

東京都 医学検査

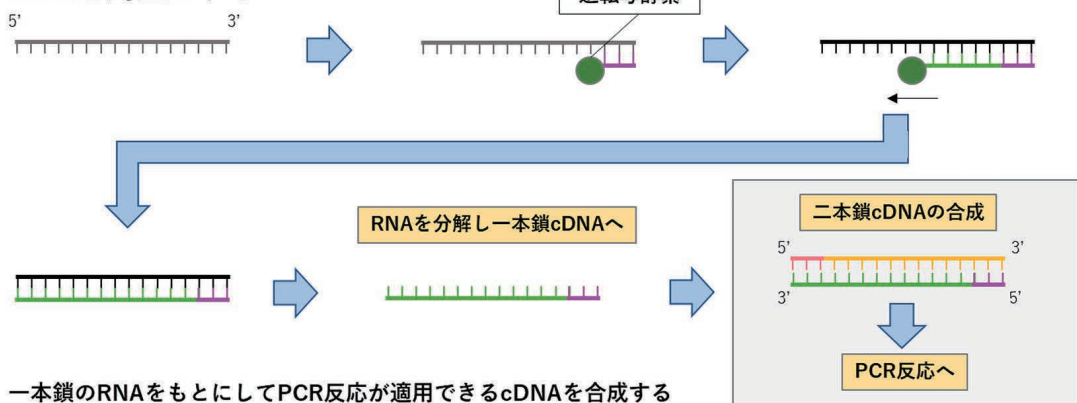
Journal of Tokyo
Metropolitan
Medical Technologists

February 1 2024
Vol.52 No.1 通巻 276 号

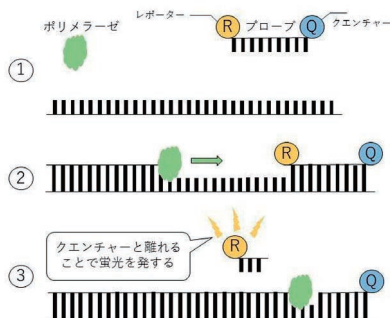
【特集】PCR技術特集 ～PCR、リアルタイムPCR、デジタルPCRの基礎～

RT-PCR (Reverse Transcription-PCR) 法

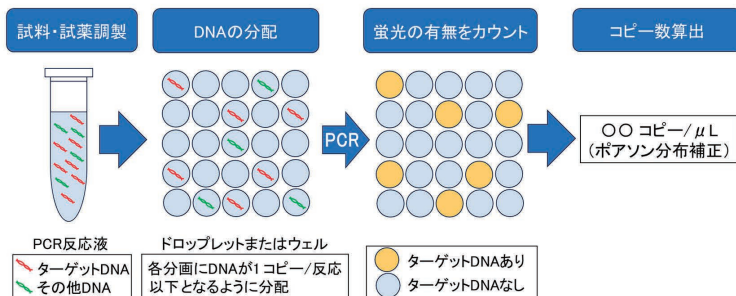
RNAを鋳型とする



ハイブリダイゼーションプローブ法



デジタルPCR原理

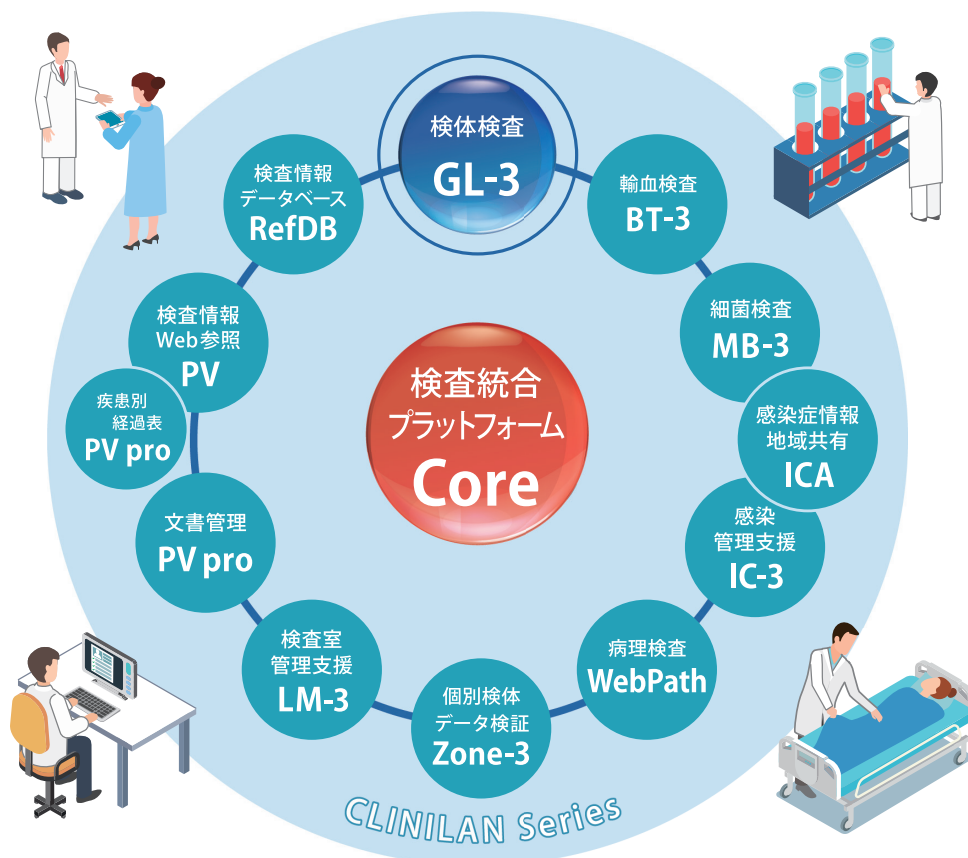


公益社団法人 東京都臨床検査技師会
Tokyo Metropolitan Association of Medical Technologists

URL: <https://www.tmamt.or.jp>

臨床検査情報システム

CLINILANが、検査室をreDESIGNする



臨床検査情報システム [検体検査]

CLINILAN™ GL-3

検査の状況をリアルタイム監視

検査の遅延や測定エラー、精度管理の異常情報を自動更新

クイックアクション機能

業務フローに合わせて、ファンクションキーやリンクボタンをマスターで設定可能

進化したマスターメンテナンス機能

マスター設定はステップガイドに沿って簡単に行え、メンテナンス性が向上

検査情報マネジメント

アクセス権限の設定、検査情報の参照・変更履歴の抽出などにより、検査室の品質を保証

精度管理業務の支援

X-R、X-Rs、X-s管理図の表示機能などを搭載し、精度管理におけるデータ管理業務を効率化

TAT (検査所要時間)

検査室改善のための指標や、検査結果を判断する付加情報として、TAT情報を活用



株式会社 エイアンドティー

〒221-0056 神奈川県横浜市神奈川区金港町2-6 横浜プラザビル
Tel.045(440)5810

<https://www.aandt.co.jp/>

[さらに詳しい情報はこちらから >](#)



FUJIFILM

Value from Innovation

全項目反応時間 10分 を実現

免疫検査は新たなステージへ



その他

感染症

腫瘍
マーカー

甲状腺
関連

高血圧
関連

心疾患
マーカー

プロカルシトニン

特長

全項目反応時間 10分

サンプル量 10 μ L ~ 35 μ L

最大24項目ランダムアクセス処理

処理能力 180テスト/時間

モノテスト試薬

医療機器届出番号 27B3X00024000015

Accuraseed

自動化学発光酵素免疫分析装置 Accuraseed

【製造販売元】

富士フイルム 和光純薬株式会社

〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号

【問い合わせ先】

臨床検査薬 カスタマーサポートセンター

Tel: 03-3270-9134 (ダイヤルイン)

尿定性検査と尿中有形成分分析を一元化
コンパクトで効率的な搬送システムを実現します

オーション アイ AI-4510

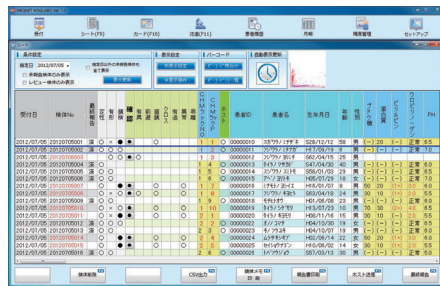
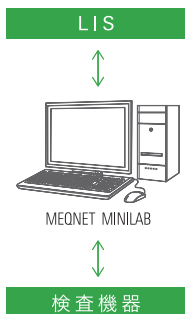
オーションマックス AX-4061



Simple Line BRIDGE

メックネット ミニラボ

- ・ 尿検査結果を一括管理、上流システムとの連携
- ・ 診療科などの患者属性に応じて複数のロジックを構築可能
- ・ 患者属性に応じて適切な運用ロジックをシステムが切替可能
- ・ ロジックはユーザーさまで簡単に調整可能
- ・ 検査結果を用いた結果のクロスチェックが可能

〒160-0004 東京都新宿区四谷1-20-20大雅ビル5F
TEL.050-5527-7700(代)

年頭のご挨拶

令和 6 年

公益社団法人 東京都臨床検査技師会

会長 原田 典明



令和 6 年の新年を迎え、謹んで年頭のご挨拶を申し上げます。会員および賛助会員の皆さまにおかれましては、平素より当会にお寄せいただいておりますご協力とご支援に対しまして厚く御礼申し上げます。

昨年を振り返ってみますと、5 月 8 日より新型コロナウイルス感染症の感染症法上の位置付けが 5 類感染症に変更になり医療提供体制および一般生活においてもこれまでの規制が大きく緩和され、本当の意味での With コロナ時代がスタートいたしました。また「2023 WORLD BASEBALL CLASSIC™」が 3 月に開催され、侍ジャパンが 3 大会ぶり 3 回目の優勝を成し遂げました。それ以外にも全仏テニスでの小田選手の優勝や、メジャーリーグでの大谷選手の活躍など多くのスポーツ選手の活躍がございました。

当会においては 12 月 3 日に秋葉原 UDX において第 18 回東京都医学検査学会が、三浦学会長の下、テーマを「Step up & Next stage ～広がる業務、確かなデータを臨床へ～」として開催され、500 名を超える参加者により、盛会裡に終了することができました。ここに改めて参加された会員および賛助会員の皆さまおよび学会に携われたすべての皆さまに感謝申し上げます。

さて、本年は「甲辰」の年にあたり、成長・開運の年とも言われています。日本銀行は、2024 年 7 月 3 日に、新しい紙幣 3 種類を発行する予定です。新紙幣に描かれる肖像画は、1 万円札が「日本の資本主義の父」と呼ばれる実業家の渋沢栄一、5 千円札が津田塾大学を創設した津田梅子、1 千円札が破傷風の予防・治療法を開発した北里柴三郎であり、新しいお札のデザインは、2004 年以来、20 年ぶりに一新されます。4 月には診療報酬・介護報酬同時改定および「医師の働き方改革」が施行されます。これは、医師の長時間労働を是正することで医師の健康を確保し、すべての医療専門職それぞれが、自らの能力を活かし、より能動的に対応することで、質・安全が確保された医療を持続可能な形で患者に提供していくことを目的として実施されます。臨床検査技師においてもタスクシフト/シェアを各施設で積極的に進めていただき、今後 10 年・20 年先を見据えた成長ある新たな業務を始めていただきたいと思います。（一社）日本臨床衛生検査技師会からの委託事業として開催している厚生労働省指定講習会ですが昨年 12 月末時点で当会会員修了者は約 1,300 名、会員数 7,562 名（2023 年 12 月 1 日現在）の約 17% となっております。しかしながら、多くの施設においてタスクシフト/シェアを進めていただくためにはもっと多くの受講修了者が必要であり、当会で月 2 回開催している厚生労働省指定講習会では中々その不足分を補えないことから、他県技師会とも協力しながら会員の皆さまの受講機会を増加させて行きたいと考えております。

今年度の都臨技事業に関しましては、学術研修会等は、会員の皆さまの利便性等を鑑み Web 研修会と現地開催研修会で開催してまいります。また、都民向け事業につきましても積極的に開催もしくは他団体事業への参加をしていきたいと考えます。当会では昨年、若手技師による若手技師のための学び場や交流の場を企画運営する青年育成委員会を新たに立ち上げました。多くの若手技師会員の方々に技師会を身近に感じていただき委員と一緒に成長していただきたいと思いますので、多くの若手会員の皆さまのご参加をお待ちしております。また、会員の皆さまへの情報発信ツールであります都臨技公式 LINE につきましても発信回数を増やし、都臨技ホームページにつきましてもリニューアルを企画しており、会員の皆様にとってより早く正確な情報伝達を行ってまいりたいと思います。

最後になりましたが、本年が皆さま方にとりまして良い年でありますよう心からお祈り申し上げますとともに、ますますのご発展とご多幸を祈念申し上げ、新年のご挨拶とさせていただきます。

会 告

第 19 回東京都医学検査学会

心 ・ 技 ・ 知

～臨床検査技師の未来を創るのは今～

会期:2024 年 12 月 8 日(日)9 時 30 分～(受付 9 時 00 分開始)

会場:秋葉原 UDX

東京都千代田区外神田4-14-1 TEL:03-3254-8421

※演題・抄録受付は 2024 年 7 月～開始予定

メインテーマの「心」医療人としての心を持って患者さんに接し,「技」技術を生業としている我々が,「知」豊富な知識を持って医療に貢献することを意味しております。

また 4 月からは,医師の時間外労働規制も始まり,臨床検査技師の教育カリキュラム変更に伴い臨地実習調整者/指導者の配置も必要になります。

2040 年問題とされる少子高齢化・人口減少も確実にやってきます。

そのような変わりゆく医療を考え,未来を考える・創るきっかけとなる学術集会にしたいと思っています。

皆様に興味を持っていただけるような企画を準備いたしますので,多くの会員皆様のご参加を心よりお待ちしております。

学 会 長	益田 泰蔵	国立病院機構 東京医療センター
実行委員長	我妻 美由紀	国立病院機構 災害医療センター
事務局 長	小林 昌弘	国立病院機構 東京医療センター

主催 公益社団法人 東京都臨床検査技師会

第19回東京都医学検査学会

心・技・知

～臨床検査技師の
未来を創るのは今～

開催日： 2024年12月8日（日）

会場

秋葉原UDX

JR・東京メトロ日比谷線・つくばエクスプレス
「秋葉原駅」より徒歩2分

学会長

益田 泰蔵

国立病院機構東京医療センター

実行委員長

我妻 美由紀

国立病院機構災害医療センター

事務局長

小林 昌弘

国立病院機構東京医療センター

主催 公益社団法人東京都臨床検査技師会

CONTENTS

年頭のご挨拶.....	1 (1)
会告 第 19 回東京都医学検査学会	2 (2)

特 集

PCR 技術特集 ～ PCR, リアルタイム PCR, デジタル PCR ～ 谷古宇 利樹 高槻 祐菜 中島 昌哉.....	6 (6)
--	-------

管理運営および調査資料

当院における血液培養検査状況と夜間休日帯検査体制の推移 佐藤 佑樹	19 (19)
第 18 回東京都医学検査学会 お礼のご挨拶	25 (25)
東京都医学検査学会「演題発表」について	26 (26)

学術研修会記録（7月～11月）	28 (28)
-----------------------	---------

■ 遺伝子・染色体検査研究班研修会要旨

『デジタル PCR の基礎～デジタル PCR ってなに？ 次世代の PCR 技術を学ぼう !! ～』	32 (32)
---	---------

■ 病理・細胞診検査研究班研修会要旨

『遺伝子検査未染標本作製の工夫』 —受託検査会社の検体品質におけるリスク要因と取り組み— …	37 (37)
『肺癌マルチ遺伝子検査のための生検検体の取り扱いと 精度向上のための工夫』	45 (45)

■ 輸血検査研究班研修会要旨

『輸血部門の施設における教育体制について』 ①	50 (50)
『輸血部門の施設における教育体制について』 ②	52 (52)
『赤十字血液センター MR の業務について』	55 (55)

■ 生理検査研究班研修会要旨

『知っておくと得する，精密呼吸機能検査のハナシ ～FRC と DLco を中心に～』	59 (59)
『不整脈診断と最新の治療』	65 (65)

■ 一般検査研究班研修会要旨

『尿沈渣に必要な腎泌尿器の構造と病理』	68 (68)
---------------------------	---------

■ 免疫血清検査研究班研修会要旨

『前立腺癌診断に有用な新規項目 「プロステートヘルスインデックス (phi)」について』	74 (74)
『検査に役立つ統計学の基礎』	77 (77)

■ 血液検査研究班研修会要旨

『独り立ちをするときに役立つ凝固検査のピットフォール』 …	79 (79)
『血液検査で知っておきたい染色体・遺伝子検査』 ①染色体検査…	81 (81)
『血液検査で知っておきたい染色体・遺伝子検査』 ②遺伝子検査…	84 (84)
『造血器腫瘍 WHO 分類第 5 版の改訂のポイント—実例を交えて—』 …	87 (87)
『血液像からせまる血液疾患の基本と考え方 —血液像観察に必要な基礎知識とその応用—』	90 (90)

■ 微生物検査研究班研修会要旨

『一属入魂 !! 菌属を徹底的に学ぶ』 <i>Salmonella</i> 属.....	93 (93)
--	---------

「東京都医学検査」原稿作成の決まり	97 (97)
生涯教育自宅研修の手引き	98 (98)
論文投稿規定	100 (100)
あとがき	102 (102)

PCR 技術特集

～PCR, リアルタイムPCR, デジタルPCR～

谷古宇 利樹¹⁾ 高槻 祐菜²⁾ 中島 昌哉³⁾

1) 東京済生会中央病院 臨床検査科

2) 東京医科歯科大学病院 検査部

3) NTT 東日本関東病院 臨床検査部

研究班企画概要

遺伝子関連検査は、病原体遺伝子検査、体細胞遺伝子検査、遺伝学的検査に分けられており、様々な分野において、確定診断や治療方針の決定、治療モニタリングなどに用いられている。今回、遺伝子・染色体検査研究班の特集記事では、遺伝子関連検査の主要な技術であるPCRに焦点を置き、PCR (RT-PCRを含む)、リアルタイムPCR、デジタルPCRの3章に分けて紹介する。

PCR 編

東京済生会中央病院 臨床検査科 谷古宇 利樹

I. はじめに

本稿では、ポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase Chain Reaction : PCR) および逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (Reverse Transcription PCR : RT-PCR) の原理、利用用途、測定手順、必要な機器・機材、注意点の基礎的内容に

ついて紹介する。

II. 原理^{1), 2)}

1. PCR (図1)

PCRは二本鎖DNAを鋳型として①熱変性(95℃)、②アニーリング(55～65℃)、③伸

PCR(Polymerase Chain Reaction)法

二本鎖DNAを鋳型とする

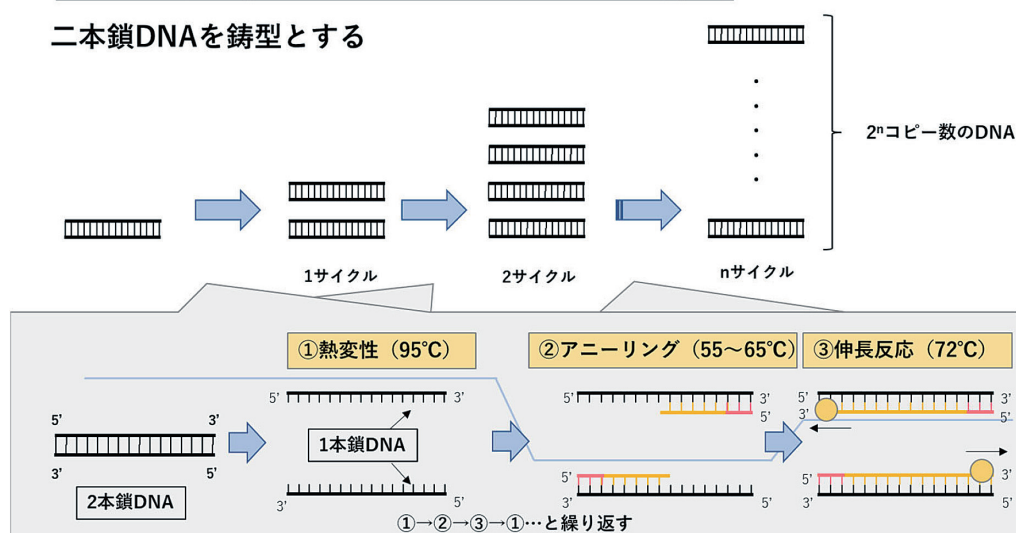


図1 PCRの原理

長反応 (72 ~ 75°C) の一連の反応を繰り返し、特定の遺伝子領域を指数関数的に増幅する反応である (図1)。

1) 熱変性 (Denaturation)

鋳型となる二本鎖 DNA を約 95°C に加熱することで、塩基間の水素結合が切断され一本鎖 DNA に乖離する。

2) アニーリング (Annealing)

熱変性の後、55 ~ 65°C 前後に温度を下げることで 1 本鎖 DNA に相補的な配列を持つプライマーが結合する。アニーリングの温度はプライマーの T_m 値を目安に設定される。

※プライマー：鋳型 DNA に相補的なオリゴヌクレオチド (短い一本鎖 DNA) のこと。特定の増幅領域を挟み込むように 2 種類のプライマーを使用する。この 2 種類のプライマーはそれぞれ鋳型 DNA のセンス鎖に結合するアンチセンスプライマー (リバースプライマー)、アンチセンス鎖に結合するセンスプライマー (フォワードプライマー) とよばれる。

※ T_m 値：融解温度 (melting temperature) の略で、二本鎖 DNA の 50% が解離して一本

鎖 DNA となる温度のこと。

3) 伸長反応 (Extension)

プライマーの 3' 末端から DNA ポリメラーゼによって溶液中に含まれる dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) が取り込まれ、DNA が合成される。このとき、DNA は 5' から 3' 方向にのみ合成される。

2. RT-PCR (図2)

PCR は DNA を鋳型とする方法であり、RNA を増幅する場合には RT-PCR が用いられる。初めに、逆転写酵素によって RNA を鋳型とした相補的 DNA (complementary DNA : cDNA) を合成する。この合成された cDNA を鋳型として PCR を行うことで標的の遺伝子領域を増幅する。

RT-PCR には逆転写反応から PCR までを 1 つのチューブ内で行う 1 step 法と逆転写反応と PCR を異なるチューブで行う 2 step 法がある。昨今流行した新型コロナウイルスの検査では、操作の簡便性、コンタミネーションのリスク軽減や迅速性といった面から主に 1 step 法が用いられ

RT-PCR(Reverse Transcription PCR)法

RNAを鋳型とする

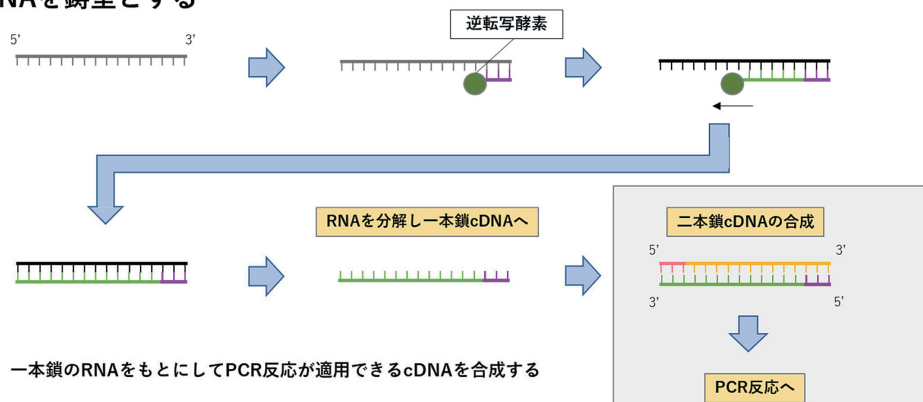


図2 RT-PCR の原理

ている。

3. シングルプレックス PCR とマルチプレックス PCR

一般的に、1 対のプライマーセットで 1 つの遺伝子領域を増幅する方法はシングルプレックス PCR とよばれる。一方でマルチプレックス PCR は、同一溶液中で複数のプライマーセットを用いて複数の遺伝子領域を増幅する方法である。マルチプレックス PCR は試薬や試料の節約や、複数領域の同時検出による迅速性といったメリットがあるが、複数の反応が良好に進むような反応系の構築が必要となる。

Ⅲ. 必要な機器・機材

安全キャビネット、クリーンベンチ、核酸増幅装置（サーマルサイ클ラー）、マイクロピペット、フィルター付きチップ、PCR 用チューブ、試薬調製用チューブ、ボルテックスミキサー、遠心機、電気泳動装置、電気泳動撮影装置、ヒートブ

ロックなど。試料からの核酸抽出が必要な場合には核酸抽出装置や濃度測定のための分光光度計などが別途必要となる。

Ⅳ. 測定手順

1. 核酸抽出

試料からの核酸抽出が必要な場合に行う。フェノール / クロロホルム法、シリカ法などの抽出法がある。感染防止のため、安全キャビネット内で実施する。

2. 試薬調製

プライマー、デオキシヌクレオシド三リン酸 (dNTP)、DNA ポリメラーゼ、 Mg^{2+} 、バッファー、ヌクレアーゼフリー水を混和させ、PCR 反応液を作成する。1 step 法による RT-PCR の場合は、逆転写酵素も同時に混和させる。試薬調製は、クリーンベンチ内で実施し、酵素の失活を防ぐため試薬をアイスプレートなどで氷冷しながら調製を行う。また、ボルテックスによる過度の攪拌は酵素が失活するため注意が必要である。

3. PCR

PCR 反応液に核酸試料を添加し、サーマルサイクラーで PCR を実施する。PCR を実施するまでは、反応が進まないように氷冷下で操作を行う。

4. ゲル電気泳動

核酸増幅させた試料にローディングバッファーを添加後、ゲルのウェルに注入して電気泳動を実施する。その際、PCR 産物の長さ (base pair : bp) を確認できるように DNA サイズマーカーも同時に電気泳動を行う。電気泳動後、ゲルを核酸染色液で染色し、紫外線で励起させることで発生する蛍光を撮影して解析に用いる。

ゲル電気泳動は、ゲルの網目構造を利用して核酸を大きさによって分離する方法である。電気泳動に使用されるゲルにはアガロースゲルとポリアクリルアミドゲルの 2 種類があり、アガロースゲルは網目構造が大きく、5 ~ 20 kbp の核酸の分離に適しており、より小さな核酸の分離にはポリアクリルアミドゲルを用いる。また、電気泳動で主に使用されるバッファーには TAE (Tris Acetate EDTA) バッファーと TBE (Tris Borate EDTA) バッファーの 2 種類あり、ゲルと同様に分離する核酸の大きさによって使い分けられている。TAE バッファーは 1,000 bp 以上の大きな核酸の分離に適しており、TBE バッファーは TAE バッファーと比較して高い緩衝能を有しており、より小さな核酸の分離に適している。

核酸染色液の蛍光色素には感度の高さなどの理由からエチジウムブロマイドが広く使用されているが、変異原性が指摘されているため、その取扱いには注意が必要である。近年では GelRed や GelGreen などの変異原性の低い安全に使用できる核酸染色試薬も販売されている。

※ローディングバッファー：グリセロールやフィコールなどが含まれおり、ゲルのウェル内に試料を沈みやすくする。また、色素も含まれており、電気泳動の移動度を可視化する。

5. 解析

DNA サイズマーカーのバンドを指標として、PCR 産物の長さ (bp) の位置にバンドが検出されれば「陽性」と判定する。バンドが検出されない場合は「検出せず (陰性)」と判定する。PCR 産物の長さとは異なる位置にバンドが検出された場合は非特異的増幅が考えられる。その場合、プライマー配列の再設計や反応条件の見直しが必要となる。

※ PCR 産物の長さ (bp) は、フォワードプライマーとリバースプライマー間の塩基配列を数えることで求めることができる。

V. 注意点

1. 検体の取り扱い

作業中の DNA やデオキシリボヌクレアーゼ (DNase) およびリボヌクレアーゼ (RNase) のコンタミネーションは解析結果に大きな及ぼすため、細心の注意が必要である。

