

# 多項目自動血球分析装置 XN-550 における 体腔液モードの性能評価

## — 髄液、関節液細胞数算定の運用条件における留意点 —

田中 雅美, 宿谷 賢一, 森田 賢史,  
影山 祐子, 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)

### 要 旨

髄液・関節液検体を用いて、多項目自動血球分析装置 XN-550 (以下、XN-550：シスメックス社) の体腔液モードの性能評価を行った。髄液の目視法との相関では、白血球数、単核球数、多形核球数で相関係数  $r=0.952$  以上と概ね良好であったが、変性した細胞を有するドレナージ検体では目視法と乖離を認めた。多項目自動血球分析装置 XN-9000 (シスメックス社) との相関では、白血球数、単核球数、多形核球数で相関係数  $r=0.979$  以上と良好であった。関節液の目視法との相関では、白血球数、単核球数、多形核球数で相関係数  $r=0.911$  以上と概ね良好であった。XN-550 の体腔液モードは、運用条件を設けることにより休日・夜間の時間外検査に有用であると考えられた。

**キーワード** 髄液、関節液、自動血球分析装置、XN-550、白血球数

### はじめに

髄液の細胞数算定検査は、髄膜炎や脳炎などの中枢神経系疾患の診断に必須の検査である<sup>1)</sup>。また、関節液の細胞数算定検査は、炎症性疾患の診断などに重要である。髄液と関節液の細胞数算定検査は、従来から計算盤を用いた目視法が主流である。しかし、休日・夜間の時間帯のみ検査する臨床検査技師にとって、目視法の検査は苦慮するが多い。

近年、血液自動分析装置において髄液・体腔液などの細胞数算定が可能な装置が開発され、休日・夜間の時間外検査で使用する施設が増えてきている<sup>2,3)</sup>。

多項目自動血球分析装置 XN-550 (以下、XN-550：シスメックス社) は、クリニックや小規模病院向けに開発された小型の装置で、体腔液モードが搭載されている。本装置の体腔液モードを用いた髄液と関節液の細胞数算定の性能評価および、関節液のヒアルロニダーゼ添加の影響について検討を行ったので報告する。

### 試料および方法

#### 1. 試料

東京大学医学部附属病院検査部に提出された髄液・関節液の検査済みの検体を使用した。なお、本研究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、シスメックス社と受託研究契約を結び実施した。

#### 2. 装置

検討装置は、XN-550 を使用した。測定原理は、半導体レーザーによるフローサイトメトリー法である。細胞にレーザーを照射して、前方散乱光 (細胞の大きさ)、側方散乱光 (細胞の内部構造)、側方蛍光 (細胞の核酸量) の情報から細胞のカウント、分画を行っている (図 1)。

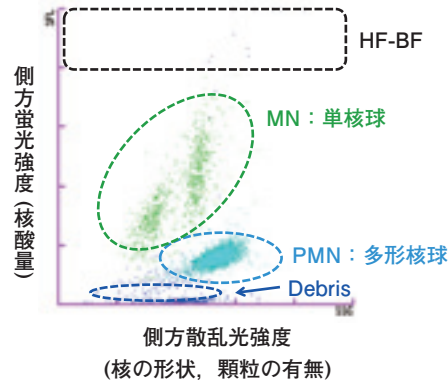


図1. 体腔液モードのスカッタグラム

### 3. 方法

#### 1) 再現性

同時再現性は2濃度の専用コントロール(XN CHECK BF レベル1, 2)を用いて, 各10回連続測定を行った. 日差再現性は同時再現性と同様のコントロールを用いて, 1日1回, 20日間測定を行った.

#### 2) 関節液のヒアルロニダーゼ添加の影響

関節液の粘稠性を取り除く目的で使用されるヒアルロニダーゼの添加による影響を検討した. ヒアルロニダーゼ(SIGMA社)は生理食塩水で溶解して, 0, 200, 400, 1,200, 1,600単位/mLの希釈系列を作製した. EDTA-2K添加の末梢血を生理食塩水で希釈し, 試料を作製した. 試料1mLに各濃度のヒアルロニダーゼ溶解液1mLをそれぞれ混合後, 3重測定を行い, 平均値を算出した.

#### 3) 相関

髄液は, 髄液検査技術教本<sup>4)</sup>に準じた目視法および体腔液モードが搭載された多項目自動血球分析装置XN-9000(以下, XN-9000:シスメックス社)との白血球数, 単核球数, 多形核球数の相関を求めた.

関節液は, Burker-Turk 計算盤を用いた目視法との白血球数, 単核球数, 多形核球数の相関を求めた. 粘稠性(ねんちゅうせい)のある関節液は, 生理食塩水で溶解した100単位/mLのヒアルロニダーゼ溶液と等量混合後, 粘稠性がないことを確認して測定した. また, 白血球高値検体は生理食塩水で希釈して測定した.

