Ⅱ. リンパ系腫瘍の基本事項

4. 細胞表面形質

増田亜希子

要 旨

フローサイトメトリー（FCM）を用いた細胞表面抗原検査は、白血病やリンパ腫の診断に欠かせない検査の一つである。急性白血病初発時の診断・病型分類に必須であるだけでなく、寛解導入療法後は微小残存病変（MRD）の評価にも有用である。悪性リンパ腫の場合、FCMと病理組織所見を併用することで、より正確な診断が可能となる。FCMは胸・腹水等の体腔液にも応用できる。FCMを活用するには、代表的な抗原の種類、結果解釈のポイントを理解する必要がある。

〔日内会誌 100：1807～1816, 2011〕

Key words 細胞表面マーカー, フローサイトメトリー（FCM）, 急性白血病, 悪性リンパ腫

はじめに

造血細胞の表面には様々な細胞表面分子が発現しており、分化段階によりその発現パターンが異なる。その多くはCD(cluster of differentiation)番号が付され、分類・整理されている。細胞表面分子の発現の状態、すなわち細胞表面形質は、細胞系列（lineage）と分化段階を知る手段として用いられるようになり、血液疾患の診断・治療に欠くことのできない検査法となった。

フローサイトメトリー（flow cytometry:FCM）を用いた細胞表面形質解析では、細胞表面抗原に対応するモノクローナル抗体を用いて、その発現パターンを解析することにより、腫瘍細胞のlineageや分化段階を推測することができる。

FCMは、急性白血病の診断・病型分類に不可欠な検査であり、寛解導入療法後は微小残存病変（minimal residual disease：MRD）の評価にも有用である。悪性リンパ腫の場合、FCMと病理組織所見を併用することで、より正確な診断が可能となる。FCMは末梢血や骨髄だけでなく、リンパ節、胸・腹水などの体腔液、髄液などの解析に用いられ、病変の広がり診断にも有用である。

FCMの特徴として、①迅速性、②定量性、③客観性、④同一細胞で二重染色が可能、⑤細胞表面だけでなく細胞質内の抗原も検索可能、ということが挙げられるが、結果の解釈には注意が必要であり、形態所見等と併せて総合的に判断することが重要である。本稿では、FCMの基本事項から結果の解釈のポイントまで、実例を

東京大学大学院医学系研究科臨床病態検査医学

Lymphoid Malignancies: Progress in Diagnosis and Treatment. Topics: II. Basic Knowledge of Lymphoid Malignancies; 4. Cell surface markers.

Akiko Masuda: Department of Clinical Laboratory Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Japan.

トピックス

図 1. FCMの測定原理

挙げて解説したい。

1. FCMの原理

FCMは、フローサイトメーターを用いて細胞表面や細胞質内にある粒子の蛍光を解析する手法である。測定原理について図1Aに示した。細胞に蛍光標識モノクローナル抗体を反応させた後、フローサイトメーターに細胞浮遊液を流す^{1,2)}。細胞浮遊液を円筒状に包むようにシース液を高速に流すことにより、細胞を1列に1個ずつ高速で通過させる。そこにレーザー光を照射して、放射される散乱光や蛍光の強さを測定する。モノクローナル抗体は、CDナンバーで統一・整理されている。代表的なCDナンバーを表1に示した^{3,4)}。測定方法の詳細、細胞の分化に伴うCD抗原の発現については、成書を参考にしていただきたい^{1~3)}。

蛍光標識物質としては、FITC (fluorescein isothiocyanate)、PE (phycoerythrin) が多く用いられる。CD45 ゲーティング（詳細は後述）ではCD45PerCPが用いられる。これら蛍光標識物質を用いることにより、細胞を二重～三重染色することが可能である。1つの細胞あたり4～5

種類のパラメータを同時に、通常1～数万個の細胞に対して測定することにより、多くの情報が得られるのがFCMの特徴である。

2. ゲーティングの重要性

細胞にレーザー光がヒットしたときの散乱光の種類を模式図で示した(図1B)²⁾。前方散乱光 (forward scatter: FSC) は細胞の大きさを、側方散乱光 (side scatter: SSC) は細胞の内部構造の複雑さを反映する。図2に正常末梢血・骨髄のFSC-SSCサイトグラム（細胞の分布図）を示した。FSC-SSCサイトグラムでは、小さくて単純な構造の細胞（芽球やリンパ球、赤芽球など）は左下に、大きくて複雑な細胞（好中球など）は右上に位置する。