1) コンタミネーションの主な原因

- ・皮膚や唾液の混入
- ・サンプル間のクロスコンタミネーション
- ・PCR で生成された DNA によって器具や機器、検査室が汚染されている。

2) 防止策

- ・作業者の皮膚や汗の混入を防ぐため、必ず手袋を着用する。
- ・エアロゾルによるコンタミネーション防止のためにフィルター付きのチップを使用する。
- ・チューブのフタを開ける際には反応溶液が飛散しないように注意する。
- ・チューブのフタなどの消耗品の再利用はしない。
- ・DNase および RNase フリーのチップやチューブを使用する。

2. 環境

試薬調製・分注，核酸抽出，核酸増幅，電気泳動の各作業工程でエリアを分けし，機器や器具についてもエリアごとに準備して共有しないようにする。また作業終了後には機器や器具等を0.5%～1%の次亜塩素酸ナトリウムで清拭し，安全キャビネットやクリーンベンチは紫外線照射を行うなど，環境汚染によるコンタミネーションの防止策を講じる必要がある。

Ⅵ. PCR の利用用途

PCR および RT-PCR は病原体ウイルスの核酸検出（新型コロナウイルス，B 型肝炎ウイルス，C 型肝炎ウイルス，HIV など），疾患関連遺伝子変異の検出（がんや血液疾患など）だけでな

く DNA 型鑑定による個人識別や農作物の品種判別など多岐にわたって利用されている。

Ⅶ. まとめ

ここでは PCR および RT-PCR の基礎的内容について紹介した。この内容を踏まえて次項以降のリアルタイム PCR およびデジタル PCR の頁をご覧ください。

参考文献

- 1) 一般社団法人日本臨床検査衛生検査技師会：JAMT 技術教本シリーズ 遺伝子・染色体検査技術教本 丸善出版，2019
- 2) 有波忠雄 ほか：メディカルサイエンス 遺伝子検査学，近代出版，2012

リアルタイム PCR 編

東京医科歯科大学病院 検査部 高槻 祐菜

I. はじめに

リアルタイム PCR とは、PCR によって増幅する核酸量をリアルタイムでモニターし解析する方法である。サイクルごとにターゲット遺伝子のアンプリコンの量が測定されるため、定量性に優れている。ここでは、リアルタイム PCR の原理や測定方法、当院での利用用途について紹介する。

II. 原理

リアルタイム PCR 法には絶対定量と相対定量がある。絶対定量とは、試料と同時に既知濃度のスタンダードを測定することで検量線を作成し、定量値を算出する方法である。対して相対定量とは、試料およびキャリブレーター試料のターゲット遺伝子とリファレンス遺伝子（GAPDH などのハウスキーピング遺伝子）の両方を測定し、リファレンス遺伝子で試料間の補正をしてから、ターゲット遺伝子の相対比を求める方法である。試料中のターゲット遺伝子のコピー数を求める場合は絶対定量、キャリブレーター試料に対する相対比で良い場合は相対定量を行う。¹⁾

主な検出方法にはハイブリダイゼーションプローブ法とインターカレーション法があるが、本稿では当院で行っているハイブリダイゼーションプローブ法について説明する（図 1）。プローブ上には、蛍光物質のレポーターと、レポーターの発光を抑えるクエンチャーの 2 つの物質が標識されている。このプローブは、PCR のアニーリング期にターゲット DNA にハイブリダイズする

が、この状態ではレポーターからの蛍光はクエンチャーにより消光している。Taq DNA ポリメラーゼによる伸長反応が進み、プローブがハイブリダイズした位置に到達すると、プローブが加水分解され、レポーターとクエンチャーが分離する。クエンチャーから解放されたレポーターの蛍光を検出することで、ターゲット DNA を測定する。（図 1）²⁾

2 本鎖 DNA に対して非特異的に蛍光物質を結合するインターカレーション法と比較しての利点は、非特異反応が起こりにくいこと、複数のプローブに別の蛍光物質を標識しておくことでマルチプレックス解析を行えることが挙げられる。

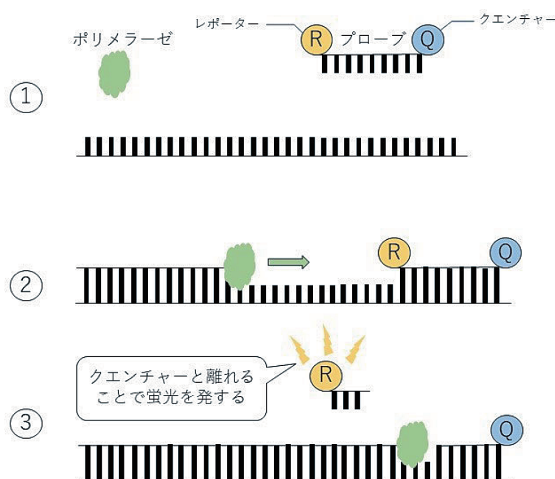


図1 ハイブリダイゼーションプローブ法

- ① プローブ上ではクエンチャーがレポーターの蛍光を消光。
- ② プローブがハイブリダイズし、ポリメラーゼによる伸長反応が進む。
- ③ プローブがハイブリダイズした位置に到達すると、レポーターとクエンチャーが分離する。クエンチャーから解放されたレポーターは蛍光を発する。

Ⅲ. 測定手順

当院で行っている病原体遺伝子検査（リアルタイム PCR による 12 種類のウイルス遺伝子の定量）の具体例を示す。

【測定】

測定するものは試料・スタンダード・ネガティブコントロールの 3 種類であり、検体はあらかじめ核酸抽出しておく。スタンダードは各ウイルスおよび GAPDH（内在性コントロール）において、 $1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^5$ copies/well の 4 濃度を測定する。ネガティブコントロールには、ヌクレアーゼフリー水を試料と同様の方法で核酸抽出したものを用いる。

① 1 ウェル当たり核酸量が 200 ng となるよう核酸抽出液を希釈し、試料とする。

※最適な条件下で反応を行うため、出発核酸量が極端に多くなることを避ける。

②各ウイルスと GAPDH のプライマー・プローブミックス、Taq ポリメラーゼ、バッファー（ Mg^{2+} 、デオキシヌクレオシド三リン酸、Tris-HCl 等を含む）を混和し試薬とする。

例：10 ウェル分の試薬

プライマー・プローブミックス	6.0 μ L
Taq ポリメラーゼ	2.0 μ L

バッファー	100.0 μ L
Total	108.0 μ L

③ 96 穴プレートに試薬を 10 μ L ずつ分注し、そこに試料・スタンダード・ネガティブコントロールを 10 μ L ずつ加える。

④ プレートミキサーで 3 分混和したのち、遠心機で底部に溶液を落とす。

⑤ リアルタイム PCR 装置にセットし、「95℃ 10 秒→[95℃ 5 秒→60℃ 30 秒→蛍光測定] ×45 サイクル」のプロトコルを選択し、スタートする。

※最初の 95℃ 10 秒はホットスタートのための温度設定である。

※ 60℃ 30 秒でアニーリングと伸長反応を行っている。

⑥ PCR が終了したら結果の確認・解釈を行う。

【結果の確認・解釈】

まず、リアルタイム PCR の結果の見方について図 2 に示す。増幅曲線と閾値線（Threshold Line）の交点が Cq 値（Ct 値ともいう。ここでは Cq 値で統一する。）となる。閾値線とは、ベースラインシグナルに対して統計学的に有意な増加がみられるシグナルレベルであり、増幅曲線と閾値線が交わる（Cq 値が求められる）＝有意な増幅を認める（陽性である）ということである。スタンダードによって作成された検量線と、陽性と

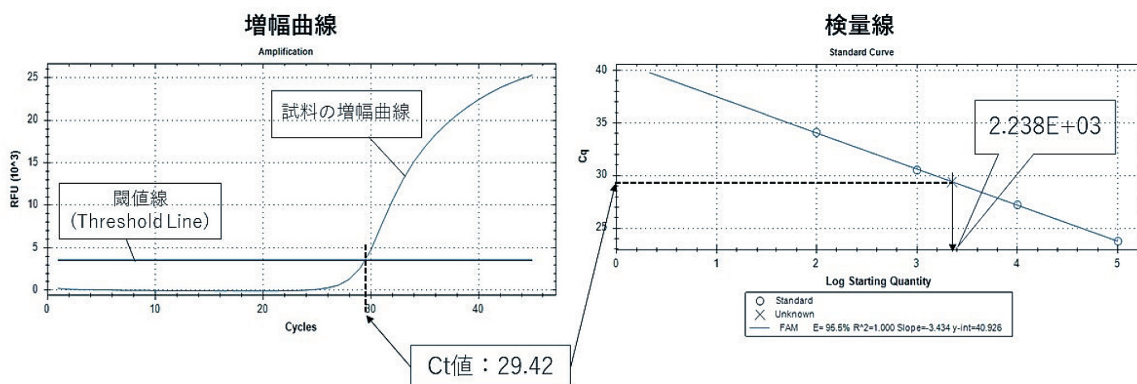


図2 リアルタイム PCR の結果の見方

なった試料の Cq 値の交点が試料のウイルス量となる。(図 2)

閾値線は通常リアルタイム PCR 装置のソフトウェアによって自動で設定されるが、手動で設定することも可能である。増幅曲線のサイクル数の差が測定値の差になるため、すべての増幅曲線同士が平行な領域で閾値線を設定する (図 3)³⁾。

次に具体的な結果の確認方法を示す。PCR が正常に行われているかは下記の①～③で確認できる。

①各ウイルスおよび GAPDH の検量線が正しく作成されているかを確認する。

※検量線の基準には増幅効率と決定係数を用いており、増幅効率 90～120%・決定係数 $R^2 \geq 0.998$ を評価基準としている (図 4

では増幅効率 $E=95.5\%$ 、決定係数 $R^2=1.000$)

②すべてのネガティブコントロールで増幅が見られないことを確認する。

③内在性コントロールとして測定している GAPDH が陽性であり、試料が適していることを確認する。(全血・組織から抽出した試料のみ)

④各ウイルスについて測定値 (copies/well) を確認する。

⑤測定値から検体のウイルス濃度を算出する。

(図 4)

当院ではウイルス定量検査の検体として血液、血漿、髄液、尿、組織を扱っている。検体のウイルス濃度を算出する際、細胞を多く含む組織は

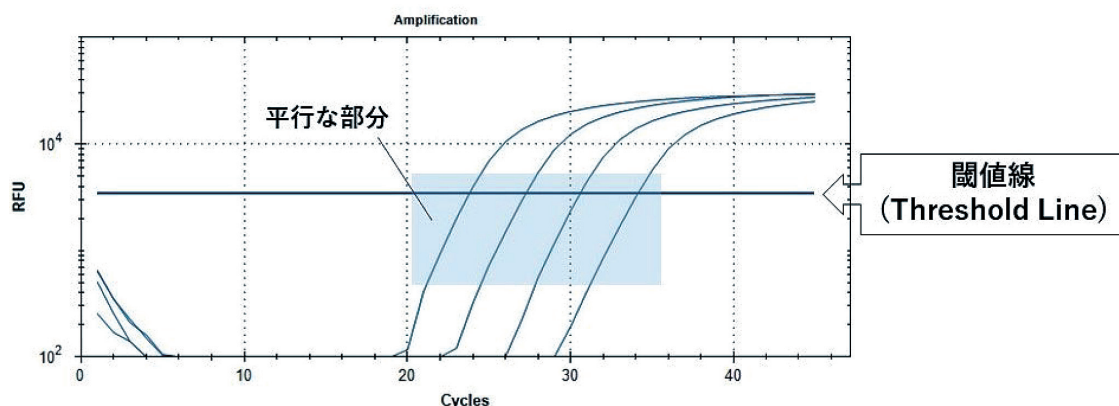


図3 閾値線

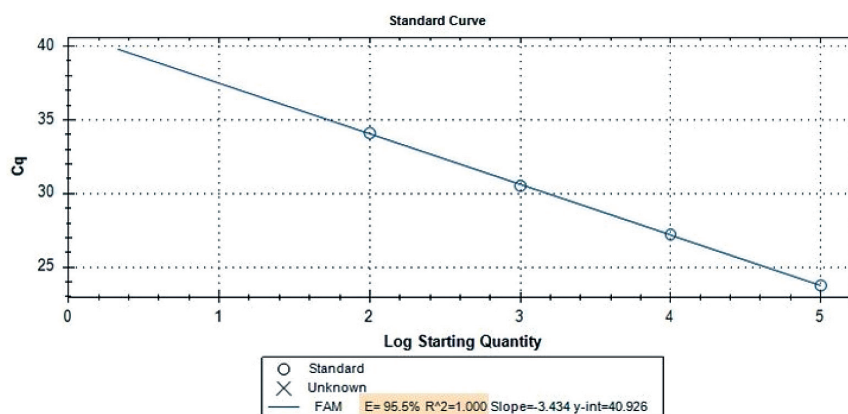


図4 検量線

copies/μgDNA, 液体である血漿・髄液・尿は copies/mL で結果を報告している。また、血液は細胞を多く含む液体であるため copies/μgDNA と copies/mL の両方で結果を報告している。

定量 PCR から得られたターゲット DNA コピー数 N (copies/well) を M_1 copies/μgDNA および M_2 copies/mL に換算する式は以下の通りである。

copies/μgDNA への換算 (GAPDH 1 copy = 3.0×10^{-6} μg)

M_1 (copies/μgDNA) = N (copies/well) $\div$ (GAPDH (copies/well) $\times 3.0 \times 10^{-6}$)

copies/mL への換算 (x : 使用した核酸抽出液の量, y : 核酸の濃縮率)

M_2 (copies/mL) =

$$N \text{ (copies/well)} \div \left(\frac{x \text{ (μL)}}{1000} \times y \right)$$

IV. リアルタイム PCR の利用用途

リアルタイム PCR は、病原体遺伝子や血液疾患、固形腫瘍に関連する遺伝子発現量などの核酸定量・検出に用いられる。また、変異アレル特異的プローブや融解曲線分析を用いることで、遺伝子変異解析を行うことができる。

当院では先進医療「多項目迅速ウイルス PCR 法を用いた造血幹細胞移植後ウイルス感染症の早期診断」のため、本検査を行っている。造血幹細胞移植を実施した患者は、その移植前後より強い免疫不全状態にあるため、外来感染以外にも、潜伏感染していたウイルスの再活性化が起こることがある。造血幹細胞移植後に懸念されるウイルス

感染症には、サイトメガロウイルス感染症、EBウイルス感染症、単純ヘルペスウイルス感染症、水痘帯状疱疹ウイルス感染症、ヒトヘルペスウイルス 6 型感染症、BK ウイルスやアデノウイルスによる出血性膀胱炎などがある。造血幹細胞移植後にウイルス感染の定期的なモニタリングを実施することで、ウイルス感染症の早期診断・早期治療が可能である。⁴⁾

V. まとめ

当院でのリアルタイム PCR 法を用いたウイルス PCR 検査について紹介した。既知濃度のスタンダードを同時測定し検量線を作成することで試料中のターゲット遺伝子の絶対量を知ることができる。正確な定量値を得るためには、適切な反応条件や検量線の管理が重要である。この方法でウイルスの PCR 検査を行うと試料中の絶対的なウイルス量を知ることができるため、ウイルス感染症の早期診断・治療や治療効果判定に役立つと考えられる。

参考文献

- 1) Thermo Fisher Scientific: リアルタイム PCR の基礎 (2023/10/23 参照)
<https://www.thermofisher.com/jp/ja/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/essentials-real-time-pcr.html>
- 2) 柳原 格: リアルタイム PCR・デジタル PCR の臨床診断への応用. 臨床検査, 65: 1148-1155, 2021
- 3) 北條 浩彦 編: 原理からよくわかるリアルタイム PCR 完全実験ガイド. 羊土社, 2013
- 4) 山本 雄彬 ほか: 先進医療としての多項目迅速ウイルス PCR 法によるウイルス感染症の早期診断. 臨床病理, 66 (12): 1306-1313, 2018

デジタル PCR 編

NTT 東日本関東病院 臨床検査部 中島 昌哉

I. はじめに

デジタル PCR は、リアルタイム PCR とは異なる原理で核酸の絶対定量を行う解析法である。旧来の第一世代の定性 PCR（増幅産物をゲル電気泳動で検出）、第二世代のリアルタイム PCR に継ぐ PCR 技術であり、第三世代の PCR と言われている。近年、様々な分野でデジタル PCR を用いた臨床研究が進められており、臨床検査への応用が期待されている。本稿では、この新たな技術であるデジタル PCR の基本的な内容について紹介する。

II. 原理

最初に、試料添加後の PCR 反応液に含まれる DNA を約 20,000 個に分画化された液滴またはウェル内に 1 コピー／反応以下になるように分配する（限界希釈）。分画方法には、①ドロップレット方式と②微細孔分配方式とがある。

1. ドロップレット方式

PCR 反応液にオイルを混合して専用機器で微細な液滴を作成し、それぞれの液滴内に DNA を分配する。

2. 微細孔分配方式

微細なウェルを有するチップやプレートに PCR 反応液を注入して各ウェル内に DNA を分配する。

DNA 分配後は、PCR を実施し各分画内で反応を行う。この際に、ターゲット DNA が含まれる分画内では、DNA が増幅され TaqMan プローブや EvaGreen などの蛍光色素により蛍光発色する。この蛍光を PCR 終了後にフローサイトメーターや高精度カメラで検出し、各分画の蛍光シグナルの有無＝ターゲット DNA の有無をカウントすることでコピー数を算出する。実際には、1 つの分画内に複数コピーの DNA が分配されることがあるため、最終的にポアソン分布で補正して、正確なコピー数の算出を行う（図 1）。このように、DNA の「ある／なし」で算出することが、デジタル信号の「0/1」に見立てられるのでデジタル PCR とよばれている^{1) 2)}。

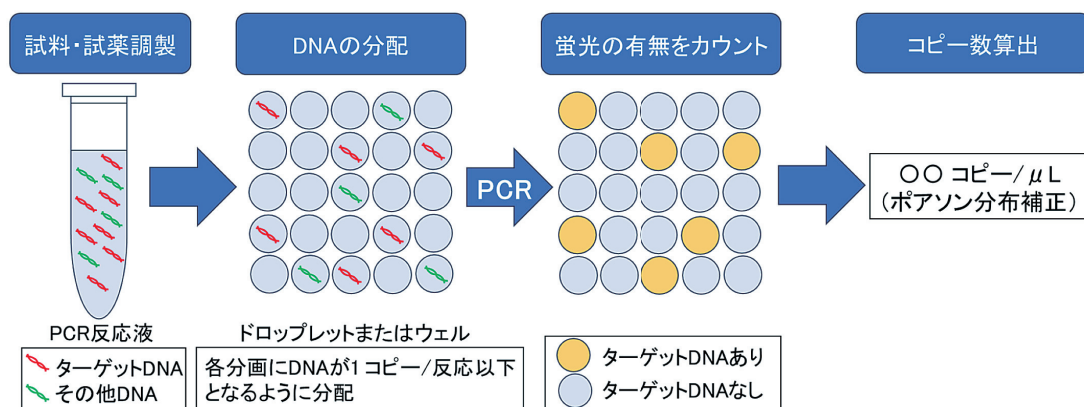


図1 デジタル PCR 原理

Ⅲ. 測定手順

デジタル PCR の基本的な測定手順は、①試料・試薬調製、② DNA 分配、③ PCR、④ 蛍光検出、⑤ データ解析である。DNA 分配、PCR、蛍光検出までの一連の流れを自動化した機器も販売されており、ワークフローの簡便化が進んでいる。今回は、ドロップレットデジタル PCR (バイオラッド社) を例に測定手順を紹介する (図 2)。³⁾

【測定手順】

①試料・試薬調製

DNA 試料、プライマー、バイオラッド製 ddPCR Supermix, プローブまたは EvaGreen を混合して PCR 反応液を調製する。逆転写酵素を用いれば、RNA を対象とした解析も可能である。

②ドロップレット作成 (DNA 分配)

専用カートリッジに①で調製した PCR 反応液と専用オイルを分注する。その後、専用機器でドロップレットを作成して、それぞれに DNA を分配させる。

③PCR

作成したドロップレットを、96 ウェル PCR プレートに移し、シーリングする。その後、サーマルサイクラーで PCR を実施する。

④蛍光検出・データ解析

PCR 終了後、96 ウェル PCR プレート専用機器 (フローサイトメーター) にセットし、各ドロップレットの蛍光を測定する。測定後、解析ソフトでデータを解析する (図 3)。メーカーによって異なるが測定波長 2~6 波長まで検出できる機器が販売されており、マルチプレックス解析も可能である。

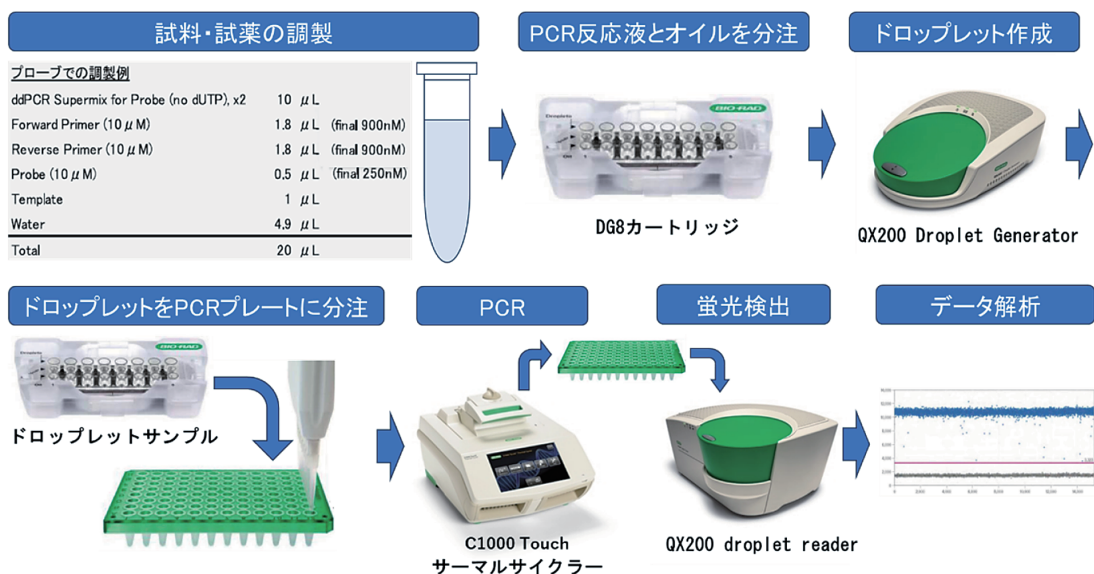
Ⅳ. デジタル PCR の特徴

1. 検量線の作成が不要

各分画の蛍光シグナルをカウントして直接コピー数を算出するため、検量線の作成が不要である。そのため、測定対象の標準物質が入手できない場合でも絶対定量が可能である。

2. 阻害物質・増幅効率の影響を軽減

リアルタイム PCR のように 1 チューブ内で



写真提供: バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社

図2 ドロップレットデジタル PCR 測定手順

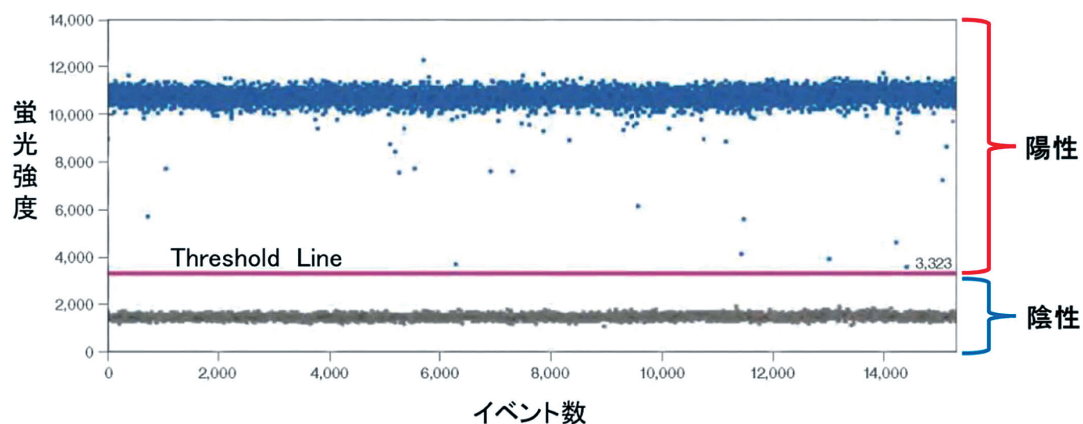


図3 解析画面の一例

反応させて経時的に蛍光を検出する方法では、PCR 阻害物質や増幅効率による影響を受けやすく、正確な定量値が得られない場合がある。それに対し、デジタル PCR は、反応前に限界希釈を行うことで PCR 阻害物質が希釈されるため、阻害物質による影響を軽減することができる。また、PCR 終了後に蛍光を検出するため、増幅効率が一様でなくても、ある程度の蛍光シグナルが検出されればコピー数をカウントすることができる。これらの特徴より、安定した定量値を得ることができる。

3. 高精度・高感度な定量・検出

デジタル PCR は上述の通り、直接コピー数を算出するため、リアルタイム PCR では困難である低濃度の微量な核酸を高感度に定量・検出することができる。遺伝子変異解析においても、変異アレル頻度 0.01% ほどの希少な遺伝子変異を高感度に検出できる。そのため、血液中に微量に含まれる循環腫瘍 DNA (Circulating tumor DNA : ctDNA) の遺伝子変異解析に有用とされている⁴⁾。すでに本邦でもデジタル PCR を利用した BEAMing (Beads, Emulsions, Amplification and Magnetics) 法による血漿検体を用いた RAS 遺伝子変異解析が保険適応となっており臨床検査に導入されている。また、リアルタイム PCR では 2 倍量未満のサンプル間の濃度

差を識別するのが困難であるが、デジタル PCR では 1.1 倍量のわずかな濃度差を高精度に定量することができるため、コピー数多型 (Copy number variation : CNV) 解析に用いられる。

V. デジタル PCR の利用用途

病原体遺伝子の定量・検出、白血病キメラ遺伝子などの遺伝子発現量の定量、微小残存病変 (Minimal residual disease : MRD) 解析、次世代シーケンサーのライブラリ定量、核酸標準物質の値付け、希少な遺伝子変異の検出、マイクロサテライト不安定性 (Microsatellite instability : MSI) 解析、CNV 解析などに用いることができる。

VI. まとめ

デジタル PCR は、微量な核酸を高感度に定量・検出する方法である。すでに、一部の検査項目において実用化されており、将来的に遺伝子関連検査の主要な技術として普及していくと思われる。しかし、現在の臨床検査領域において、デジタル PCR の認知度は低い状況である。今後、普

及が見込まれるデジタル PCR の技術について、私たち臨床検査技師も認識していく必要があると考える。本稿がデジタル PCR の認知度向上に繋がれば幸いである。

参考文献

- 1) 北条浩彦 編：リアルタイム・デジタル PCR 実験スタンダード. 羊土社, 2022
- 2) Thermo Fisher Scientific：次世代の定量技術！デ

ジタル PCR の原理とは？. <https://www.thermo-fisher.com/blog/learning-at-the-bench/digital-pcr1/>

- 3) バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社：Droplet Digital™ PCR プリケーションガイド
- 4) Takeshi Iwaya *et al*：Frequent Tumor Burden Monitoring of Esophageal Squamous Cell Carcinoma With Circulating Tumor DNA Using Individually Designed Digital Polymerase Chain Reaction. *Gastroenterology*, 160 (1) :463-465, 2020

当院における血液培養検査状況と 夜間休日帯検査体制の推移

同愛記念病院

佐藤 佑樹

キーワード

血液培養 blood cultures 夜間休日帯検査 overtime examination

I. はじめに

血液培養検査は感染症の起因菌検索に重要な検査である。この血液培養検査の適切な実施状況の評価には、提出数、複数セット採取率、陽性率、汚染率などの定期的なモニタリングとフィードバックが重要である。今回、2017年1月から2021年12月までの5年間の血液培養検査状況を集計した。また、夜間休日帯検査体制について、以前は、提出された血液培養検体を検査室に持ってきてもらい、検査室で室温保管としていた。しかし、検査の迅速化は微生物学的検査にも求められており、血液培養検査において検体提出後や陽性検出後の検査技師の対応が迅速な結果報告に繋がる。そこで、2020年から夜間休日帯の血液培養検体を検体到着後、速やかに装置に装填し培養する運用に変更した。さらに微生物検査担当技師以外のスタッフにトレーニングを行い、

