造血器腫瘍診断のための病理・血液検査室の連携

Importance of Cooperation between Pathology and Hematology Laboratories for Diagnosis of the Hematopoietic and Lymphoid Tumors.

桝谷亮太[1)]，川畑　茂[2)]，久保田芽里[1)]，大坂直文[1)]

はじめに

近年のゲノム解析技術および分子病理学の発展により，造血器腫瘍に対する様々な検査法や分子標的薬を含む治療法の開発が進んでいる。そうした中で，病状が日ごとに変化するような，特に病勢の進行が速いタイプが存在する造血器腫瘍においては，早期に治療を行うことが重要であり，そのためには迅速かつ正確な診断が必要不可欠となる。本稿では，普段血液検査に従事する筆者が，日々の業務を通じて感じた「造血器腫瘍診断のための病理・血液検査室の連携の重要性」について述べるとともに，当院での実際の運用を紹介する。

造血器腫瘍と分子病理

近年の分子病理の解明と医療技術の進歩は造血器腫瘍の診断と治療に大きく寄与している。急性白血病を例に挙げると，診断においては，古くからFAB分類[1)]が用いられてきた。FAB分類は1976年にフランス，アメリカ，イギリスの血液専門家から成るFrench-American-British（FAB）グループが急性白血病の分類として提唱したもので，形態分類法に数値基準を導入し光顕的手法である普通染色や特殊染色である細胞化学染色に基づいた分類法であった。その後，分子病態の解明と医療技術の進歩により，これまでの形態，表面形質に加え染色体や遺伝子異常に基づいた分類体系である「WHO分類」が2001年に発表された[2)]。その後も改版が進んでおり，造血器悪性腫瘍におけるWHO分類は現在では2017年の第4版改訂版が最新版として用いられている[3)]。治療において，従来は画一的な化学療法が用いられていたが，その腫瘍の原因遺伝子が同定されることで，遺伝子をターゲットにした「分子標的療法」が次々に開発され，治療選択枝の拡大や適切な治療法を選択する個別化医療が主流になってきた[4)]。そのため，適切で効率の良い医療を提供するには正確な診断が不可欠であり，特に造血器腫瘍においては，疾患名のみならず，病型の分類まで適正に行う必要がある。

造血器腫瘍診断における病理・血液検査

造血器腫瘍の診断における病理・血液検査室に共通する検査として，骨髄検査およびリンパ節生検が挙げられる。骨髄検査では，病理検査室にて生検材料から組織形態の観察が行われ，血液検査室にて骨髄穿刺液中の細胞数の計数，塗抹標本による細胞形態の観察，フローサイトメトリー（FCM）による表面抗原の解析が行われる[5)]。同様に，リンパ節生検では，病理検査室にて組織形態の観察および免疫組織染色による表面抗原の解析が行われ，血液検査室にてFCMによる表面抗原の解析が行われる[6)]。

このように，病理検査室内で完結する固形腫瘍の組織診断と異なり，造血器腫瘍では病理検査室と血液検査室の両検査室における検査結果を総合的に踏まえて組織診断されることが多いため，正確で迅速な診断を行うにあたっては，両検査室内で得た情報は速やかに共有される

Ryota MASUTANI[1)], Shigeru KAWABATA[2)], Meri KUBOTA[1)], Naofumi OSAKA[1)]
[1)] 大阪医科大学附属病院中央検査部
〒569-8686　大阪府高槻市大学町2-7
[2)] 大阪医科薬科大学医学部病理学教室
〒569-8686　大阪府高槻市大学町2-7
[1)] Central Laboratory, Osaka Medical College Hospital, 2-7 Daigaku-machi, Takatsuki, Osaka 569-8686, Japan
[2)] Department of Pathology, Osaka Medical and Pharmaceutical University Faculty of Medicine, 2-7 Daigaku-machi, Takatsuki, Osaka 569-8686, Japan
責任著者：桝谷　亮太
TEL：072-683-1221　FAX：072-684-6335
E-mail：kns065@osaka-med.ac.jp

必要がある。

悪性リンパ腫診断

悪性リンパ腫はホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫に大別され，欧米ではホジキンリンパ腫が多数を占めるが，本邦では殆どが非ホジキンリンパ腫で占めている[7]。ホジキンリンパ腫は血液検査が寄与できる部分が少ないため，本稿では非ホジキンリンパ腫の診断における病理・血液検査についてのみ言及する。非ホジキンリンパ腫にはB細胞性のものと，T/NK細胞性のものに大別され，それぞれの組織型によって悪性度が異なる。バーキットリンパ腫などの，高悪性度のタイプでは，病状が週ごとに進行するため，早期の診断と治療の開始が重要となる。

