

医療検査と自動化

(日本医療検査科学会誌)

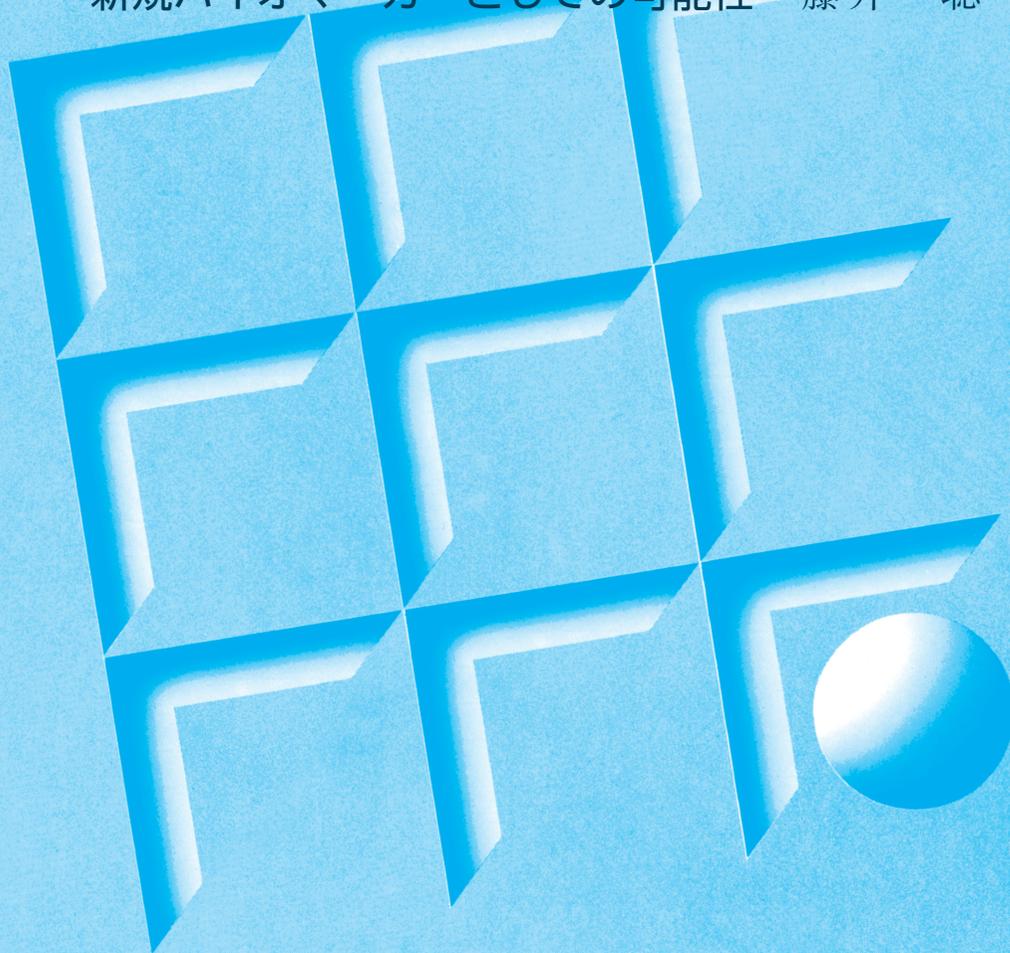
Clinical Laboratory Science Journal

第35回春季セミナー公告(第3報)

第53回大会公告(第3報)

総説:エクソソームのノンコーディングRNA:

新規バイオマーカーとしての可能性…藤井 聡



一般社団法人

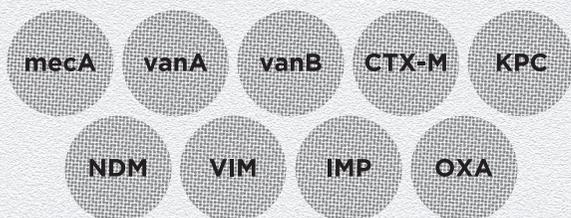
日本医療検査科学会

The Japan Association for Clinical Laboratory Science

2021
VOL.46
通巻第256号

2

敗血症 抗菌薬選択の 早期決定*が可能に



*血液培養試験で陽性判定後、2・5時間以内で細菌と薬剤耐性遺伝子を同時に検出。

ICUでいち早く薬剤耐性遺伝子を検出し、
伝播リスクへの早期対策につなげる

薬剤耐性 (AMR) 対策

院内感染 対策の一手



自動多項目同時遺伝子関連検査システム

Verigene® システム 敗血症パネル

保険
点数 1,700点

2017年
6月より 保険適用

製品情報は
こちらから

Verigene® リーダー Verigene® プロセッサー SP
製造販売届出番号：22B3X10009000001

Verigene® 血液培養グラム陽性菌・薬剤耐性核酸テスト (BC-GP)
承認番号：22900EZ00040000

Verigene® 血液培養グラム陰性菌・薬剤耐性核酸テスト (BC-GN)
承認番号：22800EZ00025000



株式会社 日立ハイテック

本社 〒105-6409 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門ヒルズ ビジネスタワー
お客様サポートセンタ (03)3504-7211
www.hitachi-hightech.com/jp/science/

北海道(札幌) (080)8021-5427 東北(仙台) (080)8438-0969 中部(名古屋) (080)8420-6408
関西(大阪) (080)8020-3544 九州(福岡) (080)9564-0285

株式会社日立ハイテックは2020年2月12日より株式会社日立ハイテクに社名変更、および、本社を上記へ移転しました。

日本医療検査科学会(旧：日本臨床検査自動化学会)

第35回春季セミナー公告(第3報)

日本医療検査科学会第35回春季セミナーは現地開催とZoomを使用したLive配信のハイブリッド開催となっております。登録はセミナーHP(<https://sites.google.com/view/34SpringSeminar>)のウェブ登録サイトから事前登録をお願いいたします。お支払いは原則としてPayPalを使用したクレジットカード決済となります。PayPalアカウントをお持ちでない方はPayPalアカウントを取得して頂く必要がございます。

参加登録(決済)完了後、Zoomのミーティング情報をメールにてご連絡差し上げます。ご不明な点はセミナー事務局にお問い合わせください。

テーマ：プレジジョンメディスン時代の臨床検査

例会長：前田 士郎 琉球大学大学院先進ゲノム検査医学講座教授
琉球大学病院検査・輸血部部长

会期：春季セミナー 令和3年4月18日(日)

会場：沖縄県市町村自治会館(2Fホール)機器展示(2Fホワイエ)
〒900-0029 沖縄県那覇市旭町116-37
TEL：098-862-8181 FAX：098-862-8183

参加費：2,000円

各種委員会：令和2年4月17日(土)11:30～18:00

沖縄県市町村自治会館(4F会議室)

プログラム委員会、理事会、学術委員長会議、科学技術委員会、POC技術委員会、
遺伝子・プロテオミクス技術委員会、血液検査機器技術委員会、医療情報委員会、
微生物検査・感染症委員会、生理検査委員会、国際交流委員会、編集委員会、
認定POCCWG、遺伝子・プロテオミクスWG



————プログラム————

開会の挨拶 8:55～9:00

理事長 萱場 広之 弘前大学大学院医学研究科臨床検査医学講座 教授
例会長 前田 士郎 琉球大学大学院先進ゲノム検査医学講座 教授

【シンポジウムⅠ：「臨床検査領域講習」】 9:00～11:00 (臨床検査領域講習2単位)

「臨床検査の自動化は変わる～自動測定から自動判定・AIへ(仮)～」

座長：横田 浩充(慶應義塾大学病院臨床検査技術室)

松井 啓隆(熊本大学大学院生命科学研究部臨床病態解析学講座)

- 尿沈渣検査から尿中有形成分情報へ
金城 和美(琉球大学病院検査・輸血部)
- 血球細胞分類装置を用いた血液検査室の運用
笠畑 拓志(鹿児島大学病院検査部)
- 感染症診療に有用な、細菌検査室からの情報発信
清祐 麻紀子(九州大学病院検査部)
- 抗核抗体検査の自動判定システムの導入と現状の課題
生戸 健一(神戸大学医学部附属病院検査部)

【招請講演Ⅰ】 11:00～11:45

座長：村上 正巳(群馬大学大学院医学系研究科臨床検査医学)

「プレジジョンメディスンを支える AI」

金子 達哉(日本アイ・ビー・エム株式会社グローバル・ビジネス・サービス事業
ヘルスケア・ライフサイエンス事業部)

【ランチョンセミナー】 11:50～12:50

【機器・試薬セミナー】 12:50～14:10

司会：草場 耕二(佐賀大学病院検査部)

山内 恵(琉球大学病院検査・輸血部)

【シンポジウムⅡ】 14:10～15:10

「AI 医療の取り組み」

座長：田中 靖人(熊本大学大学院生命科学研究部生体機能病態学分野
消化器内科学講座)

和田 隆志(金沢大学大学院腎病態統御学・腎臓内科学)

- 内視鏡検査における AI 活用
横内 達則(株式会社 AI メディカルサービス)
- Deep Learning 技術を用いたインフルエンザ診断機器の開発とアイリスの取り組み
田中 大地(アイリス株式会社)
- がんのゲノム医療と AI の取り組み
西村 邦裕(株式会社テクター)

【招請講演Ⅱ】 15:10～15:55

座長：前田 士郎(琉球大学大学院医学研究科先進ゲノム検査医学)

『人生 100 年時代を支える行動変容の科学』

益崎 裕章(琉球大学大学院医学研究科内分泌・代謝・血液・膠原病内科)

閉会の挨拶 15:55～16:05

例会長 閉会の辞

前田 士郎 琉球大学大学院先進ゲノム検査医学講座 教授

次期大会長ご挨拶

柳原 克紀 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科病態解析・
診断学分野(臨床検査医学) 教授

次期例会長ご挨拶

末岡 榮三朗 佐賀大学医学部臨床検査医学講座 教授

事務局：日本医療検査科学会(旧：日本臨床検査自動化学会)第 35 回春季セミナー事務局

〒903-0215 沖縄県中頭郡西原町字上原 207

琉球大学病院検査・輸血部内

TEL：098-895-3331(内線 2708) FAX：098-895-1436

E-mail：springseminar34@adgenome.skr.u-ryukyuu.ac.jp

日本医療検査科学会
第53回大会 公告(第3報)

会 期：2021年10月8日(金)～10日(日)

会 場：パシフィコ横浜
(横浜市西区みなとみらい1-1-1
TEL：045-221-2155)

大 会 長：柳原 克紀
(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
病態解析・診断学分野(臨床検査医学)教授)



大会事務局：日本医療検査科学会
TEL：03-3813-6635 FAX：03-3813-6679
E-mail：office@jcls.or.jp

演題募集期間：2021年4月1日(木)～4月30日(金)

大会テーマ：「日本医療検査科学会の未来を創る
—技術革新と人材育成—」



—— プログラム大綱 ——

特 別 講 演：「新型コロナウイルス感染症関連」

館田 一博(東邦大学医学部微生物・感染症学講座)

教 育 講 演 I：「演題未定」

康 東天(九州大学大学院医学研究院臨床検査医学)

教 育 講 演 II：「演題未定」

矢富 裕(東京大学大学院医学系研究科臨床病態検査医学)

教 育 講 演 III(大会長講演)：「演題未定」

柳原 克紀(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野)

シンポジウム I：(仮)「フローサイトメータの最新機能および臨床運用の現状」

座長 稲葉 亨(京都府立大学附属病院)

池本 敏行(滋賀医科大学医学部附属病院)

- 1) 機器の特徴とアプリケーションの特徴
小川 恵津子(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)
- 2) 機器の特徴とアプリケーションの特徴
高野 邦彦(ベックマン・コールター株式会社)
- 3) 日本 BD ユーザー ～測定までの流れおよび解析例紹介～
測上 麻衣(長崎大学病院)
- 4) 日本 BD ユーザー ～測定までの流れおよび解析例紹介～
荒井 智子(慶應義塾大学病院)
- 5) BC ユーザー ～測定までの流れおよび解析例紹介～
棚田 浩子(大阪医科大学附属病院)
- 6) BC ユーザー ～測定までの流れおよび解析例紹介～
常名 政弘(東京大学病院)

シンポジウム II：生化学検査関連(企画中)

シンポジウム III：生理検査関連(企画中)

シンポジウム IV：微生物検査関連(企画中)

シンポジウム V：国際交流委員会(企画中)

シンポジウム VI：新型コロナウイルス関連(企画中)

R - C P C：日本臨床検査医学会教育委員会 共催

技術セミナー

- * 科学技術セミナー
- * 遺伝子・プロテオミクス技術セミナー
- * POC セミナー
- * 血液検査機器技術セミナー
- * 医療情報技術セミナー
- * 微生物検査・感染症技術セミナー
- * 生理検査技術セミナー

ランチオンセミナー

機器・試薬セミナー

サテライトセミナー

論文賞受賞講演

JACLaS Award

一般演題応募者へのご注意

- (1) 筆頭発表者は、応募時点で必ず正会員でなくてはなりません。ご入会手続き、年会費支払いのない方は演題申し込みができませんのでご注意ください。なお、共同発表者は必ずしも正会員である必要はありませんが、正会員であることが望まれます。正会員には抄録集と補冊が配布されます。年会費は7,000円です。
学会ホームページのオンライン会員システムよりご対応ください。
- (2) 本大会では一般演題の抄録は1ページに2演題の掲載となります。
- (3) 本大会の演題の発表時間その他は、7月下旬以降、発表者へメールでお知らせします。詳細は機関紙“医療検査と自動化” Vol.46-No.4：第53回大会抄録集(8月下旬発行予定)でお知らせします。

大会演題発表形式

一般演題の発表形式は口演発表とします。

演題応募要領

会員マイページからの演題申込み(オンライン登録)を行います。



オンライン登録について

- (1) **登録方法**：学会ホームページ(<http://jcls.or.jp/>)の「演題登録」からオンライン登録サイトへお進み下さい。
- (2) **文字数**：本文 800 文字以内(演題名、所属機関、演者名を除く)。図表を含む場合は、図表 1 点のみで 200 字と計算して下さい(但し、2MB 以内)。本文は、他のソフトで作成しコピーペーストすることをお勧めします。Word から本文をコピーして本文に貼り付ける際、会員ページと Word では文字カウント数が異なります。
 - Word = 英単語ひとつで 1 文字としてカウント(例：japan = 1 文字)
 - 会員ページ = 半角 0.5 文字、全角 1 文字としてカウント(例：japan = 2.5 文字)特殊文字等につきましては登録画面を参照して下さい。
図表をアップロードするためには、あらかじめ図表をスキャナー等で取り込むなどして、ファイル形式を GIF、JPEG に変換して下さい。ファイルをオンライン登録画面の指示に従いアップロードして下さい。
- (3) **利益相反(COI)について**
発表時に COI 情報を開示していただきます。該当する COI 状態については、発表スライドの最初に提示してください。提示スライド例は大会ホームページ(下記 URL)に掲載されています。
<https://jcls.or.jp/coi>
- (4) **登録受付期間**：2021 年 4 月 1 日(木)～4 月 30 日(金)

特別講演、教育講演、シンポジウム、各種セミナーの演題登録

会員の場合は一般演題に準じて、会員マイページからのオンライン登録をお願いいたします。但し、本文文字数は1200字以内(図表は1点のみで、200字として計算してください。但し、2MB以内)となります。

非会員の場合は、指定の word での提出となります。

詳しくは学会ホームページ(<https://jcls.or.jp>)の「大会情報はこちら」よりご確認ください。

一般演題分類コード

1. 遺伝子・核酸(感染症)	21. 骨マーカー	38. 遠隔医療
2. 遺伝子・染色体(感染症以外)	22. 免疫関連蛋白・検査 (Ig, 補体, QFT など)	39. POCT(ベッドサイド検査、在宅 検査など)
3. コンパニオン診断、がん遺伝子	23. 感染症(梅毒など)	40. 救命救急検査・緊急検査
4. プロテオミクス・メタボロミクス	24. 自己抗体(リウマトイド因子など)	41. 先端検査・フロンティア技術
5. その他(遺伝子)	25. 血中薬物・ビタミン	42. 生理検査
6. 細胞機能	26. 腎機能	43. 病理・細胞診
7. 血球計数・形態	27. 尿分析	44. 輸血検査
8. 血小板・凝固・線溶	28. その他(化学・尿)	45. 管理運営(経営、効率、教育など)
9. その他(血液・凝固)	29. 脳脊髄液・便・体液	46. 第三者認定(ISO など)
10. 蛋白・含窒素・生体色素	30. 微生物検査	47. 統計・データマイニング
11. 脂質・リポ蛋白	31. 標準物質・標準化・不確かさ	48. チーム医療・検査相談・臨床支 援・患者関連
12. 金属・電解質	32. 精度管理 (IQC, EQC, QA, QMS など)	49. 病態解析・治験
13. 酵素	33. 検査情報システム (搬送、LAS、HIS)	50. 症例・事例検討
14. 内分泌(ホルモン測定など)	34. 情報分析	51. 症例・事例報告
15. 肝機能	35. 医療情報システム	52. 検査教育
16. 肝炎マーカー	36. 採血・検体採取・前処理	53. 予防医学
17. 腫瘍マーカー	37. 装置の性能評価	54. 小児臨床化学
18. 心筋マーカー		55. その他
19. 糖尿病マーカー		
20. 炎症マーカー		

本大会では、優秀演題の筆頭者に対して、優秀演題賞を授与します。対象者は本学会会員の臨床・衛生検査技師とします。受賞者は抄録集に発表され、賞状並びに副賞の授与を行います。

一般社団法人日本医療検査科学会(以下、JCLS)と一般社団法人日本臨床検査機器・試薬・システム振興協会(以下、JACLaS)は、臨床検査を習得する学生を対象に日本医療検査科学会第53回大会において学生演題を幅広く募集し、優秀者には優秀演題賞としてJACLaS Awardを顕彰致します。

対象者は2021年10月の時点で専門学校生・短期大学生・学部生、または大学院生とします(ただし社会人大学院生を除く)。受賞者は抄録集に発表され、賞状並びに副賞の授与を行います。詳しくは学会ホームページ(<https://jcls.or.jp>)の「大会情報はこちら」よりご確認ください。

学術委員会2021年度活動予定

1. 科学技術委員会

- 第1回委員会 4月17日(土)14:00～15:20
沖縄県市町村自治会館 第5+6会議室(Web併用のハイブリッド開催)
- 第2回委員会 10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定
パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定
(横浜市西区みなとみらい1-1-1)

○技術セミナーの開催

- 10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定
定員400名(事前登録不要)
パシフィコ横浜 予定
テーマ: 個々のデータを保証するための工夫・改善

○発刊予定

- 科学技術委員会マニュアル第20集 2022年2月発刊予定

2. 遺伝子・プロテオミクス技術委員会

- 第1回 遺伝子・プロテオミクス技術委員会
4月17日(土)13:50～15:10
沖縄県市町村自治会館 第2+3会議室(Web併用のハイブリッド開催)
- 第1回 MALDI-TOF MS WG
4月17日(土) (web会議のみ)
沖縄県市町村自治会館 第2+3会議室(Web併用のハイブリッド開催)
- 第1回 がんゲノム検査の評価と規制に関する基本的考え方 WG
4月17日(土)12:20～13:40
沖縄県市町村自治会館 第2+3会議室(Web併用のハイブリッド開催)
- 第2回 遺伝子・プロテオミクス技術委員会
10月8日(金)～10日(日)いずれかで開催予定
パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定
- 第2回 MALDI-TOF MS WG
10月8日(金)～10日(日)いずれかで開催予定
パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定
- 第2回 がんゲノム検査の評価と規制に関する基本的考え方 WG
10月8日(金)～10日(日)いずれかで開催予定
パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

○技術セミナー開催

- 10月8日(金)～10日(日)いずれかで開催予定
パシフィコ横浜 予定

3. POC 技術委員会

第1回委員会 4月第3週予定(web会議のみ)

第1回認定POCC WG 4月第3週予定(web会議のみ)

第2回委員会 10月8日(金)～10日(日)のいずれで開催予定

パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

第2回認定POCC WG 10月8日(金)～10日(日)のいずれで開催予定

パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

○ POC セミナーの開催

① POCT 講座(WEB)

テーマ：POCTを活用して病院検査室以外の現場で活躍する臨床検査技師の現状と課題を共有する

3月15(月)～4月18日(日) (第15回東京都医学検査学会)

*認定POCコーディネーター2単位(総論1単位、運用技術論1単位)付与

②(仮)POCコーディネーターテキストについて(WEB)

テーマ：2021年6月発刊予定のテキストの解説

6月～8月頃開催予定(事前登録要)

*認定POCコーディネーター2単位付与予定

③第78回POCセミナー(横浜)

テーマ：未定

10月8日(金)～10日(日)のいずれで開催予定 パシフィコ横浜 予定

定員150名(予定) (事前登録要)

④第12回認定POCコーディネーター更新セミナー

テーマ：(仮)POCT運用事例報告

10月8日(金)～10日(日)のいずれで開催予定 パシフィコ横浜 予定

(事前登録不要)

*更新セミナー参加単位(又は総論1単位)

⑤第79回POCセミナー(富山)

テーマ：未定

11月11日(木)～14日(日)のいずれかで実施

定員50名(予定)

(第68回日本臨床検査医学会学術集会 日本臨床検査医学会との共催予定)

⑥第80回POCセミナー(開催地未定)

テーマ：未定

2022年3月で実施予定

定員未定

(第32回生体試料分析科学会年次学術集会との共催予定)

●認定 POC コーディネーター試験

10月10日(日)15:00～17:00 パシフィコ横浜 予定
事前申請要

●発刊予定

(仮)POC コーディネーターテキスト：2021年6月(予定)

4. 血液検査機器技術委員会

第1回委員会 4月17日(土)午後(web会議のみ)

第2回委員会 10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定
パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

○技術セミナー

10月8日(金)～10日(日)の大会期間 予定

パシフィコ横浜 予定

定員：200名(事前登録不要)

テーマ：未定

5. 微生物検査・感染症委員会

第1回委員会 4月17日(土)15:30～16:50

沖縄県市町村自治会館 第5+6会議室(Web併用のハイブリッド開催)

第2回委員会 10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

○技術セミナーの開催

10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜 予定

定員未定(事前登録要)

テーマ：未定

○シンポジウムの開催

10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜 予定

テーマ：未定

6. 医療情報委員会

第1回委員会 4月17日(土) 15:30～16:50

沖縄県市町村自治会館 第2会議室(Web併用のハイブリッド開催)

第2回委員会 10月8日(金)～10日のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

○技術セミナーの開催

10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜 予定

定員未定(事前登録要)

テーマ：「(調整中)」

7. 生理検査委員会

第1回委員会 4月17日(土)13:40～15:00

沖縄県市町村自治会館 第4会議室(Web併用のハイブリッド開催)

第2回委員会 10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

○技術セミナーの開催

10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜 予定

定員未定(事前登録不要)

テーマ：「ISO 15189 認定施設に求められる生理機能検査の精度管理～認定取得施設の現状とこれからの生理機能検査へ向けて(続報)～」

○シンポジウムの開催

第53回大会にて、大会テーマに沿って、生理機能検査における人材育成を対象とした、シンポジウム開催を企画する。

8. 国際交流委員会

第1回委員会 4月17日(土)15:30～16:50

沖縄県市町村自治会館 第3会議室(Web併用のハイブリッド開催)

第2回委員会 10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

○シンポジウムの開催

10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜 予定

定員未定(事前登録不要)

テーマ：「国際交流活動について(案)」

9. 編集委員会

第1回委員会 4月17日(土)15:10～16:30

沖縄県市町村自治会館 第4会議室(Web併用のハイブリッド開催)

第2回委員会 10月8日(金)～10日(日)のいずれかで開催予定

パシフィコ横浜(Web併用のハイブリッド開催)予定

目次

学会ニュース

総説

エクソソームのノンコーディングRNA：新規バイオマーカーとしての可能性……藤井 聡… (107)

第52回大会シンポジウム講演要旨

●分子病理検査と検体検査の連携

造血器腫瘍診断のための病理・血液検査室の連携……榊谷 亮太…(111)

病理分野からみる遺伝子解析と精度管理……郡司 昌治…(115)

造血器腫瘍の診断，治療における遺伝子検査の応用……松岡 亮仁…(118)

造血器腫瘍における遺伝子検査の実際……伊藤 雅文…(124)

●将来を見据えた卒前臨床検査技師教育の改革

臨床検査技師教育の歩み……三村 邦裕…(128)

これからの臨床検査教育のあり方

—臨床検査技師学校養成所カリキュラム等改善検討会報告書を受けて—……奥村 伸生…(132)

●国際的なハーモナイゼーション時代を迎えたわが国の酵素活性測定法

日本臨床化学会としての取り組み……前川 真人…(136)

ALP測定法変更開始後の状況と今後の取り組み……山崎 浩和…(139)

LD測定法変更開始後の状況と今後の取り組み……荒木 秀夫…(144)

ALP・LD測定法変更に伴うアイソザイム検査の対応……星野 忠…(148)

●これからの生理学的検査 生理学的検査における検体検査データの活かし方

心電図における検体検査データの活かし方……本間 博…(154)

生理学的検査における検体検査データの活かし方—呼吸機能検査—……東條 尚子…(159)

神経生理検査の活かし方……代田悠一郎…(163)

●これからの血液学検査

血液細胞形態の自動判定に向けたシステム開発……松井 啓隆…(168)

技術

高感度HBs抗原測定試薬ルミパルス[®]HBsAg-HQの基礎性能評価……岡本 愛…(174)

化学発光免疫測定法を原理とするサイトメガロウイルス抗体検査試薬

「Alinity CMV-M・アボット」および「Alinity CMV-G・アボット」の評価……高尾美有紀…(181)

CONTENTS

JCLS News

Review

Non-coding RNA in Exosome: Potential Role as Biomarker Satoshi FUJII···(107)

Symposium of the 52nd Congress

●Cooperation of an Examination for Molecular Pathology and Laboratory Tests

Importance of Cooperation between Pathology and Hematology

Laboratories for Diagnosis of the Hematopoietic and Lymphoid Tumors. Ryota MASUTANI···(111)

Gene Analysis and Quality Management to See from the Pathological Field Masaharu GUNJI···(115)

Application of Genetic Testing for Diagnosis or

Treatment of Hematological Malignancies Akihito MATSUOKA···(118)

Practical Molecular Examination of Hematopoietic Tumors Masafumi Ito···(124)

●Reform the Education System of Biomedical Laboratory Scientist Course Students with a Look Ahead for the Future

History of Medical Technology Education Kunihiko Mimura···(128)

Education for Medical Technology and Biomedical Laboratory Sciences

– Match up for Improvement Report for Medical Technologists and

Biomedical Laboratory Scientists Education Program – Nobuo OKUMURA···(132)

●Japanese Measurement of Catalytic Activity of Enzymes in Global Harmonization Era

Efforts of Japan Society of Clinical Chemistry Masato Maekawa···(136)

The Future Situations and New Approaches After the Change of

ALP Measurement by the IFCC Recommended Method Hirokazu YAMAZAKI···(139)

The Future Situations and New Approaches After the Change of

LD Measurement by the IFCC Recommended Method Hideo ARAKI···(144)

Isozyme Test Corresponding to Change of ALP·LD Activity Measurement Method ··· Tadashi HOSHINO···(148)

●Improving physiological Tests Performance; How to Collaborate with Laboratory Test Data

Data Utilization in Clinical Inspection of a Specimen When an Abnormal

Change is detected on an Electrocardiogram Hiroshi HOMMA···(154)

Utilization of Laboratory Data in Conducting Physiological

Tests -pulmonary Function Tests Naoko TOJO···(159)

How to Make Full use of Neurophysiological Test? Yuichiro SHIROTA···(163)

●Hematological Testing from Now On

Development of Machine Learning System for

Automated Hematopoietic Cell Morphology Analysis Hirotaka MATSUI···(168)

Reports

Performance Evaluation of the High Sensitive HBsAg Measuring Reagent

"Lumipulse HBsAg-HQ" Ai OKAMOTO···(174)

Evaluation of "Alinity CMV IgM" and "Alinity CMV IgG" for the Qualitative Detection

of IgM and IgG Antibodies to Cytomegalovirus by

Chemiluminescent Immunoassay. Miyuki TAKAO···(181)

エクソソームのノンコーディングRNA： 新規バイオマーカーとしての可能性

Non-coding RNA in Exosome: Potential Role as Biomarker

藤井 聡

Key words Biomarker, Exosome, Liquid biopsy, Non-coding RNA

1. はじめに

バイオマーカーとは生体内の生物学的変化を定量的に把握するため、生体情報を数値化・定量化した指標とされる（日本薬学会 薬学用語解説）。米国食品医薬品局はバイオマーカーを正常なプロセスや病的プロセス、あるいは治療に対する薬理学的な反応の指標として客観的に測定・評価される項目としている。血圧、心電図、血糖、コレステロールなどは生活習慣病のバイオマーカーとしてよく使用される。近年はゲノム解析の進展によりDNAやRNAに関係したバイオマーカーも見出されている。

細胞はさまざまな径の粒子を分泌する（細胞外小胞 extracellular vesicles, EVs）。これらをサイズや起源によって分類してサイズがおよそ50-150 nmのエクソソーム、サイズがおよそ100-1000 nmのマイクロベシクル、サイズがおよそ1000-5000 nmのアポトーシス小体に分類される。マイクロベシクルは細胞膜の一部が出芽して形成される。一方、エクソソームはエンドサイトーシスにより形成される細胞内小胞構造であるエンドソームを由来とする（Fig. 1）。後期エンドソームの膜がくびれてできる腔内膜小胞

（intra luminal membrane vesicle, ILVs）を多数含む多胞性エンドソーム（MVB）というオルガネラが細胞膜と融合してILVsが細胞外に放出されたものをエクソソームという。MVB膜でセラミドの局所産生が膜の曲率を変化させ、内腔小胞が形成されると考えられている。スフィンゴシン-1-リン酸の産生も内腔小胞の形成を誘導するといわれている。血液をはじめ唾液、尿、乳汁、脳脊髄液、腹水など様々な体液中にも存在する。細胞骨格蛋白質、熱ショック蛋白質、接着蛋白質、膜貫通蛋白質、ラフト蛋白質などの蛋白質のほかにも、後述するマイクロRNA、メッセンジャーRNA（mRNA）などの核酸が含まれており、それらの粒子のうけわたしにより細胞間の

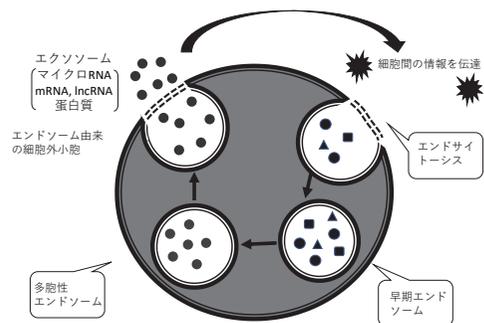


Fig. 1 エクソソームの産生と放出経路
エクソソームはエンドサイトーシスにより形成される細胞内小胞構造であるエンドソーム由来である。後期エンドソームの膜がくびれてできる腔内膜小胞（intra luminal membrane vesicle, ILVs）を多数含む多胞性エンドソーム（MVB）というオルガネラが細胞膜と融合してILVsが細胞外に放出されたものをエクソソームという。

Satoshi FUJII
旭川医科大学臨床検査医学講座
〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1丁目1番1号
TEL : 0166-68-2745
Department of Laboratory Medicine,
Asahikawa Medical University
2-1-1 Midorigaoka-Higashi, Asahikawa,
Hokkaido, 078-8510, JAPAN

情報伝達やコミュニケーションの重要な役割を担っている。接着分子やサイトカイン、ケモカインなどの分泌蛋白質とは異なったメカニズムで生命現象を担っていると考えられている。またこれらの蛋白質やマイクロRNA, mRNAを測定することにより疾患の診断の一助にするなどバイオマーカーとしての有効性も最近期待されている。細胞から分泌されるEVsは由来する細胞の置かれた環境によってもその構成成分は変化することも知られており、様々な疾患において特徴的なEVsが存在することになる。したがって細胞診や組織診に加えて、体液中のEVsを診断に活用することをリキッドバイオプシーと呼んでいる (Fig. 2)。本稿ではEVs由来の、蛋白質をコードしないノンコーディングRNA (non-coding RNA, ncRNA) を用いた医療検査法は非侵襲的で反復検査が可能であるという特徴があり (Fig. 3), その大きな可能性について解説する。

2. マイクロRNA (microRNA, miRNA)

マイクロRNA (miRNA)は20-25塩基長のncRNAで遺伝子の転写後発現の制御因子としての役割を担っている。細胞から分泌されて体液を循環するmiRNAはcirculating miRNAと呼ばれる。エクソソームに存在するmiRNAはエクソソームの脂質二重膜に守られており、RNA分解酵素によって分解されにくい。ほかにAgo2などRNA結合蛋白質や

LDLなどの蛋白質と共に存在することによりRNA分解酵素が存在する血中でも安定して存在する。膜小胞や蛋白質複合体と相互作用しないフリーのmiRNAと異なり、検体ごとのRNAの品質に大きく影響されることがない。このことは医療検査に用いる試料として大きな利点ともなりえる。また、細胞特性があることから疾患の早期の検出や予後の予測に役立つ可能性のあるバイオマーカーである。がん細胞は特有のmiRNAの発現プロファイルを持っている。また、がん細胞由来のエクソソームに内包されるmiRNAはそのがんの特異的性質をもつことから、がん患者の血清エクソソームに濃縮されるmiRNAの解析は診断マーカーとして利点を持つことも理解できる。がん細胞が特異的なmiRNAをエクソソームに濃縮するメカニズムの詳細はいまだに明らかではない。がん細胞由来のエクソソームが体内動態として何処へ向かうのかも依然として不明点が多い。現在のエクソソーム単離法では夾雑物もかなりの程度に混入していて、医療検査結果に影響するであろう。血清から検出したエクソソームmiRNAががん細胞由来かを明らかにする技術がさらに発展すれば、高い特異性をもつ診断バイオマーカーも開発されるであろう。Otaらはエクソソームに内包されたmiR-30eは胆管がん細胞の浸潤や遊走を抑制すること、その機序は上皮間葉移行の抑制であることを報告している¹⁾。

紫外線, 放射線, 酸化ストレス, 活性化がん遺伝子などはゲノムDNAに修復困難な損傷を与え細胞の老化を招く。老化した細胞はエクソソームの分泌

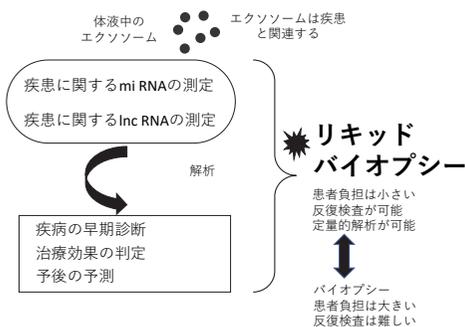


Fig. 2 体液中のエクソソームを用いたリキッドバイオプシーの期待

細胞から分泌されるEVsは由来する細胞の置かれた環境により構成成分が変化する。様々な疾患において特徴的なEVsが存在すると考えられている。体液中のEVsを診断に活用することをリキッドバイオプシーと呼んでいる。

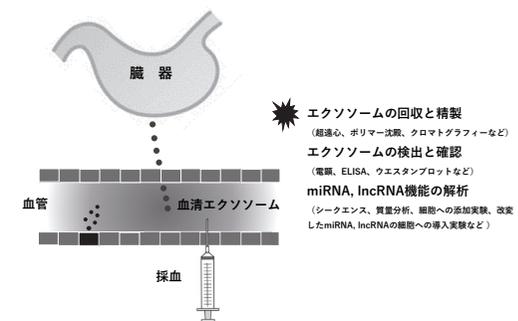


Fig. 3 血清エクソソームの回収, 精製, 検出, 確認とmiRNA, lncRNA解析
血清エクソソームの回収とmiRNA, lncRNA解析

が増加して炎症を誘導することが考えられる。その結果、がんだけでなく動脈硬化症や神経変性疾患などの加齢性疾患にもエクソソームが密接に関与することが理解できる。実際に、がん以外の疾患にもこの技術は応用しうる。内皮細胞に豊富に発現するmiRNAは、血管新生および内皮細胞の増殖や分化、アポトーシスに関与することが知られている。また、これらのmiRNAは培養血管細胞で成長因子やサイトカインにより発現変化が見られることも知られており、心血管疾患にも深く関与しているであろう。Sunらはヒト血漿中の内皮細胞に豊富に発現するmiRNAを測定することが動脈硬化症の診断指標となり得るかを検討している²⁾。内皮細胞に豊富に発現するmiRNAであるmiR-126の血中レベルは脂質異常症をもつ冠動脈疾患患者で変化する（Fig. 4）。またSugiuraらはmiR-126の血中レベルは中年の常習の喫煙者で喫煙に関連した血管傷害から回復するマーカーとなる可能性を報告している³⁾。血中のmiR-126は糖尿病患者で低下しておりその機序の一つに高血糖状態は血管内皮細胞でmiR-126のマイクロパーティクルへのパッケージングを低下させることが示唆されている⁴⁾。

3. 長鎖ノンコーディングRNA(long non-coding RNA, lncRNA)の機能と関連する疾患

前述のmiRNAは短鎖ncRNA(small ncRNA)である。一方全長が200塩基以上の長鎖ncRNA(lncRNA)も存在する。がん患者の検体のRNA解析から、がん

で特異的に発現が増加あるいは低下するlncRNAも見つかってきた。増加あるいは低下することの意義も一部のlncRNAでは明らかになってきた。lncRNAもエクソソームに内包されており、体液中で安定して存在する。がんの発生や進展にかかわるlncRNAの作用機構については遺伝子の転写の制御、核内で構造体形成を誘導する、mRNAを安定化する、miRNAをデコイとして繫留してmiRNAの機能を阻害する、蛋白質の翻訳を制御するなどが提唱されてきた。細胞増殖、生存や遊走に関わるHOTAIR(hox transcript antisense intergenic RNA)はHOX遺伝子群のアンチセンスとして発現してHOXD遺伝子群の発現を抑制するlncRNAである。大腸がん患者の血中から検出され、その量は腫瘍組織中と血中で正相関がある。血中HOTAIRが高レベルでは生存期間は短くなるという。mRNAのような特徴を持ちながら核スペックルに局在するlncRNAであるMALAT1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1)は肺腺がん、大腸がん、前立腺がん、肝細胞がんなどで転移の予測マーカーとなることが報告されている。MALAT1は炎症を制御することにより動脈硬化症に保護的に働く。有症状患者の動脈硬化病変ではMALAT1の発現は低下しており、動脈硬化病変部位でMALAT1発現が低下している患者では予後がよくない⁵⁾。アンドロゲン受容体のシグナルを制御することで前立腺がん細胞の生存に関わるlncRNAのPCA3(prostate cancer antigen 3)は尿中のlncRNA

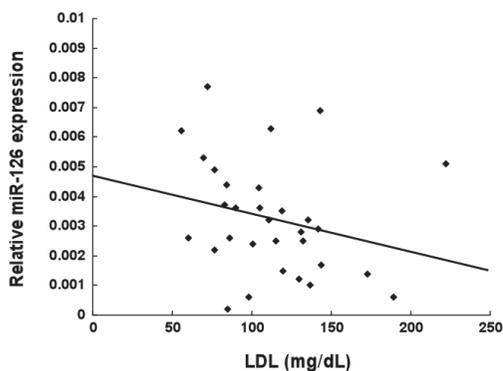


Fig. 4 冠動脈疾患患者のLDLコレステロールとmiR-126血中レベル

内皮細胞に豊富に発現するmiRNAであるmiR-126の血中レベルは脂質異常症をもつ冠動脈疾患患者で変化する。

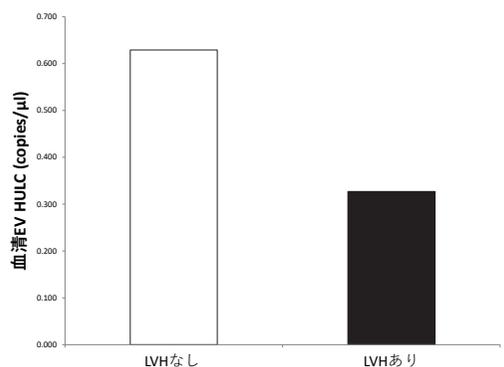


Fig. 5 心肥大のない群と心肥大のある群での血清EV HULCレベルの比較

血清EV HULCは心肥大のない群（左室肥大LVHなし）と比べ心肥大のある群（左室肥大LVHあり）では低下していた。

で、前立腺がん患者の尿中で高いレベルとなる。Highly upregulated in liver cancer (HULC) は500 bpのlncRNAでEVsによる細胞間の情報伝達を介し、上皮間葉移行関連遺伝子を制御する働きを有することが知られている。Takahashiらは血清中のHULCは膀胱がんのマーカーとなる可能性を報告している⁶⁾。Fujiiらは心肥大を有する患者の血清から抽出したEV RNA中のHULC発現を解析するにより循環器疾患の新規バイオマーカーとしてのHULCの有用性を検討した。同意を得た被験者13名より採血を行い、血清を分離した。血清中EV RNAを抽出しlncRNA HULCの発現をリアルタイムPCR法にて解析した。心肥大は心電図のCornell Productないし心エコー法により判定した。血管機能の検査としてankle-brachial-indexおよびbrachial-ankle pulse wave velocityを測定した。血清EV HULCは心肥大のない群と比べ心肥大のある群では低下していた (Fig. 5)⁷⁾。Ankle-brachial-indexとbrachial-ankle pulse wave velocityはHULCとの関係はみられなかった。HULCは心肥大と関連する可能性がある。血清EV HULCおよび他のlncRNAsが心血管疾患のバイオマーカーとなるかは今後さらなる検討が必要である。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) Ota Y, Takahashi K, Otake S, et al. Extracellular vesicle-encapsulated miR-30e suppresses cholangiocarcinoma cell invasion and migration via inhibiting epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget* 2018;9:16400-16417.
- 2) Xiao Sun, Man Zhang, Akimasa Sanagawa, et al. Circulating microRNA-126 in patients with coronary artery disease: correlation with LDL cholesterol. *Thromb J.* 2012;10:16.
- 3) Sugiura T, Dohi Y, Yamashita S, et al. Circulating level of microRNA-126 may be a potential biomarker for recovery from smoking-related vascular damage in middle-aged habitual smokers. *Int J Cardiol: Heart and Vasculature* 2015;7:83-87.
- 4) Felix Jansen, Han Wang, David Przybylla, et al. Vascular endothelial microparticles-incorporated microRNAs are altered in patients with diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol* 2016;15:49
- 5) Sebastian Cremer, Katharina M. Michalik, Ariane Fischer, et al. Hematopoietic Deficiency of the Long Noncoding RNA MALAT1 Promotes Atherosclerosis and Plaque Inflammation. *Circulation* 2019;139:1320-1334
- 6) Kenji Takahashi, Yu Ota, Takayuki Kogure, et al. Circulating Extracellular Vesicle-encapsulated HULC is a Potential Biomarker for Human Pancreatic Cancer. *Cancer Science* 2020;111:98-111.
- 7) Satoshi Fujii, Kazumi Akasaka, Kenji Takahashi. Low levels of circulating extracellular vesicle-encapsulated HULC are associated with left ventricular hypertrophy in Japanese. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis* 2020;4S1:1005-1006

造血器腫瘍診断のための病理・血液検査室の連携

Importance of Cooperation between Pathology and Hematology Laboratories
for Diagnosis of the Hematopoietic and Lymphoid Tumors.