## 結果

### 1. 再現性

同時再現性における白血球数(WBC-BF), 単核球数(MN#), 多形核球数(PMN#)のCV値(%)は, レベル1(低濃度領域)で4.4~8.1%, レベル2(中濃度領域)で3.1~5.7%であった. 日差再現性の各項目のCV値(%)は, レベル1(低濃度領域)で3.7~7.5%, レベル2(中濃度領域)で2.2~3.4%であった(表1).

### 2. 関節液のヒアルロニダーゼ添加の影響

末梢血を希釈した試料にヒアルロニダーゼ(0, 100, 200, 400, 800単位/mL)を添加した結果, 白血球数, 分画, スカッタグラム, 顕微鏡で形態像を確認したが変化はなかった(図2).

### 3. 相関性

#### 1) 髄液

全検体を対象(n=88)とした目視法とXN-550との相関係数は, 白血球数 $r=0.996$ , 単核球数 $r=0.992$ , 多形核球数 $r=0.952$ であった. 白血球数100/ $\mu$ L未満を対象(n=56)とした相関係数は, 白血球数 $r=0.962$ , 単核球数 $r=0.958$ , 多形核球数 $r=0.981$ と概ね良好であった. しかし, 白血球数, 分画において一部乖離した検体が認められた(図3). 全検体を対象(n=73)としたXN-9000とXN-550との相関係数は, 白血球数 $r=0.999$ , 単核球数 $r=0.994$ , 多形核球数 $r=0.998$ であった. 白血

表1. 再現性

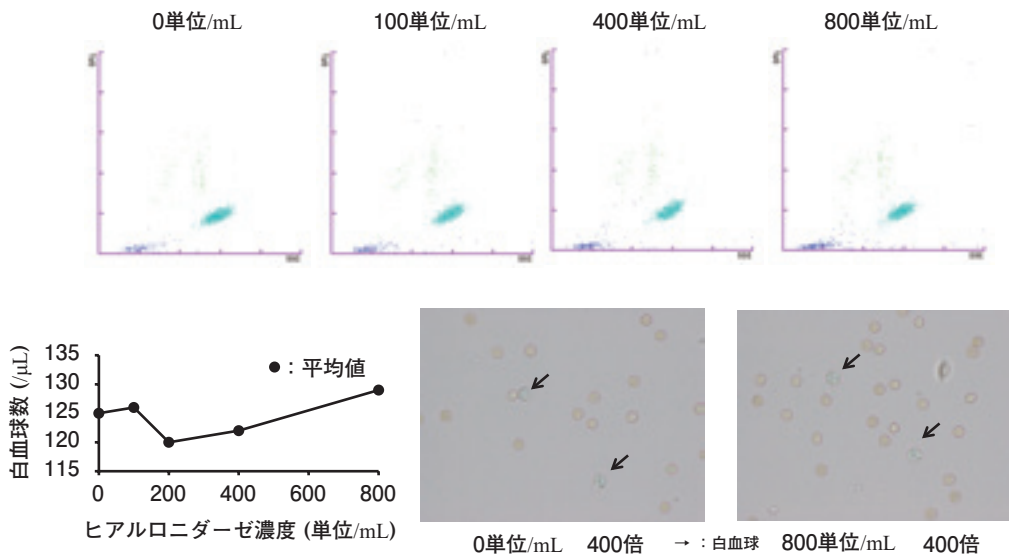
同時再現性 (n=10)

/μL	XN CHECK BF レベル1 (低濃度)			XN CHECK BF レベル2 (中濃度)		
	WBC-BF (白血球数)	MN# (単核球数)	PMN# (多形核球数)	WBC-BF (白血球数)	MN# (単核球数)	PMN# (多形核球数)
MEAN	84.6	29.0	55.6	326.2	109.0	217.0
Min	79.0	26.0	50.0	309.0	99.0	198.0
Max	92.0	34.0	61.0	343.0	118.0	225.0
Range	13.0	8.0	11.0	34.0	19.0	27.0
SD	3.75	2.36	3.60	10.18	6.25	85.5
CV (%)	4.4	8.1	6.5	3.1	5.7	3.9

日差再現性 (n=20)

/μL	XN CHECK BF レベル1 (低濃度)			XN CHECK BF レベル2 (中濃度)		
	WBC-BF (白血球数)	MN# (単核球数)	PMN# (多形核球数)	WBC-BF (白血球数)	MN# (単核球数)	PMN# (多形核球数)
MEAN	85.5	28.8	56.8	329.5	111.2	218.3
Min	79.0	25.0	53.0	316.0	105.0	207.0
Max	91.0	33.0	60.0	341.0	118.0	233.0
Range	12.0	8.0	7.0	25.0	13.0	26.0
SD	3.19	2.15	2.45	7.17	3.82	6.76
CV (%)	3.7	7.5	4.3	2.2	3.4	3.1