FSC-SSCサイトグラムを確認後、解析対象とする細胞集団をサイトグラム上で指定し（ゲーティング）、それぞれの抗原の陽性率を求める。日常臨床では、2つの抗原を同時に測定するtwo color解析が頻用されている。異常細胞の出現していない末梢血の場合、FSC-SSCでも容易にゲーティングできる（図3A）。一方、骨髄血の場合は、赤芽球や骨髄芽球も同じ領域に位置するた

表 1. 細胞の系統とCDナンバー（造血器腫瘍の解析で用いられる抗体を中心にまとめた）

CDナンバー	正常細胞と腫瘍細胞の発現パターン
B細胞系 CD19, CD79a, CD22	B前駆細胞以降で陽性であり、B細胞系のlineage markerとして用いられる。CD19は細胞表面、CD79a、CD22は細胞質内で解析に用いられる。CD19は、B-ALLのほとんどとAMLの一部で陽性である。
CD10	前駆/胚中心B細胞で発現。B-ALLの大半、T-ALLの一部で陽性。FL、Burkittリンパ腫で陽性。
CD20	比較的分化したB細胞に発現。B細胞性リンパ腫、CLLなどで陽性。ALLではCD19より低頻度。
κ/λ	細胞表面免疫グロブリン軽鎖であり、成熟B細胞では細胞表面にどちらかが発現する。 κ/λ の偏り（ $\kappa>\lambda$ [3倍以上]、あるいは $\lambda>\kappa$ [2倍以上]）は軽鎖制限とも呼ばれ、腫瘍性を示唆する所見である。
T細胞系 CD2, CD3, CD5, CD7, TCR	汎T細胞抗原である。CD7は正常T細胞でも陰性のことがあるため、注意が必要である。T-ALLではCD7、CD2が大部分で発現。CD5はしばしば弱陽性。AMLではCD7を異常発現している場合がある。TCRは、 α/β 、 γ/δ のどちらかが陽性である。
CD4	ヘルパーT細胞で陽性。単球でも弱陽性である。
CD8	細胞傷害性T細胞で陽性。NK細胞の一部でも陽性である。 ※Tリンパ球では通常、CD4とCD8のどちらかが陽性である（健常者末梢血のCD4/CD8基準範囲は0.6～2.9）。ただし、CD4/CD8比だけではクローン性の指標とはならない。
NK細胞 CD56	NK細胞は通常、CD56+、細胞表面CD3-、TCR-である。CD56はAML、MMの一部で陽性である。
CD16, CD57	NK細胞の多くで陽性である。T-LGLでもしばしば陽性となる。
骨髄球系 CD13, CD33 MPO	骨髄球系と単球で発現。AMLのほとんど全例で陽性。ALLでもしばしば陽性である。細胞質内MPOは骨髄系のlineage markerであり、MPO染色陰性の急性白血病的診断に有用。
CD117 CD14	幼若顆粒球や肥満細胞に発現。AMLで陽性となる。単球に発現。単球系への分化を示すAMLでしばしば陽性。
その他 CD45	白血球共通抗原（LCA）。好中球、リンパ球、単球で陽性である。芽球はCD45弱陽性であることが多い。
CD34	造血幹細胞のマーカー。急性白血病の多くで陽性であるが、陰性の場合もある。
CD38	形質細胞で強陽性であり、MMの診断に用いられる。
HLA-DR	骨髄芽球、単球、B細胞、活性化T細胞で発現。AML、B-ALLのほとんどで陽性。APLの多くは陰性。
CD235a (Glycophorin A)	赤芽球に発現。AML-M6（急性赤白血病）の診断に有用である。
CD41, CD61	巨核球系のマーカー。AML-M7（急性巨核芽球性白血病）の診断に有用。
CD30	Hodgkinリンパ腫のHodgkin and Reed-Sternberg細胞で陽性。

