

教育セミナー

初心者、初級者向けの基礎講習会 「固定から包埋」

◎古屋 周一郎¹⁾
筑波大学附属病院¹⁾

【はじめに】

病理検査に携わる、主に実務経験が浅い技師（個人的感覚では5年以内）を対象に、20分という非常に限られた時間で何を伝えるべきかを考えました。また、有難くもこの講演を聴いてくださる中堅・ベテラン技師の方々にとっても、指導・育成の参考になる様な内容にしたいと考えています。

講演Ⅰは固定から包埋がテーマです。どちらも基本中の基本であり、着任初期に習得する業務だと思います。この工程における原理や試薬の作用機序は、既に多くの成書で解説されているので、特に触れるつもりはありません。むしろ皆さん自身が、しっかりと予習をしていることを前提にお話ししますので、紹介する図書を参考にして下さい。標本作製全般については、JAMT 技術教本シリーズ「病理検査技術教本」、加えて特に固定前や固定条件については、実証実験データ等も示されている、「ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱規定」日本病理学会／編での勉強を推奨します。

【固定について】

日臨技アンケート調査によれば、手術検体を実際に固定液に入れる作業は、主に臨床医が行なっています。更に生検では、医師以外に看護師がこの作業を行うことが珍しくありません。しかし経験的に、適切な固定方法を熟知している医師や看護師は多くないように感じています。技師自身が固定作業を実践できるのは当然ながら、重要なのは、他の職種でも適切に固定操作を行えるよう、アドバイス出来ることです。特に、生検検体の固定に関しては、検査目的による固定液の違いや、実際に使用する量など、具体的に説明できるしっかりとした知識を持ち、適切に伝えるコミュニケーション能力が必要となります。加えて求められるのは、検体の状態を見て固定状態を把握し、不具合があった場合に対処できることです。すなわち観察力と対応力を身につけることが重要と言えます。

【包埋について】

本来は、とても高度な作業だと認識しています。適切な診断ができる標本を常に作製するには、カセット内で検体が動いて向きが変わっていたとしても、それに気づいて修正出来なければなりません。

包埋は、作業自体が比較的単調なので慣れるのも早く、数ヶ月である程度の実務を行える様になります。しかしながら実際の力量は、検体をカセットから包埋皿に詰め替えられるレベルに過ぎません。

適切な包埋を実践するには、臓器の組織構造と、各種の取り扱い規約を熟知し、更にそれらを眼前の検体に反映させる肉眼的な観察力に加え、適切な方向と角度で検体を保持するための精密な手技を身につける必要があるのです。

初心者、初級者向けの基礎講習会 「薄切」

◎小島 朋子¹⁾

自治医科大学附属さいたま医療センター¹⁾

薄切(Sectioning)は、病理技術において経験を要する技術であり、更にはその標本の良否によっては病理診断に影響を与えるものである。薄切が高度な技術を要する理由として、目的に応じた至適な切片を得るにあたり、様々な要因が絡んでくるためと考えられる。我々は患者へよりよい医療の提供の一端を担うものとして、日頃よりその知識・技術の習熟と鍛錬に励み、安定した品質を提供できるよう努めなければならない。

今回、初心者、初級者向けの基礎講習会として、主に手技や、比較的遭遇しやすいアーチファクトの対処法について述べたい。

通常 HE 染色における切片厚は約 3-4 μ m であるが、例えば腎糸球体の観察を目的とした PAM 染色では 1-2 μ m と薄く、細網繊維の観察を目的とした渡辺の鍍銀法では約 6-8 μ m と厚く薄切するなど、目的に応じて切片厚を変える必要がある。

薄く薄切するコツとしては、ミクロン送りを使わずブロックの膨張を利用して薄切する、刃角の小さい刀を使用する、早くスライドさせる等が挙げられる。切片を水に浮かべた際に干渉色がみられることより、薄い切片であると判断する一助となる。

一方、厚く薄切するコツとして、ゆっくり刃をひいて薄切すること等が挙げられる。いずれにおいても、ブロックを冷やす際は時間経過と温度変化によりブロックが一定量膨張するという点を加味しなければならない。

薄切時に遭遇しやすいトラブルとしては、様々な要因によって切片がきれいに作製できないことがある。その一因として、ミクロトーム刃が鋭利でない、薄切条件(逃げ角等)が合っていない、パラフィンの劣化等が挙げられる。また、薄切時に起こり得るアーチファクトについても、その原因と対処法を知ることが大切である。一例として、メスキズがおきる場合、刃こぼれしている(刃先が欠けている)、組織内に石灰化などの硬い部分がある等の要因が挙げられる。切片の実例とともに、原因となりうるもの及びその対処法について解説していきたい。

