

シンポジウム

延長培養による検出菌と臨床への影響と貢献

◎大柳 忠智¹⁾
聖マリアンナ医科大学病院¹⁾

高齢者や基礎疾患に癌や糖尿病などを有する患者、膠原病・臓器移植に使用する免疫抑制剤により免疫機能の低下した患者を含め **compromised host** に発症する日和見感染症は感染症診断において常に頭の片隅に置いておく必要がある。

感染症の確定診断は原因微生物の同定によって行われるが、最も頻度の高い細菌に対しては培養・同定・薬剤感受性試験が基本的な検査である。その中でも培養検査は最も感度の高い検査であり、培養検査が陽性にならないと薬剤感受性検査を行うこともできないため、培養検査の臨床的意義は極めて高いと言える。

米国微生物学会 American Society for Microbiology (ASM) の『Clinical Microbiology Procedures Hand book』には、材料ごとの基本的な検査法(採取から報告まで)が記載されており、日本国内においても、日本臨床微生物学会発行の各種ガイドラインにより標準法が記載されている。しかしながら両ガイドラインともに培養検査の詳細な時間等の設定はされていない。

患者本人や臨床医から提出される種々の臨床情報や目的菌の提供は、原因微生物の検出過程において時に重要な情報となり、臨床検査技師が培養検査を実施するにあたり、検出率に大きく影響すると考えられる。

細菌培養検査を実施する過程において、いくつかの必要最低限の発育条件の合致が必要である。必要最低限の発育条件には①水分、②温度、③ガス環境、④培養時間などが挙げられ、水分と温度、ガス環境は適切なふ卵器の選択とガスパック等の使用により容易に条件をクリアーすることができる。ただし、培養時間に限って *Escherichia coli* や *Staphylococcus aureus* など Common な菌種においては通常の培養時間で問題はないが、時に思いもしない菌種による感染症が引き起こされているとき、さらにはその菌種が通常の培養条件、培養時間では発育が困難な場合には、どんなに良質の検体が採取され、迅速で的確な検体処理がされようが、菌の検出には至らない場合が存在する。

当院では以前より本来の培養期間では発育が困難である菌種、さらには医師の臨床診断から目的菌と

してのオーダーを実施しなかった菌種、思いもしなかった菌種を検出するため通常期間より最長 1 ヶ月長く培養延長を実施し、臨床へ適切かつ有用な培養結果の報告を心掛けてきた。

2017 年の臨床微生物学会雑誌の総論にて当院の高木妙子先生により 2005 年から 2016 年まで 11 年間の延長培養の結果を報告している。本シンポジウムではさらに 2017 年から 2022 年までの 6 年間の追加して 17 年間のデータの集計結果を報告する。

検出される菌種の多くは真菌や抗酸菌、*Nocardia* 属菌などであり、目的菌として培養をすれば容易に検出が可能な菌種である。しかしながら臨床からの依頼情報がカルテシステム的に抽出不可能な場合や、検査センターなど直接臨床現場とのやり取りが取れない場合などでは検出が不可能であったと考えられる。また時には稀な菌種が検出されることもあり、当院で実施している延長培養の効果は計り知れない。

総説では報告できていなかった各症例での菌の詳細情報や結果報告後の臨床経過などから延長培養の有用性を再確認し、当院での方法や選別基準をお知らせすることにより、多くの病院、検査センターにてできるだけ有用な細菌培養検査の結果が臨床へ報告できるような体制が取れるようになることを望み、本シンポジウムの発表内容とする。

連絡先 044-977-8111

症例から学ぶ造血器腫瘍

～血液形態パネルディスカッション～

◎小池 友美¹⁾、大谷 政樹²⁾、中山 智史³⁾、渡邊 一枝⁴⁾

藤沢市民病院¹⁾、聖マリアンナ医科大学病院²⁾、防衛医科大学校病院³⁾、自治医科大学附属病院⁴⁾

【コメンテーター】

中山 智史（防衛医科大学校病院検査部）

渡邊 一枝（自治医科大学附属病院臨床検査部）

【 症例提示者 】

小池 友美（藤沢市民病院臨床検査室）

大谷 政樹（聖マリアンナ医科大学病院
臨床検査技術部）

血液形態パネルディスカッションで提示する 2 症例の概略と基本的な血液検査所見を示します。

神奈川県臨床検査技師会の血液検査研究班ホームページでは、事前に末梢血液像および骨髓像の写真と検査所見を掲載します。そちらでは、症例に関する設問を用意しています。当日の症例解説で用いますので、是非ご回答してからシンポジウムにご参加ください。また、症例の所見については、日本検査血液学会「骨髓所見記載用紙（骨髓検査技師試験用の所見用紙）」にわかる範囲で記入して、提示症例の疾患・病態を是非推測してみてください。

設問の回答期間は、11月3日（月曜日）～11月19日（日曜日）とします。

以下に血液検査研究班ホームページをご案内します。

<https://sites.google.com/view/jinringi-ketsueki>



会場での活発なディスカッションが行われることを期待します。

【症例 1】 60 歳代 女性

乳癌に対し、術後補助化学療法、ホルモン療法、放射線治療を施行。汎血球減少が進行し、骨髓癌腫症を疑われ、当院へ紹介受診となった。

末梢：WBC 5.0×10^9 /L, RBC 2.37×10^{12} /L,
Hgb 7.5 g/dL, Hct 21.5 %, MCV 90.7 fL,
MCH 31.6 pg, MCHC 34.9 %,
Plt 45×10^9 /L, Retic 0.3 %
TP 7.0 g/dL, CRP 3.34 mg/dL,
T-Bil 0.6 mg/dL, D-Bil 0.1 mg/dL,
AST 25 U/L, ALT 32 U/L, LD(H) 414 U/L,
Fe 210 μ g/dL, フェリチン 942 ng/mL,
IgG 1031 mg/dL, IgA 174 mg/dL,
IgM 50 mg/dL,

