

# 当院の夜間・休日における 自動血球分析装置による髄液細胞算定の運用法

久末 崇司, 田中 雅美, 宿谷 賢一, 大久保 滋夫, 下澤 達雄, 矢富 裕

東京大学医学部附属病院 検査部：東京都文京区本郷 7-3-1 (〒113-8655)

## はじめに

髄液細胞の検査は、髄膜炎や脳炎などの疾患の診断に重要である。また、腫瘍細胞の検出は、髄膜浸潤の判断につながるため<sup>1)</sup>、細胞数算定を行うとともに細胞分画を行い、その形態を注意して観察することが重要である。

髄液中の細胞変性は早く、迅速な検査の実施が求められている<sup>2)</sup>。髄液細胞数算定は一般的にフックス・ローゼンタール計算盤を用いた目視法で行われ、髄液細胞数算定の最も基本的な方法とされている。しかし、計算盤の破損による技師への感染の危険性があるため、計算盤の取扱いには注意する必要がある。また、顕微鏡を用いての細胞鑑別には技量が必要で、夜間や休日業務のみ髄液検査を行う技師には負担が大きく、個人の力量によって検査結果に誤差が生じることが指摘されている<sup>3)</sup>。

近年では体腔液中の細胞数を測定可能な自動血球分析装置が多く開発されている。髄液細胞の算定は、体腔液細胞の算定と同様にこれらの自動血球分析装置を使用することで、夜間や休日の業務にて迅速かつ簡便に誤差が生じることなく行うことができる。当院では、2008年より夜間・休日の髄液細胞数検査は、多項目自動血球分析装置 XE-5000 (以下、XE-5000; シスメックス社) を用いて髄液細胞の算定を行ってきた。2013年からは、XE-5000の後継機種である XN シリーズを夜間・休日の髄液細胞数検査に導入し運用している。XN シリーズは分析ユニットや搬送部との組み合わせによって名称が異なるが、本稿では XN シ

リーズと統一して表記する。今回は、当院における XN シリーズの導入にあたり行った基礎的検討結果および、実際の運用法について報告する。

## 体液測定モード (BF モード) の概要

半導体レーザーを使用したフローサイトメトリー法により得られる、側方散乱光 (細胞の内部構造)、側方蛍光 (細胞の核酸量) の情報を組み合わせてスキュッタグラムを作成し、細胞数の算定、単核球 (MN) と多核球 (PMN) の分類を行っている (図 1)。より側方蛍光の強い細胞は、スキュッタグラム上部の HF-BF と呼ばれる部分に分類され、腫瘍細胞やマクロファージなどが該当する。また、BF モードでは細胞数を表す項目に TC-BF と WBC-BF があり、TC-BF は測定された全細胞数を表し、WBC-BF は TC-BF の中から HF-BF に分類された細胞を除いた数を表している (図 2)。

## 基礎的検討

検討内容および結果、考察の一部については、以前に実施した我々の検討結果<sup>4)</sup> から引用する。

### 1. 対象および内容

XN シリーズおよび XE-5000 を用いて測定を行い、当院検査部に提出された検査済みの髄液検体を用いて、再現性、最小検出感度、相関について検討を

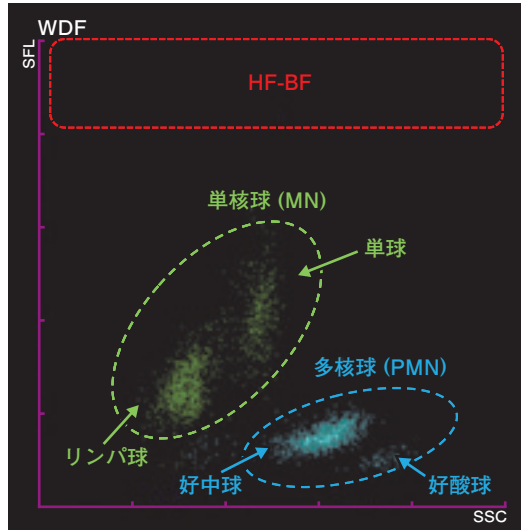


図1. XN シリーズ WDF スキャッタグラム (体液測定モード)