ヒアルロニダーゼ添加濃度



\* 試料1 mLに各濃度のヒアルロニダーゼ溶液1 mLを添加

図2. ヒアルロニダーゼ添加の影響

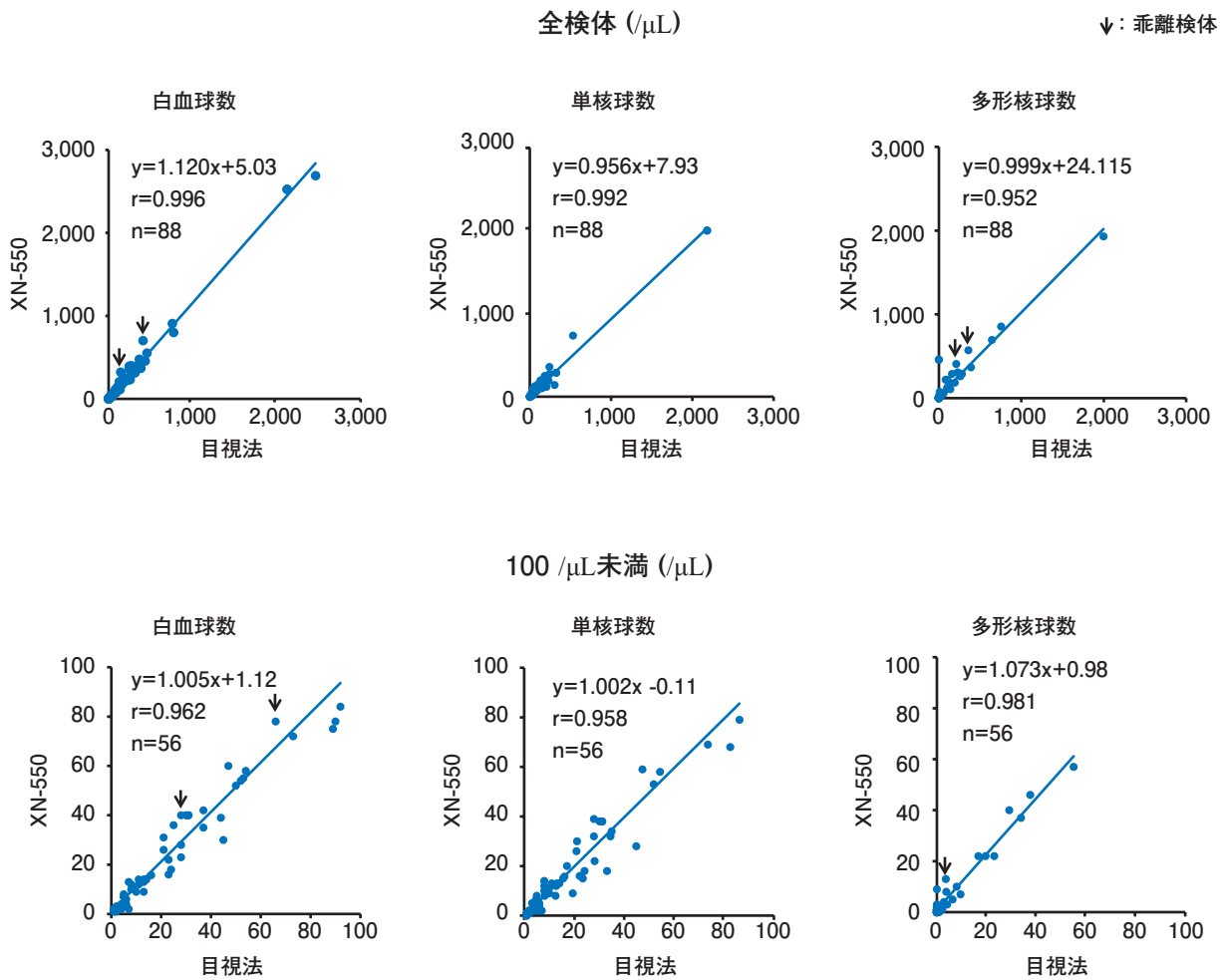


図3. 髄液 目視法とXN-550との相関

球数 100  $\mu\text{L}$  未満を対象 (n=52) とした相関係数は、白血球数  $r=0.985$ 、単核球数  $r=0.979$ 、多形核球数  $r=0.989$  と良好であった (図4)。

目視法と乖離した検体は、XN-550、XN-9000 ともにほぼ同様の結果であった。乖離した検体のサムソン染色の形態像は、細胞断片、核が融解した細胞、裸核の細胞などの変性細胞を多く認めたドレナージ検体であった。スクアッタグラムは、Debris、単核球、多形核球のクラスターが重なり合う (○部) パターン (図5) であった。このようなパターンは、目視法に比べて白血球数や多形核球数が高値傾向であった。

悪性リンパ腫のスクアッタグラムは、単核球領域から HF-BF 領域まで直線状に伸びているパターンであった (図6)。サムソン染色の形態像は、リ

ンパ球より大きい単核球で、N/C 比大、核小体が目立つ細胞であった。メイ・ギムザ染色では、細胞は大型、細胞質は好塩基性で、核網は粗剛、核小体が明瞭であった。

## 2) 関節液

全検体を対象 (n=19) とした目視法と XN-550 との相関係数は、白血球数  $r=0.977$ 、単核球数  $r=0.911$ 、多形核球数  $r=0.957$  であった。細胞数 5,000  $\mu\text{L}$  未満を対象 (n=11) とした相関係数は、白血球数  $r=0.992$ 、単核球数  $r=0.976$ 、多形核球数  $r=0.993$  と概ね良好であった (図7)。

