

血液臨床医が期待する自動血球分析装置の機能

跡上 直^{*1}，上平 憲^{*2}

*1 長崎市立病院成人病センター 内科：長崎市湍町 20-5 (〒852-8012)

*2 長崎大学医学部・歯学部附属病院検査部

SUMMARY

自動血球分析装置が提示するパラメータの解析が、貧血や炎症といった日頃よく目にする疾患の病態把握に活用できるかを検討した。

実例として、貧血に対しては赤血球容積ヒストグラムの時系列解析やRETチャンネルを用いた血球のサイズ比較により赤血球造血の質的変動を早期にとらえることが可能であること、さらに、麻疹や肝炎に伴う白血球(リンパ球)の相対的な核酸量変化も容易に推定することなどが出来ることを示した。今後、自動血球分析装置に埋もれている多くの検査情報をより使い易くする検査部門の努力とそれら情報を臨床医が積極的に活用することが望まれる。

Key Words 血球分析装置，ヒストグラム，スキャッタグラム

はじめに

CBC(Complete Blood Cell Count)に代表される血液検査は、検体検査分野の中でも比較的早くから自動化、システム化が進んでいる分野である。近年開発された自動血球分析装置は技術的な進歩を遂げ、CBC8項目以外にも白血球5分類、網状赤血球計数、有核赤血球計数¹⁾、及び幼若顆粒球計数²⁾までも行う。さらに、それら計数データ以外にも、ヒストグラムやスキャッタグラムなど計量的パラメータも提示しており、豊富な検査情報を提供している。一方、データを使用する側の臨床医は血球計数項目の情報のみを扱う傾向があり、血球分析装置が算出しているヒストグラムやスキャッタグラムなどは定常的に利用されていない。本稿では、多項目自動血球分析

装置XE-2100(シスメックス(株)社)で提示されるパラメータ³⁾のうち、赤血球粒度分布、RETチャンネルスキャッタグラム、DIFFチャンネルスキャッタグラムを使って各種血液疾患に関する活用例を挙げ、その有用性について述べる。

血球分析装置で提示されるパラメータ

血球分析装置の測定原理として、電気抵抗法³⁾と光学法⁴⁾の2法が挙げられる。電気抵抗法では、希釈された一つ一つの細胞が細孔を通過する際の抵抗(電圧)の変化を電気信号の大きさに変換することによって細胞数と細胞容積を求めることができる。細胞容

積を横軸に、細胞数を縦軸にとった粒度分布により、容積と細胞数(比率)の関係が示される。光学法では、レーザー光を照射したフローセルに細胞を通過させ、その際得られる散乱光、蛍光を最終的に電気信号の大きさ情報に変換することによって、各細胞の情報を得ている。光学法で使用されるパラメータのうち、前方散乱光は相対的な細胞の大きさ、側方散乱光は顆粒等細胞内部の複雑さをあらわす。蛍光は核酸(DNA/RNA)染色による核酸量の解析や免疫染色による細胞表面抗原の解析等に用いられる。

XE-2100は電気抵抗法と光学法の測定チャンネルを有している(表1)。赤血球は電気抵抗法で計数し粒度分布も提示する。網状赤血球、白血球は光学法で測定し、分類のスカッタグラムも提示する。血小板は電気抵抗法で測定しているが、網状赤血球同時測定の場合、光学法でも測定しデータの信頼性を高めている⁵⁾。

赤血球粒度分布の活用

時系列的な赤血球粒度分布解析が有用であった症例を示す。図1は悪性貧血に鉄欠乏性貧血が隠れていた症例のヘモグラム(図1a)である。初診時、汎血球減少とLDH上昇を認め、MCVは130fLを越えており、骨髓像から悪性貧血と診断した。治療後の変化として、ビタミンB₁₂の筋注に伴うHgb及び赤血球数の増加、LDHの低下を認めたが、入院4週目に貧血

の回復が停止した。鉄関連指標の検査を行ったところ、典型的な鉄欠乏性貧血が疑われたので鉄剤を投与し、その後順調な回復が得られた。この症例の赤血球の粒度分布の経時変化を図1bに示した。ここで本症例の赤血球ヒストグラムの容積を便宜上、6つの部分に分け(図2a)、各大きさの赤血球数を経時的に解析した(図2b)。ビタミンB₁₂製剤の筋注開始後は100fL以下の赤血球は継続的に増加し、しばらくは貧血の治療効果が順調に認められた。しかし入院4週目になると、貧血の回復が停止すると共に80~100fLの正球性赤血球の増加が完全に停止しているのが確認された。これは鉄剤投与開始後に再び急速な増加傾向を示し、貧血からの回復に繋がった。このように赤血球容積ヒストグラムを時系列で解析することにより、赤血球の質的変動を客観的に観察でき、貧血の病態を把握する有用な手法となることを示している。

