

全自動尿中有形成分分析装置 UF-5000 の概要と特徴

中山 篤志, 粒来 寛子, 蛭名 秀峰, 記野 史子

シスメックス株式会社 学術本部

はじめに

全自動尿中有形成分分析装置 UF-5000 (以下, UF-5000) は, 青色半導体レーザー (488 nm) を用い, 有形成分の複屈折性¹⁾, 細胞の核酸量, 内部構造の複雑性を加味した大きさ情報などの解析を可能とした新しい分析装置である. 光学系の改良により各粒子由来の詳細な信号波形解析を実現し, 円柱や上皮細胞などの, より詳細な解析も可能となった.

染色液や分画アルゴリズムにも大幅な改良を加えた本装置は, 従来機種である UF-100 や UF-1000i の単なる改良品にとどまらず, 尿検査の更なる臨床的価値向上に貢献することが期待される. 本稿ではこの装置の測定原理や特徴を述べる.

また, 表 1 に主な仕様における UF-1000i との比較を示す.

※本稿は, UF-5000 Ver.00-11, U-WAM Ver.00-06 の仕様に基づくものである.

表 1. UF-5000 と UF-1000i の主な仕様比較

	UF-5000	UF-1000i
測定項目数	14 項目	5 項目
測定項目	RBC, WBC, EC, Squa.EC, CAST, BACT, WBC Clumps, Non SEC, Hy.CAST, Path.CAST, X' TAL, YLC, SPERM, MUCUS	RBC, WBC, EC, CAST, BACT
研究用項目	NL RBC, Lysed RBC, Tran.EC, RTEC, SRC, Atyp.C, DEBRIS, Cond., Osmo.	X' TAL, YLC, SRC, Path.CAST, MUCUS, SPERM, Cond.
研究情報	RBC-Info. (赤血球形態情報) BACT-Info. (細菌グラム染色性情報) UTI-Info. (UTI 情報)	RBC-Info. (赤血球形態情報) BACT-Info. (細菌形態情報) UTI-Info. (UTI 情報) Cond.-Info. (尿濃縮度情報)
体液測定	可	不可
原理	青色半導体レーザー (488 nm) によるフローサイトメトリー法	赤色半導体レーザー (635 nm) によるフローサイトメトリー法
計測信号	前方散乱光, 側方散乱光, 側方蛍光, 偏光解消側方散乱光	前方散乱光, 側方散乱光, 側方蛍光
検出チャンネル	SF ch (核を有さない成分用) CR ch (核を有する成分用)	BACTERIA ch (細菌用) SEDIMENT ch (細菌以外の成分用)
処理能力	105 検体 / 時間 (最大)	100 検体 / 時間 (最大)
検体吸引量	0.45 mL (全モード共通)	0.8 mL (マニュアルモード) 1.2 mL (サンブラモード)
所要検体量	2 mL (サンブラモード) 0.6 mL (スタートモード)	3 mL (サンブラモード) 1 mL (マニュアルモード)

主な仕様

1. 装置外観

UF-5000 は、測定部、サンプラ部および空圧源部からなる(図1)。

2. 装置仕様

装置の主な仕様を以下に示す(表2)。

本装置は、UF-1000*i*と同様、フローサイトメトリー法を測定原理としているが、従来よりも波長の短い青色半導体レーザーを搭載することで、より微



図1. UF-5000, U-WAM 外観

表2. UF-5000 仕様

名称	全自動尿中有形成分分析装置 UF-5000
測定原理	フローサイトメトリー法
測定対象検体	ヒト尿, ヒト体液
処理能力	尿モード: 105 検体/時間 (最大) 体液モード: 20 検体/時間 (最大)
検体吸引量	0.45 mL (全モード共通)
所要検体量	尿モード: サンプラモード 2 mL スタットモード 0.6 mL 体液モード: スタットモード 0.6 mL
記憶機能*	記憶検体: 最大 1,000 検体 (スキヤッタグラム含む) 精度管理: 2 濃度 × 3 ロット (120 プロット/ロット)
寸法 (mm)	測定部 (サンプラ部 (SA-51) を含む): 約 760 (幅) × 約 754 (奥行) × 約 855 (高さ) mm 測定部 (サンプラ部 (CV-11) を含む): 約 640 (幅) × 約 901 (奥行) × 約 873 (高さ) mm 空圧源部: 約 280 (幅) × 約 355 (奥行) × 約 400 (高さ) mm
重量	測定部 (サンプラ部 (SA-51) を含む): 約 90 kg 測定部 (サンプラ部 (CV-11) を含む): 約 105 kg 空圧源部: 約 17 kg
電源	測定部: AC100 ~ 240 V 50/60 Hz 空圧源部: AC100 ~ 117 V 50/60 Hz
消費電力	測定部: 600 VA 以下 空圧源部: 230/280 VA 以下 (50/60 Hz)

*U-WAM では、記憶検体 100,000 件、精度管理データ 300 プロット × 50 ファイル

細な有形成分の検出が可能となった。所要検体量もUF-1000iではサンプルモード4 mL、マニュアルモード1 mLであったものが、UF-5000ではサンプルモード2 mL、STATモード0.6 mLとなり大幅な少量化を実現し、消費検体量もUF-1000iでは0.8 mLであったものが0.45 mLと約半減している。また、尿に加えて体液測定も標準仕様となった。

なお、本装置は単体ではスキュッタグラムなどの情報は表示されない。検体の測定・数値などの結果の表示はUF-5000で行うが、スキュッタグラムを含む詳細な結果はU-WAM（尿検査部門情報管理システム；オプション）で確認できる。U-WAMではこの他、本体のコントロールや精度管理などを行うことができ、UF-5000とU-WAMとでひとつの尿分析

システムとして機能する設計となっている。

3. 測定項目、測定範囲と単位

本装置では、利用可能な検出信号の大幅な拡大と光学系解析技術の進歩により、従来とは異なる分析方法が採用されている。具体的には、偏光解消側方散乱光の検出²⁾による結晶および赤血球の計測精度向上や、有形成分の大きさ、核酸量、信号波形解析などによる上皮細胞の細分類、硝子円柱／非硝子円柱と粘液成分の分析などが、本装置に搭載された新しい光学技術により実現されている（図2）。また、これらの新技术により、UF-1000iでの測定項目に加え、新たな半定量測定項目も追加されており、リサーチ画面にて、その具体的な定量値も確認が可能である（表3～6）。

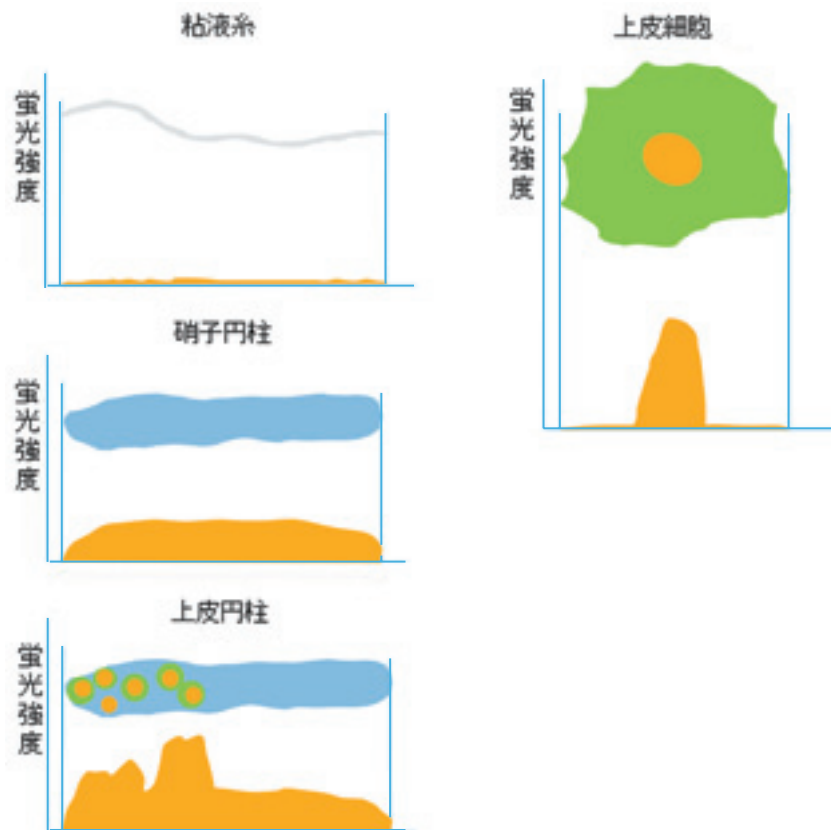


図2. 各種有形成分の側方蛍光信号波形の分析
(各成分により側方蛍光信号波形の形状が異なる)

