

尿沈渣の視野容量について

- 理論値と実際値 -

一柳 好江

岐阜市民病院 中央検査部：岐阜市鹿島町7-1（〒500-8323）

SUMMARY

2006年3月に血尿診断ガイドライン検討委員会により「血尿診断ガイドライン」が提唱され、顕微鏡による尿沈渣検査で、赤血球およそ5個/HPF（400倍強拡大1視野）以上、あるいは、無遠心尿を用いたフローサイトメトリー法（FCM法）で、およそ20個/ μL 以上を血尿とすると定義された。尿沈渣検査法におけるHPF1視野は、理論的には0.45 μL の無遠心尿に相当するが、種々の要因により理論値と実際値には大きな隔たりがある。今回、我々はコバスライドを用いて、この差異の検証を行なった。無遠心尿と遠心尿で有形成分を計数し、その値を比較したところ、粒子の小さい有形成分ほど理論値に対する割合が少なく、これは、粒子の小さい有形成分ほど遠心過程での上清への残留や管壁への吸着があり沈降しにくいためと思われた。尿沈渣検査法におけるHPF1視野の無遠心換算値は、今回の検証結果では、扁平上皮0.31 μL 、白血球0.20 μL 、赤血球0.20 μL であった。赤血球の値は、血尿診断ガイドラインにおける診断基準である20個/ μL と5個/HPF（400倍強拡大1視野）の関係に合致していた。

Key Words 無遠心尿、尿沈渣、視野容量、コバスライド、セキスイ検鏡プレート

はじめに

2006年3月に血尿診断ガイドライン検討委員会により「血尿診断ガイドライン」が提唱され、顕微鏡による尿沈渣検査で、赤血球およそ5個/HPF（400倍強拡大1視野）以上を血尿とすると定義された¹⁾。また、無遠心尿を用いたフローサイトメトリー法（FCM法）では、およそ20個/ μL 以上と定義された

が、この基準はHPF1視野を無遠心尿0.45 μL 相当とする関係に矛盾する。この相違の背景には、尿沈渣検査法における視野容量が、すでに報告されている理論値と現実値とで異なることがある²⁾。今回、我々はコバスライド（バイエルメディカル社）を用いてこの差異の検証を試みたので報告する。

試料および方法

1. 試料

岐阜市民病院中央検査部に提出された患者尿52検体

2. 材料

1) コバスライド (図1)

コバスライド10グリッドと呼ばれる細胞数算定用区画付き尿沈渣標本作成用スライドであり、1枚で10検体の標本作成と鏡検が可能である。1小区画当たりの平均細胞数から計算により μL 当

たりの定量値が算出できるため、遠心尿でも無遠心尿でも尿中の各種有形成分の定量が可能である^{3,4)}。

2) セクスイ検鏡プレート (積水化学工業社; 図2)

ガラス製でスライドガラスとカバーガラスが一体化しており、その間隔が固定されているため、一定量が注入され、尿中の各種有形成分が均一に分布する。3窓タイプと5窓タイプがあり、一窓の容積は各々 $22.6\ \mu\text{L}$ と $8.4\ \mu\text{L}$ である。今回の検討では5窓タイプを使用した。

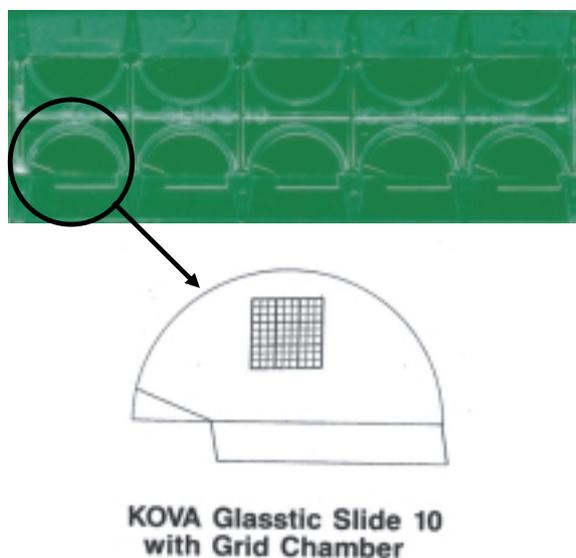


図1. コバシステムのカバーガラス部分

●UR-137 (3窓タイプ)

