

CDA-1000 によるヒト血測定

赤血球, 血小板

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。

赤血球は、血液中に最も多く含まれる血球である。生理食塩水等の希釈液で適切な濃度に希釈した血液試料を計数に用いるのが一般的である。白血球の大きさは赤血球と同程度であるが、含有量は大きく異なる（白血球/赤血球=約 1/1000）ので、その影響は無視できる。血小板は赤血球、白血球に比べて小さいため、大きさで区別することができる。計数しやすい濃度に希釈液で希釈した血液試料を測定に用いる。

血球の濃度を知るために、古くは計算盤を用いて顕微鏡下で目視計数する方法に始まり、現在では機器による測定が主流となっている。計算盤を用いる方法は、作業が煩雑で手技（個人差）による誤差要因を少なからず含んでいる。一方、機器による測定は、数多くの血球をカウントできることから精度が高く、種々の誤差要因を低減することができる。

機器の測定原理としては、粒子が細孔を通過する際に生じる電気的変化を利用した方式や、粒子による光の遮断や散乱を利用した方式などが知られている。ここで紹介する CDA は電気的検知帯方式を原理として試料中の粒子の数や体積を測定する装置である。

今回、CDA を用いて血液中の血球（赤血球、血小板）測定を試みたので報告する。

2. 試料と方法

2.1 試料

ヒト血（抗凝固剤 EDTA-2K 加）

1) 赤血球測定

装置に使用される電解液（セルパック）は浸透圧、電気伝導度が生理食塩水とほぼ同等であるため、これを用いて 250,000 倍希釈した試料を測定に用いた。

セルパック：血液＝9,980:20（500 倍希釈）の割合で希釈したのち、さらに 500 倍希釈を実施（ $500 \times 500 = 250,000$ 倍）。

2) 血小板測定

セルパックで 50,000 倍希釈した試料を測定に用いた。

セルパック：血液＝9,980:20（500 倍希釈）の割合で希釈したのち、さらに 100 倍希釈を実施（ $500 \times 100 = 50,000$ 倍）。

2.2 装置条件

1) 赤血球測定

アパチャー : 100 μ m
X 軸 : 粒子径, 体積
分析量 : 500 μ L
モード : セルモード

2) 血小板測定

アパチャー : 50 μ m
X 軸 : 粒子径, 体積
分析量 : 200 μ L
モード : セルモード

*) セルモード

検出電流値を低く設定したモード
赤血球のように細胞内に核などの内容物を含まない場合に、電流が細胞内を通過することで実際よりも粒子径、体積が小さく測定されることを回避したモード

3. 結果

3.1 粒度分布

CDA-1000 の測定結果を図 1, 2 に示す。

1) 赤血球測定

図 1, 2 に示すように一つのピークを持ち、両裾が X 軸にまで下がった粒度分布で赤血球を捉えた。

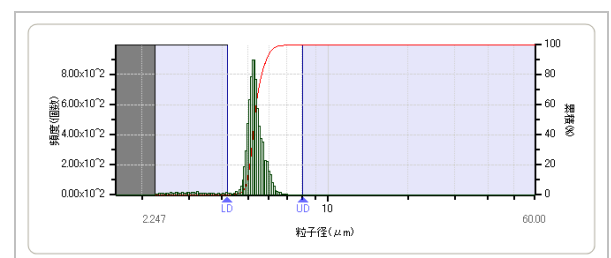


図 1 赤血球測定（粒子径）

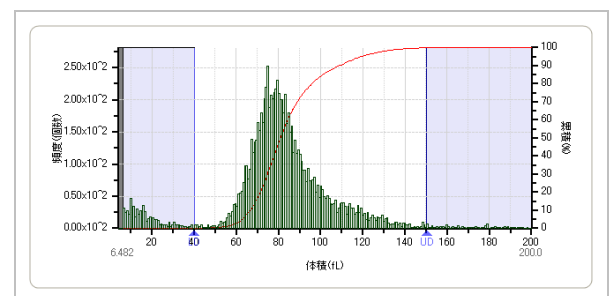


図 2 赤血球測定（体積）

2) 血小板測定

図 3, 4 に示すように赤血球よりも小さい位置に分布する血小板を捉えた。赤血球の分布とは明確に弁別可能である。

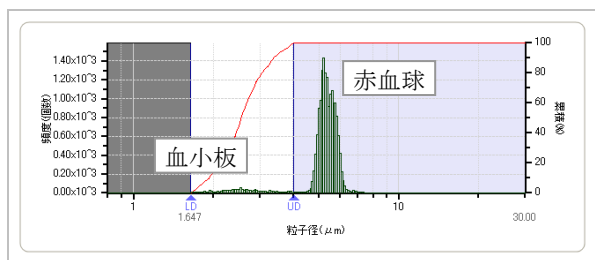


図 3 血小板測定 (粒子径)