陽性検体処理が行えるようになっている。そこで今回、血液培養検査状況と夜間休日帯検査体制の推移について報告する。

II. 対象および方法

1. 血液培養検査の状況

2017年1月から2021年12月までの5年間に提出された血液培養検体15325件を対象とし、1年毎における提出数、複数セット採取率、陽性率、汚染率および検出菌を集計した。なお、この集計には小児ボトルは含めていない。血液培養には日本ベクトン・ディッキンソン株式会社（以下、日本BD）の血液培養自動分析装置バックテックFXシステムを使用し、培養期間は7日間とした。培養ボトルには日本BDのバックテックPlus Aerobic/F（好気用）、Plus Anaerobic/F（嫌気用）を用い、それぞれ1本ず

つを1セットとして使用した。汚染菌はコアグラゼ陰性ブドウ球菌や *Corynebacterium* 属、*Bacillus* 属を分離した場合を汚染菌の対象として、AST カンファレンスで検討したのち、汚染菌と判定したものを算出した。1,000 patient-days あたりの検体数は検査件数/在院患者延べ数×1,000 で算出した。陽性率は、陽性セット数/総セット数にて算出した。有意差検定には χ^2 検定を用い、 p 値は 0.05 未満を統計学的に有意差ありとした。

2. 夜間休日帯検査体制

1) 血液培養検体装填

当院では、平日 17 時以降を夜間帯、土曜日の外来終了後と日曜日・祝日を休日帯としている。この夜間休日帯の検査体制について変更した。血液培養検体の装填については、検体装填マニュアルを作成し、2020 年 3 月にスタッフ 26 名を 3～4 名のグループに分け、装填方法、注意点を説明し、同年 4 月より夜間休日帯においても検体到着後、速やかに装填するようにした。

2) 血液培養陽性検体サブカルチャー

2021 年 11 月に血液培養陽性検体サブカルチャーマニュアル（休日用）を作成し、2022 年 1 月以降に入職した検査科スタッフを対象に、当直トレーニング項目に「血液培養陽性検体サブカルチャー」の項を追加した。トレーニング期間は 1 週間とし、サブカルチャーには 5% ヒツジ血液寒天培地（日本 BD）と BTB 乳糖加寒天培地（日本 BD）を用いた。習得したスタッフには、休日帯の日中のみ対応してもらった。

3) グラム染色・鏡検・同定検査・薬剤感受性検査

2022 年 7 月より細菌検査業務に携わっていなかったメンバーを対象に、血液培養陽性検体処理のトレーニングを開始した。バーミー法によるグラム染色および鏡検、サブカルチャー、同定検査・薬剤感受性検査までの一連の流れを重点的にトレーニングした。習得したスタッフから夜間帯

にサブカルチャーまでを対応してもらい、休日帯の日中に同定検査・薬剤感受性検査まで対応してもらった。

Ⅲ. 結果

1. 血液培養検査の状況

1) 検体数と 1,000 patient-days あたりの血液培養セット数（図 1）

検体数は 2017 年の 2530 件から 2021 年の 3361 件と 1.3 倍に増加した。1,000 patient-days あたりの血液培養セット数は 2017 年の 25.8 セットから 2021 年の 39.4 セットと 1.5 倍に増加した。

2) 複数セット採取率（図 2）

血液培養複数セット採取率は 2017 年と 2021 年で比較すると、有意な上昇を認めた。（ $p<0.05$ ）

3) 陽性率（図 3）

血液培養の陽性率は 2017 年をピークに低下しており 2017 年と 2021 年を比較すると、有意差は認めなかったが、低下を示した。（ $p=0.36$ ）

4) 汚染率（図 4）

血液培養の汚染率は、2017 年は 2.3%、2018 年は 2.4%、2019 年は 1.8%、2020 年は 1.2%、2021 年は 1.1% であり、年々、減少傾向を示しているが、2018 年と 2021 年を比較したところ、有意差は認められなかった。（ $p=0.48$ ）

5) 検出菌の推移（図 5）

2017 年から 2021 年までに合計 2187 株が検出された。すべての年で *Escherichia coli* が一番多く検出された。

2. 夜間休日帯の対応

1) 検体装填

2020 年 4 月より検査科全スタッフが夜間休

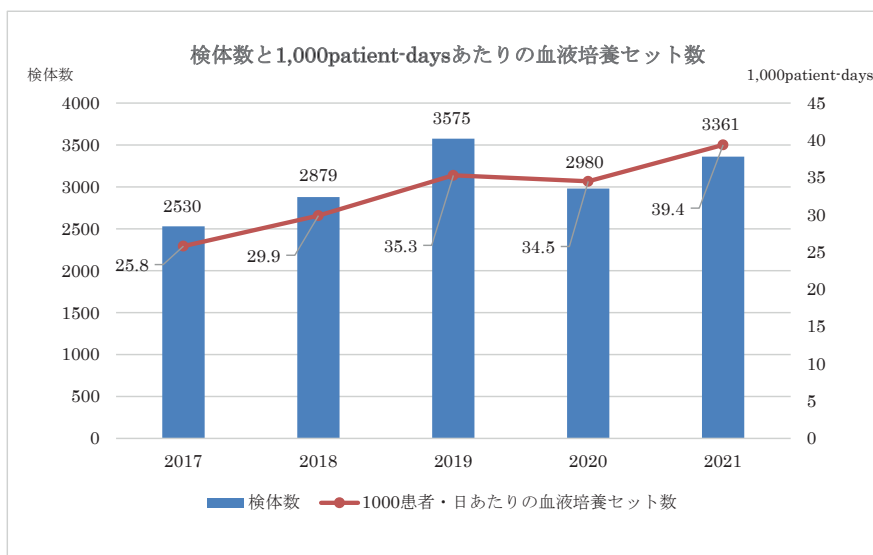


図1 検体数と1,000 patient-days あたりの血液培養セット数

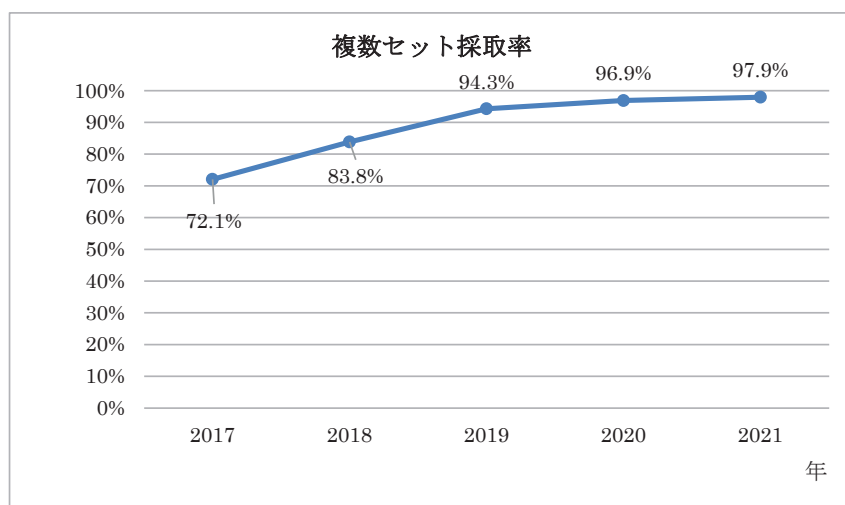


図2 複数セット採取率

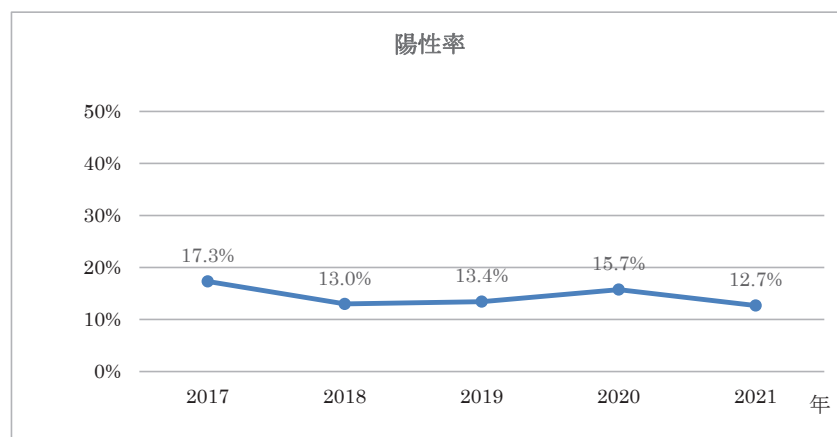


図3 陽性率

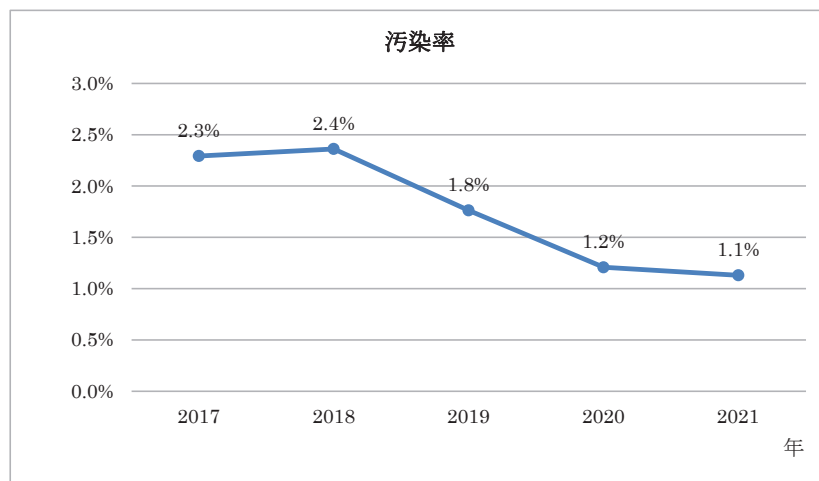


図4 汚染率

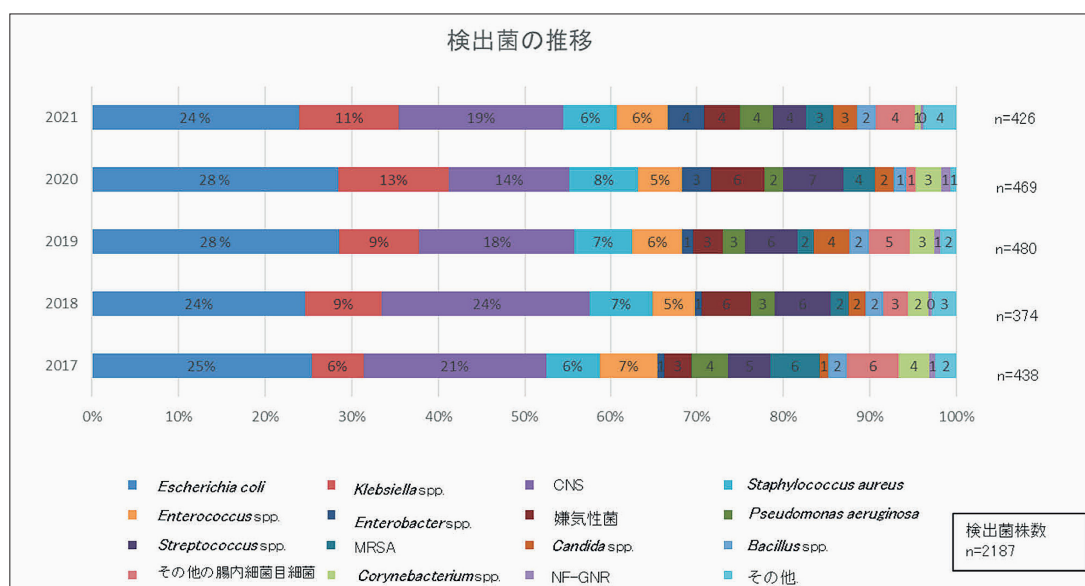


図5 検出菌の推移

日帯に検体装填を開始した。このことにより、検体装填の365日体制が可能となった。また、2020年4月から6月に検出された血液培養陽性検体113件のうち、夜間休日帯に装填した検体は51件で割合は45%であった。

2) 陽性検体処理

当院検査科は26名いるが、以前は微生物検査担当技師2名のみ夜間休日帯に陽性検体処理を行っていた。しかし、現在ではサブカルチャーは8名、グラム染色は6名、同定・薬剤感受性検

査は6名のスタッフが対応できるようになった。以前と比較すると陽性検体が検出されたときに対応できるケースが増え最終報告までの日数が短縮された。(図6) 夜間休日帯に陽性検体処理をした件数は、2022年6月からの1年間で33件を実施した。内訳は、サブカルチャーが26件、同定検査・薬剤感受性検査が7件であった。

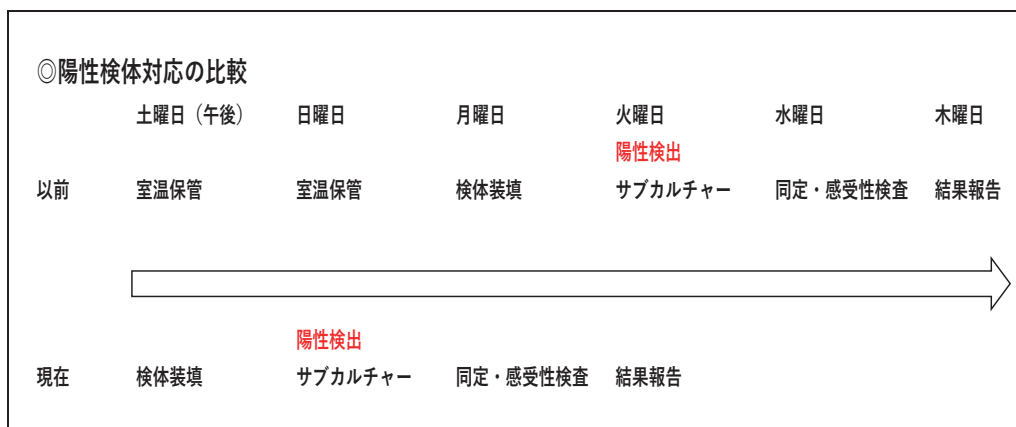


図6 夜間休日帯の対応の変化による効果

Ⅳ. 考察

1. 血液培養検査の状況

血液培養検査の件数は、増加傾向にあったが、2019年をピークに2020年、2021年は低下となった。これは新型コロナウイルス感染症の影響により来院患者数が減少したためだと考えられる。1,000 patient-daysあたりの検体数は、新型コロナウイルス感染症流行時にも大きな変化はなかったため、血液培養検体が適切に提出されていた。

複数セット採取率は、2017年に72.1%だったが2019年以降90%以上の結果となった。この結果は、2017年には複数セット採取が院内で浸透していなかったため72.1%にとどまったものと考えられる。一方で、複数セット採取率の増加は感染対策委員会での発信やASTカンファレンスによる情報共有、フィードバックによるものだと推測される。

陽性率は血液培養ガイドラインにおいて5～15%が適切だとされている¹⁾。当院では2017年が17.3%と高値になっている。2017年までは、敗血症の可能性が高い状況でしか血液培養検体を採取していなかったためだと考えられる。ICTによる働きかけなどで検体数が増加するとともに陽性率も適切な範囲内の数値となった。

血液培養で発育した菌はすべて原因菌の可能性はあるが、採血時に皮膚の常在菌が汚染菌として混入することがある。当院では汚染菌の条件と一致した菌が検出されたときにはASTカンファレンスにおいて、感染症医を中心にディスカッションを行い、場合によっては担当医にヒヤリングをして汚染菌かどうかを決定している。当院での汚染率は、血液培養検査ガイドラインの指標値である3%以下¹⁾と良好な結果であった。良好な結果の理由のひとつとして、毎年4月に感染管理看護師が行う入職した研修医、看護師を対象として検体採取講習によるものだと考えられる。

検出菌については、院内感染対策サーベランス(JANIS)の過去10年のデータは上位から*E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*になっている²⁾。当院と比較しても大きな差はみられなかった。

2. 夜間休日帯の対応

血液接種後の血液培養ボトルは2時間から4時間以内に全自動血液培養装置へ装填することが推奨されている。当院では以前、微生物担当技師以外が当直を担当した場合、検体が提出されても預かり検体としていた。しかし、感染対策委員会での感染症医からの要望もあり、夜間休日帯に検体装填を開始した。夜間休日帯の業務は、基本的には検査室で行っている。離れた場所にある細菌

検査室まで検体を持っていき、血液培養装置に装填するのは負担となると想定された。しかし、スムーズに対応してもらうことができ、夜間休日帯の業務に当たる検査技師 26 名すべてのスタッフが対応可能となった。

血液培養陽性ボトルが検出された際の対応は、細菌検査業務の不慣れなスタッフにとっては格段にハードルが上がる。陽性ボトル検出後の対応としては①サブカルチャー②グラム染色・鏡検③同定・感受性検査と分かれるが、微生物検査が専門外である場合、グラム染色と同定・感受性検査は不安と感じる技師が多い。しかし、将来の人員削減および各パート間でのバックアップ体制の強化を目的に、ローテーションを実施しており、トレーニングを重ねることによって対応可能なメンバーが増えている。今後は、検体装填以外にも陽性検体処理の対応できるスタッフを増やしていきたい。しかし、当直者は数多くの業務をこなす必要があるため、血液培養陽性検体処理の業務を追加するにしても行ってもらう項目や内容を考えなくてはならない。また、普段細菌業務を行わないスタッフにとって、グラム染色からの鏡検結果の報告は相当な負担になると考えられる。したがっ

て、まずはサブカルチャーから行ってもらう体制作りが今後の課題となる。サブカルチャーを行うことは難しくはないが、当直者の夜間休日帯に行う他の業務と比べると当日に結果報告ができるわけではないので業務の成果は見えにくい。しかし、当直者に行ってもらうサブカルチャーが、臨床への貢献にどのように繋がるかを微生物担当技師が説明することで、前向きに業務を行ってもらえることができると考える。運用を変更してから大きな失敗例はないが、微生物担当技師以外のスタッフはグラム染色の報告や同定報告を行っていないのが課題である。

今までの微生物検査室は、微生物担当技師のみが専門的に検査をしているというイメージだったが、今後は、検査科スタッフに細菌検査業務を共有し、院内ではチーム医療である ICT、AST 活動に積極的に参加することで細菌検査の情報をより多く発信していくようにするのが望ましいと考える。

文献

- 1) Baron EJ 他：CUMITECH 1C 血液培養検査ガイドライン 62. 2015.
- 2) 院内感染対策サーベランス (JANIS)
HP：http://www.nih-janis.jp/

第 18 回東京都医学検査学会

お礼のご挨拶

謹 啓

皆様方におかれましては益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

さてこのたびの第 18 回東京都医学検査学会開催にあたりましては、参加された皆さま方をはじめ、企画、講演、発表等でご協力いただいた方々、そして協賛企業の皆様方には格段のご高配を賜り、誠にありがとうございました。

天候にも恵まれ、事前参加、当日参加の多くの方々により、盛会のうちに終了することができました。これもひとえに東京都臨床検査技師会の会長はじめ理事の方々、スタッフの方々のご支援によるものと感謝申し上げます。

臨床検査技師として「Step up & Next stage」のコンセプトのもと精度管理やタスク・シフト/シェアに焦点をあてた演題発表、講演や研究班企画には多くの方々の参加をいただきました。また認知症講座や学生企画などでは幅広い世代がこれからの臨床検査技師の道のりを築かれたと思います。山藤先生の「医療人としての人生を肯定的に歩む」のご講演では、講演後にも多くの方が先生と交流をされ、感銘を受けたとの感想をお聞きしました。最後には一般公開講座として川嶋朗先生に「統合医療とその教育の必要性」のご講演をいただきました。

東京都臨床検査技師会では第 19 回学会を今回と同じ秋葉原 UDX で開催します。次回もまた皆さまにお会いできることを楽しみにしております。

最後に、本学会の開催のためにご尽力いただいた、学会スタッフの皆さまへの感謝を込めまして略式でございますが、第 18 回東京都医学検査学会終了のご挨拶に代えさせていただきます。

謹 白

2023 年 12 月吉日

第 18 回東京都医学検査学会 学会長 三浦 ひとみ



東京都医学検査学会「演題発表」について

東京都医学検査学会では、若手の発表者の中から優秀な演題発表について表彰を行っています。

第17回東京都医学検査学会（2022年12月開催）から、最優秀演題賞として三井記念病院の長谷野優作技師（演題名「尿検体 pH と尿中 β_2 マイクログロブリン測定値の低下度の比較検討」）、優秀演題賞として江東微生物研究所病理研究所の宮田桃子技師（演題名「子宮内膜間質における CD 138 陽性形質細胞の新たな評価法の検討」）が表彰されました。

「最優秀演題賞を受賞して」

社会福祉法人 三井記念病院
長谷野 優作

この度は、第17回東京都医学検査学会において、最優秀演題賞という大変栄誉ある賞をいただきまして、誠にありがとうございました。思いがけない受賞に非常に驚いたのと同時に畏れ多さを感じました。

私自身初めて検討を行い、当初は検討順序や方法を模索しながら進め、思い通りにいかないことも多々ありました。そのような中、先生、先輩方から貴重なご助言、ご指導をいただき、無事に検討を終え、結果として賞をいただくことができました。心より感謝申し上げます。また、試薬提供していただいたデンカ（株）の皆さまに厚くお礼申し上げます。

検討を通して、予想より尿 pH と保存温度が尿中 β_2 マイクログロブリンの低下度に影響を与えると分かり、外部検査機関へ委託する際に適正な

検体処理・検査提出を行う重要性を改めて実感しました。今後も臨床検査技師として迅速に正確な検査結果を臨床に報告できるよう精進していくとともに、日常業務だけでなく学会発表にも積極的に取り組み、自己研鑽に努めてまいります。この度は本当にありがとうございました。



第17回相馬学会長（左）長谷野優作技師（右）



参加受付風景

「初めての学会発表を経験して」

東京医科大学八王子医療センター 中央検査部
田中 杏佳

第18回東京都医学検査学会は「Step up & Next stage～広がる業務，確かなデータを臨床へ～」をテーマに，日々拡大する臨床検査技師の業務の中で求められる検査の質や精度の維持・向上をすべく多方面から演題発表や講演が行われ，非常に充実した1日となりました。

私も「当院における若手有志勉強会の活動報告」という演題で発表させていただきました。この若手による有志勉強会は学会発表を一つの

目標として活動してきましたが，その成果として私を含め5名の技師が初めての学会発表の機会を得ることができました。初めての学会発表で不安もありましたが先輩方にご教示いただき発表準備から本番まで経験できたことは今後の大きな経験になりました。また多くの演題を拝聴する中で内容だけでなくスライド構成や発表における話し方なども大変勉強になりました。

この度は貴重な経験をさせていただきありがとうございました。今後は専門分野での発表を目標に精進していきたいと考えています。



発表風景（一般演題）



発表風景（研究班企画）

学術研修会記録

(7月～11月)

遺伝子・染色体検査研究班研修会

『デジタルPCRの基礎～デジタルPCRってなに？ 次世代のPCR技術を学ぼう!!～』

講 師：ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

長谷 麻樹子 先生

日 時：2023年10月25日（水）

18：30～19：30

場 所：Web開催

出席者：都臨技会員95名、賛助会員3名

計98名

要 旨：本号32（32）頁に掲載

生涯教育点数：専門-20点

病理・細胞診検査研究班研修会

『遺伝子検査未染標本作製の工夫』 —受託検査会社の検体品質におけるリスク 要因と取り組み—

講 師：株式会社エスアールエル プレアナリシス課

遺伝子標本作製室

後藤 義也 技師

日 時：2023年7月25日（火）

18：30～20：00

場 所：Web開催

出席者：都臨技会員108名、非会員1名

計109名

要 旨：本号37（37）頁に掲載

生涯教育点数：専門-20点

『肺癌マルチ遺伝子検査のための 生検検体の取り扱いと精度向上のための工夫』

講 師：東京医科大学 呼吸器・甲状腺外科学分野

垣花 昌俊 先生

日 時：2023年9月5日（火）

18：30～20：00

場 所：Web開催

出席者：都臨技会員90名、その他1名

計91名

要 旨：本号45（45）頁に掲載

生涯教育点数：専門-20点

『特別講習会 細胞診スライドカンファレンス』

講 師：病理・細胞診検査研究班 幹事

日 時：2023年10月15日（日）

13：00～16：00

場 所：Web開催

出席者：都臨技会員55名、学生会員47名

計102名

生涯教育点数：専門-20点

輸血検査研究班研修会

『輸血部門の施設における教育体制について』

講 師：①東京品川病院 医療技術部 臨床検査科

馬島 大 技師

②東京医科歯科大学病院

相川 佳子 技師

日 時：2023年9月20日（水）

18：30～19：30

場 所：Web研修会

出席者：都臨技会員103名、学生会員1名、

その他1名

計105名

要 旨：①本号50（50）頁に掲載

②本号52（52）頁に掲載

生涯教育点数：専門-20点

『赤十字血液センター MR の業務について』

講 師：東京都赤十字血液センター
事業推進一部付課長 学術情報担当
飴谷 利江子 先生
日 時：2023 年 11 月 15 日（水）
18：30～19：30
場 所：Web 研修会
出席者：都臨技会員 104 名
計 104 名
要 旨：本号 55（55）頁に掲載
生涯教育点数：専門-20 点

生理検査研究班研修会

『知っておくと得する、精密呼吸機能検査の ハナシ～FRC と DLco を中心に～』

講 師：北海道大学病院
山本 雅史 技師
日 時：2023 年 7 月 13 日（木）
19：00～20：30
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 199 名、非会員 1 名
計 200 名
要 旨：本号 59（59）頁に掲載
生涯教育点数：基礎-20 点

『シン・血管エコー 実技編 ～頸動脈 And 下肢静脈～』

講 師：東京医科大学病院／秋山 忍 技師
新宿健診プラザ／伊藤 正範 技師
東京医科大学病院／後藤 紀子 技師
府中恵仁会病院／小池 加恵 技師
新宿健診プラザ／北尾 幸男 技師
豊島病院／仲倉 佳子 技師
川崎幸病院／岡田 耕一郎 技師
敬愛病院／堀田 直 技師
日 時：2023 年 7 月 23 日（日）
13：00～17：00
場 所：国立オリンピック記念青少年総合セン
ター センター棟 309 号室
出席者：都臨技会員 49 名、非会員 2 名
計 51 名
生涯教育点数：専門-20 点

『不整脈診断と最新の治療』

講 師：東京医科大学病院
里見 和浩 先生
日 時：2023 年 9 月 7 日（木）
19：00～20：30
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 219 名、学生会員 1 名、
非会員 1 名
計 221 名
要 旨：本号 65（65）頁に掲載
生涯教育点数：基礎-20 点

一般検査研究班研修会

『尿沈渣に必要な腎泌尿器の構造と病理』

講 師：東京品川病院 臨床検査科 病理
山里 勝信 技師
日 時：2023 年 9 月 13 日（水）
19：00～20：30
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 195 名、非会員 6 名
計 201 名
要 旨：本号 68（68）頁に掲載
生涯教育点数：専門-20 点

『2023 年度 都臨技 一般検査スキルアップ ZOOM 研修会』

- ①円柱を形態学的に、科学的に捉える
- ②尿沈渣から病態を読む
～尿沈渣を診断と治療にどう活かすか～
- ③「髄液検査」見直す時がきた？！
- ④参加型フォトクイズ（尿沈渣、体腔液）

講 師：①藤田医科大学 医療科学部
星 雅人 技師
②大津赤十字病院 腎臓内科
古宮 俊幸 医師
③弘前大学医学部附属病院
石山 雅大 技師
④都臨技一般検査研究班幹事
日 時：2023 年 10 月 1 日（日）
13：00～18：30
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 80 名、非会員 55 名、
その他（医師）1 名
計 136 名
生涯教育点数：専門-20 点

臨床化学検査研究班研修会

第16回 1都2県臨床化学検査合同研修会 (東京都・千葉・埼玉)

『POCTの課題について改めて考えよう POCT機器の精度管理～POCTのピット フォール～』

講 師：国際医療福祉大学熱海病院
メ谷 直人 先生 ほか 4 名
日 時：2023 年 11 月 4 日 (土)
13:30～16:30
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 124 名、賛助会員 1 名、
その他 1 名
計 126 名
生涯教育点数：専門-20 点

