

CDA-1000 によるヒト血測定 白血球

1. はじめに

血液には、血球、凝固因子、免疫物質など様々な成分が含まれている。この中で粒子として認識できるものは血球成分である。末梢血中に含まれる主な血球成分として赤血球、白血球、血小板が知られており、その濃度の測定は健康状態を知る上で重要な検査項目のひとつであり、また様々な研究においても測定項目として採用されている。

血液をそのまま顕微鏡で観察すると血球の密度が高すぎて隙間なく血球が寄り添った状態であり、一つ一つの形状を確認することや、計数することはできない。このため、生理食塩水などで希釈し、血球が適度に分散して観察しやすい状態にする必要がある。通常、白血球と赤血球の比率は1:1000程度であり、赤血球が適度に分散するように希釈（数万～数十万倍希釈）すると白血球密度は非常に低くなり、視野全体にほとんど出現せず観察が困難である。

そこで、一般的に白血球を観察するためには、適度（数百倍）に希釈した血液試料に溶血剤を添加する、もしくは、低浸透圧条件や薬剤（界面活性剤など）を含有する試薬で血液を希釈・溶血する処理が施される。数百倍希釈だけでは赤血球が妨害して白血球の観察は困難であるが、赤血球を溶血させることで残存する白血球が明確に観察される。

上記条件は機器による測定に対しても当てはまる。試薬成分、希釈倍率、反応時間などに違いはあるものの、各社から発売されている血球測定機器では、希釈・溶血処理した試料を白血球測定に用いており、各機器に特有のパラメータを用いて白血球を弁別している。

CDA-1000 は電気的検知帯方式を原理として粒子の大きさを計測することができることから、溶血後に残存する白血球を測定できるのではないかと考え、測定を試みたので報告する。

2. 試料と方法

2.1 試料

血液 : ヒト血 (抗凝固剤 EDTA-2K 加)
 希釈液 : セルパック (シスメックス株)
 溶血剤 : クイックライザ V (シスメックス株)
 測定試料

血液をセルパックで 500 倍希釈したのち、溶血剤を 3 滴添加して攪拌し、30 秒間反応させた。

2.2 装置条件

アパチャー : 100 μm
 X 軸 : 粒子径, 体積
 分析量 : 500 μL
 モード : セルモード

3. 結果

3.1 粒度分布

CDA-1000 の測定結果を図 1, 2 に示す。

図 1, 2 に示すように両裾が X 軸にまで下がった二峰性の分布として白血球を捉えた。溶血した赤血球および血小板は LD (L. ディスクリ, 粒度分布解析の下限值) より小さい領域に出現した。

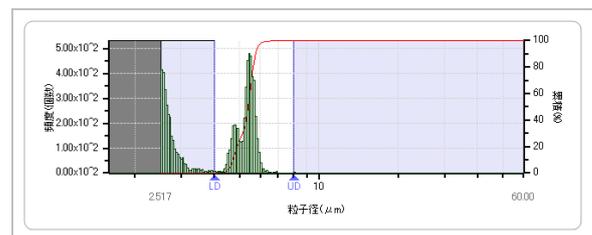


図 1 白血球測定 (粒子径)

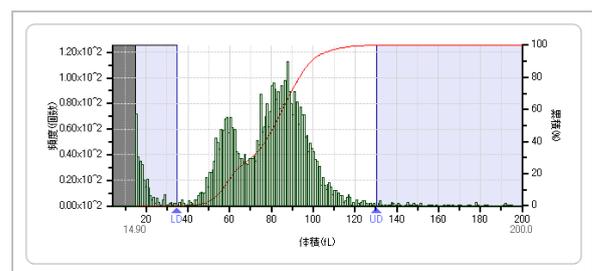


図 2 白血球測定 (体積)

二峰性を示した分布のうち、左側の小粒子の山は白血球の中でも比較的小さいリンパ球を主に含んでおり、右側の大粒子の山は顆粒球を多く含む。

表 1.1 粒子径測定

	濃度	平均粒子径
測定値	$48.8 \times 10^2 / \mu\text{L}$	5.294 μm

表 1.2 体積測定

	濃度	平均体積
測定値	$47.0 \times 10^2 / \mu\text{L}$	80.279 fL

注) 表中の値は 10 回測定の平均値

3.2 再現性

一回測定ごとに希釈・溶血反応を実施する方法で10回測定実施。

粒子径、体積測定の結果を示す。良好な再現性であった。

表 2.1 粒子径測定

	濃度	平均粒子径
平均	$48.8 \times 10^2 / \mu\text{L}$	5.294 μm
SD	89.6	0.04
CV	1.84 %	0.79 %

