

多項目自動血球分析装置 XE-5000 による髄液測定

田中 雅美, 宿谷 賢一, 菅野 信子,
横田 浩充, 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)

SUMMARY

多項目自動血球分析装置 XE-5000 (以下, XE-5000; シスメックス社) は, 末梢血の血液検査のほかに体液測定モードで髄液の血球算定も可能となった。今回, XE-5000 による髄液細胞検査の評価を行った。同時再現性は髄液細胞数 7 個/μL で CV が大きかったが, 高値検体では良好な結果となった。細胞数では目視法との相関は良好で, 単核球・多核球の相関は細胞変性を有する検体は目視法と乖離した。このため, ドレーン検体は分画検査に不適切と考えられた。

Key Words 多項目自動血球分析装置, XE-5000, 髄液検査

はじめに

髄液検査は, 髄膜炎, 脳出血, 白血病の髄膜浸潤などの早期診断, 治療効果を把握するために有用である¹⁾。髄液細胞は採取後の変性が早く, 迅速に検査しなければならない^{2,3)}。したがって, 髄液細胞検査は, 迅速かつ 24 時間体制での実施が望まれる⁴⁾。

2007 年にシスメックス社により開発された多項目自動血球分析装置 XE-5000 (以下, XE-5000; シスメックス社) は, 体液測定モード (リサーチ項目) が新たに搭載され, 前処理せずに髄液, 胸水, 腹水, 滑液などの細胞数の算定および単核球と多核球の分類が可能となった⁵⁾。今回, 我々は髄液を対象とした XE-5000 の基礎的検討結果について報告する。

原理

半導体レーザーによるフローサイトメトリー法を原理とし, 前方散乱光 (細胞の大きさ), 側方散乱光 (細胞の内部情報), 側方蛍光 (細胞の核酸量) の情報からスキヤッタグラム (図 1) を作成し解析を行っている。

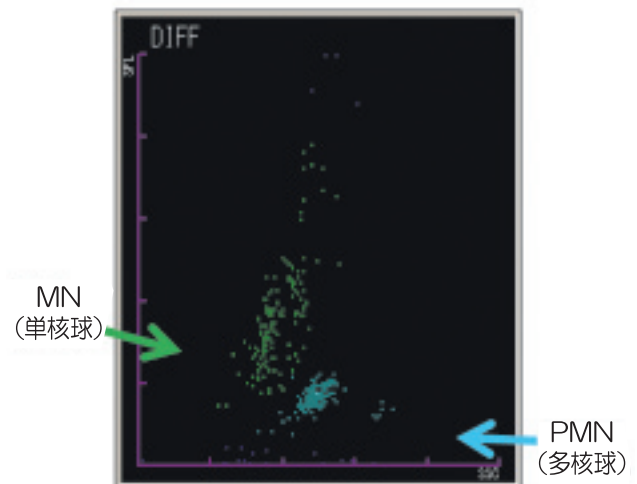


図 1. スキヤッタグラム

概要

吸引量：130 μ L

項目：赤血球数, 白血球数, MN (単核球数・%),
PMN (多核球数・%), HF-BF (数・%),
TF-BF 数

処理能力：38 検体 / 時間

検討方法および結果

1. 同時再現性

2 種類の試料を用いて各々 5 重測定した (表 1)。
細胞数 7 個 / μ L の試料 (試料 1) では, 細胞数の CV

は 26.7%, MN (%) の CV は 9.7%, PMN (%) の CV は 58.4% となり, 細胞数 67.6 個 / μ L の試料 (試料 2) では, 細胞数の CV は 9.7%, MN (%) の CV は 13.2%, PMN (%) の CV は 5.6% となった。

2. 低値領域での分画の感度

低値領域での分画の感度を検討するため, 健康人末梢血を生理食塩水で 200 倍および 300 倍希釈した検体を各々 5 重測定した (表 2)。300 倍希釈の分画では CV が 10% 以上だったが, 200 倍希釈の分画では CV が 10% 以下であった。