薄切技術は、診断時に観察しやすい・病理学的所見を取りやすい標本をつくることは勿論であるが、その為に面出し操作をする際に削りかすになった検体は「捨てて」いるということを再認識するべきであると考えられる。どんなに面合わせをしても、再作製した標本は厳密には最初に作製した「面」ではなく、微小病変の場合、最悪消失ということもあり得る。最小の薄切量で最大の情報を引き出すことを目標に、皆様の技術向上の一助になれば幸いである。

連絡先

自治医科大学附属さいたま医療センター 病理部
048-640-4018 (直通)

初心者、初級者向けの基礎講習会 「染色」

◎山田 正人¹⁾

帝京大学医学部附属溝口病院¹⁾

【はじめに】

病理組織標本は多くの工程を経て作製され、どの工程においても最終的な標本の仕上がりに影響する。特に染色は標本の質を左右する。染色者間の違いを避けられることから安定性や標準化を自動染色器機に求めるようになり、日常業務として染色枚数の多い H-E 染色においては一般的となった。しかし、自動化はプログラムの設定で行われ、条件が整った状態での染色性であり染色液等の管理が重要となる。また、染色方法には様々な方法があることや、染色液においても自家調整と市販品があるなど各施設で導入されている染色方法は多岐にわたる。

代表的な染色の適正な染色性を示し染色結果を左右する要因を取り上げ解説する。

【H-E 染色】

塩基性色素のヘマトキシリンと酸性色素のエオジンで核と核以外を染め分け、組織像の基本的な観察を行う染色である。ヘマトキシリンとエオジンの染色強度、共染の有無、色調のバランスが重要である。

〔要因〕 染色時間、色出し、分別

【azan 染色, Masson trichrome 染色】

膠原線維をアニリン青で染め出すことで線維化病変の観察を主な目的とし、線維素や腎糸球体では免疫複合体も確認できる。対象の組織によっても染色性が異なることから染色時間は目安で、赤の色調が保たれ、アニリン青が過不足のないように顕微鏡で確認しながら行う。

〔要因〕 媒染、分別、アニリン青の濃度

【elastica van Gieson 染色】

弾性線維、膠原線維、筋線維を染め分けできる染色法で、弾性線維で血管を見極め腫瘍の侵襲を判定するのに用いることが多い。

〔要因〕 鉄ヘマトキシリンの共染、弾性線維の染色強度と分別、ピクリン酸と酸フクシンの染色強度と色調バランス、ワンギーソン液後の処理

【PAM 染色】

メセナミン銀で腎糸球体基底膜を明瞭に染めることで基底膜の厚さや二重化、破綻、スパイクの有無等を観察する。重染する H-E 染色により、エオジンで免疫複合体が染色される。

〔要因〕 切片の厚さ、鍍銀終了の判断、過染の防止

【渡辺の鍍銀法】

細網線維を染めることで肝臓や骨髄における線維化の観察と腫瘍の組織型の鑑別に用いられる。鍍銀の状態は還元液に入れるまで可視化されないで、顕微鏡で確認できず染色性はアンモニア銀液によるところが大きい。

〔要因〕 アンモニア銀液の作製

【Grocott 染色】

メセナミン銀で種々の真菌を染め出す染色で、背景をライトグリーンで染めコントラストを得る。

〔要因〕 酸化時間、鍍銀終了の判断、過染防止

【Giemsa】

骨髄の細胞や胃における *Helicobacter pylori* の観察に行われる。

〔要因〕 染色時間、分別

【まとめ】

染色には単染色もあるが、多くは複数の色素を用いた重染色で染め分ける方法である。選択的な染色性、あるいは分別を要するなどの違いもある。染色状態を顕微鏡で確認し適正か否かを判断しながら進められ、その判断が最終的な染色結果に影響する。

また、H-E 染色をはじめ目的別に多くの染色があるものの、特殊染色を行う機会は減少しつつあり、行う染色も限定されるようになってきた。自動化が進み H-E 染色以外の染色も行えるようになり、業務の助けになる一方で染色を経験する機会が減ることは染色の結果を左右する要因の把握や染色結果が適正かをも解らない状況になりかねない。また、染色液においても作製するか市販品にするかの選択はあるが作製の場合にメーカーにより色素名の表記に違いがあり戸惑いが生じる。この際は色素のカラーインデックスナンバーを確認するが、色素の質を保証するものではなく、メーカーによって純度や不純物の含有量に違いがあることで染色性が異なる。

