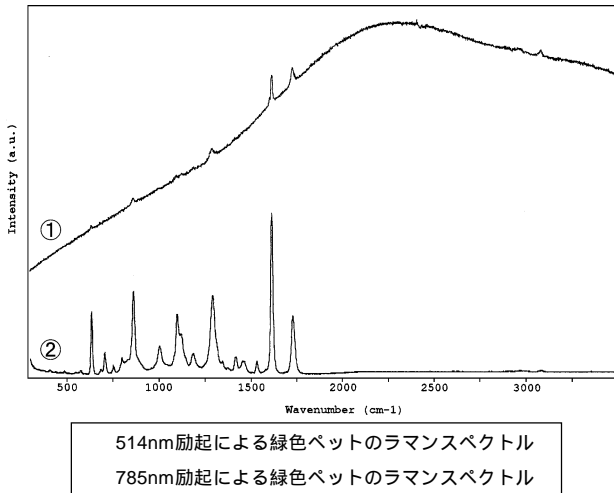


図4 緑色ペットボトルのラマン分析の際の励起光切り替えによる蛍光影響の削減効果

このように、ジヨバンイボン社製の顕微レーザーラマン分光分析装置 LabRam は2種類の励起波長を簡単に切り替えることができるシステムになっているため、蛍光を発生するサンプルへの対応も迅速簡便である。さらにこの機能は、ラディエーションダメージの影響を受けやすいバイオサンプルの測定の際に、励起光を長波長側に切り替えることによりダメージを軽減化する効果も期待できる。

4

おわりに

ラマン分光分析がバイオサンプルに有効なことは比較的早くから知られていたが、実際に研究開発の現場で広く使われるまでには至っていない。近年、レーザーや検出器の技術の向上にとともに、ラマン測定装置の性能は著しく改良されてきているが、バイオ分野におけるラマン分光分析の有用性が十分に認識されているとはいえない。本稿がラマン分光分析普及の一助になることを願っている。

参考文献

- [1] 尾崎幸洋 編集
「実用分光法シリーズ ラマン分光法」
1998年、(株)アイピーシー発行
- [2] 浜口宏夫・平川睦子 編集
「日本分光学会測定法シリーズ 17 ラマン分光法」
1988年、(株)学会出版センター発行



横山政昭

Masaaki YOKOYAMA

株式会社堀場ジヨバンイボン
アプリケーション・エンジニア



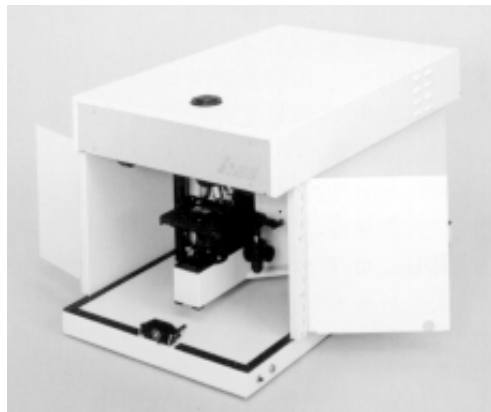
田村典洋

Norihiro TAMURA, M.D

明海大学
歯学部
歯学博士

顕微レーザーラマン分光装置 LabRam シリーズ

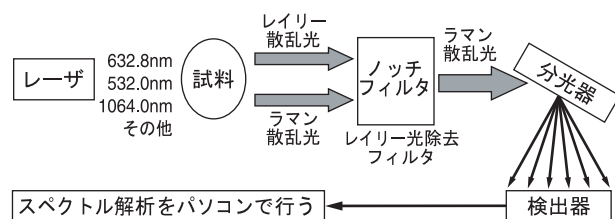
半導体やダイヤモンド・ライク・カーボン(DLC)膜の評価をはじめ、フィルムの配向、生体高分子の二次構造の決定、新物質の構造解析などに用いられる装置です。測定原理として、物質にレーザー光を照射し、出てきた散乱光を測定するラマン分光法を採用。またさまざまな分析者のニーズを最優先に、最新の技術を導入し短時間で高感度な測定を可能にしています。



ラマン分光法の優れている点は、他の化合物分析法と比べてサンプルの準備が非常に簡単、短時間で高精度な測定が可能、といったことがあげられます。しかし、照射するレーザー光に比べて、ラマン散乱光の強度が非常に微弱なため、特に高性能な光学系が必要となります。LabRam シリーズは、光学関連技術に優れた実績をもつホリバグループのひとつであるジョバンイボン社(フランス)の光学系をベースにしており、これまでも世界中で幅広く利用されています。

ホリバが提供する LabRam シリーズは、短時間で高感度な測定を実現した顕微レーザーラマン分光装置です。光関連の設計者はもとより、さまざまな分析者のニーズに応えます。

測定原理

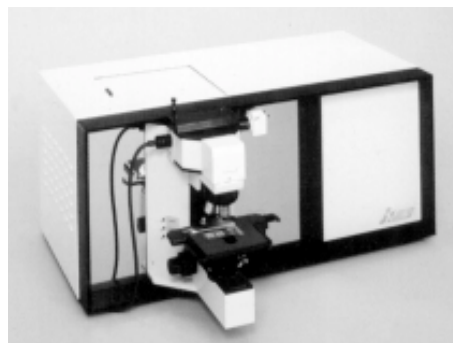


特長

(注：LabRam Infinity の場合)

1. コンフォーカルなポイントでのマッピングを可能に。
2. オペレータからレーザー光源を完全遮断した構造により、万全のレーザー光安全性を実現。
3. 可視から近赤外までの2波長レーザーを装着可能(442 ~ 785nm)。
4. レーザー照射およびグレーティングほか、全自動コンピュータ制御。
5. 独自の水平顕微鏡とマクロアタッチメントにより、液体サンプルセル、広面積分析、などの測定を可能に。
6. LabRam オプション転用可能。
7. ルーチン分析のための操作管理プログラム等オプション対応可能。

