

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



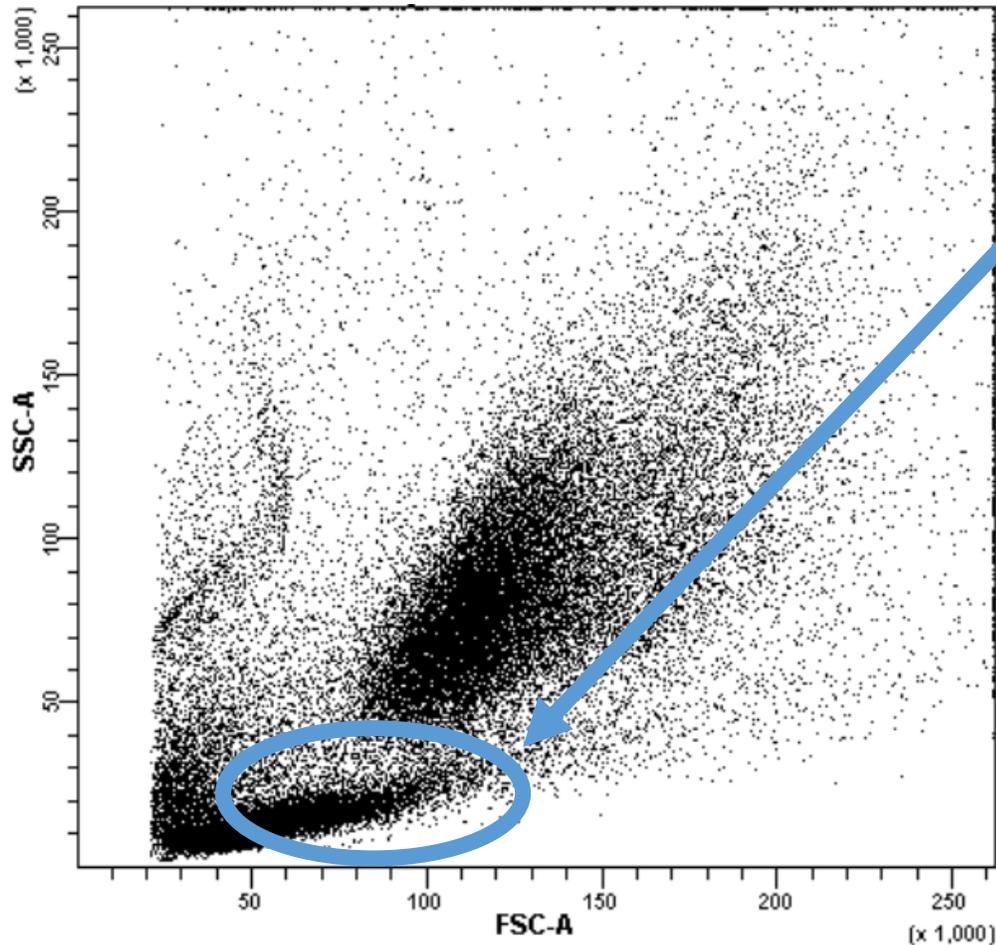
国立研究開発法人  
国立がん研究センター  
National Cancer Center Japan

一般社団法人 日本医療検査科学会  
COI（利益相反） 開示

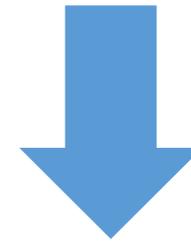
発表者名： 坪倉 美里

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！！**



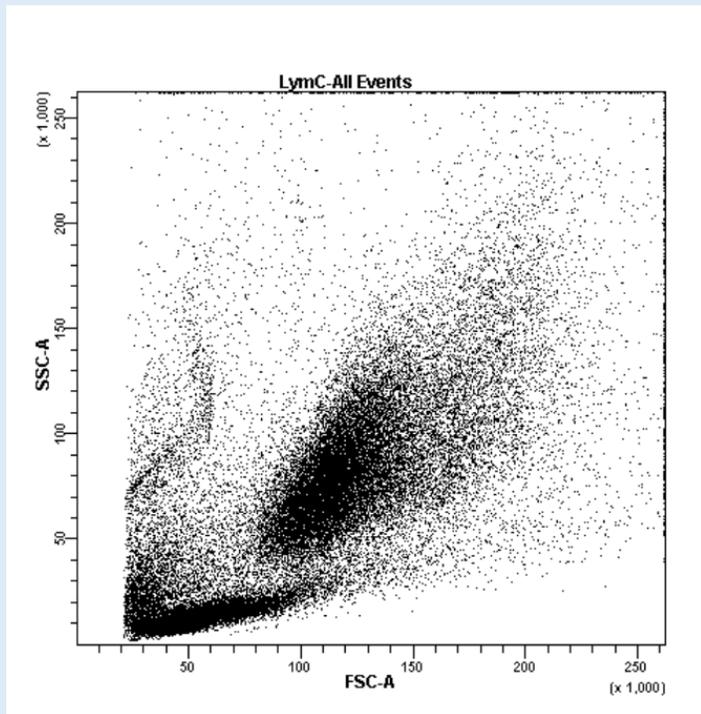
# ■ 本日の内容

1. gatingの基礎知識

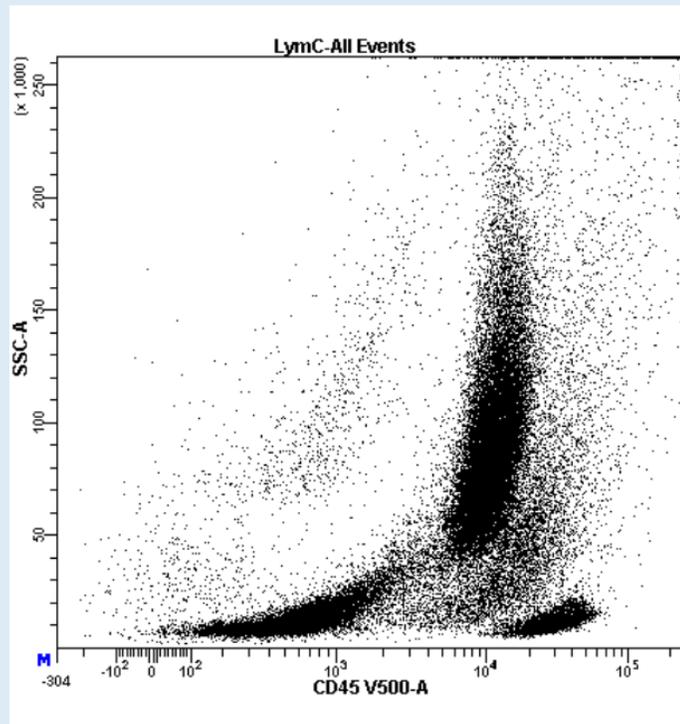
2. 症例

# gating法の種類

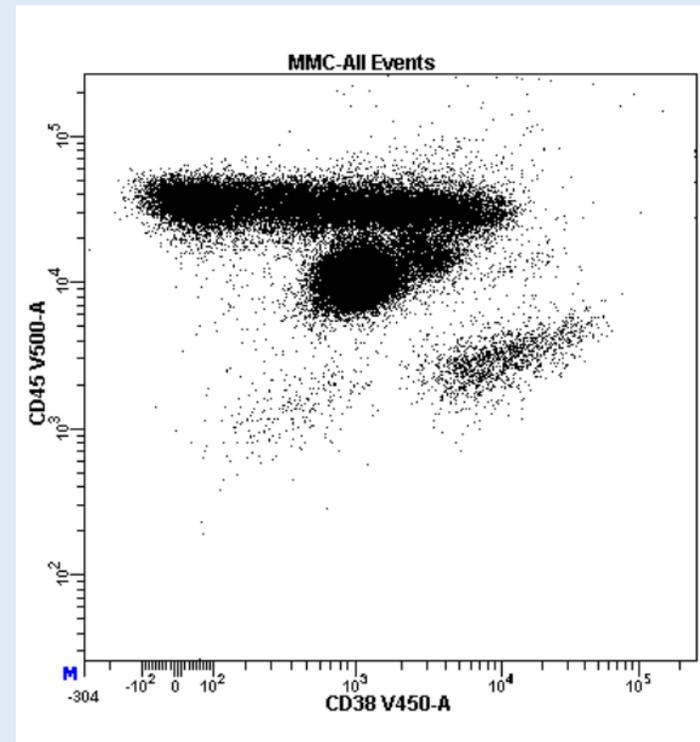
## ① FSC-SSC



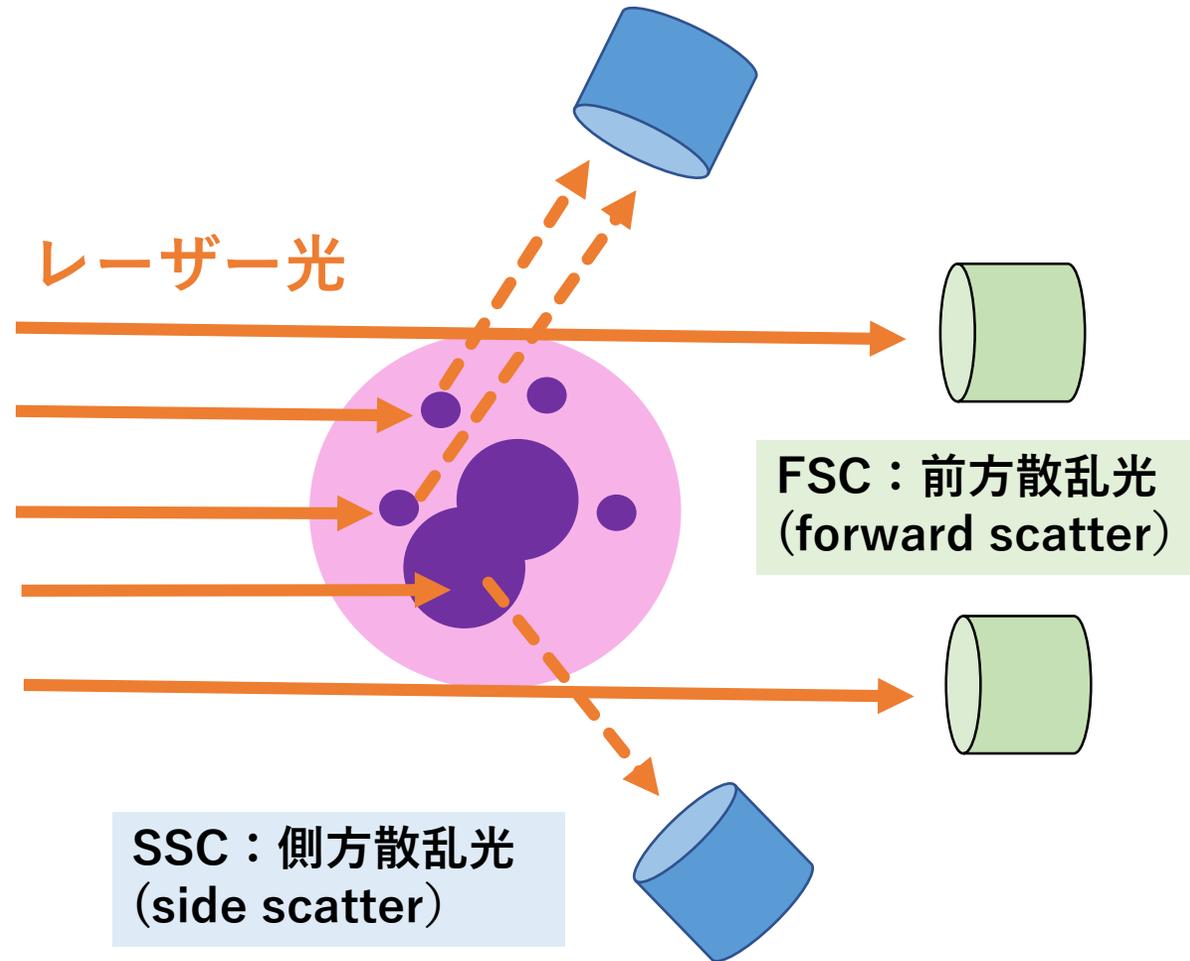
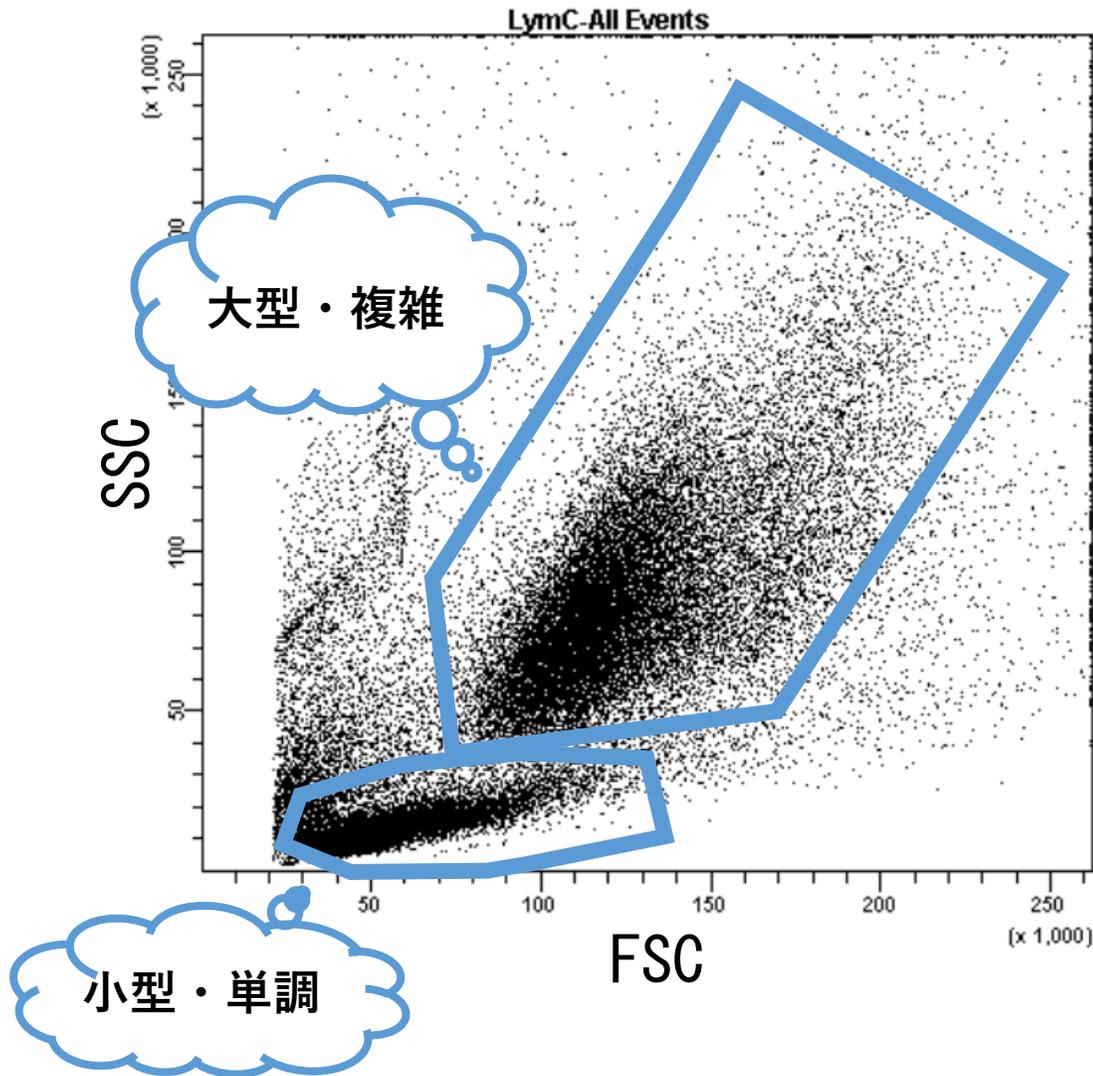
## ② CD45-SSC