免疫血清検査研究班研修会

『免疫血清検査の基礎知識』（初級研修会）

講 師：JCHO 東京山手メディカルセンター
桜庭 尚哉 技師
日 時：2023 年 7 月 27 日 (木)
19:00～20:20
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 82 名
計 82 名
生涯教育点数：基礎-20 点

『前立腺癌診断に有用な新規項目 「プロステートヘルスインデックス (phi)」 について』

講 師：昭和大学医学部泌尿器科学講座 講師
押野見 和彦 先生
日 時：2023 年 9 月 14 日 (木)
19:00～20:20
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 79 名、賛助会員 10 名、
その他 (医師他) 1 名
計 90 名
要 旨：本号 74 (74) 頁に掲載
生涯教育点数：専門-20 点

『検査に役立つ統計学の基礎』

講 師：アボットジャパン合同会社
村上 聡 先生
日 時：2023 年 11 月 22 日 (水)
18:30～19:30
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 117 名、賛助会員 2 名
計 119 名
要 旨：本号 77 (77) 頁に掲載
生涯教育点数：基礎-20 点

血液検査研究班研修会

『血液検査で知っておきたい染色体・遺伝子検査』

①染色体検査編

②遺伝子検査編

講 師：①東京慈恵会医科大学附属病院
中央検査部
湯本 春野 技師
②順天堂大学医学部附属順天堂医院
臨床検査部
由利 麻衣子 技師
日 時：2023 年 9 月 28 日 (木)
18:30～20:00
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 131 名
計 131 名
要 旨：①本号 81 (81) 頁に掲載
②本号 84 (84) 頁に掲載
生涯教育点数：基礎-20 点

『造血器腫瘍 WHO 分類第 5 版の改訂のポイント —実例を交えて—』

講 師：国家公務員共済組合連合会
虎の門病院分院 臨床検査部
増田 亜希子 医師
日 時：2023 年 10 月 19 日 (木)
18:30～20:00
場 所：Web 開催
出席者：都臨技会員 129 名、非会員 2 名、
その他 1 名
計 132 名
要 旨：本号 87 (87) 頁に掲載
生涯教育点数：専門-20 点

『血液像からせまる血液疾患の基本と考え方ー
血液像観察に必要な基礎知識とその応用ー』

講 師：NTT 東日本関東病院 臨床検査部

後藤 文彦 技師

日 時：2023 年 11 月 16 日（木）

18：30～20：00

場 所：Web 開催

出席者：都臨技会員 196 名

計 196 名

要 旨：本号 90（90）頁に掲載

生涯教育点数：基礎-20 点

微生物検査研究班研修会

『一属入魂!! 菌属を徹底的に学ぶ』

① *Enterobacterale*

② *Salmonella* 属

講 師：①杏林大学

米谷 正太 技師

日本医科大学多摩永山病院

望月 彩香 技師

②国立病院機構茨城東病院

守屋 任 技師

日 時：2023 年 7 月 21 日（金）

18：30～20：00

場 所：Web 開催

出席者：都臨技会員 141 名，賛助会員 7 名，

非会員 3 名

計 151 名

要 旨：②本号 93（93）頁に掲載

生涯教育点数：基礎-20 点

『薬剤感受性検査の基本と結果を見るポイント』
（初級研修会）

講 師：東京慈恵会医科大学附属第三病院

安藤 隆 技師

日 時：2023 年 8 月 4 日（金）

18：30～20：00

場 所：Web 開催

出席者：都臨技会員 134 名，賛助会員 4 名，

非会員 4 名

計 142 名

生涯教育点数：基礎-20 点

『一属入魂!! 菌属を徹底的に学ぶ』

① *Campylobacter*・*Helicobacter* 属

② *Candida* 属

講 師：①順天堂大学医学部附属順天堂医院

長南 正佳 技師

②帝京大学医学部附属病院

石垣 しのぶ 技師

日 時：2023 年 9 月 15 日（金）

18：30～20：00

場 所：Web 開催

出席者：都臨技会員 117 名，学生会員 1 名，

賛助会員 8 名，非会員 1 名

計 127 名

生涯教育点数：基礎-20 点

遺伝子・染色体検査研究班研修会一要旨

『デジタルPCRの基礎～デジタルPCRってなに？ 次世代のPCR技術を学ぼう!!～』

■開催日：2023年10月25日（水）

■講 師：ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社
長谷 麻樹子

■生涯教育点数：専門-20点

東京都臨床検査技師会
第2回遺伝子染色体検査研究班研修会

「デジタルPCRの基礎～デジタルPCRってなに？
次世代のPCR技術を学ぼう!!」

ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社
長谷麻樹子

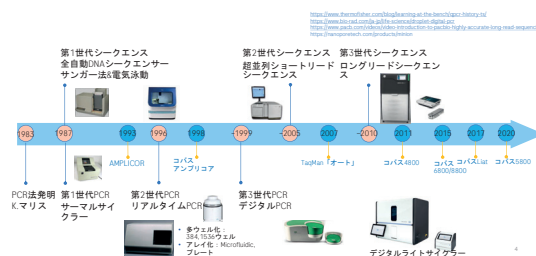
25 Oct 2023

Table of contents

1. PCR技術の変遷
2. リアルタイムPCRとデジタルPCRの原理の違い
3. デジタルPCR
4. デジタルPCRの今後の展望（臨床検査での実用化に向けた展望など）

PCR技術の変遷

PCR関連技術の変遷



はじめに デジタルPCRとqPCR/NGS

- 次世代シーケンシング(NGS)は、広範囲塩基配列の特徴を明らかにするための貴重なツールである一方、希少変異イベントを追跡する際の精度は低いことが、次第に認められてきた。最近の研究では、Stetsonらが、NGSは1%以上の希少変異の定量においてのみ正確であると指摘している。デジタルPCR(dPCR)は、臨床的に超希少 (<1%) 変異の絶対的定量と高精度追跡に必要なツールを提供する。

[Scientific Reports, volume 9 | Article number: 19004 \(2019\)](https://www.nature.com/articles/nrg2019004)

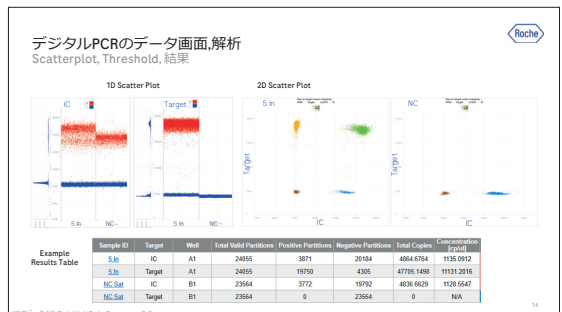
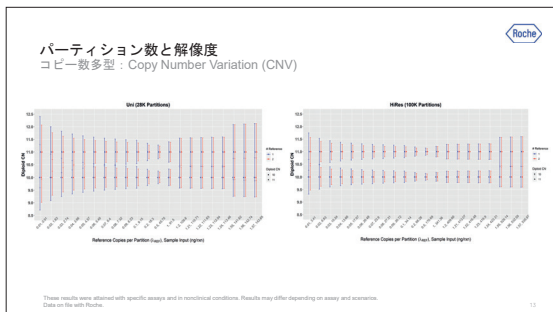
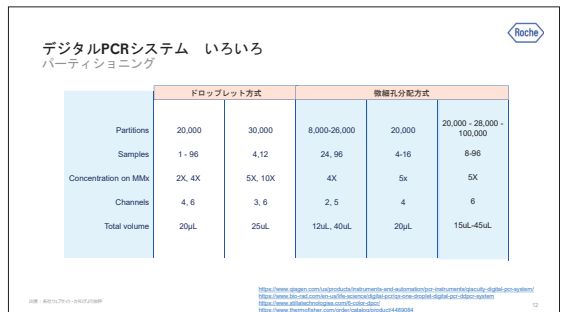
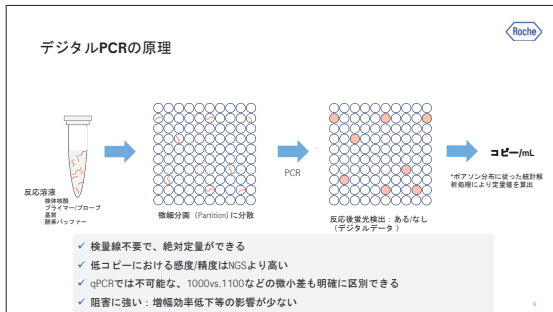
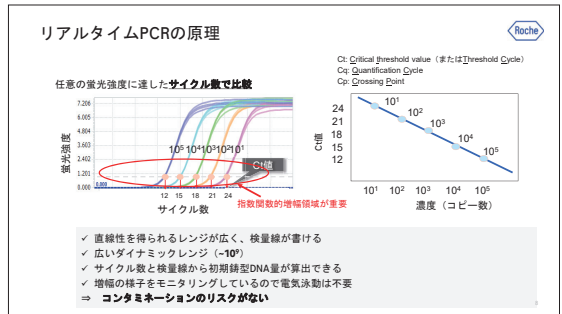
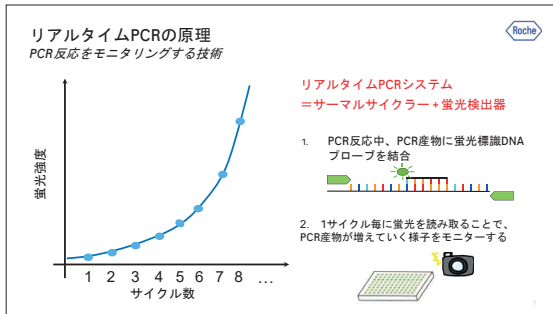
- dPCRはサンプル中に含まれる個々の分子の数をカウントして定量を行う新しい技術で、従来のPCR法に比べ正常サンプル中に0.01%程度のレベルでわずかに含まれる希少な分子を定量・定量することが可能な手法です。

国立がん研究センター https://www.ncc.go.jp/pdf/formaldehyde_inhalant/2020/10/13/20201013PRNews.pdf

- dPCRは核酸の正確な定量を可能にし、わずかな差の測定や稀な変異体の定量を容易にする。dPCRは定量的リアルタイムPCR(qPCR)よりも再現性が高く、阻害の影響を受けにくい。その結果、dPCRは研究や診断のアプリケーションに大きなインパクトを与える可能性がある。

2013 Jun 9(94):902-902. doi: 10.1373/jclinchem.2013.204375. Epub 2013 Apr 9.

リアルタイムPCRとデジタルPCRの原理、違い



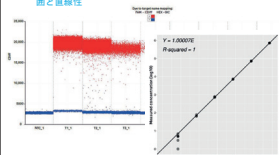
dPCR Advantages/ disAdvantages Summary

- 標準曲線不要の絶対定量
- 低コピーの定量精度が高い ⇨ 高コピーを含めたダイナミックレンジはqPCRの方が広い
- 2倍未満のわずかなコピー数変化を分類可能
- Cq値、PCR効率に依存しない
- 非標的核酸（バックグラウンド）濃度が低い
- 阻害物質が希釈され、影響を受けにくい
- マルチプレックスパフォーマンスが高い
- TATが短い
- 低コスト
- 既知の多型の検出感度が高い ⇨ 未知の変異含む広範な（網羅的な）遺伝子変異検出はSequence

デジタルPCRのアプリケーション

核酸の正確な定量 絶対定量、低コピー定量

測定レンジと直線性
Clostridioides difficile (C. difficile)の絶対定量による測定感度と直線性



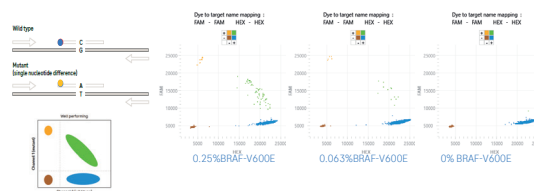
核酸認証標準物質(CRM)の値付け法としての利用が増加中

標準物質名	用途
SRM 2284a	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2275	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2276	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2277	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2278	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2279	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2280	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2281	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2282	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2283	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2284	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2285	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2286	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2287	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2288	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2289	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2290	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2291	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2292	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2293	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2294	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2295	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2296	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2297	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2298	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2299	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)
SRM 2300	Chlorophyll a and b (クロロフィルaとb)

*Digital LightCycler Application Guide

17

希少変異の検出 <0.1% アレル頻度

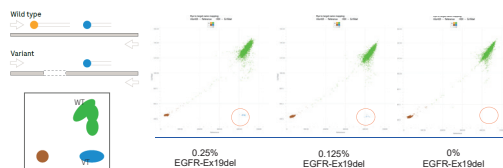


デジタルライトサイクロープアプリケーションガイド

*結果は既述した、アッセイデザインとサンプルの特性に依存します。このデータは、各アッセイで得られた、検出感度の条件で取得されました。結果は使用するアッセイと検出により異なる場合があります。

18

挿入欠失検出: Insertion-deletion (Indel) Assays



デジタルライトサイクロープアプリケーションガイド

デジタルPCRの疾患研究アプリケーション デジタルPCRの可能性



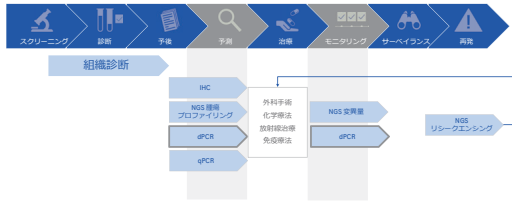
21

デジタルPCRのポテンシャル オンコロジー

がん関連遺伝子(既報告の変異) EGFR, FGF, cDNA, CTCs	マイクログリブリン不安定性 バイオマーカーとして BAT25, BAT26, NR21, NR24, MONO27
遺伝子増幅 コピー数変動 HER2	がん分子標的療法 増悪、寛効のモニタリング
融合遺伝子 スプライスバリエーション BCR-ABL	微小残存病変 (MRD)
DNA メチル化	免疫療法バイオマーカー CD16/FCγR1/IL15/IL18

22

オンコロジーケアの継続性 NGSとデジタルPCRの応用



Shao LB & Bartel AL. J Clin Oncol. 2016;32(5):79-88; Roseman AM, et al. Nature Reviews. 2016;16:848-854.

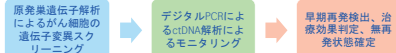
23

患者個人に合わせた超高感度血液検査で食道がん再発を早期に検出する方法を開発

Gastroenterology. 2021 Jan;160(1):463-465.e4. doi: 10.1053/j.gastro.2020.09.035. Epub 2020 Oct 2.

Frequent Tumor Burden Monitoring of Esophageal Squamous Cell Carcinoma With Circulating Tumor DNA Using Individually Designed Digital Polymerase Chain Reaction

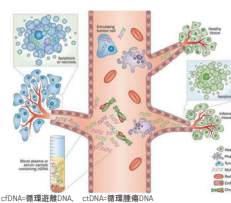
Takechi Inaga¹, Fumitaka Endo², Fumaki Takahashi³, Takashi Tokino⁴, Yasushi Sasaki⁵, Satoshi S. Nishizuka⁶



参照：国立がん研究センターHP https://www.ncc.go.jp/information/pr_release/2020/1012index.html

24

血中循環浮遊DNA



循環浮遊DNA (cell-free DNA)

- 健康な細胞、炎症細胞、疾患細胞（癌細胞）のアポトーシスや壊死を起こした細胞から放出される

循環腫瘍DNA (circulating tumor DNA)

- がん細胞がもつDNAの異常を血液で調べることができるため、がん診断への利用が期待されている
- 進行がんでも血液中の全浮遊DNAに含まれるがん由来のDNAは1%以下と微量であることが多く、高感度の検出技術が必要

From: Liquid biopsy, morphotria, cancer, medical in the blood

国立がん研究センターHP https://www.ncc.go.jp/information/pr_release/2020/1012index.html

25

患者個人に合わせた超高感度血液検査で食道がん再発を早期に検出する方法を開発

- 血液中を流れるがん由来のDNA (circulating tumor DNA, ctDNA) を用いた血液検査は、CT検査や腫瘍マーカー検査に比べ、高い精度で早期再発検出、治療効果判定、および無再発状態判定に役立つことがわかりました。
- 食道がんを対象に、低コストで短い検査時間で解析が可能なデジタルPCRを用いた超高感度ctDNA検査の実用性を世界で初めて示した研究です。
- 個々の患者のがんに生じている遺伝子変異が患者特有の腫瘍マーカーとなりうるため、本手法は食道がん以外の多くのがんにも応用可能であり、がん診療における腫瘍マーカー検査を大きく改善する可能性があります。

https://www.ncc-go.jp/information/pr_release/2020/1012index.html

26

デジタルPCRのポテンシャル 遺伝学的検査



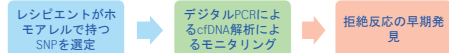
27

移植後の移植片の健康状態をモニタリング

Methods Mol Biol. 2018;1768:335-348. doi: 10.1007/978-1-4939-7778-9_19.

A Universal Droplet Digital PCR Approach for Monitoring of Graft Health After Transplantation Using a Preselected SNP Set

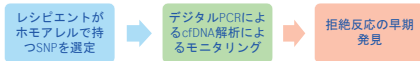
Julia Beck¹, Michael Oelberich², Ekkehard Schütz³



移植された臓器は、レシピエント臓器受容者の血液にcell-free DNA (cfDNA) を放出します。この移植片由来の無細胞DNA (cfDNA) は、cfDNA レベルが高いほど移植片内の細胞死が増加していることを示すため、臓器の健康状態を示す高感度のバイオマーカーです。

28

移植後の移植片の健康状態をモニタリング



- 1回の採血でレシピエントとドナーの組み合わせごとに有益なSNPを選出する事が可能
- GcfDNAは血液1mLあたりわずか10ゲノムコピーという微量にすぎない
- シーケンズと比較すると、dPCRによる定量は安価であり(1検査あたり200ドル以下)、短時間(約24時間)で実施できる
- ドナー組織のサンプリングとジェノタイプリングは必須でないため、移植が最近でない患者にも適用できる。

29

デジタルPCRのポテンシャル 感染症



T. Akutsu N. J Clin Microbiol. 2015;53:3239-41

30

様々な研究分野での活用の可能性



アプリケーション	臨床医学	希少変異の検出	マイクロナライド 不安定性の検出	抗体体定量
Digital LightSystem [®] マイクロLED ボタンスイッチ	注目すべき特異なバリエーションの検出。治療の選択や経過 進行の追跡が可能	標準曲線を用いない絶対定量	非常に高い感度	標準曲線を用いない絶対定量
アプリケーション	移植医療における 移植片拒絶反応の モニタリング	感染症・疫学研究	薬物定量 大規模臨床試験	出生前診断 (NPT)
Digital LightSystem [®] マイクロLED ボタンスイッチ	移植片拒絶反応の検定が 可能	より高い感度と精度を実現します。 ある種のウイルスにおいては、陽 性により検量線を用いたqPCR検出 が困難な場合が数多くあります	特定のバイオマーカーをスケー ルに測定。qPCR法と比較し 感度も実用します	母体血清マーカーにおける 感度の限界を拡大する可能性

31

Doing now what patients need next

病理・細胞診検査研究班研修会—要旨

『遺伝子検査未染標本作製の工夫』

—受託検査会社の検体品質における リスク要因と取り組み—

■開催日：2023年7月25日（火）

■講師：株式会社エスアールエル
プレアナリシス課
遺伝子標本作製室
後藤 義也

■生涯教育点数：専門-20点

I. はじめに

遺伝子解析技術が急速に変化する中、ホルマリン固定パラフィン包埋（以下 FFPE）検体の利用目的は、病理組織診断に加えて次世代シーケンシング（NGS）を含む遺伝子検査法を用いた分子標的薬の適応を判断するコンパニオン診断や遺伝子プロファイル検査の基本検体となっています。日本病理学会より日常診療下で実施されるがんゲノム診断の使用に耐えられる検体作製を目的に、**ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱い規程¹⁾**（以下取扱い規程）が（2018年）策定されている。ルーティン業務の病理組織 FFPE 検体の取扱いが、遺伝子検査の結果に影響するとして各学会からもガイドラインや手引き・指針が発行されています。汎用性の高い FFPE 検体ですが、その作製過程で核酸分解やクロスコンタミネーション（以下相互汚染）などの検体品質に影響を与える要因が多いため、リスクを最小限に留める対応が求められています。

遺伝子検査に使用する病理組織の検体品質に影響を与える要因を大別すると、遺伝子検査の成否に関わる要因と妥当性に関わる要因に分けられるかと思います。

成否に関わる要因としては、十分な核酸量が得られない量的要因と自己融解（固定されるまでに生じる核酸分解酵素の活性化など）と固定（変性

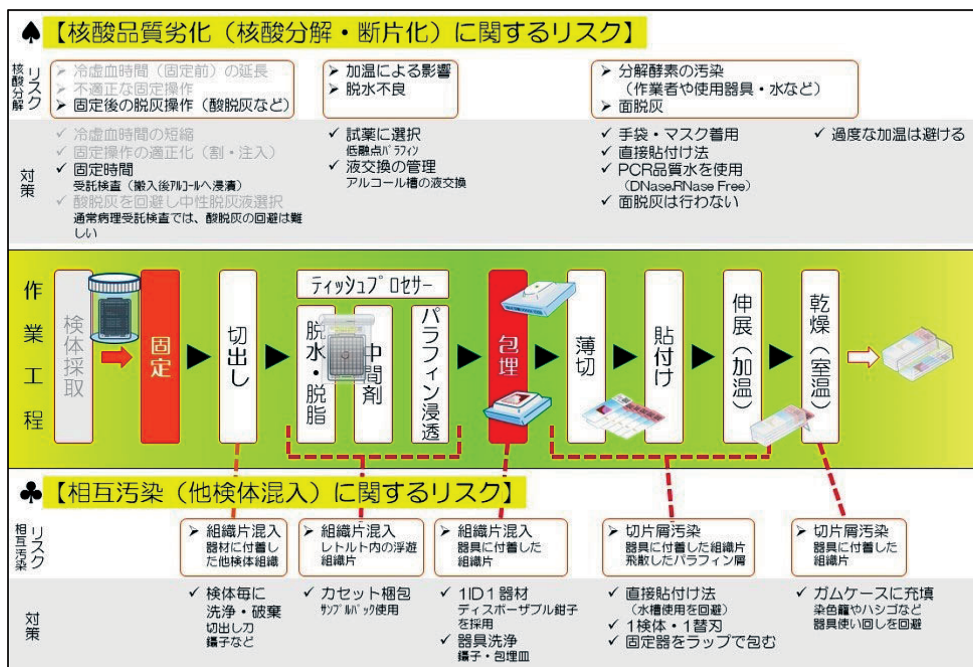
型固定液ホルマリン）の化学反応による核酸断片化の質的要因が挙げられます。作製過程で混入する核酸分解酵素汚染も核酸断片化要因の一つに考えられます。

検査結果の妥当性に関わる要因として、腫瘍細胞割合の判定と検査に必要な腫瘍細胞含有率に満たない場合に行うマーキングによるダイセクション指示があり、いずれも原則病理医の領域となっています。病理担当者が憂慮する作製過程での相互汚染についても問題視されています。また、過固定で顕著となる脱アミノ反応による塩基置換などの化学修飾も妥当性に関わる要因となります。残念ながら、現行受託項目のコンパニオン診断遺伝子検査の結果から妥当性について明確に評価できません。

研修会では、遺伝子検査未染標本作製の工夫について「受託検査会社の検体品質におけるリスク要因と取り組み」と題して、冷虚血時間の短縮など優先課題に直接関わることのできない—受託検査会社の立場から、参考資料が指摘する事項と受託後のリスクアセスメントで特定した要因に対する対策に、現場作業の考え方やよくある問合せ（以下 FAQ）を交えながら、弊社遺伝子標本作製室の取組について紹介しました。

II. 遺伝子検査用未染標本作製のリスク要因と対策

受託検査会社では、すべての標本作製過程に関わることはできません。図1で示すように、各工程のリスク要因について、結果の成否に関わる要因とその対策を上段に、妥当性に関わる要因と対策を下段にまとめました。



■ 図1 受託検査会社における検体品質に関わる標本作製工程のリスク要因と対策

Ⅲ. 遺伝子検査未染標本作製の実際

(1) 組織プロセッシング

従来型ティッシュプロセッサの使用は問題ないが、使用薬剤の交換頻度の影響については不明としている¹⁾。核酸品質について保管されているFFPEブロックは一見均一に見えてしましますが、プロセッシングの影響が少なからずあることを参考資料²⁾では指摘しています。アルコールの液交換は重要なポイントで、不適切の場合は、組織の脱水処理が不十分となり保管中のブロック内分子に加水分解が生じ変性をきたすとしています。一定期間内のブロックであっても固定不良（固定不十分な組織）や脱水不良などの不適切な検体処理により変性の影響は大きくなると考えます。弊社遺伝子標本作製室では、取扱うブロック数が少ないためティッシュプロセッサの液交換は、5サイクルに1回のタイミングで行っています。

FAQ：自動固定包埋装置内のパラフィン浸透の処理では検体に熱をかけていますが、それは影響がないのでしょうか？

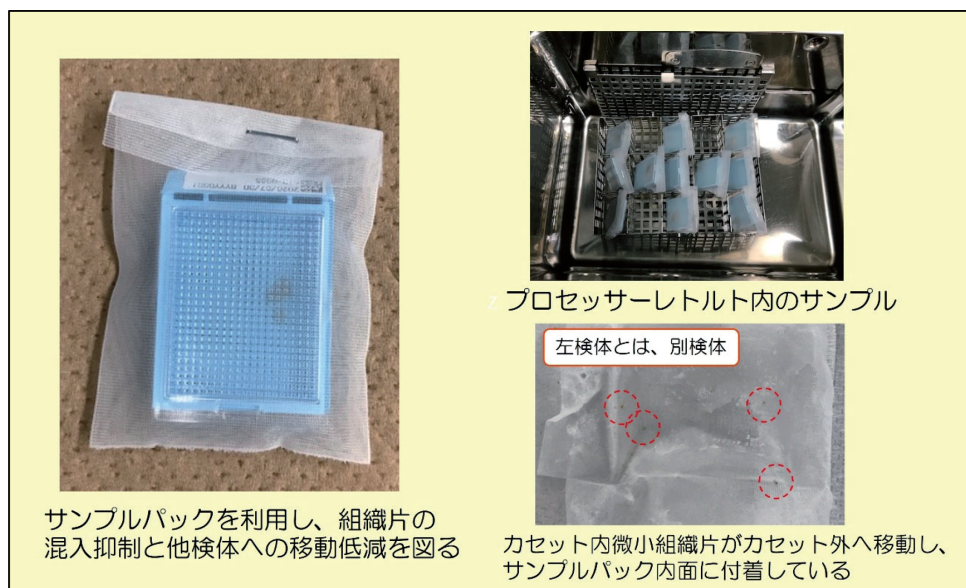
参考資料²⁾では、高温での分子のダメージを

避けるためには純度の高い融点 60℃未満のパラフィンを推奨としています。しかし、未固定では、固定が正常に行われている組織に比して高温での影響が少なからずあるのではないかと考えます。

FAQ：遺伝子検査にとってコンタミが一番問題となると考えますが、コンタミの有無は遺伝子検査でどの程度判別可能でしょうか？コンタミネーションが起こった場合、データはどのようになるのでしょうか？コンタミネーションを検査結果から推定することは可能でしょうか？事例があれば教えてください。

もし、量的にも検出可能な汚染物質（他検体）に変異があった場合は、偽陽性となり適応外の加療が実施される懸念があります。残念ながらコンパニオン診断の遺伝子検査の結果から病理組織作製工程の相互汚染の有無について現状推定することはできません。

ティッシュプロセッサ内の相互汚染対策として、サンプルパックでカセットを梱包して組織片の混入を低減し、他検体への移動の抑制も図っています。図2で示すように、組織片がカセット



■ 図2 組織プロセッシングのフローター対策

の外側へ移動しサンプルパックの内側に付着していることを確認できたため、ある程度の効果を期待することができている。しかし、参考資料⁴⁾では、サンプルパックから細胞の浸みだしを確認したとの報告を引用していることからセルフブロック作製では、さらなる工夫が必要なのかもしれません。杏雲堂病院の病理検査グループがNGSに供するFFPEブロックのコンタミネーション対策として梱包材の材質を検討し、組織プロセッシング時の新たな病理組織・細胞検体梱包材“マイクロシートポケット(μSP)”を開発しています。

