

# 多項目自動血球分析装置 XE-5000 による 髄液細胞数測定のパフォーマンス評価

山西 八郎<sup>\*1</sup>, 堀田 真希<sup>\*1</sup>, 松田 沙希子<sup>\*1</sup>,  
森本 創世子<sup>\*1</sup>, 林 貞夫<sup>\*1</sup>, 日高 洋<sup>\*2</sup>

\*1 大阪大学医学部附属病院医療技術検査部門：吹田市山田丘 2-15 (〒 565-0871)

\*2 大阪大学医学部附属病院臨床検査部

## SUMMARY

シスメックス社により開発された多項目自動血球分析装置 XE-5000 による髄液細胞数の測定パフォーマンスを評価した。再現性、計算盤法との相関性ではほぼ満足できる成績が得られ、約 25,000cells/ $\mu$ L までの直線性が確認された。また、キャリーオーバーや共存する赤血球の影響も認められなかった。さらに、スキヤットグラムより核酸の豊富な腫瘍細胞や好酸球の存在を予知することが可能であった。

**Key Words** 髄液, XE-5000, 細胞数, 自動分析

## はじめに

髄液細胞数の測定と多核球、単核球の分類は、髄膜炎や脳炎など中枢神経系感染症の診断、治療に直結する極めて緊急度の高い重要な検査である<sup>1)</sup>。髄液細胞数測定の標準的測定法はフックスローゼンタール計算盤法(以下、計算盤法)であるが、再現性、細胞分類の個人間差に加えて<sup>2)</sup>、計算盤破損による感染の危険性が問題とされている。このような背景から、特に細胞分類の個人間差を是正するために、髄液細胞数測定の自動分析法が検討されている<sup>2-6)</sup>。今回、我々の施設で髄液細胞数測定の 24 時間対応を開始するにあたり、日常業務として髄液検査を担当していない技師においても、保証された測定精度での検査を可能とする目的から、シスメックス社により開発された多項目自動血球分析装置 XE-5000 (以下、XE-5000) の体液モードによる髄液細胞数自動分析の導入を試みた<sup>7)</sup>。以下、XE-5000 の測定パフォーマンスの検討結果について報告する。

## 対象および方法

### 1. 対象

検査目的で臨床検査部に提出された本院の入院および外来患者検体 70 例を対象とした。年齢、性別、疾患名以外の属性は破棄し、すべての検体を患者と連結不能とすることにより、患者のプライバシーを保護した。

### 2. 疑似髄液検体

ほとんどの場合、検査後の残存髄液量は微量であることから、最低検出限界の設定、同時再現性の検討試料には、比重遠心法で全血から分離した多核球と単核球を PBS に再浮遊させた疑似髄液検体を用いた<sup>5)</sup>。

### 3. 対照法

日本臨床衛生検査技師会「髄液検査法 2002」に準じ、フックスローゼンタール型ディスプレイプラスティック計算盤(以下、C-Chip)<sup>8)</sup>を用いた鏡検法(染色液:サムソン液)を対照法とした。なお、XE-5000 での測定は計算盤法とほぼ同時に実施した。

# 結果

## 1. 同時再現性

図1に疑似髄液検体を試料としたXE-5000, C-Chip およびガラス製フックスローゼンタル計算盤での同時再現性 (n=10) のCV値を示す。XE-5000では実測平均値 10cells/μL以下でCV値が大きく上昇する傾向にあったが、計算盤法に比べてはるかに良好な同時再現性が確認された。図2に患者髄液検体をXE-5000で連続して10回測定した場合の総細胞数の変動を示す。低～高濃度まで測定値のバラつきには一定した傾向は認められず、またCV値も疑似検体とほぼ同様の結果が得られた。さらに、共存する赤血球が約15万/μLの強度血性検体(図2, ●)においても測定値のバラつきに一定した傾向は認められず安定した同時再現性が認められた。