## ③ CD38-SSC

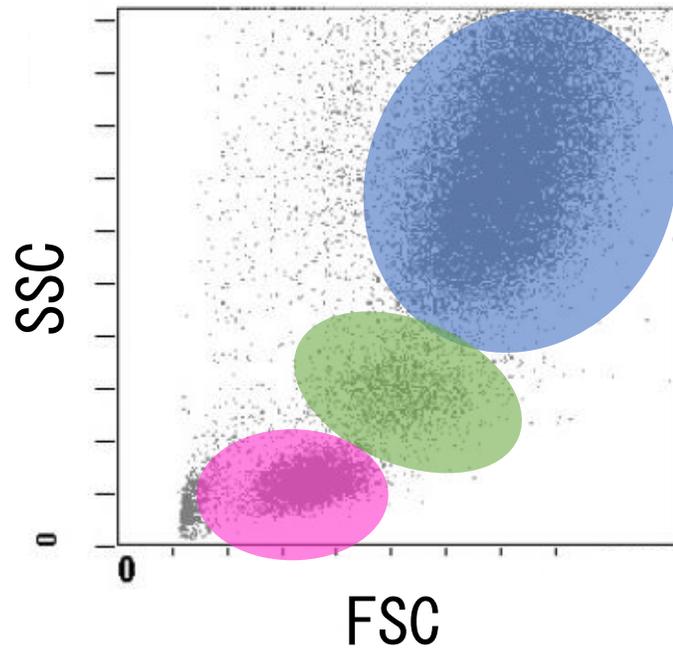


# ① FSC-SSC gating



# ① FSC-SSC gating

末梢血

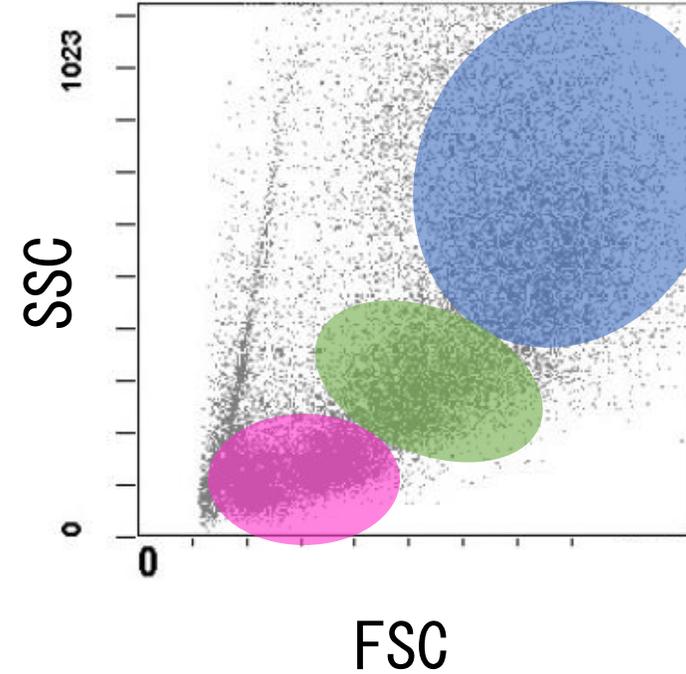


好中球

単球

リンパ球

骨髄



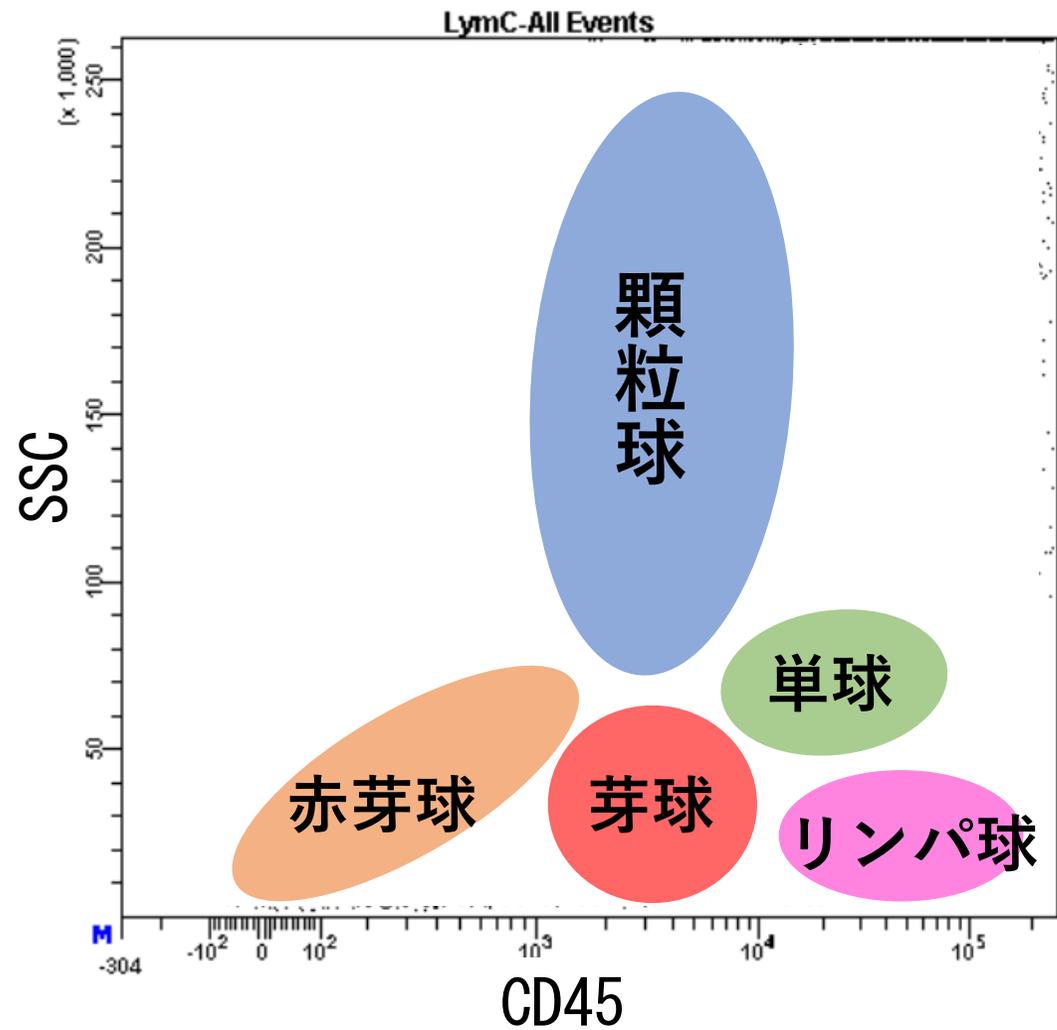
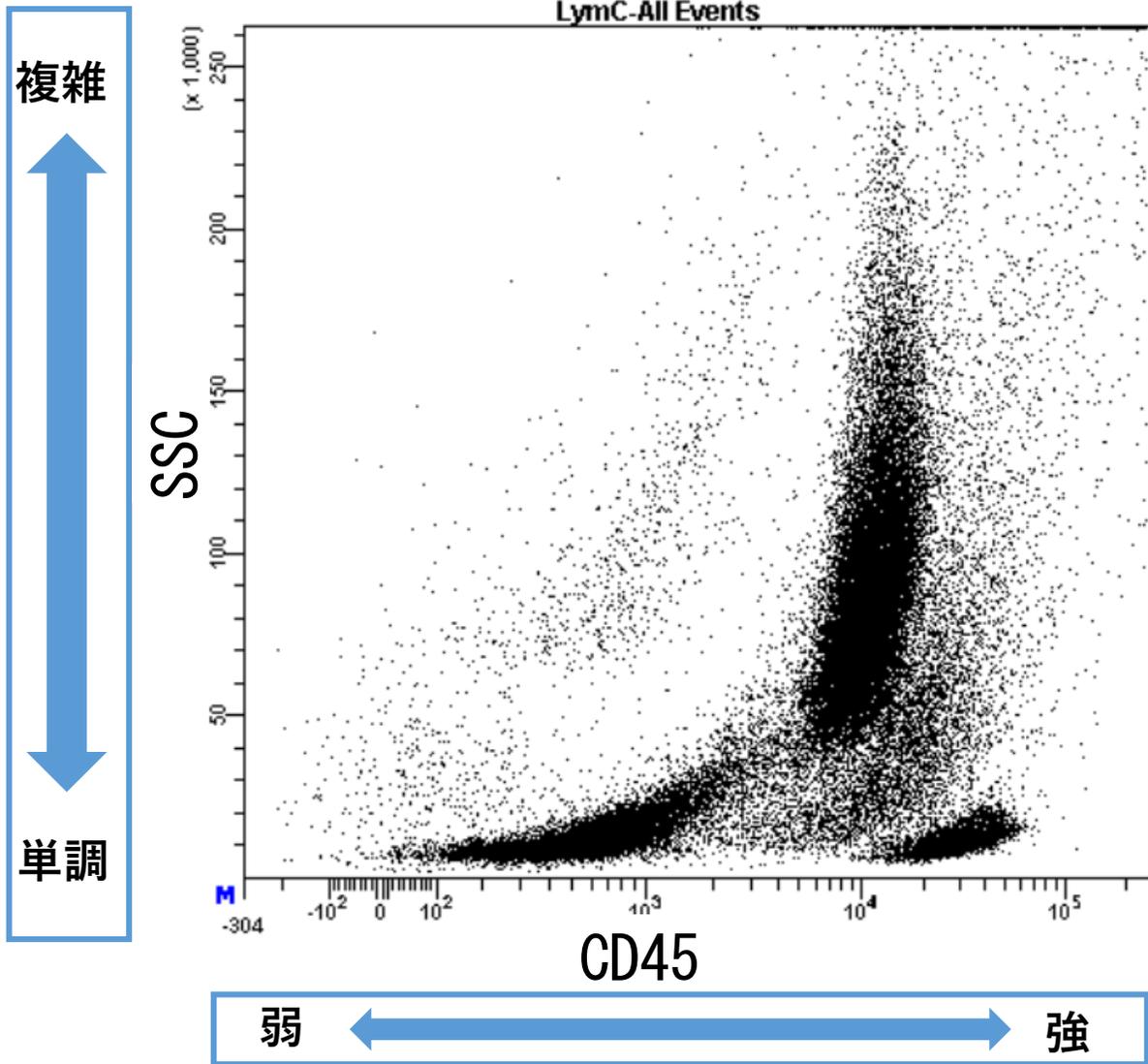
顆粒球