表 1. 同時再現性 (n=5)

試料 1

	細胞数 (個 / μ L)	MN (%)	PMN (%)
1	6.0	83.3	16.7
2	7.0	100.0	0.0
3	10.0	80.0	20.0
4	7.0	85.7	14.3
5	5.0	80.0	20.0
MEAN	7.0	85.8	14.2
SD	1.87	8.29	8.29
CV%	26.7	9.7	58.4
MAX	10.0	100.0	20.0
MIN	5.0	80.0	0.0
Range	5.0	20.0	20.0

試料 2

	細胞数 (個 / μ L)	MN (%)	PMN (%)
1	77.0	28.6	67.7
2	60.0	36.7	63.3
3	65.0	32.3	67.7
4	71.0	36.6	63.4
5	65.0	27.7	72.3
MEAN	67.6	32.4	66.9
SD	6.54	4.26	3.73
CV%	9.7	13.2	5.6
MAX	77.0	36.7	72.3
MIN	60.0	27.7	63.3
Range	17.0	9.0	9.0

表 2. 分画の感度 (n=5)

300 倍希釈検体 (細胞数 13 個 / μ L)

	MN (%)	PMN (%)
1	69.2	30.8
2	53.8	46.2
3	54.5	45.5
4	53.8	46.2
5	50.0	50.0
MEAN	56.3	43.7
SD	7.45	7.45
CV%	13.2	17.0
MAX	69.2	50.0
MIN	50.0	30.8
Range	19.2	19.2

200 倍希釈検体 (細胞数 21 個 / μ L)

	MN (%)	PMN (%)
1	56.0	44.0
2	57.1	42.9
3	60.0	40.0
4	52.9	47.1
5	61.9	38.1
MEAN	57.6	42.4
SD	3.5	3.5
CV%	6.1	8.3
MAX	61.9	47.1
MIN	52.9	38.1
Range	9.0	9.0

3. 相関

細胞数算定および細胞分画における目視法との相関を図2, 3に示す。目視法は髄液検査法 2002⁴⁾に準じ、サムソン染色液で希釈した検体をフックス・ローゼンタル計算盤を用いて算出した。細胞数 (n = 50) は $Y = 0.76X + 12.76$ 相関係数 $r = 0.97$ となり、細胞数 200 個/μL 以下では $Y = 1.01X + 3.38$ 相関係数 $r = 0.95$ となった。単核球は $Y = 0.90X - 3.35$ 相関係数 $r = 0.86$ 、多核球は $Y = 0.90X + 13.02$ 相関係数 $r = 0.86$ とほぼ良好な相関を示したが、乖離した検体もあった。髄液の色調が無色と赤～黄色の検体を比べると、無色の髄液の方が良好な相関を示した。また、乖離

した検体はドレーン検体 (図 4-A, 4-B) で変性した細胞が多く認められ、スクエッタグラムでは MN と PMN のクラスターが重なり、PMN が側方散乱光強度の低い領域にプロットされていた。

4. 採取経過後の再現性

目視法で細胞数 39 個/μL、単核球 93%、多核球 7% の検体を髄液採取から 3 時間経過した後、XE-5000 で 5 重測定した。細胞数の CV 12.1%、MN (%) の CV 16.3%、PMN (%) の CV 56.8% となり、PMN (%) の CV は大きく、目視法と比べると高値傾向となった (表 3)。