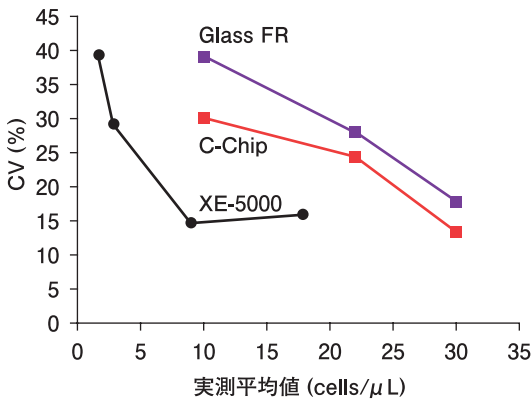


図1. 同時再現性 (疑似髄液検体)  
FR: フックスローゼンタル型計算盤

一方、単核球数と多核球数が近似する3つの組み合わせでそれぞれの測定値の変動を比較すると、いずれの組み合わせにおいても分散に有意差はなく(自由度  $df_1 = df_2 = 9$ ,  $F_{0.05} = 3.18$ ), 多核球, 単核球ともに同じ測定誤差でカウントされていることが確認された(図3)。

## 2. 最低測定限界

疑似髄液検体を試料として、同時再現性のCV値から最低測定限界を検討した(図4)。低濃度において許容できるCV値を20%程度とした時、XE-5000での測定限界は10cells/μLであった。一方、PBSを試料としランダムに100回以上測定した場合、0cells/μL以外の測定値(具体的には1cells/μL)が得られる確率は2.5%以下であった。

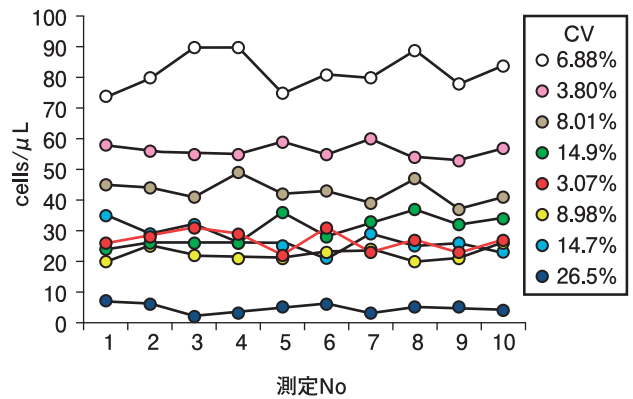


図2. 同時再現性 (患者髄液検体)

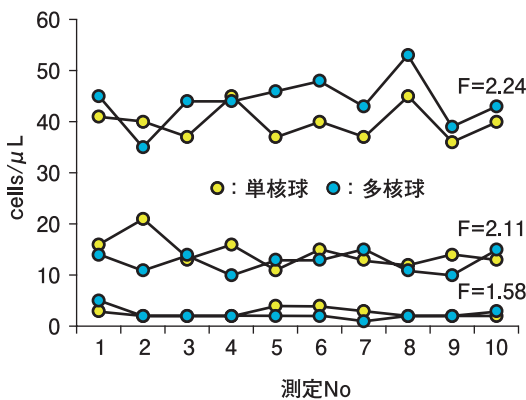


図3. 多核球, 単核球別の同時再現性 (患者髄液検体)

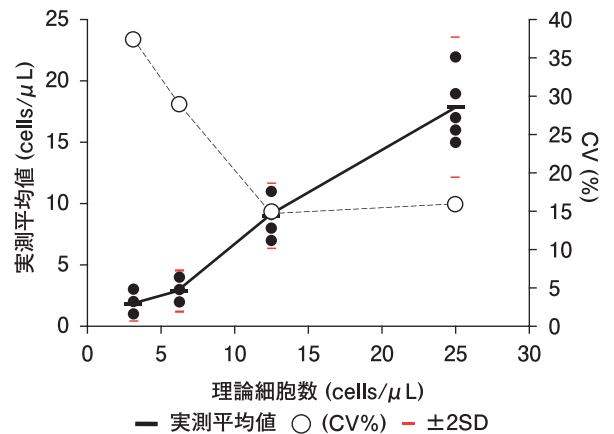


図4. 最低測定限界

### 3. 希釈直線性とキャリーオーバー

高濃度患者検体をPBSで希釈し直線性を検討した。その結果、約 25,000cells/ $\mu$ L までの直線性が確認された(図5)。また、高濃度検体測定後、XE-5000では、前検体のキャリーオーバーを回避するためにbackground checkの実行指示が画面上に表示される。そこで図6に示すように、高濃度検体(総白血球数 4,484cells/ $\mu$ L、および 27,859cells/ $\mu$ L)を測定した後にbackground checkの要求を無視してPBSを測定すると、その測定値は9および10cells/ $\mu$ Lであった。しかし、background checkを実行した後のPBSの測定

