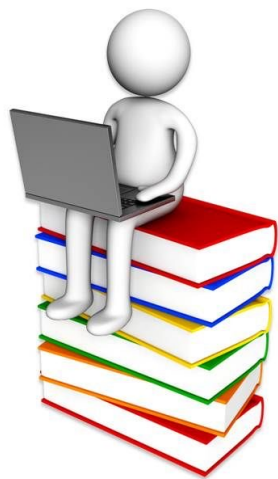


基本から再確認！

血液分析装置から見る血液検査



防衛医科大学校病院
中山智史

はじめに

血液検査の異常をいち早くに察知するのは

“血液分析装置の結果を判定する担当者”

形態検査の担当者も精度高く観察するためには

分析装置から得られる情報の理解が不可欠



そのために、、、

血液分析装置から得られる情報

- 数値データ
- 粒度分布図（ヒストグラム）
- スキャッタグラム
- IPメッセージ

臨床へ正しい情報を提供するには分析機器からの情報をうまく活用する必要がある。

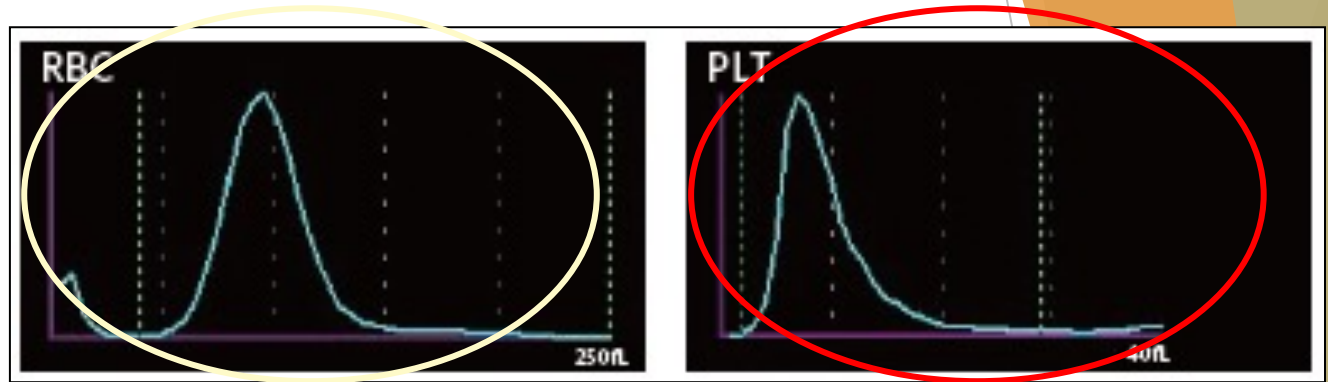
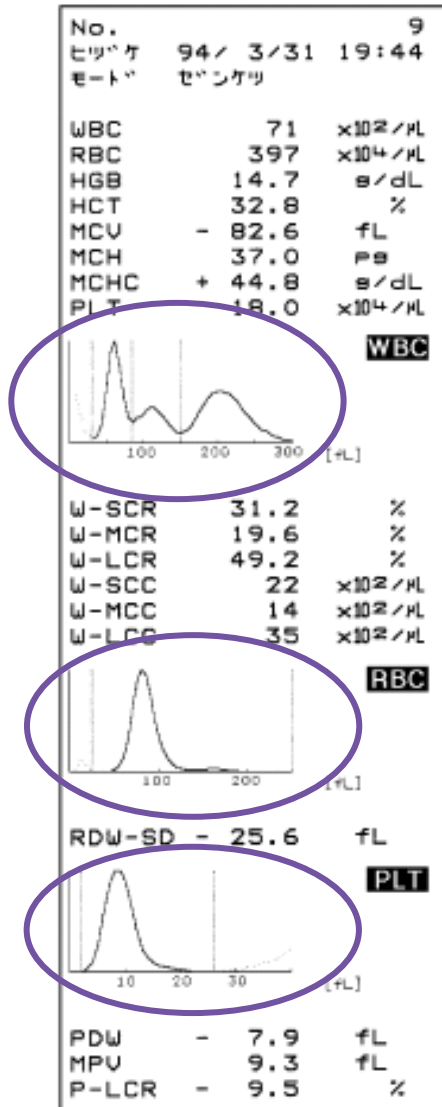
本日の内容

- 電気抵抗法について
- 粒度分布の異常を再確認
- フローサイトメトリー法について
- フローサイトメトリー法の異常の再確認

本日の内容

- 電気抵抗法について
- 粒度分布の異常を再確認
- フローサイトメトリー法について
- フローサイトメトリー法の異常の再確認

粒度分布図 (ヒストグラム)



ヒストグラムとは…

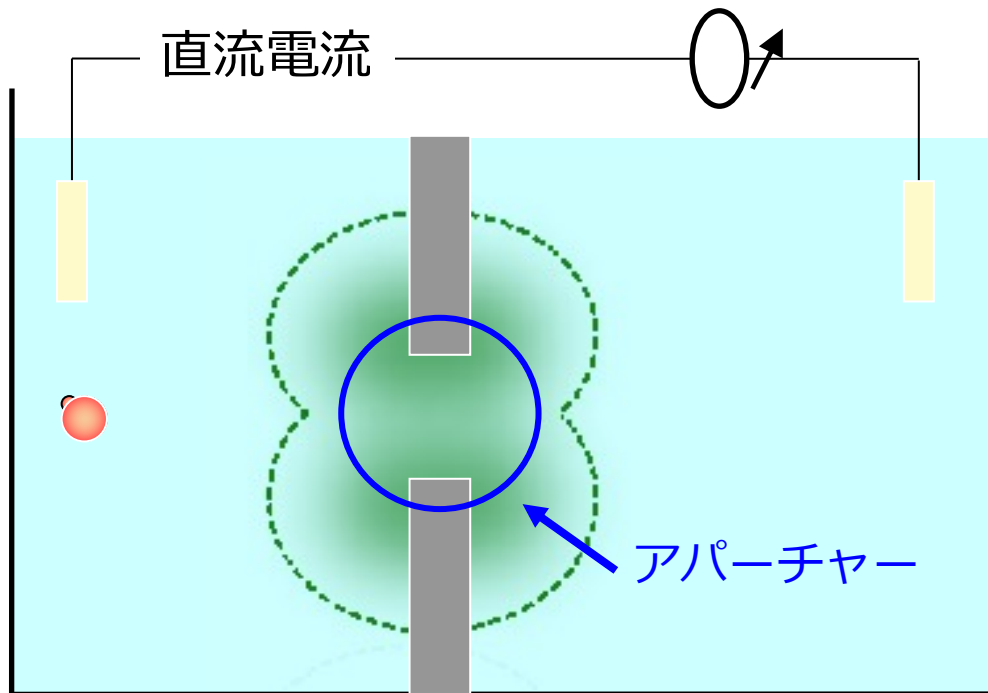
- 横軸に「大きさ」、縦軸に「頻度 (数)」を取ったグラフ
- 正常な造血の場合、血球は、ほぼ一様な大きさをとるため鋭い山のピークが描かれる。
- ヒストグラムの形状の乱れから、病態や疾患を推測することが可能な場合が多い

電気抵抗方式

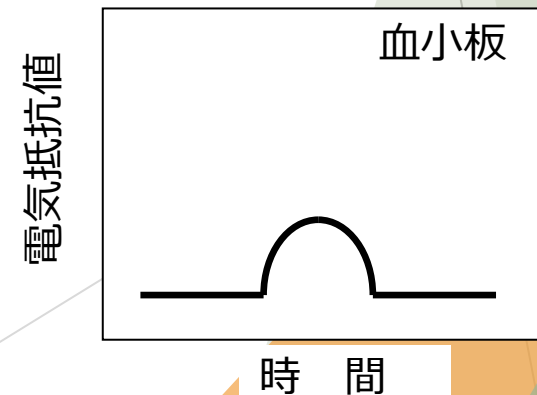
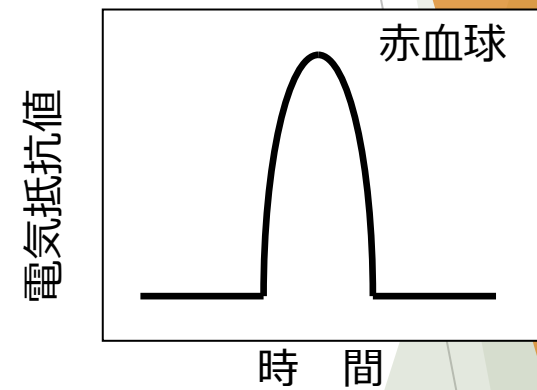
血球の通過 → 電気抵抗値の変化 → パルスとして検出

血球がアパーチャーを通過した時の電気抵抗信号は・・・

- ① 信号の大きさは通過した細胞の容積に比例する
- ② 電気抵抗の変化の回数 = 細胞の数である

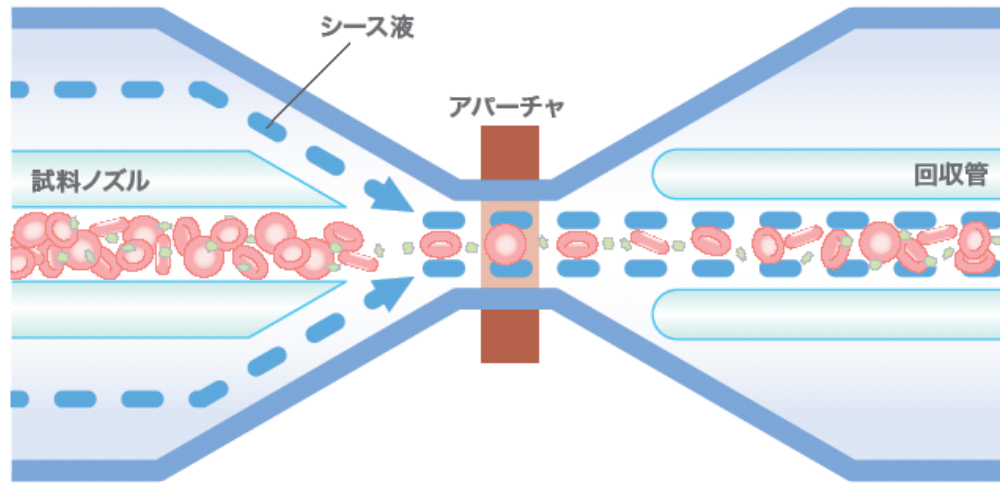


有感域(電気抵抗値の変化が見られる領域)



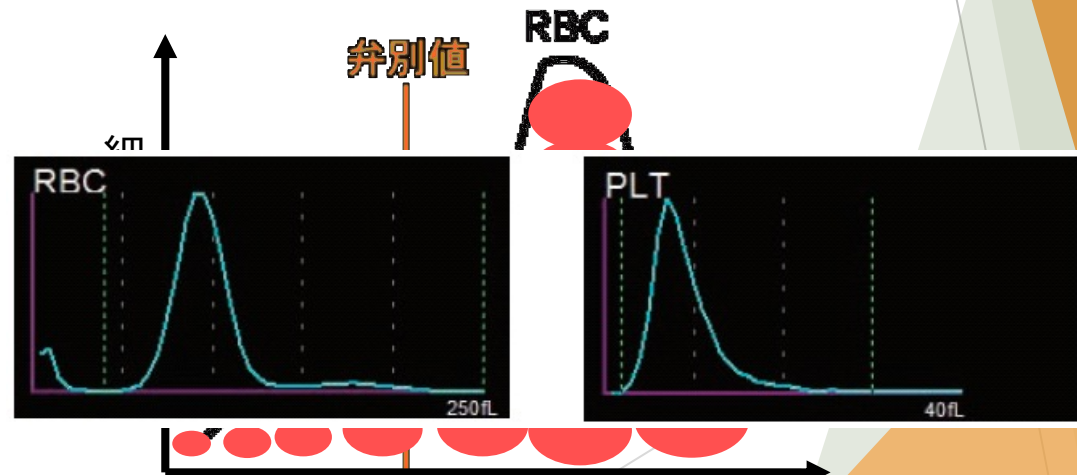
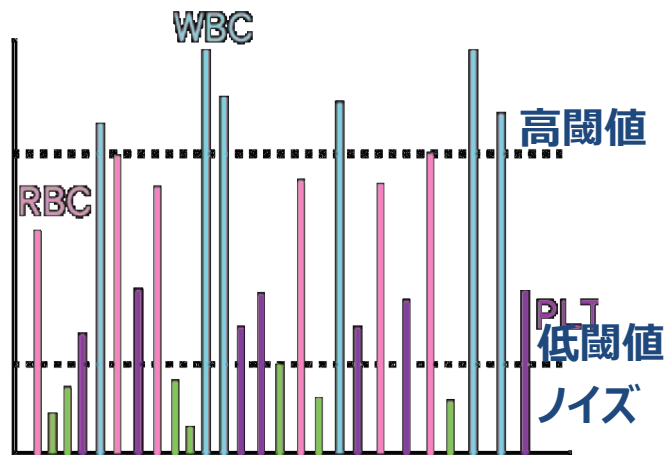
赤血球・血小板測定法 シースフローDC検出法

