

マイセルフテキストブック

- 髄液検査 -

東京大学医学部附属病院 検査部 田中雅美 宿谷賢一

memo

I. はじめに

髄液検査は、髄膜炎や脳炎などの中枢神経疾患の診断や治療効果を把握するのに有用な検査となっている。迅速かつ正確な結果を報告するには、技術の精度や知識が求められる。

検査を実施するにあたり、産生、採取法、検査方法、臨床的意義などはよく理解しておく必要がある。

II. 概論

1. 産生と循環

髄液の産生は、大部分が脈絡叢で産生されるが、脳室上衣・くも膜下腔・脳実質内などでも産生される。成人の髄液量は約 150mL であり、3～4 時間で入れ替わる。脈絡叢 1g あたり毎分 0.4mL 産生され、一日では 1000mL～1500mL となる。また、産生された髄液の循環は、脳室間孔(モンロー孔)、第 3 脳室、中脳水道、第 4 脳室、マジヤンディー孔、ルシユカ孔の順で循環し、くも膜顆粒で吸収され上矢状静脈洞から血液へ流れこむ。

2. 役割

髄液の役割は、外圧からの中枢神経の保護、恒常性の維持、異物・老廃物の除去などがある。

3. 意義

髄液検査の適応疾患は、中枢神経系感染症(髄膜炎・脳炎)、くも膜下出血、多発性硬化症、脳ヘルニア、脊髄疾患、ギラン・バレー症候群、ベーチェット症候群、サルコイドーシス、脳腫瘍、髄膜白血病、転移腫瘍などがある。これらの疾患は、髄膜刺激徴候や三大症状が認められることがある。

- 1) 髄膜刺激徴候: 項部硬直(頸部硬直)、ケルニツヒ徴候、ブルジンスキー徴候、大泉門膨隆(乳児)
- 2) 三大症状: 発熱、頭痛、嘔吐(髄膜炎・脳炎)

III. 髄液の採取と取扱い

1. 採取法

採取法は主に腰椎穿刺が行われ、他には後頭下穿刺と脳室穿刺がある。

(1) 腰椎穿刺

側臥位で背中を丸め、第 4～5 腰椎の間を穿刺し採取する。採取は、禁忌や合併症もあるので注意を要する。

1) Queckenstedt 試験(圧測定)

両側の頸静脈を圧迫すると、健常人の脳圧は急速に上昇し、圧をとると降下する(陰性)。くも膜下腔が完全閉塞した場合は、脳圧の上昇がみられない(陽性)。

2) 禁忌

頭蓋内圧亢進、穿刺部の感染、脊椎の変形、出血傾向がある場合や患者の協力が得られない場合などである。

3) 合併症

脳ヘルニア、一過性の頭痛、IV神経まひの複視、脊髄根性疼痛、局所の感染症などがある。

(2) 後頭下穿刺(大槽穿刺)

外後頭隆起下方の正中線上から穿刺する。または、ミエログラフィーで閉塞などがわかる。

(3) 脳室穿刺(脳室ドレナージ)

頭蓋内圧亢進時(くも膜下出血、水頭症)に脳圧を下げるために行う。

2. 髄液の取扱い

採取管は、細胞が管壁に付着しにくいプラスチック製がよく、抗凝固剤は使用しない。採取後の髄液細胞は変性が早いので、採取後 1 時間以内に検査を実施する。髄液細胞は室温保存にて 2 時間後では細胞が 68% に減少し、単核球より多核球の方が変性は早い。

One Step 

近年の報告では、サムソン液で希釈した状態による冷蔵保存は、5 日間まで保存可能なことが確認されている。(図 1)

3. 髄液の性状(図 2)

髄液の性状は、試験管を光にかざして振り混濁・色調を確認する。正常の髄液は無色透明で、色調や混濁を観察することで出血の有無を推定できる。

(1) 無色・透明

正常

(2) 混濁

高度の細胞増加は細菌性髄膜炎などで認められる。軽度～中等度の細胞増加ではウイルス性髄膜炎などで認められ、この様な検体では試験管を光にかざして振ると、塵のような細かい粒子が見える(日光微塵)。

