

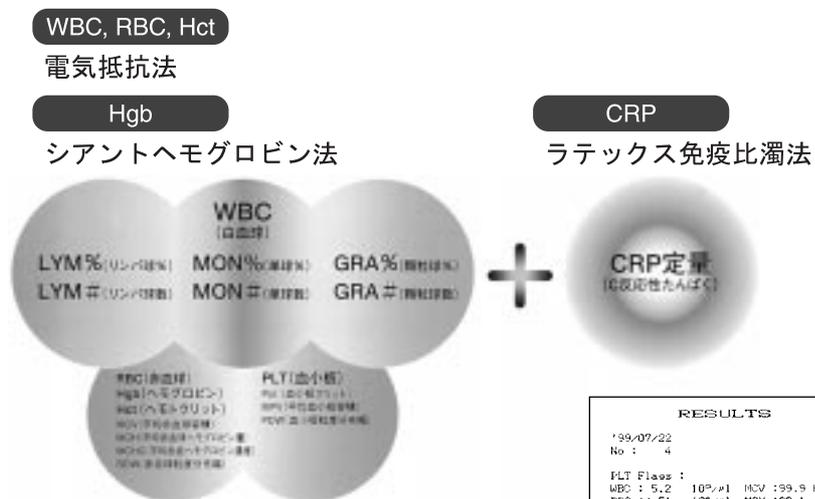
Feature Article
特集論文

白血球3分類自動血球計数CRP測定装置 LC-170CRP
The LC-170CRP Automatic Blood Cell and CRP Counter with
Three-Part Differential Measurement of White Blood Cells

山尾 泰生



LC-170CRP



測定結果例

RESULTS	
*99/07/22	16:21
No. : 4	
PLT Flows :	
wBC : 5.2 10 ⁹ /μl	MCV : 99.9 H μm ³
RBC : 14.51 10 ⁹ /μl	MCH : 152.1 pg
HGB : 114.5 g/dl	MCHC : 102.1 g/dl
HCT : 45.0 %	RDW : 13.6 H %
PLT : 230 10 ⁹ /μl	MPV : 8.1 μm ³
PCT : 1.186 L %	PDW : 13.7 H %
CRP : 0.7 H mg/dl	
WBC Flows :	
DIFF :	
%LYM : 26.6 H %	%LYM : 1.5 H 10 ⁹ /μl
%MON : 5.3 L %	%MON : 0.2 L 10 ⁹ /μl
%GRA : 67.6 H %	%GRA : 3.7 H 10 ⁹ /μl

要旨

白血球3分類測定機能付きの、自動血球計数CRP測定装置LC-170CRPを開発した。医療精度の改革が進む中、高性能でコストパフォーマンスの優れた臨床検査装置が求められている。コンパクトな本機は、血球計数、白血球3分類およびCRP濃度の全19項目が同時に測定でき、炎症性疾患、感染症の初期診断用として、特に、中小医療機関で威力を発揮する。

Abstract

The LC-170CRP automatic blood cell and CRP counter, developed by Horiba, is capable of simultaneously measuring all 19 C-reactive protein (CRP) density parameters and counting red blood cells, platelets, and three types of white blood cell: lymphocytes, monocytes, and granulocytes. As clinicians demand ever-higher precision measurements, a need has developed for clinical test machines having excellent operational and cost performance. This compact machine should make a powerful tool for initial diagnosis of inflammatory and infectious diseases, especially at small- and mid-size medical institutions

1. はじめに

急速に進む少子・高齢化にともなう医療費の膨大化を防ぐため、厚生省は、「薬価差益による薬漬けや、出来高払いに起因する検査漬けの防止」、「高齢者保険制度の見直し」など医療保険制度の抜本的改革を進めている。