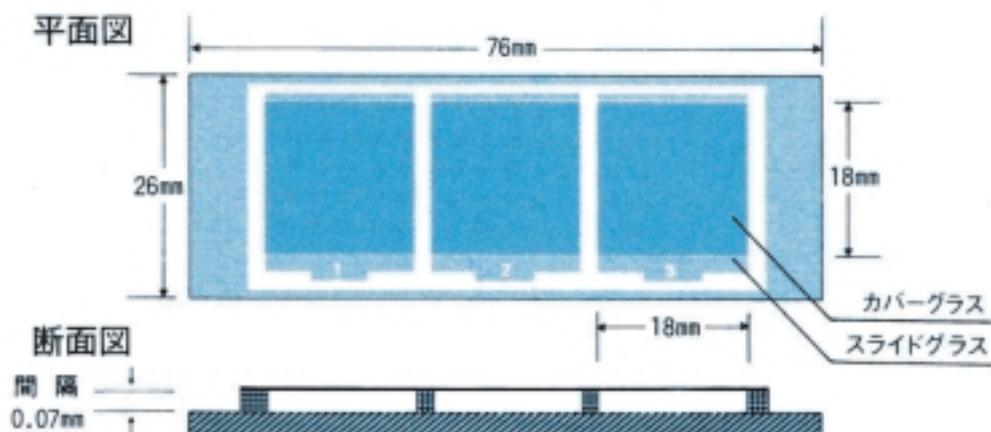


図2. セクスイ検鏡プレートのカバーガラス部分

3. 方法

- 1) 無遠心尿をよく攪拌してコバスライドに注入し、1 μL中の有形成分を計数した。(以下、コバ無遠心)
- 2) 尿沈渣標準法⁵⁾に従い尿沈渣を調製し、コバスライドを使用して、その取り扱い説明書に従って尿1 μL中の有形成分を計数した。(以下、コバ遠心)
- 3) 尿沈渣標準法に従い尿沈渣を作製し、スライドガラスを使用して、強拡大 (HPF) 5視野中の各種有形成分を計数し平均値を算出した。(以下、ルーチン)
- 4) 尿沈渣標準法に従い尿沈渣を作製し、セキスイ検鏡プレートを使用して、強拡大 (HPF) 5視野中の各種有形成分を計数し平均値を算出した。(以下、セキスイ)

4. 値比較

各方法の測定値間の理論比率は表1のとおりである。各方法での実測値から求めた比率をこの理論値と比較した。

結果

1. コバ無遠心とコバ遠心との比較(表2)

コバ無遠心に対するコバ遠心の理論比率は100%であり、その測定値は同じになるはずであるが、コバ無遠心に対するコバ遠心の実測比率は、白血球52.7%、赤血球47.8%(isomorphic RBCは52.3%、dysmorphic RBCは35.1%)、扁平上皮108.6%、硝子円柱33.3%であった。扁平上皮以外の各種有形成分では、いずれも無遠心尿に比べ遠心尿における個数が少なかった。

2. コバ無遠心とルーチンとの比較(表2)

コバ無遠心に対するルーチンの実測比率は、白血球20.1%、赤血球19.7%(isomorphic RBCは19.8%、dysmorphic RBCは19.6%)、扁平上皮31.3%、硝子円柱88.7%であった。硝子円柱以外の各種有形成分についてコバ無遠心とルーチンの相関グラフを図3に示す。全体的に相関は良好であるものの、コバ無遠心に比べルーチンにおける個数がかなり少なかった。

3. コバ無遠心とセキスイとの比較(表2)

コバ無遠心に対するセキスイの実測比率は、白血球26.9%、赤血球28.5%(isomorphic RBCは30.8%、dysmorphic RBCは10.2%)、扁平上皮51.5%、硝子円柱4.9%であった。白血球と赤血球の比率は、比較的近似していた。

