

### CBC を語ろう *Talk CBC* 血球計数における Retic. 測定（1）

今回は、自動血球計数装置 UniCel DxH シリーズ（以下 DxH）に搭載された、網赤血球測定（以下 Retic. 測定）について解説します。

#### （1）血球計数装置における Retic. 測定の変遷

網赤血球は、脱核直後の赤血球を示したもので、赤血球内に残存した網状、顆粒状の構造物をニューメチレン青で染め出し、赤血球 1,000 個中における網赤血球の比率を算出します。Retic. 測定における自動化は、1980 年後半、臨床検査室でフローサイトメーター（以下 FCM）の普及と共に始まりました。当時の血液検査においては、WBC、RBC、Hct、PLT、Diff などそれぞれの測定項目について依頼を行っており、網赤血球数においても同様で依頼件数は非常に多く、視算法による網赤血球数算定には多くの時間を要し、Retic. 測定の自動化が望まれていました。1980 年代後半から、FCM は大型のセルソーター（EPICS C、EPICS V）から卓上タイプのアナライザー（EPICS Profile、EPICS XL）が登場し、その中で Retic. 測定の自動化の検討がなされ、多くの臨床検査室では FCM を用いた Retic. 測定が行われるようになりました。

FCM を用いた網赤血球の測定法は、赤血球内の網状、顆粒状などの構造物をチアゾールオレンジ（TO：Thiazole orange）、アクリジンオレンジ（AO：Acridine orange）などの蛍光色素試薬を用いて染色し、蛍光強度の違いから網赤血球と成熟赤血球を分別して網赤血球比率を算定しました。これにより、Retic. 測定は血球計数測定と同様、自動測定を行うことが可能となり、TAT（turn around time）は大きく改善され、省力化が図られました。一方、FCM を用いた Retic. 測定には、幾つかの課題が内在しており、これらの改善が必要となりました。以下に課題を示します。

- 1) 校正用、精度管理用血球の確保、精度管理の実施方法
- 2) 試薬の調整や測定用プロトコルの validation
- 3) 機器の保守管理
- 4) 異常検体の判定方法

これらの課題は、血球計数装置ではすでに日常的に行われ、解決されていますが、汎用 FCM を使用する場合、それぞれの検査室で解決しなければならない課題でした。これらから臨床検査室では、血球計数と同時に Retic. 測定が可能な分析装置の開発を要望するようになりました。

#### （2）コールターカウンターにおける Retic. 測定

コールターカウンターにおける Retic. 測定の自動化は、1998 年 Coulter Gen・S SYSTEM（以下コールター Gen・S）の登場によって可能となりました。

コールター Gen・S では、血球計数測定（CBC）、白血球分類（Diff）、網赤血球数測定（Retic.）の同時測定が可能で、臨床検査室における効率化や測定データの標準化に大きく寄与しました。コールター Gen・S における Retic. 測定法は、自動白血球分類法で開発された VCS テクノロジーを用いて行われ、フローサイトメトリー方式によってニューメチレン青で染色した試料をフローセルに送り込み、1 検体あたり 32,768 個の赤血球について 3 種類の測定シグナルを同時検出して三次元解析を行います。



Coulter EPICS C



Coulter EPICS XL

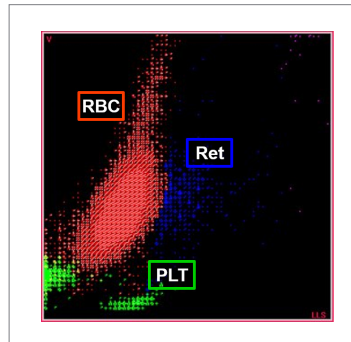


Coulter Gen・S SYSTEM

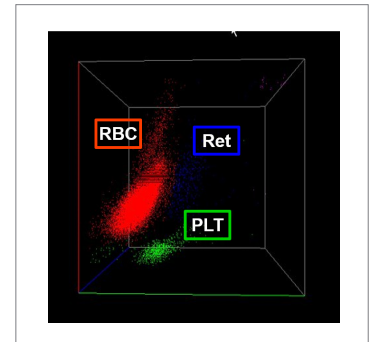
網赤血球情報を取得する測定パラメーターは、体積情報 (Volume)、電導度 (Conductivity)、レーザー散乱光 (Light Scatter) が用いられ、測定情報としては、測定値、スカッタープロット図がリアルタイムに表示され、詳細な測定情報を提供します。