例えば、治療と診断を包括した診療報酬制度や、疾患群の患者一人当たりいくらという診断群別包括支払方式 (Diagnosis Related Groups-based Prospective Payment System: DRG/PPS) の導入が検討されている。一方、我々が体調を崩して医院や病院などで診療を受ける際、医師が診察にあたり必要な検査結果を迅速に把握し診察することは、正しい診断と迅速な治療方針の決定に欠かせない。また、患者への負担軽減はもちろん、医療費の削減にも大きな効果がある。このため、「必要な検査を、必要な時に、精度よく、短時間で、しかも、誰にでも簡単に扱える検査システム」の実現が強く望まれている。

堀場製作所とABX社は、これらのニーズを受けて、自動血球計数CRP測定装置LC-270 CRPを1998年4月に共同で開発し、販売した¹⁾。この装置は、全血検体をサンプルホルダーにセットするだけの簡単な操作で、炎症性疾患、感染症の診断の際に有効な指標となる白血球数 (WBC) とC反応性蛋白 (C-Reactive Protein: CRP) の測定結果が迅速に提供される特長を持っており、現在臨床現場で幅広くお使いいただいている。

一方、LC-270の普及が進むに従い、本機の特長をベースとして、白血球分類を含めたさらに高機能な血液診断装置への要望が急増してきた。そこで、今回、我々はLC-270 CRPの上位機種として、「白血球3分類測定機能付き自動血球計数CRP測定装置LC-170 CRP」を開発した。LC-170 CRPは、簡単な操作で、白血球3分類を含め血算18項目およびCRPの全19項目を、4分20秒という短時間で測定する。

本稿では、LC-170 CRPの測定原理、性能およびいくつかの実測例を報告する。

2. 測定原理

LC-170 CRPでは、血球の計数には電気抵抗法を、ヘモグロビンの濃度測定にはシアンメトヘモグロビン法を、CRPの濃度測定にはラテックス免疫比濁法を用いている。

2.1 白血球 / 赤血球 / 血小板の測定

白血球 (WBC)、赤血球 (RBC)、血小板 (PLT) は電気抵抗法で測定する。(図1)

検体血液を電気伝導性の高い希釈液 (ミノトン) に懸濁させ、二つの電極間に設けたアパーチャを通過させると、血液細胞 (血球) の種類と数に応じて電極間の電気抵抗が変化する。この抵抗変化のパルス数から血球の数を、また、パルスの高さから血球の容積 (種類) が同定できる。

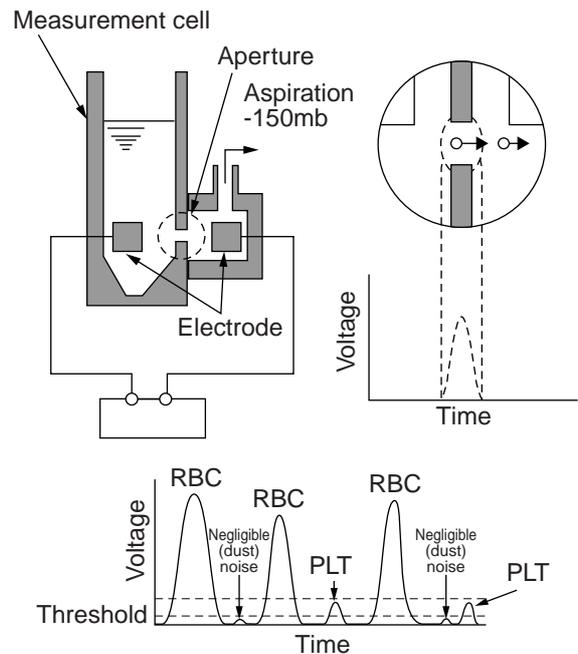


図1 白血球 / 赤血球 / 血小板の測定原理 (電気抵抗法)

Measurement Principles of RBC and PLT

2.1.1 血球の粒度分布

血球の形状は、種類によって必ずしも一定でなく、また測定途中で変形することもある。これらの影響を補正し正確な測定を行うため、得られたパルス波高をそれぞれの血球に応じて多チャンネル分割し、最適の波高領域で測定する。

