

2024年10月6日

日本医学検査科学会第56回大会

血液検査技術セミナー

FCMにおけるgatingの重要性について

国立がん研究センター中央病院臨床検査科

坪倉 美里



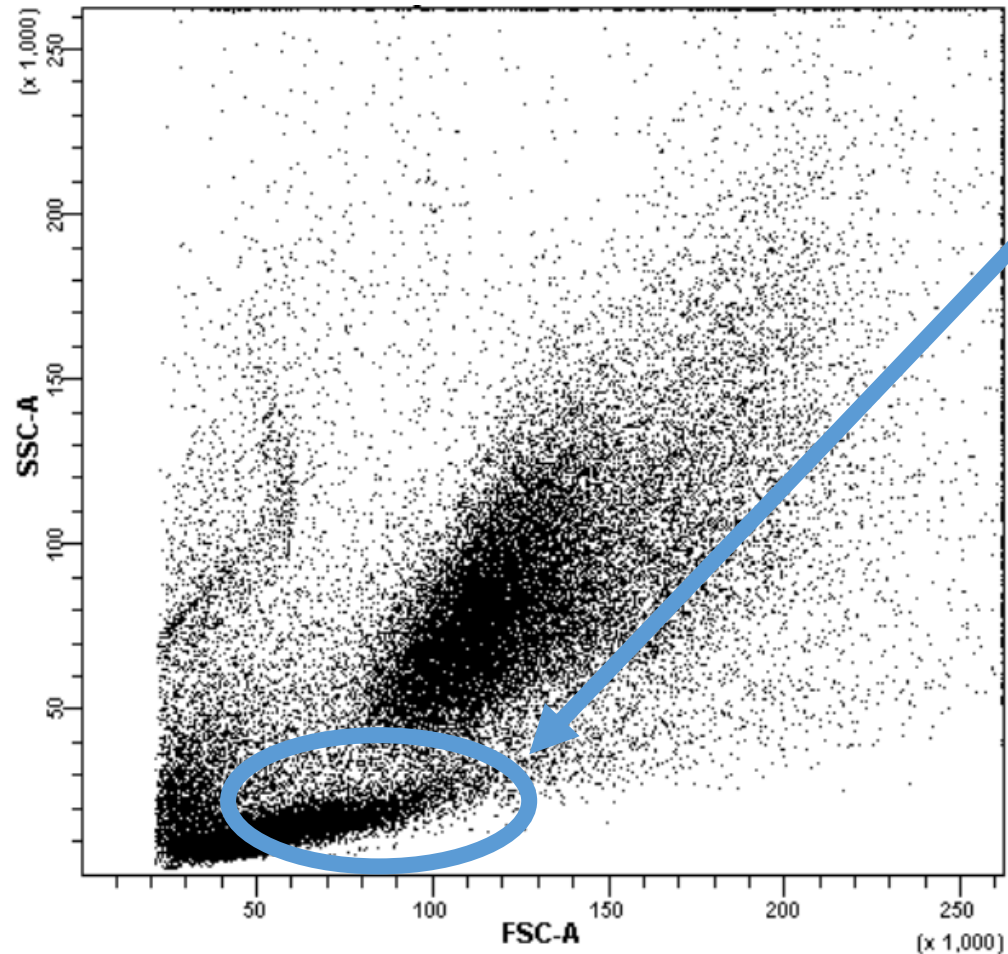
国立研究開発法人
国立がん研究センター
National Cancer Center Japan

一般社団法人 日本医療検査科学会
COI（利益相反） 開示

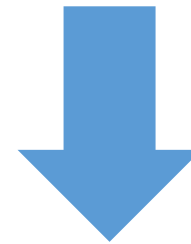
発表者名： 坪倉 美里

本演題発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

フローサイトメトリー (FCM) におけるgatingとは



対象領域 (目的とする細胞)
を絞り込む



目的とする細胞の表面抗原の
発現パターンを知ることができる

細胞の系統・分化段階が分かる

つまり適切なgatingができないと…

目的とする細胞を絞り込めない

異常細胞を見逃す可能性がある！！



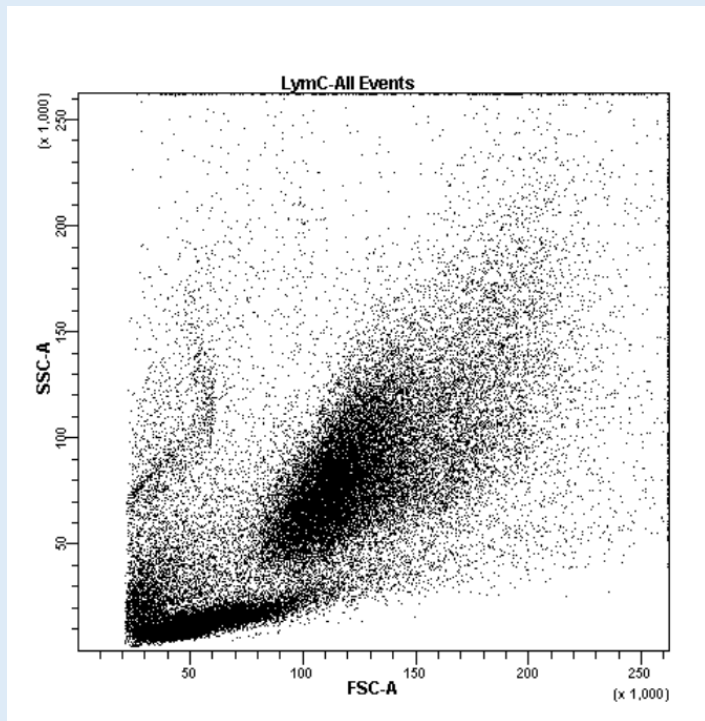
■ 本日の内容

1. gatingの基礎知識

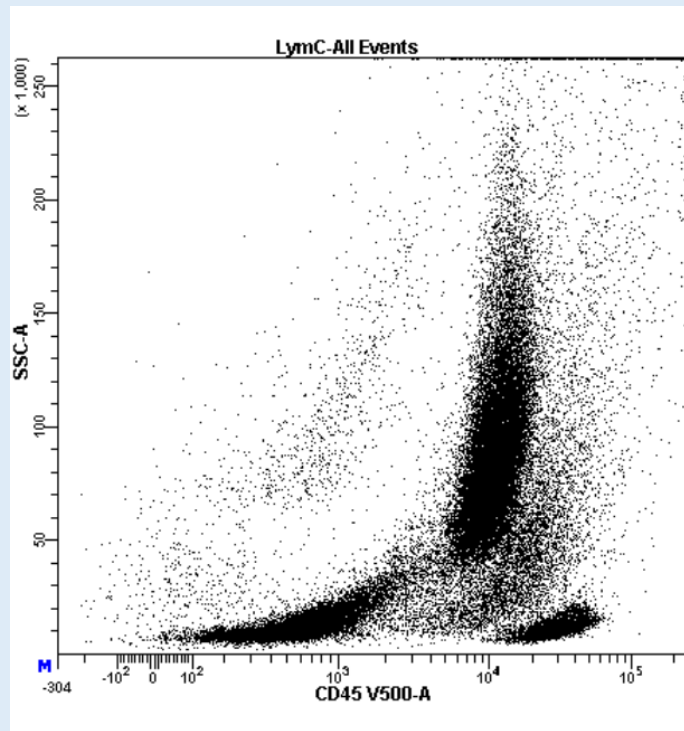
2. 症例

gating法の種類

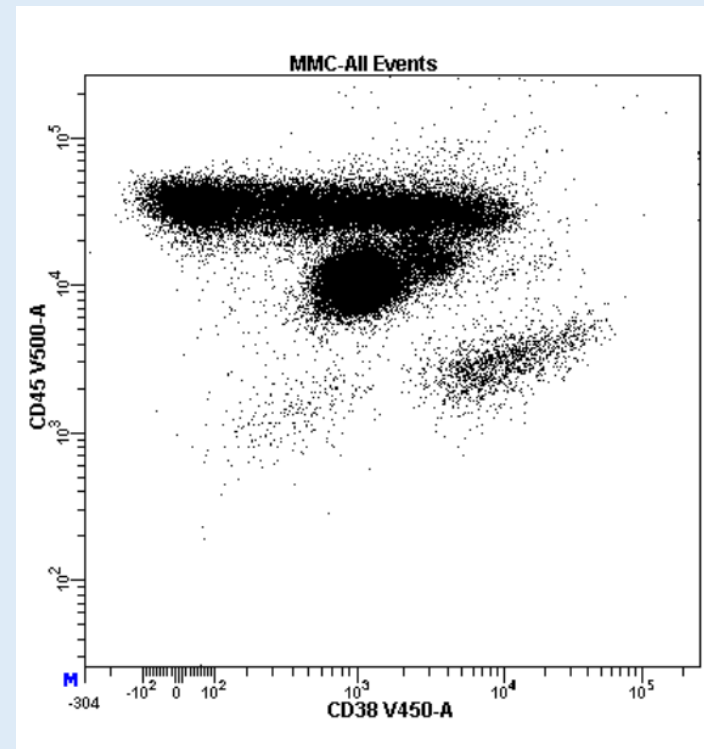
① FSC-SSC



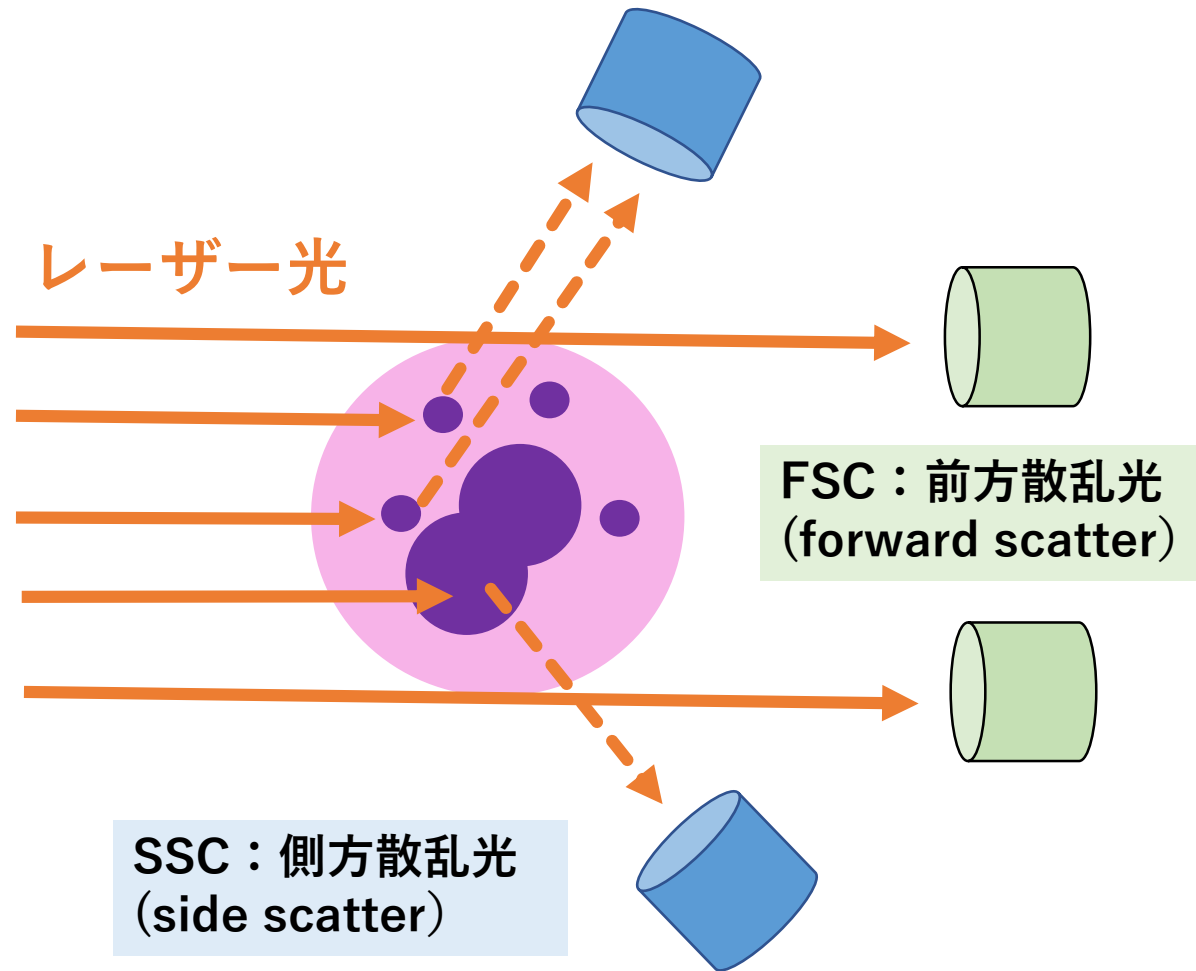
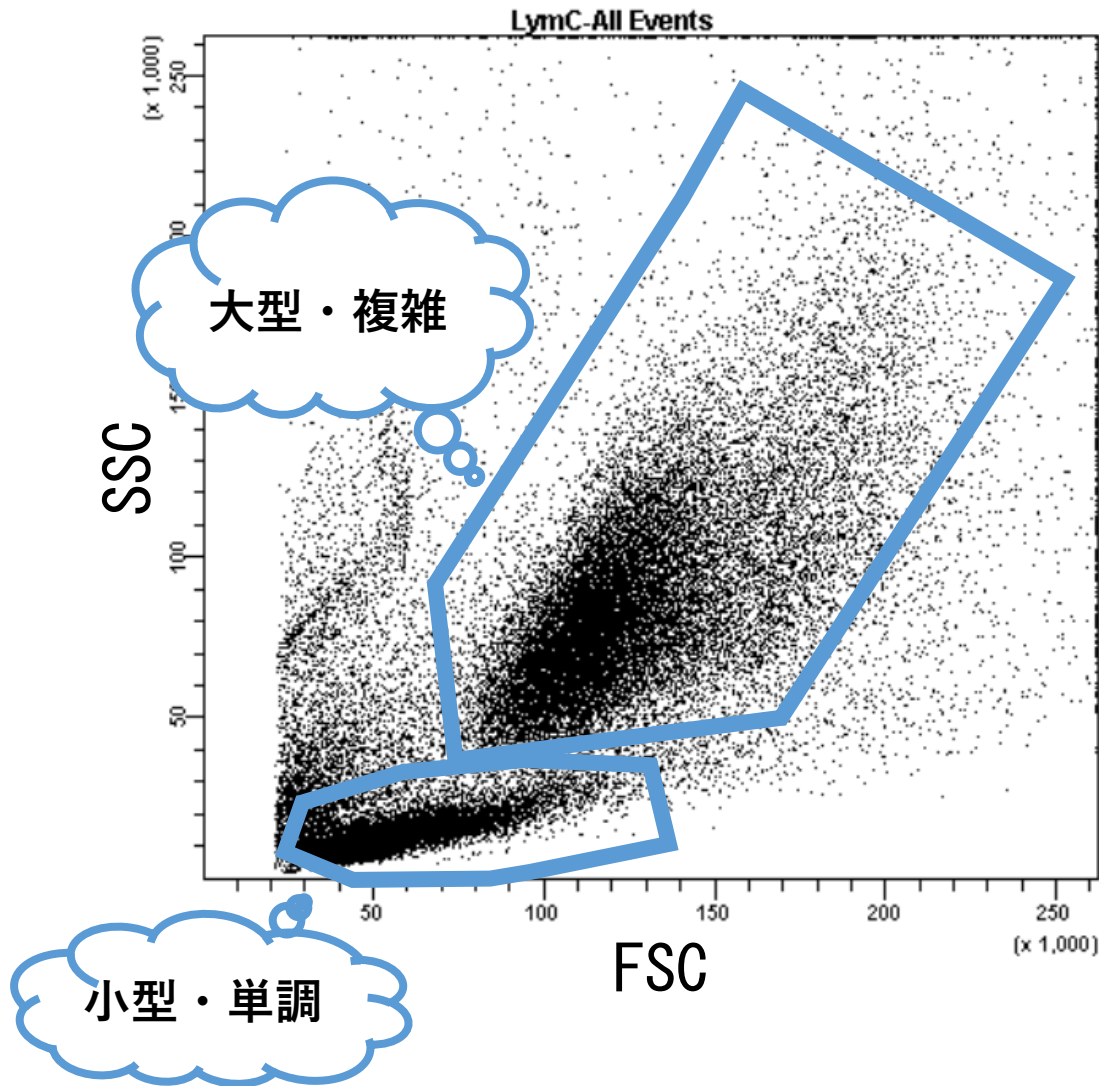
② CD45-SSC