表3. 測定項目 (尿モード)

測定項目		報告形式
RBC	Red blood cells (赤血球)	定量
WBC	White blood cells (白血球)	定量
WBC Clumps	WBC clumps (白血球凝集)	半定量・定性
EC	Epithelial cells (上皮細胞)	定量
Squa.EC	Squamous epithelial cells (扁平上皮細胞)	定量
Non SEC	Non-Squamous epithelial cells (非扁平上皮細胞)	半定量・定性
CAST	Casts (円柱)	定量
Hy.CAST	Hyaline casts (硝子円柱)	半定量・定性
Path.CAST	Non-hyaline casts (非硝子円柱 =Path. CAST)	半定量・定性
BACT	Bacteria (細菌)	定量
X' TAL	Crystals (結晶)	半定量・定性
YLC	Yeast-like cells (酵母様真菌)	半定量・定性
SPERM	Spermatozoa (精子)	半定量・定性
MUCUS	Mucus (粘液系)	半定量・定性

※リサーチ画面にて、半定量表示項目の計測値を確認することができる。

※半定量表示では、5～9/HPF などのように測定結果がランク表示される。

※各項目の関係は、以下である。

EC = Squa.EC + Non SEC

CAST = Hy.CAST + Path.CAST

※WBC Clumps 数は、WBC 数には含まれない。

表4. 測定項目 (体液モード)

測定項目		報告形式
RBC	Red blood cells (赤血球)	定量
WBC	White blood cells (白血球)	定量
MN#	Mononuclear cells (単核球 (数))	定量
MN%*	Mononuclear cells (単核球 (比率))	定量
PMN#	Polymorphonuclear leukocytes (多形核球 (数))	定量
PMN%*	Polymorphonuclear leukocytes (多形核球 (比率))	定量

* 計算式で求められる項目

※WBC = MN# + PMN#

表5. 研究用項目 / Research Information (尿モード)

カテゴリー	項目名	名称	単位	
研究用項目 (定量)	RBC	NL RBC	Non lysed RBC (非溶血赤血球)	/μL
		Lysed RBC	Lysed RBC (溶血赤血球)	/μL
	EC	Tran.EC	Transitional epithelial cells (尿路上皮細胞)	/μL
		RTEC	Renal tubular epithelial cells (尿細管上皮細胞 =SRC)	/μL
		SRC	Small round cells (小型円形上皮)	/μL
	Atyp.C	Atypical cells (異型細胞等)	/μL	
	DEBRIS	Debris	/μL	
	Cond.	Conductivity (尿導電率)	mS/cm	
	Osmo.	Osmolality (浸透圧)	mOsm/kg	
	Research Information	RBC-Info.	Isomorphic?	粒度分布により、損傷を受けていない赤血球と推定されるもの
Dysmorphic?			粒度分布により、損傷を受けた赤血球または小型の赤血球と推定されるもの	—
Mixed?			上記のどちらにも推定されない粒度分布を示すもの	—
UTI-Info.		UTI?	白血球数と細菌数の組み合わせにより細菌性の尿路感染症 (UTI) が推定されるもの	—
BACT-Info.		Gram Positive?	スキャッタグラムにより、グラム陽性菌が含まれると推定されるもの	—
		Gram Negative?	スキャッタグラムにより、グラム陰性菌が含まれると推定されるもの	—
		Gram Pos/Neg?	スキャッタグラムにより、グラム陽性菌とグラム陰性菌が含まれると推定されるもの	—
	Unclassified	スキャッタグラムからの分類が不明瞭なもの	—	

※各項目の関係は、以下である。

EC = Squa.EC + Non SEC
 Non SEC = Tran.EC + RTEC
 SRC = RTEC

※RBC-Info. : 赤血球形態情報

UTI-Info. : UTI 情報

BACT-Info. : 細菌グラム染色性情報

※Osmolality (浸透圧) は、Conductivity (尿導電率) をもとに、換算式を用いて算出した値が表示される。

※RBC-Info. のアルゴリズム³⁾ および判定性能⁴⁾ は、UF-1000i と同等である。

表6. 研究用項目 (体液モード)

カテゴリー	項目名	意味	単位
研究用項目 (定量)	EC	Epithelial cells (上皮細胞)	/μL
	TNC	Total nucleated cells (有核細胞)	/μL
	BACT	Bacteria (細菌)	/μL
	DEBRIS	Debris	/μL

※TNC = EC + WBC

4. 直線性, ブランク値限界 (LoB)⁵⁾, 検出限界 (LoD)⁵⁾, 定量限界 (LoQ)⁵⁾ (表7, 8)

これらの数値は, 標準粒子など仕様で定められた試

料を測定した場合の最大のデータばらつきを想定した場合の規格値である. 実検体では, 様々な有形成分が存在するため, この規格値を満たさない場合もある.

表7. 直線性, ブランク値限界 (LoB), 検出限界 (LoD), 定量限界 (LoQ) (尿モード)

直線性			
尿	理論値または標準装置で測定した値に対する残差率で示しています.		
RBC	相関係数 $r \geq 0.975$		
	100 ~ 10,000 / μ L :		±10% 以内
	50 ~ 100 / μ L :		±20% 以内
WBC	相関係数 $r \geq 0.975$		
	100 ~ 10,000 / μ L :		±10% 以内
	50 ~ 100 / μ L :		±20% 以内
WBC Clumps	1 ~ 50 / μ L :		±35% 以内
	—*1		
	EC	相関係数 $r \geq 0.975$	
Squa.EC	50 ~ 200 / μ L :		±30% 以内
	1 ~ 50 / μ L :		±35% 以内
	—*2		
Non SEC	CAST	相関係数 $r \geq 0.975$	
	1 ~ 30 / μ L :		±40% 以内
	—*3		
Hy.CAST	Path.CAST	—*3	
	BACT	相関係数 $r \geq 0.975$	
	1,000 ~ 10,000 / μ L :		±20% 以内
X' TAL	5 ~ 1,000 / μ L :		±35% 以内
	—*4		
	YLC	—*5	
SPERM	—*5		
MUCUS	—*4		

ブランク値限界 (LoB), 検出限界 (LoD) および定量限界 (LoQ)

項目	ブランク値限界 (LoB)	検出限界 (LoD)	定量限界 (LoQ)
尿			
RBC	0.5 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下
WBC	0.5 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下
WBC Clumps	—*1	—*1	—*1
EC	0.5 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下
Squa.EC	—*2	—*2	—*2
Non SEC	—*2	—*2	—*2
CAST	0.50 / μ L 以下	1.00 / μ L 以下	1.00 / μ L 以下
Hy.CAST	—*3	—*3	—*3
Path.CAST	—*3	—*3	—*3
BACT	1.0 / μ L 以下	5.0 / μ L 以下	5.0 / μ L 以下
X' TAL	0.5 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下	10.0 / μ L 以下
YLC	0.5 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下
SPERM	0.5 / μ L 以下	1.0 / μ L 以下	50.0 / μ L 以下
MUCUS	—*4	—*4	—*4

*1 : 総量である WBC の値に基づく.
 *2 : 総量である EC の値に基づく.
 *3 : 総量である CAST の値に基づく.
 *4 : SF チャンネルにより測定される RBC と CAST の値に基づく.
 *5 : CR チャンネルにより測定される WBC と EC の値に基づく.