(3) 色調

1) 黄色(キサントクロミー)

髄液腔内で出血した赤血球の破壊によって生じた間接型ビリルビンの色調である。この色調は、出血後 3 時間以上経過後から認められ、1 週間で最も著明となり、3～4 週間持続する。くも膜下出血、新生児の脳室内出血、高ビリルビン血症や髄液蛋白の著明な増加の時に認められる。

2) 血性髄液(赤色)

髄液腔内や穿刺時の末梢血混入時などで認められる。髄液腔内の継続的な出血の場合は、遠心後の上清がキサントクロミーであることが多い。一方、穿刺時の末梢血混入の場合は、採取のはじめに比べると後にでてきた髄液は、色調が透明になる。

・Froin 現象

くも膜下腔閉塞がある時、キサントクロミーを呈しフィブリン析出とともに液全体が凝固する現象である。

memo

IV. 髄液化学

1. 蛋白

髄液中の蛋白は、血液脳関門により一定に保たれている。多発性骨髄腫、髄膜炎、ギラン・バレー症候群、多発性硬化、脳炎、脳出血、くも膜下出血、脳腫瘍、脊髄腫瘍などで高値となる。基準値は 50 mg/dL 未満、ピロガロールレッド法などで定量する。また、脳室穿刺は腰椎穿刺に比べ蛋白含有量が 1/2~1/3 位低値を示す。

1) グロブリンの定性反応は、ノンネ・アペルト反応(蛋白濃度 50mg/dL で反応)、パンディー反応(蛋白濃度 25mg/dL で反応) があるが、精度の低い方法である。

2. 糖

髄液糖の基準値は、50~80mg/dL で血糖値の 60~80%を呈し、血糖値の濃度に影響される。髄液糖は、好中球や細菌などによる解糖作用で低下し、細菌性・結核性・真菌性髄膜炎、悪性腫瘍の髄膜浸潤などで低値となる。

3. LD

基準値は 25~50 IU/L 以下である。細菌性髄膜炎はウイルス性に比べ上昇することから、両者の初期の鑑別に役立つ。細菌性髄膜炎は好中球由来の LD4・5 が著明に増加する。リンパ球が著明に増加した場合は、リンパ球由来の LD2・3 が増加するため高値を示すことがある。

4. CK

基準値は6U/L 以下で、血中の CK とは独立して変動する。脳挫傷、脳腫瘍、脳血管障害、髄膜脳炎、多発性硬化症、重症の髄膜脳炎などで高値となる。

5. Cl

基準値は、血中より 15~20mEq/L 高値となり、髄液中 Cl 値は血中 Cl に影響され、蛋白が増加すると Cl は低下する(Donnan 平衡)。細菌性髄膜炎、結核性髄膜炎などで低値となる。

V. 髄液細胞数の算定

細胞算定用の検体は最初に流出する髄液を使用する。

1. 希釈方法

マイクロピペットを用いて、サムソン液 20 μ L、髄液 180 μ L(1:9)を混和する。マイクロピペットの精度が良ければ、サムソン液 20 μ L、髄液 200 μ L(11/10 倍)でも差支えない。また、高度の細胞増加で算定困難な場合は、生理食塩水で希釈すると良い。

2. 算定手順

手順方法は以下に述べる。

- ① フックス・ローゼンタール計算盤のニュートンリングを作成する
- ② サムソン液で希釈した検体を計算盤に流し込む
- ③ 3~5 分間放置する

- ④ 200倍で全16区画を算定する
- ⑤ 算定した細胞数を3で割る(報告値:個/ μ L)
 - 作業効率から200倍で算定するとよい。
 - 血球が混入した検体は、5分ほど放置した後計算盤に流し込む。高度の細胞増加では、算定区画を少なくし16区画に換算する。
 - フックス・ローゼンタール計算盤を推奨するが、ビュルケル・チュルク計算盤を用いてもよい。

