

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4054853号
(P4054853)

(45) 発行日 平成20年3月5日(2008.3.5)

(24) 登録日 平成19年12月21日(2007.12.21)

(51) Int. Cl.

F 1

GO 1 N 21/35	(2006.01)	GO 1 N 21/35	Z
A 6 1 B 5/145	(2006.01)	A 6 1 B 5/14	3 1 O
GO 1 N 21/01	(2006.01)	GO 1 N 21/01	C
GO 1 N 21/27	(2006.01)	GO 1 N 21/27	F
GO 1 N 33/49	(2006.01)	GO 1 N 33/49	K

請求項の数 1 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2000-316330 (P2000-316330)
 (22) 出願日 平成12年10月17日(2000.10.17)
 (65) 公開番号 特開2002-122537 (P2002-122537A)
 (43) 公開日 平成14年4月26日(2002.4.26)
 審査請求日 平成12年10月25日(2000.10.25)
 審判番号 不服2005-7516 (P2005-7516/J1)
 審判請求日 平成17年4月27日(2005.4.27)

(73) 特許権者 501203344
 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究
 機構
 茨城県つくば市観音台3-1-1
 (74) 代理人 100085257
 弁理士 小山 有
 (74) 代理人 100086221
 弁理士 矢野 裕也
 (72) 発明者 河野 澄夫
 茨城県土浦市永国1153-15

合議体
 審判長 高橋 泰史
 審判官 門田 宏
 審判官 山村 祥子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 近赤外分光法を用いた血液分析法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

血液の化学成分または理化学的特性の検量線を作成し、分析対象の血液試料の近赤外吸収スペクトルを測定し、この測定値を前記検量線に代入することによって、前記血液の化学成分の濃度や理化学的特性を算出するようにした血液分析法において、

前記検量線の作成は、検量線作成用の血液試料を入れた透光性の複数の同じ採血管または複数の同じ採血袋を用意し、この採血管または採血袋に波長700nm～1100nmの近赤外光を照射し、当該測定波長における検量線作成用の血液試料の透過光強度を測定し、また基準となるセラミックス板に波長700nm～1100nmの近赤外光を照射し、当該測定波長におけるセラミックス板の透過光強度を測定し、これら検量線作成用の血液試料の透過光強度とセラミックス板の透過光強度の比から波長700nm～1100nmにおける吸光度を算出し、この吸光度に基づいて波長に対して吸光度をプロットした近赤外吸収スペクトルを測定し、この近赤外吸収スペクトルから目的の化学成分または理化学的特性の検量線を作成し、

前記分析対象の血液試料の近赤外吸収スペクトルの測定は、前記検量線作成用の血液試料を入れた透光性の採血管または採血袋と同一規格の採血管または採血袋に分析対象の血液試料を入れ、この採血管または採血袋に波長700nm～1100nmの近赤外光を照射し、当該測定波長における分析対象の血液試料の透過光強度を測定し、また基準となるセラミックス板に波長700nm～1100nmの近赤外光を照射し、当該測定波長におけるセラミックス板の透過光強度を測定し、これら分析対象の血液試料の透過光強度とセ

ラミックス板の透過光強度の比から波長700nm～1100nmにおける吸光度を算出し、この吸光度に基づいて波長に対して吸光度をプロットした近赤外吸収スペクトルを測定することを特徴とする血液分析法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、赤血球、ヘマトクリット、ヘモグロビン、総タンパク質、総コレステロールおよび血糖などの血液の化学成分および理化学的特性（以下、目的特性と呼ぶ）を分析する血液分析方法とその装置に関する。

【0002】

【従来の技術】

従来、血液中の目的特性を知るには、採取した血液を遠心分離により血漿と赤血球に分離し、上澄み液の血漿を血液自動分析機などにかけて行われている。

【0003】

また、簡易的な分析法としては、特表平5-506171号公報および特表平7-503863号公報に開示される方法が知られている。

これらの方法はいずれも人体から採血することなく、指や耳などに近赤外線を照射し、反射光スペクトルなどを測定することで血液中の成分、例えば血中グルコース濃度を知るようにしたものである。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

血液を血漿と赤血球に分離して上澄み液の血漿を自動分析する方法は、迅速性に欠け、また分析には多くの試薬を使用するとともに熟練を必要とするので、採血現場で未熟練者が行う血液の分析法としては問題がある。

【0005】

一方、特表平5-506171号公報および特表平7-503863号公報に開示される方法にあっては、簡易的ではあるが血液を直接測定していないため、ノイズが多く、測定精度において問題がある。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明は簡易的ではあっても高精度に血液中の目的特性の分析を行える血液分析法および血液分析装置を提供することを目的とする。