Coulter Gen・S における Retic. 測定フローは以下の通りです。

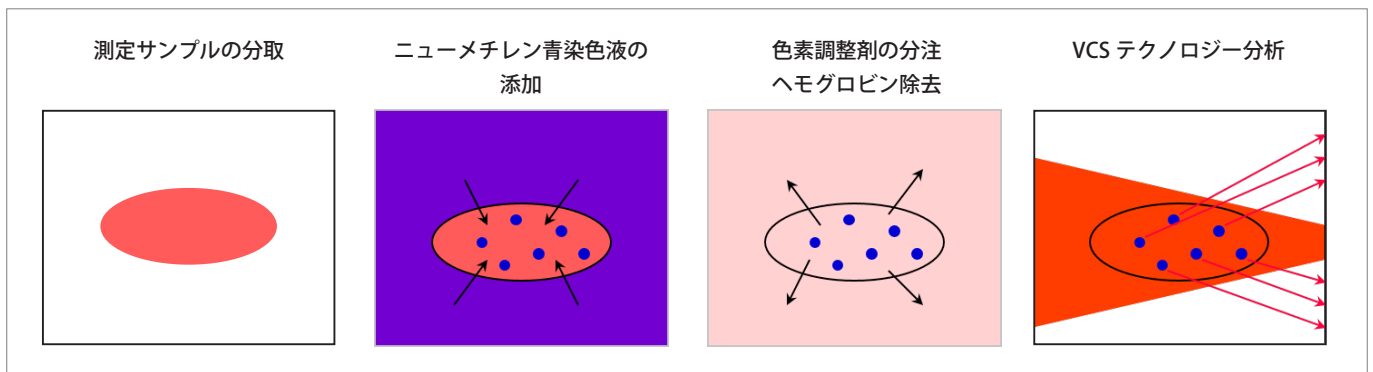
- 1) 網赤血球サンプルの分取 (24  $\mu$ L)
- 2) ニューメチレン青染色液の分注 (50  $\mu$ L)  
赤血球内構造物に色素の沈着を行います。
- 3) 色素調整用試薬の分注 (200  $\mu$ L)  
ヘモグロビンの除去作用等
- 4) VCSテクノロジーにより Retic. 測定  
最大測定時間 90秒  
最大カウント数 32,768個
- 5) データ解析、スカッタープロット形成  
測定項目 7 項目、スカッタープロット 3 種類 表示



Retic. スカッタープロット図

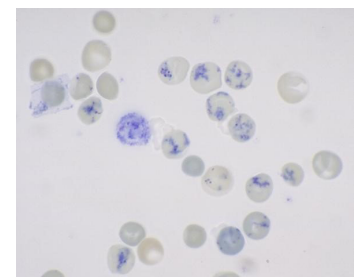


Retic. 3D スカッタープロット図



Coulter Gen・S における Retic. 測定フロー

網赤血球数の算定では、細胞算定時に網赤血球の成熟度を5分画 (Heilmeyer分類) していましたが、手技が煩雑であり、細胞判定に個人差が生じることから、検査室での実施は限定でした。一方、網赤血球数の自動測定時に取得される網赤血球情報は、体積情報、細胞内密度、散乱光情報などを用いて解析を行うため、新しい測定項目の表示が可能になりました。これらは、網赤血球体積や幼若網赤血球などの細胞解析情報で、臨床的にも有用な測定情報となりました。



網赤血球 細胞像

#### Retic. 測定項目

Ret (% , #)	Reticulocyte	網赤血球数 , 比率
MRV	Mean Reticulocyte Volume	平均網赤血球容積
MSCV	Mean Spheroid Volume	平均球状化赤血球容積
HLR (% , #)	High Light scatter Reticulocyte	強散乱光網赤血球
IRF	Immature Reticulocyte Fraction	幼若網赤血球分画

今回は、引き続き血球計数における Retic. 測定について解説します。