3. 細胞数の報告

1) フックス・ローゼンタール計算盤(図3)

計算盤の容積=縦4mm×横4mm×深さ0.2mm=3.2mm³

細胞数(個/ μ L) = $X/3.2 \times 10/9 \approx X/3$

2) 報告方法

報告は整数とし、単位は/ μ Lが望ましい。最小値は1とし、1に満たない場合は1/ μ L以下とする。

3) 参考基準値

2006年医学検査学会(パネルディスカッションII)にて大田らにより参考基準値が報告された。

- 新生児:20/ μ L以下
 - 6ヶ月未満:10/ μ L以下
 - 6ヶ月以降:5/ μ L以下
- リンパ球主体を呈す。

4) 細胞数補正

末梢血の混入は髄液細胞に正誤差となるため、細胞数の補正が必要となる。肉眼的な血液色、髄液細胞数が軽度増多、末梢血の赤血球減少が著明な場合、あるいは高度の白血球増多を示す場合などは細胞補正の意義は高い。

● 補正式

$X = \text{髄液細胞数} - (\text{末梢血白血球数} / \text{末梢血赤血球数} \times \text{髄液赤血球数})$

- 補正時の赤血球算定は生理食塩水で10倍希釈し、ビュルケル・チュルク計算盤を使用する。

VI. 細胞分類方法(図4)

単核球と多核球に分類し、細胞数が多い時は%、少ない時は実数で報告する。

1. 単核球

1) リンパ球

細胞の大きさは、8~10 μ m(小型)、核はほぼ円形、細胞質は狭く核周囲にリング状でサムソン液に淡く染まる。ウイルス感染症、慢性炎症などで増加する。ウイルス性髄膜炎では、異型リンパ球が認められることが多い。

2) 単球

大きさは15~17 μ m(リンパ球の1.5~2倍)、核は切れ込みのある類円・偏在、細胞質は赤桃色(サムソン液に良染)に染まる。髄膜炎・頭蓋内出血などで増加する。

3) 組織球

大きさは16~25 μ m(出現する白血球で一番大きい)、核は小型で偏在・多核もある、細胞質は泡沫状の淡い桃色に染まり、時にヘモジデリン顆粒・赤血球片貪食像を認める。くも膜下出血、脳室内出血などの頭蓋内出血時に認められる。

2. 多核球

1) 好中球

核は分葉(時には核が重なり単核に見える)、細胞質はサムソン液に染まらず偽足をもったような不整形を呈す。細菌感染症、急性炎症などで増加する。

2) 好酸球

核はめがね状・2核、細胞質は好中球に比べ輝くような淡いオレンジ色の円形状を呈す。寄生虫性髄膜炎、アレルギー反応などで増加する。

3) 好塩基球

好中球と同様の形状を呈し、サムソン染色では鑑別不能である。

3. その他の細胞

1) 赤血球

出血が軽度の場合はサムソン液(酢酸)で膨化・融解する。ドレナージ髄液は収縮変性、集合・破碎片などがみられる。また、頭蓋内出血、脳腫瘍などで認められる。

One Step

単球の細胞質は濃染するが、好中球の細胞質はあまり染まらない。単核と多核の鑑別は、細胞質の染まり具合(濃染か淡染)を観察するとよい。キサントクロミーの検体は、時に単球の細胞質が濃染しないことがあるので注意を要す。

4. 塗抹標本

サムソン染色は細胞鑑別に限界があり、時に塗抹標本を作製しメイ・ギムザ染色をする必要がある。

- ① 髄液 800rpm、5分遠心後、上清をデカントする。
- ② 沈渣に AB 型血清を蛋白量が約 3g/dL になるように加える。
- ③ スライドガラスに 5~10 μ L 載せ標本を作製、直ちに強制乾燥
- ④ メイ・ギムザ染色をする。

