

自動血球計数装置 pocH-100iV と KX-21NV を用いた マウス血球計測に関する基礎的検討

鷺山 幸信^{*1}, 大波加 真弘^{*2}, 天野 良平^{*1}

^{*1} 金沢大学大学院 医学系研究科保健学専攻：石川県金沢市小立野 5-11-80 (〒 920-0942)

^{*2} 金沢大学 医学部保健学科

SUMMARY

シスメックス社製動物用自動血球計数装置 pocH-100iV と KX-21NV を用いてマウスの血球計測を行った。正常 ICR 系雄性マウス約 4 ～ 10 週齢 (体重 24.6 ～ 46.0g) の血液を試料として用い、一般血球算定 8 項目に関する同時再現性試験、希釈直線性試験、相関試験を行った。また各装置を使用した際に吸引される血液量を測定した。両装置の同時再現性試験は良好であった。さらに希釈直線性試験では希釈の影響を受けやすい WBC, RBC, HGB, HCT, PLT の 5 項目に対して許容範囲であった。両装置に対する相関試験では WBC, RBC, HGB, HCT, PLT の 5 項目において相関係数が 0.98 以上の高い相関性を示した。正味の吸引血液量は pocH-100iV が平均 17.5 μ L であるのに対して、KX-21NV の全血モードでは平均 59.8 μ L、希釈血モードでは約 7.9 μ L が吸引使用された。これらの結果から、pocH-100iV と KX-21NV 両装置はマウスの血球計測に対しても精度が高く信頼性の高い装置であることがわかり、少量採血で血球数の経時的変化を計数する場合などにも有用であると考えられる。

Key Words 自動血球計数装置 pocH-100iV, 自動血球計数装置 KX-21NV, マウス, 血球計測

はじめに

獣医学分野ではイヌ・ネコの血液学的検査に対する需要を反映して、いくつかの動物用自動血球計数装置が動物臨床現場で使用されている。これに対して薬物試験などを行う分野では、実験動物のラットやマウスの血液学的検査が薬物などの評価のために行われている。しかし、マウスやラットなどの小型の動物の血液学的検査では、動物が小型であるため、採取できる血液量が限られることが多い。実験動物を対象にした分野では、少量の血液で高精度の検査を実施することが求められているが、現在のところ

少量の血液で測定が可能なマウスやラット専用の自動血球計数装置はあまり知られていない。獣医学分野で使用されている動物用自動血球計測装置 pocH-100iV (以下、pocH-100iV; シスメックス社) と KX-21NV (以下、KX-21NV; シスメックス社) はイヌ・ネコ用の血球計数装置である^{1), 2)} が、これら以外の動物種の血球計測ができるよう、イヌ・ネコモード以外に OTHER モードを搭載し任意に測定条件を設定できる。今回これらの装置を利用することができたので、マウスの血球計測に関して基礎的検討を行った。

材料と方法

1. 測定装置

測定装置には、pocH-100iV および KX-21NV を用いた。どちらの装置も一般血球算定 8 項目 (WBC, RBC, ヘモグロビン濃度 (HGB), ヘマトクリット値

(HCT), 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球色素量 (MCH), 平均赤血球色素濃度 (MCHC), PLT) と 3 種類 (WBC, RBC, PLT) の粒度分布を測定できる。(ただし, KX-21NV における希釈血モードでの測定では粒度分布は得られない。)(図 1)

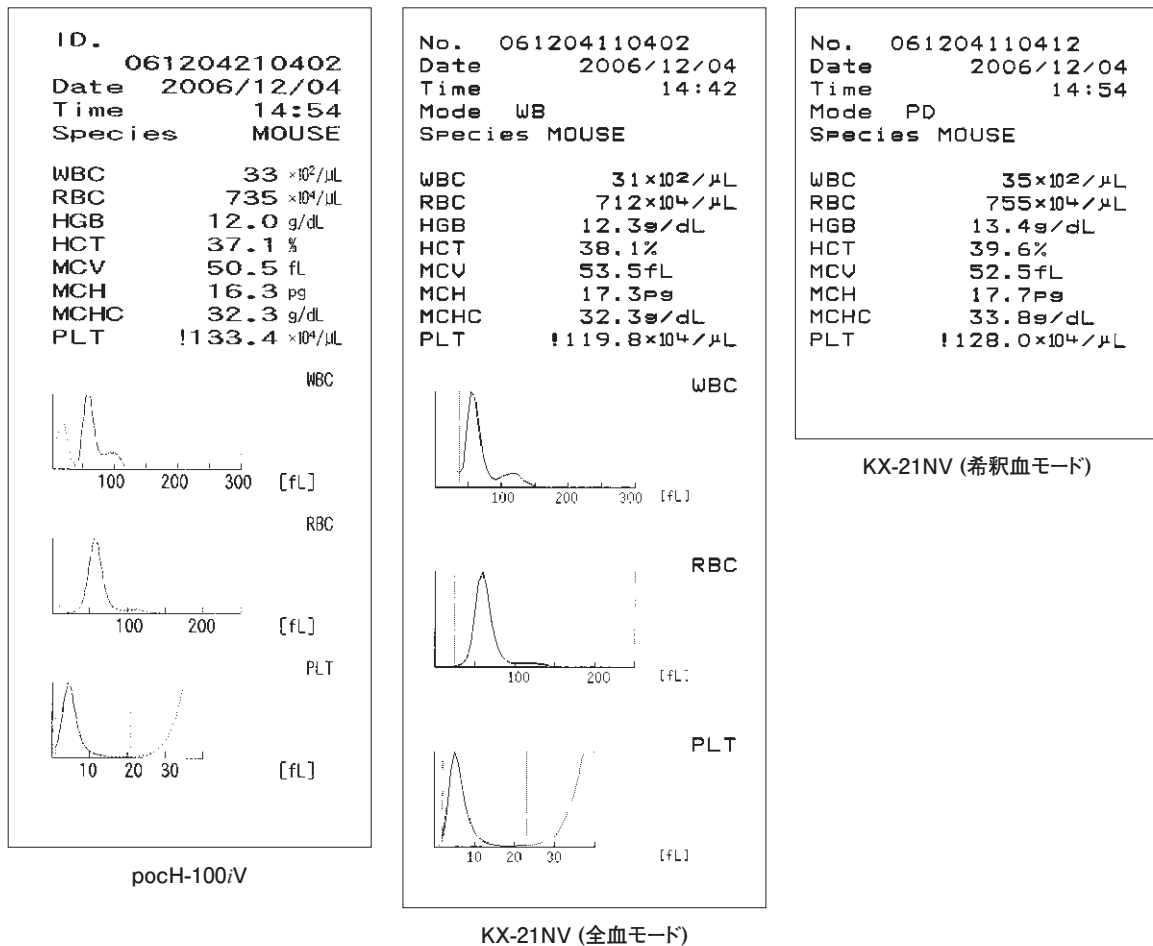


図 1. pocH-100iV, KX-21NV(全血モード), KX-21NV(希釈血モード)でのマウス血液の測定結果

2. 試験方法

正常 ICR 系雄性マウス（日本エスエルシー社）約 4～10 週齢（体重 24.6～46.0g）の血液を試料として用いた。採血後、血液 8 項目を pocH-100iV および KX-21NV の OTHER モードで測定した。設定にあたっては白石らの報告³⁾を参考にした。即ち、人血測定条件を基としてヘマトクリット値のみ検出値の 0.859 倍を補正 HCT 値として用いた。評価試験は血液量が十分に確保できない場合を除き、可能な限り pocH-100iV, KX-21NV（全血モード、希釈血モード）で同時に行った。

