

FCM 解析

◎山内 俊輔¹⁾、鶴田 一人¹⁾、吉村 麻衣¹⁾、森 沙耶香¹⁾、木村 由美子¹⁾
長崎大学病院¹⁾

フローサイトメトリー (FCM) を用いた造血器腫瘍の細胞抗原検査は、細胞系統および分化段階の推測に加え、遺伝子検査を選択する際の指針ともなり、その診断の際に必須の検査法の一つである。

FCM では顕微鏡の形態学に相当する光学的形態からの forward scatter (前方散乱光 ; FSC) /side scatter (側方散乱光 ; SSC) サイトグラムと、CD45 抗原 (ヒト白血球発現) の蛍光強度と SSC を組み合わせた CD45/SSC サイトグラムが一般に用いられる。これらの細胞集団パターンと、細胞集団の抗原プロファイルの 2 つから腫瘍性細胞を判断する。

FCM による造血器腫瘍の抗原解析を実施する前提として、腫瘍細胞の形態観察が重要となる。サイトグラム上で解析対象とする細胞集団を適切にゲーティングするためには、形態所見 (細胞の大きさや内部構造) を参考に、FSC/SSC サイトグラムと CD45/SSC サイトグラムを併用し解析領域 (ゲート) を決定する。症例ごとの適切なゲート設定が正確な細胞解析につながる。

FCM では、さまざまな抗原に対応するモノクローナル抗体を用いて、造血細胞の表面膜や細胞質内にある抗原の発現パターンを解析する。各細胞系統に特異的なマーカー、分化段階を評価するマーカーを順序立てて確認していく。そのため、各疾患群の解析に不可欠な代表的な抗原や発現パターンを理解しておく必要がある。染色体・遺伝子異常と免疫形質との関連に結び付く可能性のある抗原を積極的にパネルに組み込むことで適切な遺伝子検査の選択に役立つ。

系統性については、特異性の観点から骨髄球系 (cy*MPO) , T 細胞系 (cyCD3) , B 細胞系 (cyCD79a) を評価する。分化段階の判断には、未熟型 (CD34, CD117, cyTdT などの発現) や成熟型 (B 細胞の場合の表面免疫グロブリンなど) のマーカーから成熟段階を評価する。正常細胞では通常発現しない異所性発現 (aberrant expression) を評価することも、腫瘍性を示唆する所見として重要である。AML 細胞に陽性例の多い CD7, CD19, CD56 や成熟 B 細胞腫瘍における表面免疫グロブリン軽鎖である κ 鎖と λ 鎖の偏重などがある。

急性白血病が疑われる場合、芽球は CD45 弱陽性であることが多いため、芽球の解析として CD45 弱陽性の細胞集団をゲーティングするが、この領域には芽球以外の好塩基球やヘマトゴン (正常未熟 B 細胞) も混在する。ゲート内に芽球以外の細胞が占める割合が多くなると芽球の見かけ上の抗原陽性率に影響する可能性があるため、それらの細胞との鑑別も重要である。

本発表では、FCM 解析の基本的な流れを中心に、代表的な腫瘍細胞における解析の考え方、解析時のピットフォールについて症例を提示しながら解説する。

*cy : cytoplasmic (細胞質内)

会員外共同研究者 : 長谷川 寛雄, 柳原 克紀
連絡先 : 長崎大学病院 検査部 095-819-7200