連絡先

帝京大学医学部附属溝口病院 臨床病理部
044-844-3333(代表)

心電図検査の進め方

～正しい技術と知識で検査をしよう！～

◎高野 小百合¹⁾

社会医療法人河北医療財団 河北総合病院¹⁾

今回は基礎的ではあるが、若手技師の日常業務の復習や中堅技師の指導に役立つような心電図検査の進め方を手技から必要な知識まで検査の流れに沿ってお話ししたいと考える。

心電図は生理検査のなかでも、最も多くの人が行なう検査で循環器疾患にはかかすことのできない検査の一つである。特に不整脈や虚血性心疾患の診断には有用である。一方、入院時や術前検査などのスクリーニング検査としても臨床に幅広く用いられる重要な検査の一つである。心電図は非侵襲的に繰り返し検査ができることに加え、検査は短時間で実施でき結果の評価が可能で、しかも手技が簡単といわれている。しかし、実際は考えている以上に正確な位置に電極装着することは難しく、トレーニングが重要となってくる。

臨床検査技師である私たちは、きれいで正確な心電図を記録し、臨床側に提供することが求められる。正確できれいな心電図は、正しい位置で、正しく電極が装着され、筋電図や交流障害などの混入やドリフト等で基線の乱れのない安定した記録である。正確できれいな心電図の記録ができていないと誤診につながる可能性があるため、日頃から注意して記録する必要がある。きれいな心電図記録を行うには、心電図に混入するノイズの発生源を特定し、それを取り除く必要がある。また、患者起源のノイズであれば患者をよく観察し少し工夫することで取り除くことが可能となる場合がある。このようなアーチファクトの実際と除去の仕方について解説したい。

心電図検査を進めるにあたり、検査開始時は機器や検査室の環境整備を行い検査に入っていく。被検者のオーダ確認、本人確認をして実際の検査に入る。電極装着の際には、患者とコミュニケーションをとりながら症状を確認することが非常に重要である。患者からの情報は、実際記録された心電図の波形の変化を捉えるヒントになる場合がある。心電図を記録後、波形を確認し追加誘導の記録や医師への緊急報告の必要性を確認し対応を行っていく。

12 誘導心電図の肢誘導の電極装着は通常手首足首の電極が安定して装着できる部位に装着する。しかし、場合によっては通常的位置に装着できないこと

がある。そのような場合に生じる波形への影響について紹介する。また、デジタル心電計では、肢誘導は計算により求められている。これについて解説し波形が求められることの理解が深められればと考える。

胸部誘導の電極位置については、決まった位置に電極装着を行なっていると思うが、実際はどうだろうか。胸部誘導の電極を装着するためのポイントとなる鎖骨の長さや前腋窩線等の位置の認識を正確に行えるように解説する。

さらに、記録された心電図をみて、診断のために必要な情報が含まれているか確認する必要がある。症例によっては、延長記録やリズム記録、追加誘導記録が必要な場合がある。特に、追加誘導記録は各ガイドラインにおいて、通常記録と合わせて記録することが診断を確定するために推奨されている。これらの症例の紹介と追加誘導の電極装着方法を紹介したい。

現在はデジタル心電計が用いられ簡単に時系列で波形の確認ができるため、電極位置違いも容易に判明してしまう。臨床では経過観察を行う際に心電図波形の時系列変化を確認している場合がある。時系列変化を捉えるための記録は常に正確な電極位置に装着されていることが前提となる。

繰り返しではあるが、私たち臨床検査技師はきれいで正確な心電図を記録することが臨床側から求められている。そのために必要な正しい技術と知識で心電図検査を行っていただきたい。今回のお話しが、皆さんの日常業務の一助となることや指導に役立つことのできる内容となればと考える。

河北総合病院 臨床検査科 03-3339-2552

微生物検査の新時代－従来法と新技術のコラボレーション

質量分析装置や遺伝子機器の活用法と実運用

◎加地 大樹¹⁾

国保直営総合病院君津中央病院¹⁾

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）に対応するため、多くの微生物検査室に様々な遺伝子機器が導入された。2023年7月現在、新型コロナウイルス感染症は依然感染力は強いもののワクチンの普及に伴い重症化は少なくなり、感染症法上でも2類相当から5類感染症へと変更となった。それに伴い、SARS-CoV-2の検出を遺伝子検査から抗原検査に切り替えたという施設も多く、使用回数の減った遺伝子機器の今後の使用方法について悩んでいるかと思われる。各機器メーカーからはSARS-CoV-2の単項目のみの測定から血液培養陽性液からの起因菌検出やCDトキシン等を測定できる試薬を次々と登場させている。これを機に遺伝子検査をルーチンに取り入れていくのはどうだろうか。