LC-170 CRPでは、計数条件を次のように設定している。

*WBC: 0 ~ 430fL を 256 チャンネルに分割、
観測領域は約 30 ~ 430fL。

*RBC: 0 ~ 300fL を 256 チャンネルに分割、
観測領域は約 25 ~ 300fL。

*PLT: 0 ~ 33fL を 128 チャンネルに分割、
観測領域は約 18 ~ 27fL の間で最適閾値を自動設定。

2.1.2 白血球の3分類(3-part diff)

白血球は生体の防御機構の要となるもので、白血球の計数は様々な感染症の診断には欠かせない。白血球には、好中球(neutrophil)、好酸球(eosinophil)、好塩球(basophil)、単球(monocyte)、リンパ球(lymphocyte)の5種類の細胞がある。一般的に、前者3種類を併せて、顆粒球(granulocyte)と総称している。

白血球を細胞種ごとに分画し、計数することは、的確な診断・治療に非常に有用な情報をもたらす。LC-170 CRPは、中でもとくに重要な単球、リンパ球、顆粒球の3種を分画計数(3-part diff)することができる。

図2に3分類の閾値を示す。

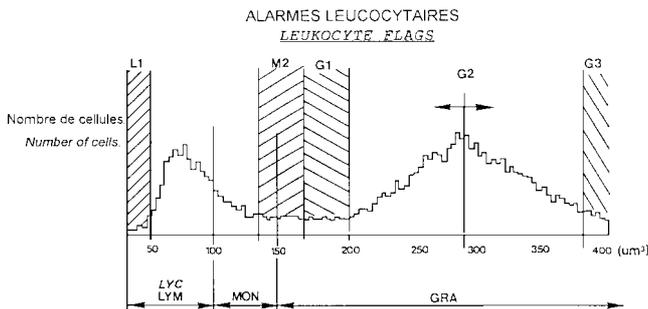


図2 白血球の3分類閾値
Threshold of Three-Part Differential WBC Analysis

2.1.3 白血球分類の原理と試薬

白血球の分類は、3分類専用の希釈液(ミノトン3D)と溶血剤(ミノライズ3D)を用い、それぞれの容積変化の違いによって行う。

希釈液は分類反応のための細胞膜保護を行う。溶血剤は細胞の種類に応じた作用を及ぼす。リンパ球では、溶血剤によって細胞質内から脱水がおり、核膜が収縮(裸核化)する。単球、顆粒球では裸核化の程度が順に小さくなっていく。

2.2 ヘモグロビン濃度

ヘモグロビン濃度(Hgb)は、国際血液学標準化委員会(ICSH)で国際標準法として定められているシアンメトヘモグロビン法で測定する。(図3)

血液に溶血剤(ミノライズ)を加えると、赤血球が壊れヘモグロビンが流れ出る。すると、ミノライズ中のシアンとヘモグロビンが結合し、シアンメトヘモグロビンを形成する。このシアンメトヘモグロビンは緑色(540nm)の光をよく吸収するため、この吸光度からHgbの濃度を測定する。

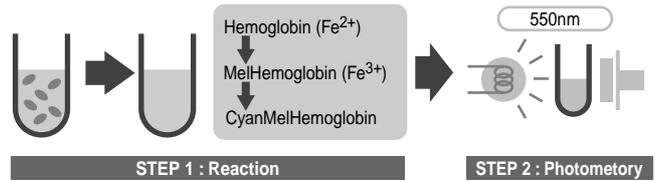


図3 ヘモグロビン濃度の測定原理
Measurement Principle for Hemoglobin Concentration

2.3 CRPの測定

CRP濃度はラテックス免疫比濁法で測定する。検体血液を専用の溶血剤で溶解し、これに抗ヒトCRP抗体感応性のラテックス試薬を加えると、血液中のCRP抗原が抗原・抗体反応を起こし、凝集塊を形成する(図4)。この結果生じる850nmにおける吸光度の値と血球計数で得られるヘマトクリット値(Hct)とから、補正演算式を用いて血漿中のCRP濃度を算出する。

