

網状赤血球ヘモグロビン等量(RET-He)の鉄動態における診断的有用性

◎永谷 大輔¹⁾、前川 美紀¹⁾、山根 友理¹⁾、中島 経佳¹⁾、大川 洋毅¹⁾、阿部 哲朗¹⁾、鶴園 卓也²⁾
社会医療法人 医真会八尾総合病院 SRL 検査室¹⁾、社会医療法人 医真会八尾総合病院²⁾

【目的】網状赤血球ヘモグロビン等量(RET-He)とは、骨髄で産生された直後の網状赤血球よりリアルタイムな鉄充足情報を反映する鉄欠乏マーカーとして知られている。今回、鉄欠乏性貧血でのRET-He値、鉄剤投与におけるRET-Heの変動、フェリチン・TSATとRET-Heの相関係数求め鉄動態における診断的有用性を検証した。

【方法】当院に受診された患者を対象とし、鉄欠乏性貧血のガイドラインに適合する患者のRET-He中央値から鉄欠乏性貧血マーカーとしての有用性、鉄欠乏性貧血と診断された患者3症例を鉄剤投与からの変動をHb・MCV・フェリチン・血清鉄とともに調べRET-Heのモニタリングとしての有用性、慢性腎臓病(CKD)における鉄の充足評価を腎性貧血治療のガイドラインに基づきフェリチン・TSATとRET-Heの相関係数を求め診断的有用性を検証した。

【結果】鉄欠乏性貧血ガイドラインに基づき鉄欠乏性貧血・貧血のない鉄欠乏では、RET-He中央値は低値傾向を示し、健常者では正常値範囲であった。鉄欠乏性貧血

患者に鉄剤投与後からHb、MCV、フェリチン、血清鉄が上昇するとともにRET-Heが他の項目に比べて早期に上昇し、以降緩やかな上昇を示す結果であった。腎性貧血治療のガイドラインに基づき鉄欠乏貧血と評価した時の相関係数は、TSATではRET-Heとの強い相関を示したが、フェリチンでは弱い相関を示す結果となった。

【考察】鉄欠乏性貧血または貧血のない鉄欠乏においてもRET-Heの優位な低値傾向が見られ、赤血球レベルでの鉄欠乏の状態を把握できるマーカーであると考えられた。鉄剤投与において早期にRET-Heが反応していることからモニタリングに使用でき且つ鉄剤不応性の判断材料になると考えられる。CKDにおける鉄の充足評価においては、フェリチンは鉄貯蔵蛋白と同時に急性期反応性蛋白でもあり炎症、慢性疾患で増加していることが考えられ弱い相関を示したと考えられるが、TSATでは強い相関を示しており総合的に考えてRET-Heは、鉄動態において診断的有用性に役立つと考えられる。

連絡先:072-920-2017

びまん性肺疾患における気管支肺胞洗浄液中の細胞所見とその意義

◎森田 唯花¹⁾、三崎 晴輝¹⁾、榎木 美佳¹⁾、武野 建吾¹⁾、津田 勝代¹⁾、斉藤 真裕美¹⁾、胡内 久美子¹⁾、中村 文彦¹⁾
地方独立行政法人奈良県立病院機構 奈良県総合医療センター¹⁾

びまん性肺疾患の気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar Lavage Fluid: BALF) 中の細胞成分の解析は診断や病態解析に有用とされている。今回、びまん性肺疾患について、BALF 中の細胞成分とリンパ球の CD4/CD8 比について解析を行い各疾患の特徴とその意義について報告する。

【対象】2016年～2019年6月までの間にBALが施行された、特発性間質性肺炎38例、器質化肺炎24例、非特異性間質性肺炎7例、過敏性肺炎9例、サルコイドーシス7例についての総細胞数、(リンパ球、好中球、好酸球)分画、リンパ球のCD4/CD8比について解析した。