One Step

手早く乾燥をさせないと、細胞が委縮し鑑別困難となる。

VII. 疾患

1. 髄膜炎

1) ウイルス性髄膜炎

髄膜炎・脳炎の7割以上を占め、エンテロウイルスによるものが多い。細胞数は、中等度増加、リンパ球優位となり、病初期では大型の異型リンパ球がみられる。小児のエンテロウイルス感染では、病初期に一過性の好中球優位を呈する。

2) 細菌性髄膜炎

急激に発症し、頭痛、悪寒、発熱、髄膜刺激徴候、時に意識障害、脳神経症状が出現する。著しい細胞増加(1万個/ μ L以上)で好中球主体となり、髄液蛋白の増加、糖の低下がみられる。原因菌は、新生児ではB群溶血性連鎖球菌、大腸菌、小児では肺炎球菌、インフルエンザ菌などがある。成人では肺炎球菌、リステリア菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、クレブシエラ、プロテウスなどがある。抗生剤治療が奏効すると、リンパ球優

位で少数の形質細胞などもみられ、再炎すると好中球優位となる。

3) 結核性髄膜炎

中等度の細胞増加でリンパ球優位であるが、発症初期や重症では好中球優位となる。髄液中にトリプトファンは存在するが、結核性以外の髄膜炎やキサントクロミーでもトリプトファン反応が陽性を呈すことがある。

4) 真菌性髄膜炎

原因菌は、クリプトコッカスが多く、カンジダ、アスペルギルスなどがある。クリプトコッカス髄膜炎では、日和見感染、抗生剤、ステロイドなど免疫力低下の合併症(AIDS、白血病、膠原病、重症糖尿病などの基礎疾患あり)などでみられる。また、免疫不全を伴うクリプトコッカス髄膜炎では、大型の菌体が著しく増殖し、細胞増多は乏しい(リンパ球、単球が散見)。免疫不全を伴わないクリプトコッカス髄膜炎では、リンパ球主体の中等度の細胞増加がみられ、菌体は小型で確認が困難となる。

5) 好酸球性髄膜炎

好酸球が著明に増加し、寄生虫感染などでみられる。線虫類(広東住血線虫、回虫、旋毛虫)、吸虫類(肺吸虫、日本住血吸虫)、条虫類(有鉤条虫、包虫)などがあげられる。

6) 原発性アメーバ性髄膜脳炎

激的な髄膜炎で、ほとんどが発症後 10 日で死に至る。川、池、水泳プールなどの淡水に存在するアメーバ(*Naegleria fowleri*)が原因となる。中等度～高度の細胞増加で、好中球、リンパ球、単球が混在し、大部分が蛋白増加、糖低下がみられる。アメーバ小体は類円形で、ギムザ染色により細胞質は淡い塩基性を呈し、大小多数の空胞形成像を示す。

7) 神経梅毒

トレポネーマが中枢神経系へ侵入する。発症初期は細胞数が正常な場合があるが、軽度～中等度の細胞増多でリンパ球優位となる。

8) 脳炎・髄膜脳炎

脳実質の炎症性変化で、原因はヘルペス・日本脳炎ウイルスがある。

2. 無菌性髄膜炎

病原微生物の存在なく(非感染性の病変)、細胞数増多を呈す。原因は頭蓋内出血、くも膜下出血、脳硬膜外・下の炎症巣、壊死巣・腫瘍などがある。軽度の細胞数増多(単核球優位)を認める。くも膜下出血はキサントクロミーを認め、ヘモジデリン顆粒・赤血球片を貪食した単球や組織球像を認める。

3. 腫瘍性疾患(図 4)

計数盤上で、大型細胞、奇妙な形、集合細胞、同一形態を示す。異型細胞の単一増生などが認められた場合は腫瘍細胞の可能性がある。また、これらの細胞は塗抹標本上では、細胞の大小不同、不整形細胞、N/C 比の増大、核形の不整、核クロマチン染色性の増加と多彩性、核クロマチンの染色性の幼若化、核小体の明瞭化と数の増加などの特徴がある。