1) 同時再現性試験

エーテル麻酔下で開腹し心臓から約 1mL の血液を手引き注射器で採取した。採取した血液は 1.5mL マイクロチューブに分注し、EDTA-2Na による抗凝固処理を施した。この試料を用いて直ちに各装置で 10 回連続測定を実施し、WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT の平均値 (Mean), 標準偏差 (SD), 変動係数 (CV) を求めた。

2) 希釈直線性試験

エーテル麻酔下で開腹し心臓から約 1mL の血液を手引き注射器で採取した。採取した血液は 1.5mL マイクロチューブに分注し、EDTA-2Na による抗凝固処理を施した。この試料を希釈液セルパック（シスメックス社）を用いて、5, 10, 20, 40, 60, 80, 100% の 7 段階の血液濃度に希釈し、直ちに測定を実施した。測定は各血液濃度で 3 回繰り返し行い、希釈の影響を受けやすい WBC, RBC, HGB, HCT, PLT の 5 項目の平均値と標準偏差を求めた。WBC は $1.0 \sim 35.7 \times 10^2 \mu\text{L}$, RBC は $36.3 \sim 900.7 \times 10^4 \mu\text{L}$, HGB 濃度は $0.4 \sim 13.0\text{g/dL}$, HCT 値は $1.7 \sim 41.4\%$, PLT は $3.9 \sim 121.9 \times 10^4 \mu\text{L}$ の範囲で希釈直線性を検討した。各血液濃度における計数値の変動を評価するために、血液濃度 100% の試料の測定値を基準として各血液濃度で予想される理論値を求め、各希釈試料の測定値と各血液濃度での理論値の比を求めた。

$$\text{理論値} = \text{血液濃度 } 100\% \text{ 試料の測定値} \\ \times \text{血液濃度 } (\%) / 100$$

$$\text{測定値} / \text{理論値比} = \text{各希釈試料の測定値} \\ / \text{理論値}$$

3) 相関試験

同時再現性試験および希釈直線性試験に供したマウス 11 匹の測定値を基に、pocH-100iV と KX-21NV における WBC, RBC, HGB, HCT, PLT の相関性を調べた。

4) 吸引血液量評価

血球計測の際に吸引される正味の血液量を実験的に求めるため、1.5mL マイクロチューブに蒸留水を 1mL 加え、その状態の重量を天秤で秤量した。マイクロチューブを各装置での測定に供し、吸引後再び重量を天秤で秤量した。この操作を 10 回連続で行い、各試料吸引時の液量 (mL) を平均値と標準偏差で表した。なお液量を算出する際には水の比重を 1g/mL とした。

結果

1) 同時再現性試験

pocH-100iV, KX-21NV（全血モード、希釈血モード）で 10 回連続測定時の WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT の再現性を表 1-a～c に示した。Sample No. の同じものは、各装置・モードにおいて同じ血液試料を測定した結果を表す。全項目共に標準偏差 (SD), 変動係数 (CV) は低値であった。

表 1-a. 同時再現性試験

pocH-100iV

Sample No.		WBC [$\times 10^2 \mu\text{L}$]	RBC [$\times 10^4 \mu\text{L}$]	HGB [g/dL]	HCT [%]	MCV [fL]	MCH [pg]	MCHC [g/dL]	PLT [$\times 10^4 \mu\text{L}$]
1	mean	32	863	13.2	41.1	47.7	15.3	32.2	148.2
	SD	1	15	0.3	0.5	0.2	0.1	0.4	5.5
	CV [%]	3.1	1.7	2.3	1.2	0.4	0.7	1.2	3.7
2	mean	41	952	14.5	43.4	45.7	15.2	33.4	108.5
	SD	1	14	0.2	0.6	0.1	0.1	0.3	1.4
	CV [%]	2.4	1.5	1.4	1.4	0.2	0.7	0.9	1.3
3	mean	60	933	13.9	42.5	45.6	14.9	32.7	111.7
	SD	2	16	0.2	0.7	0.1	0.1	0.3	3.2
	CV [%]	3.3	1.7	1.4	1.6	0.2	0.7	0.9	2.9
4	mean	21	899	12.4	39.8	44.3	13.8	31.1	92.7
	SD	1	20	0.3	0.8	0.1	0.1	0.3	3.4
	CV [%]	4.8	2.2	2.4	2.0	0.2	0.7	1.0	3.7
5	mean	40	897	13.4	40.2	44.8	14.9	33.3	97.4
	SD	3	10	0.1	0.6	0.2	0.2	0.5	7.1
	CV [%]	7.5	1.1	0.7	1.5	0.4	1.3	1.5	7.3
6	mean								
	SD				*				
	CV [%]								
7	mean	30	886	13.5	40.7	46.0	15.2	33.1	125.0
	SD	2	8	0.2	0.5	0.2	0.1	0.4	2.9
	CV [%]	6.7	0.9	1.5	1.2	0.4	0.7	1.2	2.3
8	mean	34	743	12.1	37.3	50.2	16.3	32.5	132.9
	SD	1	4	0.1	0.2	0.3	0.1	0.3	3.7
	CV [%]	2.9	0.5	0.8	0.5	0.6	0.6	0.9	2.8
9	mean								
	SD				*				
	CV [%]								