図8の症例は、Debris から白血球領域 (○部) にかけて多数プロットされているパターンであった。目視法で細胞像を確認すると多数の好中球と変性細胞、組織球を認めた。

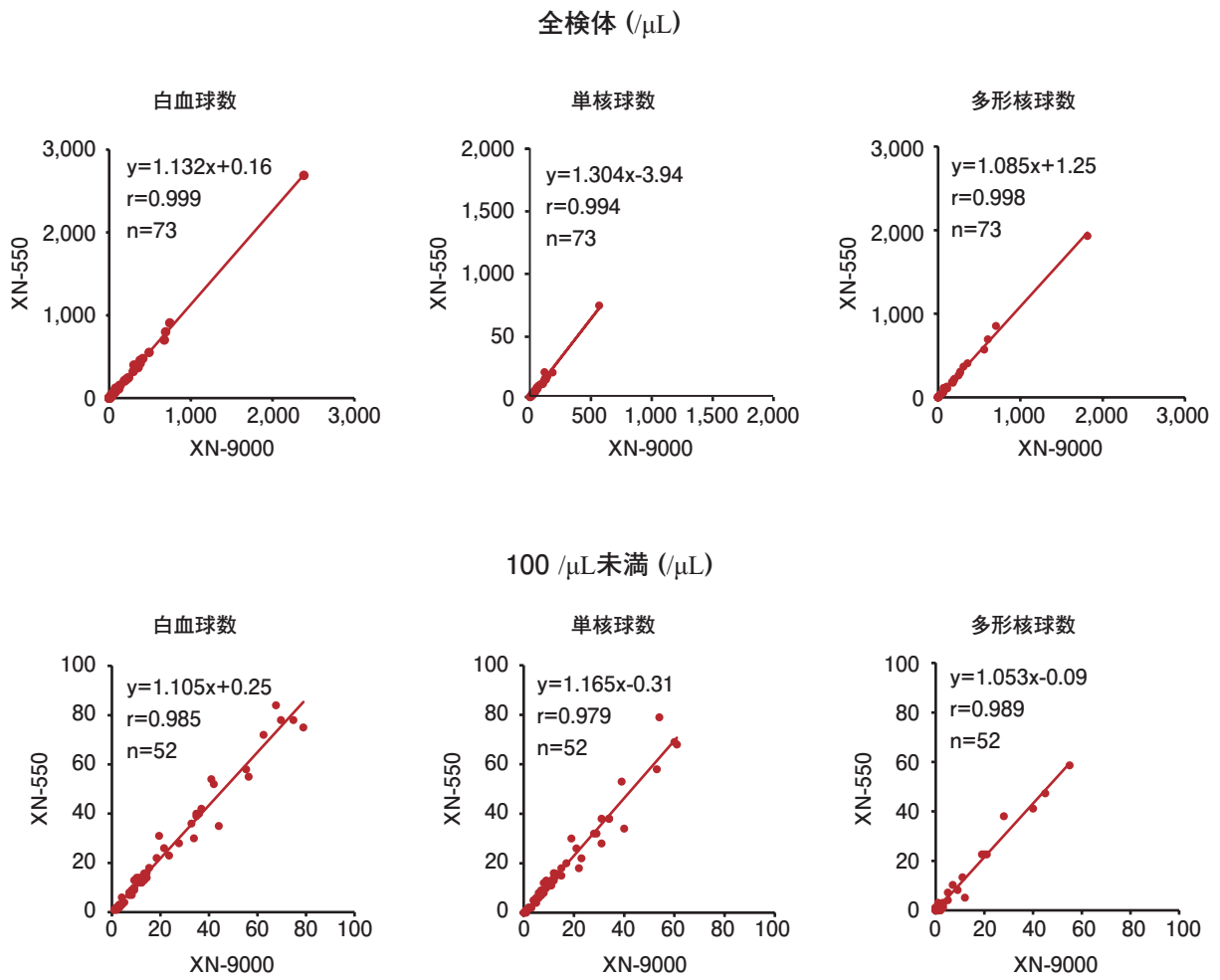


図4. 髄液 XN-9000 と XN-550 との相関

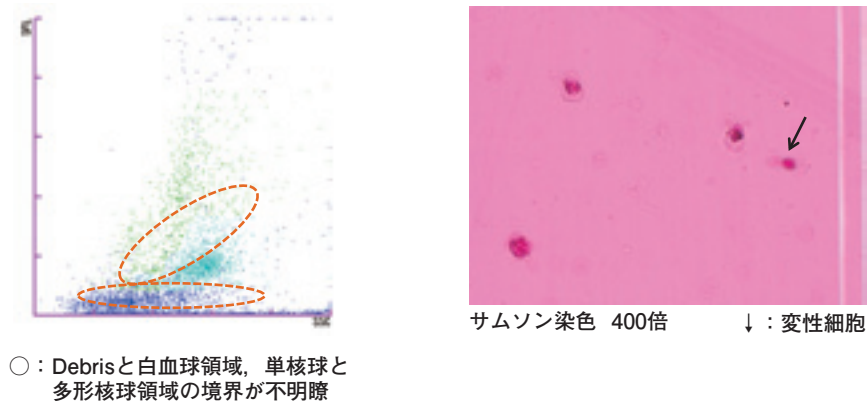


図5. 目視と乖離した検体

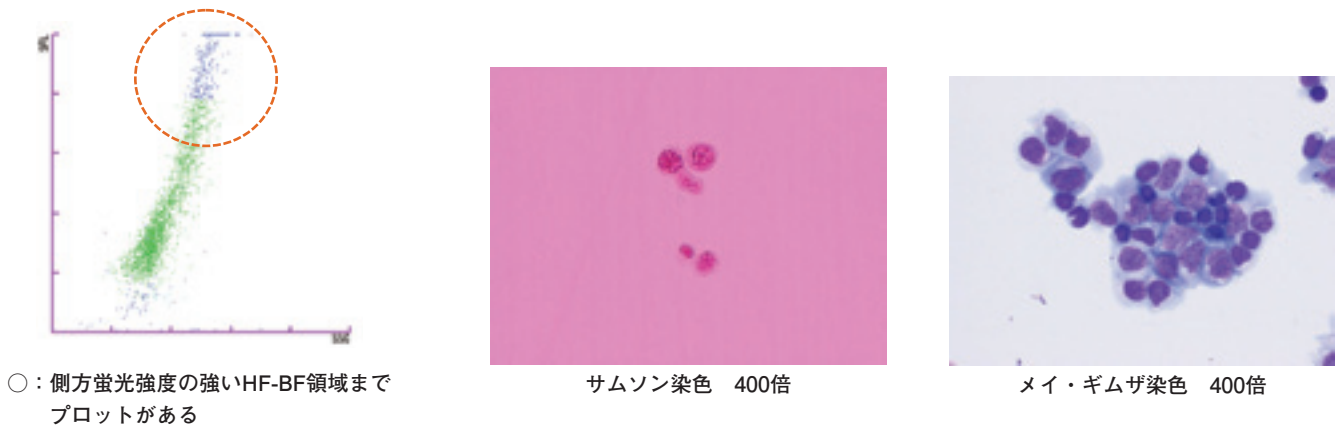


図6. 悪性リンパ腫の症例

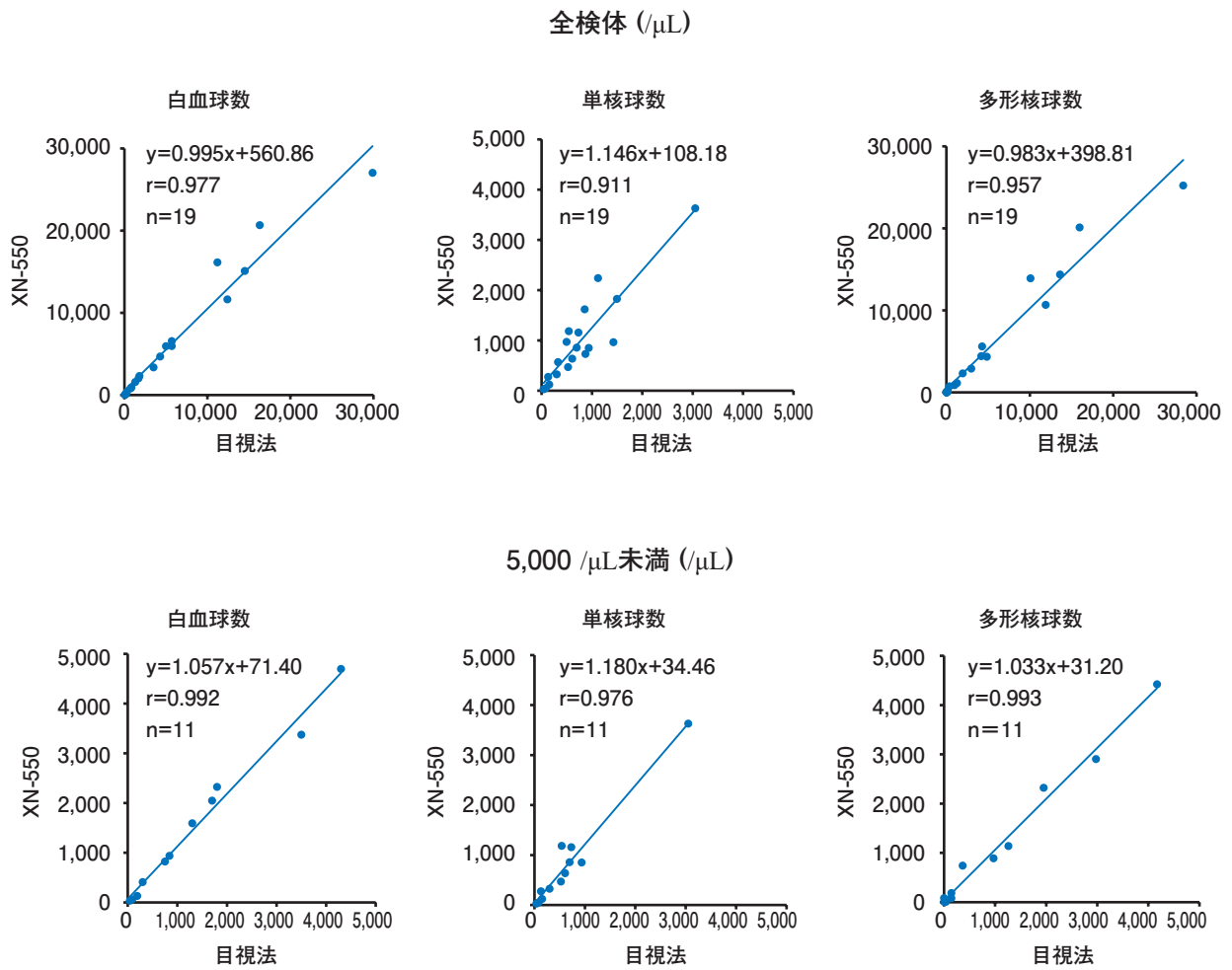


図7. 関節液 目視法とXN-550との相関関係

## 考 察

XN-550 の髄液・関節液を用いた体腔液モードの性能評価を行った。同時・日差再現性は、白血球数、単核球数、多形核球数ともに CV 10 % 以下であった。以前、著者らが最小検出感度を検討した結果<sup>5)</sup>、白血球数 2 / $\mu$ L と良好な結果であった。