1) 原発性脳腫瘍

腫瘍細胞が髄液中に出現することはまれである。

2) 腺癌細胞

転移性癌腫のなかで頻度が高い。形態像は細胞質の異形成と核クロマチン量の増加、N/C 比大・大小不同、核の偏在、明瞭な核小体、細胞質内に粘液空胞を呈する。

3) 扁平上皮癌細胞

形態像は同心円状の層状構造、核の位置は中心性、核クロマチン染色性高い。

4) 小細胞癌細胞

形態像は類円形でリンパ球より大きく、クロマチンは微細顆粒状で染色性強い。柵状・木目込み細工様結合の特徴的な細胞配列を認める。

5) 白血病、悪性リンパ腫

白血病の寛解期でも髄液中に白血病細胞が認められ、細胞数は基準範囲内の時でも存在することがあるので鏡検には注意を要す。また、白血病の髄膜浸潤は急性リンパ性白血病が最も多い。

One Step →

癌を疑う場合は、結合性があるか、また配列構造を観察するとよい。上皮細胞は、白血球に比べると細胞がしっかり(厚みがある)している。また、白血病、悪性リンパ腫細胞は、一般的には孤立散在性で認められる。異型細胞は、正常細胞の形態像を把握すると鑑別することができる。

4. その他**1) ギラン・バレー症候群**

末梢神経髄鞘に対する感染・中毒・アレルギーによって生じる脱髄疾患で、髄液蛋白の著明上昇、細胞数の増加がない蛋白細胞乖離を特徴とする。

2) HTLV-I-associated myelopathy (HAM)

成人 T 細胞白血病(ATL)の原因で、血中・髄液中の HTLV-I 抗体価陽性である。細胞数はリンパ球主体の軽度～中等度増加で、ATL 様細胞が出現する。

3) 多発性硬化症

活動期にリンパ球主体の軽度の細胞増加で、非活動期は正常化する。活動期に形質細胞を認め、蛋白上昇、免疫グロブリンを産生する。

4) 脳ヘルニア

髄液中にブルキンエ細胞を認めることがある。

5. 医原的細胞(髄液採取時の混入)**1) でん粉(タルク)粒子**

手袋の粉のことで、サムソン染色では光沢をもつ類円～多菱形の粒子、中央に点状のくぼみのある形状で、クリプトコッカスに類似する。

2) 皮膚の重層扁平上皮細胞**3) 椎体軟骨細胞**

サムソン染色で濃くべつりと染色され、細胞内に小型の核をもつ。

4) 赤血球

頭蓋内出血と穿刺時出血の鑑別が必要となる。穿刺時出血はキサントクロミー、組織球のヘモジデリン貪食を認めない。一方、脳室ドレナージは変性・破碎した赤血球が出現する。

