

多項目自動血球分析装置 XE-5000 の概要と基礎性能

田中 千晶^{*1}，長井 孝明^{*2}，中村 真佐徳^{*3}，山内 由里子^{*3}，
野口 啓子^{*3}，瀧本 良実^{*3}，川畑 宏志^{*3}，重田 裕司^{*3}，村山 徹^{*4}

*1 シスメックス株式会社 学術本部 学術部：神戸市西区室谷 1-3-2 (〒651-2241)

*2 シスメックス株式会社 診断システム開発本部

*3 兵庫県立がんセンター 検査部

*4 兵庫県立がんセンター 血液内科

SUMMARY

我々が開発した多項目自動血球分析装置 XE-5000 (以下 XE-5000) は、多項目自動血球分析装置 XE-2100 の機能に加え、幼若細胞測定用ソフトウェアの標準搭載および新規機能として体液モードを搭載している。XE-5000 の体液モードは、脳脊髄液、胸水、腹水そして関節液の測定が可能である。今回、我々は XE-5000 体液モードにおける基礎検討として同時再現性、希釈直線性、キャリアーオーバ、目視法との相関性、そして室温および 4℃ における経時安定性を確認した。

Key Words 多項目自動血球分析装置，XE-5000，体液，性能，フローサイトメトリー

はじめに

今回、我々は多項目自動血球分析装置 XE-2100 (以下 XE-2100) のアップグレード機種である多項目自動血球分析装置 XE-5000 (以下 XE-5000) を開発した。XE-5000 は XE-2100 の機能に加え、幼若細胞測定用ソフトウェア (HPC master, IG master, RET master および IPF master) の標準搭載および新規機能として体液モードを搭載した。XE-5000 の概要について、若干の基礎データを交え報告する。

技術

1. 測定原理

1) 半導体レーザーを用いたフローサイトメトリー
XE-2100 で確立された半導体レーザーを用い、蛍光信号を検出するフローサイトメトリーを採用している (図 1)。

半導体レーザーを用いたフローサイトメトリーにより得られる側方散乱光、前方散乱光そして側方蛍光を以下の通りに組み合わせることでスクアットグラムを生成し解析を行っている。

- ・ WBC/BASO : 側方散乱光 - 前方散乱光
 - ・ 4DIFF (NEUT, LYMPH, MONO, EO) : 側方散乱光 - 側方蛍光
 - ・ RET : 前方散乱光 - 側方蛍光
 - ・ NRBC : 前方散乱光 - 側方蛍光
- 測定結果表示画面例を図2に示す。

2) RF/DC検出法

造血前駆細胞 (Hematopoietic Progenitor Cell : HPC) の測定や, IPメッセージのための幼若白血球出現情報を得るためにRF/DC検出法を採用している。RF/DC検出法は, 検出器に直流電流 (Direct Current : DC) と高周波電流 (Radio Frequency : RF) の両方を流すことで血球のアパーチャ通過時のRFインピーダンスとDCインピーダンスの変化を同時に検出する方法である。

3) シースフローDC検出法

RBCとPLTの測定にはシースフローDC検出法を採用している。シースフロー方式によりRBCおよびPLT測定試料がアパーチャの中心付近を流れる。その時, 発生した電気抵抗をパルスに変換することにより精度の高いRBCおよびPLT粒度分布を測定することができ, 高精度の測定結果を導き出している。

4) SLSヘモグロビン法

HGBはSLSヘモグロビン法による比色法で測定を行っている。SLSヘモグロビン法は, Sodium

Lauryl Sulfate ($C_{12}H_{25}SO_4Na$: SLS)を使用した測定法であり, その反応機序は, (1) 第一段階: SLSと赤血球膜との溶血反応, (2) 第二段階: SLSによるグロビンの立体構造変化, (3) 第三段階: 酸素によるヘム鉄の酸化, (4) 第四段階: SLSの配位のように考えられている。従来より当社で採用している信頼性の高い測定方法であり, また, ノンシアンであるため安心してご使用いただける測定方法である。

2. 幼若細胞測定用ソフトウェアの標準搭載

幼若細胞測定用ソフトウェアHPC master, IG master, RET masterおよびIPF masterは, XE-2100を中心とした分析装置の機能を拡張するソフトウェアである。XE HPC masterは造血前駆細胞の検知を, XE IG masterは幼若顆粒球の定量を, XE RET masterは網赤血球へモグロビン量の算出を, そしてXE IPF masterは幼若血小板比率を算出する。