髄液の相関性では、白血球数、単核球数、多形核球数の目視法との相関は、相関係数  $r=0.952 \sim 0.996$  と良好な結果であったが、乖離を認めた検体もあった。白血球数、単核球数、多形核球数の XN-9000 との相関係数は、 $r=0.979 \sim 0.999$  と良好であった。目視と乖離した検体は、黄色～赤色調を呈したドレナージ検体で、細胞断片などの変性細胞を多く認めた。乖離検体のスキヤッタグラムは、Debris と白血球領域のクラスターが重なり境界が不明瞭になっているパターン、あるいは、単核球と多形核球のクラスターが重なり境界が不明瞭になっているパターンを呈し、変性細胞がクラスターの境界部分にプロットされると考えられた<sup>6,7)</sup>。Debris と白血球領域の境界が不明瞭なパターンは白血球数に影響があり、単核球と多形核球領域の境界が不明瞭なパターンは分画に影響があると考えられた。

HF-BF 領域は、核酸量の多い異型細胞（悪性リンパ腫細胞や白血病細胞など）、組織球などがプロットされる<sup>8,9)</sup>。悪性リンパ腫細胞はスキヤッタグラムにおいて、単核球領域から側方蛍光強度の強い HF-BF 領域まで直線状に伸びるパターンを呈した。ALL や AML-M1 の症例も同様なパターンを呈した。このことから、**図6**のようなパターンの時には、異型細胞の可能性があるので、塗抹標本での確認が必要である。また、HF-BF 領域は、白血球数にカウントされないため、検体によっては TC-BF 値 (HF-BF+WBC-BF) を報告することが望ましいと考えた。しかし、同じ測定原理の XN-9000 において悪性リンパ腫細胞が、HF-BF 領域にプロットされない症例を経験したことを考えると、XN-550 も同様に HF-BF 領域に出現しない悪性リンパ腫細胞や白血病細胞があると推察され、スキヤッタグラムのパターンからすべての異型細胞を検出することは困難と思われた。

関節液の細胞数算定時は粘稠性を取り除き、装置

の詰りの危険性を回避する必要がある。粘稠性を取り除く目的で添加されるヒアルロニダーゼ添加の影響を調べた結果、0～800 単位/mL まで、白血球数、スキヤッタグラムのパターンに変化は認められず、添加濃度による影響がないことが確認された。Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の Body Fluid Analysis for Cellular Composition ; Approved Guideline<sup>10)</sup> では、関節液 1 mL につき、ヒアルロニダーゼ 400 単位を添加すると記載されているが、国内ではガイドラインがなく文献<sup>11-13)</sup> によって異なるため、今後標準化が望まれる。