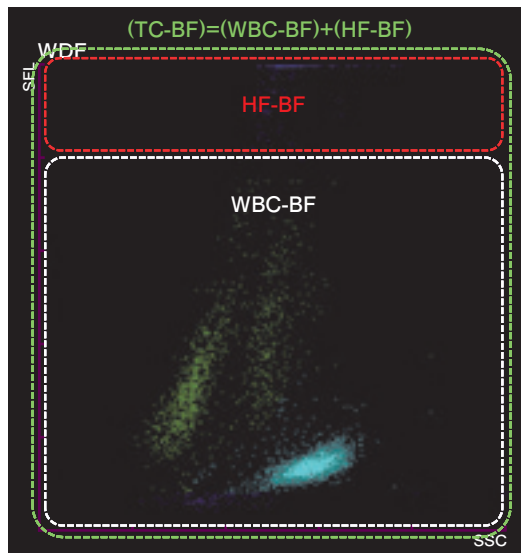


図2. XN シリーズ体液測定モードでの細胞数表示法

行った。なお、本検討については東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会の承認を得て実施した。

## 2. 結果

### 1) 再現性

同時再現性は、XN シリーズ専用のコントロール2濃度を用いて、それぞれ10回連続測定を行った。低濃度コントロールでCV 3.2%、高濃度コントロールでCV 1.8%であった(表1)。日差再現性は、同様のコントロールを用いて20日間測定を行った。低濃度コントロールでCV 3.6%、高濃度コントロールでCV 1.8%であった。同時再現性および日差再現

性ともにCV 10.0%以下と良好な結果であった。

### 2) 最小検出感度

EDTA-2K 加血液から白血球を採取し、XN シリーズ専用希釈液であるセルパック DCL で濃度を調整して試料とした。各濃度で10回測定を行い、3SD法を用いて検討した。結果は、XN シリーズでは3個/ $\mu\text{L}$ 、XE-5000では11.2個/ $\mu\text{L}$ であった<sup>4)</sup>。また、XN シリーズにおける細胞数低値域での細胞分画の検出感度を検討した。細胞数7個/ $\mu\text{L}$ 以上では、CV 10.0%前後を示し、17個/ $\mu\text{L}$ 以上では、CV 8.0%以下と良好な値を示した(表2)。XN シリーズはXE-5000に比べて最小検出感度は

表 1. WBC 同時再現性

n=10 (×10<sup>2</sup>個/μL)

	低濃度 (表示値 72個/μL)			高濃度 (表示値 294個/μL)		
	WBC	MN	PMN	WBC	MN	PMN
mean	0.77	0.26	0.51	3.06	1.07	1.99
min	0.72	0.23	0.46	2.97	1.03	1.90
max	0.80	0.30	0.57	3.14	1.11	2.07
R	0.08	0.07	0.11	0.17	0.08	0.17
SD	0.025	0.024	0.031	0.056	0.030	0.063
CV (%)	3.2	9.3	6.1	1.8	2.8	3.1

表 2. WBC 検出感度

	4/10 (7.2個/μL)		5/10 (8.0個/μL)		6/10 (9.8個/μL)		7/10 (13.6個/μL)		8/10 (17.0個/μL)	
	MN (%)	PMN (%)	MN (%)	PMN (%)	MN (%)	PMN (%)	MN (%)	PMN (%)	MN (%)	PMN (%)
mean	50.0	50.0	55.0	45.0	52.9	47.1	50.0	50.0	47.1	52.9
max	57.1	57.1	62.5	50.0	60.0	55.6	57.1	57.1	52.9	56.2
min	42.9	42.9	50.0	37.5	44.4	40.0	42.9	42.9	43.8	47.1
R	14.2	14.2	12.5	12.5	15.6	15.6	14.2	14.2	9.1	9.1
SD	5.02	5.02	5.27	5.27	5.94	5.94	5.69	5.69	3.60	3.60
CV (%)	10.0	10.0	9.6	11.7	11.2	12.6	11.4	11.4	7.6	6.8

大きく改良されていることが確認された。特に細胞数の低値域における再現性が良好であった。

### 3) 相関

日本臨床衛生検査技師会「髄液検査法 2002」<sup>5)</sup>に準じた目視法により、細胞数算定と細胞分類を行い、目視法と XN シリーズ、XE-5000 の細胞数と分画の相関を求めた。なお、目視法、XN シリーズ、XE-5000 の測定は、同時に実施した。結果については、以前に実施した検討結果<sup>4)</sup>に数件追加し、再度相関係数を算出した。目視法と自動血球分析装置の細胞数の相関は、XN シリーズでは  $y=0.86x+8.1$ ,  $r=0.950$ ,  $n=91$ , XE-5000 では

