

[臨床研究]

## 自動血球計数装置 UniCel DxH 800 を用いたリンパ球サイズ分布幅 (LY-V-SD) の基礎的検討

尾道市立市民病院 中央検査室

奥原 慶彦, 竹井 絵梨, 広実 早苗, 巻幡 信広, 平谷 恵子

**要 旨** ベックマン・コールター社の自動血球計数装置 UniCel DxH 800 Cellular Analysis System (UniCel DxH シリーズ コールターセルラーアナリシスシステム UniCel DxH 800 : DxH 800) で測定可能なリンパ球サイズの変動幅 (Lymphocyte-Volume-SD : LY-V-SD) についての基礎的検討と反応性リンパ球との関連性の検討を行った。結果, LY-V-SD の健常検体から求めた参考基準範囲は 9.8 ~ 16.4, 塗抹標本の目視による反応性リンパ球の割合 2%以上を陽性群と定義したときのカットオフ値は 16.7 であった。LY-V-SD と反応性リンパ球には有意な関連性が見られ, LY-V-SD を用いることで反応性リンパ球の発見に役立つと考えられた。

**Key words:** 自動血球計数装置, LY-V-SD, 反応性リンパ球

### はじめに

ベックマン・コールター社の自動血球計数装置 UniCel DxH 800 Cellular Analysis System (UniCel DxH シリーズ コールターセルラーアナリシスシステム UniCel DxH 800) (以下 DxH 800) は血液細胞個々の体積, 高周波伝導度および 5つのレーザー散乱光により白血球を分類し, それら細胞解析情報を数値化し Cell population data として出力ができる血球計数装置である。DxH 800 では, リンパ球体積の分布幅を示すリンパ球サイズの変動幅 (Lymphocyte-Volume-SD 以下, LY-V-SD) を測定することができる。

リンパ球は分化度, 抗原刺激, 活性化, ウイルス感染などによって姿, 形を変える特性を有している。それらの細胞は反応性リンパ球または異型リンパ球と呼ばれる<sup>1)</sup>。

反応性リンパ球は通常, 血液塗抹標本の目視観察でしか発見することは出来ないが, LY-V-SD を測定することにより, リンパ球のサイズの多様性を数値で観察することができると考えられる。

LY-V-SD は現在, RUO (Research Use Only) である。同様の検査項目で単球体積のばらつきを示す単球サイズ分布幅 (Monocyte distribution width : MDW) の基礎的検討や敗血症症例における MDW の評価に関する報告はいくつかあるが<sup>2) 3)</sup>, LY-V-SD に関する基礎的検討などを行った報告はほとんど見当たらない。

当院では, 目視分類の依頼があった場合に加え, 目視分類依頼のない検体でも装置に登録している一定の院内基準値から外れ, DxH 800 からのサスペクトメッセージが出た場合は自動で塗抹標本を複製し, 目視による分類を行っている。また, 標本に

---

Lymphocyte Volume SD from the automatic hematology analyzer UniCel DxH 800 : Evaluation of the basic performance

Department of Clinical Laboratory, Onomichi Municipal Hospital

Yoshihiko OKUHARA, Eri TAKEI, Sanae HIROZANE, Nobuhiro MAKIHATA,

Keiko HIRATANI

裸核が認められた場合は22%ウシアルブミンを全血に5%の比率で添加して標本を作製している。しかし、測定値が院内基準範囲内に収まっており、DxH 800による分類で結果を報告した検体でも反応性リンパ球が出現している場合もあった。そこで今回我々は、LY-V-SDを用いることで反応性リンパ球の発見に役立つと考え、基礎的検討と塗抹標本の目視分類による反応性リンパ球の割合との比較による検討を行った。

### 対象と方法

2022年7月～2022年11月に血球数算定検査依頼のあった患者検体のEDTA-2K加静脈血の残余検体を用いて、以下の項目について検討を行った。

#### 1) 健常検体による参考基準範囲の算出

2022年8月～10月に血球数算定検査の採血があった健常検体203例のLY-V-SDを抽出し、その数値の上下3SDの区間を参考基準範囲として算出した。

203例の検体に関しては、血算5項目と白血球分類のすべての数値が日本臨床検査標準協議会(Japanese Committee For Clinical Laboratory Standards: JCCLS)<sup>4)</sup>の提唱する共用基準範囲内にあるものを健常検体とした。

#### 2) LY-V-SDと塗抹標本の目視による反応性リンパ球の割合の比較

2022年7月～11月に血球数算定検査の採血があった検体430例の残余検体を用いて、塗抹標本を作製しLY-V-SDと目視による反応性リンパ球の割合の比較を行った。