【0007】

上記目的を達成するため本発明に係る血液分析法は、透光性の採血管または採血袋内の血液に、外部から採血管または採血袋を通して光を照射し、該採血管または採血袋内の血液からの散乱反射光、散乱透過光あるいは透過反射光を光センサーで検出して血液の近赤外吸収スペクトルを測定し、この測定値を、同様の方法により測定したスペクトルから予め作成した検量線に代入することで、血液の化学成分または理化学的特性を知るようにした。

【0008】

従来の近赤外分光法では、波長域として1100nm～2500nmの近赤外光を用いているため、光路長が0.1～2mmの特殊な水晶製の試料セルを用意する必要がある。このため、洗浄・乾燥・試料の充填などの操作が面倒で、時間を要し、更に光路長が狭いことから試料の不均一さや夾雑物の存在が測定結果に大きく影響を及ぼしてしまう。しかしながら、近赤外光であっても700nm～1100nmの短波長域の近赤外光は、長波長域（1100nm～2500nm）に比較して10～100倍ほど透過力が大きく、短波長域の近赤外光を用いれば光路長を1～2cm程度にすることができ、採血管または採血袋に入れたまま血液の分析を行うことができる。

【0009】

近赤外光を対象物（血液）に照射すると、対象物に含まれる各種分子により特定の波長の

10

20

30

40

50

みはその分子数に比例して吸収される。そして、分子構造（分子の種類）により吸収される光の波長が異なる。血液のように多種成分が含まれるものでは、吸収が重なりあった複雑な吸収現象が起こる。吸光度（光の吸収される度合い）を波長ごとにプロットすることにより近赤外吸収スペクトルが得られる。この近赤外吸収スペクトルを用いて定量分析を行うには、目的特性の値（濃度或いは特性値）とスペクトルデータとを関係づける関係式（検量線）が必要となる。通常検量線は、目的特性値が既知な試料のスペクトルを測定し、そのスペクトルデータと目的特性値に基づいて、重回帰分析、主成分回帰分析、PLS回帰分析などのケモメトリックス（chemometrics）の手法により作成することができる。

【0010】

また、上記目的を達成するため本発明に係る血液分析装置は、透光性の採血管または採血袋の収納部を形成したブロックと、光源または試料からの光から近赤外光を分光する分光器と近赤外光を検出する光センサーを備えた近赤外装置と、前記光源あるいは前記分光器から発せられた近赤外光を収納部内の採血管または採血袋まで導くとともに採血管または採血袋内の血液からの散乱反射光、散乱透過光あるいは透過反射光を前記分光器を経てあるいは直接前記光センサーまで導く導光手段と、前記近赤外装置にスペクトルの測定指令を出力するとともにその測定値を予め作成した検量線に代入して被測定血液の目的特性（化学成分または理化学的特性）を算出する制御手段とを備える構成とした。

【0011】

前記光源としてはタングステンハロゲンランプ等のメタルハライドランプ（白色光源）が高輝度のため好ましい。また光センサーとしてはコンパクト化が容易で今後広く用いられる可能性があるダイオードアレイが考えられる。

【0012】

また、光源として分光した近赤外光を用いる場合には、光センサーとして現在一般的に使用されているシリコン検出器または硫化鉛検出器を用いることが好ましい。

また、導光手段としては、光ファイバー（単線）または光ファイバーバンドル（光ファイバーを束ねたもの）が好ましい。

更に前記ブロックに、採血管または採血袋内の血液を所定の温度に安定化せしめるための温度制御手段を設けることで、高精度の測定が可能となる。

【0013】

【発明の実施の形態】

以下に本発明の実施の形態を説明する。図1は本発明に係る血液分析法を実施する装置の一例の全体図、図2は同装置で基準物質を分析している状態を示す部分拡大断面図、図3は同装置で血液を分析している状態を示す部分拡大断面図である。

【0014】

本発明の血液分析方法を実施するための血液分析装置は、図1に示すように、分散型近赤外装置1と、制御するコンピュータ2を備え、分散型近赤外装置1内には光源からの白色光から近赤外光を分光する分光器と近赤外光を検出する光センサーが内蔵され、また近赤外装置1にはアルミニウム製のブロック3が付設されている。

【0015】

このブロック3には透光性の採血管4を装填可能とした収納部5が形成され、収納部5の上は開放され、この開放された部分からのノイズ光の入射を防ぐためのキャップ6が配置されている。