希釈液：セルパックⅡ（500倍希釈）

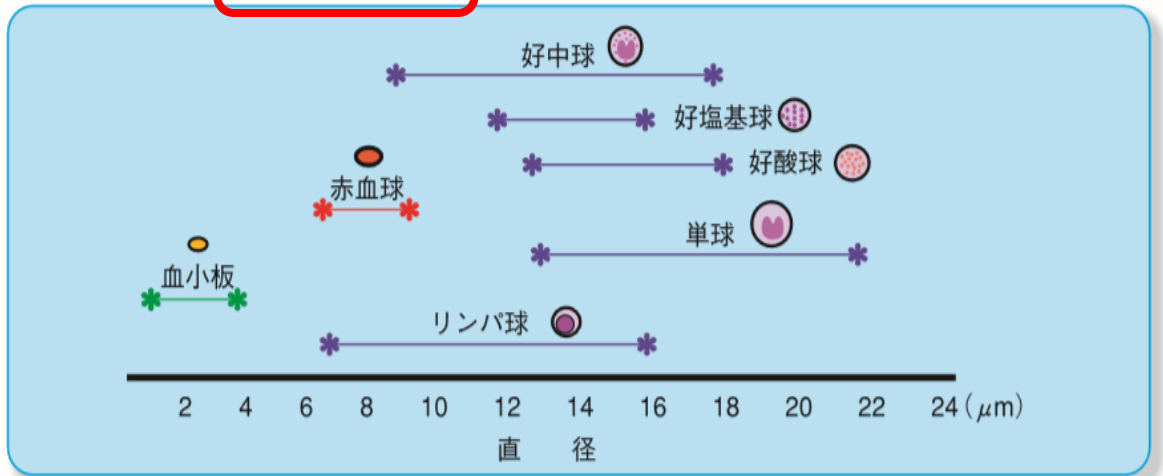


電気抵抗方式の長所

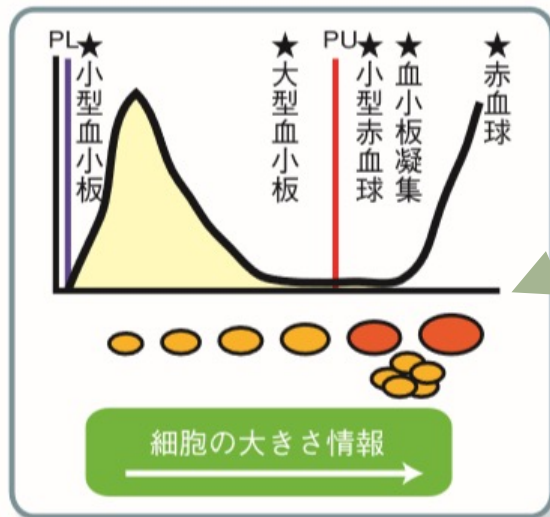
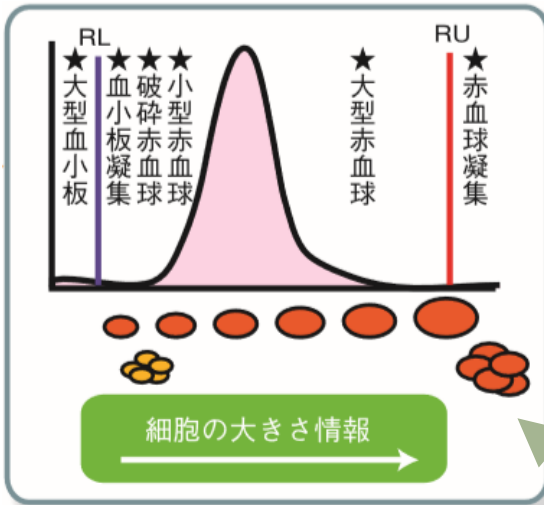
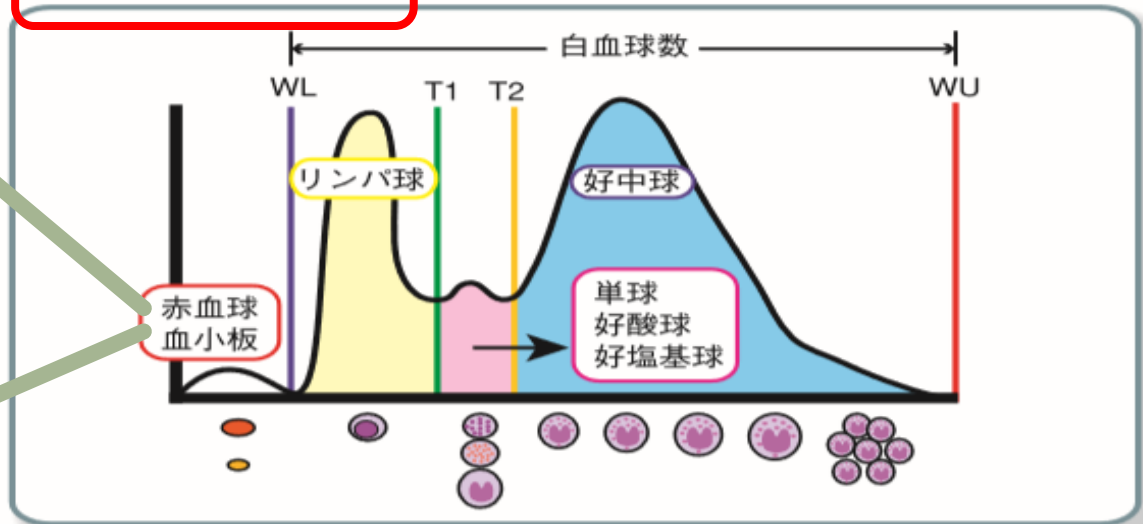
- 粒子カウント数が多く、再現性に優れている。
- サイズ情報（体積）が正確。



溶血剤添加前 (塗抹標本上での大きさ)



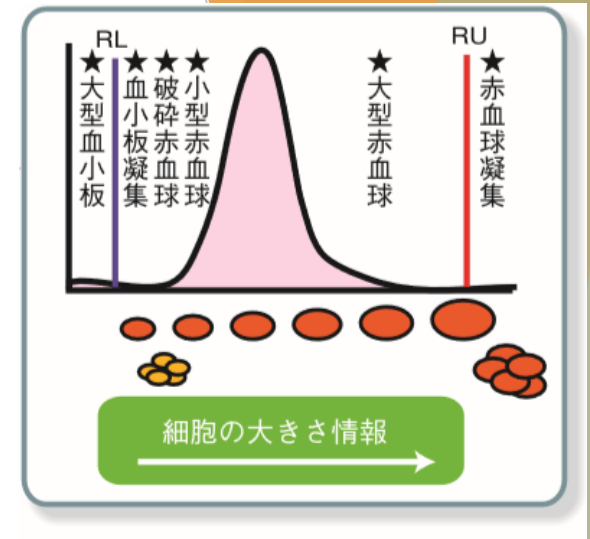
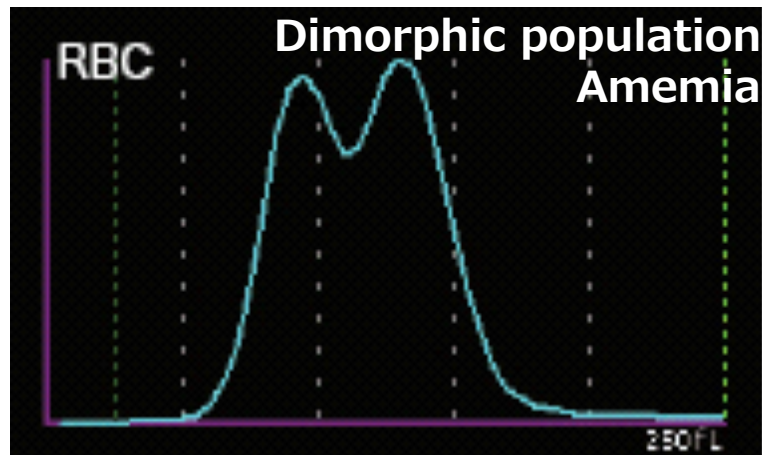
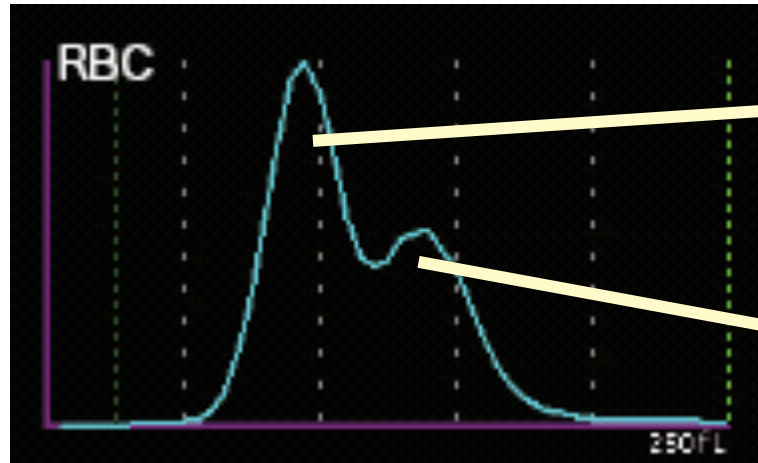
溶血剤添加後 (粒度分布図上での大きさ)



本日の内容

- 電気抵抗法について
- **粒度分布の異常を再確認**
- フローサイトメトリー法について
- フローサイトメトリー法の異常の再確認

2峰性ヒストグラム



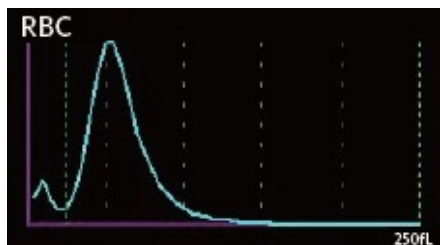
Point : 2峰性のRBCヒストグラム

- ・ 貧血の回復期
- ・ RCC輸血後
- ・ 鉄芽球性貧血

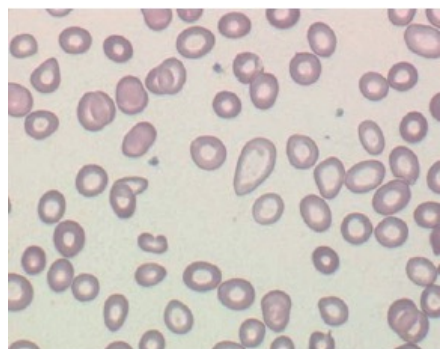
など

症例 1 : 鉄欠乏性貧血の回復

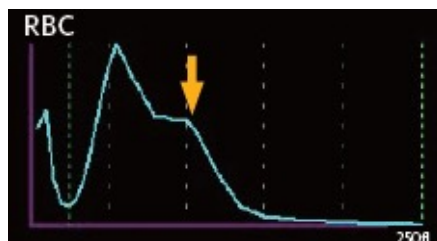
Day 0



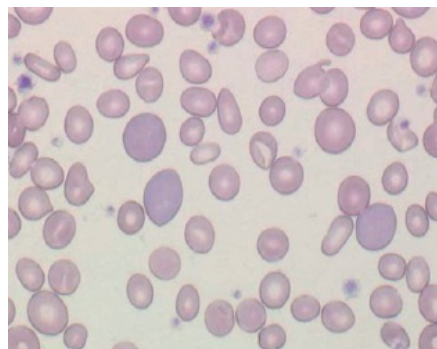
RBC	316	10 ⁴ /μL	
HGB	4.1	g/dL	-
HCT	18.7	%	-
MCV	59.2	fL	-
MCH	13.0	pg	-
MCHC	21.9	g/dL	-



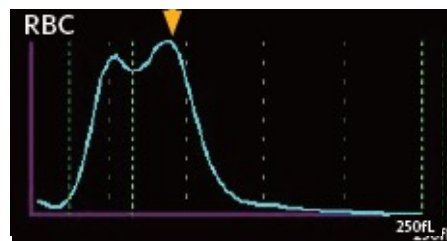
Day 7



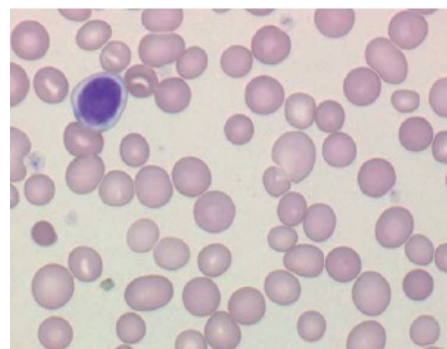
RBC	348	10 ⁴ /μL	*
HGB	5.3	g/dL	-
HCT	23.5	%	*
MCV	67.5	fL	*
MCH	15.2	pg	*
MCHC	22.6	g/dL	*



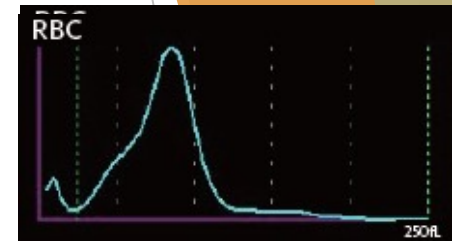
Day 15



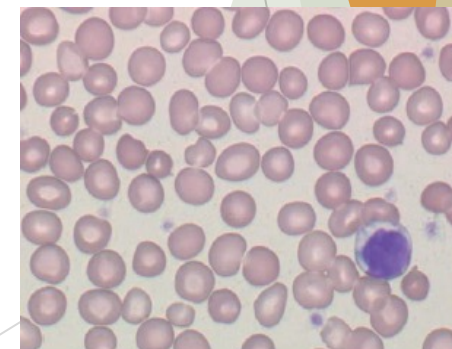
RBC	517	10 ⁴ /μL	*
HGB	9.2	g/dL	-
HCT	38.6	%	*
MCV	74.7	fL	*
MCH	17.8	pg	*
MCHC	23.8	g/dL	*



Day 29



RBC	541	10 ⁴ /μL	
HGB	11.2	g/dL	-
HCT	42.1	%	-
MCV	77.8	fL	-
MCH	20.7	pg	-
MCHC	26.6	g/dL	-

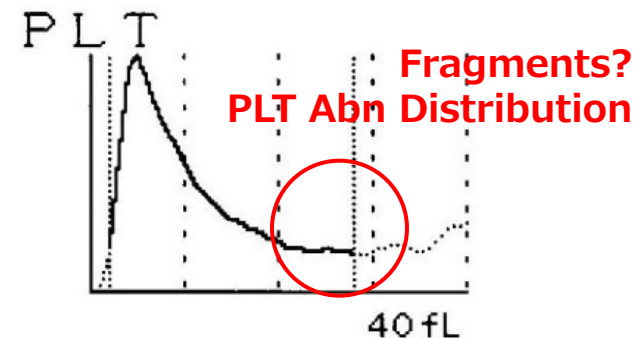
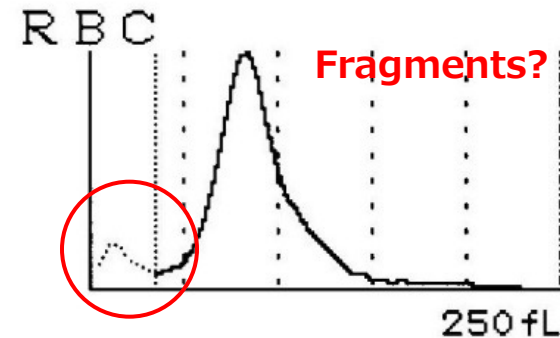
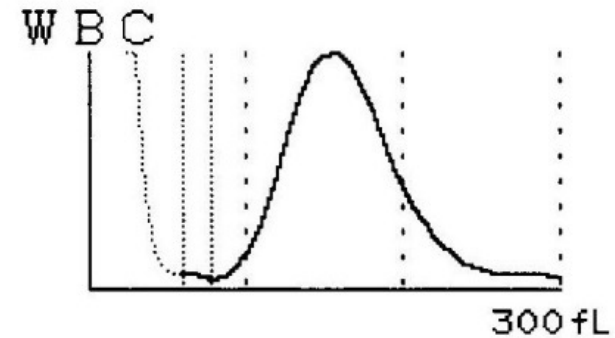