5) 赤芽球

抹消血混入時に認められ、リンパ球に類似した形態で、細胞質が赤血球と同様の色調である。

6) 骨髄細胞

腰椎穿刺時に椎体骨髄を穿刺した時に認められる。赤芽球、幼若顆粒球、巨核球などを認める。悪性疾患との鑑別は赤芽球の存在がめやすとなる。

7) 脳室ドレナージ髄液にみられる医原的細胞所見

大脳実質の組織、軟膜細胞、脈絡叢細胞が混入する。

8) 脳室脈絡叢細胞

細胞結合性の強い、数個～十数個の小集団。サムソン染色では、淡く染まるレース状の細胞質、円形の小型核を認める。

9) 大脳実質の組織小片

フグシンに良く染まりスポンジのかけら状を呈す。

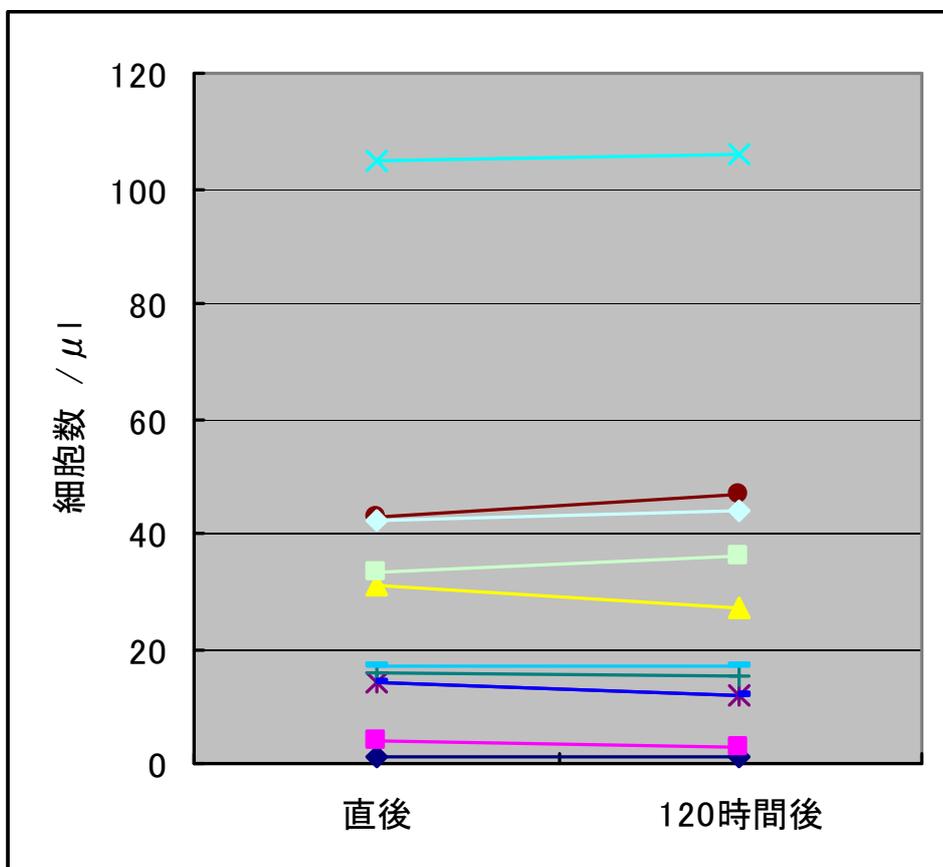
10) 軟膜細胞

ドレナージ髄液で大脳実質組織片に伴って認められる。核・細胞質が引き伸ばされたような形状で、集合性に認める。

VIII. まとめ

検査を始めるにあたり、「髄液検査法 2002」を一通り読み、髄液の産生、性状と出現細胞の関係、細胞の形態的特徴、検査の操作法、疾患時の検査結果などを理解しておくことが重要と思われる。

図1 サムソン液希釈後の経時変化
(直後と120時間後の細胞数の比較)