表1. X方法に対するY方法の理論比率

	方法	Y		
		コバ遠心 (/μL)	ルーチン (/HPF)	セキスイ (/HPF)
X	コバ無遠心 (/μL)	100%	45%	56%
	コバ遠心 (/μL)		45%	56%
	ルーチン (/HPF)			124%

表2 . X方法に対するY方法の測定比率

白血球

	方法	Y		
		コバ遠心 (/μL)	ルーチン (/HPF)	セキスイ (/HPF)
X	コバ無遠心 (/μL)	52.7%	20.1%	26.9%
	コバ遠心 (/μL)		49.8%	54.7%
	ルーチン (/HPF)			131.9%

赤血球

	方法	Y		
		コバ遠心 (/μL)	ルーチン (/HPF)	セキスイ (/HPF)
X	コバ無遠心 (/μL)	47.8%	19.7%	28.5%
	コバ遠心 (/μL)		49.3%	61.9%
	ルーチン (/HPF)			174.2%

赤血球 (isomorphic)

	方法	Y		
		コバ遠心 (/μL)	ルーチン (/HPF)	セキスイ (/HPF)
X	コバ無遠心 (/μL)	52.3%	19.8%	30.8%
	コバ遠心 (/μL)		44.0%	55.3%
	ルーチン (/HPF)			186.2%

赤血球 (dysmorphic)

	方法	Y		
		コバ遠心 (/μL)	ルーチン (/HPF)	セキスイ (/HPF)
X	コバ無遠心 (/μL)	35.1%	19.6%	10.2%
	コバ遠心 (/μL)		64.5%	42.6%
	ルーチン (/HPF)			66.2%

扁平上皮

	方法	Y		
		コバ遠心 (/μL)	ルーチン (/HPF)	セキスイ (/HPF)
X	コバ無遠心 (/μL)	108.6%	31.3%	51.5%
	コバ遠心 (/μL)		41.9%	123.8%
	ルーチン (/HPF)			193.9%

硝子円柱

	方法	Y		
		コバ遠心 (/μL)	ルーチン (/HPF)	セキスイ (/HPF)
X	コバ無遠心 (/μL)	33.3%	88.7%	4.9%
	コバ遠心 (/μL)		1165.6%	48.4%
	ルーチン (/HPF)			383.3%