3. 体液モードの追加

XE-5000では, 新たな機能追加として末梢血だけでなく, 体液測定が可能な体液モードが搭載されている。測定対象となる体液は脳脊髄液, 胸水, 腹水および滑液で, 前処理など特別な処理を必要とせず, そのままで測定することが可能である。

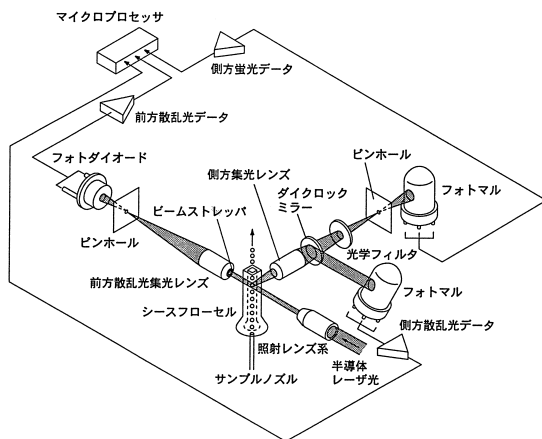


図1. フローサイトメトリー法

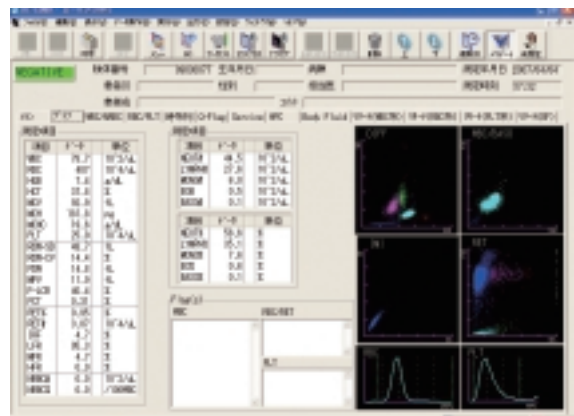


図2. 測定結果表示画面例

体液モードの基礎性能評価

1. 同時再現性

胸水を使用した10回連続測定時の再現性を表1に示す。CV 13%と良好な結果が得られた。

2. 希釈直線性

気管支肺胞洗浄上澄み液 (BALF) を使用し、6段階に希釈系列を作成し白血球数の直線性を確認した結

果を図3に示す。本検討では、WBC-BF 500/ μ Lまで直線性が確認された。

3. キャリーオーバー

胸水を使用し、キャリーオーバーを確認した結果を表2に示す。本検討では、WBC-BF 9000/ μ Lの高濃度検体を使用したキャリーオーバーは認められなかった。

表1. 同時再現性

Sample	WBC-BF / μ L
1	22
2	25
3	35
4	30
5	30
6	28
7	28
8	25
9	30
10	26
SD	3.63
MEAN	27.90
CV%	13.03%

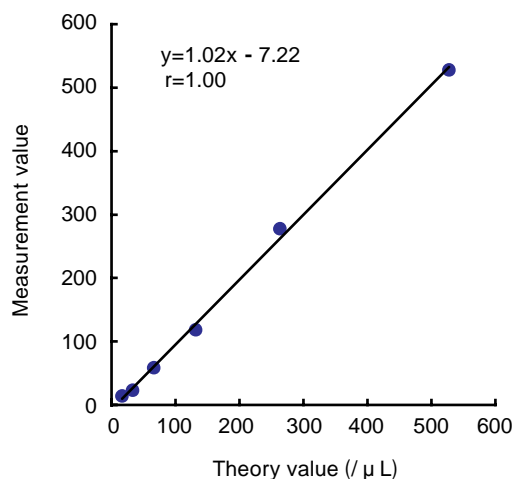


図3. 直線性

表2. キャリーオーバー

Sample	WBC-BF / μ L	Sample	WBC-BF / μ L	Sample	WBC-BF / μ L
1	9449	1	9041	1	9432
2	9260	2	9289	2	9749
3	9323	3	9427	3	9469
4	1	4	0	4	0
5	0	5	0	5	0
6	0	6	0	6	0
Carry over (%)	0.0107	Carry over (%)	0.0000	Carry over (%)	0.0000
Ave=0.0036					

4 . 相関性 (1)

