

シンポジウム

シンポジウムV 一般

第2日目（5月15日）第2会場（和ホールC）

14:30～16:30 新髄液検査法を学ぶ

司 会：大沼 健一郎（神戸大学医学部附属病院）
則藤 佳子（日本赤十字社和歌山医療センター）

【S-20】 1. 「髄液検査法2002」からの変更点
堀田 真希（大阪大学医学部附属病院）

【S-21】 2. 髄液検査法
吉永 治代（近畿大学医学部堺病院エスアールエル検査室）

【S-22】 3. 髄液検査における細菌性髄膜炎を考える
中村 彰宏（天理よろづ相談所病院）

【S-23】 4. 髄液検査における異型細胞を考える
佐伯 仁志（国立病院機構東近江総合医療センター）

ねらい

髄液検査は、髄膜炎、無菌性髄膜炎、脳腫瘍、転移性腫瘍などの診断に欠かすことのできない重要な検査である。2002年に日本臨床衛生検査技師会より「髄液検査法2002」が出版され髄液検査の国内の標準的な方法として多くの医療機関や臨床検査教育機関に広く普及してきた。今回、「髄液検査法2002」に新しい知見・検査が加えられた「髄液検査技術教本」が発刊された。その改訂された内容も含めて髄液検査について学ぶ。

「髄液検査法 2002」からの変更点

◎堀田 真希¹⁾
 国立大学法人 大阪大学医学部附属病院¹⁾

髄液検査は髄膜炎・脳炎を主体とする各種神経系感染症および白血病や悪性腫瘍などの診断・治療に欠くことのできない臨床的意義が高い検査の一つである。特に細菌性髄膜炎などの早急な診断・治療を要する検査を実施するにあたり、髄液検査は多くの病院検査室で実施されているが、検体の特殊上、尿や血液を材料にした検査に比べ、遭遇する機会は圧倒的に少ない。しかし、髄液検査に遭遇した際には、当然のことだが、誰でも同じ、正しい結果を報告する必要がある。そこで、正しい検査法や正しい知識を共有する手引書として、2002年に日臨技から「髄液検査法 2002」が刊行された。それから13年経ち、多くの関係者から切望されていた髄液検査法 2002の改訂版として、新たに丸善出版から「髄液検査技術教本」が刊行された。髄液検査技術教本は髄液検査法 2002の内容に基づき構成され、また2002年以降に関連学会から提示された事項や13年の間に新たに判明したことなどを中心に改訂が行われ、現場で使用できる教本として刊行された。ここでは髄液検査技術教本への改訂内容について、特に重要な事項について述べる。

① 「多形核球」への分類名称の変更

「多核球」の分類名称を「多形核球」とする。その理由として、内科学用語集では、髄液細胞の種類には「mononuclear leukocyte: 単核白血球 (単核球)」と「polymorphonuclear leukocyte: 多形核白血球 (多形核球)」とされており、近年では、日本神経学会および日本臨床検査医学会の表記が単核球と多形核球に変更されている。髄液検査技術教本においても、単核球と多形核球の記載に統一することになった。ただし、多形核球 (多核球) の報告名称については、各施設内の協議のもと運用することになっている。

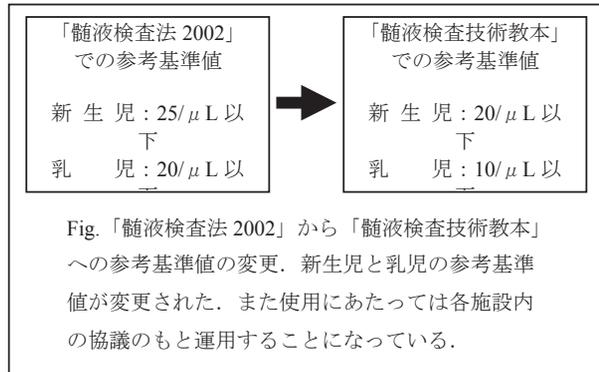
② 「反応性リンパ球」への名称の変更

ウイルス性髄膜炎で高頻度に出現する異型リンパ球の名称について、国外では「atypical lymphocyte」という表記がなく、「reactive lymphocyte」の表記になっている。近年、血液検査領域では、「異型リンパ球」から「反応性リンパ球」に変更される動向があり、髄液検査技術教本においても「反応性リンパ球」の記載に統一することになった。ただし、反応性リンパ球 (異型リンパ球) の報告名称については、各施設内の協議の

