

CBCを語ろう Talk CBC 今回からはヒストグラム、まずは血小板から

前号で紹介しました通り、赤血球数と白血球数の自動測定は、コールターカウンター model S の登場により自動化がなされました。しかし、血小板数の自動測定は、約 10 年後のコールターカウンター model S-Plus を待たなければなりません。なぜ、血小板数の自動測定にはこのような時間を要したのでしょうか。

その理由としては、

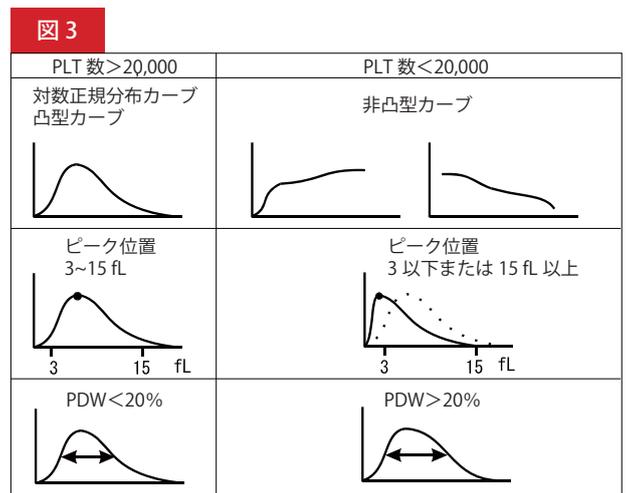
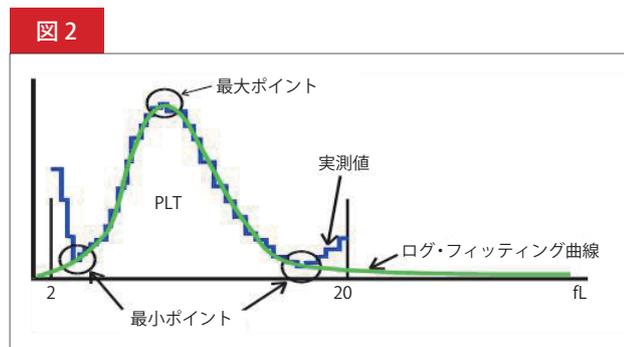
- 血小板の形状（大きさ）が他の血球と比較して小さいこと
- 細胞の測定範囲が広範囲であること
- 測定においては小型赤血球や細胞破片、電気的ノイズなどの干渉を受けやすいこと

などが挙げられます。

この血小板数測定の自動化は、1978 年開発されたコールターカウンター model S-Plus（エスプラス：図 1 参照）によって可能となりました。血小板測定を行うために model S-Plus では、ヒストグラム分析によって血小板測定を行う“ログフィット法”と“エクストラカウント機構”を搭載しました。

“ログフィット法”による血小板測定について解説します。“ログフィット法”では、2～20 fL のサイズ領域に存在するすべての粒子や細胞を計測します。計測結果から最大値と 2 つの最小値を算出し、この実測値に基づいて血小板のヒストグラムを作成します。作成された実測ヒストグラムからは近似する対数正規曲線（フィット曲線）を 0～70 fL のサイズ領域から導き出し、正確な血小板数が算定されます（図 2 参照）。その際、細胞干渉の有無やヒストグラムパターンの形状解析が行われ、ヒストグラムの異常や細胞干渉などが認められた場合にはエラーコードで異常が表示されます（図 3 参照）。

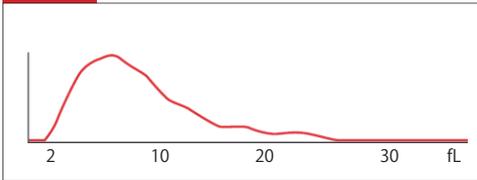
“エクストラカウント機構”とは、血小板低値検体において細胞の計測時間を自動延長し、計測細胞数を一定個数までカウントすることで統計学的精度を保証する測定技術です（図 3：model S-Plus の例）。これにより低値血小板検体においても、精密性の高い正確な血小板測定が可能となりました。