骨髓：NCC 358×10^9 /L, Mgf 0×10^6 /L

【症例 2】 70 歳代 男性

COVID-19 感染により発症した肺炎の加療のため救命救急センターに入院された。入院時の血液検査で細胞分画にて異常細胞の出現を指摘された。異常細胞の精査を目的に血液内科に診療依頼された。

末梢：WBC 5.4×10^9 /L, RBC 4.23×10^{12} /L,
Hgb 10.8 g/dL, Hct 34.1 %, MCV 80.7 fL,
MCH 25.5 pg, MCHC 31.7 %,
Plt 97×10^9 /L, Retic 1.5 %
TP 6.2 g/dL, CRP 0.77 mg/dL,
T-Bil 0.5 mg/dL, D-Bil 0.1 mg/dL,
AST 25 U/L, ALT 11 U/L, LD(H) 226 U/L,
sIL-2R 7615 U/mL, IgG 1128 mg/dL,
IgA 92 mg/dL, IgM 249 mg/dL,

骨髓：NCC 45×10^9 /L, Mgf 30×10^6 /L

膵がん診療の現状と新たな展開

◎岡庭 信司¹⁾
飯田市立病院¹⁾

膵がんは初期には特徴的な症状がないため、進行がんとして診断されることが多く、2021年の日本人のがん死亡率では男性4位、女性3位、総合4位となっています。一方で、腫瘍径が1cm以下の膵がんの5年生存率は80%以上であり、膵がんの予後を改善するためには早期に診断することが重要です。

膵がんの自然史

谷内田らは、主腫瘍巣と転移巣のゲノム比較解析により、発がんから転移までの時間をシミュレーションした結果、発がんから親クローンが出現するまでの時間は約12年、初代クローンのなかに転移性のサブクローンが出現するまでの時間は約7年、その後死亡するまでの時間は約3年と、計22年の自然史であることを明らかにしています。やはり、膵がんの予後が悪いのは早期診断が困難なことが原因と考えられます。

膵がんの高危険群

従来の超音波検診は、腫瘍そのものを反映する充実性病変と嚢胞性病変に加え、肝外胆管や膵管の拡張といった腫瘍進展に伴う間接所見をターゲットにしていました。しかし、この方式では膵がんの発見率は低く、発見できても進行がんが大半を占めることから、高危険群の設定が課題でした。

現在では、膵がんの家族歴（特に若年発症例）、糖尿病（特に初発時や増悪時）、慢性膵炎、遺伝性膵炎、膵管内乳頭粘液性腫瘍、膵管拡張、膵嚢胞、肥満、喫煙、大酒家といった膵がんの危険因子が明らかとなっており、これらの危険因子を複数有する対象者に対してスクリーニングを行うことにより、膵がんの早期発見が可能となるとされています。

血液検査

生化学データには膵がん特有な異常はありませんが、初発の高血糖や尿糖、糖尿病患者におけるHbA1cの上昇は膵がんの早期発見に寄与できると考えられます。

最近、膵がん患者や膵がんのリスクが高い疾患の患者でAPOA2アイソフォーム濃度が低下することが報告され、既存の腫瘍マーカーでは検出できなかった早期の膵がん患者が検出できることが期待されています。

画像診断

超音波（US）は膵がんを疑った際に最初に施行すべき検査とされていますが、描出不良部位や検査者間での診断能のばらつきが問題とされています。

≤20mmの膵がんをみると、USは腫瘍像67.3%、主膵管拡張74.3%、主膵管狭窄24.8%などの異常所見を指摘しており、主膵管拡張や膵嚢胞といった高危険群の拾い上げにも有用です。一方、MDCTは、腫瘍像65.8%、主膵管拡張82.2%に加え、上皮内がん（stage 0）を反映するとされる限局性脂肪置換41.8%の診断も可能です。MDCTは病期診断にも有用ですが、造影剤アレルギー、腎障害、ビグアナイド系糖尿病薬などに注意が必要です。MRIは、腫瘍像57.5%、主膵管拡張85.8%といった異常所見を指摘でき、膵管狭窄の診断にも有用であるため、高危険群の経過観察にも推奨されています。EUSはUS、MDCT、MRIに比べ侵襲的な検査ですが、腫瘍像92.4%、主膵管拡張89.4%、主膵管狭窄53.0%などの異常所見を認め、特に≤10mmの小膵がんの診断に有用とされています。さらに、上皮内癌がんに伴う限局性膵炎の評価にも有用とされています。

以上より、高危険群の経過観察や膵がんの画像診断は、単独の画像検査法ではなく複数の画像検査法を組み合わせる行うことが重要です。

病理検査

画像診断のみで膵がんの確定診断を行うことには限界があり、照射治療や化学療法の治療前にも病理診断を確定することは極めて重要です。

膵がんの病理診断法としては、EUS-FNAとERCP下膵液細胞診が推奨されています。EUS-FNAの感度は89-92%、特異度は96-96.5%と高いですが、偶発症を0-10.5%に認め、手術適応例ではneedle tract seeding（2.2%）が問題となります。一方、上皮内がんの診断にはENPD留置下の複数回膵液細胞診（SPACE）が必須とされますが、EUS-FNAに比べ感度と特異度は低く、時に重篤な術後膵炎を認めます。