胸水，腹水，脳脊髄液，BALF，心嚢液を使用した目視法との相関性を図4に示す。

1) 白血球数

目視法では，白血球計算用メランジュール内にてSamson液と混和した体液をFuchs-Rosenthal計算盤を用いて白血球数を算出した。なお，組織球や中皮細胞など血球以外の細胞についても白血球数として算出した。

目視法とXE-5000の白血球数相関は， $r=0.96$ ， $y=1.05x + 2.99$ と非常に良好であった。なお，1点大きく外れている検体(A)は中皮細胞が多数出現

していた検体であった。

2) 単核球数および多核球数

目視法は，メイギムザ染色したサイトスピン標本を顕微鏡下で400倍の視野で200カウントし，単核球と多核球に分類した。

目視法とXE-5000の相関は，

MN% : $r=0.68$ ， $y=0.56x + 23.92$ ，

PMN% : $r=0.68$ ， $y=0.56x + 19.24$ ，

MN# : $r=0.95$ ， $y=0.84x + 38.25$ ，

PMN# : $r=0.46$ ， $y=0.77x + 94.75$

であった。

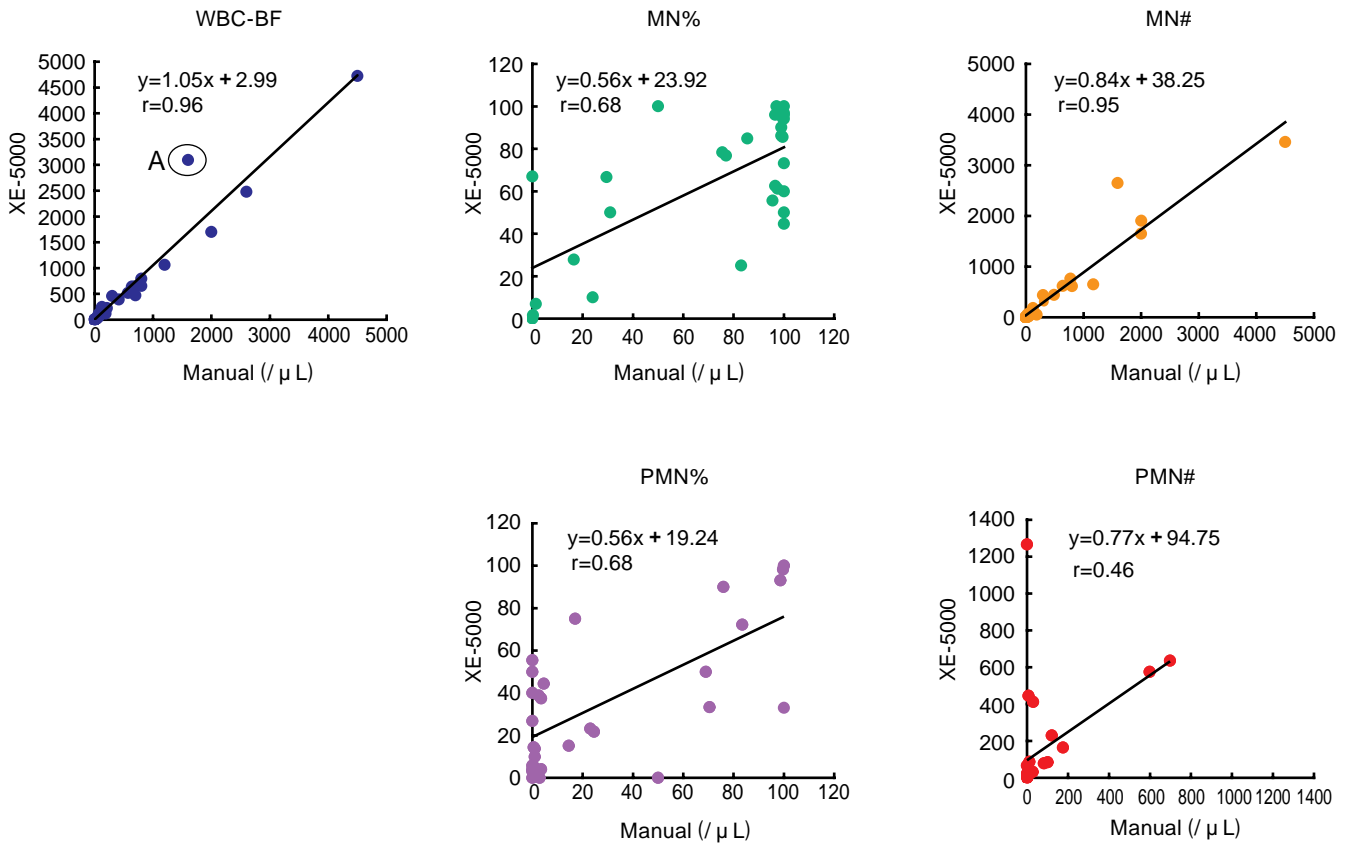


図4 . 相関性 (1)

