

フローサイトメトリーと細胞形態

細胞形態から解析結果を読み解く

◎榎本 めぐみ¹⁾
愛知医科大学病院¹⁾

【はじめに】フローサイトメトリー

(flowcytometry : FCM) は、白血病や悪性リンパ腫などの造血器腫瘍や、多発性骨髄腫などの形質細胞性腫瘍の細胞表面抗原解析に頻用される。鏡検による腫瘍細胞の形態観察では、腫瘍細胞の系統や分化段階を確定することは困難であり、FCMによる腫瘍細胞の表面抗原解析を用いることで、診断、病態の把握、治療方針の決定および治療効果の判定が可能となる。本セミナーでは、腫瘍細胞の形態とFCM解析の関連性について述べる。

【FCMの原理】FCMは、蛍光染色した細胞をひとつずつ測定流路に流し、細胞にレーザー光を照射して得られる前方散乱光 (forward scatter : FS)、側方散乱光 (side scatter : SS) および蛍光を検出する方法である。レーザー光の照射方向に対して前方で測定するFSは細胞の大きさを、90度方向で測定するSSは細胞内部構造を反映する。このFSとSSの2つのパラメーターを組み合わせるによりリンパ球、単球、顆粒球を判別することが可能となる。また、蛍光を検出することで、個々の細胞が目的とする抗原を発現しているかを判断することができる。

【FCMの実際】実際の検査では、サンプル中のdebrisや複数の細胞集団から目的とする腫瘍細胞を絞り込む操作(ゲーティング)が必要となる。その方法には、上述したFSとSSを組み合わせたドットプロットで目的細胞領域をゲートする方法(散乱光ゲーティング)、白血球共通抗原であるCD45の発現量とSSを組み合わせたドットプロットで目的細胞領域をゲートする方法(CD45ゲーティング)などがある。CD45ゲーティングでは、芽球の

CD45発現量がリンパ球よりも低いことを利用し、芽球をリンパ球などの正常細胞と分離してゲートすることができる。悪性リンパ腫の腫瘍細胞のCD45発現量は正常リンパ球と同等であることが多いため、悪性リンパ腫の解析にCD45ゲーティングが利用されることは少ない。しかし、CD45発現量がリンパ球と同等であっても、マントル細胞リンパ腫のように腫瘍細胞の核に浅い切れ込みや彎入などがみられるような場合は、細胞内部構造などの違いからリンパ球が健常人とは異なる分布を示すことがある。また、バーキットリンパ腫の腫瘍細胞のように細胞内に空胞を有するような場合は、SSがリンパ球よりも高い位置に分布し、リンパ球と分離して解析することができる。好塩基球はCD45の発現量がリンパ球よりも低く、SSが好中球よりも低いため芽球と誤認しやすく、好塩基球および芽球がともに増加しているような症例では注意が必要である。

目的とする腫瘍細胞のCD45発現量やドットプロット上の細胞分布位置は症例によって多彩であるため、鏡検時に腫瘍細胞の形態学的特徴を把握し、腫瘍細胞がドットプロットのどの位置に分布するかを予測することが重要である。特に腫瘍細胞が顆粒や空胞を有している場合は、SSの比較的高い位置に分布するため、解析する上で重要な形態所見となる。

【まとめ】FCMによる腫瘍細胞の表面抗原解析には、鏡検により腫瘍細胞の形態や内部構造等の特徴を把握することが重要である。セミナーでは、様々な症例の細胞形態とFCM解析を提示する。

連絡先 : menomo@aichi-med-u.ac.jp