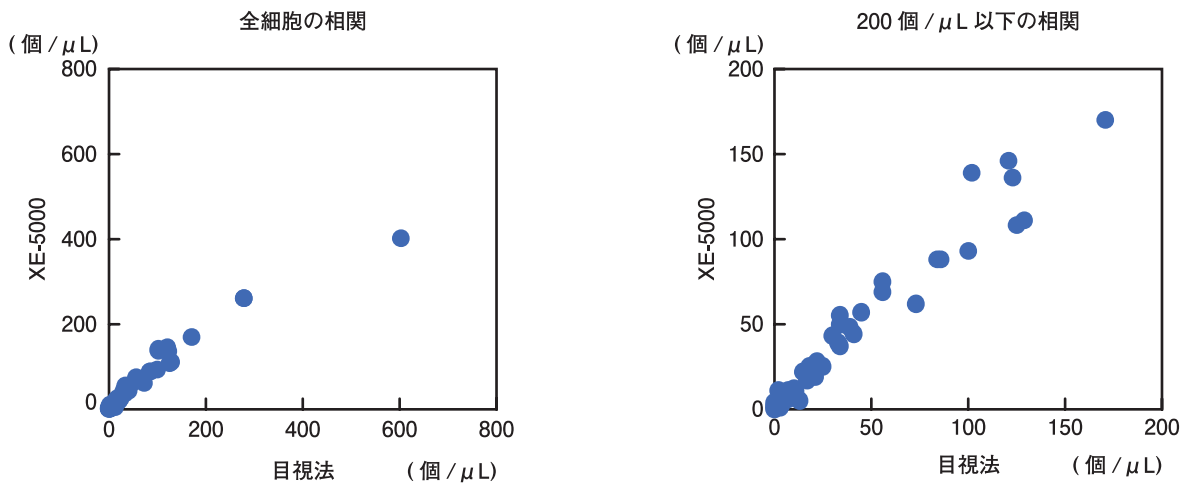


図2. 細胞数の相関

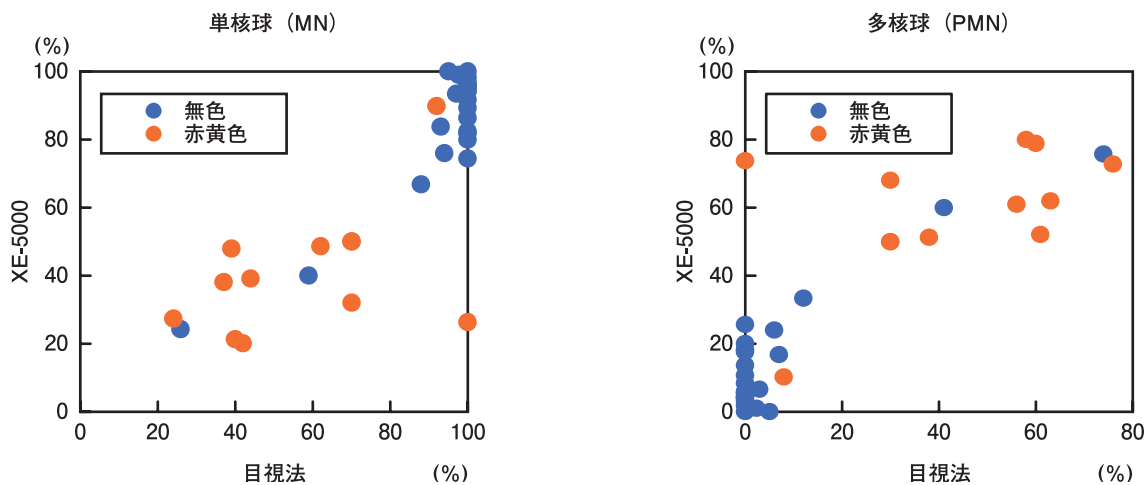


図3. 分画の相関

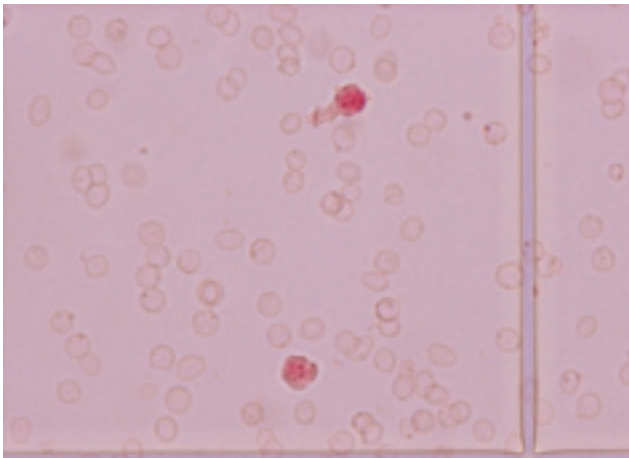


図4-A. ドレーン検体 (×400倍, サムソン液)