榎谷亮太¹⁾, 川畑 茂²⁾, 久保田芽里¹⁾, 大坂直文¹⁾

はじめに

近年のゲノム解析技術および分子病理学の発展により、造血器腫瘍に対する様々な検査法や分子標的薬を含む治療法の開発が進んでいる。そうした中で、病状が日ごとに変化するような、特に病勢の進行が速いタイプが存在する造血器腫瘍においては、早期に治療を行うことが重要であり、そのためには迅速かつ正確な診断が必要不可欠となる。本稿では、普段血液検査に従事する筆者が、日々の業務を通じて感じた「造血器腫瘍診断のための病理・血液検査室の連携の重要性」について述べるとともに、当院での実際の運用を紹介する。

造血器腫瘍と分子病理

近年の分子病理の解明と医療技術の進歩は造血器腫瘍の診断と治療に大きく寄与している。急性白血病を例に挙げると、診断においては、古くからFAB分類¹⁾が用いられてきた。FAB分類は1976年にフランス、アメリカ、イギリスの血液専門家から成るFrench-American-British (FAB) グループが急性白血病の分類として提唱したもので、形態分類法に数値基準を導入し光顕的手法である普通染色や特殊染色である細胞化学染色に基づいた分類法であった。その後、分子病態の解明と医療技術の進歩により、これまでの形態、表面形質に加え染色体や遺伝子異常に基づいた分類体系である「WHO分類」が2001年に発表された²⁾。その後も改版が進んでおり、造血器悪性腫瘍におけるWHO分類は現在では2017年

の第4版改訂版が最新版として用いられている³⁾。治療において、従来は画一的な化学療法が用いられていたが、その腫瘍の原因遺伝子が同定されることで、遺伝子をターゲットにした「分子標的療法」が次々に開発され、治療選択枝の拡大や適切な治療法を選択する個別化医療が主流になってきた⁴⁾。そのため、適切で効率の良い医療を提供するには正確な診断が不可欠であり、特に造血器腫瘍においては、疾患名のみならず、病型の分類まで適正に行う必要がある。

造血器腫瘍診断における病理・血液検査

造血器腫瘍の診断における病理・血液検査室に共通する検査として、骨髄検査およびリンパ節生検が挙げられる。骨髄検査では、病理検査室にて生検材料から組織形態の観察が行われ、血液検査室にて骨髄穿刺液中の細胞数の計数、塗抹標本による細胞形態の観察、フローサイトメトリー(FCM)による表面抗原の解析が行われる⁵⁾。同様に、リンパ節生検では、病理検査室にて組織形態の観察および免疫組織染色による表面抗原の解析が行われ、血液検査室にてFCMによる表面抗原の解析が行われる⁶⁾。

このように、病理検査室内で完結する固形腫瘍の組織診断と異なり、造血器腫瘍では病理検査室と血液検査室の両検査室における検査結果を総合的に踏まえて組織診断されることが多いため、正確で迅速な診断を行うにあたっては、両検査室内で得た情報は速やかに共有される

Ryota MASUTANI¹⁾, Shigeru KAWABATA²⁾, Meri KUBOTA¹⁾, Naofumi OSAKA¹⁾

¹⁾大阪医科大学附属病院中央検査部
〒569-8686 大阪府高槻市大学町2-7

²⁾大阪医科薬科大学医学部病理学教室
〒569-8686 大阪府高槻市大学町2-7

¹⁾Central Laboratory, Osaka Medical College Hospital,

2-7 Daigaku-machi, Takatsuki, Osaka 569-8686, Japan

²⁾Department of Pathology, Osaka Medical and Pharmaceutical University Faculty of Medicine, 2-7 Daigaku-machi, Takatsuki, Osaka 569-8686, Japan

責任著者: 榎谷 亮太

TEL: 072-683-1221 FAX: 072-684-6335

E-mail: kns065@osaka-med.ac.jp

必要がある。

悪性リンパ腫診断

悪性リンパ腫はホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫に大別され、欧米ではホジキンリンパ腫が多数を占めるが、本邦では殆どが非ホジキンリンパ腫で占めている⁷⁾。ホジキンリンパ腫は血液検査が寄与できる部分が少ないため、本稿では非ホジキンリンパ腫の診断における病理・血液検査についてのみ言及する。非ホジキンリンパ腫にはB細胞性のものと、T/NK細胞性のものに大別され、それぞれの組織型によって悪性度が異なる。パーキットリンパ腫などの、高悪性度のタイプでは、病状が週ごとに進行するため、早期の診断と治療の開始が重要となる。

悪性リンパ腫の診断において、細胞表面の抗原検出は必須であり、主に血液検査におけるFCMと、病理検査における免疫組織染色である。FCMは細胞を一つずつ分離した状態でレーザーをあてることで、個々の細胞の表面抗原を、それぞれ客観的な数値データとして検出することが可能である。免疫組織染色は細胞というより組織全体で染色して表面抗原を検出する。FCMの長所は、細胞表面の抗原検出にはホルマリン固

定などの操作がないため、生細胞のまま測定が可能な点である。すなわち、パラフィン切片では時に同定が困難なCD19や表面免疫グロブリンなどの検出において有用である。また、現在では10カラー以上を同時に検出できるフローサイトメーターも流通しており、一つの細胞で10種類以上の抗原の発現を一度に、定量的に確認することが可能である。一方、免疫組織染色の長所は形態学所見を加味した判定ができる点や、組織における抗原の局在がin situで確認出来る点である。悪性リンパ腫の診断においては、こうした検査法の特徴を十分に理解したうえで、データを解釈することが重要となる(図1)。

リンパ系腫瘍の診断における病理・血液検査室の連携

当院の血液検査室ではFCMを院内で実施しているため、検体提出から最短3時間後にB細胞系列とT/NK細胞系列のおおよその病型が報告できる。さらにB細胞系列の場合、軽鎖制限を確認することで単クローン性の有無を評価でき、腫瘍性と反応性の鑑別に役立つ。血液検査室の特長は、検体受領から結果報告までの所要時間が短い点、さらに細胞一つひとつを観察するため、その形態的特徴を正確に報告出来る点にある。一方、病理検査室では組織像や免疫形質をもとに、可溶性IL-2受容体

	フローサイトメリー (血液検査)	免疫組織染色 (病理検査)
長所	<ul style="list-style-type: none"> ・生細胞のまま測定が可能 ・単一細胞に最大10種類の分子の発現を同時に判定が可能 ・定量的な判定が可能 ・細胞の大きさや核の内部構造の把握が可能 	<ul style="list-style-type: none"> ・形態学所見を加味した判定が可能 ・必ずしも新鮮組織を必要としない ・腫瘍細胞の少ないリンパ腫も判定可能
短所	<ul style="list-style-type: none"> ・新鮮な材料でないと測定不可 ・腫瘍細胞が少なすぎる/正常細胞が多すぎる場合には判定が困難 ・操作が煩雑 ・解析結果は術者の力量に依存する 	<ul style="list-style-type: none"> ・ホルマリン固定すると検出できない分子がある ・単一細胞で2種類以上の分子を同時に判定することが困難 ・定量的な判定が困難

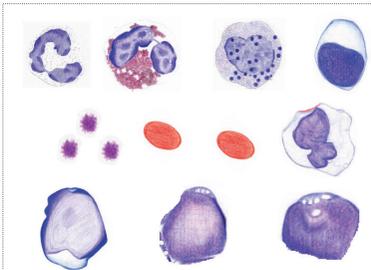
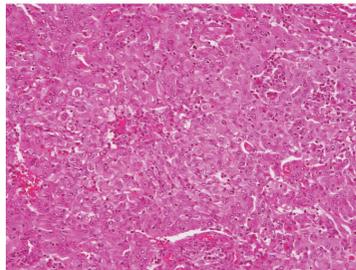



図1 細胞表面抗原の検出法の違い

を含む血液学的検査結果やFCMの報告と併せ、病理医が診断および病型を分類する。病理検査室の特長は、病型まで正確に診断出来る点にある。そして、細胞のみならず組織構築を観察するため、腫瘍の局在や腫瘍微小環境を含めた評価が可能である。さらに、FCMでは鑑別が困難なT/NK細胞系列の診断が出来ることも大きい。病理医がリンパ腫ならびに骨髄病理診断の際に血液検査室に連絡を取り、FCMの解釈について討議する機会が多い。一方で血液検査室の技師は、病理検査室において最終診断された病型をもとに、改めて末梢血塗抹標本を判読し、既に報告したFCMの解釈を再考察する。病理・血液検査室の連携は正確な診断を行う上で非常に有用であり、各々の検査室の検査能力を高める点で大変重要である。病理・血液検査室の検査結果や診断を踏まえたうえで、臨床医は患者の状態や病型の悪性度を鑑みて治療方針を決定する（図2）。

体腔液測定における病理・血液検査室の連携

当院では、各診療科から、胸水や腹水、心嚢液などの体腔液を頻繁に検査している。一部は外部委託の特殊項目もあるが、殆どは、血液検査室での細胞数測定、化学検査室での生化学項目、病理検査室での細胞診である。当院の血液検査室では、細胞数測定に加えてメイ・ギムザ染色による白血球分類を行っているため、血液検査においても高頻度に異常細胞に遭遇する。異常細胞から癌腫が疑われる場合は、病理検査の結果を確認して頂くよう臨床へ連絡し、リンパ腫細胞や白血病細胞などが疑われる場合は、FCMを追加で行い腫瘍性の証明をしている。時に、血球と非血球の鑑別に悩む際は、病理検査室の細胞検査士や病理医に確認し



図2 当院における悪性リンパ腫診断フローチャート

てもらい判断を仰ぐこともあり、普段からの病理・血液検査室の連携の重要性を認識している。

病理検査と血液検査はともに形態学を主とする分野であり、異常細胞の検出において適切な塗抹標本の作製は必須である。以下に塗抹標本作製方法について述べる（図3）。引きガラス法(Wedge法)は基本的な塗抹法であり、低アルブミン血症やタンパク濃度の低い体腔液検体などでは試薬用アルブミンなどを少し添加してタンパク濃度を増すことで、Wedge法でも細胞が壊れることなく形態観察が可能となる。同様に、異型リンパ球やリンパ腫細胞などの異常細胞は、細胞膜の脆弱性によって細胞が壊れやすいため、遠心法(スピナー法)を併用することもある。スピナー法はスライドガラスに材料を滴下し、遠心力を利用して材料を広げる方法であり、アルブミン添加法同様に細胞の崩壊を防ぐことが可能である。引き止め法はWedge法の引き終わり部分に少量の沈渣物が残るように塗抹する方法であり、集簇性のある腫瘍細胞や大型細胞などの検出に有用である。自動遠心塗抹法(スピナー法)は細胞数の少ない検体から塗抹標本作製する際に有用である。検体の細胞数や性状に応じて適切な塗抹標本作製し、正確な結果を報告することが臨床検査技師の務めである。ただし、上記の塗抹法は専用の機器が必要なものもあるため、まずは自施設の血液検査室もしくは病理検査室に設置されているか確認し、必要に応じて共有できるような関係性を構築することが、病理・血液検査室の連携に繋がる第一歩である。

おわりに

分子病理学が発展するなかで、両検査室の垣根を越えた連携は今後さらに重要性を増し、互いにそれぞれの検査の意義や特徴を理解した上で補完し合うことが大切である。また、検査値に関する疑問などを気軽に相談できる関係性を構築することが重要である。筆者の場合、幸いにも遺伝子検査室の立ち上げ時に病理

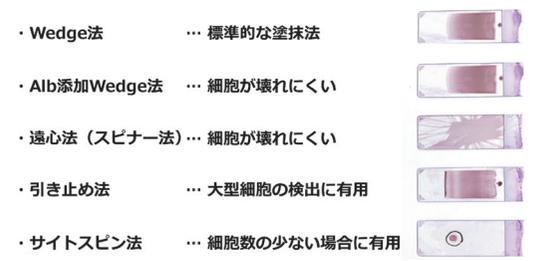


図3 塗抹標本作製方法の違い

検査室の方々と深く関わる機会があった。それ以降、何でも気軽に相談できる病理検査室の技師や病理医との交流が続いており、大変心強い限りである。

実際の患者と接することがなく検体を扱うだけの業務の中では気づきにくいですが、我々は検体の向こう側に結果を待っている患者がいることを忘れてはいけない。そして、病理・血液検査室が連携して最適な医療を提供していけるよう心掛けたい。

謝辞

本稿をまとめるにあたり、惜しめない協力とご指導を賜りました大阪医科薬科大学医学部病理学教室、大阪医科大学附属病院血液内科ならびに大阪医科大学附属病院病理部・病理診断科の皆様へ厚く御礼申し上げます。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) Bennett JM, Catovsky D, ~ Daniel MT et al : Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) cooperative group. Br J Haematol 33:451-458, 1976.
- 2) Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. eds: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues WHO Classification of Tumours, 3rd Edition, IARC Press, Lyon, 2001
- 3) Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. eds: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition Revised. IARC Press, Lyon, 2017
- 4) 小峰啓吾, 石岡千加史. 個別化がん医療の臨床開発と診療体制の整備. 遺伝性腫瘍, 20(1):13-17, 2020
- 5) 伊豆津宏二, 富山佳昭, 松村 到ほか, 金倉讓 編. 最新ガイドライン準拠 血液疾患診断・治療指針. 第1版. 中山書店;東京, 2015, 59-65.
- 6) 伊豆津宏二, 富山佳昭, 松村 到ほか, 金倉讓 編. 最新ガイドライン準拠 血液疾患診断・治療指針. 第1版. 中山書店;東京, 2015, 78-92.
- 7) Dai C, Hidemi I, Tomohiro M, et al: Differences in incidence and trends of haematological malignancies in JAPAN and the United States. Br J Haematol 164: 536-545, 2014

病理分野からみる遺伝子解析と精度管理

Gene Analysis and Quality Management to See from the Pathological Field

郡司昌治

1. はじめに

病理分野への分子生物学的解析の臨床応用は2000年に乳癌の分子標的薬剤 (Trastuzumab) が本邦において承認されたのを機に、*HER2* 遺伝子解析が体外診断薬として初めて認可されたことに始まる。現在は胃癌にも適応範囲が広がり、薬剤投与の判断に重要な検査となっている。現在では分子標的薬剤の感受性評価は肺癌の *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, 大腸癌の *RAS*, 慢性骨髄性白血病, 急性リンパ性白血病の *BCR/ABL* などで行われている。また病理細胞診断の鑑別補助では主に免疫組織化学染色を用いられているが、軟部腫瘍, 中皮腫, 脳腫瘍, 悪性リンパ腫などの腫瘍では関連遺伝子が特定され、これらを解析することにより診断、治療や予後の推測に重要な情報が得られる。

病理細胞診分野の遺伝子解析は Fluorescence in situ hybridization (FISH) 解析, Polymerase chain reaction (PCR) 解析の手法が主に用いられる。

特に造血管腫瘍は形態, 表面形質, 遺伝子を統合的に評価し分類される。腫瘍の遺伝子解析は, 組織亜型の確定や治療方針の決定に, 重要な情報を提供する。今回, 造血管腫瘍を中心に述べ, 病理材料からの遺伝子解析と精度管理も述べていく。

2. 検査材料

造血管腫瘍の解析では, 通常, 末梢血, 骨髄液などの新鮮材料を用いる。しかし, 病理分野では, 末梢血, 骨髄スミアやリンパ節などの腫瘍捺印標本の細胞診材料, 骨髄クロット標本などのホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed, paraffin-embedded; FFPE) 検体を用いる。スミアやFFPE検体からの解析のメリットは, ①形態と遺伝子異常との関連性の把握ができる。②再採取の必要がない。③Retrospective studyが可能であることが挙げられる。

ホルマリン固定方法は, FFPE検体の適切な作製・保管方法について示したゲノム診療用病理組織検体取扱い規程 (日本病理学会 ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程策定ワーキンググループ) を基に述べる¹⁾。FFPE検体を用いた分子診断のプレアナリシス段階における主な影響因子は, 固定前, 固定, 固定後プロセスの3段階の管理が重要となる。

a. 固定前プロセス: 組織摘出後は速やかに冷蔵庫など4℃で保管し, 1時間以内, 遅くとも3時間以内に固定することが望ましい²⁾。摘出後30分以上室温で保持することは避ける。採取後は, 速やかに (採取から3時間以内) 固定する。手術材料など大型の組織は出血, 壊死, 変性した箇所からのサンプリングは避け, viableな組織から採取する必要がある。生検組織は, 速やかに固定液に浸漬し固定を行う。ホルマリンは時速約1 mmの速度で組織に浸透するため, 組織の厚さが重要である³⁾。組織の摘出後から固定までの時間 (冷虚血時間; cold ischemic time) は, 生体分子の不可逆的変化を最小化するうえで極めて重要である。

b. 固定プロセス: 固定は, 非緩衝 (酸性ホルマリン溶液) ではなく, 10%中性緩衝ホルマリンを使用し, 固定時間は6-48時間が推奨されている。気管支腔内超音波断層法 (EBUS) 等を用いて生検採取される微小な組織検体

Masaharu GUNJI

名古屋第一赤十字病院 細胞診分子病理診断部
〒483-8511 愛知県名古屋市中村区道下町3-35
Japanese Red Cross Nagoya Daiichi Hospital
Department of Cytology and molecular pathology
3-35, Michishita-cho, Nakamura-ku, Nagoya, Aichi, 483-8511, Japan
Tel : 052-481-5111
E-mail : gm0406@ybb.ne.jp

は、より短い固定時間で処理が完了するため、6-24時間に努めることが望ましい⁴⁾。ホルマリン固定に使用する固定液の容量は、組織量に対し10倍量の固定液を用いることが望ましい。ホルマリン固定による核酸品質への影響は、核酸の断片化のほか、核酸塩基の化学修飾が知られている。特にシトシンの加水分解に伴う脱アミノ化によりウラシルに置換し、その後のPCR増幅反応によってチミンが生成(C > T置換)することが知られている⁵⁾。固定時間の延長により増加し、72時間から顕著となることから、48時間以内の固定が望ましい。しかし週末、金曜日の材料は、月曜日までの固定時間が48時間を超え、固定対策が必要である。対策を行っている施設は、休日にホルマリン固定からエタノール置換や包埋ブロック作成を行う対策を実施している。長時間の固定はDNAの質の低下が進み、遺伝子検査には適さないことがあるため対策が急務である。

c. 固定後プロセス：脱灰処理が必要な時は、酸脱灰を回避しEDTA脱灰を行う。組織プロセッサの使用は問題ないが、使用薬剤の交換頻度などの管理の影響については不明である。また迅速型では、いまだ十分なデータは得られていないのが現状である。FFPEブロックの保管は、室温でよいが、多湿を避け冷蔵所が望ましい。未染色FFPE標本の形態で保管する場合は、低温保管やパラフィンコーティングなどの核酸品質劣化を防止する対応を行うことが望ましい。原則薄切後時間が経過した未染色FFPE標本のゲノム診断への使用は避け、可能な限りFFPEブロックから再薄切をすることが望ましい。

3. FISH解析

FISH解析は特定の染色体のみを標識するため、目的とする染色体の数的異常や構造異常(欠失、転座、逆位、増幅)を検出が可能である。しかし変異、メチル化などの異常は検出できない。また46染色体全体の異常の検出は不可能である。

FISH解析は血液、骨髓液からの先天性疾患、造血器腫瘍の分野で用いられ、カルノア固定浮遊液を用いたFISH解析が行われる。病理分野のFISH解析はカルノア固定標本と異なり、熱、酵素を用いる前処理が必要な点である。前処理の重要なポイントは酵素処理である。酵素処理時間は固定条件やパラフィン切片の厚さによって異なる。腫瘍の種類でも処理時間が異なり、非上皮性腫瘍は上皮性腫瘍に比べ酵素処理の時間が長い傾向にある。良好なシグナルを得るためには、最適な酵素処理操作が重要となる。細胞診材料の乾燥固定、メタノール固定標本は前処理の必要がない。95%アルコール固定され

た標本は酵素処理なしではシグナルが安定せず、酵素処理を行う必要がある。

パラフィン切片のFISH解析はシグナル評価に注意する点がある。パラフィン切片標本は薄切による核の切断が生じるためアーチファクトが発生する。特にmonosomy, deletion解析が問題になる。我々はmonosomy, deletion解析が想定される症例は細胞診標本を作製する。細胞診のスメアやスタンプ標本は細胞がwhole cellの状態でのまま貼りつくため、パラフィン切片とは異なり核の切断化がなく、アーチファクトが生じにくい。ため、良好な解析結果が得られる。病理材料によるFISH解析は目的とする異常にて標本選択が重要になる。

HE染色、Papanicolaou染色、May-Grunwald Giemsa染色標本からのFISH解析は組織、細胞像との対比に有用な方法である。HE、Papanicolaou染色は熱処理の過程で脱色され、May-Grunwald Giemsa染色は熱処理前にカルノア液(酢酸1:メタノール3)で脱色を行うとFISH解析が可能となる。脱色後は未染標本の前処理法と同様な染色操作で良好なシグナルが得られる。未染標本のFISH染色は核のみが染色され、細胞同定に苦慮することもある。組織切片は連続切片を作成することにより、腫瘍分布や細胞形態が把握できる。細胞診材料は標本ごとに腫瘍分布が異なり、DAPI染色では、核所見のみで正常細胞、腫瘍細胞の鑑別に苦慮する。染色標本のFISH解析は未染標本では把握できない腫瘍分布や細胞形態が把握できるため、染色標本のFISH解析は有用な手法である。

4. PCR解析

FFPE検体は、新鮮材料と比べ、核酸精製工程で大きく異なる。ホルマリン固定により、DNA、RNAとタンパク質のアミノ基間でクロスリンク[methylene架橋(N-CH₂-N)]が生じる。固定時間が長くなるとクロスリンクの密度が増加する。過剰なクロスリンクにより、取量の低下、核酸の断片化、酵素反応阻害が進む。FFPEからの核酸精製は、Proteinase K処理/熱処理が必要となる。Proteinase K処理は、ホルマリリンクロスリンクされた核酸-タンパク質からタンパク質を分解し核酸の可溶化する。しかし、methylene架橋はProteinase Kで解離せず、核酸-アミノ酸間の結合は維持され、得られた核酸は酵素反応が阻害される。熱処理は、熱によるmethylene架橋の解離を行う。過剰な熱処理は核酸の断片化が進む。核酸精製工程で、Proteinase K処理/熱処理の最適化が重要である。HE、Papanicolaou、May-

Grunwald Giemsa 染色標本の核酸精製は未染標本と同様の操作で可能である。脱色操作が必要なく、核酸精製工程の廃液に染色液は回収され、脱色操作は完了となる。

5. 臨床への応用

近年、腫瘍関連遺伝子が特定され分子生物学的解析が応用されている。脂肪肉腫は *MDM2*, *FUS*, 滑膜肉腫 *SS18*, ユーイング肉腫/PNET *EWSR1*, 中皮腫 *CDKN2A*, 星細胞系腫瘍 *IDH1/2*, 乏突起膠腫 第1染色体, 第19染色体などの腫瘍関連遺伝子が知られており、特に軟部腫瘍の解析が進んでいる。造血器系腫瘍は WHO 分類による特定遺伝子の細分化が行われている。Follicular lymphoma は *IGH/BCL2*, Burkitt's lymphoma (BL) *IGH/MYC*, MALT lymphoma *BIRC3/MALT1* などの解析を行うことで診断に重要な情報が得られる。悪性リンパ腫の診断は G-banding 染色体解析では結果が得られにくく、リンパ節生検や穿刺による遺伝子染色体解析が有用である。Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) は *BCL2*, *BCL6*, *MYC* 再構成を有することがある。特に *MYC* 再構成症例は、R-CHOP などの DLBCL 標準治療に対する反応が不良である。R-CHOP 療法以外の BL に準じた強力な高用量化学療法が選択される。*BCL2*, *MYC* 再構成の両者の異常を有する Double hit lymphoma (DHL) がある。DHL は BL タイプの化学療法を行ったとしても生存期間中央値は 2.4~18 カ月と極めて予後不良と報告されている⁶⁾。

6. 最後に

試薬、機器の進歩により遺伝子染色体解析は簡便、精度の高い検査になっている。遺伝子染色体解析の検出感度は測定方法だけでなく検体選択も重要な要素である。

正確な解析が分子標的薬の選択的治療や病理細胞診断、悪性度、予後など付加価値的な診断が可能となる。分子標的薬の進歩および腫瘍関連遺伝子の解明により今後、分子生物学的解析への応用が期待できる。

本論文の発表に関連して、開示すべき COI 関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) 小田 義直 ; 畑中 豊 他 : ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程. 一般社団法人日本病理学会 2018:1-44.
- 2) M. Elizabeth H. Hammond, Daniel F. Hayes, Mitch Dowsett et al. College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:2784-95.
- 3) Srinivasan M, Sedmak D, Jewell S. Effect of fixatives and tissue processing on the content and integrity of nucleic acids. *Am J Pathol* 2002;161:1961-1971.
- 4) Neal I Lindeman, Philip T Cagle, Mary Beth Beasley et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol* 2013;8:823-859.
- 5) Do H, Dobrovic A. Sequence artifacts in DNA from formalin-fixed tissues: causes and strategies for minimization. *Clin Chem* 2015;61:64-71.
- 6) Nathalie A. Johnson, Kerry J. Savage et al. Lymphomas with concurrent *BCL2* and *MYC* translocations : the critical factors associated with survival. *Blood* 2009;114(11):2273-2279.

造血器腫瘍の診断，治療における遺伝子検査の応用

Application of Genetic Testing for Diagnosis or Treatment of Hematological Malignancies

松岡亮仁^{1)*}，谷渕将規²⁾，宮武寿明³⁾，尾崎理恵³⁾，
石田智也¹⁾，竹谷 健⁴⁾，田岡輝久¹⁾

Abstract In recent years, several studies about the significance of gene mutations in the diagnosis or prognosis of hematological malignancies has been reported. However insufficient genetic analysis is performed in daily practice. Therefore, our institute has introduced i-densy IS-5320, which enables easy and rapid diagnosis in the hospital. First, we are analyzing JAK2, CALR and MPL mutations for Myeloproliferative neoplasms (MPN). Especially, they are useful for rapid diagnosis and introduction of treatment in cases with platelet count exceeds $1,000 \times 10^9 / L$ to prevent thrombotic or bleeding event. Second and third, we analyze *NPM1* and *SF3B1* mutation, which are good prognostic factors for Acute myeloid leukemia (AML) and Myelodysplastic syndromes (MDS) with ringed sideroblast, respectively. Fourth, we analyze *MyD88* mutation for diagnosis of Waldenström's Macroglobulinemia. Moreover, we analyze the relationship between Immunohistochemical p53 strongly positive and *TP53* mutation with direct sequencing for higher risk MDS. In conclusion, we aim to follow the WHO classification and several guidelines by using such genetic analyze.

Key words genetic analyze, i-densy IS-5320, JAK2, NPM1, SF3B1

はじめに

造血器腫瘍診断・治療に対する遺伝子異常の重要性は広く認識されているが，一般診療に十分活用できていない。本稿では造血器腫瘍の診療における遺伝子解析の意義について紹介するとともに，当院における遺伝子検査の活用方法に関する取り組みを紹介する。

材料および方法

フローサイトメトリー (FCM); 骨髄異形成症候群 (MDS)，急性骨髄性白血病 (AML)，Waldenström マクログロブリン血症 (以下 WM) に対して一般診療に

用いている FCM の結果 (SRL 社に外注) を用いた。主に使用した抗体は CD34, MPO, HLA-DR, cyCD41, CD2, CD7, CD13, CD33, CD19, CD56, CD38, CD138, CD45 である。

細胞遺伝学的解析; G-band 分染法, FISH 法 (PML-RARA, EGR1) は日本遺伝子研究所に外注, FLT3 変異解析は SRL に外注した。

p53 免疫染色 10%ホルマリン固定された骨髄クロットもしくは生検組織を p53 抗体 (DO7) (Novocastra, Newcastle, UK) を用いて染色した。p53 陽性率は Modified Quick Score (MQS) を用いて算出し, 6 以上

Akihito MATSUOKA^{1)*}, Masaki TANIBUCHI²⁾, Toshiaki MIYATAKE³⁾, Rie OZAKI³⁾, Tomoya ISHIDA¹⁾, Takeshi TAKETANI⁴⁾ and Teruhisa TAOKA¹⁾

¹⁾ 坂出市立病院血液内科

²⁾ 静岡済生会総合病院臨床検査科

³⁾ 坂出市立病院臨床検査科

⁴⁾ 島根大学医学部小児科

¹⁾ Department of Hematology, Sakaide City Hospital

²⁾ Department of Laboratory Medicine, Shizuoka Saiseikai General Hospital

³⁾ Department of Laboratory Medicine, Sakaide City Hospital

⁴⁾ Department of Pediatrics, Shimane University School of Medicine

〒762-8550 香川県坂出市寿町3-1-2

TEL : 0877-46-5131 (代)

E-mail : makihiro625@gmail.com

を陽性とした¹⁾。

i-densy IS-5320を用いた遺伝子変異解析;QPプローブ法²⁾を用いて院内で解析した。*JAK2 V617F*, *CALR type1*, *type2*, *MPL W515L/K*変異については末梢血検体を使用し, その他の遺伝子解析 (*NPM1 exon12*, *SF3B1 K700E*, *MyD88 L265P*) は骨髓もしくは末梢血から抽出した精製DNA溶液 (LSIメディアエンスに外注) を用いた。

電子顕微鏡 HLA-DR陰性AML, cyCD41陽性MDSの一部の症例においてPO染色を用いた電子顕微鏡検査を施行した (BML社に外注)。

アザシチジン (AZA) で治療した17例の高リスクMDSに対するp53異常の関連を検討した。本試験は坂出市立病院のinstitutional review board (IRB) で承認され, 個々の患者において, ヘルシンキ宣言に基づいた書面によるインフォームドコンセントがなされた。

*TP53*変異解析; p53免疫染色で用いた骨髓クロットもしくは生検ブロック, もしくは新鮮骨髓液から抽出したDNA溶液を用いて, exon5-9におけるダイレクトシーケンシングを行った。解析は島根大学医学部附属病院小児科/検査部遺伝子検査室, 竹谷健先生のご厚意で一部共同研究の範囲内, その他は受託検査として施行頂いた。

統計学的解析;生存期間の解析はKaplan-Meier法を

用い, *P*値はlog-rank testを用いて解析した。有意差検定は $P < 0.05$ を採用した。統計ソフトはEZRを用いた³⁾。

結果および考察

1. CD34陰性, HLA-DR陰性AMLの鑑別のためのNPM遺伝子検査

AMLの診断は臨床所見に加えて光学顕微鏡下の形態診断, FCM, 染色体検査によって行われる。DICを伴うAMLで, 形態的に核異型が強く, 細胞質にアズール顆粒が多く, FCMでCD34およびHLA-DR陰性例は急性前骨髄球性白血病 (APL) で特徴的な所見であるが, まれに*PML-RARA*陰性, 正常核型である症例を経験する。以下に当科の経験例を紹介する。16歳男性, 既往歴なし, 1ヶ月前からの全身倦怠感, 来院当日40度の高熱を認め, 血液検査にてWBC 9410/ μ L (blast 54%), Hb 8.4 g/dL, PLT 3.2×10^4 / μ Lと芽球の増加を伴う血球減少を呈し, さらにFIB 136 mg/dL, FDP 30.9 μ g/dLとDICを認めた。骨髓穿刺はdry tapであり, 骨髓は過形成髄でcup様陥凹を呈する芽球を含む, 異型の強い核を有するPOX陽性芽球 (Fig. 1A) を93.8%認め, 線維化 (MF-2) も認めた。FCMでCD34およびHLA-DR陰性 (Fig. 1B) を確認したため, トロンボモジュリンアルファとともに全トランスレチノイン酸 (ATRA) を開始した。3日後に*PML-RARA-mRNA*陰性が確認さ

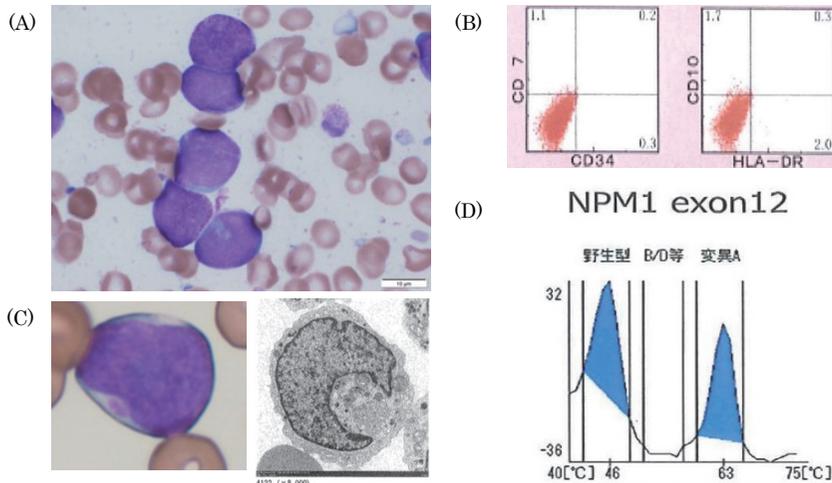


Fig. 1 AML with cup-like

- A) Light microscopy imaging ($\times 400$), scale bar showed 10μ m B) Flow cytometry
 C) Left image showed perinuclear inclusion body, right image showed electron microscopy imaging ($\times 8000$)
 D) *NPM1* exon12 mutation analysis by i-densy IS-5320

れたため、AML with cup-likeを疑い、ただちにi-densy IS-5320を用いて末梢血における*NPM1*変異を解析したところ、exon12変異陽性 (Fig. 1D) だった。Welch JSらの網羅的遺伝子変異解析において、APLにおける*NPM1*変異は1例も検出されなかったこと⁴⁾、さらにAML with cup-likeにおける*NPM1*変異は86% (対照群19%) と極めて高率であったこと⁵⁾から、本例はAML with cup-likeである可能性が極めて高く、直ちに化学療法を開始した。同時に施行した電子顕微鏡検査において、Fig. 1Cに示すように陥凹部への凝集した粗面小胞体と周囲の中間径フィラメントの束を認めること、さらに染色体検査も正常核型であったことから、本例はAML with cup-likeと診断できた。*FLT3-ITD*変異が陽性であったことから第一寛解期で同種造血幹細胞移植が施行でき、現在2年無再発生存を維持している。このようにAML with cup-likeを積極的に診断するための院内迅速*NPM1*変異検査は大変有用であると考えられる。

2. 環状鉄芽球を有する骨髓異形成症候群 (MDS) と *SF3B1* 変異

*SF3B1*変異はMDSの約30%、MDS/MPNの約20%で認められるが、特に環状鉄芽球の増加を伴う例 (MDS-RS) で多く認められ⁶⁾、生存期間延長や進行が遅いなどの特徴を有し、予後良好因子として同定されている⁷⁾。以上のような見解から、WHO分類改訂第4版において、環状鉄芽球が5%以上かつ*SF3B1*変異陽性の場合、MDS-RSと診断してもよいと記載されており、*SF3B1*変

異の重要性が示唆された⁸⁾。しかし一般診療において*SF3B1*変異を検出するのは容易でない。それゆえに当科ではi-densy IS-5320を用いて最も頻度の高い*SF3B1*変異であるK700E変異を院内で測定する体制を整えており、その実例を紹介する。患者は70歳男性、9年前に胃がんに対する手術が施行され、以後持続する軽度大球性貧血の精査目的のため当科紹介された。WBC 3280 / μL (Seg 48.2%, Mon 9.3%), Hb 10.1 g/dL, MCV 112.2 fL, PLT $21.9 \times 10^4 / \mu\text{L}$, LDH 221 U/L, VitB12 576 pg/mL, 葉酸9.4 ng/mL。骨髓は正形成髄で芽球は1.8%だった。赤芽球系38.2%, M/E 0.8と赤芽球過形成を呈し、巨赤芽球様変化や核融解像などの異形成像 (Fig. 2A) と共に環状鉄芽球 (Fig. 2B) を31%認め、i-densy IS-5320にて*SF3B1* K700E変異を確認できた (Fig. 3C)。好中球および巨核球異形成は軽度であり、MDS-SLD-RSと診断した。染色体は正常核型を呈しており、IPSS-Rでvery lowリスクであった。現在も病態の進行なく経過観察できている。

3. 骨髓増殖性腫瘍における院内JAK2/CALR/MPL解析

骨髓増殖性腫瘍におけるドライバー変異であるJAK2/CALR/MPL変異は日常診療で広く解析されているが、今回我々は上記を院内で迅速解析する重要性について、症例を通じて認識した。症例は70歳男性、1年前から血小板増多の進行とともに3回の脳梗塞を認めており、アスピリン腸溶錠が投薬されていた。半年前の血小

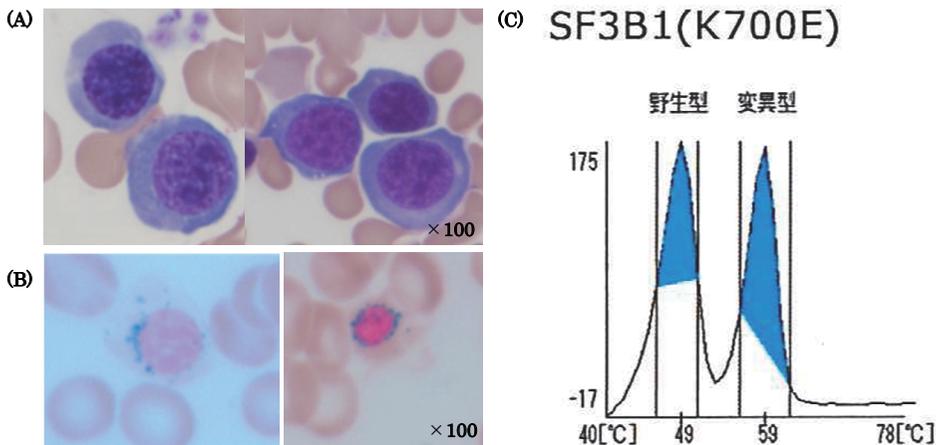


Fig. 2 MDS-RS with *SF3B1* mutation

A) Light microscopy imaging of dysplastic erythroblasts (x100) B) Ringed sideroblasts (x100)
 C) *SF3B1* K700E mutation by i-densy IS-5320

板が $67 \times 10^4/\mu\text{L}$ ，この度 $177 \times 10^4/\mu\text{L}$ と増悪を認めたため精査加療目的に当院当科紹介受診となった。WBC $9150/\mu\text{L}$ (Seg 52.3%, Lym 29.6%, Mon 17.7%)，Hb 12.5 g/dL，RET $56700/\mu\text{L}$ ，PLT $172 \times 10^4/\mu\text{L}$ ，D-dimer 1.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，LDH 325 U/L，vWf活性 20%，FISH法における好中球bcr-ablは陰性，骨髓は正-過形成髄で，芽球は1.3%，骨髓球系細胞が76.9%と過形成，赤芽球系10.3%とやや低形成，環状鉄芽球を含む異形成は認めず，鹿角 (stag-horn) 状の核を有する巨核球の増生を認めた。骨髓生検でMF-1の骨髓線維化を認めた。染色体は正常核型を呈していた。

i-densy IS-5320にて*JAK2 V617F*変異を検出した。骨髓増殖性腫瘍 (本態性血小板血症，ETもしくは早期骨髓線維症) と診断し，IPSET-thrombosis⁹⁾で高リスクであった。すでにアスピリンが投与されていたが，vWf活性が20%と非常に低値だった。van Genderen PJJらはET患者において血小板数増加とともにvWfのコラーゲン結合活性が低下し，血小板数の正常化とともに同活性が改善することを報告した¹⁰⁾。さらにMichiels JJは，血小板数が $100 \times 10^4/\mu\text{L}$ 以上になるとvWf活性低下による

出血傾向 (後天性 von Willebrand病) が問題になることを報告している¹¹⁾。つまり本例においては早期に血小板数を減少させないで血栓形成と同時に出血リスクも増加することが示唆され，直ちにHydroxycarbamideが必要であったが，化学療法薬の投与に際して腫瘍の診断が必須と考えられた。それゆえに院内迅速遺伝子検査にて*JAK2V617F*陽性を確認できたことにより，患者に確実に腫瘍であることを告げ，即日治療が可能であった。その後出血および血栓症を併発することなく血小板数は安定し，vWf活性の正常化も確認している。このように院内迅速検査が患者の予後改善に寄与できる可能性が示唆される。

4. Waldenström'sマクログロブリン血症 (WM) と *MyD88 L265P*変異

WMはmonoclonalなIgM分泌を伴い，骨髓に浸潤するリンパ形質細胞性リンパ腫 (LPL) の亜型である¹²⁾。本疾患の90%以上で*MyD88 L265P*変異が認められることが報告され，診断的価値が高い¹³⁾。今回当科で経験したWMの一例を紹介する。患者は83歳男性，前医でリウマチ性多発筋痛症 (PMR) の治療中，ベンズジヨ

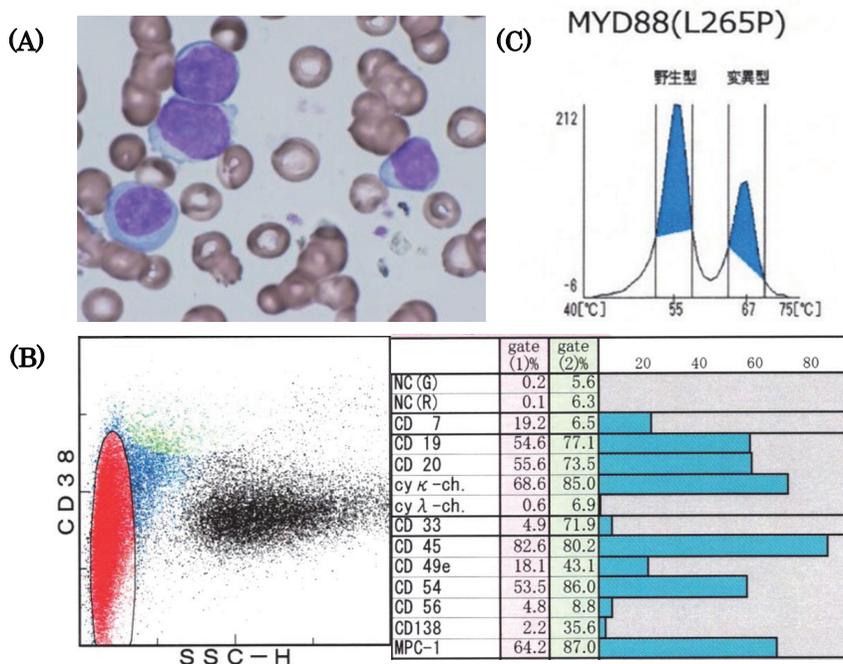


Fig. 3 Waldenström's macroglobulinemia with MyD88 mutation

A) Light microscopy imaging of tumor cells ($\times 400$) B) Flow cytometry
C) MyD88 L265P mutation analysis by i-densy IS-5320