【略語】 TCR：T-cell receptor, B-ALL：B細胞性急性リンパ性白血病, T-ALL：T細胞性急性リンパ性白血病, FL：濾胞性リンパ腫, CLL：慢性リンパ性白血病, T-LGL：T-cell large granular lymphocyte leukemia, AML：急性骨髄性白血病, MPO：ミエロペルオキシダーゼ, APL：急性前骨髄球性白血病

め、FSC-SSCでは区別できない。そこで、CD45ゲーティングという手法が用いられる。CD45は白血球共通抗原で、赤血球・血小板以外の造

血器細胞全般に発現する。リンパ球や単球ではCD45発現が強いが、芽球では発現が弱いことを利用する。図3BのようにSSC-CD45のパネルで

トピックス

図 2. 正常末梢血・骨髄のFSC-SSCサイトグラム

末梢血の場合、FSC小・SSC小の位置はリンパ球が主体だが、骨髄血の場合、リンパ球以外に芽球や赤芽球も混在する。これらを区別するためにCD45 ゲーティングが用いられる。

図 3. 効果的な解析のためのゲーティングの例

- A : FSC-SSCでリンパ球をゲーティングし、CD3/CD19 のパネルでT-cell/B-cellの比を確認した。
- B : 芽球のCD45 の発現が弱いことを利用してゲーティングした。CD10+/CD19+/CD34+の細胞集団を認める。
- C : 形質細胞ではCD38 が強陽性であることを利用する。MMの形質細胞はCD45 の発現が弱いことが多い。本症例では、CD38+/CD19-/細胞質内λ+の腫瘍細胞を認める。

ゲーティング可能である。急性白血病の芽球はCD45 弱陽性部分に認められることが多いが、急性リンパ性白血病（ALL）では陰性になることがあるため、注意が必要である。多発性骨髄腫（MM）の場合、形質細胞がCD38 強陽性であることを利用して、ゲーティングする。

腫瘍細胞の形質を正しく把握し、少数の腫瘍細胞の見落としを防ぐためには、腫瘍細胞をなるべく多く含むようにゲートを設定することが大切である。形態所見（特に細胞の大きさ）を参考にしてFSC-SSCの位置を確認する。ALLの芽球は小型であることが多いが、悪性リンパ腫ではしばしば大型の腫瘍細胞を認める。リンパ腫の解析にはCD45 ゲーティングを用いない場合が多いが、SSC-CD45 サイトグラムでリンパ腫細胞とリンパ球を区別できる場合もある。また、骨髄中のリンパ腫細胞を検索する際、CD45 ゲーティングを用いると赤芽球を避けて解析可能である。

3. FCMの測定項目

FCMは、他の特殊検査（染色体分析やFISH（fluorescence *in situ* hybridization）等）に比べて、迅速に結果を得ることができる。院内で解析している施設では当日中、院外の検査会社でも翌日夕方には結果を確認できる。リンパ腫の場合、確定診断は病理組織診断となることが多いが、治療に緊急を要する場合は、FCMが治療の方向性を決める根拠ともなりうる。

標準的な抗体パネルとして決まったものはないため、各施設で決定している。日本臨床検査標準協議会（JCCLS）のガイドライン³⁾にパネルの例が載っている。自施設で測定可能な場合は、臨機応変に組み合わせを変えることが可能である。院外の検査会社では白血病用、リンパ腫用にセットが組まれていることが多いが、変更・追加が可能な場合もある。解析対象の細胞系列

がわかるよう、各lineageのマーカー（B細胞系のCD19、T細胞系のCD3、骨髄球系のCD33 など）を入れることが望ましい。また、正常細胞では見られないが腫瘍で発現することがある組み合わせ（CD34/CD7、CD19/CD13 など）を活用する。白血病のMRD検索など、検体中の腫瘍細胞の比率が少ない場合は、取り込み細胞数を多くしておく。逆に、検体中の細胞数が少ない場合（髄液や硝子体液など）は、項目を絞り、取り込み細胞数も少なくしておく。ターゲットとする疾患を念頭に置き、項目を絞り込むと、細胞数の少ない検体でも有効活用できる。