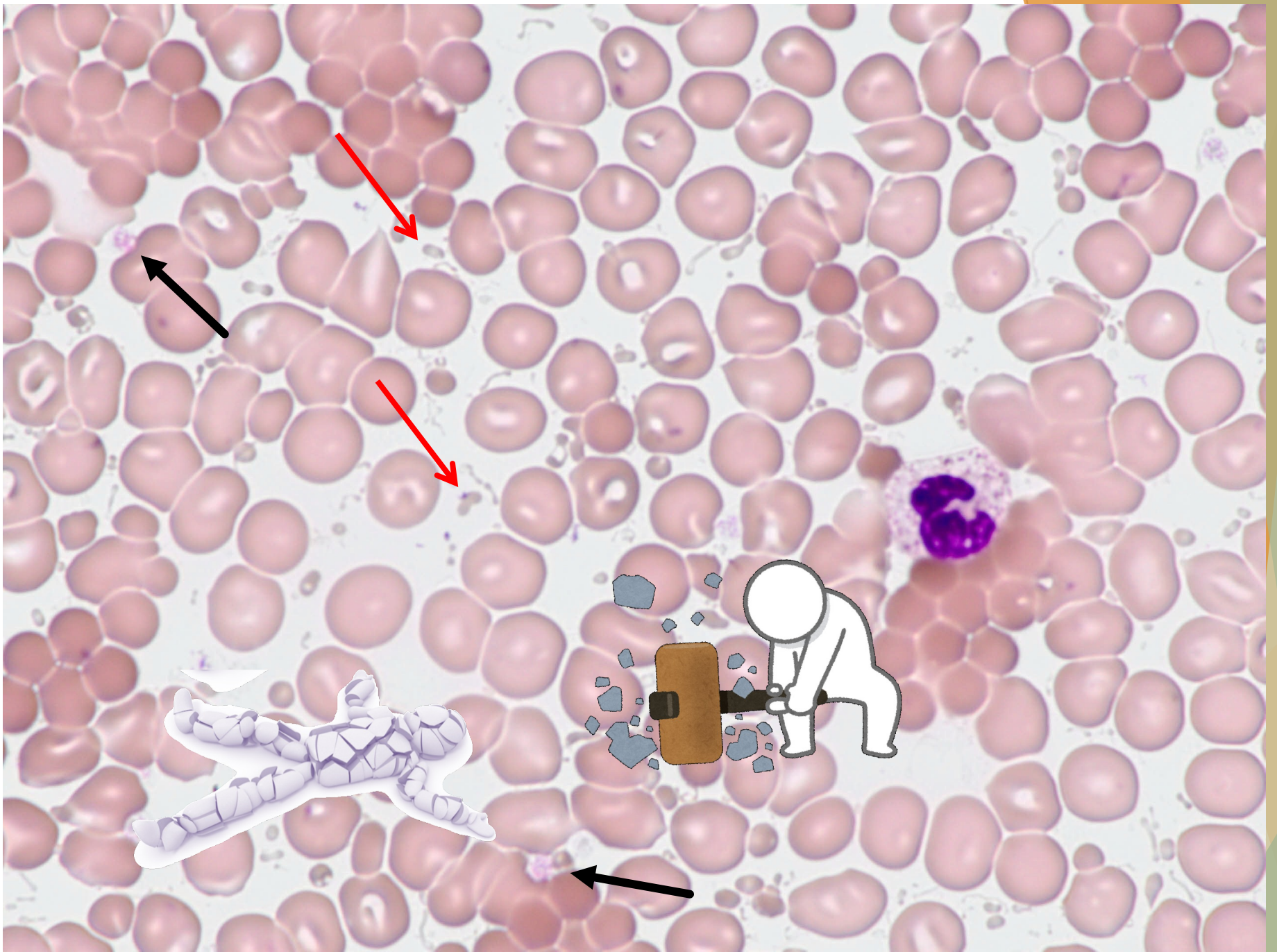
引用 : XN-Series Clinical Case report Vol.2 (Sysmex)

症例 2 : 救命センターからの検体

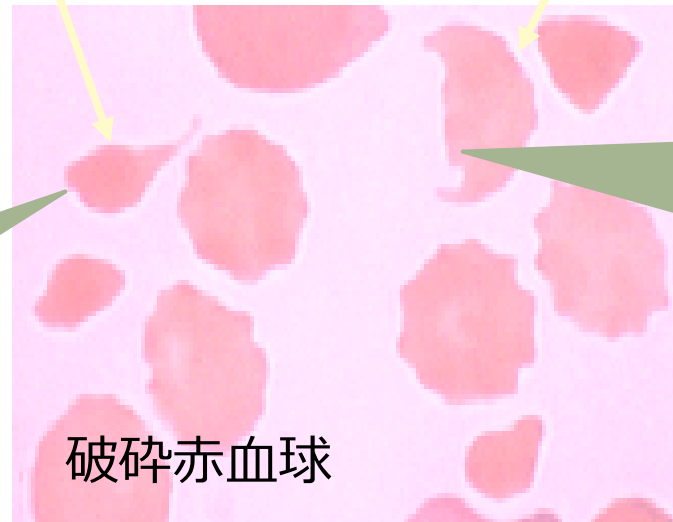
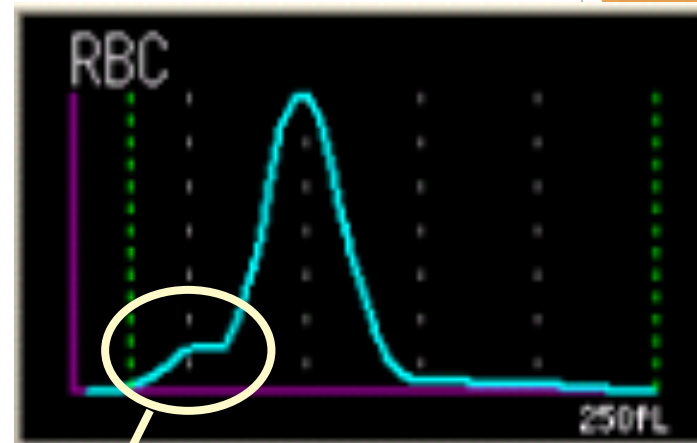
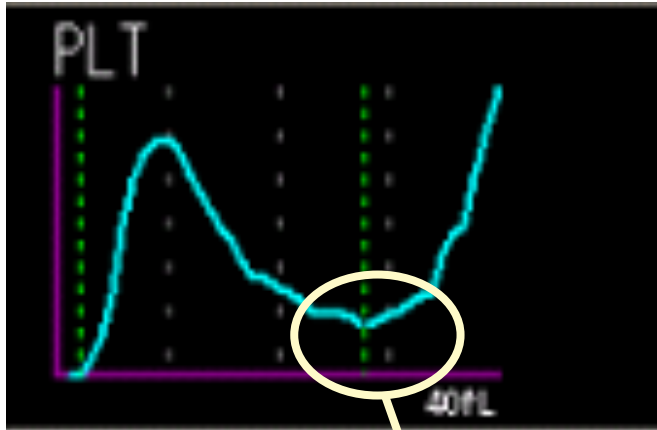
		単位
WBC	32.6	$\times 10^3/\mu\text{L}$
RBC	7.20	$\times 10^6/\mu\text{L}$
Hgb	21.8	g/dL
Hct	61.3	%
MCV	85	fL
MCH	30.3	pg
MCHC	35.6	%
PLT	1184	$\times 10^3/\mu\text{L}$

検体は強溶血





破碎赤血球



補) 極めて小さい小球性の赤血球が出現する事例でも同様の現象が認められることがある。
(MCV<70fL 付近)

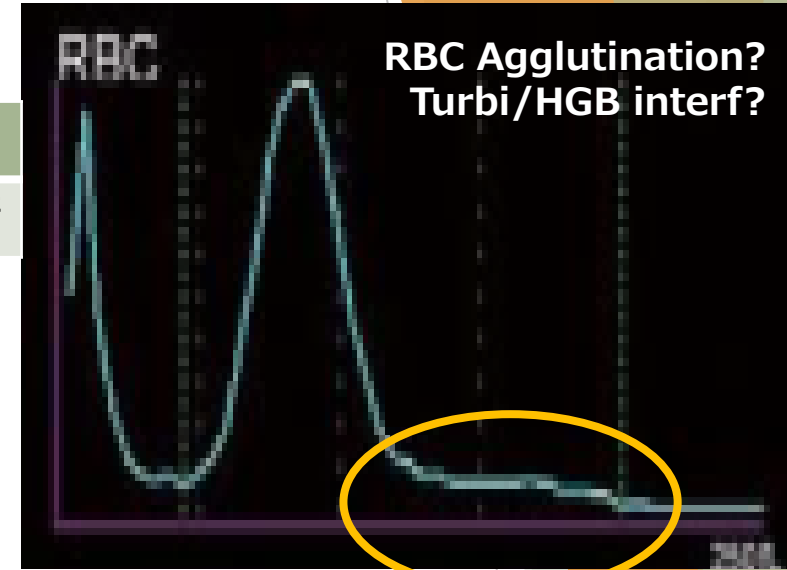
PLTの上限閾値域の上昇とRBCの下限閾値域の上昇(上記ヒストグラム)が同時に発生した場合には、破碎赤血球が出現している可能性が高い。

症例 3 : MCHCが高値

			加温後
WBC	5.2	WBC	7.6
RBC	97	RBC	2.28
Hgb	9.4	Hgb	10.3
Hct	12.0	Hct	30.9
MCV	124	MCV	136
MCH	96.9	MCH	45.2
MCHC	78.3	MCHC	33.3
PLT	422	PLT	373
Retic	エラー	Retic	6.59

寒冷凝集素価

2097152 倍



MCHC38を
超えたら疑う？



赤血球の連銭形成は，血球測定障害は少ない



MCHC高値の原因

(一部の例外を除き37%以上になることはない)