* 血液量不足のため未計測

表 1-b. 同時再現性試験

KX-21NV 全血モード

Sample No.		WBC [$\times 10^2 \mu\text{L}$]	RBC [$\times 10^4 \mu\text{L}$]	HGB [g/dL]	HCT [%]	MCV [fL]	MCH [pg]	MCHC [g/dL]	PLT [$\times 10^4 \mu\text{L}$]
1	mean	30	825	13.0	41.7	50.6	15.8	31.3	130.0
	SD	1	8	0.1	0.4	0.1	0.2	0.4	1.9
	CV [%]	3.3	1.0	0.8	1.0	0.2	1.3	1.3	1.5
2	mean	42	920	14.5	44.5	48.4	15.8	32.6	93.8
	SD	2	18	0.3	0.7	0.2	0.2	0.5	2.3
	CV [%]	4.8	2.0	2.1	1.6	0.4	1.3	1.5	2.5
3	mean	58	904	14.0	43.6	48.2	15.5	32.1	96.6
	SD	1	10	0.2	0.3	0.2	0.1	0.3	1.6
	CV [%]	1.7	1.1	1.4	0.7	0.4	0.6	0.9	1.7
4	mean	24	864	12.8	40.3	46.6	14.8	31.8	74.0
	SD	1	12	0.2	0.5	0.2	0.2	0.3	2.3
	CV [%]	4.2	1.4	1.6	1.2	0.4	1.4	0.9	3.1
5	mean	36	853	13.3	41.3	48.5	15.6	32.2	87.1
	SD	2	4	0.1	0.2	0.2	0.2	0.5	1.7
	CV [%]	5.6	0.5	0.8	0.5	0.4	1.3	1.6	2.0
6	mean	31	942	14.1	44.2	47.0	15.0	31.8	101.0
	SD	1	13	0.1	0.7	0.2	0.1	0.4	2.4
	CV [%]	3.2	1.4	0.7	1.6	0.4	0.7	1.3	2.4
7	mean	29	847	13.6	41.5	49.0	16.0	32.7	108.3
	SD	1	5	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	1.4
	CV [%]	3.4	0.6	0.7	0.5	0.2	0.6	0.6	1.3
8	mean	32	714	12.4	37.9	53.1	17.4	32.7	120.3
	SD	1	5	0.1	0.3	0.3	0.1	0.3	1.6
	CV [%]	3.1	0.7	0.8	0.8	0.6	0.6	0.9	1.3
9	mean	32	665	11.4	34.4	51.8	17.1	33.0	101.2
	SD	1	6	0.1	0.3	0.3	0.1	0.3	1.2
	CV [%]	3.1	0.9	0.9	0.9	0.6	0.6	0.9	1.2

表 1-c. 同時再現性試験

KX-21NV 希釈血モード

Sample No.		WBC [$\times 10^2 \mu\text{L}$]	RBC [$\times 10^4 \mu\text{L}$]	HGB [g/dL]	HCT [%]	MCV [fL]	MCH [pg]	MCHC [g/dL]	PLT [$\times 10^4 \mu\text{L}$]
1	mean								
	SD				*				
	CV [%]								
2	mean								
	SD				*				
	CV [%]								
3	mean								
	SD				*				
	CV [%]								
4	mean								
	SD				*				
	CV [%]								
5	mean	37	888	14.3	42.3	47.6	16.2	33.9	91.5
	SD	1	11	0.1	0.6	0.1	0.2	0.3	1.4
	CV [%]	2.7	1.2	0.7	1.4	0.2	1.2	0.9	1.5
6	mean	30	956	14.8	44.3	46.4	15.5	33.4	112.1
	SD	1	5	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	1.3
	CV [%]	3.3	0.5	0.7	0.7	0.2	0.6	0.6	1.2
7	mean	29	845	13.9	40.8	48.3	16.5	34.1	110.3
	SD	1	9	0.1	0.5	0.3	0.1	0.3	1.5
	CV [%]	3.4	1.1	0.7	1.2	0.6	0.6	0.9	1.4
8	mean	34	742	13.3	38.7	52.2	17.8	34.2	129.2
	SD	1	13	0.2	0.8	0.2	0.1	0.3	0.9
	CV [%]	2.9	1.8	1.5	2.1	0.4	0.6	0.9	0.7
9	mean	32	673	12.0	34.0	50.5	17.9	35.4	107.4
	SD	1	6	0.1	0.4	0.2	0.1	0.2	1.2
	CV [%]	3.1	0.9	0.8	1.2	0.4	0.6	0.6	1.1

* 血液量不足のため未計測

2) 希釈直線性試験

各血液濃度における WBC, RBC, HGB, HCT, PLT の測定値, 理論値, 測定値/理論値の比を表 2-a ~ b および図 2 に示した。Sample No. の同じものは, 各装置・モードにおいて同じ血液試料を測定した結果を表す。WBC は希釈による変動が最も大きく, 理論値 $5 \times 10^2 \mu\text{L}$ 以下では理論値に対して 20% 以上の差を示した。pocH-100iV を使用した場合, WBC 値の測定値 / 理論値の比は 1 以

下が多いが, KX-21NV では 1 以上が多かった。RBC, HGB, HCT 値は希釈しても比の変動は小さく 10% 以内であるが, HGB は 1 g/dL 以下で 20% 以上の差を示した。PLT 値は異なる装置, 異なる試料においても理論値との比は 1 以下を示した。

