

《原 著》

水溶性細胞標識キレート剤 (oxine sulfate, tropolone, MPO) を用いた ^{111}In による血小板標識の至適条件と 細胞機能に関する研究

三重野正之* 井坂 吉成** 木村 和文*** 松本 昌泰****
 恵谷 秀紀***** 上原 章* 橋川 一雄* 秦 龍二***
 森脇 博**** 芦田 敬一** 今泉 昌利** 鎌田 武信****
 小塚 隆弘*

要旨 ^{111}In による血小板標識条件を oxine sulfate, tropolone, MPO (2-mecaptopyridine-N-oxide) の 3 種の水溶性細胞標識化合物を用いて、標識率、血小板凝集能の面から検討した。血小板数が $30 \text{ 万}/\text{mm}^3$ の条件下では最高標識率は acid citrate dextrate (ACD) 加生理食塩水, ACD 加血漿において、それぞれ、80-95%、20-45% であった。ACD 加生理食塩水においては、tropolone が高濃度でも高標識率が保たれることを除いて 3 種の化合物の同終濃度間での標識率の差は少なかった。血漿存在下で血小板標識率は、血漿非存在下と比較して低く、3 種の化合物の同終濃度間で異なる傾向を認めた。しかしこの場合でも、血小板濃度をもとの 16 倍に濃縮すると血小板標識率は tropolone, MPO においてはほぼ 90% に向上した。血小板凝集能は血漿非存在下で標識した血小板においてはコントロール血小板と比較して adenosine diphosphate (ADP) $2 \mu\text{M}$ にて低下する傾向を認めた ($p < 0.05$)。しかしこの傾向は、ある細胞標識化合物を用いたときに特異的なものではなかった。これらの結果から、 ^{111}In による血小板標識は ACD 加血漿中で $480 \text{ 万}/\text{mm}^3$ 程度の血小板濃度を保ち、tropolone ないしは MPO を用いるのが、細胞機能の保持、標識率の面で最適と考えられた。

1. はじめに

Thakur によって 1976 年に開発された ^{111}In -oxine (8-hydroxyquinoline) による血小板標識法¹⁾ は、従来から使用されてきた ^{51}Cr 標識法と比較して、標識率が良好なため採血量が少量で済

む、半減期(67時間)が血小板回転を測定するのに適する、そのガンマ線エネルギー(173 keV 89%, 247 keV 94%)がガンマカメラによる、体外計測に適するなどの利点から、血栓症の診断はもとより生体内における血小板動態の検討に広く応用されてきた²⁻⁴⁾。Thakur の原法は oxine をエタノールに溶解し、標識された ^{111}In -oxine をクロロホルムで抽出し、細胞標識に供するという手法であった。しかし、oxine は水に難溶であり、oxine の可溶化に用いられる有機溶媒が細胞機能に悪影響を及ぼすという考え方⁵⁾ も従来から存在した。このような経緯から、水溶性の細胞標識化合物である oxine sulfate (8-hydroxyquinoline sulfate)⁶⁾, tropolone⁷⁾, MPO (2-mecaptopyridine-N-oxide)⁸⁾ などによる標識法が開発されるに至った。現在のところ、 ^{111}In

* 大阪大学医学部附属病院中央放射線部

** 国立大阪病院循環器科, 核医学研究室

*** 大阪大学バイオメディカル教育研究センター
トレーサー情報解析部

**** 大阪大学医学部第一内科

***** 国立大阪南病院循環器科

受付: 元年 9 月 4 日

最終稿受付: 2 年 2 月 13 日

別刷請求先: 大阪市福島区福島 1-1-50 (☎ 553)

大阪大学医学部第一内科脈管研究室

三重野 正 之

による血小板標識は oxine か、これら3種類の化合物のいずれかを用いてなされているのが実状であるが、標識血小板の細胞機能の保持の点からどれを選択すれば良いかに関しては、従来の論文の結果は相反するものであり⁶⁻⁸⁾、未だ明確な結論は得られていない。

本研究の目的は、これら3種の水溶性の細胞標識化合物のいずれをどのような条件下で血小板機能が保持できるかを解明する点にある。すなわち、各化合物の終濃度を変化させつつ、標識を血漿存在下と非血漿存在下で行ったときの血小板の¹¹¹Inによる標識率を測定し、標識率の面での至適条件を求めたうえで、このような条件下において、いずれの化合物を用いた場合に血小板機能が最も良く保たれるのかを、血小板凝集能の面から検討した。