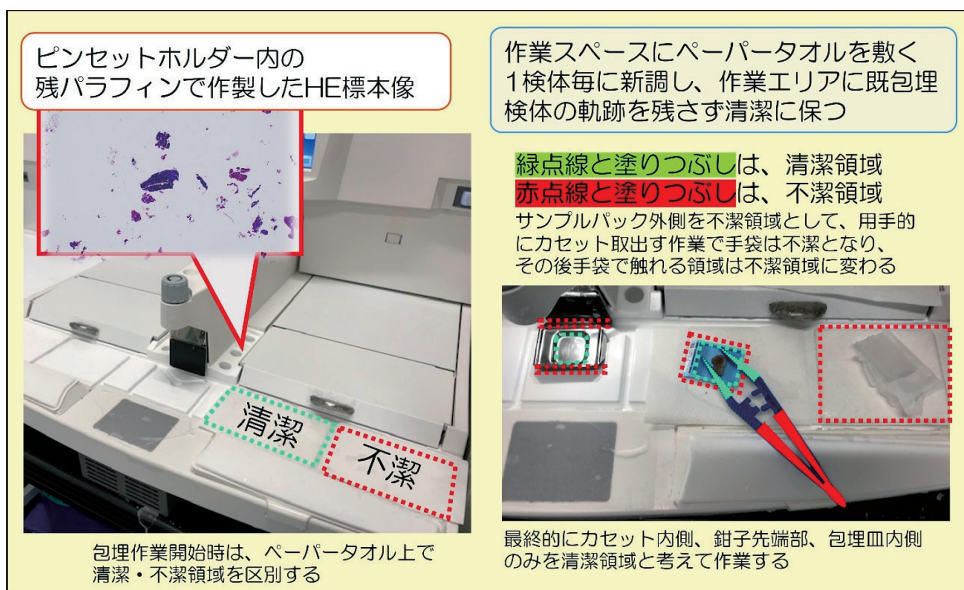
参考資料⁵⁾では、“フローター”とよばれる小さな組織片が汚染物質としてパラフィンブロックに埋め込まれ、薄切により次のステップへ持ち込まれることを指摘しています。ちなみにこの論文では、アーカイブされていたFFPEブロックを検索したところ約3%で、NGS解析に臨床的重要なDNA汚染が確認された報告があります。このことからブロック作製工程の相互汚染リスクは高く、“フローター”対策を取り入れた組織プロセッシングと包埋手順が必要だと感じています。

既存のFFPE検体で相互汚染を回避するため

には、未染標本に連続したHE染色標本を作製して形態学的に汚染物質を確認したのち、ダイセクションにより汚染組織片を排除できる可能性があるともしています⁵⁾。

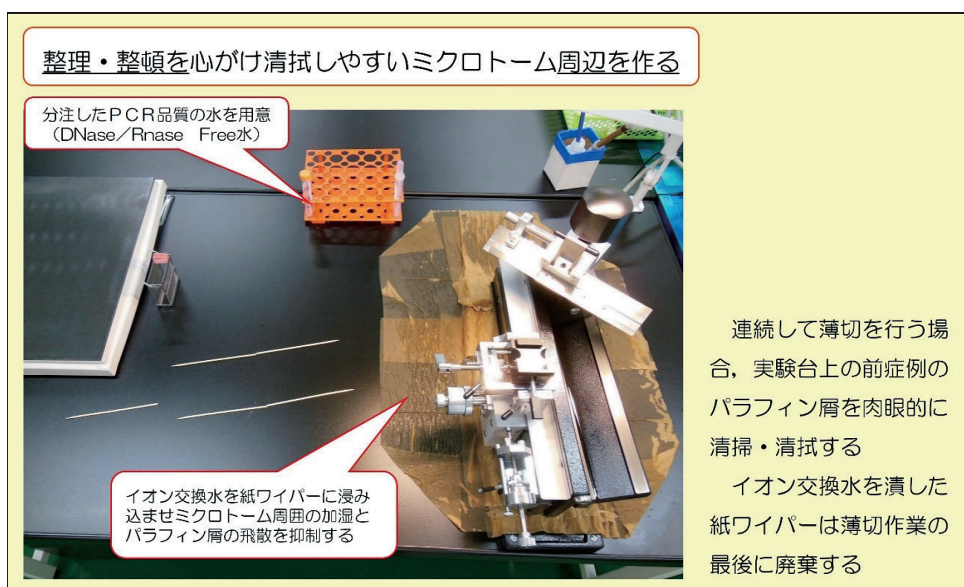
(2) 包埋

包埋時の相互汚染対策として参考資料⁶⁾では、1検体ごとにピンセットの先端をふき取るか、焼灼すると記載があります。日常業務では、参考にならないかもしれませんが、ピンセットを加温するホルダーは使用せず、ディスプレイの鉗子を溶融器(約65℃)であらかじめ加温し使用しています。ディスプレイの鉗子は、金属製の鉗子と比較して加温されにくいいため、微少検体を取り扱う場合には、金属製鉗子を使用しています。使用した金属製の鉗子や包埋皿は、パラフィン洗浄後、0.5%程度の次亜塩素酸Na水溶液で30分程度浸漬後、洗浄、乾燥して再利用しています。参考資料⁷⁾に記載があったため、過度な除染などは行わず特段に滅菌を加えることもしていません。図3で示すように経過とともに作業領域が清潔から不潔に変わるため、注意しながら作業を進めています。



■ 図3 清潔（汚染なし）・不潔（汚染あり）エリアの区別

包埋作業の経過とともに変化する清潔・不潔領域



■ 図4 清潔な薄切環境を整える（肉眼的レベルの対策）

(3) 薄切作業の準備

薄切環境整備は、相互汚染リスクを低減するため他検体のパラフィン屑が容易に目視でき、清掃・清拭が簡便に行えることを目的に作業動線の整理整頓も心掛けています。当初、油面滑走式マイクロームと回転式マイクロームを併用していましたが、カセット固定器の装着方向、切片吊上げ方法の違いや清拭手順が異なることから、手順を

統一するため油面滑走式マイクロームで作業しています。

マイクローム周囲にイオン交換水を浸み込ませたウエスを図4で示すように配置し空間の湿度を高める工夫をしています*。これにより加湿のみならずパラフィン屑の飛散抑制効果も期待できます。

*加湿効果を期待する反面「油面滑走式マイクローム」

トーム」では、錆の生じるリスクが高まるため、使用後は細部まで乾いたペーパータオルなどで拭き上げた後、マイクロームオイルを斑なく塗るなど防錆対策を丁寧に行う必要があります。

(4) FFPE ブロックの装着

ブロック固定器を用いて着脱を容易にしている施設が多いかと思いますが、すでに薄切した別の検体と動線が重なることになります。凹凸の形状から細部の清拭が難しく、他検体との接触を防ぐためラップを用いてブロック固定器を包む方法を採用しました。図5で示すように輪ゴムを用いてラップと固定器をまとめあげることにより薄切操作の妨げにならないようになりました。この対策により複数検体を扱う場合でも他検体との接触は軽減され、さらに連続切片薄切時の吊上げに失敗し落下した切片でもラップ上であれば拾い上げ使用することが可能となります。

(5) 薄切と貼付け

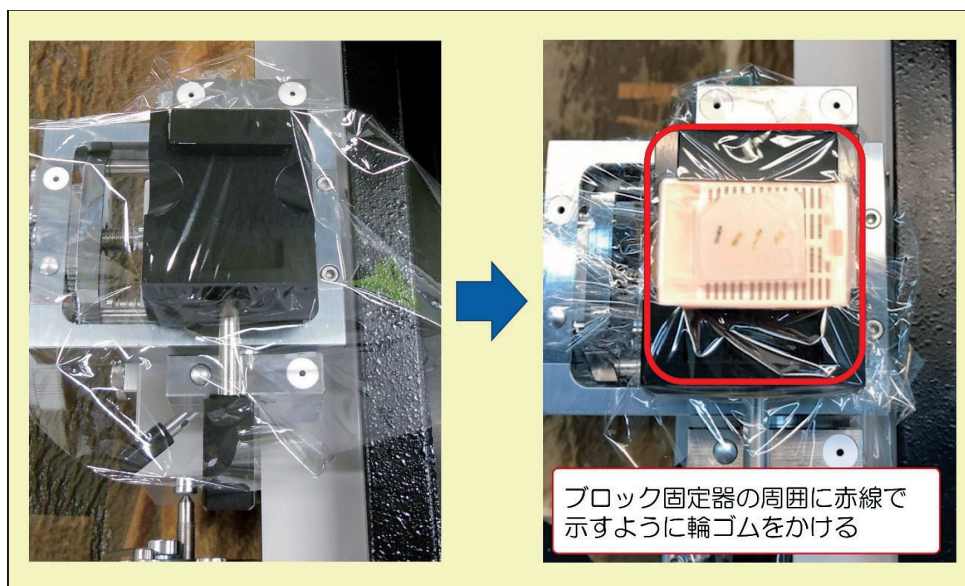
日常診療において推奨される事項として取扱い規程では、検体ごとにマイクローム刃を交換するなど、他検体のコンタミネーションに十分注意する。またグローブを着用するなど、核酸分解防止に努めることが望ましいとの記載に留まっています。

FAQ：ミストがない施設では息をかけて薄切しているかと思いますが、呼気中のヌクレアーゼ等阻害物質等の問題はあるのでしょうか？

呼気中に含まれる核酸分解酵素はリスク要因と考えられるため遺伝子標本作製室では、息吐きかけを回避する目的でマスクを着用し作業をしています。ミストを使用することも考えましたが、カビの繁殖などタンク内を清潔に保つための作業が増えるため使用していません。

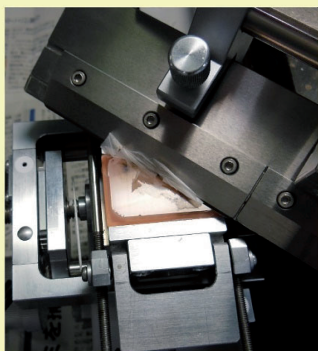
薄切のトラブルシューティングとして、冬期など湿度が低くブロック表面が静電気を帯びて切片のカーリング不足で割れや崩れが生じた場合には、図6で示すように静電気除去のためPCR品質水をブロック薄切面に直接重層あるいは、ペーパータオルにPCR品質水を漬し薄切面を覆います。1分程度静置すると概ね問題はなく薄切が可能となります。

一般的な薄切・貼付け作業は、水槽上に薄切切片を浮かせて一次伸展しますが、水槽の洗浄不足によるカビの繁殖や使用する水の入替を検体ごとに行うなど、核酸分解酵素汚染や相互汚染対策を考慮する必要がありました。参考資料⁸⁾の記載をもとに水槽を廃止してスライドガラスに直接切片を浮かせて貼り付ける方法を採用しました。資

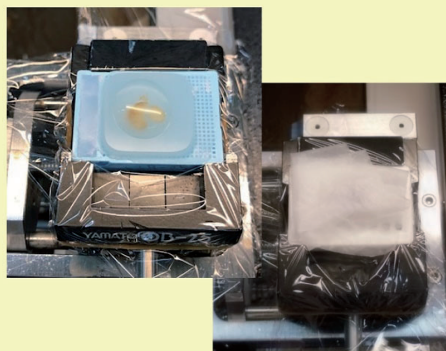


■ 図5 ブロック固定器への装着

遺伝子解析用未染標本作製では
息の吐きかけは、避けたほうがよい

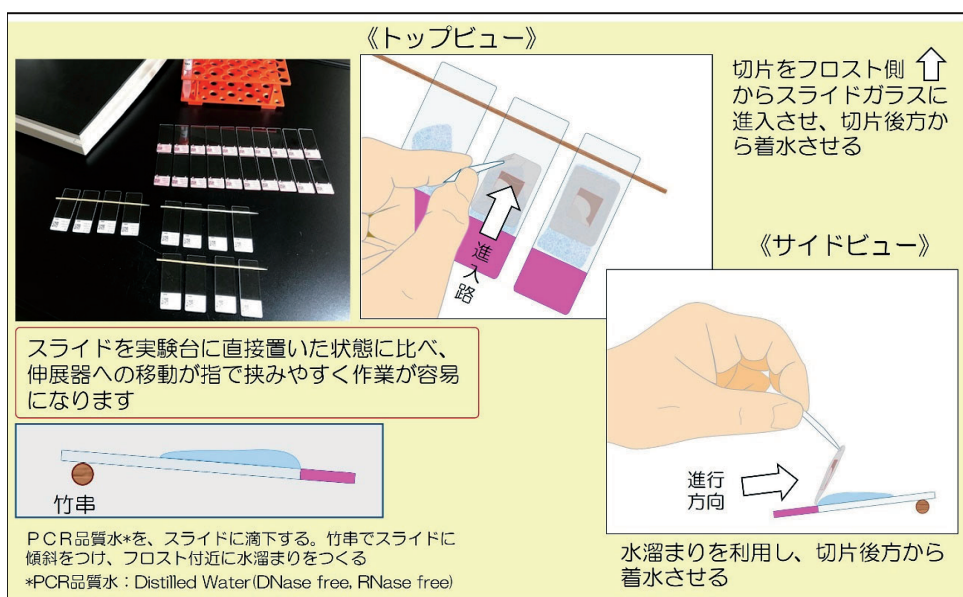


湿度が低くなる冬期では、特に静電気を帯びて切片内に割れや崩れが生じやすくなる



PCR品質水を薄切面に直接重層するか、
浸したペーパータオルで覆った後、
1分程度静置。概ね薄切は可能となります

■ 図6 薄切のトラブルシューティング《切片内標本割れや崩れが生じた場合の対処法》



■ 図7 直接貼付けの実際とコツ

料には切片を伸展板上に置いたスライドガラスの
上に乗せその上から水を滴下して切片を浮かせる
方法が記載されていましたが、とくに正荷電のス
ライドガラスでは加温により意図しない貼り付き
が生じるため、実験台上にスライドガラスを並
べ、あらかじめ水を滴下し切片を浮かせる方法と
しました。この際に使用する水は、核酸分解酵素
の混入を考慮し、参考資料⁷⁾で推奨している核

酸分解酵素フリー水（PCR 品質水）を使用しま
した。しかし、スライドガラスを直接実験台の上
に並べた場合、ガラスの裏に水が回って切片が流
れてしまうことや、伸展板への移動時にスライド
ガラスを弾いてしまうことがあり、ストレスを感
じる作業となっていました。図7で示すように
竹串を用いて若干の傾斜を加えたことによりガラ
ス上に多量の水を滴下しなくても、水溜まりを作

ることが容易になり、切片の貼付け操作や伸展板への移動もストレスなく行える作業となりました。

新聞紙などの敷物を使わず実験台に直接スライドガラスを並べているため、目視で行う移動後のパラフィン屑の汚染除去も簡便になり、肉眼的レベルで清潔な環境を保つことができます。

(6) 伸展と乾燥

FAQ：遺伝子検査の薄切はコーティングスライドを使用しているのですが、その必要はあるのでしょうか？

海外委託検査の場合、正荷電（コートガラス）での提出が求められている場合が多いため、依頼する検査の標本作製ガイドを確認する必要があります。また、乾燥条件は風乾や伸展器（hot plate）の使用は避けるなどの記載もあります。正荷電スライドを使用した場合、溶融器でベーキング（高温乾燥）を行うと組織切片がスライドガラスに強固に貼付き、ダイセクションによる核酸回収量が減る傾向があるとの指摘があります。腫瘍細胞含有率判定の HE 標本とダイセクション指示（マーキング）のためには、少なからず伸展させて未染標本と HE 標本の組織伸展を一致させる必要があります。この件についてメーカーに問合せたところ、未染標本と HE 標本の一致に必要な伸展では、“過度な加熱を避けて手短に伸展してください”と正式な文書ではありませんでしたが回答をいただきました。弊社遺伝子標本作製室の伸展条件は、45℃以下 10 ～ 20 分程度で行っています。この際、核酸分解酵素の混入を抑制するため切片貼付けの水は核酸分解酵素フリー水を選択するとよいと考えています。伸展器にも竹串同様にスライドに傾斜を持たせ水抜けを促進させています。乾燥では、金属製のハシゴなど使い回しができる器具は使用せず、ガムケース（スライド 5 枚入りケース）に充填し蓋を開放して 28℃設定のインキュベーターで一晩乾燥させています。病理医による腫瘍細胞含有率判定後、マーキング済 HE 染色標本や依頼書などの必要書類を照

合し、仕上がり確認をしたうえで遺伝子検査側へ引渡し核酸抽出工程に進みます。

(7) 作業後の清拭手順

清拭手順は、0.5% 次亜塩素酸 Na 水溶液→イオン交換水→80% アルコール（乾燥）の順に清拭します。0.5% 次亜塩素酸 Na 水溶液の清拭は、各種遺伝子検査の教本にも記載がありますが、作業スペースを乾燥させるため 80% アルコールで拭き上げる作業を加えています。また、ISO15189 では、紫外線照射装置の整備されたクリーンベンチがない場合では、0.5% 次亜塩素酸 Na 水溶液での清拭を推奨しています。さらに強力に除染をすべきでは？との意見もありますが、参考資料⁷⁾では過度の除染で PCR を阻害する可能性のある物質の使用は避けるべきとの記載がありました。まず、清掃・清拭がしやすい環境をつくるのが肝要だと考えています。

IV. おわりに

現在、病理組織診断後 FFPE 検体に対する遺伝子検査用未染標本作製の病理技術的な所作について手本となる教本は示されていない状況です。紹介した手順は、エビデンスの評価をもとに考案したものではありません。複数の参考資料（規程・ガイドラインなど）の記載とユーザー様の要望や指摘を参考に作成した、実施検証中の手順になります。継続するための要員数や技術の継承、考え方の教育などの後進育成や対応すべき優先課題も施設ごとに異なっていることなどもご理解のうえ一読していただけると幸いです。FAQ についてすべて記載しませんでした。未染標本作業に対し具体的な条件や手技についての疑問が多く寄せられています。検査の成否に関しては固定を中心としたプレアナリシス段階への対応が優先事項と考えますが、自施設だけで悩まず技師会の研究班などを活用して情報共有し、アイデアを出し合ってより良い方法を提案・発信いただけると幸いです。

V. 謝辞

本研修会で発表の機会をいただきました都臨技病理細胞診研究班の皆さまに感謝申し上げます。また、未染標本作製手順を考案するにあたり、ラップを用いたブロック固定器への装着法や薄切のトラブルシューティングの情報をいただきました大和光機工業の山本竜一様に、この場をお借りして御礼申し上げます。

参考資料

- 1) 日本病理学会（編）：ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱い規程，羊土社，2019
- 2) 日本病理学会・臨床検査医学会：がんゲノム検査全般に関する指針 第1.0版，2022
- 3) 日本病理学会・臨床検査医学会：がんゲノム検査全般に関する指針 参考資料
- 4) 日本臨床細胞学会：がんゲノム診療における細胞検体の取扱い指針 第1.0版，2021
- 5) Jennifer K. Sehn, *et al.* Occult Specimen Contamination in Routine Clinical Next-Generation Sequencing Testing. *American J Clin Pathol*, 144 (4) : 667-674, 2015
- 6) 日本病理学会：病理検体取扱いマニュアル－病理検体取り違えを防ぐために－，2016
- 7) Ian A Cree, *et al.* Guidance for laboratories performing molecular pathology for cancer patients. *J Clin Pathol*, 67 (11) : 923-931, 2014
- 8) 日本病理学会（編）：病理技術マニュアル3 病理組織標本作製技術 上巻 切出しから薄切まで，医歯薬出版（株）1981
- 9) 日本肺癌学会：肺癌患者における 次世代シーケンサーを用いた 遺伝子パネル検査の手引き第1.2版，2019
- 10) 実験病理組織技術研究会：実験病理組織標本作製の理論，2008
- 11) 日本臨床衛生検査技師会（監）：遺伝子・染色体検査技術教本，2019

『肺癌マルチ遺伝子検査のための 生検検体の取り扱いと精度向上のための工夫』

■開催日：2023年9月5日（火）

■講 師：東京医科大学

呼吸器・甲状腺外科学分野

垣花 昌俊

■生涯教育点数：専門-20点

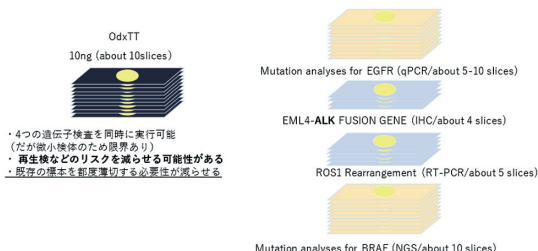
I. 緒言

- 「The Oncomine™ Dx Target Test® (ODxTT)」などの複数遺伝子検査は、次世代シーケンサー(NGS)を用いた進行性非小細胞肺癌(NSCLC)のコンパニオン診断システムとして登場した。このがん遺伝子パネル検査は個別化がん医療を加速させるための大きな一歩となった。
- ただし、経気管支肺政権の生検サンプルのサイズが小さいため検査結果が不安定であるため、生検検体内の腫瘍含有率の確保が課題である。

がん遺伝子検査

システム名	検査法	組織	抽出物	血漿
AmoyDx肺癌マルチ	qPCR	○	(D/R)	
オンコマインDxTTマルチ	NGS	○	(D/R)	
FoundationOne CDx	NGS	○	(D)	
FoundationOne Liquid CDx	NGS			(ctD)
肺がん コンパクトパネル® Dx	NGS	○ (※)	(D/R)	

The Oncomine™ Dx Target Test® (ODxTT)



本邦でも施設間で ODxTT の検査成功率にばらつきがあり、臨床上の問題となっている。そこで当施設での ODxTT の検査成功率と提出した検体の条件を検証することにより、検査成功に寄与する工夫を紹介する。

II. 当院での ODxTT 結果

2020年6月から2022年7月まで160例の検体を ODxTT へ提出していた。経気管支肺生検 (TBLB) 61例、経超音波内視鏡生検 (EBUS-TBNA) 42例、CTガイド下生検 (CTNB) 9例、肺手術症例44件、多臓器検体4例であった。

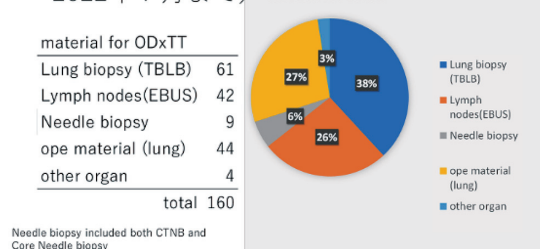
DNA 抽出不良による測定不能例は1例で TBLB 検体、腫瘍含有量は5%であった。

RNA 抽出不良による測定不能症例は3例、TBLB 検体、手術材料、CTNB 検体であった。

それぞれ腫瘍含有量は20%、20%、30%以上であった。

TBLB での成功率は、96.7%、EBUS-TBNA での成功率は100%、CTNB での成功率は88.9%、肺手術症例の成功率は97.7%、その他臓器の成功率は100%で全体は97.5%であった。

当科の ODxTT結果（2020年6月から2022年7月まで）



当科の ODxTT結果（2020年6月から2022年7月まで）

	5%	10%	15%	20%	25%	30%	不明	計
TBLB・TBB	7	0	7	3	16	7	21	61
EBUS	3	0	2	2	3	0	32	42
CTガイド・穿刺◎	0	0	1	0	3	1	3	9
手術	4	1	9	5	7	10	5	44
他臓器	0	0	0	1	0	1	2	4
変異・融合	7	1	8	5	15	7	29	74
%	50	100	42.1	45.5	51.7	36.8	45.3	50
測定不可	1(a)	0	0	1(b)(e)	0	1(d)	1(t)	

(a)RNA shortage, (b)BRAF,ROS1 failure, (c) Met skip positive
(d)exon20insertion failure, (e)ope material ALK,ROS1 failure

III. 当院での成功に対する考察

病理学、病理検査室において

腫瘍細胞数と腫瘍含有率は病理医が目視で評価し、腫瘍含有率は組織切片上における有核細胞数

中の腫瘍細胞の核が占める割合を算定することにガイドラインでは定められている。

当院では腫瘍含有量が少ない場合（20% 未満）、提出するガラスの枚数を最大 20 枚まで増やして提出、なんとか腫瘍量を確保するようにしている。このため 10% 未満の症例の測定不能症例は 1 例だけであった。この 1 例は抗がん剤使用後の再生検であり、検体内に viable な腫瘍細胞が少なかった可能性がある。

当科の ODxTT 結果（2020年6月から
2022年 7 月まで）

method	BRAF	EGFR	T790M	ALK	ROS1	RET
Lung biopsy (TBLB)						
Lung biopsy (TBLB)						
Lymph nodes(EBUS)						
Needle biopsy						
ope material (lung)						
other organ						

Success rate : 97.5%

IV. ODxTT 成功のための工夫

肺生検実施の立場として

1) ROSE （Rapid Onsite Evaluation）

当院では、CytoQuick®（武藤化学）を用いた ROSE を施行している。

Cyto Quick はフィールド染色を 2 ステップに改良し、染色時間を 20 秒に短縮したものである。ギムザ染色と同様に核内構造を明瞭に染色できるように調整されておりギムザとほぼ遜色なく観察が可能である。

経気管支肺生検では、最低 5 回同一部位から採取しないと診断に値する検体が採取されないとされている。さらに腫瘍含有量を確保するためにはこの 5 回の生検検体に確実に腫瘍細胞が含まれるよう従来の生検よりも精度をあげなくてはならない。ROSE を検体採取毎、あるいは 2 回に 1 回と頻回に繰り返し検体内の腫瘍細胞を担保することで腫瘍含有量を確保できると考える。

ROSE は経緒音波内視鏡下リンパ節生検では保険収載が認められているが、経気管支肺生検では認められていない。しかし積極的に ROSE を

行わないとならない現状である。

主に ROSE で行われる染色方法

染色法	迅速パパニコロウ	Gill-Shorr	Diff-Quik / Cyto Quick
固定法	湿固定/風乾	湿固定	風乾
工程数	5～8工程	8工程	3工程/2工程
近似した染色	パパニコロウ染色	パパニコロウ染色	Wright-Giemsa 染色

i) ROSE での細胞所見

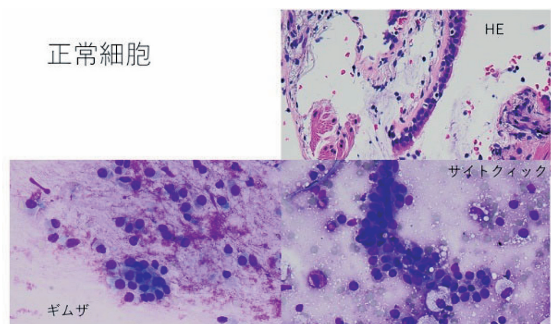
CytoQuick の A 液は水溶液であり長期室温保存では細菌が増殖するため分注して使用する。

CytoQuick の B 液はアルコールを含有しているが、A 液が混入するため染色性が次第に悪くなる。このため A、B 液両者とも新鮮さを保つことが肝要である。

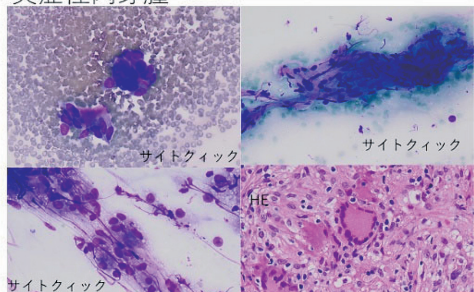
ROSE はオレンジ G を含有しないため角化した扁平上皮細胞を同定することが困難である。

また、細胞が膨化し、パパニコロウ染色の細胞に比べひとまわりも、ふたまわりも大きくなる。繊毛を欠いた繊毛円柱上皮細胞とマクロファージの鑑別や異型の弱い腺系異型細胞と謝る場合があるため注意が必要である。

正常細胞



炎症性肉芽腫



ii) 塗抹の際の工夫

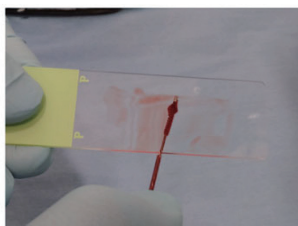
擦過ブラシの塗抹標本作成時は血液の付着が多いと乾燥に時間がかかる。血性背景では観察時に見にくい。というデメリットがあるため、湿固定のための塗抹を2枚ほど作成した後にROSE用の塗抹標本作製する。

