

CBC を語ろう Talk CBC 血球計数における Retic. 測定（2）

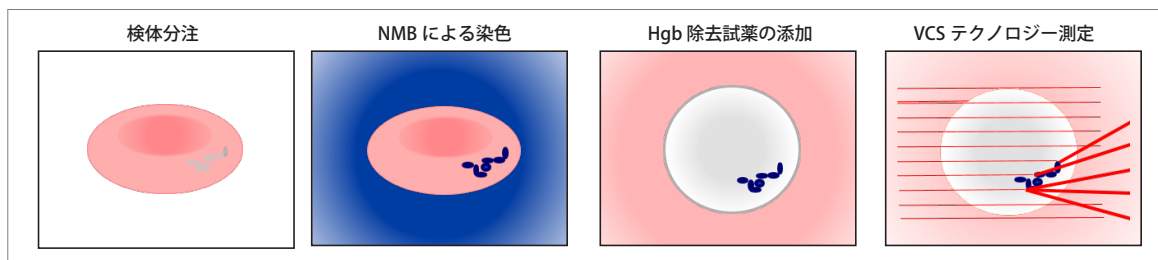
今回は、自動血球計数装置 UniCel DxH シリーズ（以下 DxH）における網赤血球測定（以下 Retic. 測定）チャンネルについて解説します。DxH は、Retic. 測定のための専用チャンネルを搭載し、Retic. 測定（比率、絶対数）と網赤血球関連項目を表示します。また、DxH における Retic. 測定法は、ニューメチレン青（NMB）染色と VCSn テクノロジーによって正確な網赤血球測定が行われます。

(1) DxH における Retic. 測定

DxH における Retic. 測定は、NMB 染色液で残存する RNA 構造物を染色し、VCSn テクノロジーを用いて細胞形状の分析を行い、網赤血球の鑑別が行われます。また、Retic. 測定における測定プロセスは以下の通りです。

(DxH における Retic. 測定のプロセス)

- 1) 検体を分注し、NMB 染色液を添加します。
- 2) 試料は、41℃に温度管理された Stain チャンバーで約 30 秒間インキュベーションされます。
- 3) 染色された試料は、Retic. チャンバーに分注され、低等張性のヘモグロビン除去試薬を添加します。赤血球は球状化され、赤血球内のヘモグロビンが除去されます。
- 4) 調整処理された試料は、フローサイトメトリーと VCSn テクノロジーを用いて網赤血球の分類とカウントが行われます。



DxH における Retic. 測定プロセス

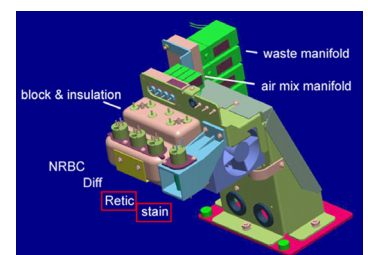
DxH における Retic. 測定法の特徴として、Air Mix Temperature Control (AMTC) を搭載しており、検体、染色液、測定試薬、シース液をエアージェットミキシング機構によって厳密な温度管理（41℃）を行いながら試料調整がなされます。また、Stain / Retic. の 2 種類のチャンネルを用いることでキャリアオーバーやコンタミネーションの低減を可能にしています。

Retic. 測定に際しては、VCSn テクノロジーを用いて細胞体積、細胞内密度、5 種類のレーザー散乱光情報から網赤血球と成熟赤血球、血小板、白血球の分類を行います。計測された 32,767 個の細胞から取得した約 100 万の細胞情報によって、細胞特性を解析し、正確な Retic. 測定を実現しました。測定に用いられるレーザー散乱光情報は以下の通りです。

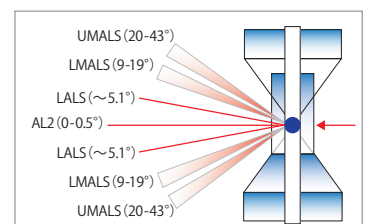
(VCSn テクノロジーにおけるレーザー散乱光情報)

- Median angle light scatter (MALS)
- Lower median angle light scatter (LMALS)
- Upper median angle light scatter (UMALS)
- Low angle light scatter (LALS)
- Axial light loss (AL2)

DxH の Retic. 測定では、測定情報として、数値情報以外に 2 次元 / 3 次元の Plot 情報が表示されますので、異常検体の確認を容易に行うことができます。



Air Mix Temperature Control (AMTC)



Multi Angle Light Scatter (MALS)

(2) Retic. 測定における細胞干渉

自動 Retic. 測定では、前述した通り、正確な測定が可能となりましたが、一部の検体においては細胞干渉によって偽高値となる場合があり、偽高値の要因は以下の通りです。