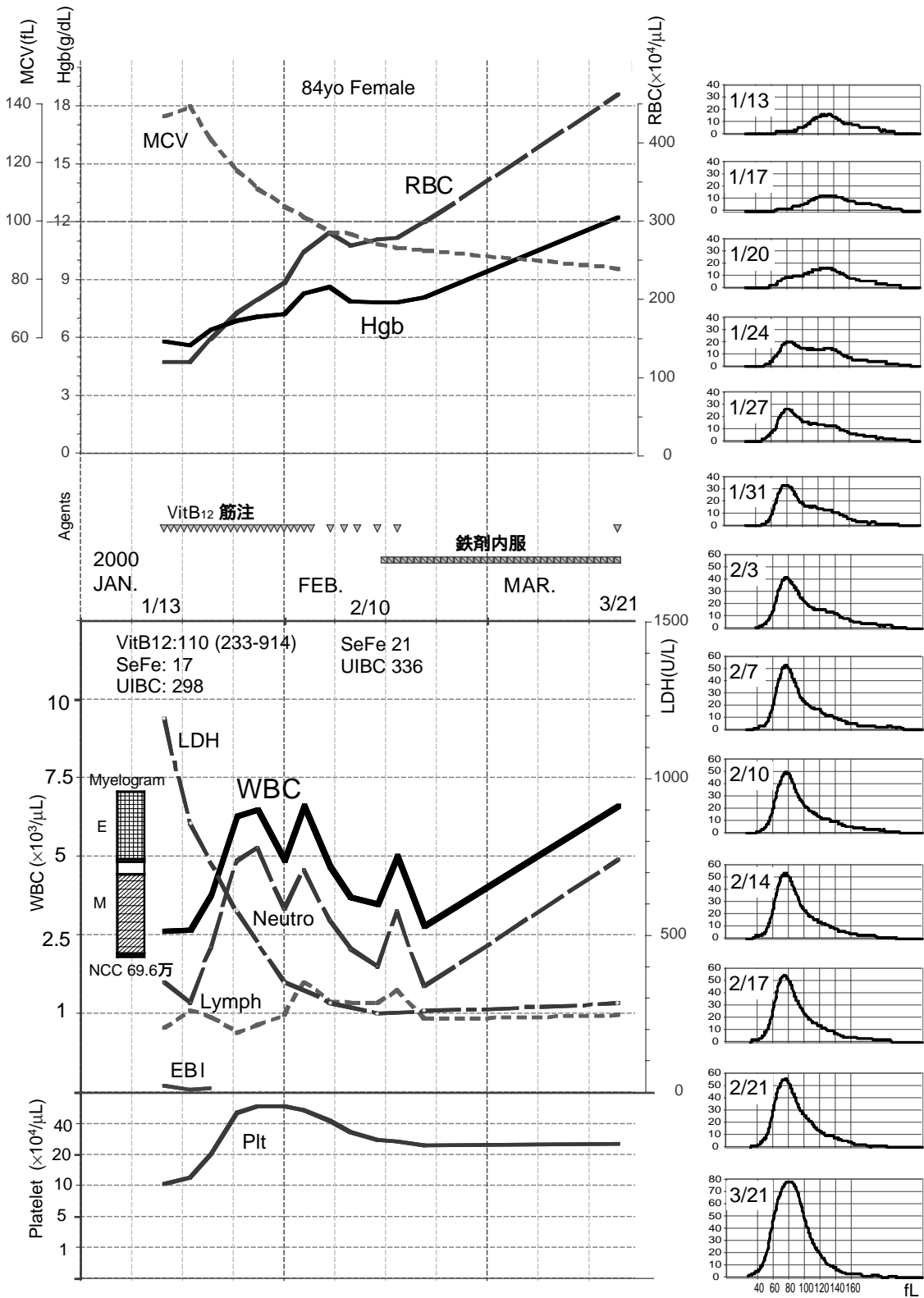
RETチャンネルの活用

次に、XE-2100のRETチャンネルによる時系列的な解析が赤血球系疾患の病態把握に有用であった症例を示す。図3は鉄欠乏性貧血の一例におけるRETチャンネルと赤血球粒度分布の経時変化を示している。本例は、初診時、Hgb4.3g/dL、MCV64fLという典型的な小球性貧血であった。この症例を赤血球粒度分布で見ると、鉄剤による治療開始2日後では変

表1. XE-2100の測定項目と測定原理

| 項目 | 測定原理 | |
|------------|---------------|-----------------------------------|
| 赤血球 | 電気抵抗法 | RBC ヒストグラム |
| 網状赤血球 | 光学法 | RET スカッタグラム (前方散乱光 vs 蛍光) |
| 有核赤血球 | 光学法 | NRBC スカッタグラム (前方散乱光 vs 蛍光) |
| 血小板 | 電気抵抗法 | PLT ヒストグラム |
| | 光学法 | PLT-O スカッタグラム (前方散乱光 vs 蛍光) |
| 白血球 (BASO) | 光学法 | WBC/BASO スカッタグラム (前方散乱光 vs 側方散乱光) |
| 白血球 (DIFF) | 光学法 | DIFF スカッタグラム (蛍光 vs 側方散乱光) |
| 白血球 (IMI) | 電気抵抗法 (RF/DC) | IMI- スカッタグラム (RF vs DC) |