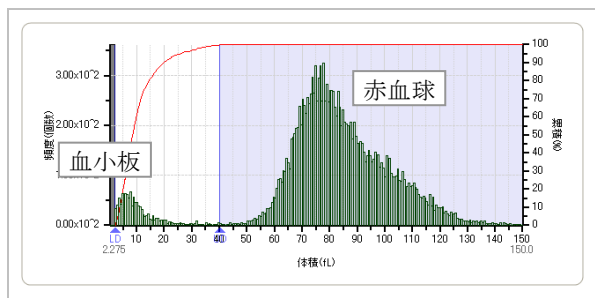


図 4 血小板測定 (体積)

表 2.1 血小板 (粒子径測定)

	濃度	平均粒子径
平均	$31.5 \times 10^4 / \mu\text{L}$	2.597 μm
SD	1.82×10^4	0.04
CV	5.79%	1.64%

表 2.2 血小板 (体積測定)

	濃度	平均体積
平均	$30.9 \times 10^4 / \mu\text{L}$	10.779 fL
SD	1.18×10^4	0.49
CV	3.81%	4.54%

【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の測定を実施した。

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。

サル、ウサギとも特に問題は認めなかった。

セルモード, 粒子径測定の結果を示す。

1) サル

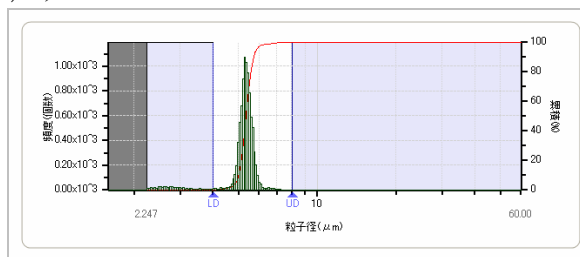


図 a 赤血球測定 (粒子径)

表 a サル血測定値

	赤血球	血小板
測定値	$501 \times 10^4 / \mu\text{L}$	$31.9 \times 10^4 / \mu\text{L}$

2) ウサギ

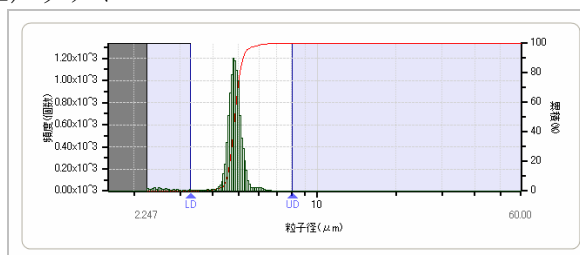


図 b 赤血球測定 (粒子径)

表 b ウサギ血測定値

	赤血球	血小板
測定値	$607 \times 10^4 / \mu\text{L}$	$21.8 \times 10^4 / \mu\text{L}$

3.2 再現性

1) 赤血球

一度に希釈した試料を連続 10 回測定した。
一回測定ごとに攪拌を実施した。
粒子径、体積測定ともに良好な再現性であった。

表 1.1 赤血球 (粒子径測定)

	濃度	平均粒子径
平均	$469 \times 10^4 / \mu\text{L}$	5.348 μm
SD	7.18×10^4	0.01
CV	1.53%	0.14%

表 1.2 赤血球 (体積測定)

	濃度	平均体積
平均	$473 \times 10^4 / \mu\text{L}$	83.615 fL
SD	6.23×10^4	0.36
CV	1.32%	0.43%

2) 血小板

一度に希釈した試料を連続 10 回測定した。
一回測定ごとに攪拌を実施した。
粒子径、体積ともに良好な再現性であった。