3) 相関試験

WBC, RBC, HGB, HCT, PLT の装置間の相関関係を図 3 に示した。いずれも $r=0.98$ 以上であり, 高い相関性が認められた。

表 2-a. 希釈直線性試験

pocH-100iV

Sample No.	血液濃度 [%]	WBC [$\times 10^2/\mu\text{L}$]					RBC [$\times 10^4/\mu\text{L}$]					HGB [g/dL]				
		測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD	測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD	測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD
1	100	22.7	0.6	22.7	1.00	0.03	847.7	6.8	847.7	1.00	0.01	12.9	0.1	12.9	1.00	0.01
	80	19.0	1.0	18.1	1.05	0.06	668.3	10.7	678.1	0.99	0.02	10.3	0.1	10.3	1.00	0.01
	60	13.3	1.2	13.6	0.98	0.08	518.3	13.6	508.6	1.02	0.03	8.0	0.2	7.7	1.04	0.03
	40	9.3	1.5	9.1	1.03	0.17	359.3	16.5	339.1	1.06	0.05	5.5	0.3	5.2	1.07	0.05
	20	3.7	0.6	4.5	0.81	0.13	174.0	3.6	169.5	1.03	0.02	2.5	0.1	2.6	0.98	0.02
	10	1.7	0.6	2.3	0.74	0.25	84.7	1.2	84.8	1.00	0.01	1.1	0.1	1.3	0.88	0.04
	5	1.0	0.0	1.1	0.88	0.00	42.7	0.6	42.4	1.01	0.01	0.5	0.0	0.6	0.78	0.00
2	100	21.3	0.6	21.3	1.00	0.03	849.7	9.1	849.7	1.00	0.01	11.9	0.2	11.9	1.00	0.01
	60	11.7	2.5	12.8	0.91	0.20	522.7	18.5	509.8	1.03	0.04	7.4	0.3	7.1	1.03	0.04
	40	7.7	0.6	8.5	0.90	0.07	346.7	5.1	339.9	1.02	0.02	4.8	0.1	4.8	1.02	0.01
	20	3.7	0.6	4.3	0.86	0.14	177.7	2.1	169.9	1.05	0.01	2.3	0.1	2.4	0.98	0.02
	10	1.7	0.6	2.1	0.78	0.27	88.3	1.2	85.0	1.04	0.01	1.1	0.0	1.2	0.92	0.00
	5	0.3	0.6	1.1	0.31	0.54	45.0	1.0	42.5	1.06	0.02	0.5	0.1	0.6	0.78	0.10
	3	100	17.3	0.6	17.3	1.00	0.03	764.3	3.5	764.3	1.00	0.00	11.7	0.1	11.7	1.00
80		14.0	0.0	13.9	1.01	0.00	614.3	15.8	611.5	1.00	0.03	9.4	0.2	9.3	1.00	0.02
60		9.3	1.2	10.4	0.90	0.11	474.7	32.6	458.6	1.04	0.07	7.2	0.5	7.0	1.03	0.07
40		6.3	1.5	6.9	0.91	0.22	306.3	20.0	305.7	1.00	0.07	4.7	0.3	4.7	1.01	0.06
20		3.3	0.6	3.5	0.96	0.17	162.3	0.6	152.9	1.06	0.00	2.4	0.0	2.3	1.03	0.00
10		1.0	0.0	1.7	0.58	0.00	80.7	0.6	76.4	1.06	0.01	1.1	0.0	1.2	0.94	0.00
5		0.0	0.0	0.9	0.00	0.00	38.0	0.0	38.2	0.99	0.00	0.4	0.0	0.6	0.69	0.00
4	100	35.7	0.6	35.7	1.00	0.02	900.7	9.5	900.7	1.00	0.01	12.0	0.1	12.0	1.00	0.00
	80	28.7	2.5	28.5	1.00	0.09	708.3	16.1	720.5	0.98	0.02	9.6	0.1	9.6	1.00	0.01
	60	19.7	1.5	21.4	0.92	0.07	577.7	5.9	540.4	1.07	0.01	7.8	0.1	7.2	1.08	0.01
	40	12.0	1.7	14.3	0.84	0.12	361.7	8.0	360.3	1.00	0.02	4.8	0.1	4.8	0.99	0.02
	20	6.3	0.6	7.1	0.89	0.08	184.3	2.5	180.1	1.02	0.01	2.4	0.0	2.4	1.00	0.00
	10	2.7	0.6	3.6	0.75	0.16	96.3	2.5	90.1	1.07	0.03	1.2	0.1	1.2	0.97	0.05
	5	1.0	0.0	1.8	0.56	0.00	46.0	1.0	45.0	1.02	0.02	0.4	0.1	0.6	0.72	0.10

Sample No.	血液濃度 [%]	HCT [%]					PLT [$\times 10^4/\mu\text{L}$]				
		測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD	測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD
1	100	40.4	0.4	40.4	1.00	0.01	121.9	1.8	121.9	1.00	0.01
	80	31.6	0.5	32.3	0.98	0.02	87.6	2.6	97.5	0.90	0.03
	60	24.2	0.7	24.2	1.00	0.03	66.4	1.9	73.1	0.91	0.03
	40	16.7	0.8	16.1	1.04	0.05	43.6	1.0	48.7	0.89	0.02
	20	8.0	0.2	8.1	0.99	0.03	20.4	0.7	24.4	0.84	0.03
	10	3.8	0.1	4.0	0.95	0.01	9.6	0.4	12.2	0.79	0.03
	5	1.9	0.1	2.0	0.92	0.03	4.6	0.2	6.1	0.76	0.03
2	100	37.5	0.5	37.5	1.00	0.01	114.4	2.6	114.4	1.00	0.02
	60	22.6	1.0	22.5	1.01	0.04	65.9	1.7	68.6	0.96	0.03
	40	14.8	0.3	15.0	0.98	0.02	40.2	0.9	45.7	0.88	0.02
	20	7.5	0.1	7.5	0.99	0.02	19.9	0.1	22.9	0.87	0.01
	10	3.7	0.1	3.8	0.98	0.02	9.5	0.5	11.4	0.83	0.04
	5	1.8	0.0	1.9	0.96	0.00	4.8	0.3	5.7	0.85	0.04
	3	100	37.0	0.2	37.0	1.00	0.01	105.1	0.5	105.1	1.00
80		29.2	0.8	29.6	0.99	0.03	76.6	1.7	84.1	0.91	0.02
60		22.5	1.7	22.2	1.01	0.08	58.7	0.9	63.1	0.93	0.01
40		14.4	1.0	14.8	0.97	0.07	36.6	1.8	42.0	0.87	0.04
20		7.5	0.0	7.4	1.01	0.00	18.5	0.3	21.0	0.88	0.01
10		3.7	0.1	3.7	0.99	0.02	9.3	0.3	10.5	0.89	0.03
5		1.7	0.1	1.8	0.90	0.03	4.1	0.3	5.3	0.78	0.05
4	100	37.9	0.3	37.9	1.00	0.01	109.9	0.5	109.9	1.00	0.00
	80	29.5	0.8	30.3	0.97	0.03	71.9	4.7	87.9	0.82	0.05
	60	23.9	0.3	22.8	1.05	0.01	60.9	1.7	65.9	0.92	0.03
	40	14.8	0.4	15.2	0.98	0.02	37.8	1.1	44.0	0.86	0.02
	20	7.4	0.1	7.6	0.98	0.01	18.9	0.2	22.0	0.86	0.01
	10	3.8	0.1	3.8	1.00	0.03	9.0	0.2	11.0	0.82	0.01
	5	1.8	0.1	1.9	0.93	0.03	4.6	0.2	5.5	0.83	0.03