現状、遺伝子検査がもっとも効果的なのは、敗血症診断に欠かせない血液培養検査である。従来、血液培養が陽性となってから、同定菌名および薬剤耐性菌と判別するまでは早くても1日は必要であった。しかし、培養陽性液中のMethicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA 及び *S. aureus* の遺伝子を同時に検出できる GeneXpert® システムの Xpert MRSA/SA BC 「セフィエド」や GENECUBE のジーンキューブ® MRSA などがあり、これらはおよそ1時間の測定でMRSA等の判別が可能となっている。また、FilmArray® システムの FilmArray 血液培養パネル2は複数の菌種と耐性遺伝子を網羅的に測定でき、こちらもおよそ1時間で測定可能である。これらの機器は用いることで、迅速に起因菌を捉え感染症診療への早期診断支援を実践することができ、在院日数の短縮化など病院経営にも貢献できるものとする。ただ遺伝子検査はコストもそれなりにかかることもあり、運用に関しては抗菌薬適正使用支援チーム（Antimicrobial Stewardship Team: AST）内で、ある程度の取り決めは必要かと思われる。

遺伝子検査は、迅速に結果報告ができる点などメリットが多いが、各機器および試薬にはピットフォールが存在することを覚えておく必要がある。また、遺伝子の保有と薬剤感受性試験結果の不一致の症例が少しずつではあるが聞かれるようになってきている。これらに遭遇した際に、カバー出来るよう従来

法を忘れることなく理解していく必要がある。これに関しては、質量分析装置でも同様である。従来法に比べれば、同定精度や時間等は格段に良くなったが、同定困難な領域は存在する。これを補うためにも従来法は欠かすことの出来ない検査である。

本講演では、遺伝子検査の様々な活用法や質量分析装置の同定検査などの新しい検査方法を紹介しつつ、運用していくうえで欠かすことの出来ない従来法の必要性等について話させていただく。この内容が、少しでも会場の皆様のお役にできれば幸いである。

君津中央病院 医療技術局 臨床検査科
0438 - 36 - 1071（内線 6976）

初心者のための輸血検査

◎田代 優也¹⁾

東海大学医学部付属病院¹⁾

輸血療法を実施する医療機関の輸血部門では、輸血に関連する検査のほか血液製剤の管理や輸血療法委員会の開催など、輸血に関するすべての業務を担っていることが多い。輸血療法を行う際、不適合輸血を防ぐための輸血前検査として ABO および RhD 血液型検査、不規則抗体スクリーニング、交差適合試験を実施するが、これらの検査は基本的には輸血療法を実施する医療機関で責任をもって行うこととされている。

臨床検査技師による検査を 24 時間体制で実施する医療機関では、夜間や休日にもこれらの検査に携わる技師が配置されているが、輸血検査専任の技師による体制を構築できている医療機関は少ない。多くの医療機関で夜勤や当直のみ輸血検査に携わる技師が検査を実施しているのが現状であり、他の検査と併せて担当する検査室も多く、慣れない機器の使い方や手法での検査の対応に苦手意識を持つ者も多いだろう。また、輸血療法の性質上、緊急対応を迫られる場面も多く、医師や血液センターとの対応に苦勞することも少なくない。そのような状況では、整備されたマニュアルに従い正しく対応することが重要であり、適切に対応されなかった部分については、その原因を精査し改善していく必要がある。

本セミナーは、新人技師や輸血検査に不慣れな技師を対象に、輸血検査の基本的な手技の確認や、輸血検査の現場で遭遇するエラーについて、和やかな雰囲気です講演する予定である。今後輸血検査に従事する予定の方や夜間・休日の勤務のみ輸血検査に携わる方には基礎知識の習得の場として、すでに担当者として従事している方には日常業務の再確認の場として活用いただければ幸いである。

東海大学医学部付属病院 輸血室

0463-93-1121(内線 6060)