II. 方 法

1) 血小板の分離と血小板懸濁液の調製

対象は6例の健常成人男性(平均年齢は37.6歳)で、少なくとも採血前2週間以内に、血小板機能に影響を与える薬剤を服用していないものとした。ACD (acid citrate dextrose)-A 液 7.5 ml をあらかじめ吸引したプラスチック製の注射器に19ゲージの翼状針をつけ肘静脈より静かに42.5 ml の静脈血を採取した後、全量 50 ml の ACD 血をポリエチレンチューブにいれ、200×g にて7.5分間遠沈し、多血小板血漿 (PRP: platelet rich plasma) を作製した。つぎに採取した20 ml の PRP に ACD-A 液を1 ml 加え、1,000×g にて10分間遠沈し、血小板沈渣と乏血小板血漿 (PPP: platelet poor plasma) に分離した。血小板沈渣は ACD 加血漿あるいは ACD 加生理食塩水にて懸濁し、血小板濃度が300,000/mm³となるように調製した。なお ACD 加生理食塩水は生理的食塩水7容に ACD-A 液1容を加え1 N の水酸化ナトリウム水溶液で pH 6.5 とした。

2) ¹¹¹In による血小板標識

血小板標識は1)の方法により調製した血小板懸濁液(血小板濃度 300,000/mm³) 230 μl に生理

的食塩水に溶解した血小板標識用キレート剤、oxine sulfate (東京化成), tropolone (シグマ), MPO (シグマ) 10 μl および ¹¹¹In-Cl₃ [日本メジフィジクス, 0.04 N HCl 溶液, specific activity 3.7 kBq/μl (0.1 μCi/μl)] を 10 μl 加えた後20分間室温にて incubation して行った。この際の各細胞標識キレート剤の終濃度は、1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1,024 μM の11段階になるように調製した。その後1,000×g 10分間の遠沈により、血小板懸濁液を血小板沈渣成分 (B) と上清成分 (F) に分離した。血小板標識率 (%) はおのおの成分の ¹¹¹In の放射能を測定し、 $[B/B+F] \times 100$ の式により算出した。

さらに血漿存在下 (ACD 加血漿) での血小板濃度と ¹¹¹In による血小板標識率の関係の検討を行った。血小板標識化合物の終濃度は、血漿存在下にて最高の血小板標識率が得られた場合のものに固定し、血小板濃度を 3.0×10^5 , 6.0×10^5 , 1.2×10^6 , 2.4×10^6 , 4.8×10^6 /mm³ の5段階に設定し、血小板標識率の検討を行った。

3) 血小板凝集能測定

血小板凝集能測定は、Born の方法⁹⁾ に準拠した。また、あらかじめ1 ml の3.8%クエン酸ナトリウム水溶液を吸引導入したプラスチック製の注射器に19ゲージの針をつけ、肘静脈より9 ml を採血した。これを200×g にて10分間遠沈することにより、コントロール(非標識血小板)の血小板懸濁液を得た。標識血小板に関しては2)の検討で最も高標識率が得られたものについて凝集能測定を行った。凝集能測定に用いた血小板懸濁液は、血小板濃度 3.0×10^5 /mm³、溶媒は3.8%クエン酸ナトリウム加血漿である。3.8%クエン酸ナトリウム加血漿は静脈血9容に3.8%クエン酸ナトリウム1容を加え1,000×g 10分遠沈して調製した。凝集惹起物質は collagen (Hormchemie, FRG), ADP (Sigma, USA) を用い、終濃度は ADP を2および5 μM, collagen は2および5 μg/ml とした。血小板凝集能は血小板懸濁液250 μl に凝集惹起物質10 μl を加え、4チャンネル凝集能測定装置によりスターラーの回転数を1,200

rpm, 温度を 37°C に設定して吸光度を 5 分間測定した. 血小板凝集能の分析方法は, 吸光度の標準を PRP 0%, PPP 100% に設定し 5 分間の測定中最も低い吸光度を示した部分を取り上げる %light transmission 法により行った.