関節液の相関では、白血球数、単核球数、多形核球数の目視法との相関は、相関係数  $r=0.911 \sim 0.993$  と概ね良好な結果で、保科らの報告<sup>14)</sup> とほぼ同様の結果であった。**図8**のスキヤッタグラムのパターンは、Debris から多形核球領域に多数のプロットと HF-BF 領域にプロットがあった。検体は多数の好中球と変性細胞を有する検体で、これらの細胞が Debris から多形核球領域 (○部) にプロットされ、HF-BF 領域のプロットは組織球によるものと考えられた。本症例は、膝関節の腫脹で関節液検査が施行され、ピロリン酸カルシウム結晶も検出されたことから、偽痛風症が疑われた。今回の検討では目視法との乖離はないが、髄液の検討結果を加味すると、クラスターが重なり合うパターンの場合は、目視法による確認が望ましい。今後は、相関の対象検体数が少ないため、継続してデータの収集を行い、さらなる検証が必要と考えた。

XN-550 の髄液・関節液細胞数算定では、白血球数、分画ともに目視法との相関は良好であった。しかし、スキヤッタグラムでクラスターが重なり合うパターンでは、目視法と乖離することもある。また、HF-BF 領域のプロットは異型細胞や組織球などがプロットされることがあり、結果の解釈には注意が必要である。休日・夜間の時間外検査のみ実施する検査技師に対して、スキヤッタグラムの判定の教育は必須である<sup>15)</sup>。測定結果に信頼性のある正常パターンと信頼性に欠ける異常パターンの違いを理解するために、**図9**のような簡易模式図と実際のスキヤッタグラムを提示し、鑑別のポイントが理解しやすいように工夫する必要がある。以上の結果から、XN-550 は運用条件を設ければ、休日・夜間の時間外検査で有用であると考えた。