最近では、EUS-FNA検体を用いたゲノムプロファイリング（CGP）も試みられており、精密医療への応用が期待されています。

「遺伝子検査の現状と未来」

～検査精度の向上を目指した検査室の取り組み～

◎立川 聡¹⁾

国家公務員共済組合連合会 横須賀共済病院¹⁾

昨今、がんゲノム診療として、分子標的治療薬の選択を目的とした内視鏡検体や手術材料検体を用いた遺伝子検査が目覚ましく発展し注目を集めています。しかし、遺伝子検査には結果報告までに日数がかかるうえ、検体の保存状況などによっては、ゲノム断片化などにより判定不能に陥る可能性があります。

当院の病理検査 FFPE 検体からの遺伝子検査において行っている検査精度の向上や、結果判定不能の減少への取り組みと、その成果について発表いたします。

横須賀共済病院 中央検査科 病理検査室

046-822-2710 内線番号 2387

i-densy IS-5320 を用いた *JAK2* V617F / *CALR* 遺伝子変異定性検査の導入時検討

◎渡部 僚介¹⁾、田中 達也¹⁾、間瀬 浩安¹⁾、荒川 聡¹⁾、野崎 司¹⁾
東海大学医学部付属病院¹⁾

【はじめに】*JAK2* V617F遺伝子変異及び*CALR* Type 1, Type2遺伝子変異は、真性多血症 (PV : Polycythemia vera)、本態性血小板血症 (ET : Essential thrombocythemia) 及び骨髄線維症 (MF : Myelofibrosis) などの骨髄増殖性腫瘍 (MPN : Myeloproliferative neoplasia) で見られる遺伝子変異であり、これらの確定診断、治療法選択及び治療効果判定に用いられる。

【*JAK2* V617F】*JAK2* V617F遺伝子変異は、*JAK2*のJH2部分 (Pseudokinase domain) における1849番目のグアニン→チミン変異により、617番目のバリンがフェニルアラニンに変異する。この変異により、本来JH1に対し抑制的に働くJH2が非抑制的に働き、下流のSTAT (Signal transducers and activators of transcription) 系が活性化する。その他に、*JAK2* exon 12の遺伝子変異も知られている。

【*CALR* Type1, Type2】*CALR* Type1, Type2遺伝子変異は、第9エクソン蛋白質翻訳領域におけるフレームシフト変異であり、50種類以上の変異パターンが報告されている。52塩基の欠失であるType1と5塩基の挿入であるType2が代表的である。

【当院の現状】当院では、2021年4月までLightCycler 2.0 (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社) を用いた解離曲線解析にて、*JAK2* V617F遺伝子変異定性検査のみを行っていた。しかし、装置の老朽化、臨床からの*CALR*遺伝子変異検査の院内検査要望増加に伴い、i-densy IS-5320 (アークレイ株式会社) の導入を決定した。

i-densy IS-5320は、全血等の検体をセットするだけで、前処理 (核酸抽出) ・増幅 (PCR) ・検出を全自動で行う装置であり、数時間要した検査を約80分で行うことができる。また、前処理試薬及び増幅試薬があらかじめ分注されたi-densy Pack UNIVERSALに任意のプローブを分注するだけで様々な項目が測定可能である。プローブは、蛍光標識したシトシン塩基を末端に持つQuenching Probeであり、Tm解析により遺伝子変異を同定する。また、操作は試薬パックへの検体・プローブ分注及び装置へ試薬パックをロードのみであり、簡便である。

【導入検討】検討項目として、最小検出限界、併行精度、室内再現精度及び相関性の確認を行った。検討は、メーカー提供の野生型プラスミド、変異型プラスミド及び残余検体を用いた。最小検出限界は、*JAK2* V617F、*CALR* Type1, Type2いずれも変異率3%であった。併行精度は、変異率3%のプラスミドを用いて4回測定し、*JAK2* V617F、*CALR* Type1, Type2いずれもすべて陽性であった。室内再現精度は、変異率3%のプラスミドを用いて3日間測定し、*JAK2* V617F、*CALR* Type1, Type2いずれもすべて陽性であった。相関性は、*JAK2* V617Fにおいて陽性一致率100% (5/5)、陰性一致率100% (5/5) であった。また、変異率 (*JAK2* V617F) は、安定した再現性が得られなかった。

【導入後の効果】導入に伴い、年間件数は47件 (*JAK2* V617F) から73件 (*JAK2* V617F+*CALR* Type1, Type2) へ増加した。しかし、検査単価は1件あたり3,950円から11,784円へ増加した。一方、TATは4日から1日へ短縮することができた。また、従来は、解離曲線解析にて得られた波形を検査者が目視で解析しており、客観性に欠ける検査であった。i-densy IS-5320による解析では、解析ソフトによる自動判定機能が備わっており、検査結果に客観性をもたせることができた。

【今後の展望】i-densy IS-5320は、全工程が自動化されており、検査時間の大幅な短縮が図れた。また、ハンズフリーの時間が増え、他業務に時間を割くことが可能となった。しかし、検査単価は高額であり、毎バッチの陽性コントロール測定が不可能であった。代替法として、i-densy IS-5320独自の指標である試薬反応性を内部精度管理として用いた。MPNの診断において、*JAK2* V617F、*CALR* Type1, Type2遺伝子変異に加え、*MPL*遺伝子の変異解析も重要となるが、現状の検査体制では採算性を確保できない。また、臨床からの検査依頼数も少なく、利益の得られない検査が多い。今後、少ない検査数でも利益の得られる検査体制を構築する必要がある。

連絡先 : 0463-93-1121 (3147)

当院における病理検査の臨床への展開

◎石黒 和也¹⁾

筑波メディカルセンター病院¹⁾

従来病理検査といえば、患者や臨床との関わりが乏しく、提出された検体を病理医と我々病理技師とで標本作製から診断を完了させ、臨床へ戻すといった閉鎖的な環境が一般的であったように思う。現在では臨床現場へ参画し、経験・実績ともに豊富な施設も多いと思われる。