- ・ 巨大血小板、血小板凝集
- ・ 小リンパ球、有核赤血球
- ・ 赤血球内封入体 (Howell-Jolly)、マラリア寄生赤血球
- ・ 標的赤血球、鎌状赤血球

これらは、網赤血球と近似した測定特性（細胞体積や散乱光情報など）を呈するために網赤血球として鑑別される可能性があります。DxH の Retic. 測定では、Axial light loss (AL2) などの測定パラメータを採用することでこれらの細胞干渉がされない正確な Retic. 測定が可能になりました。

(3) DxH の Retic. 測定における網赤血球関連パラメータ

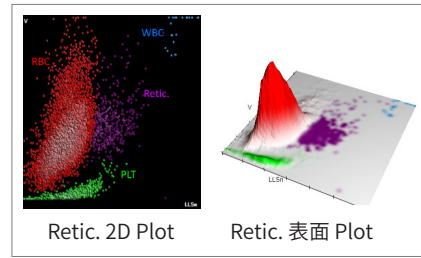
DxH の Retic. 測定では、網赤血球以外に 7 種類の網赤血球関連パラメータが表示されます。新しく搭載された測定項目は、アンゴースト赤血球 (Unghosted Red Cell : UGC) と称します。一般的に Retic. 測定では、NMB 染色後に、低等張性の Hgb 除去試薬を添加し、赤血球の球状化と Hgb の除去がなされますが、細胞骨格が異常な一部の赤血球では Hgb の除去がされない場合があり、これらの赤血球を UGC と称して Retic. 測定時に表示がされています。

UGC は、標的赤血球、Howell-Jolly 小体、サラセミア、鎌状赤血球などの出現検体では、優位に高値を示し、これらの赤血球形態異常の検体における検出が可能となります。

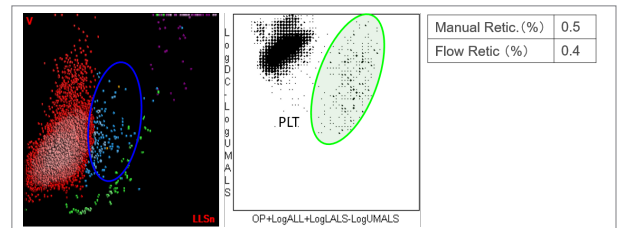
DxH の Retic. 測定は、厳密に温度管理された専用の試薬チャンバーを搭載し、VCSn テクノロジーを用いた検体測定を行うことで干渉物質の影響を受けない正確な Retic. 測定を可能にしています。

引用文献・資料

- 1) 倉本智津子, 山口直子他; ユニセル DxH800 における赤血球形態項目 UGC の検討 - 赤血球形態異常の検出と有用性について -, 日本検査血液学会雑誌 14 巻 学術集会, pS112(2013.06)



DxH Retic. 測定における Plot 情報

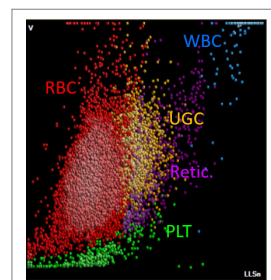


巨大血小板出現検体における 2D Plot

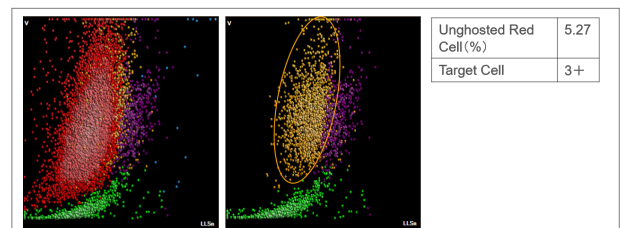
DxH Retic. 測定における Plot 情報

DxH Retic. Parameters		
Ret (% , #)	Reticulocyte	網赤血球数, 比率
Retic.	Reticulocytes (%,#)	網赤血球数 (%,#)
IRF	Immature Reticulocyte Fraction	幼若網赤血球分画
MRV	Mean Reticulocyte Volume	平均網赤血球体積
MSCV*	Mean Sphered Cell Volume	平均球状化赤血球体積
HLR*	High Light Scatter Reticulocytes (%,#)	高散乱光網赤血球 (%,#)
RSF*	Red Cell Size Factor	赤血球サイズファクタ
RDWR*	Reticulocytes Distribution Width (CV,SD)	網赤血球サイズ分布幅 (CV,SD)
UGC*	Unghosted Red Cell (%,#)	アンゴースト赤血球 (%,#)

(*RUO :Research use only)



2D Plot における UGC 出現領域



標的赤血球出現検体の UGC ポピュレーション¹⁾