

《原 著》

In-111 標識血小板寿命測定における 血小板法と全血法の比較検討

斉藤 京子* 村田 啓** 塚田 理康***

要旨 In-111 トロポロンを用いた血小板寿命測定において、血小板分離操作が必要な血小板法、全血放射能をそのまま血小板の放射能とした補正なし全血法、血漿中 In-111 放射能を全血放射能から差し引いた補正全血法、の 3 法による血小板平均寿命の値を各症例において比較検討した。荷重平均法により求めた 3 法の平均寿命が、8 日以上を寿命正常群、4~7 日を軽度短縮群、4 日以下を著明短縮群とした。寿命正常群または軽度短縮群において、血小板法による平均寿命は測定値のバラツキにより、他法に比べ短めに算出される症例があった。これらの症例を除いた場合、およびバラついた測定点を除いて平均寿命を算出した場合には、3 群において血小板法、補正なし全血法、補正全血法の 3 法による平均寿命に有意差を認めなかった。In-111 標識時、赤血球等の混入が少なければ、操作性や測定値の信頼性から全血法、特に補正なし全血法が優れていると考えられた。

I. 緒 言

放射性同位元素で標識した血小板の寿命測定は、種々の血小板減少症の診断や血栓症および虚血性脳血管障害における抗血小板療法の効果の判定に有用な検査である^{1~4)}。標識用核種として、Thakur らの報告⁵⁾以来、標識率が高く⁶⁾、しかもガンマカメラによるイメージングが可能な In-111 が用いられ、血小板寿命と同時にシンチグラフィーによる臓器放射能の測定、血栓の描出が可能となり、日常の検査法となりつつある。

血小板寿命測定方法として、血小板法および全血法による平均寿命値とを比較検討した報告はない。今回われわれは、日常用いている In-111 標識血小板寿命測定における血小板法と全血法によ

る血小板平均寿命値とを同一症例にて比較し、さらに全血法においては血小板崩壊により血漿中に遊離した In-111 の補正が必要なのか否かを寿命正常例および短縮例において検討したのでその成績を報告する。

II. 対 象

今回対象とした症例は、免疫性血小板減少症 22 例、巨核球低形成 4 例、脾機能亢進症 8 例、各種血栓症 8 例、虚血性脳血管障害 14 例、総計 56 例であった。症例の血小板数は 2.4~115.9 万/ μl に分布していた。

III. 方 法

1. 標識方法

血小板の標識方法は、In-111 トロポロンを用いた Dewanjee らの方法⁷⁾に準じて行った^{8,9)}。トロポロン生食水 20 μl に塩化インジウム (In-111) 300~1,000 μCi を滴下し、2 分間攪拌した。ACD 生食水を総量 3 ml となるまで加え、0.1 N NaOH にて pH を 6.5 とした。この液をミリポアフィルター (0.22 μm) を通過させ無菌化し標識に

* 虎の門病院放射線部

** 同 放射線科

*** 同 血液学科

受付：63年3月17日

最終稿受付：63年5月18日

別刷請求先：東京都港区虎ノ門 2-2-2 (西 105)

虎の門病院核医学

斉 藤 京 子

用いた。ACD-A 液 7 ml を用いて被検者の静脈血を 43 ml 採血した。300 G, 15 分間遠心分離を行い多血小板血漿 (PRP) を得、PRP の 10% 容量の ACD-A 液を加えてさらに 1,500 G, 15 分間遠沈し、血小板沈渣と乏血小板血漿 (PPP) を取り出した。この血小板沈渣に前述の In-111 トロポロンを加え、血小板を浮遊させた。室温にて 20 分間標識した後、PPP 15 ml を加えて 1,500 G, 15 分間再遠沈し未標識 In-111 を除いた。血小板を再度 5 ml の PPP に浮遊させた。血小板凝集塊除去のため 180 G, 4 分間の遠沈を行った後、被検者に静注した。

2. 血小板寿命の測定方法

標識血小板静注後15分, 2, 4時間, 以後毎日1回8日間, EDTA・生食を用いて3~5ml採血した。全血1mlの放射能, 血小板数を測定した後, 300G, 15分間の遠沈でPRPを得た。PRP中の血小板数算定後, 1,500G, 15分間遠心して血小板沈渣とPPPを分離し, おのおのの放射能をウエル型シンチレーションカウンター(パッカード社製オートガンマ5230)で測定した。