LY-V-SDの数値を12-14群、14-16群、16-18群、18-20群、20-22群、22以上の群に分け、塗抹標本の目視による反応性リンパ球の割合との比較を行った。

#### 3) 院内におけるLY-V-SDカットオフ値の算定

2022年7月～10月に血球数算定検査の採血があった検体428例を対象とし、塗抹標本において反応性リンパ球の出現が2%を超えるものを陽性と定義しLY-V-SDのカットオフ値を算出した。反応性リンパ球に関して明確な数値の基準値は

ほとんど見当たらないが、時に正常人でも白血球分画の1%以下で認めるとされている<sup>5)</sup>。そこで今回は目視分類での反応性リンパ球2%以上を陽性群と定義した。

#### 4) 院内基準値範囲内の検体の検討

2022年7月～10月に血球数算定検査の採血があった検体のうち、血算5項目と白血球分類が院内基準値範囲内だがLY-V-SDがカットオフ値を超える値を示した検体78例の塗抹標本を作製し、目視分類により反応性リンパ球の出現の有無を確認した。

なお、LY-V-SDのカットオフ値は3)で算出した数値を用いた。

### 結果

#### 1) 健常検体による参考基準範囲の算出

203例の健常検体を対象に参考基準範囲の算出を行った。

LY-V-SDの中央値は13.0、参考基準範囲は9.8～16.4であった(図1)。

#### 2) LY-V-SDと塗抹標本の目視による反応性リンパ球の割合の比較

LY-V-SDの数値を12-14群、14-16群、16-18群、18-20群、20-22群、22以上の群に分け、塗抹標本の目視による反応性リンパ球の割合との比較を行った。

各群の症例数は12-14群141例、14-16群126例、16-18群108例、18-20群33例、20-22群13例、22以上の群9例であった。各群の目視による反応性リンパ球の割合の平均値は、それぞれ0.09%、0.19%、0.46%、0.59%、2.01%、1.44%であった(図2)。