【結果及び考察】各疾患の総細胞数の平均は396,482,387,426,237/ μ Lであり、サルコイドーシスの237/ μ Lが最も少なく(160～380/ μ L)分布幅も小さかった。リンパ球分画では各疾患の平均は27.1,29.4,32.9,52.9,26.5%であり過敏性肺炎52.9% (19.2～85.9%)が最も高かった。好中球分画が5%以上増加する例は、特発性間質性肺炎と器質化肺炎で両者約半数の例に認められた。好酸球分画5%以上はサルコイドーシス

以外のどの疾患にも認められたが少数例であった。

CD4/CD8比が最も高かったのはサルコイドーシスで平均7.3 (1.9～20.0) で低い例も存在していた。近年の報告では0.5～37.3と幅広い値を示し、1以下の症例が12%も存在するとの報告もある。CD4/CD8比の平均が最も低かったのは過敏性肺炎で平均1.8であった。過敏性肺炎においては慢性か急性型かによりCD4/CD8比は様々な値を呈する。活性化T細胞や形質細胞を認めるとの報告もあり、病態解析をする上でこれらについても検索する必要があると考えられた。また診断における重要度という観点からすると、BALFは肺生検にとって替わるものではないが、肺の免疫反応を細胞成分の解析により明らかにすることは意義があると考えられる。

【まとめ】過敏性肺炎はリンパ球増加とCD4/CD8比の1以下が多く、サルコイドーシスは総細胞数が少なくCD4/CD8比は高い例が多かったのが特徴であった。これらの細胞成分を解析することはびまん性肺疾患の病態解析に意義があると考えられる。(0742-46-6001)

病態変化を逃さず捕らえるための診療支援ロジック開発

～□DSSを活用したヘモグロビンからの解析□～

◎畑中 徳子¹⁾、仲村 ちあき²⁾、永井 直治²⁾、高橋 陸²⁾、河野 久²⁾、嶋田 昌司²⁾、山本 慶和¹⁾、松尾 収二²⁾
学校法人 天理よろづ相談所学園 天理医療大学¹⁾、公益財団法人 天理よろづ相談所病院²⁾

検査部はパニック値報告の体制を整えているが、ときに連絡遅れや不適切な報告を経験する。診断支援システムDSS（アボットジャパン）は登録した解析ロジックに基づき検査結果をリアルタイム自動解析するシステムである。今回ヘモグロビン（Hb）の速報対象となる患者抽出に、DSSを利用しその効果をみた。

【対象】対象は2019年3月に天理よろづ相談所病院にてHbの検査が実施された9558件とした。

【方法】①現状調査：現行のパニック値設定は5.5 g/dL以下または3.0 g/dL以上の減少（ $\Delta 3.0$ g/dL以上）である。速報記録から報告件数を調べた。②DSSにて速報対象を抽出するロジックを作成し、速報記録と比較した。

【結果および考察】①速報記録件数は64件で、5.5 g/dL以下が14件、 $\Delta 3.0$ g/dL以上が27件、それ以外が23件であった。23件は技師が、パニック基準は満たさないが出血のリスクを考慮したものであった。②調査結果をもとにDSSのロジックは、A群（パニック値）、B群（ $5.5 < \text{Hb} \leq 8.0$ g/dLかつ $1.5 \leq \Delta \text{Hb} < 3.0$ g/dL）、およびC群（ 8.0

g/dL < Hb < 基準範囲下限かつ2回連続 $1.0 \leq \Delta \text{Hb}$ 、または $\text{Hb} < 8.0$ g/dLの初回）で作成した。DSSの抽出件数と速報記録との差はそれぞれA群で11件（52対41件）、B群で14件（29対15件）、C群で64件（74対11件）であった。A群の11件中10件は術後、脱水回復、および頻回輸血であったが、残り1件は薬剤投与量が変更されていた。B群14件中9件、およびC群64件中11件で、出血やそのリスク、および鉄剤の投薬変更があった。DSSによるHb速報対象者の抽出は、見逃しを防ぐ効果が高く、技師の力量により差がでるB群、C群の抽出も確実に行える。DSSは速報記録例を全て抽出した反面、報告不要と思われる例も多く含むため、ロジック内にその判断ポイントをガイドする作りが必要と思われた。またシステム化することで、複数の技師による確認が可能となり、対応記録は教育にも活用できる。