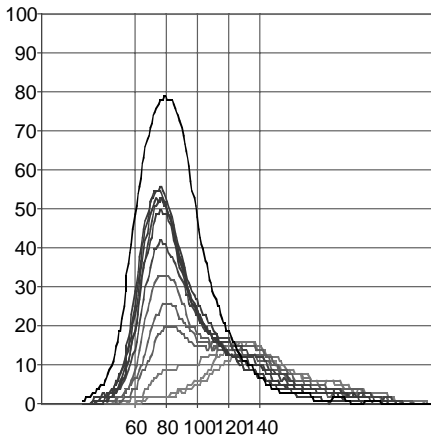
網状赤血球測定時のみ表示



1a: ヘモグラム

1b: 赤血球の粒度分布の経時変化

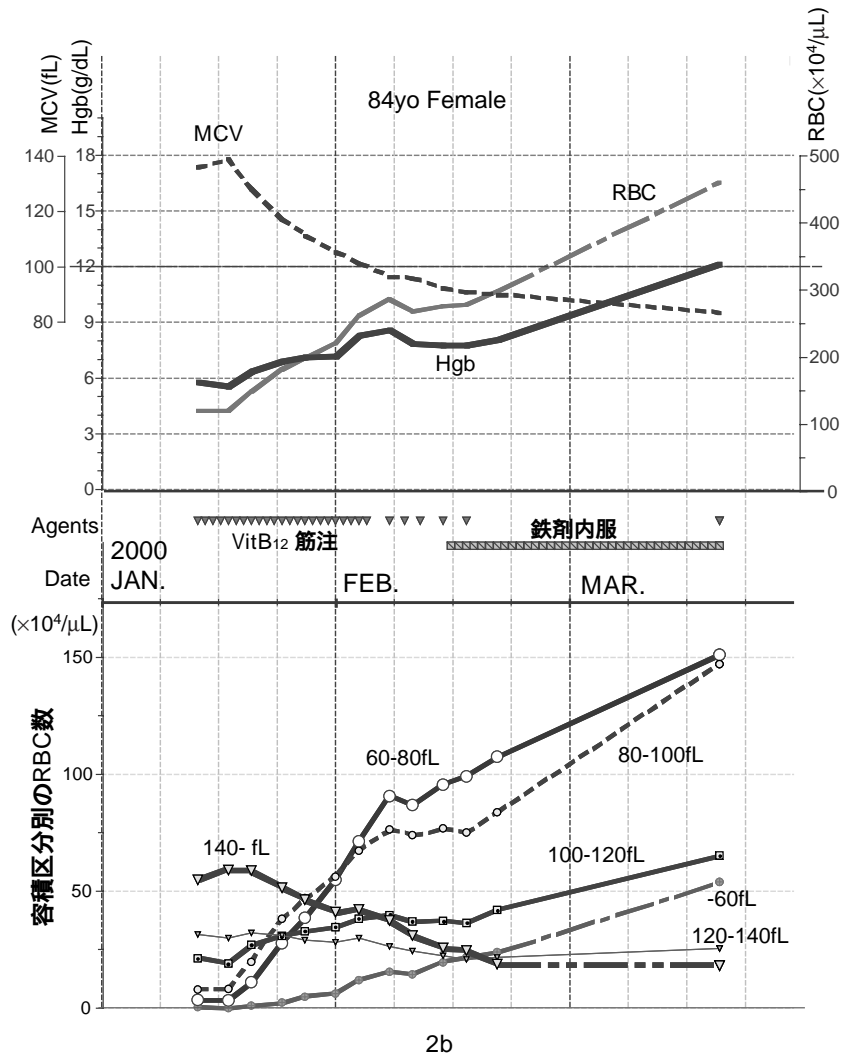
図1. 粒度分布図の経時的評価: 悪性貧血 + 鉄欠乏性貧血



赤血球容積区分

- 60 fL
- 60-80 fL
- 80-100 fL
- 100-120 fL
- 120-140 fL
- 140- fL

2a



2b

図2．赤血球容積を指標とした貧血の病態解析：悪性貧血＋鉄欠乏性貧血

化を認めず，6日後以降に正球性赤血球のピーク()が徐々に認められた。RETチャンネルのスカッタグラムでは，縦軸に前方散乱光(細胞の大きさ)，横軸に蛍光(細胞の核酸量)をとり，網状赤血球を分類計数している。このRETチャンネルを活用すると，治療開始2日後で既に正球性サイズの網赤血球(サークルで囲った部分)の出現が確認できた。治療開始2日目で出現した網状赤血球は成熟赤血球よりも相対的に大きいことから，新しく産生される赤血球が正球性になると予測できる。このようにRETチャンネルを使うことで，より早く治療の効果が確認できる。

次に悪性貧血の症例を図4に示す。ビタミンB₁₂筋注による治療開始4日後では，図下の赤血球粒度分布は正球性のわずかなショルダー()を認めるだけであり，これが新しく産生された網状赤血球であるかどうか明瞭でない。一方，図上のRETチャンネルスカッタグラムでは，標準的な大きさの網状赤血球(治療4日後のサイトグラムのサークルで囲んだ部分)が出現していることが確認できる。この現象を塗抹標本の所見と比較すると，すでに治療2日後から正球性の赤血球が出現してきており，RETチャンネルと類似した結果が得られた。このように，単にCBC結果のみでなくRETチャンネルの活用により，