#### 3) 院内におけるLY-V-SDカットオフ値の算定

塗抹標本の目視による反応性リンパ球の割合が2%以上のものを「陽性群」、2%未満のものを「陰性群」と定義し、LY-V-SDのカットオフ値の算定を行った。

それぞれの症例数は陽性群6例、陰性群422例で2つの群のLY-V-SDには有意差を認めた( $P < 0.05$ )。

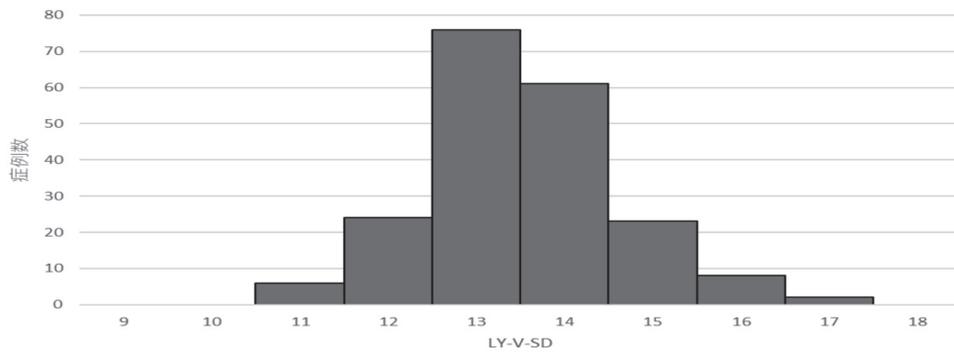


図 1 異常検体の LY-V-SD ヒストグラム

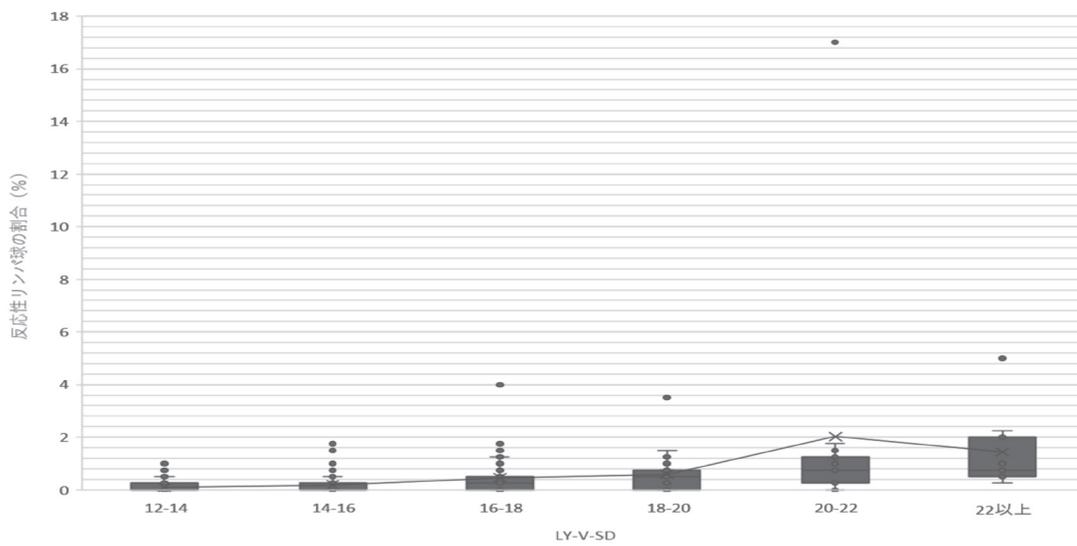


図 2 LY-V-SD と目視分類による反応性リンパ球の比較

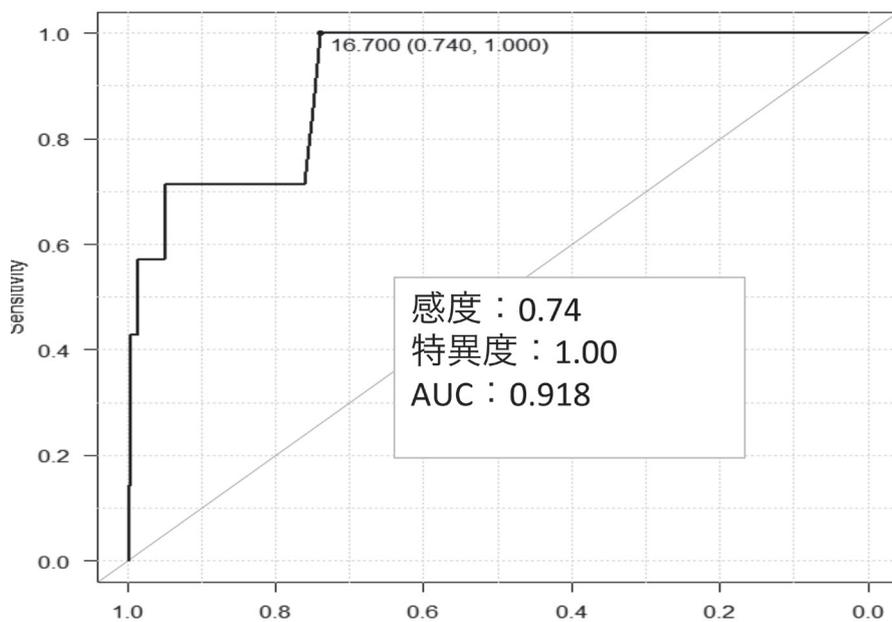


図 3

また、ROC 解析を行った結果、反応性リンパ球「陽性群」を検出する際の LY-V-SD のカットオフ値は 16.7 (感度 0.74, 特異度 1.00, AUC 0.918) であった (図 3)。

#### 4) 院内基準値範囲内の検体の検討

院内基準値範囲内で塗抹標本が作製されなかった検体のうち、3) で求めた LY-V-SD のカットオフ値：16.7 を超えた検体の塗抹標本を作製し、目視による反応性リンパ球の割合について検討を行った。

対象は 78 例で、LY-V-SD の内訳は 16.7-18 群 45 例、18-20 群 27 例、20-22 群 3 例、22 以上の群 3 例であった。

塗抹標本の目視によって認めた反応性リンパ球の割合の平均値は全体で 0.49%、LY-V-SD での群別ではそれぞれ、0.40%、0.49%、1.25%、1.16%であった。

### 考 察

健常検体を用いた LY-V-SD の参考基準範囲は 9.8 ~ 16.4, 中央値 13.0 であり、目視による反応性リンパ球の割合との比較でも LY-V-SD が高値になるほど反応性リンパ球の割合が多くなることが分かった。

ROC 解析による LY-V-SD のカットオフ値は 16.7, 感度 74%, 特異度 100%, AUC は 0.918 と

なり、健常検体を用いた LY-V-SD の参考基準範囲の上限 16.4 と近似する値となった。

反応性リンパ球は細胞傷害性 T 細胞や NK 細胞が反応した細胞であり、伝染性単核球症、風疹、水痘、流行性耳下腺炎、ウイルス性肝炎などのウイルス感染症や免疫反応 (アレルギー・薬物) で出現を認める<sup>6)</sup>。しかし、反応性リンパ球は自動血球計測装置での診断は困難とされており、塗抹標本の鏡検が不可欠である。特に EB ウイルスによる伝染性単核球症では反応性リンパ球の出現が 10% を超え、また症状の回復とともに反応性リンパ球の割合が減少するため経時的に検査をすることで病態の把握に役立つとされている<sup>7) 8)</sup>。