5 . 相関性 (2)

XE-5000 体液モードで得られる分類データ MN % は単球とリンパ球に相当し, PMN % は好中球, 好酸球, 好塩基球に相当する。体液中にはこれらの白血球細胞以外にマクロファージ, 中皮細胞, 組織球, がん細胞なども出現し, DIFF スキャットグラムで検出する範囲外にまで蛍光強度を持つ場合がある。これらの細胞が目視との乖離原因である可能性が考えられたため, 血球以外の細胞の出現が疑われる検体を除去し相関性を調べた (図 5)。

1) 白血球数

目視法と XE-5000 の白血球数相関は, $r=0.99$, $y=0.91x + 9.75$ とさらに良好な結果が得られた。

2) 単核球数および多核球数

目視法と XE-5000 の相関は,
 MN % : $r=0.72$, $y=0.59x + 24.33$,
 PMN % : $r=0.72$, $y=0.59x + 16.26$,
 MN# : $r=0.98$, $y=0.85x + 3.37$,
 PMN# : $r=0.89$, $y=0.90x + 29.15$
 と大幅な改善が認められた。

MN# および PMN# が MN % および PMN % の相関性より良い理由は, 白血球数によるところが大きい。MN % の相関図中の (B) は目視法で 0%, XE で 67% と大きく乖離している。しかし, この検体の白血球数は目視法にてわずかに $0.3/\mu\text{L}$, XE でも $3/\mu\text{L}$ しかないため, MN# は目視法で $0/\mu\text{L}$, XE で $2/\mu\text{L}$ とほとんど乖離がないことになる。