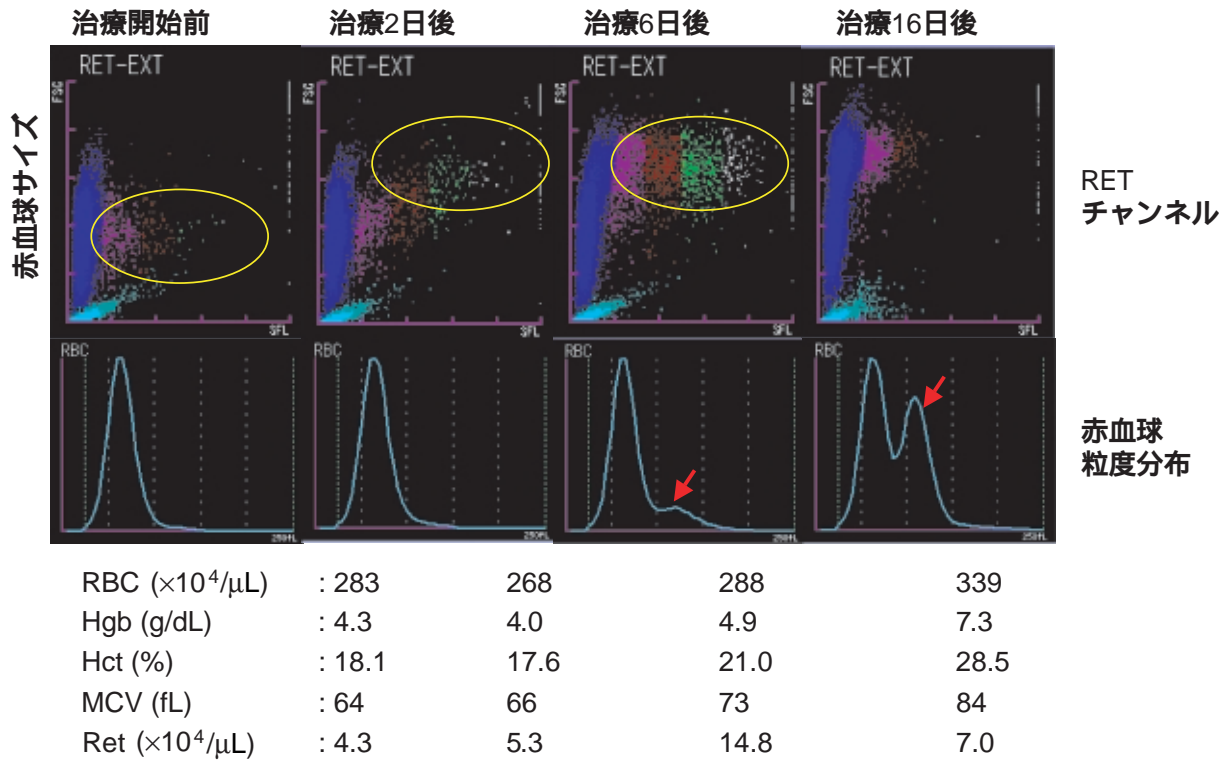


図3 . RET-Chの経時的評価(1) : 鉄欠乏性貧血

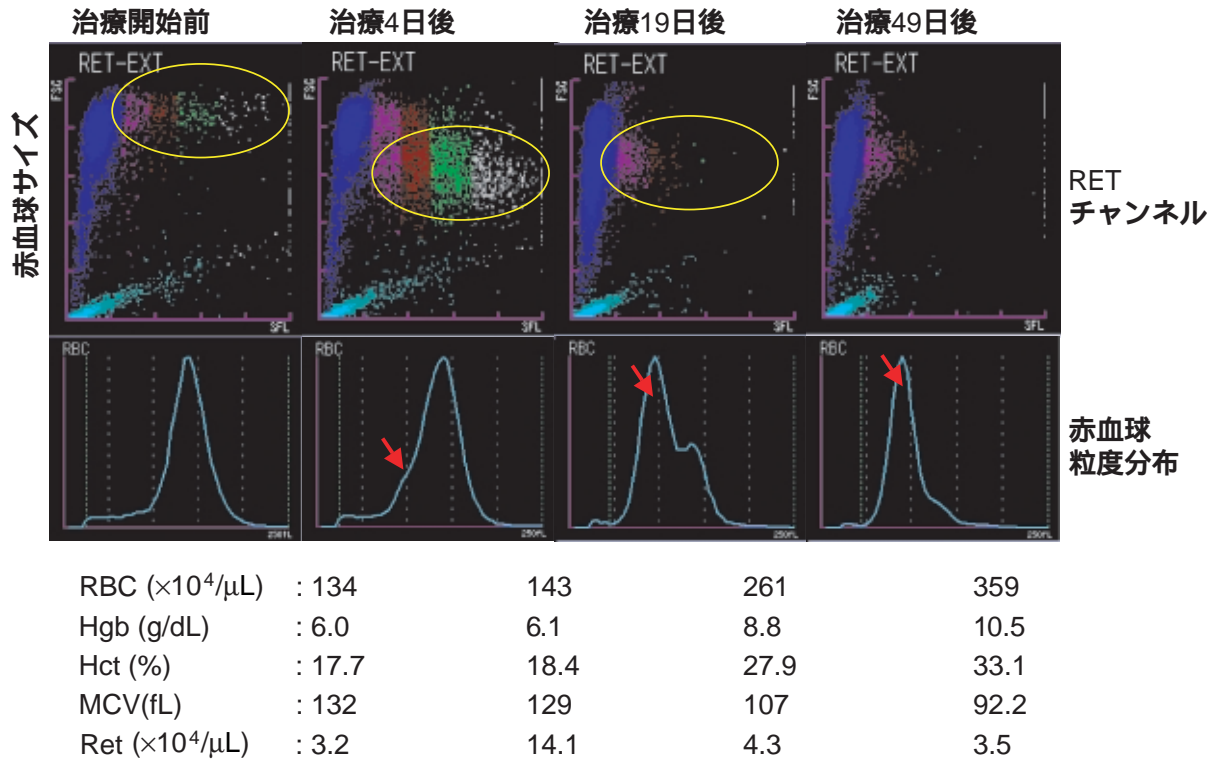


図4 . RET-Chの経時的評価(2) : 悪性貧血

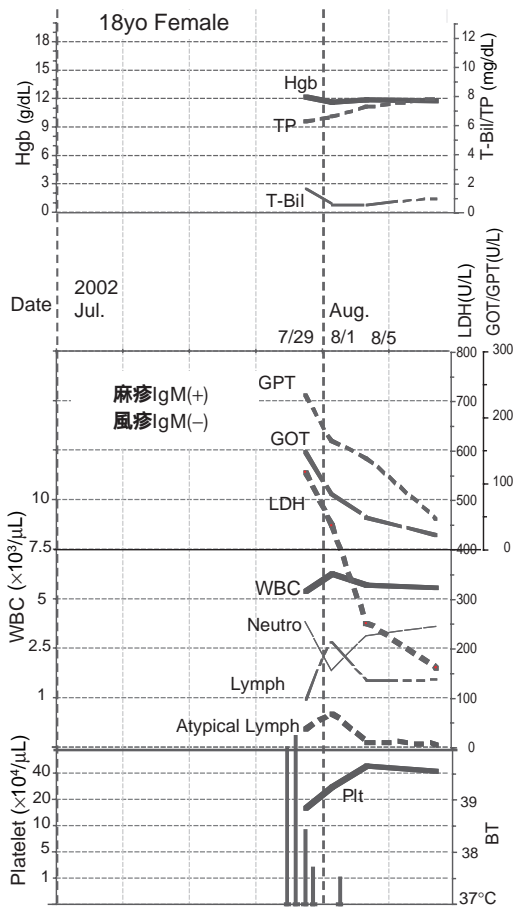
網状赤血球と成熟赤血球のサイズも比較可能となり、さらに時系列的な解析により赤血球造血の質的変動をいち早く観察することができ、貧血の治療効果の早期判断が客観的にしかも視覚的に確認できることが分かる。

DIFF チャンネルの活用

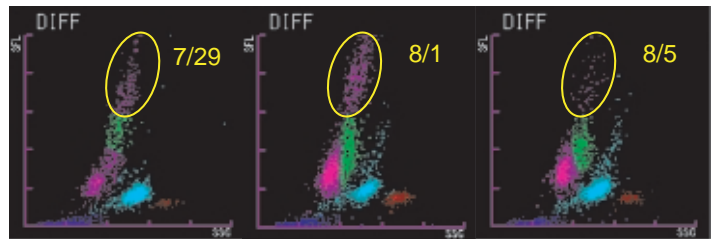
図5に異型リンパ球が多数出現した麻疹の一症例を示す。初診時、40 を超える高熱で、麻疹IgM抗体陽性、風疹IgM抗体陰性の結果から麻疹と診断された。図5aはヘモグラムを中心とする臨床経過を示している。この症例の末梢血中には異型リンパ球の出現を認め、サブセットはCD4とCD8細胞から構成

されていた。本細胞のフローサイトメトリー(FCM)による細胞周期解析(PI：Propidium Iodide 及び細胞表面抗原染色の2カラー解析)の結果、CD4陽性細胞及びCD8陽性細胞の多くは図5cに示すように増殖期のS期細胞であることが認められた。