血液 1 ml 中の血小板放射能は以下の方法にて計算した。

血小板法では下記の計算式により求めた.

$$\begin{aligned} \text{血液 } 1\text{ mL 中の血小板放射能 (cpm/mL 血液)} \\ = \text{全血 } 1\text{ mL 中の血小板数} \\ \times \frac{[\text{血小板沈渣の放射能 (cpm)}]}{[\text{PRP } 1\text{ mL 中の血小板数} \times \text{PPP 量 (mL)}]} \end{aligned}$$

補正なし全血法は、抗凝固剤による希釈を補正した全血 1 ml の放射能をそのまま血小板の放射能とした。

補正全血法は、前述の全血 1 ml の放射能から PPP 中の放射能を差し引いた値を血小板の放射能とした。計算式を下記に示す。

$$\begin{aligned} \text{血液 } 1 \text{ mL 中の血小板放射能 (cpm/mL 血液)} \\ = & [\text{全血 } 1 \text{ mL 中の放射能} \\ & - \text{[PPP } 1 \text{ mL 中の放射能} \\ & \times (100 - \% \text{ ヘマトクリット値}) / 100] \end{aligned}$$

血液 1 ml 中の総放射能（注入血小板総放射能を身長・体重から求めた循環血液量¹⁰⁾で除して得た）に対する、各測定期の 3 法による血液 1 ml 中の血小板放射能の割合を求め、回収率とした。

3. 3法による血小板平均寿命の比較方法

最大回収率を示した以後の測定点（静注後15分または2~4時間）から荷重平均法¹¹⁾により血小板平均寿命を算出した。すなわち、各時点における回収率から最小二乗法により一次関数と指数関数を計算する。一次関数による平均寿命値をML,

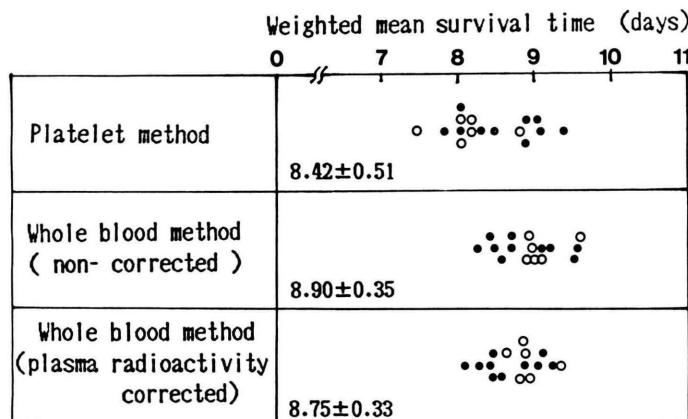


Fig. 1 Distribution of platelet weighted mean survival time estimated by platelet or whole blood methods in 16 patients with normal survival. The numbers at bottom left side of the boxes indicate mean \pm 1 SD. (○) shows that scattering of platelet recovery rate was observed in estimating by platelet method.

指數関数による値を ME とする。各時点の実測した回収率と一次関数または指數関数による回収率との差の二乗和をそれぞれ SL, SE とすると、荷重平均法の血小板平均寿命 MW は下記の式により計算される。

$$MW = \frac{(ML \times SE) + (ME \times SL)}{(SL + SE)}$$

平均寿命 8 日以上を寿命正常群、4 ~ 7 日を軽度短縮群、4 日以下を著明短縮群の 3 群に分類し、各群ごとに 3 法から算出された平均寿命を t 検定し、危険率 5% 以下を有意差とした。

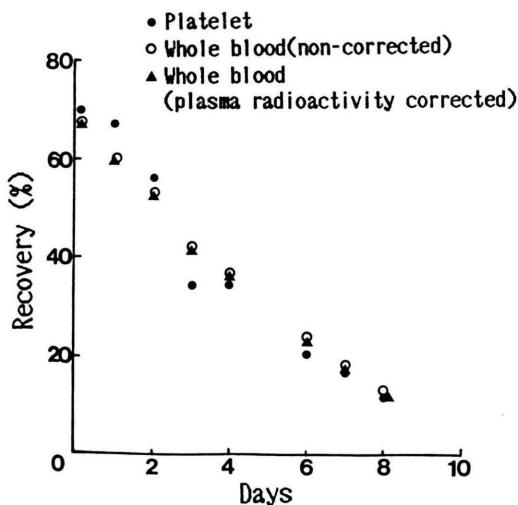


Fig. 2 Platelet recovery rate estimated by platelet method (●), whole blood method (plasma radioactivity corrected) (▲) and non-corrected whole blood method (○) in a case. Scattering of platelet recovery rate calculated by platelet method was observed in some points.