③ CD38-SSC

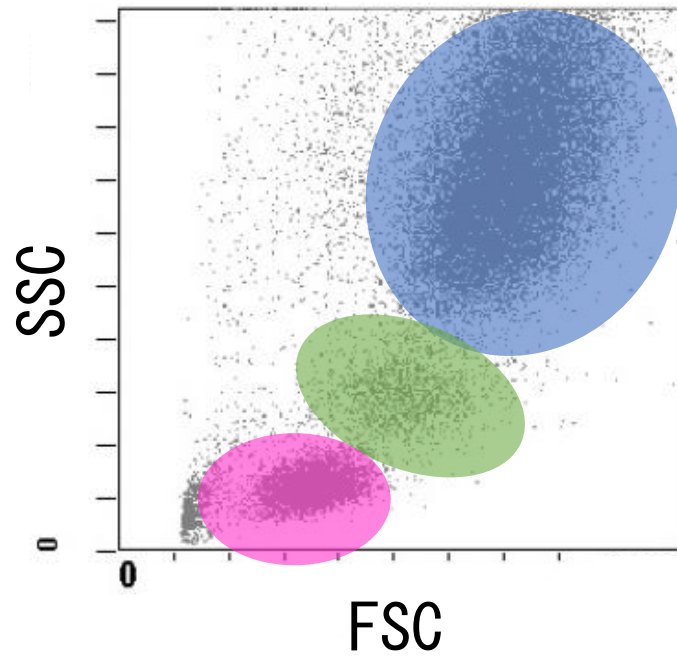


① FSC-SSC gating



① FSC-SSC gating

末梢血

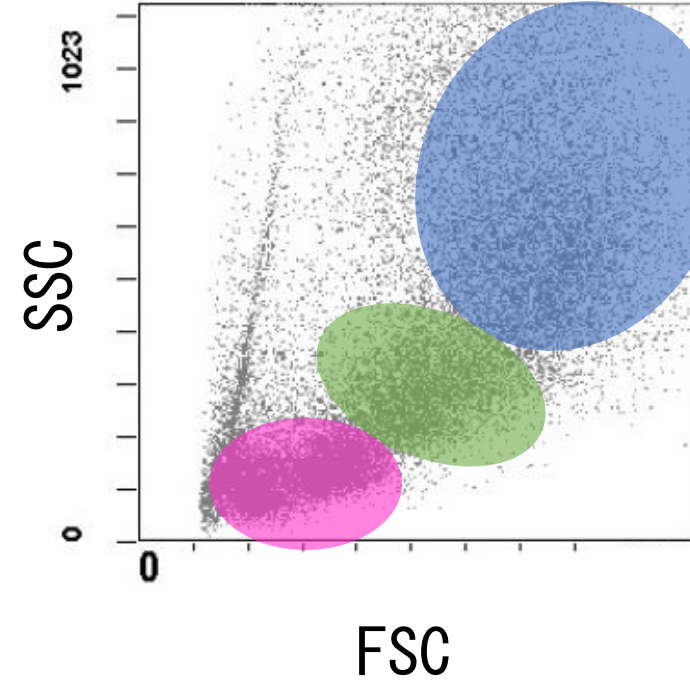


好中球

単球

リンパ球

骨髄



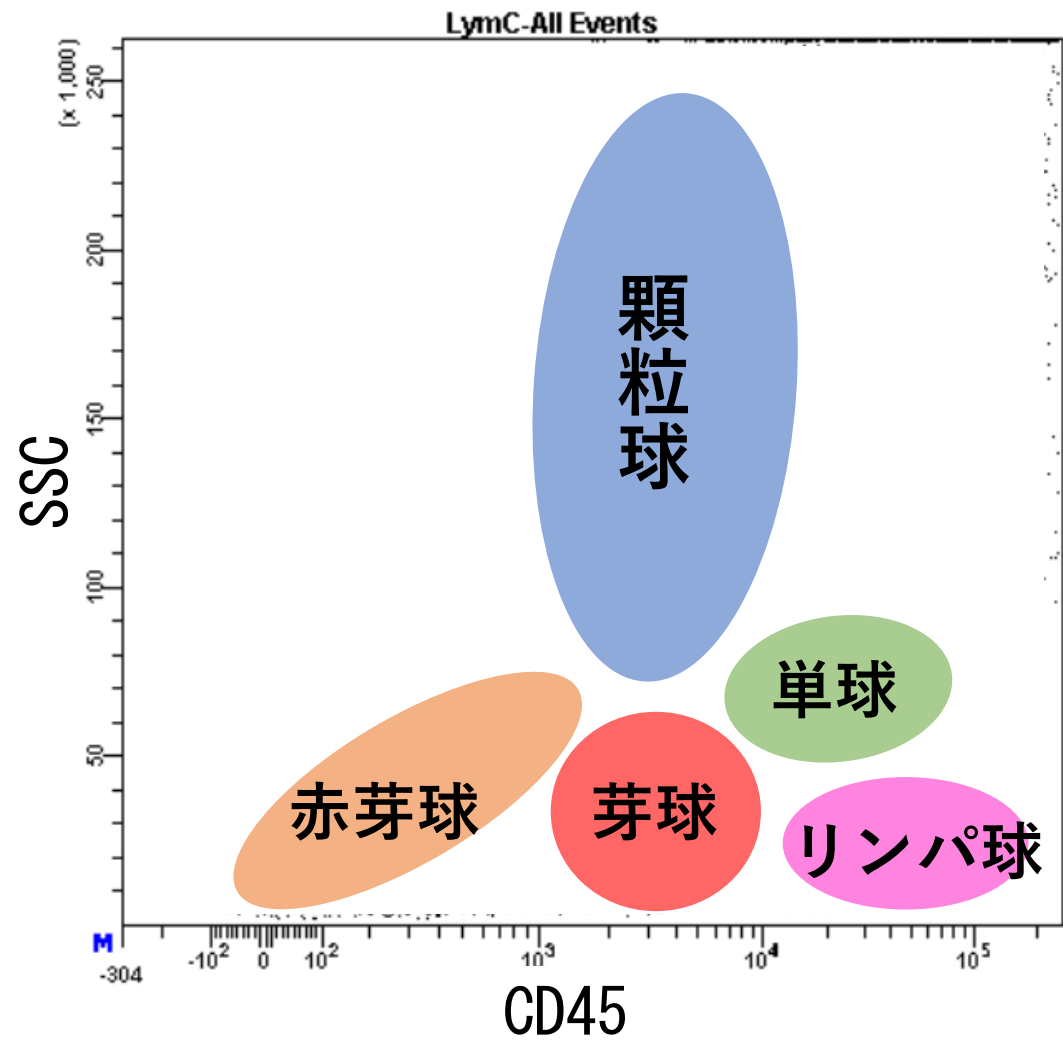
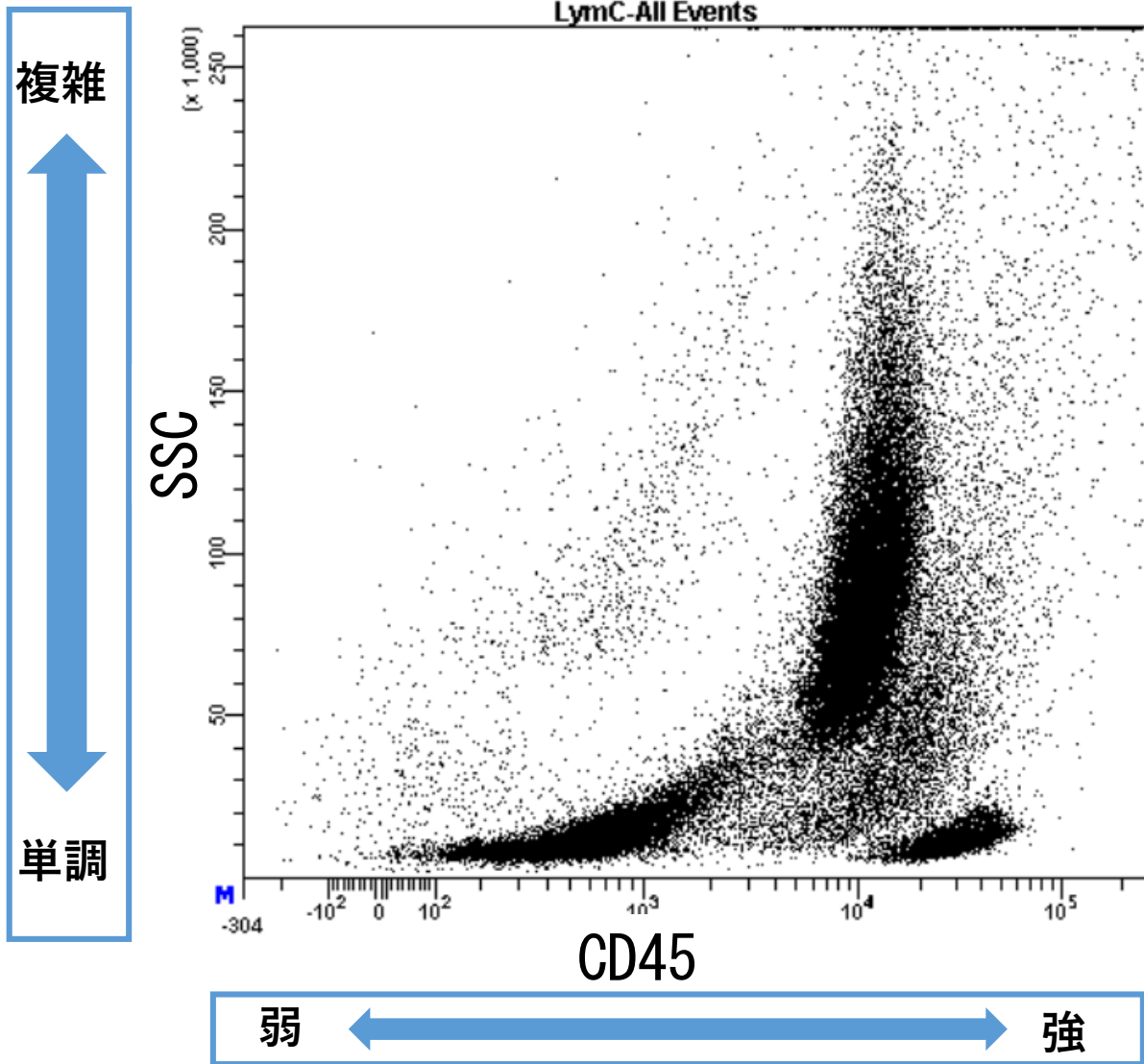
顆粒球