【0016】

また、収納部5の内側面には一端が前記近赤外装置1内の分光器につながる光ファイバー7の他端が臨み、収納部5の内側面で光ファイバー7の他端と対向する位置には一端が近赤外装置1内の光センサーにつながる光ファイバー8の他端が臨んでいる。そして、前記光ファイバー7、8は蛇腹チューブ9で保護されている。

【0017】

更に、ブロック3の下面には、採血管4内の血液を所定の温度に安定化せしめるためのパネルヒータなどの加熱装置10が設けられ、この加熱装置10をコントローラ11で制御

10

20

30

40

50

するようにしている。

【 0 0 1 8 】

以上の分析装置を用いた試料血液のスペクトル測定手順を以下に述べる。

まず、アルミニウムブロック 3 の収納部 5 内にスペクトル測定の基準物質であるセラミック板 1 2 をセットし、その上に遮光用キャップ 6 をかぶせる。次に、制御用コンピュータ 2 を操作して、セラミック板 1 2 の透過光強度を測定する。すなわち、近赤外装置 1 のスリットからの 7 0 0 n m ~ 1 1 0 0 n m 域の分光した近赤外光を光ファイバー 7 を介してセラミック板 1 2 に照射し、セラミック板 1 2 を拡散透過した光を光ファイバー 8 を介して近赤外装置 1 内の光センサーで検出する。

【 0 0 1 9 】

近赤外装置 1 は約 0 . 5 秒間で所定の波長域を掃引可能であり、通常 5 0 回程度の掃引を行い、得られたスペクトルを平均化して各波長におけるセラミック板 1 2 の透過光強度を測定する。

【 0 0 2 0 】

次に、セラミック板 1 2 に換えて、ウォータバスなどで所定の温度に調整した血液試料入り採血管 4 を収納部 5 に入れ、同様の手順で血液試料の透過光強度を測定する。

【 0 0 2 1 】

次に、制御用コンピュータ 2 で式 (1) で示す吸光度を算出し、制御用コンピュータ 2 の画面に、波長に対して吸光度をプロットしたいわゆる近赤外吸収スペクトルを表示させる。

$$A (\quad) = \log \{ E_r (\quad) / E_s (\quad) \} \quad (1)$$

ここで、A () : 波長 n m における吸光度

E_r () : 波長 n m におけるセラミック板を透過した光の強度

E_s () : 波長 n m における血液試料を透過した光の強度

【 0 0 2 2 】

図 4 に拡散透過方式で測定した山羊の動脈血と静脈血の近赤外吸収スペクトル、図 5 に拡散反射方式で測定した山羊の静脈血の近赤外吸収スペクトルを示す。各スペクトルとも、9 7 0 n m の水の吸収バンドが観察される。静脈血では還元型ヘモグロビンで観察される 7 6 0 n m の吸収バンドが見られる。血液試料中の目的特性による吸収バンドを明瞭に見ることはできないが、これらの目的特性に関する情報も同スペクトルに含まれており、ここで、スペクトルデータから各目的特性に関する情報を抽出するには、それらを関連付ける検量線が必要となる。

以下に、血液試料の目的特性、例えばヘモグロビン濃度を測定するための検量線の作成手順について述べる。

【 0 0 2 3 】

(1) ヘモグロビン濃度にバラッキのある血液試料を少なくとも 1 0 0 検体準備する。

(2) 血液試料を採血管 4 に採取し、ウォータバスで品温を所定の温度に整えた後、前述した方法により血液試料の近赤外吸収スペクトルを測定する。この操作を検体数だけ繰り返す。

(3) 各血液試料のヘモグロビン濃度を公知の手法により求める。

(4) 分析したヘモグロビン濃度を、対応するスペクトルデータファイルに入力する。

(5) ヘモグロビン濃度を付したスペクトルデータを検量作成用と評価用に 2 分割する。

(6) 必要に応じて近赤外吸収スペクトルの前処理として検量線作成用スペクトルデータに M S C 処理、微分処理などを施す。

(7) 前処理を施した検量線作成用スペクトルデータを用いて、ケモメトリックスの手法、例えば、重回帰分析、主成分回帰分析、P L S 回帰分析等の手法により検量線の候補となる関係式 (回帰式) を複数作成する。

(8) 検量線作成に使用しなかった検量線評価用スペクトルデータを用いて、前項で作成された関係式の性能を誤差の標準偏差 (S E P) により評価する。標準偏差 (S E P) が最も小さいものをルーチン分析時の検量線として採用する。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 4 】

