

POCTに向けた血球カウンタの開発

宮村 和宏

HORIBAは、インピーダンス法によるパームトップ型の血球カウンタを開発している。ポイントは、MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 技術による、センサ部とサンプリング部のカートリッジ化である。カートリッジをディスポーザブルにすることで、洗浄が不要になり他の試料からの汚染も排除できる。センサ部はシリコンとガラスを貼り合わせた構造で、シリコン側にMEMS技術で、流路、フィルタ、アパーチャ、電極を形成する。パームトップ型装置の性質からセンサ構造は密閉型となるため、電極での電気分解によって気泡が発生することで生じる誤カウントの問題は重要であり、それを流路と電極の位置を変更することで解決し血球カウンタのパームトップ化は大きく前進した。

はじめに

診察時に即座に検査を行う(POCT: Point of Care Testing)^{*1} 必要性が高まっている。それに応えるため、医療製品的主力である血球カウンタをパームトップ化すべく開発を行っている。そのためには血球を計数するセンシング部、希釈等を行う前処理部の小型化が必須である。そこでHORIBAの持っているMEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 技術を用い、センシング部のチップ化、前処理部のカートリッジ化を行った。現在試作段階を終了し、製品に向けたアプローチを開始している。

*1: POCTとは、検査の必要性が生じたその時、被検者がいるその場で、あるいは傍らで行う検査であり、速やかに検査結果が得られ、被検者自身に検査が見えるという利点を活かして、迅速かつ適切な診療、介護、健康管理など医療・福祉の質及びQOL (Quality of life) の向上に資するための検査である^[1]。

血球カウンタの小型化

現状の血球カウンタのサイズは約W:30 cm, D:40 cm, H:40 cm, 質量は約18 kgである(図1(a))。卓上で用いるには十分に小型で高性能であるが、持ち運ぶには更なる小型化が必要である。特に、前処理を行う系とセンシングを行う系の小型化が必須である。現在の前処理を行う系にはシリンジポンプを複数用いている。このような構成では、小型化は不可能であり、更にセルのような入れ物に希釈液を注入するといったようなオープンな(大気開放された)系が前提となる。このようなオープンな系ではパームトップ化するには不都合である。パームトップ型は装置の性質上逆さまにしたり、落としたりする可能性が非常に高い。このような理由から閉鎖された系(クローズな系)による測定が必要となる。また、パームトップ型は使用する環境として患者の前で即座に簡易的な測定を目指しているため、装置の利便性、測定時間の短縮は必須である。そこで、閉鎖された空間でシリンジポンプを用いることなく前処理とセンシングを行えるように、希釈部分をカートリッジ化し、センサ部分をチップ化した(図1(b))。更に、カートリッジをディスポーザブルにすることで洗浄の不要(測定時間の短縮)、他の試料によるコンタミネーションの排除を可能とした。