ーンズ蛋白が検出されたため多発性骨髄腫が疑われて当院当科紹介となった。腸間膜リンパ節腫脹を認め、IgG 1023 mg/dL, IgA 34 mg/dL, IgM 2156 mg/dL, FLC κ/λ 18.58, 免疫固定法でIgM- κ 型M蛋白を検出された。骨髄穿刺にてリンパ球系細胞71%, 形質細胞4%を呈し、リンパ球系細胞はリンパ形質細胞様形態だった (Fig. 3A)。FCMではCD45陽性, CD20陽性, CD19陽性, CD56陰性, CD138陰性とIgM型多発性骨髄腫よりはWMを疑う所見であった。骨髄液からの精製DNAにおけるi-densy IS-5320を用いた*MyD88 L265P*変異を検出できた (Fig. 3B) ため、WMと診断できた。ただちにbendamustineによる治療が開始され、IgMの減少とともにPMRの症状も改善し、QOLを維持した状態で治療が続けられている。WMは自己免疫性溶血性貧血 (AIHA) とともにPMRを合併しやすいことが報告¹⁴⁾されており、本例に合致する。形態だけで診断が困難な例やIgM非分泌型など他の成熟リンパ系腫瘍との鑑別が困難な場合に*MyD88*遺伝子変異の同定は重要であると考える。

5. MDSとTP53変異

TP53変異はMDSの5-10%で認められ、5番染色体異常を含む複雑型染色体異常との関連が報告され、それゆえに大部分の例でIPSS-Rのvery highリスクに分類され、同種造血幹細胞移植やアザシチジン (AZA) 投与下においても絶対的予後不良因子である¹⁵⁻¹⁶⁾。AZAにおいては、変異の無い例と同等の効果を有するが、早期再発し、再発後の進行が早く長期生存は困難である¹⁾ことから本変異を有する疾患群は有さない群とは異なる治療戦略が望まれる。このように臨床上非常に重要な変異

であるが、日常診療で検査するのは容易ではない。しかし、免疫組織化学的 (IHC) p53染色陽性の程度と割合から算出したQスコアがTP53変異を予測できるという報告がある¹⁾。本稿ではTable 1に示すように当科の17例のQスコア6点以上もしくはTP53変異陽性であった高リスクMDS症例にて、QスコアとTP53変異の相関関係について検証した。全例複雑型染色体異常であり、2例 (いずれもhyperdiploid型) を除いた全例で5番染色体異常を認めた。p53 IHC陽性率は44.7%, 強陽性率は76.5%, Qスコア平均値は6.4だった。Qスコア6点以上は16/17 (94%), TP53変異率は70.5%だった。p53Qスコア6点以上の68.8%がTP53変異を有していた。Kulasekararaj AGらの報告ではTP53変異陽性例でQスコア6点以上が73%だったことから¹⁾、我々の結果は妥当であったと考えられる。細胞遺伝学的効果は10例 (60%) で得られ、AZA投与中央値9 (1-22) コース、生存期間中央値14ヶ月だった。つまり初期効果は得られやすいが、早期再発のため予後不良であった。

結論

次世代シーケンスの普及によって網羅的遺伝子変異解析が広く行われるようになり、造血器腫瘍の分子メカニズムが明らかになってきたことから、遺伝子解析が疾患の診断だけでなく治療の反応性や予後の推定、治療法の選択に必要なツールとなってくるが、日常診療で使用できなければその意義は低下する。本稿で紹介したような検査は市中病院でも十分施行可能であることから、多くの施設で検査ができ、一人でも多くの患者の予後が改善されることを願う。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

Table 1 Seventeen cases with p53 IHC-positive or TP53 mutation

cases	p53 IHC positive rate % (strong positive %)	Q score	TP53 mutation	5q-/5	CK	17p-
1	80(90)	8	+	+	+	-
2	50(90)	7	+	+	+	-
3	85(100)	8	-	+	+	-
4	70(90)	8	+	+	+	+
5	40(80)	7	-	+	+	-
6	25(90)	6	+	-	+	+
7	28(70)	6	+	-	+	+
8	0(0)	0	+	+	+	-
9	75(90)	8	+	+	+	-
10	60(90)	8	+	+	+	-
11	22(70)	6	+	+	+	+
12	30(90)	7	+	+	+	-
13	50(60)	7	+	+	+	-
14	20(90)	6	+	+	+	-
15	35(20)	5	+	+	+	+
16	70(90)	8	-	+	+	+
17	20(90)	6	-	+	+	-

文献

- 1) Kulasekararaj AG, Smith AE, Mian SA, et al. TP53 mutations in myelodysplastic syndrome are strongly correlated with aberrations of chromosome 5, and correlate with adverse prognosis. *Br J Haematol.* 2013;160 (5):660-672.
- 2) Suzuki S, Komori M, Hirai M, et al. Development of a Novel, Fully-Automated Genotyping System: Principle and Applications. *Sensors (Basel).* 2012;12(12):16614-16627.
- 3) Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone*

- Marrow Transplantation (2013) 48, 452-458.
- 4) Welch JS, Ley TJ, Link DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell*. 2012;150:264-278.
 - 5) Chen W, Konoplev S, Medeiros LJ, et al. Cuplike Nuclei (Prominent Nuclear Invaginations) in Acute Myeloid Leukemia Are Highly Associated With FLT3 Internal Tandem Duplication and NPM1 Mutation Cancer. 2009;115(23):5481-5489.
 - 6) Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, et al. Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med*. 2011;365(15):1384-1395.
 - 7) Malcovati L, Karimi M, Papaemmanuil E et al. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood*. 2015;126(2):233-241.
 - 8) Hasserjian RP, Gattermann N, Bennett JM, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. Lyon: IARC Press:2017:109-111.
 - 9) Barbui T, Finazzi G, Carobbio A et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood*. 2012;120(26):5128-5133.
 - 10) Van Genderen PJJ, Budde U, Michiels JJ et al. The reduction of large von Willebrand factor multimers in plasma in essential thrombocythemia is related to the platelet count. *Br.J.Hematol*. 1996;93:4, 962-965.
 - 11) Michiels JJ. Acquired von Willebrand Disease Due to Increasing Platelet Count Can Readily Explain the Paradox of Thrombosis and Bleeding in Thrombocythemia.
 - 12) Swerdlow SH, Cook JR, Sohani AR et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lymphoplasmacytic lymphoma. Lyon: IARC Press:2017:232-235.
 - 13) Treon SP, Lian Xu, Guang Yang et al. MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. *N Engl J Med* 2012;367:826-833
 - 14) Kristinsson SY, Koshiol J, Björkholm M et al. Immune-related and inflammatory conditions and risk of lymphoplasmacytic lymphoma or Waldenström macroglobulinemia. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(8):557-567.
 - 15) Yoshizato T, Nannya Y, Atsuta Y et al. Genetic abnormalities in myelodysplasia and secondary acute myeloid leukemia: impact on outcome of stem cell transplantation. *Blood*. 2017;129(17):2347-2358.
 - 16) Bally C, Adès L, Renneville A et al. Prognostic value of TP53 gene mutations in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia treated with azacitidine. *Leuk Res*. 2014;38(7):751-755.

造血器腫瘍における遺伝子検査の実際

Practical Molecular Examination of Hematopoietic Tumors

伊藤雅文

はじめに

造血器腫瘍における遺伝子検査は、発症プロセスの解明という原初の目的から、ドライバー遺伝子の発見などにより、そのカギとなる遺伝子異常を検出することで、確定診断に直結する。また、その異常にアクセスする治療法が開発され、遺伝子異常を検出することは、治療方針にかかわる診断の細分化に直結している。

2000年以降定期的に改定を重ねるWHO腫瘍組織分類は、従来の形態的評価、臨床的特徴に加え、タンパクレベルでの表現型、遺伝子異常を加味した分類に大きく舵を切った。この方針には、リンパ腫、白血病で広く用いられるフローサイトメトリー法による細胞表面形質の解析、ホルマリン固定標本でも幅広く使用されるようになった免疫染色の普及が大きく関与した。また、様々な手法により腫瘍遺伝子異常が明らかにされ、特に疾患特異的遺伝子異常が明らかになることで、その疾患は独立した“entity”を獲得する。そのため、短いスパンで改定を重ね、独立した“entity”の増加により、診断項目は飛躍的に増え、記憶できないボリュームとなってきた。この方針に変更がない限り、診断項目のさらなる増加は避けられない。

造血器腫瘍における遺伝子検査

検査手技としては、古典的な染色体Gバンド分染法、サザンブロッティングによるDNA解析、PCR法による遺伝子増幅手技、DNAシーケンス解析(サンガー法)、蛍光標識プローブを用いたFISH法による特定領域の遺

伝子異常の同定、ハイアウトプット性能を有する次世代シーケンサー(Next generation sequencer:NGS)による網羅的遺伝子解析など、技術革新による新手法が次々と登場し、解析したい遺伝子に応じてそれぞれの手技が用いられる。

造血器腫瘍の遺伝子解析は、CMLのフィラデルフィア染色体発見に始まり、疾患特異的遺伝子の発見、その異常遺伝子を標的とする治療法の開発、遺伝子診断による確定診断、微小残存病変や再発評価など、常に腫瘍病理学における診断・治療の先端を走り、新たな領域を開拓してきた。

形態から遺伝子異常・遺伝子異常から診断へ

腫瘍病理診断は、遺伝子解析が進んでも形態診断が基本である。発症機序の分子メカニズムの解析により、独立した疾患概念の整理が進んできた。その結果、形態的、臨床病理学的な均一性がその共通した遺伝子背景により、分類されるべき意味が明確になった。

濾胞性リンパ腫を例にとると、形態的には小型胚中心細胞(centrocyte)の濾胞状増生からなり、反応性濾胞との鑑別は免疫染色による胚中心細胞のBCL2、CD10発現で、確定診断可能である(図1a)。IGH/BCL2転座をベースとした腫瘍細胞の形態および形質発現で、遺伝子異常は染色体分析、シーケンス、FISH法など様々な方法で確認できる(図1b)。形態および免疫染色で確定可能なため、通常診療では遺伝子異常の同定までは要求されない。しかし、白血化での発症や、生検困難で穿刺細胞のみ採取可能な場合に、この遺伝子異常の検出は重要である。細胞形態では診断できない小型Bリンパ球でも、いずれかの方法でIGH/BCL2転座が確認できれば濾胞性リンパ腫と診断可能である。

Masafumi Ito

名古屋第一赤十字病院 病理部

〒453-8511 名古屋市市中村区道下町3-35

E-mail: itom@nagoya-1st.jrc.or.jp

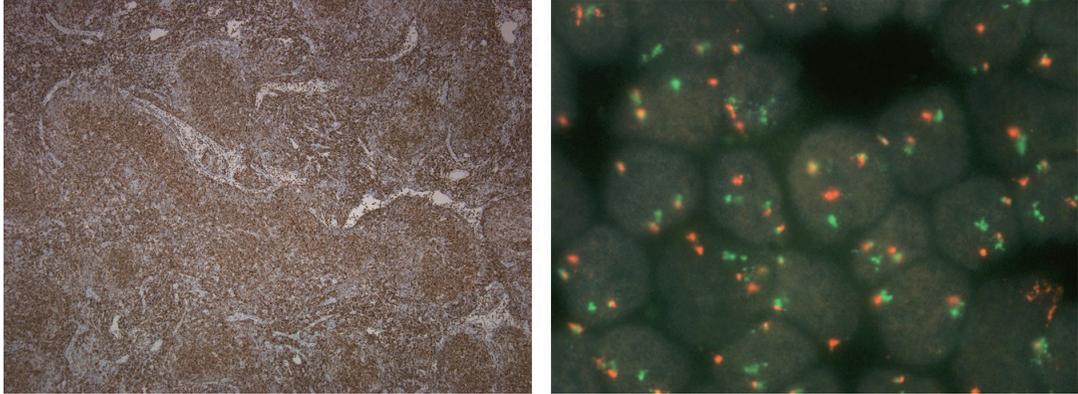


図1 濾胞性リンパ腫は、濾胞状に増生する異型リンパ球がBCL2陽性 (a) で、FISH検査でIGH-BCL2の転座シグナルを認める (IGH：グリーン、BCL2：レッド、融合シグナル：イエロー)。

免疫染色から遺伝子異常・遺伝子異常から免疫染色へ

造血器腫瘍は、形態分類に加え、免疫染色により細分類され、疾患特異的遺伝子異常により独立した診断名が付与される。では網羅的遺伝子解析が必須であるか？びまん性大細胞B細胞リンパ腫 (Diffuse large B-cell lymphoma:DLBCL) を例にとって考えてみる。DLBCLの網羅的遺伝子解析により、特定の遺伝子クラスターの発現パターンにより、大きく胚中心細胞型 (Germinal center B-cell type:GCB) と活性化B細胞型 (Activated B-cell type:ABC) に分かれることが明らかとなった¹⁾。この分類は免疫染色によるハンス分類 (図2)²⁾ により、NGS解析結果とほぼ同様な臨床病理学的特徴や予後との相関が得られる。

タンパクレベルに翻訳され実効性を発揮する遺伝子異常は、その特異的タンパクを証明することで、背景に存在する遺伝子異常をとらえることが可能である。例えばヘアリー細胞白血病 (Hairy cell leukemia:HCL) や、ランゲルハンス細胞腫瘍 (Langerhans cell histiocytosis; LCH) など種々の血液腫瘍で見られる BRAF V600E 変異は、この遺伝子異常がコードする VE1 タンパクを免疫染色で同定できる³⁾。

骨髄増殖腫瘍 (Myeloproliferative neoplasm;MPN) の遺伝子診断の意義

多系統血球増多を呈し、慢性に経過する特徴的臨床病態から慢性白血病に分類されてきたMPNは、CMLが BCR-ABL1 変異を基盤とする遺伝子背景が明らかとなったのに続き、非BCR-ABL1型MPNで JAK2 V617F, MPL, CALR とドライバー遺伝子が相次いで発見され

Hans Classifier

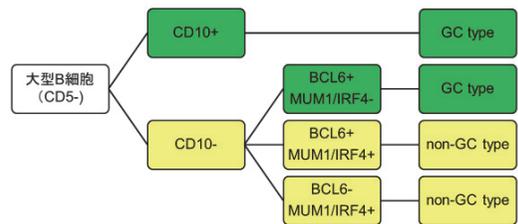


図2 DLBCLの免疫染色 Hans分類。DLBCLを CD10, BCL6, MUM1の免疫染色パターンの組み合わせにより、胚中心細胞型 (GCB型) と非胚中心細胞型 (non-GCB型) に分けることができる。

た。さらにその分子機構を標的とする治療法が開発され、特にCMLでは極めて高い有効性が明らかとなり、MPN診断は一気に分子病理診断が主流の時代へ突入した。

WHO 2017 MPN分類⁴⁾で、そのトレンドに逆行するような改訂が行われた。診断基準の大項目に骨髄病理所見が加えられた。これは、MPNの確定診断に病理診断 (病理所見) が必須であることを意味する。その一方で、記載された病理所見は客観的評価が難しい。この改定には以下の背景がある。原発性骨髄線維症 (Primary myelofibrosis:PMF) は真性多血症 (Polycythemia vera; PV) や本態性血小板血症 (Essential thrombocytosis; ET) に比べ予後不良である。WHO 2000分類では慢性特発性骨髄線維症 (Chronic idiopathic myelofibrosis, CIMF) の名称で、その時点から前線維化期、線維化期に分類されていたが⁵⁾、WHO 2017改訂では独立した診断項目に

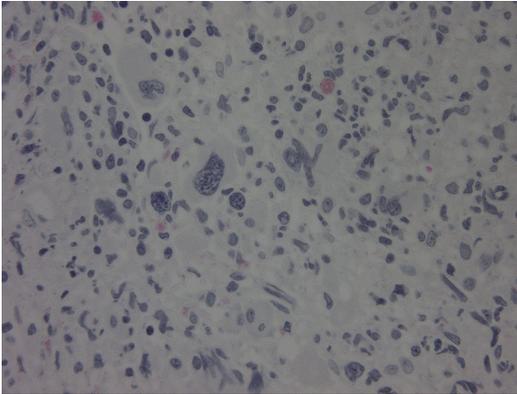


図3 JAK2 V617F変異を有する真性多血症症例。JAK変異症例は脂肪髄成分が消失する高度な過形成、相対的顆粒球過形成、雄鹿角様の核形態を有する成熟巨核球増多を認める (HE染色)。

取り上げられた。その亜型分類に病理組織診断の一致率が高いことが、大項目の診断基準に取り上げられた根拠である^{6,7)}。特に予後不良群の前線維化期を抽出する上で、病理診断が重要であり、必然的にPV、ETの診断基準にも取り入れられた。WHOの腫瘍組織分類では、病期による分類を廃止する方向にあるので、この亜型分類は特殊である。

ドライバー遺伝子解析の結果が蓄積されると、形態と遺伝子異常のタイプにはある程度の相関がわかってきた。

JAK2変異で見られる骨髄病理形態像

JAK2V617F変異は、PVの95%、ETの50-60%、PMFの50-60%で見られ、JAK2exon12変異はPVで見られる⁸⁾。PVの骨髄は、しばしば脂肪が消失する高度な過形成で汎血球増多症を呈する。顆粒球過形成で芽球の増加は見られない。赤芽球は明瞭な血島形成を認め、異形成は見られない。深い切れ込みを有する過分葉核(鹿角状核)を有する大型成熟巨核球が特徴で、大型成熟細胞の増加を伴い、種々の程度で核異型を伴う(図3)。

ETはPVと基本的に同様な組織像で、比較的高度な過形成髄、相対的顆粒球過形成で、赤芽球の血島形成は保たれる。巨核球は過分葉核や鹿の角状核など核異型を伴い、広い細胞質を有する成熟巨核球が増加する。

JAK2変異の形態への反映は、JAK-STAT経路の活性化による高度な過形成髄、変異によるエリスロポイエチン非依存性の赤芽球造血促進で、明瞭な赤芽球血島の形成、増殖性の亢進に伴う分化の同期する赤芽球血島が見られる。

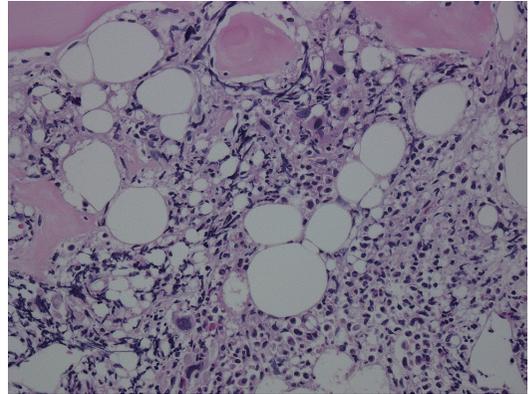


図4 CALR変異を有する原発性骨髄線維症症例。過形成であるがJAK2変異に比べcellularityが低く、MF-2の線維化を認める。雲状核を有する成熟巨核球の集簇を認める。線維化症例はtype 1変異が見られる (HE染色)。

CALR変異で見られる骨髄病理形態像

2013年に発見されたCALR変異は、exon 9における塩基の挿入もしくは欠失で、多数の変異が報告されている^{9,10)}。CALR変異は32塩基欠失のタイプ1とその類似変異、および5塩基挿入のタイプ2とその類似変異が大多数である。タイプ1変異はPMFで高頻度に見られ、タイプ2はETで見られる。

CALR変異はJAK2変異に比べ、若年者に多く、白血球や赤血球増多が低く、組織学的にはJAK2変異に比べ細胞比 (cellularity)、M/E比が低く、核異型の増加、巨大な雲状核細胞などを伴う大型成熟巨核球増多が強い(図4)。

MPL変異で見られる骨髄病理形態像

MPL変異は¹¹⁾、血小板単独増多で、組織学的にcellularityは正形成髄で、JAK2変異に比べcellularityが低く、凝集が目立つ高度な血小板増多、成熟巨核球の単独増多を呈する。赤芽球、顆粒球変化が乏しく、血小板増多の程度に比べ巨核球数がJAK2変異に比べ少ない(図5)。

おわりに

造血器腫瘍における遺伝子解析は、疾患発症プロセス、臨床病態、選択的治療、そして診断的に画期的な意義を有する。また、その解析手技は一般医療でも導入可能になりつつある。遺伝子検査を補完できる免疫染色をうまく組み合わせることで、より簡便に、臨床現場で必要とされる病理診断が提供できる時代を迎えている。今後一

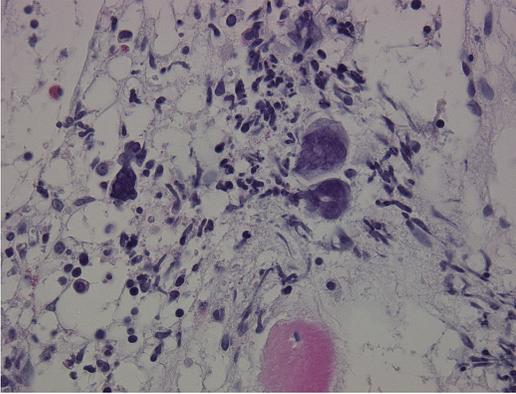


図5 MPL変異を有する原発性骨髄線維症症例。Cellularityの低い骨髄で、雲状核を有する異型巨核球をみる。相対的赤芽球過形成である。背景にはMF-2の線維化を見る (HE染色)。

層の細分化される組織分類への対応に、分子病理診断の重要性は高まる。医療機関における診断プラットフォームを整備することが重要である。

COI開示 講演料他：ノバルティスファーマ（株），
（株）エスアールエル

文 献

- 1) A A Alizadeh, M B Eisen, R E Davis et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-511.
- 2) Christine P Hans, Dennis D Weisenburger, Timothy C Greiner et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004;103:275-282.
- 3) 中野晃伸, 宮本純子, 伊藤雅文. BRAF変異と組織球増殖性病変. *病理と臨床*2015;33:164-171.
- 4) Thiele J, Kvasnicha HM, Orazi A et al. Polycythemia vera. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, 2017:39-59
- 5) Thiele J, Pierre R, Imbert M et al. Chronic idiopathic myelofibrosis. In Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, 2000: 35-38
- 6) Koopmans SM, Bot FJ, Lam KH et al. Reproducibility of histologic classification in nonfibrotic myeloproliferative neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2011;136: 618-624
- 7) Tefferi A, Wasse EA, Guglielmelli P et al. Primary myelofibrosis: 2014 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2014;89: 915-925.
- 8) Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2017;129:667-679
- 9) Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2013;369:2379-2390
- 10) Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* 2013;369: 2391-2405
- 11) Pardanani AD, Levine RL, Lasho T et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders; a study of 1182 patients. *Blood* 2006;108: 3472-3476

臨床検査技師教育の歩み

History of Medical Technology Education

三村邦裕

Key words 臨床検査技師教育, 国家試験受験資格, 臨地実習

1. はじめに

臨床検査技師教育は昭和45年の「臨床検査技師・衛生検査技師に関する法律」制定から50年が経過した。その間、医療技術の進歩はめざましく、臨床検査機器の発展はここ20年の間に誰もが想像ができないほど進歩し、短時間で大量の検査が行え、しかも正確で精度の高い検査結果を出すことができるようになり、診療の補助の役割として欠くことのできない存在となった。令和元年に臨床検査技師学校養成所カリキュラム改善検討会が開催され、その報告書が令和2年4月に提出された。その改正内容は令和4年入学生から適用になる。

指定規則は今まで指定学校に対して起用されるものであったが、今回の改正では承認科目制の大学（承認校）にも反映され大きな改訂となった。そのため今回の改正は、今後の時代を担う臨床検査技師を見据えての内容となった。この稿では臨床検査技師教育の変遷と現状の問題点について記載し、今後に必要な教育とは何かということ論じる。

2. 臨床検査技師教育のあゆみ¹⁾

1) 衛生検査技師教育

臨床検査技師教育は衛生検査技師教育を含めると開始されて62年になる。その間、教育課程（カリキュラム）も何回か変更され、現在の教育システムになった。指定規則改正は衛生検査技師養成も加えると、昭和33年の

衛生検査技師指定規則の制定、昭和41年の指定規則の改正、さらに昭和45年の臨床検査技師指定規則の制定、その後、昭和61年と平成12年に改正が加えられた。令和元年に約20年ぶりに臨床検査技師学校養成所カリキュラム等改善検討会が厚生労働省、文部科学省において開催され、令和4年の入学生から施行されることとなった（Table 1）。

このような経緯を経て現在の教育体制が整えられてきた。時代背景、医療の発展に伴って教育方法がどのような変遷を辿ってきたか「臨床検査技師教育の歩み」を詳細に述べる。

昭和33年兵庫障害者職業能力開発校衛生技能科での教育が、日本での衛生検査技師教育始まりといわれている。なぜ職業能力開発校が衛生検査技師教育を担ったかという昭和25年まで死因の第1位であった結核患者のために、治療を経て完治した者に対する社会復帰を目的に職業能力開発校での教育が行われた。当時は半年の校内教育と半年の病院実習の1年間の教育であった。翌年の昭和27年には東京で同じような結核患者の社会復帰を目指して東京清瀬医学技術専門学校が開校された。現在では両校とも社会での要請が終わったことを理由に閉校となっている。また私学では東京文化医学技術専門

Table 1 指定規則・ガイドラインの改正

年	内容
1958年(S33)	衛生検査技師養成所指定規則 制定
1966年(S41)	衛生検査技師養成所指定規則 改正
1970年(S45)	臨床検査技師学校養成所指定規則 制定
1986年(S61)	臨床検査技師学校養成所指定規則 改正
2000年(H12)	臨床検査技師学校養成所指定規則 改正
2019年 (R1)	臨床検査技師学校養成所カリキュラム等改善検討会開催（2022年入学生から適用）

Kunihiro Mimura

千葉科学大学 危機管理学部 保健医療学科

〒288-0025 千葉県銚子市潮見町3

TEL : 0479-30-4774

E-mail : kmimura@cis.ac.jp

学校（現在の新渡戸文化短期大学）が同年に開設し、女子専門の衛生検査技師養成を行っていた。昭和33年には衛生検査技師法が制定され、翌年の昭和34年から衛生検査技師教育が開始された。東京文化医学技術学校、北里衛生科学専門学院、文京女学院医学技術者養成専科、香川県衛生検査技師養成所、岡山県衛生研究所付属衛生検査技師養成所、化血研衛生検査技師養成所の6校が昭和34年3月31日にそして1日遅れて京都大学医学部附属衛生検査技師学校が開校された。当時は、感染症のまん延により劣悪な環境であったため教育内容も公衆衛生検査を中心に寄生虫検査、伝染病微生物検査、病理検査などの講義および実習が行われていた。教育期間は2年間で総時間数は2,340時間であった。衛生検査技師の免許付与者は都道府県知事であった。この資格は名称制限のみだったが、検査技術は用手法であり、それぞれ特殊な技法が求められ熟練した技術や技能が必要だったために実質的に業務独占状態であった。またこのころから衛生検査を薬剤師が担当していたこともあり薬剤師資格を有する者は既得権益として申請で免許が交付されていた。専任教員は2名以上で、内1名は臨床検査に経験を有する医師としていた。昭和37年には北里大学が衛生学部衛生技術科として始めて大学教育を開始した。

昭和41年には、指定規則の改定が行われ、内容が公衆衛生中心から医療中心に変化し、生化学や血液学などの教育時間数が増加した。また行政所管が厚生省医務局医事課に変更となった。

2) 臨床検査技師教育

昭和45年には「臨床検査技師・衛生検査技師等に關する法律」が公布され、名称独占と一部業務制限を得ることができた。このことにより翌年の昭和46年より3年制の臨床検査技師教育が開始された。教育は2年制から3年制以上になり、試験も厚生大臣免許である国家試験に昇格した。また大学卒業生は厚生大臣の定めた5科目を履修することで国家試験が受験でき、かつ衛生検査相当の科目が免除され200問中、50問を受験すれば良いという既得権益があった。この制度で薬学とともに獣医学、栄養学部、理学部、工学部などでも厚生大臣の承認を得て指定科目を履修することで衛生検査技師の資格と臨床検査技師国家試験の受験資格を得ることができる教育が開始された。これが承認校としての大学教育の始まりとなる。基礎科目には人文、社会、自然科学のほか、情報科学が加わり、臨床検査相当の科目、臨床検査総論Ⅱ、臨床化学、放射線同位元素検査技術学、臨床生理学、および医用電子工学概論の5科目が新設され、これが告示22号として承認校の科目となった。また衛生検査技師

資格には12科目が告示21号として設定された。また臨床検査の実態に遅れを取らないようにということで選択科目が300時間設けられた。選任教員の規定は4名以上そしてその内1名は医師であることとした。

昭和61年には臨床検査技師教育となって2度目の指定規則・指導要領の改正が行われた。その特徴は教育内容を体系的に行うために、基礎科目、基礎専門科目、専門科目と大きく3つに分けたことと、330時間以上の臨床実習を義務化したことにある。また大卒で国家試験を受ける場合でも科目免除がなくなり全科目を受験しなければならなくなった。

平成5年と平成11年には政令改正がなされ、生理学的検査の項目が増え、合計16項目（現在は18項目）の検査が行えるようになった。平成10年には大学設置基準の変更があり専門学校から大学の3年次または一部4年次への編入が可能となり、また放送大学を利用する方法や大学の科目履修生となることで社会人となった後でも学士を取得することが容易となった。

平成12年には3度目の指定規則・指導要領の改正が行われた。その大きな特徴はカリキュラムが大綱化され、各学校の独自性を出すことが可能となったことにある（Table 2）。また大綱化とともに単位制が導入され、高等教育機関における履修単位互換が容易となり、専門学校から大学への3年次編入が容易となった。専任教員の構成については40名1学級の学校には6名の人員を必要とし、その内3名は5年以上の業務経験を有する臨床検査技師であることとなった。平成14年にはカリキュラム大綱化に伴い、国家試験出題基準が制定され、それに基づいた国家試験が平成15年から出題されるようになった。その後、内容の見直しが図られ、平成22年、平成25年そして令和元年に出題基準の改正が行われた。

Table 2 臨床検査技師養成所のカリキュラム(平成12年～)

教育の内容		単位数	
基礎分野	科学的思考の基礎		14
	人間と生活		
専門基礎分野	人体の行動と機能	7	20
	医学検査の基礎と疾病との関連	5	
	保健医療福祉と医学検査	4	
	医療工学・情報科学	4	
専門分野	臨床病理学	6	59
	形態検査学	9	
	生物化学分析検査学	11	
	病因・生体防御検査学	10	
	生理機能検査学	9	
	検査総合管理学	7	
	臨地実習	7	
	合計	93	

令和2年4月に「臨床検査技師学校養成所カリキュラム等改善検討会報告書」が提出された²⁾。これが臨床検査技師教育における4度目の指定規則の改正となる。改正の内容は 1. 指定規則の単位数の増加（今後の臨床検査技師の業務拡大も見越した新たな教育）2. 告示で定める国家試験受験のための科目とその審査基準の見直し（指定校と承認校の教育内容の標準化）（Fig. 1）3. 臨地実習の在り方（臨地実習の期間延長と教育項目の水準設定、学内での臨地実習前の技能習得到達度評価の義務化そして臨地実習指導者の指導者講習会の受講）4. 機器備品の見直し等であった。

3. 現在の臨床検査技師教育の課題

1) 国家試験受験資格

臨床検査技師の国家試験受験資格は様々な分野から受験可能である。医学部・歯学部を卒業した者、薬学部、獣医学部で6科目の臨床検査に係る科目（告示22号）を履修した者。同様に一般的な臨床検査技師養成大学である保健学部あるいは衛生学部も6科目の科目を履修することで受験資格が得られる。さらに理学部・工学部・栄養学部等では衛生検査技師相当の科目12科目（告示21号）と先ほどの6科目、合計18科目を履修することで国家試験受験資格を得ることができる。このように大学の臨床検査技師教育は、必要な科目を履修したという単位修得証明書を提出することで国家試験が受験できる承認制である。一方、文部科学省、厚生労働省の指定学校は

3年制の短期大学、専門学校で卒業見込み証明書のみで国家試験受験が可能となる。また現在は数校ではあるが大学でも指定校が存在する。このように受験資格が多岐に亘っており、教育内容も卒業する学校で差が生じている。

2) 臨地実習について

臨床検査技師教育が技術教育である以上、現場の状況を知らずに社会に輩出することはできない。臨地実習の目的は、現在行われている臨床検査の基本的な実践技術を修得すること。また臨床検査情報の意義、精度管理、検査研究の重要さの認識、疾病解析へのアプローチなどを身につけること。そして医療の中における臨床検査技師の役割と責任を知り医療人としての自覚を持つことにある³⁾。そのため臨地実習は臨床検査技師教育の中で必要不可欠な重要な科目となる。臨地実習は指定校である3年制また一部の大学には適用されるが、承認校であるほとんどの大学においては臨地実習の基準がない。そのためその両者では実習期間だけでも大きな差が生じている。臨地実習の標準化のためには、実習期間の統一ばかりか、実習項目の統一、そして学生が行える実習項目の水準の設定などを検討しなければならない。看護師、理学療法士そして診療放射線技師などは既に臨地実習で行える水準の設定がされている。水準とは学生が自ら実習を行える項目、指導者が付いている場合に実施できる項目、見学しかできない項目に分けて臨地実習を区分することである。その他、臨地実習前の技能習得到達度評

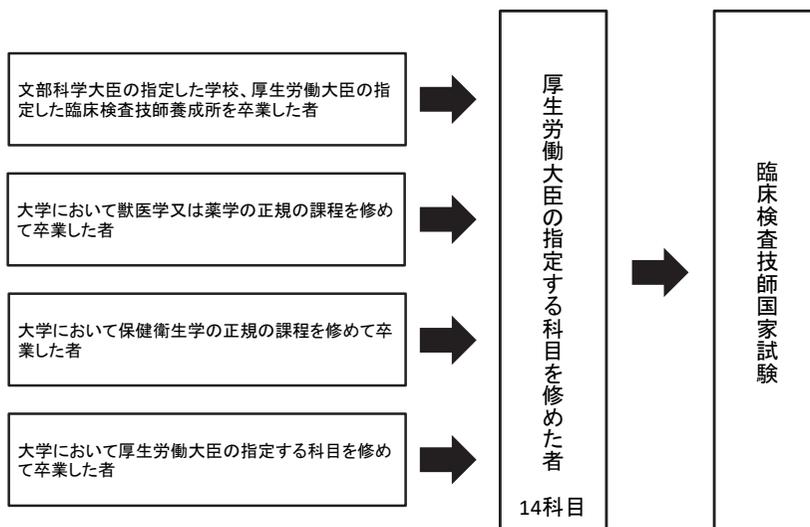


Fig. 1 新たな臨床検査技師国家試験受験資格（2022年入学生より）

価（OSCE）の実施そして臨地実習指導者向けの研修会の開催などがある。

3) Society 5.0時代を生き抜くための教育

厚生労働省は2015年に2035年を見据えた保健医療政策のビジョンを提言した。このことは、急激な少子高齢化や医療技術の進歩など保健医療を取り巻く環境が大きく変化する中で日本の経済成長と財政再建にも貢献し、ひとりひとりが主役となれる健やかな社会を実現していくというものである。人工知能（AI）の導入から臨床検査そのものも変化していくことが想像でき、臨床検査技師も現在の技術を活用するものから役割が変化し、臨床検査を管理・運営する仕事に変化することも推察できる。それらに対応できる人材育成をするためには教育内容もそれらを見据えたカリキュラムの構築を今からしていかなければならない⁴⁾。

4. おわりに

臨床検査技師の仕事がAIにとって代わることがないようにするためには、自らの必要性を見出し、価値をそこから発見することができる人材を育成していかなければならない。そのためには、現在教育している学生が、創造性を発揮し、これから20年後あるいは30年後に臨床検査技師の新たな道を見出し、臨床検査技師にしかできない仕事を確立することにあり、自らが責任を持って開拓し、その職業を確立していかなければならない。人間性豊かで、高い倫理性を兼ね備え、創造性を発揮し科学的に解決す

る能力を備え、そして患者のための医療を志すためには、臨床検査技師は生体分析科学の専門家として誰にもできない分野を確立することが重要と思う。

これからも長い間、50年もそして100年先も我々が教育した人材が継続して社会に貢献していくためには、今の教育の中に医療の変動を見据えた臨機応変な教育が必要になると思う。このことは、臨地実習を含め、今、我々が行っている教育が重要であることを本稿のまとめとしたい。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) 三村邦裕. 我が国の臨床検査技師教育. 日本臨床検査自動化学会誌 2014;39:305-312.
- 2) 厚生労働省医政局医事課, 文部科学省高等教育局医学教育課. 臨床検査技師学校養成所指定規則の一部を改正する省令案の概要 2020
<https://public-comment.e-gov.go.jp/servlet/PcmFileDownload?seqNo=0000212037>
(最終アクセス 2021年1月14日)
- 3) 三村邦裕. 臨床検査技師教育における臨地実習. 臨床検査 2015;59:890-893.
- 4) 三村邦裕. 臨床検査技師教育はどこに向かうのか. 臨床検査学教育 2019;11:81-87

これからの臨床検査教育のあり方

—臨床検査技師学校養成所カリキュラム等改善検討会報告書を受けて—

Education for Medical Technology and Biomedical Laboratory Sciences
— Match up for Improvement Report for Medical Technologists and Biomedical
Laboratory Scientists Education Program —

奥村伸生*1

Abstract Committee for Improvement of Medical Technology Education (Ministry of Health, Labor and Welfare) reported statement of pre-graduated medical technologist education in 2020 April. The most important thing was follows; 1) to improve skill for clinical laboratory before graduation, a period of clinical training increases 5 units (7 to 12), 2) practical object is changed from observation to clinical practice, 3) one unit have to use pre-clinical training just before clinical training in clinical laboratories.

Although many high-grade medical technologists are recruited by clinical laboratories, education for clinical laboratory scientists is needed during undergraduate student (4-year course in college). In addition to clinical laboratories, many of undergraduate students are recruited by reagent, equipment, pharmaceutical and food companies and administrative agency, moreover, graduate students aim for faculty appointment or basic researcher. For this purpose, problem-solving skills are improved by research for honors, master and doctor thesis. Finally, I hope chief medical technologists have a PhD degree and senior medical technologists have a master degree to discuss and/or collaborate with medical doctors and pharmacists.