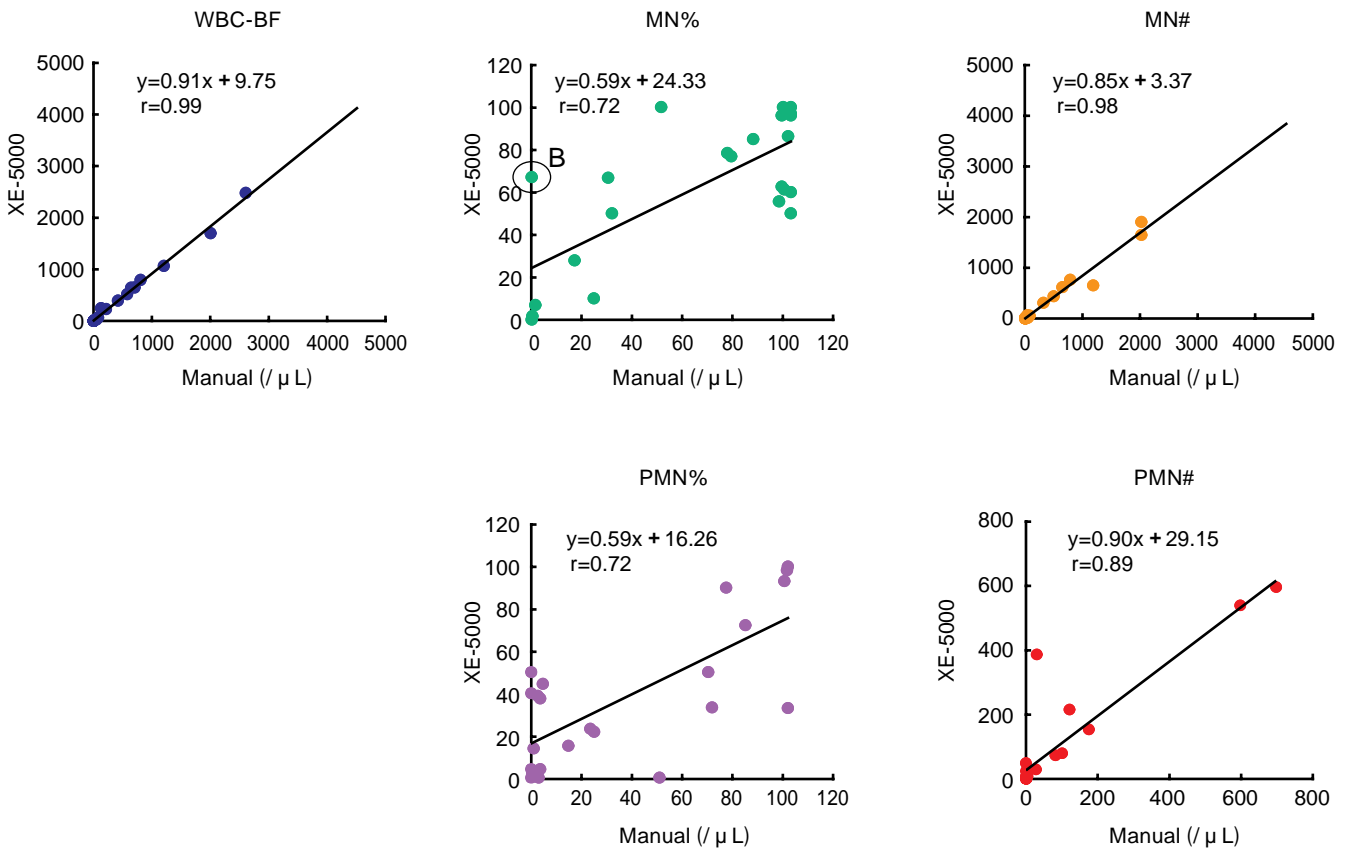


図 5 . 相関性 (2)

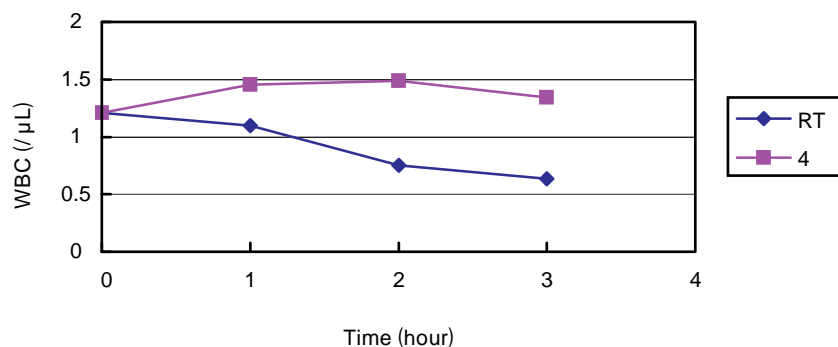


図6．経時安定性

6．経時安定性

検査室にサンプルが提出された段階を直後とし、1時間後、2時間後、3時間後のWBC数の経時安定性を検討した結果を図6に示す。

一般的に体液中の細胞は壊れやすく、採取後できるだけ早く測定することが望まれる。今回の検討において、室温保存では採血後1時間から徐々に低下傾向を示したが、冷蔵保存においては3時間後まで安定していた。以上のことから、採取直後に測定不可能な場合には、検体を冷蔵保存することにより、ある程度測定可能であることが示唆された。

おわりに

今回、新たに開発したXE-5000の概要について、新たに追加された体液モードの評価データを中心に報告した。

XE-5000で標準搭載された幼若細胞測定用ソフトウェアの拡張項目個々の臨床応用については、現在までに多数報告されてきた。今後XE-5000では、幼若細胞測定用ソフトウェアの項目と様々な項目を組み合わせることで新たな臨床的有用性の検討を行っていく。