memo

図2 性状と出現細胞の関係

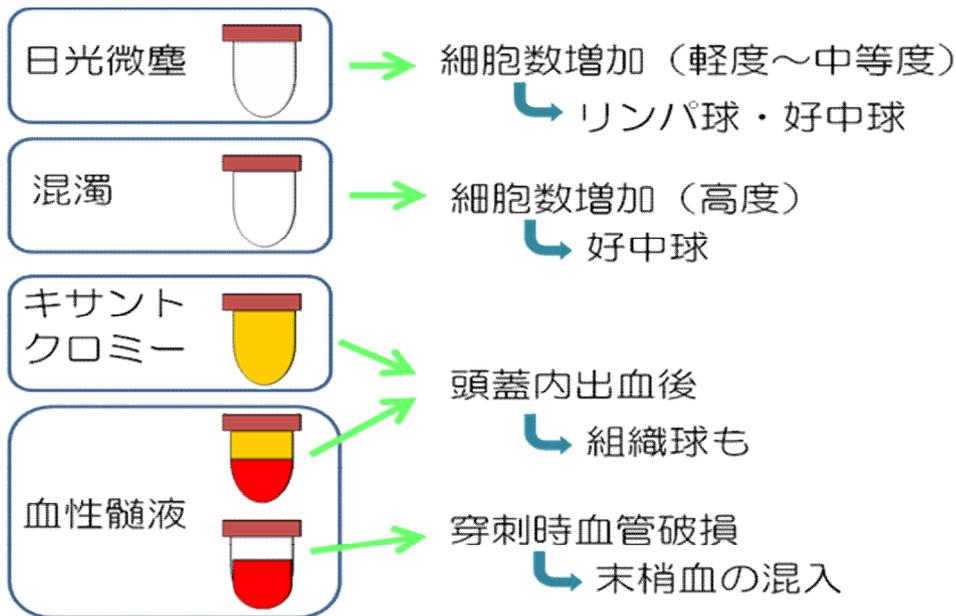


図3 フックス・ロゼンタール計算盤

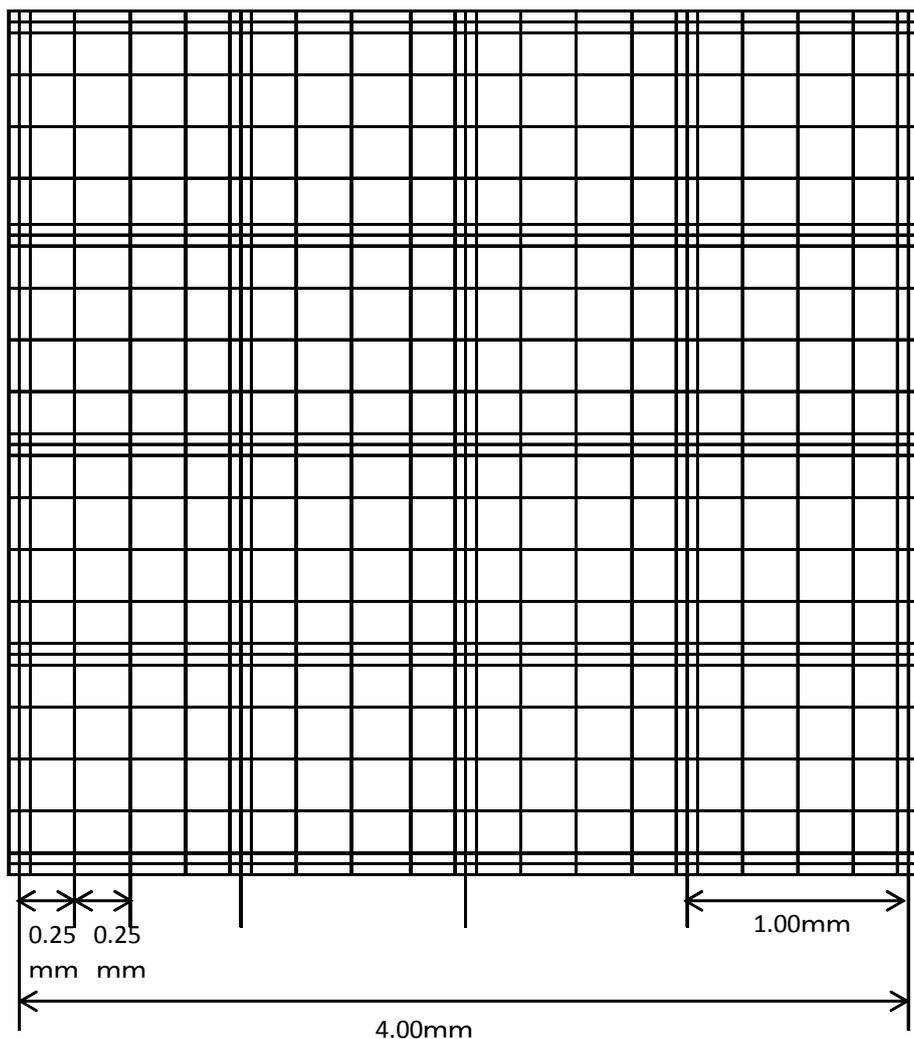
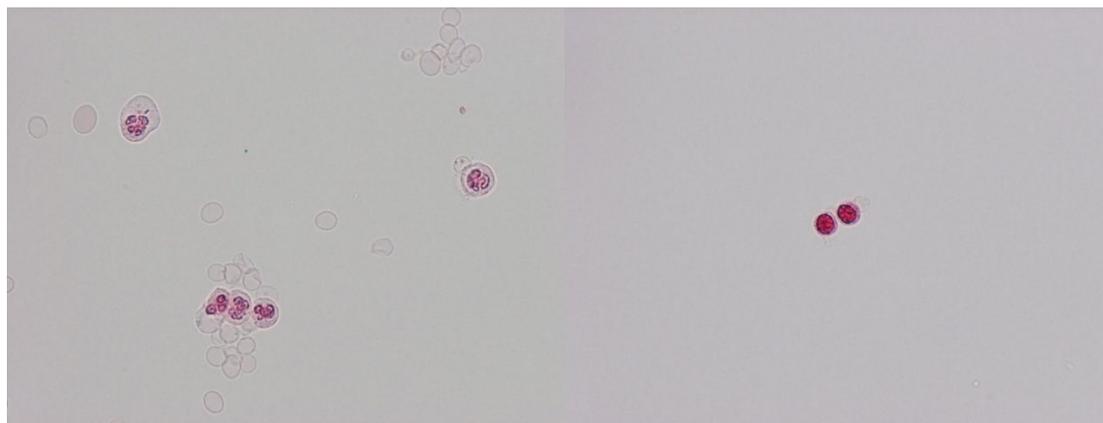