値は0または1cells/ $\mu$ Lであり、キャリーオーバーは認められなかった(図6)。なお、background check実行後のベースラインが設定値を上回る場合は、装置により自動的に2度目のbackground checkが実行される(図6, BC3)。

### 4. 共存赤血球の影響

疑似髄液検体に洗浄ヒト赤血球を添加し共存する赤血球の影響を検討した(図7)。その結果、赤血球数約 5,000cells/ $\mu$ Lまで影響は認められず、良好な同時再現性が確認された。

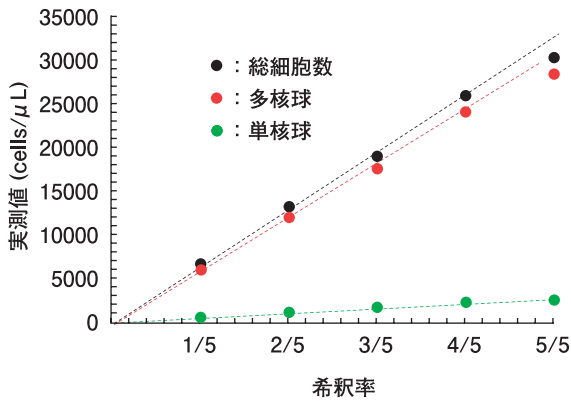


図5. 希釈直線性

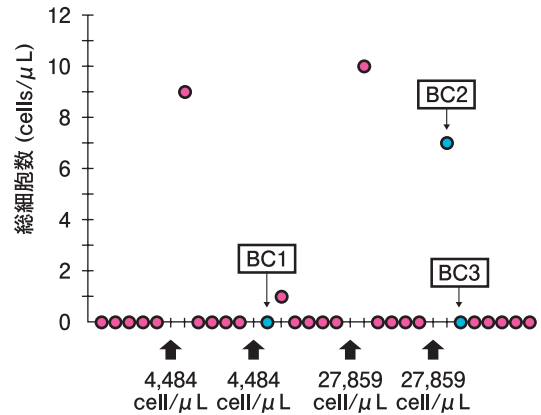


図6. キャリーオーバー

BC : background check

● : PBS 測定値 ● : ブランク値

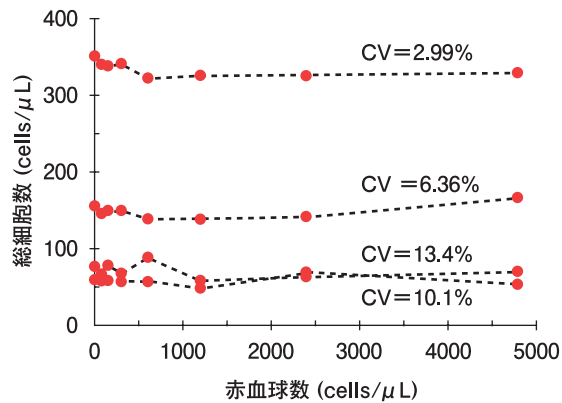


図7. 共存赤血球の影響

## 5. 計算盤法との相関性

### 1) 総白血球数

相関図を図8-aに示す。回帰式、相関係数ともに良好な相関性が認められた ( $y=1.03x+1.5$ ,  $r=0.996$ )。総細胞数  $25\text{cells}/\mu\text{L}$  以下での相関性は  $y=1.27x+0.70$ ,  $r=0.872$  であった。

### 2) 単核球

日常検査法として我々の検査室では計算盤法により「多核球」, 「リンパ球」, 「その他の単核球」および「不明細胞」に分類しているため, XE-5000との比較では「リンパ球」+「その他の単核球」を単核球とした。

単核球における XE-5000 と計算盤法との相関は, 全レンジでは  $y=0.95x+1.3$ ,  $r=0.983$ ,  $50\text{cells}/\mu\text{L}$  以下では  $y=0.97x+0.74$ ,  $r=0.963$ ,  $25\text{cells}/\mu\text{L}$  以下では  $y=1.13x+0.23$ ,  $r=0.911$  と良好な相関性が確認された (図8-b)。しかしながら, case1 では計算盤法に比べて約 25%, XE-5000 で低値にカウント