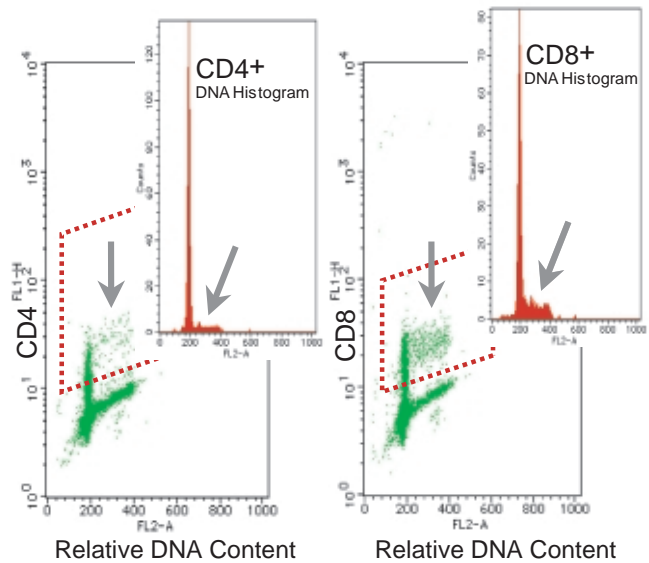
一方、DIFFスキッタグラムではX軸に側方散乱光、Y軸に蛍光をとっており、核酸量の多い細胞は蛍光強度の強い上方領域に出現するが、図5cで確認されたこのS期と考えられるDNA量の多い細胞をXE-2100のDIFFチャンネルでみると、図5bのサ - クルで囲った部分に出現していると考えられる。このポピュレーションを時系列的に見ていくと、8月1日に異型リンパ球が一旦増加した後、症状の回復とともに消失していく様子が視覚的に捉え