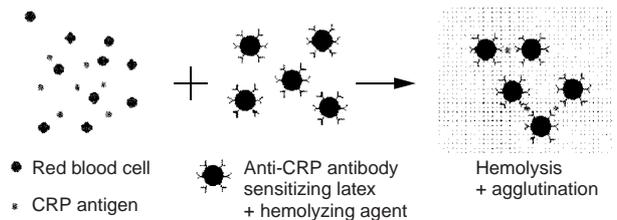


図4 CRPの抗原・抗体反応
Antigen-Antibody Reaction of CRP

3. 測定手法

LC-170 CRPの測定フローを図5に示す。

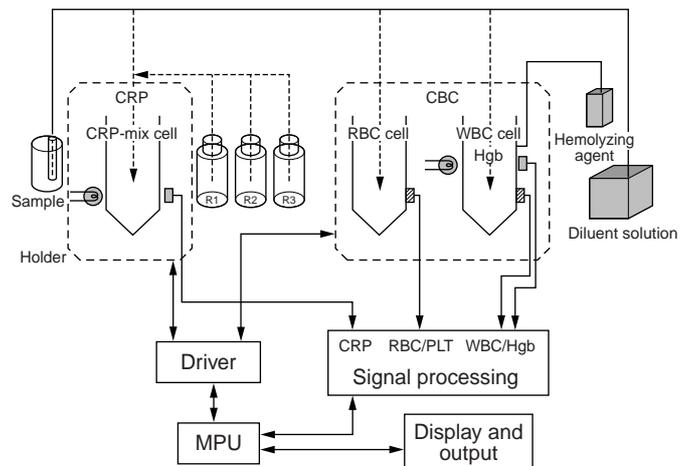


図5 LC-170CRPの測定フロー
LC-170CRP Measurement Flow

まず 検査者が予め抗凝固剤が入っている採血管に血液を採取し、この採取管を装置本体の検体ホルダーにセットする。

すると、サンプリングプローブが、CRP 測定用試薬 (R1)100 μ L と CRP 用検体 8 μ L をサンプリングされ、CRP-MIX Cell で混合、攪拌される。次に血算用検体 10 μ L を WBC Cell に入れ等張性希釈液で 1/210 に希釈、さらに、RBC Cell で 2 段目の希釈 (1/18,400) が行われる。WBC Cell では溶血剤を加えて WBC の計数とヘモグロビン (Hgb) の濃度を測定する。また、RBC Cell では RBC と PLT を計数される。一方、CRP-MIX Cell では、CRP 測定用試薬 (R2)100 μ L と CRP 測定用試薬 (R3)200 μ L を順次添加、混合し、抗原・抗体反応によって生じた濁度の変化から CRP の濃度が測定される。

4. 特長

「医師が、今、必要とする正確な検査データを、手軽に提供したい。」を開発コンセプトとした LC-170 CRP は、次の様な特長を持っている。

(1)白血球3分類とCRPの同時測定

WBC, RBC, PLT, Hct, Hgb などの血球計数基本項目をベースに白血球3分類測定、さらに CRP の全 19 項目が同時に測定できる。これにより、炎症が細菌性かあるいはウイルス性かなど 幅広い診断・治療情報が得られる。

(2)迅速な測定

測定時間は、血算項目だけの場合には 75 秒、CRP を含めた場合には 4 分 20 秒と非常に短い。このため、問診や一般診察の間に検査を行うことができ、迅速な診断・治療に役立つ。また、患者にとっても、検査結果の確認のために再び受診する必要がなく、負担が軽減される。