【結語】DSSを利用したHbの速報抽出ロジックを作成した。DSSは確実に有効な情報発信をサポートする。

連絡先：0743-63-7811

8カラーフローサイトメトリーを用いた多発性骨髄腫における高感度MRD検出法の開発

◎姫野 真由子¹⁾、張 允禧¹⁾、物部 真恵¹⁾、白石 祐美¹⁾、丸岡 隼人¹⁾
独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院¹⁾

【はじめに】近年、新薬の登場により多発性骨髄腫 (Multiple Myeloma:MM)の治療成績は改善されつつあり、より正確かつ高感度な Minimal/Measurable residual disease (MRD)検出法が求められている。EuroFlow が提唱する次世代フローは優れた MRD 検出法であるが、ドラツムマブの影響を受けやすく、かつ測定本数が2本必要で使用抗体が重複しているためコストがかかるという課題がある。そこでEuroFlowを元に、8カラーフローサイトメトリーを用いて1本の測定チューブでMRDを検出する方法(KobeFlow)を開発したので報告する。【対象】2018年9月~2019年6月の期間において、当院でMMと診断された患者34名の骨髄血31例及び末梢血34例をMRD解析した。患者34名のうち、14名15例においては同日に骨髄血及び末梢血のMRD解析を行った。【方法】EuroFlowが提唱するガイドラインに従ってサンプル処理・抗原抗体反応を行い、BD FACSCanto IIで細胞300万个を解析した。解析対象抗原はCD19, CD27, CD45, CD56, CD81, CD117, CD138, CD229, CD319,

VS38c, Kappa, Lambdaで、抗体の組み合わせは患者ごとに設定した。検出感度は0.001%(細胞数300万に対して腫瘍細胞30個以上)とした。【結果】骨髄血では31例中25例でMRDを検出した(0.01~80.8%)。末梢血では34例中14例でMRDを検出した(0.001~28.1%)。同日に骨髄血・末梢血のMRD解析を実施した14名15例において、どちらもMRDを検出したのは7例、骨髄血のみMRDを検出したのは8例であった。ドラツムマブ投与例においてCD38の発現低下を認め、骨髄血19例中16例、末梢血14例中7例がMRD陽性であった。【考察】骨髄血・末梢血MRDを測定した14名15例において、骨髄血MRDは全例陽性であったが末梢血MRD陽性は約半数であった。このことから末梢血中の腫瘍細胞が骨髄血よりも有意に低値であり、末梢血でMRDを測定するのは困難であると考えられた。【結語】KobeFlowはEuroFlowと比較してコストが削減され、骨髄血においてドラツムマブの影響を受けることなく高感度なMRD検出が可能であった。連絡先078-302-4321(代表)

8-color Flow cytometry による B 細胞性リンパ芽球性白血病の高感度 MRD 解析法の確立

◎張 允禧¹⁾、白石 祐美¹⁾、物部 真恵¹⁾、姫野 真由子¹⁾、丸岡 隼人¹⁾
独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院¹⁾

【はじめに】B 細胞性リンパ芽球性白血病(B-ALL)において、minimal/measurable residual disease(MRD)は最も重要な予後因子であり、治療効果の判定のみならず、再発の早期発見や治療方針の選択に必要不可欠である。主な MRD 解析法には、Flow cytometry(FCM)や白血病に特異的な融合遺伝子を検出する Quantitative polymerase chain reaction(Q-PCR)がある。B-ALL では、*BCR-ABL1* のような融合遺伝子を発現する症例が全体の 30-40%であり、Q-PCR の適用が限定される。一方、FCM は Q-PCR に比して感度は劣るものの、適用症例は多い。

近年、EuroFlow が提唱する次世代 FCM による高感度 MRD 解析が注目されるが、EuroFlow のプロトコールによる抗体試薬の組み合わせでは、B-ALL の一部の症例において腫瘍細胞の検出が困難な場合がある。