LabRam シリーズには、フルオートの LabRam Infinity (写真上)のほか、マニュアル操作の LabRam IB や LabRam HR-800 (写真下) もあります。

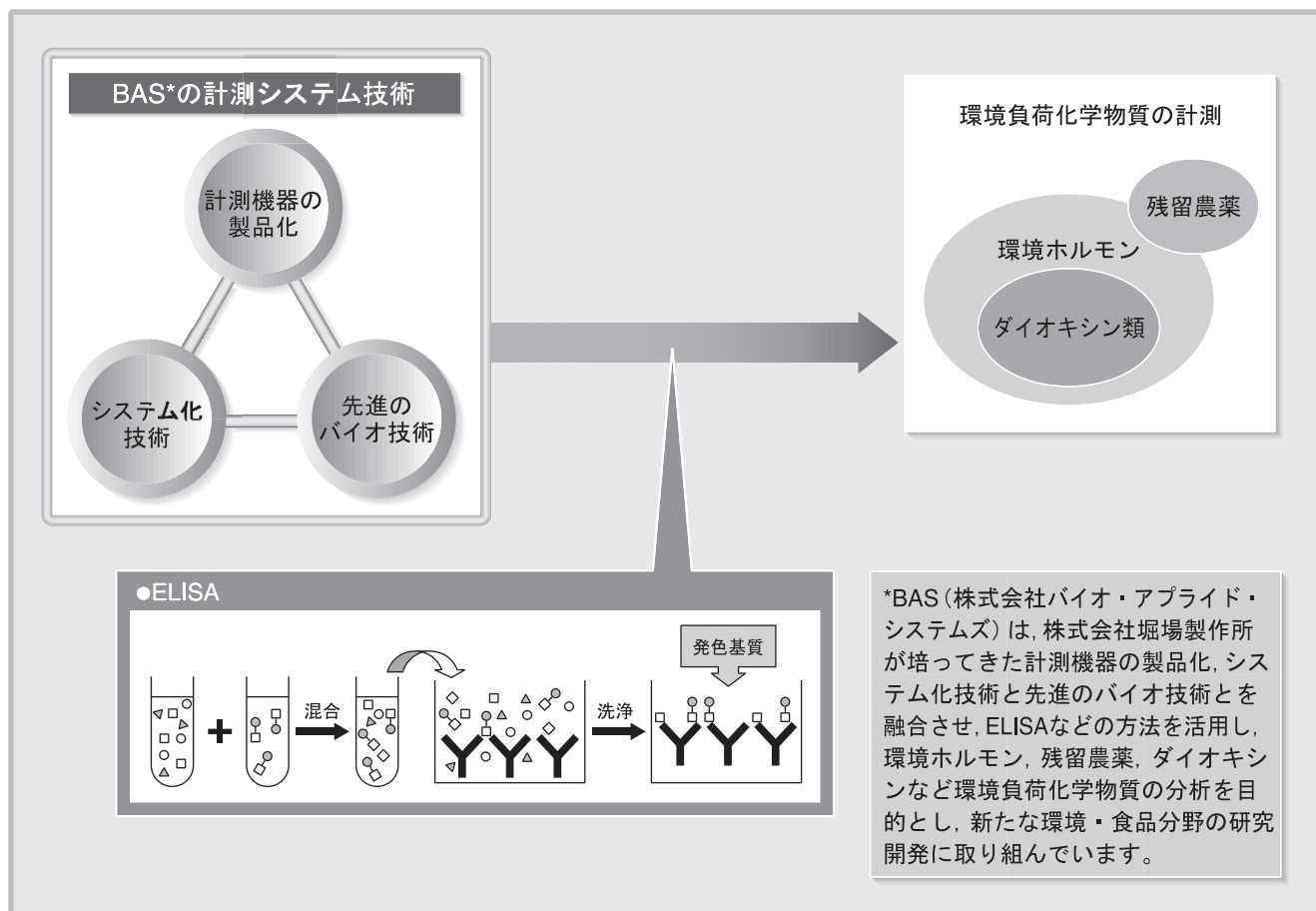


抗原抗体反応を利用した微量化学物質の分析と 食品・環境分野への応用

Analysis of Trace Amount of Chemical Compounds Utilizing Antigenantibody
Reaction and its Application to the Fields of Food and Environment

三宅 司郎*

* 株式会社 バイオ・アプライド・システムズ



要旨

環境や食品に含まれる残留農薬や環境ホルモンなどの微量化学物質を、正確かつ迅速に測定するための分析技術が求められている。最近、ELISAは、これらの要求を満たす分析法として注目されており、株式会社バイオ・アプライド・システムズにおいて精力的に開発が進められている。本稿では、その測定原理を解説するとともに、微量化学物質測定への応用展開について紹介する。

Abstract

Analytical technology has been required for accurate and rapid determination of trace amount of chemical compounds, such as residual pesticides or endocrine disruptures, contained in foods and environments. Enzyme linked immuno-sorbent assays (ELISA) have been recently focused as assay methods for their determination, and development of the reagents are energetically proceeded by Bio Applied Systems Inc. In this article, principle of the assay method and its application to the trace amount of chemical compounds determination are introduced.