$y=1.05x - 3.4$ ,  $r=0.939$ ,  $n=75$  であった。細胞数が 100 個/μL 以下の検体における相関は、XN シリーズでは  $y=0.94x - 1.4$ ,  $r=0.961$ ,  $n=74$ , XE-5000 は  $y=0.82x+1.6$ ,  $r=0.903$ ,  $n=62$  であった(図 3)。単核球 (%) の相関は、XN シリーズでは  $y=0.94x - 5.1$ ,  $r=0.888$ ,  $n=82$ , XE-5000 では  $y=0.86x - 0.2$ ,  $r=0.857$ ,  $n=69$  であった。多核球 (%) の相関は、XN シリーズでは  $y=0.95x+11.4$ ,  $r=0.891$ ,  $n=82$ , XE-5000 では  $y=0.86x+14.3$ ,  $r=0.857$ ,  $n=69$  であった(図 4)。XN シリーズ、XE-5000 ともに目視法と良好な相関を示したが、一部のドレナージ検体などでは乖離が認められた。

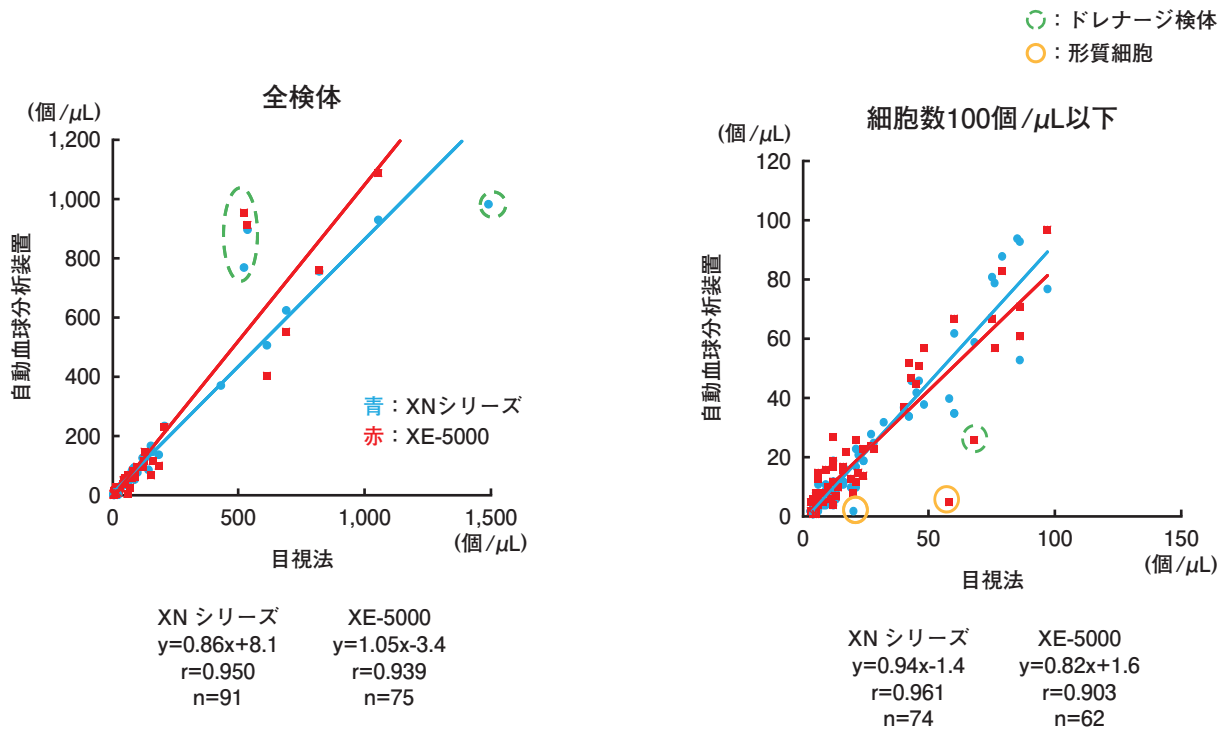


図3. 細胞数の相関  