表 8. 直線性, ブランク値限界 (LoB), 検出限界 (LoD), 定量限界 (LoQ) (体液モード)

直線性			
体液	理論値または標準装置で測定した値に対する残差率で示しています。		
	RBC	100 ~ 99,999 / μ L :	±10% 以内
		50 ~ 100 / μ L :	±20% 以内
		15 ~ 50 / μ L :	±35% 以内
	WBC	100 ~ 10,000 / μ L :	±10% 以内
		50 ~ 100 / μ L :	±20% 以内
		2 ~ 50 / μ L :	±35% 以内

ブランク値限界 (LoB), 検出限界 (LoD) および定量限界 (LoQ)

項目	ブランク値限界 (LoB)	検出限界 (LoD)	定量限界 (LoQ)
体液			
RBC	2.0 / μ L 以下	15.0 / μ L 以下	15.0 / μ L 以下
WBC	1.0 / μ L 以下	2.0 / μ L 以下	2.0 / μ L 以下

測定原理

1. 測定フロー概要

本装置の測定フローを図 3 (尿モード, 体液モード) に示す。

吸引された試料は, 希釈液, 染色液と混合され, フローサイトメトリー法にて解析が行われる。測定は, 今回新たに設けられた「SF チャンネル」と「CR チャンネル」により行われる。

SF チャンネルでは, 核酸を持たない赤血球, 結晶, 硝子円柱および内容物を含んだ円柱などの計測が行われる。

CR チャンネルでは, 赤血球や結晶は溶解され, 核酸を持った白血球, 上皮細胞, 細菌, 真菌などが計測される。

2. SF チャンネルでの希釈液, 染色液の機能

SF チャンネルの反応チャンバーでは, 検体・希釈液・染色液が混合され, 加温・攪拌される。このプロセスにおいて, 希釈液に含まれる EDTA-2K のキレート作用⁶⁾により, 赤血球分析に影響を与える無

晶性塩類が除去される。また, UF-1000i で CAST や Path.CAST の偽陽性の要因となっていた粘液成分⁷⁾ およびその粘液成分に付着した細菌や細胞などを界面活性剤によって分散させ, これらの成分に起因する CAST の偽陽性発生を低減させている。ここで用いられている界面活性剤は赤血球形態や上皮細胞, 円柱には影響を与えない程度のものである。

この SF チャンネルでは, ポリメチン系色素により赤血球など細胞の脂質二重膜および円柱の基質を構成する多孔性タンパク質凝集体が染色される。白血球や上皮細胞は染色によって得られる蛍光強度が非常に強くなるため, 計測可能範囲から外れる。また, 内容物を含んだ円柱も染色性が強いが, 有形成分の内部構造の複雑性を加味した大きさ情報, 膜成分・円柱基質の染まり具合, 信号波形解析結果などにより上皮細胞などとは区別され, SF チャンネルで測定できる範疇で計測される。

このような仕組みにより, SF チャンネルでは赤血球, 結晶, 硝子円柱および内容物を含んだ円柱のフローサイトメトリー法による計測が行われる。

SF チャンネル試薬概要を表 9 に示す。

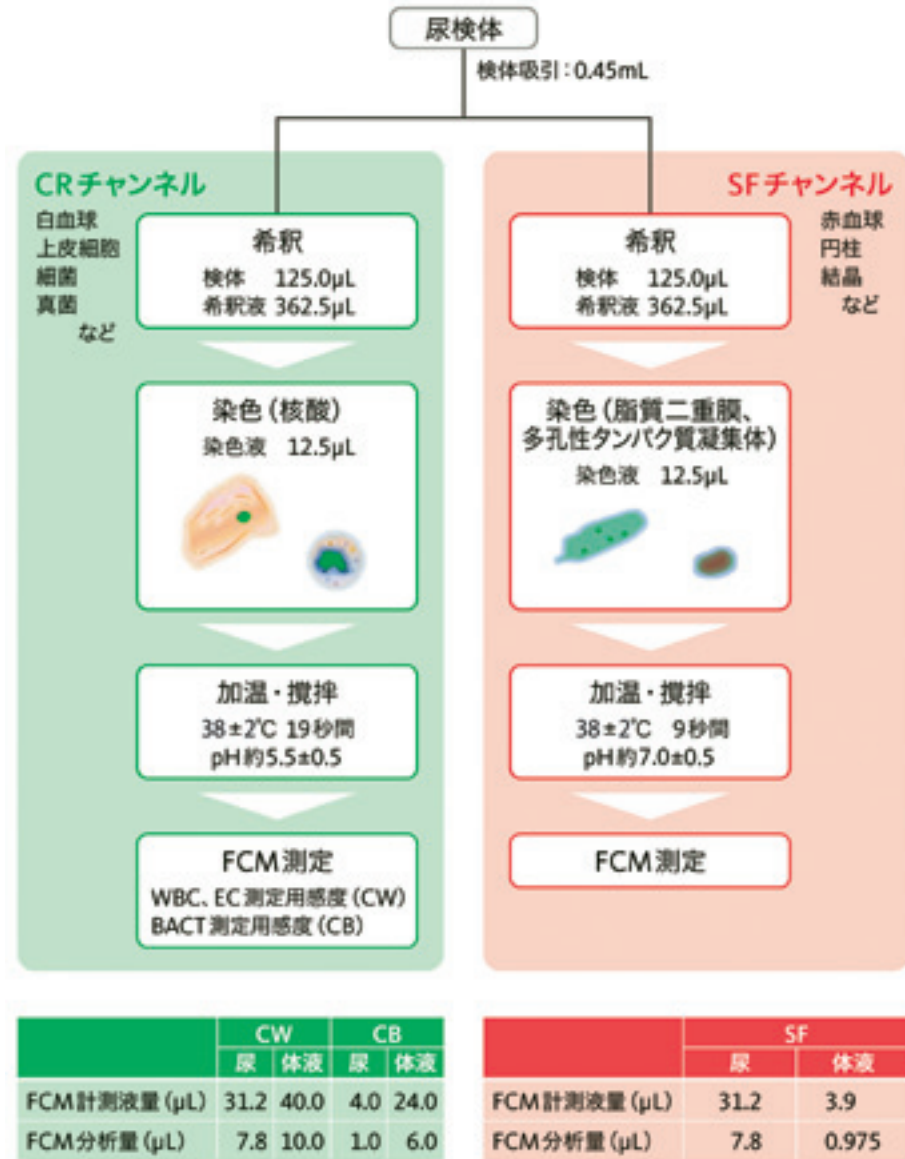


図3. 測定フロー概要(尿モード, 体液モード)

表9. SFチャンネル試薬

希釈液	名称	UF-セルパック™ SF
	主成分	HEPES 1.2% 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン 0.01%未満(防腐剤) キレート剤, 界面活性剤
	機能	キレート剤との混合, 加温により, 赤血球の分析を妨害する無晶性塩類を除去(キレート作用により, 塩類から2価の陽イオンを分離し溶解) 界面活性剤により, 粘液成分を分散
染色液	名称	UF-フルオロセル™ SF
	主成分	ポリメチン系色素 0.05% エチレングリコール 99.9%
	機能	赤血球など細胞の脂質二重膜および円柱の基質を構成する多孔性タンパク質凝集体を染色

3. CR チャンネルでの希釈液, 染色液の機能

CR チャンネルの反応チャンバーでも, 検体・希釈液・染色液が混合・加温・攪拌される. このプロセスにおいて, 希釈液に含まれる EDTA-2K のキレート作用と酢酸緩衝液との混和⁸⁾により, 結晶成分が溶解・除去される. また, 界面活性剤によって赤血球が溶解される. ここで用いられている界面活性剤は, 白血球や上皮細胞などの細胞系成分の形態には大きな影響を与えない程度のものである.

この CR チャンネルでは, 界面活性剤により細胞

に微細な孔を空け, ポリメチン系色素の細胞内への浸透度合いが高められている. これらのポリメチン系色素は細胞内の核酸を染色する.

この CR チャンネルでは, 白血球, 上皮細胞, 酵母様真菌, 精子, 細菌のフローサイトメトリー法による計測が行われる. ここでは核酸量の測定も行われる. 核酸量はヒト由来の細胞と非ヒト由来の細胞とでは, 大きく異なるので, より精度の高い計測が可能となっている (図 4). また, CR チャンネル試薬概要を表 10 に示す.