4. 検体の準備

細胞浮遊液にできる検体であれば、FCMで解析可能である。FCMの対象は、骨髄、末梢血、胸・腹水や髄液、リンパ節などの生検組織と幅広い。当院では、眼内悪性リンパ腫の診断目的で硝子体液のFCMも施行している。細胞の形態所見を確認できるようにするため、体腔液はサイトスピン標本を、リンパ節などの組織ではスタンプ標本を作成しておく。組織は、生のまま培養液中で細切・ピペッティングして、細胞浮遊液を作成する。ホルマリン固定した組織では測定できないことに注意が必要である。骨髄や末梢血は赤血球を溶血させる。胸水や腹水は必要に応じて遠心して、濃縮して用いる。組織や体腔液で細胞数が少ない場合は、無理に全部を実施せず、必要なものだけに絞る方がよい。検体処理までの時間は早い方が望ましいが、通常は翌日でも解析可能である。

5. 実際の症例

造血器腫瘍のWHO（World Health Organization）分類第4版⁵⁾ではFCMの所見が診断に取り入れられており、形態所見とFCM、免疫組織染

トピックス

表 2. FCMの結果を見るポイント

I. 疾患に関わらず意識すること
①FSC-SSC, SSC-CD45 等ゲーティング用のサイトグラムを確認 ⇒リンパ球, 顆粒球, 単球の位置, 数的バランスに問題ないか?
②通常見られない細胞集団はないか? 正常細胞では発現しない抗原の組み合わせ (CD7 やCD56 を発現する骨髄芽球など) はないか? 汎T細胞抗原の欠失したT細胞, κ/λ の偏り (軽鎖制限⇒成熟B細胞性腫瘍を疑う) はないか?
③数字を見るのではなく, 細胞集団を意識する. 「CD10+ 10%, CD20+ 50%, ...」ではなく, 「CD10-, CD20+, κ +の細胞が 45%いる」のように, 集団で捉える.
II. 急性白血病の診断
①芽球のありそうな位置がゲーティングされているか? 以前の解析があれば参照する. ALLではCD45 陰性細胞に芽球が含まれないか確認する.
②芽球の形質を確認する⇒骨髄芽球の形質は正常か? (CD34+CD7-CD56-) 異常な芽球ではないか? (CD7, CD56 やCD19 陽性)
③塗抹標本でMPO染色陽性か? a) 芽球はMPO染色陽性⇒AMLを疑う. CD13, CD33 など骨髄球系の抗原が陽性であればAMLに合致する所見である. CD7, CD19, CD56 はAMLでもしばしば陽性となる. b) 芽球はMPO染色陰性⇒ ALLを疑うが, AMLの場合もある. 細胞質内MPO-/細胞質内CD3+の場合はT-ALL, 細胞質内MPO-/細胞質内CD79a+の場合はB-ALL, 細胞質内MPO+/細胞質内CD3-/細胞質内CD79a-の場合はAMLと考えられる. AML-M7 を疑う場合は, CD41, CD61, CD62 を追加する. 単球系のAMLの鑑別にはエステラーゼ染色が有用. AML-M0, M7 の診断には, 電子顕微鏡も有用である.
④ここまでで診断がつかない, または複数のlineage markerが陽性の場合⇒WHO分類に照らし合わせて検討 (表 3へ).
III. 成熟リンパ系腫瘍の診断
①CD3/CD19 のパネルを確認 CD3 (T-cell) とCD19 (B-cell) の割合のみで診断はできないが, どちらかが極端に多いことがないか確認する.
②免疫グロブリン軽鎖の偏り (軽鎖制限) がないか? $\kappa > \lambda$ (3 倍以上) または $\lambda > \kappa$ (2 倍以上) の場合, B細胞性腫瘍を疑う.
③成熟B細胞性腫瘍を疑う場合 a) CD10, CD19, CD20 などの他のB細胞系マーカーを確認: CD19+/CD20+/ κ or λ +であれば, 何らかの成熟B細胞性腫瘍と考えられる. 以下の手順で組織型の推測を行う. b) CD5+/CD20+⇒CLLはCD5+/CD23+/CD20 dim+, MCLはCD5+/CD23-/CD20 bright+ c) CD10+/CD20+⇒FLとBurkittリンパ腫を疑う. 細胞形態, 臨床経過から鑑別する. d) CD20+/CD25+/CD11c+⇒Hairy cell leukemiaに特徴的. e) CD38 強陽性, 細胞表面 κ -, λ -⇒形質細胞腫瘍を疑い, 細胞質内 κ/λ の解析を行う. f) 上記b~eに当てはまらない場合⇒DLBCL, MALTリンパ腫などを疑う. DLBCLの一部はCD10+である.
④成熟T細胞性腫瘍を疑う場合 a) 汎T細胞抗原 (CD3, CD5, CD7) で落ちているマーカーがないか? 正常でもCD7-成熟T細胞が存在することに注意. b) Tリンパ球の内訳を確認する (数合わせ): 正常ではCD3 陽性T細胞 (%) = CD4 陽性細胞 (%) + CD8 陽性細胞 (%) T細胞+B細胞+NK細胞の合計が 100%近くになるか? ※CD4/CD8 比のみでは腫瘍性の有無を判断できない. c) 異常発現している組み合わせはないか? CD4+/CD5+/CD10+⇒AITLを疑う. CD4+/CD25+⇒ATLに特徴的. HTLV-1 抗体を確認する. 顆粒大リンパ球を認めるとき ⇒T-LGLを疑う. T-LGLはCD8+で, CD5 やCD7 の発現低下が認められる. NK細胞系のマーカーでも一部で陽性である.