文献4) より一部改変

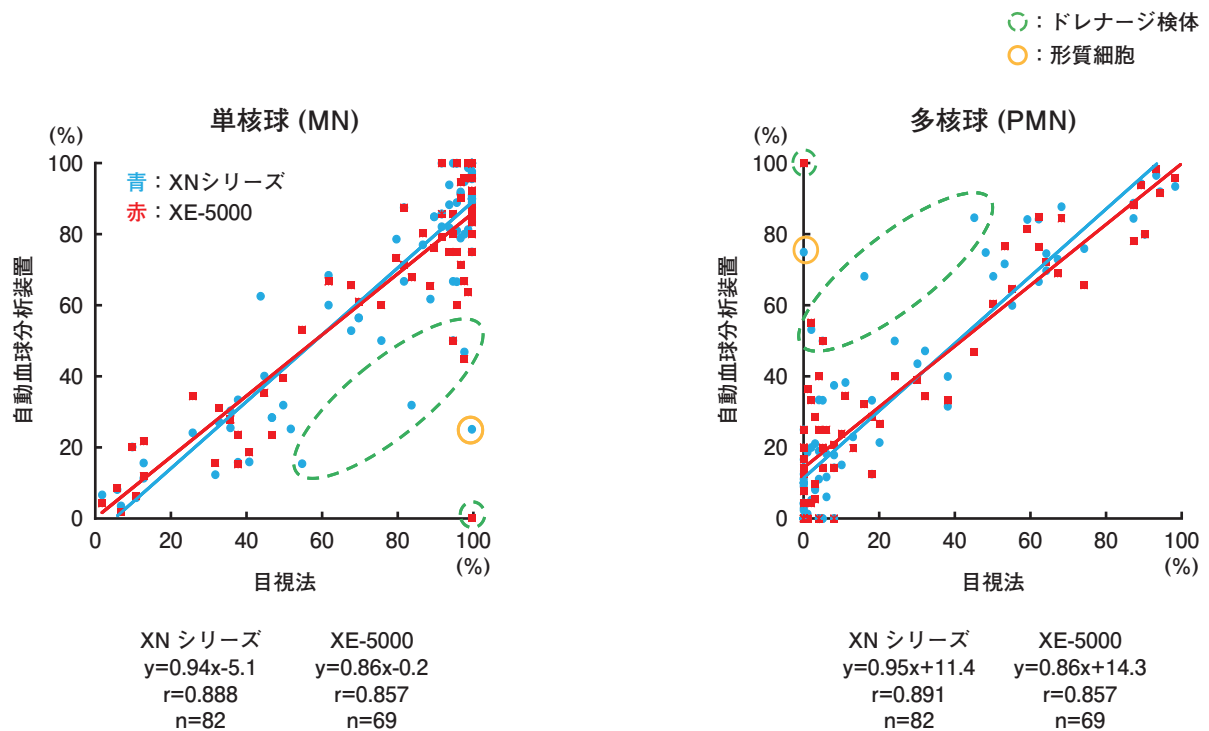


図4. 細胞分画の相関  
文献4) より一部改変

## 基礎的検討における考察

XN シリーズを用いた髄液検体測定の見直しを行った。髄液中の白血球数の基準値は  $5 \text{ 個}/\mu\text{L}$  以下であり<sup>5)</sup>、 $6 \sim 30 \text{ 個}/\mu\text{L}$  は細胞数の軽度増加と分類される。細胞数  $5 \text{ 個}/\mu\text{L}$  付近での目視法の CV 値は 20.0% 以上となることが知られているが<sup>6)</sup>、XN シリーズによる最小検出感度の検討結果では、細胞数の平均値が  $5 \text{ 個}/\mu\text{L}$  となった検体での CV 値は 20.0% となった<sup>4)</sup>。髄液検査での白血球数算定において、細胞数が基準値なのか軽度増加しているのかを正確に区別することは重要である。今回の検討結果から、XN シリーズは細胞数上限値付近において、目視法とほぼ同等の精度での測定が可能であると考えられた。