要旨 現在の臨床検査技師の国家試験は他の多くの医療従事者国家試験と異なり複数の教育課程を経た者が受験できるようになっている。2020年の合格者の教育別ではいわゆる指定校（1大学を含む）が33.3%、保健衛生学の科目承認校が54.9%、その他の科目承認校が11.4%（薬学除く）という割合である。このような状況の中で2020年4月に厚生労働省（以下厚労省）臨床検査技師学校養成所カリキュラム等改善検討会から出された報告書（以下報告書）¹⁾に基づき、2022年入学生から臨床検査技師教育がどのように変わるのかということ、近年増加している4年制大学の臨床検査技師教育が今後どうあるべきかを私見を含めて報告する。

Key words Medical Technology（臨床検査法）、Biomedical Laboratory Sciences（臨床検査学）、Preclinical Training and Assessment（学内実習と評価）、Clinical Training（臨地実習）、Problem-solving Skills（課題解決能力）

1. 主なカリキュラム変更内容

臨床検査及び臨床検査学は進歩の著しい医学・医療の中でももっとも変化の激しい分野であり、科学技術の粹

が集約される領域である。このような状況の中で臨床検査技師養成の指定規則は2000年以来大きな見直しが行われてこなかった。また、科目承認校（以下承認校）は1987年以来実に30年以上の長きにわたって大きな見直しが行われてこなかった。

このため2019年5月、私ども臨床検査学教育協議会（以下協議会）と日本臨床衛生検査技師会（以下日臨技）は「臨床検査技師教育の見直しの要望書」を厚労省に提出した。その要望を受け設置された検討会から出された報告書のもっとも重要な点は以下の様である。国家試験合格者の2/3を占める承認校の教育内容、特に国家試験で見極めることができない技能をきちんと身に付けた学生を卒業させるため、臨地実習の単位数及び内容を指定校

Nobuo OKUMURA

*1 信州大学学術研究院保健学系検査技術科学専攻、
大学院総合医理工学研究科医学系専攻保健学分野
(〒390-8621 松本市旭3-1-1)

Department of Biomedical Laboratory Sciences,
Shinshu University School of Health Sciences,
Department of Medical Sciences,
Shinshu University Graduate School of Medicine,
Science and Technology
(3-1-1 Asahi, Matsumoto, 390-8621)

と同じとしてさらに充実することである。すなわち、チーム医療で協働する他の医療従事者や国民の期待に応えることができるしっかりとした技能を有する優秀な臨床検査技師を養成することである。

今回の指定規則中のカリキュラム変更（指定校）においては、総単位数を現行95単位から102単位への引き上げ、特に臨地実習を現行7単位から12単位への引き上げることである。

一方、指定規則では指定校のカリキュラムしか規定できないが、承認校においては次のように変更される。上記の法令で承認校に対して厚生大臣が定める科目（告示21号で定める12科目と告示22号で定める6科目）を統合して14科目とし科目名を変更する。この中でもっとも大きな変更点は、臨地実習の単位数増である。

2. 臨地実習内容の規定と臨地実習前の技能取得到達度評価

現在の臨床検査技師国家試験受験資格では承認校における臨地実習は法的には1単位（1週間相当）である。これは指定規則に規定されている7単位（7週間相当）と大きな差があり、加えて現在では臨床検査技師が実施できる生理学的検査の内容が厚生労働省令の改訂ごとに増加している。このため報告書の指定規則案では臨地実習を12単位とされた。これに基づき、承認校も臨床検査技師国家試験を受験するためには指定規則と同じ科目と単位数を履修することが規定される。

さらに臨地実習においては単位数を引き上げだけでなく、実習の在り方が規定され、見学型実習から診療（検査）参加型実習へと転換された。そのため、3単位以上は生理学的検査に関する実習を行うことが求められている。また、臨地実習12単位には養成校における臨地実

表1 臨地実習において学生に必ず実施させる行為及必ず見学させる行為（別表2）

水準Ⅰ 臨地実習において必ず実施させる行為	水準Ⅱ 臨地実習において必ず見学させる行為
生理学的検査 ・標準12誘導心電図検査 ・肺機能検査(スパイロメトリー)	生理学的検査 ・ホルター心電図検査のための検査器具装着 ・肺機能検査(スパイロメトリーを除く) ・尿酸検査 ・養育心電図検査 ・超音波検査(心臓、腹部) ・足関節上腕血圧比(ABD)検査
検体検査 ・血球計数検査 ・血液塗抹標本作成と鏡検 ・尿定性検査 ・血液型検査 ・培養・Gram染色検査	検体検査 ・精度管理(免疫学的検査、血液学的検査、病理学的検査、生化学的検査、尿・糞便等一般検査、輸血・移植検査) ・メンテナンステキ作業(免疫学的検査、血液学的検査、生化学的検査、尿・糞便等一般検査) ・標準切り出しと顕微鏡写真撮影 ・迅速標本作成から報告
	その他 ・検査前の患者への説明(検査手順を含む) ・チーム医療(NST、JCT、臨床病変指導) ・検体採取

習前の技能取得到達度評価実習1単位を含むことが規定された。

すなわち、従来は臨床検査技師の資格を持たない学生が臨地実習において心電図を取ってよいのか、肺機能検査(スパイロメトリー)を実施してよいのかが不明確であった。今回の報告書では、実施に当たって以下の様に規定された(表1, 2)。臨床検査技師を目指す学生が臨地実習中に実施すべき基本的行為は、個々の患者から同意を得た上で実施することとし、かつ、学生の実施した検査等の情報をそのまま臨床へ提供することはせず、必ず指導に当たる者が確認、または再度実施した上で臨床に提供することとする。

さらに上記の臨地実習を実施するためには、「臨床検査技師の資格のない学生が、一定の資質を備えた上で、臨地実習において行うこととなる行為を実施できるよう、養成施設において、臨地実習に必要な技能・態度を備えていることの確認及び必要な指導を目的として、臨地実習前の技能修得到達度評価を行うこととする」と規定された(表3)。

表2 臨地実習において学生に実施させることが望ましい行為（別表3）

検体検査	・血検・止血検査 ・HE染色や特殊染色検査 ・HE病理標本観察 ・細胞診標本作成と鏡検 ・尿沈渣検査 ・血液ガス分析検査 ・交差適合試験 ・不規則抗体検査 ・同定・薬剤感受性試験(微生物検査)
その他	・採血室業務(採血行為を除く)
備考	1 臨床検査技師を目指す学生が臨地実習中に実施すべき基本的行為は、患者の安全を確保するためにも、学生の実施した検査等の情報をそのまま臨床へ提供することにはせず、必ず指導に当たる者が確認、または再度実施した上で臨床に提供すること。 2 臨床検査技師の資格を有さない学生が、臨床の現場で診療の補助に関わる行為を行うことから、個々の患者から同意を得た上で実施すること。

表3 臨地実習前の技能修得到達度評価例

標準12誘導心電図検査検査評価ポイント
・自己紹介と患者確認ができ、患者との信頼関係を築くことができる ・心電図波形の成り立ちを説明できる ・標準12誘導心電図の電極の取り扱いができる ・標準12誘導心電図の電極の装着部位を説明できる ・標準12誘導心電図の誘導法を説明できる ・標準12誘導心電図検査を実施できる ・心電図波形の計測ができる ・心電図波形とアーチファクトの判別ができる ・正常心電図の判読ができる ・異常心電図の判読ができる

3. 4年制の臨床検査技師教育

今回の指定規則のカリキュラム変更及び指定校と科目承認校の教育内容の統一により、従来と比較して一定以上の知識と技能を有する臨床検査技師を養成することができるようになるものと考えられる。

4年制教育の卒業生は臨床検査技師として医療施設に就職するだけでなく、検査試薬・検査装置製造会社、製薬会社、食品製造企業、行政機関等に就職する者、さらに臨床検査技師養成施設の教員、基礎医学・臨床検査学の研究者を目指す者が増えている。

臨床検査技師として就職するかどうかにかかわらず、

1. 患者に臨床検査の意義と結果の説明ができること、
 2. 検査依頼の妥当性と検査結果について医師とディスカッションができること、
 3. 検査診断において医師の診療補助ができることなどがあげられる。これらの能力を4年間の教育を通して身に付けることを目標としたい。さらに、「問題解決能力を有する学生」を養成するために、少人数教育である卒業研究を行うことが重要である。卒業研究を通じて問題解決能力を身に付け、
1. 異常な測定結果が得られた時に病態分析・解析ができること、
 2. 新しい検査試薬・装置・技術の評価ができること、
 3. 高度な専門性を持ったうえでチーム医療に貢献できることなどを目標としたい。

4. 大学院における臨床検査技師教育

将来検査部の技師長などを目指す学生は、是非大学院修士課程に進学し、医師(歯科医師)・薬剤師などと対等にディスカッションできる科学的な実力及び学歴を付ける必要がある。しかし、臨床検査技師全員を6年制教育とするする必要はないと考える。

さらに、将来教育者・研究者を目指す学生においては大学院博士課程に進学し、

1. 新しい検査試薬・装置・技術を開発できる能力、
2. 後身や他の医療従事者を科学的・系統的に指導・教育できる能力などを身に付けることを期待したい。私の希望としては、大病院の技師長クラスは博士の学位を、主任クラスは修士の学位を有したうえで、科学的な臨地実習の提供を期待したい。

5. 現時点で私が考える理想的な臨床検査技師教育

現在の協議会加盟校91校中4年制大学は61校であり。さらに今後も4年制大学の新設が続く予定である。このため4年制大学における臨床検査技師教育の理想について私見を述べる。サービス業でありコミュニケーション能力・奉仕者精神が要求される医療従事者である臨床検査技師の教育には優れた人間性を育むことが必要である。

そのためには、詰め込んだ教育カリキュラムでなくある程度ゆとりある教育が重要であると考えられる。その理由はいわゆる講義を中心とした教育だけでは人間性教育には限界があり、サークル活動・ボランティア活動・アルバイトなどの社会活動によって培われるものだと考えるためである。

以上の観点から、私は図1の様な4年制教育を提案したい。1年次のいわゆる教養教育の間に専門教育を少し実施することは、臨床検査がどのような学問か、あるいは臨床検査技師がどのような業務を行うのかを理解していない学生のアンマッチを早期に解決することと、この領域の楽しさ・奥深さとやりがいや学生に理解してもらうことが重要である。3年次後期に臨地実習を終えて4年次1年間の卒業研究を行うことはゆとりあるカリキュラムを実施することが困難になると考える。そのため。3年次まではしっかり学内講義・実習を行う。4年次に卒業研究と臨地実習を実施する。4年次前期に卒業研究を実施することにより、研究に興味を持ち大学院に進学する学生が増えることが期待できる。また、4年次後期に臨地実習を実施するは国家試験の勉強に直結することから国家試験合格率の向上に寄与するものと考えられる。

6. 結語

臨床検査技師養成校においては、一定以上の知識と技能を有する臨床検査技師の養成を第一目標とにすることは何人も異論はないと考える。また、国家試験合格率は社会からの教育評価、入学希望者からの評価に大変重要である。しかし、4年次の大半を国家試験対策に費やしては本末転倒である。大学教育とは「問題解決能力」を醸成することである。そのためには上述したように卒業研究を少なくとも半年以上は実施することが肝要と考える。今後の少子化時代、優秀な学生を臨床検査の領域に呼び込むためには、どのような研究を行っている教員

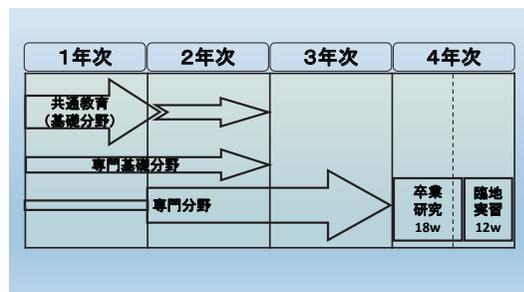


図1 私の考える理想的な4年制臨床検査技師教育

がいののかということが、国家試験合格率と共に希望大学選択の大きな評価項目になると考えている。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業はありません。

文 献

- 1) 厚生労働省「臨床検査技師養成所カリキュラム等改善検討会報告書」<https://www.mhlw.go.jp/content/10803000/000620490.pdf>

日本臨床化学会としての取り組み

Efforts of Japan Society of Clinical Chemistry

前川真人

1. はじめに

日本臨床化学会 (JSCC) の前身である医化学シンポジウムは1961年に結成されたので、今年で60周年を迎える。疾病の病因・病態の解明やその診断に関連した基礎から臨床にわたる幅広い領域の研究に貢献するという任務を有しており、1962年にIFCC (The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) に加盟、そして1981年に日本臨床化学会が誕生した。従って、JSCCとしては40周年である。IFCCは国際臨床化学連合と訳されることが多いが、世界で45000人の臨床検査の専門家が加入しており、93の正規会員（一国に一団体のみで、それ以外はaffiliatesと呼ばれる）、47の企業会員が加盟している。

2. IFCCの役割

IFCCのホームページには、IFCCのミッションは、世界の臨床化学・臨床検査領域における指導的な機関であらんと掲げられており、次の役割が記載されている。

- ① 他の国際機関と協同して global standard を構築する。
- ② 科学的、教育的な事業によってメンバーを支援する。
- ③ 学術集会、カンファレンス、セミナーなどの開催を通して、会員である臨床検査の専門家に出会いと研究成果発表の機会を提供する。

Masato Maekawa
浜松医科大学医学部 臨床検査医学
〒431-3192 浜松市東区半田山1-20-1
Department of Laboratory Medicine, Hamamatsu
University School of Medicine
1-20-1 Handayama, Higashi-ku, Hamamatsu 431-3192
TEL : 053-435-2721 FAX : 053-435-2096
E-mail : mmaekawa@hama-med.ac.jp

また、臨床検査の重要性が記載されており¹⁾、臨床検査医学はヘルスケアにとって隠れた宝物であることを示しており、電子カルテに記載された客観的データの94%、臨床的な決定に影響を与える割合60-70%、各種診療ガイドラインに記載されているうちの37%、種々の疾患領域や増大するコンパニオン診断に関与している割合が23%とのことである。このように診療に重要な役割を有する臨床検査がバラバラではどうしようもないため、標準化は極めて意義の高い命題であり、目指すべきゴールの一つである。

3. JSCCの役割

臨床検査の標準化によって得られる果実は何かという問いに対しては、以下が考えられる。

- 診療に客観的な指標となる検査データを提供できる。
- いつでもどこでも同じデータが得られ、転院しても再検査の必要がなく、継続的に評価できる。
- 客観的な診断ガイドラインを普遍化できる
- 医療の標準化を誘導できる。

そしてさらに、global harmonization を進めることによって

- 世界的に、いつでもどこでも同じデータが得られ、国際的な診断ガイドラインが適用できる。
- 国際的な学術誌に、そのままの検査データとして投稿できる。
- 国際治療にも対応できる。

特に、世界のどこでも同じ結果が得られ、それに基づき診断され、治療につながれば、共通して科学的な医療ができるようになると期待される。

そこで、日本臨床化学会はIFCCの日本における正式メンバーとして、著者の代表理事（2015年4月～2021年3月）の任期における標準化に対する目標として以下を

掲げた。

- ・ 適正に臨床検査を行うために
- ・ 信頼性の高い臨床検査結果を得るために
- ・ 適正に臨床検査結果を判読するために
- ・ 明日の臨床検査を産み出すために
- ・ 世界の臨床検査と協調するために
- ・ メイドインジャパンを国際標準にするために

現在、ALPとLDの測定法変更の途上にあるが、血清酵素活性測定標準化は1980年代からJSCCで議論されてきた。元来、酵素活性は測定条件（温度、pH、緩衝液、基質など）によって著しく異なり、施設間差が大きい検査項目の代表であった。しかし、活性測定の方法を決め、値付けした標準物質を作製することで1989年にAST、ALT、CK、ALP、LD、1994年に γ -GT、2003年にコリンエステラーゼ（ChE）、2005年にアミラーゼが標準化された。図1の上から下に向かって、上位の測定法で測定した標準物質の活性値を順に途切れることなく伝達していくことによって、日常（患者）試料を全国各地でも同じ測定値が得られるようになった。

4. 血清酵素活性測定法標準化の課題

8つの血清酵素項目のうち、CK、 γ -GT、アミラーゼはIFCC法と同等の活性値が得られるが、ChEにはIFCC法はなく、日本独自の測定法で大きな問題は生じていない。一方、AST、ALT、ALP、LDの4項目は、

IFCC法とJSCC法の試薬組成が異なっていたため、JSCCで2012年に出版した勧告法総集編²⁾に今後の課題として表1に示した内容が記載されていた。実際、国際治験や国際的なジャーナルへの論文投稿時には不都合が生じており、global harmonizationの観点からも再考する必要性について議論されてきた。その結果の一つが、2020年4月からの1年でALPとLDの測定法を全国一斉にIFCC法に変更することである。臨床検査の関連団体、日本臨床検査標準協議会（JCCLS）の加盟団体をはじめとしてステイクホルダーにはパブリックコメントを求め、その意見を頂戴して厚生労働省に説明して全国に案内を发出していただいた。詳細は他稿、およびJSCCのホームページ³⁾に譲るが、前々からの課題を解決できることとなる。残るのはASTとALTであるが、補酵素であるピリドキサルリン酸（PALP）を含む試薬の安定性が確保できないため、世界的にもPALPを含むIFCC法はあまり使用されず、PALPを含まないIFCC法が使用されている実状がある。しかしながら、JSCCでは今後、ASTとALTのglobal harmonizationに向けて検討していく予定である。

5. おわりに

いつでも、どこでも同じ結果、同じ解釈のためには臨床検査の標準化とハーモナイゼーションが必要である。血清酵素活性測定法の標準化は、その作業工程の中の一

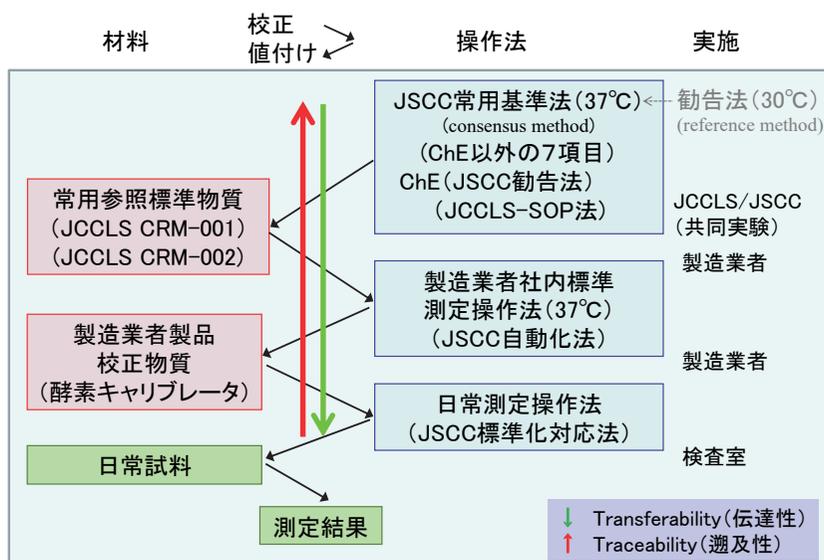


図1 血清酵素活性測定の特レーサビリティ連鎖

表1 血清酵素活性測定の課題（2012年版 臨床化学 勧告法総集編，日本臨床化学会より）

今後の課題	
ALP	現状の日常診療では、肝障害時には超音波検査や生検などが行われ、小腸性ALPは対象にしていない。また、小腸性ALPは、食事でも出現することなどから、特に外来患者に対しては非常に使い難い状態になっている。国際的には、肝障害時は肝ALPを主たる対象にしてALP測定を行うかたちになっていることから、IFCC法にトレーサブルな日常検査法の設定とその一般化が急務である。
LD	IFCC法では、基質濃度の決定はLD1に至適である。これはLDアイソザイム検査をしなくて、心筋梗塞時などのLD1優位の疾病の診断に適用するものである。国際標準化の観点からは、IFCC法にトレーサブルな日常検査法の設定とその一般化が必要である。
AST ALT	IFCC法の measurandは total c-AS(L)Tである。PALP添加試薬で血清中の apo c-AS(L)Tをホロ化して holo c-AS(L)Tにしてから活性測定する。また、2002年に設定の IFCC-SOPでは、試薬調製時および測定時の温度は37°Cである。現在、液状系試薬でのIFCC法は一般化されていないので、一般化すること、IFCC法にトレーサブルな測定体系にする必要がある。

部、分析プロセスのハーモナイゼーションにすぎない。検体採取時の不適合があれば正しい結果は得られない。すなわち、臨床検査の全プロセスのハーモナイゼーションが必須の作業であり、全ての臨床検査関係者が推進していく重要な作業である。JSCCはこれからも臨床検査の標準化とハーモナイゼーションを一つの大きな柱として活動を推進していく。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) International Federation of Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, Committee on Public Relations. Understanding laboratory medicine. https://www.ifcc.org/media/330667/201510_LabMed_Slide_Kit.pdf (2021.1.9 accessed)
- 2) 臨床化学 勧告法総集編2012年版，日本臨床化学会編 2012
- 3) 日本臨床化学会. <http://jsc.jp.gr.jp> (2021.1.9 accessed)

ALP 測定法変更開始後の状況と今後の取り組み

The Future Situations and New Approaches After the Change of ALP Measurement by the IFCC Recommended Method

山崎浩和

1. はじめに

2012年日本臨床化学会（JSCC）は、同会酵素・試薬専門委員会内にJSCC法と国際臨床化学連合（IFCC）法の血清アルカリホスファターゼ（Alkaline phosphatase, ALP; EC 3.1.3.1）の活性測定法を調査するプロジェクトを設置して、IFCC法への切り替えを視野に活動が開始された。この調査によって、健診における疾病との結びつきがない異常値の出現率がIFCC法に比べてJSCC法で明らかに高いこと、また国際的な治験においてJSCC法の測定値が採用されないことなどが判明した。こうした状況の中、ALPの臨床的意義の向上と国際的なハーモナイゼーションの必要性からJSCC法からIFCC法に変更する時期にきていると唱え2017年4月にプロジェクト報告¹⁾が出された。そして様々な課題を解決して2020年4月から変更が開始され、2021年3月末までに変更が完遂できることを目指し活動が進められている。

本稿では、シンポジウムで発表したJSCC酵素・試薬専門委員会ALPプロジェクトの活動²⁻³⁾について概説する。

2. 変更に向けた活動

2018年4月にALP測定法変更の実務を担うプロジェクトが発足した（Table 1）。先ずプロジェクトが手掛けたのは、ALPの認証標準物質が当時存在しないことからトレーサビリティ体系に沿った正確さの確認ができな

い状況にあり、その課題を解消することから始まった。そこで日本臨床検査標準協議会（JCCLS）のJSCC常用酵素参照物質（CRM）のロット更新に合わせ、CRM-001dにIFCC法での認証値の設定作業に協力した。こうしてIFCC法での値付けができたことからトレーサビリティ体系が構築され正確さを確認することができ、2018年9月に頒布が開始された。これにより本測定試薬の開発は、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）への届け出で済むこととなりALP測定試薬（IFCC法）の開発が加速した。

次に、JSCC会員、関連する医学系学会、職能団体および業界団体など44団体にパブリックコメントの募集を行った。IFCC法に変更する強い反対意見はなく、血清乳酸脱水素酵素（LD）も変更すべきとの声が寄せられ国際的なハーモナイゼーションの認識がより進んだものとする。また、期間を一年程度設けて変更を行うこと、さらにJSCC法とIFCC法の区別を明確にすべきとの貴重な意見を頂き、2019年3月にはその報告書が公表された。そして2019年11月19日付で変更に関するガイドラインがJSCCのホームページに掲載されるの同時期にJSCCからの公文書が関連団体に発行された。

ALPの基準範囲については、IFCCのALPドキュメント⁴⁾に記載されているが日本人を対象として確認する

Table 1 ALPプロジェクトメンバー（五十音順）

役	氏名	所属
代表	山崎 浩和	山梨大学医学部附属病院 検査部
副代表	星野 忠	東邦大学理学部教育開発センター-臨床検査技師課程
	荒井 由作	一般社団法人 臨床検査薬協会 技術委員会
	荒木 義夫	日本大学病院 臨床検査部
	池田 勝義	熊本保健科学大学
	池田 均	東京大学医学部附属病院
	植田 成	千葉科学大学 危機管理学部 保健医療学科
	大久保 進夫	文京学院大学
	宇佐美 陽子	信州大学医学部附属病院 臨床検査部
	斎藤 篤	岩手医科大学附属病院 中央臨床検査部
	谷本 和仁	富士フイルム和光純薬株式会社 臨床検査薬 学術部
	中庭 友作	株式会社シノテスト
	堀田 多恵子	九州大学病院検査部
	松下 誠	埼玉県立大学
	松本 祐之	中部大学 生命健康科学部
	三末 高史	船橋市立医療センター 臨床検査科
	宮下 真一	株式会社ヘルテラ研究所
	菅 浩彦	株式会社シノテスト
オブザーバー	田中 龍彦	株式会社シノテスト
アドバイザー	前川 真人	浜松医科大学 医学部 臨床検査医学講座
	山本 慶和	大塚医療大学
オブザーバー(事務局)	山館 恵恒	人間総合科学大学

Hirokazu YAMAZAKI
 山梨大学医学部附属病院検査部
 〒409-3898 山梨県中央市下河東1110
 Department of Clinical Laboratory, University of Yamanashi Hospital
 1110, Shimokato, Chuo-shi, Yamanashi 409-3898, Japan
 TEL : 055-273-1111
 E-mail : hyama@yamanashi.ac.jp

必要があるとの意見により、プロジェクトメンバー施設での確認と設定作業に着手した。JCCLSの共用基準範囲はJSCC法で106~322 U/Lであり、IFCCのドキュメントには43~115 U/Lとなっている。ALPプロジェクトが設定した小腸型を除いた回帰式によって求めた値は、JSCC法は106~322 U/Lであり、IFCC法では37~114 U/Lだった。2009年市原らのアジアの基準範囲プロジェクト⁵⁾のデータ（日本人）によれば、JSCC法は116~347 U/Lであり、IFCC法では37~116 U/Lであった。さらに、IFCCの世界的規模で行われた基準値調査の際、日本で収集され保管されていた試料を信州大学病院で測定したところ、JSCC法は108~328 U/Lとなり、IFCC法では38~113 U/Lになった。これまでの測定範囲とはほぼ同等であったが、試料がすべて凍結試料であったことから、日本大学病院の検診検体で再度確認したのち、プロジェクトが推奨する38~113 U/Lを基準範囲に設定した（Table 2）。さらに設定した値をJSCC基準範囲共用化委員会に報告するとともに、委員会よりJCCLSに上申して頂き2020年2月には測定法変更に伴う基準範囲がJCCLSの共用基準範囲に追記された。

換算係数について、九州大学病院で測定した血液型B、O型の検体は血液型A、AB型の回帰式の傾きと乖離の程度が異なることが判明し（Fig. 1）、実測値に合致する換算係数を得ることは困難である。だが臨床検査は連続性を求められることを考慮して換算係数を算出した。ほぼ肝型と骨型の検体と仮定した場合、その換算係数は

JSCC法測定値からIFCC法測定値に換算するには0.35倍、IFCC法測定値からJSCC法測定値に換算するには2.84倍とする。ただし、小腸型ALPや胎盤型ALPが増加する症例では、換算値は実測値から乖離するので、臨床側と十分に話し合って使用していただきたい。さらに、IFCC法は胎盤型ALPの反応性がJSCC法よりも高いことから、妊婦の場合は妊娠週数が増すごとに胎盤型ALPの出現が増すため、上記換算係数を使用すると実測値との差が大きくなる（Fig. 2）。

臨床検査項目分類コードについて、健診データを健保団体へ報告する際にはJLAC10のコードが使われていることから、一般財団法人医療情報システム開発センター（MEDIS-DC）に測定法変更について説明した。これによりIFCC法による測定項目コードがMEDIS-DCより2020年3月に追記・新設した報告をうけた。また、そのデータを受け取る健保団体側のシステムにそのコードを設定してもらう必要があることから、厚生労働省との相談を進め同年3月17日付で厚生労働省より事務連絡が発出された。それを受け日本医師会から都道府県の担当理事宛に同年3月24日付事務連絡が発出された。

3. 当院の導入への取り組み

本学の変更説明の流れをFig. 3に示す。まず検査部の関係者が、教授会、病院運営委員会、医長・師長会に赴き今回のALP測定法の変更理由を詳細に説明して理解を求めた。次に、2020年3月中に2度にわたりJSCC提

Table 2 ALP活性の基準範囲

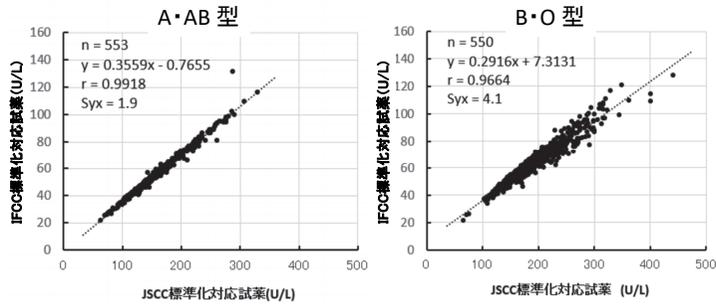
基準範囲算定中のデータ（性別、年齢が偏った施設を除いた集計）

No.	集計母体	基準個体件数	JSCC標準化対応試薬	IFCC基準測定法試薬
1	JCCLS共用基準法	M,F 6345	106-322	
2	IFCC document	M 266 F 257		43-115 33-98
3	ALPプロジェクト設定回帰式でJCCLS共用基準範囲を換算（*1）	回帰式算出:M,F 753	106-322	37-114
4	2009年市原先生のアジアの基準範囲(日本人) IFCC法（*2）		116-347	37-116
5	市原先生保存検体を信州大学病院検査部で測定（*3）	M,F 548	108-328	38-113
		M 246	121-328	42-113
		F 301	103-320	36-109
8	日本大学病院健診センター受診者検体を同病院検査部で測定	M,F 298	120-323	40-106

* 1 : 小腸由来ALPの出現が疑われる検体を除いて処理

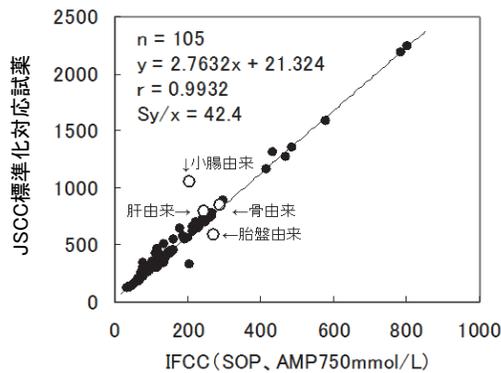
* 2 : AMP 350 mmol/Lから750 mmol/Lに補正した値

* 3 : 18~65歳



(九州大学病院検査部測定データ)

Fig. 1 ALPのJSCC法とIFCC法の血液型別相関図



ALPアイソザイムの反応性の違いと検体中の各アイソザイム含有率の差によってALP活性値の乖離の程度は異なる。

Fig. 2 IFCC法とJSCC法の相関図

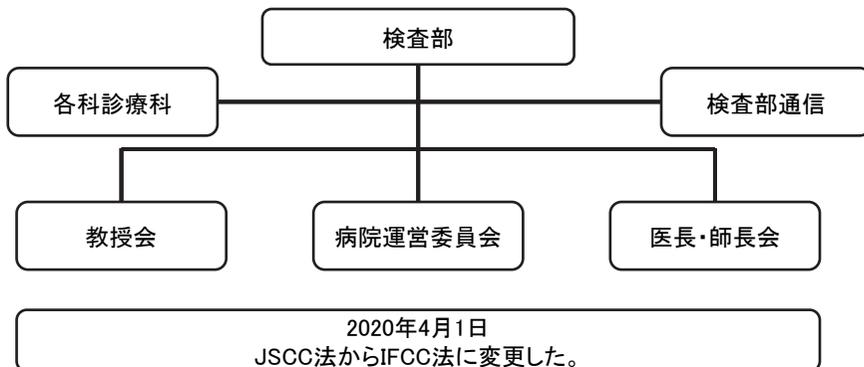


Fig. 3 本学におけるALP測定法の変更説明の流れ

2020年度：日臨技の精度管理調査より

【アルカリ性フォスファターゼ-方法別統計】				除外方法：除外と±3SD2回除去 試料11:3533件 / 試料12:3533件									
単位：37℃国際単位		全試料				除外後：除外と±3SD2回除去				除外後		除外数	
方法	試料	件数	平均	SD	CV(%)	件数	平均	SD	CV(%)	最小	最大	件数	%
(01) JSCC標準化対応法													
	試料11	3109	286.9	10.7	3.74	3056	287.0	5.5	1.93	269	305	53	1.7
	試料12	3109	423.9	14.7	3.48	3058	424.3	8.6	2.02	397	452	51	1.6
(02) IFCC標準化対応法													
	試料11	424	99.5	21.8	21.96	412	96.9	2.1	2.14	91	103	12	2.8
	試料12	424	147.4	31.9	21.65	413	143.6	2.9	2.00	135	153	11	2.6

参加施設『3533施設』中、
IFCC標準化対応法 424施設（12.0%）

Fig. 4 IFCC法の普及率

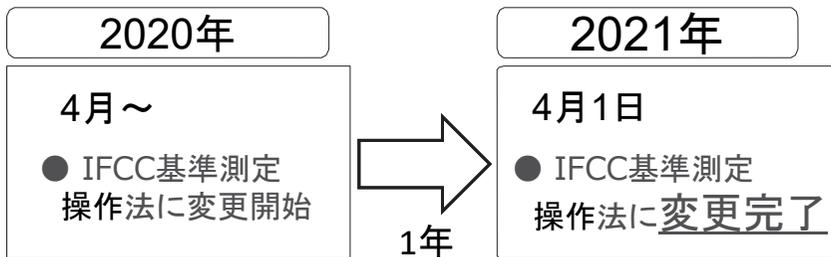


Fig. 5 変更スケジュール

供の変更に關するリーフレットを参照して検査部通信を各科診療科に出した。当初は変更によって診療トラブルを想定していたが、JSCC法の換算値を併記することでトラブルもなく現在に至っている。変更当初、外科の医師から感想がよせられ、換算式があるので徐々にIFCC法の測定値で診療するとのコメントを頂いた。

4. 変更開始後の状況

2020年度の日臨技精度管理調査を Fig. 4 に示す。2018年度の日臨技精度管理調査ではIFCC法はわずか0.12%であったが変更開始後約2ヶ月が経過した6月時点で2018年度の10倍に相当する12.0%まで増加した。コロナ禍とは言え、変更する施設がもっとあるかと思っていたが、この結果から広報活動の改善が急務なことを痛感した。再度、Fig. 5 に変更スケジュールを示すがスケジュールに変更はなく、より一層のご協力をお願いしたい。

5. おわりに

2021年4月にはALPの活性測定法がIFCC法に切り替わることを目標にプロジェクト活動を進めている。折しも新型コロナウイルス感染症が拡大し、今年に入ると2度目の非常事態宣言も発出され、その渦中での変更作業は多大な負担であることは否定できない。

今回の変更は、臨床検査データのグローバルハーモナイゼーションの意義と測定値の臨床的意義を高めるために必要な変更であることをご理解いただきぜひご協力をお願いしたい。さらに国内での測定法が二分化しないよう積極的に変更を進めて頂きたい。国際標準に準拠する方法への変更は、国際治験や海外論文情報の活用が出来ることに加え、研究成果の発信にも期待できると考える。

ALP・LD合同プロジェクトは、「積極的に測定試薬の変更に関する啓発に取り組む」その為に、まずは身の回りの施設からと考える。変更に関する情報はJSCCのホームページ⁶⁾に公開しているので、変更をまだお済みでない施設をご存じでしたら、リーフレットをダウンロード

ードしてアナウンスをお願いしたい。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献/URL

- 1) 日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会：血清アルカリホスファターゼ（ALP）活性測定のJSCC勧告法をIFCC標準測定法にトレーサブルな方法への変更に関する提案, 臨床化学 46:138-145, 2017.
- 2) 日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会. ALP:JSCC法からIFCC法への移行の現状. 臨床病理2020;68(4):305-312.
- 3) 日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会 :JSCC常用基準法改訂に至るまでの経緯, 臨床化学 勧告法総集編, 2020年版 :220-230, 2020.
- 4) International Federation Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) : IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9: reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clin Chem Lab Med 49:1439-1446, 2011.
- 5) Ichihara K, Ceriotti F, Tam TH, et al.: The Asian Project for collaborative derivation of reference intervals:(1)strategy and major results of standardized analytes. Clin Chem Lab Med, 51:1429-1442, 2013.
- 6) 日本臨床化学会ホームページ .<http://jsc.jp.gr.jp/>

LD測定法変更開始後の状況と今後の取り組み

The Future Situations and New Approaches After the Change of LD Measurement by the IFCC Recommended Method

荒木秀夫

血清乳酸脱水素酵素 (LD) に関して2020年4月より日本臨床化学会 (JSCC) 常用基準法が国際臨床化学連合 (IFCC) 基準測定操作法と同条件の測定法に変更され、各医療機関において新たな試薬への変更が行われている。

これまでLDの測定は国内の99%以上の施設において、JSCC常用基準法にトレーサブルなJSCC標準化対応試薬が使用されてきた。しかし、海外に目を向けるとIFCC基準測定操作法に準じた試薬を用いて測定されており、わが国で使用されているJSCC標準化対応試薬での測定値は国際的な診断・治療のプロトコルや治験において受け入れられない状況になっている。そこで2017年JSCCは、同会酵素・試薬専門委員会に血清LD活性測定法をIFCC法への移行に向けた「血清乳酸脱水素酵素 (LD) のIFCC標準測定法の確認とJSCC法改訂の適否に関する調査」に関するプロジェクトを設立し、JSCCの年次学術集会で経緯と結果を報告した¹⁾。そして、先行してALPのIFCC法への移行を進めていたプロジェクトのパブリックコメントの公募に「LDも同時期に変更すべき」との意見が寄せられ、急速LDに関してもIFCC法への移行準備を進めて変更活動を推進しているところである。

1. 何故変更が必要であるか

血清中の酵素活性測定は、JSCCにおいて1980年代後半から1990年頃にかけて酵素活性測定法の標準として勧告法が作成された²⁾。当時、国際的に酵素活性は30°Cで測定すべきとの考えが主流であったため、JSCC勧告

法は測定温度が30°Cに設定された。しかし、日常的にはほとんど37°Cで測定されていたことからIFCCが酵素活性値の測定温度を37°Cに設定したことに合わせてJSCCでは1994年に勧告法の温度のみを37°CとしてJSCC常用基準法と称することとした³⁾。LDのJSCC常用基準法は緩衝液にジエタノールアミン (DEA), pH 8.8 (30°C) を用いているのに対し⁴⁾、IFCC常用基準法ではN-メチル-D-グルカミン (NMG), pH 9.4 (37°C) が用いられている⁵⁾。JSCC法はアイソザイムのLD5を高感度に測定するよう反応試薬を30°CでpH 8.8に設定、測定は37°CのためpHは若干低下し8.65付近になっている。これによりLD1 < LD5の反応性の傾向がより強くなっている。また、IFCC法試薬はpHを37°Cで9.4に設定し、LD1とLD5の反応性が交差するpH付近になっている。このために反応時のpH差が実質0.75程度あることからJSCC法はIFCC法に対してLD5の反応性がより高くなり、LD5が優れた肝炎患者試料でJSCC法はIFCC法より高値を示す。LDアイソザイムの至適pHがJSCC法とIFCC法で異なることから、試料のアイソザイム組成によってLD活性測定値に乖離が生じるため、両方法間のコミュニティビリティ (相互互換性) には限界があり、すべての試料において互換性を得るためには、IFCC法試薬へ変更が必須となる。

2. 変更への経緯

近年、グローバルハーモナイゼーション (国際的調和) の必要性が強く求められ、日本独自の測定方法では国際的な治験への参加が困難な状況となっている。海外へ多くの治験検体が搬出されており、日本にとって多大な損失が生じている。

先にALP活性測定のJSCC常用基準法がIFCC法へ変更されることとなり、LD活性測定もIFCC法への同時移行が望ましいとの意見が出され、IFCC法が設定され

Hideo ARAKI
日本大学病院 臨床検査部
〒101-8309 東京都千代田区神田駿河台1-6
TEL: 03-3293-1711 (内線3341・WiFiフォン 5806)
FAX: 03-3293-1736
メール: araki.hideo@nihon-u.ac.jp

ている項目に対して、日本独自の方法では国際的な論文に投稿する際に問題となる状況も憂慮されるため、IFCC基準測定操作法を新たなJSCC常用基準法に変更するのが適切と考え、プロジェクトを組織して検討してきた経緯がある。

3. 採用頻度の調査

2020年6月に実施された日本臨床衛生検査技師会精度管理調査においてLDのIFCC法採用数は、全参加施設3,546件中431施設であり、12.2%の施設がIFCC法に変更を実施していた。この時に実施されていたアンケート調査では、「IFCC法への移行（予定）時期はいつですか」の問いに関して「未定」と回答した施設が1,107件、35%と最も多く、2021年3月と回答した施設が571施設18%と2番目に多い回答が得られた。

2020年10月に実施された東京都臨床検査技師会精度管理調査においてLDのIFCC採用数は、全参加施設183施設中41施設であり、22.4%となっており、全国と東京

都の異なる母集団であるが、6月から10月で10%程度IFCC法採用施設が増加しており2021年4月から多くの施設が変更されるものと思われる。

4. IFCC法の導入に向けた検討

当院での患者試料483例を用いてIFCC基準測定操作法試薬（自動化法：PRP法）と4社のIFCC標準化対応試薬との相関性について回帰式を含めTable 1に示し

Table 1 相関性結果一覧

項目	n	r	Y=aX+b		X:mean	Y:mean
			a	b		
LD(PRPs試薬 vs A社) 実検体	483	0.9996	0.999	-3.681	261.3	257.3
LD(PRPs試薬 vs B社) 実検体	483	0.9990	1.000	6.705	261.3	268.1
LD(PRPs試薬 vs C社) 実検体	483	0.9993	1.009	-1.610	261.3	261.9
LD(PRPs試薬 vs D社) 実検体	483	0.9988	1.012	2.281	261.3	266.6

基準測定操作法試薬(自動化法):primary reference procedure(PRP)

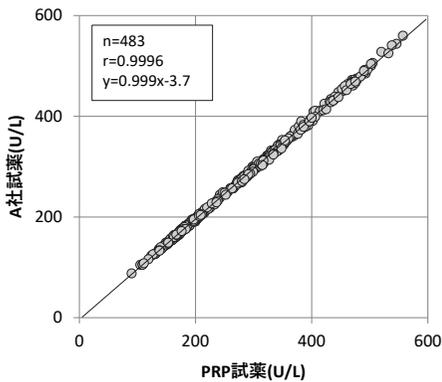


Fig. 1 相関図 (PRP vs A社)

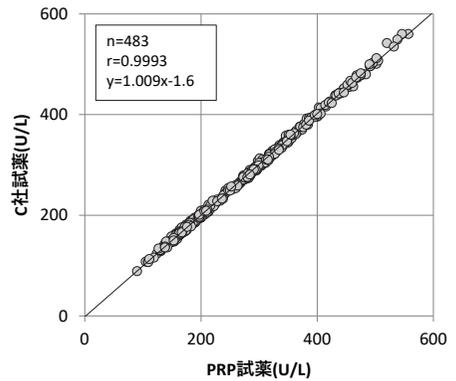


Fig. 3 相関図 (PRP vs C社)

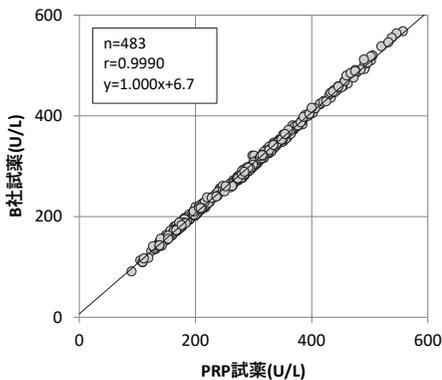


Fig. 2 相関図 (PRP vs B社)

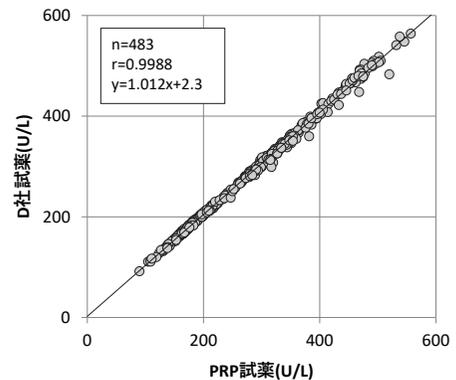


Fig. 4 相関図 (PRP vs D社)

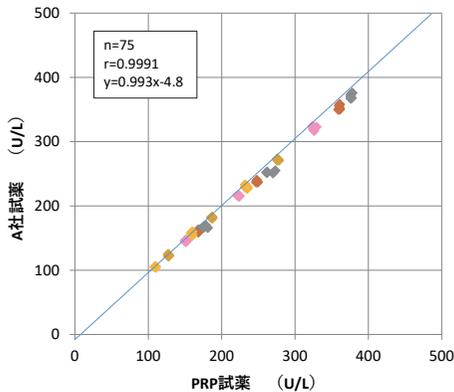


Fig. 5 各アイソザイム分画試料測定結果 (PRP vs A社)

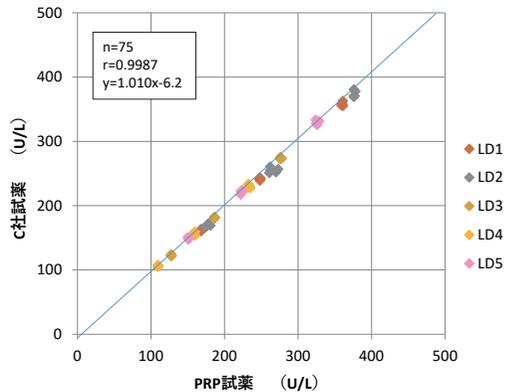


Fig. 7 各アイソザイム分画試料測定結果 (PRP vs C社)

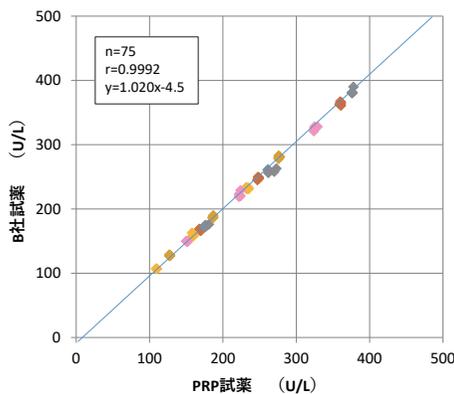


Fig. 6 各アイソザイム分画試料測定結果 (PRP vs B社)

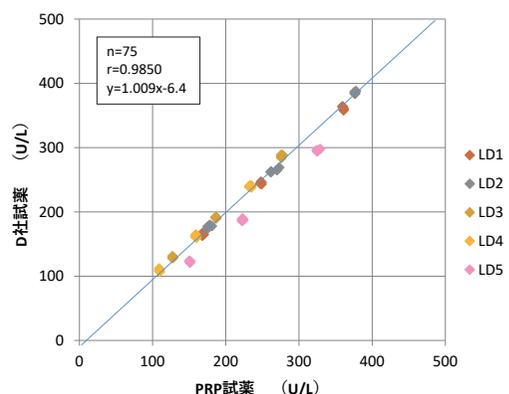


Fig. 8 各アイソザイム分画試料測定結果 (PRP vs D社)

た。また、PRP法とA・B・C・Dの4社のIFCC標準化対応試薬の相関図をFig. 1からFig. 4に示した。良好な相関関係が得られたが、D社試薬において、LD5優位な試料において若干乖離していることが確認された。

LDアイソザイム分画試料をRPR法およびIFCC標準化対応試薬で測定した結果をFig. 5からFig. 8に示した。A社、B社、C社では良好な測定結果が得られたが、D社においてLD5分画試料において乖離が認められた。