4) 統計解析

平均値は $\text{mean} \pm 1 \text{ SD}$ で表した. 統計解析には一元配置分散分析と Bonferroni 法を用いた.

III. 結 果

Figure 1 は oxine sulfate, tropolone, MPO の終濃度と ^{111}In による血小板標識率の関係を示したものである. 血漿非存在下では, oxine sulfate が $16 \mu\text{M}$, tropolone が $32 \mu\text{M}$, MPO が $16 \mu\text{M}$ の時に血小板標識率が最高を示した. その時の血小板標識率は, oxine sulfate にて $82.9 \pm 3.9\%$, tropolone にて $89.3 \pm 2.2\%$, MPO にて $92.9 \pm 0.9\%$ であった. 3 者とも高標識率を得るための終濃度の範囲は広がった. とりわけ tropolone においては, 終濃度を $100 \mu\text{M}$ 以上にしても, 他の薬剤のごとく顕著な標識率の低下傾向は認めなかった.

血漿存在下の標識では, oxine sulfate の終濃度が $32 \mu\text{M}$, tropolone が $256 \mu\text{M}$, MPO が $64 \mu\text{M}$ の時に最高の標識率が得られた. しかしその場合の血小板標識率は oxine sulfate にて $19.6 \pm 5.6\%$, tropolone にて $33.5 \pm 12.5\%$, MPO にて $44.3 \pm 16.3\%$ であり ACD-saline により懸濁した場合に比較して顕著な標識率の低下を示した.

血漿非存在下ではいずれの標識化合物を用いても終濃度を $16\text{--}32 \mu\text{M}$ にすることによって良好な血小板標識率が得られたが, 血漿存在下ではこの血小板濃度においては 3 種のいずれを用いても最高血小板標識は 50% に達しなかった. とくに oxine sulfate の場合は, 終濃度変化に対して標識率の変化が少ない傾向にあった.

次に, 血漿存在下で最も高標識率が得られた条件, すなわち oxine sulfate, tropolone, MPO の終濃度をおのおの $32, 256, 64 \mu\text{M}$ に固定して, 血小板濃度を上昇させた時の血小板標識率の変化を検討した (Fig. 2). 血小板標識率は血小板濃度が高

くなるほど高値になって行く傾向を示した. いずれの化合物を用いても, 血小板濃度をもとの値の 16 倍, すなわち $480 \times 10^4/\text{mm}^3$ の最も濃厚な条件に設定した場合において最高標識率が得られた. その時の血小板標識率は, oxine sulfate にて

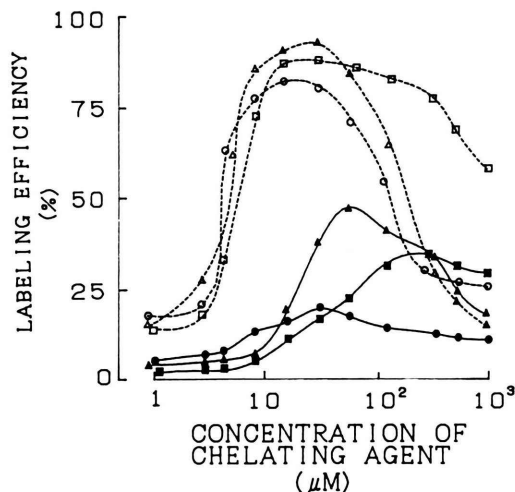


Fig. 1 Concentrations of chelates and platelet labeling efficiency with In-111 in the presence or absence of plasma. (○)=oxine sulfate in ACD-saline, (●)=oxine sulfate in ACD-plasma, (□)=tropolone in ACD-saline, (■)=tropolone in ACD-plasma, (△)=MPO in ACD-saline, and (▲)=MPO in ACD-plasma.

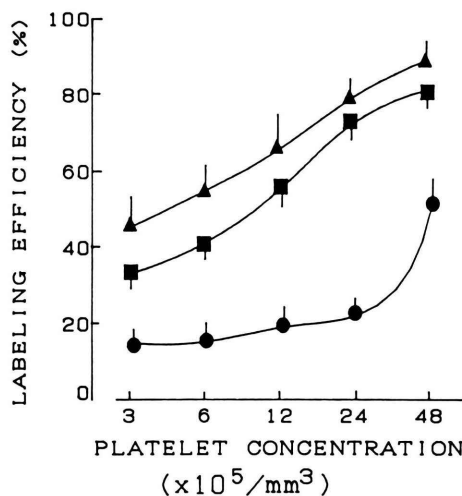


Fig. 2 Platelet concentration and labeling efficiency of ^{111}In -platelets in ACD-plasma. (●)=oxine sulfate, (■)=tropolone, and (▲)=MPO.