当院においても病理検査室の臨床への展開として2008年より気管支鏡検査への介入を開始したので、その経緯や検体塗抹、固定の実施から Rapid On-Site cytologic Evaluation (ROSE) 開始のこれまでの15年の経過と内容について紹介する。

当院の気管支鏡検査の検体採取、検体処理（塗抹、固定）は呼吸器内科を主体とした臨床医で実施していたが、我々検査技師が検体処理を担うことで、関係医師が気管支鏡手技に集中できることを主目的に介入、運用を開始することとなった。検体処理（塗抹、固定）に関しても効果があった。

年間200件前後の検体処理介助と現在ではその6～7割におよぶROSEに対応している。その運用体制や方法、臨床との関わりについて提示する予定である。

また、近年泌尿器科への取組みとして尿細胞診の即日報告を実施しているので、その目的や運用実績についても合わせて紹介する。

当院は民間の中規模病院であり、先端の設備や技術を取入れることは困難であるが、従来の病理技術の基本や知識を活かし臨床へ展開することでチーム医療の一部として新しい取組み、貢献を念頭に実施してきた。

この発表が何かお役に立てれば幸いであり、この会に参加される皆様よりご意見、ご指摘など頂き今後活かして参りたいと存じます。

連絡先 029-858-5278

新病院移転に伴う業務改善への取り組み

◎花山 直美¹⁾、生澤 竜¹⁾、島田 直樹¹⁾、大川 千絵¹⁾
聖マリアンナ医科大学病院¹⁾

当科は2023年1月に新棟へ移転した。2019年1月にISO 15189に施設認定された経緯もあり、検査室は清潔区域と汚染区域とに区分けされている。ホルマリン作製装置や局所排気装置、新システム導入など設備も一部変更が加わり、作業環境や医療安全を踏まえた検査業務の見直しを行った。

臨床検査情報システム（LIS : Laboratory Information Systems）は作業工程を管理する機能が新たに追加された。その結果、検体受取（搬送者と対面式）、検体受付、切り出し、固定時間、薄切、標本提出など、各工程の担当者がLISに記録することで、第三者も進捗状況を把握できるようになった。

医療安全面から生検材料を切り出しする作業場では、卓上プッシュプル換気装置にビデオカメラが設置され、作業を動画で記録している。手術摘出材料は、固定容器ストッカーからの検体取り出し、受付、水洗までの作業を、ウェアラブルカメラで動画記録し、作業および検体を管理している。また、依頼書のオーダー番号（バーコード）とスティック瓶に貼り付けられた検体ラベル（QRコード）をバーコードリーダーで読み取り、一致した場合のみ次の作業へ進む検体取り違い防止策を行っている。

薄切では各マイクロトームにノートパソコンとスライドガラスプリンターを用意し、ブロックにあるQRコードをバーコードリーダーで読み取る事で、スライドガラスが印字されるようにした。1人の技師が1ブロック毎に対応して薄切するようになり、検体の取り違い防止に役立っている。

部内のペーパーレス化として、切り出し図は撮影した写真データを部門システム上で編集し、作成している。また、特殊染色のオーダー用紙を廃止して、特染指示ラベルを用いての運用としている。

今回の発表では、移転前後の業務改善点について紹介する。

聖マリアンナ医科大学病院
病理診断科
044-977-8111(内 2467)

自施設でできる！異常反応（非特異反応）解析のすゝめ

◎土筆 智晶¹⁾
北里大学病院¹⁾

異常反応（非特異反応）とは、何らかの生体成分が試薬や採血管成分などと反応し、本来の抗原抗体反応と異なる反応を引き起こし、病態と一致しない検査結果を示す現象である。このような現象は、免疫検査だけにとどまらず、ラテックス免疫比濁法を中心とした生化学検査でもみられるため、日常検査において非特異反応に遭遇することは決して稀ではない。現在では診察前検査が一般化しており、迅速で正確な結果報告が求められているが、大量の検体を処理する中でも異常反応を見抜き、適切に対処することは臨床検査技師として重要なスキルである。非特異反応の解析方法について、希釈直線性試験、添加回収試験、試薬成分添加試験、電気泳動、ポリエチレングリコール（PEG）処理、免疫グロブリン吸収試験、異好抗体阻止試験、還元処理、ゲル濾過分析、シアテスト（Sia euglobulin precipitation test）、検体の不活性化、ノイラミニダーゼ処理などがあり、これらの方法で同定した異常反応に関する症例はこれまでに数多く報告されている。しかし、自施設では分析装置や試薬がない、時間がないという理由から実際に現象を精査し原因を解明している施設は少ない。以前の調査結果によると、再現性試験（再検）や希釈直線性試験を実施している施設はあるものの、そのままメーカーに精査を依頼する施設も多く存在する。当院でも以前は異常反応が検出された場合、メーカー頼りであったが、筆者を中心に院内で解析できる体制を少しずつ整えてきた。異常反応の精査には測定法に利用する抗体や担体を要する場合もあるため、メーカーの協力が必要になることは少なくない。全てをメーカーに頼るのではなく、現象を理解しメーカーとともに真実に近づくことが重要と考える。本シンポジウムでは、自施設でも実施できる精査方法について症例を通して紹介する。これを機に、異常反応の精査に取り組んでいく施設が増え、さらなる試薬の改良に繋がることを期待する。

症例対照研究

ーウェブソフトを利用したカイ2乗検定ー

◎青野 実¹⁾
横浜市衛生研究所¹⁾

疫学については、世界保健機構より出版された、「WHOの標準疫学（第2版）」の中で、Lastによれば、疫学は、「健康に関連する状態や事象の集団中の分布や決定要因を研究し、かつその研究成果を健康問題の予防やコントロールのために適用する学問」と定義されている。