単球

赤芽球  
リンパ球  
芽球

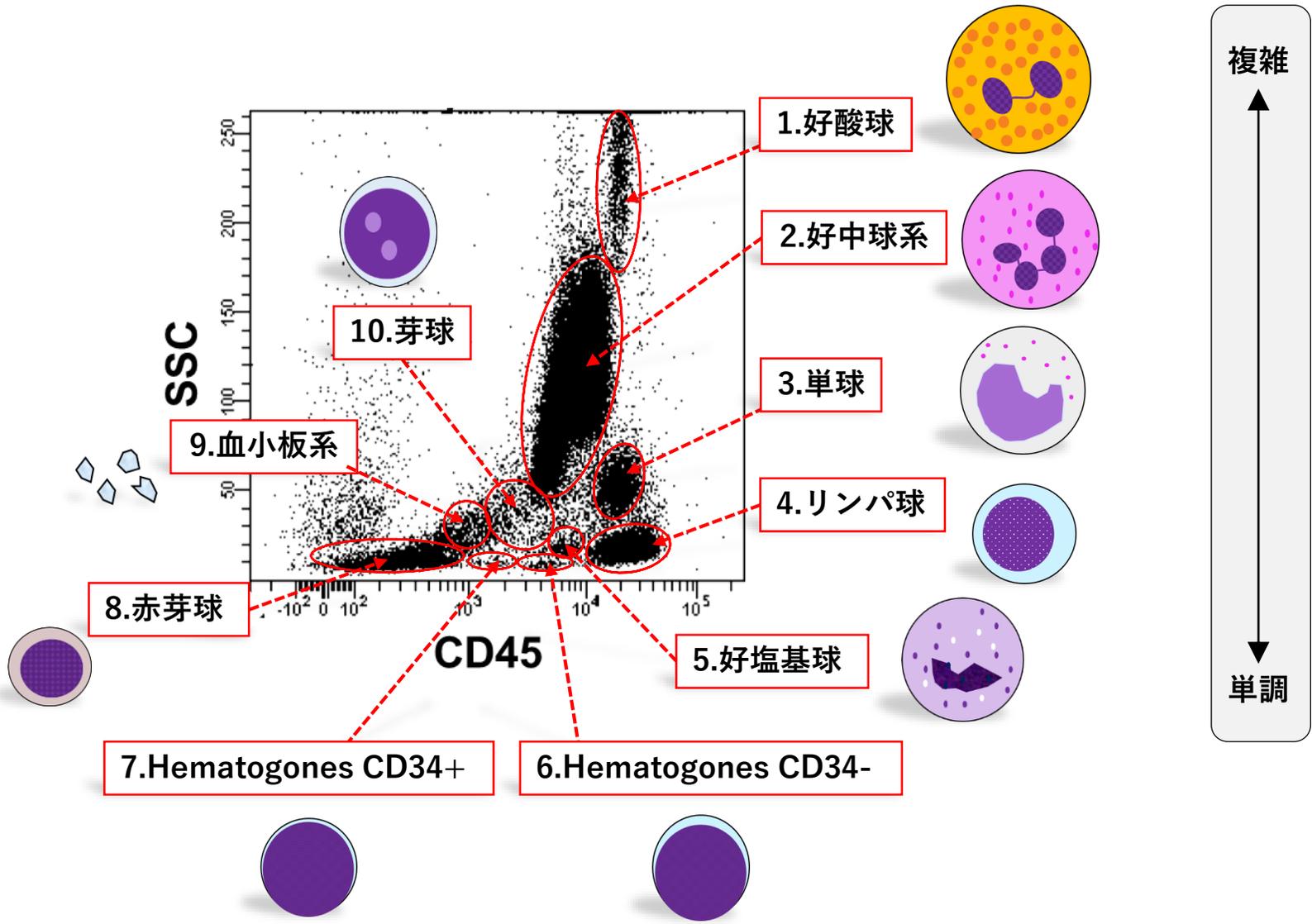
異常細胞が出現していない  
末梢血の解析に用いられる

## ② CD45 gating

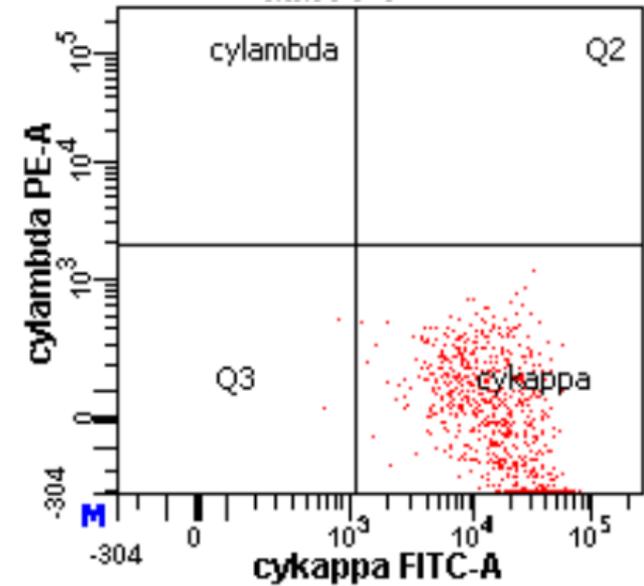
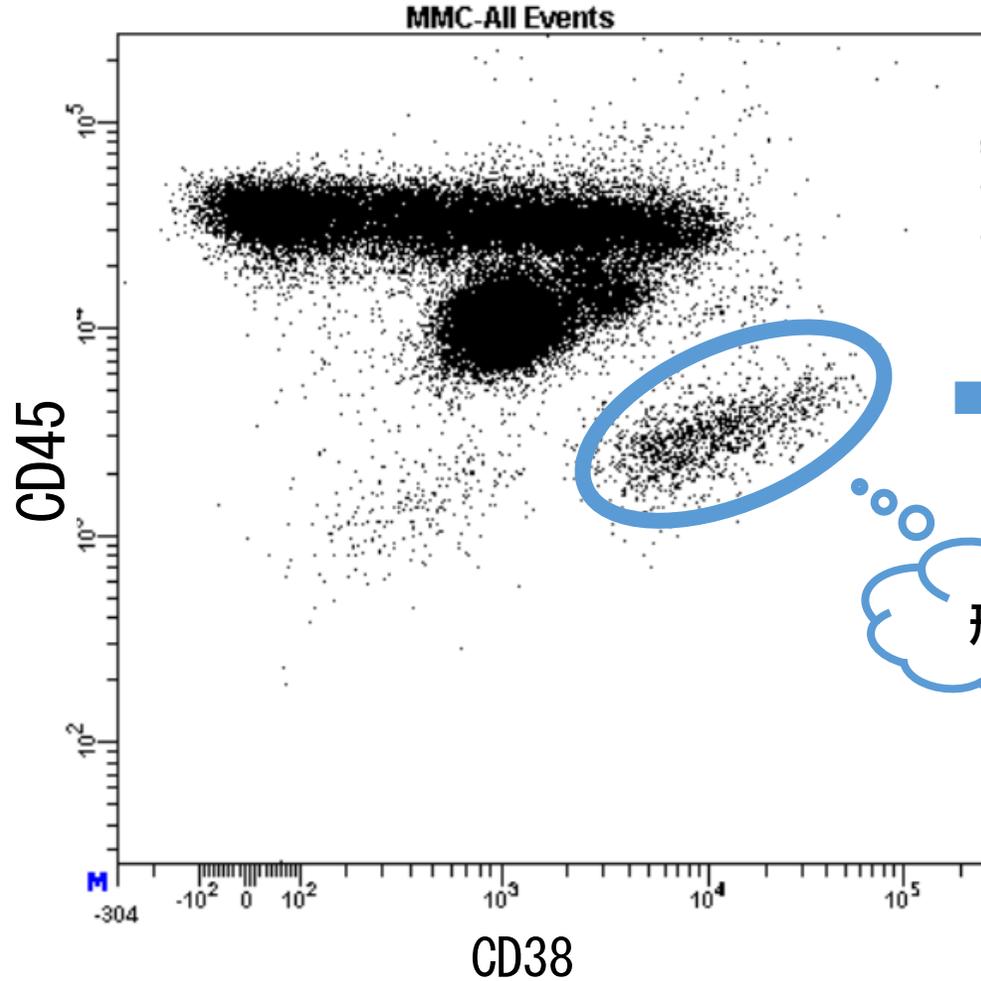


CD45弱 ← → CD45強

血球イラストは筆者イメージ

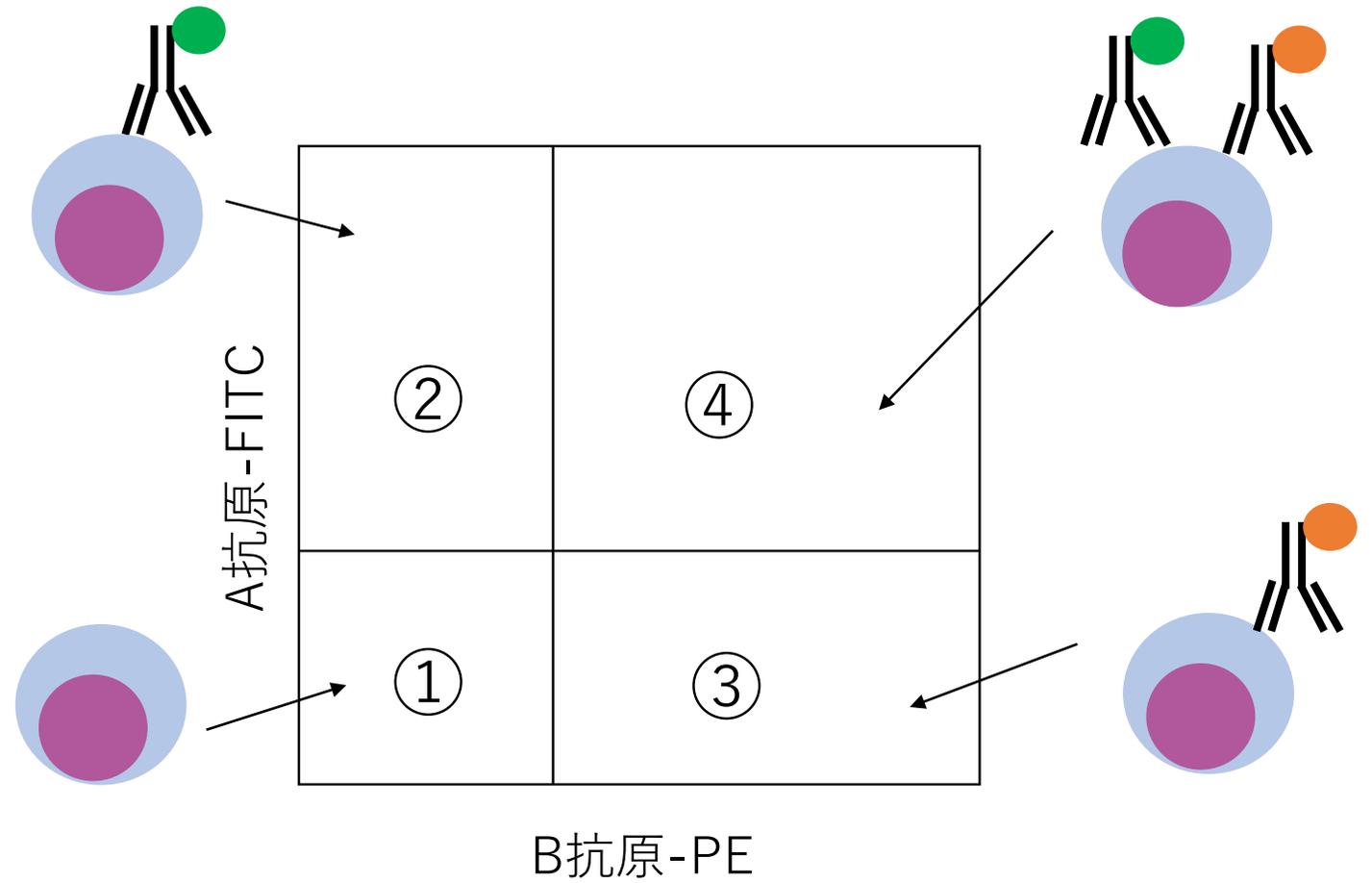
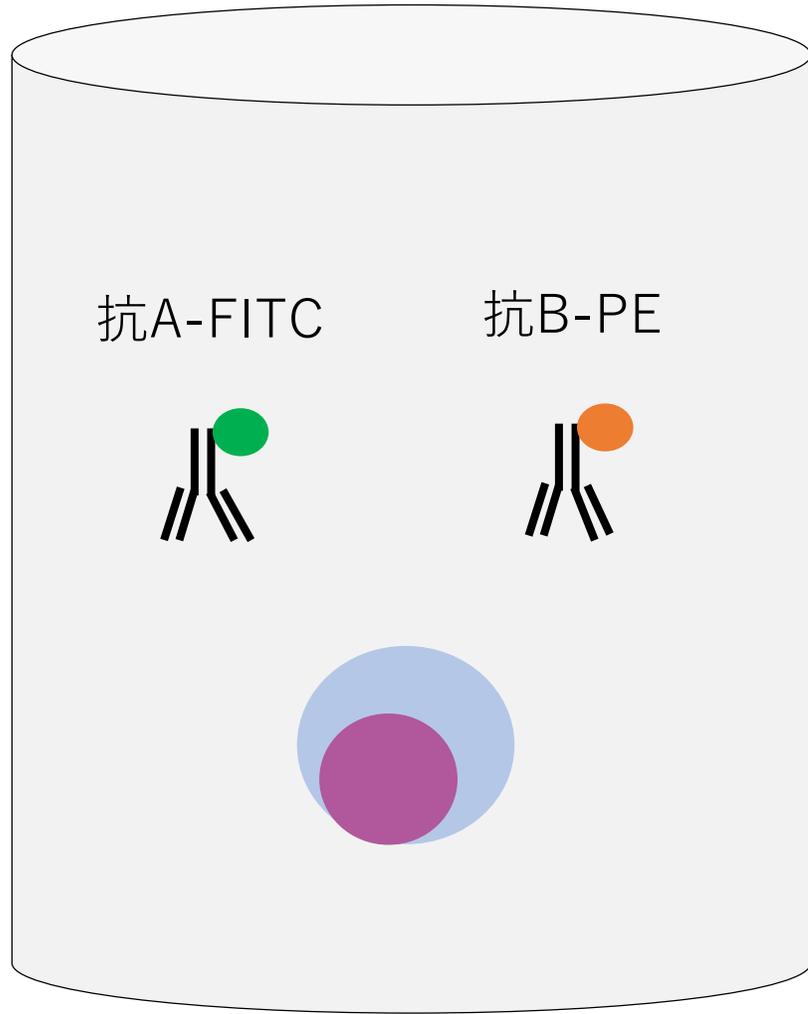


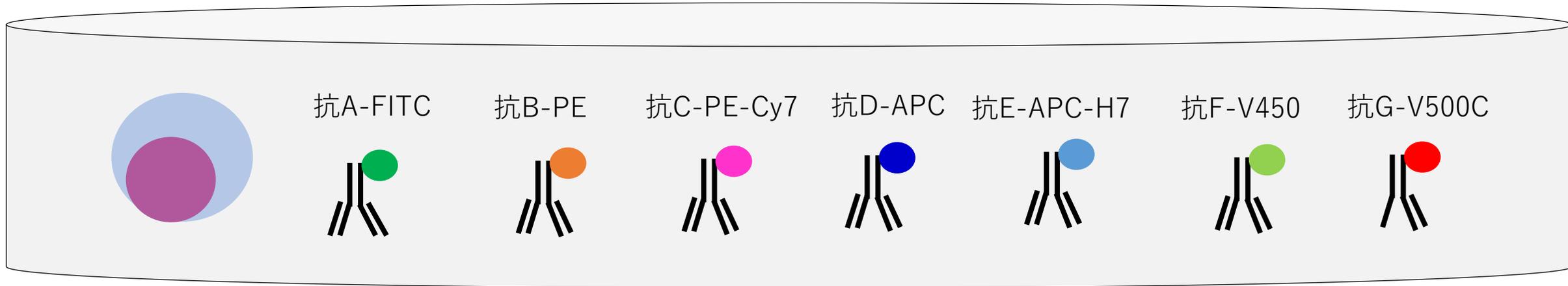
### ③ CD38 gating



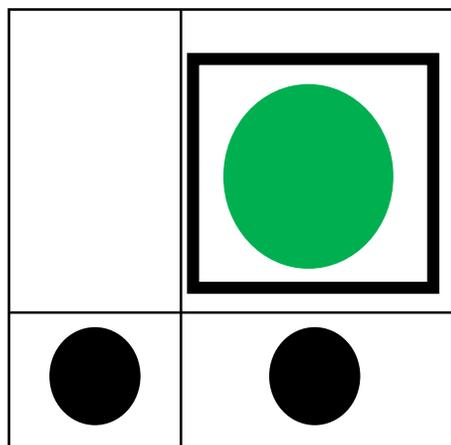
Kappa/lambdaの偏り

# マルチカラーFCM



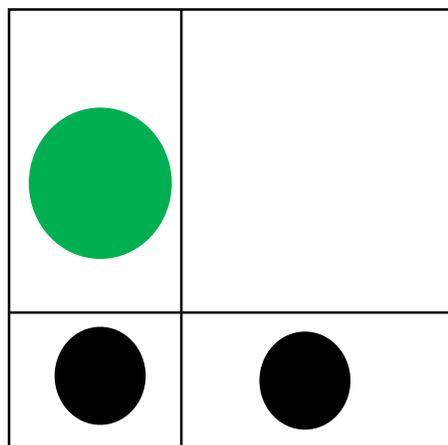


A抗原-FITC



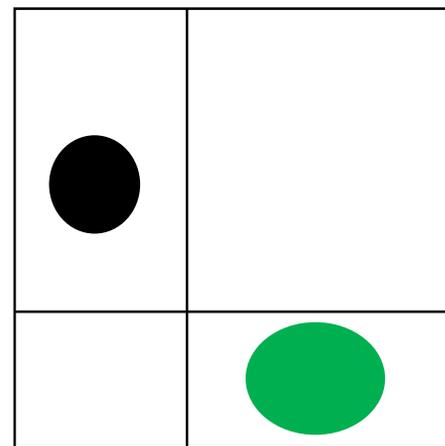
B抗原-PE

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

(文献6をもとに作成)