もと運用することになっている。

③ 髄液細胞数の参考基準範囲の変更

次の通り「髄液検査法 2002」から髄液細胞数の参考基準範囲の変更があった (Fig.)。使用にあたっては各施設内の協議のもと運用することになっている。ただし、細胞数の報告値は整数とし、単位は細胞数表示の標準単位である「/ μ L」を用いることが望ましいこと、最小値を1とし、算定した数値が1に満たない場合は「1/ μ L以下」と表現することについての変更はない。



13年ぶりに改訂された「髄液検査技術教本」だが、この重要な3項目の改訂以外にも、「疾患と検査の進め方」として中枢神経系感染症 (髄膜炎・脳炎) の検査、脳外科術後の検査、中枢神経系白血病の検査を各論として取り上げ、検査法として微生物検査法と認知症の関連検査が加わり、髄液検体を用いる特殊検査を集約した一覧表の掲載など追加項目も多くみられる。さらに日常検査で遭遇する疑問に関しては「Q&A」としてまとめられ、重要な事項については「検査室ノート」への解説で対応し、最終章では髄液細胞アトラスとして新たに66枚の典型的な細胞像から希少例の細胞像まで、Samson染色とMay-Grünwald Giemsa染色の写真を中心に掲載され、現場にて検査実施時に参照できるテキストとして作り込まれている。これらの内容以外にもここで紹介しきれない変更点や追記事項があり、さらに今回から一般書店でも購入可能となり、髄液検査における標準化の第2ステージとして位置付けられている書籍として、髄液検査に携わるすべての医療スタッフに広く利用される教本になることを期待する。

◎吉永 治代¹⁾
近畿大学医学部堺病院¹⁾

【はじめに】

髄液は、脳や脊髄を衝撃から保護し、血液脳関門を介して中枢神経系の正常な機能維持を調整する重要な役割を持っている。髄液検査は、中枢神経系感染症（髄膜炎・脳炎）・くも膜下出血・脱髄疾患（Guillain-Barré症候群・多発性硬化症など）や転移性腫瘍（脳腫瘍、髄膜白血病など）などの診断ならびに経過観察のために実施する。実際には、発熱、頭痛、嘔吐などの症状や髄膜刺激兆候を認める場合や、意識障害の原因究明のために行う緊急検査としての役割が大きく、中枢神経系感染症（髄膜炎・脳炎）の早期発見を目的とする。

専任者以外が髄液検査をする機会のある当直時間帯においても、検査の意義を理解し、迅速に実施する必要がある。

【髄液の肉眼的観察】

肉眼的観察は、患者の状態を推測可能な場合があり、血性、混濁、キサントクロミーは重要な所見となり得る。次の検査へのアプローチをスムーズに行うことができる。

【髄液細胞数算定と分類】

髄液細胞数の算定と分類は、髄膜炎や脳炎などの中枢神経系感染症を早期に発見するための最も重要な検査である。計算盤上で各細胞を注意深く観察し、リンパ球、単球、組織球は単核球に分類し、好中球、好酸球、好塩基球は多形核球に分類する。多形核球は、観察する細胞の方向によっては単核球のように見えるため、核形で鑑別するのではなく、細胞質の染色性により鑑別する。

【髄液の臨床化学検査】

髄液中の化学成分は、中枢神経系疾患による血液脳関門の障害や、中枢神経組織内での異常産生などにより、バランスが崩れることがある。髄液中の化学成分の変化に疾患の特異性はないが、診断や治療効果判定に用いられ、特に髄液蛋白と髄液糖は必要不可欠な検査である。