▶ Hgbの偽高値

白血球高値検体、高脂血症、高ビリルビン血症

▶ Hctの偽低値

1.赤血球膜抵抗（膜硬化）の上昇

肝機能障害の患者に多い

2.電解質項目の低下

腎性疾患(利尿剤使用)の患者に多い

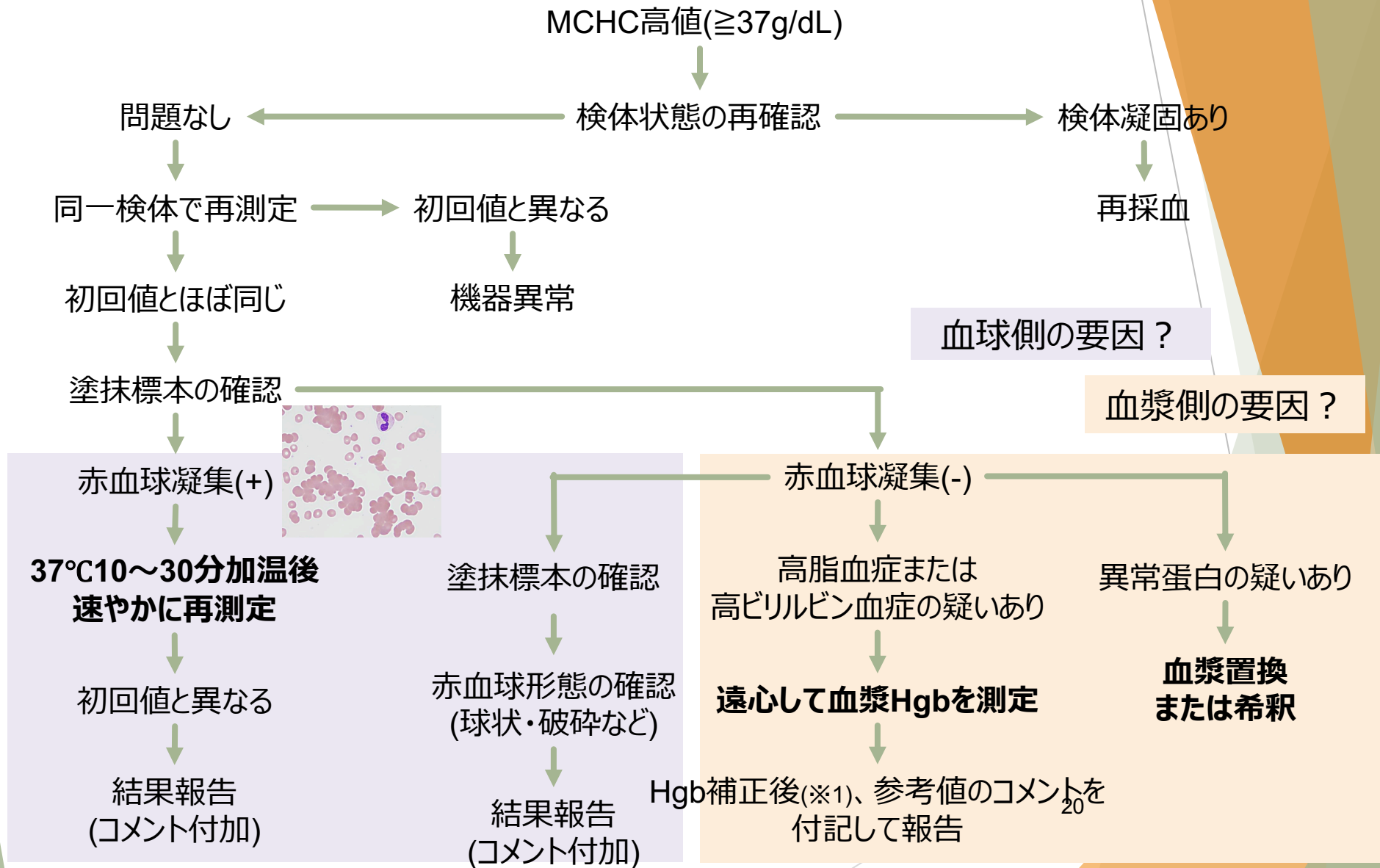
3.赤血球凝集

寒冷凝集素・自己免疫性貧血



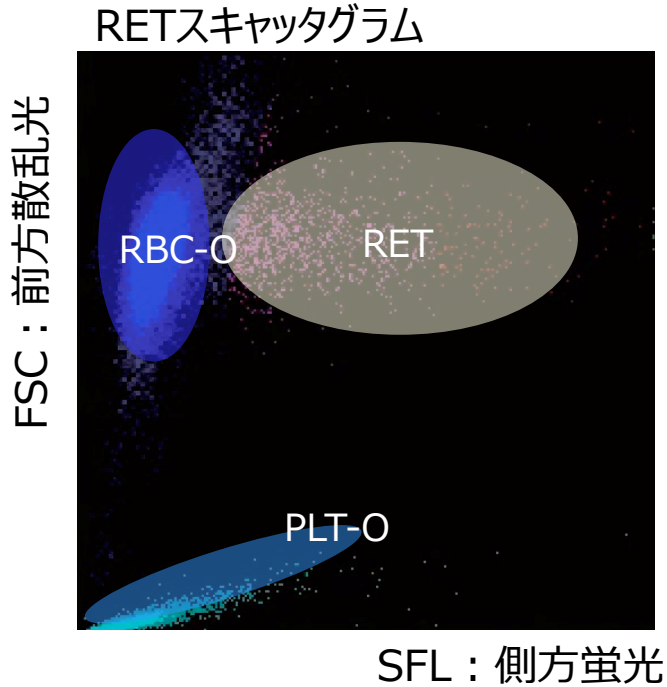
37以上には原因がある

MCHC異常高値の確認事項と誤差要因の対処法



※1 補正Hgb式 = $\text{Hgb} - \text{血漿Hgb値} \times (100 - \text{Hct}) / 10$

光学法による測定結果の利用



寒冷凝集・・・RBC/HCT ↓、MCHC ↑ ↑

RBC-Oが参照可能

強乳び・・・HGB ↑、MCHC ↑

HGB-Oが参照可能

多項目自動血球分析装置 XRシリーズ		
研究用項目		
RET	RBC-He*	RBC-Y (成熟赤血球の前方散乱光強度) とMCHの相関性を利用して、RBC-Yを [pg] 単位に換算したものの [RET-He] - [RBC-He] で表される式により算出される項目
	Delta-He*	[RET-He] - [RBC-He] で表される式により算出される項目
	RET-Y*	RETスキヤッタグラムのRET領域の前方散乱光強度
	RET-RBC-Y*	RETスキヤッタグラムのRBC (成熟赤血球) 領域の前方散乱光強度
	IRF-Y*	RETスキヤッタグラムのIRF領域の前方散乱光強度
	RPI*	Reticulocyte Production Index (網赤血球産生指標)
	RET-UPP*	RETスキヤッタグラムのUPP領域の粒子数
	RET-TNC*	RETスキヤッタグラムのTNC領域の粒子数
	Hypo-He*	RETスキヤッタグラムのRBC (成熟赤血球) 領域の前方散乱光信号の低値領域に出現する粒子数の成熟赤血球に対する比率
	Hvoer-He*	RETスキヤッタグラムのRBC (成熟赤血球) 領域の前方散乱光信号の高値領域に出現する粒子数の成熟赤血球に対する比率
	RBC-O*	RETチャンネルから算出される赤血球数
	PLT-O*	RETチャンネルから算出される血小板数
	FRC#*	RETスキヤッタグラムのRBC領域下方の特定領域に出現する粒子から算出される項目 (絶対数)
	FRC%*	RETスキヤッタグラムのRBC領域下方の特定領域に出現する粒子から算出される項目 (比率)
	HGB-O*	RETチャンネルから算出される色素量
	MCHC-O*	[HGB-O] / [HCT] で表される式により算出される項目
	Delta-HGB*	[HGB] - [HGB-O] で表される式により算出される項目

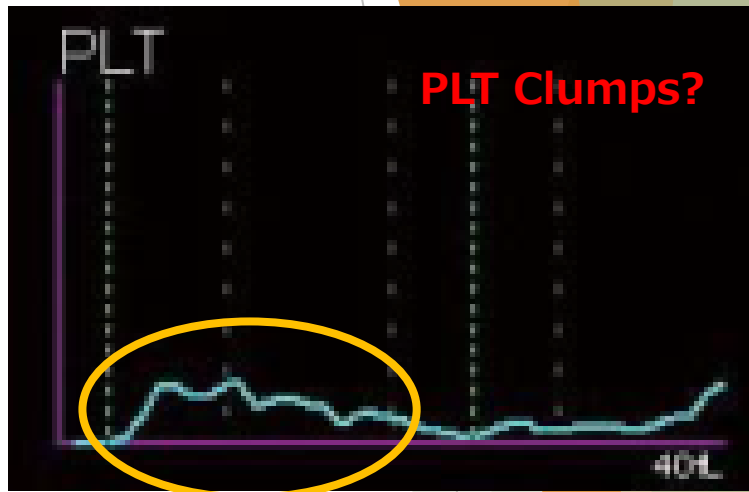
【対策】 1. 希釈測定 2. 乳び血漿Hgb測定し補正 3. 血漿置換し測定

$$\text{補正Hgb値} = (\text{元のHgb値}) - (\text{乳糜血漿のHgb}) \times (100 - \text{Hct}\%) / 100$$

例) 元の検体のHct値が40%、Hgb値が15.0g/dLの場合。乳糜の血漿のHgb値が、1.2g/dLと測定されたとすると、以下の式で補正する。
 = 15 - 1.2 × (100 - 40) / 100 = 15 - 0.72 = 14.3

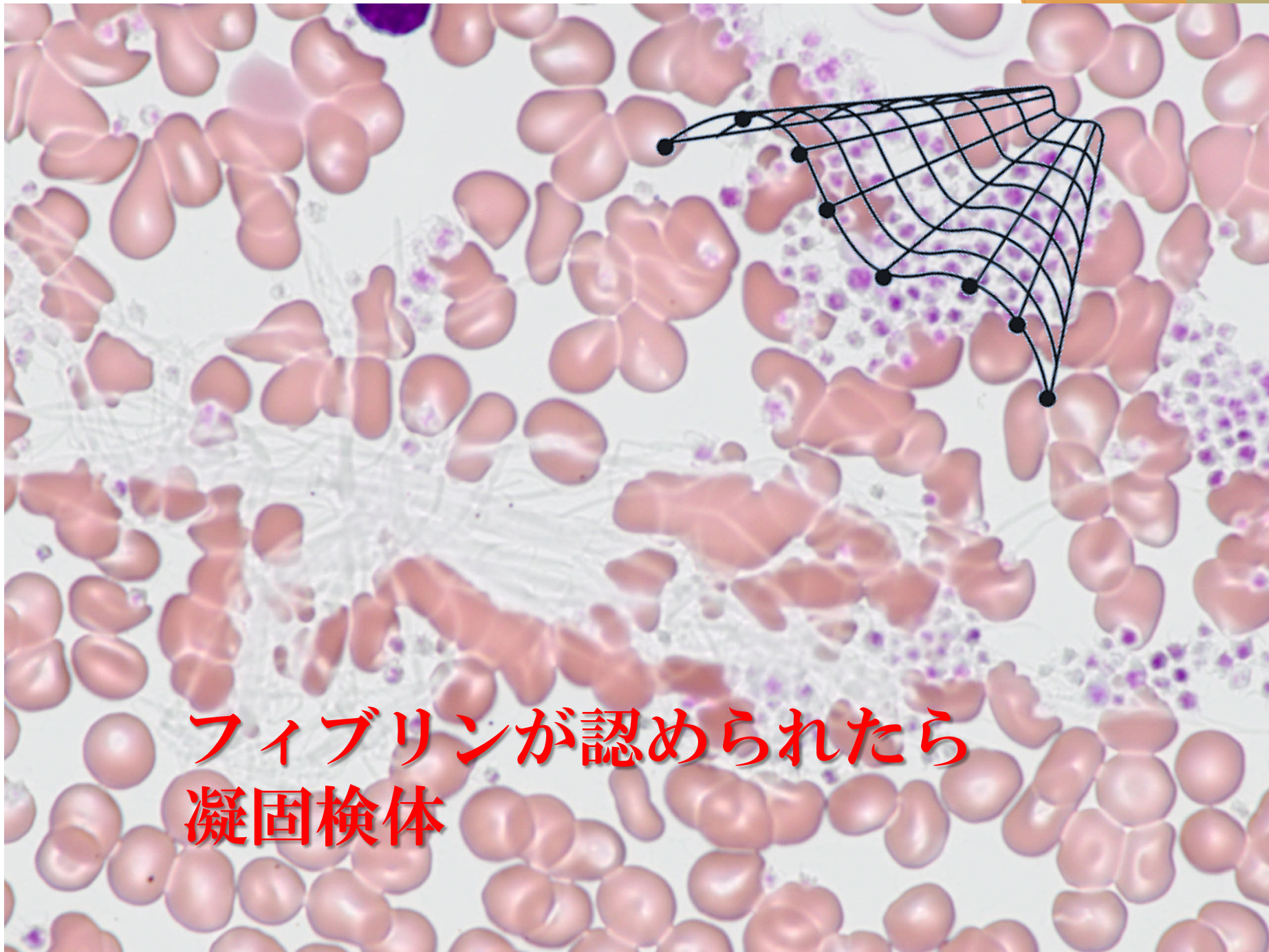
症例 4 : 当院で初診の血算

	初回値		再検査値	単位
WBC	7.5	WBC	7.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$
RBC	4.38	RBC	4.46	$\times 10^6/\mu\text{L}$
Hgb	12.7	Hgb	13.0	g/dL
Hct	38.5	Hct	40.0	%
MCV	88	MCV	90	fL
MCH	29.0	MCH	29.1	pg
MCHC	33.0	MCHC	32.5	%
PLT	39	PLT	15	$\times 10^3/\mu\text{L}$





**フィブリンが認められないときは
EDTA依存性偽性血小板減少症の
可能性あり**



**フィブリンが認められたら
凝固検体**

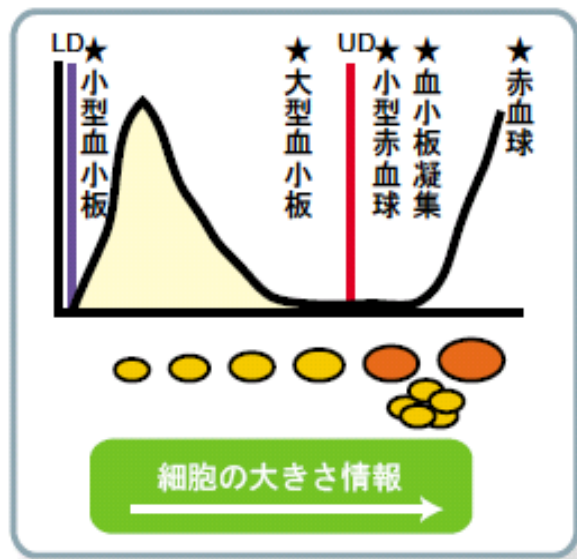
意外に多いEDTA依存性偽性血小板減少症

時間	EDTA	クエン酸Na	視算法	PLT
直後	165	207	178 凝集あり	$\times 10^3/\mu\text{L}$
60分後	38	207		
120分後	33	205		

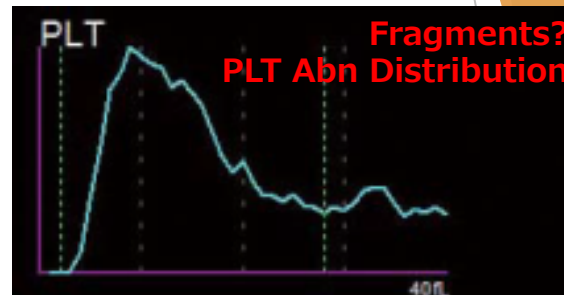
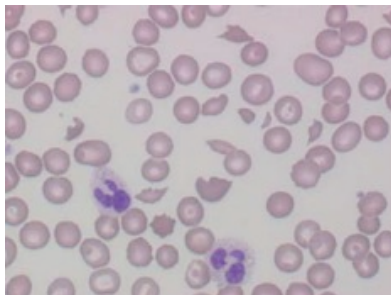
当院では、0.1-0.2%の頻度で血小板凝集塊を形成する。

PLT粒度分布図の異常について

境界線と粒度分布図の交差点が高い場合には**PLT Abn Distribution**が付与される

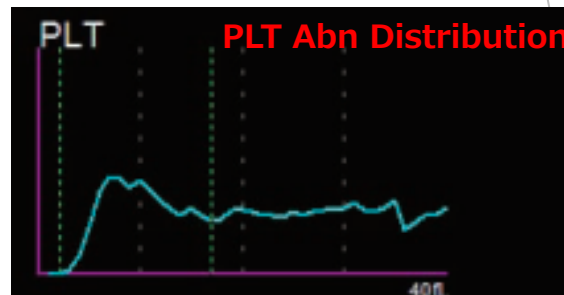
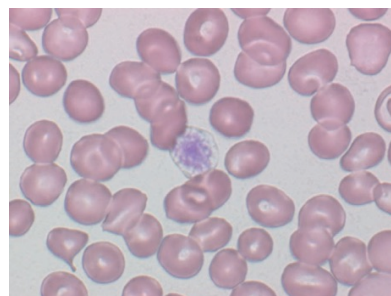