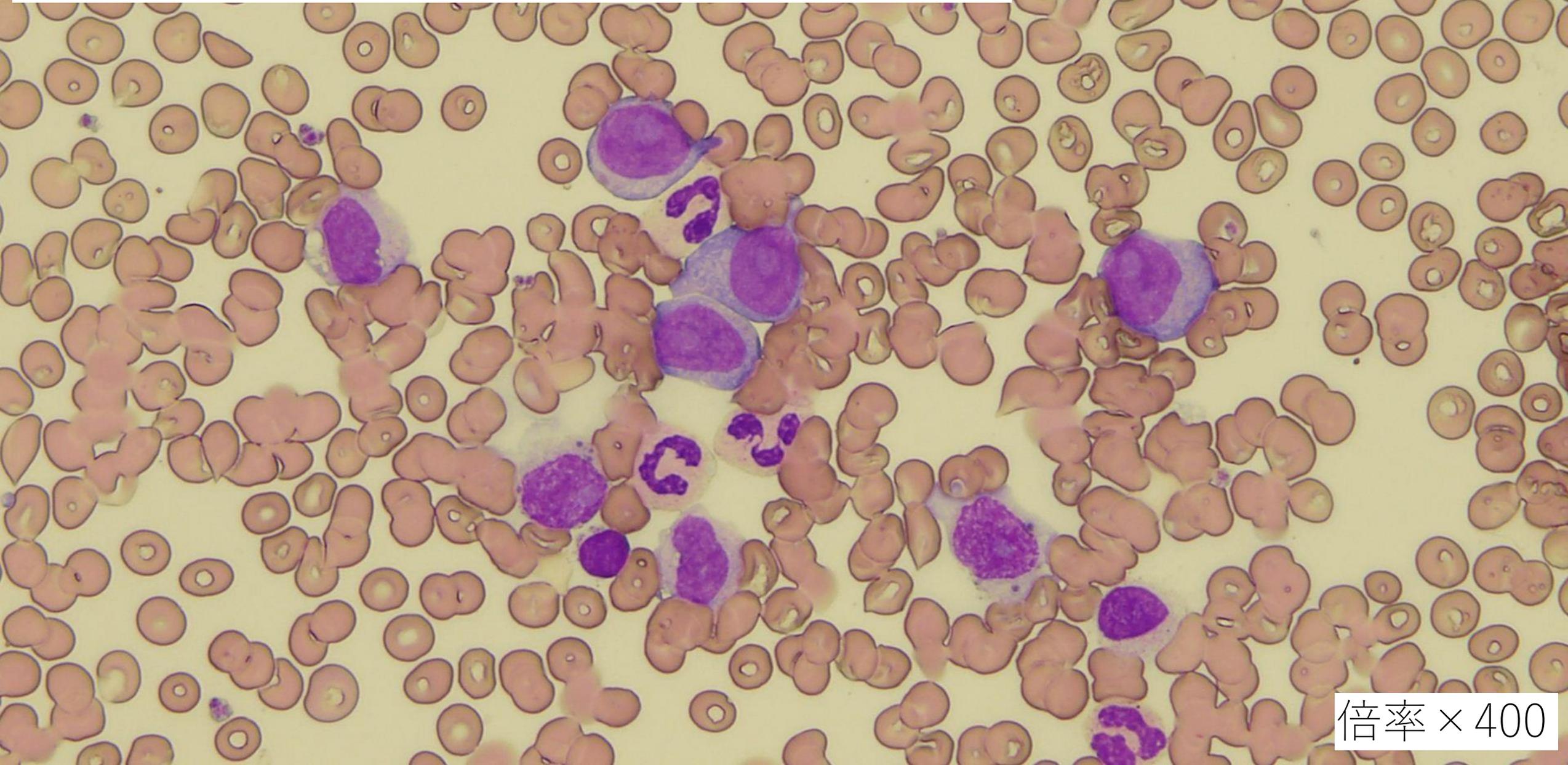
6.Wood BL, Arroz M et al : 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia by Flow Cytometry : Optimal Reagents and Reporting for the Flow Cytometric Diagnosis of Hematopoietic Neoplasia. Cytometry B Clin Cytom, 72B, S14-S22, 2007.

# ■ 本日の内容

1. gatingの基礎知識

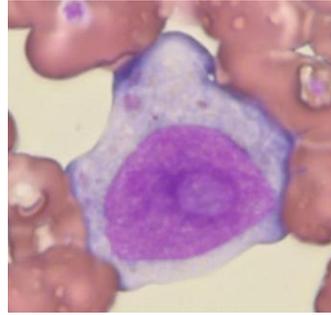
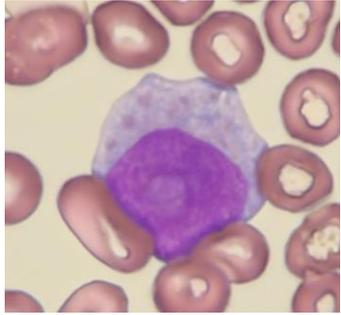
2. 症例

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

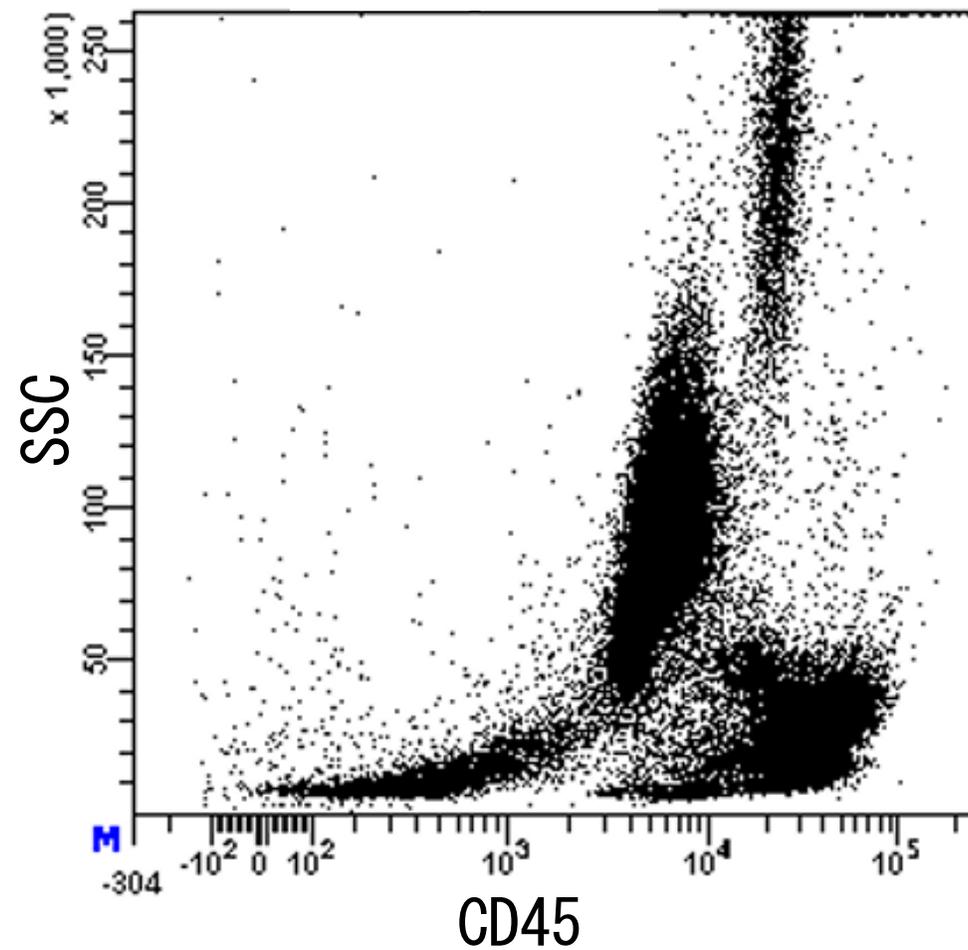
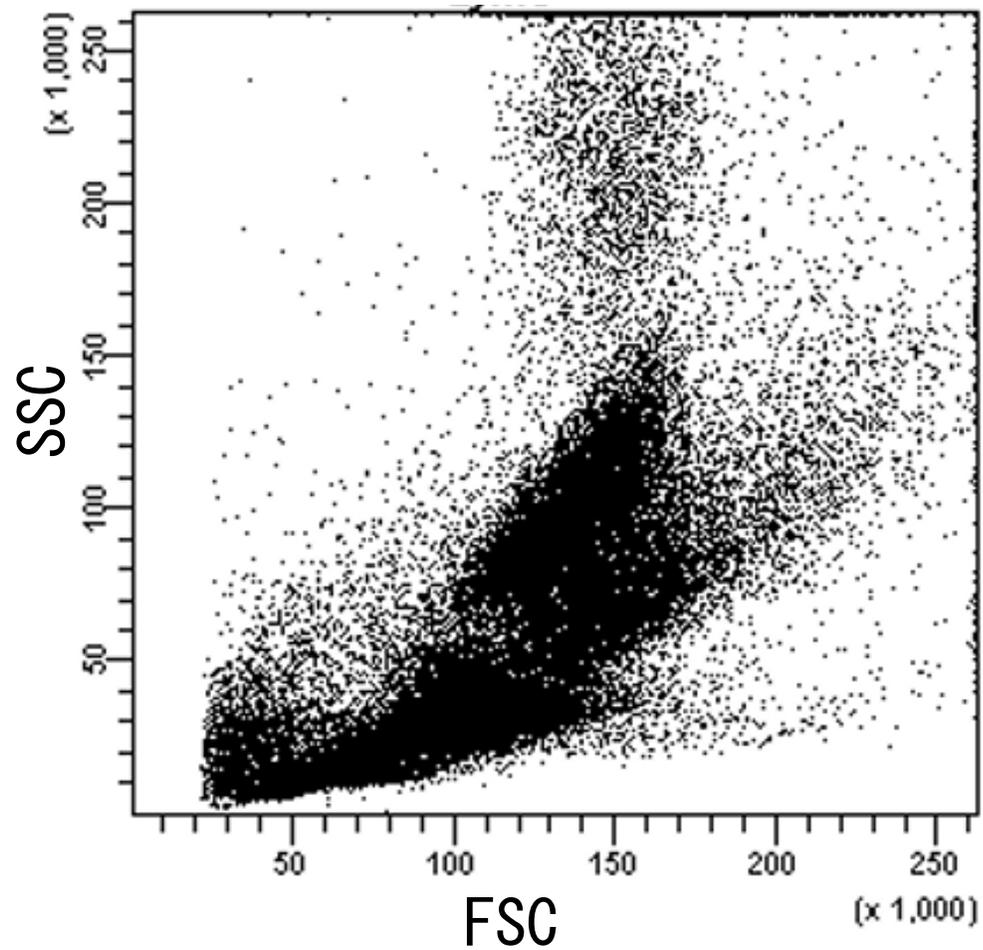
## 血算・分画

|      |      |                           |
|------|------|---------------------------|
| 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 | %                         |

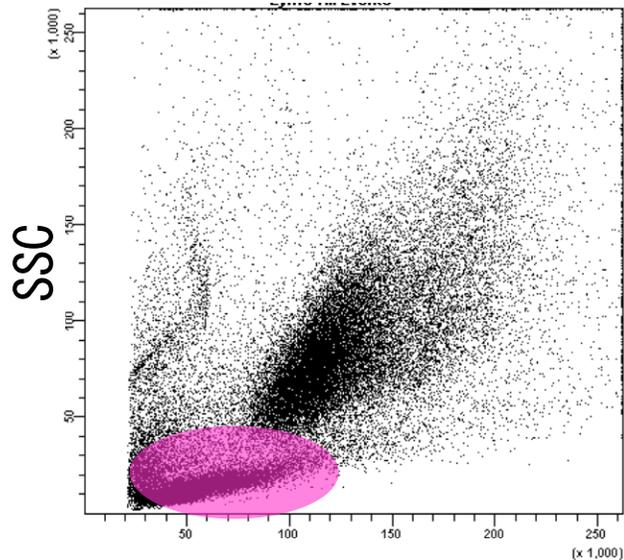
## 生化学

|        |       |        |
|--------|-------|--------|
| 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？