5. 基準範囲について

JSCC共用基準範囲は124-222 U/L⁶⁾と提示されており、日本大学病院の健診者の測定値からBMI>28およびALT異常値であった個体を除外し、共用基準範囲内であった236例での相関関係をFig. 9に示した。相関分析による回帰式はJSCC法をx、IFCC法をyとすると、 $y = 0.96x + 6.7$ となり、このときの $Sy \cdot x = 25$ U/Lは生理的変動幅の1/2である8.5 U/Lより明らかに小さ

いため、JSCC共用基準範囲をIFCC法で変更する必要はなく、JSCC法で設定した共用基準範囲をそのまま使用可能との結論に至った。

6. パブリックコメントの集計結果について

2019年8月初旬にIFCC法への変更を円滑に実施するために、JSCCでは会員および関連する医学系学会、職能団体、業界団体にパブリックコメントの意見募集を実施し、その結果をまとめた。基準範囲に関する内容が3件、移行期間・時期に関するものが11件、試薬製造・供給が7件、情報発信・収集が20件で啓発活動とガイドラインの提示が重要事項との意見が寄せられた。肝疾患において測定値の乖離が発生するため、日本消化器病学会からの意見を重要と考えていたが、変更を歓迎するとの内容であり、「①肝疾患でLDが低値となることは、AST・ALTとの差別化が明確になるため、診断学上好ましい。②急性肝不全では、LD高値の場合に悪性リン

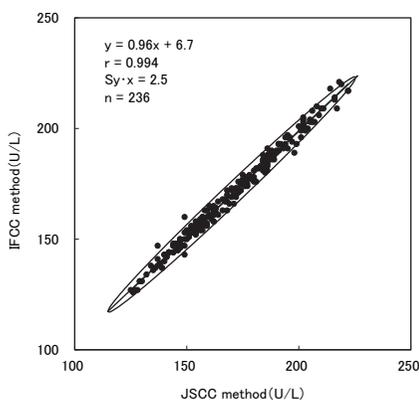


Fig. 9 共用基準範囲内相関図 (JSCC法 vs IFCC法)

パ腫の肝浸潤など特殊な成因を考慮するが、鑑別能がより良好になり、肝臓領域の消化器病専門医として歓迎する。」とのIFCC法への変更に望ましい意見であった。他の寄せられた意見に関しては、日本臨床化学会のホームページに掲載しているので参考にさせていただきたい。

7. 各施設での検討時の注意点

自動分析装置を用いて常用基準法と同一処方で調整されたPRP法試薬で測定を実施する際の取り扱いには、注意が必要である。サンプル・試薬比の関係で測定上限の濃度が600 U/Lまでと直線性が短く、それ以上の濃度では試料の希釈が必要となる。また、保存剤、界面活性剤が添加されていないため、試料と試薬の混和を超音波攪拌で実施している日立自動分析装置「LABOSPECTシリーズ」で測定する場合、新品のプラスチックセルを用いた時にセルに気泡が付着することがあり注意を要する。校正後に生理食塩水（ゼロ濃度）とキャリブレーションの打ち返しの確認が重要となる。また、測定に使用する試料の取り扱いとして、LD5の半減期が短いため時間経過とともに活性値が低下する可能性があり、複数の試薬について検討する場合、測定までに時間差が生じないよう同時測定を実施する必要がある。

今後の課題であるが、全国で多くの施設で変更に向けた検討が実施されることになるため、自施設にて臨床検査技師自ら導入に向けた検討実施が望まれる。

8. ガイドラインとQ&Aの対応について

変更に関するガイドラインおよびQ&Aの要望に応えるため日本臨床化学会のホームページに2020年2月13日付けで「ALP, LDの測定方法の変更に関するご案内」

が表示され、印刷配布可能なPDFファイルとして掲載されているので、ぜひ、内容の確認および有効な活用をお願いしたい。また、厚生労働省から2020年3月17日付けで事務連絡が発出され、その内容に関して資料とともに掲載されているため参考にさせていただきたい。

9. 結語

2020年4月1日より準備が整った施設から変更が開始されている。今まで日本独自の方法を採用しているため、各医療施設において受諾した治験では検体を海外へ送付しているため、その効率化と費用の持ち出しは、日本にとって大きな損失と考えている。今後、グローバルな視点から世界で共通した測定値の報告が望まれるためIFCC法への変更は、各医療機関で実施していただけると思われる。試薬製造会社においてALPよりLD試薬の製造が遅れた企業もあったが、ほぼ供給体制が整った状況となっている。日常の測定法の変更について臨床の現場が混乱しないよう関連団体との意見交換を行い、啓発活動を継続していきたいと考えている。わが国全体での取り組みが重要であるため各施設の協力を願う次第である。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) 荒木秀夫：「プロジェクト報告」血清乳酸脱水素酵素 (LD) 活性測定のJSCC勧告法の変更に向けた活動 (第一報). 臨床化学, 47 (Suppl): 156, 2018.
- 2) 日本臨床化学会：ヒト血清中酵素活性測定の勧告法 - 乳酸デヒドロゲナーゼ (LD) -, 臨床化学, 19, 228-236.1990.
- 3) 日本臨床化学会：血清中の酵素活性測定標準化の推進に関する指針 指針 I 日本臨床化学会常用基準法 (JSCC常用基準法), 臨床化学, 23:335-340, 1994.
- 4) 日本臨床化学会酵素専門委員会：ヒト血清中酵素活性測定の常用基準法 - 乳酸デヒドロゲナーゼ (LD) -, 臨床化学, 32, 81-85.2003.
- 5) International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) - IFCC Scientific Division: IFCC reference procedures for measurement of the catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice, Clin Chem Lab Med, 48(5):615-621, 2010.
- 6) 公益社団法人日本臨床検査標準協議会：「共用基準範囲とその利用の手引き」(承認文書)公開, https://www.jccls.org/wp-content/uploads/2020/11/public_20190222.pdf

ALP・LD測定法変更に伴うアイソザイム検査の対応

Isozyme Test Corresponding to Change of ALP・LD Activity Measurement Method

星野 忠

はじめに

日本臨床化学会 (Japan Society of Clinical Chemistry: JSCC) の酵素・試薬専門委員会の ALP (alkaline phosphatase) ・LD (lactate dehydrogenase) プロジェクトでは ALP および LD 活性測定法を従来の JSCC 法から国際化学連合 (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: IFCC) の IFCC 法に変更することを決定した。ALP 活性値は従来の JSCC 法試薬に比べて IFCC 法試薬では ALP 活性が約 1/3 と低値になることから基準範囲も変更されたが、LD 活性値については従来の基準範囲からの変更はない¹⁾。ALP 活性測定 of IFCC 法試薬では胎盤型 ALP は高値に、小腸型 ALP は低値となることから IFCC 法に対応した新規の ALP アイソザイム測定試薬の開発が必要となった。一方、LD 活性測定試薬については従来試薬に比べて LD1 は僅かに高値、LD5 は低値となるが現状は変更しないということで測定されている¹⁾。

1. ALP アイソザイム検査

1) IFCC 法に対応した ALP アイソザイム測定試薬

2011 年に IFCC から 2-amino-2-methyl-1-propanol (AMP) バッファの濃度を従来の 350 mmol/L から 750 mmol/L に変更されたドキュメントが提示された²⁾。JSCC では酵素・試薬専門委員会の ALP プロジェクトにおいて議

論を重ねたところ、現在の JSCC 法から改定された IFCC 法に変更するという結論に至った。一方、ALP 活性測定が IFCC 法に変更された場合、ALP アイソザイム活性の反応性を IFCC 法に適合させる必要があるために新規の ALP アイソザイム活性染色試薬 (新規試薬) を開発することになった。新規試薬を開発するにあたり、ヒト臓器由来の肝 (liver: L)、骨 (bone: B)、胎盤 (placenta: P)、小腸 (intestine: I) の各 ALP アイソザイムを米国の Calzayme Laboratories Inc. から購入した。そして、4 つの臓器由来の ALP 活性を測定するにあたり、IFCC 法と JSCC 法の処方試薬を作製し、キャリブレーションには JSCC 常用酵素 CRM-001d を使用して日立 7180 形自動分析装置 (日立ハイテクノロジース) で測定した。なお、各 ALP アイソザイム活性値を IFCC 法で約 150 U/L になるように調整した。

ALP アイソザイム活性染色試薬については、1990 年代に我々が行った検討結果³⁻⁴⁾ から 3 つの基質と 3 つの基質溶解液を組み合わせた 9 種類の ALP 活性染色試薬を作製した。基質 A は 5-bromo-3-indolylphosphate-*p*-toluidine salt、基質 B は 5-bromo-4-chloro-3-indolylphosphate-*p*-toluidine salt、基質 C は 3-indoxyl phosphate disodium salt を選択した。一方、基質溶解液であるバッファとして、溶解液 I は AMP、溶解液 II は 2-amino-2-methyl-1, 3-propanediol、溶解液 III は diethanolamine を用いた。臓器由来の各 ALP アイソザイムを等量混合した 6 試料として L+B、L+P、L+I、B+P、B+I、P+I を作製し、ALP アイソザイム電気泳動はヘレナ研究所の全自動電気泳動装置エパライザ 2 を用いて分析した。その結果、等量混合した 6 試料で 2 つの ALP アイソザイムバンドが明確に分離可能であったのはレーン 6 の L+P、レーン 7 の L+I、レーン 9 の B+I の 3 試料であった (図 1)。また、IFCC 法試薬と JSCC 法試薬を用いて各 ALP アイソザイムの活性値を測定したが、IFCC 法では骨が 155 U/L、肝、胎盤、小腸はいずれも 151 U/

Tadashi HOSHINO

東邦大学 理学部 臨床検査技師課程

〒274-8510 千葉県船橋市三山 2-2-1

Clinical Laboratory Program, Faculty of Science, Toho University, 2-2-1, Miyama, Funabashi-shi, Chiba 274-8510

Corresponding author : 星野 忠

TEL : 03-3969-8433 FAX : 03-3969-8433

E-mail : t-hoshino.1221@y2.dion.ne.jp

Lとはほぼ同じ値に調整されていた。一方、JSCC法では肝が426 U/L、骨は442 U/L、胎盤は291 U/L、小腸は657 U/Lであった。なお、ALP活性値比は肝を1.00として計算するとIFCC法の活性値比は骨が1.03、肝、胎盤、小腸は1.00であったが、JSCC法の活性値比は骨が1.04、胎盤は0.68、小腸は1.54であった。

2) 9種類のALPアイソザイム活性染色試薬を用いた各ALPアイソザイムの反応性

9種類のALPアイソザイム活性染色試薬を用いた時の各ALPアイソザイムの反応性の結果を表1に示した。基質A染色試薬を用いた時のALP活性分画比はA-I試薬がIFCC法とほぼ同じ反応性を示す試薬であった。基質B染色試薬を用いた時のALP活性分画比はB-I試薬の小腸が1.15と少し高値であったがIFCC法と近似した

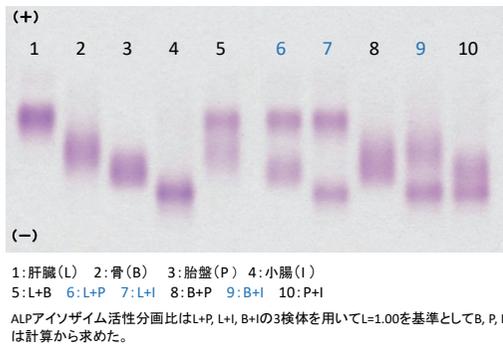


図1 ALPアイソザイム電気泳動パターン

表1 9種類のALPアイソザイム活性染色試薬の各ALPアイソザイムの反応性

	肝(L)型ALP	骨(B)型ALP	胎盤(P)型ALP	小腸(I)型ALP
IFCC法 ★	1.00	1.03	1.00	1.00
JSCC法 ★	1.00	1.04	0.68	1.54
A-I 試薬 ★	1.00	0.98	0.92	1.04
A-II 試薬	1.00	1.13	0.83	1.39
A-III 試薬	1.00	1.09	0.72	1.22
B-I 試薬	1.00	0.98	0.93	1.15
B-II 試薬	1.00	1.03	1.04	1.53
B-III 試薬	1.00	0.96	0.94	1.39
C-I 試薬	1.00	0.97	0.93	1.20
C-II 試薬 ★	1.00	1.04	0.73	1.52
C-III 試薬	1.00	0.98	1.08	1.34

Lを1.00としてB, P, Iの比を計算から求めた

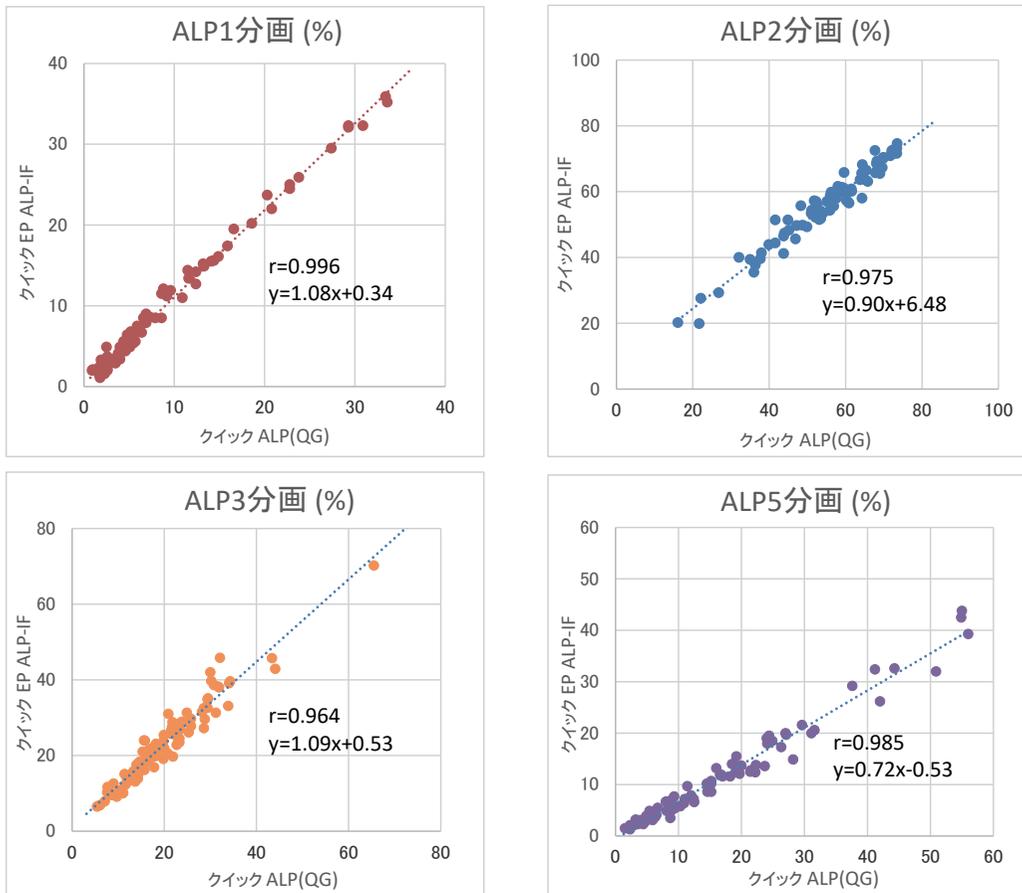
反応性を示す試薬であった。基質C染色試薬を用いた時のALP活性分画比はC-II試薬がJSCC法とほぼ同じ反応性を示す試薬であった。なお、C-II試薬は現在のALP活性染色試薬と同じ処方である。従って、IFCC法と最も反応性が近似した試薬はA-I試薬（新規試薬）、JSCC法はC-II試薬（現行試薬）という結果であった⁵⁾。

3) ALPアイソザイム測定の現行試薬と新規試薬との相関

86例の患者血清検体を用いて現行試薬と新規試薬のALPアイソザイム分画の相関を示した（図2）。ALP1分画の相関係数（r）は0.996、回帰式は $y=1.08x+0.34$ 、ALP2分画は $r=0.975$ 、 $y=0.90x+6.48$ 、ALP3分画は $r=0.964$ 、 $y=1.09x+0.53$ 、ALP5分画は $r=0.985$ 、 $y=0.72x-0.53$ とALP5分画は現行試薬に比べて約30%低値になることがわかった⁶⁾。

4) 新規試薬を用いたALPアイソザイム分画の基準範囲

新規試薬と同一処方のクイックEP ALP-IF試薬の添付文書には、集団検診者216名から求めたALPアイソザイム分画の基準範囲がALP1分画は0.0%~5.3%、ALP2分画は36.6%~69.2%、ALP3分画は25.2%~54.2%、ALP5分画は0.0%~18.1%と記載されていた⁷⁾。また、ピー・エム・エル総合研究所の職員健診者348名から求めた成績は、ALP1分画は0.1%~4.7%、ALP2分画は32.6%~73.1%、ALP3分画は23.1%~63.0%、ALP5分画は0.2%~17.6%と報告されており⁸⁾、母集団の違いがあっても近似した基準範囲を示していた。



文献6)を引用し一部改訂

図2 ALPアイソザイム分画の相関性

5) まとめ

JSCCの酵素・試薬専門委員会のALPプロジェクトではALP活性測定をJSCC法からIFCC法に変更する活動を継続中であるが、ALPアイソザイム測定についてはIFCC法に対応したクイックEP ALP-IF試薬（ヘレナ研究所）が2020年7月に上市された。国内のALPアイソザイム検査の90%程度を測定している検査センターでは、ビー・エム・エルが2020年9月1日から新規試薬と現行試薬を用いた測定の受託を開始したが、その他の検査センターでは2021年4月1日から新規試薬に変更するとのことである。

2. LDアイソザイム検査

1) ヒト臓器由来酵素標品を用いたLD活性測定とLDアイソザイムの反応性

LD1はJSCC常用酵素CRM-001dをLD5はヒト肝臓由来の酵素標品（Meridian Life Science, Inc）を用いて、IFCC法とJSCC法で測定したLD活性値と電気泳動法からLDアイソザイム分画値を求めた。LD1の活性値はJSCC法で406 U/L、IFCC法は425 U/L、IFCC/JSCC活性値比は1.05であった。一方、LD5の活性値はJSCC法で328 U/L、IFCC法は212 U/L、IFCC/JSCC活性値比は0.65であった。LD1試料とLD5試料を9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9の割合で混合した試料を作製し、JSCC法とIFCC法のLD活性値と電気泳動法によるLDアイソザイム分画値を表2に示

表2 LD1 (CRM 001d) とLD5 (Human Liver) を用いた混合試験

LD1/LD5	10/0	9/1	8/2	7/3	6/4	5/5	4/6	3/7	2/8	1/9	0/10
Wako LD・J											
LD U/L	406	401	390	383	376	369	359	353	344	336	328
LD1 U/L	406	365	325	284	244	203	162	122	81	41	0
LD5 U/L	0	33	66	98	131	164	197	230	262	295	328
LD1 %	100.0	91.7	83.1	74.3	65.1	55.3	45.1	34.7	23.6	12.2	0.0
LD5 %	0.0	8.3	16.9	25.7	34.9	44.7	54.9	65.3	76.4	87.8	100.0
Wako LD・IF											
LD U/L	425	407	383	365	344	323	298	277	255	233	212
LD1 U/L	425	382	340	298	255	213	170	128	85	43	0
LD5 U/L	0	21	42	64	85	106	127	148	170	191	212
LD1 %	100.0	94.8	89.0	82.3	75.0	66.8	57.2	46.4	33.3	18.4	0.0
LD5 %	0.0	5.2	11.0	17.7	25.0	33.2	42.8	53.6	66.7	81.6	100.0
Helena EP											
LD1 %	100.0	92.4	84.2	76.7	68.6	61.6	49.7	38.9	28.0	18.0	0.0
LD5 %	0.0	7.6	15.8	23.3	31.4	38.4	50.3	61.1	72.0	82.0	100.0

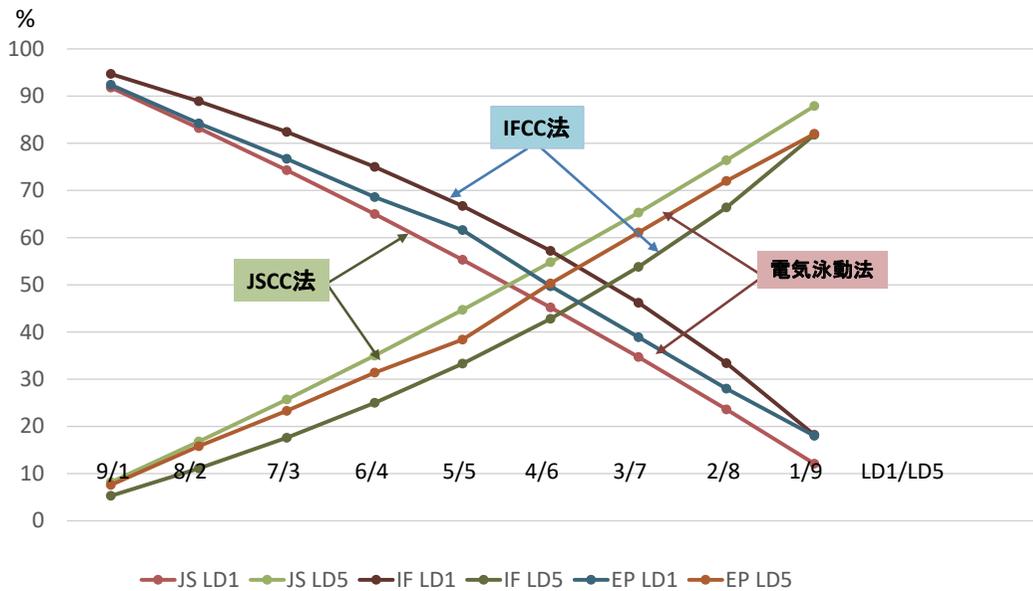


図3 LD1 (CRM 001d) とLD5 (Human Liver) を用いた混合試験

した。図3は表2のデータをもとに作成したものであるが、LD1分画%は左から右方向に数値が下降する線で、LD5分画%は数値が上昇する線で示している。その結果、電気泳動法はJSCC法とIFCC法の間付近にラインが認められたことから、LD活性測定をJSCC法からIFCC法に変更しても現行のLDアイソザイム活性染色試薬を用いて分画値を測定することで問題が生じる可能性は低いと考えられた。

2) 血清検体を用いたLD活性測定とLDアイソザイムの反応性

患者血清検体を用いて電気泳動法で分析したLDアイソザイム分画値からHサブユニットとMサブユニットを計算から求めた。Hサブユニットが70%以上の11検体のLD活性値についてX軸をLタイプワコーLD・J試薬、Y軸をLタイプワコーLD・IF試薬とした相関の回帰式の傾きは1.00で、LDアイソザイム分画はLD1、2分画優位なパターンであった(図4-A)。Hサブユニットが60%以上から70%未満の62検体の回帰式の傾きは0.99で、LDアイソザイム分画はほぼ健常者のパターンであった(図4-B)。Hサブユニットが50%以上から60%未満の26検体の回帰式の傾きは0.95で、LD2、3、4分画優位なパターンであった(図4-C)。Hサブユニットが40%以上から50%未満の5検体の回帰式の傾きは0.88

で、LD4、5分画優位なパターンであった(図4-D)。Hサブユニットが40%未満の8検体の回帰式の傾きは0.78で、LD5分画が40%以上のパターンであった(図4-E)。

3) ヒト臓器試料と血清検体のLDアイソザイムの反応性

ヒト臓器試料と血清検体のLDアイソザイムの反応性を比較した成績を示した(表3)。ヒト臓器試料のLDアイソザイムの反応性は富士フィルム和光純薬のLタイプワコーLD・IF試薬パンフレットのデータと表2に示した我々のデータをIFCC/JSCC活性値比で比べるとLD1は1.05と一致していたが、LD2の差は0.03、LD3は0.09、LD4は0.05、LD5は0.10と少し異なる成績であった。一方、ヒト臓器由来のLD2、3、4と電気泳動法で分析してHサブユニット含量を計算し、LD2、3、4に相当する血清検体のIFCC/JSCC活性値比を比較すると両者は近似した成績を示していた。

4) まとめ

現在、LDアイソザイム検査は現行試薬を用いて測定されている。LD活性測定のJSCC法とIFCC法のLDアイソザイムの反応性は入手したヒト臓器由来のLDアイソザイムにメーカー差を認めた。しかし、ヒト臓器試料と血清検体のLDアイソザイムの反応性を比較した検討成績からは、現時点においてLDアイソザイム検査の新

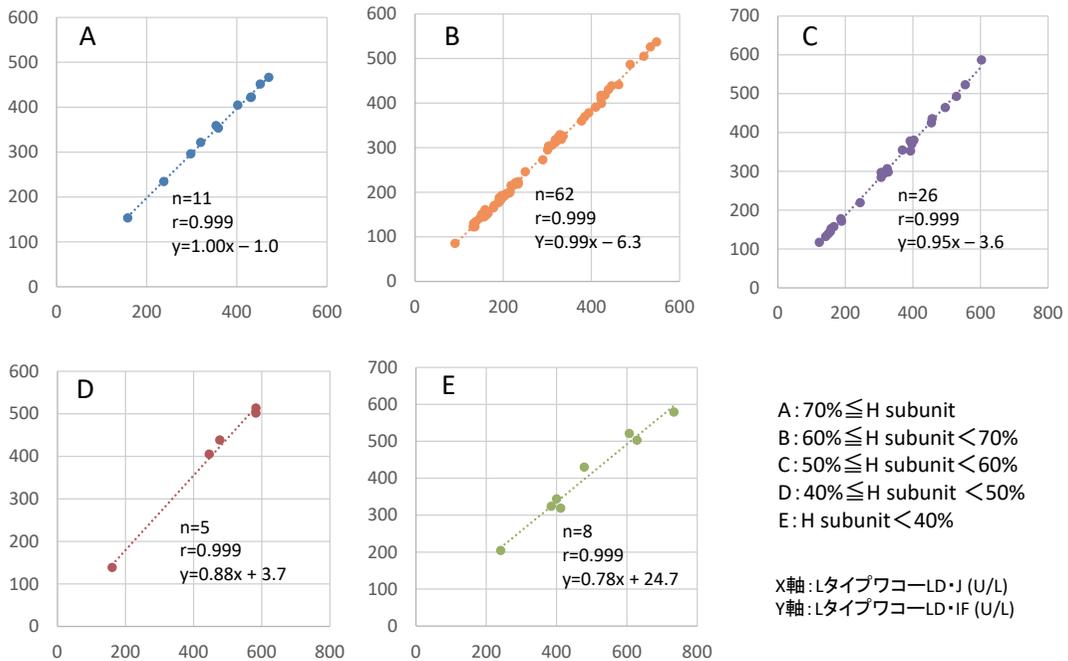


図4 LDアイソザイム (H subunit) 含量別のJSCC法とIFCC法のLD活性値の相関性

表3 ヒト臓器試料と血清検体のLDアイソザイムの反応性比較

LD isozyme	H subunit (%)	IF/JS比*1	IF/JS比*2	IF/JS比*3
LD1	100	1.05	1.05	—
LD2	75	1.00	0.97	1.01
LD3	50	0.97	0.88	0.93
LD4	25	0.81	0.76	0.80
LD5	0	0.75	0.65	—

*1: タイプワコーLD・IF試薬パンフレット(富士フィルム和光純薬)を改訂使用

*2: 表2のデータを使用

*3: 図4の患者血清検体のLDアイソザイム分画データを使用

規試薬を開発する必要性は低いと考えられた。また、LDアイソザイム検査は分画パターン形状変化が臨床評価に用いられていることから現行試薬を使用することに問題はないと考えられた。

結論

ALPアイソザイム試薬については、ALP活性測定はJSCC法に比べてIFCC法では胎盤型ALPは高値に、小腸型ALPは低値と大きく異なっていたことからALPアイソザイムの反応性がIFCC法に適合した電気泳動用のALPアイソザイム活性染色試薬を新たに開発する必要がある。そこで我々は新規試薬としてクイックEP ALP-IFを2020年7月に上市することができた。LDアイソザイム試薬については、LDアイソザイムの反応性に関する検討成績からLDアイソザイム電気泳動法がLD活性測定はJSCC法とIFCC法の間付近に位置していた点とLDアイソザイム検査は分画パターン形状変化が臨床評価に用いられていることから現行試薬を用いて測定することに問題はないと考えられた。

謝辞：本研究に関してご協力いただきました飛山理絵氏・宮下真一氏（株式会社ヘレナ研究所）、高橋美記子氏・町田邦光氏（株式会社ビー・エム・エル総合研究所）、中尾友作氏（株式会社シノテスト）、山崎浩和先生（山梨大学医学部附属病院検査部）、荒木秀夫先生（日本大学病院臨床検査部）、山館周恒先生（人間総合科学大学人間科学部）に深謝いたします。

本論文の発表に関して開示すべきCOI関係にある企業は株式会社シノテストがあります。

文献

- 1) 日本臨床化学会. ALP・LD測定法変更について—医療従事者向け—（オンライン）<http://jscc-jp.gr.jp/file/2019/alpld2.pdf>
- 2) Schumann G, Klauke R, Canalias F et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentration of enzymes at 37°C. Part 9: reference procedures for the measurement of catalytic activity concentration of alkaline phosphatase. *Cline Chem Lab Med* 2011;49:1439-1446.
- 3) 星野忠, 菰田一二, 熊坂一成ほか. 3種のALPアイソザイム検出法に基づくALPアイソザイム分画比の変動について—ALP活性測定法と誤った組み合わせはないのか. *臨床検査* 1993;37:1041-1044.
- 4) 星野忠, 熊坂一成, 河野均也. ALPアイソザイム染色法の問題点. *生物物理化学* 1994;37:139-142.
- 5) 星野忠, 飛山理絵, 宮下真一ほか. IFCC法に対応した新規ALPアイソザイム活性染色試薬の開発. *臨床化学* 2019;48 (Suppl 1):252.
- 6) 山崎浩和, 山館周恒, 星野忠ほか. ALP: JSCC法からIFCC法への移行の現状. *臨床病理* 2020;68:305-312.
- 7) クイックEP ALP-IF試薬添付文書 第1版. 2020年6月（株式会社ヘレナ研究所）.
- 8) 高橋美記子, 三田村貴史, 町田邦光ほか. IFCC法に対応した新規ALPアイソザイム活性染色試薬（クイックEP ALP-IF）に関する検討. *医療検査と自動化* 2021;46:53-58.

心電図における検体検査データの活かし方

Data Utilization in Clinical Inspection of a Specimen When an Abnormal Change is detected on an Electrocardiogram

本間 博

The change in electrocardiogram and the clinical inspection of a specimen are not always in one - to - one correspondence. Both may be in a complementary correlation in clinical area.

In order to make a differential diagnosis and treat as soon as possible, it is important to take medical examination by interview and physical findings and also obtain data whose accuracy and precision are both high. The quality management work of electrocardiogram and the clinical inspection of a specimen including point of care testing should be further progressed.

Key words Electrocardiogram, Clinical inspection of a specimen, Point of care testing.

患者の症候をもとに生理機能検査と検体検査を正しく選び、相補的に行うことの意義は、言うまでもなくそれぞれの検査が正確な情報を出すことにより結果として医師の鑑別診断、治療が迅速に行われるようになることである。検査の技術的な進歩により精度管理は定期的な見直しが必要で、両者の精度管理がうまく行われて初めて相補的な役割をはたすことができる。これを踏まえて今回のテーマをいくつかの事例を挙げて考えたい。

(1) たこつぼ症候群の診断と検体検査

筆者が経験した症例の心電図を Fig. 1, 検体検査データを Table 1 に示す。呼吸困難をきたして入院した時の心電図は、四肢誘導で低電位、I, aVL, V₂₋₆軽度上に凸のST上昇傾向、V₃₋₆軽度陰性T波、V₁₋₄でr波の減高があり鑑別診断を要するものであった。胸部レ線では両側胸水貯留、心エコーでは心尖部akinesis、心基部はhyperkinesisであった。救急の場では、非ST上昇型急性冠症候群を除外する必要がありCK、高感度心筋トロポニンTを測定しそれぞれ36U/L, 28 pg/mLであった。1時間後の再検査でも両者の値は上昇していなかったた

め、たこつぼ症候群と診断し胸水のコントロールを含めて保存的療法を開始した。第7病日には心尖部の壁運動異常は正常へ回復したが、QTcは577msecと延長しNT-pro-BNPは4375 pg/mLと高値を示した。QTc, NT-pro-BNPが元に戻るのに約170日を要したが、致死的不整脈は出現しなかった。心電計、検体検査機器は同一のものを使用していればそれぞれを時系列で比較が可能である。日本循環器学会の急性冠症候群ガイドライン2018年度版では、非ST上昇型心筋梗塞を診断あるいは除外するフローチャートが示されており、問診、身体所見、心電図リスク評価は重要であるが、高感度トロポニンTあるいはIは診断に欠かせない検査項目である。施設によっては救急医療でPoint Of Care Testing (以下、POCT) が使われており、海外では第5世代の高感度トロポニンアッセイが出現して非ST上昇型心筋梗塞疑いの患者を層別化する新たなアルゴリズムが発表されている¹⁾。

(2) 心電図と電解質

電解質異常と心電図変化との相関は昔から有名である。筆者の関係している施設の電解質基準値は、血中ナトリウム 138~145 mmol/L, 血中クロール 101~108mmol/L, 血中カリウム 3.6~4.8mmol/L, 血中カルシウム 8.8~10.1mg/dLであるが、高カリウム血症(例えば7.2mEq/L)のときにはP波の消失、接合部補充調律、テント状T波、低カリウム血症(例えば1.9mEq/L)

Hiroshi HOMMA

文化学園 健康管理センター

〒151-8521 東京都渋谷区代々木3-22-1

Center for health service, Bunka Gakuen,

3-22-1, Yoyogi, Shibuya-ku, Tokyo 151-8521, Japan.

E-mail : bun021964@bunka.ac.jp

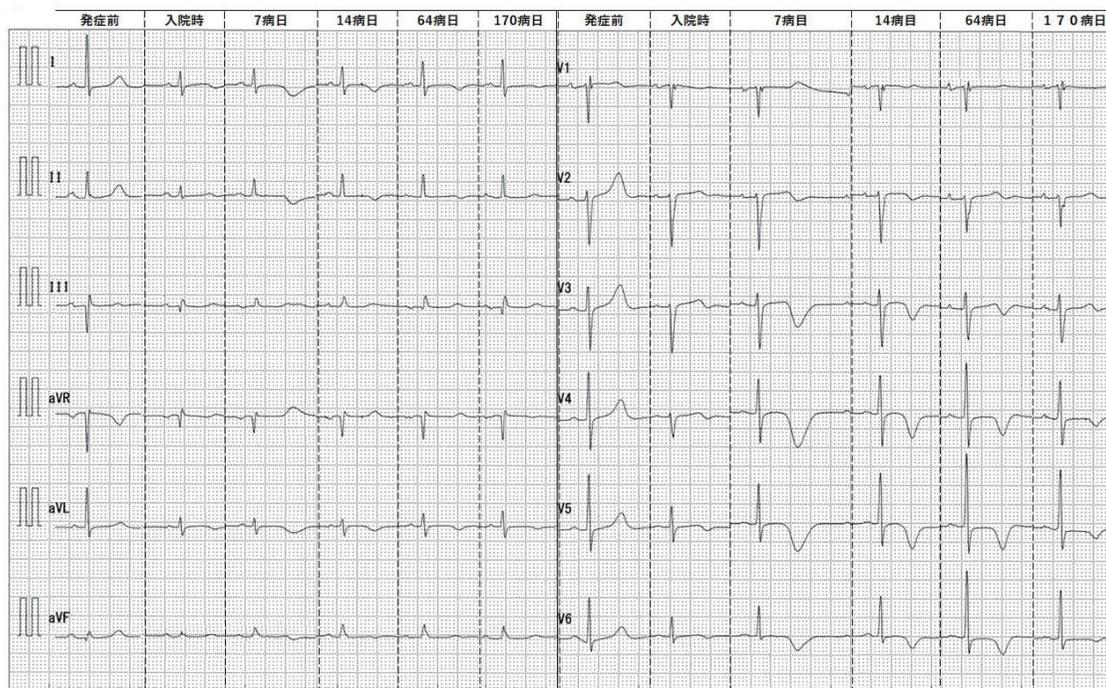


Fig. 1 Changes in electrocardiogram arranged according to the timeline

Table 1 The time - course of laboratory data are shown

項目 / 時系列	発症前	入院時	7病日	14病日	64病日	170病日
HR/min	58	75	59	76	57	57
QT/QTc (msec)	450/445	430/481	578/577	446/504	494/484	442/433
CK (U/L)	78	36	29	52	81	39
Tn-T (pg/mL)	ND	28	ND	23	ND	ND
NT-proBNP (pg/mL)	ND	ND	4375	7033	875	166
Cr (mg/dL)	0.68	0.62	0.59	0.59	0.68	0.66
Na (mmol/L)	134	137	138	138	144	143
K (mmol/L)	4.1	4.2	4.6	4.3	4.1	4.2
CL (mmol/L)	97	99	98	100	106	105
Ca (mg/dL)	9.2	8.6	ND	ND	9.1	8.9

ND: not done

Tn - T:高感度トロポニンT

Table 2

A. Electrocardiographic abnormal findings followed by some detailed examinations	B. Heart disease that causes sudden death
すみやかに精密検診を考慮する心電図所見	突然死を起こす心疾患
QSパターン	心筋症
右室・左室肥大	先天性心疾患
高度ST低下、左胸部誘導陰性T波	QT延長症候群
洞房ブロック、高度徐脈、2度、3度ブロック	心筋炎
多形性、2連発以上、R on T心室期外収縮	左室心筋緻密化障害
心室頻拍	特発性心室細動
心房細動、心房粗動、上室頻拍	カテコラミン誘発多形性心室頻拍
QT延長	Brugada症候群
Brugada型心電図	

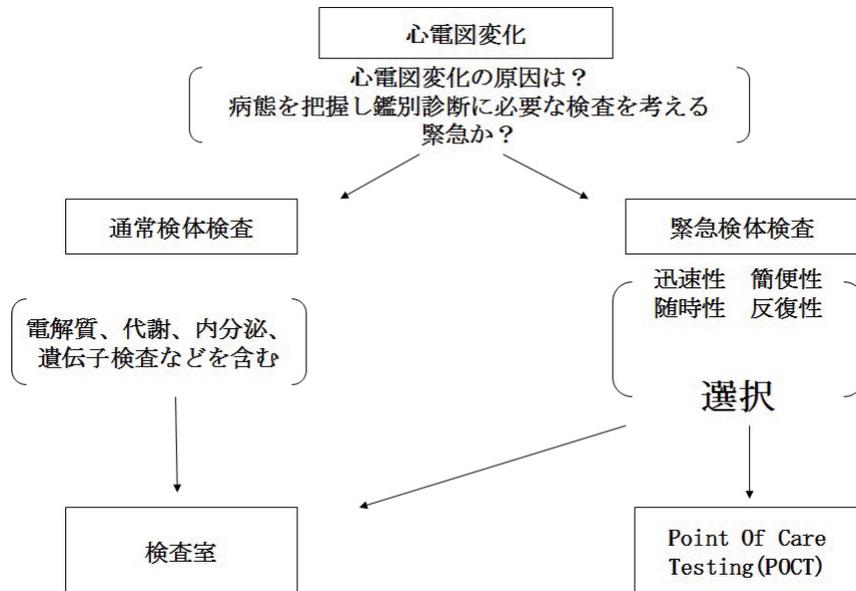


Fig. 2 A scheme to select either the clinical laboratory or point of care testing according to urgency

L) ではU波の増高，U波とT波の融合，ST下降がみられる。高カルシウム血症（例えば15.1mg/dL）ではQTc 370msecと短縮，低カルシウム血症（例えば5.3mg/dL）ではQTc 480 msecと延長する。また，電解質の複合異常や心房細動の心電図はむしろ非特異的な変化を示すという。しかし，テキストに掲載されている典型的な電解質異常の心電図例ではほとんどがパニック値である。心電図から電解質異常を鑑別するのは臨床の場でなかなか難しい場合が多い。電解質がパニック値に近いデ

ータであれば，血液ガス分析と同様に治療効果を確認するために複数回検査する必要がある，致死的不整脈の有無を心電図モニターしながらPOCTを活用することは有用である²⁾。

(3) 学校検診（小学校から高校）における心電図

学校保健安全法で1995年，小学校，中学校，高校の各1年生に心電図収録が義務づけられた。日本小児循環器学会「学校心臓検診 2次検診対象者抽出のガイドライン—1次検診の心電図所見から—」が1997年に完成

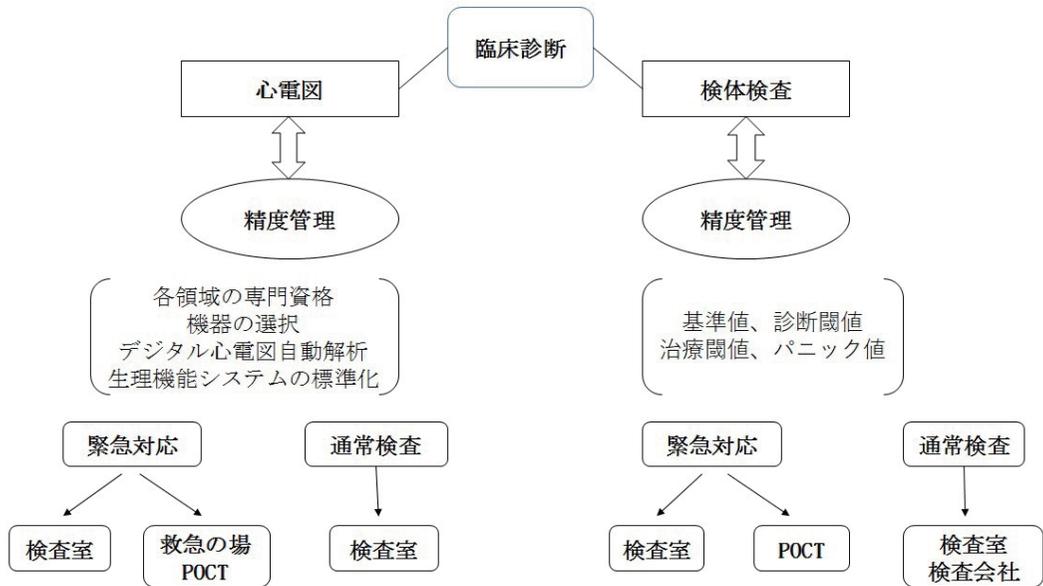


Fig. 3 The quality management work is a foundation of all tests.