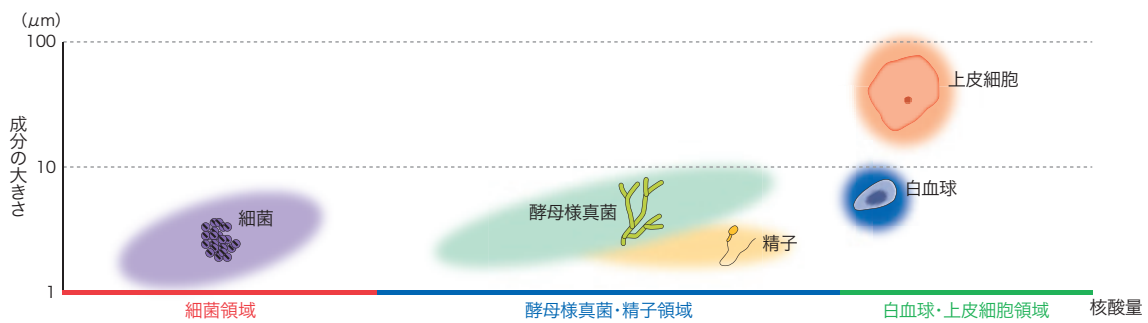


図 4. 核酸量と尿中有形成分の大きさのイメージ図

表 10. CR チャンネル試薬

希釈液	名称	UF-セルパック™ CR
	主成分	酢酸 0.1%未満, 界面活性剤, キレート剤
	機能	界面活性剤により赤血球を溶解, 細胞表面に孔を空け, 染色液の細胞内浸透性を向上 (白血球などの細胞系成分は影響を受けない) キレート剤および酢酸との混合, 加温により, 結晶成分を溶解
染色液	名称	UF-フルオロセル™ CR
	主成分	ポリメチン系色素 0.02% エチレングリコール 99.9%
	機能	核酸の染色

4. フローサイトメトリー法での検出／計測

希釈液、染色液と混合され、加温・攪拌された試料はフローセルに導かれ、フローサイトメトリーによる計測が行われる。このフローサイトメトリーで使用されるシース液の概要を表 11 に示す。

計測は一検体につき SF チャンネル、CR チャンネル (WBC, EC 測定用感度での測定)、CR チャンネル (BACT 測定用感度での測定) の 3 回実施される。各測定で得られるパラメータおよび解析方式を、表 12 および図 5, 6 に示す。前方散乱光 (FSC) は主

表 11. シース液

シース液	名称	UF-セルシース™
	主成分	トリス緩衝剤 0.14%
	機能	フローセル内のシース形成、装置流体系の洗浄など

表 12. 感度項目一覧表

測定チャンネル	信号種類	説明
SFチャンネル	SF_FSC_P (前方散乱光強度)	有形成分の大きさ／厚み
	SF_FSC_W (前方散乱光信号幅)	有形成分の長さ
	SF_FLH_P (側方蛍光強度(高感度))	有形成分の染まり具合
	SF_FLL_P (側方蛍光強度(低感度))	
	SF_FLL_W (側方蛍光信号幅(低感度))	有形成分の長さ
	SF_FLL_A (側方蛍光信号波形面積(低感度))	膜成分・円柱基質の染まり具合
	SF_SSH_P (側方散乱光強度(高感度))	有形成分の内部構造の複雑度合いおよび厚み
	SF_SSL_P (側方散乱光強度(低感度))	
	SF_SSH_A (側方散乱光信号波形面積(高感度))	内部構造の複雑性を加味した大きさ情報
	SF_DSS_P (偏光解消側方散乱光強度)	有形成分が持つ複屈折性の大きさ
CRチャンネル (WBC、EC測定用感度での測定)	CW_FSC_P (前方散乱光強度)	有形成分の大きさ／厚み
	CW_FSC_W (前方散乱光信号幅)	有形成分の長さ
	CW_FLH_P (側方蛍光強度(高感度))	核酸の染まり具合
	CW_FLL_P (側方蛍光強度(低感度))	
	CW_FLL_A (側方蛍光信号波形面積(低感度))	核酸量
	CW_SSH_P (側方散乱光強度(高感度))	有形成分の内部構造の複雑度合いおよび厚み
	CW_SSL_P (側方散乱光強度(低感度))	
	CW_SSH_A (側方散乱光信号波形面積(高感度))	内部構造の複雑性を加味した大きさ情報
CW_DSS_P (偏光解消側方散乱光強度)	有形成分が持つ複屈折性の大きさ	
CRチャンネル (BACT測定用感度での測定)	CB_FSC_P (前方散乱光強度)	有形成分の大きさ／厚み
	CB_FLH_P (側方蛍光強度(高感度))	核酸の染まり具合
	CB_FLL_P (側方蛍光強度(低感度))	
	CB_SSH_P (側方散乱光強度(高感度))	有形成分の内部構造の複雑度合いおよび厚み

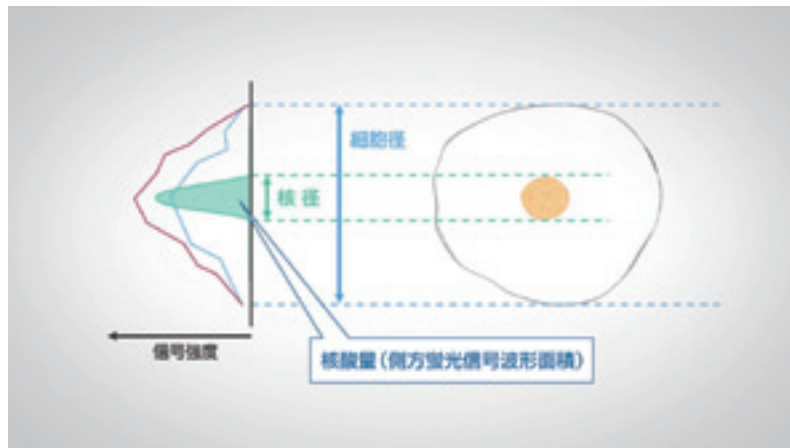


図5. UF-5000 で得られる信号波形

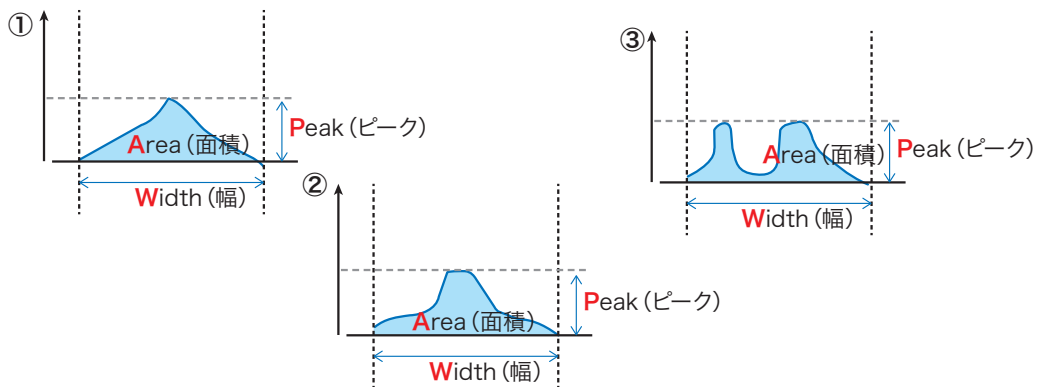


図6. UF-5000 での信号波形解析

に有形成分の大きさおよび透過度の情報，側方散乱光（SSC）は主に有形成分の内部構造および厚みに関する情報，側方蛍光（FL）は有形成分の染色の度合いに関する情報，偏光解消側方散乱光（DSS）は有形成分のもつ複屈折性の大きさ情報を反映する。

このように，UF-5000 では多彩なパラメータをもとに解析を行っている。特に，有形成分の複屈折性や核酸量など，通常の光学顕微鏡では計測できない信号を含むことから，「眼を超える」要素を持ち合わ

せていることが UF-1000i とは大きく異なっている。

図5の例のように横軸が側方蛍光の場合，そのAreaは核酸量を反映する。

また，横軸が側方散乱光の場合，そのAreaは内部構造の複雑性を加味した大きさ情報を反映する。

Peak，Width および Area が同じでも（図6①，②および③），信号波形の形状によって異なった成分と判断される。CASTとMUCUSの分類などで性能向上に寄与する。

有形成分の複屈折性に関する情報は偏光解消側方散乱光の解析により得られる。偏光とは、波の振動面（偏光面）が揃っている光であり、レーザー光はもともと偏光⁹⁾である。結晶などの固形物の多くは「複屈折性」を持っている（**図7**）。このような物質に偏光を照射すると偏光面が変化するので、受光素子の前に偏光フィルターを置いて、元のレーザー光と同一の偏光面を持つ光をカットすると、偏光面が変化した光だけを検出することができる（**図8**）。UF-5000では偏光顕微鏡で観察される偏光像と同じ特性を捉

えている。したがって、結晶など偏光顕微鏡でのみ観察可能な成分からの情報を得ることができる。**図7**のように、複屈折性を有する物質では手前から向こう側に偏光波面がランダムな光（太陽光など）を照射した場合、緑矢印方向の偏光波面を持つ光と青矢印方向の偏光波面を持つ光とでは、物質内での光の伝わりかたが異なっている。