単球

赤芽球
リンパ球
芽球

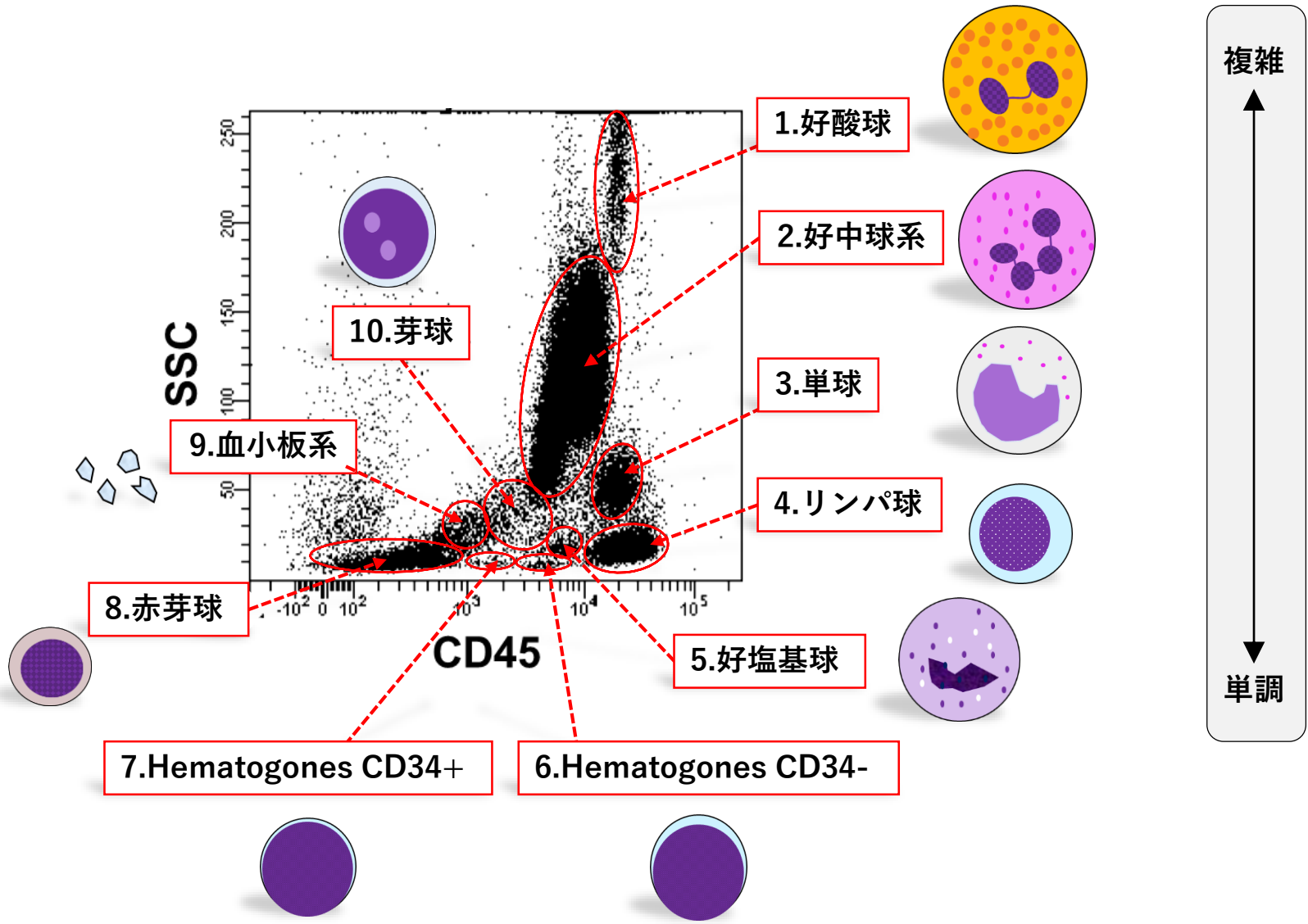
異常細胞が出現していない
末梢血の解析に用いられる

② CD45 gating

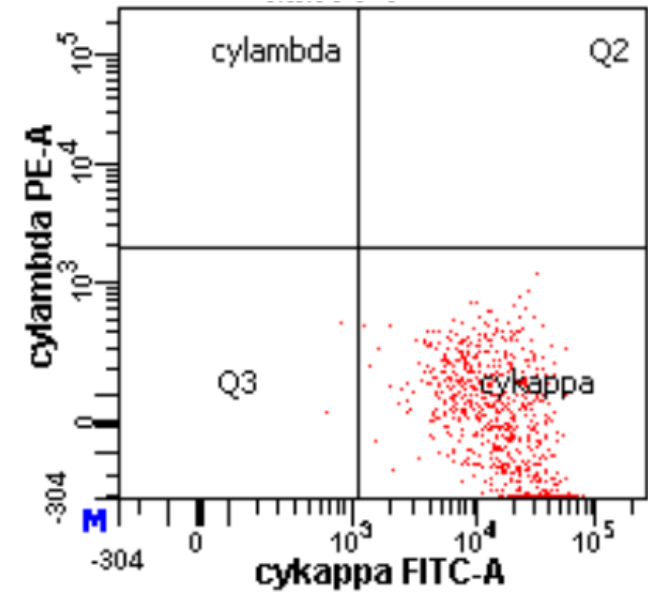
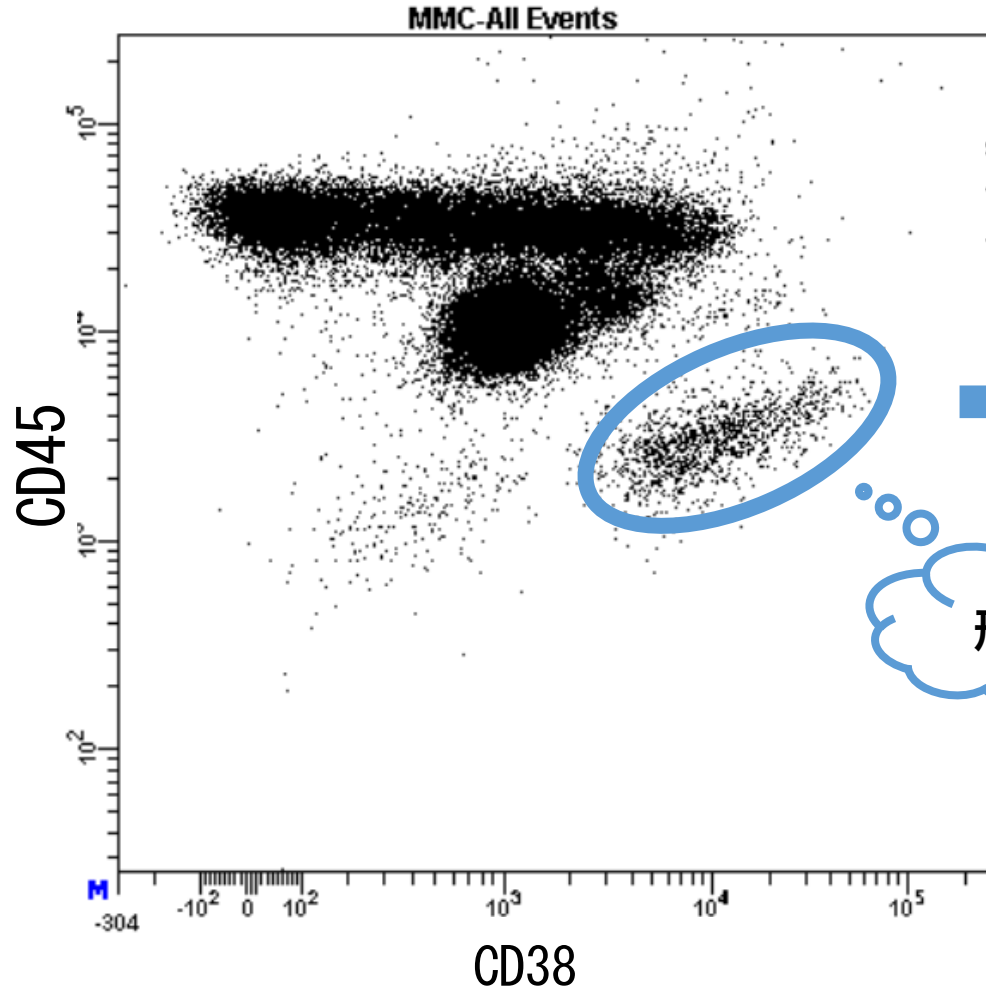


CD45弱 ← → CD45強

血球イラストは筆者イメージ

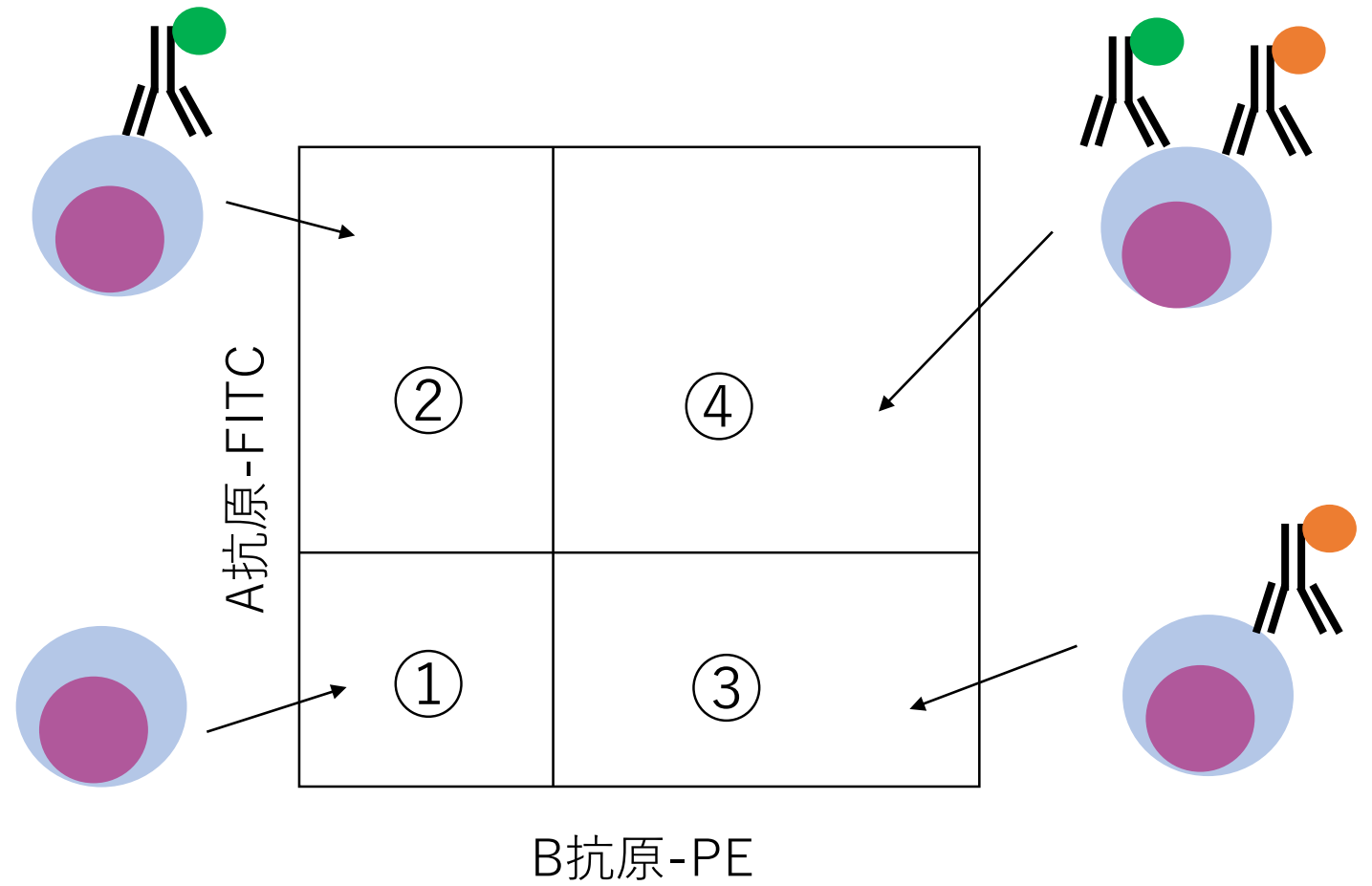
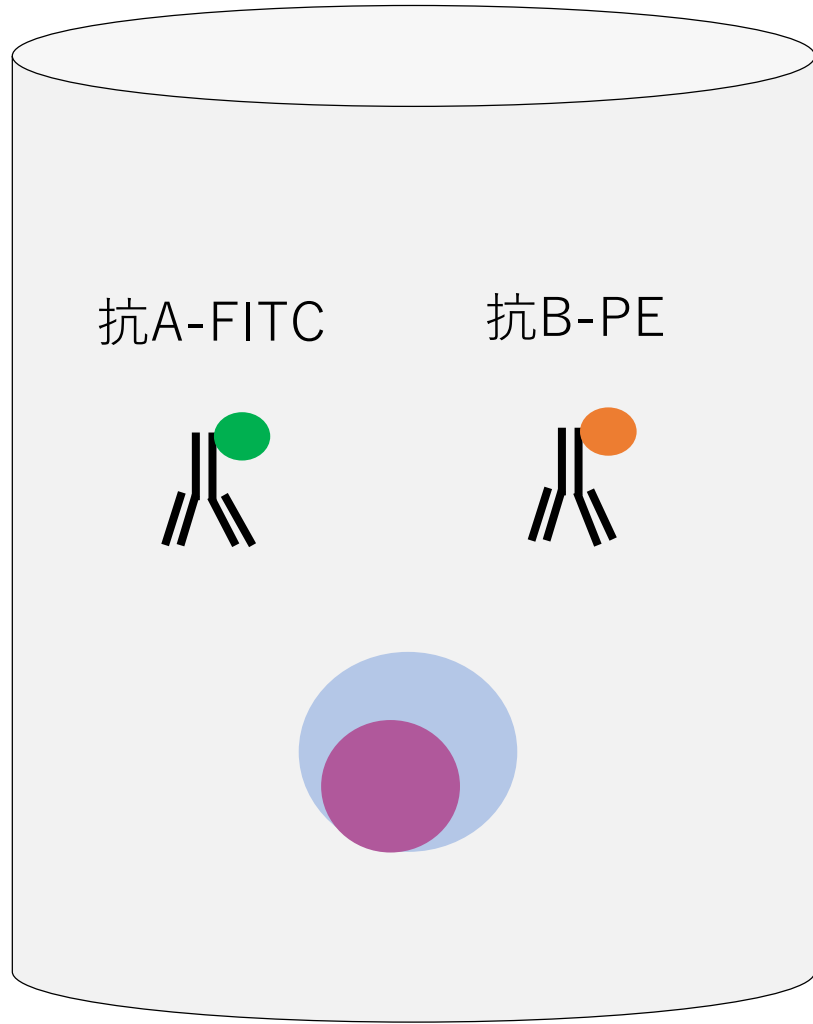


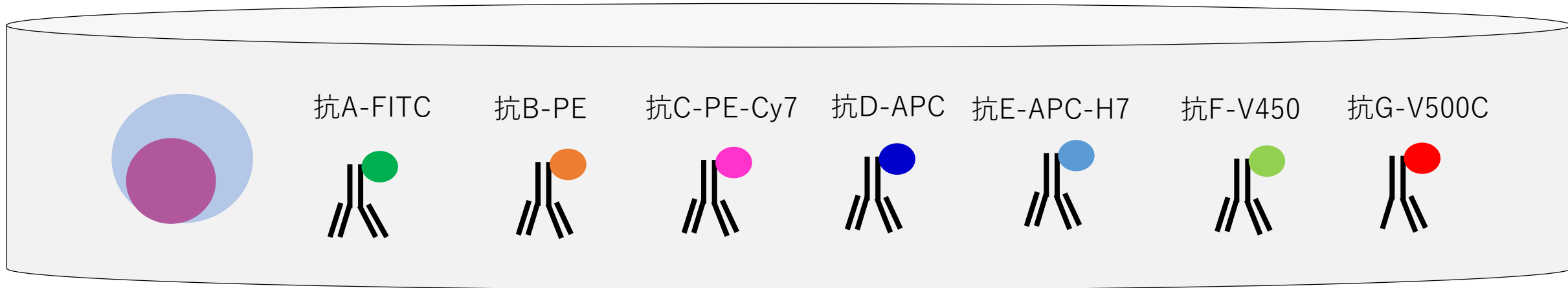
③ CD38 gating



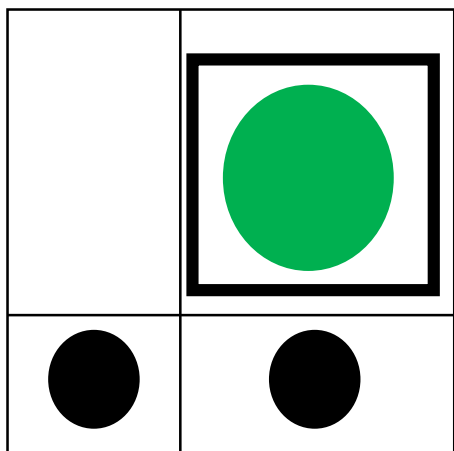
Kappa/lambdaの偏り

マルチカラーFCM



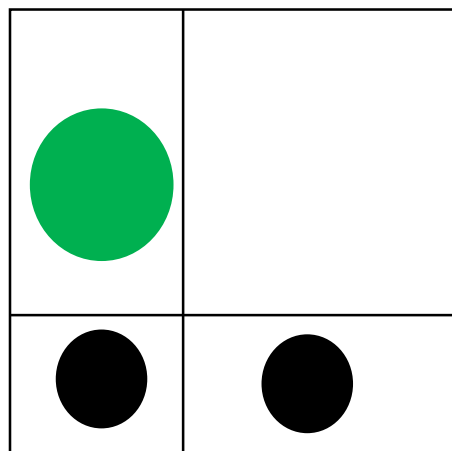


A抗原-FITC



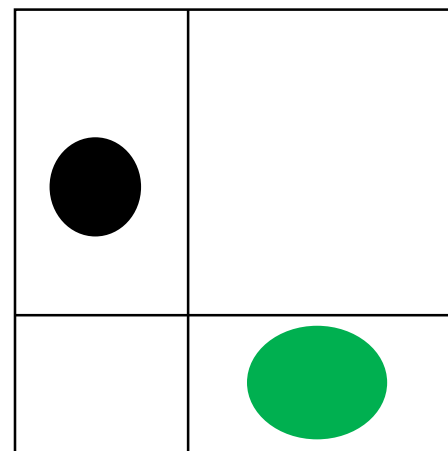
B抗原-PE

C抗原-PE-Cy7



D抗原-APC

E抗原-APC-H7



F抗原-V450

系統別代表マーカー

系統	T・NK細胞系	B細胞系	骨髄・単球系	形質細胞
系統を代表するマーカー (一次評価抗体)	CD2 CD45 CD3 CD56 CD4 CD5 CD7 CD8	CD5 CD10 CD19 CD20 CD45 κ λ	CD7 CD33 CD11b CD34 CD13 CD45 CD14 CD56 CD15 CD117 CD16 HLA-DR	CD19 CD38 CD45 CD56
特徴を明確にするマーカー (二次評価抗体)	CD1a CD45RA cyCD3 CD45RO CD10 CD57 CD16 TCR- CD25 α β CD26 TCR- CD30 γ δ CD34 cyTIA-1 T-β chain T isoforms	CD9 CD33 FMC7 CD11c CD34 Bcl-2 CD15 CD38 cy κ CD22 CD43 cy λ cyCD22 CD58 TdT CD23 cyCD79a Zap-70 CD25 CD79b cyIgM CD13 CD103	CD2 CD71 CD4 cyMPO CD25 CD123 CD36 CD163 CD38 CD235a CD41 CD61 cyCD61 CD64	CD10 CD117 CD138 cy κ cy λ

(文献6をもとに作成)