【まとめ】

髄液検査は、中枢神経系感染症を初めとする中枢神経系疾患の患者の予後を左右する検査であると認識し、正しい検査方法の習得が必要である。

髄液検査における細菌性髄膜炎を考える

◎中村 彰宏¹⁾公益財団法人 天理よろづ相談所病院¹⁾

【はじめに】

細菌性髄膜炎は極めて致死率が高く、診断および治療の遅れは後遺症の残存にも密接に関連するため、早期の診断および適切な抗菌薬治療が極めて重要となる。細菌性髄膜炎は発症年齢により原因細菌が異なる。新生児は産道感染によって産道に常在する *Streptococcus agalactiae* (B 群溶血性連鎖球菌: GBS) や *Escherichia coli* の分離頻度が高い。乳幼児では鼻腔等からが侵入門戸となり、*Haemophilus influenzae* type b や *Streptococcus pneumoniae* が原因細菌となる。また、免疫不全患者では *Listeria monocytogenes* や *Pseudomonas aeruginosa*、VP シェント後の患者では頭皮に常在する *Staphylococcus spp.* が原因となる。検査実施時には年齢および基礎疾患等の患者背景を考慮の上、実施することが望ましい。

【細菌性髄膜炎診断における髄液検査の流れ】

細菌性髄膜炎診断へのファーストステップは髄液細胞数算定検査である。本検査はただ単に細胞数のみをカウントするだけでなく、細胞分類することが重要である。細胞分類において多形核球優位で細胞数が増加する場合は細菌性髄膜炎を疑う。これは無菌性髄膜炎との鑑別に重要な所見である。また細菌の増殖に伴い、髄液中のグルコースは減少し蛋白質の増加を認める。細菌性髄膜炎では菌血症を伴うことが多く、本疾患が疑われる場合は髄液培養検査と同時に血液培養検査 (2セット) も実施する。髄液は滅菌容器に採取し、採取後は可能な限り迅速に検査を実施する。1時間以内に報告可能な迅速検査としてグラム染色および迅速抗原検査があり、これらは迅速性が求められる髄液微生物学的検査としては最重要項目である。特にグラム染色は菌種に限らず原因細菌の検出が可能であり、微生物検査室がない施設においても実施すべき検査項目である。微生物検査室がある施設では細菌培養同定検査・薬剤感受性検査を実施する。近年は髄液検体を直接用いた遺伝子検査や質量分析を実施し、迅速に菌種を決定するワークフローが報告されている。

【顕微鏡学的検査】

グラム染色は一般細菌の形態および大きさの特徴づける最も基本的な染色である。得られる情報は適切な抗菌薬の選択に重要な手がかりとなる。グラム染色による原

因細菌の検出限界は 10^5 CFU/ml である。分離培養検査で陽性ならば感度は 70~90%だが、抗菌薬投与中の場合では 40~60%に低下する。したがって、グラム染色で菌を認めない場合でも細菌性髄膜炎は否定出来ない。細菌性髄膜炎を引き起こす代表的な病原体のグラム染色所見は必ず把握しておく必要がある。また、*S. pneumoniae* は本来グラム陽性双球菌を示すが本菌の特性である自己融解によりグラム陰性を示すことがあるので注意が必要である。

一方、クリプトコッカス髄膜炎を疑う場合は墨汁染色が有用な場合がある。*Cryptococcus neoformans* の菌体および周囲の莢膜部分は墨汁に染まらず透明に見え、背景は黒くなる。本法による検出感度は 56%であり、本法が陰性の場合でも必ず培養検査や血清学的検査等は実施する必要がある。

【迅速抗原検査】

ラテックス凝集同定キットとして PASTOREX™ メンジャイティス (バイオ・ラッド ラボラトリーズ) が市販されており、本法による感度は 70%であり、グラム染色および培養検査の併用が必要である。一方、尿中肺炎球菌莢膜抗原検出キットとして Binax NOW® *Streptococcus pneumoniae* (アリーア メディカル株式会社) も市販されており、本法は 2013 年に髄液材料を用いた有用性も評価され保険収載された。感度は尿材料を用いた場合 57.1%、髄液を用いた場合 95.4%である。本法は肺炎球菌以外の病原体は検出できないが既に抗菌薬が投与され死滅した場合でも検出可能である。