疫学と統計

— 地方衛生研究所の役割 —

◎青野 実¹⁾
横浜市衛生研究所¹⁾

2019年12月に中国武漢市で原因不明の肺炎が報告され、翌年1月には、日本国内で1例目となる新型コロナウイルス感染症の報告があった。以降、感染症法で「指定感染症」に指定されたが、ダイヤモンド・プリンセス号の船内で複数の感染者が発症して、横浜港に寄港した。2020年3月には、WHOが国際的緊急事態宣言を発出するに至った。2023年5月8日以降の定点把握に至るまで、第8波の流行を繰り返す、多くの方々が犠牲となった。そのような状況下で、医療機関や保健所、地方衛生研究所などでも業務がひっ迫し、社会全体が混乱したことは言うに及ばない。

地方衛生研究所には、感染症情報センターの役割があり、感染症法に基づいた各種感染症の発生届や定点医療機関からの届け出を厚生労働省所管の感染症発生動向調査（以下、NESID）へ報告している。ただし、2類相当の新型コロナウイルス感染症については、NESIDではなく専用の報告システムである新型コロナウイルス感染者等情報把握・管理システム（以下、HER-SYS）へ登録を行った。5類に分類されてからは、定点報告による届け出に変更された。

地方衛生研究所には、感染症情報センター以外の役割もあるが、それぞれの施設により組織機構等が異なるため、本講演では、横浜市衛生研究所における役割を通して、感染症情報センターや疫学情報に関連した業務を中心に講演を行っていく。

疫学や統計学も学問としての基盤があり、それぞれ専門家が活躍しているが、本講演では、実務に則した内容で、初学者向けに要点をしぼり進めていく。

まずは、疫学の生い立ちから始まり、現在求められている疫学としての役割について述べる。疫学については、統計学と密接な関係があり、切り離すことは出来ないが、統計学としての学問的な側面ではなく、一つのツールとして統計を利用して、疫学へ結びつけることを主体に話を進める。

現在、データサイエンスとして、統計学に注目が注がれ、各種大学等でもそれに関連した学部等が新設されている。データからエビデンスに従って、ア

ウトカムを導き出していく手法として、統計学に期待が寄せられている。

実際の現場では、各種統計ソフトを利用して、分析が進められているが、使用方法の誤りや出力されたデータの解釈に戸惑われるケースがあるかと思われる。統計ソフトを利用することは便利であり欠かさないツールではあるが、思わぬ落とし穴があるため、セミナーの中では、簡単に統計ソフトの紹介や注意すべき点について講演していく。

具体的には、基礎的な考え方として、DIKWモデルの紹介から、t検定や相関・回帰分析を中心に話を進める。t検定は最も一般的な検定方法ではあるが、対応の有無、正規性の有無、分散性の有無など、利用においては注意すべき点がある。また、相関と回帰の違いなど、あまり意識されていない点についても触れて、少しでも統計への関心が高められたならば、セミナーの役割が果たせたのではないかと考える。

横浜市衛生研究所感染症・疫学情報課—045-370-9237

初学者を対象とした血液細胞形態観察の基本的な見方・考え方

◎土屋 達行¹⁾一般財団法人神奈川県警友会 けいゆう病院 臨床検査科¹⁾

現在の血球形態観察研修は、私が血液検査の実務に関与し始めた約半世紀前から大きく変化しました。約半世紀前は、血液一般検査の依頼にはほとんど血液像の依頼も同時にされていました。そのため、ルーチン検査として、施設によっては末梢血塗抹標本を一人で1日に100検体以上観察、分画しなければいけません。このように多数の血液塗抹標本を観察することで経験を積み、血球形態の変化を修得することができました。その理由は、末梢血液像の依頼があるほとんどの症例には血球形態に異常がないことから、異常のない血球形態を非常に多数観察することにより、異常細胞が出現したときに「何か違う!」と感ずることができる様になれました。しかし、現在では、通常の血液一般検査は自動血球計数器で行われ、白血球分画も自動的に得られるようになりました。血球形態に異常のない症例は自動血球計数器からそのまま白血球分画結果が報告され、自動血球計数器で判定できない異常症例のみを目視で確認することが臨床検査技師の業務になりました。そのため以前のように多くの形態異常のない症例の観察で身につけられた正常と異常の感覚的な判定の技量が得られにくくなっています。