拡散反射方式で測定した血液の2次微分スペクトルを用いPLS回帰分析を行った結果を表1に示す。

【 0 0 2 5 】

【表1】

目的特性	F	R	SEC	SEP	バイアス
ヘモグロビン(%)	3	0.99	0.26	0.28	0.00
ヘマトクリット(%)	3	0.99	0.81	0.86	0.04
酸素(%)	4	0.90	1.95	2.34	-0.03

10

F: 検量線に使用したファクター数

R: 重相関係数

SEC: 検量線作成時の標準誤差

SEP: 検量線評価時の標準誤差

バイアス: 従来法による値の平均値とNIR値の平均値の差

【 0 0 2 6 】

ヘモグロビン(Hb)測定用の検量線の公知の手法による値とNIR測定値の間の相関係数は0.99、標準偏差(SEC)は0.26%である。また、別のデータセットを用いて行う検量線評価時の標準誤差(SEP)は0.28%である。ルーチン分析の場合、このSEPの値の誤差をもって測定が行われることになる。

20

【 0 0 2 7 】

ルーチン分析の場合、例えばヘモグロビン(Hb)測定には次のような検量線を用いる。

$$Hb(\%) = F_1 \cdot q_1 + F_2 \cdot q_2 + F_3 \cdot q_3 + F_4 \cdot q_4 \quad (2)$$

ここで、 $F_i = A(\) \cdot W_i(\)$

F_i : i 次のファクター(但し、 $i = 1 \sim 4$)

$A(\)$: 血液の原スペクトル(nm における吸光度)。

$W_i(\)$: i 次のローディング・ウェイト(但し、 $i = 1 \sim 4$)

q_i : i 次の回帰係数(但し、 $i = 1 \sim 4$)

30

【 0 0 2 8 】

回帰係数 q_i 、およびローディング・ウェイト $W_i(\)$ は目的特性に応じて決定される定数であるので、各波長における吸光度から、式(2)を用いてヘモグロビン(Hb)の濃度を算出できる。ヘマトクリットおよび酸素をはじめ他の目的特性についても、同様の方法により定量分析が可能である。

【 0 0 2 9 】

現場などにおけるルーチン分析においては、血液のヘモグロビン濃度に関する分析手順は次のようになる。但し、前述した検量線が近赤外装置1又は制御用コンピュータ2に記憶されているものとする。

40

【 0 0 3 0 】

(1) 近赤外装置1の電源を入れ、安定化した後、基準セラミック板12を用いて基準スペクトルを測定する。

(2) 採血管4に入った血液試料をウォータバスで所定の温度に調整する。

(3) 温度の調整を行った血液試料入りの採血管4をアルミニウムブロック3の収納部5に装填し、制御用コンピュータ2を操作して分散型近赤外装置1にスペクトル測定をさせる。

(4) スペクトル測定後、制御用コンピュータ2は記憶している検量線と得られたスペクトルに基づいてヘモグロビン濃度を算出し、ヘモグロビン濃度を画面に表示する。

(5) 試料の数だけ、(2)~(4)の装置を繰り返す。(3)および(4)の操作に要

50

する時間は30秒程度である。

【0031】

血液のヘモグロビン(Hb)およびヘマトクリット含量をルーチン分析した場合の公知の手法による値とNIR値の関係をそれぞれ図6および図7に示す。

【0032】

なお上述の実施の形態においては、拡散透過法を用いた血液の目的特性の測定した場合について説明した。しかし、拡散反射法あるいは透過反射法を用いることも可能である。もちろん、これらの場合、光ファイバーの配置は異なってくる。

【0033】

【発明の効果】

以上に説明したように本発明によれば、採血管、採血袋等の透明容器に入れたままで血液の目的特性値を測定できるので、採血現場で血液の主要成分に関する情報を容易に得ることができる。これにより、現場における栄養診断あるいは健康診断などが実現する。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係る血液分析法を実施する装置の一例の全体図