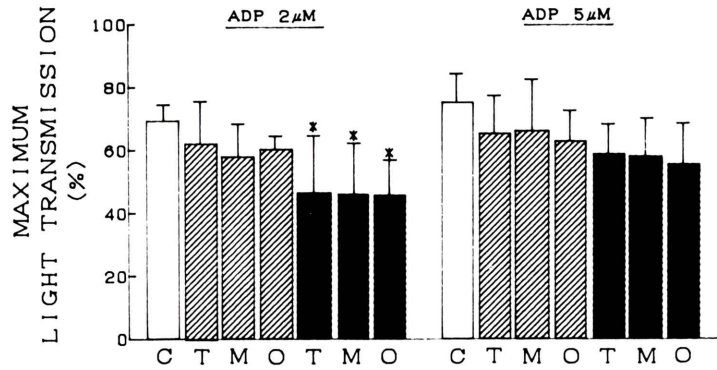


Fig. 3 Platelet aggregation by ADP before and after the platelet labeling with ^{111}In . (□)=control, (▨)=platelets labeled in ACD-plasma, (■)=platelets labeled in ACD-saline. * $p < 0.05$ compared with control. C; control, T; tropolone, M; MPO, O; oxine sulfate.

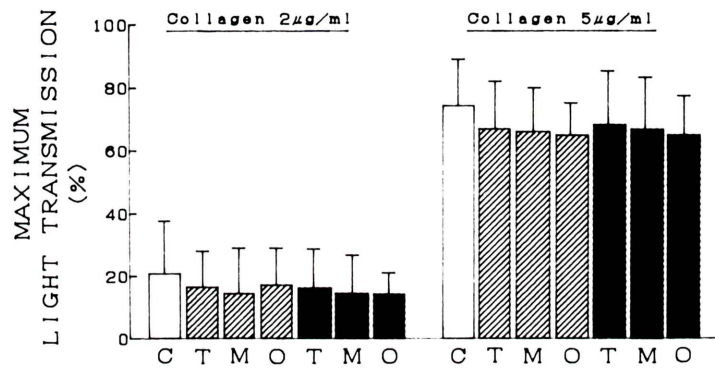


Fig. 4 Platelet aggregation by collagen before and after the platelet labeling with ^{111}In . (□)=control, (▨)=platelets labeled in ACD-plasma, (■)=platelets labeled in ACD-saline. C; control, T; tropolone, M; MPO, O; oxine sulfate.

51.0±2.4%, tropoloneにて83.0±1.7%, MPOにて90.6±1.7%であった。tropoloneとMPOにおいては、血小板数増加にともなって80-90%の高い血小板標識率が得られたが、oxine sulfateでは両者に比較して血小板濃度を高めても血小板標識率は50%内外であった。

Figures 3, 4は血小板標識前後の凝集能の検討結果を示したものである。

ADP (Fig. 3) 終濃度の2µMでは、血漿存在下では、いずれの薬剤を用いて血小板標識を行った場合でも、コントロールと比較して有意の血小板

凝集能の低下傾向は認められなかった。しかし、ACD加生理食塩水における標識条件では、いずれの薬剤を用いた場合でも同程度の有意な[F(6, 28)=2.87; ANOVA, コントロールに比較して $p < 0.05$]凝集能の低下傾向を認めた。しかし終濃度5µMの検討では、標識薬剤の違いにかかわらず凝集能に有意差は認めなかった。

Collagen凝集 (Fig. 4)は終濃度2µg/ml, 5µg/mlのいずれにおいても、標識薬剤、血漿存在下、ACD加生理食塩水における標識条件の違いにかかわらず凝集能に有意差は認めなかった。