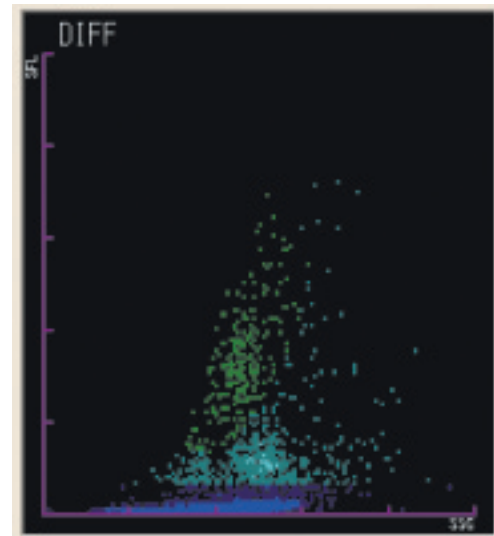


図4-B. ドレーン検体 (スキヤッタグラム)

表3. 採取3時間後 (n=5)

	細胞数 (個/μL)	MN (%)	PMN (%)
1	48.0	83.3	16.7
2	53.0	69.8	30.2
3	40.0	92.5	7.5
4	41.0	82.9	17.1
5	43.0	60.5	39.5
MEAN	45.0	77.9	22.2
SD	5.43	12.66	12.61
CV%	12.1	16.3	56.8
MAX	53.0	92.5	39.5
MIN	40.0	60.5	7.5
Range	13.0	32.0	32.0

5. 経時変化

急性リンパ性白血病細胞が髄液中に浸潤した検体の採取直後と室温で150分静置後を比較した。採取直後の結果(図5-A, 5-B)は、細胞数399個/μL, MN(%)98.0%, PMN(%)2.0%であった。室温静置150分後の結果(図6-A, 6-B)は、細胞数286個/μL, MN(%)56.6%, PMN(%)43.4%と大きく変化した。採取直後に比べると細胞数は減少し、分画では

PMN(%)が高値となった。また、スキヤッタグラムのパターンも、採取直後と室温150分後では変化した。採取直後はMNとPMNのプロットが分かれていたが、室温150分後ではMNとPMNのプロットは重なり、PMNがスキヤッタグラムの側方散乱光強度の低い領域にプロットされており、ドレーン検体と同様のパターンを示した。

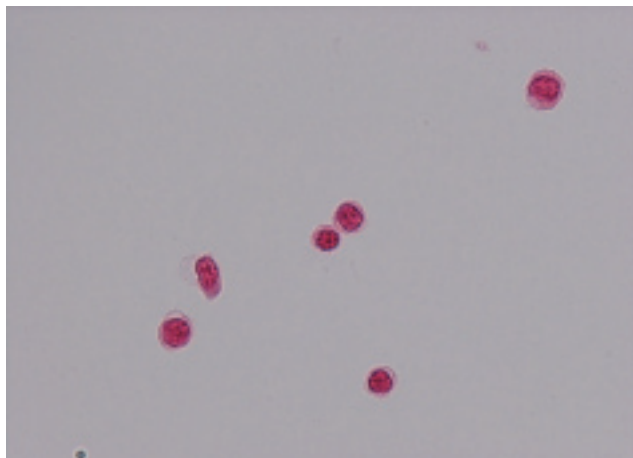
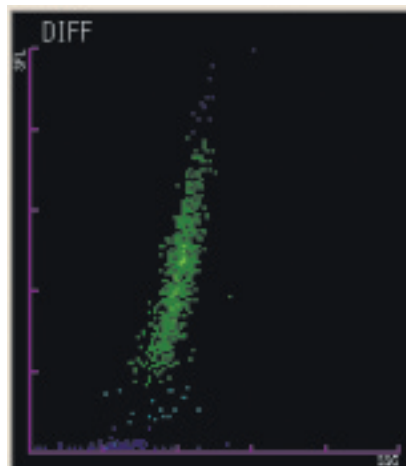