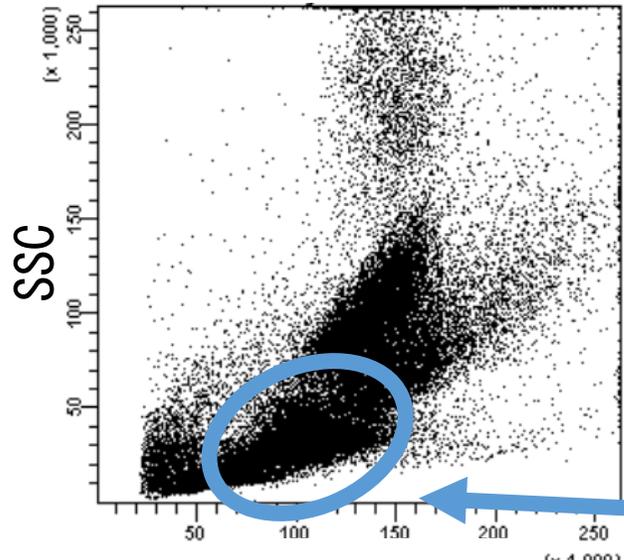


正常



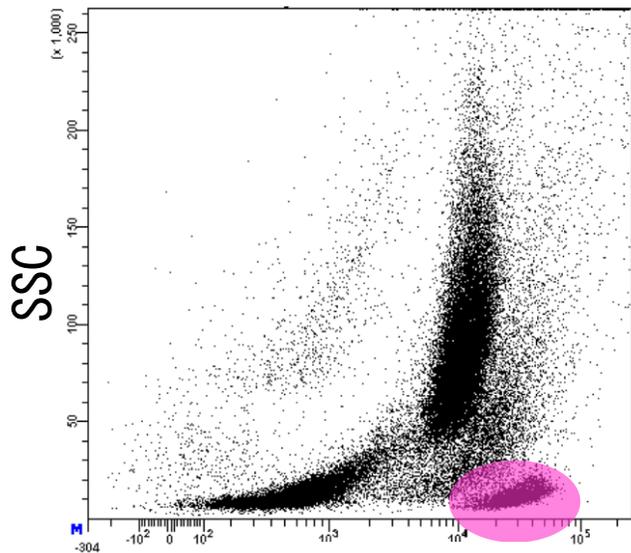
FSC

本症例

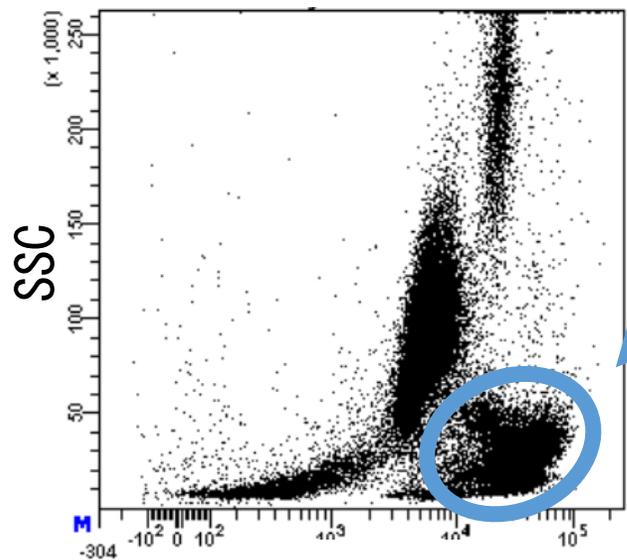


FSC

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！

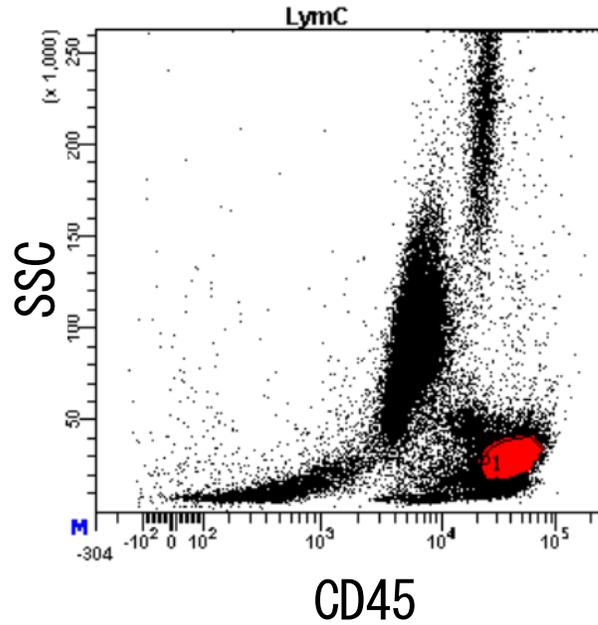
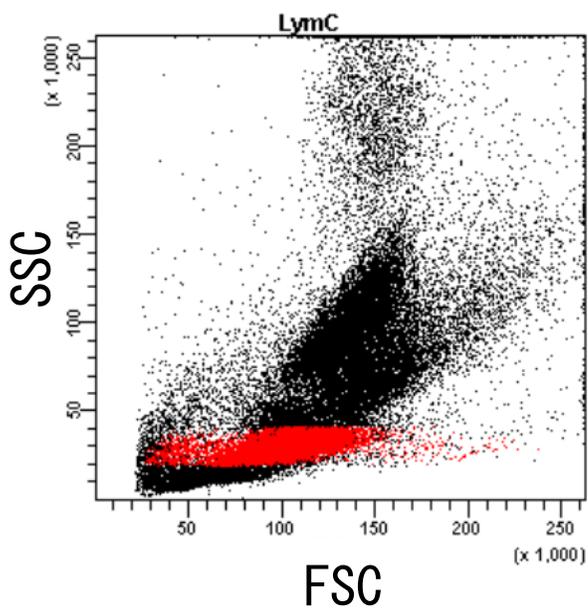


CD45

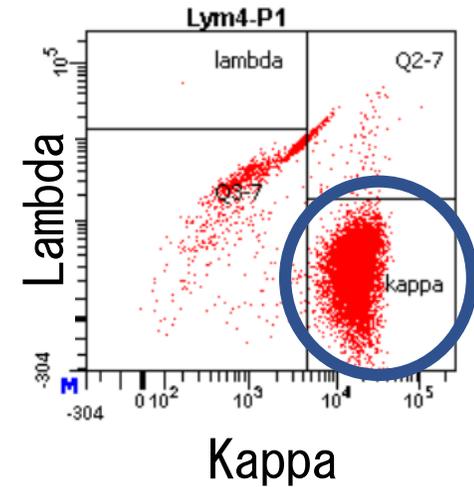
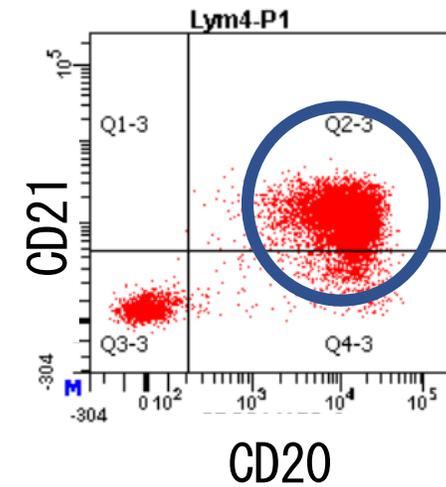
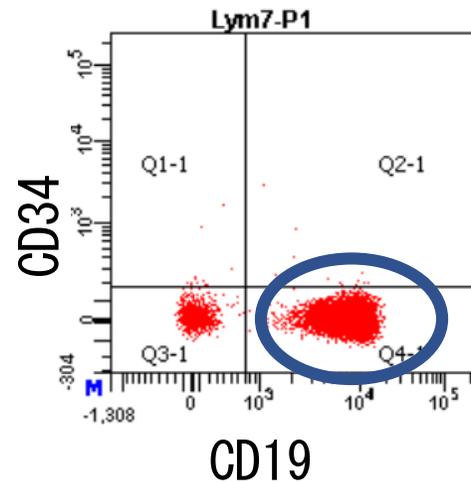
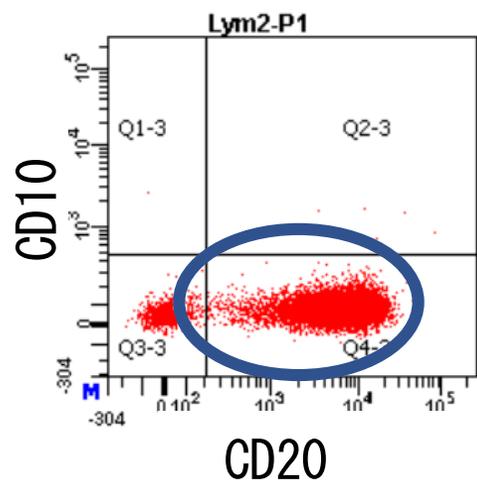
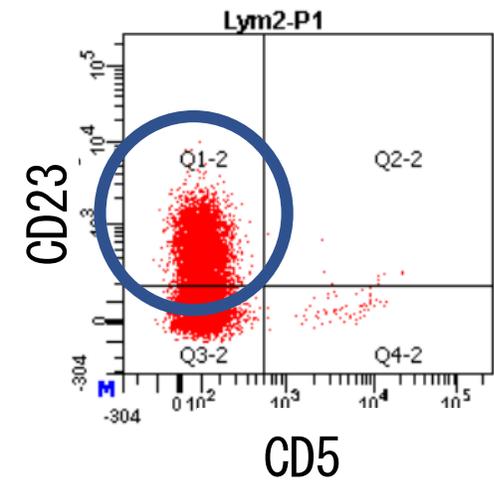


CD45

- ・ 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。

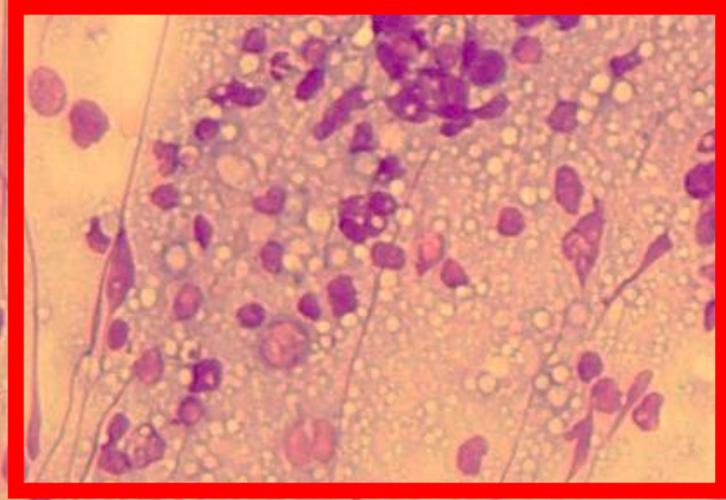
## 細胞形態

- ・ 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



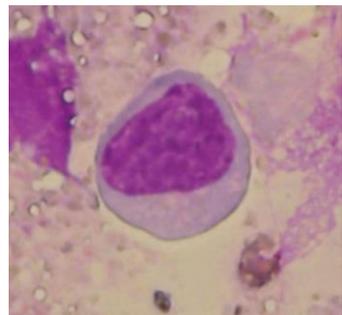
倍率 × 200

症例② 58歳 男性 リンパ節

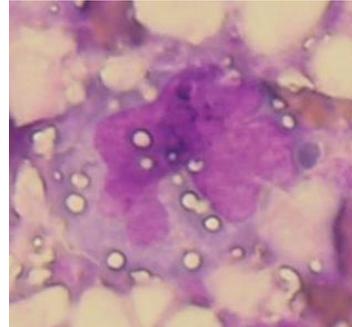
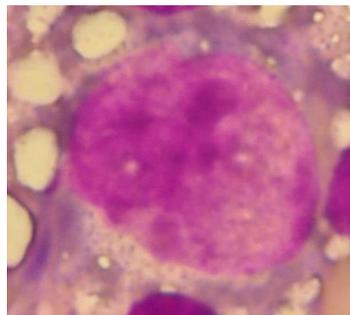


倍率 × 400

# 症例② 58歳 男性



正常リンパ球



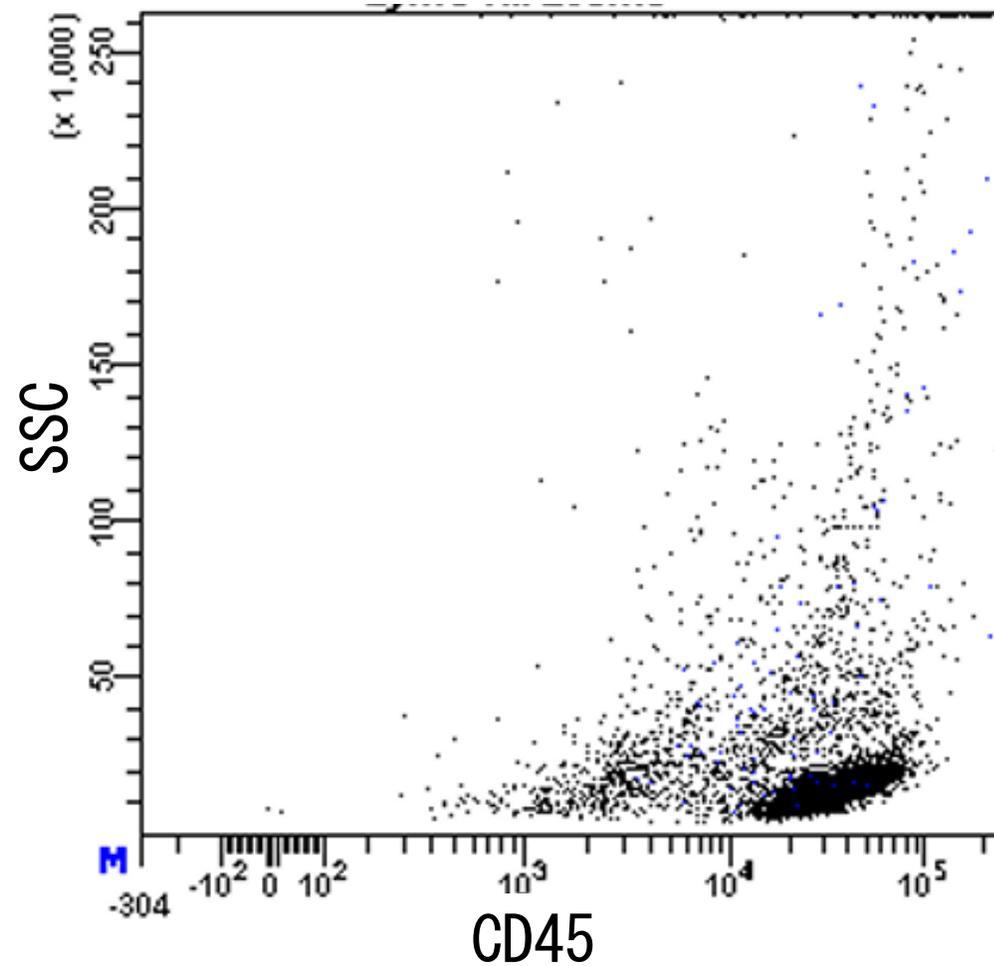
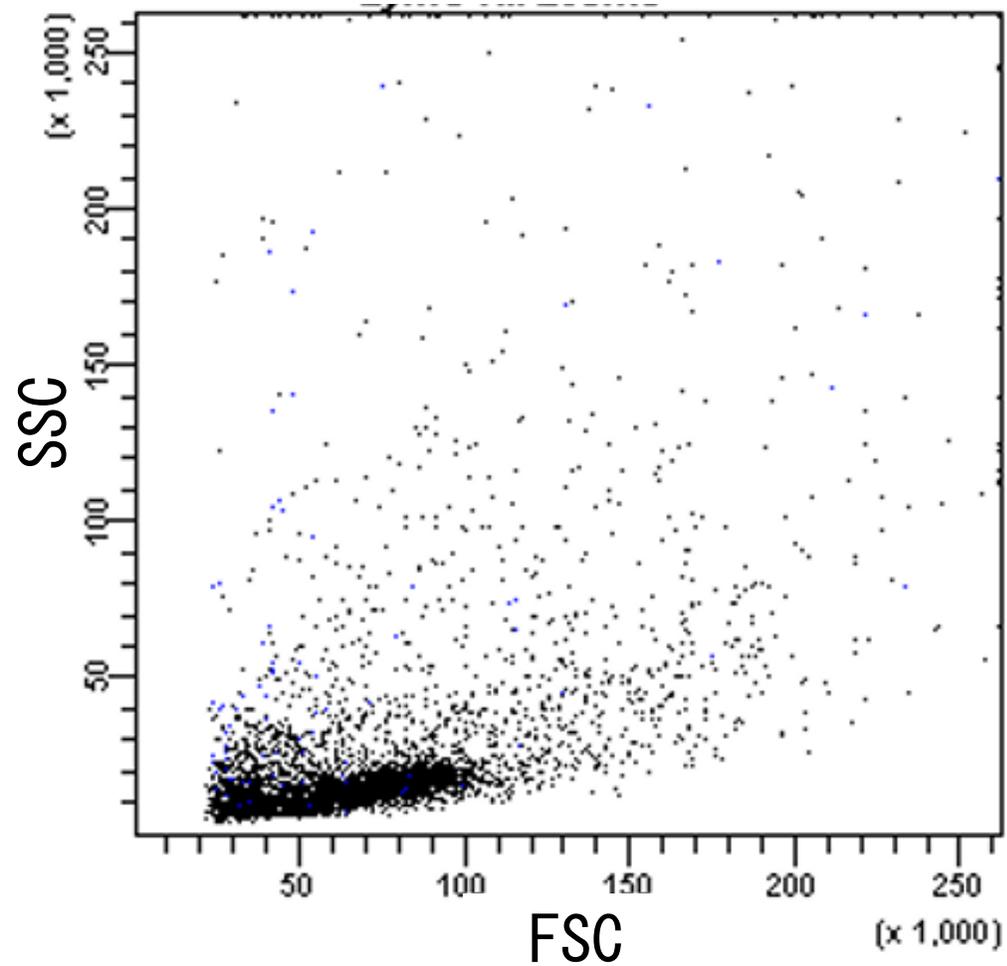
倍率×1000