このような物質にレーザー光などの偏光面が単一の光（偏光）を照射すると、その光はその物質を透過した後、偏光面を変える。

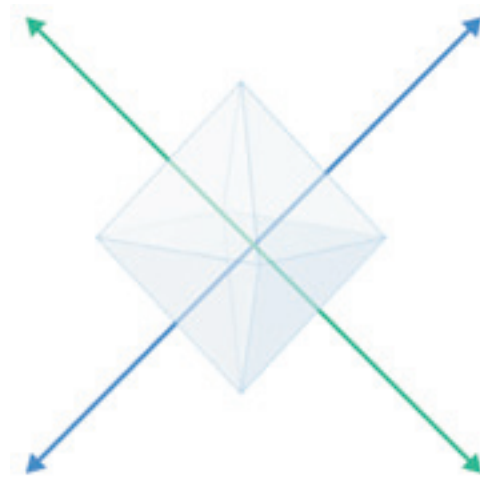


図7. 複屈折性を持つ物質

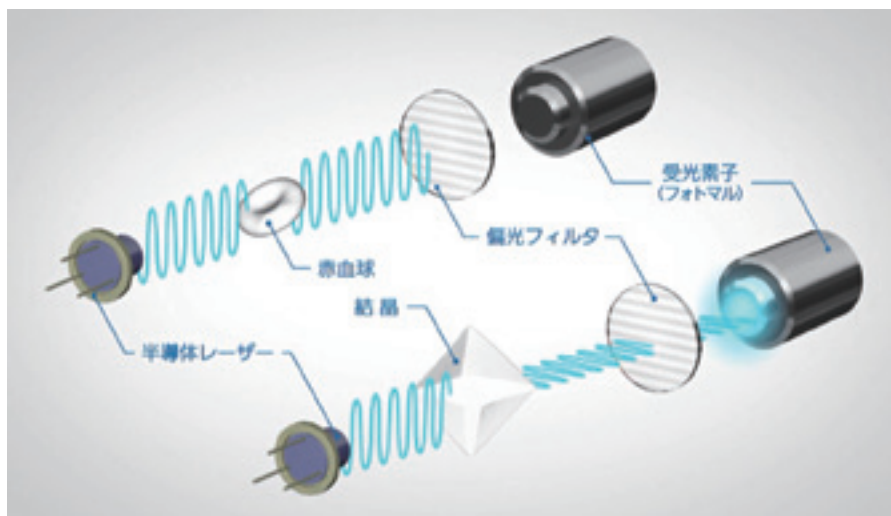


図8. 偏光解消側方散乱光検出図

5. スキャッタグラム解析(尿モード)

フローサイトメトリー法によって得られた有形成分ひとつひとつの前方散乱光, 側方蛍光, 側方散乱光, 偏光解消側方散乱光について信号強度, 信号幅, 信号波形面積および信号波形の解析が行われ, これらの結果を総合的に踏まえた分画アルゴリズムにより, 実際の分画が実施される. 解析(分画)結果はスキャッタグラムとして表示される(スキャッタグラムはU-WAMで表示可能).

1) RBC/X' TAL スキャッタグラム

[SF チャンネル SF_SFC_P / SF_FLH_P (UF-5000 では非表示)]

UF-5000 では表示されないが, UF-1000i でも活用されたスキャッタグラムである(図9). 多くの場合, 赤血球に比べて結晶は染色強度が低い. 白血球や上皮細胞などは染色強度が高いため, スキャッタグラムの右辺に配置され, 核を持たない成分とは区別される. CAST (Path.CAST 含む) は, 前方散乱光強度の比較的低い部分に配置される. 前方散乱光強度は, 粒子の成分が同一であればそのサイズを反映するが, 光透過度や散乱光量により, そのサイズに比べ得られる前方散乱光強度は変化する. 赤血球でもヘモグロビンが抜けたようなものなどでは, 前方散乱光強度は低くなると考えられている. またこの前方散乱光強度は, 粒子の大きさがレーザービーム幅より大きな成分の場合, レーザーが照射された部分の前方散乱光強度(断面積のようなもの)を反映する. これは, フローセル中では, セルの中央部が最も流速が大きく,

粒子は長軸方向に縦向きに流れる性質を持つためである. CAST の前方散乱光強度が比較的低いのは①光透過度, ②大型粒子では前方散乱光強度が断面積を反映することに起因すると考えられる.

2) RBC/X' TAL スキャッタグラム

[SF チャンネル SF_FSC_P / SF_DSS_P]

このスキャッタグラムでは, 新しい検出信号である偏光解消側方散乱光強度が表示され, 主にRBCとX' TALとを分画するものである(図10). SF_FSC_P / SF_FLH_P (図9) のスキャッタグラムとは結晶と赤血球の左右の位置が逆転する. RBCはRBC/X' TAL スキャッタグラム上に, 偏光解消側方散乱光強度の低い位置に赤色のドットで表示される. RBCは複屈折性を持たないため, 偏光解消側方散乱光強度は低くなる. 一方で, X' TALは同スキャッタグラム上に水色のドットで表示される. 偏光解消側方散乱光強度は結晶の複屈折性を反映するため, このスキャッタグラムでは偏光解消側方散乱光強度が非常に小さい赤血球は左側に分布し, 偏光解消側方散乱光強度が大きい結晶ほどより右側に分布する. UF-1000i では, 側方散乱光を用いて結晶成分と赤血球の分画を行っていたが, 赤血球と結晶とで, 側方散乱光強度が同等のものもあり, 分画には限界があった. この課題を解決するための有力な方法として, UF-5000 では偏光解消側方散乱光が採用された. 偏光解消側方散乱光は, 先にも述べたようにその物質の複屈折性を反映するため, UF-5000 ではより確実に赤血球と結晶の分画を行うことが可能となっている. なお, 赤血球, 結晶の分画には,

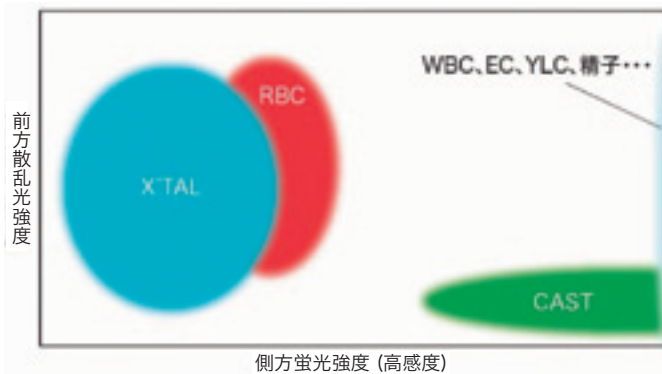


図9. RBC/X'TAL スキャッタグラム (UF-5000 では非表示)

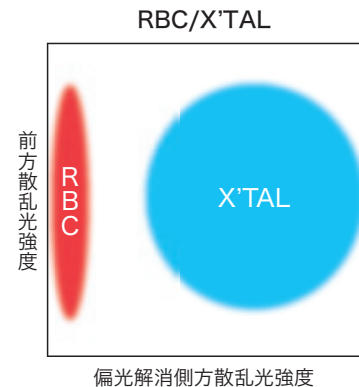


図10. RBC/X'TAL スキャッタグラム

UF-1000iと同様に蛍光信号も使用されている。

また、UF-1000i同様、前方散乱光強度をもとにした赤血球ヒストグラムも得られ、赤血球形態情報(RBC-Info.)の解析が行われる。解析方法はUF-1000iと同等であるため本稿では割愛する(図11)。

3) CAST スキャッタグラム

[SFチャンネル SF_FLL_A / SF_FLL_W]

このスキャッタグラムでは、Path.CAST, Hy.CAST, MUCUSの分画結果が表示される(図12)。Hy.CASTはCASTスキャッタグラム上に濃緑色のドットで表示される。Path.CASTと比較して染色量の総和は小さいので、側方蛍光信号波形面積はMUCUSとPath.CASTの中間となる。Path.CASTは同スキャッタグラム上に黄緑色の

ドットで表示される。内容物を多く含むものほど、染色量の総和は大きくなるので、側方蛍光信号波形面積はHy.CASTよりも大きくなる。MUCUSは同スキャッタグラム上に茶色のドットで表示される。粘液糸はUFセルパック™-SFに含まれる界面活性剤により分散される。このため、SFチャンネルにおいて染色総量を反映する側方蛍光信号波形面積はHy.CASTよりも小さい。

ここでの側方蛍光信号波形面積は蛍光強度の総和を示す。内容物を多く含むものほど、蛍光強度の総和は大きくなる。また、粘液糸は希釈液により分散されるため、一般的には「ほどかれた」状態にあると考えられ、蛍光強度の総和も小さい(図13)。