※dim, brightは抗原の発現強度を示す用語. dim+は弱陽性, bright+は強陽性と言い換えることができる.

【略語】 DLBCL: びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫, MCL: マントル細胞リンパ腫, AITL: 血管免疫芽球形T細胞性リンパ腫, ATL: 成人T細胞白血病/リンパ腫

図4. 陽性率の捉え方

いずれも、CD7 陽性細胞 (Q2) はゲート内の約 30%である。

A: 1 細胞集団で、CD7 は全体が弱陽性である。

B: 2 細胞集団で、CD7 は陽性細胞と陰性細胞に分かれる。

色、染色体検査、遺伝子検査等を併用して診断するのが一般的である。結果の解釈のポイントを表2に示した^{4,6)}。まず、%の数字のみにとらわれず、集団として把握する必要がある。図4のように、同じ陽性率であっても、陽性細胞と陰性細胞に分かれる場合と、全体が弱陽性である場合では意味が異なる。

正常細胞では通常発現しない抗原の組み合わせ・パターン (aberrant expression) は、腫瘍性細胞であることを強く示唆する。たとえば、成熟B細胞性腫瘍における細胞表面免疫グロブリン軽鎖 κ/λ の偏り (軽鎖制限, light chain restriction)、汎T細胞抗原の欠失したT細胞、CD7、CD56、CD19 が陽性の骨髄芽球などである。正常細胞では見られない組み合わせを積極的に活用すると、異常細胞の検出に役立つ。正常では見られない抗原の組み合わせに気づくためには、正常細胞での発現パターンを知る必要がある。本稿の表1を参考にいただきたい。

1) 急性白血病の診断

急性白血病の診断の中心となるのは、塗抹所見とFCMである。特にFCMは、同一の細胞が複数の抗原を発現している場合の証明に有用であ

る。適切な治療を選択するためには、急性骨髄性白血病 (AML) か、ALLかを正確に診断する必要がある。診断の手順は表2に示した。末梢血や骨髄塗抹標本のミエロペルオキシダーゼ (MPO) 染色が陽性であれば、AMLと考えて問題ないと思われるが、併せてFCMで骨髄球系のマーカー (CD13、CD33 など) が陽性であるか確認しておきたい。CD19、CD56 はAMLでもしばしば陽性となる。

MPO染色で陰性の場合、ALLか、あるいはMPO染色陰性のAML (FAB分類のAML-M0、M7など) であるかが問題となる。WHO分類第4版では、表3のようにlineage特異的マーカーが定義されており^{5,7)}、診断の確定には細胞質内抗原の解析が望ましい。細胞質内抗原の検索は、検査会社のスクリーニングパネルには入っていないため、追加で依頼する必要がある。図5Aに典型的なB-ALLの症例を示した。本症例の芽球はCD10+/CD19+/CD34+/細胞質内CD79a+であり、B-ALLの診断となった。なお、混合形質性急性白血病の診断については、以前からEGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemias) のスコアリング⁸⁾が頻用さ