して2006年、2019年と改定されてきている。また、2016年には循環器病ガイドラインシリーズの1つとして日本循環器学会/日本小児循環器学会合で学校心臓検診のガイドラインが出された³⁾。目標は「疾患を正しく診断して適切な管理指導を行って疾病の悪化を防ぎさらには突然死を防止すること」である。小児の場合、記録時フィルターを使用してあったりすることが多い。QT延長の場合は年齢とともに基準が変わるので、記録後接線法で計測しなおすことが推奨されている。心電図自動解析ではこの接線法の結果より約20msec長いと言われている。Table 2に1次検診で速やかに精密検診を考慮する心電図所見と小児期の心停止の原因疾患を挙げた。2次検診で行われる検査として、遺伝子検査を含む検体検査、運動負荷心電図、心エコー検査、ホルター心電図、携帯型イベント心電図などがある。検診で心電図異常がみられるのは(2016~2019年)、小学生で2.4%、中学校で約3.3%、高校で約3.3%とほぼ一定の頻度であるが、学校管理下での突然死(心臓系・大血管など)は2018年調査ではそれぞれ6名、7名、10名とかなり減ってきている⁴⁾。これは児童、生徒の生活や運動が学校生活管理指導表のもと正しく管理されるようになってきたこと、遺伝子検査など検体検査法が進歩して診断が確実になったこと、埋め込み式除細動器や自動体外式除細動器(AED)による治療効果が得られてきたことに起因す

ると分析されている。

心電図における検体検査の活かし方

心電図を判読する際、「波形変化の裏を読み」とよく言われた。十分時間をかければ何か研究の糸口が見つかるかもしれないが、臨床の場ではそんな悠長なことはしてられない場面も多々ある。問診、身体所見、心電図リスク評価を合わせ考えて病態を把握し、さらに鑑別診断を行うために検体検査など他の検査を行うプランを立てる(Fig. 2)。心電図変化が特異的でメカニズムが解明されていればその裏付けとして検体検査をする場合があるが、全体からすれば遥かに少ない。鑑別のためにある程度広く検査項目を選んでしまう傾向があるが、通常の場合と緊急の場合とで項目の選び方は当然異なる。検体検査は通常検査あるいは緊急検査を検査室へ依頼することができるし、緊急である検査項目だけを繰り返して検査する場合、POCTを使うことができる。POCTは簡便であり、迅速にできるし休日でも反復して検査が可能であるのでその長所を活かしたい。

心電図と検体検査とは異なる領域ではあるが、それぞれ精度管理については一定の基準以上を保つように要求される。とはいえ心電図のほうは、検査する者の専門資格、機種を選択、デジタル心電図自動解析、生理機能システムの標準化など課題が多いように思われる(Fig. 3)。古川

(2020)は、生理機能検査の精度管理方法を考えたときに一般論として安全管理上の配慮、生体の生理的変動、環境条件、検査機器、付属品の特性と保守調整、情報抽出方法と技術、情報処理方法、検査成績判読上の個人差などの各要因を考慮することが望まれるであろうが、生理機能検査が検体検査と異なりいわゆる「外れ値」をいかに感度よく抽出できるかに注目してきたため精度管理が思うように進んでこなかったという。しかし、そのような心電図を初めとして種々の生理機能検査もデータの保管・処理方法の継続的進歩がありデジタル化が広まってきたので、自動計測も含めて個別の指標ごとに検体検査と同様な精度管理が可能ではないかと述べている⁵⁾。また、Fig. 2, 3で示したPOCTに関しては、これからの時代に不可欠な手段、システムであり、心電図変化を確認してから治療までの時間を確実に短縮してくれる。信頼性、測定方法、管理、経済性といった点でまだまだ改善していくべき点が指摘されており今後の進歩に期待したい⁶⁾。

まとめ

- 1) 検体検査データの中で一対一に対応して、直接心電図解析に役立つものは少ない。
- 2) 心電図変化と検体検査データとを総合的にとらえて病態を理解し得たとき、臨床上の鑑別診断がなされることが多く、心電図と検体検査データを相補的に捉えるならば、それぞれの精度、限界を知っておく必要がある。
- 3) 心電図検査は今後、全国的にみれば学校検診における心電図、生理機能システムの中の心電図を含めて精度管理の在り方を追求されるべきである。
- 4) 機器や試薬、システムの進歩とともに施設の精度管理もその都度見直される必要がある。POCTのように、緊急の場合心電図変化を見てから治療に取り掛かるまでの時間短縮を図るべきであり、管理職は施設の充実を図って頂きたい。

Disclosure

No potential conflicts of interest were disclosed.

文献

- 1) 石井潤一. 臨床検査 : point of care testing, 心筋マーカー (心筋トロポニンを中心に). 日内会誌 2019;108:2467-2474
- 2) メ谷直人. POCT (Point of Care Testing). 診断と治療 2014;102:23-31
- 3) 日本循環器学会 / 日本小児循環器学会合同ガイドライン 学校心臓検診のガイドライン 2016年版
- 4) 一般財団法人 厚生労働統計協会 国民衛生の動向 Vol 67 No.9 2020 / 2021
- 5) 古川泰司. 自動化学会生理検査委員会委員長の立場から. 臨床病理 2020;68:730-733
- 6) 菊池春人. POCT (point of care testing). 医学の歩み 2017;263:1030-1034

生理学的検査における検体検査データの活かし方

—呼吸機能検査—

Utilization of Laboratory Data in Conducting Physiological Tests -pulmonary Function Tests

東條尚子

呼吸機能検査を行う代表的な疾患である、気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease; COPD)、間質性肺炎を取り上げ、それぞれの呼吸機能検査の特徴と、注目すべきバイオマーカーについて解説する。

1. 気管支喘息

気管支喘息は、「気道の慢性炎症を本態とし、変動性を持った気道狭窄（喘鳴、呼吸困難）や咳などの臨床症状で特徴づけられる疾患」である¹⁾。気管支喘息診断の目安と対応する検査を表1に示す。

1) 気管支喘息の呼吸機能検査

(1)スパイログラム

発作時の気管支喘息は、閉塞性換気障害を呈する。閉塞性換気障害とは、%肺活量 (%VC) $\geq 80\%$ かつ一秒率 (FEV_{1%} = FEV₁/FVC) $< 70\%$ の場合である。

(2)気道可逆性試験

可逆性の気流制限の評価法には、「気道可逆性試験」がある。短時間作用性吸入 β 2刺激剤 (SABA) 吸入前後の一秒量 (FEV₁) を測定して評価する。吸入後のFEV₁が吸入前FEV₁に比べて12%以上かつ200 mL以上増加していれば、「気道可逆性あり」と判定する。治療や自然経過による気流制限の変動は、FEV₁やピークフロー値の変動で評価でき、大きく変動すれば、気道可逆性の存在が示唆される。

(3)気道過敏性試験

「気道過敏性」とは、気道がなんらかの刺激を受けたとき通常よりも過剰な収縮反応を起こすことをいう。メタコリンなどの非特異的な気管支平滑筋収縮物質を低濃度から吸入させ、FEV₁または呼吸抵抗 (Rrs) を測定して吸入前からの変化の程度で過敏性を評価する。

(4)呼気一酸化窒素濃度 (FeNO)

気道炎症の存在を調べる呼吸機能検査として、呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) 測定がある。FeNOは、喀痰好酸球数、気管支生検における好酸球浸潤の程度と関連することから、好酸球性気道炎症の評価法として用いられている。小型装置は操作が簡単なため、広く普及してきている。

2) 気管支喘息のバイオマーカー

(1)喀痰好酸球数

喀痰中の好酸球増多は気道炎症を示唆する。喀痰好酸球の数や比率は、健常者と喘息患者で明らかに異なり、気管支喘息診断における喀痰好酸球比率の基準は3%以上とされる。

(2)血中好酸球数

末梢血好酸球数は気道炎症の指標である。喀痰好酸球比率3%に対応する血中好酸球数は220~320/ μ Lとされているが、血中好酸球数は、喀痰好酸球比率よりも喘息診断における感度、特異度は低い。末梢血好酸球数が300~400/ μ L以上の場合、喘息コントロール不良のリスクが高いと言われている。

気管支喘息の治療薬で、IL-5を標的とした生物学的製剤である抗IL-5モノクローナル抗体 (メボリズマブ) と、抗IL-5受容体 α 鎖抗体 (ベンラリズマブ) の有効性は、好酸球数が多いほど、特に300/ μ Lを超える症例で期待できる。

最近、好酸球数高値とFEV₁/FVCや%一秒量 (%FEV₁) (実測FEV₁/予測FEV₁ $\times 100$) の低下に相関が

Naoko TOJO

東京都教職員互助会三楽病院 臨床検査科
〒101-8326 東京都千代田区神田駿河台2-5
Sanraku Hospital, Clinical Laboratory
2-5, Kandasurugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8326.
Japan
TEL : 03-3292-3981 FAX : 03-3291-6348
E-mail : tojo@sanraku.or.jp

表1 気管支喘息診断の目安と対応する検査

	気管支喘息の目安	検査や所見
1	発作性の呼吸困難、喘鳴、息苦しさ、咳の反復	・呼吸延長 ・呼吸性喘鳴
2	可逆性の気流制限	・気道可逆性試験 可逆性あり ・治療や自然経過による気流制限の変動
3	気道過敏性の亢進	・気道過敏性試験
4	気道炎症の存在	・呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) 上昇 ・喀痰好酸球比率 増加 ・末梢血好酸球数 増加
5	アトピー素因	・総 IgE 増加 ・特異的 IgE 増加
6	他疾患の除外	・胸部 X 線写真 ・胸部 CT (HRCT) など

みられるという報告、好酸球数高値群はFEV₁の低下量が大きいという報告などがあり、好酸球数増多が末梢気道閉塞のリスクファクターになっていることを示唆する報告が多数出ている。

(3)血清総IgE, 特異的IgE

血清総IgEは、アレルギー疾患患者で上昇することが多く、アトピー型の気管支喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、アレルギー性鼻炎や寄生虫疾患で上昇する。特異的IgEは、アレルギーを引き起こす原因物質を特定するための検査で、アトピー型の気管支喘息などでみられ、チリヤダニに対する特異的IgE抗体が存在する頻度が高い。

気管支喘息の治療薬である抗IgEモノクローナル抗体(オマリズマブ)の投与量は、体重及び初回投与前血清総IgEで設定する。ただし、現時点では、オマリズマブの効果予測因子としての、総IgE値、FeNO、血中好酸球数の意義は明確には確立していない。

IL-4及びIL-13シグナル伝達を阻害して2型炎症反応を抑制する抗IL-4受容体 α サブユニット抗体(デュピルマブ)という治療薬は、血中好酸球数、FeNO依存的に効果が見られる。血清総IgEはこれらに比べ濃度依存性は乏しいが、高値例でFEV₁の改善と有意な増悪抑制がみられる。

2. COPD

COPDは、「タバコ煙を主とする有害物質を長期に吸入暴露することなどにより生ずる肺疾患であり、呼吸機能検査で気流閉塞を示す。気流閉塞は末梢気道病変と気腫性病変がさまざまな割合で複合的に関与し起こる。臨床的に

は徐々に進行する労作時の呼吸困難や慢性的咳・痰を示すが、これらの症状に乏しいこともある。」と定義されている²⁾。

1) COPDの呼吸機能検査

COPDの呼吸機能検査の特徴を表2に示す。COPDの診断に際して、気道可逆性の有無や程度は問わない。

(1)スパイログラム・フローボリューム曲線

COPDは、気管支拡張薬吸入後のスパイロメトリで一秒率(FEV₁/FVC)が70%未満であることが診断の必須条件であり、閉塞性換気障害を呈する。%FEV₁で病期分類する。フローボリューム曲線はピークが低く、下降脚が下に凸の特徴的な形をしている。

(2)肺気量分画

肺気量分画では、肺の過膨張所見〔(全肺気量(TLC)、機能的残気量(FRC)、残気量(RV)の増加)、残気率(RV/TLC)の増加を呈し、進行するとVCが低下する。肺拡散能(DL_{CO})は低下する。クロージングボリューム曲線では、換気の不均等分布の増大を認める。

2) COPDの血清バイオマーカー

COPDの治療薬の主要評価はFEV₁で行う。FEV₁は測定が容易で再現性もあるが、COPDのフェノタイプを分類できず、FEV₁では評価できない治療法もある。そこで、COPDにおいてFEV₁に代わるバイオマーカーが求められている。2015年、アメリカの食品医薬品局(FDA)はファイブリノーゲン上昇例がCOPDの急性増悪頻度や死亡率が高く、予後のバイオマーカーになると認定した³⁾。

また、特定の治療に反応する可能性が高い患者を特定するためのマーカーとして、末梢血好酸球数がある。COPD増悪のうち、細菌およびウイルス関連の増悪とは無

表2 COPDの呼吸機能検査の特徴

	測定項目	特徴
1	肺活量	重症になるとVC低下
2	努力肺活量	FEV ₁ /FVC低下 %FEV ₁ 低下 ピークが低く下に凸のFVカーブ
3	機能的残気量	FRC、TLC、RV増加 RV/TLC増加
4	クロージングボリューム	第Ⅲ相の傾き増加（換気不均等分布の増大）
5	肺拡散能	DL _{CO} 低下
6	気道可逆性試験	可逆性の有無や程度は問わない
7	気道抵抗・呼吸抵抗	気道抵抗増加 呼吸抵抗増加
8	静肺コンプライアンス	静肺コンプライアンス増加

表3 間質性肺炎の呼吸機能検査の特徴

	測定項目	特徴
1	肺活量	VC低下
2	努力肺活量	FEV ₁ /FVCは低下しない
3	機能的残気量	FRC、TLC、RV低下
4	肺拡散能	DL _{CO} 低下
5	静肺コンプライアンス	静肺コンプライアンス低下

関係で、血液と気道の好酸球数が上昇するサブグループがあり、COPD増悪の約30%を占める。また、ベースの好酸球数が多い患者ほど吸入ステロイドの悪化予防効果が高い。また、COPDの増悪時、末梢血好酸球数が2%未満の患者は増悪時の治療として全身ステロイドを投与しなくても、ステロイド投与群と臨床経過は変わらない。以上より、末梢血好酸球数が治療の選択につながる指標となる。

3. 間質性肺炎

間質性肺炎には原因が不明のもの、膠原病に伴うものなど、さまざまな種類がある。

1) 間質性肺炎の呼吸機能検査

間質性肺炎の呼吸機能検査の特徴は原因にかかわらず同じで、拘束性換気障害（%VC<80%かつFEV₁≥80%）、拡散障害（DL_{CO}の低下）を呈する（表3）。拡散障害はVCの低下よりも先行して見られることが多い。また、拡散障害があるため労作時に低酸素血症になり易い。

治療効果の判定に用いる呼吸機能検査の指標には、VC、FVC、DL_{CO}、6分間歩行試験の歩行距離、運動時の

SpO₂低下などがある⁴⁾。

2) 特発性肺線維症の血清バイオマーカー

血清学的検査としてKL-6、SP-D、SP-A、LDの上昇がある。日本では広く使用されており、特発性肺線維症の診断基準の主要項目のうちの一つに含まれている。

(1)KL-6

KL-6は、肺ではⅡ型肺胞上皮細胞、気管支腺細胞などに発現しており、間質性肺炎などで肺胞上皮が傷害を受けた場合や再生中に上昇する。KL-6は、特発性肺線維症の診断補助検査として、また、予後予測因子として利用される。ただし、肺腺癌、乳癌やサイトメガロウイルス肺炎などで上昇する場合がある。

(2)SP-D

SP-Dは、主な産生細胞はⅡ型肺胞上皮細胞で、細気管支領域を中心に存在するクララ細胞にも発現している。病的状態では、上皮及び内皮細胞間隙が破壊されSP-Dが血液に漏出すると考えられている。間質性肺炎で高値を示し、診断補助、予後予測因子として有用との報告がある。ただし、SP-Dは喫煙者、心不全患者で上昇する傾向にある。

3) 膠原病に伴う間質性肺炎のバイオマーカー

(1)KL-6

KL-6は、間質性肺炎の合併頻度が高い全身性強皮症においては、胸部高分解能CTや気管支肺胞洗浄液の所見から評価した胞隔炎と関連し、重症度や活動性とも関連があるとの報告がある。多発性筋炎/皮膚筋炎では間質性肺炎合併の予測、治療効果の判定に有用である。関節リウマチでは、KL-6の値は活動性のある間質性肺炎と関連し、予後因子としても有用である。

(2)SP-D

SP-Dは、全身性強皮症、多発性筋炎/皮膚筋炎、無筋症性皮膚筋炎の治療効果や予後判定などに有用である。

(3)自己抗体など

間質性肺炎の合併頻度が高い特異的自己抗体としては、多発性筋炎/皮膚筋炎では抗MDA5抗体・抗ARS抗体、全身性強皮症ではscl-70抗体、関節リウマチではRF高値・抗CCP抗体高値がある。膠原病の経過中に血管炎の疾患関連自己抗体であるMPO-ANCA陽性が見られる場合は、間質性肺炎合併の指標として重要である。その他、多発性筋炎/皮膚筋炎に合併する間質性肺炎で血清フェリチン高値は予後不良との報告がある。

4) サルコイドーシスの血清バイオマーカー

(1)アンギオテンシン変換酵素 (ACE)

最もよく知られているのはマクロファージ由来のアンギオテンシン変換酵素(以下ACE)で、アンギオテンシンIをアンギオテンシンIIに変換する酸性糖蛋白で、サルコイドーシスで頻りに測定される。サルコイドーシス患者の30~80%でACEが上昇し、感度22~86%、特異度54~95%である。ACEは感度が低いため、診断または予後のツールとしては議論の余地がある。治療効果の予測に有用との報告もある。

(2)リゾチーム

リゾチームもマクロファージ由来のバイオマーカーであるが、保険適用されていない。

(3)可溶性インターロイキン2受容体 (sIL-2)

可溶性インターロイキン2受容体 (sIL-2) は、T細胞由来のバイオマーカーで、IL-2の増加は肉芽腫形成に関与すると考えられている。sIL-2は、他の肉芽腫性

疾患、血液悪性腫瘍、自己免疫性疾患でも上昇するのでサルコイドーシスに特異的ではない。サルコイドーシスの診断マーカーとしては論議の余地はあるが、サルコイドーシスが疑われる患者を対象とした報告では感度88%、特異度85%であり、ACEよりも良いマーカーであるとの報告がある。

(4)KL-6

KL-6は、サルコイドーシスに特異的なマーカーではないが、肺サルコイドーシスのモニタリングや重症度の評価に有用との報告がある。

最後に

気管支喘息、COPD、間質性肺炎においては、今のところ、呼吸機能検査が有用な指標であり、これに代わりうる血清バイオマーカーはない。被検者の過去の呼吸機能検査とともに、検体検査等その他の検査結果も参照して病態を把握し、オーダ医が呼吸機能検査に何を求めているのかを理解して検査を行ってほしい。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) 一般社団法人日本アレルギー学会喘息ガイドライン専門部会. 喘息予防・管理ガイドライン2018. 東京, 協和企画; 東京, 2018.
- 2) 日本呼吸器学会 COPD ガイドライン第4版作成委員会編. COPD (慢性閉塞性肺疾患) 診断と治療のためのガイドライン第4版, メディカルビュー社; 東京, 2013.
- 3) FDA. Qualification of Biomarker Plasma Fibrinogen in Studies Examining Exacerbations and/or All-Cause Mortality in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2015. 入手先 <Search for FDA Guidance Documents | FDA > (参照2021-01-14)
- 4) Lammi MR, Baughman RP, Birring SS et al. Outcome measure for clinical trials in ILD. *Curr Respir Med Rev* 2015;11:163-174.

神経生理検査の活かし方

How to Make Full use of Neurophysiological Test?

代田悠一郎

要旨 神経生理検査は、様々な刺激を行う・多様な検査項目から成る・同じ検査結果でも事前情報により解釈が異なりうる、といった点で検体検査や他の生理検査と異なる特徴を有する。このような神経生理検査を有効活用するには、ルーチン検査項目に状況に応じた追加を行うこと・画像検査など他モダリティと組合せること等が有用である。さらに今後の発展を考えるうえで、神経・筋の超音波検査のような新たな手法の洗練や、診療報酬をはじめとする適正な技術評価が重要である。

Neurophysiological tests are distinct in that they apply different stimulations and contain various kinds of tests, and that the same results can lead to different interpretations according to clinical contexts. Some clues to make use of these tests include small addition of advanced techniques to routine methods, and combination of other tests such as neuroimaging. Emerging modalities like ultrasonography of the nerve and muscle are promising. Adequate incentives for experts could be another issue in terms of further utilization of the neurophysiological tests.

Key words nerve conduction study, somatosensory evoked potential, needle electromyography, magnetoencephalography, ultrasonography

はじめに

神経生理検査は、検体検査や心電図・超音波といった他の生理検査に比べ認知度が低いと思われる。対面で検査を行うため一期一会の要素が強く再検が容易ではない、という点で検体検査とは異なり他の生理検査と共通しているが、神経生理検査固有の特徴も多い。神経生理検査では一般的に、中枢・末梢神経系の電気活動を主に波形・時系列データの形で提示する。これら神経系は、様々な生体情報を中枢神経（≒脳）と末梢神経（および効果器である筋などや感覚受容器）の間でやりとりするためのシステムである。情報伝達には活動電位による電気的な伝達とシナプスにおける化学的な伝達とが用いられるが、神経生理検査ではもっぱら電気的な伝達の様子を調べる。検体検査や他の生理検査と比較した際の特徴

として、様々な刺激が用いられること、検査手法が多様であること、同じ検査結果（＝波形の見た目）であっても事前情報の違いにより解釈に差が出ること、などが挙げられる。

特徴①：様々な「刺激」を行う

患者と対面し臨床検査技師・医師が直接検査を行うにあたり、電気刺激をはじめとした様々な刺激が必要である。神経伝導検査・体性感覚誘発電位では矩形波電流による刺激が一般的であり、視覚誘発電位ではパターンリバーサル視覚刺激等が、聴性脳幹反応ではクリック音をはじめとした聴覚刺激が用いられる。脳波検査においても、開閉眼・閃光刺激・過呼吸・睡眠など多様な賦活法が検査精度を上げるうえで重要である。電気刺激をはじめとするこれらの刺激には不快感を伴うものもあるため、安易な再検査には注意が必要である。したがって、生理検査に共通する一期一会の要素がより強い検査モダリティである。たとえば神経伝導検査では、できるだけ弱い刺激を用いて最適な刺激点を探索した後に刺激強度を上げる、などの工夫を行うことが求められる。

Yuichiro SHIROTA

東京大学医学部附属病院 検査部

Department of Clinical Laboratory, the University of Tokyo Hospital.

113-8655 東京都文京区本郷7-3-1.

7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

E-mail : yshirotatky@umin.ac.jp

特徴②：検査手法が多様である

もちろん検体検査の項目数には比べるべくもないが、おむね一定の臓器を対象とする腹部超音波・心臓超音波などと比べると、神経生理検査では四肢末端から頭までをカバーするために多様な手法が用いられる。特に運動・感覚機能の検査では、中枢神経を対象とする末梢神経を対象とするかで行うべき検査が変わってくる。第一には依頼内容に依存する部分であり検査現場で融通を利かせることは難しい場合も多いが、想定される病変部位を考えながら検査を行うことが時に有用である。

特徴③：同じ検査結果でも解釈が異なりうる

Fig. 1に示すのは、当初著者が判断を誤った針筋電図の自験例である。クレアチンキナーゼ (CK) 高値、炎症性筋疾患の疑いとして Fig. 1-A のような針筋電図結果とともに紹介され入院となった80代の女性である。比較的振幅の低い運動単位電位が複数見られており、筋疾患でも良い所見と考えた。診察上は上肢遠位など通常の皮膚筋炎・多発筋炎で障害されにくい部位にも筋力低下が見られたものの、炎症性筋疾患を否定するに至らなかった。筋生検を行うとともに針筋電図も再検査したところ Fig. 1-B のような結果であった。単一の運動単位電位のみが見られており、最大で発火頻度が20 Hz程度に達していたことから神経原性変化と判断した。筋生検でも、小群集萎縮が見られ神経原性変化の所見であった。最終的には、筋萎縮性側索硬化症と診断した。検査技術そのものに加え、事前の問診・診察が神経生理検査においては重要であり、CK高値など検体検査の結果もこれらに応じて慎重に判断すべきであることを痛感した症例

であった。

神経生理検査をどう活かすか？

上記のような神経生理検査の特徴を踏まえると、検査の選択・実施に当たっては事前情報を十分吟味することが重要である。これは、解釈の誤りを減らす努力につながる。とともに、多数の検査手法から適切な項目を順序良く選び、患者に無用な刺激を与えすぎないようにするうえでも重要である。本稿では、後者に関連して、ルーチ的な検査手法で得られた結果を踏まえて項目の追加を行う「ちょい足し」の有用性と、画像検査など他モダリティを組み合わせることの意義につき述べる。

活かし方①：「ちょい足し」

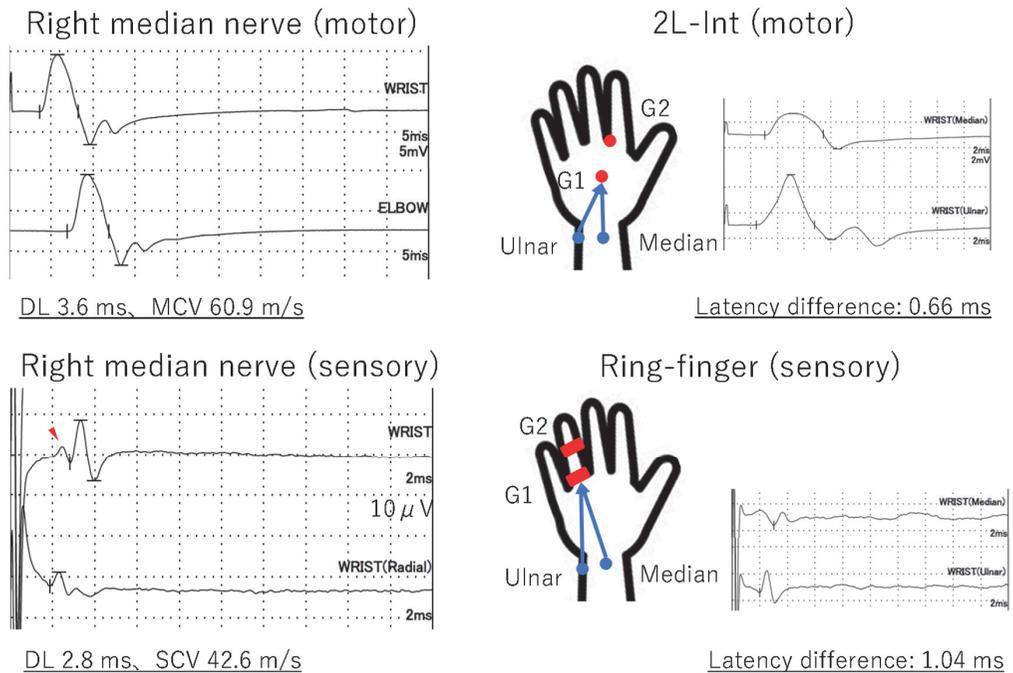
神経伝導検査や誘発電位では、得られた結果を踏まえて柔軟に検査計画を組み立てることが有益である。例えば、正中神経刺激において手根管症候群を疑わせる結果が得られた場合には、2L (第二虫様筋) -Int (骨間筋) 比較法や環指比較法やなどの特異度が高い比較法を用いることで報告の質を高めることができる¹⁾。Fig. 2に示した症例では、ルーチの正中神経伝導検査において、感覚神経で伝導速度の低下が見られるものの運動神経の異常が明らかでない (Fig. 2左上)。2L-Int比較法は、正中神経支配の第二虫様筋と尺骨神経支配の骨間筋が同じモニターで記録できることを活かした手法である。Fig. 2右上の様に、関電極 (G1) から等距離になるように正中神経・尺骨神経の刺激点を定め、潜時の比較を行う。本例では0.66 msの潜時差を認め、基準とされる0.5 msよりも長いことから運動神経においても正中神経に

A Left tibialis anterior (voluntary contraction)

B Left first dorsal interosseus (voluntary contraction)



Fig. 1 Needle MEG findings from a single patient



DL: distal latency, MCV: motor conduction velocity, SCV: sensory conduction velocity

Fig. 2 Nerve conduction study of a patient with carpal tunnel syndrome

異常があることが示唆された。環指比較法は感覚神経において同様の正中神経・尺骨神経比較を行う手法である。第四指（環指）に記録電極（G1-G2）を配置し、G1から等距離となるように正中神経・尺骨神経の刺激点を定めて感覚神経誘発電位（SNAP）の潜時を比較する。2L-Int比較法と同様、正中神経で0.5 ms以上潜時が遅い場合に陽性と判断する（Fig. 2右下）。

また体性感覚誘発電位SEPでは、一次感覚野の成分が20 µVを超えるような巨大SEPが見られた場合に支配筋の表面筋電図を追加すると長ループ反射が得られることがあり、皮質性ミオクロヌスの診断に役立つ。技術的には正中神経伝導検査と同様に短母指外転筋に表面電極を配置するのみであるが、SEPにおいては数百から千回程度の加算平均を要するため、巨大SEPを確認してから長ループ反射の検査に移行すると無駄が多い。依頼時点で必要性につき情報共有ができれば、効率的に検査を行うことができる。Fig. 3左は右正中神経刺激によるルーチンSEP波形である。ふるえを主訴に受診した70代男性であり、体動により脊髄成分の導出が不良で

あるが、皮質成分においてはP25-N33振幅が30 µV程度であり、一般に巨大SEPの基準とされる20 µVを上回っている。表面筋電図を追加して再検したところ、長ループ反射が見られた（Fig. 3右）。このような所見は、良性成人型家族性ミオクロヌステんかん（benign adult familial myoclonic epilepsy:BAFME）などのミオクロヌステんかんでしばしば見られる。

活かし方②：画像診断との連携

脳波・脳磁図検査では適切な後処理を行うことで、脳内の活動をMRI等の画像上に示すことができる。実施可能施設が限られるのが難点であるが、脳磁図検査は特にこのようなマッピングに有用である。誘発脳磁図においてはSEPに対応する誘発脳磁界SEFを用いれば一次感覚野の位置をマッピングでき、脳腫瘍手術などにおいて有用である。てんかんでは自発脳磁図における発作波の局在を双極子推定し、てんかん原性領域が推定できる。2020年度の診療報酬改定により増点され、より適切な点数設定となっており今後の発展に期待したい。脳波検査についても、

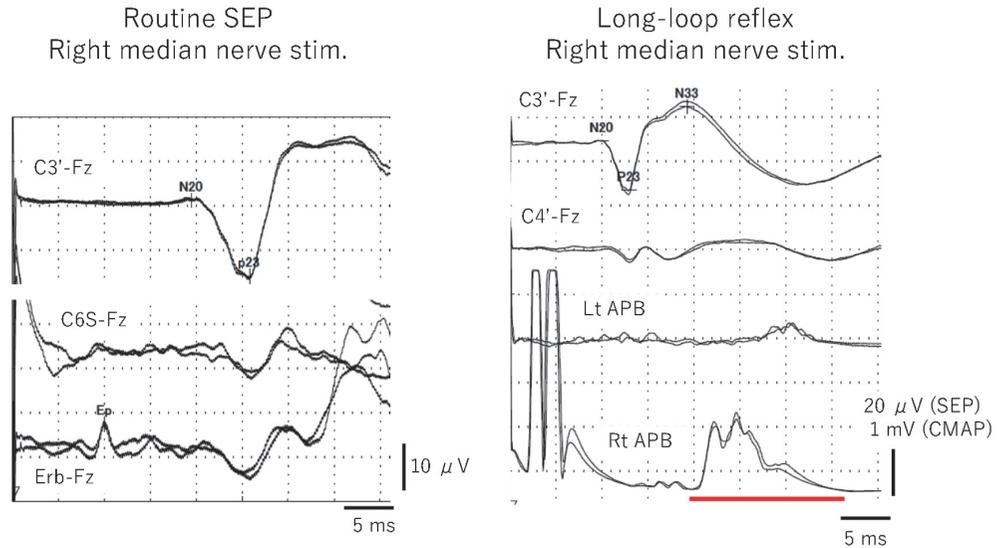


Fig. 3 Giant SEP and long-loop reflex

いわゆる国際10-20法よりも多くの電極を配置した高密度脳波を用いると脳磁図に匹敵するマッピングが可能であるとされる。しかし、骨の導電率が低いことから、適切な頭部モデルの選択などの面で、脳磁図よりも後処理に工夫が求められる。

これからの神経生理検査

脳波をドイツのベルガーが初めて報告したのが1929年、近代的な神経情報伝達の基礎を築いたホジキン、ハクスレーらのノーベル賞受賞が1963年であり、各々約90年・60年が経過している。この間、臨床現場ではCT・MRI等の画像検査が、特に中枢神経疾患において大きなウェイトを占めるようになってきている。神経生理検査は神経・筋の電気活動をリアルタイムに捉えられるという点で依然として重要であるが、新たなモダリティをうまく組み合わせで診断に役立ててゆくことが求められる。この点、中枢神経疾患におけるCT・MRIに匹敵する可能性を末梢神経・筋疾患において占めうるのが超音波検査である。また、検査者の技量に大きく依存する神経生理検査においては、診療報酬その他による適正な技術評価も課題の一つと言える。

これからのために①：新しい神経生理検査としての超音波

末梢神経・筋は体表近くに分布するものも多く、末梢神経には14 MHz・筋には11 MHz程度の高周波リニアプロ

ーブを用いることでその構造が観察できるとされる。これまでもMRIを用いて末梢神経・筋の構造を可視化する検査が実施されているが、MRIでは描出困難な神経肥厚や筋の瞬間的な収縮である線維束攣縮など、空間的にも時間的にも形態変化を幅広くとらえることができるのが利点である。あたかも、てんかんにおける脳波・脳磁図と脳画像（CTやMRIなど）の関係の様に、これまでの電気生理検査を更に活かすことができる検査モダリティとして期待がもたれる。詳細については、近年刊行された成書を参照されたい²⁾。

これからのために②：費用対効果を考える

神経生理検査においては、高額な試薬などは用いず消耗品は一部の電極・研磨剤・ペースト等に限られる。反面、検査機器は高額であり、検査者の熟練にも時間を要する。これらに対して金銭的その他のインセンティブが適正に働くことが、神経生理検査の有用性を担保することにつながると期待される。ここでは、文献³⁾⁴⁾等をもとに神経伝導検査の診療報酬について述べる。神経伝導検査は、臨床的なコンテキストにより行うべき神経数が変わる。一方で検査に要する時間・労力は神経数に応じておおむね線形に増加する。しかしながら、2009年以前の診療報酬体系においては、神経伝導検査は一連で250点（判断料140点を含めて3900円）であった。先進諸国においては、片側上下肢一式にはほぼ相当する8神経の実施で米

国60000円-120000円程度（州や保険により異なる，また近年のオバマ改革により大幅減との情報もある），欧州で25000-30000円程度とされ文字通り桁違いの設定であった。日本でも是正傾向にはあり，2010年の改定で1神経150点・上限4神経（8神経で7400円），2014年の改定で上限8神経（同13400円），2018年の改定で最初の1神経は200点（同13900円）となっている。今後のさらなる改定に期待したい。

終わりに

中枢神経も末梢神経も，基盤となる電気活動は共通している。しかし生体検査としての神経生理検査はこれまで述べてきたように多種多様である。個々の症例における病態や想定される疾患に基づき綿密に検査計画を立てつつ，実施に当たっては臨機応変に対応することも求められる。いわゆるルーチン検査の枠を少しだけ超えた部分に精度が高く臨床的にも有用な所見が見られることが

あるため，日々の研鑽と適正な技能評価が，臨床神経生理検査がさらに発展するうえで重要である。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

- 1) 野寺裕之. 手根管症候群の電気診断（特集「臨床に役立つ神経筋電気診断」）. 臨床生理学 2013;41:164-171.
- 2) 神経筋疾患の超音波検査実践マニュアル. 神経筋超音波研究会 編. 南江堂；東京，2018.
- 3) 上坂義和. 我が国の診療報酬制度において臨床神経生理検査の地位を向上するために（特集「筋電図の覚醒：筋電図はもっと役に立つ！もっと使える！」）. 臨床神経生理学 2019;47:209-212.
- 4) 園生雅弘. MMT・針筋電図ガイドブック. 中外医学社；東京，2018:63.

血液細胞形態の自動判定に向けたシステム開発

Development of Machine Learning System for
Automated Hematopoietic Cell Morphology Analysis

松井啓隆

キーワード 人工知能(Artificial Intelligence), 機械学習(Machine learning), 骨髄異形成症候群 (Myelodysplastic syndromes)

はじめに

血液疾患は言うに及ばず、あらゆる疾患の診断を行ううえで、末梢血液の血球数検査や血球分類はたいへん重要な役割を担っている。血球数検査については、細胞の数や大きさを測定するだけの比較的単純な検査項目といえるかもしれないが、赤血球の大きさや色素濃度から貧血を分類してその原因を特定したり、感染症の原因を推定するため白血球分類を参考にしたりするなど、一度に多くの情報を得ることができる。スループットが高いことも大きなアドバンテージとなる。したがって、臨床検査として血液検査を行うときには、ほぼ全例で血球数検査が行われているし、小規模な医療施設においても、POCT装置を使用し迅速な結果判定がなされている場合が少なくない。

一方で、同じ血液試料を用いて行う検査であるにもかかわらず、血液細胞の形態を観察して判定する検査は、多くの実務経験を要し、「誰が測定しても同じ結果が返される」という臨床検査の大原則に準拠することがなかなか難しいのが現実である。もちろん、日常的にサーベイランスなどが行われ、標準化・統一化されるための努力が関係諸団体において継続的に行われているが、細胞形態のような、数値化して論じるのが困難な検査項目において標準化を達成するのは容易ではない。

また、大学病院のような大規模な施設では、多くの場合、認定血液検査技師が在籍し、高い血液細胞観察能力を発揮して的確な判定を行うことが可能であるが、とりわけ比較的小規模な医療施設では、認定血液検査技師が在籍していない場合も多く、塗抹標本の目視観察を経た総合的な判定に苦慮する場合も少なくない。特に、細胞形態の変化が診断の鍵となる骨髄異形成症候群 (Myelodysplastic syndromes, MDS) のような疾患の場合には、末梢血標本のみで細胞異形成を正確に判定することは相当に難しい。

こうしたことを背景に、我々は、機械学習を用いてMDSの細胞分類を行うためのシステム構築を試みてきた¹⁾。他の施設からも同様にMDS判定システムを開発したことが報告され²⁾、また最近では、MDSに特徴的な遺伝子変異と細胞形態変化とを関連付け、大規模に解析した論文が発表されている³⁾。今後こうした流れがさらに加速するものと予想されることを受け、本稿では、日本医療検査科学会第52回大会で発表した内容に準じ、そもそも機械学習と呼ばれるものがどのような仕組みを持つものなのかということを中心に概説したい。なお、本稿で用いる図は当該学会大会シンポジウムで発表に用いた資料を基に作成したもののだが、本誌への掲載に先んじて、他の医学雑誌 (JOHNS 第36巻12号, 2020年, 東京医学社) に同様の内容のものが掲載されている。本稿における図版の使用については、予め東京医学社の承諾を得ていることをお断りしておく。

人工知能 (Artificial Intelligence, AI) による機械学習

まず、画像判定における機械学習 (Machine learning) の概念を説明する。基本的には、文字通り機械が自分で

Hiroataka MATSUI

熊本大学 大学院生命科学研究部 臨床病態解析学講座
Department of Molecular Laboratory Medicine, Faculty
of Life Sciences, Kumamoto University
〒860-8556 熊本県熊本市中央区本荘 1-1-1
TEL : 096-373-5283
E-mail : hmatsui@kumamoto-u.ac.jp

学習して何かしらの画像判定を行うことができるようになることを言う。ただし、機械は自立的に能動的な学習を行うことができるわけではないので、まずは人間の側が機械に大量のサンプル画像を提示し、教え込んであげることが必要である。最も典型的なのは、「教師付き学習」といって、正解の付いた画像をコンピューターに多数読み込ませる方法である（教師画像を用いない機械学習も存在するが、ここでは割愛する）。具体的には、図1に例として示すように、「ゾウ」もしくは「カバ」という正解ラベルを付けた大量のゾウおよびカバの画像を機械に提示してあげると、機械の方では、この二つを判別するための推論モデルを組み立てる。推論モデルが構築された後、新たに機械に判定させたい画像を見せると、その推論モデルに基づき「ゾウ」と「カバ」の区別が行われる。ただしこの時に注意しておきたいのは、あくまでこの際学習したのは「ゾウ」と「カバ」の画像だけであって、これだけを基に他の動物まで区別できるようになるわけではないこと、また、機械は必ずしも、人間が一般に判断に用いる基準と同じものを採用しているわけではないことである。後にMDS判定の取り組みを紹介するが、その際に構築した推論モデルにおいても、「どうしてここを判定に採用したの?」と思わせるような細胞内構造を判定の参考にしていくようなケースがあった。つまり、「ゾウ」と「カバ」の例でいえば、必ずしも鼻が長い方をゾウと判断しているとは限らないということである。

あるし、MDS細胞の例でいえば、偽ベルゲル核異常や脱顆粒のある細胞をMDSと認識するとは限らないということである。

機械学習装置による画像判定の方法

機械学習装置がどのように画像を認識するかということについて、しばしば引き合いに出される単純な例として、図2aにあるような「バツ」と「マル」の画像を判定するための装置を作ることを想定してみる⁴⁾。ここでは、縦横それぞれが9ピクセルの白黒画像として、「バツ」もしくは「マル」が描かれているとする（必ずしも、図のように中心部に左右・上下対称に描かれているとは限らない）。

機械は、この画像の全体像をみていきなり「バツ」や「マル」として学習するわけではなく、まず画像を細分化し、細分化されたそれら区域の特徴を数値化するという手段をとる。例えば、図2bのように、3×3ピクセルの小さなフィルターを用意し、そのフィルターを元の画像に対しておいていく。フィルター1は、左上から右下にかけて斜めの線が存在するというフィルターであり、これを図2aの「バツ」画像の一番左上にあてがってみると、画像の左上端1ピクセルだけはフィルターと異なるが、他の8ピクセルは画像とフィルターのパターンが一致する。それを点数化すると図2c上段のようになる。続いて、このフィルターを右に1ピクセル分だけ

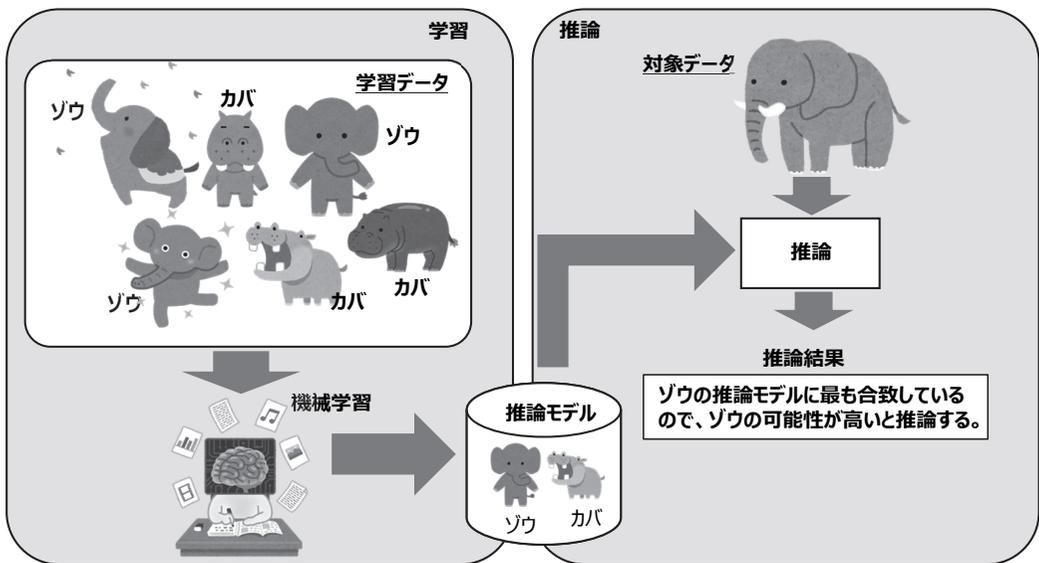
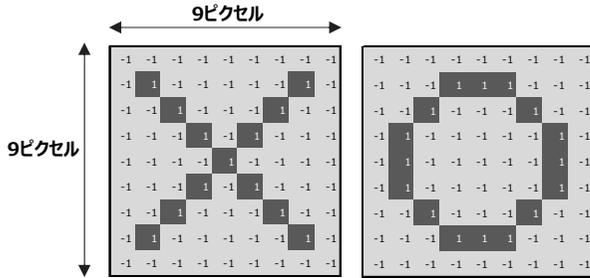