図4 サムソン液希釈後の細胞写真(×400倍)



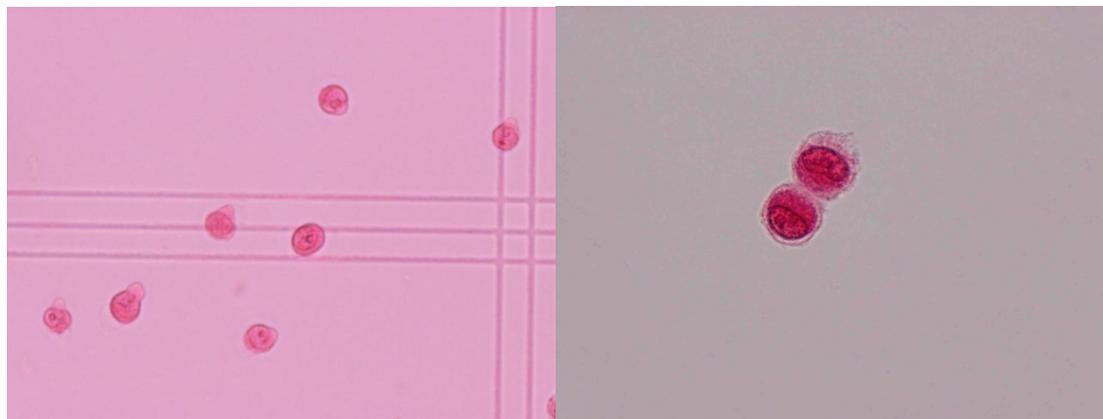
多核球(好中球)

単核球(リンパ球)



単核球(単球)

単核球(組織球)



異型細胞(白血病細胞:ALL)

異型細胞(腺癌細胞)

参考資料

- 1) (社)日本臨床衛生検査技師会、編:髄液検査法 2002
- 2) 大田喜孝, 他. 髄液細胞の観察について. 医学検査 2006;55(4):281.
- 3) 大田喜孝, 他. 計算盤で異型細胞を見逃さないためのポイント. Medical Technology 2003 ; 31(5):488-493.
- 4) 石山雅大, 髄液の採取と検査の進め方. Medical Technology 2003 ; 31(5):472-475.
- 5) 大田喜孝, 他.
- 6) 髄液一般検査の新たな展開. 検査と技術 2003;31(9) :793-800.
- 7) 田中雅美, 宿谷賢一他. 髄液細胞の保存. 臨床病理レビュー特集第140号 臨床検査Yearbook 2008 一般検査編:187-188