トピックス

表 3. mixed phenotype acute leukemia同定のための新基準（文献 5, 7 より改変引用）

系統	lineage同定のための条件	特異的とはいえない抗原
骨髄系	①または②を満たす ①MPO陽性（FCM，免疫組織染色または細胞化学） ②単球系への分化（非特異的エステラーゼ染色のびまん性陽性，またはCD11c, CD14, CD36, CD64, リゾチームの2つ以上が陽性）	CD13, CD33, CD117
T細胞系	①または②を満たす ①細胞質内CD3 陽性（FCMの場合のみ） ②細胞表面CD3 陽性（ただしmixed phenotype acute leukemiaで陽性になることは稀）	免疫染色によるCD3 （NK細胞の細胞質に存在するCD3 zeta抗原にも反応するため）
B細胞系	①または②を満たす ①CD19 強陽性+CD79a, 細胞質内CD22, CD10 の1つ以上強陽性 ②CD19 弱陽性+CD79a, 細胞質内CD22, CD10 の2つ以上強陽性	CD79a, CD10 の単独陽性

※以前はbilineage acute leukemiaとbiphenotypic acute leukemiaに分けられていたが，WHO分類第4版ではmixed phenotype acute leukemiaにまとめられている。

れているが，WHO分類第4版では表3のような定義となっている。

2) 急性白血病の経過観察時

白血病細胞の比率が少ない検体の解析には，CD45 ゲーティングが有用である。以前の解析があれば参照するが，初発時と再発時で芽球の形質が変化している場合もあるため，注意が必要である。正常細胞では通常発現しない抗原の組み合わせ（CD34/CD7, CD19/CD13 など）を活用する。化学療法後や造血幹細胞移植後に小型でN/C比大きく核網繊細な幼若リンパ球を認めることがある。これらはhematogoneと呼ばれ，CD10+，CD19+の正常B前駆細胞であり，ALL残存病変と鑑別困難な場合がある^{9, 10)}。

3) 悪性リンパ腫の診断

悪性リンパ腫の確定診断は病理組織診断によるところが大きいが，FCMを活用すると，迅速に治療の方向性を決定できる。病変の主座，臨床経過，血算・生化学所見と併せて判断することが重要である。診断の手順は表2に記載した。CD10+ /CD19+ /CD20+ / κ or λ + の細胞集団を認めた場合，濾胞性リンパ腫（FL）とBurkittリンパ腫が鑑別に挙がるが，血清LDH（lactate dehydrogenase）著明高値，急激な経過があれば

Burkittリンパ腫を強く疑う。一方，緩徐に増大するリンパ節腫大を認めた場合はFLを疑う。正確に診断する上で，このような発想は非常に重要である。悪性リンパ腫で最多の組織型はびまん性大細胞型B細胞性リンパ腫（DLBCL）であるが，肺や胃のリンパ腫であればMALT（mucosa-associated lymphoid tissue）リンパ腫も疑う。図5BにFLの症例の解析例を示した。

成熟B細胞性腫瘍では，FCMによる軽鎖制限の検出は診断的意義が大きいが，成熟T細胞性腫瘍の場合，FCMでは診断が困難な場合が多い。しかし，末梢血中の異常細胞集団（汎T細胞抗原が欠失している集団など）を発見できる場合もある。Hodgkinリンパ腫の場合，腫瘍組織の大半は反応性に増加したリンパ球で，CD30 陽性のHodgkin and Reed-Sternberg細胞は少数であることから，FCMによる検出は困難であることが多い。

4) 多発性骨髄腫（MM）の診断

FCMでは，MMの腫瘍細胞を定量的に評価できるというメリットがある。細胞質内の κ / λ により，軽鎖制限の有無も検出可能である。図3CはMMの解析例である。MMの腫瘍細胞はCD45の発現が弱いことが多い。MMの腫瘍細胞と正常