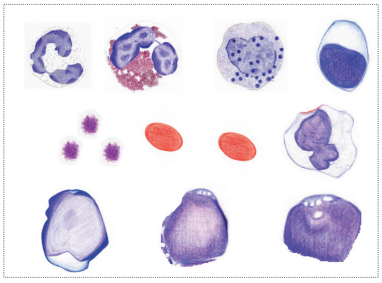
悪性リンパ腫の診断において，細胞表面の抗原検出は必須であり，主に血液検査におけるFCMと，病理検査における免疫組織染色である。FCMは細胞を一つずつ分離した状態でレーザーをあてることで，個々の細胞の表面抗原を，それぞれ客観的な数値データとして検出することが可能である。免疫組織染色は細胞というより組織全体で染色して表面抗原を検出する。

FCMの長所は，細胞表面の抗原検出にはホルマリン固定などの操作がないため，生細胞のまま測定が可能な点である。すなわち，パラフィン切片では時に同定が困難なCD19や表面免疫グロブリンなどの検出において有用である。また，現在では10カラー以上を同時に検出できるフローサイトメーターも流通しており，一つの細胞で10種類以上の抗原の発現を一度に，定量的に確認することが可能である。一方，免疫組織染色の長所は形態学所見を加味した判定ができる点や，組織における抗原の局在がin situで確認出来る点である。悪性リンパ腫の診断においては，こうした検査法の特徴を十分に理解したうえで，データを解釈することが重要となる（**図1**）。

リンパ系腫瘍の診断における病理・血液検査室の連携

当院の血液検査室ではFCMを院内で実施しているため，検体提出から最短3時間後にB細胞系列とT/NK細胞系列のおおよその病型が報告できる。さらにB細胞系列の場合，軽鎖制限を確認することで単クローン性の有無を評価でき，腫瘍性と反応性の鑑別に役立つ。血液検査室の特長は，検体受領から結果報告までの所要時間が短い点，さらに細胞一つひとつを観察するため，その形態的特徴を正確に報告出来る点にある。一方，病理検査室では組織像や免疫形質をもとに，可溶性IL-2受容体

	フローサイトメトリー（血液検査）	免疫組織染色（病理検査）
長所	・生細胞のまま測定が可能 ・単一細胞に最大10種類の分子の発現を同時に判定が可能 ・定量的な判定が可能 ・細胞の大きさや核の内部構造の把握が可能	・形態学所見を加味した判定が可能 ・必ずしも新鮮組織を必要としない ・腫瘍細胞の少ないリンパ腫も判定可能
短所	・新鮮な材料でないと測定不可 ・腫瘍細胞が少なすぎる/正常細胞が多すぎる場合には判定が困難 ・操作が煩雑 ・解析結果は術者の力量に依存する	・ホルマリン固定すると検出できない分子がある ・単一細胞で2種類以上の分子を同時に判定することが困難 ・定量的な判定が困難



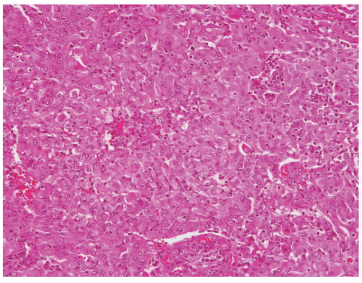


図1　細胞表面抗原の検出法の違い

を含む血液学的検査結果やFCMの報告と併せ，病理医が診断および病型を分類する。病理検査室の特長は，病型まで正確に診断出来る点にある。そして，細胞のみならず組織構築を観察するため，腫瘍の局在や腫瘍微小環境を含めた評価が可能である。さらに，FCMでは鑑別が困難なT/NK細胞系列の診断が出来ることも大きい。病理医がリンパ腫ならびに骨髄病理診断の際に血液検査室に連絡を取り，FCMの解釈について討議する機会が多い。一方で血液検査室の技師は，病理検査室において最終診断された病型をもとに，改めて末梢血塗抹標本を判読し，既に報告したFCMの解釈を再考察する。病理・血液検査室の連携は正確な診断を行う上で非常に有用であり，各々の検査室の検査能力を高める点で大変重要である。病理・血液検査室の検査結果や診断を踏まえたうで，臨床医は患者の状態や病型の悪性度を鑑みて治療方針を決定する（**図2**）。

体腔液測定における病理・血液検査室の連携

当院では，各診療科から，胸水や腹水，心嚢液などの体腔液を頻繁に検査している。

一部は外部委託の特殊項目もあるが，殆どは，血液検査室での細胞数測定，化学検査室での生化学項目，病理検査室での細胞診である。当院の血液検査室では，細胞数測定に加えてメイ・ギムザ染色による白血球分類を行っているため，血液検査においても高頻度に異常細胞に遭遇する。異常細胞から癌腫が疑われる場合は，病理検査の結果を確認して頂くよう臨床へ連絡し，リンパ腫細胞や白血病細胞などが疑われる場合は，FCMを追加で行い腫瘍性の証明をしている。時に，血球と非血球の鑑別に悩む際は，病理検査室の細胞検査士や病理医に確認してもらい判断を仰ぐこともあり，普段からの病理・血液検査室の連携の重要性を認識している。