① 破碎赤血球



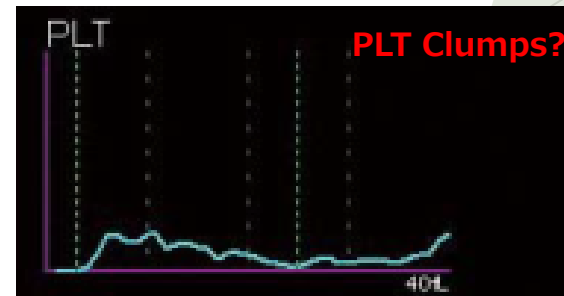
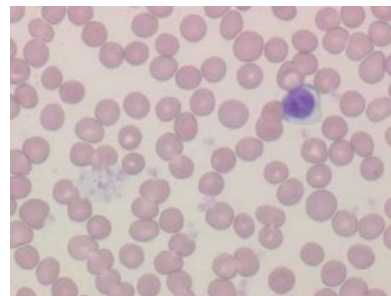
PLT ↑↑

② 巨大血小板



PLT ↓

③ 血小板凝集



PLT ↓↓

血小板の誤差要因

- ✓ 血小板測定には様々な誤差要因が存在する、かつ測定誤差が大きい。
- ✓ 正しいデータを報告するためには誤差要因を理解し適切に対応しなければならない。
- ✓ PLTが正しく測定されていない多くの場合は、装置から出力されるフラグや粒度分布曲線確認することで発見することが出来る。

PLT Abn Distribution : 粒度分布異常

PLT Clumps? : 血小板凝集の疑い

Fragments? : 破碎赤血球の疑い

血小板数確認のフローチャート

初回で血小板低値、または前回値と比較して低値



採血管内凝固の有無を確認

外観で凝固なし

再検査

初回と同じ

標本作製

初回と不一致

機器不良
(吸引異常等)

血小板凝集あり

フィブリン析出(+)

採血手技による
血小板凝集

フィブリン析出(-)

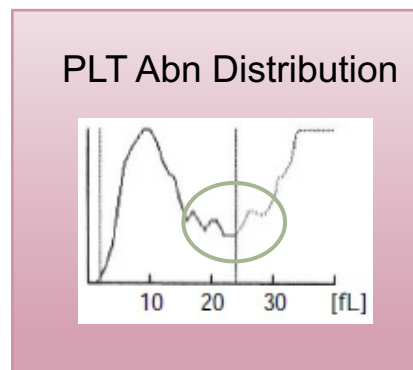
EDTAによる
血小板凝集

血小板凝集なし

形態異常
(巨大血小板等)

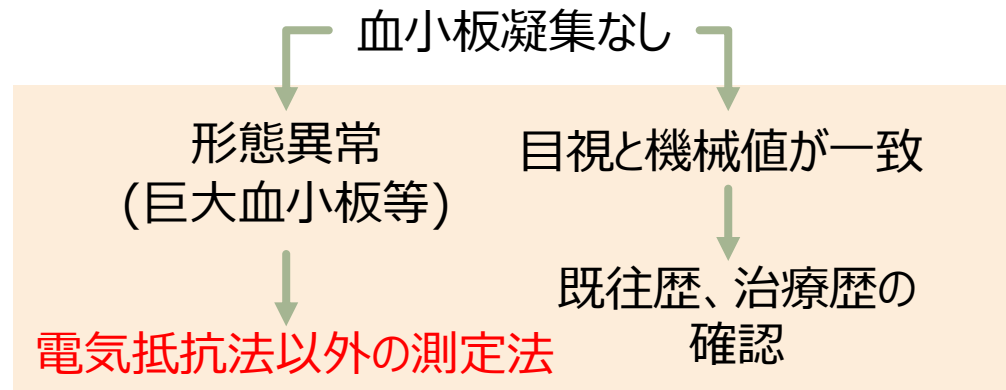
目視と機械値が一致

既往歴、治療歴の
確認

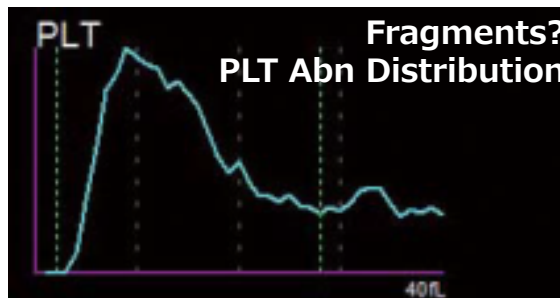
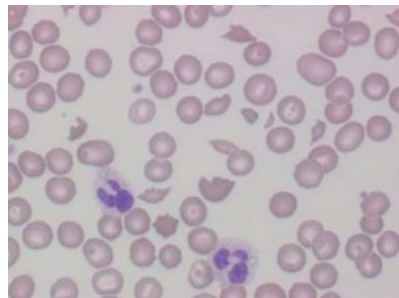


凝固あり

血小板凝集以外の対応

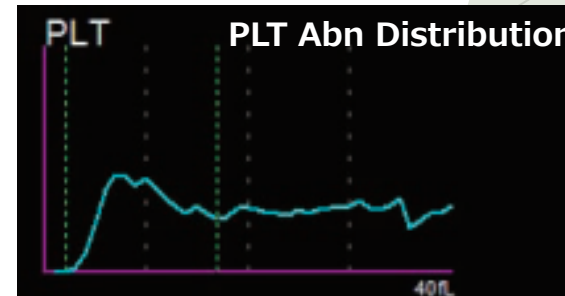
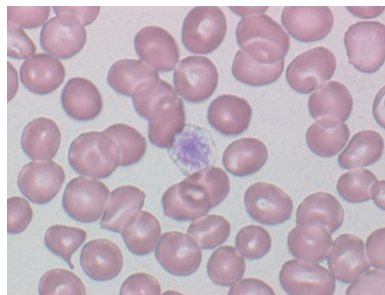


破碎赤血球



PLT ↑↑

巨大血小板

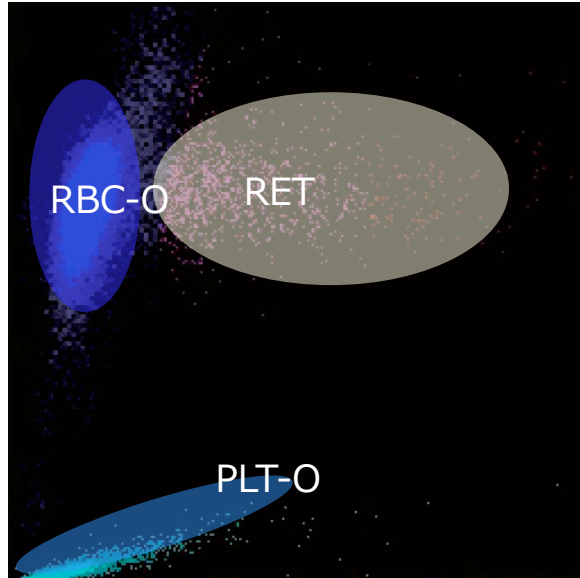


PLT ↓

電気抵抗法以外の測定法

RETスキヤッタグラム

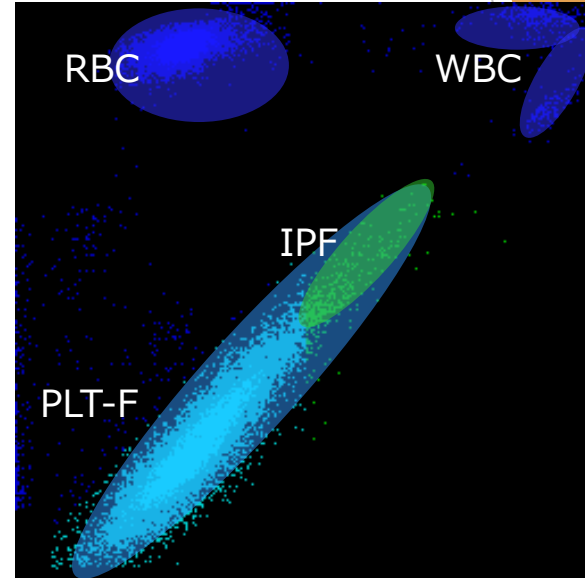
FSC : 前方散乱光



SFL : 側方蛍光

PLT-Fスキヤッタグラム

FSC : 前方散乱光



SFL : 側方蛍光

- 細胞の大きさ + 染色性の2つの情報を用いて細胞の分類を行う為、破碎赤血球などの測定誤差要因の影響を受けづらい測定系となっている。
- 血小板は最大3原理による測定が可能で、特長に応じて干渉物質の影響を受けず測定することが可能になっている。

PLT-Fチャンネルによる血小板測定

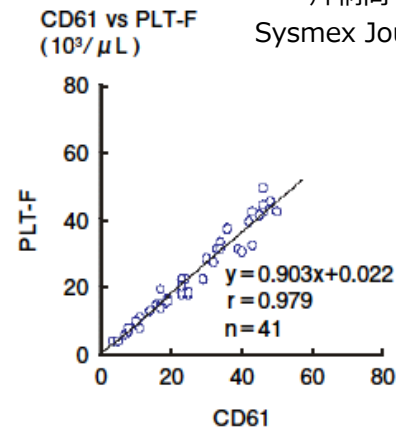
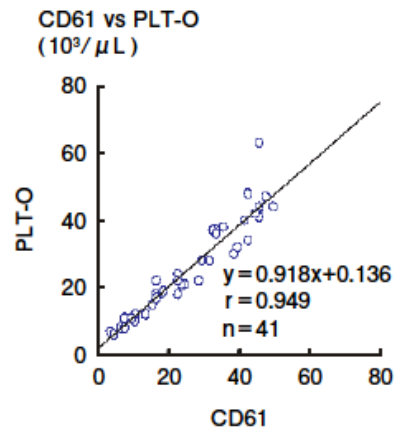
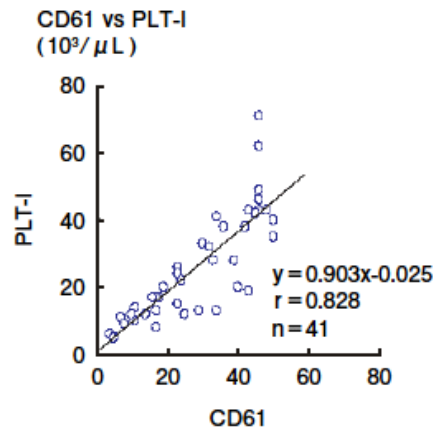
- PLT-F チャンネルは、**全血モード、低値白血球モード、希釈モード**で測定可能
- PLT-F チャンネルでのPLTカウント数は、**従来機の3倍以上**

	PLT-O	PLT-F	PLT-I
希釈倍率 (倍)	203.8	203.8	498.2
分析量 (μL)	3.3	18.21	9.3
実際のカウント数*			
PLT	3,220	17,860	3,730

*PLT : $20 \times 10^4/\mu\text{L}$ の場合

■ 相関性 (vs. CD61 : FCM法)

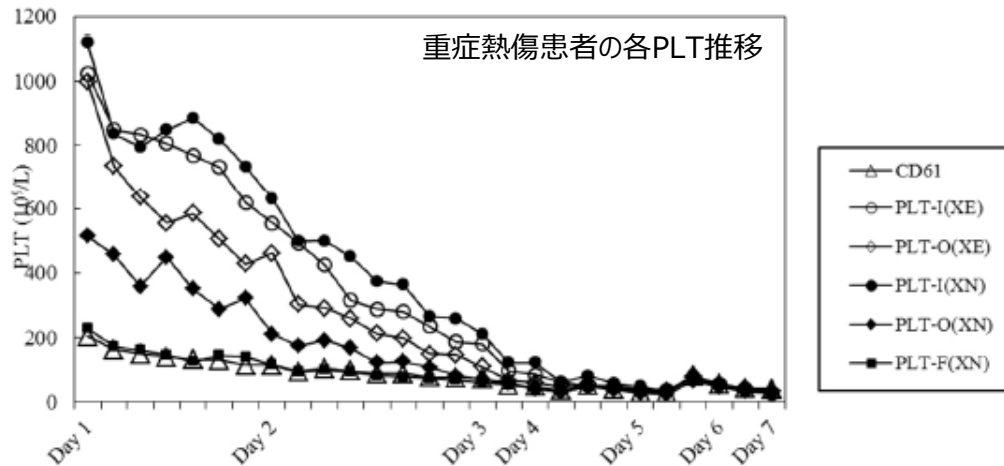
低値検体 (PLT $\leq 50 \times 10^3/\mu\text{L}$)



片桐尚子(慶應義塾大学病院) :
Sysmex Journal Vol.34 Suppl.2 2011

PLT-Fチャンネル

熱傷検体でもCD61と遜色ない測定結果



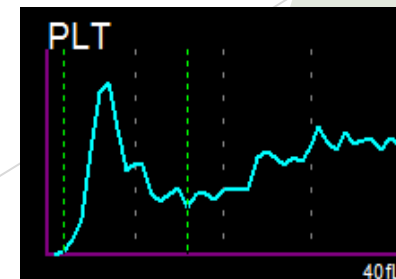
J Clin Lab Anal. 2014 Mar 19. doi: 10.1002/jcla.21691
 Performance Evaluation of Platelet Counting by Novel Fluorescent Dye Staining in the XN-Series Automated Hematology Analyzers.
 Tanaka Y et al.

