

フローサイトメトリーの将来展望

躍進する臨床検査 ～Plasma cell myeloma の診断と治療～

◎丸岡 隼人¹⁾独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院¹⁾

【はじめに】

従来、形質細胞性骨髄腫(PCM)は化学療法に対する治療反応性は不良であり、自家末梢血幹細胞移植のみが有効な治療法であった。近年、プロテアソーム阻害剤、免疫調整薬や抗体薬などの新規薬剤の登場により、PCM に対する治療戦略は大きく変貌し、深い寛解を達成することができる時代に突入した。それに伴い、治療効果の判定および予後予測の指標として、微小残存病変(MRD)検出の重要性が高まっている。

free light chain(FLC)の測定は一般に普及しており、FLC が正常化した stringent CR(sCR)が1つの治療目標となっているが、近年では、EuroFlow が提唱するマルチパラメトリックフローサイトメトリー(MFCM)を用いた次世代フロー(NGF)、免疫グロブリン遺伝子を標的にした次世代シーケンシング (NGS)など、より高感度な新規検査法が開発されており、国際骨髄腫ワーキンググループ(IMWG)は FlowMRD-negative や Sequencing MRD-negative などの新たな MRD 判定基準を設けている。MFCM は汎用性、迅速性、経済性に優れた検査法であり、今後普及の可能性がある検査法であると思われる。本シンポジウムでは、PCM の診断および MRD 評価における FCM 解析のポイントと注意点について、具体例を示しながら解説する。

【診断におけるポイント】

診断時における FCM の役割はサンプル中に存在する形質細胞が腫瘍性が正常かを鑑別することである。両者の鑑別に必要な情報は、形質細胞における免疫グロブリン軽鎖制限と異常抗原発現である。一般的には形質細胞マーカーとして CD38 と CD138 が用いられることが多い。正常骨髄においては、細胞内に Kappa 鎖を有する形質細胞と Lambda 鎖を有する形質細胞が混在している。一方、診断時における PCM 患者の骨髄においては、形質細胞全体に占める腫瘍性形質細胞の比率が高いため、Kappa 鎖あるいは Lambda 鎖を有する形質細胞の存在比率が高くなり、Kappa/Lambda 比が正常範囲(0.5～4.0)から逸脱する(軽鎖制限)。また、腫瘍性形質細胞は正常形質細胞と抗原の発現パターンが大きく異なることが知られており、この現象を異常抗原発現と呼ぶ。異常抗原発現には、①系統不全(CD28, CD56, CD117)、②欠失・発現低下(CD19, CD27, CD45, CD81)の種類がある。

形質細胞マーカーとこれらのマーカーを組み合わせた抗体パネルの作成が重要となる。

【MRD 評価におけるポイント】

MRD 評価においては高い検出感度が要求されるが、検出感度は2つのファクターに依存する。1つめは解析細胞数であり、 1×10^{-5} (10 万個に1個)以上の検出感度を得るためには最低 300 万個の解析細胞数が必要とされる。2つめは MFCM の実施であり、診断時に得られたフェノタイプに基づき、形質細胞マーカーに加えて異常抗原発現および軽鎖制限を抗体パネルに組み込んだ 8 カラー FCM にて評価することが IMWG の Flow-MRD negative の判定に求められている。

本邦においては、Flow-MRD の予後予測の指標としての有用性についての検討は十分になされていないが、J Flores-Montero らは Flow-MRD negative 群は positive 群に比して無病増悪生存率(PFS)が有意に向上していたと報告している(Leukemia 2017;31:2094-2103)。

【解析結果に影響を与える因子】

FCM の解析結果に影響を与える因子について把握しておかなければならない。最も重要なのは骨髄血のサンプリングである。過度な吸引により、末梢血が混入し腫瘍細胞比率が低下する可能性があり、また抗凝固剤としてヘパリンを用いると CD138 の発現を低下させるという報告がされている。

そして、抗体薬による抗原への影響も念頭に置く必要がある。近年、新規治療薬として注目されているダラツムマブ(抗 CD38 抗体薬)の投与患者においては、ダラツムマブが FCM で使用する抗体が認識するエピトープをマスクすることにより、CD38 が偽陰性化することが知られている。EuroFlow ではマルチエピトープを認識する抗 CD38 抗体の使用が推奨されているが、我々は SLAMF に属する CD229 や CD319 などを CD38 に代わる形質細胞マーカーとして注目しており、その有用性についても紹介する予定である。

連絡先:078-302-4321