図5-A. 採取直後 (×400倍, サムソン液)



項目	直後
WBC (個/μL)	399
MN (%)	98.0
PMN (%)	2.0

図5-B. 採取直後 スキャッタグラム

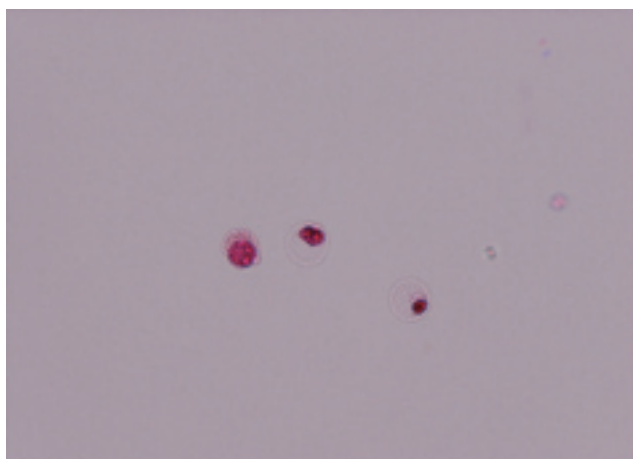
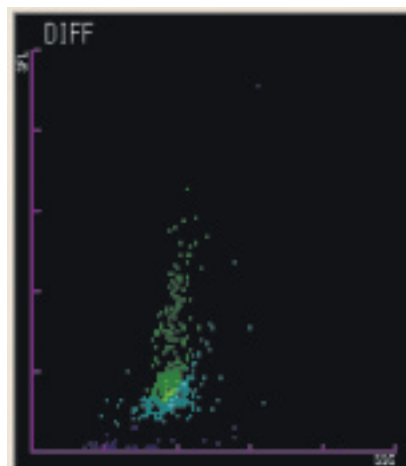


図6-A. 採取150分後 (×400倍, サムソン液)



項目	150分後
WBC (個/μL)	286
MN (%)	56.6
PMN (%)	43.4

図6-B. 採取150分後 スキャッタグラム

考 察

XE-5000 を検討した結果、同時再現性は細胞数 7 個 / μL の試料では細胞数・分画ともにバラツキがあり、細胞数 67.6 個 / μL の高値検体では良好な結果となった。分画の感度について検討を行った結果、細胞数 13 個 / μL の試料では、MN (%) の CV は 13.2%、PMN (%) の CV は 17.0% とバラツキが認められたが、細胞数 21 個 / μL の試料では、MN (%) の CV は 6.1%、PMN (%) の CV は 8.3% と良好な結果となった。この結果から、分画の信頼性は、細胞数 20 個 / μL 以上と考えられた。

目視法との相関では、細胞数 ($n=50$) は $Y=0.76X+12.76$ $r=0.97$ と良好な相関となった。分画では、単核球 $Y=0.90X-3.35$ $r=0.86$ 、多核球 $Y=0.90X+13.02$ $r=0.86$ とほぼ良好な相関を示したが、目視法と比べると XE-5000 は PMN を高めにカウントする傾向があった。また、血性髄液やキサントクロミーの検体に比べ、無色の検体の方が良好な相関を示した。細胞が変性した検体の分画は目視法と乖離する傾向があり、スキヤッタグラムも図 4 のように MN と PMN のクラスターが重なり、スキヤッタグラムの側方散乱光強度の低い領域に PMN がプロットされる傾向が見受けられた。したがって、XE-5000 は、ドレーン検体のような変性した細胞が認められる検体の分画には不向きと考えられた。