干渉物質の影響を受けない測定系

		PLT 粒度分布異常フラグなし			PLT 粒度分布異常フラグあり		
		Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3
PLT-I	MEAN	17.8	24.7	19.5	55.8	42.9	14.3
	SD	2.49	1.49	0.97	4.29	10.59	1.06
	CV%	14.0	6.1	5.0	7.7	24.7	7.4
PLT-O*	MEAN	20.4	26.1	21.2	73.1	56	17
	SD	2.37	1.45	1.14	5.04	2.26	1.25
	CV%	11.6	5.6	5.4	6.9	4.0	7.3
PLT-F**	MEAN	16.9	26.1	21.3	70.1	56.8	15.4
	SD	0.74	0.57	0.67	3.54	1.32	0.52
	CV%	4.4	2.2	3.2	5.1	2.3	3.4

PLT 単位 (10⁹/μL)

PLT-FはPLT-Iと比較して精度が高い。
 特に粒度分布異常を示す検体では差がある。



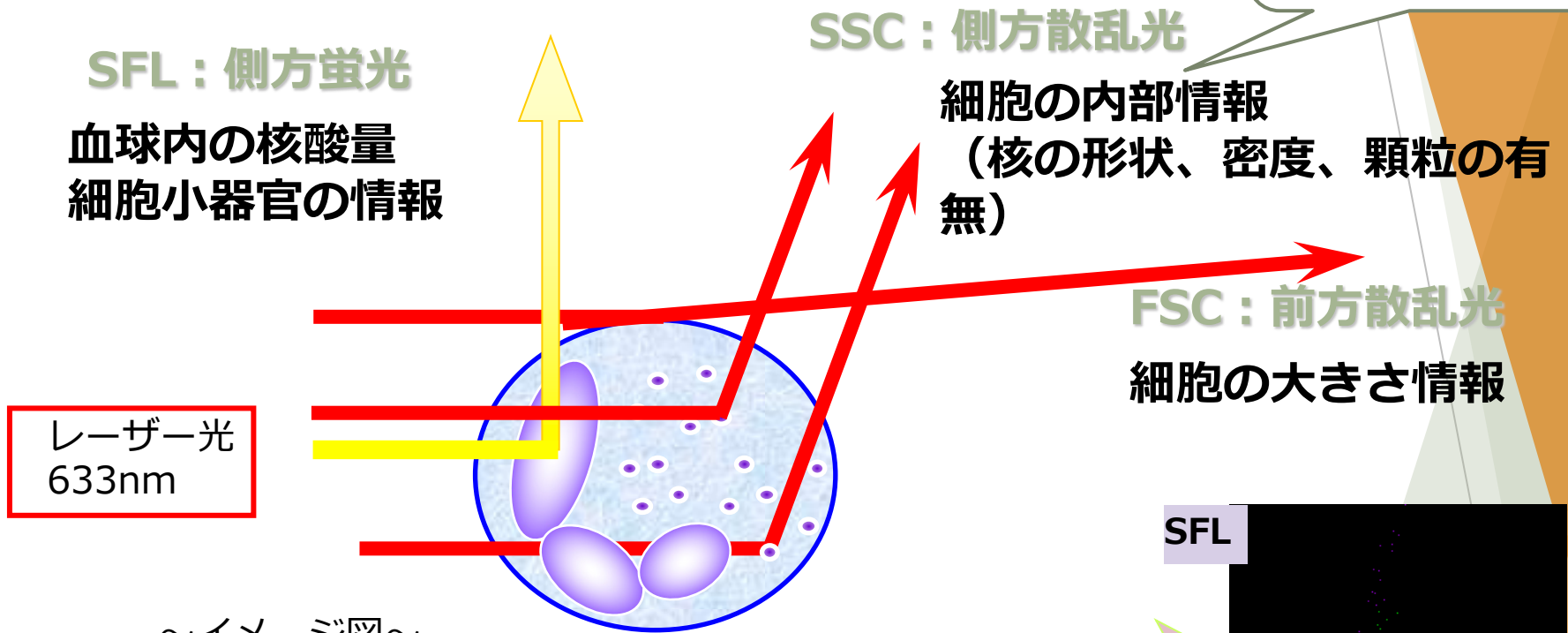
本日の内容

- 電気抵抗法について
- 粒度分布の異常を再確認
- **フローサイトメトリー法について**
- フローサイトメトリー法の異常の再確認

原理：半導体レーザーを用いたFCM法

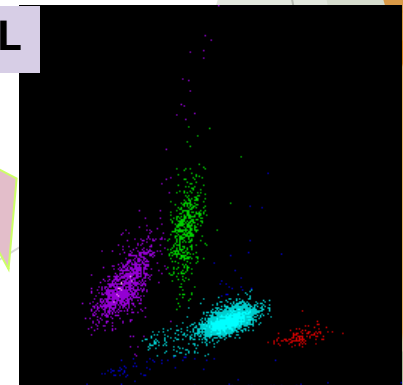
前処理を行った各細胞に半導体レーザー(633nm)をあて、光の跳ね返りなどから細胞を分類、カウントする技術

Point
見ているものは
鏡検と似ている



この3種類の光のうち、2つをX軸、Y軸にとり、スキャッタグラムを作成する。

SFL



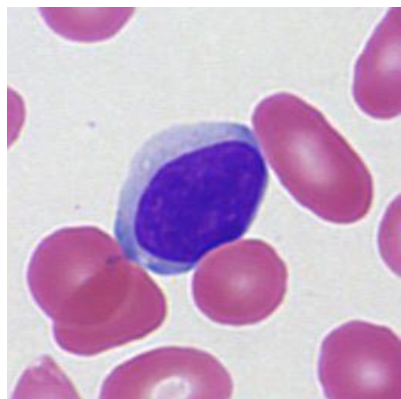
実は簡単！スキャッタグラムの解釈

* 正常白血球5分類ができれば、FCMスキャッタグラムの解釈は簡単です ¥(^_^)/

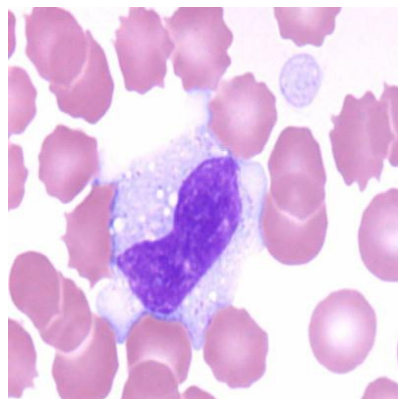
①前提として、FSC (=細胞の大きさ)、SSC (=分葉・顆粒)、SFL (=活性化・幼若) をぜひ覚えてください！