このような状況の下で血液細胞形態観察によって異常を判定し、報告するためには、十分な血球形態の変化に関する知識を身につけて行う必要があります。血球形態の変化には、白血球、赤血球、血小板、それぞれ異なる細胞の形態変化があります。さらに、細胞別に急性白血病などの腫瘍性血球増殖による形態変化や、感染症などによる反応性の形態変化、先天性の形態変化など極めて多種多様な変化があります。このような形態変化を的確に捉え、判断し、報告するためには正常の血球形態を分化、成熟過程を十分理解したうえで同定できる技能を持つ必要があります。今回の教育講演では、血球形態観察の初学者を対象として、効率的な正常血球形態判定の見方・考え方を身につけることを第一の目的としました。正常血球の分化・成熟とは何か、成熟過程の各段階の血液細胞をどのようにして同定するのか、その考え方と具体的な方法を述べたいと思います。

一方、血球の各成熟段階での細胞同定、形態異常

の判定と表現方法は、誰が行っても同一の結果が得られる必要があります。すなわち血球判定基準の標準化が必要です。日本検査血液学会では2001年から血球形態標準化作業が行われ、現在までに(1)好中球の桿状核球、分葉核球の鑑別、〔1〕リンパ球、異型リンパ球の鑑別、(3)赤血球形態変化、形態表現の標準化と判定基準、(4)幼若顆粒球、赤芽球の同定基準の標準化、(5)異常細胞の形態表現の標準化が行われ、結果が公表されています。日本検査血液学会のホームページでその結果と、それぞれの判断、鑑別基準の参考になる極めて多数の細胞画像を詳細に見ることができます。また、国際的に広報するために英語表記もされています。そして、現在でもこれら標準化案の普及活動、改定作業が継続されています。私はこの活動を2001年から2013年まで担当していましたので、その一部を紹介し、その考え方と具体的な方法を述べたいと思います。そして、実際の標本観察において正常血球形態判定と対比して異常血球形態をどのように見だし、判断するかの考え方を簡単に解説したいと思います。さらに血球形態の変化を標準的な表現でどのように報告したら良いかを前述の血球形態標準化委員会の案に沿って解説したいと考えています。

診療担当の医師が直接末梢血液像、骨髓像などの観察をする機会が激減し、臨床検査部門からの数値情報のみが医師の診断・治療に用いる判断基準として主な物になっています。このような現状から、実際に血球形態を観察、判定、そして報告する臨床検査技師からの血球形態情報そして、形態変化が意味することを誤解なく診療担当の医師に伝えることが必要になっています。特に急性白血病などの緊急を要するいわゆる血球形態学的なパニック値の報告は特に重要で、誤解のない正確な表現方法が求められます。

最後に、本講演が血球形態観察に関する知識、技能を得る機会になることを願っています。そして本教育講演その他などでさらに知識を得て、血球形態観察の技術を向上させ、血球形態検査からの情報を標準化された表現で正確に医師へ報告して頂きたいと思っています。

染色体・遺伝子関連検査の基礎からゲノム医療まで

～検査室の現状と未来への展望～

◎荒川 聡¹⁾

東海大学医学部付属病院¹⁾

【はじめに】

本講演では染色体検査と遺伝子関連検査の基礎から、現在の検査室の現状と未来の展望について探求する。染色体検査とは、先天性染色体異常症の診断や血液造血器腫瘍の染色体異常を検出することである。染色体遺伝子関連検査の重要性は、先天性疾患の診断に直結することであり、後天性異常では白血病や癌腫など腫瘍性疾患の診断と治療予後に関係することである。また感染症の遺伝子検査は、治療後には変化があり、先天性疾患(家族性遺伝子変異を含む)は検査結果に変化が無いなどの違いがある。後天性異常検査の目的の一つは、治療方針や治療予後を判断する。先天性疾患の検査結果は、一生涯変化が無く世代伝搬の可能性があると十分に理解し、検査結果の取り扱いにも留意が必要である。つまり染色体・遺伝子異常の結果が先天性由来である生殖細胞系列(germline)か、腫瘍性の体細胞系列(somatic)かの判断が重要になる。