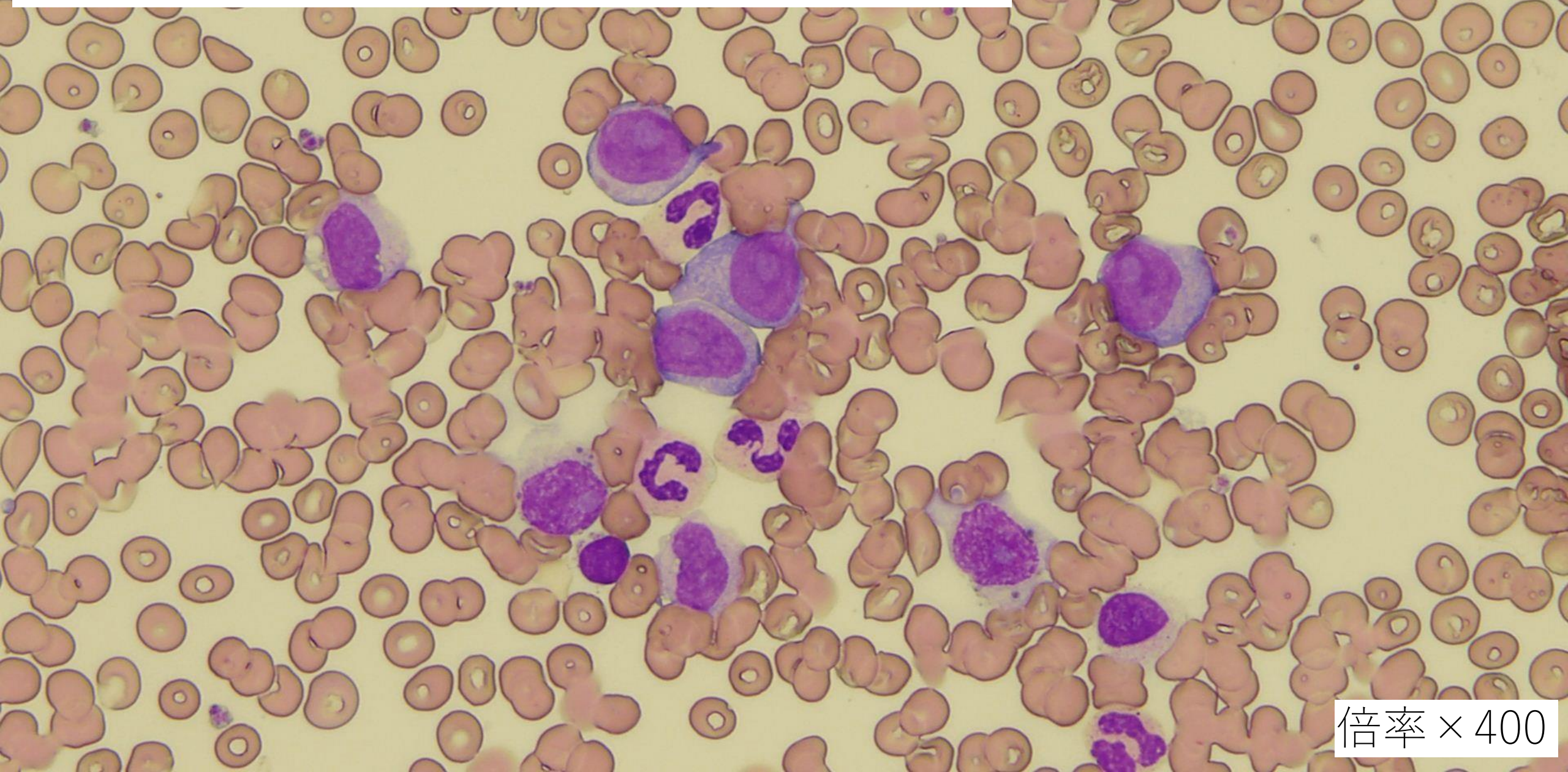
6.Wood BL, Arroz M et al : 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia by Flow Cytometry : Optimal Reagents and Reporting for the Flow Cytometric Diagnosis of Hematopoietic Neoplasia. Cytometry B Clin Cytom, 72B, S14-S22, 2007.

■ 本日の内容

1. gatingの基礎知識

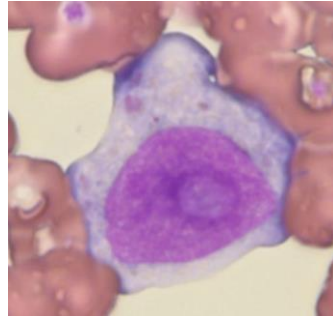
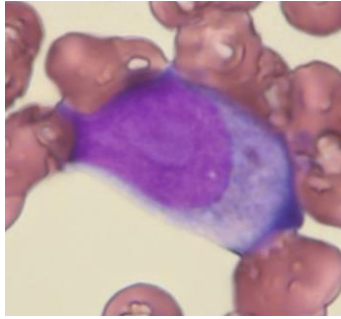
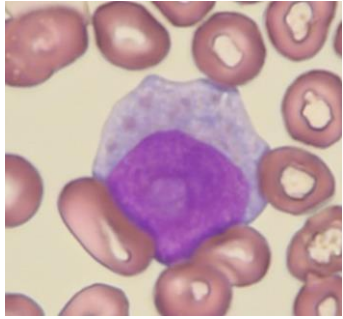
2. 症例

症例① 64歳 男性 骨髓



倍率 × 400

症例① 64歳 男性 骨髓



倍率×1000

- 大きさ：中型～やや大型
- 核クロマチン構造：やや繊細
核小体明瞭
- 細胞質：好塩基性はやや強い

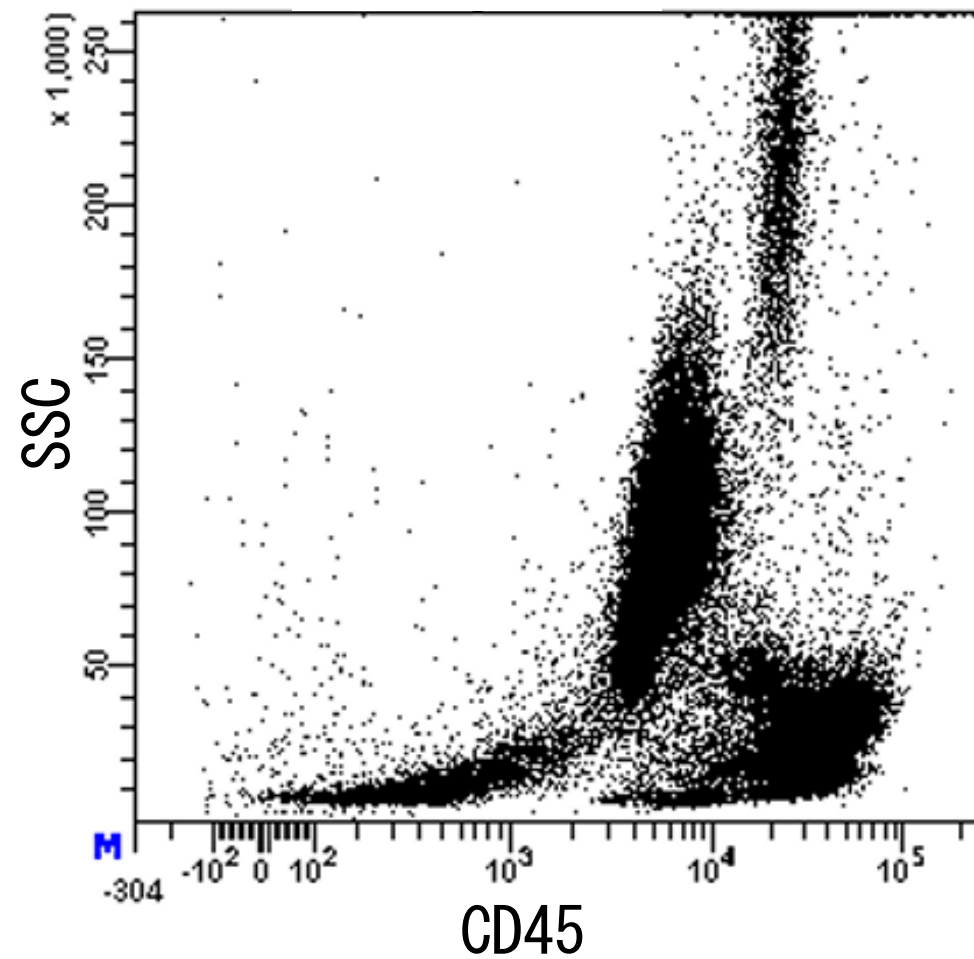
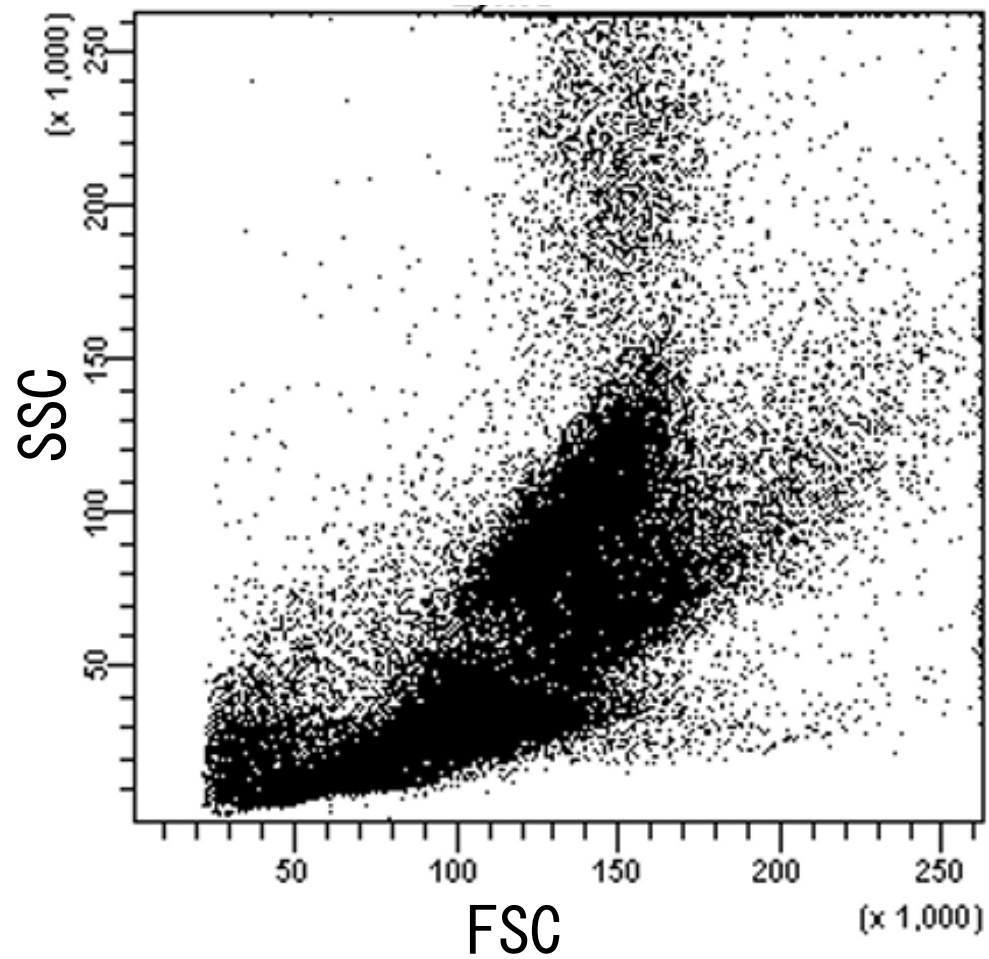
血算・分画

WBC	7.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$
RBC	445	$\times 10^4/\mu\text{L}$
Hb	13.5	g/dL
Ht	40.5	%
MCV	91.0	fL
MCH	30.3	pg
MCHC	33.3	g/dL
PLT	16.8	$\times 10^4/\mu\text{L}$
異常細胞	13.0	%

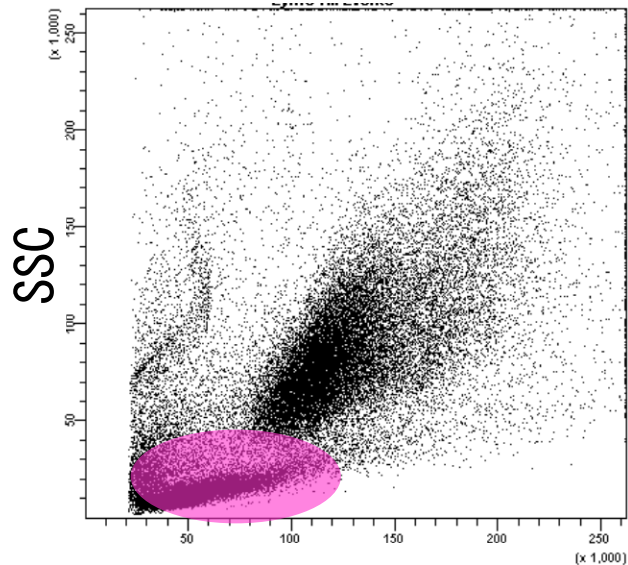
生化学

TP	6.4	g/dL
ALB	4.0	g/dL
Na	141	mmol/L
K	4.5	mmol/L
Cl	104.0	mmol/L
Ca	8.8	mg/dL
LD	636	U/L
AST	72	U/L
ALT	103	U/L
CRP	0.89	mg/dL
sIL-2R	1108	U/mL