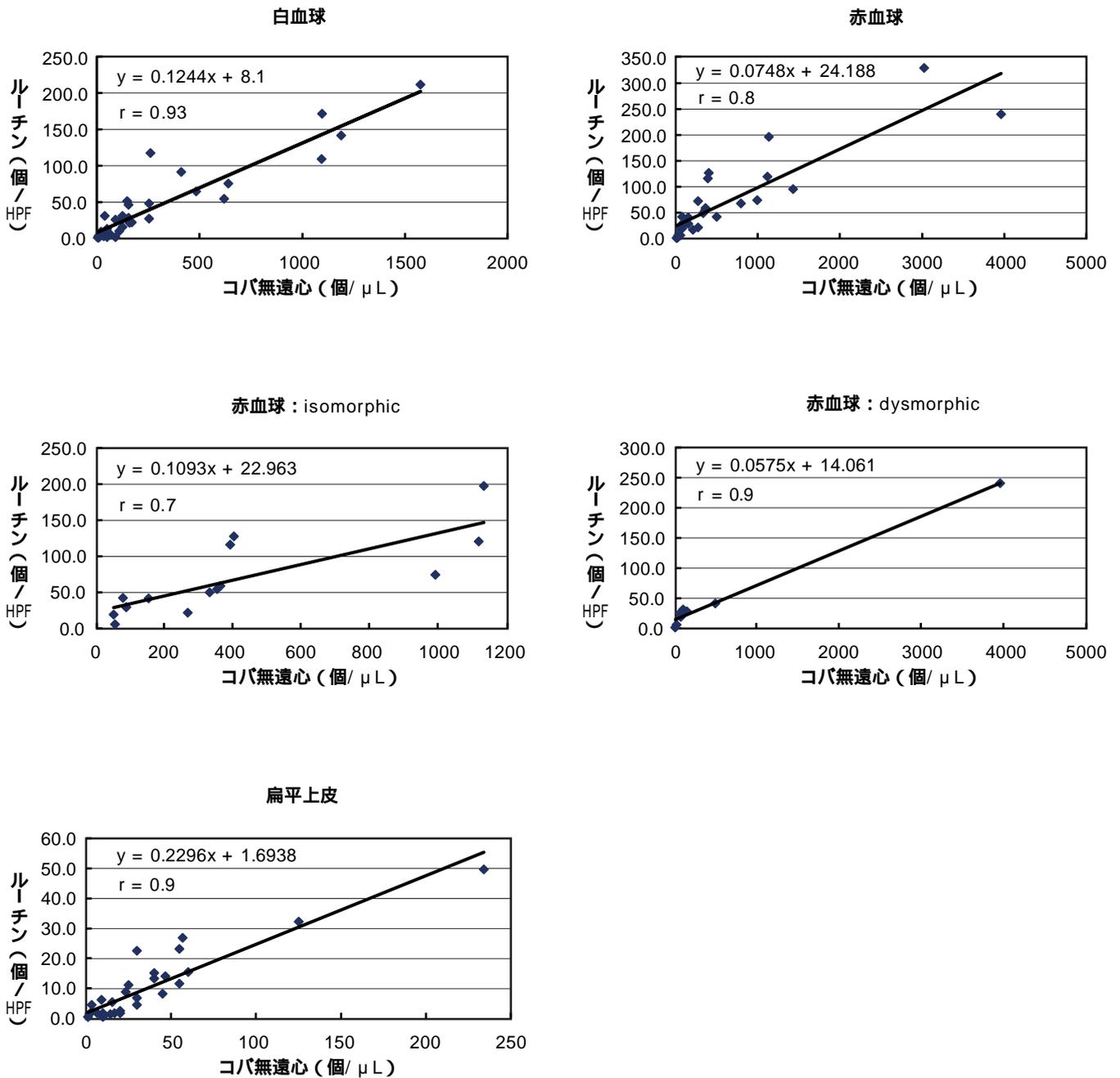


図3 . コバ無遠心とルーチンの比較

4 . コバ遠心とルーチン, セキスイとの比較 (表2)

コバ遠心に対するルーチンおよびセキスイの実測比率は、それぞれ、白血球 49.8% , 54.7% , 赤血球 49.3% , 61.9% , (isomorphic RBCは 44.0% , 55.3% , dysmorphic RBCは 64.5% , 42.6%) , 扁平上皮 41.9% , 123.8% , 硝子円柱 1165.6% , 48.4% であった。

5 . ルーチンとセキスイとの比較 (表2)

ルーチンに対するセキスイの実測比率は、白血球 131.9% , 赤血球 174.2% , (isomorphic RBCは 186.2% , dysmorphic RBCは 66.2%) , 扁平上皮 193.9% , 硝子円柱 383.3% であった。

考 察

尿沈渣検査は、重要なスクリーニングとして病態把握に不可欠な検査であるが、すべての手順が手作業であり、手間がかかるのが実情である。近年フローサイトメトリー法などにより尿沈渣検査の自動化が進み、無遠心尿を用いて個数/ μL での高精度な算定が可能になってきた。これらの測定値を比較する場合、JCCLSの尿沈渣検査法におけるHPF1視野は、理論的に0.45 μL の無遠心尿に相当するとされるが、種々の要因により理論値と実際値は大きな隔たりがある²⁾。今回の我々の検討結果でも同様であった。

コバ無遠心とコバ遠心は、理論的には同じ測定値になるはずであるが、扁平上皮以外ではコバ遠心の方がかなりの割合で少なく、白血球より赤血球、赤血球でもisomorphic RBCよりdysmorphic RBCの方が少なく算出された。この原因として、粒子の小さいものほど遠心操作において上清への残留や管壁への吸着があるものと思われた。これは、筆者が2001年に報告した『UF-100による遠心尿上清残留成分の検討』で、直径の小さい有形成分ほど尿上清への残留率が高値であったことから推測される⁶⁾。尿中有形成分の沈降は、ストーク則で示されるように複数のパラメーターが関与しており、直径が小さいほど沈降しにくい、尿中有形成分と尿液の比重の差が小さいほど沈降しにくい、遠心力が小さいほど沈降しにくい、尿液の粘度が大きいほど沈降しにくいなどと考えられる^{6,7)}。