EBUS-TBNAの捺印標本作成する際も血液成分が多いと乾燥に時間がかかる。

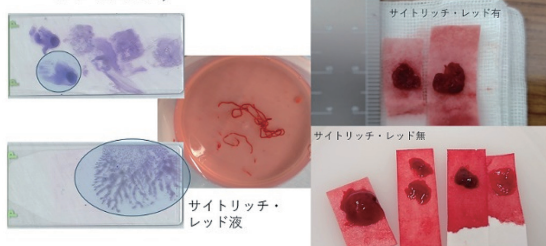
このため、BD サイトリッチ™ レッド保存液（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）を滅菌タッパー内に分注しておき血液成分の多いEBUS-TBNA検体の一部を溶結させる。この過程を経たクロット検体を濾紙にとり、水分を吸収させガラスに捺印していく。

これにより血性背景を現象させることが可能となる。

擦過標本；血液背景を少なくすること



EBUS-TBNA 捺印か圧挫か（偽陰性を減らすために）



iii) 悪性細胞の特徴的形態

染色法によらず、悪性細胞の形態的特徴は同一であると考え。肺癌取り扱い規約8版あるいはWHOの細胞診報告書式を参考に検鏡を行う。ROSEでは小細胞癌や神経内分泌腫瘍のような細胞質の乏しい小型から中型異型細胞を見ることがあるが、最終診断では扁平上皮癌であるこ

とがあるので注意が必要である。

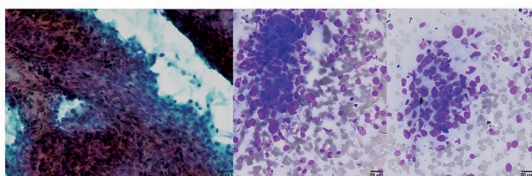
こうした診断結果に差異が生じた場合は、必ずHE染色標本や、パパニコロウ染色標本を振り返り、出現パターンなどの情報を蓄積していくことが重要である。

腺癌と扁平上皮癌を細胞学的に鑑別するための構造所見に関して

腺癌
① 孤立性
② シート状
③ 不規則重積性
④ 乳頭状
⑤ 微小乳頭状
⑥ 腺腔様
⑦ 柵状配列
⑧ 細胞集塊辺縁の核の突出
⑨ 蜂巣状/亀甲状

扁平上皮癌
⑩ 流れ様配列
⑪ 層状配列
⑫ 細胞集塊辺縁の扁平化
⑬ 細胞集塊辺縁の細胞質の突出
⑭ 細胞相互封入
⑮ 細胞間の空隙

扁平上皮癌を細胞学的に鑑別するための構造所見に関して



パパニコロウ染色では流れ様配列を呈するが、サイトクイック法では大型裸核様細胞が出現している

2) 生検の際の検体採取のためのデバイスの選択

経気管支肺生検でのデバイス選択

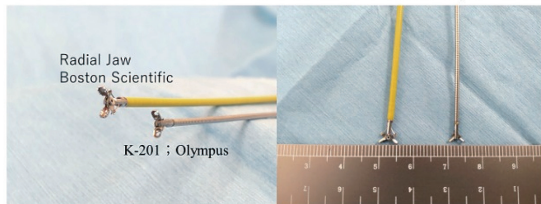
現在、経気管支肺生検では、ガイドシース法という方法を用いて生検を行っている。

腫瘍病変の位置をX線透視で確認し、その部位に生検鉗子を誘導するが、同一部位での生検が可能にするように腫瘍までガイドシースとよばれる外筒を留置し、その外筒内に生検鉗子を通す方法である。従来の生検鉗子よりも外筒を使用する分だけ鉗子径が細く、政権のカップも小さくなっている。このため1回に採取できる検体量が少ない。繰り返し腫瘍から生検できる確率は上昇するが、腫瘍細胞量を確保するためには繰り返し何回も生検を行う必要がある。当科では前述の通り最低5回が必須であるが、最高は15回ほど生検を行う。

腫瘍の位置まで鉗子先端を誘導するのに再現性が高い経路であれば、ガイドシースを用いずとも

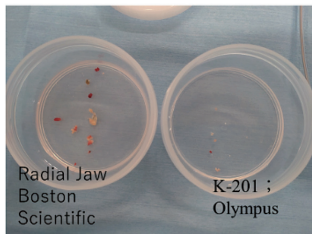
従来の鉗子を用いれば 1 回当たりの腫瘍細胞量は確実に増えるので、常にガイドシース法にこだわる必要はない。

To improve diagnostic accuracy
- two different kinds of forceps



If a guide sheath does not need to be used, biopsy is should be done with large-cup forceps

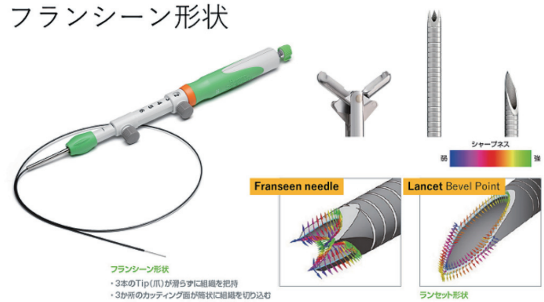
To improve diagnostic accuracy
- two different kinds of forceps



経超音波内視鏡下リンパ節生検でのデバイス選択

針生検に用いる針はランセットポイントと呼ばれる、中空の円柱を斜めに裁断した切り口を持つ針であることが通常である。現在は、この形状のほかに、フランシーン形状という新しい針先端の形状を持つ針が登場した。フランシーン形状針は 3 本のカッティングフェイスで穿刺することによって組織を切り取って採取する従来にない針の形状である。EBUS-TBNA は気管・気管支を構成する気管軟骨と気管軟骨の間の気管支平滑筋を穿刺するが軟骨にあたると針が専心しない場合がある。フランシーン針は穿刺力が強く軟骨のそばでも容易に先進し、内部の組織を筒状にきれいな切離面で採取することが可能である。組織量が十分に正診率の向上に寄与する、大きなシリンダー状の組織検体が得られるとされる。

フランシーン形状



3) 組織検体の保存の工夫

経気管支肺生検では鉗子で組織を圧搾しちぎり取る。このため多くとればとるほど検体がつぶれてしまう。これをそのまま固定すると核がつぶれ、腫瘍細胞の同定が困難になる。

これを解消するために採取した組織を 30mL のシリンジ内にホルマリンとともに吸い上げ、陰圧をかけて検体を進展させている。これにより腫瘍細胞以外の正常組織と腫瘍が離れ構造を確認しやすくなると同時に腫瘍量が増える。

リンパ節検体は前述したとおり BD サイトリッチ ™ レッド保存液を使用し血球を除去することで血性背景を減少させ、腫瘍量を相対的に上昇させることが可能となる。

4) 病理診断の立場として

生検検体での工夫

検体は必ず 10% 中性緩衝ホルマリン溶液に固定する。生検検体は 24 時間までに固定時間を制限する。このため土曜日が休日の施設では金曜日の生検はしないようにガイドラインでは定められている。当院では第 2, 4 土曜日が休診であるため、当番制を用いて検体をホルマリンから引き揚

げている。

腫瘍細胞含有量が20%以下の場合は、未染スライドを推奨枚数よりも多く提出、30%以上の場合は推奨枚数を遵守している。

手術検体の工夫

当院での肺葉切除の場合、リンパ節郭清という手技を肺葉切除後に行うことが多く、すべての術式が終了するまで検体が手術室内に室温で放置されていることが多い。このため、迅速に切除した肺を病理診断科へ届けることが急務となっている。この放置問題はなかなか当院では解決が難しく課題となっている。

手術検体においてもホルマリン浸漬時間を48時間（休前日の手術の場合72時間）までとする。検体の10倍の体積量のホルマリンを用いる。

いずれの検体も保存方法には留意し、3年以内の検体を用いて測定する。

V. まとめ

肺癌非手術症例に対する化学療法は個別化治療が標準となっている。このため採取された検体を

有効に活用するために保存方法、検体作成方法など微細な部分にまで気配りが必要である。これには外科、内科という垣根を越えて検体に真摯に向き合う必要がある。

また、化学療法の対象となる進行肺癌症例では微小検体である経気管支肺生検検体が勇逸の検体となるため、診断の正確性の向上に常に心掛けなければならない。

現在、検査器具の発達により、侵襲性が高いが大きな検体量の採取が可能な手技が開発されている。新しい技術の導入も大切だが、費用対効果の観点から従前の技法の成熟を考慮するべきであるとする。

手術室での検体の保管方法については今後も検討が必要である。

謝辞

下記の皆さまに感謝申し上げます（敬称略）。

人体病理学分野

- ・長尾 俊孝
- ・松林 純
- ・高橋 礼典
- ・谷川 真希
- ・平井 秀明

病理診断部

- ・三宅 真司
- ・渡部 顕章
- ・藤井 愛子
- ・稲垣 敦史
- ・小林 寛子
- ・大浦 真由実
- ・川野 恵美子
- ・金子 清花
- ・秋山 里佳子
- ・忽滑谷 昌平
- ・高橋 由美
- ・軽部 晃平
- ・坂本 佳
- ・佐藤 美佳
- ・及川 智世
- ・櫻井 百花

輸血検査研究班研修会一要旨

『輸血部門の施設における教育体制について』①

■開催日：2023年9月20日(水)

■講師：東京品川病院 医療技術部 臨床検査科
馬島 大

■生涯教育点数：専門-20点

I. 施設概要および臨床検査科運営体制

当院は、2018年4月に他組織より医療法人緑野会（現：社会医療法人社団 東京巨樹の会）に移譲され開院した許可病床数400床の急性期病院である。

臨床検査科は、臨床検査技師42名（常勤34名）を配置し、検体検査部門、生理機能検査部門、病理検査部門の3部門より構成されている。検体検査部門は、生化学・免疫化学検査、血液検査、一般検査、輸血検査、微生物検査、遺伝子検査の6部署に分かれ、検体検査部門担当者15名が複数部署を兼務する体制で運営される。

II. 輸血検査の研修期間と内容

1) 研修期間および内容

当院では、研修期間を夜勤可能レベル（1ヶ月）、日勤可能レベル（2ヶ月間）、日常検査習得レベル（9ヶ月間）の3段階に分けて研修を実施している。（図1）

研修内容としては、輸血依頼～血液製剤出庫ま

での基本的な流れと、夜勤を行ううえで必要な輸血検査を理解していただくことから始まる。また研修期間中に、緊急輸血に対するシミュレーション（図2）を取り入れることで、緊急事態にも冷静に対処できる要員の育成に取り組んでいる。

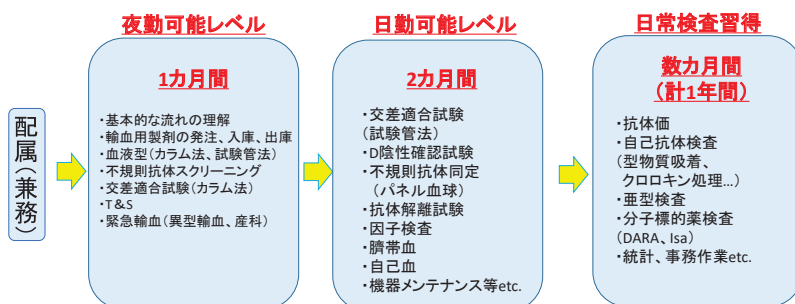
1ヶ月を修了し、夜勤可能レベルに達した研修者の中には、日勤帯で輸血検査を担当する要員への研修を進めることになる。試験管法で行う交差適合試験、D陰性確認試験、不規則抗体同定検査、抗体解離試験、因子検査、臍帯血検査、貯血式自己血の保管・管理について、全自動輸血装置メンテナンス等が該当する。ここまでの3ヶ月間は、研修者が他の業務を兼務することがないよう配慮し研修を行う。無事に修了し当院基準で合格に達した研修者は、日常検査で行われる輸血検査を習得するべく、数ヶ月かけて研修を行う。抗体価、自己抗体検査、亜型検査、分子標的薬検査、輸血検査部門における各種統計や事務作業が該当する。

2) 評価

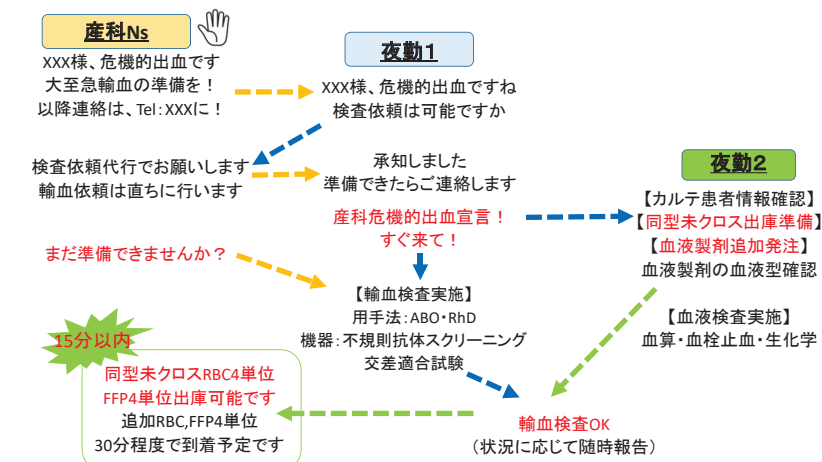
研修で行った内容は、スキルマップ表や力量評価表を用いて1ヶ月毎に評価を行う。

研修期間毎に求められる項目について評価を行うことで、研修者と指導者はともに進捗状況を共有できることから、理解度の向上に効果が高いことが考えられる。

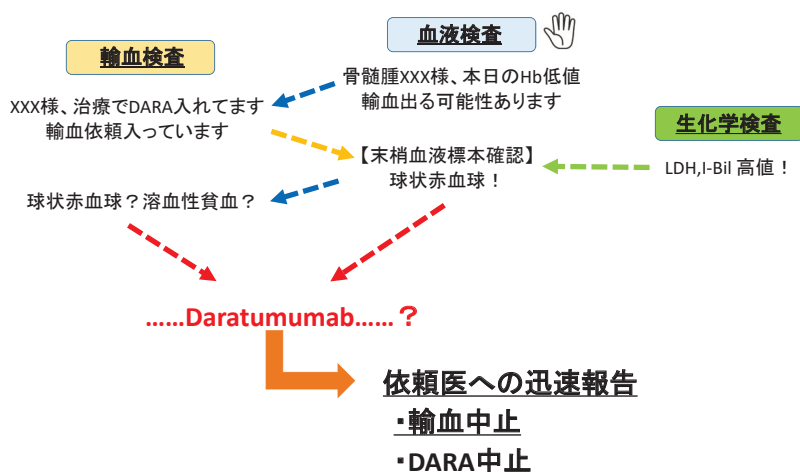
研修スケジュール



■ 図 1



■ 図 2



■ 図 3

3) 検査科勉強会と成果

臨床検査科内では、年間2回の輸血に関する勉強会と月間1回のR-CPCを開催している。これらの勉強会は、夜勤や日勤担当者の輸血検査に対する知識と技術の向上に寄与していることが考えられ、日常検査の中でその成果が得られた事例があった。(図3)

Ⅲ. 院内スタッフへの教育

医師や看護師に対しても研修を行っている。主に入職1年目の方に対し、電子カルテから輸血依頼方法、検査から血液製剤出庫までの所要時間、血液製剤や輸血検査についての基本的な知識が該当する。また普段から輸血を行わない医師

が、緊急輸血を迫られた場合に迅速な対応ができるよう、緊急度、患者状態、輸血前検査、院内輸血製剤在庫数などの教育を行っている。

Ⅳ. 今後の展望

当院は、開院6年目の病院であり臨床検査科も発展段階にある。現段階では、日本適合性協会が認定するISO 15189の取得を目指してシステム構築やスタッフの力量向上に努めている。将来的には、日本輸血・細胞治療学会が認定する輸血機能評価認定制度(I & A)取得、遺伝子検査を用いた輸血検査領域のアプローチ活用も視野に、継続的な輸血検査・輸血療法教育を行っていききたい。

『輸血部門の施設における教育体制について』②

■開催日：2023年9月20日(水)

■講師：東京医科歯科大学病院

相川 佳子

■生涯教育点数：専門-20点

I. はじめに

輸血教育には輸血専任技師の育成、普段輸血業務を行っていない日当直を行う輸血非選任技師への教育、学生教育がありそれぞれ指導内容が異なる。当院におけるそれぞれの教育体制について紹介する。

当院は輸血関連業務・細胞治療業務、外来採血室で採血業務を行っている。三次救命救急センターへ搬送される患者の中には緊急度の高い輸血が必要な場合もある。ISO 15189は検査部・病理部・輸血細胞治療センターの3部合同で取得している。

II. 輸血専任技師への教育

ISO 15189:2012 5.1.5 トレーニング(表1)では要員に対してa)～f)を含めた教育プログラムに基づいた検査室全般に関する教育訓練を実施しなければならない。

検査要員のレベルに合わせた教育プログラムを作成し、トレーニング後は力量評価を行い業務にあたり、知識・技量を高めるために継続的な教育を行う必要がある。

「輸血」は他の検査に比べ、検査を行った後に血液製剤を払い出す、輸血療法という「治療」に

深く関わるため、患者さんの状態によって、緊急度や対応が異なることもある。輸血専任技師には産科危機的出血や救命のための輸血など緊急度が高い輸血の際には速やかな状況把握、迅速かつ柔軟な対応ができることが望まれる。

初期教育や継続的教育として実施すべき内容、評価方法、指導を行うトレーナーに必要な条件についてISO 15189管理文書「教育訓練／力量評価手順書」や「教育プログラム」に定めている。業務習得記録は習得すべき項目が記載された様式(表2)を用いて以下の手順で行う。

①トレーナーは項目に従って説明を行う。

②新人技師は内容を十分理解し、単独で業務実施またはマニュアル参照下で実施できるか自己評価を行う。

③トレーナーは自己評価の終わった項目について知識・技術が十分か力量評価を行う。

④トレーナー・技術管理者からの承認をもって業務習得となる。

輸血検査以外の業務として行う同種クリオプレシピテート作製をはじめとする二次製剤の調整、成分採血装置の運転なども同様に業務習得確認記録を作成している。また業務スキルマップを作成し、検査室内の要員のスキル確認、教育トレーニングの進捗確認を行っている。教育計画とフェーズ(図1)の一例を示す。

経験年数によって、求められる役割があり、入職後検査全般の知識や技術の習得、社会人や医療人としての知識や対応を習得する。数年経験を積

■表1

5.1.5 トレーニング(教育・訓練)	
要求事項	ISO 15189:2012
検査室は、以下の領域を含むトレーニング(教育・訓練)を、すべての要員に対して提供しなければならない:	
a)	品質マネジメントシステム
b)	割り当てされた業務プロセス及び手順
c)	適応される検査情報システム
d)	有害インシデントの影響を回避又は抑制することを含む安全衛生
e)	倫理
f)	患者情報の守秘義務
トレーニング(教育・訓練)中の要員は、常に監督されなければならない	
トレーニング(教育・訓練)プログラムの効果は定期的にレビューされなければならない。	

■ 表 2

業務習得確認記録 (輸血)

TQ-QMS-0011_様式-7-03

(基本文書 : SM-BTO-10000 輸血検査運用マニュアル)

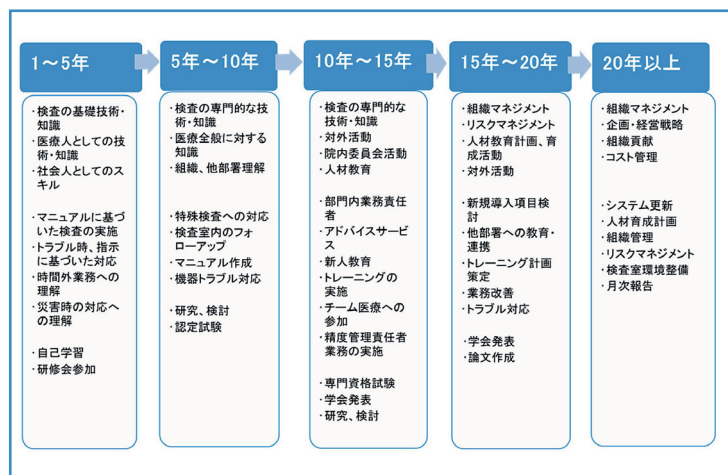
氏名 :

(付録書表) A. 業務習得 B. 補助業務習得 C. 業務不可

項目	習得事項	自己評価	トレーナーのコメント	トレーナー 評価	技術管理主任 力評価
作業時手帳	(1) 輸血検査室の開設				
	(2) 室内灯点灯				
	(3) ORTHO VISION [®] Max機器立ち上げ				
	(4) 自動血液洗浄システム立ち上げ				
	(5) 採血室の開設、温度記録				
	(6) 恒温度の電源ON				
	(7) 自動血液洗浄機の電源ON (1回洗浄) インナーチャンバ、ボウル、 ロータ、ディストリビュータ、ドレンカバのセット				
	(8) イムノゲル交換方法				
	(9) 遠心機の電源ON				
	(10) 組織水製造装置の使用法				
作業時手帳	(1) ORTHO VISION [®] Max機器シャットダウン				
	(2) 採血室の開設、温度記録				
	(3) BLS-BTC-0023「輸血部業務日誌」記録				
	(4) 恒温度の電源OFF				
	(5) 自動血液洗浄機の電源OFF、ドレンカバ、ディストリビュータ、 ロータ、ボウル、インナーチャンバの取り外し・消毒・洗浄方法				
	(6) 遠心機の電源OFF				
	(7) 検査台の清掃				
	(8) 毎週末シシタの清掃				
	(9) 患者様室・説明室の施設確認				
	(10) 室内灯点灯				
所有確認業務	(1) 輸血検査室の施設				
	1) 機体の外観チェック				
	2) 到着確認				
	(1) 輸血システムによる到着確認				
	(2) 受付番号発行と機体ラベルへの転記				
	(3) 不適切オーダーへの対応				
	3) 検査前処理				
	(1) 遠心分離				
	(2) 遠心分離の確認				
	4) フロアリン転出の有無				

1/4

1/4



■ 図 1

んだ後は専門的な知識・技術の習得，組織の一員として，新人教育，院内他部門との連携がとれる人材が必要である。役割ごとに必要なスキルを身につけることで組織の能力・パフォーマンス向上につながる。また日々の業務のほかに，少し先のフェーズを見据えて自己研鑽の実施，指導するトレーナー側もフェーズにあったサポートが必要である。また「この技師がいないと特定の業務ができない」という状態を回避するために，交代でリーダー制を取り入れ，検査室の状況把握，業務管理，緊急輸血時のコマンダー，トラブル対応ができるようリーダー育成を開始した。

Ⅲ. 日勤夜勤業務を担当する非専任技師の教育

当院では今年より現在輸血専任技師による 24 時間対応（1 名体制）を開始したが以前は検査部技師と合同で生化学等の緊急検査と輸血業務を行っていた。（2 名体制）

時間外の輸血の中には急がない輸血もあるが，術中出血への輸血，救命のための輸血も含まれ，日中とは異なりマンパワーが少ない状況で対応しなければならない。

検査部に入職した検査技師は各部署を数ヶ月かけてローテーションするような研修期間はなく，

新規入職者オリエンテーションを受けたのちに配属された各部署で3ヶ月程度業務を習得する。3ヶ月目以降、日勤夜勤業務トレーニングとして輸血を含め、各機器の測定・メンテナンス等のトレーニングを受ける。輸血トレーニングは初めに輸血療法について座学で学び、検体検査・交差適合試験・製剤管理について2～3時間を5回のトレーニングを行い業務習得する。トレーニングに用いる資料はシステム画面や手順ごとの重要なポイント、検査の流れがのちに見返しても分かるよう写真を多く取り入れ復習しやすいよう作成した。業務習得後（入職6ヶ月目以降）、OJT（On The Job）で業務として行い最終確認を終えてローテーションに組み込まれる。

業務習得後は継続的力量評価（年1回）、アンケート（年1回）、研修会等、定期的教育を行っている。アンケートでは例年緊急輸血に対する対応が求められることに不安が強いということが挙げられるため、非専任技師の要望に沿ってブラッシュアップ研修会を開催した。日勤夜勤者へは丁寧な申し送り・周知の徹底、臨床からの難易度の高い問い合わせやトラブル発生時、対応困難症例には都度輸血専任技師が電話対応で支援を行った。

IV. 学生教育

毎年多くの学生実習の受け入れを行っている。学校により実習期間・時間ともに異なるがコロナ禍により臨地実習の在り方も見直しが必要とされた。1班の人数が7～8人と多い場合に十分な実習スペースが確保できないため、2グループに

分け、病院実習を行う時間、自宅等で課題実習を行う時間に分け密を避けた環境を整えた。課題実習は調べた内容を3分程度にまとめ、グループ内でオンライン発表することとし、グループ内の質疑応答・実習指導者からの解説を行った。学生の満足度も高く、アンケートではよい評価であった。また、実習指導者側も発表内容に対して質問・解説を行うため、今までとは異なる指導力を求められよい経験になった。

V. まとめ

各施設や運用により教育体制は異なるが、深い知識と広い視野、冷静に対応できる輸血検査技師の育成、そしてチーム医療を円滑に行うためにも、教育を受ける側、指導する側にそれぞれ参考にしていただきたいことをまとめた。

教育を受ける側

- ① 自分の成長のために全力を尽くす
- ② 自分の限界を決めない
- ③ 自分のスキルを把握する
- ④ 質問をする

指導者側

- ① 相手の力量に合わせた指導方法であるか
- ② 相手の理解度を確認する
- ③ 大事なポイントの復習
- ④ 質問の受付

指導・教育をする側も一方的に伝えるのではなく、正しく理解してもらうための指導方法について学びの機会としてより良い人材育成を行っていただきたい。

『赤十字血液センター MR の業務について』

■開催日：2023 年 11 月 15 日（水）

■講 師：東京都赤十字血液センター
事業推進一部付課長 学術情報担当
飴谷 利江子

■生涯教育点数：専門-20 点

I. はじめに

「医薬情報担当者（MR）とは、医薬品の適正な使用に資するために、医療関係者を訪問すること等により安全管理情報を収集し、提供することを主な業務として行う者をいう」とGVP 省令（医薬品、医薬部外品、化粧品、医療機器及び再生医療等製品の製造販売後安全管理の基準に関する省令）で定義されている¹⁾。医薬品製造販売業者である日本赤十字社においても事業運営体制とは別に、GVP 省令に基づく安全管理体制が定められ、法令に基づく安全確保業務が行われている。

医薬品がより有効に、より安全に使用されるためには、科学的で正確な安全管理情報を正しく、迅速に伝達することが重要である。また添付文書

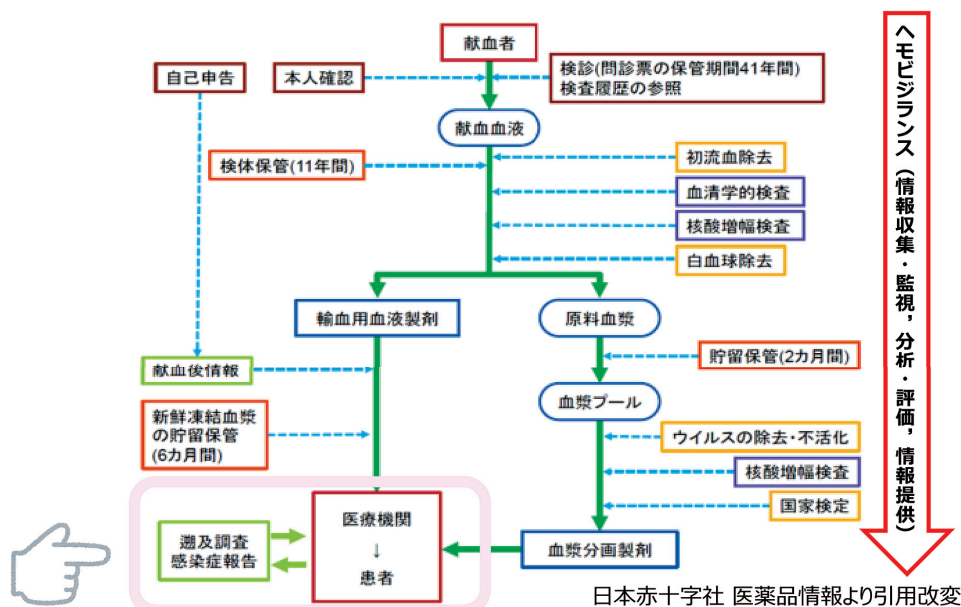
やガイドラインに記載された内容に沿って、適正に使用しても回避できない有害事象は存在するため、常に情報収集に努めなければならない。さらに日本赤十字社は、輸血用血液製剤の国内唯一の製造販売業者であり、日本赤十字社の MR には血液事業の担い手としての役割と使命が加わっている。