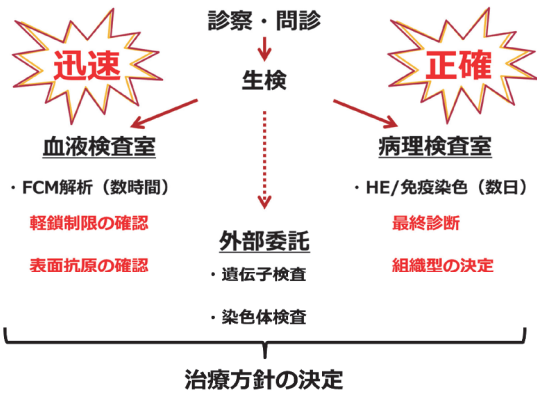


図2　当院における悪性リンパ腫診断フローチャート

病理検査と血液検査はともに形態学を主とする分野であり，異常細胞の検出において適切な塗抹標本の作製は必須である。以下に塗抹標本作製方法について述べる（**図3**）。引きガラス法（Wedge法）は基本的な塗抹法であり，低アルブミン血症やタンパク濃度の低い体腔液検体などでは試薬用アルブミンなどを少し添加してタンパク濃度を増すことで，Wedge法でも細胞が壊れることなく形態観察が可能となる。同様に，異型リンパ球やリンパ腫細胞などの異常細胞は，細胞膜の脆弱性によって細胞が壊れやすいため，遠心法（スピナー法）を併用することもある。スピナー法はスライドガラスに材料を滴下し，遠心力を利用して材料を広げる方法であり，アルブミン添加法同様に細胞の崩壊を防ぐことが可能である。引き止め法はWedge法の引き終わり部分に少量の沈渣物が残るように塗抹する方法であり，集簇性のある腫瘍細胞や大型細胞などの検出に有用である。自動遠心塗抹法（スピナー法）は細胞数の少ない検体から塗抹標本を作製する際に有用である。検体の細胞数や性状に応じて適切な塗抹標本を作製し，正確な結果を報告することが臨床検査技師の務めである。ただし，上記の塗抹法は専用の機器が必要なものもあるため，まずは自施設の血液検査室もしくは病理検査室に設置されているか確認し，必要に応じて共有できるような関係性を構築することが，病理・血液検査室の連携に繋がる第一歩である。

おわりに

分子病理学が発展するなかで，両検査室の垣根を越えた連携は今後さらに重要性を増し，互いにそれぞれの検査の意義や特徴を理解した上で補完し合うことが大切である。また，検査値に関する疑問などを気軽に相談できる関係性を構築することが重要である。

筆者の場合，幸いにも遺伝子検査室の立ち上げ時に病理

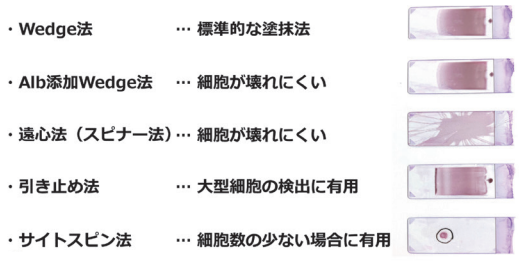


図3　塗抹標本作製方法の違い

検査室の方々と深く関わる機会があった。それ以降，何でも気軽に相談できる病理検査室の技師や病理医との交流が続いており，大変心強い限りである。

実際の患者と接することがなく検体を扱うだけの業務の中では気づきにくいが，我々は検体の向こう側に結果を待っている患者がいることを忘れてはいけない。そして，病理・血液検査室が連携して最適な医療を提供していけるよう心掛けたい。

謝辞

本稿をまとめるにあたり，惜しみない協力とご指導を賜りました大阪医科薬科大学医学部病理学教室，大阪医科大学附属病院血液内科ならびに大阪医科大学附属病院病理部・病理診断科の皆様に厚く御礼申し上げます。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文　献

1）Bennett JM, Catovsky D, ~ Daniel MT et al : Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British（FAB）cooperative group. Br J Haematol 33:451-458, 1976.
2）Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. eds: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues WHO Classification of Tumours, 3rd Edition, IARC Press, Lyon, 2001
3）Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. eds: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 4th Edition Revised. IARC Press, Lyon, 2017
4）小峰啓吾，石岡千加史．個別化がん医療の臨床開発と診療体制の整備．遺伝性腫瘍，20(1):13-17，2020
5）伊豆津宏二，冨山佳昭，松村 到ほか，金倉譲　編．最新ガイドライン準拠　血液疾患診断・治療指針．第1版．中山書店；東京，2015，59-65.
6）伊豆津宏二，冨山佳昭，松村 到ほか，金倉譲　編．最新ガイドライン準拠　血液疾患診断・治療指針．第1版．中山書店；東京，2015，78-92.
7）Dai C, Hidemi I, Tomohiro M, et al:Differences in incidence and trends of haematological malignancies in JAPAN and the United States. Br J Haematol 164; 536-545, 2014