②以下の問いに教えてください

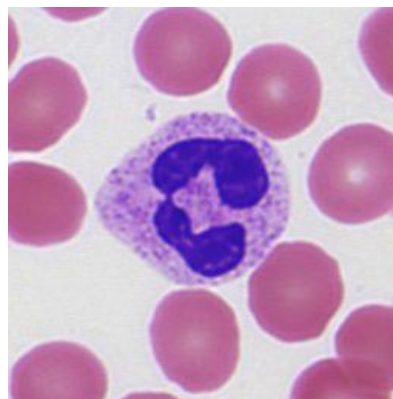
A)細胞質内の顆粒が目立つ内部構造が複雑な順に並べてください。



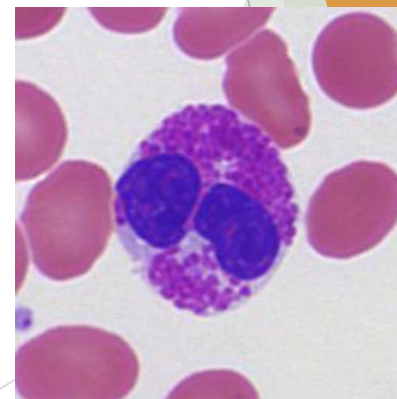
リンパ球



単球



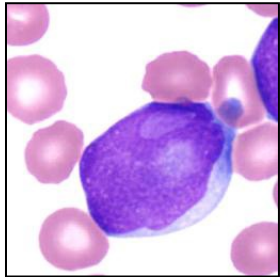
好中球



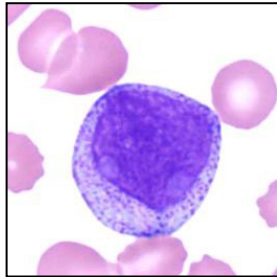
好酸球

実は簡単！スキャッタグラムの解釈

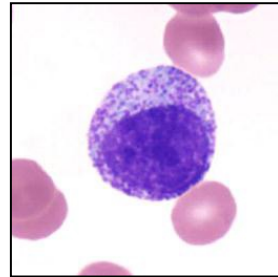
B) 細胞を幼若な順に並べてください。



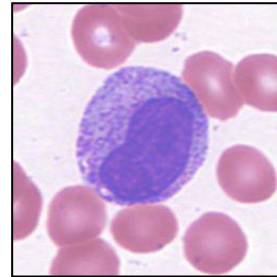
骨髄芽球



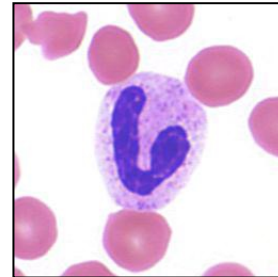
前骨髄球



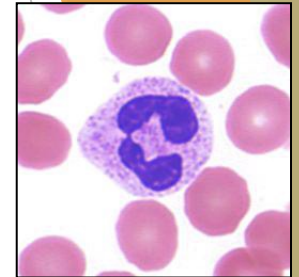
骨髄球



後骨髄球

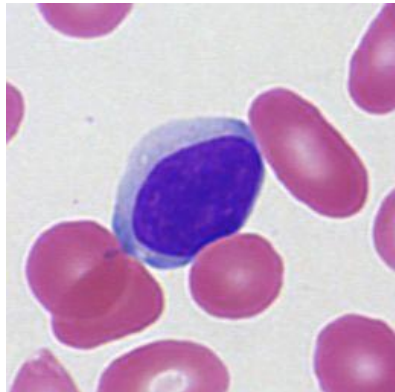


桿状核球

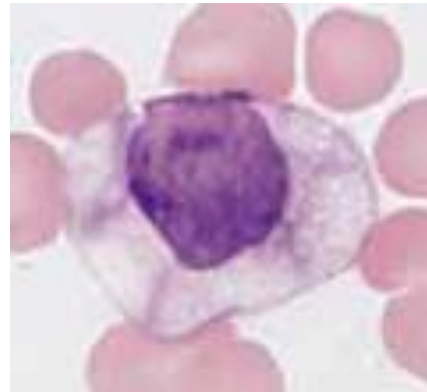


分葉核球

C) どちらが活性化していますか



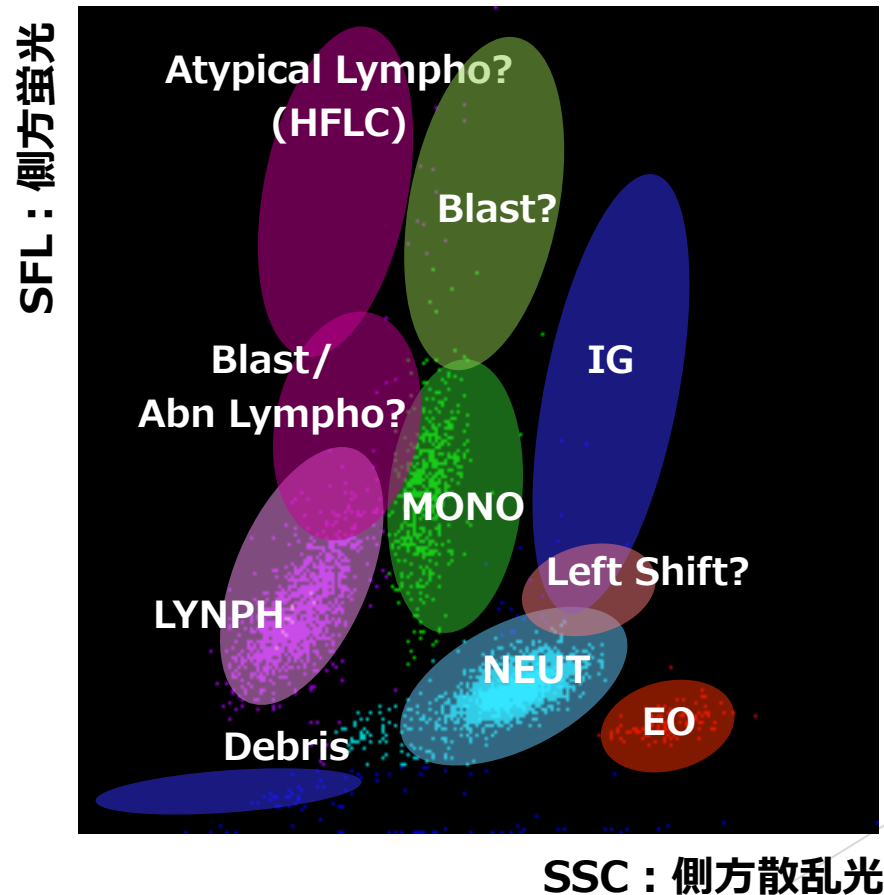
リンパ球



異型リンパ球

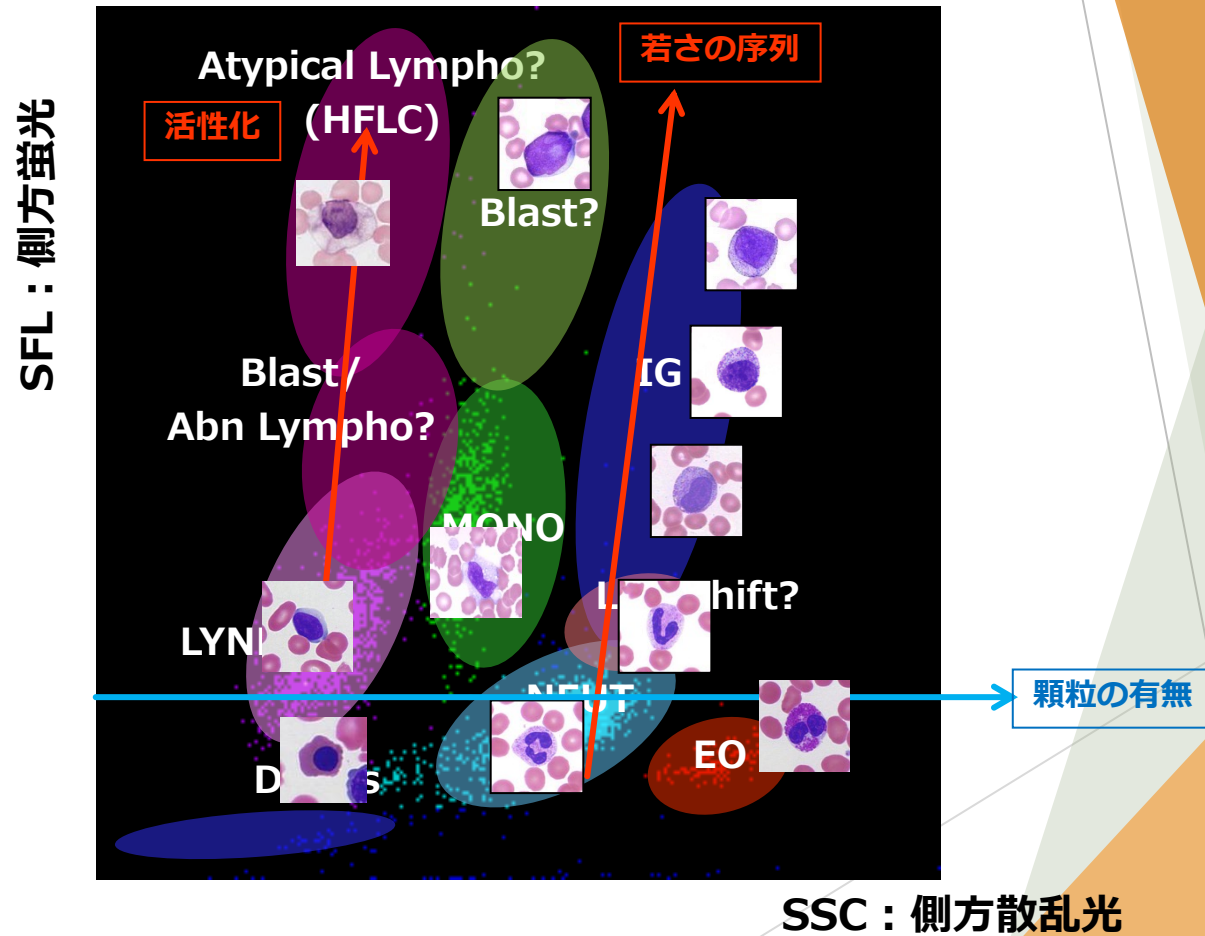
実は簡単！ スキヤッタグラムの解釈

WDFスキヤッタグラム



実は簡単！ スキヤッタグラムの解釈

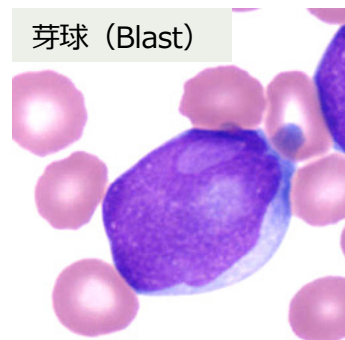
WDFスキヤッタグラム



本日の内容

- 電気抵抗法について
- 粒度分布の異常を再確認
- フローサイトメトリー法について
- **フローサイトメトリー法の異常の再確認**

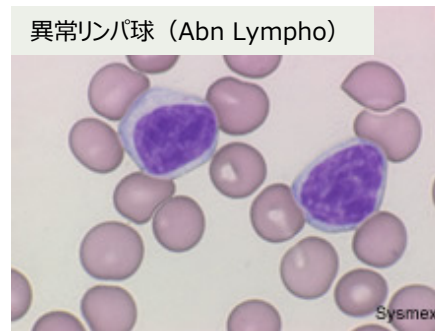
装置で完全に判別できない、重要な病的細胞



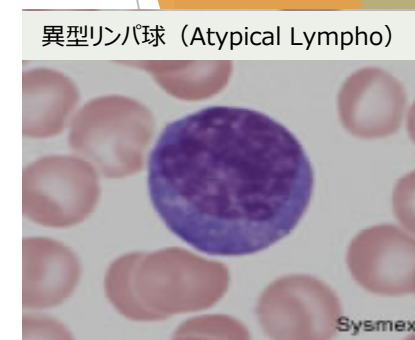
白血病



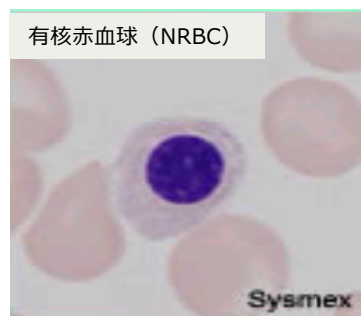
白血病、慢性白血病
重篤な炎症、癌の骨髄転移など



リンパ腫



ウイルス感染
特にEBウイルスや
サイトメガロウイルス



重度の貧血、骨髄の破壊



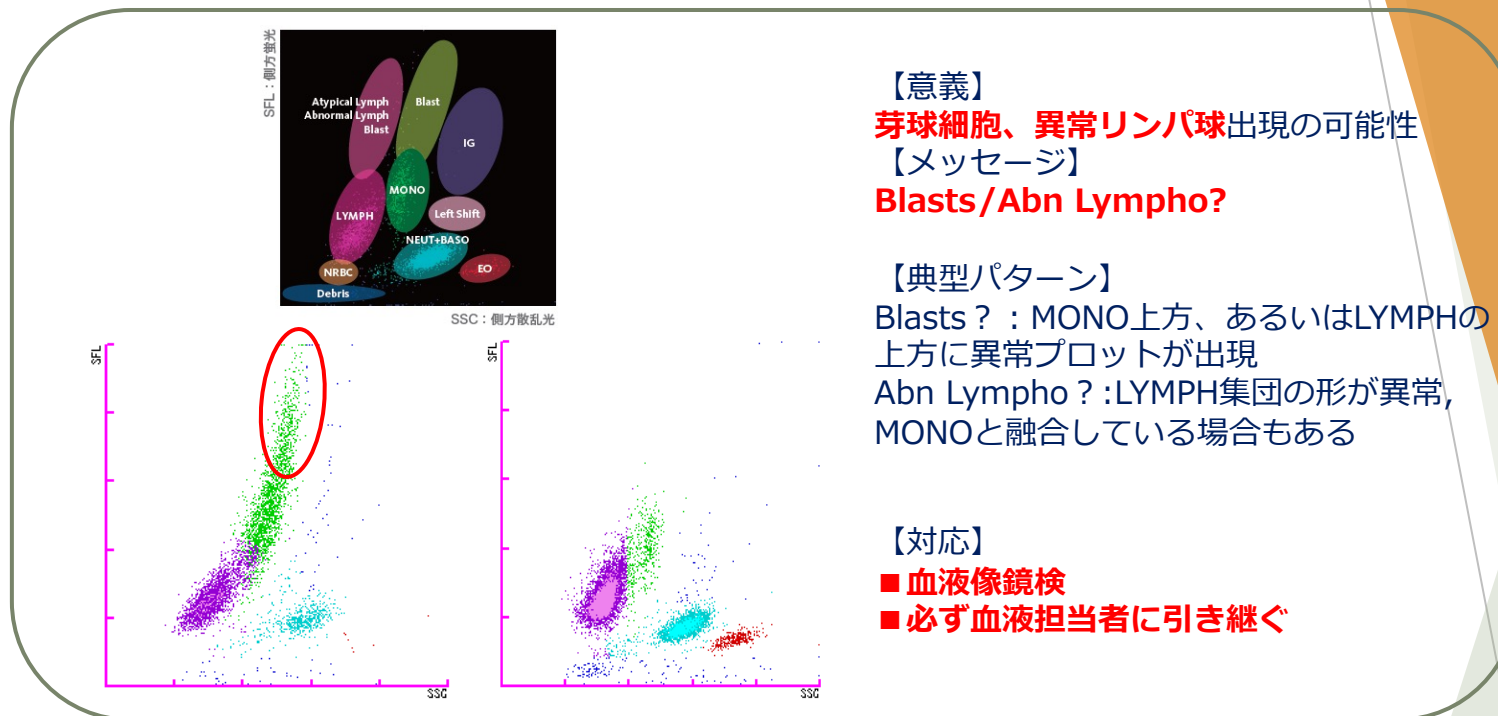
重篤な炎症
慢性的な炎症



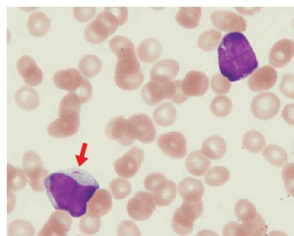
Suspect message
Blast?
Atypical Lympho?

★病態や診断に密接に関わるので見逃しはできない！

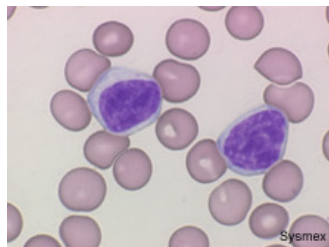
Blasts/Abn Lympho? (芽球・異常リンパ球疑い)



芽球 (FAB M2)



異常リンパ球



point

芽球出現の場合

- 血液腫瘍性疾患の可能性が高い

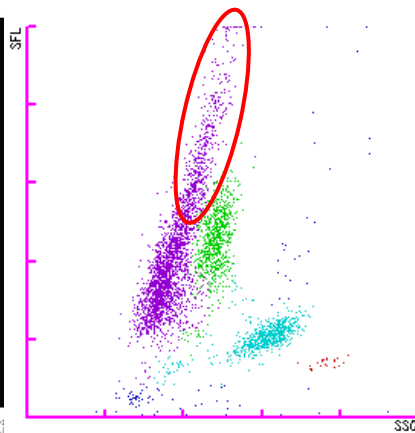
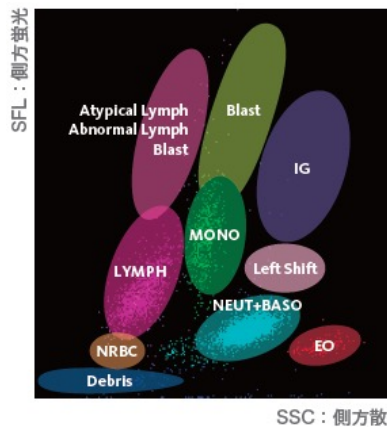
異常リンパ球出現の場合

- リンパ系腫瘍 (リンパ芽球、成熟リンパ腫) の可能性が高い
- しかし、他のフラグと比較して偽陽性の確率が高い。特に幼児～小児はリンパ球形態や状態の特性から偽陽性が出やすい。

他に見ておくべき項目

芽球出現の場合 : WBC, RBC, PLT, IG, LD(LD/AST比)など
 異常リンパ球出現の場合 : WBC, Lym比率, LDなど

Atypical Lympho? (異型リンパ疑い)



【意義】

異型リンパ出現の可能性

【メッセージ】

Atypical Lympho?

【典型パターン】

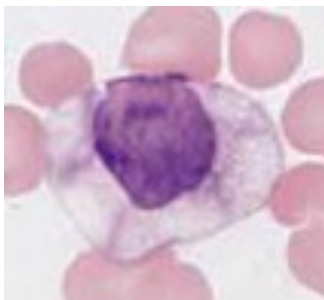
LYMPH上方に異常プロット出現

【対応】

■ 血液像鏡検

■ 必ず血液担当者に引き継ぐ

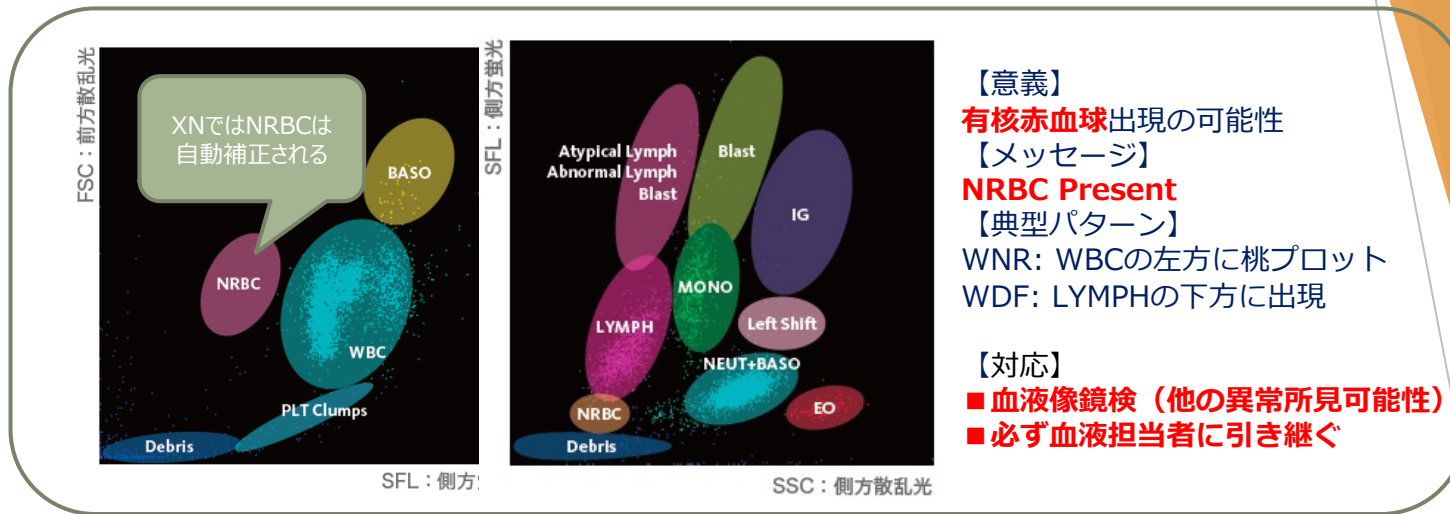
point



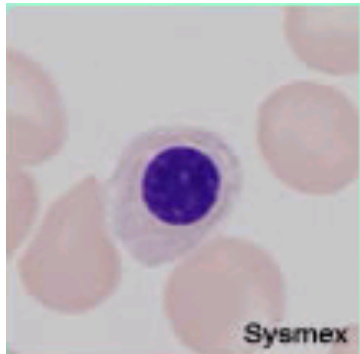
- 異型リンパとはウイルス感染時などに出現する、活性化リンパ球。(決して腫瘍ではない)
- LYMPHの上方に著明な伸長プロットが認められる場合には、異常細胞が出ている。
- 血液担当者は直ぐに血液像を作成。専門外の担当者は必ず専門の担当者に引き継ぎを行う。

他に見ておくべき項目：WBC, Lym比率, 肝機能3項目(AST, ALT, γ -GT)、年齢など

NRBC Present (赤芽球)