そこで当院では、診断時の異常抗原発現に基づく症例特異的抗体パネルを用いた独自の 8-colorFCM (以下、KobeFlow) を考案し、Q-PCR による *BCR-ABL1* 遺伝子定量検査との検出感度の同等性について検討した。

【対象・方法】当院で Ph+ALL と診断された患者 5 人の骨髓検体を用いて、2018 年 4 月～2019 年 6 月における MRD 22point を解析した。Q-PCR による *BCR-ABL1* 遺伝子の定量結果と KobeFlow による測定結果について、それぞれ初発時の値を 1 として MRD における減少度を比較した。なお、FCM の検出限界は 0.001%とした。

【結果・考察】測定した 22 例のうち、19 例で Q-PCR-MRD と KobeFlow-MRD の結果が概ね一致した。Q-PCR でのみ MRD が検出された 3 例について、結果乖離の原因として、Q-PCR では全腫瘍細胞をとらえるが FCM では異常抗原発現をもつ細胞に限定される点があげられる。

【結論】KobeFlow を用いることで、Q-PCR に匹敵する高感度 MRD 検出が可能であった。今後、従来の測定法では高感度解析の適用外であった *BCR-ABL1* 変異を持たない Ph-ALL(全 B-ALL のうち 60-70%)のような症例に対して、非常に有用な MRD 検査法となることが期待される。 連絡先：078-302-4321 内線 3540

造血器腫瘍の中樞神経浸潤において10カラーFCM検査が有用であった2症例

◎河合 麻美¹⁾、米澤 賢二¹⁾、大本 知佳¹⁾、天神 貴子¹⁾、八木 智恵¹⁾、足立 綾¹⁾、芳賀 由美¹⁾、村山 徹¹⁾
兵庫県立がんセンター¹⁾

【はじめに】造血器腫瘍の中樞神経(CNS)浸潤が疑われた場合、フローサイトメトリー(FCM)検査による細胞表面抗原の解析が細胞判定に有用な手法の一つとなる。しかし、髄液中の細胞変性は非常に早く、細胞数も少ないことが多いため、院内で迅速に検査を実施する必要がある。また、従来の3カラー法では診断に必要な抗原を同定するには、細胞数・測定本数ともに多数必要で、検体によっては測定項目数を絞る必要があった。当院では2017年12月にNaviosEXを導入、2018年5月より本格的に10カラーFCM検査を開始して以来、微小検体における造血器腫瘍細胞の同定に威力を発揮している。今回は造血器腫瘍のCNS浸潤において、10カラーFCM検査が有用であった2症例について報告する。

【症例1】46歳男性。2017年12月にB-ALLと診断、Hyper-CVAD+MA+DASA療法2コースを施行。2018年4月にallo-PBSCTを実施したが、同年6月に再発。その際の骨髄検査では、FCM検査でCD45弱陽性、CD19,CD10,CD22,HLA-DR陽性の細胞集団を認めた。

Hyper-CVAD+PONA療法1コース後、同年7月CNS浸潤否定目的で髄液検体が提出された。細胞数1/3個/ μ Lながら、サイトスピン標本でBlastic cellを2.1%指摘し、FCM検査の追加となった。結果、再発時と同様の抗原性を示す細胞を19個認め、CNS浸潤有りと判断された。

【症例2】69歳女性。2018年12月にDLBCLと診断、R-CHOP療法6コースを施行。その際の骨髄検査ではFCM検査でCD19,CD20,CD10陽性、 κ 優位の軽鎖制限を有する細胞集団を認めた。2019年5月より右下肢に麻痺を認め、精査のため髄液検体が提出された。細胞数220/3個/ μ Lで、サイトスピン標本に異常Lyと疑わしき細胞を0.5%認めた。FCM検査ではCD19,CD10および κ 陽性の初診時に類似した抗原性を示す細胞を8個認めた。細胞数わずかながら、この検査結果を契機としてDLBCLのCNS浸潤に合致するという判断となった。

【まとめ】穿刺液等の腫瘍細胞数が極めて少なく従来法では検出困難な症例において、10カラーFCM検査の有用性が示された。 河合 078-929-1151(内線432)