5a : ヘモグラム

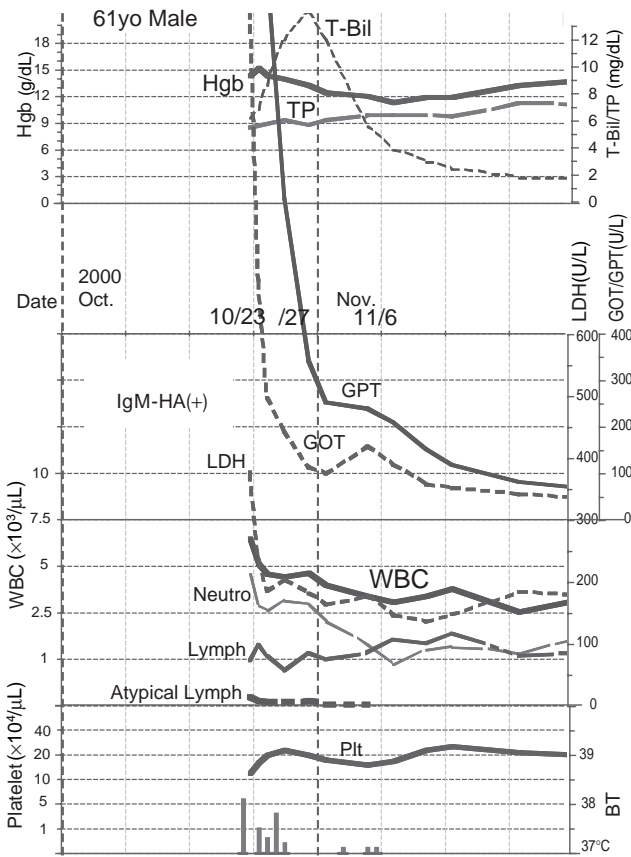


5b : DIFFスキッタグラム

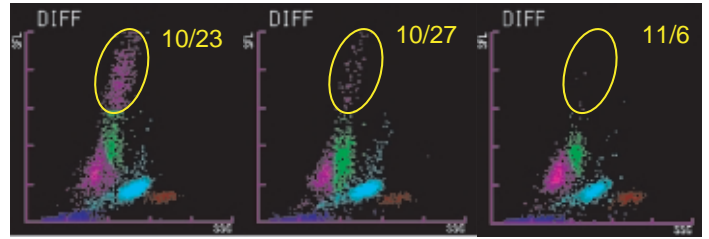


5c : FCMによる相対的DNA量分析

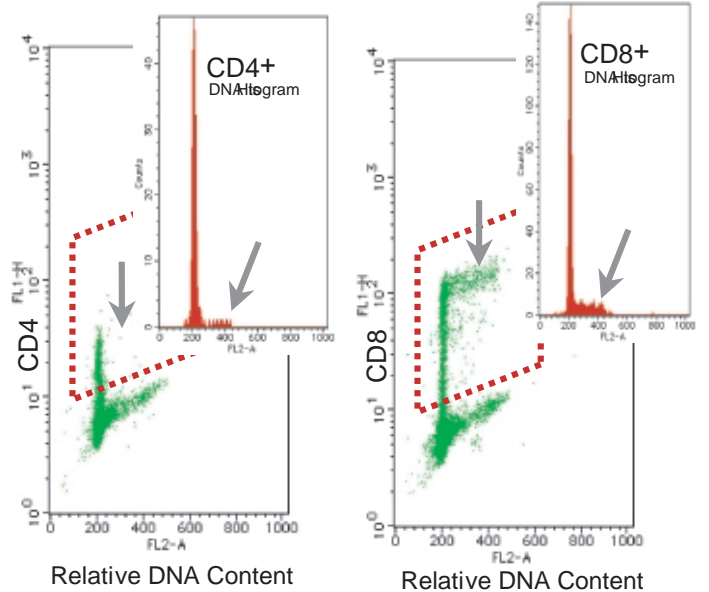
図5 . DIFF-Chの経時的評価(1) : 麻疹



6a : ヘモグラム



6b : DIFFスキャットグラム



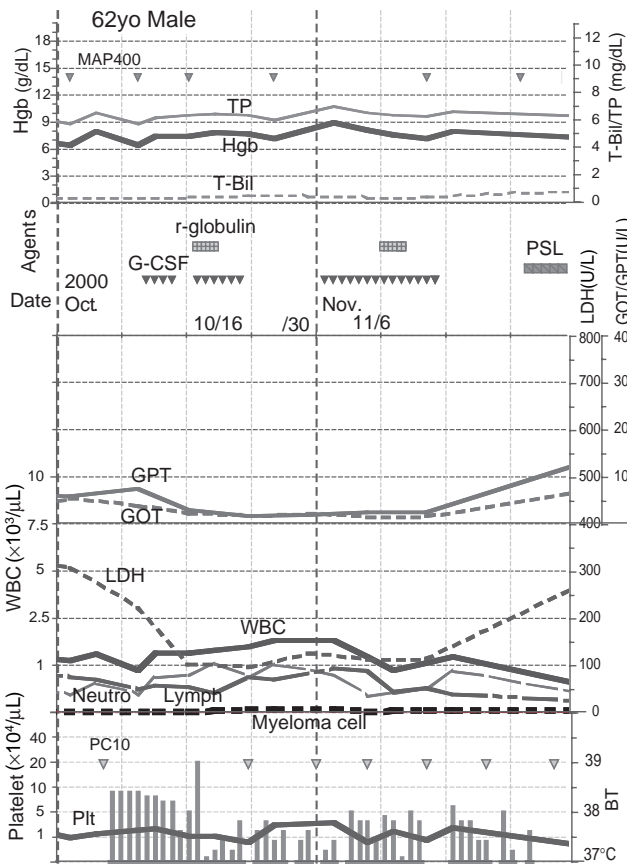
6c : FCMによる相対的DNA量分析

図6 . DIFF-Chの経時的評価(2) : A型肝炎

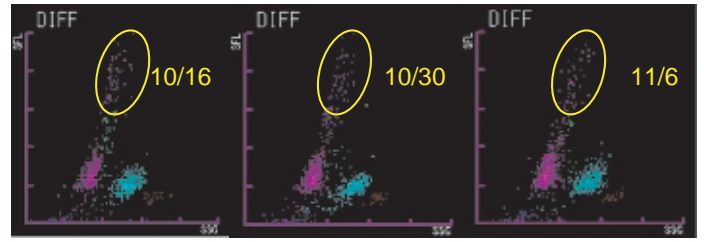
られていることがよく理解できる。

更に、図6に類似の異型リンパ球の多数出現したA型肝炎の一症例を提示する。初診時、ビリルビン13mg/dLを超える強い黄疸と肝機能障害を認め、IgM-HA抗体陽性でA型肝炎と診断された。末梢血では、形態学的に異型リンパ球を数%確認した。