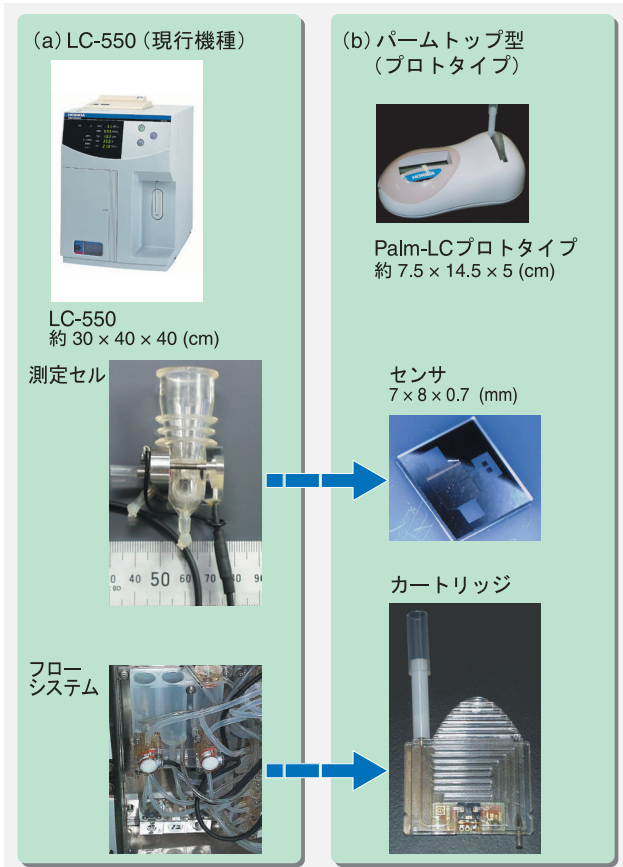


図1 現行機種LC-550とパームトップ型の比較

MEMS技術を用いたインピーダンス法血球カウンタ

豊橋技術科学大学 石田教授グループとの共同研究

1999年より、豊橋技術科学大学の石田教授グループとHORIBAは血球カウンタに関して共同研究を行い、MEMS技術を用いた世界で初めてのチップ状血球カウンタ(図2)の製作に成功した^[2]。MEMS技術は、微細なパターンをSi基板に形成することができ、また一度に大量のセンサを製作することが可能である。この血球カウンタで、実際のWBC(白血球)RBC(赤血球)の出力パルスを確認することができた(図3)。次に検出感度と再現性を更に向上させるため、HORIBAで進めている開発内容について述べる。