どこにgatingしますか？

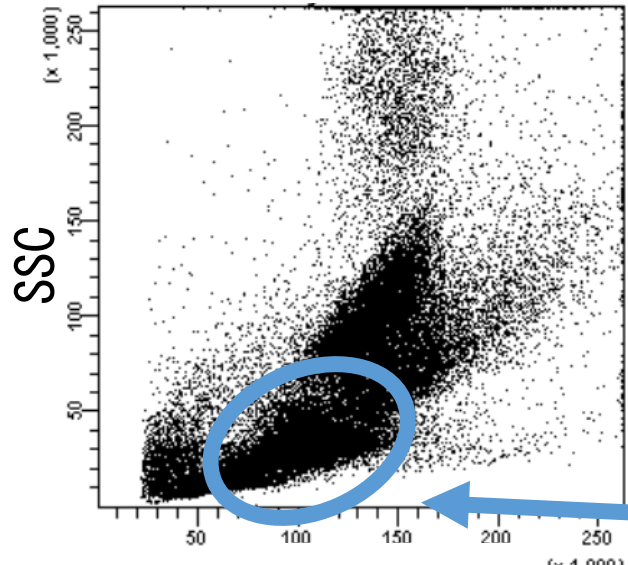


正常



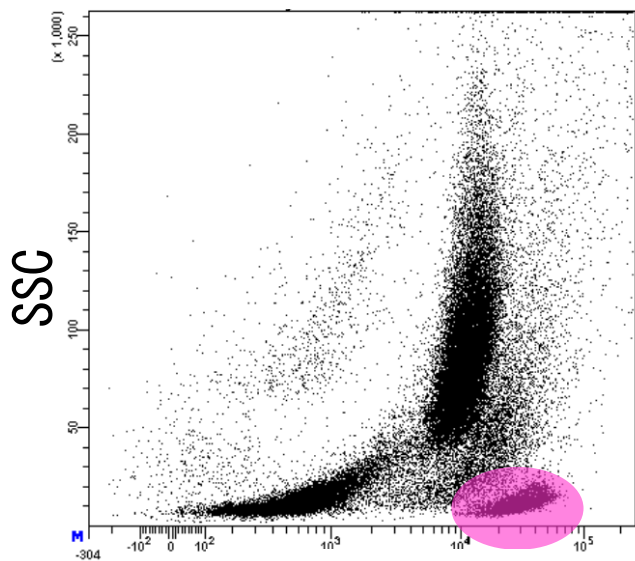
FSC

本症例

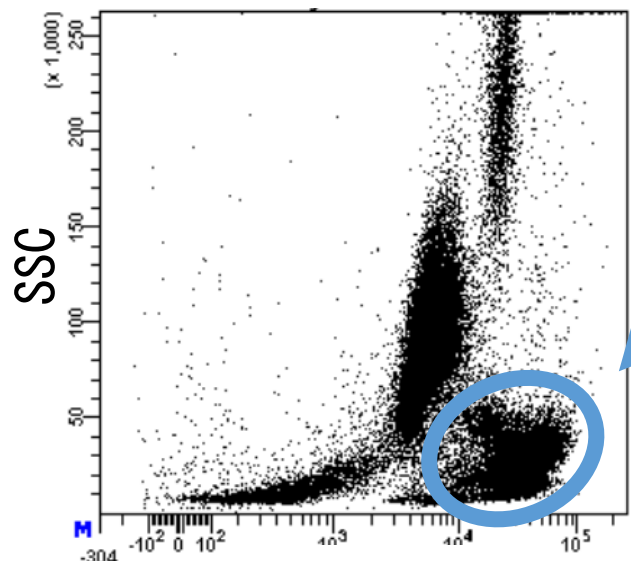


FSC

正常のリンパ球領域より
SSCが高めの位置に
集団がありそう！

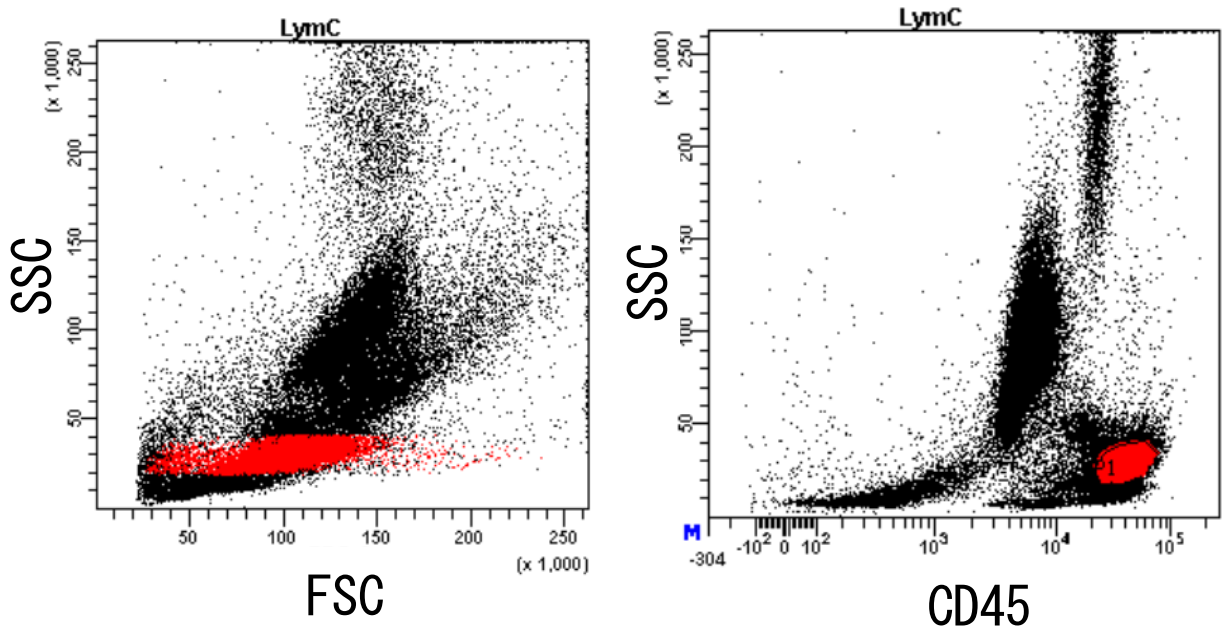


CD45

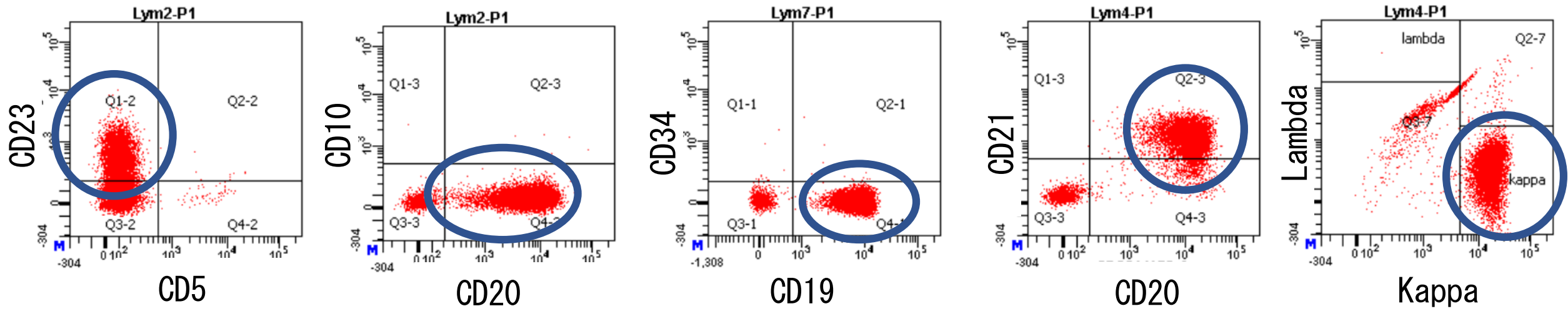


CD45

- ・ 陽性 : CD19,CD20,CD21,CD23(一部)
- ・ 陰性 : CD5,CD10,CD34
- ・ 免疫グロブリン軽鎖はkappaにクローン性を認める



DLBCL



びまん性大細胞リンパ腫 (DLBCL:Diffuse large B-cell lymphoma)

疫学

高齢者（特に60代）に多いが、小児を含めた各年齢に分布する。
全悪性リンパ腫の約30%。日本では最多。

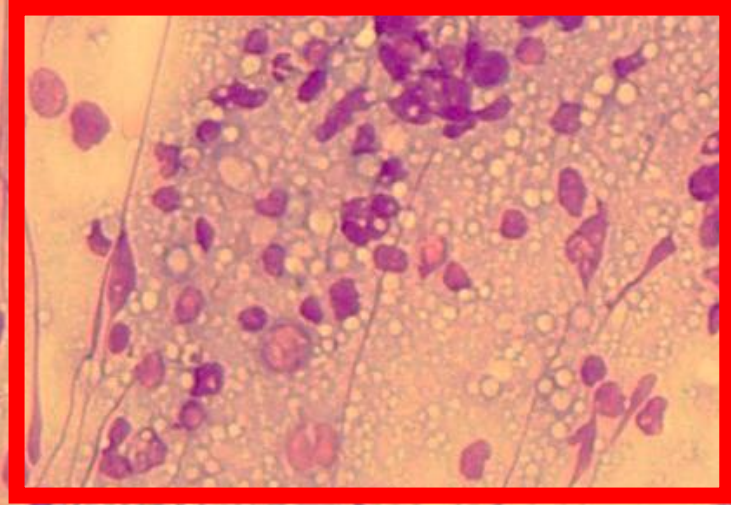
細胞形態

- ・ 大型、N/C比小、細胞質は好塩基性で空胞を有することもある。
- ・ 核網はやや粗剛で核小体が目立ち、核不整を伴うことが多い。

表面マーカー

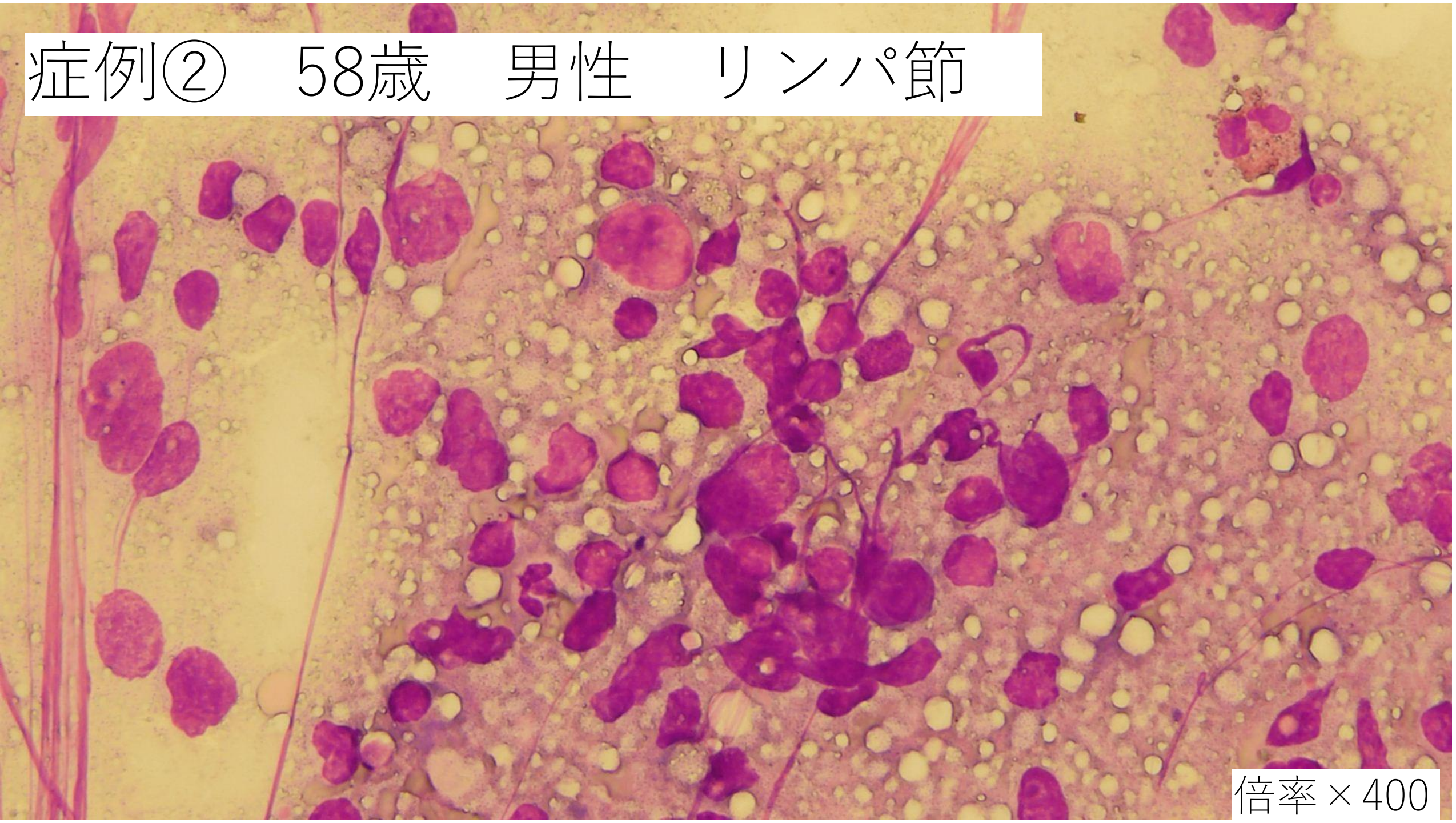
- ・ CD19 + /CD20 + /CD22 + /CD79a +
- ・ 免疫グロブリン軽鎖kappa/lambdaの軽鎖制限がみられる。
- ・ DLBCL一部では軽鎖制限を認めない場合がある。
- ・ CD5やCD10は陽性になることがある

症例② 58歳 男性 リンパ節



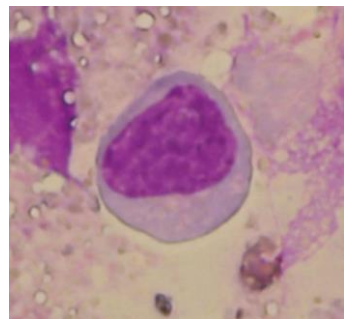
倍率 × 200

症例② 58歳 男性 リンパ節

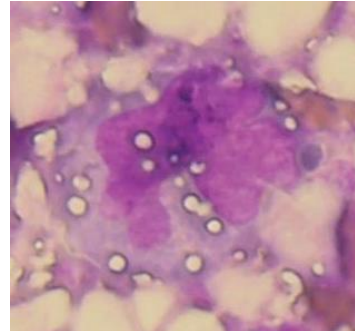
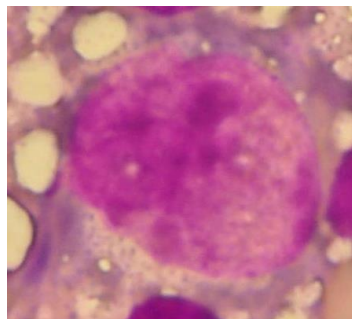


倍率 × 400

症例② 58歳 男性



正常リンパ球



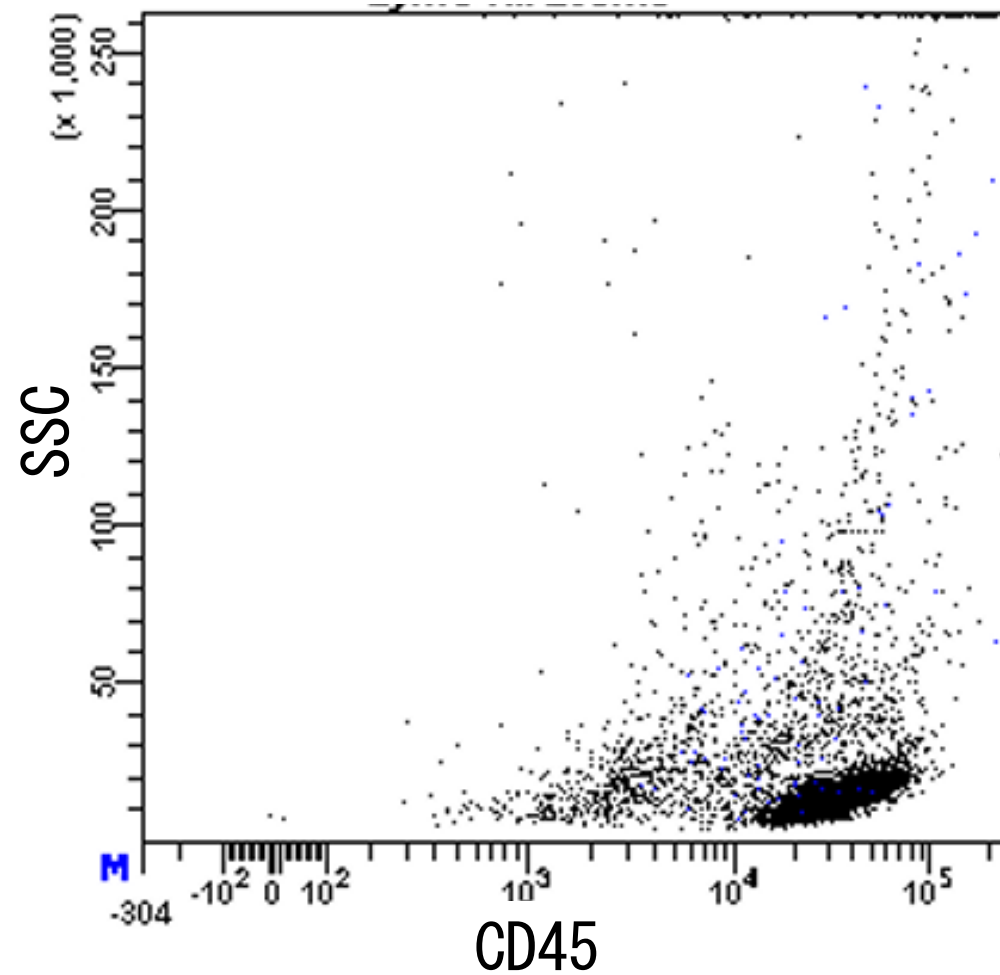
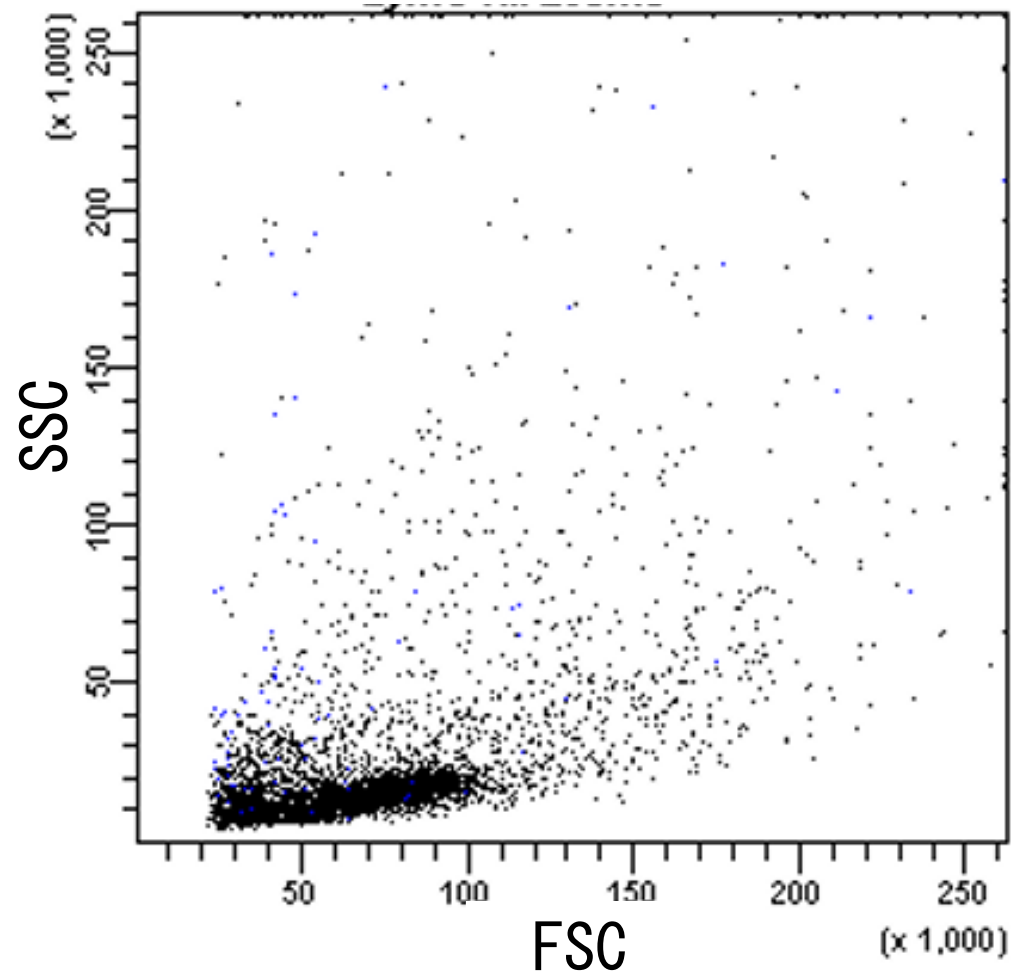
倍率×1000