された。

計算盤法での分類詳細を表1に示す。case1では, 計算盤法で「その他の単核球」に相当する細胞数分が XE-5000 では低値にカウントされており, 簡易迅速染色 (ディフ・クイック, シスメックス社) の結果, これらのほとんどは単球系の細胞であった。case2は直線  $y=x$  上に位置するが, 鏡検法で異型性を疑う細胞が多数認められた。そこで簡易迅速染色を実施したところ, 図9-aに示すように大型で細胞質が好塩基性を示す細胞が認められ, その後の病理検査で悪性リンパ腫細胞と同定された。case3は相関図には含まれていないが, 両法での総細胞数の測定結果は一致しているものの計算盤上で核小体の認められる大型の単核球が観察された (図9-b)。この症例は急性骨髄単球性白血病 (M4) で, これらの細胞は白血病細胞と予想されたが, XE-5000 のスキッタグラムでは蛍光強度の強い (核酸量の多い) エリアにプロットが認められた (図10-a)。

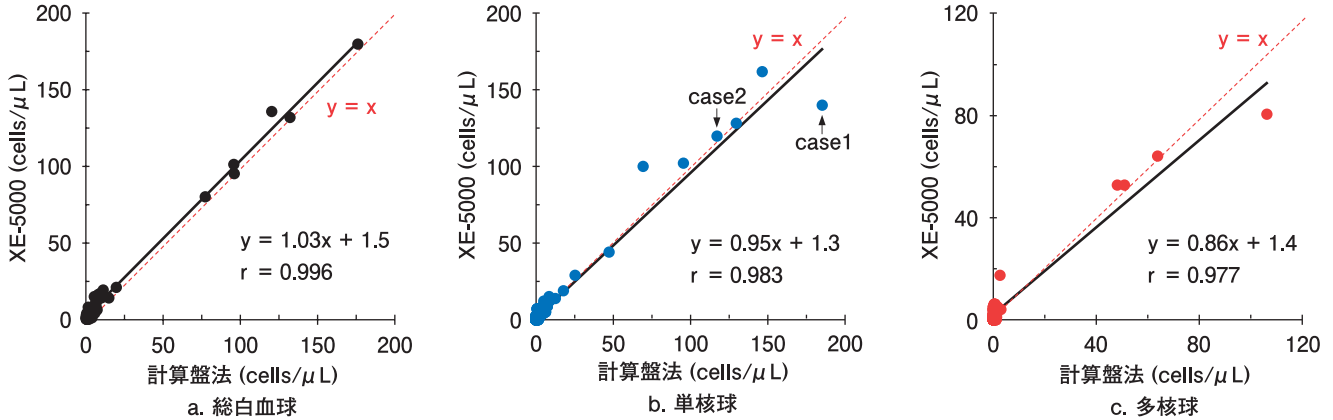


図8. 計算盤法との相関性

表1. 計算盤法での分類詳細

	case 1		case 2		case 3		case 4	
	計算盤	XE-5000	計算盤	XE-5000	計算盤	XE-5000	計算盤	XE-5000
多核球	64	64	2	5	0	2	47*2	63
単核球	186	139	130	127	38	26	225	199
リンパ球	139		4		2		200	
その他の単核球	47		126*1		36*1		25	
総細胞数	250	203	132	132	38	38	272	262

\*1 異型性を疑う細胞を含む \*2 2核の多核球を認める

単位: cells/ $\mu\text{L}$

### 3) 多核球

検討期間中、多核球優位な髄液検体が少なかったため、全レンジでの相関性を評価することには無理があるが、回帰式  $y=0.86x+1.4$ ,  $r=0.977$  と単核球の相関性に比べて若干低くカウントされる傾向にあった(図8-c)。表1のcase4は相関図には示していないが、図9-cに示すように、計算盤上

で2核の多核白血球が認められた。簡易染色の結果、これらは好酸球であることが確認された。XE-5000においてもこれらの細胞は多核球としてカウントされていたが、スキッタグラムでは側方散乱光強度の強い(細胞内部が複雑)エリアに多数のプロットが認められた(図10-b)。