【染色体分析】

有性生殖を有する生命の発生には、生殖細胞である卵子と精子を必要とし、受精後に1個の受精卵が分裂増殖して個体を形成する。主な先天性の染色体異常症は、生殖細胞の形成過程の不分離が原因である。常染色体異常症の多くは、不分離により増加した数的異常が多い。代表的なものには、常染色体の21番染色体が3本(trisomy)のダウン症候群がある。性染色体異常症のX染色体数的異常症には、Xモノソミー(monosomy)のターナー症候群、XXYのクラインフェルター症候群がある。一方で腫瘍性の染色体異常は、正常な体細胞に遺伝子異常が発生し増殖する。白血病は細胞の種類により、赤血球、血小板、顆粒球やリンパ球に分けられる。白血病細胞の増殖パターンにより急性と慢性に分けられる。慢性骨髄性白血病に診断されるt(9;22)(q34;q21.1)の切断点に存在する遺伝子は、9q34の*ABL1*遺伝子と22q21.1の*BCR*遺伝子が転座により再構成される。転座により形成された再構成遺伝子の*BCR-ABL1*により恒常的にチロシンキナーゼが活性化されることで白血球が増える。この様に染色体検査は数的変化、構造変化を顕微鏡の形態観察で分析する。

【遺伝子関連検査】

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行を踏まえて、遺伝子関連検査は優先的に行われた。ここでは遺伝子関連検査の原理と応用範囲を解説する。遺伝子関連検査の技術の一つにPCR法がある。PCR法は、目的とするDNA領域に対して鋳型DNAを用いて、耐熱性DNAポリメラーゼで増幅させる原理である。定性的な検出にはアガロースゲル電気泳動法で検出する。リアルタイムPCR法は、専用の装置と蛍光を発光する試薬を用い、既知量のDNAから検量線を作成する。増幅産物量をサイクル数(Cycle Threshold:Ct値)から定量値として求める。遺伝子変異にはアミノ酸の塩基置換、ins(挿入)、del(欠失)、dup(重複)などがある。肺癌で調べられるEGFR遺伝子変異で最も多い変異のエクソン21 L858R変異がある。これはEGFR遺伝子の21番目のエクソンで858番目のアミノ酸であるロイシン(L)がアルギニン(R)に置き換わっていることを意味する。これらの変異を特定することで治療薬の効果予測に利用される。また遺伝性疾患の診断と治療方針の決定遺伝子検査は、特定の遺伝子の変異を特定することで、遺伝性疾患や癌のリスク評価、治療効果の予測などに応用される。抗がん剤副作用の予測は、ゲノム情報をもとに、個人に合わせた治療戦略を立てることができる。倫理的な問題には、遺伝子操作で親が望む外見や知力、体力を備えたデザイナーベビーがある。新たな遺伝子編集技術であるCRISPR/Cas9は他の配列に影響を及ぼす、オフターゲット効果が問題となる。

【まとめ】

染色体・遺伝子関連検査の目的には、古典的な疾患を診断する目的の他に、予後の予測判定や薬剤効果の判定予測に用いられる。今後は新たな遺伝子が発見され、遺伝子本体の機能が特定されるであろう。遺伝子関連検査の利用が広がれば、さらに個別化医療が加速される。この機会に染色体・遺伝子関連検査に興味を持ち、理解が深まる一助になれば幸いである。

東海大学医学部付属病院 0463-93-1121 (6095)

ここまで診療に参画している尿沈渣検査

— あなたの病院はどうか —

◎宿谷 賢一¹⁾

順天堂大学 浦安・日の出キャンパス¹⁾

【はじめに】

腎疾患の診断に用いられる形態学的検査には主として腎生検と尿沈渣検査がある。現在の臨床検査において、病変の程度を直接観察する腎生検は確定診断として位置づけられている。一方、間接的に病変を反映する尿沈渣検査は経済的および身体的にも患者負担が軽微であることからスクリーニング検査として実施されており、腎疾患の早期発見および治療効果などの経過観察には欠かせない検査になっている。

今回、尿沈渣検査の歴史、現状、各種成分との臨床的意義を提示し、尿沈渣検査から検出可能な成分の更なる可能性について考えてみたい。

【尿沈渣検査の歴史と現状】

尿沈渣検査の標準化は日本臨床衛生検査技師会と日本臨床検査標準協議会により行われ、1991年に「尿沈渣検査法」を発刊し、1995年に「日本臨床検査標準協議会 (JCCLS) GP1-P2」として承認された。その後、2000年に「尿沈渣検査法 2000 (JCCLS GP1-P3)」が改訂され、全国規模の尿沈渣検査の標準化が進められ、2010年には「尿沈渣検査法 2010 (JCCLS GP1-P4)」が改訂され標準化が行われた。近年、医学検査 2017 J-STAGE「尿沈渣特集号」が発刊され、新規成分として丸い形状の尿細管上皮細胞 (丸細胞) とポドサイトが追加掲載され、尿沈渣検査では検出が困難とされていたポドサイトとマルベリー小体・マルベリー細胞が検出可能な施設もある。また、成分鑑別が未確定であったキサンチン結晶やアデノウイルス感染細胞の症例報告もある。