DxH 800 における血小板のヒストグラム分析

さて、最新のコールターカウンターである UniCel DxH 800 の血小板測定はどうなっているのでしょうか。DxH では、1：6250 に希釈された試料で血小板は RBC バスでカウントされます。RBC バスには 3 つの 50 × 60 μm のアパチャーがあり、スイープフローにより感応領域の後部を粒子が通過するのを防ぎながら 2～25 fL サイズのすべての粒子パルス血小板としてカウントします（図 4）。この時、ヒストグラムは 256 に区分け分析されます。この中には血小板と一部の赤血球ポピュレーションを含んでいます（図 5）。DxH では血小板測定が 20 秒に達するか、または 1,800 イベントになった時点、のどちらか早い方を分析に利用します。

図 4



健常者の血小板ヒストグラム (2 ~ 25 fL)

図 5



血小板と RBC を含むヒストグラム例 (256 チャンネル)

DxH の血小板測定の実際 (アルゴリズム解析)

ステップ 1 - 血小板イベントのカウント

血小板イベントは RBC バスでカウントとサイズが計測されます。血小板パルスは増幅、A/D 変換され、DxH の血小板アルゴリズムにより精密に解析されます。このアルゴリズム解析により、パルスエディット、同時通過補正、カウントボーティングが行われ、そして血小板ヒストグラムが作成されます。

ステップ 2 - 血小板ヒストグラム分析

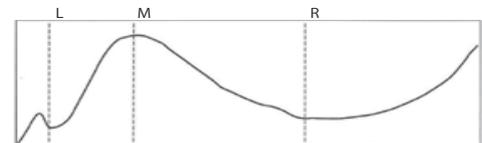
血小板ヒストグラム分析のプロセスでは、干渉による血小板カウント補正が必要となる状態ではその分析を行います。その分析にはヒストグラムスムージングとボーティング、血小板ヒストグラムの特徴抽出と血小板ヒストグラムのパターン分類があります。ヒストグラム分析のプロセスでは、まず 3 つのアパチャーからのそれぞれの血小板ヒストグラムのボーティングによる平均血小板ヒストグラムの作成から始まります。

2-1 特殊抽出

DxH では、特徴抽出では血小板ヒストグラムの全領域を分析し、

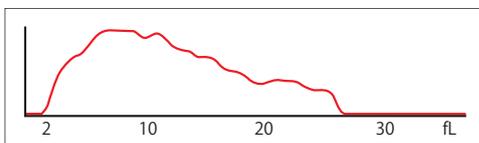
- 血小板ポピュレーションの最頻値の位置 (M)
- 血小板ポピュレーションと干渉ポピュレーション (もしあれば) 間の左右の谷 (L, R)
- 最頻値に対する谷の相対的高さ、ピーク対バレー比率分析
- ヒストグラムフィッティング分析

などをアルゴリズム解析し、血小板ヒストグラムパターンに干渉があるかどうかを決定します。これはヒストグラムのパターン分類に役立ちます。

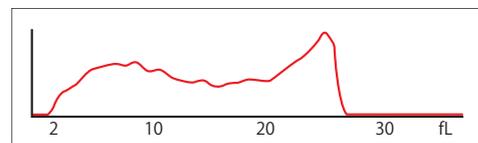


2-2 パターン分類

次に、ヒストグラムの特徴を利用しパターン分類を行います。測定結果のヒストグラムが巨大血小板や RBC の干渉などのパターンに分類されるかを解析し、測定結果のフラグ情報として表示することとなります。



巨大血小板の例



RBC の干渉の例

すなわち、DxH 800 における PLT 測定では、3 つのアパチャーから得られた情報から“ログフィット法”と“エクストラカウント機構”によって正確な個数を計測し、得られたヒストグラムを最新のアルゴリズムでパターン解析を行い、フラグ等の情報を提供しています。

ベックマン・コールターは、Web サイト上でお客様に役立つ情報をリアルタイムに提供しています。

ベックマン・コールター

検索