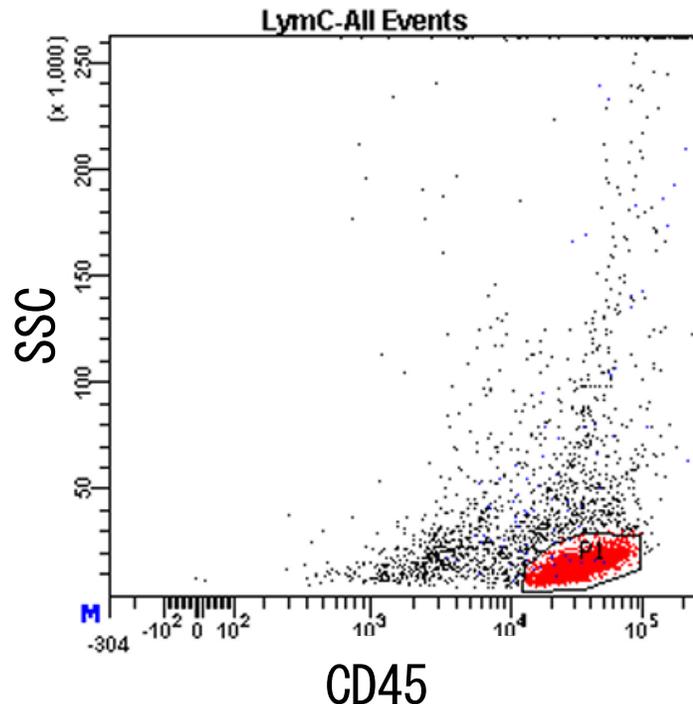
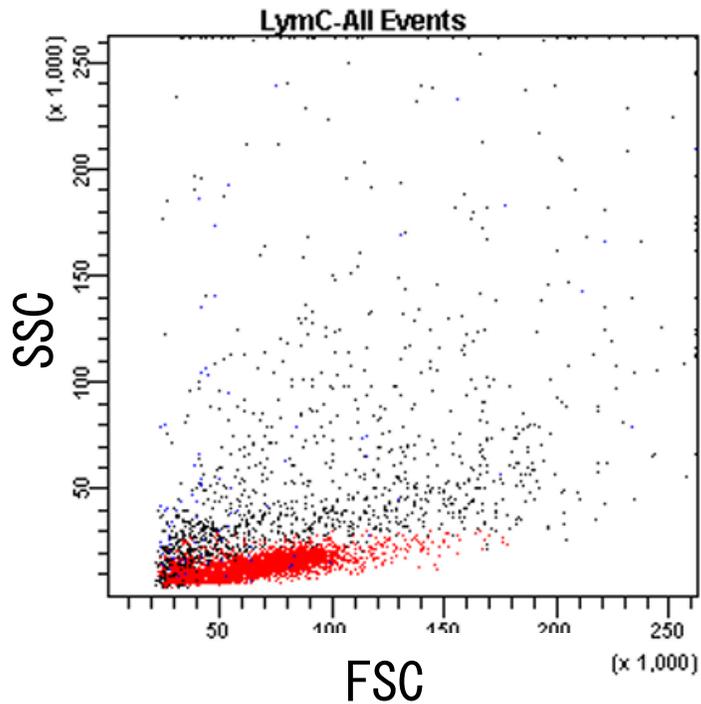
- 大きさ：**大型**
- 核：**やや繊細、核辺縁不整**
- 細胞質：**好塩基性はやや強い  
空胞を認める**

| 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？

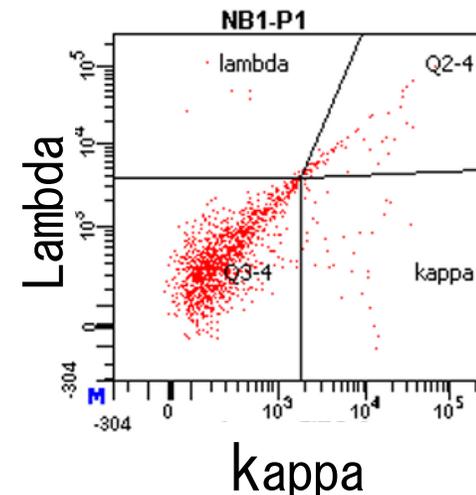
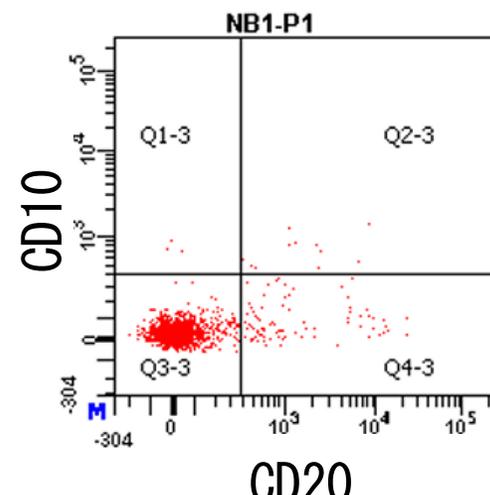
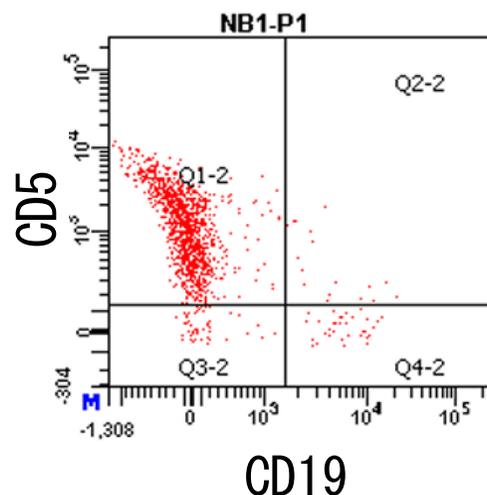
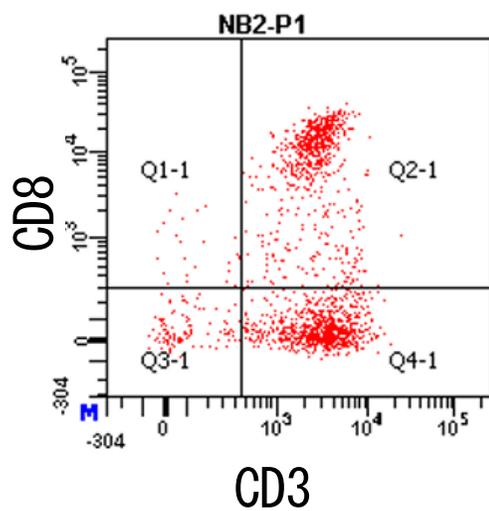
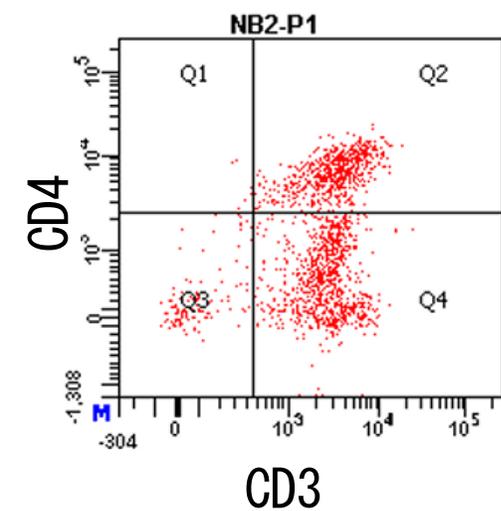




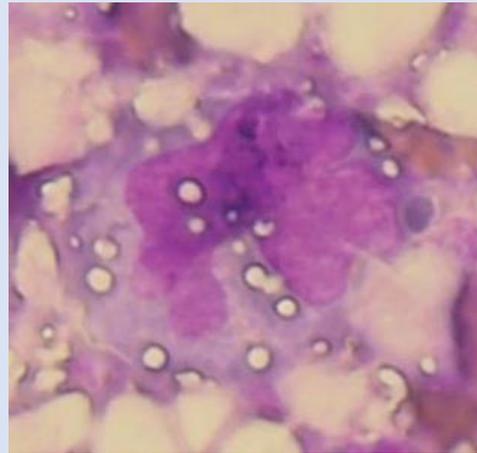
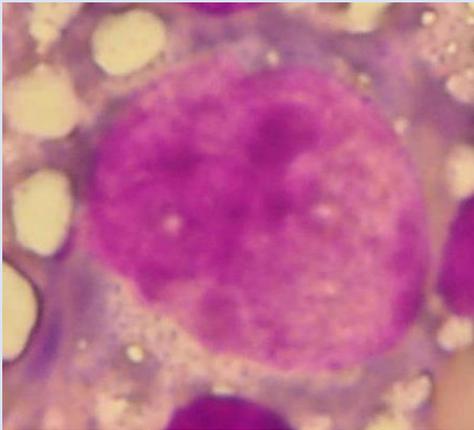
- CD3 ≡ CD4 + CD8
- 免疫グロブリン軽鎖に偏りなし



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！



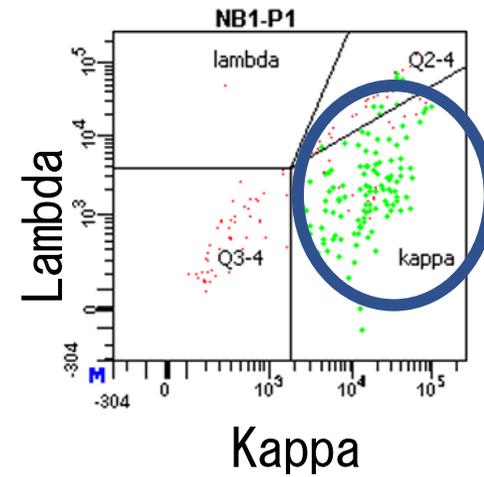
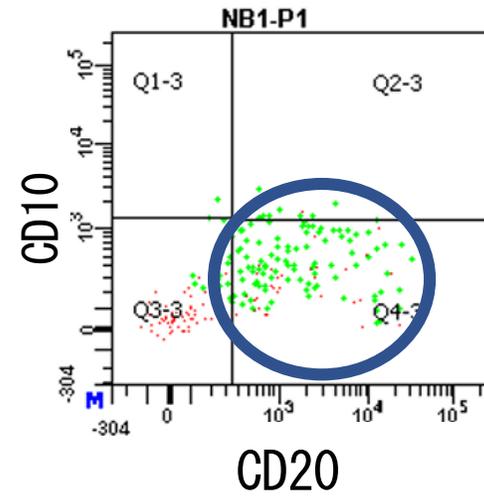
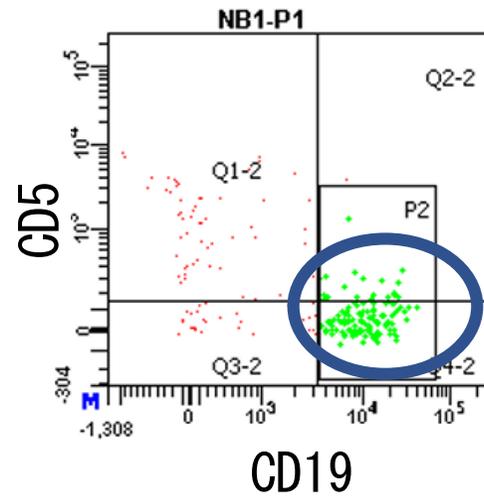
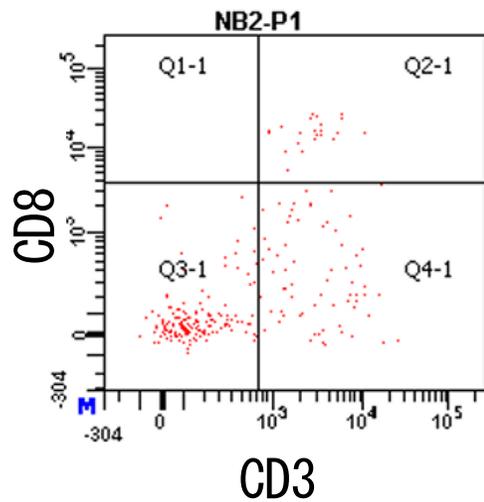
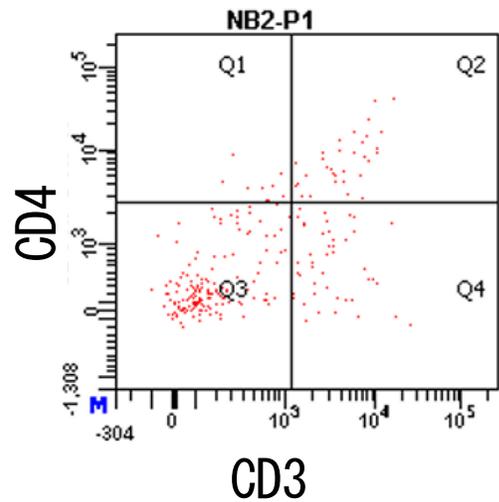
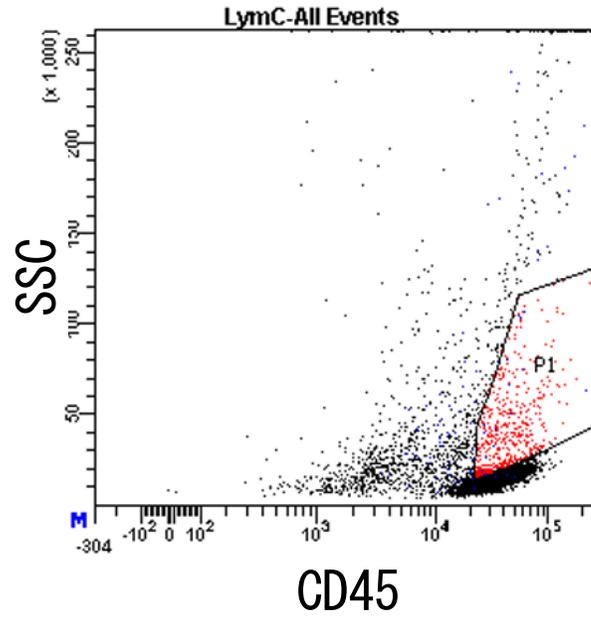
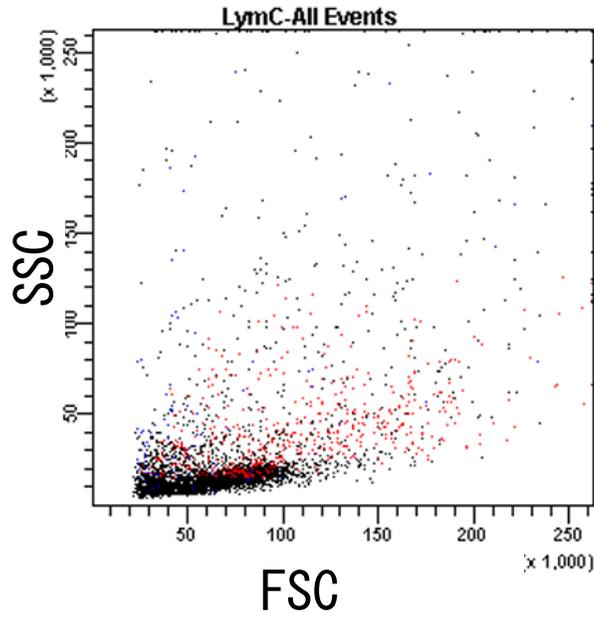
大型で空砲を有する細胞がありそう…