すなわち、公衆衛生を向上させるために必要な1つの方法として世の中に貢献している学問と考えられる。主な役割は、集団の健康状態を記述して、疾病が集団に与える影響の大きさを把握し、健康問題の予防等に繋げていくことである。現在では、疾患や健康に関する事象だけでなく、公害や災害などの問題も対象としている。ただし、本講演では、集団の疾病を中心に、研究デザインに基づいて、疫学分析の進め方を紹介する。

研究デザインには、観察的研究と実験的研究に大別される。特に観察的研究では、コホート研究や症例対照研究が主な研究デザインである。本講演では、症例対照研究を中心に、概念や使用方法について、統計学的手法と絡めながら紹介していく。

まずは、基礎的な統計学的検定として、感度・特異度の例題を紹介して、2×2表の使い方と適中率についても簡単に説明を行う。また、カイ2乗検定としては、適合度の検定と独立性の検定について、実例を示しながら、出力結果の注意すべき点について説明を行っていく。

症例対照研究では、主にカイ2乗検定を利用して疫学的な分析が進められるため、カイ2乗検定の使用方法について、例題を用いながら説明を行っていく。概念的な理解が進んだところで、実際の疫学統計ソフトを利用して演習を行う。疫学統計ソフトには、オープンソースのウェブソフトとして、

「OpenEpi」を利用する。なお、「OpenEpi」の開発は、ビル・アンド・メリンダ・ゲイツ財団からエモリー大学ロリンズ公衆衛生大学院への助成金によって部分的に支援されている。

演習のデータから症例定義に基づいて分析をはじめ、「OpenEpi」を操作してアウトカムを導いて、実践的演習を行っていく。そのため、出来れば聴講される方は、スマホやネットワークに接続できる

PC等を持参されることをお勧めします。
横浜市衛生研究所感染症・疫学情報課ー045-370-9237

尿中有形成分自動分析装置の活用法機械値から読み解く尿沈渣

◎横山 貴¹⁾
新潟医療福祉大学¹⁾

尿中に排出される赤血球をはじめとした種々の成分は、腎・泌尿生殖器における各種疾患の診断や治療の指標として用いられ、時に確定診断に至る場合もあります。尿沈渣検査は、これまで成分判定能力および検出力の点から、目視法が主流でありました。しかし、効率化、迅速化や精度管理の面から尿中有形成分自動分析装置を導入する施設も増えてきました。

測定原理にはフロー方式とスライド方式があります。フロー方式は、シースフロー中の有形成分が一定方向に流れる原理を利用し、フローサイトメトリ技術により各成分の情報を読み取る方法と顕微鏡

CCDカメラによりシースフロー中の有形成分を撮影し粒子認識ソフトで成分判定を行う方法があります。スライド方式は、専用のカバーガラス一体型スライドと高速オートフォーカス機能つき顕微鏡を組み合わせることにより撮像部で画像収集しこれを画像解析プログラムにより自動判定する方法です。それぞれの機器には、検出限界があるため、特性を理解し結果の信頼性が低い検体は、目視法による尿沈渣検査を実施する必要があります。

尿中有形成分自動分析装置の利点は、客観的、且つ定量的な結果を報告できることや目視で鑑別することが困難な成分や見落としがちな成分を検出してくれるアシスト機能であると考えます。目視法と尿中有形成分自動分析装置による結果を組み合わせることによって、付加価値の高い情報を担当医に提供できると考えます。

そこで、本シンポジウムでは、「機械値から読み解く尿沈渣」をテーマに、現行機種メーカー4社の各ユーザーにご登壇いただき、測定値の見方・考え方についてお話しして頂きます。ご参加いただいた皆様と共有することによって、「簡単なものはもっと簡単に、難しいものは簡単に、見えないものが見えるように」となるきっかけとなり、「プルスウルトラ」の精神で、さらに尿沈渣および尿中有形成分の分析が臨床的意義の高い検査となれば幸いです。

(連絡先 025-257-4474 直通)

UF-5000 測定後のメッセージから輝細胞(グリッターセル)を見つける！

◎塚原 祐介¹⁾
東京女子医科大学病院¹⁾

【はじめに】

尿検査は、尿試験紙を用いた尿定性検査と尿沈渣検査に分けられる。尿沈渣検査は、腎、尿路疾患の診断のために重要な検査であり、尿中に現れる有形成分(赤血球、白血球、上皮、細菌など)を顕微鏡による目視で観察、報告する検査である。尿中有形成分分析装置は人員削減による目視鏡検率の低下や、業務効率化を目的に使用している施設が増えてきている。当院でも2018年にUF-5000(シスメックス株式会社)を導入した。当院での活用方法と、UF-5000 測定後のメッセージから見落とさないようにしている沈渣成分の紹介をする。

【活用方法】

1982年に開設された膠原病リウマチ痛風センターは東京女子医科大学病院とは別の医療施設として診療を行っていたが、2018年5月1日より東京女子医科大学病院の一部として診療することとなった。中央検査部では尿中有形成分分析装置は使用していなかったが、膠原病リウマチ痛風センターではUF-1000iを使用していたため、同様の形式で結果をリウマチ科の医師が確認できるようにUF-5000が導入された。導入当初はリウマチ科しか使用していなかったが、2020年3月より、腎泌尿器科、腎臓内科、腎臓外科、腎臓小児科、小児科以外の診療科に使用が拡大された。

当院一般検査室では尿回収作業後、自動分注機で分注され、全自動尿分析装置で定性検査が行われる。UF-5000を使用する診療科と使用しない診療科で測定後のスピッツが排出される位置は異なり、使用しない診療科はそのまま遠心機にかけられ、目視鏡検を行う。使用する診療科の場合はUF-5000で測定を行い、定性検査のロジック、UF-5000のロジックにかからなければ結果が承認され電子カルテに送られる。ロジックにかかった検体は遠心機にかけ、目視鏡検を行う。