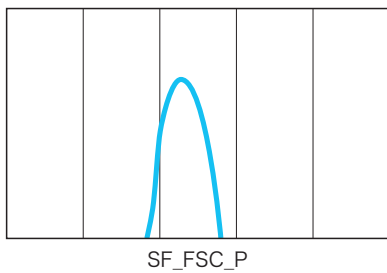


図11. 赤血球ヒストグラム

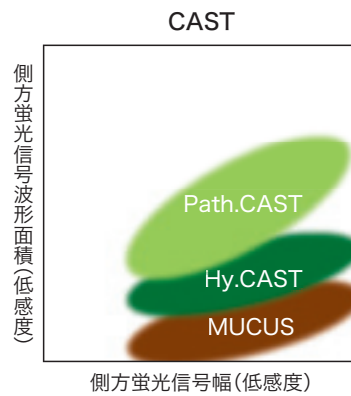


図12. CAST スキャッタグラム

	Hy.CAST	Path.CAST	MUCUS
透過画像			
蛍光画像			
側方蛍光信号波形			

図13. 円柱と粘液糸の染色像, 側方蛍光信号波形

側方蛍光信号幅は、実質的にはその成分の「長さ」と考えて差し支えない。このSFチャンネルでの蛍光強度は強いいため、硝子円柱であってもその全体が染色される。側方蛍光信号幅を有形成分の長さとして表示する方式はUF-1000iでの考え方と同じである。

各成分(Path.CAST, Hy.CAST, MUCUS)がスキヤッタグラム中、右斜め上方向に分布するのは、長さが長ければその分、蛍光強度の総和も大きくなるためであると考えられる。

なお、実際のPath.CAST, Hy.CAST, MUCUSの分画には、信号波形解析や側方散乱光の情報も活用されているが、プロットの見やすさを考慮してUF-1000iと同様のスキヤッタグラムを採用した。

4) WBC/EC1 スキヤッタグラム

[CR チャンネル CW_FSC_W / CW_SSH_A]

WBC/EC2 スキヤッタグラム

[CR チャンネル CW_FSC_W / CW_FLL_A]

このスキヤッタグラムでは、ECおよびWBCが表示される(図14, 15)。

前方散乱光信号幅が有形成分の長さ、側方散乱光信号波形面積が内部構造の複雑性を加味した大きさ情報を反映する。また、側方蛍光信号波形面積が核酸量を反映する(核酸は核だけでなくミトコンドリアなどにも存在するので、細胞内小器官が多い細胞では側方蛍光信号波形面積の値が若干大きくなる)。

WBC/EC1 スキヤッタグラム(図14)は、主に

細胞の形状を反映する。有形成分の長さ(長軸方向の幅)に比した内部構造の複雑性を加味した大きさを示す。

WBCはWBC/EC1, 2スキヤッタグラム上に青色のドットで表示され、左下に収束する。

ECは同スキヤッタグラム上に橙色、薄橙色、赤茶色のドットで表示される。本装置で計測された上皮細胞の総数を示す。

Squa.ECは同スキヤッタグラム上に橙色のドットで表示される。本装置でのSqua.ECは主として表層型の扁平上皮細胞を示すもので、大きさは60~100 μm程度であり、有形成分の長さ(長軸の方向の幅)に対して核酸量は少なく、内部構造の複雑性を加味した大きさ情報としては小さいものになる。したがって、他の上皮細胞系と比べると、有形成分の長さを反映する前方散乱光信号幅に対して側方蛍光信号波形面積や側方散乱光信号波形面積は相対的に小さくなる。一方で、Non SECは同スキヤッタグラム上に赤茶色ないし薄橙色のドットで表示される。有形成分の長さに対して内部構造の複雑性を加味した大きさ情報が大きいものになる。

また、WBC/EC2スキヤッタグラム(図15)は、有形成分の長さとの核酸量の比率を反映する。

Squa.ECは有形成分の長さに対して核酸量が少なく、Non SECは有形成分の長さに対して核酸量は多い。

WBC ClumpsはWBC/EC1, 2スキヤッタグラム上に薄青色のドットで表示される。ひとつの細胞

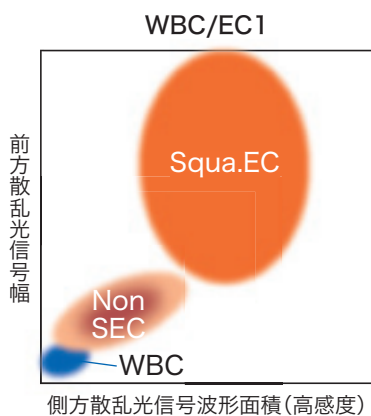


図14. WBC/EC1 スキヤッタグラム

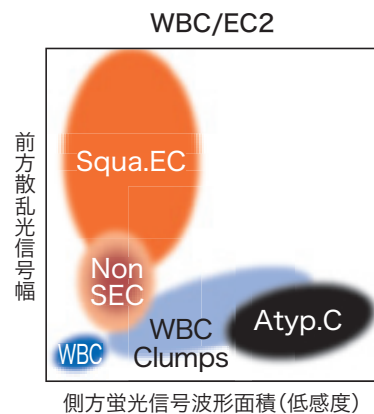


図15. WBC/EC2 スキヤッタグラム

集塊全体としての核酸量が多いので、側方蛍光信号波形面積がWBCより大きくなる。凝集のサイズが大きいほど、有形成分の長さおよび核酸量が増えるのでスキャッタグラム上のドットは右上方向に展開する。

このようにして、WBC, Squa.EC, Non SECは2つのスキャッタグラムに表示される。

なお、Non SECは、研究用項目としてさらにTran.ECとRTECに分類される。Tran.ECはWBC/EC1、2スキャッタグラム上に薄橙色のドットで表示され、RTECは同スキャッタグラム上に赤茶色のドットで表示される。両者は、有形成分の長さ（前方散乱光信号幅）と核酸量（側方蛍光信号波形面積）、もしくは有形成分の長さ（前方散乱光信号幅）と内部構造の複雑性を加味した大きさ情報（側方散乱光信号波形面積）の解析では同一領域に存在する。しかし、核酸量（側方蛍光信号波形面積）と内部構造の複雑性を加味した大きさ情報（側方散乱光信号波形面積）を解析すると、Tran.ECの方が細胞の大きさに比して細胞内核酸量が多い傾向があり、その特徴を解析することで両者の区別が可能となっている。

Non SECに含まれるものとして、Tran.ECおよびRTECの他に研究用項目としてAtyp.C（異型細胞等）がある。WBC/EC2スキャッタグラムの右側のエリアに黒色のドットで表示される。これらの

細胞の中には、核酸が異常に増大した細胞（異型細胞、細胞質内封入体細胞、ウイルス感染細胞など）が含まれ、側方蛍光信号波形面積は大きくなる。先に述べたTran.EC, RTECと比較すると、有形成分の長さ（前方散乱光信号幅）および内部構造の複雑性を加味した大きさ情報（側方散乱光信号波形面積）は同等である。

5) YLC/SPERM スキャッタグラム

[CR チャンネル CW_FSC_P / CW_FLH_P]

このスキャッタグラムでは、YLCとSPERMが表示される（図16）。

YLCはYLC/SPERMスキャッタグラム上に薄緑色のドットで表示される。出芽の状態によっては複数の核が同一菌体群中に存在する。出芽が進めば有形成分の大きさ／厚みならびに有形成分の染まり具合も増加するので、前方散乱光強度および側方蛍光強度も増大し、スキャッタグラム上では右斜め上に展開した分布を示す。

一方、SPERMはYLC/SPERMスキャッタグラム上に薄黄色のドットで表示される。精子は頭部の大きさ／厚みや染まり具合が均一であるため、前方散乱光強度および側方蛍光強度は一定である。スキャッタグラム上、左右横長に表示されるのはYLC/SPERMスキャッタグラムの特性によるものである。なお、SPERMの分画についても波形解析が利用されている。

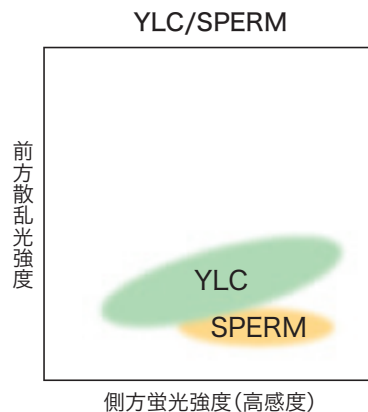


図16. YLC/SPERM スキャッタグラム

6) BACT スキャッタグラム

[CR チャンネル CB_FSC_P / CB_FLH_P]