細胞数および細胞分画の相関については概ね良好な結果であったが、一部の検体で乖離が見られた。これらは、細胞の崩壊が認められるドレナージ検体や、HF-BF 領域に分類される細胞を有する検体であり、自動血球分析装置では測定に影響を及ぼすことが判明した。細胞数が目視法よりも低値を示す要因としては、崩壊した細胞が白血球として算定されないことや、形質細胞のような細胞が HF-BF に分類されるため白血球に含まれないことが考えられた。一方で目視法よりも高値を示す要因としては、ひとつ

の細胞が崩壊することで複数の細胞として算定されてしまう可能性が考えられた。細胞分画で乖離が見られたドレナージ検体では、目視法に比べて多核球の割合が増えていた。これらの崩壊した細胞は、サムソン染色を行うと核の融解や細胞質の崩壊が確認できた。同様の検体を自動血球分析装置で測定すると、スキャッタグラムのパターンに特徴が見られ、単核球が側方蛍光の低い領域にプロットされるため、単核球と多核球の境界が不明瞭となった(図5)。追加検討として、細胞崩壊前後での細胞数と細胞分画の変化を確認したところ、崩壊後では単核球の一部が多核球に算定されており、多核球の割合が増えていた。この結果は分画の相関で乖離したドレナージ検体と同様のパターンであった。理由としては、XN シリーズおよび XE-5000 の分画の測定法はフローサイトメトリー法であり、側方散乱光と側方蛍光の組み合わせで分類しているが、細胞の崩壊による核形の変化が内部構造を反映する側方散乱光に影響するため、正しい測定ができないことが示唆された。XE-5000 でのドレナージ検体における目視法と自動血球分析装置の測定結果の乖離については既に報告されており<sup>7)</sup>、今回の検討結果から、XN シリーズでの測定結果の乖離も同様の現象が原因と考えられた。

形質細胞などの異常細胞については、スキャッタグラムの HF-BF 領域にプロットされることが確認さ

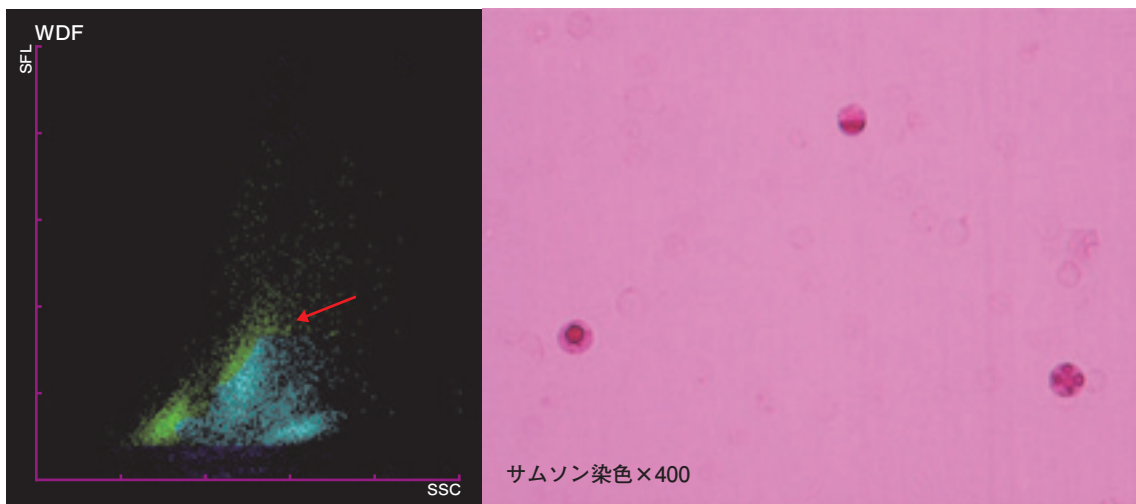


図5. ドレナージ検体中の崩壊細胞

れた(図6)。しかし、計算盤上で異常な細胞を認めても、スキャッタグラムでは確認できない検体も散見された。このことから、異常細胞が出現しても、その細胞数が少数の場合はHF-BF領域にはプロットされず、スキャッタグラムだけで確実に異常細胞を検出するのは困難であると考えられた。当院での日中の髄液検査業務には白血病細胞の検索も含むため、自動血球分析装置は用いず、目視法での検査を実施している。当院のように異常細胞の検出が髄液細胞数算定検査の目的のひとつである施設では、目視法による形態観察が必要不可欠であると考えられた。