ここで 1 つ例を提示する。図は当院に来院された水痘・帯状疱疹ウイルスに罹患した患者の LY-V-SD 値と反応性リンパ球の割合の経過である (図 4)。発症日には LY-V-SD と反応性リンパ球の割合がそれぞれ 26.2, 7.5% だったが、2 日目が 25.9, 5.0%、3 日目が 22.8, 4.25%、5 日目が 17.1, 1.5%、12 日目には 13.6, 0% と反応性リンパ球の割合が減少するにつれて LY-V-SD も低下がみられ、LY-V-SD と反応性リンパ球の関連が示唆された。

院内基準値内であるが、カットオフ値：16.7 を超えたため塗抹標本を作製した検体では、平均で 0.49% の反応性リンパ球が確認された。平均値を見ると少なく感じるが、検討した 78 例のうち 3 例は

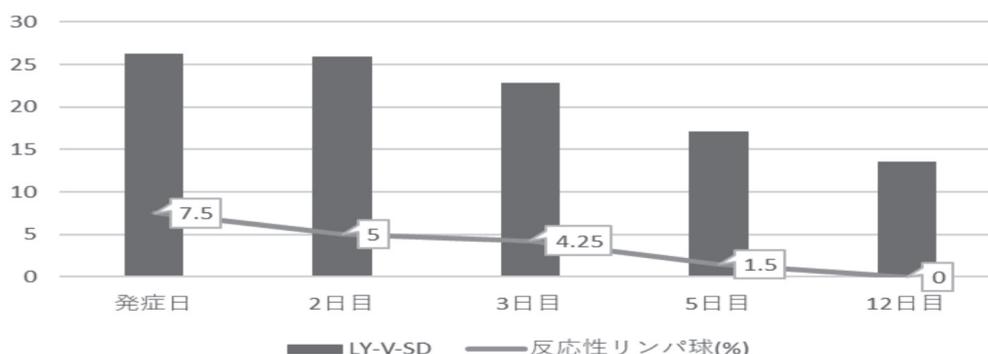


図 4 水痘・帯状疱疹ウイルス罹患患者の経過

反応性リンパ球が2%を超えていた。今まではDxH800による分類で報告が終わっていた検体に対し、LY-V-SDを用いることで反応性リンパ球の発見に役立つと考えられた。

今回の検討をもとに、LY-V-SDの数値を用いて反応性リンパ球をより鋭敏に捉えることで、ウイルス感染の示唆や免疫反応の動態の指標の一助になれば良いと考える。

DxH800では、通常の白血球分類測定で同時にLY-V-SDを求めることができる。患者に再採血を行うことなくデータを得ることができ、検査技師側への業務負担もほとんどないので、反応性リンパ球の発見に簡便に組み込める項目である。当院でも今後、今回求めたLY-V-SDのカットオフ値を用いて塗抹標本を作製し、さらなる検討を行っていく必要がある。

#### まとめ

LY-V-SDの参考基準範囲やカットオフ値の基礎的検討、および反応性リンパ球の出現との関連性を検討した。反応性リンパ球の割合2%以上を陽性群と定義したとき、LY-V-SDは有意な関連性を示した。反応性リンパ球は装置による分類だけでは発見が困難とされており、また塗抹標本の観察の際も正常なリンパ球との鑑別に苦労することが多いため、LY-V-SDを用いることで反応性リンパ球の発見に役立つことが期待される。

#### 文献

- 1) 柴田進：図解血液病学, 改訂3版. 金芳堂 594-595, 1996
- 2) 小森彩, 他：自動血球計測装置 UniCel DxH 900 を用いた単球サイズ分布幅 (MDW) の基礎的検討とプロカルシトニンとの比較
- 3) 佐々木麻美, 他：敗血症スクリーニングにおける Monocyte distribution width (MDW) 測定の評価
- 4) 日本臨床検査標準協議会：<https://www.jccls.org/>
- 5) ビジュアル臨床血液形態学 南江堂

- 6) 鶴田一人, 他：異型リンパ球の鑑別法. 検査と技術 vol.36 no.5 397-403, 2008
- 7) Chong VCL, 他：Reactive lymphocytes in patients with Covid-19. Br J Haematol. 2020 Jun;189 (5) :844.
- 8) Samuel E Weinberg ら Atypical lymphocytes in peripheral blood of patients with COVID-19 Br J Haematol. 2020 Jul;190 (1) :36-39.