(3)全血全自動測定

検体は、予め遠心分離などの前処理は不要で、採血管を検体ホルダーにセットするだけで、全ての測定が自動的に行われ、結果が印字される。また、吸引ノズルや配管系の洗浄など、日常メンテナンスも簡単なキー操作で自動的に行われる。

(4)微量サンプル

最少検体量は、当社考案の採血管を採用し、血算項目用 10 μ L、CRP 用 8 μ L の全 18 μ L と超微量でよい。これは、乳幼児や小児の検査に威力を発揮する。

(5)コンパクトで低音作動

外形寸法が 300mmW × 400mmD × 410mmH とコンパクトで、シリジタイプ (strikethrough:) を空気源を使っているため、本装置は清潔で静かな診察室の片隅に設置でき、診察の妨げにならない。

表 1 に LC-170CRP の主な仕様を、図 6 に測定結果のプリントアウト例を示す。

表 1 LC-170CRP の主な仕様
Specifications of the LC-170CRP

測定モード	CBC, CBC+CRP, コントロール血液測定
測定項目	WBC, LYM%, LYM#, MON%, MON#, GRP%, GRP#, CRP, RBC, Hgb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW, PCT, MPV, 白血球3分類粒度分布図, 赤血球粒度分布図, 血小板粒度分布図
検体量	CBCモード; 10 μ L, CBC+CRPモード; 18 μ L, コントロール血液測定モード; 10 μ L
測定時間	CBCモード; 75秒, CBC+CRPモード; 260秒, コントロール血液測定モード; 75秒
検体ホルダー	真空採血管, 微量採血管, コントロール血液用

```

RESULTS
'99/07/22 16:21
No : 4

PLT Flags :
WBC : 5.2 109/#1 MCV : 99.9 H  $\mu$ m3
RBC : 4.51 106/#1 MCH : 32.1 pg
HGB : 14.9 g/dl MCHC : 32.1 g/dl
HCT : 45.0 % RDW : 13.6 H %
PLT : 230 109/#1 MPV : 8.1  $\mu$ m3
PCT : 1.186 L % PEM : 13.7 H %
CRP : 0.7 H mg/dl

WBC Flags :
DIFF :
%LYM : 26.6 H % #LYM : 1.3 H 109/#1
%MON : 5.8 L % #MON : 0.2 L 109/#1
%GRA : 67.6 H % #GRA : 3.7 H 109/#1

```

図 6 プリントアウト例
LC-170CRP Printout Example

5. 評価

LC-170 CRP の基本性能を把握するために、同時再現性の確認および、白血球3分類およびCRPについて他の機種との比較試験を行った。なお、本評価試験結果は、日本臨床検査自動化学会第 31 回大会で報告した²⁾。

(1)同時再現性

再現性は、同一検体を反復測定し平均値 (Mean) と変動計数 (Coefficient of Variation; CV) で評価した。本試験では 3 種類の検体をそれぞれ 10 回繰り返し測定、評価した。この結果、表 2 のように、高い再現性が確認された。

表 2 LC-170CRP の同時再現性試験結果
Simultaneous reproducibility of the LC-170CRP

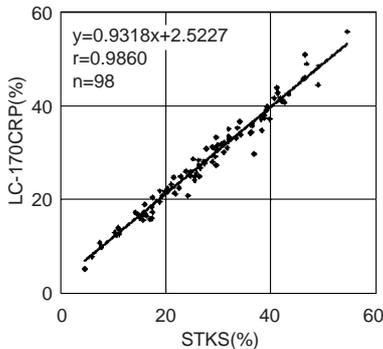
		WBC	LYM	MON	GRA	CRP
		10 ⁹ /mm ³	%	%	%	mg/dl
Sample A	Mean	5.7	25.1	5.9	69	0.4
	C.V.	1.3	2.7	4.3	1.2	0
Sample B	Mean	4.4	25.7	6.7	67.6	1.87
	C.V.	1.4	1.9	8.8	1.1	2.6
Sample C	Mean	4.9	20.1	4	75.9	8.2
	C.V.	1.5	2.7	7.1	1	2.8