採取から 3 時間経過した検体を 5 重測定した結果は、細胞数で CV 12.1%、MN (%) で CV 16.3%、PMN (%) で CV 56.8% となり、採取直後に比べると PMN (%) の CV は大きく、高値になる傾向が認められた。採取から時間が経過した検体の分画もドレーン検体と同様に不向きと考えられた。

経時変化の結果では、採取直後は細胞数 399 個 / μL 、MN (%) 98.0%、PMN (%) 2.0% であったものが、室温静置 150 分後には、細胞数 286 個 / μL 、MN (%) 56.6%、PMN (%) 43.4% となり、細胞数は減少し PMN (%) が上昇した。髄液細胞は変性が早く、室温保存では 2 時間後に約 30% の細胞が崩壊・変性し、好中球はリンパ球に比べて変性が早いとの報告がある⁶⁾。XE-5000 では室温静置 150 分後には細胞数は減少したが、MN (%) は低下し PMN (%) は上昇し、

図 6 のように変性した細胞が認められた。このことから、ドレーン検体や髄液採取から時間が経過した検体で多核球 (PMN) が目視法と比べると XE-5000 で高値となるのは、変性した細胞が多核球 (PMN) にカウントされるためと考えられた。また、スキヤッタグラムも MN と PMN のクラスターが重なり、側方散乱光強度の低い領域に PMN がプロットされている場合は目視法と乖離が認められ、ドレーン検体と同様に分画は信頼性に欠けると考えられた。

以上のことから、髄液の細胞数の算定は報告できるが、分画の場合は採取から時間が経過した場合やドレーン検体のような変性した細胞が認められる検体は、分画の信頼性に欠けると判断される。このため、分画の報告は採取直後でドレーンを除いた検体とし、スキヤッタグラムのパターンを確認するなどの一定の条件が必要と考えられた。また、検査時は採取した時間も把握する必要がある。

XE-5000 はドレーン検体の分画には不向きだが、操作は簡便で目視法との相関も良好であり、休日・夜間の髄液細胞検査に有用と考えられた。

結 語

XE-5000 は、休日・夜間の髄液細胞検査に有用と考えられた。

参 考 文 献

- 1) 金井 泉, 金井正光 編. 臨床検査法提要. 改訂第31版. 東京: 金原出版; 1998. 1953p.
- 2) 大田喜孝, 伊藤園江, 田平泰徳. 技術講座: 実践 髄液一般検査法. 検査と技術. 2007; 35(8): 793-747.
- 3) 石山雅大. 髄液の採取と検査の進め方. Medical Technology. 2003; 31(5): 472-475.
- 4) 大田喜孝 他. 技術講座: 髄液一般検査の新たな展開. 検査と技術. 2003; 31(9): 793-800.
- 5) 田中千晶 他. 多項目自動血球分析装置 XE-5000 の概要と基礎性能. Sysmex J. 2007; 30: 63-69.
- 6) (社) 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 編. 髄液検査法2002. 東京: (社) 日本臨床衛生検査技師会; 2002. 28-29.

Application of the Automated Hematology Analyzer XE-5000 in Analysis of Cerebrospinal Fluid

Masami TANAKA, Kenichi SHUKUYA, Nobuko KANNO, Hiromitsu YOKOTA,
Tatsuo SHIMOSAWA and Yutaka YATOMI

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

SUMMARY

XE-5000 is applicable for not only peripheral blood cells but also blood cells in cerebrospinal fluid (CSF) . In this study, we evaluated the sensitivity and specificity of XE-5000 in analysis of blood cells in CSF, especially monocytes and polynuclear cells. In sample of 7 cells/ μL , its coefficient of variance was large. In a sample of relatively high number of cells, however, it was small and clinically applicable. Although the correlation of cell counts between XE-5000 and microscopy was good, in samples with degenerated cells that of differentiation of monocytes and polynuclear cells was poor. It was concluded that XE-5000 is applicable in CSF with high cell counts unless the sample is obtained from drainage, in which cell degeneration is highly observed.

Key Words Automated Hematology Analyzer, XE-5000, Cerebrospinal Fluid