1 はじめに

英国で社会恐慌をきたした狂牛病が、国内でもついに発生した。政府はこの緊急の事態に対応するために、検査体制を急ピッチで整備している。狂牛病は、プリオンという特殊なたんぱく質によって引き起こされることから、その存在を確認することによって感染の有無を判定することが出来る。プリオンのような特殊なたんぱく質を測定する方法として、代表的なものに免疫化学測定法がある。狂牛病の検査においても、ELISA(Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay)やウエスタンブロット(Western Blotting Detection System)という免疫化学測定法を用いてプリオンの存在量が測定されている。

免疫化学測定法という言葉聞き慣れない方もおられるかもしれないが、医学・生化学・薬学などの分野で汎用されている測定法である。本法は、たんぱく質ばかりでなく薬物のような低分子のものからウイルス・細菌などの微生物まで、広い範囲の物質(微生物)の測定や検出に用いられている。病院で行われる臨床検査もかなりの種類が免疫化学測定法によってなされており、私たちにとって実は大変身近な測定技術なのである。たとえばホリバが開発した自動血球計数CRP測定装置LC-175CRPの測定項目である炎症マーカー「CRP」についても、ラテックス凝集法という免疫化学測定法が応用されている。

株式会社バイオ・アプライド・システムズ(BAS)では、免疫化学測定法の中でもELISAに着目し、これを応用した環境負荷化学物質(農薬・環境ホルモンなど)の迅速・高感度な測定技術の開発を進めている。本測定法は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)やガスクロマトグラフィー(GC)を用いた従来法と違い、サンプルの前処理がほとんどいらぬことから、迅速・簡便かつ廉価な測定方法といえる。本稿では、BASが開発を進めている環境負荷化学物質測定キットのためのELISA技術について紹介する。

2 ELISAの測定原理

2.1 抗体

ELISAの測定原理を説明するためには、まず抗体というたんぱく質の性質を理解しなければならない。

私たちは、なぜ風邪をひいてもすぐに治るのだろうか? この問いに対する答えは、「体内の免疫系が働き風邪の原因ウイルスを排除するから」である。免疫系で重要な役割を担っているのが、抗体と呼ばれる可溶性のたんぱく質である。ウイルスなどの微生物が体内に侵入すると、免疫系ネットワークが作用し微生物を排除すると同時に、その微生物を特異的に認識する抗体の産生が始まる。抗体は、血液やリンパ液の中で体内を駆け巡りながら侵入した微生物と結合し、これを不活化させるとともに免疫系ネットワークを活性化させる。予防接種は、病原微生物に対する抗体をあらかじめ体内で作らせておくということである。

抗体は、生体中に存在しない外来たんぱく質など高分子化合物を鋳型(免疫原)にして産生される。しかし、低分子化合物でもたんぱくと結合させることで抗体を産生できる場合があり、このような化合物をハプテンと呼ぶ。BASではこの現象を利用して環境負荷化学物質に対するハプテンを合成し、抗体を作製している。

2.2 測定プロセス

ELISAには数多くの変法があるが、環境負荷化学物質の測定には直接競合ELISA(図1)を用いることが多い。

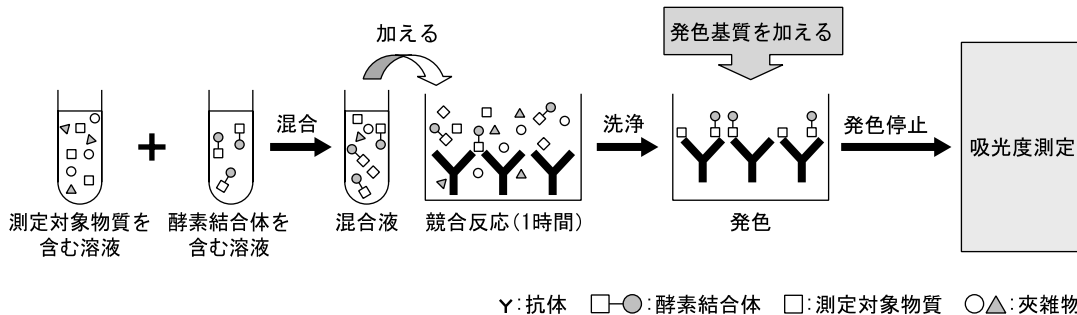


図1 直接競合ELISAによる測定の模式図

直接競合 ELISA は、以下(1)~(5)の5つの過程を経て測定が行われるが(1)と(2)はあらかじめ試薬化しており、実際の測定は(3)~(5)の過程だけでよい。

(1) 抗体の固相化

測定対象物質と特異的に結合する抗体をプラスチック容器(図2)の底面に固定化する。

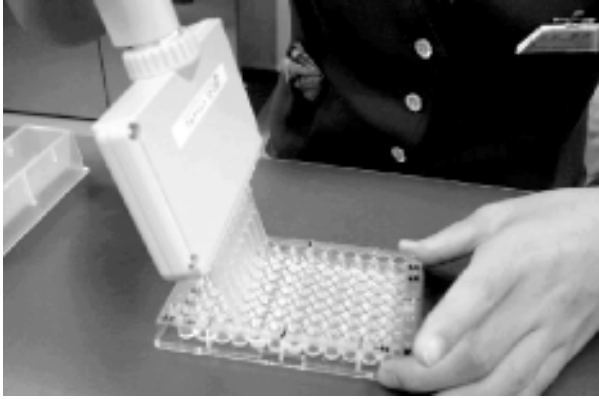


図2 プラスチック容器への抗体固相化風景

(2) 酵素による測定対象物質の標識化

測定対象物質のカルボン酸誘導体を合成し、酵素(西洋ワサビペルオキシダーゼ)のリジン(酵素を構成するアミノ酸の一種)残基と共有結合(酵素結合体)させる。

(3) 競合反応

測定対象物質を含む溶液と酵素結合体の溶液とを試験管中で混合する。この混合液を抗体固相化済みのプラスチック容器中に加えて、競合的に反応させる。1時間程度反応させた後、抗体と未反応な物質を洗浄操作によって取り除く。

