

論 文 要 旨

2023 年 1 月 12 日

※報告番号	甲第331号	氏 名	樋口 誠
主論文題名 赤血球凝集能測定を用いた血液検査法の開発			
内容の要旨 赤血球は低せん断速度環境下において、血漿中の炎症性タンパクかつ血液凝固因子であるフィブリノゲンや、免疫グロブリン等との相互作用により、可逆的に集合し凝集する性質(赤血球凝集能)を有する。本研究では、この赤血球凝集能を測定する技術を応用して、炎症、止血および輸血の3つの分野における血液検査手法を開発した。 赤血球沈降速度 (Erythrocyte sedimentation rate: ESR) は、フィブリノゲンや免疫グロブリン等の炎症性タンパクの増加に伴って凝集が進んだ赤血球の沈降速度が増加することを利用した臨床検査であり、感染症から自己免疫疾患等、様々な炎症性疾患のスクリーニング検査である。ESR の参照法である Westergren 法では、1 mL 以上を必要とする血液量の多さと、測定に1時間を要することが課題であった。近年では光学的に短時間で簡便に赤血球凝集を測定する技術 (Syllectometry) を用いることにより、赤血球凝集を測定した血液の透過光波形である syllectogram の解析パラメータ (凝集パラメータ) を用いて1分以下の測光時間で ESR を推定する手法が広まってきている。しかしながら、凝集パラメータはヘマトクリットおよび測定時間の影響を受けるため、syllectometry にて推定した ESR は Westergren 法の値と乖離することが問題となっていた。また、これまでに syllectometry にて得た凝集パラメータと沈降速度との詳細な関係性は不明であった。そこで本研究では、ESR を迅速かつ正確に計算する手法の開発を第一の目的とし、凝集パラメータに対する syllectogram 測定時間の影響と、ヘマトクリットの影響を、フィブリノゲン濃度とヘマトクリットを複数条件にて調整したボランティア検体を用いて詳細に調査し、ESR 計算に最適な syllectogram 測定時間の選定と凝集パラメータに対するヘマトクリット補正式の作製を試みた。その結果、凝集パラメータの一つである aggregation index (AI) は、測定時間5秒において、フィブリノゲン濃度によらずヘマトクリットの影響を補正可能であることを明らかにした。さらに、ヘマトクリットの影響を排除して求めた単一赤血球の沈降速度は、ヘマトクリット補正した AI の累乗関数とよく一致することを見出した。この結果と沈降速度式を元に計算した ESR は、Westergren 法の ESR 値とよく一致した。続いて、開発した ESR 測定手法に対して、203 検体の臨床検体データを用いて妥当性検証を行い、Westergren 法と優れた相関性を示すことを実証した。さらに、本手法に平均赤血球容積 (Mean corpuscular volume: MCV) の補正を加えることにより、測定精度の向上に成功した。本手法はわずか5秒の測光時間と80 μL の血液で ESR 測定が可能であり、臨床ワークフローにおける検査工数と検体量の削減に貢献が期待できる(次項へ続く)。			

※印欄記入不要

論 文 要 旨

2023 年 1 月 12 日

※ 報告番号	第	号	氏 名	樋口 誠
論文の要旨 (つづき)				
フィブリノゲンは炎症性タンパクであると同時に出血時にフィブリンへと転換され強固な止血を行う重要な血液凝固因子である。従来のフィブリノゲン検査は、検査室にて血液を遠心分離し、試薬を添加し凝固する時間を測定していたため、検査結果が判明するまでに時間を要し、止血・輸血治療の判断が遅れるという課題があった。そこで、第二の目的として、重度外傷等で危機的な凝固障害の要因となるフィブリノゲン低下を、<i>syllectometry</i> を用いて検出可能であるか基礎検討を行った。健常ボランティアの血液から得た血清と血漿を混合して作製した正常値から低濃度域のフィブリノゲン血液サンプルにおける凝集パラメータを調査した。その結果、凝集パラメータは低濃度域においてもフィブリノゲン濃度依存的に変化し、凝固障害となるフィブリノゲン濃度 150 mg/dL 以下の状態を検出可能であることが示唆された。血漿分離と試薬による凝固が不要である本手法は、短時間かつ低コストにフィブリノゲン濃度低下の確認が可能になると期待される。 大量出血の治療においては、濃厚赤血球やフィブリノゲンを含んでいる新鮮凍結血漿等の輸血が行われるが、輸血の前には基本的に血液型判定を行う必要がある。しかし、従来の血液型判定においては、血漿タンパクとの相互作用による非特異的な赤血球凝集(<i>aggregation</i>)と、血液型由来の抗原抗体反応による赤血球凝集(<i>agglutination</i>)の混同を避けるため、血球の遠心分離、洗浄、十分な抗体試薬量が必要であり、検査の手間と時間がかかるものであった。そこで第三の目的として、<i>syllectometry</i> を用いた前処理不要かつ試薬量削減可能な血液型判定手法の開発を試みた。その結果、20 名の ABO 血液型由来の <i>aggregation</i> と <i>agglutination</i> を、従来の 1/5～1/20 の抗体試薬混合率で区別し、血液型を判別することに成功した。本手法は従来必要であった血液の希釈や洗浄等の前処理が不要で、かつ非常に少ない抗体試薬量で ABO 血液型を判定することが可能である。 赤血球凝集能測定を利用して開発した以上 3 つの血液検査手法は、検査時間の短縮化、前処理の簡略化、試薬・消耗品の削減に寄与し、臨床のワークフローの改善と医療経済性の向上を期待できるものである。				

※印欄記入不要