表 2-b. 希釈直線性試験

KX-21NV 全血モード

Sample No.	血液濃度 [%]	WBC [$\times 10^2/\mu\text{L}$]					RBC [$\times 10^4/\mu\text{L}$]					HGB [g/dL]				
		測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD	測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD	測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD
1	100	23.0	0.0	23.0	1.00	0.00	816.7	3.5	816.7	1.00	0.00	13.0	0.1	13.0	1.00	0.00
	80	19.3	0.6	18.4	1.05	0.03	656.7	5.7	653.3	1.01	0.01	10.7	0.1	10.4	1.03	0.01
	60	14.7	0.6	13.8	1.06	0.04	525.3	3.2	490.0	1.07	0.01	8.4	0.1	7.8	1.08	0.01
	40	9.7	0.6	9.2	1.05	0.06	343.7	5.9	326.7	1.05	0.02	5.6	0.1	5.2	1.07	0.01
	20	5.0	0.0	4.6	1.09	0.00	161.3	1.2	163.3	0.99	0.01	2.7	0.1	2.6	1.02	0.02
	10	3.0	0.0	2.3	1.30	0.00	79.0	0.0	81.7	0.97	0.00	1.3	0.0	1.3	1.00	0.00
	5	2.0	0.0	1.2	1.74	0.00	41.3	0.6	40.8	1.01	0.01	0.7	0.1	0.7	1.02	0.09
2	100	23.3	0.6	23.3	1.00	0.02	822.0	8.2	822.0	1.00	0.01	12.2	0.1	12.2	1.00	0.00
	60	14.3	0.6	14.0	1.02	0.04	531.3	2.1	493.2	1.08	0.00	7.9	0.1	7.3	1.08	0.02
	40	9.0	0.0	9.3	0.96	0.00	335.3	1.2	328.8	1.02	0.00	5.0	0.0	4.9	1.02	0.00
	20	4.7	0.6	4.7	1.00	0.12	164.7	0.6	164.4	1.00	0.00	2.4	0.1	2.4	0.99	0.02
	10	3.0	0.0	2.3	1.29	0.00	81.3	1.2	82.2	0.99	0.01	1.2	0.0	1.2	0.98	0.00
	5	1.0	0.0	1.2	0.86	0.00	42.7	0.6	41.1	1.04	0.01	0.6	0.0	0.6	0.98	0.00
3	100	18.3	0.6	18.3	1.00	0.03	743.3	5.5	743.3	1.00	0.01	12.1	0.1	12.1	1.00	0.00
	80	15.0	1.0	14.7	1.02	0.07	606.3	3.8	594.7	1.02	0.01	10.0	0.1	9.7	1.03	0.01
	60	12.0	0.0	11.0	1.09	0.00	470.0	2.6	446.0	1.05	0.01	7.8	0.1	7.2	1.07	0.01
	40	7.3	0.6	7.3	1.00	0.08	306.0	3.0	297.3	1.03	0.01	4.9	0.0	4.8	1.02	0.00
	20	4.0	0.0	3.7	1.09	0.00	149.3	1.5	148.7	1.00	0.01	2.5	0.0	2.4	1.04	0.00
	10	2.3	0.6	1.8	1.27	0.31	79.3	4.0	74.3	1.07	0.05	1.4	0.3	1.2	1.19	0.27
	5	1.0	0.0	0.9	1.09	0.00	36.3	0.6	37.2	0.98	0.02	0.6	0.0	0.6	0.99	0.00
4	100	33.3	0.6	33.3	1.00	0.02	863.3	10.1	863.3	1.00	0.01	12.3	0.1	12.3	1.00	0.00
	80	28.0	*	26.7	1.05	*	697.0	*	690.7	1.01	*	10.2	*	9.9	1.03	*
	60	22.0	0.0	20.0	1.10	0.00	564.3	3.8	518.0	1.09	0.01	8.1	0.1	7.4	1.10	0.01
	40	13.3	0.6	13.3	1.00	0.04	357.7	4.7	345.3	1.04	0.01	5.2	0.1	4.9	1.05	0.01
	20	7.3	0.6	6.7	1.10	0.09	175.3	0.6	172.7	1.02	0.00	2.5	0.1	2.5	1.03	0.02
	10	4.0	0.0	3.3	1.20	0.00	89.7	0.6	86.3	1.04	0.01	1.3	0.0	1.2	1.05	0.00
	5	2.0	0.0	1.7	1.20	0.00	42.3	0.6	43.2	0.98	0.01	0.6	0.0	0.6	0.97	0.00

Sample No.	血液濃度 [%]	HCT [%]					PLT [$\times 10^4/\mu\text{L}$]				
		測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD	測定値 mean	SD	理論値	測 / 理 比 mean	SD
1	100	41.4	0.2	41.4	1.00	0.01	107.5	0.4	107.5	1.00	0.00
	80	32.7	0.5	33.1	0.99	0.01	80.1	4.5	86.0	0.93	0.05
	60	26.0	0.2	24.8	1.05	0.01	61.2	1.7	64.5	0.95	0.03
	40	17.0	0.3	16.5	1.03	0.02	40.8	0.9	43.0	0.95	0.02
	20	7.9	0.1	8.3	0.96	0.01	18.6	0.3	21.5	0.86	0.01
	10	3.8	0.0	4.1	0.92	0.00	9.0	0.4	10.8	0.84	0.03
	5	2.0	0.0	2.1	0.97	0.00	4.5	0.3	5.4	0.84	0.05
2	100	38.5	0.4	38.5	1.00	0.01	96.2	0.6	96.2	1.00	0.01
	60	24.5	0.2	23.1	1.06	0.01	58.7	1.1	57.7	1.02	0.02
	40	15.2	0.1	15.4	0.99	0.01	38.1	0.2	38.5	0.99	0.00
	20	7.4	0.0	7.7	0.96	0.00	17.7	0.2	19.2	0.92	0.01
	10	3.6	0.0	3.9	0.94	0.00	8.6	0.2	9.6	0.89	0.02
	5	1.9	0.0	1.9	0.99	0.00	4.7	0.2	4.8	0.98	0.04
3	100	38.3	0.4	38.3	1.00	0.01	93.9	0.9	93.9	1.00	0.01
	80	30.9	0.0	30.6	1.01	0.00	72.8	0.9	75.1	0.97	0.01
	60	23.8	0.1	23.0	1.04	0.00	55.9	0.4	56.3	0.99	0.01
	40	15.4	0.2	15.3	1.01	0.01	35.0	0.9	37.6	0.93	0.03
	20	7.5	0.1	7.7	0.98	0.01	17.9	0.4	18.8	0.95	0.02
	10	3.9	0.3	3.8	1.02	0.07	8.5	0.3	9.4	0.90	0.03
	5	1.8	0.0	1.9	0.94	0.00	3.9	0.2	4.7	0.83	0.04
4	100	39.1	0.5	39.1	1.00	0.01	92.9	2.3	92.9	1.00	0.02
	80	30.8	*	31.3	0.99	*	66.9	*	74.3	0.90	*
	60	25.0	0.2	23.4	1.07	0.01	55.5	0.7	55.7	1.00	0.01
	40	15.6	0.2	15.6	1.00	0.01	35.4	0.6	37.2	0.95	0.01
	20	7.5	0.1	7.8	0.96	0.01	17.6	0.4	18.6	0.95	0.02
	10	3.8	0.0	3.9	0.97	0.00	8.1	0.3	9.3	0.87	0.03
	5	1.8	0.0	2.0	0.92	0.00	4.4	0.2	4.6	0.95	0.03