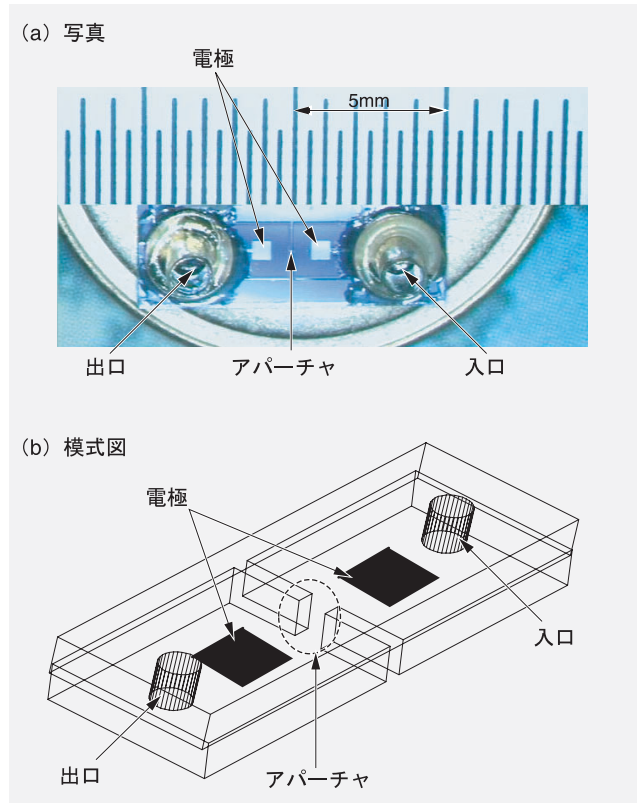


図2 チップ状血球カウンタ

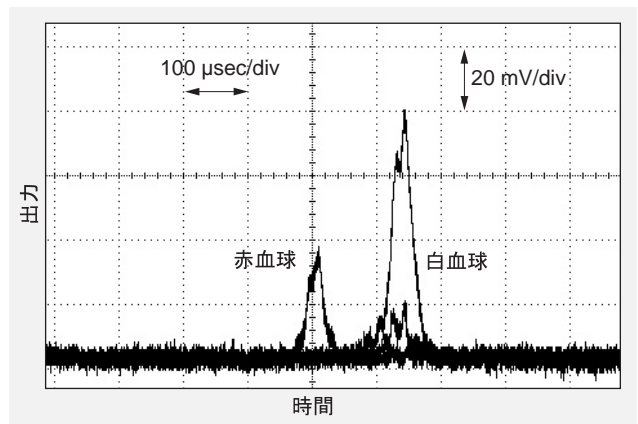


図3 血球の出力パルス

センサ構造及び送液

この血球カウンタセンサの基本的な構造は、Siとガラスを貼り合せた構造である。Siに微細な溝、アパーチャを形成し、その両サイドに電極のパターニングを行い、最後に液のコンタクト孔を形成したガラスを貼り合わせることによって流路を形成している。試料はガラス面の液コンタクト孔より導入され、Si溝の流路を通り、アパーチャを通過する。この時電極間の抵抗値が変化することでパルス信号が出力される(図4)。そして他端のコンタクト孔より排出される。

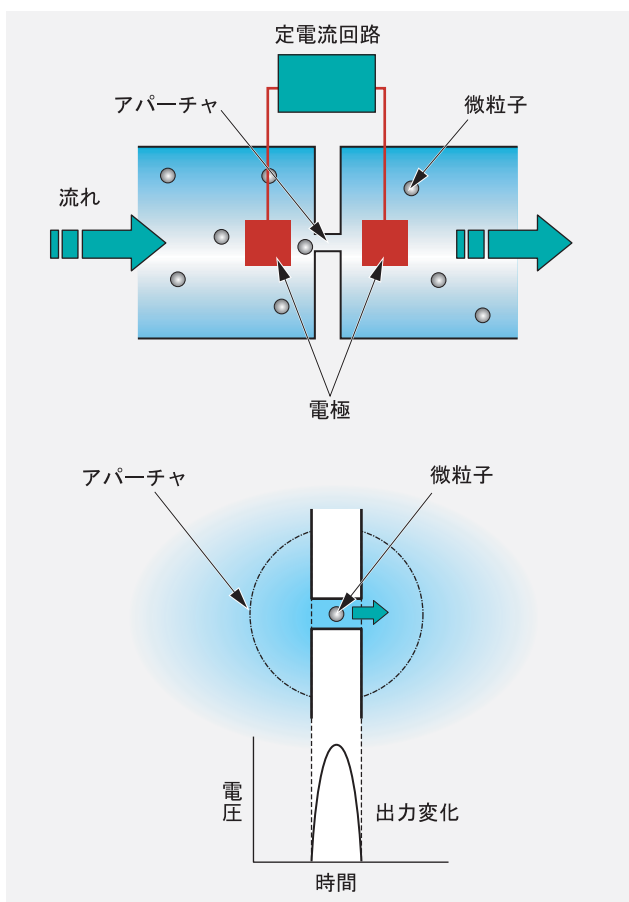


図4 インピーダンス法原理

センサ改良

センサ構造で問題となるのは次の3点である。

- ・ 電極製作の難しさ
- ・ 埃等によるアパーチャのつまり
- ・ 気泡によるノイズ

これらの問題点とその解決策を表1にまとめ、以下に詳しく説明する。

従来、電極はSiに流路を形成した後その上に形成していた。しかし、流路には約50 μmの段差があるため、フォトリソグラフィを行うことは非常に困難で、加工精度の劣ったものしかできなかった。そこで図5に示すように、電極形成位置をSi側でなくガラス面に変更した。その結果、フラットな面に加工を行うことから加工精度は向上した。しかし、ガラスとSiの接合の際に、より高精度な位置合せを行う必要が生じた。対策として液のコンタクト孔をSi側に変更することで、接合時におけるコンタクト孔との位置合せを不要にし、その上で電極を高精度に位置合せする機構を作ることにより解決した。なお、コンタクト孔の加工方法をサンドブラストからSi異方性エッチングに変更することにより加工精度の向上が図れた。

アパーチャのつまりに対しては、アパーチャを形成する時と同時に、流入側流路に一定間隔に並んだSiの柱列を形成することによってフィルタを作った。このことによって従来埃等によってすぐつまっていたセンサが、場合によっては数時間の流通に耐えうるものとなった。