IV. 考 察

^{111}In による血小板標識方法は oxine (8-hydroxyquinoline) の場合だけを取りあげてみても、施設により細部の相違点があり一定していない。標識血小板の機能、形態の報告においても ACD 加生理食塩水、Tyrode 緩衝液系にて ^{111}In -oxine によって標識された血小板の機能が損なわれる¹⁰⁻¹³⁾、損なわれない^{1,14,15)} という相反した報告がなされている。これらの実験結果は、血小板を浮遊させる溶液、遠沈速度と時間、pH、血小板濃度、加えた ^{111}In -oxine の放射能、 ^{111}In -oxine の比放射能が微妙に異なっているため直接の比較は難しいと考える。

本研究の標識条件は血小板 10^7 個あたり 5.18 kBq (0.14 μCi) の ^{111}In -oxine sulfate, tropolone, MPO を加えていることになり、Powers²⁾ やわれわれ^{3,4)} が虚血性脳血管障害の臨床応用において血小板標識を行っている条件 [37 MBq (1,000 μCi)/ 10^{10} 血小板] より、単位血小板あたりの放射能はやや少ない。Bernard¹⁰⁾ は 10^9 個の血小板を ACD 加生理食塩水にて 2.2 MBq (約 60 μCi) から 22 MBq (約 600 μCi) の ^{111}In -oxine で標識し、電顕による血小板形態の観察を行った。それによると 7.4 MBq (200 μCi)/ 10^9 血小板にて α 顆粒の密度低下と開放小管系の拡大、22 MBq (600 μCi)/ 10^9 にて血小板の中央部に小器管が集中している所見が得られ、22 MBq (600 μCi)/ 10^9 では、標識血小板凝集能の著しい低下を認めた。さらに Goodwin¹¹⁾ と Hill-Zobel¹³⁾ は血漿なしに標識した血小板はその血小板の recovery の低下と、寿命の短縮を招くことを臨床的、実験的に証明した。本研究の ACD 加生理食塩水における標識実験および、われわれが臨床例で行っている血小板標識は Bernard の実験の最低放射能の条件とほぼ同様である。Bernard は血小板標識にエタノールに溶かした ^{111}In -oxine を用い、血小板凝集能測定は ADP 10 μM のみで行っている。実験条件はやや異なるが、彼らの 7.4 MBq (200 μCi)/ 10^9 血小板の凝集能の結果は、われわれの ADP 5 μM の結

果とほぼ同様である。しかしわれわれの臨床応用においては、健常例の血小板寿命は Goodwin の示したような極端な短縮は示さず、一般に報告されている 9-10 日の値であり、しかも減衰は直線的であり、標識血小板の無選択な崩壊はないことが示唆された¹⁶⁾。このような違いは、われわれが水溶性の細胞標識化合物を用い、単位血小板あたりの被曝量を少なくし標識操作を簡便にしているのに対して、彼らの実験系では、水に不溶性の同様な ^{111}In -oxine の放射能が血小板数あたり非常に高く設定されていること¹⁰⁾ と、標識操作の繰り返しが多いこと¹¹⁾ に起因するものと考えられる。

標識血小板の凝集能測定は、核医学の分野¹⁰⁻¹⁵⁾ では ADP 10 μM で行われていることが多い。本研究のような温和な標識条件でも、ACD 加生理食塩水にて標識された血小板の凝集能は、血漿存在下で標識した血小板と比較して、ADP の低濃度 (2 μM) ですでに低下しており、ADP 低濃度における凝集能は血小板機能低下を比較的早期から鋭敏に反映する重要な指標になると考えられた。しかし ADP の高濃度 (5 μM) と collagen 凝集は有意の低下を示さなかった。この原因は、血小板凝集の agonist である ADP が血小板膜の ADP レセプターに対して過剰であるため軽度の血小板機能の低下がかえって検出しにくくなること、collagen と ADP 凝集の分子機作が異なることによると考えられた。collagen 凝集は最終段階においては ADP, fibrinogen を介し、血小板の shape change においては間接的に prostaglandin endoperoxide を介することがすでに明らかにされ¹⁷⁾、ADP 凝集と密接な関連性を有すると考えられるが、本研究において ADP 凝集と相関性の少なかった原因は明らかではない。