定性検査では蛋白 \pm 以上、潜血反応2+以上、混濁2+以上、沈渣コメント(マルベリー、異型、腸上皮)、5mL以下、6歳以下)をロジックとして設定している。UF-5000のロジックにはdysmorphic、Mixed?、導電率異常、UTI?、UNIVERSALがあり

IPメッセージとして表示される。UNIVERSALは赤血球10/HPF以上、白血球10/HPF以上、非扁平上皮0.5/HPF以上、硝子円柱2/LPF以上、非硝子円柱0.8/LPF以上の時に表示される。

【目視鏡検】

UF-5000測定後の検体は、IPメッセージを参考に目視鏡検している。好中球には生細胞、死細胞、輝細胞(グリッターセル)があり、当院で目視鏡検をする際はそれぞれを分類し報告しているが、UF-5000では分類することができない。そのためUTI?のメッセージが表示された場合には、それぞれを注意深く観察し報告している。特に輝細胞の見落としには注意している。輝細胞は細胞質内の顆粒が動いている細胞であり、低比重尿や腎盂腎炎、腎盂の拡張や上部尿路感染でも認められるといわれている。腎盂腎炎は急性腎盂腎炎と慢性腎盂腎炎に分けられ、慢性腎盂腎炎の場合には目立った症状もなく、進行してしまふと慢性腎不全となってしまう。そのため、輝細胞の報告意義は高い。

当院で2023年6月にUF-5000測定後にUTI?のメッセージが表示された検体数は290件で、輝細胞が認められたのは104件であった。そのうち腎盂腎炎などと診断されていたのは30件であり、診断がついていない方が多かった。しかし、輝細胞を報告することで担当医に腎盂腎炎の可能性を示唆することが出来る。

【考察】

細胞質内の顆粒が激しく動いていれば輝細胞の存在に気付くことができるが、わずかしき動いていない細胞もある。IPメッセージでUTI?と表示されたら輝細胞が排出されている可能性もあるため、意識しながら鏡検することで見落とさずに報告できると考えられる。

【結語】

輝細胞の報告は上部尿路感染や腎盂腎炎の把握に重要な成分であるため、メッセージから見落とさないように意識し、可能であれば分類して報告することが望ましい。

当院の USCANNER premio の活用方法と撮像画像で異型細胞を多数確認できた 1 症例

◎千葉 里佳¹⁾

国際医療福祉大学成田病院¹⁾

【はじめに】

当院で使用している尿中有形成分自動分析装置は、画像処理法を原理とした東洋紡社の USCANNER premio (以下 USCANNER) である。

USCANNER は、カバーガラス一体型スライドとオートフォーカス機能付き顕微鏡カメラを組み合わせた構造により、尿中の有形成分をカメラ撮影し、画像解析プログラムから項目分類・計数する分析装置である。

今回、当院の USCANNER の活用方法と USCANNER 撮像画像から異型細胞が多数認められた症例を経験したので報告する。

【当院の活用方法】

当院は、尿沈渣：120～180 件/日 (内 30～40 件は予防医学) 依頼があり、全件 USCANNER で検査を行っている。1 検体につき顕微鏡カメラで 25 枚撮影し、12 枚分と 13 枚分をそれぞれ重ね合わせ、合成された計 2 枚の撮像画像を確認する。

定性値で、蛋白 (1+)、潜血 (1+)、白血球数 (1+) 以上の値が認められた場合には、目視鏡検を行う院内ルールがあるが、定性値とは別に USCANNER 撮像画像にて、鏡検が必要と判断された検体も目視鏡検を行う。撮像画像は、大小にかかわらず成分を映し出すため、得られた画像からその検体に出現している成分を確認することができ、目視鏡検する前にどのような成分が出現しているか推測して検査に臨むことで、検査時間の短縮が可能となる。

また、珍しい細胞成分や間違えやすい細胞成分などが映し出された撮像画像を用いた技師の教育をしており、技師の知識・目視鏡検の技術向上に利用している。

【症例】

79 歳男性。20XX 年 2 月 24 日、当院予防医学を受診。尿中に異型細胞を認め、翌日、当院泌尿器科へ紹介となった。3 年前から、頻尿、切迫性尿失禁を認め、他の既往歴として高血圧、糖尿病、狭心症があった。尿細胞診はクラス III (疑陽性)、超音波

検査で、膀胱・腎臓・前立腺に可視範囲内明らかな所見は認められなかった。

再受診の 4 月 1 日、USCANNER 撮像画像で異型細胞と思われる細胞が多数出現しており、目視鏡検でも 1-4 個/HPF 程の異型細胞を確認した。

膀胱内視鏡検査にて、複数の発赤粘膜と後壁に有茎性乳頭状腫瘍を認め、膀胱癌の診断がついた。

【2 月 24 日：予防医学受診時の尿検査所見】

色調 (麦わら色)、混濁 (-)、蛋白 (-)、糖 (4+)、潜血 (±)、赤血球 5-9 個/HPH、白血球 20-29 個/HPF、細胞質内封入体細胞 1-4 個/HPF、異型細胞 (1+、N/C 比増大、核形不整、核小体肥大な細胞を認める)

【4 月 1 日：泌尿器科再受診時の尿検査所見】

色調 (茶褐色)、混濁 (2+)、蛋白 (±)、糖 (4+)、潜血 (3+)、白血球数 (-)、赤血球 100 個以上/HPF、白血球 1 個未満/HPF、尿路上皮細胞 1 個未満/HPF、異型細胞 (2+、N/C 比増大、核形不整、核小体肥大な細胞を認め、核の飛び出し像、細胞集塊あり)