(4) 発色反応

洗浄した容器に酵素の発色基質を加える。固相化抗体へ酵素結合体が結合していると、酵素反応によって発色基質が着色する。測定対象物質の濃度が高いと酵素結合体の抗体への結合量が減り着色しないが、測定対象物質の濃度が低い場合は逆に着色の程度が増す。

(5) 対象物質の測定

発色反応における着色の程度は測定対象物質の濃度に依存することから、両者の関係をグラフ化し標準曲線を作成することができる。未知試料中の物質の測定は、その試料の発色結果を標準曲線(図3)と比較することによって行う。

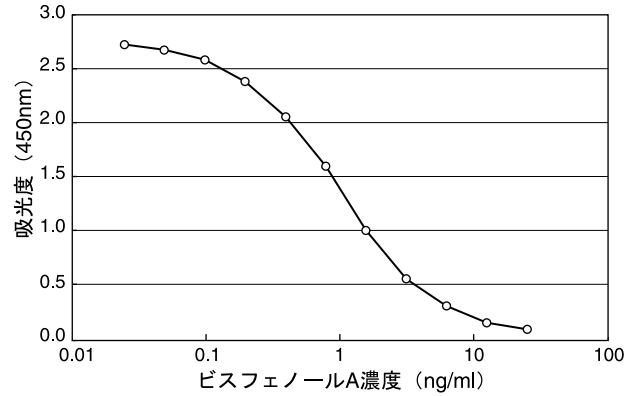


図3 ELISAによるビスフェノールAの測定(標準曲線)

3 試料の測定

3.1 液体試料

試料が液体の場合は、その1ml程度を濾過するのみで(清澄な場合は不要)ELISAへ供試することができる(図4a)。また、試料が粘張性を帯びている場合は、適宜希釈する必要がある。

一方、従来法のHPLCやGCは、500mlから1000ml程度の試料から対象物質を抽出・濃縮しなければならず、サンプリングと前処理に多大な労力と時間を必要とする。ELISAでは、これらの負担を大幅に軽減できる。

3.2 固形(食品・土壌)試料

試料が固形物の場合は、ELISAにおいても測定対象物を抽出する必要がある(図4b)。その際、抽出溶媒にはメタノールを用いる。試料の2.5倍以上のメタノールで抽出し、濾過もしくは遠心分離によって上清を得る。これを試料希釈液によってメタノール最終濃度が10%以下となるように希釈し、ELISAへ供試する。

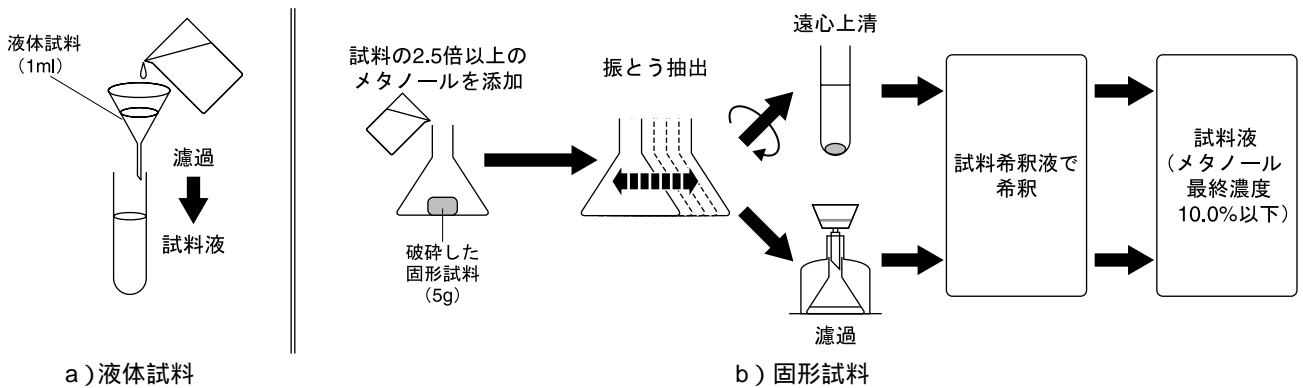


図4 試料の前処理法

固形試料の前処理は液体試料と比較してやや煩雑ではあるが、HPLCやGCでは通常3段階程度の抽出・精製を繰り返さねばならず、これらの負担を大幅に軽減できる。したがってELISAは、食品流通時の農薬残留分析など迅速性が必要であったにもかかわらず、それに答える測定法のなかった分野で、とりわけ有効な測定法といえる。

4 ELISAの展開

ELISAは、環境や食品に含まれる微量化学物質を迅速かつ簡便に検出することができる。BASでは、神戸大学遺伝子実験センターの大川秀郎教授との共同研究の成果に基づき、内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)の一つといわれているビスフェノールAをはじめ、各種の環境負荷化学物質に対する免疫化学測定キットの開発を進めている。

またBASは、堀場製作所が2002年12月に株式会社環境免疫技術研究所より購入した環境負荷化学物質への免疫化学測定法に関する研究成果を利用し、免疫化学測定キットの製品化と食品・環境分野への展開を計画している。食品の生産や流通現場などで手軽に扱うためには、簡単な読取器や試薬に合わせた専用ソフトの開発も重要である。この点については、親会社である堀場製作所が蓄積してきたノウハウが活用できる。

5 おわりに

ELISAは、従来環境負荷化学物質の測定に用いられてきたHPLCやGCと比較し、迅速・簡便・廉価な測定手段を提供できる。しかし、その開発には対象物質のハプテンの合成(有機化学合成技術)、抗体作製(ポリクローナル抗体・モノクローナル抗体・遺伝子組換え抗体作製;生化学的・遺伝子工学的技術)、測定系開発(試薬化技術)、周辺装置開発とそれぞれ専門性の高い技術の組み合わせが必要である。BASでは、分析・医学・農学・電子工学などの専門家が日々議論を重ねELISA開発に取り組んでいる。



三宅司郎

Shiro MIYAKE, PhD.