IV. 結 果

対象 56 例中、寿命正常群が 16 例、軽度短縮群が 21 例、著明短縮群が 19 例であった。

寿命正常群において、血小板法と補正全血法との平均寿命値に有意差はないが、血小板法と補正なし全血法との間には有意差が認められた(Fig.1)。しかし、16 例中 6 例では、血小板法において前日の回収率が翌日の回収率よりも低いという回収率の逆転がみられた (Fig. 2)。これら 6 例の血小板法の平均寿命は、補正なし全血法および補正全血法の値より短縮していたが、逆転した測定点を除き計算した平均寿命は、各例で延長を示した。その結果、16 例の血小板法による寿命は、平均 8.68 ± 0.43 (Mean ± 1 SD) 日となり、補正なし全血法および補正全血法の値 8.94 ± 0.39 , 8.80 ± 0.37 日と比べて有意差を認めなくなった。

また、これら 6 例を除いた 10 例の血小板法、補正なし全血法および補正全血法の平均寿命は、そ

	Weighted mean survival time (days)
Platelet method	• • • • • • • • • • • • • • • • • • 5.91 ± 1.19
Whole blood method (non-corrected)	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • 6.12 ± 1.27
Whole blood method (plasma radioactivity corrected)	• • • • • • • • • • • • • • • • • • 6.31 ± 1.20

Fig. 3 Distribution of platelet weighted mean survival time estimated by platelet or whole blood methods in 21 patients with slightly short survival. The numbers at bottom left side of the boxes indicate mean ± 1 SD. (○) shows that scattering of platelet recovery rate was observed in estimating by platelet method.

それぞれ 8.60 ± 0.50 , 8.79 ± 0.37 , 8.65 ± 0.36 日であり、同様に3法による平均寿命に有意差を認めなかった。

軽度短縮群21例において、血小板法、補正なし全血法および補正全血法による平均寿命値に有意差を認めなかった(Fig. 3)。しかし、このうち2例は血小板法において回収率の逆転がみられ、そのうち1例では血小板法の平均寿命は、6.2日、補正なし全血法および補正全血法では8.4日の結果を得ている。回収率が逆転した測定点を除き計算した21例の3法の平均寿命は、 6.00 ± 1.24 , 6.16 ± 1.34 , 6.35 ± 1.26 日であり、バラついた2例を除いた19例の3法の値は、それぞれ 5.92 ± 1.24 , 5.98 ± 1.23 , 6.20 ± 1.17 日となり、いずれも3法による平均寿命値に有意差を認めなかった。

回収率が逆転した8例中5例では、全血あるいはPRP中の血小板数の顕著な変動がみられ、血小板法における血液1ml中の血小板放射能をこの変動分だけ補正すると、回収率は期待される値に近づいた。

著明短縮群においては、3法による平均寿命値に有意差は認められなかった(Fig. 4)。Fig. 4の白丸で示した例は、鉄欠乏性貧血を伴った、血小

板数2.4万の症例で、標識時肉眼的に赤血球の混入(血小板数:赤血球数=2:1)が認められ、血小板法の平均寿命2.4日に比べ全血法の値は延長を示した。

PPP中に出現してくるIn-111放射能の経時的变化をFig. 5に示した。PPP中の放射能は、標識血小板静注後15分において、全血放射能の1~2%にすぎないが、寿命正常群では測定8日目で平均15%, 軽度短縮群8日目で平均25%, 著明短縮群4日目で平均26%と増加した。平均寿命が短いほど、PPP中In-111放射能が増加する傾向がみられた。