表 2.2 体積測定

	濃度	平均体積
平均	$47.0 \times 10^2 / \mu\text{L}$	80.279 fL
SD	85.3	2.69
CV	1.82 %	3.35 %

[参考] ヒト以外の動物種の血液測定

アプリケーション作成時に入手可能であった動物血液を対象に白血球測定を実施した。測定試料作製(反応)条件, 装置条件はヒト血液測定の場合と同じである。

1)サル

1)-1 粒子径測定

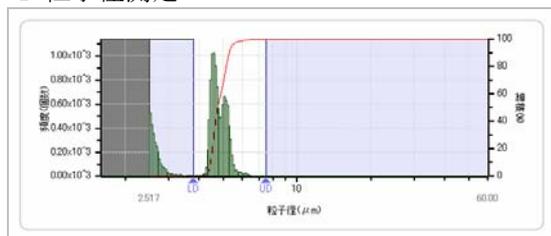


図 a サル 白血球測定 (粒子径)

表 a サル血測定値 (粒子径)

	白血球	平均粒子径
測定値	$121 \times 10^2 / \mu\text{L}$	4.842 μm

1)-2 体積測定

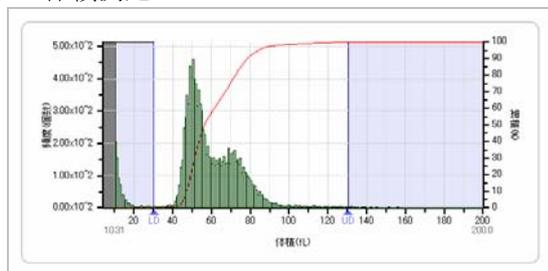


図 b サル 白血球測定 (体積)

表 b サル血測定値 (体積)

	白血球	平均体積
測定値	$120 \times 10^2 / \mu\text{L}$	60.708 fL

2)ウサギ

2)-1 粒子径測定

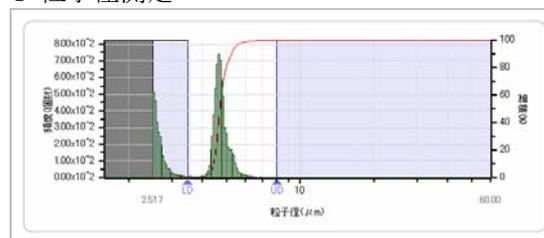


図 c ウサギ 白血球測定 (粒子径)

表 c ウサギ血測定値 (粒子径)

	白血球	平均粒子径
測定値	$71.5 \times 10^2 / \mu\text{L}$	4.785 μm

2)-2 体積測定

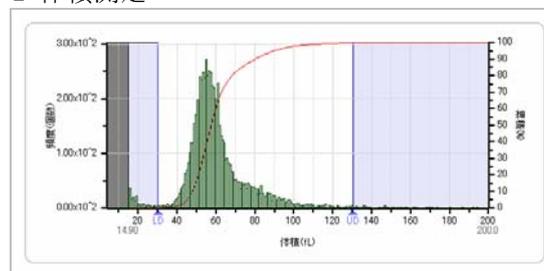


図 d ウサギ 白血球測定 (体積)

表 d ウサギ血測定値 (体積)

	白血球	平均体積
測定値	$74.9 \times 10^2 / \mu\text{L}$	60.818 fL

サル, ウサギともに特に問題は認めなかった。ヒトの粒度分布と比べると、左側(小さいほう)の山が高くなって単峰性に近い分布を示しておりリンパ球比率の高い試料であると推察できるなど、CDA測定による粒度分布の有効性がわかる。

発行 : シスメックス株式会社 科学計測事業部

〒651-2271 神戸市西区高塚台4丁目4番地の4

Tel. (078) 991-2091 Fax (078) 997-9976

URL : <http://www.sysmex.co.jp/labscience/>

Published by : SYSEMEX CORPORATION SCIENTIFIC INSTRUMENTATION BUSSINESS DIV.

Copyright © 2010 by SYSEMEX CORPORATION

No part of this publication may be reproduced without the prior the written permission of the publisher.

Printed in Japan.

本誌の内容を無断で複写・複製・転写すると、著作権・出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。