株式会社バイオ・アプライド・システムズ
医学博士

会社案内

株式会社バイオ・アプライド・システムズ

Bio Applied Systems Inc.

設立 / 2000年6月30日

代表者 / 代表取締役社長 富田勝彦

資本金 / 5,000万円(株式会社堀場製作所全額出資)

人員 / 9名(2002年2月13日現在)

概要

バイオ・アプライド・システムズは環境ホルモン、残留農薬、ダイオキシンなど環境負荷化学物質の高感度分析をビジネスターゲットとして設立された市場・技術創造型のベンチャーカンパニーです。当社は、堀場製作所が培ってきた計測機器の製品化、システム化技術と先進のバイオ技術とを融合することで、環境・食品分野の新たな市場開拓を目指し、研究開発に取り組んでいます。また、当社は、環境負荷化学物質の分析に関し、豊富な研究実績をもつ大川秀郎神戸大学教授が取締役として参画しています。大川先生の研究成果や、先般堀場製作所が購入した経済産業省の基盤技術促進センターが支援する株式会社環境免疫技術研究所の研究成果に基づく開発、そして実用化を速やかに進めていきます。

ガス分析装置における検量線作成システム

【登録番号】特許 第 3131406 号 【発明者】岡田 薫

【分野・目的】

本発明は、エンジン排ガス測定装置などのガス分析装置において、検量線を自動で作成する技術に関し、オペレータがガス分析装置の検量線を作成する際に、オペレータの望む条件で結果を表示することを可能とし、高精度な検量線を簡単に作成することができる使い勝手のよい検量線作成システムを提供することである。

【概要】

本来、検量線を作成する際には、多項式の次数、規格に基づく評価の基準、演算フィット基準の条件を設定する必要がある。

従来の検量線作成システムにおいては、これらの条件をユーザが任意に設定することができないという不都合があった。

さらに、従来のガス分析計における検量線作成システムにおいては、測定によって選ばれたデータ、現在の検量線に関する情報および新しく作成される検量線(推奨される検量線)のそれぞれを同時に同一画面上に表示することができなかった。

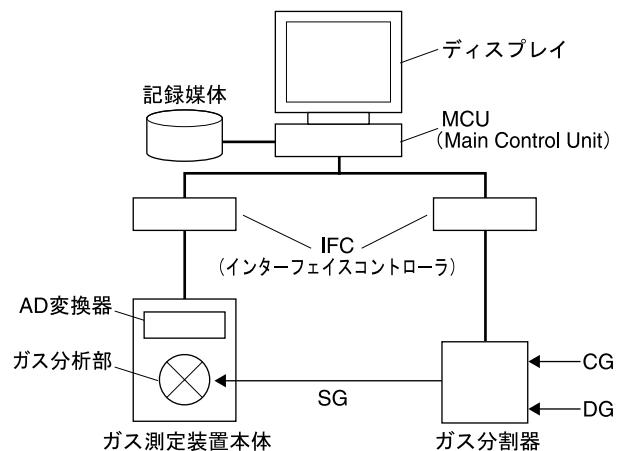
このような不都合を解消するために、本発明では、リニアライズ演算の次数・規格に基づく評価の基準、および演算フィット基準の条件設定を適宜変更するための設定変更キー等の手段を、検量線を作成するメニュー表示画面に設けている。

【効果】

これによって、ユーザにとって使い勝手よく、高精度な検量線の作成を容易に行うことが可能となると同時に、測定データに加えて現在の検量線と新しい検量線(推奨される検量線)を同時に同一画面上に表示させる機能を設けたことで、これらの検量線を比較判定しやすくなった。