このスキャッタグラムでは、BACT と DEBRIS が表示される (図 17)。青色半導体レーザーの採用により前方散乱光検出が高感度化された。また、染色色素の変更により有形成分の染まり具合 (側方蛍光強度) における DEBRIS との差を拡大させることが可能となった。この結果、UF-1000i と比較して緑膿菌などの小型の細菌の検出力が向上した。また、細菌の種類に応じて、BACT のスキャッタグラムの形状 (ドットの分布の傾きなど) が異なることも確認されている。BACT は BACT スキャッタグラム上に紫色のドットで表示される。CR チャンネルにおいて、細菌検出用感度での測定が行われる。DEBRIS は細胞断片などの微細な成分である。BACT の分析性能を担保するため DEBRIS として計測し BACT と区別している。スキャッタグラム上に灰色のドットで表示される。

UF-5000 ではスキャッタグラムから推定された細菌グラム染色性情報 (BACT-Info.) を表示する。前方散乱光強度は菌体のペプチドグリカン層など細胞壁の構成成分の違いを反映しており、ペプチドグリカン層が厚いグラム陽性菌ではグラム陰性菌より前方散乱光強度が高い傾向がある。側方蛍光強度は菌体内に浸透できる色素量を反映してお

り、細胞壁の構造の違いによって影響を受ける。グラム陽性菌の場合、細胞壁の構造から菌体内に浸透する色素量は低下するため側方蛍光強度は低くなる。一方、グラム陰性菌の場合、菌体内に浸透する色素量は多くなるため側方蛍光強度は高くなる。BACT-Info. は Gram Positive?, Gram Negative?, Gram Pos/Neg?, Unclassified の 4 種類のメッセージによって表示される。

6. スキャッタグラム解析 (体液モード)

1) SF チャンネル

体液モードでは、SF チャンネルにおいて赤血球の分画が行われる (図 18)。分画の方法は尿モードと同様である。

2) CR チャンネル (体液モード)

尿モードと異なり、上皮細胞の細分類がなく、白血球が MN と PMN に分画される (図 19)。MN は MN/PMN スキャッタグラム上に黄緑色のドットで表示される。MN はリンパ球と単球が含まれ、左下対角線上に存在する。

PMN は MN/PMN スキャッタグラム上に水色のドットで表示される。PMN は顆粒の存在により、側方散乱光強度が高くなり、核の分葉のため側方蛍光強度が弱くなる。

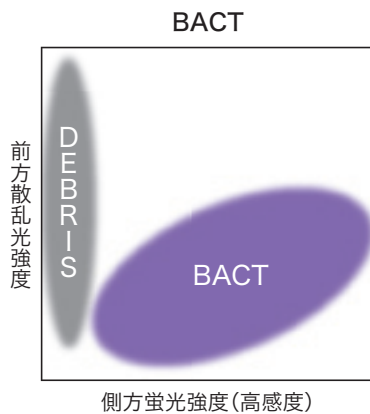


図 17. BACT スキャッタグラム

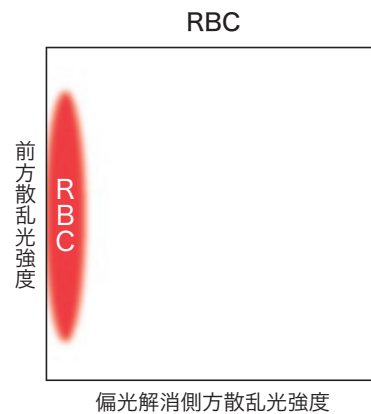


図 18. 体液モード スキャッタグラム (SF チャンネル)

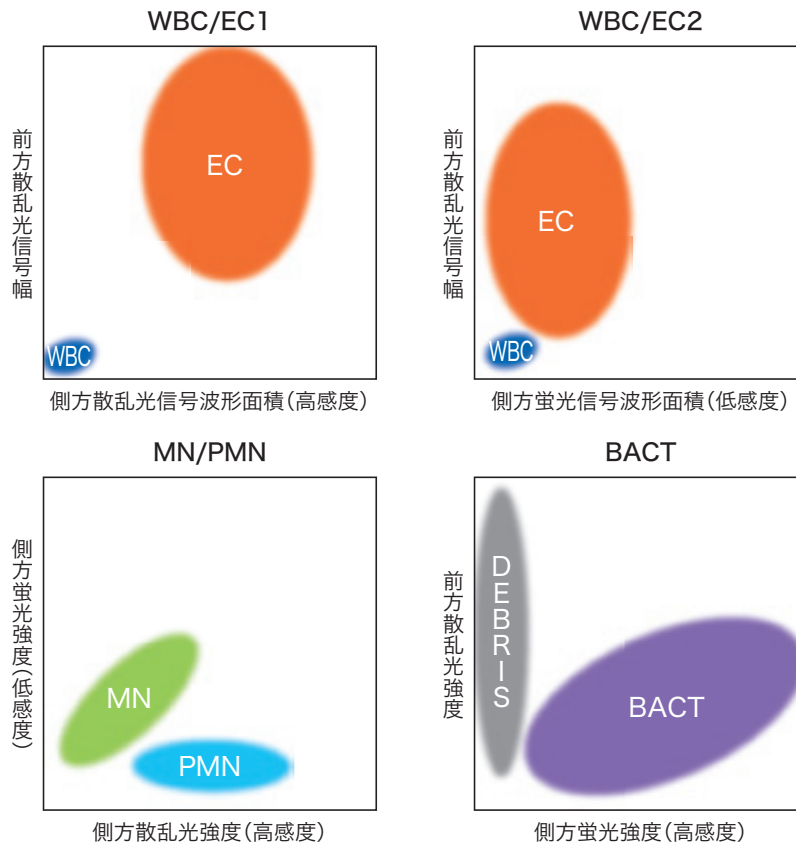


図 19. 体液モード スキャッタグラム (CR チャンネル)

測定結果の表示・出力

これまで述べたように、UF-5000 では有形成分ひとつひとつについて、フローサイトメトリー法によって得られた前方散乱光、側方蛍光、側方散乱光、偏光解消側方散乱光の強度、信号幅、信号波形面積および信号波形の解析を行い、これらの結果を総合的に踏まえた分画アルゴリズムにより、実際に分画が実施される。

装置本体の測定結果画面には測定結果（定量値お

よび半定量値）やコメント（図 20）、研究用項目の測定結果などが表示される。本装置は U-WAM と接続して使用する設計となっており、スキャッタグラムは U-WAM に表示される（図 21）。本体はチケットプリンターと接続することが可能であり、選択した測定結果がチケットプリンターに出力される（報告用項目および研究用項目の測定結果が出力される。ただし、研究用項目はアクセス権限によって出力が制限される）。

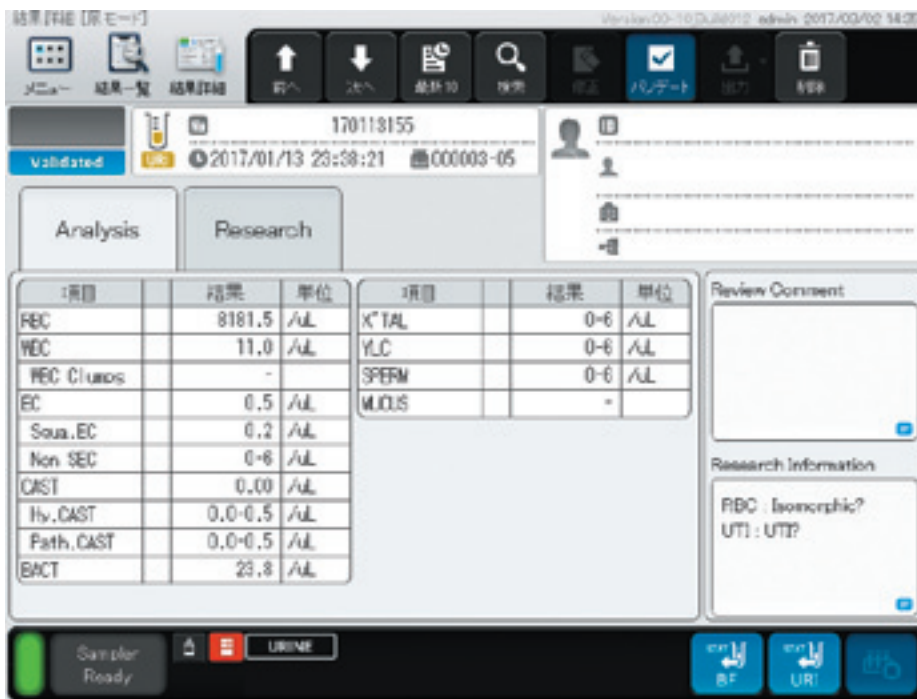


図 20. 測定結果 (Analysis) 画面 (UF-5000)