【最後に】

細菌性髄膜炎は「Emergency (緊急事態)」であるため、臨床医とのコミュニケーションを密に取り、年齢や基礎疾患など患者背景を基に原因細菌の検索を行い、積極的に早期感染症治療を支援する必要がある。

連絡先 天理よろづ相談所病院 臨床検査部
0743-63-5611 (内線 8665)

髄液検査における異型細胞を考える

◎佐伯 仁志¹⁾独立行政法人 国立病院機構 東近江総合医療センター¹⁾

【はじめに】

2015年に日本臨床衛生検査技師会より「髄液検査技術教本」が発刊された。異型細胞（腫瘍性疾患）に関しては、前身の「髄液検査法2002」から改定・変更された点はないが、“検査ノート”として、計算盤上における異型細胞検出のための留意点や塗抹標本上の一般的な形態の特徴が記載されている。今回はこれに基づき、計算盤および塗抹標本における形態的特徴について述べる。

【脳脊髄液中にみられる異型細胞の種類と出現頻度】

脳脊髄液の細胞診を対象とした筆者の調査（調査期間は2004年4月から2008年7月まで N=122）では、陰性（腫瘍細胞が見られなかったもの）は93件（76%）、疑陽性と判定されたものは5件（4%）、陽性（腫瘍細胞が認められたもの）と判定されたものは24件（20%）、であった。陽性と判定された標本24件の内訳をみると、白血病細胞11件（46%）、腺癌6件（25%） 髄膜腫4件（17%）、悪性リンパ腫2件（8%） 原発不明癌1件（4%）であった。このことから原発性脳腫瘍に比べて造血器系腫瘍および上皮性腫瘍の出現頻度の方が高い結果である。

【計算盤における異型細胞検出のための注意点】

以下に計算盤において異型細胞を疑う細胞所見を記す。

- ①大型細胞：正常形態を示す単核球や多形核球の大きさを把握しておく必要がある。脳脊髄液中には、これら以上に大きな細胞はほとんど遭遇しないので、大型細胞は異型細胞を考慮するきっかけとなる。
- ②同じ細胞：同系統の細胞の増加は要注意であり、白血病や悪性リンパ腫などの造血器系腫瘍が疑われる。
- ③細胞集塊：通常の腰椎穿刺で採取した脳脊髄液には、上皮性結合を示す細胞は見られない。このような場合は上皮性腫瘍（癌腫）の髄膜浸潤を疑う。

上記①～③の特徴を持つ異型細胞を検出した場合には必ず塗抹標本作製し、鑑別を実施することが重要である。

【塗抹標本鏡検の際に注意すること】

細胞の大小不同、細胞質の塩基性増加、N/C比の増大、核形不整、核小体腫大と数の増加などが挙げられる。また、医原性混入物（椎体軟骨細胞、骨髓細胞、

脳室脈絡叢細胞など）を腫瘍細胞と見誤らないように注意しなければならない。

【臨床情報を得る】

脳脊髄液中に異型細胞を認める場合は、予想に反して異型細胞が検出される症例も存在するが、ほとんどの症例は何らかの腫瘍性疾患を有する場合が多いので、必ず既往歴や現病歴を確認することが細胞判定の際には重要な情報となる。

【まとめ】

脳脊髄液における異型細胞の出現頻度は決して高くはないが、細胞数算定時に計算盤上で「異型細胞疑い」と報告できれば、担癌患者や造血器系腫瘍患者における腫瘍細胞の髄膜浸潤状態をいち早く臨床医に知らせることができる。このことから髄液検査に携わる我々は、異型細胞の細胞形態を把握しておくことが重要である。

連絡先 0748-22-0873（4507）