表1 問題点と解決策

問題点	解決策
電極製作の難しさ	ガラス面への電極形成と高精度位置合わせ機構
アパーチャのつまり	流路形成時にフィルタを同時形成
気泡によるノイズ	流路と電極位置の変更

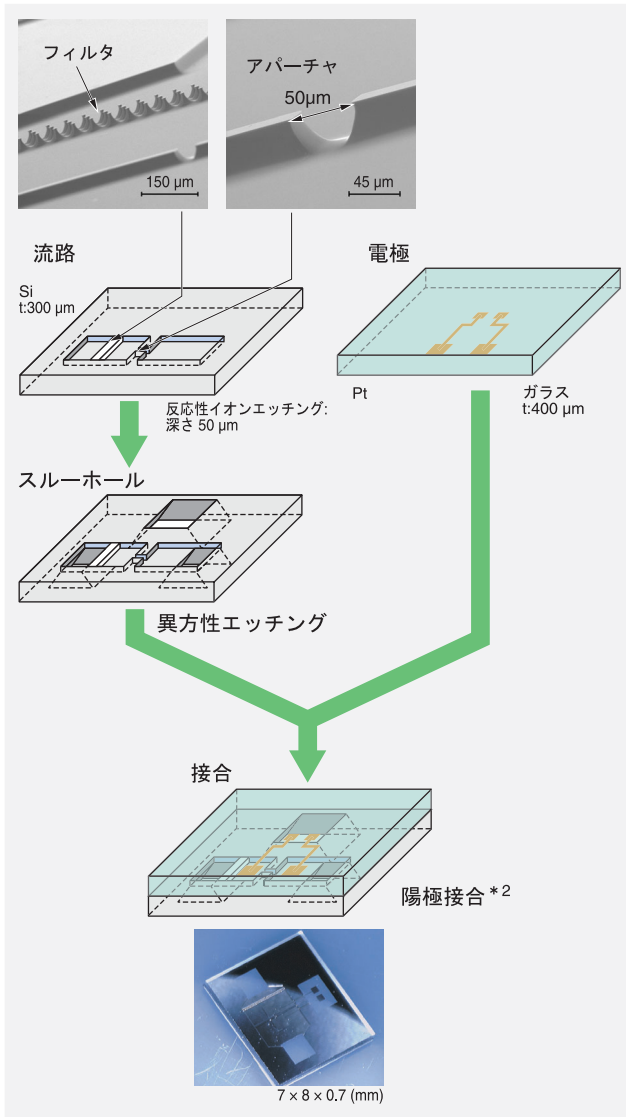


図5 センサ部の概略構成図

*2: アルカリ金属イオンを含むガラスとSiの間に、アルカリ金属イオンの熱拡散が生じる200~400 程度の温度でSi側を陽極として数十~数kV程度の電圧を印加し、大きな静電引力により界面で化学結合させる方法。

気泡によるノイズは、各種のノイズの中で最も深刻な影響を与えている。気泡がアパーチャを通過すると血球が通過した時と同等のパルスが発生する。大きな気泡が通過した時はアパーチャによって大きな気泡は分断されるため、数千のノイズが発生し、誤カウントされる。気泡の発生場所として2つ考えられる。一つは外部からの流入、もう一つは内部からの発生である。外部からの流入は、センサ流入前に大きな気泡として巻き込まれたものなどがある。これに対しては、気泡を巻き込まない流路形状を考える必要がある。センサ内部から発生する気泡の原因は、電極での電気分解によるものであり、インピーダンス法を用いる限り避け