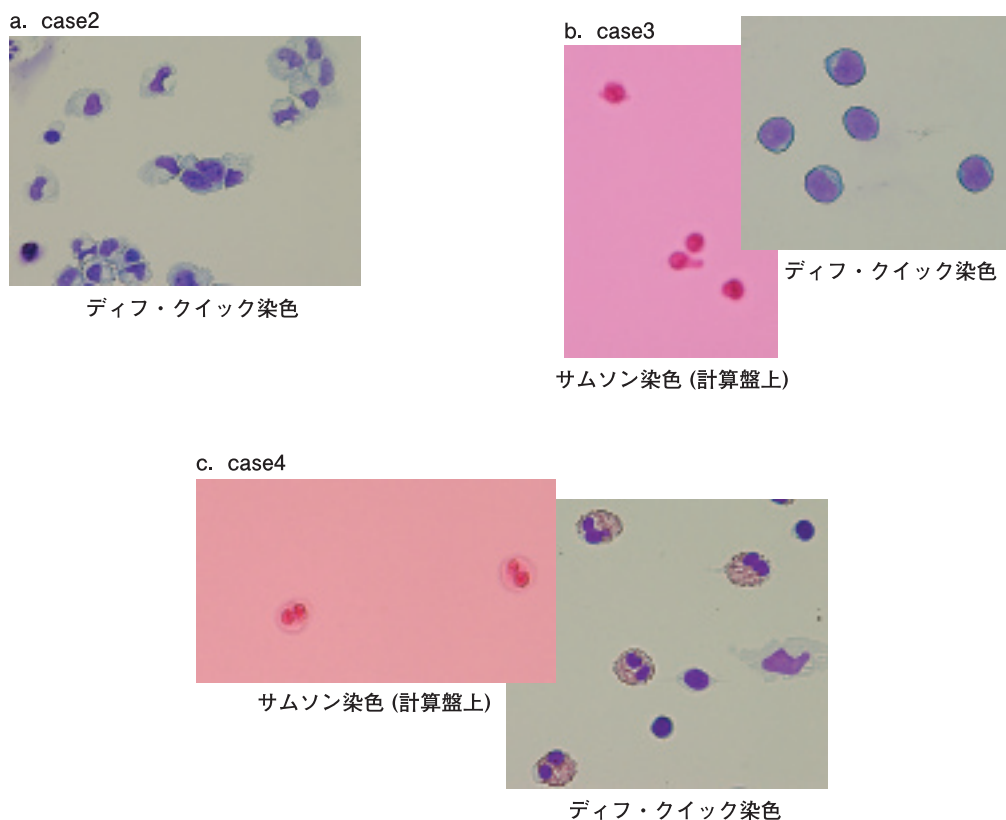


図9. ディフ・クイック染色所見

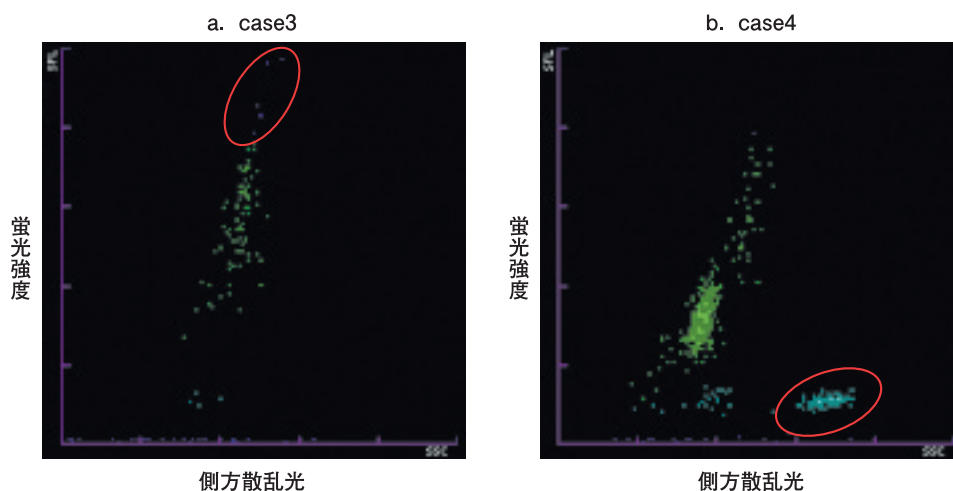


図10. DIFF スキッタグラム

## 考 察

今回の検討は、緊急検査として平日夜間および土日祝祭日全日に髄液細胞数測定を実施することを目的として行った。しかし、通常時間帯は従来どおり計算盤法による目視判定で対応している。したがって、目視判定と自動分析で測定結果に差が生じることは避けられないことであり、自動分析の導入にあたっては臨床側に対してあくまでも緊急検査として実施すること、さらに低細胞数領域において総細胞数、細胞分類に計算盤法とある程度の乖離が生じる場合があることを十分に説明した。以下、これらのことを踏まえたうえで今回の検討結果に対して考察を加える。