【考察】

今回経験した症例は、尿中に異型細胞が多数出現していたため、USCANNER 撮像画像でも異型細胞が明瞭に確認でき、注意深く目視鏡検することができた症例であった。

画像処理法を原理とした USCANNER は、映し出された撮像画像を活用することで、鏡検前の事前情報として得ることができ、目視鏡検の見落とし、見逃しを防ぎ、検査時間の短縮や効率に繋がる。尿中有形成分自動分析装置の性能を見極め、必要に応じた目視鏡検を行い、臨床へ迅速に結果報告していくことが重要である。

連絡先：0476-35-5600

シーメンス社 Atellica UAS800 導入による業務の効率化に向けて

◎岩田 紘和¹⁾

聖マリアンナ医科大学 横浜市西部病院¹⁾

尿中有形成分分析装置 Atellica UAS800 は画像処理方式を採用しているため、キュベットを簡易遠心することでキュベット内の有形成分を沈ませ、鮮明かつ背景を含むグレースケール画像を得ることができる。担当技師は目視鏡検と同様の感覚で画像確認し、編集処理して報告することが可能である。また、尿化学分析装置クリニテックノーバスと搬送接続していることから、尿定性の結果も同一画面で確認することが出来る。

当検査室では Atellica UAS800 導入前の目視鏡検検体は、定性結果や診療科情報、分析装置フラグ等のロジックで設定され、そのため鏡検率は 60% と高く、報告までに時間を要していた。さらに病的かつ異常成分については詳細に観察する必要があることから鏡検率の減少や報告時間の短縮など効率的な運用への対応が不可欠であった。また、当検査室の血液部門では CellaVision DM9600 を活用した血液像画像処理運用により業務の効率化に繋げた実績がある。そこで、尿沈渣領域においても画像処理方式を導入することによって形態学検査全体の更なる業務の効率化を図った。

取り組み内容として

- ①各種細胞に対する装置内サブカテゴリーを設定し、編集機能を用いた手動分類の体制。
- ②新たに項目間ロジックを構成し、自動報告・画像処理報告・目視鏡検の運用区分を明確化。
- ③CellaVisionDM9600 と同様に、検査システム PC での画像確認と編集、結果報告までを可能としたリモート体制の構築。
- ④血液／一般部門間の業務連携。

Atellica UAS800 導入により尿沈渣標本作成までが自動化され、画像確認と編集・結果報告が検査システム PC でのリモート対応が可能である。画像処理運用によって鏡検率が減少し、一検体あたりの報告時間も大幅に改善した。また、至急検体数の多い午前中の尿沈渣業務では血液像担当者がリモートによる画像処理報告をサポートし、沈渣担当者は目視鏡検に専念できることで効率化が実現できた。さらに、鏡検者は病的かつ異常成分の多い検体に対して十分な鏡検時間が確保された事で検査の質の向上にも繋がった。

形態学検査の運用には画像処理および鏡検判読する技師の精度管理が必要となる。今後は日々蓄積されていく Atellica UAS800 画像を用いて技師のスキル維持、標準化のための教育資材や人材育成プログラムを準備していく予定である。

当院における AUTION EYE AI-4510 の活用法と今後の展望

◎菱木 光太郎¹⁾
東京慈恵会 医科大学附属病院¹⁾

当院では業務の効率化を目的として、2020年4月にアークレイ社の画像解析法を用いた尿沈渣分析装置 AUTION EYE AI-4510（以下、AI-4510）を導入した。AI-4510の特長は、①無染色の画像が残ること、②消耗品はシース液のみなので低コストであること、③アトラス画像が搭載されており技師の育成に活用できること、以上の3点が挙げられる。導入前は尿沈渣の依頼のあった検体を全て目視していたが、導入後は目視率が約25%削減された。

当院におけるAI-4510の活用法として重点を置いているのは、信頼性のあるデータをもとに目視が不要な検体を選別し、安全に結果報告することである。全検体をAI-4510で測定するのではなく、尿定性で設定値以上の判定を示した場合はその時点で目視法とし、尿定性で設定値未満の判定を示した場合のみAI-4510で測定し、さらにAI-4510の結果により目視の必要性判断を行っている。

尿中有形成成分分析装置には大きく分けてフローサイトメトリー法と画像解析法とがある。解析結果はデータとして我々に提供されるが、測定原理によってスキヤッタグラム、尿沈渣の全体像、染色された画像、個々にトリミングされた成分画像など様々である。AI-4510では全体像の把握も可能であるが、トリミングされた個々の成分を観察することが主となる。これまでの使用経験をもとに、AI-4510の画像から疾患へと結びつける可能性について検討し紹介したい。

分子標的治療薬剤による輸血検査の干渉作用について

◎奥田 誠¹⁾東邦大学医療センター大森病院¹⁾

はじめに

近年様々な分子標的治療薬剤が開発され、上市されている。分子標的治療薬剤は、従来の抗がん剤とは異なり、直接標的とする腫瘍細胞に作用し、効率よく更に患者の負担を最小限に留めることができる。一方で、分子標的治療薬剤を使用することで様々な臨床検査に干渉を及ぼし、検査が複雑化することも知られている。

本発表では、主に輸血検査に影響を及ぼす分子標的治療薬剤について紹介し、現状で行われている対処法を中心に解説する。

抗 CD38 抗体治療薬剤

抗 CD38 抗体治療薬剤の Daratumumab は、2015 年に米国 FDA で再発・難治性多発性骨髄腫の治療薬として承認され、日本国内でも 2017 年 9 月に認可承認された。