られない問題である。我々は、この問題に対して従来にはない画期的な方法を考案した。図(a)に示すように、従来のセンサでは電極はアパーチャに対向して流路の上流と下流に形成されていたが、この構造では上流の電極で発生した気泡が必ずアパーチャを通過してしまう(定置形の血球カウンタはオープン系であるため、電極で発生したほとんどの気泡は浮上して大気に逃げる)。そこで図(b)のように、アパーチャ部で流路を2つに分け、電極を両方もアパーチャの下流側に形成した。このことにより電極から発生した気泡はアパーチャを通過することなく流れる。また、電界はアパーチャ付近が最大となるため従来と同じようにアパーチャによってカウントが可能である。この開発によって、血球カウンタのカートリッジ化は大きく前進した。

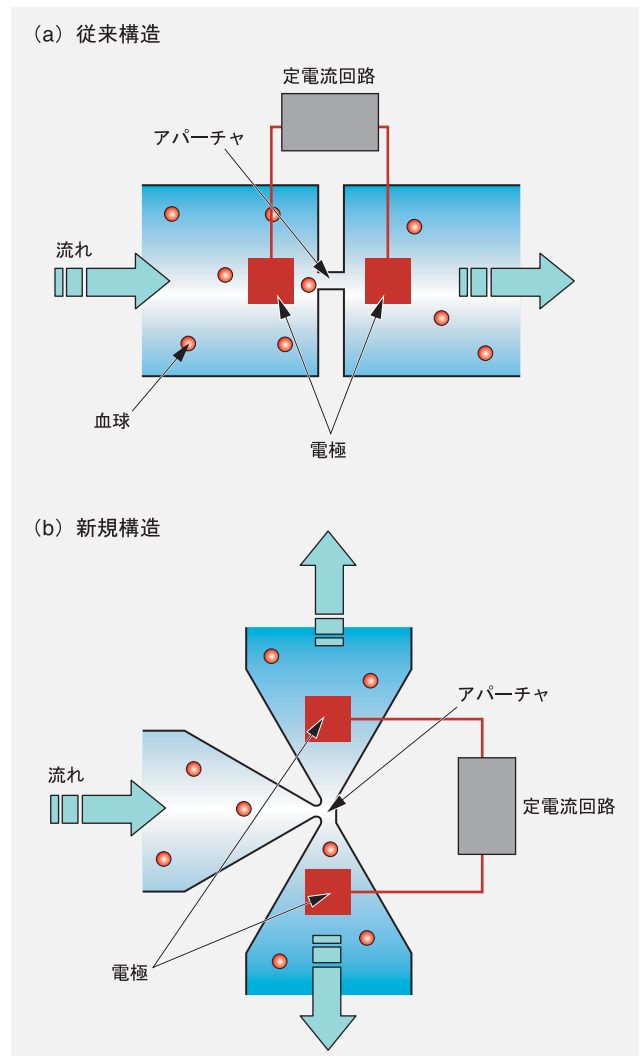


図6 アパーチャと流路と電極の位置関係

パームトップ血球カウンタ Palm-LC(プロトタイプ)

装置構成

パームトップ血球カウンタPalm-LCは、装置本体、カートリッジ、希釈タンクの3つで構成される。カートリッジには、サンプリングを行うガラスキャピラリ、血球を計数するセンサ、測定終了を検知する液面センサが形成されている。装置本体の主要部品は、図7に示すようにカートリッジソケット、バルブ、ポンプ、電子回路、LCDである。なお、現在、新規開発したセンサに合せカートリッジと装置本体の改良を行っている。