* 1 回測定のみ

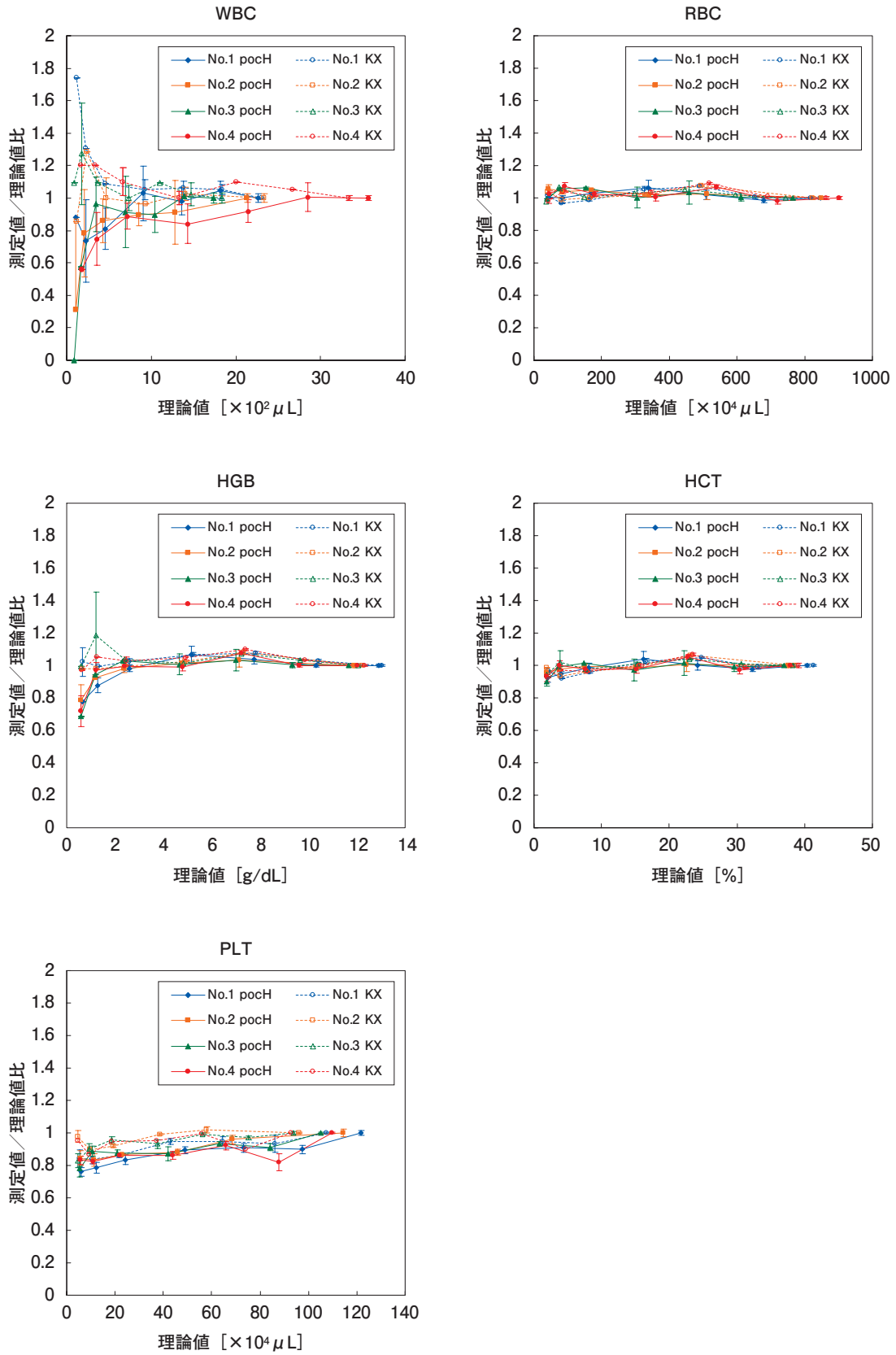


図2. 希釈直線性試験

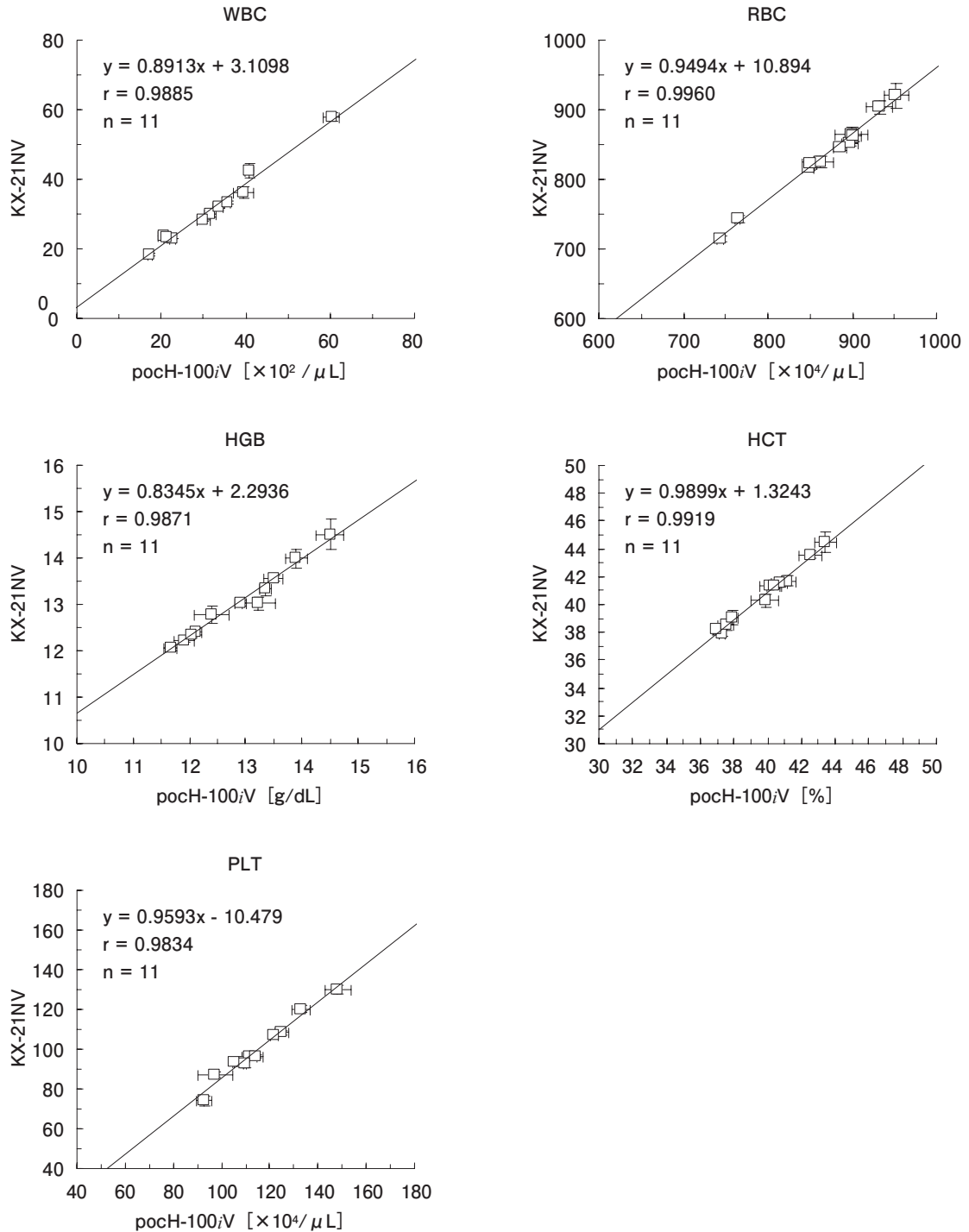


図 3. 相関試験

表 3. 吸引血液量評価

	pocH-100iV	KX-21NV	
		全血	希釈血
mean	17.5	59.8	206.1
SD	0.5	2.4	0.9
CV [%]	2.9	4.0	0.4
血液量 [μL]	17.5	59.8	7.9