前例と同様に、フローサイトメトリーを用いた細胞周期解析の結果、CD8陽性細胞に増殖期の細胞が認められた(図6c)。この症例をDIFFチャンネル(図6b)で確認したところ、核酸量の多い細胞の出現が認められた。時系列的に解析した結果、この症例でもDIFFチャンネルのスキャットグラムの変化は病態の進行、回復と並行して変化することが確認された。

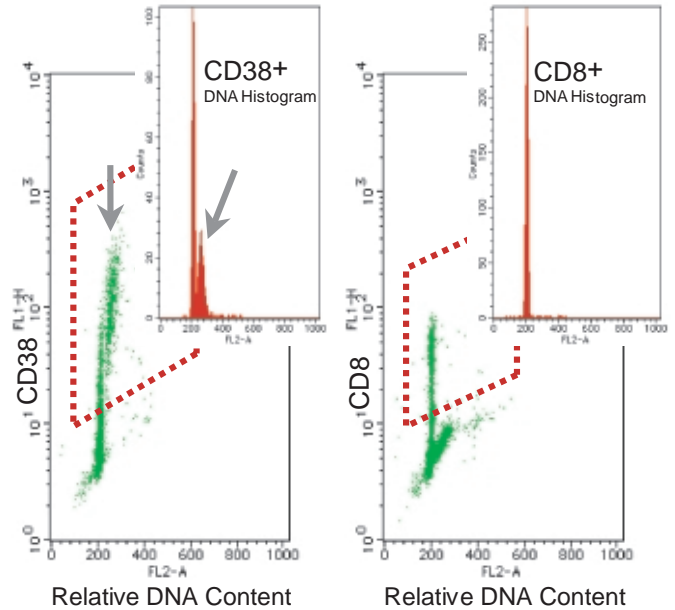
次に骨髓不全状態による汎血球減少を伴う終末期の多発性骨髓腫の症例を図7に示す。形態的にはリンパ球様のみエローマ細胞を末梢血中に確認し、いわゆるplasma cell leukemiaの病態をとっていた。本細胞をフローサイトメトリーで検査したところ、CD38陽性細胞で表面形質的にも形質細胞由来とされ、flow cytometric relative DNA解析では図7cのようにDNA aneuploidyのピークを認めた。この症例では感染症を合併していたが、リンパ球にいわゆる増殖期のS期細胞は認められなかった。この症例におけるDIFFチャンネルのスキャットグラムの経時変化をみると図7bのように、白血病性のaneuploidy cell populationをサ - クルの部分に簡単なCBC検査の結