再現性については計算盤法を上回る良好な成績が得られ、単核球、多核球ともにほぼ同じ測定精度でカウントされていることが確認された。計算盤法で問題とされている分類の個人間差は正に XE-5000 の導入は極めて有用であると考えられる。また、先行の髄液細胞数自動分析法で指摘されている共存赤血球の影響も認められなかった<sup>9)</sup>。さらに、約 25,000cells/ $\mu$ L までの直線性が確認されたことより、この程度の総細胞数であるならば、希釈再検は必要ないと考えられる。しかし、キャリーオーバーの影響は無視できないため、装置の指示に従い background check を実行する必要がある。

一方、最低検出限界については同時再現性の CV 値より 10 あるいは 20cells/ $\mu$ L と設定することが妥当であると考えられる<sup>6)</sup>。しかしこれを誤差論の角度から考えると、細胞数のように 1 個単位で観測される変数の検出限界について、CV 値を指標として設定することには多少の疑問が残る。つまり、溶液の濃度はどの部分からサンプリングしても常に一定であるが、細胞数はその絶対数が少なければ少ないほど 1 個の細胞がサンプリングされるか否かの確率に依存しており、これは CV 値で表される測定誤差とは異なる概念である。また PBS の測定値が 97.5% 以上の確率で 0cells/ $\mu$ L であることを考え合わせると、あえて検出限界を設定する必要はないとも考えることができる。ただ、測定誤差が存在していることは事実である。そこで、各測定値レベルでの分散を正

確に測定し、実測値にその 95% 信頼区間を添えて報告する運用も一つの方法として考えられる。この報告方法であれば、診療科、担当医により異なる臨床的カットオフ値に対応することができ、今後の課題と考えている。現時点において我々の施設では検出限界を 10cells/ $\mu$ L と設定し、検出限界未満の場合は「10cells/ $\mu$ L 未満、分類不能」と報告している。

計算盤法との相関性については概ね良好な成績が認められた。しかしながら、case1 では計算盤法で「その他の単核球」に相当する細胞数分が、XE-5000 で低くカウントされていた。この髄液検体は強い細胞変性が認められたことより、一つの原因として核酸蛍光色素の反応性に起因しているものと考えられ、一方、目視判定結果にも変動があることは否定できない。この症例に限るならば、両法において単核球優位であることに違いはなく、また、総細胞数が 200cells/ $\mu$ L 以上であることより、XE-5000 の結果により診断、治療の方向性が大きく歪められるものではないと考えられる。

一方、計算盤上で明らかに異型細胞と判定された細胞が、XE-5000 では単核球として分類された症例を経験した (case2)。この細胞は悪性リンパ腫細胞と同定されたが、このことをもって髄液細胞数の自動分析は臨床上許し難い医療過誤の原因になると評価することは、自動分析の限界を考慮すれば必ずしも適切ではないと考える。前述のように緊急検査として自動分析を導入することに軸足を置いたうえで、このような事例もあり得ることを臨床側と十分にコンセンサスをとる必要がある。

また、白血病細胞が単核球としてカウントされた症例を経験した (case3)。この症例ではスキヤッタグラムで蛍光強度の強いエリアに多数のプロットが観察された。また、好酸球の多い髄液検体においてもスキヤッタグラムよりその存在を予知することが可能であった (case4)。これらのことから、実測値だけではなくスキヤッタグラムを観察することにより、好酸球や腫瘍細胞の存在をある程度は推測できるものと考えられる。

今後の課題として、XE-5000 には体液モード専用の精度管理試料の開発と供給が望まれる。日常は CBC 用のコントロール試料で精度管理しているが、

これは分析装置が正常に動作しているかどうかの確認の意味しかなく、体液モード測定に対して本来の精度管理の役割を果たしているとは言い難い。

## おわりに

我々の検査室では、髄液細胞数測定との24時間対応と同時に通常検査としてXE-5000による胸腹水およびCAPD排液中の細胞数測定も開始した。特にCAPD排液中細胞数測定については予想以上に検査依頼が多く、腹膜透析患者における腹膜炎の迅速な診断、治療効果判定に極めて有用であるとの評価を受けている。XE-5000の性能をもってすれば、単核球、多核球といった分類ではなく、好中球、リンパ球、単球など、より詳細に細胞を分類することも決して不可能ではないと考える。日常検査法としての自動分析法を確立し定着させるうえで、さらなる分析装置の改良が期待される。