同じく抗 CD38 抗体治療薬剤として Isatuximab は、再発または難治性の多発性骨髄腫の適応症におけるポマリドミド・デキサメタゾン併用療法として 2020 年 6 月に認可承認された。

共に多発性骨髄腫に多く発現する CD38 を認識するヒト型 IgG1κ 型のモノクローナル抗体である。

CD38 は NH₂ 末端が細胞質内にある 45kDa の単鎖 II 型膜糖タンパクで、活性化 T、B 細胞、NK 細胞、単球、形質細胞に存在する。特に形質細胞では、他の細胞に比べ明らかに発現量が多いことが知られている。また赤血球膜上にもわずかに CD38 が発現していることから、抗グロブリン試験において輸血検査に弱いながらも干渉を及ぼすことが知られている。

2015 年に Chapuy らは、Daratumumab の輸血検査への干渉作用とその解決法として Transfusion 誌へ投稿した。この報告を受け、米国 AABB (Association for the advancement of Blood & Biotherapies) は、2016 年 1 月に AABB 会員宛に緊急メッセージメールを発信し、輸血検査への干渉作用およびその解消方法について伝えた。CD38 の分子構造には 6 つのジスルフィド結合があり、還元剤にてその結合を破壊し CD38 の変性が可能とする内容である。

2017 年 11 月に日本輸血細胞治療学会の輸血検査技術講習委員会は、本学会のホームページ上に、多発性骨髄腫治療薬 (抗 CD38) による偽陽性反応への対処法 (一部改定版) (DTT 処理赤血球の作製法および DTT 処理赤血球による間接抗グロブリン試験) として干渉作用の解消法を掲載している。これによって抗 CD38 抗体治療薬剤の使用患者の輸血検査については大きな混乱には至っていない。

抗 CD47 抗体治療薬剤 (Magrolimab、ONO-7913)

抗 CD47 抗体治療薬剤は、米国 Forty Seven 社が開発した抗ヒト IgG4 モノクローナル抗体治療薬である。マクロファージの細胞膜に存在するタンパク質 SIRPα とその食食標的となるがん細胞の細胞膜に存在するタンパク質 CD47 が結合すると、がん細胞を標的とする抗体 (がん細胞上に存在する抗原に結合) により誘導されるマクロファージのがん細胞に対する食食能力 (食食活性) が弱められ、Don't Eat Me シグナルを提示する。一方で、SIRPα と CD47 の結合を阻害するとマクロファージの活性が高められることから、CD47 を本薬剤でマスクすることで eat me 作用を促しマクロファージの食食作用を高める。非ホジキンリンパ腫 (NHL) 患者に強力かつ持続的な奏効をもたらす、固形がんへの適応の可能性も模索されており、現在はすい臓がん、卵巣がん、大腸がんの患者への治験が進んでいる。

CD47 は赤血球膜上の Band3 に挟まれ Rh complex として存在している。CD47 は赤血球膜上に非常に多く発現しており、抗グロブリン試験以外にも様々な方法で干渉作用が認められる報告がある。現在国内では治験段階であり、抗 CD47 抗体治療薬剤の干渉作用については報告されていない。日本輸血・細胞治療学会では、臨床研究として小野薬品工業と共同研究を行い、本薬剤 (ONO-7913) の干渉作用解決方法について研究を実施している。本発表では、海外で検討された干渉作用についての報告と、その解消方法について文献学的な考察として発表する。

当院の抗 CD38 モノクローナル抗体製剤投与患者の対応について

◎渋谷 祐介¹⁾

東海大学医学部付属病院¹⁾

抗 CD38 抗体は、多発性骨髄腫を含む造血器悪性腫瘍の腫瘍細胞表面に発現するヒト CD38 抗原に結合することで、抗悪性腫瘍効果を発揮するヒト型免疫グロブリン G1κ モノクローナル抗体である。

CD38 抗原は正常な赤血球膜表面にも発現しているため、抗 CD38 モノクローナル抗体製剤を投与した患者の検体では、不規則抗体検査や直接抗グロブリン試験 (DAT)、交差適合試験において汎凝集反応を呈する。汎凝集反応への対応は、日本輸血・細胞治療学会推奨の 0.2M DTT で処理を行っている。

当院は 2018 年から daratumumab、2020 年には isatuximab の使用が開始された。2018 年 4 月から 2023 年 3 月までの 5 年間に、当院血液腫瘍内科で多発性骨髄腫と診断された患者は 288 名で、抗 CD38 抗体を投与された患者は 56 名 (約 19%) であり、そのうち輸血を行った患者は 32 名 (約 11%) であった。当院の過去 5 年間の赤血球製剤使用量は 95,078 単位であり、そのうち抗 CD38 抗体を使用した患者に 532 単位 (約 0.6%) が使用されていた。抗 CD38 抗体最終投与後から約 6 か月程度まで検査に影響があるといわれているが、当院で調査を行ったところ最小 13 日、最大 159 日まで検査に影響があった。

当院は抗 CD38 モノクローナル抗体製剤の運用開始にあたり、血液腫瘍内科担当医より連絡をもらい、輸血部門システムで記録する取り決めをしていた。しかし、実際に運用していくと不規則抗体検査時に汎凝集反応があって初めて患者カルテを確認する流れが多いのが実状である。そのため、投与記録が輸血部門システムにない患者の不規則抗体検査と赤血球輸血の依頼がある場合、払い出しまでに時間がかかってしまうため、当院では不規則抗体スクリーニング赤血球を事前に 0.2M DTT 処理しておく工夫も行っている。抗 CD38 モノクローナル抗体製剤を使用している患者には、医師から情報カードを渡している。しかし、患者が情報カードをどこに提示するのか、また採血や診療時に提示しても輸血部門に情報共有が出来ないなどの問題も抱えている。今回、当院での経験と問題点などを報告する。