7a : ヘモグラム



7b : DIFFスキッタグラム



7c : FCMによる相対的DNA量分析

図7 . DIFF-Chの経時的評価(3) : 多発性骨髄腫

果から視覚的にとらえることができる。

以上、DIFFチャンネルを使うことで、白血球(リンパ球)の相対的な核酸量を容易に検出でき、その活動性をサイトグラムとしての形態情報と共に質的に評価できることを示した。事実、ここに提示した3症例のように、相対的な核酸量の検出は炎症性細胞(リンパ球)の活動性の指標や腫瘍性細胞の検出に有用であった。特に、DIFFチャンネルで出現した異常細胞をフローサイトメトリーなどで一旦、確定しておけば、その後はDIFFチャンネルの測定のみで簡便にこの異常細胞(ないし高DNA含有細胞)をモニターできる。

結論

XE-2100で提示される計量的パラメータの解析が病態把握に有用であった症例を提示し、埋もれた自動血球分析装置の検査情報の活用の実例について述べた。即ち、

赤血球容積ヒストグラムを時系列で解析することにより、貧血などの病態を質的に把握することができること。

RETチャンネルを活用することにより、網状赤血球と成熟赤血球のサイズが比較可能となること。赤血球造血の質的変動をいち早く観察することができ、貧血の治療効果の早期判断に活用

できること。

DIFFチャンネルの活用により、白血球の相対的核酸量を容易に検出するとともに、その細胞をモニタ - でき、事実、異型リンパ球など高核酸量細胞の炎症細胞の活動性の指標としてのみでなく、一部の aneuploidy の白血病性異常細胞のスクリー - ニングにも有用に活用できること。

等である。

まとめ

～自動血球分析装置開発への要望～

最新の自動血球分析装置には、カウント機能とフローサイトメトリー機能が表裏一体で含まれている。カウント機能は計数データとして、臨床側にそのままフィードバックされるが、フローサイトメトリー機能によって提示されるヒストグラムやスキャッタグラムは、装置内部に埋もれていることが多いのが現状である。本稿で示したように、サイトメトリー機能を使うことによって、貧血や炎症性細胞や一部腫瘍性細胞の動態把握が可能となり、簡便な方法で変化を視覚的にとらえることができる。

これらの有用な“データ”を幅広く利用する一例として、XE-2100ではRETチャンネルでの前方散乱光情報より独自の算出式により網赤血球中のヘモグ

ロピン相当量として数値化したパラメータRET-Heを提供するプログラムが開発されている。これにより、前述した例に加えて腎性貧血患者における機能性鉄欠乏性貧血や各種赤血球疾患の病態把握にも活用できると考えられる。

時代の変化とともに、血球分析装置は進歩し続けられると思われるが、臨床医が使いやすくかつ信頼性の高い有用な情報を提供するために、サイトメトリー機能の更なる充実、精度の向上を希望する。

参考文献

- 1) Tsuji T, et al. : New rapid flow cytometric method for the enumeration of nucleated red blood cells. *Cytometry*, 37(4) : 291 ~ 301, 1999.
- 2) Fujimoto H, et al. : Flow cytometric method for enumeration and classification of reactive immature granulocyte populations. *Cytometry*, 42(6) : 371 ~ 378, 2000.
- 3) シスメックス(株)開発本部 : 多項目自動血球分析装置 XE-2100の概要. *Sysmex Journal*, 22 : 76 ~ 84, 1999.
- 4) 大田和雄, 他 : フローサイトメトリー手技と実際, pp.9 ~ 22, 蟹書房, 1984.
- 5) Briggs C, et al. : New quantitative parameters on a recently introduced automated blood cell counter--the XE 2100. *Clin Lab Haematol*, 22(6) : 345 ~ 350, 2000.

The Function of the Automated Hematology Analyzer as Expected from the Clinicians

Sunao ATOGAMI^{*1} and Shimeru KAMIHIRA^{*2}

*1 Internal Medicine, Nagasaki Municipal Medical Center 20-5 Fuchimachi, Nagasaki 852-8012.

*2 Department of Clinical Laboratory, Nagasaki University School of Medicine.

SUMMARY

In order to monitor the clinical condition of patients with common diseases such as anemia or inflammation, we evaluated some parameters on the automated hematology analyzer.

We show evidence that qualitative alternation of erythropoiesis in recovery phase of anemia can be monitored in the early stages by comparison of the time-series analysis of red cell volume histogram with cell size in the RET channel. Furthermore, it is also possible to show DNA content in the leukocytes (lymphocytes) that are associated with measles or hepatitis.

In the future, laboratory medical technologists will be required to provide useful laboratory information in the automated hematology analyzer and clinicians are expected to actively utilize such information.

Key Words Hematology Analyzer, Histogram, Scattergram