## 当院における運用方法

### 1. 運用法

当院での髄液検査の運用は、平日の日常業務中は計算盤を用いた目視法で行い、夜間・休日検査では自動血球分析装置を用いて実施している。運用実績は、2008年から2013年3月までは夜間・休日検査にXE-5000を用いていたが、2013年4月より後継機種XNシリーズへ変更となった。夜間・休日時間帯の1ヵ月の検査件数は約20件程度である。

当院での髄液細胞の検査では、白血球数、単核球%、多核球%の結果を報告しており、これは目視法および自動血球分析装置ともに共通である。分析

結果としてリンパ球や好中球などの詳細な分類は表示されているが報告はしていない。白血球数は、0個/ $\mu\text{L}$ から上限値なしで報告しており、本装置の測定限界である10,000個/ $\mu\text{L}$ を超える検体に関しては、XNシリーズ専用希釈液であるセルパックDCLで希釈して再測定を実施している。白血球分画の報告は最小検出感度の検討結果より、細胞数10個/ $\mu\text{L}$ 以上の場合に報告とし、10個/ $\mu\text{L}$ 未満ではコメントに分画不能と入力し報告している。

### 2. 注意点

細胞数以外の理由で分画の報告ができない例としては、ドレナージ検体が挙げられる。ドレナージ検体などの細胞崩壊が考えられる場合は、検体の色調やスキャッタグラムの分離パターンを確認して分画報告不能なドレナージ検体であることを判断している。

また、HF-BF領域に細胞の出現が疑われる場合には、異常細胞の有無を判断する必要があるため、夜間においても可能な限り一般検査担当者が対応している。当院では白血球数の報告にWBC-BFの測定値を用いているため、HF-BFに分類される細胞の割合が多いほど報告する白血球数が偽低値を示してしまう可能性がある。XNシリーズには、施設ごとに設定したHF-BFの割合に基づいてWBC Abnormal Scattergramというメッセージを表示し、注意を喚起する機能が

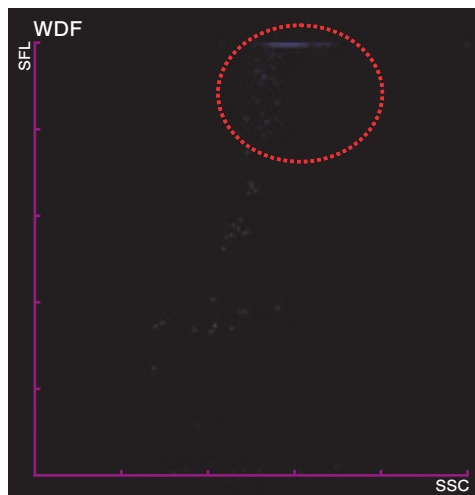


図6. 形質細胞を認めた1症例

搭載されている。この機能を活用し、検体によっては細胞数の報告値を TC-BF で行い、または、異常を示唆するメッセージが表示された場合には目視法で確認することが、HF-BF に多数の細胞が出現した場合の対処法として考えられる。異常細胞の検出だけでなく、このように正確な細胞数を報告するためにも、目視法で細胞形態を確認し、必要であれば担当医に細胞表面抗原解析や細胞診検査等の追加検査の依頼を促している。