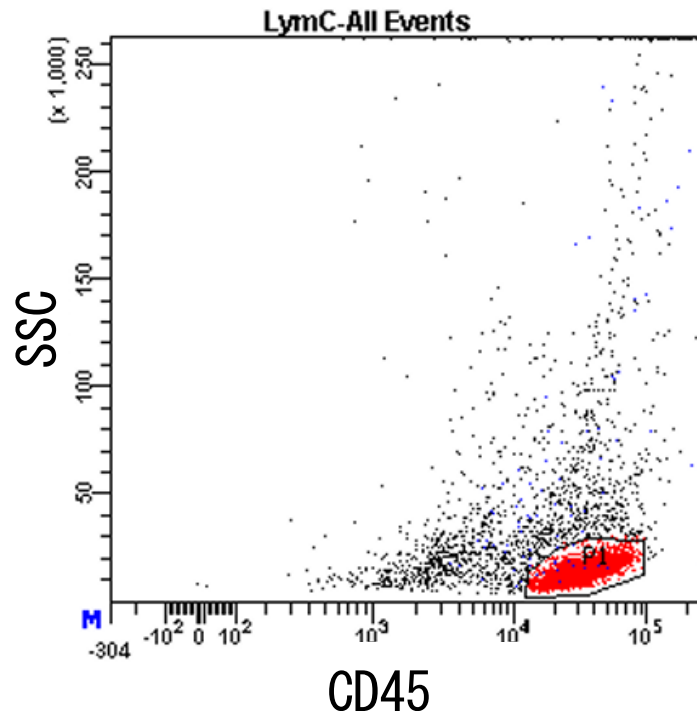
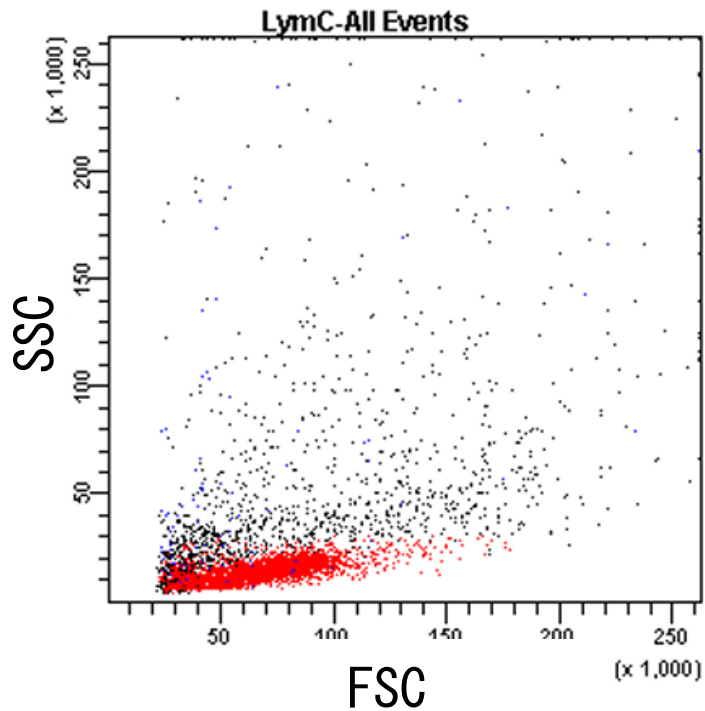
- 大きさ：**大型**
- 核：**やや繊細、核辺縁不整**
- 細胞質：**好塩基性はやや強い**
空胞を認める

血算		
WBC	7.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$
RBC	460	$\times 10^4/\mu\text{L}$
Hb	8.5	g/dL
Ht	31.3	%
MCV	68.0	fL
MCH	18.5	pg
MCHC	27.2	g/dL
PLT	64.3	$\times 10^4/\mu\text{L}$

生化学		
TP	6.6	g/dL
ALB	3.2	g/dL
Na	141	mmol/L
K	4.7	mmol/L
Cl	106	mmol/L
Ca	8.6	mg/dL
LD	171	U/L
AST	17	U/L
ALT	13	U/L
CRP	0.41	mg/dL
sIL-2R	1587	U/mL

どこにgatingしますか？

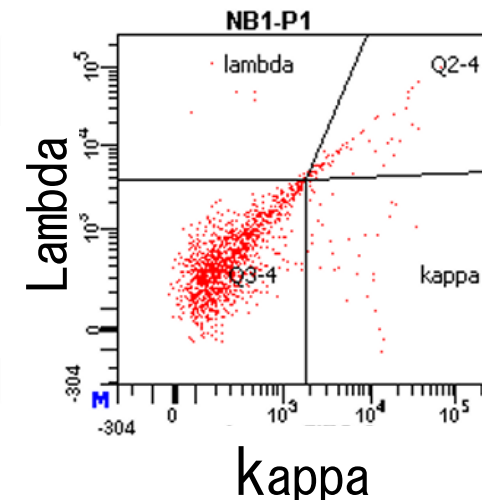
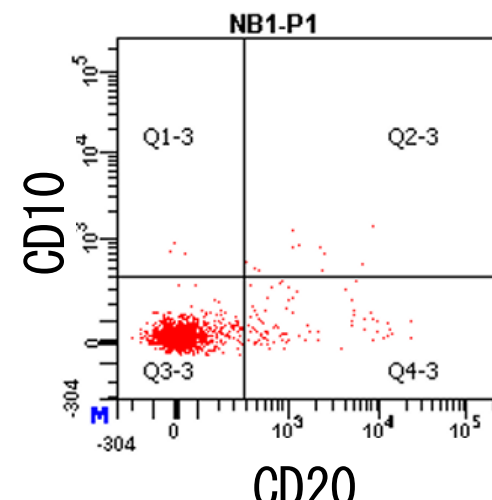
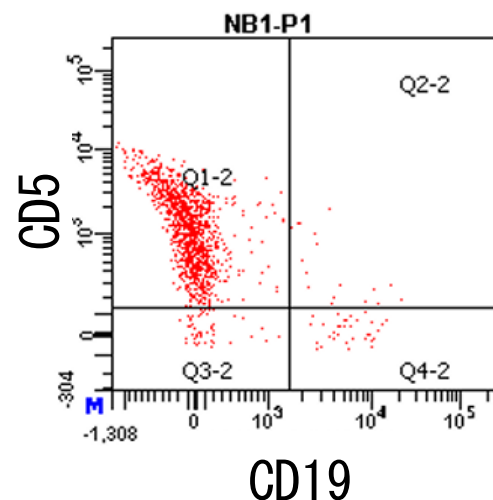
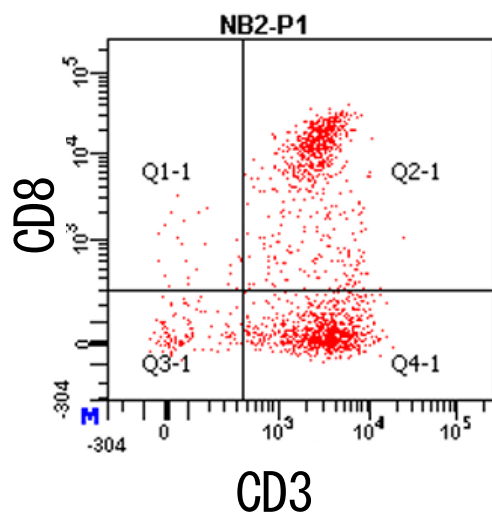
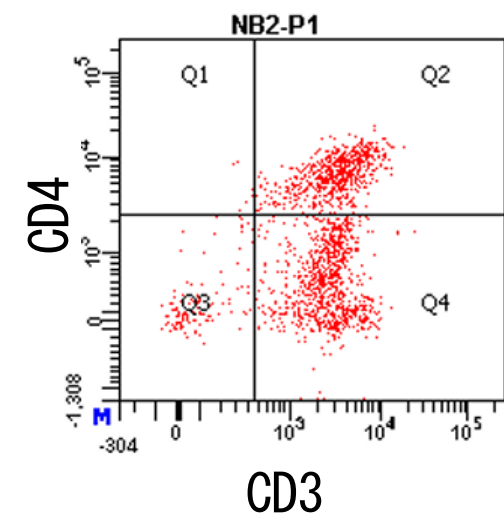




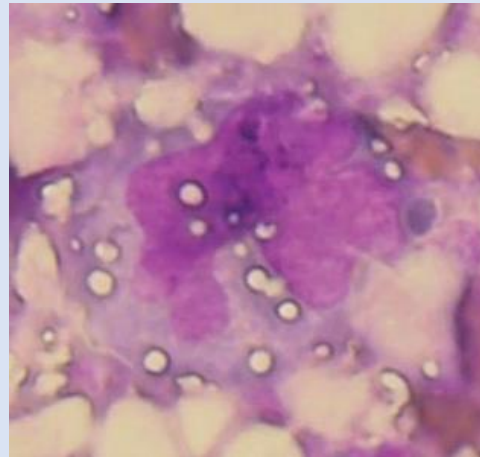
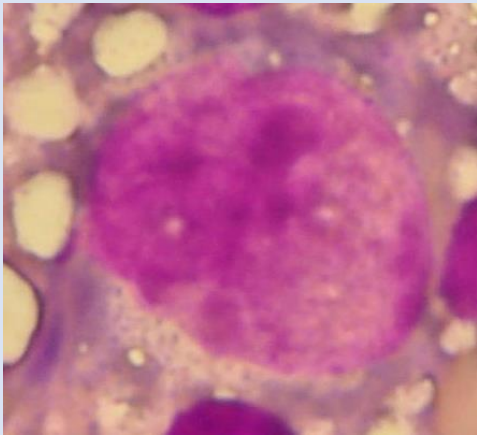
- CD3 ≡ CD4 + CD8
- 免疫グロブリン軽鎖に偏りなし