赤十字血液センター（以下、血液センター）MR の業務内容と東京都赤十字血液センター（以下、東京都センター）MR の活動について紹介する。

II. MR の業務について

図 1 に血液製剤に対する日本赤十字社の安全対策を示す。献血者の検診や検査履歴の参照および本人確認を実施し、採血基準等を満たしている場合、採血へと進む。採血された血液は各種検査や製造工程を経て輸血用血液製剤として医療機関に届けられ、輸血に使用される。この一連の過程の中で、MR が大きく関与するのは「遡及調査、感染症報告」である。

日本赤十字社
Japanese Red Cross Society



日本赤十字社 医薬品情報より引用改変

■ 図 1 採血（献血者）から輸血（患者）への流れと安全対策

1. 適正使用等に関する情報提供・収集

血液製剤の適正使用については、「安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律」に医療関係者の責務として明記されている。適正使用の推進、輸血用血液製剤の取り扱いや輸血副作用に関する情報の周知のために情報媒体を活用した情報提供・収集を行っている。使用する媒体は、「血液製剤の使用指針」、「輸血療法の実施に関する指針」等厚生労働省の通知の他に、「輸血情報」や「輸血用血液製剤取り扱いマニュアル」などがある。また、日本赤十字社医薬品情報ホームページの紹介も行っている。

2. 有害事象等（副作用・感染症報告）の対応

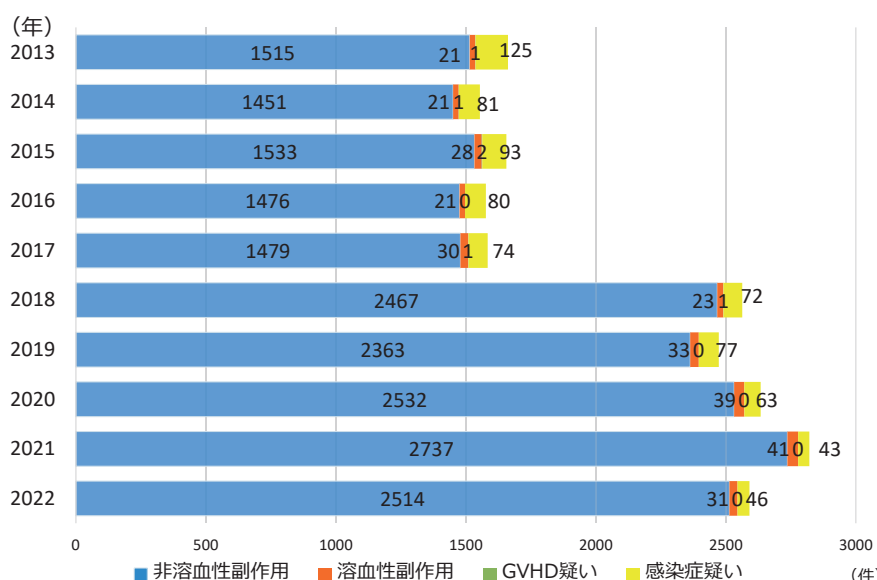
図2に血液センターに報告された副作用・感染症報告数の推移を示す。情報源としては、医療機関から日本赤十字社に報告された情報（自発報告）と供血者の検査結果が陽転化した等、血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン²⁾に基づく情報提供により受血者の感染が疑われた情報（遡及調査）等があるが、ここに示した医療機関からの自発報告が最も多くなっている。

医療機関からの副作用・感染症発生の連絡を受

けた場合、医薬品医療機器等法に基づき情報収集を行う。発生連絡時には、患者識別情報（イニシャル、年齢、性別）、副作用・感染症名、状況（症状）、発現日、輸血開始からの経過時間、輸血との因果関係の有無、被疑薬名、製造番号、単位数、輸血日、重篤度（重篤、非重篤）の情報を入手する。該当する症例については、詳細調査となり、詳細調査票の記入を依頼し、併せて患者検体の提供を受け、原因調査を実施する。調査終了後、調査結果の報告を行う。詳細調査を行わない症例については、調査の終了を連絡する。

3. 遡及調査の対応

「遡及調査とは、病原体の存在が疑われた供（献）血者の過去の供（献）血血液又は輸血等により感染が疑われた血液製剤等に関する情報及びこれらの供（献）血血液から製造された血液製剤の情報、当該製剤が投与された患者の感染に係る情報等を収集し、それを科学的に分析・評価することである。」と血液製剤等に係る遡及調査ガイドラインに定義されている。遡及調査となる情報は様々あるが、もっとも多いのは、複数回献血者の陽転情報である。とくに遡及調査ガイドライン



輸血情報2308-181より

図2 赤十字血液センターに報告された輸血副作用・感染症報告件数の推移

の一部改正により、調査対象範囲の病原体に HEV が追加され事例数が増加している。事例が発生すると対象医療機関に情報を提供し、調査依頼を行い、対象血液が輸血に使用されていた場合は、受血者の情報を収集する。対象血液が有効期限内の場合は、まず電話で使用停止を依頼し、FAX で調査書類を送付している。

4. 苦情・回収の対応

医療機関と血液センターの窓口として、医療機関からの血液製剤の苦情品に関して、内容確認や対象製剤の引取を行い、調査結果の報告を行っている。苦情例としては、交差適合試験不適合（直接抗グロブリン試験陽性疑い含む）、凝集塊、フィルター詰まりなどがある。また、回収品が発生した場合、当該製剤の引取も実施している。

5. 説明会等の活動

輸血用血液製剤の取り扱い、製品情報、輸血副作用に関する内容など、適正使用や安全な輸血医療の推進のため積極的に説明会を実施している。近年は在宅輸血が増加しており、新規登録医療機関に対する説明会も増加している。その他として、院内輸血療法委員会への参加や合同輸血療法委員会の開催などを行っている。

Ⅲ. 東京都センター MR の活動

1. 看護師対象研修会「輸血に関する基礎セミナー」

日々の MR 活動は、どうしても大規模医療機関、輸血検査部門が中心になる。訪問ができていない中小規模医療機関の輸血現場の看護師への情報提供を目的に招集型看護師セミナーを 2017 年から開催している。内容は、輸血用血液製剤が医療機関に届くまでの流れ、取り扱い、輸血セットの使用方法（実技含む）、輸血副作用の現状、自己血採血についてで、参加者は、血液センター研修室という会場スペースの関係で 1 施設 1 名に限定しており、毎回 100 名程度である。開催後のアンケート結果より、輸血手順の確認効果が高く、院内に伝達することで施設のスキルアップに繋がることから、有用な研修会であると考え

る。コロナ禍を経て今年度は 4 年ぶりの開催を計画している。

2. Web 配信「輸血の基礎を学ぼう」

コロナ禍で訪問しての院内説明会の開催が難しくなり、招集型看護師研修会の開催も見送ったため、それらを補完する目的で 2021 年から医療従事者を対象とした動画配信を開始した。1 回 30 分程度で月 1 回の定期開催とし、動画配信以外にも輸血情報など最新情報の提供も行った。2021 年度は、当初 6 回の配信を医療機関に案内していたが、音声の不具合により再配信を実施した内容や追加した内容もあり、合計 9 回の配信を実施した。予定していた第 1 回から第 6 回までの同時接続数は平均 250 であり、参加者の評価も概ね高評価であり、説明会の補完以上の効果があったと考える。2023 年度は、全 10 回の配信を実施中である（図 3）。

3. 小規模医療機関（在宅輸血）への対応

2015 年の地域医療構想策定に伴い在宅輸血への移行が進んでおり、東京都においても例外ではない。東京都センターでは、2017 年に東京都における在宅輸血の実態を調査し、医療従事者が不在の時間帯が存在し輸血中の患者観察に課題があること、血液センターでは把握することができない訪問看護ステーションが関与することを確認した。その後、在宅輸血に造詣の深い医師や法人とともに第 1 回在宅輸血連携研修会を実施した（図 4）。在宅輸血に関心がある医師や輸血経験のない訪問看護師を対象とした研修会で、平日夜の開催だったが、多くの参加者を得た。コロナ禍で在宅輸血・動画作成プロジェクトに移行したが、2023 年は研修会の開催を予定している。

Ⅳ. まとめ

血液センター MR は、適正使用の推進や安全な輸血医療に寄与するために、法令に基づいて業務を行っている。業務の内容には、医療機関の協力が不可欠なことも多い。チーム医療と言われているが、血液センター MR も輸血医療のチーム

輸血の基礎を学ぼう

2021年から好評をいただいておりますWeb配信「輸血の基礎を学ぼう」について今年度も開催いたします。輸血医療、特に輸血用血液製剤に関する基礎知識の向上を目的として、医療従事者を対象としたWeb配信(Microsoft Teamsでの動画配信)となります。

配信スケジュール

	日時	配信内容
第1回	2023年5月24日(水)	血液製剤ができるまで
第2回	2023年6月28日(水)	血液製剤の取り扱い
第3回	2023年7月26日(水)	輸血副作用
第4回	2023年8月23日(水)	輸血感染症
第5回	2023年9月27日(水)	輸血関連検査(血液型検査)
第6回	2023年10月25日(水)	輸血関連検査(血液型検査・抗体検査)
第7回	2023年11月22日(水)	輸血過誤の防止
第8回	2023年12月20日(水)	輸血用血液製剤の関連法規
第9回	2024年1月24日(水)	自己血採血の実態
第10回	2024年2月28日(水)	特別講演(内容は決まり次第ご連絡いたします)

※ 各回とも17:30から配信開始となります。18:15までにアクセスするとシークバーを操作することで、追っかけ再生が可能です。

昨年度まで配信をご登録いただいていた方につきましても再度登録が必要となりますので、お手数ですがご登録頂きます様よろしくお願い致します。

日本赤十字社 東京都赤十字血液センター
Japanese Red Cross Society

登録・視聴方法

事前登録は①～③いずれかの方法にて**配信日まで**受付しております

① 以下のURLから施設名、氏名、メールアドレスをご登録いただけます。

<https://forms.office.com/r/0tzubpvGZ8>

※ 当日使用予定の端末(PCやスマートフォン等)からご登録ください。

② 参加希望のアドレスより tky.gakujutsu@ktsk.bbc.jrc.or.jp へ、施設名、氏名、参加を希望する配信を記載して、直接、メールにてお申し込みください。

③ 下記のお問い合わせ先より、直接、電話にてお申し込みください。

登録メールアドレスに送られてくるリンクよりに参加ください

・ 配信Webサイトは開始15分前よりアクセス可能です。
・ 視聴後はアンケートサイトのリンクより、アンケートのご協力をお願いいたします。内容に関する質問などはアンケートにご記入ください。後日回答いたします。

参加環境に関して

・ 参加する方に**ライセンスは不要**です。
・ PCはWebブラウザ(Google Chromeなど)、またはTeamsアプリで視聴可能です。
・ Webブラウザからの視聴は**匿名で参加**をクリックしてご参加ください。
・ スマートフォン、タブレット端末からは**Teamsアプリのインストールが必要**です。またデータ通信量にご留意ください。

※ 個人情報の取り扱いについて
ご登録いただいた個人情報については、本目的にかかる業務のみに使用することとし、日本赤十字社のプライバシーポリシーに則り厳重に取り扱います。

下記ウェブサイト内にも案内がございます。

東京都赤十字血液センター 医療情報

お問い合わせ先
東京都赤十字血液センター 学術情報・供給課(学術係)
TEL: 03-5272-3519 Mail: tky.gakujutsu@ktsk.bbc.jrc.or.jp
受付時間: 9:00~17:00 (土日祝日を除く)

図 3

第1回在宅輸血連携研修会

血液在宅ネットと研修会実施。
輸血経験のない看護師(訪問看護)中心で、在宅輸血に関心がある医師等を対象。

参加者92名:
看護師68名、医師15名、薬剤師1名
その他8名



90%が「満足」
看護師の大半は在宅輸血の経験あり。
スキルアップ、他施設との情報共有のため。

Japanese Journal of Transfusion and Cell Therapy, Vol. 66, No. 5 66(5): 686-686, 2020

一編者への手紙

訪問看護士を対象とした在宅輸血連携研修会の実施について

大橋 晃太^a 太田 祥一^b 前谷利江子^c 石丸 文彦^d 藤田 浩^e

第1回 在宅輸血連携研修会

～これから在宅輸血にかかわる方々へ～

近年、地域包括ケアシステムの元、輸血の継続を望まれる患者様の在宅療養も増加しています。在宅赤血球輸血ガイド(日本輸血・血液学会)に代表される、指針も提供されています。現場での輸血実施には、在宅医に加えて、担い手となる訪問看護師の活躍が不可欠です。より多くの患者様がその恩恵を享受できるように、必要ノウハウを習得できる研修会を開催いたします。

《プログラム》(敬称略)

- I. 在宅輸血の必要性と実際 ～訪問看護の役割～
大橋 晃太(トラス佳野クリニック院長・血液在宅ネット世話人)
- II. 訪問看護ステーションアンケート調査結果について
藤田 浩(東京都立墨東病院 輸血部 部長)
- III. 血液製剤の取り扱いについて(模擬製剤での実習)
前谷 利江子(東京都赤十字血液センター)
- IV. 輸血中のトラブルへの対処について
太田 祥一(東京クリニック院長)

日時: 2020年1月17日(金) 19:00～20:30
場所: 柏江エコマホール 6階 展示多目的室
柏江光栄第1-2-1 (柏江市民ホール) TEL: 03-3430-4106

対象: 看護師(訪問看護)中心、在宅輸血に関心のある医師等
受講料: 無料
申込方法: 裏面申込用紙に必要事項記入し、事務局(03-5761-2753)までfaxでご応募下さい。
募集人数: 定員100名(先着)

企画・運営:
この研修会は、在宅輸血研究会 および 血液在宅ネット
(<https://homeo-hemorec.net/>) で企画運営しております

図 4

の一員と認識してもらえるよう活動が続けていきたい。また、円滑な血液事業の遂行には、相互理解と連携強化が重要であり、様々な場面で連携していきたい。

参考資料

- 1) 医薬品、医薬部外品、化粧品、医療機器及び再生医療等製品の製造販売後安全管理の基準に関する省令、平成16年厚生労働省令第135号
- 2) 血液製剤等の適及調査ガイドライン、平成17年3月(令和4年5月一部改正) 厚生労働省医薬・生活衛生局血液対策課

生理検査研究班研修会一要旨

『知っておくと得する、精密呼吸機能検査の ハナシ～FRCとDLcoを中心に～』

■開催日：2023年7月13日（木）

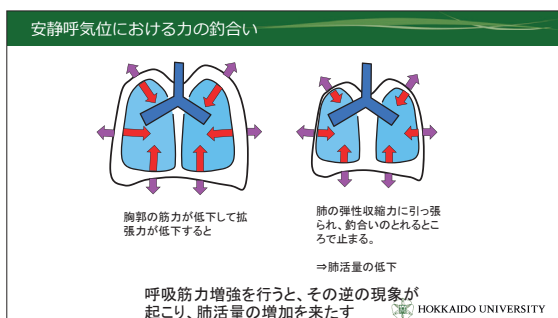
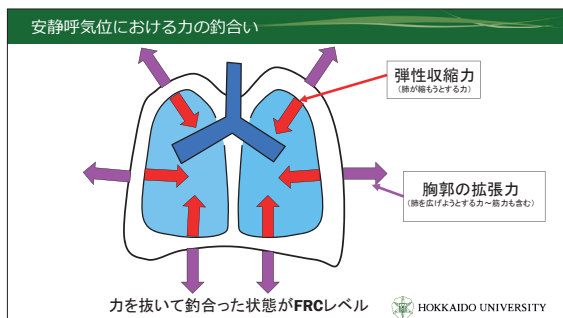
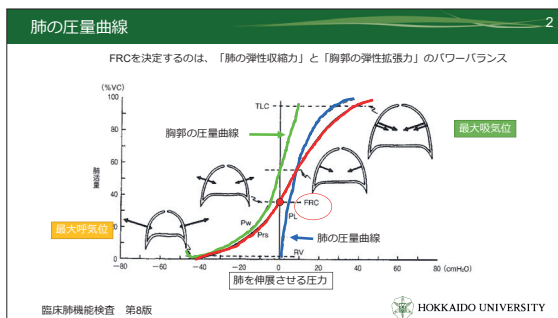
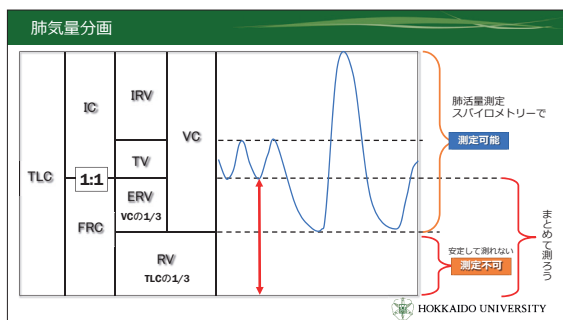
■講 師：北海道大学病院
山本 雅史

■生涯教育点数：基礎-20点

HOKKAIDO UNIVERSITY

知っておくと得する、精密呼吸機能検査のハナシ
～FRCとDLcoを中心に～

やまもと まさふみ
山本 雅史
北海道大学病院 検査・輸血部



機能的残量を測る方法

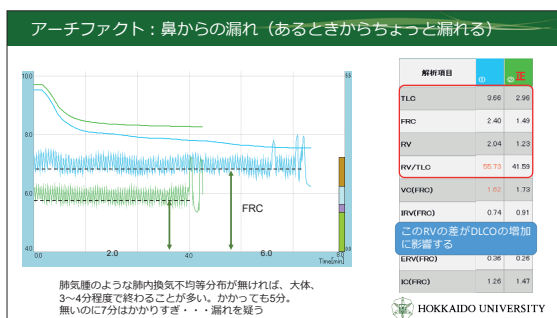
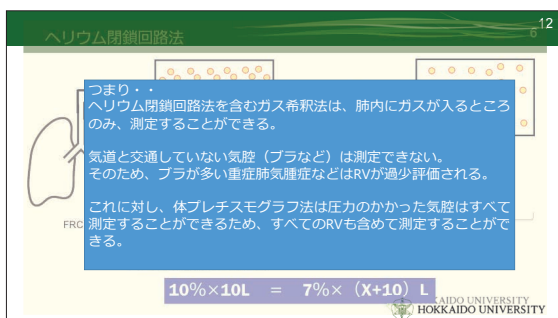
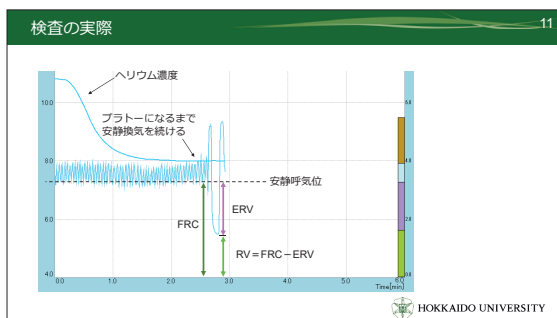
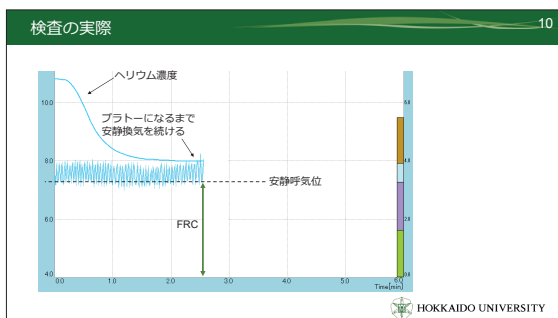
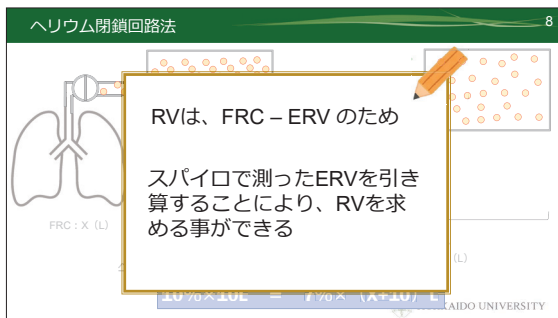
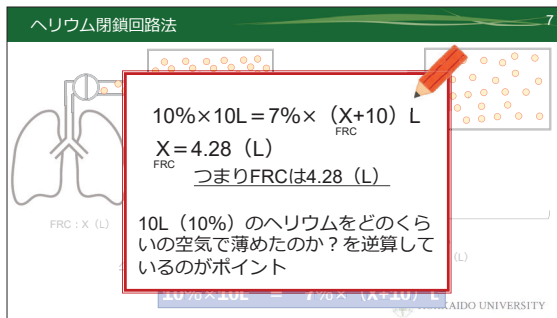
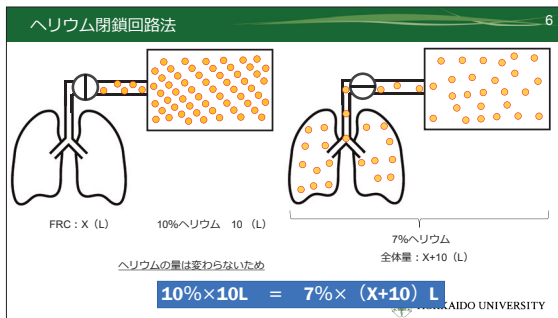
5

- ガス希釈法
 - ・ヘリウムを指示ガスとした閉鎖回路法 → チェストフクダ電子
 - ・窒素を指示ガスとした開放回路法 → ミナト
- 体プレシモグラフィ法 → チェストフクダ電子

ヘリウム閉鎖回路法が国内で最も普及している

主要国内販売業者

HOKKAIDO UNIVERSITY



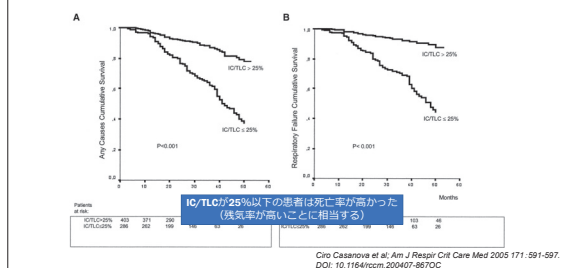
最低5分以上開ける

※ヘリウムが安定になるのに要した時間だけ開ける必要がある
ヘリウムが完全に抜けるまで、安定するのに要した時間が必要

健康者なら3~4分。肺気腫のように肺内換気不均等分布が存在する場合は、5分以上かかる（多い人で10分近く）。7分かつたら7分開けて再測定と考えると良い。

ガス分析を必要とする検査について
同様の考え方でOK！（DLco等）

もし重症患者で9分かつた患者を再測定したくないので、絶対1回で成功させるように自分に気合いを入れる（笑）



術前呼吸機能検査値（肺血流シンチ含む）から予測することが可能

●予測健側FEV₁

予測健側FEV₁ = 術前FEV₁ × 健側肺血流分画

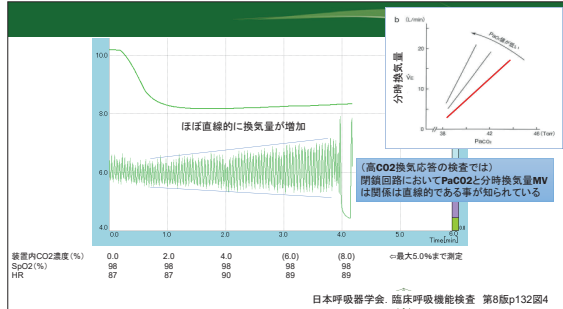
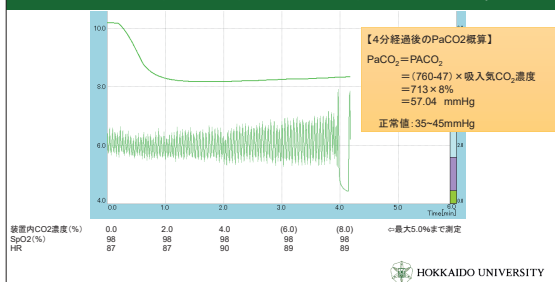
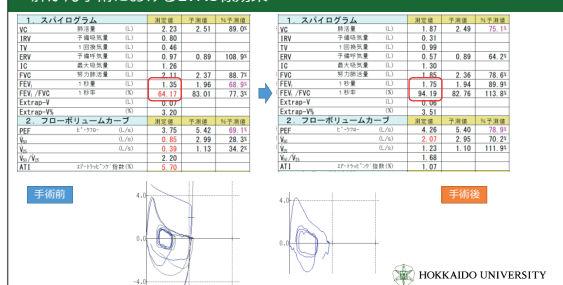
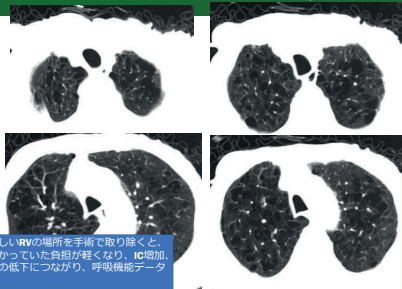
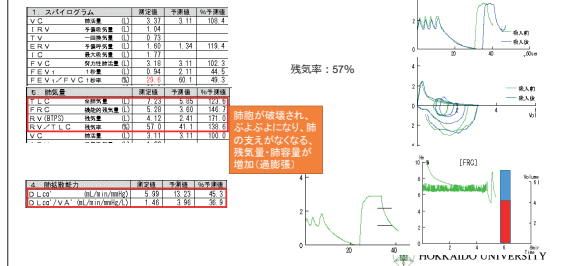
●残存呼吸機能予測（区域数から）

予測術後VC = 術前VC × (1-術前肺血流比 × 切除肺区域数 / 術前肺区域数)

基本的に肺切除を行うと、術後呼吸機能は低下する
しかし、肺気腫（気腫型COPD）がある患者の場合は？

取ったら減る？

肺容積減少手術 LVRS: Lung Volume Reduction Surgery



- 



VC	: 1.72 L (49.0%)		
FEV ₁ /FVC	: 76.8%		
TLC	: 2.79 L (50.2%)		
D ^L _{CO}	: 11.41 (56.9%)	⇒	拡散能力低下
D ^L _{CO} /V _A	: 5.62 (114.7%)	⇒	単位体積あたりの拡散能

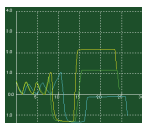


「拡散障害はない」としていいの？

-
- 肺気量の低下は K_{CO} に大きく影響を与える
- K_{CO} (D_{LCO}/VA)
- D_{LCO}
● K_{CO}
- D_{CO} or K_{CO} (fraction)
- VA (fraction at TLC)

Johnson DC. Importance of adjusting carbon monoxide diffusing capacity (DLCO) and carbon monoxide transfer coefficient (KCO) for alveolar volume. *Respir Med* 2000;94:38-37

製品/用途	1976/77年	10年累計	20年累計	30年累計
	千トン	千トン	千トン	千トン
VI	3.42	1.02	3.22	3.47
VC	355	3.62	44.7	
Press				
Line	28.71	21.63	184.4	
Line	28.71	19.78	165	17.02
Line/VK	5.59	5.14	30.4	10.83
Line/VK	5.59	5.14	30.4	10.83
Press				
VA(BTP)-S	512			
VA(BTP)S	4.68	2.94	3.64	4.82
FHe	9.95	10.00	10.00	10.00
FAlHe	7.11	4.17	6.15	7.04
FICO	0.297	0.200	0.300	0.200
FACO	0.114	0.044	0.083	0.117



関与する肺泡ユニットの数が変わるため、DLCOは低下。

VC : 1.72 L (49.0%)
FEV₁/FVC : 76.8%
TLC : 2.79 L (50.2%)
DL_{CO} : 11.41 (56.9%)
DL_{CO}/VA : 5.62 (114.7%)

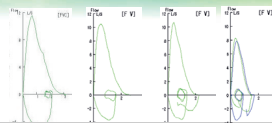
拡散能力低下
「拡散障害はない」としていいの？

%DL_{CO}/VAだけで評価を行うと非常に危険！

見かけ上、低下していないように見えるが、単位体積あたりの血流量の変化が考慮されていない。

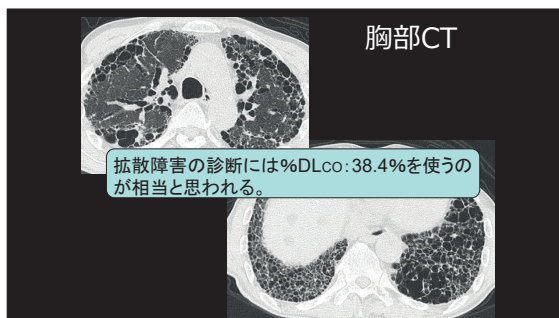
Restriction severity	% TLC (KCO)	% TLC (LO)
normal	~78	~95
mild	~60	~90
moderate	~50	~88
severe	~52	~108
very severe	~40	~90

Cortes et al, Idiopathic pulmonary fibrosis: new insights on functional characteristics at diagnosis. *Can Respir J*. 2014

[illegible]

%DLcolは38.4%, %Kcolは76.7%である。

VC	(L)	3.34	2.86	2.45	1.63
%VC	(%)	101.5	89.1	77.0	51.7
DLco ^a		15.91	13.11	9.51	5.52
DLco ^a (%)		92.0	81.7	61.8	38.4
KCO ^a		4.87	4.65	4.06	3.35
KCO ^a (%)		105.9	104.3	92.3	76.7



拘束性疾患の%Kco (%DLco/VA) は誤解を与える

- Frans et al. Effect of alveolar volume on the interpretation of single breath DLCO. Respir Med. 1997
- D.C. Johnson. Importance of adjusting carbon monoxide diffusing capacity (DLCO) and carbon monoxide transfer coefficient (KCO) for alveolar volume. Respir Med. 2000
- Hughes JM et al. Examination of the carbon monoxide diffusing capacity (DLCO) in relation to its KCO and VA components. Am J Respir Crit Care Med. 2012

Our opinion is that a normal K_{co} value in IPF patients does not indicate that pulmonary gas exchange is normal.