参考文献

- 1) シスメックス(株) 開発本部. 多項目自動血球計数装置XE-2100の概要. *Systemex J.* 1999 ; 22 (1) : 76-84.
- 2) 今津雅範. 多項目自動血球分析装置XT-2000iの概要. *Systemex J.* 2003 ; 25 : 46-52.
- 3) 志賀修一, 他. 血球分析装置における最新の研究開発成果について. *JJCLA.* 2002 ; 27 : 243-248.
- 4) Briggs C, et al. XE-2100に基づく機能鉄欠乏症の潜在マーカーとしての新規赤血球パラメータ. *Systemex J.* 2002 ; 24 : 115-123.
- 5) Schaefer M, Reinecke T. 臨床検査における鉄動態の解析. *Systemex J.* 2002 ; 24 : 109-114.
- 6) Jiang M, 他. 多項目自動血球分析装置XE-2100を用いた破碎赤血球定量測定の開発. *Systemex J.* 2002 ; 24 : 69-74.
- 7) 伊藤嘉規, 他. 生体肝移植症例におけるXE-2100を用いた破碎赤血球定量測定の検討. *日本検査血液学会雑誌.* 2003 ; 4 : 384-389.
- 8) Briggs C, et al. 末梢血血小板減少患者における未成熟血小板分画(IPF)の評価. *Systemex J.* 2004 ; 27 : 57-65.
- 9) Hinzmann R. 鉄代謝, 鉄欠乏, 貧血 - 診断から治療・モニタリングに至るまで -. *Systemex J.* 2004 ; 27 : 29-41.
- 10) 永井直治, 他. 自動血球計数装置XE-2100を用いた未成熟血小板分画の臨床的意義. *天理医学紀要.* 2005 ; 8 : 64-71.

- 11) 迫田裕之, 他. 膠原病および血液疾患における網血小板測定の意味. *Sysmex J.* 2005 ; 28 : 26-33.
- 12) 澤田朝寛, 他. 網赤血球ヘモグロビン等量 (RET-He) を用いた鉄欠乏症検出の比較. *Sysmex J.* 2005 ; 28 : 51-58.
- 13) 西山美保, 他. 血小板減少症患者における多項目自動血球分析装置 XE-2100 を用いた未熟血小板分画の測定 - 基礎的検討および血小板減少症鑑別診断における有用性の検討 -. *日本検査血液学会雑誌.* 2006 ; 7 : 313-318.
- 14) 中尾真二. 汎血球減少の臨床病態と検査血液学的特徴. *日本検査血液学会雑誌.* 2006 ; 7 : 433-441.
- 15) 近藤 崇, 他. 多項目自動血球分析装置 XE-2100 を用いた破碎赤血球測定の評価 - 小球性赤血球が測定値に及ぼす影響 -. *日本検査血液学会雑誌.* 2006 ; 7 : 62-68.
- 16) 志賀修一, 他. RBC fragmentation の判断とその意義. *日本検査血液学会雑誌.* 2006 ; 7 : 130-138.
- 17) 及川みどり, 他. 多項目自動血球分析装置 XE-2100 の基礎的検討. *Sysmex J.* 2006 ; 28 : 34-44.
- 18) 小池由佳子. 網血小板測定と臨床的意義. *日本検査血液学会雑誌.* 2007 ; 8 : 94-102.
- 19) 永井直治, 他. 幼若血小板比率を用いた骨髓抑制後の血小板回復の予測. *日本検査血液学会雑誌.* 2007 ; 8 : 186-191.
- 20) 西郷勝康, 他. XE-2100 RET チャンネルを用いた新しい指標の臨床的有用性. *Sysmex J Web.* 2007 ; 8 (2).
- 21) 土屋直道, 他. 幼若顆粒球検出を目的とした多項目自動血球分析装置 XE-2100 IG master の有用性. *Sysmex J Web.* 2007 ; 8 (2).

Automated Hematology Analyzer XE-5000 — Overview and Basic Performance

Chiaki TANAKA^{*1}, Takaaki NAGAI^{*2}, Masanori NAKAMURA^{*3}, Yuriko YAMAUCHI^{*3},
Keiko NOGUCHI^{*3}, Yoshimi TAKIMOTO^{*3}, Hiroshi KAWABATA^{*3}, Hiroshi SHIGETA^{*3},
and Tohru MURAYAMA^{*4}

^{*1} Scientific Affairs, Sysmex Corporation, 1-3-2, Murotani, Nishi-ku, Kobe 651-2241

^{*2} Technology Development Division, Sysmex Corporation

^{*3} Clinical Laboratory, Hyogo Cancer Center

^{*4} Department of Hematology, Hyogo Cancer Center

SUMMARY

XE-5000 which we developed has not only the same function of XE-2100 but also software to measure immature cells and body fluid mode. We can measure cerebrospinal fluid (CSF), pleural fluid, ascites and synovial fluid samples by XE-5000. We evaluated basic performance of XE-5000, reproducibility, linearity, carryover, correlation between XE-5000 and manual method, and stability of samples at room temperature and 4 °C.

Key Words Automated Hematology Analyzer, XE-5000, Body Fluid, Performance, Flow Cytometry