(2)白血球3分類の相関性

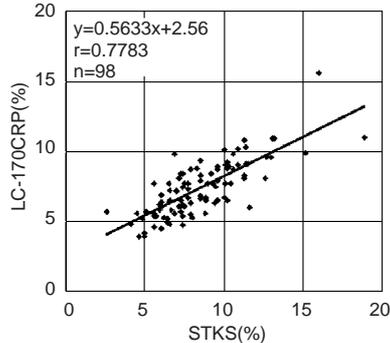
白血球3分類については、患者検体98例をLC-170CRPと他社装置(コールター社 STKS)とで測定し、両者の指示値の相関係数を算出することにより評価した。

この結果、図7に示すように、LYM、MON、GRAいずれも良好な相関が得られた。

a) LYM



b) MON



c) GRA

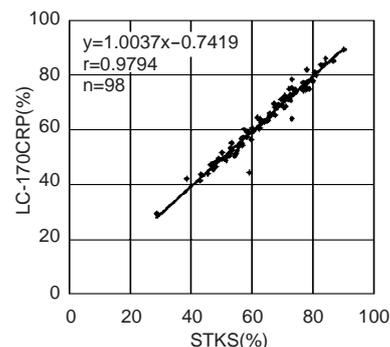


図7 白血球3分類の測定値の他法との比較
Correlation of Three-Part Differential WBC Results from LC-170CRP and Other Instrument.
a) Correlation of LC-170CRP and STKS for Lymphocytes
b) Correlation of LC-170CRP and STKS for Monocytes
c) Correlation of LC-170CRP and STKS for Granulocytes

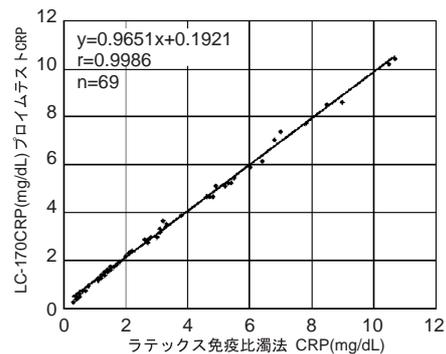


図8 CRP 濃度測定値の他法との比較
Correlation of CRP Measurement Results from LC-170CRP and Other Instrument

(3)CRPの相関性

CRPについては、患者検体69例において、対照法としては血清検体を用いて日立製作所の生化学自動分析装置 HITACHI-7600、試薬は栄研化学の(LZテスト栄研CRP)にて測定した。また、LC-170CRPは全血検体を用いて両者の相関関係を検討した。この結果、図8に示すように良好な相関が得られた。

6. おわりに

LC-170CRPは、既に医療の現場で幅広くお使いいただいているLC-270CRPの最大の特長である、「血球計数とCRP測定を一台の装置で迅速に行う」というメリットを踏襲しつつ、さらに、白血球の3分類を含め血算18+CRPの全19項目を4分20秒という短時間で検査することができる。

医療制度の改革が急速に進む中、ホリバは、「必要な検査を、必要な時に、精度よく、短時間で、しかも、誰にでも簡単に扱える血液検査システム」としてLCシリーズをさらに充実していく所存である。医療のさらなる発展のために本稿が少しでもお役に立つことを願っている。

謝辞

本機の開発に当たり数々のご助言と臨床評価にご協力いただきました京都府立医科大学付属病院臨床検査部の岡本茂高、および同大学臨床検査医学教室の稲葉亨、藤田直久、吉村學の各先生に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 山尾ほか：Readout, No.16, p.11-15(1998)
- 2) 山尾ほか：日本臨床検査自動化学会誌, Vol.24, No.4, p.465(1999)



山尾泰生
Yasuo YAMAOKA
医用システム開発部