4) 吸引血液量評価

1回の測定において pocH-100iV および KX-21NV の全血モード、希釈血モードで吸引された溶液量を表 3 に示した。pocH-100iV で平均 17.5 μL が吸引されるのに対し、KX-21NV の全血モードでは平均 59.8 μL 、希釈血モードでは 206.1 μL が吸引された。希釈血モードは血液を測定前にセルパックで 26 倍に希釈するため、正味の吸引血液量は 7.9 μL であった。

考 察

pocH-100iV と KX-21NV は動物血の血液検査を行うための多項目自動血球計数装置である。特にイヌとネコの血液検査を目的とし^{1), 2)}、動物用医療用具として農林水産省から承認を受けている。これらの装置は血球のサイズを自動計測し、その粒度分布より値を算出するため、原理的にはイヌやネコだけでなく他の動物種の血液も検査可能である。しかし、動物の血球の数や大きさには種間差がある⁴⁾ため、実際の測定を行う場合は、動物種ごとに測定閾値の設定および HCT 値の補正などを行う必要がある³⁾。今回イヌ・ネコ以外の動物種の設定が可能である自動血球計数装置として pocH-100iV および KX-21NV を使用することができたので、これらの装置におけるマウス血液に関する計数精度の評価を行った。

同時再現性試験の結果から、pocH-100iV と KX-21NV (全血モード) のどちらも精度の高い結果が得られた。また、KX-21NV では全血モードと希釈血モードのどちらも精度の高い結果が得られた。pocH-100iV と KX-21NV の取扱説明書^{5), 6)}では、それぞれの機器の仕様 (KX-21NV は全血モードの場

合) の中で、両方の機器とも精度は WBC ($40 \times 10^2 \mu\text{L}$ 以上) で 3.5% 以下、RBC ($400 \times 10^4 \mu\text{L}$ 以上) で 2.0% 以下、HGB で 1.5% 以下、HCT で 2.0% 以下、MCV で 2.0% 以下、MCH で 2.0% 以下、MCHC で 2.0% 以下、PLT ($10 \times 10^4 \mu\text{L}$ 以上) で 6.0% 以下が信頼水準 95% の範囲として保証されている。KX-21NV の希釈血モードの場合は WBC ($40 \times 10^2 \mu\text{L}$ 以上) で 6.0% 以下、RBC ($400 \times 10^4 \mu\text{L}$ 以上) で 3.0% 以下、HGB で 2.5% 以下、HCT で 3.0% 以下、MCV で 3.0% 以下、MCH で 3.0% 以下、MCHC で 3.0% 以下、PLT ($10 \times 10^4 \mu\text{L}$ 以上) で 9.0% 以下が保証されている。今回の結果は、仕様で保証されている値と概ね一致すると考えられる。

KX-21NV では既にマウスやラットなどの実験動物の血液学的検査を行った報告⁷⁾がある。我々の結果は既報の結果 (同時再現性で 1% ないし 3% 未満) に対しても概ね一致した。

希釈直線性試験では、血液濃度が高い領域では WBC, RBC, HGB, HCT, PLT のいずれも理論値との比は 10% 以内に収まっている。しかし、血液濃度が低い領域では (WBC では理論値 $5 \times 10^2 \mu\text{L}$ 以下、HGB では 1 g/dL 以下) 理論値との差が 20% 以上を示した。pocH-100iV と KX-21NV の取扱説明書^{5), 6)}では、それぞれの機器の仕様 (KX-21NV は全血モードの場合) の中で直線性は両方の機器とも WBC $10 \sim 99 (\times 10^2 \mu\text{L})$ で精度 $\pm 3 (\times 10^2 \mu\text{L})$ 以内、 $100 \sim 999 (\times 10^2 \mu\text{L})$ で精度 $\pm 3\%$ 以内、RBC $30 \sim 99 (\times 10^4 \mu\text{L})$ で精度 $\pm 3 (\times 10^4 \mu\text{L})$ 以内、 $100 \sim 1300 (\times 10^4 \mu\text{L})$ で精度 $\pm 3\%$ 以内、HGB 0.1 ~ 10.0 (g/dL) で精度 ± 0.2 (g/dL) 以内、10.0 ~ 25.0 (g/dL) で精度 $\pm 2\%$ 以内、HCT 10.0 ~ 33.3 (HCT%) で精度 ± 1.0 (HCT%) 以内、33.4 ~ 60.0

(HCT%)で精度 $\pm 3\%$ 以内, PLT $1.0 \sim 19.9 (\times 10^4 \mu\text{L})$ で精度 $\pm 1.0 (\times 10^4 \mu\text{L})$ 以内, $20.0 \sim 99.9 (\times 10^4 \mu\text{L})$ で精度 $\pm 5\%$ 以内が保証されている。今回の結果は概ねこれらの仕様と合致していると考えられる。薬物などの毒性試験では血球の経時的変化を測定する必要がある, その際には通常の範囲よりも低い血球数の状態を評価する場合がある⁸⁾。今回検討した装置では, 仕様で保証されている範囲での直線性がマウスの場合においても適用できることが示された。しかし, これらの範囲よりも低い範囲を計数する場合は血球計算盤を用いる, 或いはKX-21NVならば希釈血モードで全血を測定し, 補正をかけることで精度を確保できるのではないかと考えられる。

相関試験では pocH-100iV と KX-21NV の間に良好な相関性が得られた。しかし, RBC と PLT の値は pocH-100iV の方が高く示され, WBC, HGB, HCT 値は KX-21NV の方が高い値を示した。