これらPPP中放射能が回収率の値にどれだけ影響するかを検討した。寿命正常群において、補正なし全血法の最大回収率を100%とすると、8日目における回収率は平均18%であり、補正全血法ではそれぞれ99%と15%であった。同様に、軽度短縮群において比較してみると、補正なし全血法の最大回収率を100%とすると、8日目では平均14%であり、補正全血法ではそれぞれ99%と11%であった。著明短縮群では、補正なし全血法の最大回収率を100%とすると、4日目では14%であり、補正全血法ではそれぞれ98%と11%で

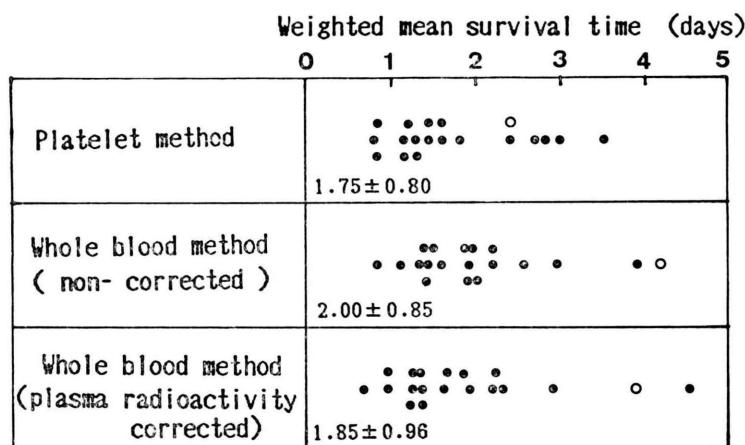


Fig. 4 Distribution of platelet weighted mean survival time estimated by platelet or whole blood methods in 19 patients with short survival. The numbers at bottom left side of the boxes indicate mean \pm 1 SD. (○) shows that macroscopical erythrocytes contamination was observed during In-111 labeling.

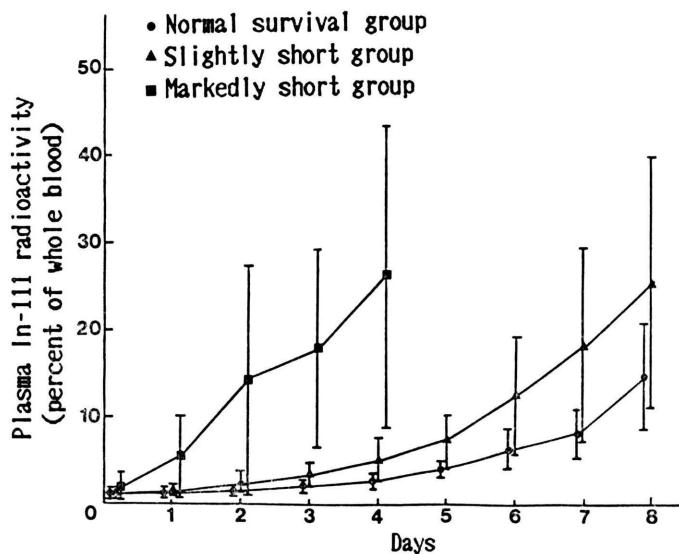


Fig. 5 Increase of platelet-poor plasma radioactivity (mean \pm 1 SD) after infusion of In-111 labeled platelets.

あった。いずれも、PPP中放射能の補正の有無による回収率に大きな差を認めなかった。

V. 考 察

寿命正常群16例において、測定中に回収率が逆転した測定点を含み計算した血小板法の平均寿命と補正なし全血法の平均寿命とに有意差があった原因是、この逆転した測定点を除き計算した平均寿命には有意差がないことから、血小板法の回収率のバラツキが指數関数で計算された平均寿命MEに有利に働き、平均寿命MWが短めに算出されたためと考える。

また、寿命正常群において血小板法による回収率の逆転が生じやすいのは、回収率の1日ごとの変化が寿命短縮群より小さく、測定誤差が影響しやすいものと考えられる。この誤差は、逆転を示した測定点において血小板数の顕著な変動が認められたことから、血小板数算定のための試料採取・処理操作に起因していると考えられる。

寿命正常群、短縮群ともに血小板法、補正なし全血法および補正全血法により求めた平均寿命に有意差がなく、In-111 標識時において他の血球の

混入が無視し得る場合には、操作が簡便な全血法を用いてよいことになる。しかし、In-111トロポロンは赤血球¹²⁾、白血球¹³⁾にも標識されることが報告されている。われわれは標識時における赤血球の混入により全血法の平均寿命値が血小板法の寿命値に比べ、明らかな延長を示した例も経験している。したがって、標識時赤血球の混入が肉眼的に多いと認められた場合には、血小板法も併用した方が望ましい。