【図2】同装置で基準物質を分析している状態を示す部分拡大断面図

【図3】同装置で血液を分析している状態を示す部分拡大断面図

【図4】拡散透過方式で測定した動脈血および静脈血の近赤外吸収スペクトル図

【図5】拡散反射方式で測定した静脈血の近赤外吸収スペクトル図

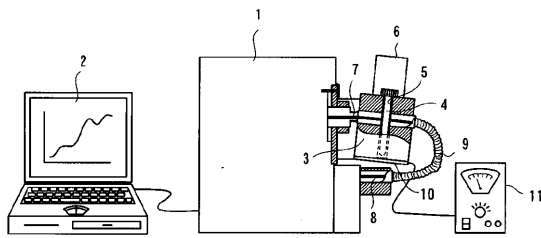
【図6】血液ヘモグロビン(Hb)の近赤外分光法による測定例を示す図

【図7】血液ヘマトクリットの近赤外分光法による測定例を示す図

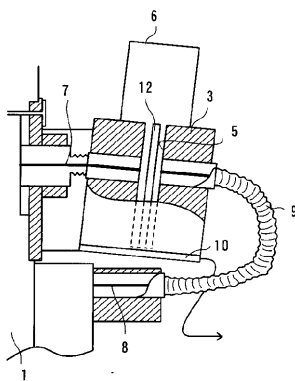
【符号の説明】

1...分散型近赤外装置、2...コンピュータ、3...ブロック、4...採血管、5...収納部、6...遮光用キャップ、7、8...光ファイバー、9...蛇腹チューブ、10...加熱装置、11...コントローラ、12...基準用セラミック板。

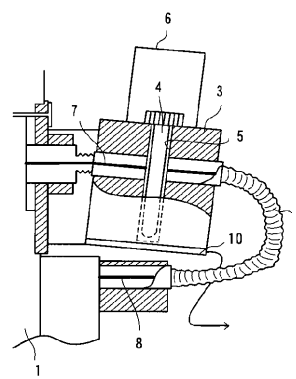
【図1】



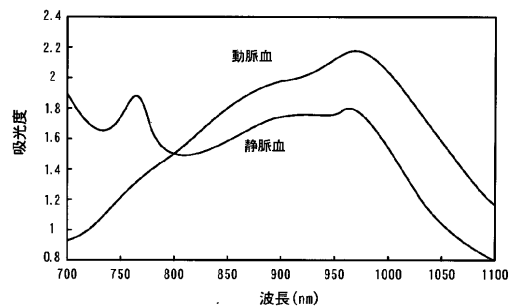
【図2】



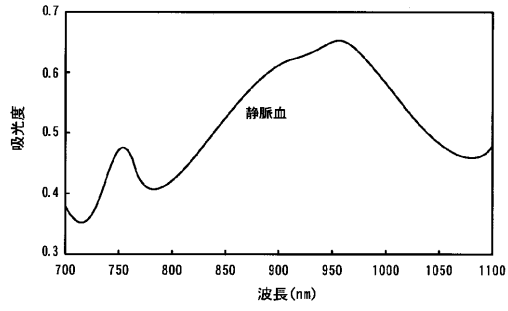
【図3】



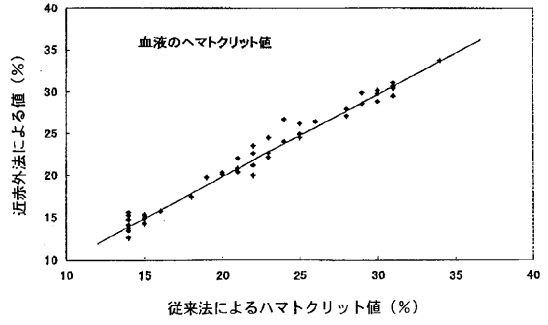
【図4】



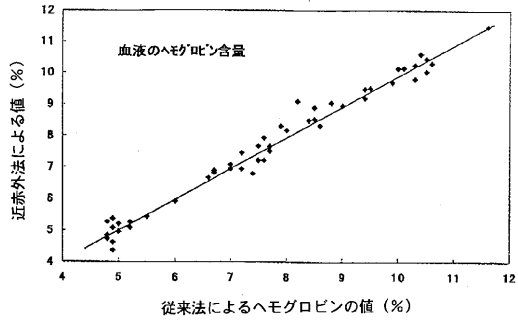
【 図 5 】



【 図 7 】



【 図 6 】



フロントページの続き

- (56)参考文献 特開平 1 1 - 1 7 3 9 8 2 (J P , A)
国際公開第 9 9 / 6 6 3 1 0 (W O , A 1)
特開平 7 - 4 9 3 5 0 (J P , A)
特開昭 6 2 - 2 5 1 6 6 1 (J P , A)
特開平 8 - 5 0 0 9 3 (J P , A)
特開昭 6 1 - 8 2 1 4 5 (J P , A)
特開平 6 - 3 2 6 4 (J P , A)
特開平 5 - 1 8 8 2 3 (J P , A)
特開平 4 - 3 5 1 9 4 5 (J P , A)

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N21/00-21/61