今回用いた KX-21NV は RBC および PLT 数の検出に電気抵抗法 (DC 検出法) を用いているのに対し, pocH-100iV はシースフロー DC 検出法を用いている。シースフロー DC 検出法は原理的に血球の舞い戻り現象や同時通過現象を防ぐため, 電気抵抗方式よりも計数精度が高い。同時再現性および相関試験の結果では, RBC と PLT の計測で KX-21NV (全血モード) よりも pocH-100iV で得られた計数値の方が高かった。これは RBC と PLT の場合, WBC よりも血球数が多いために粒子検出方式の違いが反映されたものと考えられる。しかし, KX-21NV (全血モード) に対して KX-21NV (希釈血モード) で得られた計数値の方が高いことと, KX-21NV (全血モード) における希釈直線性の結果から, 計数の際に RBC と PLT の数え落としを示す結果は得られなかった。したがって検出方式の違いを検討するためには, 血球のサイズや形に多様な変化を生ずる血液疾患例での更なる比較が必要である。

薬物試験や毒性試験などでは, 多数のマウスを用いて経時的に血球数の変化を調べる。経時的に評価するためには, マウスを長期間生存させ定期的に少量の血液を採取するのが実験系として最も望ましい。これまでの自動血球計数装置では, 計数するために

必要とする血液量が多量であったため, マウスを生存させながら長期間の血球変化をモニタリングすることは難しく, 血球計算盤を用いての測定を余儀なくされてきた。しかし, 今回用いた装置はいずれも少量の血液で計数することが可能である。KX-21NV の全血モードでは約 $50 \mu\text{L}$ が吸引される。希釈血モードでは約 $20 \mu\text{L}$ 以上が必要であり, 希釈した溶液は測定ごとに約 $200 \mu\text{L}$ が吸引される。今回の結果をふまえると, 粒度分布を確認しながら測定を行う場合, pocH-100iV の使用で最小血液量を約 $20 \mu\text{L}$ に, さらに粒度分布図なしの場合は KX-21NV の希釈血モードで約 $10 \mu\text{L}$ まで減らすことが可能である。

pocH-100iV と KX-21NV でのマウス血液の測定では, 白石らの報告³⁾を基に測定条件を設定した。設定条件の確度を検討するには, 既にマウスやラットなどの血球測定で実績のある既知の自動血球計数装置, 或いは血球計算盤を用いた目視による数値との比較を行う必要がある。今回の検討は精度に関するものであるため, 今後確度に関する検討を行い, 上述の2機種がイヌやネコ以外の実験動物の血球測定に対しても有用であることを明らかにする必要がある。

最近, pocH-100iV の後継機種として pocH-100iV Diff が発表⁹⁾された。この機器は pocH-100iV からの改良点として以下の4つの特徴を持つ。1) イヌ・ネコ・ウシでは白血球分画を計測できる。2) 動物種の選択を間違えて測定してもデータから再計算できる。3) 手動解析機能を持つ。(KX-21NVは既に搭載済み) 4) 動物種を最大13種設定できる。この装置に関しては既にマウスやラットなどの実験動物の血液学的検査を行った報告¹⁰⁾がある。本研究では pocH-100iV を用いたが, 前述の改良点が両装置間での計数値や操作性に違いを生ずるとは考えにくい。マウスやラットを用いた今後の更なる評価が期待される。

以上より, pocH-100iV および KX-21NV は, マウスの血球計測に対して再現性に優れ, 精度の高い結果を得ることが可能な信頼性の高い装置であると考えられる。これらの装置は, 薬物試験や毒性試験などでマウスやラット各個体の血球数の経時的変化を追う場合などでも有用であると考えられる。

参考文献

- 1) 高島一昭, 他. 犬猫における多項目自動血球計数装置 KX-21NV の評価試験. 動物臨床医学. 2001 ; 10 (3) : 129-134.
- 2) 久松正晴. 獣医療における多項目自動血球計数装置 pocH-100iV の性能評価. 動物臨床医学. 2004 ; 13 (3-4) : 93-98.
- 3) 白石順一, 松本英彬, 平山秀樹. 多項目自動血球計数装置による各種動物血の測定. Sysmex J. 2006 ; 29 : 46-53.
- 4) 関 正利, 平嶋邦猛, 小林好作. 実験動物の血液学第1版. ソフトサイエンス社. 1981 ; 192-204, 313-342.
- 5) 多項目自動血球計数装置 pocH-100iV 取扱説明書 2005年2月改訂. シスメックス株式会社. 2005.
- 6) 多項目自動血球計数装置 KX-21NV 取扱説明書 2005年2月改訂. シスメックス株式会社. 2005.
- 7) 深瀬 徹. 多項目自動血球計数装置KX-21NVによるマウスおよびラットの血液学的検査に関する検討. 第38回日本実験動物技術者協会総会要旨. 2004. PA-05A.
- 8) Mårtensson L, et al. Determining Maximal Tolerable Dose of the Monoclonal Antibody BR96 Labeled with ⁹⁰Y or ¹⁷⁷Lu in Rats : Establishment of a Syngeneic Tumor Model to Evaluate Means to Improve Radioimmunotherapy. Clin Cancer Res. 2005 ; 11 (19) : 7104s-7108s.
- 9) 白石順一, 他. 多項目自動血球計数装置pocH-100iV Diffの概要. Sysmex J. 2006 ; 29 : 102-111.
- 10) 深瀬 徹. 動物用多項目自動血球計数装置pocH-100iV Diffによるラットの血液学的検査. 第41回日本実験動物技術者協会総会要旨. 2007. A7-1.

Evaluation of Automated Hematology Analyzer, Sysmex pocH-100iV and KX-21NV for Mouse Blood Cell Counting.

Kohshin WASHIYAMA^{*1}, Masahiro OHAKA^{*2} and Ryohei AMANO^{*1}

^{*1}Division of Health Sciences, Kanazawa University Graduate School of Medical Science, 5-11-80 Kodatsuno, Kanazawa, Ishikawa 920-0942

^{*2}School of Health Sciences, Faculty of Medicine, Kanazawa University

SUMMARY

The accuracy of hematological values calculated by two automated hematology analyzers, the Sysmex pocH-100iV, and the Sysmex KX-21NV were evaluated for mice. Blood samples were obtained from 4~10 weeks old male ICR-strain mice and subjected to blood cell counting such as WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, and PLT on those analyzers. Reproducibility tests showed acceptable performance for every parameter for each analyzer. Linearity for all dilution sensitive parameters, WBC, RBC, HGB, HCT, and PLT on both analyzers was acceptable. Correlation coefficient values for WBC, RBC, HGB, HCT, and PLT were greater than 0.98 for the two analyzers. Aspirated blood volume for pocH-100iV was 17.5 μL and that for open mode of KX-21NV was 59.8 μL, and that for pre-dilute mode of KX-21NV was 7.9 μL. The results of this evaluation indicate that both pocH-100iV and KX-21NV were reliable analyzer for mouse blood cell counting. These analyzers would be suitable for use periodical blood cell counting with small blood volume aspiration in pharmaceutical fields.

Key Words Automated Hematology Analyzer pocH-100iV, Automated Hematology Analyzer KX-21NV, Mouse, Blood Cell Counting