乏血小板血漿中のIn-111 放射能が経時に増加したのは、血小板の崩壊によって遊離したIn-111 が体外に排泄されにくい結果と考えられる。

全血法を用いて平均寿命を求める場合、この増加する乏血小板血漿 In-111 放射能を補正すべきであるという報告¹⁴⁾もあるが、われわれの成績では、寿命正常群および短縮群においても、補正なし全血法と補正全血法との間で平均寿命の有意差は認められなかった。この理由として、2方法による回収率の差が、寿命測定開始時で平均1~2%であり、測定最終日で平均3%と小さく、一定であったためと考えられる。

前述の報告¹⁴⁾では平均寿命をガンマモデル¹⁵⁾

により計算しており、計算方法の相違により成績の差が生じたかどうかは明らかではない。また、平均寿命を求める方法として、ガンマモデルが誤差が小さいとの報告¹⁶⁾もあり、今後の検討課題である。

以上のように、血小板法による平均寿命よりも補正なし全血法または補正全血法による値の方が、測定上の誤差が小さく、信頼性が高いと考えられた。特に、補正なし全血法は採血した血液 1 ml の放射能を測定するだけでよく、測定操作および平均寿命計算が簡便であり、さらに採血量を減じ得る利点もあった。日常の検査方法として有用であると考えられた。

血小板寿命測定では、標識時の血小板損傷を起こさないように注意しなければならない。標識操作が血小板に与える影響として、凝集能の低下や電顕による形態変化が報告^{17,18)}されており、また生体内では初期回収率の低下¹⁹⁾や平均寿命の短縮²⁰⁾が報告されている。標識方法は異なるが、In-111 放射能を $20 \mu\text{Ci}/10^8$ 血小板を超えないようすにすべきであるとの報告¹⁸⁾もあるが、われわれの方法で行った $20 \mu\text{Ci}/10^8$ 標識血小板の ADP およびコラーゲンによる凝集能試験では、In-111 を標識しなかった血小板との間に凝集能の差を認めなかつた。

血小板数 $20 \text{万}/\mu\text{l}$ を示す例で 43 ml 採血の場合、標識時における血小板数は約 50×10^8 個であり、最大 $1,000 \mu\text{Ci}$ の In-111 が標識可能と考えられる。この条件における血小板寿命測定では、初期回収率(15分後) 70%、平均寿命 9.7 日の値を得ている。

In-111 の標識量を、血小板数の多少、血栓スキャンの必要の有無、体重の大小により決定する必要があると思われる。

VI. 結論

血小板法、全血放射能を測定するだけの補正なし全血法、および乏血小板血漿中 In-111 放射能を差し引いた補正全血法による測定値から、荷重平均法により血小板の平均寿命を求めたが、寿命

正常群、軽度短縮群および著明短縮群において、3 法による平均寿命に有意差を認めなかつた。

寿命正常群または軽度短縮群において、血小板法による平均寿命は、血小板数算定操作の誤差により短めに算出される症例があつた。

血小板崩壊によって血小板から遊出してきた乏血小板血漿中の放射能は経時的に増加したが、この放射能を全血放射能から差し引く補正を行った際の血小板寿命と、補正なしの寿命とに有意差を認めなかつた。