SSCは通常のリンパ球領域よりも  
上にくるのでは??

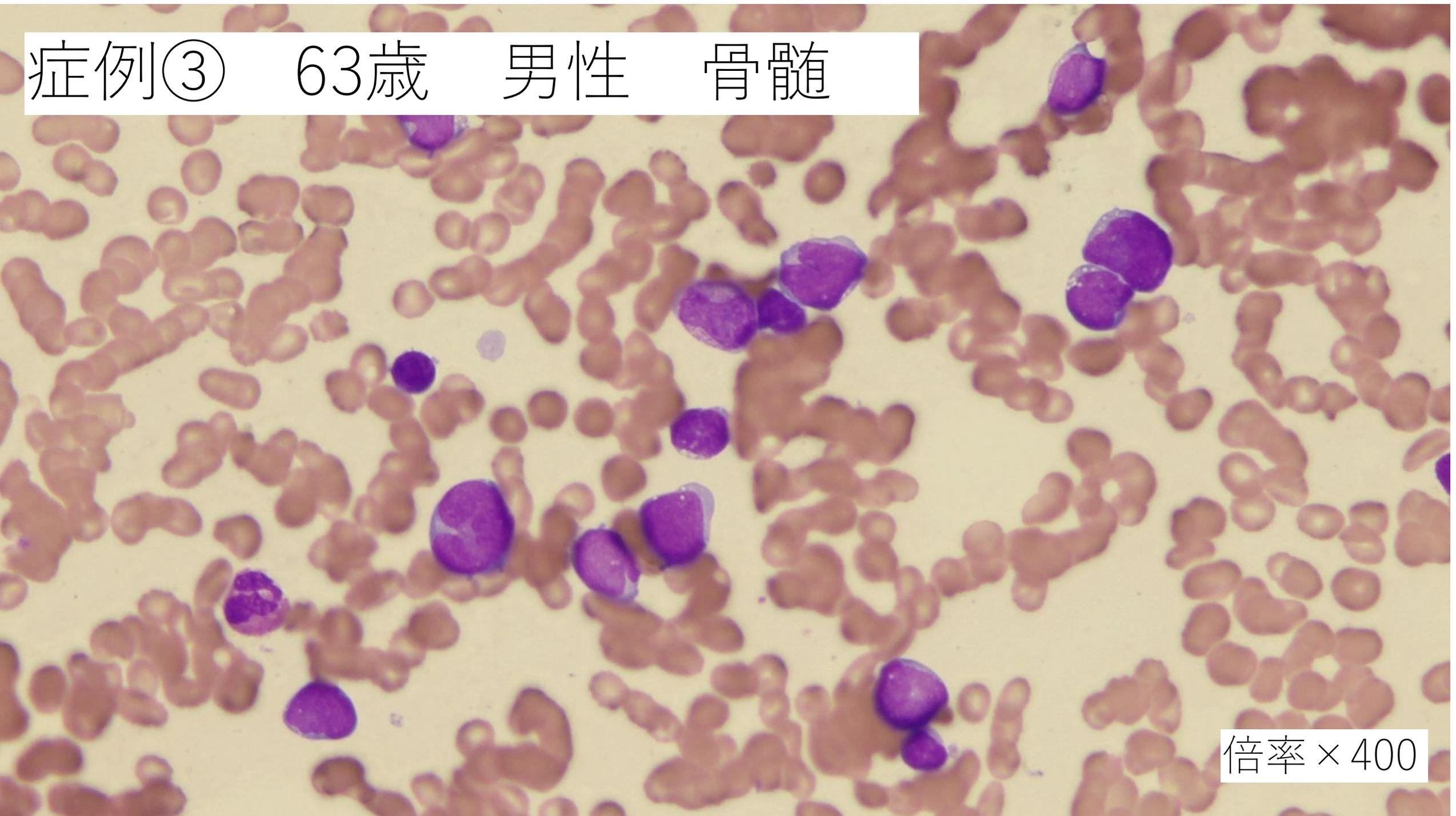
- 陽性 : CD19,CD20
- 陰性 : CD3,CD4,CD8,CD5,CD10
- 免疫グロブリン軽鎖はkappaにクローン性を認める



**DLBCL**

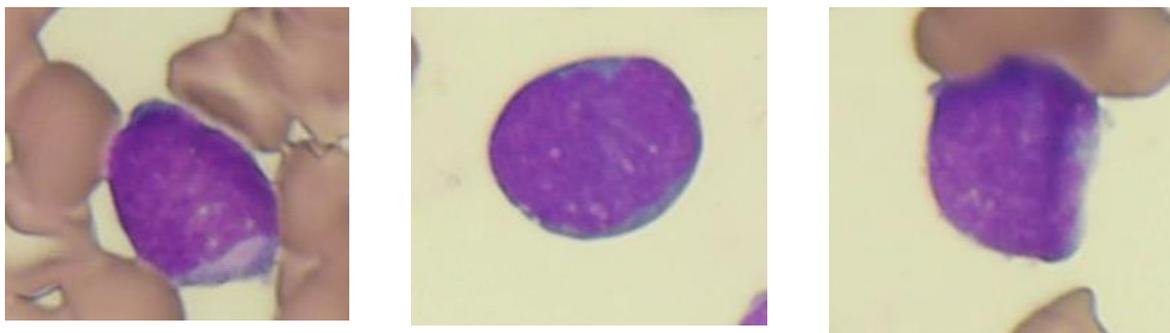


症例③ 63歳 男性 骨髓



倍率 × 400

# 症例③ 63歳 男性



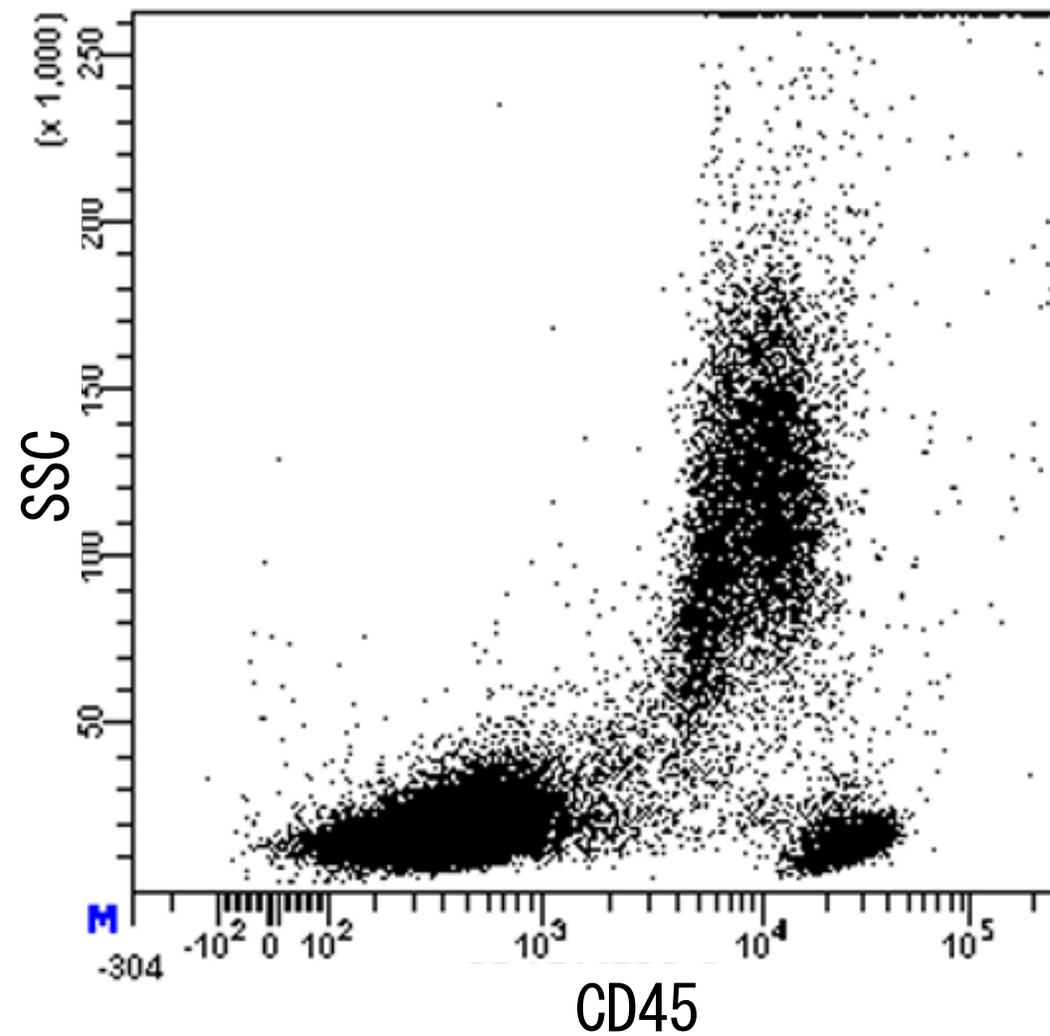
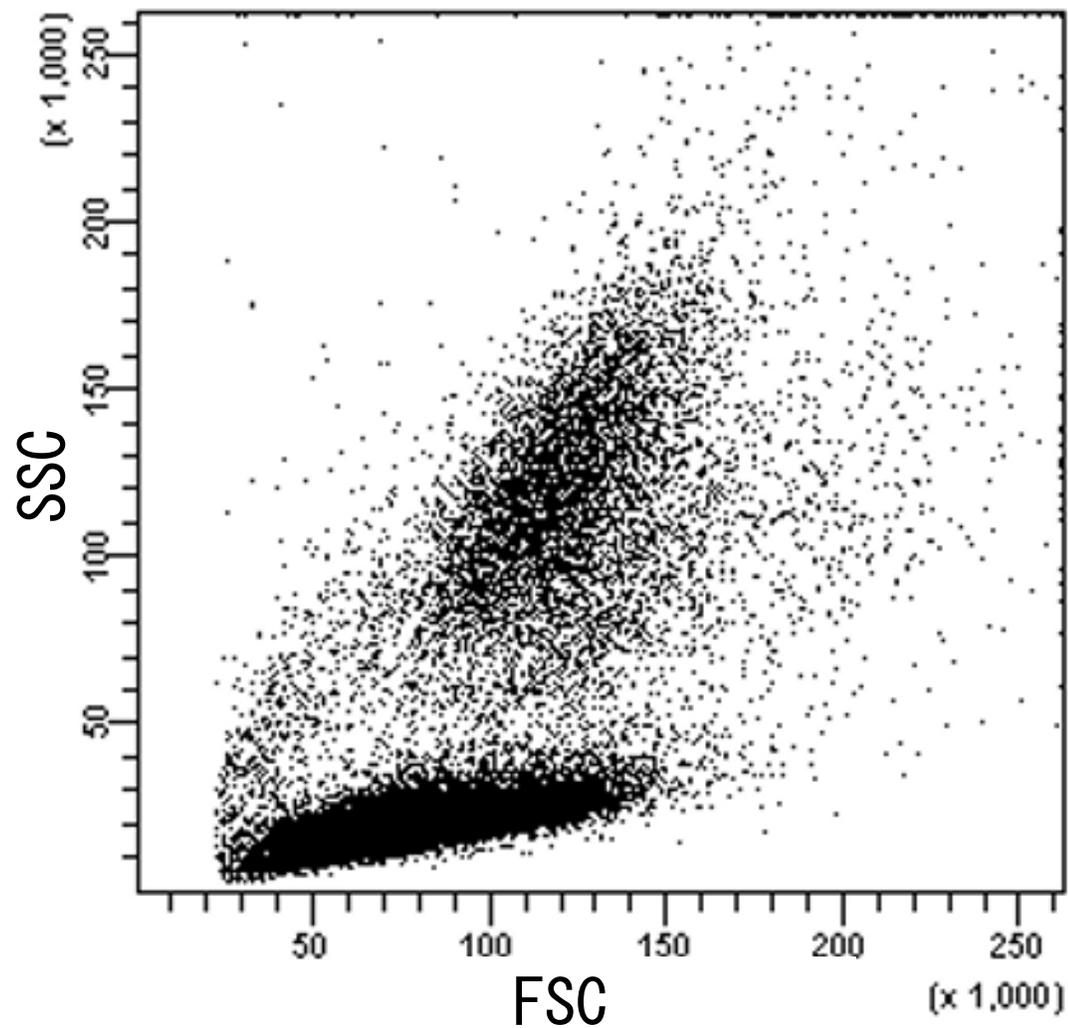
倍率×1000