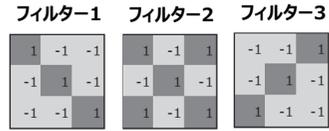
図1 機械学習による推論モデルの構築

a. 元の画像の例 (バツとマルの認識に使う9×9ピクセルの画像)



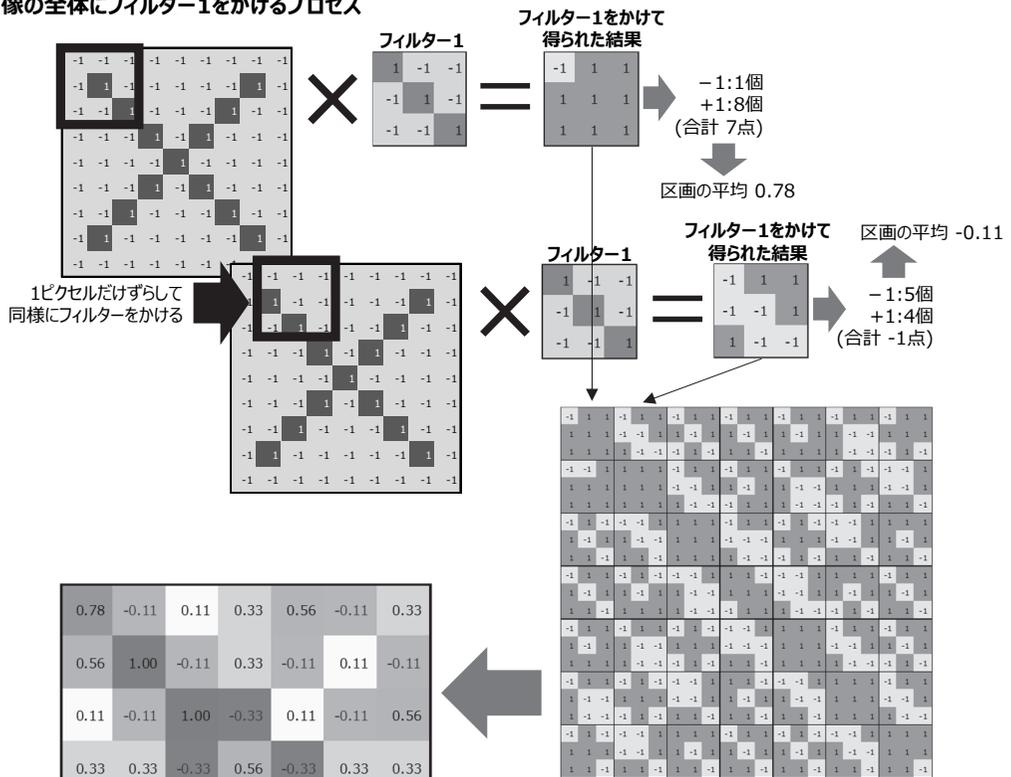
それぞれ 9×9 の情報量を持つ
(薄いグレーの部分は-1,濃いグレーの部分は+1のシグナル)

b. 用いるフィルターの例 (3×3ピクセルのフィルター)



フィルター1と3は「斜めの線を持つ」ことを表し、フィルター2は「線が交わる」ことを表す。

c. 画像の全体にフィルター1をかけるプロセス



d. 全領域に対してフィルター1をあてることによって、得られたデータ

e. 図2Dの各区画における平均値を抽出したデータ (特徴マップ)

図2 画像に対するフィルター処理の方法

用いるフィルターのパターンと重み付け数値のパターンをいろいろ試み、最も正確に判定できる組み合わせを採用することで推論モデルを構築する。

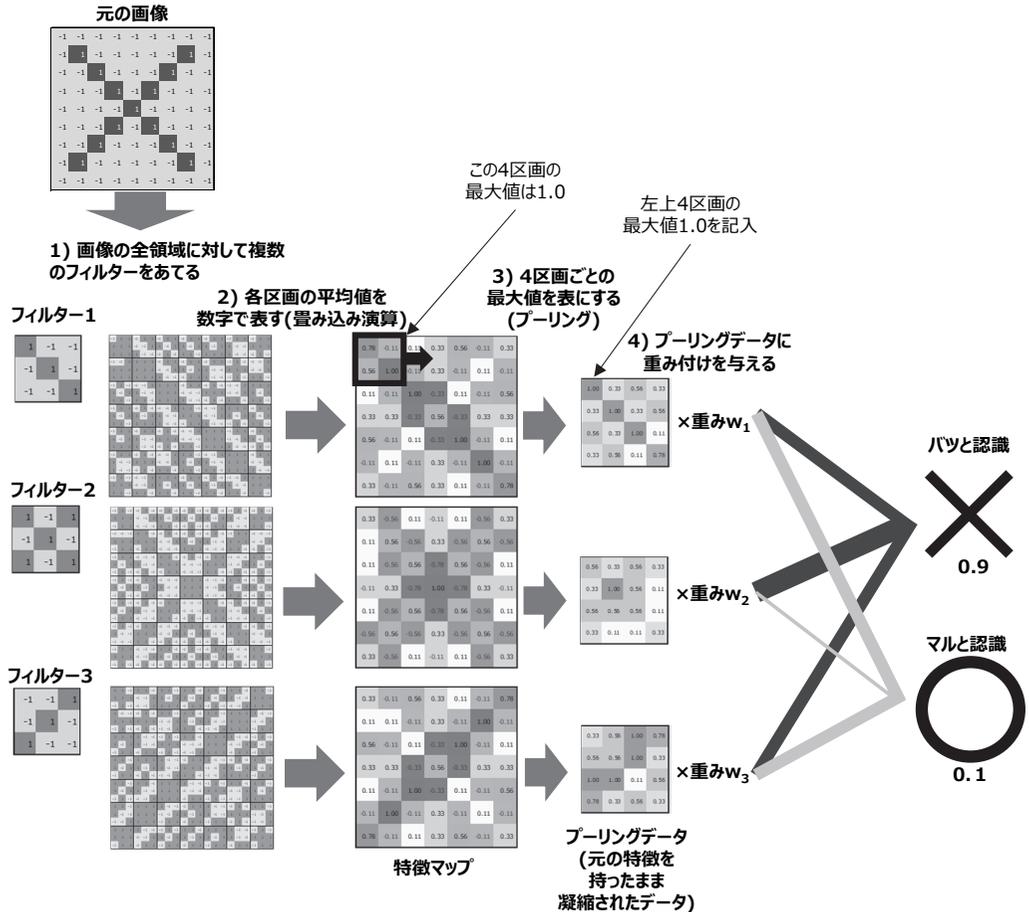


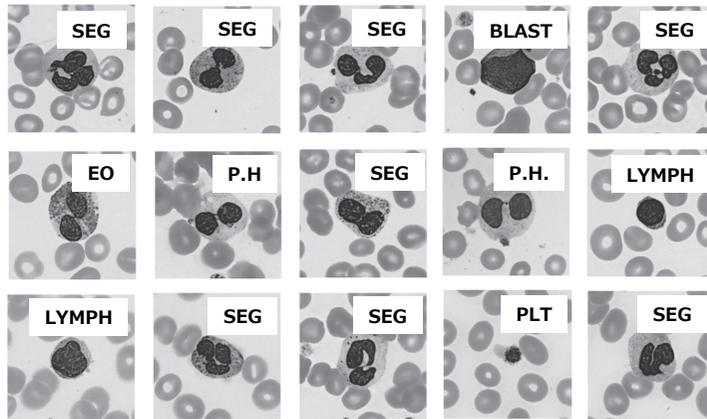
図3 典型的な機械学習のプロセス

スライドさせて、同様に画像とフィルターとの一致を評価すると、今度は図2c下段のような結果が得られる。このようにして、小さなフィルターと元の画像との一致度合いを、フィルターを動かしながら画像の全体に対して判定させると、フィルターが有する特徴が、画像全体のどこにどの程度のレベルで一致するのか、ということをして示すことができる。図2dに示すものが、そうして得られたデータである。また、図2dに示すデータから、図2cに示す要領で更にそれぞれの区画の平均値を算出してデータ化すれば、特徴マップとよばれる、画像を数値化した表を生成することができる(図2e)。

ここまでは、図2bのフィルター1を適用して特徴マップを生成した例を示したが、引き続き更に、他のフィ

ルターについても同様の計算を行う。フィルター1からフィルター3について同様の手順を踏めば、図3中央に示すような複数の特徴マップを得ることができる(あくまでこれは単純な例であって、フィルターは他に複数用いても構わないし、フィルターのサイズに規定があるわけではない)。

さらに引き続いて、図3右側にあるように、得られた特徴マップを基に、さらに、元の画像の特徴を保持したまま情報圧縮を行う。具体的には、ここでは特徴マップで示された数値のうち4区画分をひとつの範囲と定め、その区画の最大値を新たにデータにまとめている。これにより得られたデータのことを、プーリングマップという。プーリングマップの作成は、情報の圧縮を行っ



骨髄異形成症候群患者の末梢血で認められる細胞形態異常の例

1. 偽ペルゲル核異常: 鼻眼鏡状の核を呈する好中球
2. 脱顆粒好中球: 細胞質に本来ある好中顆粒が失われた好中球

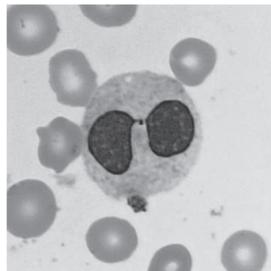


図4 機械学習に用いた細胞画像の例 (実際にはカラー画像を使用)

でデータサイズを縮小するとともに、特徴を表す構造が画像のどこに存在していたとしても同様のデータを得るために有用である。

さて、ここで、適用したフィルターについて翻って考えてみると、フィルター1と3は両者とも、「斜めの線を有する」という特徴を反映するフィルターで、フィルター2は、「線が交差する」という特徴を反映するフィルターである。「バツ」画像には、もちろん斜めの線が存在するが、一方で、9×9ピクセルの画像サイズという制約上、実は「マル」画像にもフィルター1、3と完全に一致する部分が存在する。これに対して、フィルター2は、「バツ」画像にのみ存在し「マル」画像には無い特徴を表すフィルターである。このため、これらのフィルターを全く同格に扱うのではなく、フィルター2は、より「バツ」の特徴を表しうるものとして、他のフィルターよりも高い重み付けをした方が正確な判定に有効となる。

このような手順を踏み、最終的に、入力された画像が「バツ」と「マル」のどちらに近いかということを確認率として出力することで、画像の判定が行われる。また、ここまでご理解いただいたように、機械学習の過程とは、ここで例として示したようなフィルターの種類や重み付けの数値を様々に試み、教師として与えられたデータに対して最高の確率で画像判定できるフィルターと重み付けの組み合わせを導き出すことといえる。

血液細胞画像を判定するための機械学習装置

冒頭に述べたように、我々は、とくにMDS細胞を正常造血細胞と区別するための画像判定装置の作成を試みてきた¹⁾。このプロジェクトでは、日本検査血液学会九州支部に所属する臨床検査技師を中心とした合計69名の判定者に、細胞画像に対するラベル付けの協力を受け、MDS患者500名由来の末梢血塗抹標本から撮影された約200細胞(合計約10万画像)を教師画像とした機械学

習装置の作成を試みた(図4)。細胞画像は自動撮影装置で機械的に撮影されたものを用い、1細胞あたり平均5.7名の判定者がラベル付けを行った。品質に問題のあった画像を除去した約9万の細胞画像を用いたが、残念ながら、当初期待していたほどの判定精度を確保するには至らなかった。これは、1細胞に複数の判定者を割り当てることによって判定精度を向上させようとしたことが却って仇となり、特に微妙な形態変化のある細胞において結果が一致しない場合が多かったことが要因である。また、MDS細胞はしばしば複数種類の形態異常を呈するが、必ずしもこれを十分に考慮に入れなかった戦略上の問題もあった。こうしたことを受け、現在共同研究機関において、教師側の判定一致度が高くない場合でも精度を上げられるような機械学習装置の開発が進められている⁵⁾。

まとめ

冒頭に述べたように、血液細胞形態検査は疾患診断上の多くの有益な情報を得ることができるのに対し、その標準化は必ずしも終了しているとはいえないように思われる。これはおそらく、細胞形態のようなものはとりわけ数値化して論じるのが難しいという本質的な理由に起因する。こうしたなかで次世代の血液学を考えると、現在主流のスキャットグラムを用いた血液細胞分類に加え、細胞画像をパラメーターに取り込み機械学習による解釈・判定を行うような装置は近い将来必ず登場してく

るものと予想される。血液形態のスクリーニング検査はそのような機械にある程度を委ね、血液検査学のスペシャリストはさらなる精査に時間をかけるといった方向性があるのではないかと、考えている。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) Sasada K, Yamamoto N, Masuda H, et al. Inter-observer variance and the need for standardization in the morphological classification of myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2018;69:54-59.
- 2) Kimura K, Tabe Y, Ai T, et al. A novel automated image analysis system using deep convolutional neural networks can assist to differentiate MDS and AA. *Sci. Rep* 2019;9:13385.
- 3) Nagata Y, Zhao R, Awada H, et al. Machine learning demonstrates that somatic mutations imprint invariant morphologic features in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2020;136:2249-2262.
- 4) Rohrer B. How do convolutional neural networks work? https://e2eml.school/how_convolutional_neural_networks_work.html (アクセス2020年12月4日)
- 5) Mimori T, Sasada K, Matsui H, et al. Diagnostic uncertainty calibration: Towards reliable machine predictions in medical domain. *arXiv* 2007;01659.

高感度 HBs 抗原測定試薬ルミパルス®HBsAg-HQ の基礎性能評価

Performance Evaluation of the High Sensitive HBsAg Measuring Reagent "Lumipulse HBsAg-HQ"

岡本愛, 谷口裕美, 宮本仁志

要旨 今回、我々は高感度 HBs 抗原測定試薬ルミパルス®HBsAg-HQ の基礎性能評価を行った。希釈直線性を含む基礎性能は良好であり、当院測定法である Architect との判定一致率も 97.00% と良好であった。判定不一致となった 6 例はすべて Lumipulse 陽性・Architect 陰性であったため、両試薬の測定感度の差による乖離と考えられた。定量値の相関性は相関係数 $n=200$, $r=0.989$, 回帰式 $y=0.954x+18.192$ ($p<0.05$) と良好な相関性が得られた。

Key words HBsAg, Lumipulse HBsAg-HQ, high sensitivity

1. はじめに

HBs 抗原は hepatitis B virus (HBV) の S 遺伝子から転写翻訳されるタンパク質で、ウイルスのエンベロープに存在している。HBs 抗原の測定は B 型肝炎の診断だけでなく、B 型肝炎治療ガイドラインにおいて HBV 持続感染者の抗ウイルス治療の長期目標は“HBs 抗原の消失”に設定したとされている。また、HBV 再活性化対策においては、「免疫抑制療法では治療開始後および治療内容の変更後（中止を含む）少なくとも 6 か月は、月 1 回の HBV-DNA 量のモニタリングが望ましいとしている。なお、6 か月以降は 3 か月ごとの HBV-DNA 量測定を推奨するとしているが、合わせて、治療内容に応じて高感度 HBs 抗原測定（感度 0.005 IU/mL）で代用することを考慮する」とされている¹⁾。これらの背景から、HBs 抗原測定はより高感度化が求められており、現在、HBs 抗原定量用試薬として 0.005~0.05 IU/mL を最小検出感度とする試薬が発売されている。

今回我々は、高感度 HBs 抗原測定試薬であるルミパ

ルス®HBsAg-HQ の基礎性能評価を行ったので報告する。

2. 対象および方法

1) 対象

対象は 2017 年 10 月~2019 年 5 月までに当院検査部に HBs 抗原測定依頼のあった患者検体から 200 例を用いた。内訳はルーチン測定（測定試薬：HBsAgQT アボット（アボットジャパン合同会社）にて陰性であった 100 例（すべて HBc 抗体陽性）と陽性であった 100 例である。検体は冷蔵保存し、相関性測定の際には両法（検討法：ルミパルス®HBsAg-HQ（富士レジオ株式会社）および対照法：HBsAgQT アボット）で同時に測定を行った。なお、本検討は愛媛大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会にて承認を得ている。（承認番号 1809004 号）

2) 方法

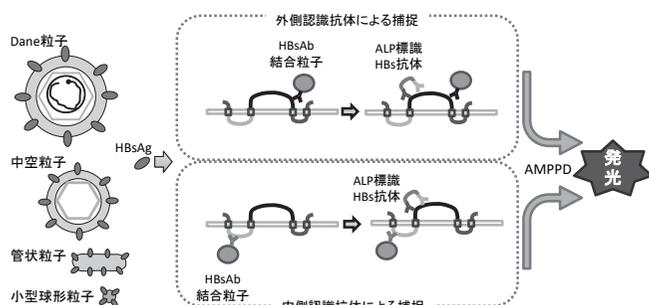
検討法は試薬にルミパルス®HBsAg-HQ を用い、化学発光酵素免疫測定法 Chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) を原理とするルミパルス G1200 (富士レジオ株式会社) で測定を行った (以下 Lumipulse)。対照法は当院測定法である HBsAgQT アボットを化学発光免疫測定法 Chemiluminescent immunoassay (CLIA) を原理とするアーキテクト i2000 (アボットジャパン合同会社) で測定を行った (以下 Architect)。両測定法について Table 1 に示した。その他、再現性には LP コントロール・HBsAg (富士レジオ株式会社) の 3 試料 (陰性 1 濃度, 陽性 2 濃度), 抑制試験にはルミパルス

Received Sep. 23, 2020; Accepted Nov. 25, 2020
Ai OKAMOTO, Yumi TANIGUCHI, Hitoshi MIYAMOTO
愛媛大学医学部附属病院検査部
(Clinical Laboratories of Ehime University Hospital)
〒791-0295 愛媛県東温市志津川
(Shitsukawa, Toon, Ehime 791-0295, Japan)
Corresponding author: 岡本愛

Table 1 Method

	Examination (Lumipulse)	Contrast(Architect)
Equipment	Lumipulse G1200	Architect i2000
Reagent	Lumipulse® HBsAg-HQ	HBsAg QT Abbott
Principle	CLEIA	CLIA
Measurement Range	0.0050~150.0 IU/mL	0.05~250.00 IU/mL
Sandwich antibody carrier-labering	monoclonal(2 lines) – monoclonal(2 lines)	monoclonal(2 lines) – polyclonal
Sample volume	100 µL	75 µL
Measurement time	30 min	30 min

Adapted from B型肝炎治療ガイドライン 第3.1版(参考文献1)



AMPPD: 3-(2'-spiroadamantane) 4-methoxy-4-(3"-phosphoryloxy) phenyl-1,2-dioxetane

Fig. 1 Principle of Lumipulse

HBsAg-HQ抑制試薬（富士レビオ株式会社），HBc抗体測定にはHBc・アボット（アボットジャパン合同会社），HBV-DNA測定にはコバス6800/8800システムHBV（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）を使用した。また，本検討におけるHBs抗原の単位はIU/mLで統一して表記しており，いずれの試薬も添付文書に従い測定を実施した。

3) 測定原理

HBVには完全型であるDane粒子の他に，粒子中にDNAを含まない中空粒子・桿状粒子・小型球形粒子などが存在するが，HBsAgはこれらすべての粒子に存在している。ルミバルス®HBsAg-HQは検体前処理によりHBsAg-HBsAbのコンプレックスからのHBsAgの遊離およびエンベロープからのHBsAgの遊離を行う。次にウイルス膜の外側に露出した抗原部位を認識する抗体と，変異が少ないと考えられているウイルス膜内側の抗原部位を認識する抗体を使用することで高感度なHBs抗原の測定を実現した（Fig. 1）。試薬の改良において，処理液の成分濃度の最適化と抗体結合粒子への吸収剤の追加により，希釈直線性の改良および非特異反応の低減を行っている。

Table 2 Precision

Inter assay (n=10)			
	Control 1 (Negative)	Control 2 (Positive)	Control 3 (Positive)
Mean (IU/mL)	0.0000	0.2042	30.6924
SD (IU/mL)	0.0000	0.0049	0.9648
CV (%)		2.42	3.14

Reproducibility intra assay (n=10 twice a day X 5days)

	Control 1 (Negative)	Control 2 (Positive)	Control 3 (Positive)
Mean (IU/mL)	0.0000	0.1997	29.9260
SD (IU/mL)	0.0000	0.0042	0.9820
CV (%)		2.10	3.28

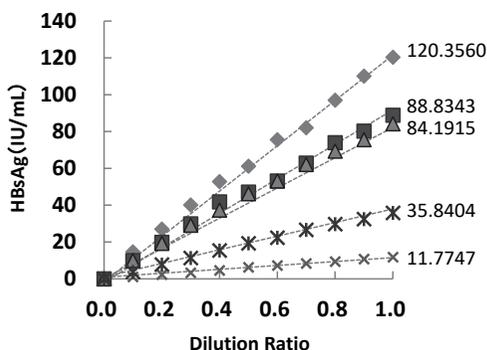


Fig. 2 Dilution Linearity

3. 結果

1) 再現性

同時再現性はコントロール3試料を用いて10重測定し，日差再現性は同試料を1日2回5日間測定した。同時再現性および日差再現性における陽性コントロールの変動係数は2.10~3.28%であった（Table 2）。

2) 希釈直線性

HBsAg濃度11.7747 IU/mL~120.3560 IU/mLのランダムに抽出した患者検体5検体をプール血清（HBsAg・HBsAb・HBcAb陰性）を用いて10段階希釈を行った希釈直線性は，いずれも良好な直線性が得られた（Fig. 2）。

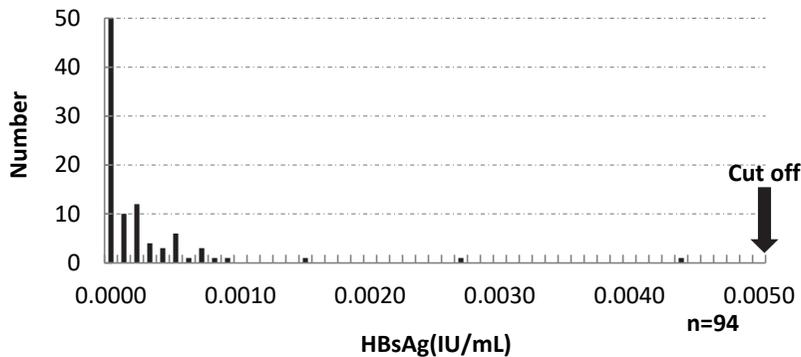


Fig. 3 Negative distribution of Lumipulse

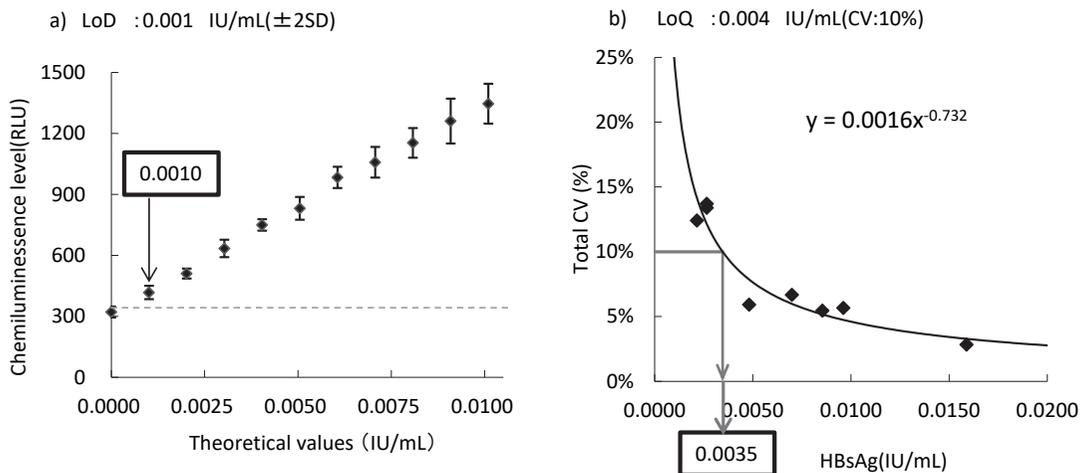


Fig. 4 NSensitivity (LoD and LoQ)

3) 陰性分布

Lumipulseにおける陰性検体94例の定量値の分布図 (Fig. 3)において、測定範囲下限値の0.1倍となる0.0000 IU/mL~0.0005 IU/mLまでに陰性検体の90.43%が含まれており、0.2倍となる0.0010 IU/mLまでに96.81%が含まれていた。陰性検体の平均値は0.0002 IU/mLであり、平均値+8SDの値でも0.0048 IU/mLと測定感度を下回っていた。

4) 感度 (LoDおよびLoQ)

最小検出感度LoDは、低値検体 (0.0101 IU/mL) を検体希釈液にて10段階希釈し、10重測定した結果から±2 SD法にて求めたところ0.0010 IU/mLであった。

また、低値検体8検体を1日2回、4日間測定を行い (n=64), precision profileによって求めた定量下限 (LoQ)

は0.0035 IU/mLであった (Fig. 4)。

5) genotype別感度試験

genotypeが判明している患者検体5検体を用いて、プール血清 (HBsAg・HBsAb・HBcAb陰性) にて2希釈を行い、LumipulseおよびArchitectの感度をみたところ (Fig. 5), genotypeA~Dまでのいずれの検体においてもLumipulseにおいて高感度であり、感度差は8~16倍認められた。

6) パネル血清 (seroconversion panel・sensitivity panel)

SeraCare LIFE SCIENCES社のseroconversion Panel PHM939を使用し、感染初期検体における早期検出能の比較を行った (Table 3)。LumipulsがArchitectに比べ11日早く陽性化がみられ、採血初日から陽性となった。また、BBI社のHBsAg sensitivity panel (PHA807) を

No.1 Genotype A			No.2 Genotype B			No.3 Genotype C		
2 ⁿ	Lumi	Archi	2 ⁿ	Lumi	Archi	2 ⁿ	Lumi	Archi
1	(+) 0.0968	(+) 0.12	1	(+) 0.0815	(+) 0.09	1	(+) 0.0625	(-) 0.02
2	(+) 0.0483	(+) 0.07	2	(+) 0.0393	(-) 0.03	2	(+) 0.0337	(-) 0.00
3	(+) 0.0237	(-) 0.04	3	(+) 0.0194	(-) 0.00	3	(+) 0.0205	(-) 0.02
4	(+) 0.0111	(-) 0.00	4	(+) 0.0092	(-) 0.02	4	(+) 0.0081	(-) 0.00
5	(+) 0.0060	(-) 0.02	5	(+) 0.0056	(-) 0.00	5	(-) 0.0041	(-) 0.00
6	(-) 0.0029	(+) 0.06	6	(-) 0.0029	(-) 0.00	6	(-) 0.0020	(-) 0.00
7	(-) 0.0017	(-) 0.00	7	(-) 0.0014	(-) 0.00	7	(-) 0.0014	(-) 0.00

No.4 Genotype C			No.5 Genotype D		
2 ⁿ	Lumi	Archi	2 ⁿ	Lumi	Archi
1	(+) 0.0850	(+) 0.06	1	(+) 0.0900	(+) 0.13
2	(+) 0.0449	(-) 0.03	2	(+) 0.0429	(+) 0.05
3	(+) 0.0218	(-) 0.01	3	(+) 0.0209	(-) 0.04
4	(+) 0.0117	(-) 0.00	4	(+) 0.0099	(-) 0.01
5	(+) 0.0051	(-) 0.00	5	(+) 0.0051	(-) 0.00
6	(-) 0.0031	(-) 0.00	6	(-) 0.0027	(-) 0.00
7	(-) 0.0015	(-) 0.00	7	(-) 0.0011	(-) 0.00

Diluted solution : pooled serum HBsAg(-)HBsAb(-)HBCAb(-)

Fig. 5 Sensitivity by HBV genotype(Patient specimen)

Table 3 Measurements for seroconversion panel

	Blood Date	Day	Lumipulse (IU/mL)	Architect (IU/mL)
939-1	16-Jul-01	0	(+) 0.0137	(-) 0.01
939-2	19-Jul-01	3	(+) 0.0164	(-) 0.01
939-3	27-Jul-01	11	(+) 0.0646	(+) 0.06
939-4	30-Jul-01	14	(+) 0.0573	(+) 0.06
939-5	6-Aug-01	21	(+) 0.1249	(+) 0.14

PHM939-1.5(SeraCare LIFE SCIENCES)

用いてHBsAgのサブタイプにおける感度をみたところ、Lumipulseはサブタイプad, ayともにすべて陽性で、HBsAg 0.1 ng/mLまで検出可能であった (Table 4)。

7) 抑制試験

患者検体11検体 (HBsAg 0.0053~120 IU/mL) について、抑制試験をおこなった結果 (Table 5)、抑制率の平均は92.41%と高率に抑制されており、最も低濃度であった0.0053 IU/mLの検体においても抑制率100.00%であった。

8) 相関性 (判定一致率・相関図)

LumipulseとArchitectの相関性についてみたところ、一致率 (Fig. 6) においては、それぞれのカットオフ値で判定した判定一致率は97.00% (194/200例)であった。

Table 4 HBsAg sensitivity panel (PHA807)

	HBsAg Subtype	Concentrations (ng/mL)	Lumipulse (IU/mL)	Architect (IU/mL)
807-1	ad	3.1	(+) 0.6422	(+) 0.16
807-2	ad	1.5	(+) 0.3293	(+) 0.12
807-3	ad	1.0	(+) 0.2549	(+) 0.22
807-4	ad	0.9	(+) 0.1938	(+) 0.11
807-5	ad	0.7	(+) 0.1501	(+) 0.15
807-6	ad	0.5	(+) 0.0341	(+) 0.05
807-7	ad	0.4	(+) 0.1184	(-) 0.04
807-8	ad	0.3	(+) 0.0841	(+) 0.05
807-9	ad	0.2	(+) 0.0546	(-) 0.04
807-10	ad	0.1	(+) 0.0193	(-) 0.00
807-11	ay	2.6	(+) 0.7891	(+) 0.41
807-12	ay	1.3	(+) 0.3593	(+) 0.13
807-13	ay	0.9	(+) 0.2547	(+) 0.32
807-14	ay	0.8	(+) 0.0938	(+) 0.12
807-15	ay	0.6	(+) 0.0841	(+) 0.05
807-16	ay	0.5	(+) 0.0460	(+) 0.05
807-17	ay	0.4	(+) 0.0318	(-) 0.03
807-18	ay	0.3	(+) 0.0231	(-) 0.01
807-19	ay	0.2	(+) 0.0205	(-) 0.01
807-20	ay	0.1	(+) 0.0183	(-) 0.02
807-21	Neg	0.0	(-) 0.0002	(-) 0.00

Table 5 Inhibition ratio

	初検測定値 (IU/mL)	対照液 (IU/mL)	抗体液 (IU/mL)	中和抑制率 (%)
1	0.0053	0.0040	0.0000	100.00
2	0.0524	0.0460	0.0055	88.04
3	0.1338	0.1294	0.0121	90.65
4	0.2139	0.1868	0.0179	90.42
5	0.7166	0.6989	0.0319	95.44
6	1.0229	0.9134	0.0746	91.83
7	1.3385	1.4410	0.1658	88.49
8	14.7837	12.8528	1.0576	91.77
9	38.8602	38.0381	2.8982	92.38
10	81.8002	53.5498	1.9844	96.29
11	104.9632	93.8140	8.3030	91.15

判定不一致となった6例はすべてLumipulse陽性・Architect陰性であり (Table 6), Lumipulseの値は0.0176 IU/mL~0.1237 IU/mL, Architectの値は0.00 IU/mL~0.04 IU/mLであった。すべてにおいてHBc抗体は陽性で, HBs抗体は5例陽性・1例陰性であった。HBV-DNAは1例のみ陽性 (+<1.3 Log IU/mL) で4例が検出せずであった。

LumipulseとArchitectの定量値における相関図 (Fig. 7) において, 全体ではピアソンの相関係数 $r=0.989$, 回帰式 $y=0.954x+18.192$ ($p<0.05$) であった。Lumipulseの測定上限である150 IU/mL未満の検体については相関係数 $r=0.964$, 回帰式 $y=1.110x+0.920$ であった。また, 乖離している検体で追跡可能であった検体についてはgenotypeをFig. 7中に示している。

4. 考察

HBs抗原測定はB型肝炎においては診断・経過観察・治療目標として様々な用途として用いられる検査である。今回我々は, 高感度HBs抗原試薬であるルミパルス®HBsAg-HQの基礎性能評価を行う機会を得たため, 基礎性能評価と当院測定法であるHBsAgQTアポットとの相関性について検討を行った。ルミパルス®HBsAg-HQの基礎性能としては同時再現性・日差再現性における陽性コントロールのCVは5%未満と良好で, 精密性が高い結果であった。試薬改良以前に戸来らは相関性における乖離例の中に希釈直線性が得られない検体が存在したことを報告し²⁾, 中村らはHBVのgenotypeA 1例, B 1例, C 2例について希釈直線性を検討しgenotype

		Architect		
		+ >0.05 IU/mL	-	Total
Lumipulse	+ >0.005 IU/mL	100	6	106
	-	0	94	94
	Total	100	100	200

Concordance rate 97.00%
Architect negative specimen:HBcAb positive

Fig. 6 Concordance rate between Lumipulse and Architect

に関係なく直線性が得られない検体が存在することを報告している³⁾。この希釈直線性不良の原因として中村らは希釈直線性が良好な3検体にHBsAb陽性血清を添加することにより直線性が不良になったことなどから抗原抗体複合体の影響を示唆している⁴⁾。今回我々の検討ではランダムに抽出した患者検体5検体について検討を行ったが, 濃度の高低に関係なくいずれも良好な直線性が得られたことより, 試薬改良による効果を確認することができた。陰性検体の分布図からは, 測定感度0.005 IU/mLであるにも関わらず, 陰性検体の平均は0.0002 IU/mLと低値に収束しておりカットオフ値付近がクリアカットな測定が行われていることが確認できた。LoDおよびLoQも良好で, 他報告⁵⁾とも同等であり, 測定感度0.005 IU/mLは妥当であった。患者検体を用いたHBV genotype別感度試験Fig. 5では, No.1 GenotypeAの検体ではArchitectで²⁾で陰性化後に²⁾においてのみ陽性となったが, LumipulseとArchitectは同時測定しており, Architectにおける測定感度0.05IU/mL付近でのバラツキと思われた。Table 4のHBsAg sensitivity panelのSubtype ad 807-8においても同様と考えられた。総合的にはHBV genotype別感度試験やパネル血清からは, ArchitectとLumipulseの測定感度差は10倍以上の差をもってLumipulseが高感度であることが示され, seroconversion panelでは検体採取の日数に開きがあるもののLumipulseはArchitectより11日早い陽転化をしており, 日常ルーチン検査においてもHBV感染におけるHBs抗原のウィンドウピリオドを縮めることが示唆された。この感度差は, HBs抗原陽性患者を経時的

Table 6 Deviation example in correlation

No.	Lumi (IU/mL)	Archi (IU/mL)	HBcAb (S/CO)	HBsAb (mIU/mL)	DNA (Log IU/mL)
1	(+) 0.061	(-) 0.04	(+) 9.3	(+) 148	TND *
2	(+) 0.030	(-) 0.01	(+) 7.7	(-) <2.5	TND *
3	(+) 0.057	(-) 0.01	(+) 7.5	(+) 12.8	TND *
4	(+) 0.124	(-) 0.04	(+) 8.2	(+) 147.1	(+) <1.3
5	(+) 0.018	(-) 0.00	(+) 7.4	(+) 18.5	TND *
6	(+) 0.042	(-) 0.01	(+) 7.1	(+) 6.2	nt **

*TND: Target not detected **nt: not tested

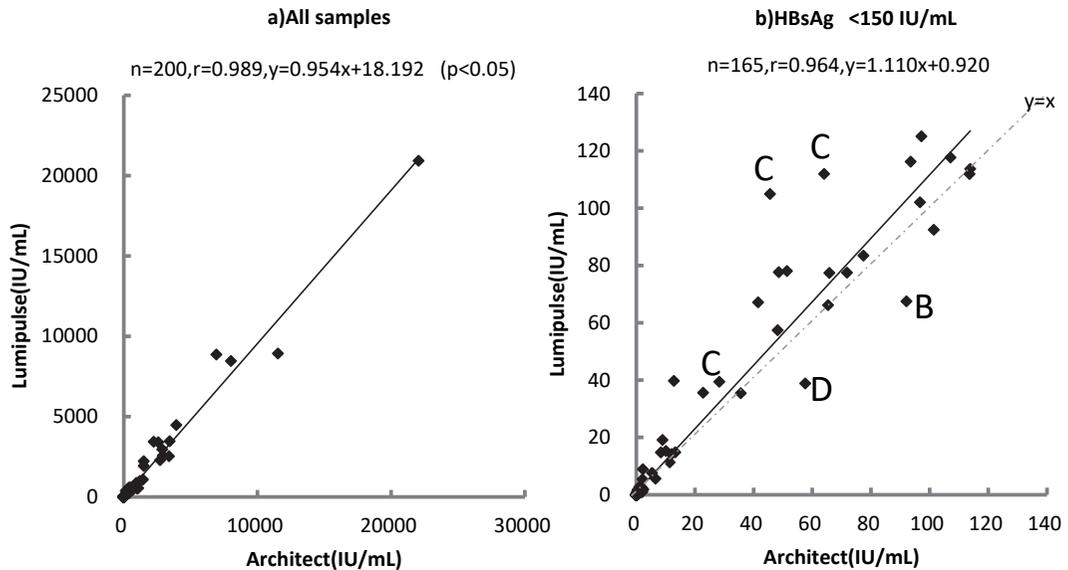


Fig. 7 Correlation between Lumipulse and Architect

に観察した場合にArchitectで陰性化後においてもLumipulseでは検出されることを示唆しており、潜在性HBVをより検出することができることも報告されている⁶⁾。高感度HBs抗原が検出し得るHBs抗原の有用性は、免疫抑制剤や化学療法により発症するB型肝炎を未然に防ぐ上で有用であり、関節リウマチ患者を対象とした前向き検討でも高感度HBs抗原をモニタリングすることでde novo B型肝炎を予防し得たとの報告もある⁷⁾。日本リウマチ学会においても「B型肝炎ウイルス感染リウマチ性疾患患者への免疫抑制療法に関する提言」の中でHBs抗原については高感度測定系での測定を検討する

ようにと記述がなされており⁸⁾、免疫抑制剤や化学療法におけるB型肝炎の予防においてHBs抗原の高感度化は重要である。

HBs抗原が陽性であった場合に行われる抑制試験については、平均92.41%と高率に抑制できており、測定感度付近であったHBs抗原濃度0.0053 IU/mLの検体についても良好であった。HBs抗原濃度が低値となった場合に抑制率が下がる場合があることや50%抑制率以上を陽性と判定する中で、50%前後となる場合に遭遇するが、Lumipulseにおいてはこの11例においては高率に抑制がみられていた。このことは日常ルーチンにおいて、

抑制率が50%前後であるために判定に苦慮する場合や再検率の低下にも貢献できると考えられた。

Architectとの相関性における判定一致率は97.00%と良好であった。判定不一致例はすべてArchitect陰性・Lumipulse陽性であり、HBc抗体陽性であることからHBV既往感染患者検体であり、ArchitectとLumipulseとの測定感度差に起因する乖離と考えられた。Table 6の乖離検体の詳細をみるとHBV-DNAが<1.3 LogIU/mLと陽性であった検体が存在したことから、このような検体における高感度HBs抗原測定の意義は大きく、経時的に測定する中では投薬中止の判断として重要と考える。定量値の相関係数および回帰式は良好であったが、Lumipulseの測定範囲上限である150 IU/mL未満の検体についてみたところ (Fig. 7b) 乖離している検体も散見された。これらの乖離検体についてHBV genotypeが追跡可能であった検体について示しているが、HBV genotypeについてはFig. 5ではgenotype A, B, C, Dにおける感度はLumipulseの方が良好であったが、相関図をみてみるとLumipulse高値検体でgenotype Cが散見されていた。しかしながら、追跡可能であった検体が少なかったために詳細な傾向を確認することはできなかった。Lumipulseにおける高感度化の最大の要因はエンベロープを破壊する前処理とエンベロープの外側だけではなく、HBs抗原の変異がおこりにくい内側リニア構造認識抗体による捕捉であり、これによって変異株による偽陰性の問題⁹⁾を解決し、様々な変異株においても良好な測定値が得られることが報告されている¹⁰⁾。今後は、日本人におけるHBV genotype別やHBs抗原の変異株における他試薬との相関性についても検討したい。

5. 結語

ルミパルス®HBsAg-HQは基本性能に優れており、発売当時に希釈直線性が不良となる検体が一部でみられた点も改善されていることが確認できた。測定感度である0.005IU/mLまで正確に定量できていることが確認され、Architect

では感度 (0.05IU/mL) 以下となるHBV既往感染患者についても検出することができ、臨床的に有用であった。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) B型肝炎治療ガイドライン 第3.1版 日本肝臓学会 肝炎診療ガイドライン作成委員会, 2019年3月.
- 2) 戸来孝, 川崎理一, 遠藤繁之 ほか. ルミパルス Presto II による高感度HBs抗原定量試薬の評価. 医学と薬学 2015;72:1569-1577.
- 3) 中村真大, 石田秀和, 片野由里子 ほか. 高感度HBs抗原定量試薬ルミパルスHBsAg-HQの基礎的検討. 岐阜県臨床検査技師会誌 2015;44:14-17.
- 4) 中村絃子, 山本裕之, 西谷真希 ほか. 高感度HBs抗原測定試薬「ルミパルスHBsAg-HQ」の検討. 平成26年日臨技近畿支部医学検査学会抄録 2014/9/20-21; 神戸: 演題105.
- 5) 吉野直美, 山田依里, 圓田兼三 ほか. 化学発光酵素免疫測定法試薬「ルミパルスHBsAg-HQ」の基本性能に関する検討. 医学検査 2016;65:91-97.
- 6) Shinkai N, Matsuura K, Suguchi F, et al. Application of a newly developed high-sensitivity HBsAg chemiluminescent enzyme immunoassay for hepatitis B patients with HBsAg seroclearance. J Clin Microbiol 2013;51:3484-3491.
- 7) 浦田幸朋. B型肝炎再活性化. 炎症と免疫 2018;26:235-240.
- 8) 日本リウマチ学会. B型肝炎ウイルス感染リウマチ性疾患患者への免疫抑制療法に関する提言 (第4版改訂版). 2014.
- 9) 出口松夫, 鎌田正智, 浅利誠志 ほか. HBs抗原検出感度と変異株検出における7種類の免疫学的測定試薬の評価. 感染症誌 2005;79:138-142.
- 10) 山内恵, 伊佐和貴, 山根誠久 ほか. 脂質エンベロープ可溶化処理を組み合わせた高感度HBs抗原定量試薬の測定精度の評価. 医学と薬学 2013;69:993-999.