コバ無遠心とルーチンの各種有形成分を比較すると、HPF1視野の無遠心尿換算値から得られた理論比率は45%であるが、扁平上皮では31.3%、白血球では20.1%、赤血球では19.7%であり、理論値と実測値に約2倍の開きがあり、上述と同様の要因が考えられた。

コバ無遠心とセキスイを比較すると、HPF1視野の無遠心尿換算値は0.56 μL であるが、いずれの有形

成分も理論値より少なく算出された。dysmorphic RBCが特に低値なのは、粒子が小さいためと考えられる。また、硝子円柱については、無染色によることと、セキスイ検鏡プレートは厚さが0.07mmあり焦点を合わせる操作が多くなることなどが考えられる⁸⁾。

結 語

尿沈渣標準法によるHPF 1視野の無遠心尿換算値は理論的には0.45 μL であるが、今回の検証結果では、尿中の有形成分ごとにその実際値は異なっていた。結果は、扁平上皮0.31 μL 、白血球0.20 μL 、赤血球0.20 μL であり、赤血球の値は、血尿診断ガイドラインにおける診断基準である20個/ μL と5個/HPF (400倍強拡大1視野)の関係に合致していた。

参考文献

- 1) 血尿診断ガイドライン検討委員会. 血尿診断ガイドライン. 東京; 2006. 6.
- 2) 村山勝義 他. 鏡検法 (尿沈渣・計算盤) による白血球検出の対応関係の検討. 臨床検査機器・試薬. 1986; 4: 123-131.
- 3) 宮崎茂典 他. 膿尿判定におけるKova直接法の有用性について. 西日泌尿. 1994; 56: 1505-1507.
- 4) 平岡政弘 他. 乳幼児尿路感染症の外来診療の指針. 外来小児科. 2002; 5: 148-159.
- 5) 日本臨床衛生検査技師会尿沈渣検査法編集委員会. 尿沈渣検査法2000. 東京; 2000. 94p.
- 6) 一柳好江 他. UF-100による遠心尿上清残留成分の検討. 岐阜市民病院年報. 2001; 21: 102-105.
- 7) 石井 剛 他. UF-100による遠心尿上清残留成分の検討. Sysmex J. 1996; 19: 196-202.
- 8) 稲垣勇夫 他. 尿沈渣鏡検用プレート「積水プレート」の検討. 臨床検査機器・試薬. 1989; 7: 767-774.

Field Volume of Urine Sediment Test - Comparison of Theoretical Volume with Practical Volume -

Yoshie ICHIYANAGI

Central Laboratory, Gifu Municipal Hospital, 7-1, kashima-cho, Gifu 500-8323

SUMMARY

The guideline for hematuria diagnosis was disclosed in March 2006. It has been defined as diagnostic criteria for hematuria that 5 or more red blood cells/HPF(high-power field, x400) in the urinary sediment sample under microscopy and/or 20 or more red blood cells/ μ L by using flow cytometry technique with non-centrifuged urine sample are detected.

One HPF of microscopy for urinary sediment is theoretically equivalent to 0.45 μ L of non-centrifuged urine sample. However, in fact, there is discrepancy between theory and practice for some reasons. In this study, we examined the variance using KOVA slide.

We counted the urinary formed elements of primitive urine and urinary sediment. The results showed the tendency for the small elements to have greater discrepancy than large elements between theory and practice. It might well suggest that the small elements are easy to remain in the supernatant and to be adsorbed to the tube wall through a centrifugal process.

In our results, one HPF of microscopy for urinary sediment was equivalent to 0.31 μ L for squamous epithelial cells, 0.20 μ L for white blood cells, and 0.20 μ L for red blood cells.

This result meets the proportion of 20RBC/ μ L of primitive urine to 5RBC/HPF under microscopy in the diagnostic criteria for hematuria.

Key Words Non-Centrifugal Urine, Urine Sediment, Field Volume, KOVA Slide, SEKISUI Plate