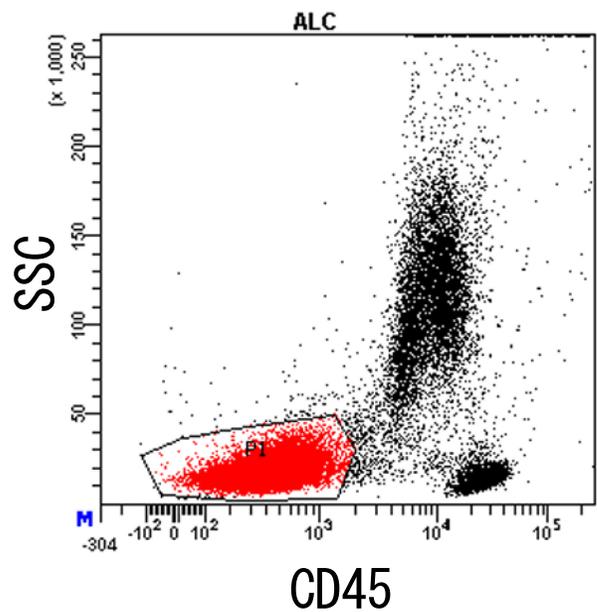
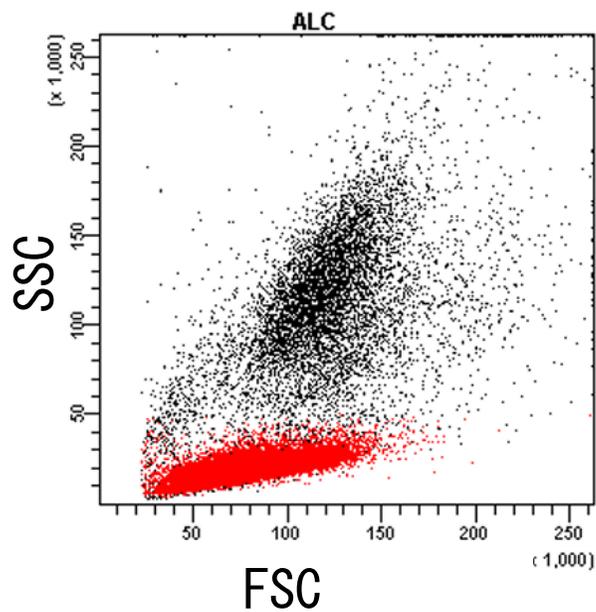
- 大きさ：中型
- 核：やや繊細、核辺縁不整
- 細胞質：好塩基性

| 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？

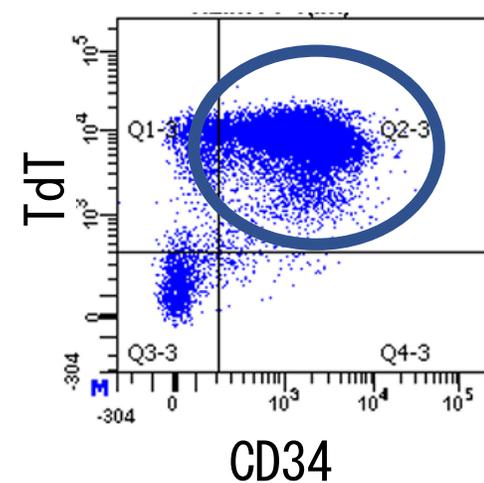
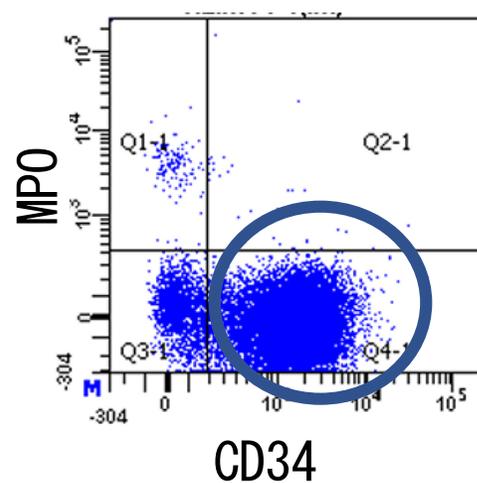
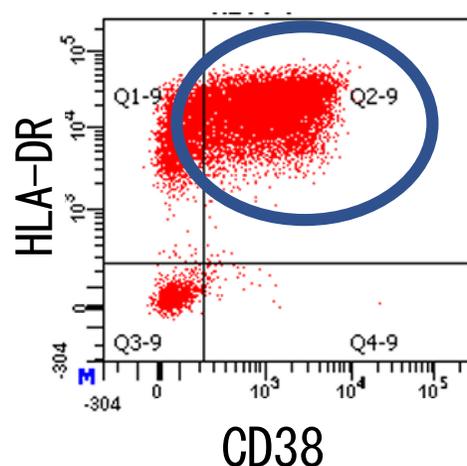
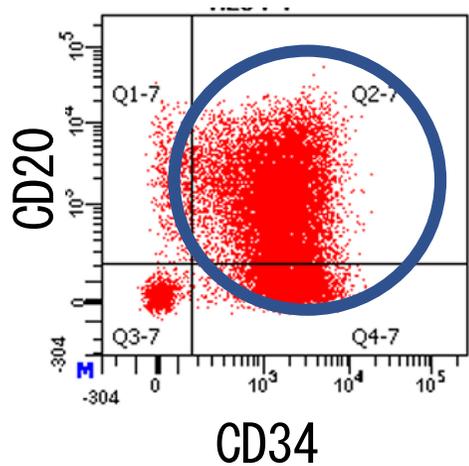
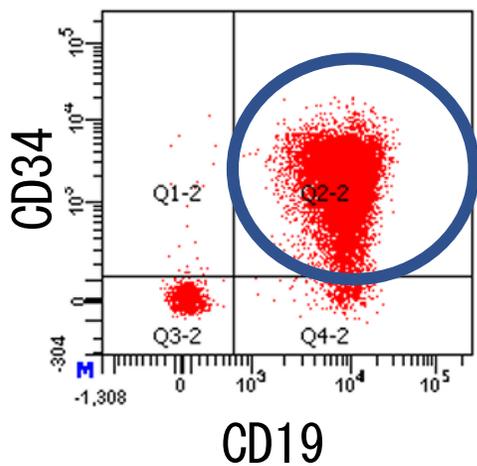




- 陽性 : CD19,CD20,CD34,CD38  
HLA-DR,TdT
- 陰性 : MPO



**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%。

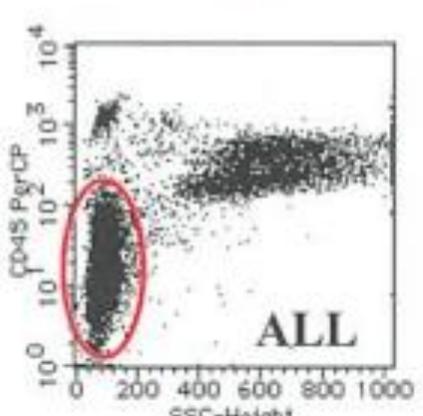
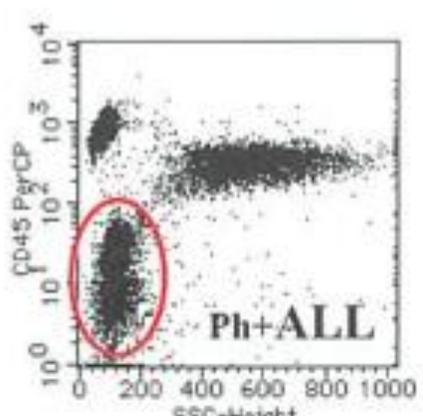
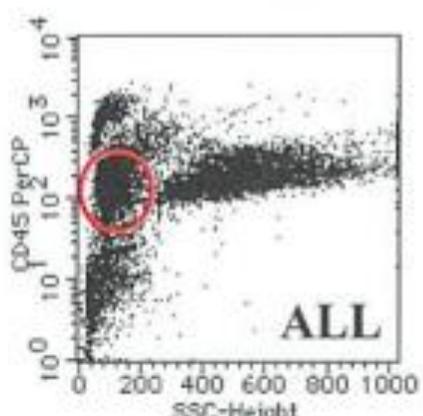
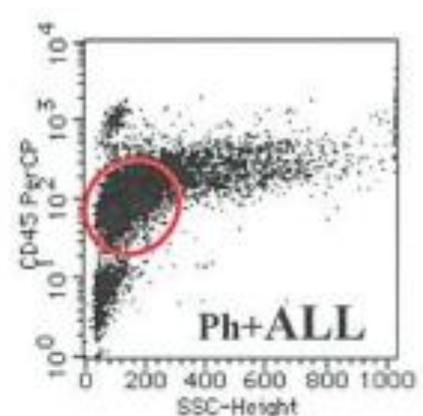
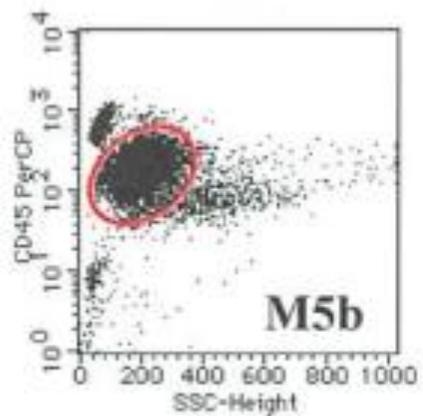
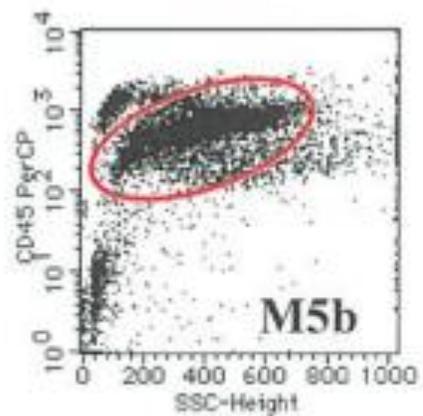
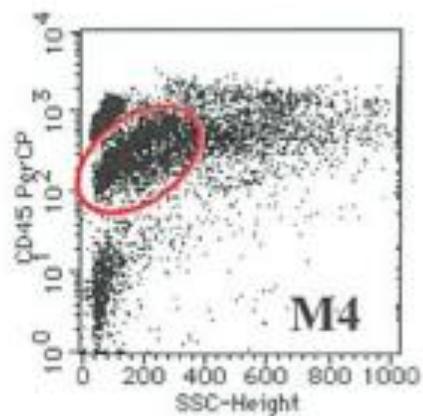
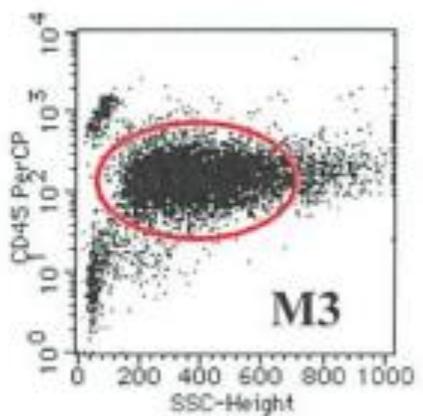
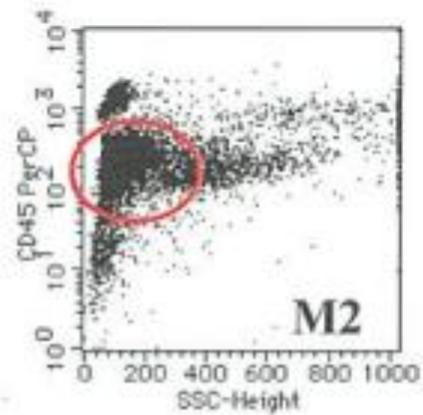
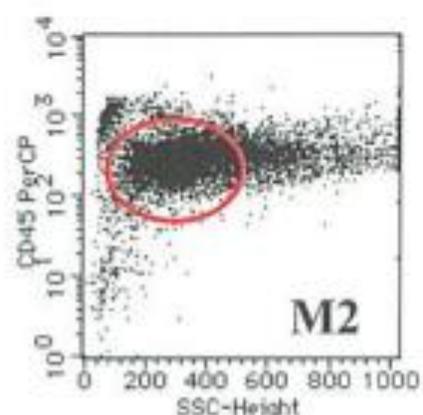
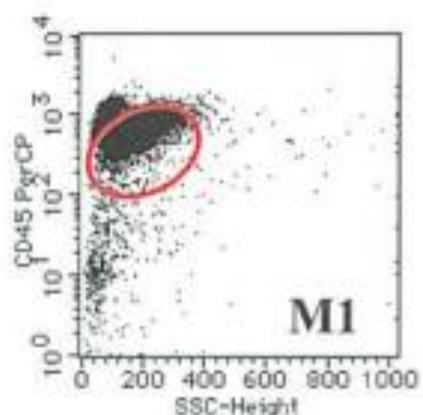
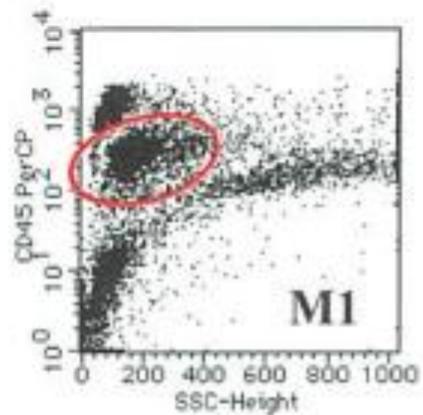
成人ALLではBCR-ABL1陽性が高頻度。

## 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



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