異常は認めない



再度形態を確認し
もう一度gatingしましょう！



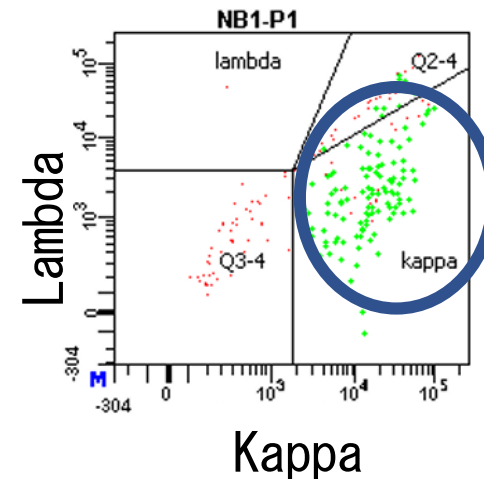
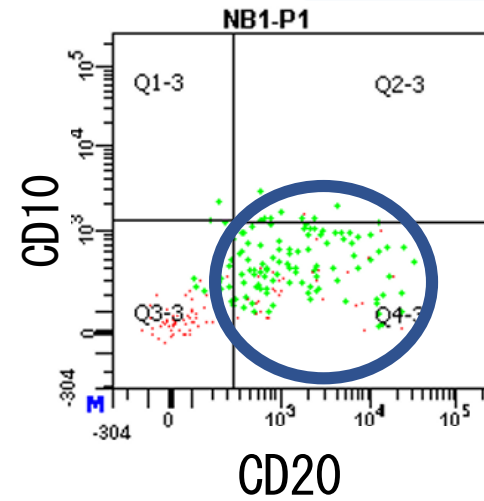
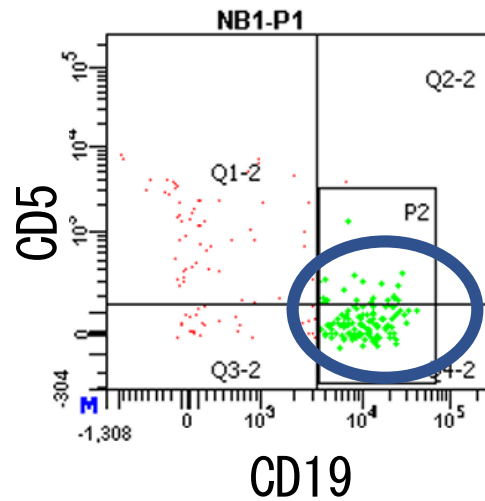
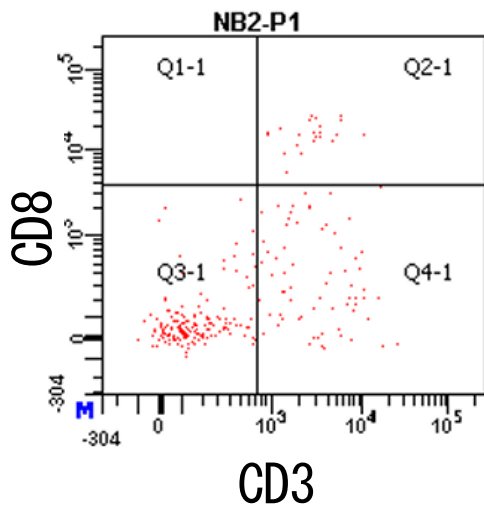
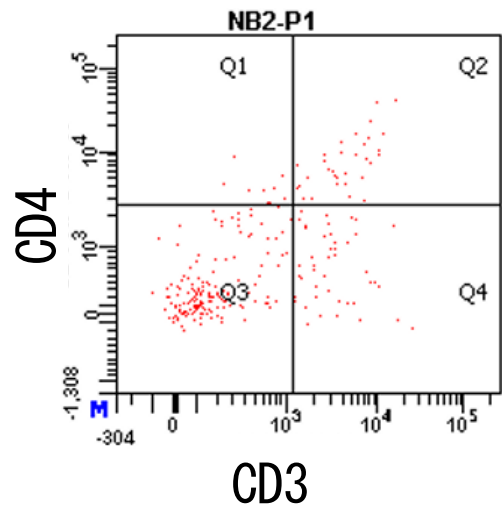
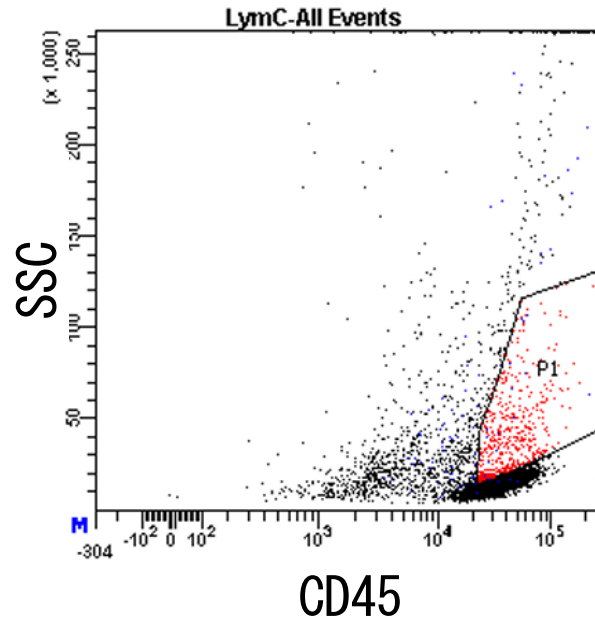
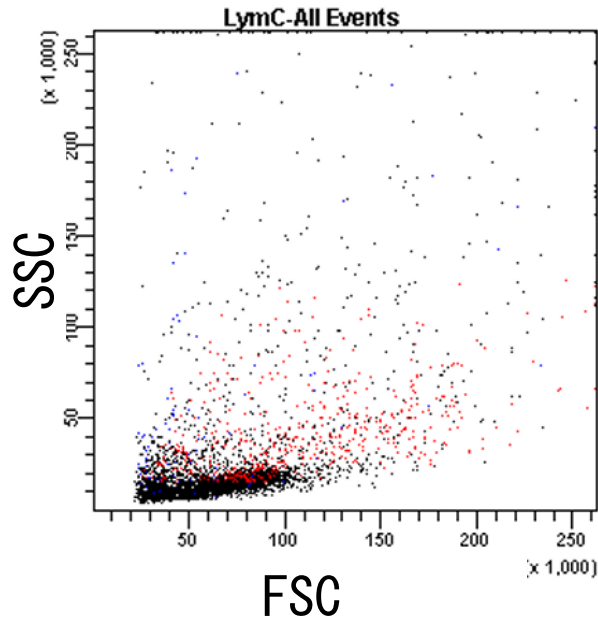
大型で空砲を有する細胞がありそう…

SSCは通常のリンパ球領域よりも
上にくるのでは??

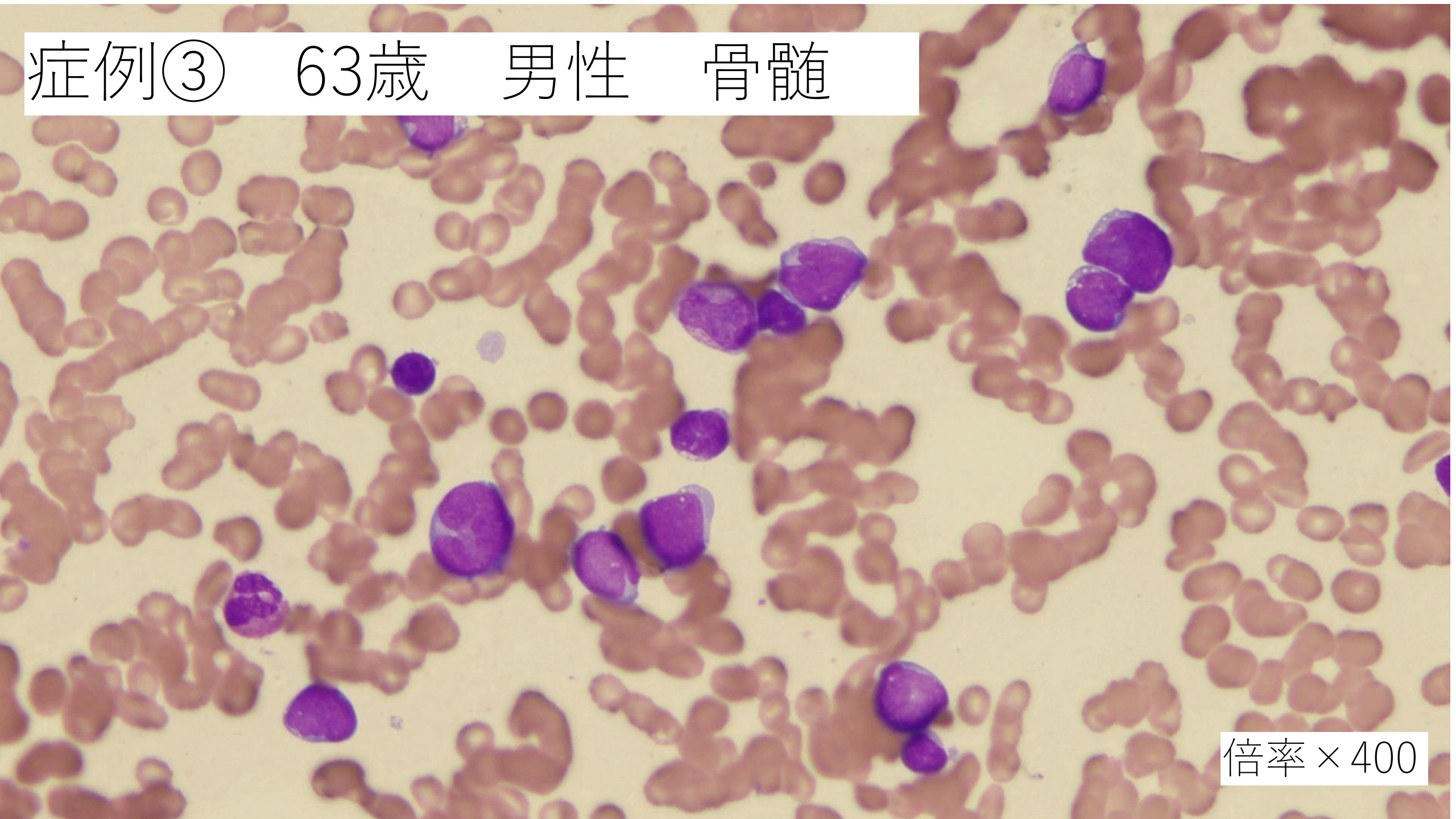
- 陽性 : CD19,CD20
- 陰性 : CD3,CD4,CD8,CD5,CD10
- 免疫グロブリン軽鎖はkappaにクローン性を認める



DLBCL

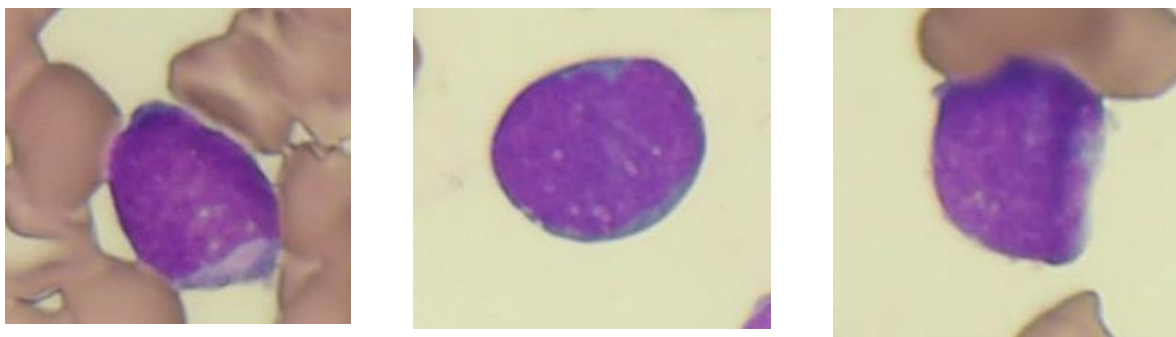


症例③ 63歳 男性 骨髓



倍率 × 400

症例③ 63歳 男性



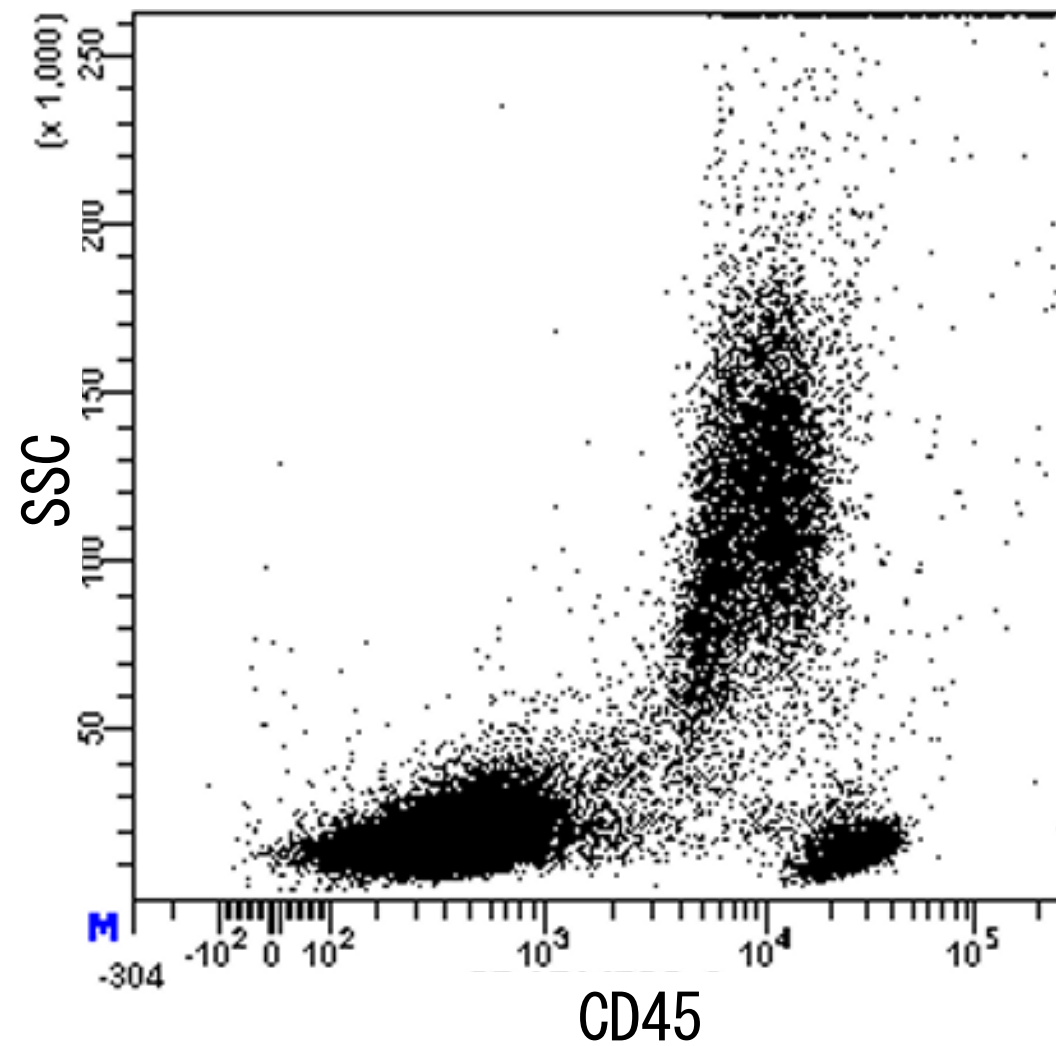
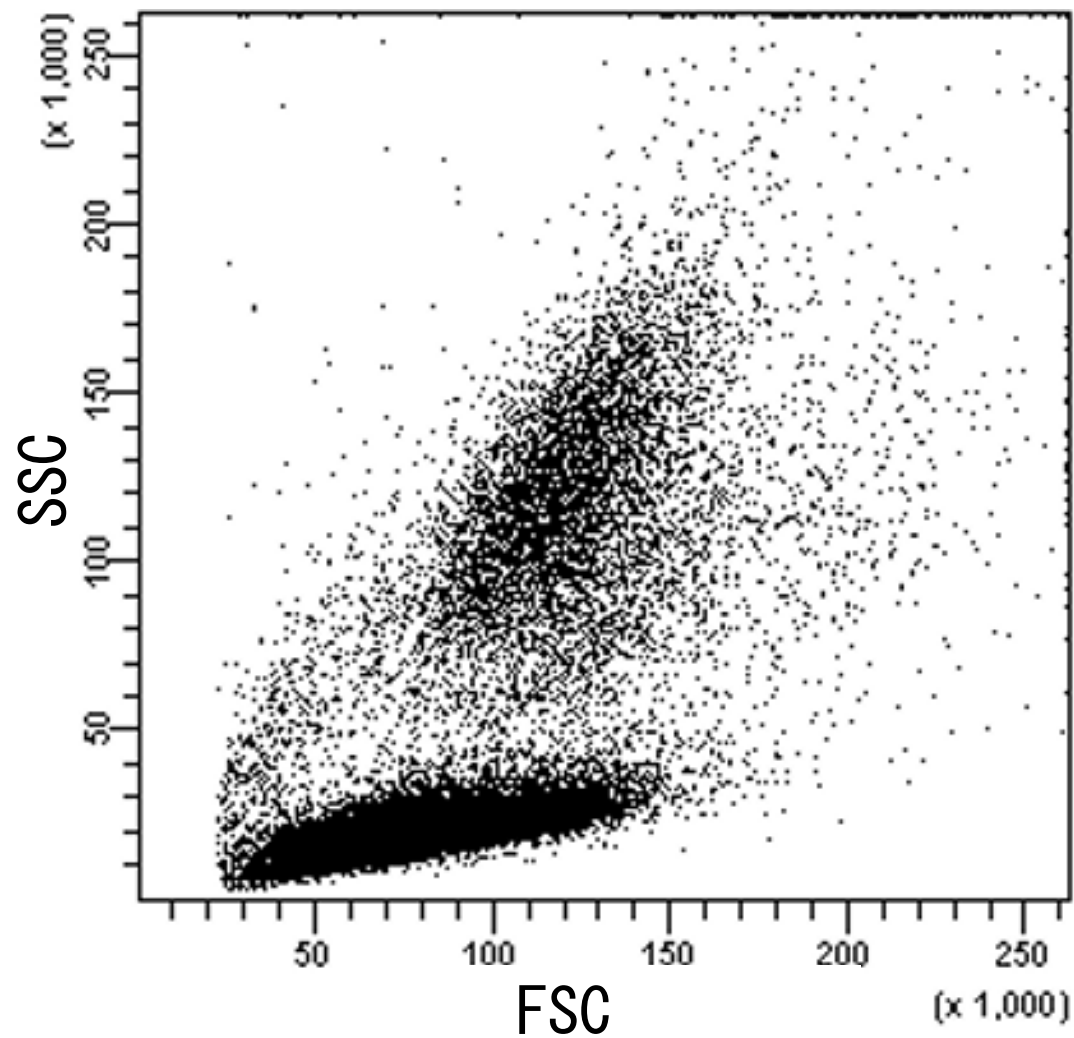
倍率×1000