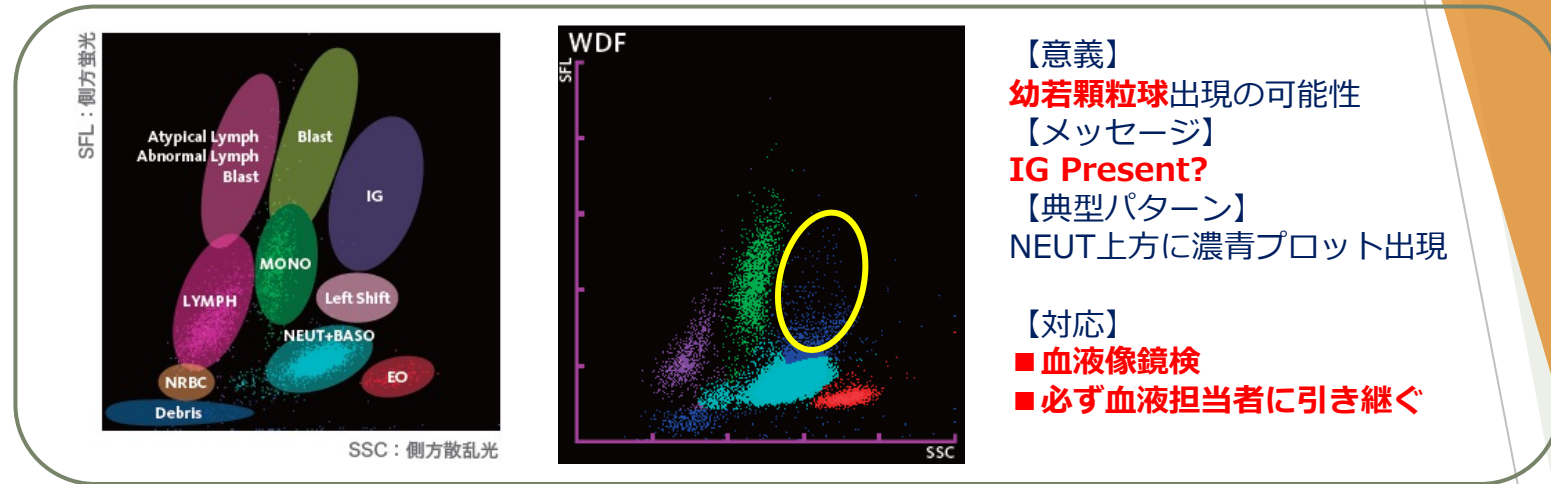
point



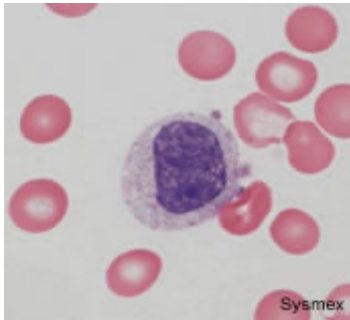
- 通常は骨髓外には出てこない。
- 骨髓バリアの破綻 (腫瘍性疾患など)、異常な造血亢進で末梢に出現する事がある。
- 血液担当者は直ぐに血液像を作成。専門外の担当者は必ず専門の担当者に引継ぎを行う。

他に見ておくべき項目: WBC, RBC, RET, LD, 年齢,
 (異常な貧血のみの亢進: Bil, DATなどの溶血性貧血関連検査項目)
 ベビーは出ていて当たり前、未熟児ほど髄外造血が盛んであるので注意
 (一定以上は必ず補正する)

IG Present (幼若顆粒球)



point



- 通常は骨髄外には出てこない。(前骨髄球、骨髄球、後骨髄球)
- 骨髄バリアの破綻(腫瘍性疾患など)、重篤炎症で末梢に出現する事がある。
- NEUTの上方に著明な伸長プロットが認められる場合には、ほぼ間違いなく報告すべき異常細胞が出ている。図のように余りに多い場合はCMLなどのMPNや腫瘍性疾患も検討(G-CSF治療歴も確認)
- 血液担当者は直ぐに血液像を作成。専門外の担当者は必ず専門の担当者に引継ぎを行う。

他に見ておくべき項目：WBC, BASO%, 炎症マーカー, 治療背景など

白血球分類の異常例 (CML)

Results

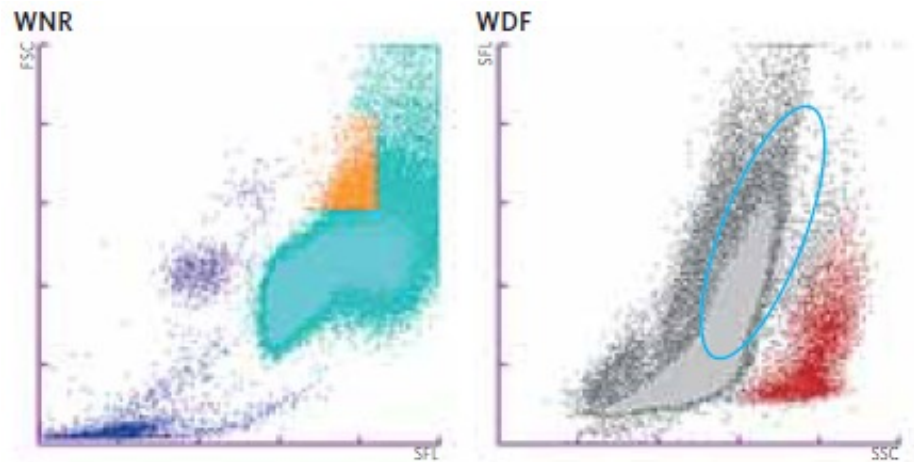
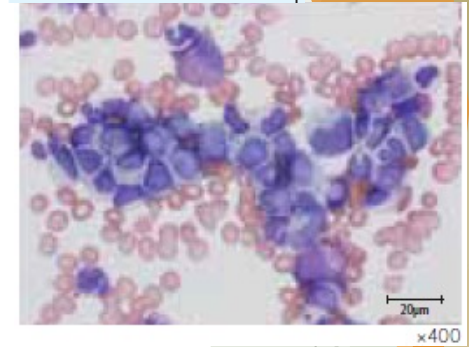
WBC	470.34 $10^3/\mu\text{L}$ @	NEUT	398.49 $10^3/\mu\text{L}$ *	84.7 % *
RBC	2.40 $10^6/\mu\text{L}$ -	LYMPH	14.14 $10^3/\mu\text{L}$ *	3.0 % *
HGB	7.7 g/dL -	MONO	24.71 $10^3/\mu\text{L}$ *	5.3 % *
HCT	22.5 % -	EO	19.50 $10^3/\mu\text{L}$ *	4.1 % *
MCV	93.8 fL	BASO	13.50 $10^3/\mu\text{L}$ +	2.9 % +
MCH	32.1 pg	IG	193.13 $10^3/\mu\text{L}$ *	41.1 % *
MCHC	34.2 g/dL	RET	0.1162 $10^6/\mu\text{L}$	4.84 %
PLT & F	115 $10^3/\mu\text{L}$ *	IRF	42.1 %	
RDW-SD	63.7 fL +	LFR	57.9 %	
RDW-CV	18.8 % +	MFR	19.3 %	
PDW	13.6 fL *	HFR	22.8 %	
MPV	11.6 fL *	RET-He	30.0 pg	
P-LCR	36.4 % *	IPF	4.3 % *	
PCT	0.14 % *			
NRBC	2.48 $10^3/\mu\text{L}$			0.5 %

Flags

WBC Flag(s)
WBC Abn Scattergram
Monocytosis
Neutrophilia
IG Present
Basophilia
Lymphocytosis
Leukocytosis
Eosinophilia
Blasts?
Left Shift?
RBC Flag(s)
Anemia
PLT Flag(s)
PLT Clumps?

Microscopic counts

PB	
Myeloblast	0.0
Promyelo	4.0
Myelo	25.0
Meta	12.0
Stab	12.0
Seg	37.0
Lympho	1.0
Mono	1.0
Baso	3.0
Eosino	4.0
At-Ly	0.0
Other (Blast)	1.0
NRBC	0.0/100WBC

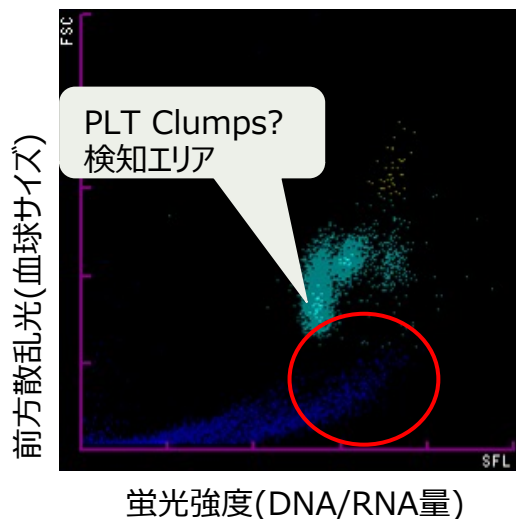


白血球が著増し、WDFスキャッタグラムは分画不良となっている。WDFスキャッタグラムではIG領域に多数のプロットが認められ目視初検と一致している。

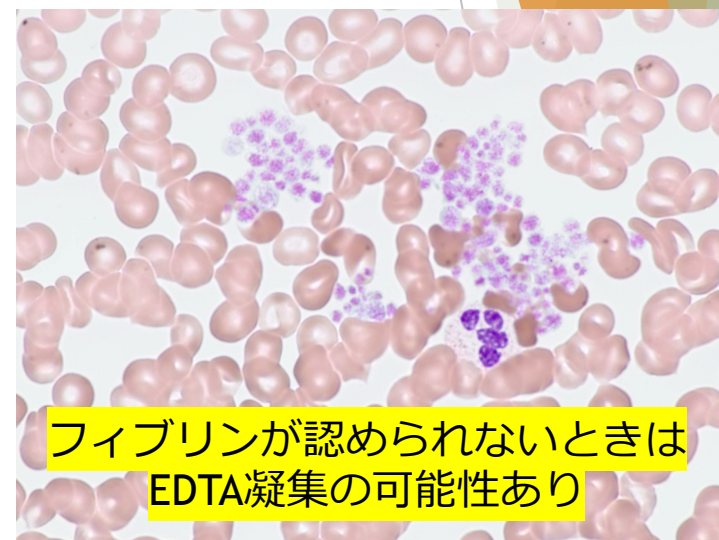
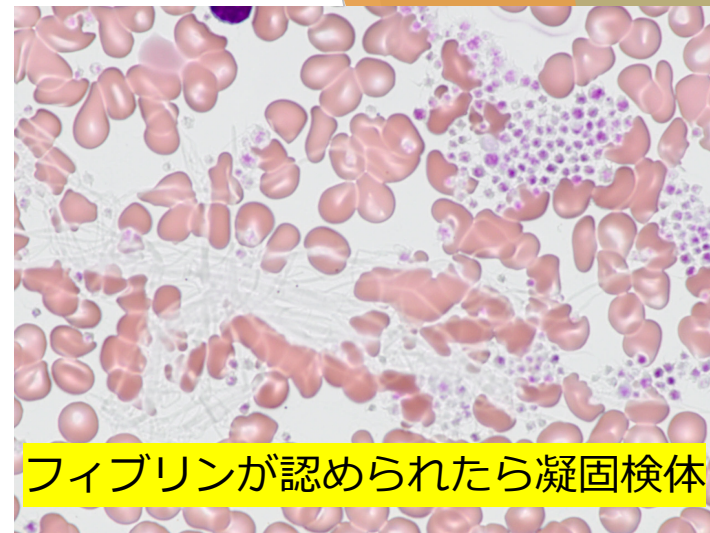
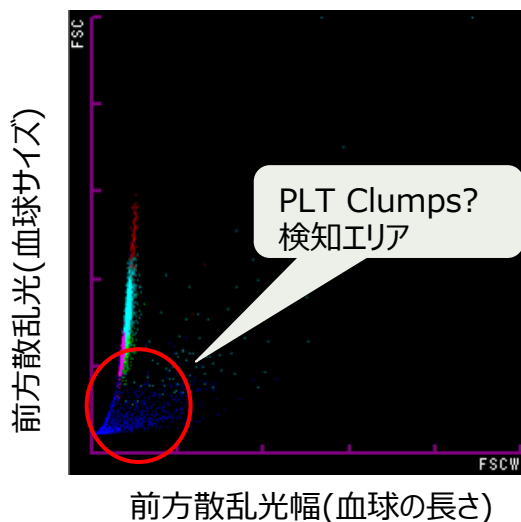
血小板凝集疑い有的时候

参考：PLT Clumps? 検知エリア

WNRスキヤッタグラム



WDFスキヤッタグラム



血小板凝集を示唆する「PLT Clumps?」は、2つのスキヤッタグラムから判定されます。CBCのみオーダー時はWNRチャンネルで、DIFFオーダー時はWDFチャンネルで検出します

目視による判定が必要

血小板低値時の流れ（施設ルール）の確立

対応採血管による経時的な測定が必要

まとめ 測定値に影響を及ぼす要因

項目	偽性高値	偽性低値
白血球	クリオグロブリン・有核赤血球・血小板凝集・赤血球溶血不良	壊れた白血球
赤血球	巨大血小板	赤血球凝集・試験管内溶血・小型赤血球
HGB	高脂血症・高ビリルビン血症・白血球増多	スルフォヘモグロビン・溶血不良
HCT	巨大血小板・白血球増多・高血糖（高浸透圧→膨張）	赤血球凝集・試験管内溶血・小赤血球
MCV	赤血球凝集・高血糖	巨大血小板・膨化赤血球
MCHC	HGB偽性上昇・HCT偽性減少・血球凝集	HGB偽性減少・HCT偽性上昇・
血小板	クリオグロブリン・小赤血球・白血球破片	巨大血小板・血小板凝集・血小板衛星現象

異常検体を見逃さないために・・・

① 検体の肉眼的観察

採血量や凝固有無の確認

② 関連項目のチェック

赤血球恒数／前回値との差

③ 分析装置の測定性能把握

偽性低値及び高値となる要因の把握
フラグ情報の把握

④ 別測定原理による測定結果の活用

WBC-D, PLT-F, RBC-Oなどの活用

⑤ 鏡検確認