今回の検討は、単位血小板あたりの放射能を低く設定して、標識にいかなる水溶性の細胞標識化合物を用いても、血小板機能の軽度の低下は血漿非存在下では避け得ないものであり、血小板機能の保持の面では血漿存在下で細胞標識を行うことが必要であるということを示すものである。Thakur も同様な現象を MPO における標識実

験^{8,18)}で見いだしており、血漿の存在が血小板の標識操作に伴う障害に対して防衛的に働くと推論した。血小板機能の維持のためには、血小板膜の糖蛋白の構成成分であるシアル酸、Ca²⁺などが必要である¹⁹⁾。血漿なしの標識操作においてはこれらの成分が減少するため、細胞膜の破綻をきたし、結果として凝集能の低下が招来されるものと推定された。

血小板標識にいかなる水溶性化合物を用いるのが最も良いかに関しては、Thakur と Dewanjee が論争していた問題点であった²⁰⁾。しかしこのことに関しては、今回の実験結果から oxine sulfate は血漿存在下における血小板標識率が低いことから実際の臨床応用には適さず、MPO と tropolone は両者とも高血小板標識率が得られること、細胞機能も同程度に維持されていることから、tropolone, MPO のいずれを用いても大差はないという結論が得られた。血漿の存在は血小板標識において、血小板機能を落とさないための重要な緩衝作用を有していると考え、一方で血小板標識率を低下させる弊害も認められた。われわれの実験結果では、血漿存在下で高標識率を得るためには、血小板濃度を通常の PRP の 16 倍以上に濃縮する必要があり、この面において ACD 加生理食塩水における標識操作に比較して血漿存在下の標識操作より簡便にはならないと考える。さらに血小板の被曝線量と血小形態の関係から換算するに、臨床応用において、18.5–37 MBq (500–1,000 μ Ci) の ¹¹¹In で血小板標識を血漿存在下で行う場合でも、採血量は 40 ml 以上必要である。

以上の結果から、水溶性の細胞標識化合物として ¹¹¹In-tropolone および MPO が、標識率、血小板機能の保持の面でいずれも有用であると考えられた。標識は ACD 血漿存在下で行うのが望ましく、この場合、従来の標識方法と比較して採血量は変わらないが、ACD 加生理食塩水の調製は必要でない利点が生ずる。将来的には、血小板分離を必要とせず全血中で血小板のみを選択的に標識し、しかも血小板機能を損なわないような標識化合物の開発が望まれる。

文 献

- 1) Thakur ML, Welch MJ, Joist JH, et al: Indium-111 labelled platelets: studies on preparation and evaluation of in vivo functions. *Thromb Res* 9: 345–357, 1976
- 2) Powers WJ, Siegel BA, Davis II HH, et al: Indium-111 platelet scintigraphy in cerebrovascular disease. *Neurology* 32: 938–943, 1982
- 3) Isaka Y, Kimura K, Yoneda S, et al: Platelet accumulation in carotid atherosclerosis: Semiquantitative analysis with indium-111 platelet and technetium-99m human serum albumin. *J Nucl Med* 25: 556–564, 1984
- 4) Isaka Y, Kimura K, Etani H, et al: Effect of aspirin and ticlopidine on platelet deposition in carotid atherosclerosis: Assessment by Indium-111 platelet scintigraphy. *Stroke* 17: 1215–1220, 1986
- 5) Haut MJ, Cowan DH: The effect of ethanol on hemostatic properties of human blood platelets. *Am J Med* 56: 22–33, 1974
- 6) McAfee JG, Gagne GM, Subramanian G, et al: Distribution of leukocytes labelled with In-111 oxine in dogs with acute inflammatory lesions. *J Nucl Med* 21: 1059–1068, 1980
- 7) Dewanjee MK, Rao SA, Didisheim P: Indium-111-tropolone. A new highaffinity platelet label: preparation and evaluation of labeling parameters. *J Nucl Med* 22: 981–987, 1981
- 8) Thakur ML, McKenney SL, Park CH: Simplified and efficient labeling of human platelets in plasma using Indium-111—2-Mercaptopuridine-N-oxide: Preparation and evaluation. *J Nucl Med* 26: 510–517, 1985
- 9) Born GVR, Cross MJ: The aggregation of blood platelets. *J Physiol* 168: 178–195, 1963
- 10) Bernard P, Bazan M, Foa C, et al: Functional and ultrastructural alterations of autologous platelets labeled with In-111-oxine. *Eur J Nucl Med* 8: 172–178, 1983
- 11) Goodwin DA, Bushberg JT, Doherty PW: Comparison of In-111-labeled autologous platelets for localization of vascular thrombi in humans. *J Nucl Med* 19: 626–634, 1978
- 12) Thakur ML, Walsh L, Malech HL, et al: Indium-111-labeled human platelets. Improved method, efficacy and evaluation. *J Nucl Med* 22: 381–385, 1981
- 13) Hill-Zobel RL, Gannon S, McCandless B, et al: Effect of chelates and incubation media on platelet labeling with Indium-111. *J Nucl Med* 28: 223–228, 1987
- 14) Heyns A duP, Badenhorst PN, Pieters H, et al:

- Preparation of a viable population of indium-111-labelled human blood platelets. *Thromb Haemost* **42**: 1473-1482, 1979
- 15) Joist JH, Baker RK, Thakur ML, et al: Indium-111-labeled human platelets: uptake and loss of label and in vitro function of labeled platelets. *J Lab Clin Med* **92**: 829-836, 1978
- 16) 井坂吉成, 上原 章, 橋川一雄, 他: 虚血性脳血管障害における血小板動態について——血小板寿命と血小板凝集能による検討——. 第30回日本神経学会総会抄録, p. 242, 1989
- 17) Coleman RW, Figures WR, Scearce LM, et al: Inhibition of collagen-induced platelet activation by 5'-p-fluorosulfonylbenzoyl adenosine: Evidence for an ADP requirement and synergistic influence of prostaglandin endoperoxides. *Blood* **68**: 565-570, 1986
- 18) Thakur ML, Sedar AW: Ultrastructure of human platelets following indium-111 labeling in plasma. *Nucl Med Commun* **8**: 69-78, 1987
- 19) Packham MA, Guccione MA, Kinlough-Rothbone RL, et al: Platelet sialic acid and platelet survival after aggregation by ADP. *Blood* **56**: 876-880, 1980
- 20) Thakur ML: Teaching editorial. Cell labeling: Achievements, challenges, and prospects. *J Nucl Med* **22**: 1011-1014, 1981

Summary

Functional Alterations of Human Platelets following ^{111}In Labeling with Different Ligands and Incubation Media

Masayuki MIENO*, Yoshinari ISAKA**, Kazufumi KIMURA***, Masayasu MATSUMOTO****, Hideki ETANI*****, Akira UEHARA*, Kazuo HASHIKAWA*, Ryuji HATA***, Hiroshi MORIWAKI****, Keiichi ASHIDA**, Masatoshi IMAIZUMI**, Takenobu KAMADA**** and Takahiro KOZUKA*

* *Division of Nuclear Medicine, Osaka University Medical School*

** *Department of Cardiovascular Medicine and Radiological Science, Osaka National Hospital*

*** *Department of Nuclear Medicine, Biomedical Research Center*

**** *First Department of Internal Medicine, Osaka University Medical School*

***** *Division of Cardiovascular Medicine, National Osaka Minami Hospital*

We studied the effects of various ^{111}In -water soluble chelates and incubation media on labeling efficiency of platelets and in vitro platelet aggregability. High labeling efficiency of platelets in ACD-saline was achieved with ^{111}In -oxine sulfate, ^{111}In -tropolone and ^{111}In -MPO (2-mercaptopyridine-N-oxide). In the condition with $4.8 \times 10^6/\text{mm}^3$ platelets in ACD-plasma, ^{111}In -oxine-sulfate had low labeling efficiency and inconsistent labeling, while ^{111}In -tropolone and ^{111}In -MPO had high labeling efficiency. In vitro platelet aggregability (ADP $2 \mu\text{M}$) was reduced when platelets were

labeled in the absence of plasma. However, there was no significant difference in platelet aggregability among ^{111}In -platelets labeled by three different chelates.

In conclusion, to maintain aggregation activity of the platelets with relatively high labeling efficiency, the best result was obtained by using MPO or tropolone chelate in plasma at $4.8 \times 10^6/\mu\text{l}$ platelet concentration.

Key words: Platelet labeling, Oxine, Tropolone, MPO, ^{111}In .