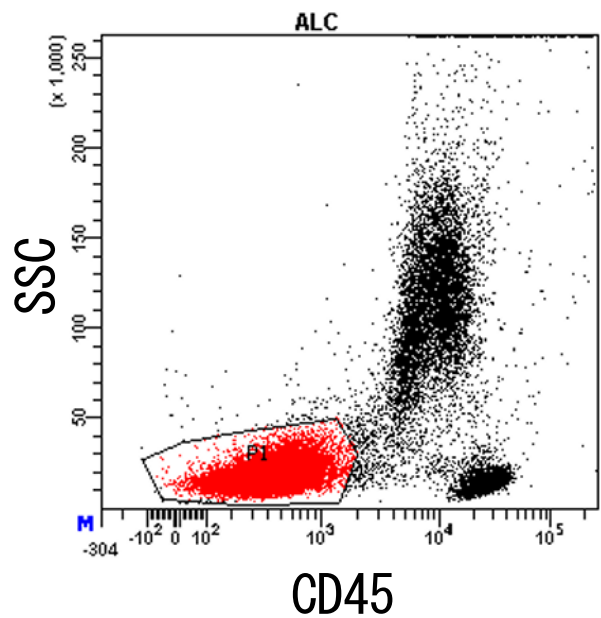
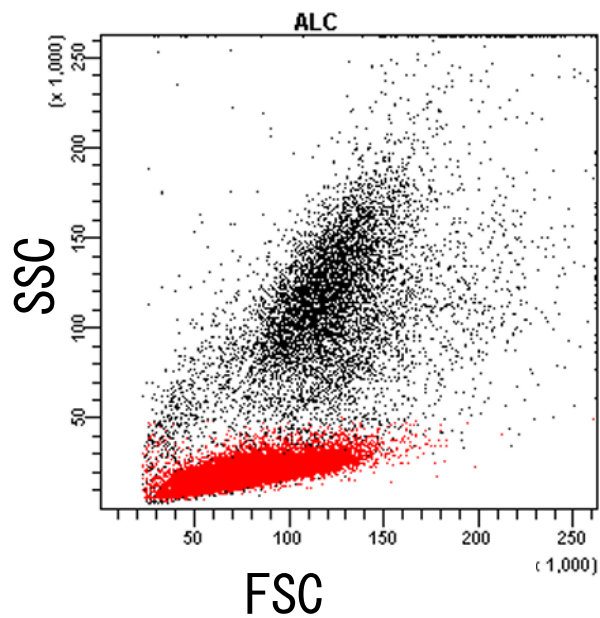
- 大きさ：中型
- 核：やや繊細、核辺縁不整
- 細胞質：好塩基性

血算・分画		
WBC	6.6	$\times 10^3/\mu\text{L}$
RBC	354	$\times 10^4/\mu\text{L}$
Hb	10.9	g/dL
Ht	31.7	%
MCV	89.5	fL
MCH	30.8	pg
MCHC	34.4	g/dL
PLT	3.1	$\times 10^4/\mu\text{L}$
異常細胞	35.0	%

生化学		
TP	6.2	g/dL
ALB	3.5	g/dL
Na	139	mmol/L
K	3.8	mmol/L
Cl	104	mmol/L
Ca	8.7	mg/dL
LD	496	U/L
AST	20	U/L
ALT	13	U/L
CRP	11.77	mg/dL

どこにgatingしますか？

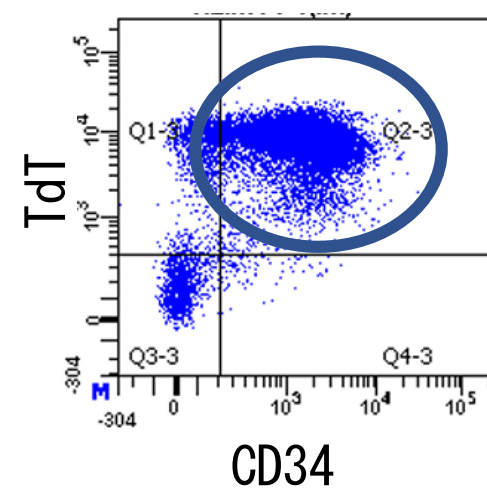
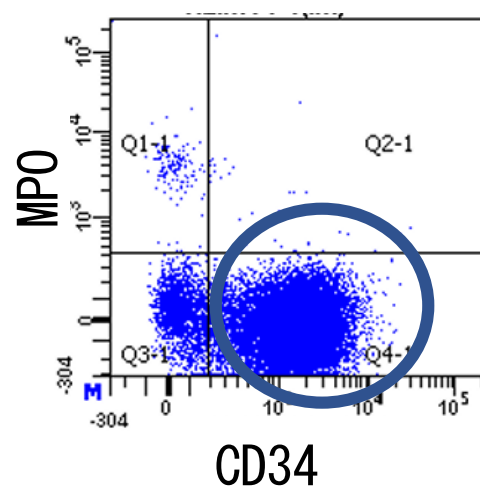
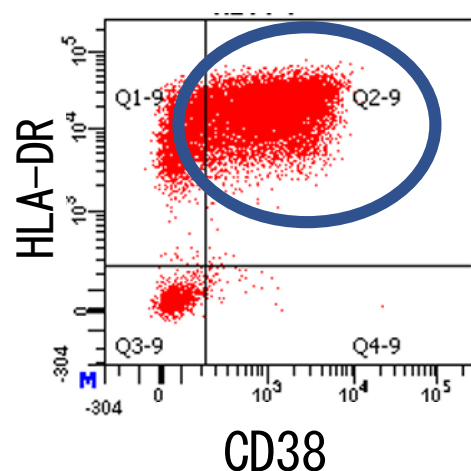
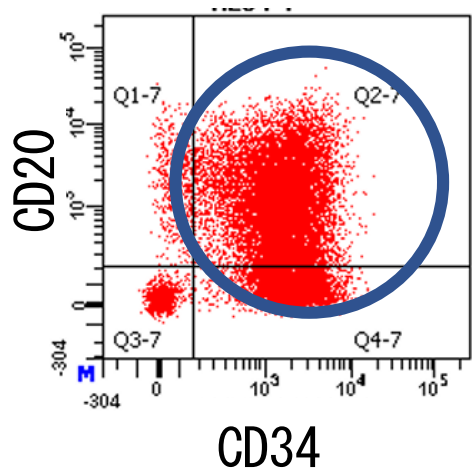
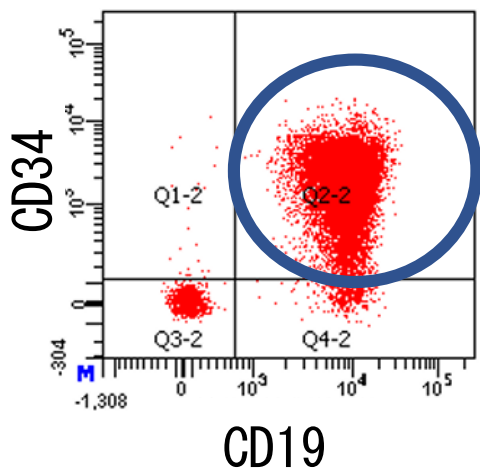




- 陽性 : CD19,CD20,CD34,CD38
HLA-DR,TdT
- 陰性 : MPO



B-ALL



Bリンパ芽球性白血病/リンパ腫 (B-ALL/LBL)

疫学

B-ALLは小児に多く、6歳以下の発症が75%。

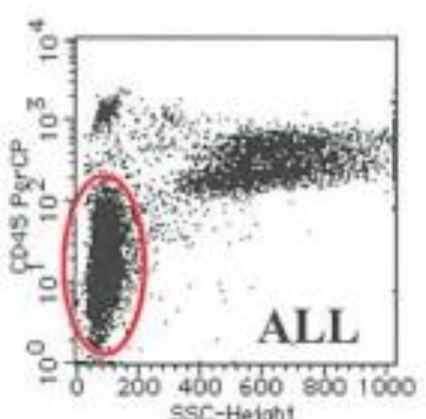
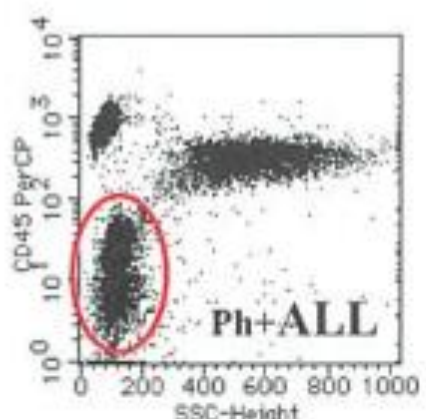
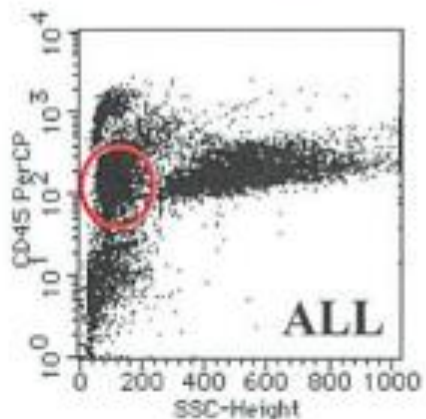
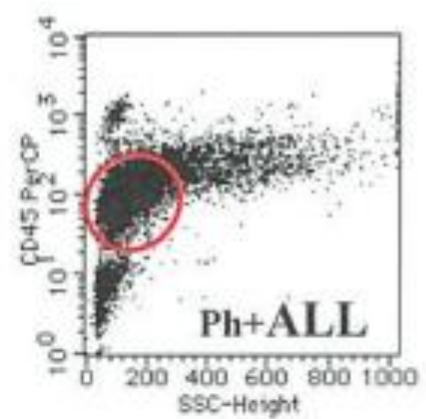
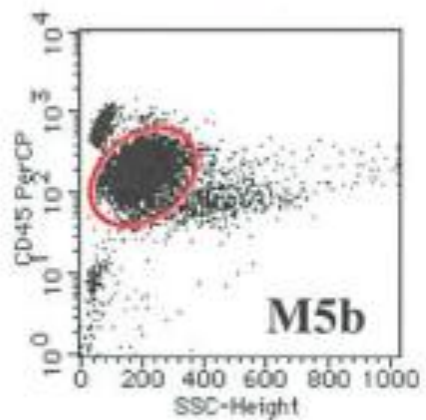
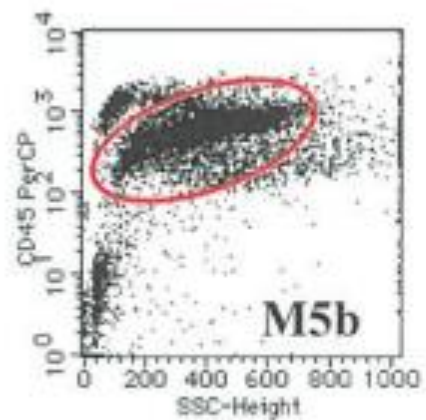
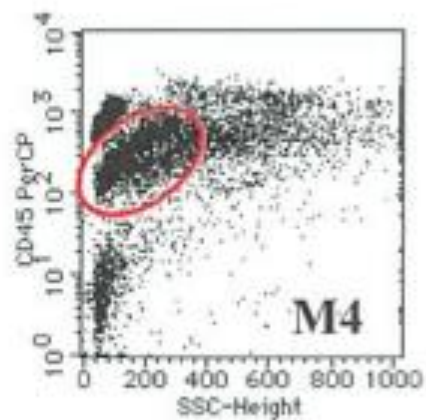
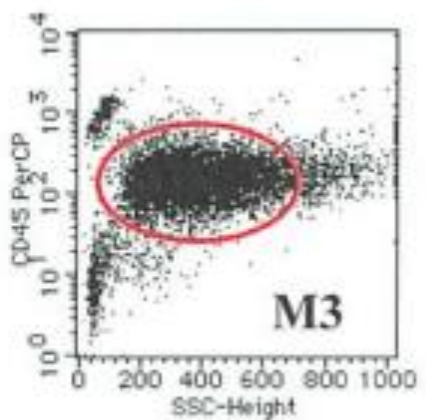
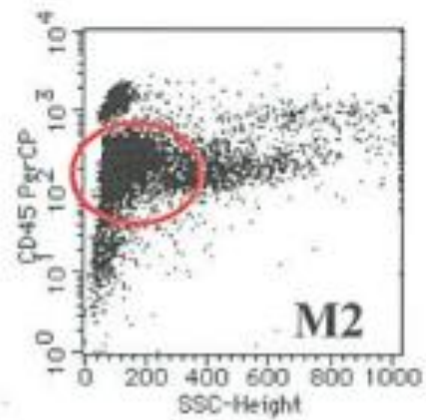
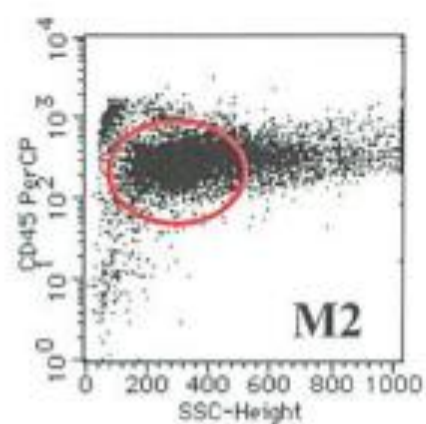
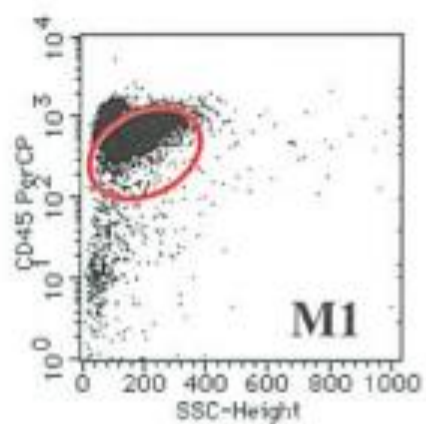
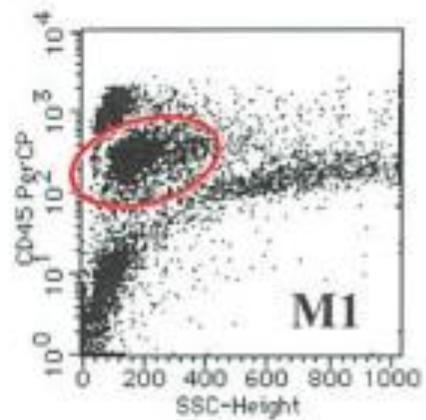
成人ALLではBCR-ABL1陽性が高頻度。

細胞形態

- ・ 小～中型でN/C比大、核網は繊細～やや粗剛。
- ・ 大型で核網繊細、核小体が目立ち、空砲を有する芽球がみられることもある。

表面マーカー

- ・ B細胞系マーカーが陽性になる。(CD19,cyCD79a,cyCD22)
- ・ 多くはCD10,CD22,TdT,HLA-DR陽性である。
- ・ CD20,CD34の発現は様々である。
- ・ CD45は陰性のことがある。



位置は
病型や症例に
よって様々

適切なgatingをするために

- ①正常細胞のサイトグラムを把握する
- ②細胞ごとのマーカを押さえておく
- ③gatingする前に必ず形態を観察する

2024年10月6日
日本医学検査科学会第56回大会
血液検査技術セミナー

ご清聴ありがとうございました