検量線作成画面



本発明を実施するための装置の一例

社外技術発表リスト

口頭発表

2001年7月～12月

標 題	氏 名	発表機関 [開催場所]	発表日
PFC排出量測定のためのFTIRの最適化について	佐竹 司	日本半導体製造装置協会PFC対策委員会 [日本半導体製造装置協会 大会議室]	7/4
各種粒子径分布測定手法とその原理 HORIBA 粒子径分布測定装置ラインナップの紹介	中山かほる	花王インハウスセミナー [株式会社花王]	7/19
あらゆる粉体計測ニーズのソリューションを提供する 堀場の製品ラインナップ	中山かほる	セラミックス協会関西支部交流タイム [メルパルク大阪]	8/24
GDS-OESを用いた測定例	平野彰弘 内原 博 池田昌彦	第578回研究討論会 [日立製作所]	8/30
超微量PM分析装置を用いた 粒子状物質計測法の考察	福島宏和 浅野一郎 中村成男	日本機械学会2001年年次大会学術講演会 [福井工業大学]	8/30
強力X線源の開発 [V]	永富隆清*1 嶋田智和*1 木村吉秀*1 高井義造*1 粟田正吾 万木利和 大堀謙一	第62回応用物理学会学術講演会(秋季) [愛知工業大学]	9/1
強力X線源の開発 [VI]	永富隆清*1 嶋田智和*1 木村吉秀*1 高井義造*1 粟田正吾 万木利和 大堀謙一	第62回応用物理学会学術講演会(秋季) [愛知工業大学]	9/1
表面酸素分析における事前加熱法と 2段加熱法との比較	坂東 篤 内原 博	鉄鋼協会フォーラム [NKK 本社]	9/4
セラミックス分析機器の原理と最近の動向	池田昌彦	滋賀ファインセラミックスフォーラム [龍谷大学]	9/4
簡単操作の新型CRYSTAL(微小部結晶方位 マップ測定装置:EBSD)の紹介	村瀬 潤	分析展新技術説明会 [幕張メッセ]	9/5
ICP発光分析法による材料分析 - 高塩試料および有機溶媒試料 -	田中 悟	分析展新技術説明会 [幕張メッセ]	9/6
多重反射を用いた血中ヘモグロビン量センサの 思索と特性評価	野田俊彦*2 高尾英邦*2 足木光昭*2 宮村和宏 澤田和明*2 石田 誠*2	第62回応用物理学会学術講演会 [愛知工業大学]	9/11
超低公害・高効率エンジンシステムおよび 燃料電池システムに対する計測技術	足立正之	日本機械学会関西支部第250回講習会 [大阪科学技術センター]	9/13
Monte Carlo Modeling of X-ray Generation by Electron Impact	永富隆清*1 嶋田智和*1 木村吉秀*1 高井義造*1 粟田正吾 万木利和 大堀謙一	ECASIA'01, 9th European Conference on Applications of Surface and Interface Analysis [Avignon, France]	9/30- 10/5
物質解析技術開発における信頼性確保と標準物質	池田昌彦	計量標準総合センター講演会 (NMIJ 研究講演会) [虎ノ門三会堂]	10/4
超短納期企業への挑戦	細居憲一	平成13年度標準化と品質管理全国大会 [日本規格協会]	10/16
分析・計測機器メーカーからの効果的で スピーディな技術情報の発信 技報の編集・発行における新たなこころみ	伊藤省二 三上慶子 Brian McCaleb*3 小野奈津代*4	第38回情報科学技術研究集会 [日本科学未来館]	10/18
堀場走査電子顕微鏡用分析装置 EDX、WDX及びEBSD	村瀬 潤	日製産業材料解析セミナー [札幌組合卸センター]	10/18
A Silicon Microchip for Blood Hemoglobin Measurement Using Multireflection Structure	野田俊彦*2 高尾英邦*2 足木光昭*2 宮村和宏 澤田和明*2 石田 誠*2	The fifth International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis System [Monterey Conference Center]	10/21 -25
Microbial assay based on silicon transducer	関 篤志*5 野村 聡	第4回日仏バイオセンサー・バイオエレクトロニクス 会議 [東京大学先端科学技術研究センター]	10/23 -26
Development of a Durable Sensor for Blood Cell Counter Using Mems Technology	松田耕一郎 佐竹大輔 衣斐寛之 高尾英邦*2 足木光昭*2 石田 誠*2	第4回日仏バイオセンサー・バイオエレクトロニクス 会議 [東京大学先端科学技術研究センター]	10/23 -26
メタン・ノンメタンの計測法について	宮井 優	日本機会学会関西支部第126回 内燃懇談会 [大阪ガストーム ガスシティビル]	10/27
分析所の信頼性とその動向 - One stop Testing (MRA)から標準物質に関する最近の動き -	池田昌彦	分析技術研究会見学講演会 [堀場製作所]	10/31

標 題	氏 名	発表機関 [開催場所]	発表日
現場データ報告 動的光散乱式粒径分布測定装置 LB-500 によるナノ粒子の測定	小倉淑子 山口哲司 梅沢 誠	粉体工学会 [コスモスクエア国際交流センター]	11/7
β線吸収法を用いた PM25 測定装置の開発	篠原政良	INTERMAC 2001 [東京ビッグサイト]	11/7
微小部 X 線分析における最新技術のご紹介と最新応用例	村瀬 潤	科学機器展 [インテックス大阪]	11/8
あらゆる粉体計測ニーズのソリューションを提供する堀場の製品ラインナップ	中山かほる	粉体工業展製品技術説明会 [インテックス大阪]	11/8
世界初！機能性微粒子の組成・粒径・個数同時測定による新粒子解析手法	光成京子	粉体工業展製品技術説明会 [インテックス大阪]	11/9
微小部結晶方位マップ測定装置 11/9 技術総合研究所 関西センター]	中田 靖	日本表面科学会第 4 回実用表面分析セミナー [産業]	
銅製錬の工程制御に用いる蛍光 X 線分析装置の自動化システム	吉良昭道	INTERMAC 2001 [東京ビッグサイト]	11/9
pH イメージング顕微鏡及び X 線分析顕微鏡によるう蝕象牙質の表面観察	平石典子*6 北迫勇一*6 二階堂 徹*6 田上順次*6 野村 聡	日本歯科保存学会 2001 年秋季学会 [福岡市民会館]	11/9
Monte Carlo Modeling of X-ray Generation on Electron Bombardment	永富隆清*1 嶋田智和*1 木村吉秀*1 高井義造*1 粟田正吾 万木利和 大堀謙一	ALC '01, 3rd International Symposium on Atomic Level Characterization for New Materials and Devices '01 [奈良県新公会堂]	11/12 -14
Multi-parameter Water Quality Monitoring Sensor	山敷庸亮*7 小林剛士	第 9 回世界湖沼会議 [大津プリンスホテル]	11/12 -14
Multi-parameter Water Quality Monitoring Sensor	山敷庸亮*7 小林剛士	富栄養湖の復元とマネージメントに関する国際ワークショップ 中国 昆明 昆明ホテル]	11/19 -21
イオンセンサーの開発と分析装置の実用化・化学センサーの実用化にあたって	青海 隆	日本分析化学会第 50 年会 [熊本大学]	11/23
植物発芽直後の根周辺における pH 変化の pH イメージング顕微鏡による観察	河野吉久*8 野村 聡	日本分析化学会第 50 年会 [熊本大学]	11/25
河川、湖沼分野で活躍する新しいセンサ	小林剛士	第 40 回次世代センサセミナーシリーズ [全共連ビル]	11/29
あらゆる粉体計測ニーズのソリューションを提供するホリバの製品ラインナップ	中山かほる	岐阜県セラミック技術研究所 中小企業セミナー [岐阜県セラミック技術研究所]	12/6