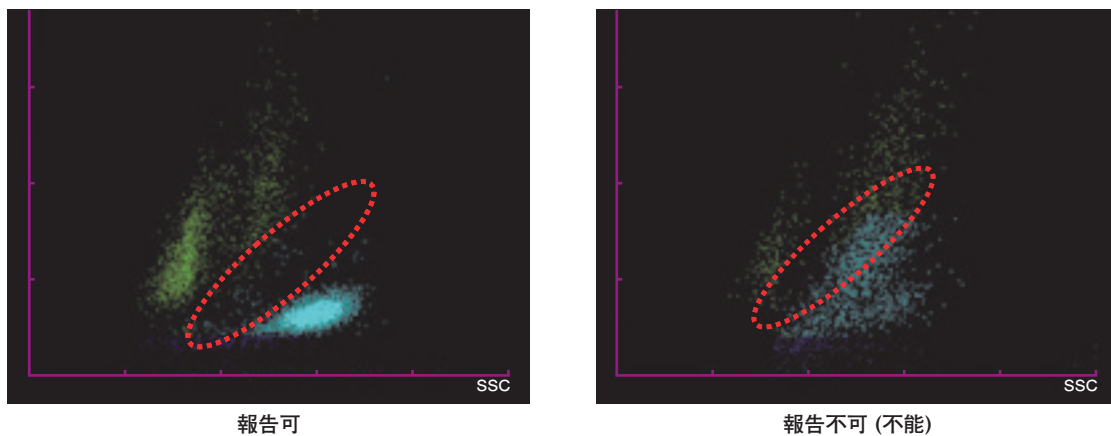
### 3. 変更点

今回の XN シリーズ導入にあたって、検討結果でも示している通り、XN シリーズでは細胞数低値域での分析精度が向上したため、分画を報告する細胞数の最低値を XE-5000 使用時は 20 個/μL 以上とされていたが、10 個/μL 以上に変更した。目視法で検査を行う場合には細胞数 7 個/μL 以上から分画を報告しており、XN シリーズを用いることによって夜間・休日の髄液検査でも、以前に比べ目視法に近い精度で検査結果を報告することが可能となった。

### 4. 教育

夜間・休日業務で自動血球分析装置を用いて髄液検査を行う技師の教育として、XE-5000 導入時から定期的に検査部内カンファランスで実際の測定データを交えて注意事項の確認を行っている。特に、本装置での検査結果を解釈するにあたって最も困難なことがスキャッタグラムの確認である。検討結果でも述べているように、ドレナージ検体や異常細胞を含む検体は、スキャッタグラムのパターンからある程度判断することが可能であるのだが、この判断には多少の経験を要する。そこで、正常なスキャッタグラムと異常であると考えられるスキャッタグラムを並べ、さらに、結果を報告するにあたっての注意事項をまとめた簡易マニュアルを常時閲覧可能な状態にしている（図 7）。検査を担当する全ての技師が円滑に本装置を使用できるように、以上のような定期的な教育の実施とわかりやすい指標の提示は必須であると考えられる。

髄液検査結果報告基準



\* スキャッタグラムのパターンが異常な場合 (右上図のように単核球と多核球の境界が不明瞭な場合) は分画報告不可のため、“不能”で報告

\* 細胞数 9個/μL以下の場合には分画報告不可のため、“不能”で報告

\* 細胞数 10,000個/μL以上の場合には、希釈して再検 (体液モード)

図 7. 当院で実際に使用している夜間・休日業務時注意点のまとめ

## 結 語

多項目自動血球分析装置 XN シリーズの導入にあたって髄液細胞算定の検討を行い、当院での運用方法を報告した。検討結果より本装置は従来機種に比べ、細胞数低値域における測定精度が向上していることが確認された。また、スキヤッタグラムを確認することで異常細胞の検出が可能となる例も確認された。

髄液検査は緊急性の高い場合も多く、あらゆる時間帯で曜日を問わずに対応し、正確な検査結果を報告することは、質の高い検査室を目指す上で重要である。性能を理解し、適切な運用法を確立することで、本装置は夜間・休日業務における迅速かつ精度の高い検査結果の報告を可能にすると考えられた。

## 参考文献

- 1) 竹村浩之 他. 自動血球分析装置を用いた脳脊髄液および体腔液中の細胞数算定と腫瘍細胞検出能. 臨床病理. 2010; 58: 559-564
- 2) 大田喜孝 他. 髄液一般検査の新たな展開. 検査と技術. 2003; 31: 793-800
- 3) 山西八郎 他. 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. Sysmex Journal, 2010; 33: 15-21
- 4) 久末崇司 他. 多項目自動血球分析装置 XN-2000 による髄液細胞算定の検討. 日本臨床検査自動化学会誌. 2013; 38: 346-351
- 5) 社団法人日本臨床衛生検査技師会髄液検査法編集ワーキンググループ. 髄液検査法 2002. 東広社; 東京. 2002; 28-30
- 6) Boer K et al. Evaluation of the XE-5000 for the automated analysis of blood cells in cerebrospinal fluid. Clin Biochem. 2009; 42: 684-691
- 7) 田中雅美 他. 多項目自動血球分析装置 XE-5000 による髄液測定. Sysmex Journal, 2008; 31: 38-44