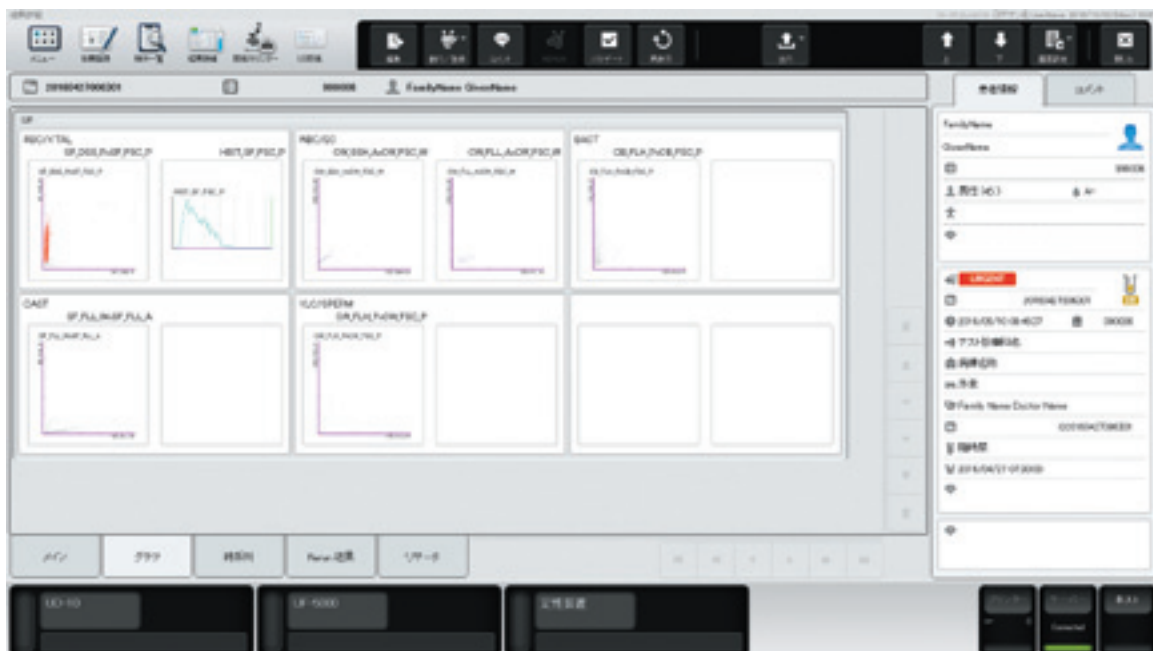


図 21. 測定結果 (スキャッタグラム) 画面 (U-WAM: ver.00-05)

装置の機能

本体の機能としては以下が挙げられる。これらの機能は当社の血液分析装置などでも搭載されている共通機能を多く含む。

- ・ サンプラ測定およびスタット測定
 - ・ 測定データ記憶機能
 - ・ 精度管理機能
 - ・ アンチキャリアオーバー機能
- RBC, WBC が 10,000 / μ L 以上, BACT が 1,000 / μ L 以上の場合, アンチキャリアオーバー機能が動作し自動洗浄が行われる (閾値は装置の設定で変更可能)。
- ・ 低信頼データのフラグ表示機能 (分画異常, 導電率異常など)
 - ・ 異常 (=陽性) 検体, REVIEW 検体の閾値設定およびフラグ表示機能
 - ・ 試薬の IC タグによるロット, 使用期限, 自動認識機能 (染色液)
 - ・ 試薬, コントロールのバーコード認識機能 (ロット, 参考値読み込み)
 - ・ 試薬残量自動監視機能

精度管理とコントロール

本装置は UF-1000i 同様, 精度管理機能を有し, X-bar 管理あるいは L-J 管理の実施が可能である。

UF- コントロール™ (表 13) は本装置の精度管理用コントロール物質であり, UF- コントロール™ -H と UF- コントロール™ -L の 2 レベルからなる。UF- コントロール™ 添付のアッセイシートにバーコードを, ハンディバーコードリーダーで読み取ることで新しいコントロール物質のロット情報を登録することができる。

精度管理を実施する際には, 測定するコントロール物質とそのロットを装置画面にて選択後, サンプ

ルカップにコントロール物質を入れ, STAT 検体ホルダーにセットし測定する。

測定結果は QC チャート画面とレーダーチャート画面で確認することができ, 装置本体に 2 濃度 \times 3 ロット分, U-WAM では 300 プロット \times 50 ファイル分を記憶させることができる。

本装置の精度管理機能による内部精度管理の目的は, その検査室の装置の Repeatability (併行精度) を確認するためのものである。装置のキャリブレーションは製造時あるいはメンテナンス時に実施されるため, その後装置が定められた仕様・性能の範囲内で継続して動作していることを確認するのがこの内部精度管理である。コントロール物質に添付のアッセイシートに記載されたターゲット値および上限値, 下限値は, 日常の精度管理を実施する際の正確度の指標・目安として活用するものではあるものの, 厳密には日常の精度管理結果を評価する際の指標とはいえない。国際的に認知されている CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ガイドライン CLSI C24-A3¹⁰ では, 「メーカーから提供されている Assay Value は内部精度管理開始時のみ利用し, 理想的には異なった日の 20 回測定の結果をもとにターゲット値とリミット値を決める」ことが推奨されている。したがって, 本装置の内部精度管理においてもコントロール物質添付のアッセイシートは目安と考え, 実際のターゲット値および上限値, 下限値は, 実測定値に基づいて設定するのが望ましい。なお, 本装置の測定原理上, コントロール物質の粒子数測定結果よりも SF_FSC_P などの感度項目測定結果のほうが重要度は高い。これは, これらの感度項目が大きく変化した場合, 各スキヤットグラム上のドットの分布が変化し, 設計されたとおりの分画性能が得られにくくなるためである。装置による計測粒子数そのものは RBC および WBC 数測定結果によって十分に担保できるように設計されている。

表 13. UF- コントロール™

名称	UF- コントロール™
主成分	UF- コントロール™ -H : 粒子成分 0.4% (W/W) UF- コントロール™ -L : 粒子成分 0.1% (W/W)
機能	シスメックス製全自動尿中有形成分分析装置, および全自動尿中有形成分撮像ユニットの精度管理用コントロール物質
その他	ラテックス粒子を含有

おわりに

本装置は青色半導体レーザーの使用ならびに光学系の改良，信号波形解析などの新技術搭載により，有形成分の複屈折性，細胞の核酸量，内部構造の複雑性を加味した大きさ情報などが解析可能となった新たな尿中有形成分分析装置である．有形成分の分画技術にも改良を加えた本装置は，従来機種のみならず改良品にとどまらず，次世代の尿中有形成分分析装置であるといえる．粘液糸と円柱，赤血球と結晶の分画など従来項目の分類性能向上にとどまらず，有形成分の核酸量情報を活用し，新規項目 Atyp.C もリサーチ項目として搭載されている．

単なる尿沈渣鏡検のためのスクリーニング装置としての位置付けだけでなく，ガイドラインに基づく臨床像と装置から得られる情報との直接的な対比といった臨床応用研究などが進められれば，エビデンスに基づいた新たな検査情報を，日常の診療現場に提供できることも期待される．

参考文献

- 1) 宝谷紘一 他．限界を超える生物顕微鏡：見えないものを見る．学会出版センター；1991
- 2) 神保孝志．光エレクトロニクス．オーム社；2009
- 3) 伊藤機一 他．UF-1000i Clinical Case Study ver. 2.
- 4) 愛甲佐津紀 他．UF-1000i による尿中赤血球形態情報の検証－尿沈渣検査法・臨床診断との比較－．医学検査．2016；65（4）：419-423
- 5) CLSI. EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures ; Approved Guideline - Second Edition. 2012
- 6) 伊藤機一 他．「Medical Technology」別冊 新・カラーアトラス尿検査．医歯薬出版；2004
- 7) 東海大学医学部附属病院中央臨床検査センター．尿沈渣アトラス．東海大学出版会；1994
- 8) 高橋正宣 他．図説尿沈渣教本．宇宙堂八木書店；1986
- 9) 山口一郎 他．半導体レーザーと光計測．学会出版センター；1992
- 10) CLSI. C24-A3 Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions ; Approved Guideline - Third Edition. 2006