## 参考文献

- 1) Seehusen DA, Reeves MM, Fomin DA. Cerebrospinal analysis. *Am Fam Physician*. 2003; **68** (6): 1103-1108.
- 2) Ziebig R, Lun A, Sinha P. Leukocyte count in cerebrospinal fluid with the automated hematology analyzer CellDyn 350 and the urine flow Cytometer UF-100. *Clin Chem*. 2000; **46** (2): 242-247.
- 3) Aune MW et al. Automated Flow cytometric analysis of blood cells in cerebrospinal fluid. *Am J Clin Pathol*. 2004; **121** (5): 690-700.
- 4) Aune MW, Sandberg S. Automated counting of white and red blood cells in the cerebrospinal fluid. *Clin Lab Haematol*. 2000; **22** (4): 203-210.
- 5) Yamanishi H et al. Urine flow Cytometer quantification of leukocytes in sample containing a large proportion of lymphocytes. *Clin Biochem*. 2006; **39** (8): 857-859.
- 6) Boer K, Deufel T, Reinhoefer M. Evaluation of the XE-5000 for the automated analysis of blood cells in cerebrospinal fluid. *Clin Biochem*. 2009; **42** (7-8): 684-691.
- 7) 田中千晶 他. 多項目自動血球分析装置 XE-5000 の概要と基礎性能. *Sysmex J*. 2007; **30**: 63-69.
- 8) Yamanishi H et al. Determination of leukocyte counts in cerebrospinal fluid with a disposable plastic hemocytometer. *J Clin Lab Anal*. 2007; **21** (5): 282-285.
- 9) 秋葉俊一, 山田巻弘, 有賀仁美. 自動血球測定装置による髄液細胞分画検査 - ADVIA120/2120 による CSF Assay - . *臨床検査*. 2005; **49** (4): 393-400.

# Evaluation of Analytical Performance of the Automated Hematology Analyzer XE-5000 on Automated White Blood Cell (WBC) Counting in Cerebrospinal Fluid (CSF)

Hachiro YAMANISHI<sup>\*1</sup>, Masaki HOTTA<sup>\*1</sup>, Sakiko MATSUDA<sup>\*1</sup>,  
Soyoko MORIMOTO<sup>\*1</sup>, Sadao HAYASHI<sup>\*1</sup> and Yoh HIDAHA<sup>\*2</sup>

Laboratory for clinical investigation Osaka University Hospital  
2-15 Yamadaoka Suita-shi, Osaka 565-0871

---

## SUMMARY

We evaluated analytical performance of the multiple automated hematology analyzer XE-5000 (XE-5000 ; Sysmex Corporation) on automated white blood cell (WBC) counting in cerebrospinal fluid (CSF). CV and mean value in the test for within-run reproducibility for total WBCs were 6.9% (82.1cells/ $\mu$ L), 3.8% (56.2cells/ $\mu$ L), 8.0% (42.8cells/ $\mu$ L), and 8.9% (22.3cells/ $\mu$ L). In linearity of dilution, it was linear up to 25,000 cells/ $\mu$ L. The lower counting limit was estimated at 10 cells/ $\mu$ L. There was no influence of red blood cells on the XE-5000 WBC counting. The regression equations for total WBCs, polymorphonuclear cells, and mononuclear cells between the XE-5000 (y) and microscopic chamber counting (x) were  $y=1.03x + 1.5$  ( $r=0.996$ ),  $y=0.86x + 1.4$  ( $r=0.977$ ), and  $y=0.95x + 1.3$  ( $r=0.983$ ), respectively. Manual chamber counting is the standard method for quantification of WBC in CSF, but it requires practical experiences and is labor-intensive. Automated CSF analysis by the XE-5000 may resolve these issues.

**Key Words** Cerebrospinal Fluid (CSF), XE-5000, Cell Counting, Automated Hematology Analyzer

---