化学発光免疫測定法を原理とするサイトメガロウイルス 抗体検査試薬「Alinity CMV-M・アボット」および 「Alinity CMV-G・アボット」の評価

Evaluation of “Alinity CMV IgM” and “Alinity CMV IgG” for the Qualitative Detection of IgM and IgG Antibodies to Cytomegalovirus by Chemiluminescent Immunoassay.

高尾美有紀^{1,2,3)}, 出口松夫²⁾, 吉岡 範^{1,2)}, 鍵田正智^{1,2)},
塚本寛子¹⁾, 田原和子¹⁾, 前田育宏¹⁾, 日高洋¹⁾, 戸邊亨³⁾

要旨 今回我々は、化学発光免疫測定法を原理とするヒトサイトメガロウイルス (human cytomegalovirus; CMV) 抗体測定試薬「Alinity CMV-M・アボット」および「Alinity CMV-G・アボット」(Alinityシステム)の基本性能について、「ARCHITECT CMV-M・アボット」および「ARCHITECT CMV-G・アボット」(ARCHシステム)、「EIA「生研」サイトメガロIgM」および「EIA「生研」サイトメガロIgG」(DENシステム)と比較した。Alinityシステムの測定精度は良好でARCHシステムとの相関性は良好であったが、DENシステムとは乖離した結果となった。また当院医療従事者のCMV-G抗体陽性率について調査した結果、年齢の増加とともに陽性率は上昇した。

Key words Alinity CMV IgM, Alinity CMV IgG, CLIA, cytomegalovirus.

1. はじめに

ヒトサイトメガロウイルス (human cytomegalovirus ; CMV) はヘルペスウイルス科に属するDNAウイルスで、多くは幼少期に不顕性感染を呈し、宿主に潜伏感染したまま無症状で経過する¹⁾。しかしながら、免疫不全状態での感染や再活性化は肝炎や肺炎、脳炎などをはじめとした重篤な全身症状をきたすことがあり、問題となっている^{2,3)}。また、妊娠中に感染を受けた場合、胎盤を経由して胎児へと感染し、先天性CMV感染症を引き起こす。先天性CMV感染症のうち約10%に難聴や小頭症、発達遅延などの症状がみられるが、出生時に無症候であ

ても後に難聴など何らかの症状を呈することもあり、母体が初感染である場合に、よりその症状が重篤化するという報告がある⁴⁾。

わが国におけるCMV抗体の保有率は欧米と比して高く、1990年代には成人の80~90%がCMV抗体陽性であるとされていた^{5,6)}。しかしながら、近年行われた妊婦を対象とした抗体保有率の調査では60%台にまで低下してきており^{7,8)}、先天性CMV感染症児の増加が懸念されている。CMVに対する有効なワクチンは未だ実用化に至っておらず、感染を防ぐためには感染者の体液などに排出されているウイルスとの接触機会を極力減らすことが重要である。感染リスクを把握するため、そして感

Received Sep. 9, 2020; Accepted Dec. 9, 2020
Miyuki TAKAO, Matsuo DEGUCHI, Nori YOSHIOKA, Masanori KAGITA, Hiroko TSUKAMOTO, Kazuko TAHARA, Ikuhiro MAEDA, Yoh HIDAKA, Toru TOBE.

¹⁾大阪大学医学附属病院 臨床検査部
〒565-0871 吹田市山田丘2丁目15番

The laboratory for Clinical Investigation, Osaka university hospital, 2-15, Yamadaoka, Suita 565-0871

²⁾大阪大学医学部附属病院 感染制御部

Division of Infection Control and Prevention, Osaka university hospital

³⁾大阪大学大学院医学系研究科 保健学専攻 生体情報科学講座

Department of Biomedical Informatics, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan
Corresponding author : 高尾美有紀

TEL : 06-6879-6676 FAX : 06-6879-6677

E-mail : mtakao@hosp.med.osaka-u.ac.jp

染や再活性化が疑われる場合には早期の診断および適切な治療介入が必要となるため、IgM型およびIgG型CMV抗体の測定は非常に有用である。

今回我々は、化学発光免疫測定法 (Chemiluminescent immunoassay ; CLIA) を原理とするCMV抗体検査試薬「Alinity CMV-M・アボット」および「Alinity CMV-G・アボット」の基本性能について、「ARCHITECT CMV-M・アボット」および「ARCHITECT CMV-G・アボット」、「EIA「生研」サイトメガロIgM」および「EIA「生研」サイトメガロIgG」と比較検討を行ったので報告する。

2. 材料および方法

1) 材料

大阪大学医学部附属病院臨床検査部に提出された患者血清の残余検体69検体および2017年6月に当院感染症検診を受検した職員の保存血清436検体を用いた。検体は測定まで-60℃にて凍結保存した。なお本研究は、大阪大学医学部附属病院観察研究倫理審査委員会の承認(承認番号:17509, 11183-2)を得て実施した。

2) 方法

「Alinity CMV-M・アボット」および「Alinity CMV-G・アボット」の基本性能評価のため、以下に示す機器およびCMV抗体検査試薬を用い、それぞれの添付文書に従って使用した。

(1) Alinity システム (使用機器: Alinity i システム)

- ① Alinity CMV-M・アボット (Alin-M:アボットジャパン)
- ② Alinity CMV-G・アボット (Alin-G:アボットジャパン)

本システムはCLIAを原理とする2ステップサンドイッチ法である。測定原理は第1ステップで試料、検体希釈液、CMV溶解物固相化磁性粒子および、Alin-MはCMVリコンビナント抗原固相化磁性粒子を反応させる。洗浄後、第2ステップで、Alin-Mはアクリジニウム標識抗ヒトIgMマウスモノクローナル抗体を、Alin-Gはアクリジニウム標識抗ヒトIgGマウスモノクローナル抗体を含むコンジュゲートを加えて反応させる。洗浄後、プレトリガーおよびトリガーを加えることで生じる化学発光強度からIgM型CMV抗体あるいはIgG型CMV抗体の有無を判定する。測定時間はいずれも約36分と短時間で、検体の前処理など煩雑な操作は必要なく、他の検査項目との同時測定も可能である。

(2) ARCHシステム (使用機器: ARCHITECT アナライザー-i2000)

IgM型CMV抗体およびIgG型CMV抗体検査試薬として下記の①および②を用いた。なお、測定原理はAlinityシステムと同様である。

- ① ARCHITECT CMV-M・アボット (ARCH-M:アボットジャパン)
- ② ARCHITECT CMV-G・アボット (ARCH-G:アボットジャパン)
- (3) DENシステム (使用機器: ベーリングELISA プロセッサ-Ⅲ)
 - ① EIA「生研」サイトメガロIgM (DEN-M:デンカ生研)
 - ② EIA「生研」サイトメガロIgG (DEN-G:デンカ生研)

本システムは酵素免疫測定法 (Enzyme immunoassay : EIA)を原理とするマイクロプレート法である。測定原理は、DEN-Mは抗ヒトIgMマウスモノクローナル抗体が、DEN-GはCMV抗原が固相されたマイクロプレートに緩衝液で希釈した試料を加えて反応させる。洗浄後、DEN-MはCMV抗原液を加えて反応させ再び洗浄後POD標識抗CMVマウスモノクローナル抗体を含むコンジュゲートを、DEN-GはPOD標識抗ヒトIgGヤギポリクローナル抗体を含むコンジュゲートを加えて反応させる。洗浄後、酵素による呈色度をベーリングELISA プロセッサ-Ⅲで測定し、IgM型CMV抗体あるいはIgG型CMV抗体の有無を判定する。測定時間はいずれも約210分と長く、測定操作もAlinityやARCHシステムに比して煩雑である。

3. 成績

1) 併行精度

① Alinity CMV-M・アボット (Alin-M)

IgM型CMV抗体濃度の異なる2種類のプール血清を用い、Alin-Mによる10回の重複測定を行った。その結果はTable 1に示すように、Alin-Mの変動係数 (C.V.) は0.00%と3.86%であった。

② Alinity CMV-G・アボット (Alin-G)

IgG型CMV抗体濃度の異なる3種類のプール血清を用い、Alin-Gによる10回の重複測定を行った。その結果はTable 2に示すように、Alin-Gの変動係数 (C.V.) は低濃度より順に0.00%, 3.54%, 2.28%であった。

Table 1 Within-run reproducibility in measurement of CMV IgM antibody by Alinity CMV IgM.

n = 10	sample	
	A	B
mean (Index)	0.30	2.38
range (Index)	0.00	0.30
S.D. (Index)	0.00	0.09
C.V. (%)	0.00	3.78

2) 日常検体におけるIgM型CMV抗体判定値の比較

患者血清69検体について、Alin-M、ARCH-MおよびDEN-Mを用いて測定し、その判定値を比較した。その結果はTable 3に示すように、Alin-Mは陽性11例、保留2例、陰性56例、ARCH-Mは陽性10例、保留2例、陰性57例、DEN-Mは陽性25例、保留15例、陰性29例となり、DEN-Mの判定値が他の2法と異なる結果となった。

3) IgM型CMV抗体判定値の比較における判定不一致検体の詳細

IgM型CMV抗体判定値が不一致であった検体について、Alin-G、Alin-M、ARCH-M、DEN-Mの詳細な測定結果をまとめた。その結果はTable 4に示すように、全ての不一致検体はAlin-MおよびARCH-Mが陰性で

DEN-Mが陽性であった。また、不一致を示した患者における診察記録を調べたが、CMV感染による発症を示唆するような記述は見当たらなかった。

4) 日常検体におけるIgG型CMV抗体判定値および測定値の比較

患者血清69検体について、Alin-G、ARCH-GおよびDEN-Gを用いて測定し、その判定値および測定値を比較した。判定値に関する結果はTable 5に示すように、Alin-Gは陽性66例、保留0例、陰性3例、ARCH-Gは陽性67例、保留0例、陰性2例、DEN-Gは陽性66例、保留3例、陰性0例となり、陽性率はいずれも95%以上となった。測定値に関する結果はFig. 1に示すように、Alin-GとARCH-Gの相関係数は $r = 0.982$ と非常に良好

Table 2 Within-run reproducibility in measurement of CMV IgG antibody by Alinity CMV IgG.

n = 10	sample		
	A	B	C
mean (Index)	0.00	30.50	223.63
range (Index)	0.00	3.00	27.1
S.D. (Index)	0.00	1.08	5.09
C.V. (%)	0.00	3.54	2.28

Table 3 Comparison of the results by Alin-M, ARCH-M and DEN-M in sera from 69 patients.

n = 69	Alin-M	ARCH-M	DEN-M
Positive	11	10	25
Indeterminant	2	2	15
Negative	56	57	29
Positive rate (%)	16.7	15.2	37.9

Table 4 Details of 16 sera with discrepant results among Alin-M and DEN-M in sera from 69 patients.

No.	Alin-G	Alin-M	ARCH-M	DEN-M	Medical record			
	$0.85 \leq \pm < 1.00$	$0.85 \leq \pm < 1.00$	$0.85 \leq \pm < 1.00$	$0.80 \leq \pm \leq 1.20$				
1	+	94.8	-	0.53	-	0.46	+	2.05
2	+	>250.0	-	0.19	-	0.17	+	1.95
3	+	205.5	-	0.20	-	0.16	+	1.30
4	+	>250.0	-	0.18	-	0.17	+	1.23
5	+	>250.0	-	0.22	-	0.22	+	1.32
6	+	>250.0	-	0.18	-	0.16	+	1.33
7	+	>250.0	-	0.30	-	0.30	+	3.73
8	+	>250.0	-	0.17	-	0.14	+	1.43
9	+	104.8	-	0.71	-	0.69	+	2.29
10	+	>250.0	-	0.34	-	0.29	+	1.43
11	+	46.7	-	0.34	-	0.30	+	1.35
12	+	177.2	-	0.74	-	0.60	+	1.45
13	+	>250.0	-	0.16	-	0.15	+	1.72
14	+	205.0	-	0.41	-	0.35	+	5.22
15	+	199.0	-	0.18	-	0.15	+	4.46
16	+	>250.0	-	0.45	-	0.36	+	1.48

Table 5 Comparison of the results by Alin-G, ARCH-G and DEN-G in sera from 69 patients.

n = 69	Alin-G	ARCH-G	DEN-G
Positive	66	67	66
Indeterminant	0	0	3
Negative	3	2	0
Positive rate (%)	95.7	97.1	95.7

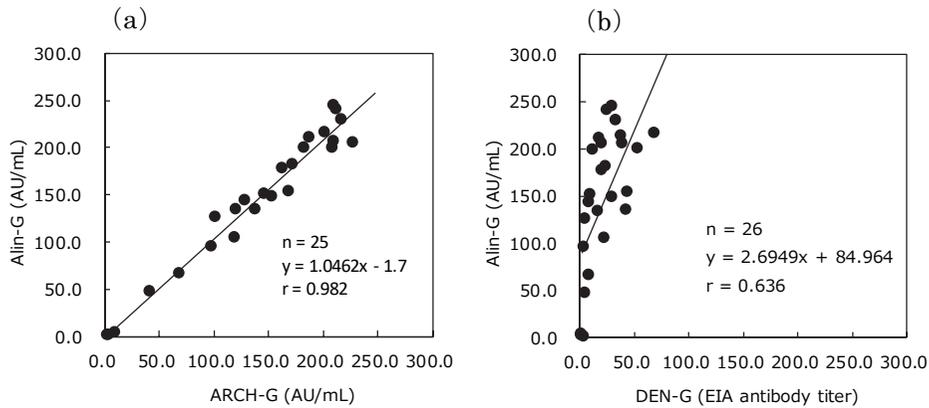


Fig. 1 Correlation of CMV IgG values between two different methods and Alin-G.

- (a) Alin-G vs ARCH-G
- (b) Alin-G vs DEN-G

Table 6 Positive rates of Cytomegalovirus IgG antibody in healthcare workers at Osaka University Hospital.

Age group	all	< 30	30~<40	40~<50	50~<60	60-65	
Number	436	100	100	100	100	36	
CMV	Positive	312	60	74	74	75	29
	Negative	124	40	26	26	25	7
IgG	Positive rates (%)	71.6	60.0	74.0	74.0	75.0	80.6

であったが、Alin-GとDEN-Gの相関係数は $r = 0.636$ と乖離していた。

5) 当院医療従事者のIgG型CMV抗体陽性率

当院の医療従事者436名の血清を試料とし、Alin-Gにて測定した。その結果はTable 6に示すように、20歳代で60.0% (60/100)と最も低く、30歳代および40歳代で74.0% (74/100)、50歳代で75.0% (75/100)、60歳以上では80.6% (29/36)と年齢が増加するにつれ抗体陽性率も高くなり、全体では71.6% (312/436)という結果となった。

4. 考 察

今回我々は、CLIAを原理とするCMV抗体検査試薬「Alinity CMV-M・アポット」および「Alinity CMV-G・アポット」の基本性能について評価を行った。

Alin-MおよびAlin-Gの測定精度を評価するために、濃度の異なる複数のプール血清を用いて併行精度の検討を行ったところ、変動係数はいずれも5%以下と良好な再現性を示し、精度の高い測定法であることが明らかとなった。

IgM型CMV抗体に関する日常検体を用いた検討で

は、Alin-MとARCH-Mの判定一致率は97.1%と良好な結果が得られたが、Alin-MとDEN-Mの判定一致率は53.6%と大きく乖離した結果となった。Alin-MとDEN-Mの判定不一致検体16例の詳細はTable 4に示した通りであるが、全ての検体はAlin-Mが陰性でDEN-Mが陽性であった。また、Alin-Gの測定結果を見ると、全て陽性かつ測定値も高値となっている検体が多かった。さらに電子カルテの診察記録にてCMV感染に伴う症状などを調べたが、発症を示唆するような記述は見当たらなかった。これらのことから、判定不一致となった16例はDEN-Mの偽陽性あるいは僅かな既往抗体を捉えたものと推測される。IgM型CMV抗体は、CMV感染症の初期だけでなく、再感染や再活性化の際にも検出されることがあり、CMV感染症を診断する上で重要な情報となりうるが、診断に用いる際にはペア血清による測定を行い、抗体価の変動を観察して総合的に判断する必要がある。

IgG型CMV抗体に関する日常検体を用いた検討では、判定値に関してはいずれも陽性率が95%以上と近似した結果となった。一方、測定値に関しては、相関関係を調べたところ、Alin-GとDEN-Gでは乖離が見られた。これは2法ともが定性法であることに加え、測定原理や使用抗原および抗体などが異なることが原因と考えられる。定性検査の測定値は本来報告すべきではないが、臨床からの要望により併記して報告している施設が多数存在している。Alin-GとDEN-Gのように判定一致率は良好であっても測定値が一致しない試薬もあるため、臨床現場では試薬の特徴をよく理解して使用し、抗体の増減を評価するためには同一試薬を用いる必要がある。

今回行った検討では、Alinityシステム（Alin-M、Alin-G）の測定精度は良好であり、ARCHシステム（ARCH-M、ARCH-G）と良好な相関性があることが確認された。両システムは、いずれもアボットジャパン合同会社から発売されている機器および試薬であり、測定機器は異なるものの測定原理や反応工程は同様であるため、予想通りの結果であった。ARCHシステムに関しては、これまでに他試薬と比較検討した研究報告があり、喜多らの報告ではARCH-Mは世界的に広く普及しているエンザイグノストBサイトメガロ/IgM（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス）と比較して、感度および特異度は同等の性能を有していると評価されている⁹⁾。また、熊田らの報告では、セロコンバージョンパネルを用いた感度試験において、ARCH-MはDEN-Mと同等の感度を有し、ARCH-GはDEN-Gと比較して10日ほど早く陽性化するなど良好な感度を有し

ていることが記載されている¹⁰⁾。今回検討したAlinityシステムは、ARCHシステムと同様に良好な基本性能を有し、日常検査試薬として有用であると思われる。

また、当院医療従事者におけるIgG型CMV抗体保有率の調査では、20歳代で60.0%と最も低く、年齢が増加するにしたがって陽性率も高くなる傾向が見られた。CMV感染者は血液や尿、唾液などの体液中にウイルスを排出しており、それらに触れる機会の多い医療従事者はCMV感染のリスクも高いと考えられる。CMVに対する有効なワクチンは実用化されておらず、感染予防には適切なタイミングでの手指衛生の実施や防護用具の使用を徹底することが重要である。これは職員の健康を守るためだけでなく、免疫不全状態でCMV感染のリスクが高い患者へ感染伝播させないためにも重要である。医療従事者はCMV感染における現状を正しく認識し、感染予防に努めながら職務に当たる必要があると思われる。

5. 結論

CLIAを原理とするCMV抗体検査試薬「Alinity CMV-M・アボット」および「Alinity CMV-G・アボット」の測定精度は良好であり、既存の検査試薬と比較して感度および特異度は同等で、日常検査試薬として有用であると思われる。

本論文の要旨は、日本臨床検査自動化学会第50回大会にて発表した。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) 南嶋洋一. サイトメガロウイルス. 最新内科学大系 1994;26:147-154.
- 2) Pass RF, Griffiths PD, August AM. Antibody response to cytomegalovirus after renal transplantation: comparison of patients with primary and recurrent infections. *J Infect Dis* 1983;147:40-46.
- 3) Hecker M, Qiu D, Marquardt K, et al. Continuous cytomegalovirus seroconversion in a large group of healthy blood donors. *Vox Sang* 2004;86:41-44.
- 4) Fowler KB, Stagno S, Pass RF, et al. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *New England Journal of Medicine* 1992;326:663-667.
- 5) Kamada M, Komori A, Chiba S, et al. A prospective study of congenital cytomegalovirus infection in Japan. *Scand J Infect Dis* 1983;15:227-232.

- 6) Numazaki K, Fujikawa T, Chiba S. Relationship between seropositivity of husbands and primary cytomegalovirus infection during pregnancy. *J Infect Chemother* 2000;6:104-106.
- 7) Taniguchi K, Watanabe N, Sato A, et al. Changes in cytomegalovirus seroprevalence in pregnant Japanese women-A 10-year single center study. *J Clin Virol* 2014;59:192-194.
- 8) Shigemi D, Yamaguchi S, Otsuka T, et al. Seroprevalence of cytomegalovirus IgG antibodies among pregnant women in Japan from 2009-2014. *Am J Infect Control* 2015;43:1218-1221.
- 9) 喜多美文, 出口松夫, 鍵田正智, ほか. 化学発光免疫測定法によるサイトメガロウイルスIgM検査試薬「ARCHITECT CMV IgM」の評価. *日本臨床検査自動化学会誌* 2015;40:1307-1309.
- 10) 熊田洋高, 田中一平, 吉村徹. 全自動化学発光免疫測定装置を用いた血中CMV IgGおよびCMV IgM測定試薬 (アーキテクト(R)・CMV-Gおよびアーキテクト(R)・CMV-M) の基礎. *医学と薬学* 2015;72:1087-1094.

投稿規定

投稿規定が改定されました。
令和3年5月1日以降の投稿に適用します。

(令和元年10月5日改定)

1. 医療検査と自動化（日本医療検査学会誌）に投稿される論文は、臨床検査に関する新知見（自動化に限定せず機器・試薬の検討でも可）のあるもので、他誌に発表されていないものとする。すでにその内容の一部を学会などで発表したものは、その旨を論文末尾に記載する。
2. 投稿者（連名者も含む）は本学会の会員に限る。連名者は臨時会員（論文投稿用）でも可とする。
3. 投稿論文の種類は、原著、技術、症例、短報とする。
機器・試薬の検討は技術へ投稿されたい。原著は、技術の開発・改良、臨床的評価など一歩進めたオリジナリティーのあるもの、または、他の機器・試薬との比較検討を詳細に行い、臨床検査の進歩に寄与するものとする。症例は検査値が臨床的または技術的に興味ある報告とする。
4. 投稿にあたっては、本誌の原稿作成要領に従う。論文投稿に際しては、（一社）日本医療検査学会「医学研究の利益相反（COI）に関する指針に従って、筆頭著者およびCorresponding author（連絡責任者）は「医療検査と自動化 COI申告書」（様式2-Aまたは様式2-B）を提出しなければならない。また、指定の著者チェックリストを添付する。規定に沿わない場合は、返却あるいは訂正を求めることがある。
5. 投稿論文は、いずれも編集委員会の審査により論文の種類（原著、技術など）および採否を決定する。
6. 投稿論文の著作権は日本医療検査学会に帰属するものとする。
7. Corresponding author（連絡責任者）を表紙に明記する。Corresponding authorは論文の審査過程に関わる連絡担当者となるほか、当該論文の責任を負う。
8. 研究倫理に関して：ヒトを対象とした臨床に関する論文はヘルシンキ宣言に沿ったものであること。また、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（文部科学省、厚生労働省）を遵守すること。遺伝学的検査に関しては、「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」（文部科学省、厚生労働省、経済産業省）に従うこと。臨床検査を終了した検体を用いた研究に関しては、「臨床検査を終了した残余検体（既存試料）の業務、教育、研究のための使用について—日本臨床検査医学会の見解—」（2018年1月に公表。日本臨床検査医学会ホームページから閲覧可能）を参照のこと。動物実験については、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（日本学術会議）に従うこと。必要な際、当該研究が各施設内の倫理委員会等の承認のもとに行われたことを明記する。

原稿作成要領

1. 投稿原稿はA4判用紙にWordファイルで作成した1行40字×1ページ40行（1600字）の原稿をプリントアウトしたものを原則とする。書体は日本語は明朝体、英語はCentury体を本文の基本書体とし、図表はExcel、WordまたはPowerPointファイルで作成する。欧文と数字は1文字のときは全角、2文字以上は半角で入力する。数字と単位の間には半角スペースを入れて記述する。また、入力ソフト名・タイトル・著者名・所属機関名を明記した電子媒体（CDなど）を提出する。原稿の表紙には次の事項を記載する。
 - 1) 表題（和文および英文）
 - 2) 著者名（和文および英文）
 - 3) 所属機関名とその住所（和文および英文）
 - 4) 原著、技術、症例、短報いずれを希望かを明記（英文の例：Koki MOTEGI）
2. 原著原稿は次の順序に配列することが望ましい。
 - (1)表紙（1. 参照）(2)本文（i 参照）、(3)表、(4)図（写真など）とその説明
 - i. 本文は、要旨（英文で200語以内）、キーワード（英文で5項目以内）。はじめに、材料および方法（測定機器、測定原理など）、成績、考察、結論、文献の順序に記載する。
 - ii. 文献は必要最低限にし、引用順に番号をつけ、本文最後に一括して記載する。本文中の引用箇所には肩付きで、右片括弧に入れて記載する。文献の記載法を別表1に示す。
3. 技術原稿もこれに準ずる、但し英文要旨に替えて和文要旨を要する。
4. 原著の規定頁数は原則として1編につき刷り上がり8頁以内、技術および症例は6頁以内とする（1頁分は1600字に相当する）。
図と表は、あわせて10枚以内とする（図表は1枚、400字に相当する）。
短報は刷り上がり2頁以内、図と表はあわせて3枚以内とする。

	英文要旨	和文要旨	本文原稿枚数 (1枚1600字)	図表	刷上り頁数
原著	200語	—	8枚以内	10枚以内	8頁以内
技術	—	250字	6枚以内	10枚以内	6頁以内
症例	—	250字	6枚以内	10枚以内	6頁以内
短報	—	—	2枚以内	3枚以内	2頁以内

上記の規定頁数を超過した場合はその分の実費を徴収する。

- 文章は、口語体、当用漢字、新かな遣いとし、横書き。句読点、括弧は1字分を要し、改行のさいは、冒頭1字分あける。外国人名は原語とし、地名は適宜とする。外来語で日本語化したものはカタカナで、ほかは外国語綴りのままとする。
- 図・表タイトルの内容、説明は英文で、別紙にまとめて記載する。原則として原図を送付すること。また、図・表・写真は1枚ごと別紙にして通し番号を入れ、本文原稿の欄外に挿入箇所を明示する。当方でトレースを必要とする場合、あるいはカラー印刷を希望する場合は、実費を徴収する。
- 度量衡の単位は漸次SI単位による表現を採用するが、差し当り別表2に示すようにする。
- HbA1cの表記については、日本糖尿病学会の指針に基づき、NGSP値を用い、HbA1c値の初出にNGSP値であることを明記する。
- 投稿原稿が英文の場合も和文の規定に準ずるが、この際には和文抄録(800字以内)も示す。
- 別刷は最低50部として実費を請求する。別刷の部数は編集委員会から著者校正時に問い合わせる。
- 投稿論文は、オリジナル原稿1部、電子媒体(CDなど)を下記に送付する。

〒113-0033 東京都文京区本郷2-31-2 (笠井ビル)

「医療検査と自動化」編集委員会宛

Tel. 03-3818-3205/Fax. 03-3818-6374 E-mail:t-gaku@gk9.so-net.ne.jp

別表1 引用文献

著者名は3名以内の場合は連記、4名以上は第4著者以降をほか(英文の場合はet al.)とする。英文は姓、名(イニシャル)の順とする。雑誌名は略記とする。

(雑誌)

著者名、論文タイトル、雑誌名、発行年(西暦):巻:頁-頁(通巻頁で最初と最後)。

例) 奈良信雄, 室橋郁夫, 松本文枝ほか. マイコプラズマ感染症の診断におけるDNAプローブ法の有用性に関する研究. 感染症誌 1991; 65: 1527-1532

Thue G, Gordon MK, Gerecke DR, et al. Survey of office laboratory tests in general practice. Scand J Prim Health Care 1994; 12: 77-83.

(単行本)

著者名、論文タイトル、編者名、書名、版、出版社名:発行地、発行年(西暦)頁-頁。

例) 三橋知明, 甲状腺ホルモン受容体異常, 中井利昭ほか編, 遺伝子診断実践ガイド, 第1版, 中外医学社:東京, 1995: 185-188.

Goldfin A Adrenal medulla. In: Greenspan FS, Baxter JD, eds, Basic & Clinical Endocrinology, 4th ed, Appleton & Lange: Conneticut, 1994: 370-389.

(抄録集)

発表者名、演題名、抄録集名(学会誌名 発行年(西暦)巻):頁

例) 佐藤勇樹, 近藤崇, 盛合美加子ほか. 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)新規検出法の検出率に関する検討. 日本医療検査学会第52回大会抄録集(医療検査と自動化2020: 45(4)): 446.

(ただし、基本的には本学会の抄録集より引用することとする)

別表2 度量衡の単位

a) 接頭語には次のものを用いる。

10^{-18} =a (atto)	10^{-6} = μ (micro)	10=da (daca)	10^9 =G (giga)
10^{-15} =f (femto)	10^{-3} =m (milli)	10^2 =h (hecto)	10^{12} =T (tera)
10^{-12} =p (pico)	10^{-2} =c (centi)	10^3 =k (kilo)	10^{15} =P (peta)
10^{-9} =n (nano)	10^{-1} =d (deci)	10^6 =M (mega)	10^{18} =E (exa)

b) 接頭語を二重に用いない。 $\mu\mu\text{g}$ ($\gamma\gamma$) \rightarrow μg

c) 長さに関する単位は $\text{m}\mu \rightarrow \text{nm}$, $\text{\AA} \rightarrow 0.1\text{nm}$ (あるいは100pm), $\mu \rightarrow \mu\text{m}$ などとする。

d) 容量の単位は「L」を用い、 dm^3 , cc, cm^3 などを用いない。 $\text{dm}^3 \rightarrow \text{L}$, $\text{cc} \rightarrow \text{mL}$, $\text{mm}^3 \rightarrow \mu\text{L}$

e) 濃度に関する単位は、モル濃度はmol/Lとし、慣用としてmol/LをMとしてもよい。その他はmg/dL, g/dL, g/Lなどとす。分母を「L」におきかえることが望ましい。 $7\text{g/dL} \rightarrow 70\text{g/L}$, $100\text{mg/dL} \rightarrow 1\text{g/L}$ (1,000mg/L) 原則として分母に接頭語をつけない。分子量の確定しているものは漸次モル濃度におきかえることが望ましい。

f) $\text{mol/min/L} \rightarrow \text{mol}/(\text{minL}^{-1})$, または $\text{mol min}^{-1}\text{L}^{-1}$ とする。

追記

標準化に関連した用語の定義や意味については「JCCLS 用語委員会: 臨床検査関係 ISO国際規格の用語とその邦訳語(ver.11). 日本臨床検査標準協議会誌 18(1): 3-41, 2003」を参照する。なお、CLSI(IHNCCLS)のwebsite (<http://www.clsi.org>)でも検索できる。

「医療検査と自動化」論文投稿時の著者チェックリスト

1. 投稿者は（一社）日本医療検査科学会会員であるか
2. 同じ内容の論文を他誌に発表していないか
3. 研究倫理に関して投稿規定に沿っているか
4. 論文の内容が施設内倫理委員会の承認を必要とする際は、承認を得ている旨、明記しているか
5. 論文の体裁について
 - (a) 表紙に (1)表題、(2)著者名、(3)所属機関名とその所在地 (4)論文の種類（原著、技術、症例、短報）を明示しているか
 - (b) 原稿の字数は原稿作成要領に沿っているか
(原著：本文は A4判用紙（40字×40行=1600字）8枚以内、図表は10枚以内、技術・症例：本文は6枚以内、図表は10枚以内、短報：本文は2枚以内、図表は3枚以内)
 - (c) 論文の体裁（配列）は原稿作成要領に沿っているか
 - (d) 原著の場合、要旨は英文で記載されているか
 - (e) 図表のタイトル、説明文は英文で記載されているか
 - (f) 本文中に図表の挿入箇所を明示しているか
 - (g) 引用文献の記載方法は原稿作成要領に沿っているか
 - (h) 度量衡の単位は原稿作成要領に沿っているか
 - (i) 原稿にページ数を記載しているか
 - (j) Corresponding author（連絡責任者）および連絡先を記載しているか
6. 全著者は本論文投稿への関与を確認し、自署して下さい。

著者名	会員番号 または臨時会員

著者名	会員番号 または臨時会員

- 付記 1. 論文の内容は臨床検査に関する新知見のあるもので、他誌に未発表のものに限ります。
2. 掲載された論文の著作権は全て（一社）日本医療検査科学会に帰属します。
3. 論文の表紙にCorresponding author（連絡責任者）および連絡先を記載すること。
4. 会員または臨時会員の登録手続き中の場合は、その旨記載して下さい。

様式 2-A (論文投稿用)

医療検査と自動化 (日本医療検査科学会誌) COI 申告書
(筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) が企業に属さない場合)

著者名: _____

(共著者を含む)

論文題名: _____

(筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) について、投稿時から遡って過去 2 年以内での論文内容に関する企業・組織または団体との COI 状態を記載)

項目	該当の状況	有であれば著者名：企業名などの記載
① 本人あるいは配偶者、一親等の親族の営利を目的とする企業・法人組織・団体の社員、役員、顧問職への就任 1つの企業・組織や団体からの報酬額が年間100万円を超えた場合.	有 ・ 無	
② 株式の利益 1つの企業から年間100万円を超えた場合、あるいは当該株式の5%以上保有	有 ・ 無	
③ 特許使用料 1つにつき年間100万円を超えた場合	有 ・ 無	
④ 講演料 1つの企業・団体からの年間合計100万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑤ 原稿料 1つの企業・団体から年間合計100万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑥ 研究費・助成金などの総額 1つの企業・団体からの研究経費を共有する所属部局 (講座、分野あるいは研究室など) に支払われた年間総額が100万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑦ 奨学 (奨励) 寄付金などの総額 1つの企業・団体からの奨学寄付金を共有する所属部局 (講座、分野あるいは研究室など) に支払われた年間総額が100万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑧ 企業などが提供する寄付講座 (企業などからの寄付講座に所属している場合に記載)	有 ・ 無	
⑨ 旅費、贈答品などの受領 1つの企業・団体から年間5万円を超えた場合	有 ・ 無	

(本 COI 申告書は論文掲載後 2 年間保管されます)

(申告日) 年 月 日

筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) (署名) _____ (印)

(何れかに○)

* 筆頭著者、Corresponding author (連絡責任者) は各々記載すること

様式 2-B (論文投稿用)

医療検査と自動化 (日本医療検査科学会誌) COI 申告書
(筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) が企業に属する場合)

著者名 : _____

(共著者を含む)

論文題名 : _____

私は (〇〇株式会社) の社員であり、本研究に関わる費用等は所属企業の経費等にて支払われています。
(上記を参考に記載)

(申告日) 年 月 日
筆頭著者・Corresponding author (連絡責任者) (署名) _____ ④
(何れかに○)

*筆頭著者、Corresponding author (連絡責任者) は各々記載すること

特別賛助会員

アークレイマーケティング(株)	160-0004	東京都新宿区四谷1-20-20 大雅ビル 3F
シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス(株)	141-8673	東京都品川区大崎1-11-1ゲートシティ大崎ウェストタワー
シスメックス(株)	651-2241	兵庫県神戸市西区室谷1-3-2
(株)テクノメディカ	224-0041	神奈川県横浜市都筑区仲町台5-5-1
(株)日立ハイテック	105-8717	東京都港区虎ノ門1-17-1 虎ノ門ヒルズビジネスタワー
富士フイルム和光純薬(株)	103-0023	東京都中央区日本橋本町2-4-1 日本橋本町東急ビル 6F

賛助会員

アイ・エル・ジャパン(株)	108-0073	東京都港区三田1-3-30 三田神田ビル
(株)アイディエス	861-8031	熊本県熊本市東区長嶺東8-14-30
アボットジャパン(同)	108-6305	東京都港区三田3-5-27 住友不動産三田ツインビル西館
アルフレッサファーマ(株)	540-8575	大阪府大阪市中央区石町2-2-9
(株)エイアンドティー	221-0056	神奈川県横浜市神奈川区金港町2-6 横浜プラザビル
栄研化学(株)	110-8408	東京都台東区台東4-19-9 山口ビル7
(株)エクセル・クリエイツ	542-0081	大阪府大阪市中央区南船場1-16-13 堺筋ベストビル 5F
(株)LSIメディエンス	101-8571	東京都千代田区内神田1-13-4 THE KAITTEKIビル
オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス(株)	141-0032	東京都品川区大崎1-11-2 ゲートシティ大崎イーストタワー
(株)カイノス	113-0033	東京都文京区本郷2-38-18
関東化学(株)	103-0022	東京都中央区日本橋室町2-2-1
キヤノンメディカルシステムズ(株)検体検査システム営業部	212-0015	神奈川県川崎市幸区柳町70-1
極東製薬工業(株)	103-0024	東京都中央区日本橋小舟町7-8
合同酒精(株)酵素医薬品研究所	271-0064	千葉県松戸市上本郷字仲原250
(株)シノテスト	101-8410	東京都千代田区神田駿河台3-7-9
(株)CGI	106-0041	東京都港区麻布台1-7-3 神谷町スクエアビル 8F
積水メディカル(株)	103-0027	東京都中央区日本橋2-1-3
セラビション・ジャパン(株)	220-0004	神奈川県横浜市西区北幸1-11-5 相鉄KSビル 9F
テルモ(株)	163-1450	東京都新宿区西新宿3-20-2 東京オペラシティタワー 49F
デンカ(株)	103-8338	東京都中央区日本橋室町2-1-1
東京貿易メディシス(株)	191-0052	東京都日野市東豊田1-14-21
東ソー(株)	105-8623	東京都港区芝3-8-2
東洋鋼鈹(株)技術研究所	744-8611	山口県下松市東豊井1296
日水製薬(株)	110-8736	東京都台東区上野3-24-6 上野フロンティアタワー 20F
ニッポー・ボー・メディカル(株)	102-0083	東京都千代田区麹町2-4-1 麹町大通りビル
ニプロ(株)	531-8510	大阪府大阪市北区本庄西3-9-3
日本光電工業(株)	161-8560	東京都新宿区西落合1-31-4
日本電子(株)	100-0004	東京都千代田区大手町2-1-1 大手町野村ビル 13F
ノバ・バイオメディカル(株)	108-0073	東京都港区三田3-13-16 43 MTビル7F
バイオ・ラッド ラボラトリーズ(株)	140-0002	東京都品川区東品川2-2-24 天王州セントラルタワー
ピオメリュー・ジャパン(株)	107-0052	東京都港区赤坂2-17-7 赤坂溜池タワー 2F
日立化成ダイアグノスティックス・システムズ(株)	104-6004	東京都中央区晴海1-8-10
(株)日立製作所	110-0015	東京都台東区東上野2-16-1 上野イーストタワー 8F
富士フイルムメディカル(株)	106-0031	東京都港区西麻布2-26-30 富士フイルム西麻布ビル
富士フイルム和光純薬(株)三重工場	510-1222	三重県三重郡菰野町大原東2613-2
富士レビオ(株)	163-0410	東京都新宿区西新宿2-1-1 新宿三井ビル
古野電気(株)	662-0934	兵庫県西宮市西宮浜2-20
平和物産(株)	550-0012	大阪府大阪市西区立売堀1-3-13
ベックマン・コールター(株)	135-0063	東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー 13F
(株)ベリタス	105-0013	東京都港区浜松町1-10-14 住友東新橋ビル3号館 5F
(株)ヘレナ研究所	330-0061	埼玉県さいたま市浦和区常盤9-21-19
(株)堀場製作所	601-8510	京都府京都市南区吉祥院宮の東町2
(株)ミズホメディー	841-0048	佐賀県鳥栖市藤木町5-4
メルク(株)メルクミリポア事業本部	153-8927	東京都目黒区下目黒1-8-1 アルコタワー 5F
ラジオメーター(株)	140-0001	東京都品川区北品川4-7-35
ロシュ・ダイアグノスティックス(株)	105-0075	東京都港区港南1-2-70 品川シーズンテラス

(令和3年2月26日現在)

編集後記

本号には、総説、第52回大会シンポジウム講演要旨14編、技術論文2編が掲載されています。

総説は、「エクソソームのノンコーディングRNA：新規バイオマーカーとしての可能性」について旭川医科大学臨床検査医学講座の藤井聡先生がご専門の立場から執筆されています。細胞から分泌される細胞外小胞(extracellular vesicles, EVs)のエクソソームは、エンドサイトーシスにより形成される細胞内小胞構造であるエンドソームを由来としています。エクソソームに存在する短鎖ノンコーディングRNAであるmiRNAと長鎖ノンコーディングRNAであるlncRNAとががんや動脈硬化の病態との関連など、ご自身の成績も交えて新規バイオマーカーとしての可能性についてわかりやすく解説されています。注目される新しい概念について理解を深めることができる総説をお読みください。

日本医療検査学会第52回大会は、新型コロナウイルス感染症の拡大に伴い、2020年10月1日～31日に横田浩

充大会長の下オンデマンド開催されました。本号には、シンポジウム「分子病理検査と検体検査の連携」から4編、「将来を見据えた卒前臨床検査技師教育の改革」から2編、「国際的なハーモナイゼーション時代を迎えたわが国の酵素活性測定法」から4編、「これからの生理学的検査 生理学的検査における検体検査データの活かし方」から3編、「これからの血液学検査」から1編の講演要旨が掲載されています。どれも、日本医療検査学会として開催されました最初の大会のシンポジウムに相応しい充実した内容の講演要旨となっていますので、是非参考にさせていただきたいと思います。

技術論文2編は、高感度HBs抗原測定試薬ならびにサイトメガロウイルス抗体検査試薬に関するもので、どちらも詳細に検討された本誌に相応しい充実した論文です。

本号を読者諸氏の業務ならびに研究に役立たせていただければ幸いです。
(村上正巳)

「医療検査と自動化」編集委員会

編集委員長 高橋 聡

副編集委員長 石井潤一

編集幹事 村上正巳、盛田俊介、横田浩充

編集委員 阿部正樹、池田勝義、石井良和、磯部和正、渭原 博、氏家真二、大久保滋夫、岡野芳幸、長田 誠、萱場広之、栢森裕三、康 東天、澤部祐司、静 怜子、澁谷和俊、メ谷直人、白井秀明、清宮正徳、千本松孝明、竹越一博、通山 薫、中山智祥、永井正樹、南木 融、野村文夫、萩原三千男、春木宏介、菱沼 昭、日高 洋、藤巻慎一、松尾収二、三島清司、三橋知明、行正信康、和田隆志

英文校閲 S. Bernice Miwa

医療検査と自動化（日本医療検査学会誌）

—Clinical Laboratory Science Journal—

第46巻 第2号（通巻第256号） 2021年4月1日発行

発行 一般社団法人 日本医療検査学会

制作 「医療検査と自動化」編集委員会

発行人 萱場広之

〒113-0033 東京都文京区本郷2-31-2

事務所 〒113-0033 東京都文京区本郷4-2-5

Tel. 03-3818-3205 Fax. 03-3818-6374

Tel. 03-3813-6635 Fax. 03-3813-6679

e-mail : t-gaku@gk9.so-net.ne.jp

ホームページ <https://jcls.or.jp> e-mail : office@jcls.or.jp

送付先変更等の手続きのご案内

入会・送付先変更・退会のご用命は、本学会ホームページに記載しております「会員マイページ」より手続きが行えます。補冊購入のご注文は上記学会事務所までE-mail・Fax・郵送にてご連絡下さい。