【尿沈渣検査の自動分析装置による測定】

大学病院や総合病院など尿沈渣検査を実施している施設では自動分析装置が導入されている。尿検体を遠心せずに直接測定する原理であることから尿中有形成分分析装置として総称され、測定原理からフローサイトメトリー方式と画像処理方式に大別される。国内の尿沈渣検査の自動分析装置 (尿中有形成分分析装置) による測定が始まったのは、1987年のYELLOW IRIS からであり、測定原理は画像処理方式であった。

尿沈渣検査は顕微鏡による鏡検法が基本であるが、多くの施設では尿沈渣検査と尿中有形成分分析装置の併用により実施されている。一般的な運用では、尿中有形成分分析装置の測定後に再検査が必要な検体は尿沈渣検査を実施している。検査精度については赤血球・白血球は概ね良好であるが、出現数が少ない円柱類や上皮細胞類では尿沈渣検査の併用は必要である。また、ポドサイトやマルベリー小体・マルベリー細胞は尿中有形成分分析装置での検出は不可能であり、尿沈渣検査を実施しなければならない。

【尿沈渣成分】

尿沈渣成分には確定診断をする上で重要な成分もあるので、単なるスクリーニング検査ではない。重要な成分には異型細胞が取り上げられるが、他の成分も診断価値の高い成分がある。特に、ポドサイトは、糸球体基底膜を外側から覆い、血液濾過の最終バリアー細胞である。その出現は糸球体の障害を意味する。核内封入体細胞およびその他のウイルス感染細胞は、形態の特徴からヘルペスウイルス感染細胞、サイトメガロ感染細胞、ヒトポリオマウイルス感染細胞、ヒトパピローマウイルス感染細胞、アデノウイルス感染細胞に分類可能であり、日常検査で報告している施設はあるが確定診断には免疫染色による同定が必要である。異常結晶類であるシスチン結晶、2,8-ジヒドロキシアデニン結晶、キサンチン結晶などは検出することで確定診断に繋がる。また、溶血性貧血で認められるヘモジドリン顆粒や寄生虫感染症ではトリコモナス原虫とビルハルツ住血吸虫 (卵) の検出は確定診断になる。近年、ファブリー病のスクリーニング検査として尿沈渣検査によるマルベリー細胞、マルベリー小体の検出が注目されている。

【まとめ】

尿沈渣検査は、非侵襲的かつ間接的に腎臓の病変を手軽に確認できる検査である。単なる「出血」、「炎症」、「感染」のスクリーニング検査に用いるだけではなく、より診断に結び付く成分を鏡検し、臨床へ報告することが肝要である。

明日から自分でできる基礎検討

◎藤村 善行¹⁾
北里大学病院¹⁾

メーカーがキット化試薬を上市する際に行う性能証明を「妥当性確認（バリデーション）」という。検査室は当該試薬を導入する前に、その性能が検査室内で再現できるかを確認する目的で「妥当性確認の検証（ベリフィケーション）」を行う。一方で、自家調整試薬や独自開発の検査方法、いわゆる In House Method を用いる場合には、検査室が事前にバリデーションを実施する。従来、基礎検討と呼ばれてきた性能評価試験は、近年このような言葉で使い分けられるようになってきた。

基礎検討を実施するにあたり、検討データの取得作業は省力化の観点からメーカーに依頼することがある。このこと自体に特に問題があるわけではなく、検査室が監督的立場として検討内容を選定し、検討方法の詳細を指示し、取得したデータを確認し、結果の最終評価をする、といった各段階に主体的に関与すればよい。しかし、自身で検討データの取得作業を経験することにより、検討のコツやピットフォ

ールを学ぶことができるという側面もある。さらに、この経験から得られる知識は、結果の最終評価をする際に必要となることから、検査室は検討データの取得作業を自ら行う技量を身につけておかなければならない。どの検査室も多忙を極めていると思われるが、例えば数年に一度は、この技量の維持という目的で自分たちで行うことも必要なのではないかと考える。

本講演では、基礎検討の単なる解説だけでなく、検討方法やデータのまとめ方のノウハウについても紹介したい。

- ・再現性データをみるときの注意点
- ・ LOB、LOD、LOQ の区別
- ・意味のある相関グラフの作り方
- ・記録としての扱い など

(連絡先：042-778-8111)