したがつて、In-111 標識時、他の血球の混入が少なければ、操作性および測定値の信頼性から全血法、特に補正なし全血法が優れていると考えられた。

本論文の要旨は第 27 回日本核医学会総会(長崎)にて発表した。

文献

- 1) 塚田理康：血小板寿命。臨床病理(特集号) **27**: 42-52, 1976
- 2) 油井徳雄、内田立身、室井秀一：In-111 標識血小板による血栓の描出および血小板寿命測定。血液と脈管 **12**: 600-603, 1981
- 3) 塚田理康：抗血小板療法の効果判定。最新医学 **35**: 2247-2253, 1980
- 4) Harker LA, Slichter SJ: Platelet and fibrinogen consumption in man. N Engl J Med **287**: 999-1005, 1972
- 5) Thakur ML, Welch MJ, Joist JH, et al: Indium-111 labeled platelets: Studies on preparation and evaluation of in vitro and in vivo functions. Thromb Res **9**: 345-357, 1976
- 6) Heaton WA, Davis HH, Welch MJ, et al: Indium-111: A new radionuclide label for studying human platelet kinetics. Br J Haematol **42**: 613-622, 1979
- 7) Dewanjee MK, Rao SA, Didisheim P: Indium-111 tropolone, a new high-affinity platelet label: Preparation and evaluation of labeling parameters. J Nucl Med **22**: 981-987, 1981
- 8) 油井徳雄、室井秀一：血小板寿命の測定法。臨床病理(特集号) **62**: 32-45, 1985
- 9) 塚田理康：血小板カイネティクス。臨床病理(特集号) **71**: 127-138, 1987
- 10) Nadler SB, Hidalgo JU, Blough T: Prediction of blood volume in normal human adults. Surgery **51**: 224-232, 1962

- 11) The panel on diagnostic application of radioisotopes in hematatology. International Committee for Standardization in Hematology: Recommended methods for radioisotope platelet survival studies. *Blood* **50**: 1137-1144, 1977
- 12) Rao SA, Dewanjee MK: Comparative evaluation of red cell-labeling parameters of three lipid-soluble-¹¹¹In-chelates: Effect of lipid solubility on membrane incorporation and stability constant on transchelation. *Eur J Nucl Med* **7**: 282-285, 1982
- 13) Dewanjee MK: Cardiac and Vascular imaging with labeled platelets and leukocytes. *Semin Nucl Med* **14**: 154-187, 1984
- 14) Dewanjee MK, Wahner HW, Dunn WL, et al: Comparison of three platelet markers for measurement of platelet survival time in healthy volunteers. *Mayo Clin Proc* **61**: 327-336, 1986
- 15) Murphy EA, Francis ME: The estimation of blood platelet survival. II. The multiple hit model. *Thromb Diath Haemorrh* **25**: 53-80, 1971
- 16) Tsukada T, Tango T: On the methods calculating mean survival time in ⁵¹Cr-platelet survival study. *Am J Hematol* **8**: 281-290, 1980
- 17) Thakur MA, Walsh L, Malech HL, et al: Indium-111-labeled human platelets: Improved method, efficacy and evaluation. *J Nucl Med* **22**: 381-385, 1981
- 18) Bernard P, Bazan M, Foa C, et al: Functional and ultrastructural alterations of autologous platelets labeled with ¹¹¹In-oxine. *Eur J Nucl Med* **8**: 172-178, 1983
- 19) Goodwin DA, Bushberg JT, Doherty FW, et al: Indium-111-labeled autologous platelets for location of vascular thrombi in humans. *J Nucl Med* **19**: 626-634, 1978
- 20) Hill-Zobel RL, Gannon S, MaCandless B, et al: Effects of chelates and incubation media on platelet labeling with indium-111. *J Nucl Med* **28**: 223-228, 1987

Summary

Platelet Weighted Mean Survival Time Estimated by Platelet and Whole Blood Method

Kyoko SAITO*, Hajime MURATA* and Toshiyasu TSUKADA**

*Division of Nuclear Medicine, Toranomon Hospital, Tokyo

**Division of Hematologic Research, Toranomon Hospital, Tokyo

Weighted mean survival time was estimated by platelet method (P-M), plasma radioactivity corrected whole blood method (CWB-M) and non-corrected whole blood method (NWB-M). Platelets were labeled with In-111 tropolone. In normal platelet survival group, mean survival time by P-M, CWB-M and NWB-M were 8.68 ± 0.43 (mean \pm 1 SD), 8.80 ± 0.37 and 8.94 ± 0.39 , respectively. In short survival group, no significant difference in weighted mean survival time was observed among three methods. In some cases, weighted mean

survival time by platelet method was shorter than those by whole blood methods due to the scattering of platelet radioactivity caused by handling of the platelets and/or platelet counting. In the case with smaller erythrocytes contamination during In-111 labeling, the whole blood method especially non-corrected one was useful because it enables easy and precise measurement.

Key words: In-111 tropolone, Platelet survival, Weighted mean, Platelet method, Whole blood method.