注 *1 大阪大学大学院 *2 豊橋技術科学大学 *3 Consulting Professionals United *4 株式会社ダイテック *5 創価大学工学部
*6 東京医科歯科大学 *7 国際湖沼環境委員会 *8 電力中央研究所

文書発表

2001 年 7 月 ~ 12 月

標 題	氏 名	発表書誌名
高感度シリカ分析装置 SLIA-2000	北野康史	「クリーンテクノロジー」 P.36-37 (10/2001)
自動全窒素・全リン測定装置 TPNA-300	北野康史	「計装」 Vol.44 No.15 P.93 (12/2001)
GMP/GLP 対応 F-20 シリーズ	上田佳以	「計測技術」 Vol.29 No.8 P.40-42 (7/2001)
赤外分光計測法のプロセス分野への適用	佐竹 司	「計測技術」 Vol.29 No.10 P.37-40 (9/2001)
水質総量規制と全窒素・全リン自動計測器	北野康史	「計測技術」 Vol.29 No.13 P.32-34 (12/2001)
CMP 用スラリー粒子径測定	池田英幸	「電子材料」 P.103-107 (8/2001)
イオンセンサーの開発と分析装置の実用化・化学センサーの実用化にあたって	青海 隆	「ぶんせき」 P.487 (9/2001)
科学捜査に活躍する分析計	池田昌彦	「よくわかる分析科学のすべて」 P.148-159
お客様指向の技術情報雑誌実現に向けた取り組み - 堀場製作所の場合 -	伊藤省二 三上慶子 Brian McCaleb*1 小野奈津代*2	「情報管理」 Vol.44 No.8 (11/2001)

注 *1 Consulting Professionals United *2 株式会社ダイテック

HORIBA World-Wide Network

JAPAN

HORIBA, Ltd.

Head Office

2 Miyanohigashi-cho, Kisshoin, Minami-ku, Kyoto 601-8510, Japan
Phone : (81)75-313-8121 Fax : (81)75-321-8312

STEC Inc.

Head Office

11-5 Hokodate-cho, Kamitoba, Minami-ku, Kyoto 601-8116, Japan
Phone : (81)75-693-2300 Fax : (81)75-693-2331

COS Co.,Ltd.

Head Office

18 Maegawara-cho, Kisshoin, Minami-ku, Kyoto 601-8304, Japan
Phone : (81)75-321-7184 Fax : (81)75-321-7291

HORIBA TECHNO SERVICE Co.,Ltd.

2 Miyanohigashi-cho, Kisshoin Minami-ku, Kyoto 601-8305, Japan
Phone : (81)75-313-8125 Fax : (81)75-321-5647

HORIBA JOBIN YVON Co.,Ltd.

4-13-14 Kitakasai, edogawa-ku, Tokyo 134-0081, Japan
Phone : (81)3-5667-7351 Fax : (81)3-5667-7355

HORIBA ITEC.,Ltd.

Higashikanda Daiji Bldg., 1-7-8 Higashikanda, Chiyoda-ku,
Tokyo 101-0031, Japan

Phone : (81)3-3866-0984 Fax : (81)3-3866-0908

Bio Applied Systems Inc.

2 Miyanohigashi-cho, Kisshoin, Minami-ku, Kyoto 601-8510, Japan
Phone : (81)75-326-3583 Fax : (81)75-326-3584

ASEC, Inc.

Tokyo Office

1-7-8 Higashikanda, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0031, Japan
Phone : (81)3-3861-8343 Fax : (81)3-3861-8344

Chiyada Assy. Inc.*

55-3 Higashinokuchi-cho, Kamikatsura, Nishikyoku-ku,
Kyoto 615-8221, Japan

Phone : (81)75-394-5959 Fax : (81)75-394-5963

MEC Co.,Ltd.*

5-F Sairaize Bldg., 2-5-10, 2-chome Iwamoto-cho, Chiyoda-ku,
Tokyo 101-0032, Japan

Phone : (81)3-3866-8090 Fax : (81)3-3866-5041

(* : Affiliate Company)

U.S.A.

HORIBA INTERNATIONAL CORPORATION

17671 Armstrong Avenue, Irvine, California, 92614, U.S.A.
Phone : (1)949-250-4811 Fax : (1)949-250-0924

HORIBA INSTRUMENTS INCORPORATED

Irvine Facility

17671 Armstrong Avenue, Irvine, California, 92614, U.S.A.
Phone : (1)949-250-4811 Fax : (1)949-250-0924

Ann Arbor Facility

5900 Hines Drive, Ann Arbor, Michigan 48108, U.S.A.
Phone : (1)734-213-6555 Fax : (1)734-213-6525

HORIBA / STEC INCORPORATED

Sunnyvale Office

1080 E. Duance Ave. Suite A, Sunnyvale, California, 94086, U.S.A.
Phone : (1)408-730-4772 Fax : (1)408-730-8975

Austin Office

9701 Dessau Road, Suite 605, Austin, Texas, 78754, U.S.A.
Phone : (1)512-836-9560 Fax : (1)512-836-8054

ABX Inc.