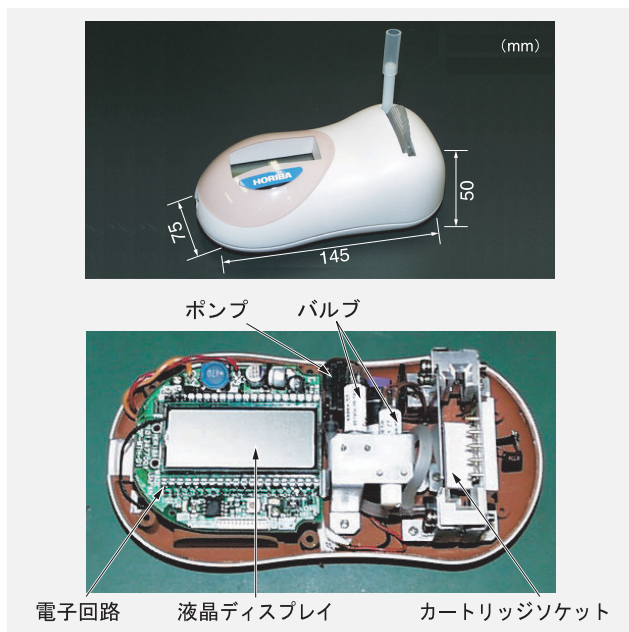


図7 装置本体の内部構造

測定シーケンス

図8に示すように指先をランセット等で刺挿して血液を出し、カートリッジ内部のサンプリング用ガラスキャピラリにて採血を行う(ガラスキャピラリによって1 μ lの血液がサンプリングされる)。その後、希釈タンクを採血部先端に挿入する。次に、タンクが挿入された状態のカートリッジを本体に挿入する。挿入すると同時に電源が入る。1回分の希釈液を封入した希釈タンクに、キャピラリでサンプリングされた血液が加圧により流入し、混合される(約20秒)。混合後、減圧にて試料をセンサに導入し測定を開始する。廃液はカートリッジ内に順次溜められ、液面センサに到達する。液面センサに到達すると測定を終了する(測定時間は約1分)。計算後、測定結果を表示する。

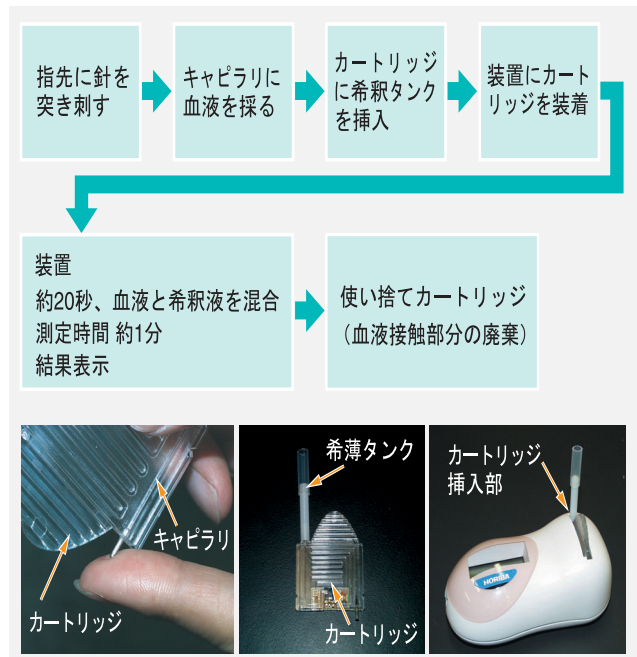


図8 パームトップ血球カウンタPalm-LCの構成と測定シーケンス

おわりに

HORIBAは、WBCを測定項目にしたパームトップ型血球カウンタの製品化に向け開発を進めている。また、WBC以外に複数成分を測定できる装置の開発も行う予定である。POCTに向けて、MEMS技術への期待度は大きくなっている。今後、血球以外にも μ -TAS(μ -Total Analysis System)の開発が続くことは間違いない。その中で、HORIBAは常に世界の先陣を切っていきたいと願っている。

参考文献

[1] POC推進委員会

<http://www1.sphere.ne.jp/jidouka/Q&A.htm>

[2] D. Satake, H. Ebi, N. Oku, K. Matsuda, H. Takao, M.

Ashiki and M. Ishida, A sensor for blood cell counter using MEMS technology, Sensors and Actuators B 83, 77 - 81 (2002)



宮村 和宏

Kazuhiro Miyamura

開発センター

MEMS プロジェクト

(マイクロ化学プロセス技術研究組合に出向中)