図 5. FCMによる解析例

各パネルの抗体名は、横軸 (FITC)/縦軸 (PE) の順に記載している。

- A: CD45 弱陽性～陰性の芽球を多数認める。芽球はCD10+/CD19+/CD34+/cyCD79a (細胞質内 CD79a) + である。本症例の芽球はCD13 陽性であったが、cyCD79a+ であり、B-ALLと診断された。
- B: 本症例の腫瘍細胞はCD10+/CD19+/CD20+ であり、 $\lambda > \kappa$ と軽鎖制限を認めた。FLの典型的所見である。リンパ腫の腫瘍細胞は、CD45 が明るい (正常リンパ球と同程度) ～暗い場合まで様々である。
- C: 胸水中には腫瘍細胞以外の細胞も多数存在するが、適切なゲーティングにより、CD10 dim+/CD19+/ κ dim+ の細胞集団を確認することができた。図には載せていないが、本症例はCD20 も陽性であった。胸水サイトスピンで空胞を伴う異型細胞を認めたことと併せ、Burkittリンパ腫と診断された。

な形質細胞の違いは、CD19- (95%), CD56+ (75%), CD117+ (30%), CD20+ (30%) と報告されている¹¹⁾。

6. ピットフォール

一見、異常な組み合わせに見える細胞集団で

も、正常で存在する場合があるため、注意が必要である。CD5+B細胞, CD10+成熟B細胞, CD20弱陽性のT細胞は正常でも認めることがある。また、FCMと病理組織の免疫染色の結果が異なる場合があることにも留意が必要である。使用する抗体の違いに起因することが多い。FCMの軽鎖制限の有無は感度が高いが、病理の免疫組織

トピックス

染色は形質細胞や形質細胞への分化を示すものでなければ陽性とならないため、感度が低くなる¹²⁾。

7. 造血器腫瘍診断における当院での取り組み

当院検査部では、血液・腫瘍内科、小児科と連携して、急性白血病を迅速に診断できる体制を整えている。休日・時間外にも緊急対応するとともに、スクリーニング項目で診断が困難な場合には、追加項目のアドバイスも行っている。FCMを院内施行することにより、迅速な診断・治療方針の検討が可能である。また、組織や体腔液のFCMも積極的に施行している。図5CにBurkittリンパ腫の胸水の解析例を示した。胸水、腹水、硝子体液、気管支肺胞洗浄液など、細胞の形態のみで良悪性の判断が困難な場合にFCMは特に有用である。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) 米山彰子：細胞表面抗原，スタンダードフローサイトメトリー．日本サイトメトリー技術者認定協議会編．初版，医歯薬出版，東京，2009，55-79.
- 2) 東 克巳：フローサイトメトリーを応用した造血器腫瘍の解析，血液細胞アトラス，三輪史朗，渡辺陽之輔編．第5版，文光堂，東京，2004，41-47.
- 3) 日本臨床検査標準協議会，血液検査標準化検討委員会，フローサイトメトリーワーキンググループ：フローサイトメトリーによる造血器腫瘍細胞表面抗原検査に関するガイドライン (JCCLS H2-P V1.0)．日臨検標準会誌 18：69-107，2003.
- 4) Craig FE, Foon KA : Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Blood 111 : 3941-3967, 2008.
- 5) Borowitz MJ, et al : Acute leukemias of ambiguous lineage. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Swerdlow SH, et al, eds. 4th Ed, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 2008, 150-155.
- 6) 米山彰子：造血器腫瘍の診療における細胞表面抗原検査，臨床病理レビュー特集第142号臨床検査Yearbook 2009血液検査編．矢富 裕，他編．臨床病理刊行会，東京，2009，60-70.
- 7) 鈴木律朗：4. 混合表現型急性白血病，B/骨髄性，非特定制，WHO血液腫瘍分類．直江知樹，他編．初版．医薬ジャーナル社，大阪，2010，220-222.
- 8) Bene MC, et al : Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia 9 : 1783-1786, 1995.
- 9) McKenna RW, et al : Immunophenotypic analysis of hematogones (B-lymphocyte precursors) in 662 consecutive bone marrow specimens by 4-color flow cytometry. Blood 98 : 2498-2507, 2001.
- 10) 萩野剛史，他：同種造血幹細胞移植後の骨髄細胞におけるCD10，CD19の発現．慈恵医大誌 121 : 17-26, 2006.
- 11) Rawstron AC, et al ; European Myeloma Network : Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. Haematologica 93 : 431-438, 2008.
- 12) 一迫 玲：免疫学的表現型解析—免疫組織化学とフローサイトメトリー．内科 102 : 239-246, 2008.