34 Bunsen Drive, Irvine, Spectrum, Irvine-California, 92618, U.S.A.
Phone : (1)949-453-0500 Fax : (1)949-453-0600

JOBIN YVON Inc.

3880 Park Avenue., Edison, NJ 08820-3012, U.S.A.
Phone : (1)732-494-8660 Fax : (1)732-549-5125

BRAZIL

ABX BRAZIL

Americo Brasiliense, 2414 Chacara Santo Antonio, 04715-005 Sao Paulo-SP Brazil
Phone : (55)1151816040 Fax : (55)1151816040

RUSSIA

HORIBA MOSCOW REPRESENTATIVE OFFICE

Unit# 1004/1005-06, Molodyozhny Moscow International Hotel Complex 27,
Building 1, Dmitrovskoye Road, Moscow, 127550, Russia
Phone : (7)095-782-9038 Fax : (7)095-782-9039

GERMANY

HORIBA EUROPE GmbH

Head Office

Hauptstrasse 108, D-65843 Sulzbach/Ts., Germany
Phone : (49)6196-6718-0 Fax : (49)6196-6411-98

Leichlingen Facility

Julius-Kronenberg-Strasse 9, D-42799 Leichlingen, Germany
Phone : (49)2175-8978-0 Fax : (49)2175-8978-50

HORIBA EUROPE AUTOMATION DIVISION GmbH

Zabergaeustr. 3, 73765 Neuhausen, Germany
Phone : (49)7158-933-300 Fax : (49)7158-933-399

FRANCE

HORIBA FRANCE

75 Rue L. et A. Lumière Technoparc, F-01630 St-Genis-Pouilly, France
Phone : (33)4-50-42-27-63 Fax : (33)4-50-42-07-74

ABX S. A.

Parc Euromédecine, rue du Caducée, 34184 Montpellier Cedex 4, France
Phone : (33)4-67-14-15-16 Fax : (33)4-67-14-15-17

JOBIN YVON S. A.

Head Office

16-18, rue du Canal, 91165 Longjumeau Cedex, France
Phone : (33)1-64-54-13-00 Fax : (33)1-69-09-07-21

Thin Films Dept.

7, Route d'Egly, 91290 Arpajon, France
Phone : (33)1-64-90-93-65 Fax : (33)1-60-83-91-83

Raman Dept.

231 rue de Lille, 59650 Villeneuve d'Ascq, France
Phone : (33)3-20-59-18-00 Fax : (33)3-20-59-18-08

AUSTRIA

HORIBA (AUSTRIA) GmbH

Kaplanstrasse 5, A-3430 Tulln, Austria
Phone : (43)2272-65225 Fax : (43)2272-65230

CZECH REPUBLIC

HORIBA CZECHIA

organizacni slozka Praha, Petrohradská 13, 10100 Praha 10, Czech Republik
Phone : (420)2-717-46480 Fax : (420)2-717-47064

SWEDEN

HORIBA SWEDEN

Hertig Carlsväg 55-57, S-15138 Södertälje, Sweden
Phone : (46)8-550-80701 Fax : (46)8-550-80567

U. K.

HORIBA INSTRUMENTS LIMITED

Kyoto Close, Summerhouse Road, Moulton Park, Northampton, NN3 6FL, England
Phone : (44)1604-542500 Fax : (44)1604-542699

KOREA

HORIBA KOREA LTD.

Puccheon Facility

202-501, Puccheon Techno Park, 192, Yakdae-Dong, Wonmi-ku, Puccheon Kyunggi-do, Korea
Phone : (82)32-621-0100~4 Fax : (82)32-621-0105

Seoul Office

112-6, Songong-Dong, Choog-ku, Seoul, Korea
Phone : (82)2-753-7911~7912 Fax : (82)2-756-4972

STEC KOREA LTD.

D-604, Bundang Technopark 151, Yatap-Dong, Bundang-ku Sungnam-City,
Kyungki-do, Korea

Phone : (82)342-701-8164 Fax : (82)342-701-8166

HORIBA JOBIN YVON KOREA Co.,LTD.

Korea Bldg. 44-12, Yoido-Dong, Yeongdungpo-ku, Seoul, Korea
Phone : (82)2784-0056 Fax : (82)2784-2019

SINGAPORE

HORIBA INSTRUMENTS (SINGAPORE) PTE. LTD.

10 Ubi Crescent #05-11/12 UBI TECHPARK Singapore 408564
Phone : (65)745-8300 Fax : (65)745-8155

CHINA

HORIBA LTD. BEIJING REPRESENTATIVE OFFICE

Suite 1409, Tower B, COFCO Plaza, No.8, Jianguomennei Avenue, Beijing, 100005, China
Phone : (86)10-6522-7573 Fax : (86)10-6522-7582

HORIBA, Ltd. SHANGHAI REPRESENTATIVE OFFICE

Unit F1, 16F Jiushi Fuxing Mansion, No.918, Huaihai Zhong Road, Shanghai, 200020, China
Phone : (86)21-6415-3689/3690 Fax : (86)21-6415-3690

Readout HORIBA Technical Reports March 2002 No.24

発行日 2002年3月20日
発行人 石田耕三
発行元 株式会社堀場製作所
〒601-8510 京都市南区吉祥院宮の東町2番地
http://global.horiba.com/support/tech_info/index.htm

< Readout編集委員会 >

委員長 石田 耕三
副委員長 青海 隆
編集局 伊藤 省二 三上 慶子
お問い合わせ先 株式会社堀場製作所 知的所有権部
Tel:075-313-8121 Fax:075-321-5648
e-mail:readout@horiba.co.jp

HORIBA