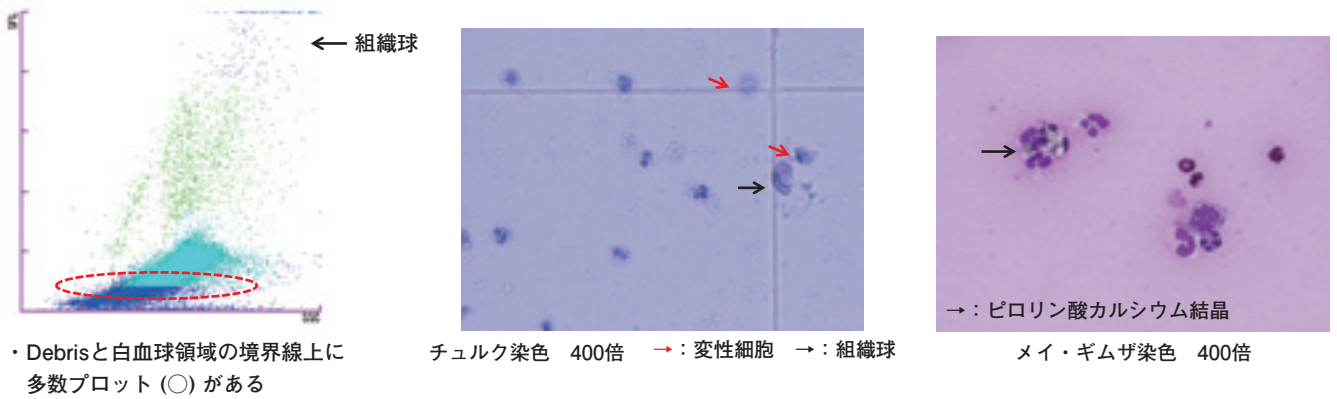


図8. 関節液

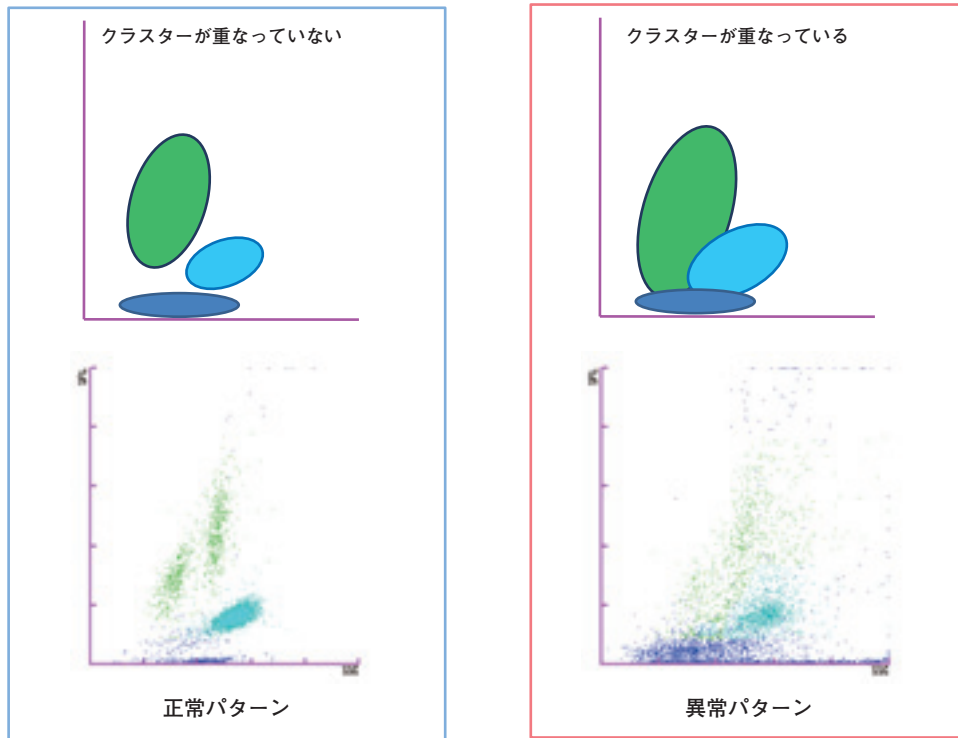


図9. 教育スライドの例

## 結 語

XN-550 による髄液・関節液細胞数算定検査の検討をした結果、再現性、目視法との相関性は良好であった。使用にあたっては、測定結果だけでなく検

体の性状やスキッタグラムのパターンを確認するなどの運用法を確立する必要がある。本装置は、操作が簡便で不特定多数のスタッフが検査を実施する休日・夜間の時間外検査で有用であると考えた。



## 参考文献

- 1) Seehusen DA, Reeves MM, Fomin DA. Cerebrospinal analysis. *Am Fam Physician*. 2003; **68** (6): 1103-1108.
- 2) 今井重良 他. 多項目自動分析装置 XE-5000 を用いた脳脊髄液・体腔液測定の検討. *日本臨床検査自動化学会*. 2010; **35** (2): 230-253.
- 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性能評価. *Sysmex Journal*. 2010; **11**: 1-8.
- 4) 社団法人日本臨床検査技師会髄液検査技術教本編集委員会. 髄液検査技術教本. 東京: 丸善出版; 2015. 31-34
- 5) 田中雅美 他. 多項目自動分析装置 XN-550 を用いた髄液細胞算定の基礎的検討. *医学検査*. 2015; **64** (6): 749-754.
- 6) 久末崇司 他. 多項目自動分析装置 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会誌*. 2013; **38** (3): 346-351.
- 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.
- 8) 矢野美由紀 他. 多項目自動血球分析装置 XE-5000 による体腔液測定の検討. *日本臨床血液検査学会誌*. 2010; **11** (3): 308-314.
- 9) 中沢渚 他. 多項目自動血球分析装置 XN-2000 における体腔・穿刺液測定モードの基礎的性能評価. *Sysmex Journal*. 2012; **31**: 1-13.
- 10) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Body Fluid Analysis for Cellular Composition; Approved Guideline*. CLSI Document H56-A. CLSI Wayne, PA, 2006
- 11) 奥村伸生. 臨床検査法提要. 東京: 金原出版株式会社; 2010. 166-167.
- 12) 稲垣精剛 稲垣勇夫. 穿刺液細胞アトラス. 東京: 医歯薬出版株式会社; 1994. 29-36.
- 13) 保科ひづる. 穿刺液検査 (胸水・腹水・関節液). *検査と技術*. 2014; **42** (12): 1318-1326.
- 14) 保科ひづる 他. 多項目自動血球分析装置 XE-5000 による関節液測定の試み. *日本医学検査学会第 45 回大会抄録集*. 2013; **38**: 553.
- 15) 久末崇司 他. 当院の夜間・休日における血液自動分析装置による髄液細胞算定の運用法. *Sysmex Journal*. 2014; **15**: 1-8.

# Performance Evaluation of the Body Cavity Fluid Mode of Automated Hematology Analyzer XN-550 - Considerations for Operational Conditions for Cell Counting with Cerebrospinal and Synovial Fluids -

Masami TANAKA, Ken-ichi SHUKUYA, Yoshifumi MORITA,  
Yuko KAGEYAMA, Shigeo OKUBO, Tatsuo SHIMOSAWA and Yutaka YATOMI

Department of Clinical Laboratory, The University of Tokyo Hospital, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655

## SUMMARY

---

The performance of the body cavity fluid mode of Automated Hematology Analyzer XN-550 (XN-550; Sysmex Corporation) was evaluated using cerebrospinal and synovial fluid samples. Correlations with the visual examination of cerebrospinal fluid were generally high for white blood, mononuclear, and polymorphonuclear cell counts (correlation coefficients:  $r = >0.952$ ). Drainage samples containing degenerative cells deviated from the visual examination. Correlations with Automated Hematology Analyzer XN-9000 (Sysmex Corporation) were high for white blood, mononuclear, and polymorphonuclear cell counts (correlation coefficients:  $r = >0.979$ ). Correlations with the visual examination of synovial fluid were generally high for white blood, mononuclear, and polymorphonuclear cell counts (correlation coefficients:  $r = >0.911$ ). The body cavity fluid mode of XN-550 may become useful for tests on holidays and at night by setting operational conditions.

**Key Words** Cerebrospinal Fluid, Synovial Fluid, Automated Hematology Analyzer, XN-550, White Blood Cell Count

---