IPF患者において、正常 Kcoは決してガス交換能が正常であることを意味しない

Laurent et al, European Respiratory Review 2018

V_A補正という考え方

D.C. Johnson. AJRCCM 2018

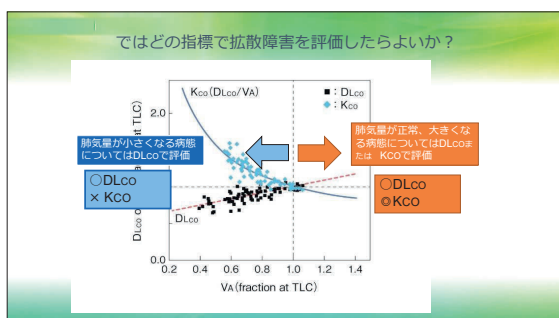
$$\text{補正DLco (予測値)} = \text{DLco (予測値)} \times \left(\frac{0.58 + 0.42 \times \frac{V_A \text{実測値}}{V_A \text{予測値}}}{0.48 + 0.58 \times \frac{V_A \text{実測値}}{V_A \text{予測値}}} \right)$$

$$\text{補正Kco (予測値)} = \text{Kco (予測値)} \times \left(\frac{0.58 + 0.42 \times \frac{V_A \text{実測値}}{V_A \text{予測値}}}{0.48 + 0.58 \times \frac{V_A \text{実測値}}{V_A \text{予測値}}} \right)$$

今後必要な考え方のひとつだが... 推奨はされていない

問題点: 健康人で様々な吸気量 (V_A) を変えて求めた式

- 肺動脈をしっかりと拡張させている最大吸気で測定されていない。
- V_Aが低下する様々な疾患の病理学的な構造が、健康人の拡張していない肺の状態とは明らかに異なる。メンブレンとキャピラリーの形状が同一とはいえない。そういう個で補正をして良いのか？
- 以上の理由から、この式で補正を行うと、IPFなどでは過剰に補正されてしまうと考えられる。
- ALS、側弯症などの肺は正常だが肺の拡張不全が原因で、V_A低下を来す疾患についてはマッチすると考えられる。



DLcoとKcoはTLC (またはVA) と組み合わせで鑑別診断能がある

表 3.8.3 代表的な疾患

	TLC (VA)	DLco	DLco/VA
気管支喘息 (軽度)	やや↑	↔ or ↑	↑
気腫型 COPD	↑	↓↓	↓↓
特発性間質性肺炎	↓	↓↓	↔ or ↓*
重症筋無力症 (Extrapulmonary disease の例)	↓	↓	↑
※ 拡散障害の程度が強い場合はやや↑			
肺高血圧症	↔	↓	↓

疾患によって、DLcoとKco、及びTLC (VA) は異なった動きをする

引用文献: 2016 JAMT編 呼吸機能検査評価教科書

36

いままで、
肺血流量増加⇒DLco増加
肺血流量低下⇒DLco低下と説明しました。

実は例外があります
肺の血流量が増加しすぎてDLcoが低下する病態・・・

肝肺症候群

HOKKAIDO UNIVERSITY

37

肝肺症候群 (HPS)

- 基礎疾患として慢性肝疾患があり、心臓あるいは肺自体に病気がないにもかかわらず、低酸素血症を来す。肝移植で肝肺症候群の症状は軽快することが知られている。
- 血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) による肺内血管新生の亢進、NOなどによる肺内血管の拡張が疾患の主体と考えられている。
- 通常5~8 μmとされる肺内毛細血管が、HPSでは100 μm以上 (500 μm にも) に拡張しているとの報告がある。拡張した血管によるシャント様 (あるいは肺内シャント) 効果がDLco低下の原因とされる。

HOKKAIDO UNIVERSITY

39

[illegible]

40

 HOKKAIDO UNIVERSITY

『不整脈診断と最新の治療』

■開催日：2023年9月7日（木）

■講 師：東京医科大学病院
里見 和浩

■生涯教育点数：基礎-20点

I. 電気生理現象と心電図

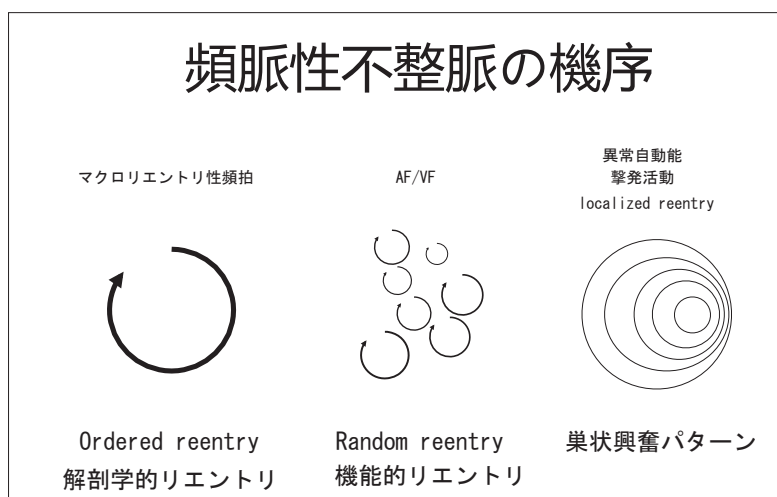
- ・活動電位：1個の心筋細胞の電気興奮

作業心筋（通常的心筋細胞）では、Naの細胞内への流入（内向き電流）で脱分極（興奮）し、Kの流出（外向き電流）によって再分極する。

- ・すべての心筋細胞の活動の総和が心電図で示される
- ・QRSは脱分極、QTは再分極を主に示す。

II. 不整脈とは

- ・正常な刺激伝導以外で起こる異常な電気興奮と定義
- ・リエントリー（興奮の旋回）もしくは巣状興奮パターンが主なメカニズム
- ・巣状興奮パターンには、異所性自動能、撃発活動、localized reentry（小さなリエントリー回路）が原因としてあるが、臨床的には鑑別は困難。



III. 不整脈の症状

- ・無症候であることも少なくない
- ・頻脈、脈不正に伴う症状
- ・過剰な頻脈、徐脈は心拍出が低下して、脳虚血（失神）を引き起こす
- ・心停止（突然死）のリスクあることも
- ・ただし、症状の強さと重症度は一致しないことも多い

IV. 不整脈の診断

- ・「現行犯逮捕」が基本＝症状があるときの心電図記録

- ・頻度の低い発作性不整脈は診断困難なことも
- ・12誘導，モニター ECG，ホルター(24 時間，1~2W)，携帯型心電図 (Apple Watch など)，植え込み型心電計を用いる

V. 不整脈の治療

薬物治療，カテーテルアブレーション，心臓植え込み型デバイス (CIEDs)

- ・目的
 - 症状の緩和
 - 生命予後改善
- ・緊急治療が必要な不整脈＝命に関わる不整脈
 - 心室細動・心室頻拍，高度徐脈（完全房室ブロック）
- ・心房細動や心室期外収縮をもつ患者は，それが無い患者と比較すると生命予後が悪い
- ・しかし，心房細動や心室期外収縮に対して治療を施しても，生命予後を改善できたとするエビデンスはほぼない
- ・不整脈の治療（介入）の有効性を確認するには臨床試験が必要

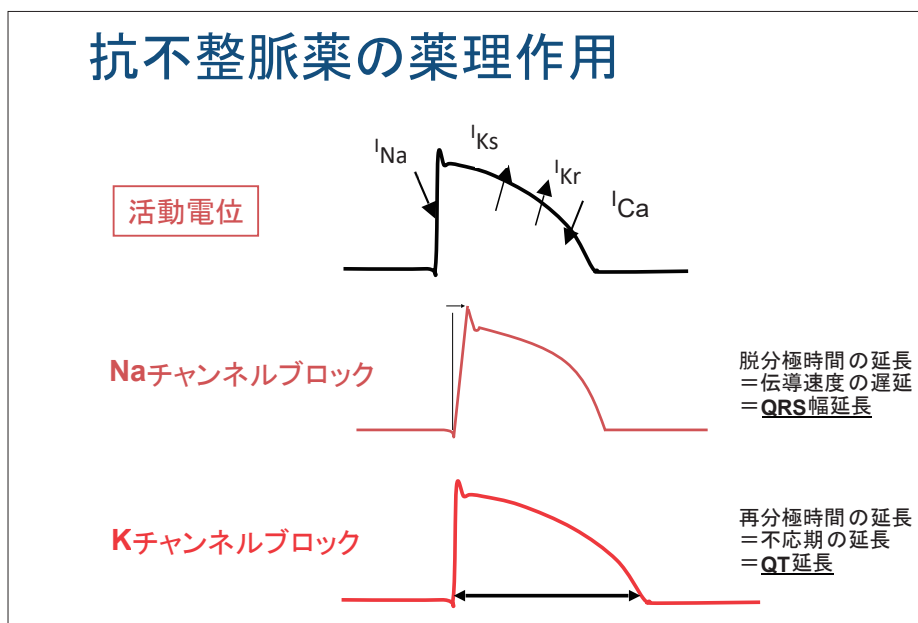
VI. 抗不整脈薬

Na チャンネルブロック：脱分極を抑制，伝導時間を遅くする→ QRS 幅延長

→心機能低下作用，徐脈

K チャンネルブロック：再分極を抑制，刺激がきても興奮しにくくする→ QT 延長

→ QT 延長による Torsades de Pointes（催不整脈作用）



VII. 心臓植え込み型デバイス (CIEDs: Cardiac Implantable Electronic Devices)

ペースメーカー：徐脈性不整脈の治療，

洞不全症候群では症状があるときのみ適応
 房室ブロックでは重症度に応じて検討
 ICD：VF/ 器質的心疾患に伴う VT による突然死予防
 1 度でも起こした人は適応（2 次予防）
 リスクがある人にも適応（1 次予防）
 CRT：心臓再同期療法（左脚ブロックなど心室非同期がある低心機能に適応）
 CIEDs のマネジメント
 ただ入れれば良いわけではない
 植え込み後作動例では予後不良，QOL も低下
 植え込み後にも不整脈の発作予防が必要（薬物，アブレーション）

VIII. カテーテルアブレーション

不整脈の原因に対して治療を行う唯一根治が期待できる治療

IX. まとめ

複数の治療を組み合わせる治療を行うことが基本
 生活習慣の管理も予防には重要

不整脈の治療			
	抗不整脈薬	カテーテルアブレーション	デバイス
特徴	心臓の電気活動を抑える	不整脈発生部位（原因）を治療	心臓の働きを補助，突然死予防
長所	外来で可能	根治的治療	100%近い効果
短所	正常な働きも抑えてしまう	入院が必要再発，合併症	対症療法合併症

腎炎などではこれらの機構が変化するため機能の低下などが現れる。その場合、腎炎の重症度の把握や分類を行うために腎生検が施行され、病理検査ではPAS染色、PAM染色をはじめとする特殊染色、蛍光抗体法、電子顕微鏡検査などが行われる。(図2)

2. 再吸収：糸球体で生成された原尿は、次に近位尿細管、ヘンレの係蹄、遠位尿細管、集合管、集合管を通過する際に9割近くもの原尿が再吸収され、電解質の調節なども行われる。(図3) こうして生成された尿は腎乳頭から腎盂、尿管を経て膀胱へと送られる。尿細管を覆う上皮は、単層立方上皮であるが、近位尿細管上皮はとくにミ

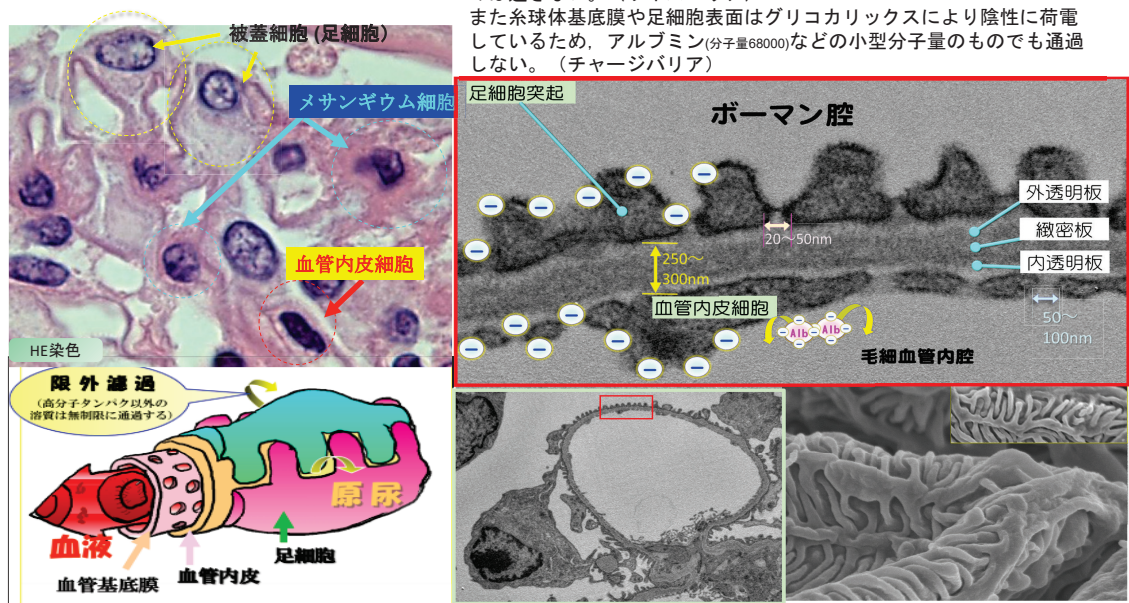


図2 糸球体の構造(濾過障壁)

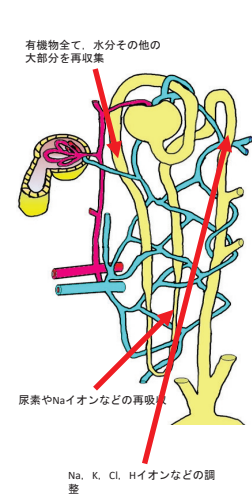


図3 尿細管・集合管

部位/管の太さ	働き	イメージ図	
近位尿細管 Φ:40~60μm	体液のpH調節に重要なHCO ₃ ⁻ は90%、水、Na ⁺ 、K ⁺ は60%~70%、無機リンの80%を再吸収 蛋白、アミノ酸、グルコースなどの有機物すべての再吸収		
ヘンレループ細い下行脚	水、尿素透過性が高い		
ヘンレループ細い上行脚 Φ:10~15μm	水の透過性は低い Na ⁺ :K ⁺ :Cl ⁻ イオンは1:1:2の比率の共輸送体として細胞内に取り込まれて、間質へ入る		
ヘンレループ太い上行脚 Φ:25~30μm	水の透過性は低い Na ⁺ 、K ⁺ 、Cl ⁻ の透過性は高く、受動的に尿細管から間質へ入る		
緻密斑	遠位尿細管内の塩素イオン濃度を監視		
遠位曲尿細管 Φ:35~45μm	カリウム、水素イオンを内腔に分泌する		
集合管 Φ:40~100μm	ADHの存在下で水と尿素が内腔から間質に入る アルドステロンに反応し、Na ⁺ とCl ⁻ を内腔から再吸収		

尿細管は終始1本の全長4~5cmの管で皮質と髄質とを複雑な走向を取って走る細い管である。(全体では10kmにも及ぶといわれる)
また、尿細管周囲の間質細胞でエリスロポエチンが生成され、補助的に肝臓でも作られる。

トコンドリアが発達しているため、光学顕微鏡像では細胞質は顆粒状に見える。また、内腔面には電子顕微鏡で観察できる微絨毛があり、これにより表面積が大きくなっているため再吸収を効率よく行うことができる。

Ⅲ. 尿管・膀胱・尿道

腎盂、尿管、膀胱、尿道の一部までの内腔は尿路上皮細胞で覆われる。

尿管は外膜、筋層、粘膜（尿路上皮）で構成され、蠕動運動により尿を膀胱側へと送る働きを持つ。

膀胱は尿を貯留するため、平滑筋層が厚く発達している。収縮可能な袋状臓器で尿管は背面から膀胱内に斜めに開口し、左右の尿管口となる。貯留された尿は、尿道口から尿道を介して外界へと尿を排泄する。

尿道内腔を覆う上皮細胞は尿路上皮細胞、多列円柱上皮細胞、扁平上皮細胞へと上皮が変化する。

Ⅳ. 尿路感染症

腎・尿管・膀胱・尿道に起こった非特異的炎症を指し、大部分は腸内細菌の上行性感染によるものが多い。

基礎疾患がないものを単純性、基礎疾患の有するものを複雑性尿路感染症と区別される

頻度の高い感染症であり、男性で 10-20%、女性で 40-50% の人が既往を有するとされている。起炎菌としては単純性は大腸菌、克雷ブシエラ、プロテウスなどのグラム陰性桿菌などが多く、複雑性では起炎菌は多彩でブドウ球菌、腸球菌、緑膿菌、エンテロバクターなどがある。そのほかにポリオーマウイルス感染（BK ウイルスなど）細胞である Decoy cell がある。

Ⅴ. 腫瘍

腫瘍の分類は主に上皮性と非上皮性のものに分けられ、それぞれ良性と悪性に分類される。今回

は、泌尿器系臓器の上皮性腫瘍について述べていく。

上皮の基本的な構造としては粘膜（上皮）の直下には基底膜があり、その下は結合組織や血管、リンパ管、神経などで構成されている。早期の癌腫は上皮から発生し、基底膜上に留まっている状態であるが、浸潤癌の場合は基底膜を破り間質内へ浸潤するため、血管やリンパ管への浸潤も見られるようになる。その場合、当然予後に影響してくるようになる。

腎盂、尿管、膀胱、尿道の一部では尿路上皮癌が 9 割以上と最も多く、時間的、空間的に多発傾向や、再発を繰り返すのが特徴である。好発年齢は 50 代以降に増加傾向がみられる。尿路上皮癌は low grade の場合は N/C 比が高く、クロマチン増量や一部に核型不整などを伴う小型細胞が孤立散在性や比較的結合の強い集塊としてみられ、high grade のものや上皮内癌の場合は細胞同士の結合が緩く、核腫大や核軽不整、クロマチン増量などの強い細胞異型を伴う細胞が出現する。

細胞の異型度（悪性度）と癌の深達度は予後との関連性が強く、治療方針決定のうえで重要である。

そのほかに扁平上皮癌や腺癌なども発生するため、それぞれの細胞像を認識しておく必要がある。また、その場合は泌尿器系臓器に隣接する大腸や前立腺、子宮・膣などの腫瘍が波及した場合も考えられるため、注意が必要である。

主な異型細胞の特徴（図 4）と良性および異型細胞の出現パターンを示す（図 5）。

これらについて研修会では、各症例を解説していく。

Ⅵ. 泌尿器細胞診報告様式

従来、尿細胞診の報告は報告様式に統一性がなかったが、2015 年に日本臨床細胞診学会から「泌尿器細胞診報告様式 2015」、国際細胞学会およびアメリカ細胞学会から「The Paris Sys-

tem (TPS)」が提唱され、泌尿器科・病理・放射線科腎盂・尿管・膀胱癌取り扱い規約第2版ではThe Paris System (表2)が推奨されている。

従来報告様式との対応表を示す (表1)

この報告様式は検体の適否を含む診断カテゴリー、コメントから構成されている。

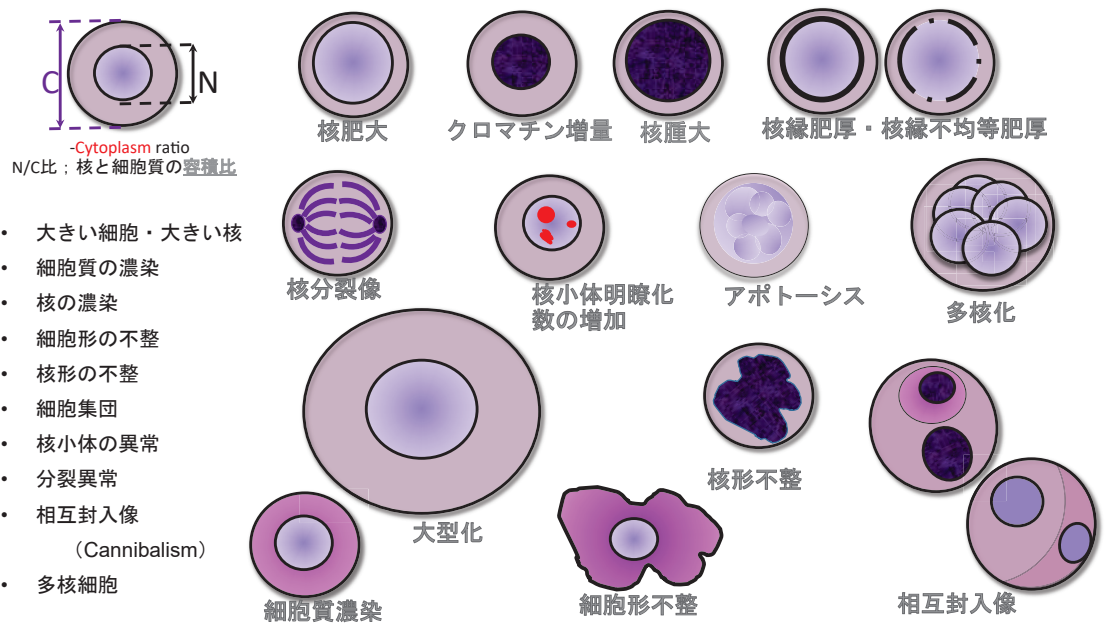
報告様式は今後、標準化に向けて移行していくものと思われる。結果が正しく評価できていたか

追跡する場合にはこのような知識も必要である。詳細に関しては成書を参照のこと。

Ⅶ. おわりに

冒頭で述べたとおり検査に関連する基本的な臓器の構造と機能を知することはルーチン業務を行ううえで重要である。

また、どのような疾患が存在し、診断を行うための検査の概要、そして組織型の違いや浸潤度な



- 大きい細胞・大きい核
- 細胞質の濃染
- 核の濃染
- 細胞形の不整
- 核形の不整
- 細胞集団
- 核小体の異常
- 分裂異常
- 相互封入像 (Cannibalism)
- 多核細胞

図4 異型細胞の特徴

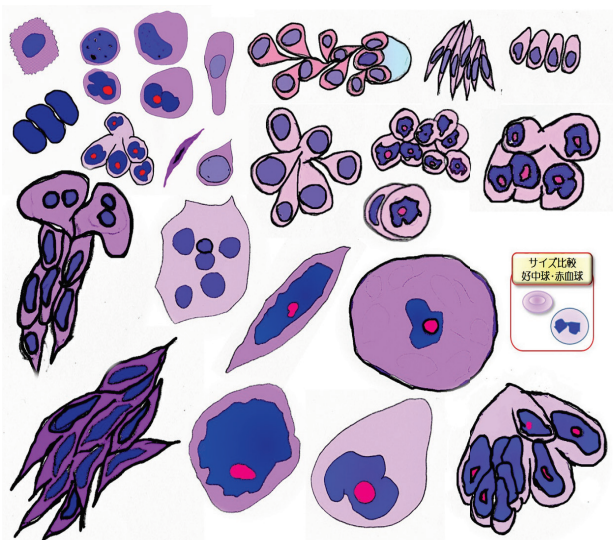


図5 主な細胞出現パターン

小型細胞	大型細胞	小型細胞集塊	大型細胞集塊
- 尿管管上皮 - リンパ球 - 小細胞癌 - 前立腺腺癌 - LGUC - HGUC	- Decoy cell - HGUC/CIS - 小細胞癌 - 腺癌 - 治療による変化	- 反応性尿管管上皮 - LGUC - 扁平上皮癌 - 腺癌 - 小細胞癌	- LGUC - 腺癌 - 扁平上皮癌
孤立散在性	紡錘形細胞	柵状、放射状配列	重複集塊
- リンパ球 - 組織球 - 尿管管上皮 - 導管尿柱上皮 - LGUC - HGUC/CIS - 腺癌 - 扁平上皮癌 - 悪性リンパ腫	- 尿管管上皮 - 円柱上皮 - LGUC~HGUC - 扁平上皮癌 - 腺癌	- 円柱上皮 - 尿管管上皮 - 反応性尿管管上皮 - 腺癌	- 円柱上皮 - 反応性尿管管上皮 - 子宮内膜上皮 (経血混入など) - LGUC - HGUC - 扁平上皮癌 - 腺癌

■ 表 1 従来報告様式との対応表

従来法			新報告様式 日本臨床細胞学会		THE Paris System 国際細胞学会 (IAC) および アメリカ細胞学会 (ASC) から出版	主な該当細胞・ 推定組織型など
7段階分類	5段階分類	3段階分類	表記	HGUCのリスク		
Class 1	Class 1	陰性	不適正(Inadequate)	不明	Adequarcy statement	評価不能
Class 2	Class 2		陰性(Negative)	5%以内	Negative for HGUC (NHGUC)	正常細胞：扁平上皮，尿路上皮， 円柱上皮，尿細管上皮
Class 3a						血球類：赤血球，白血球
						その他： 塩類，円柱類，細菌， ウイルス感染細胞，寄生虫等 結石，治療性反応変化を伴う細胞 回腸導管尿の腸管上皮
Class 3	Class 3	偽陽性	異型細胞 (Atypical cells)	15%程度	Atypical urothelial cells(AUC)	反応性変化， LGUC， HGUC， Other malignantcells
Class 3b	Class 4	陽性	悪性疑い (Suspicious for malignancy)	70～95%程度	Suspicious for HGUC(SHGUC)	
Class 4						
Class 5	Class 5			悪性(Malignancy)	95%以上	Suspicious for HGUC

高悪性度尿路上皮癌をHGUC、低悪性度尿路上皮癌をLGUCと略記する。

■ 表 2 The Paris System による分類

分類	概念	条件・他	臨床的対応
AUN	形態的に軽度～中等度の細胞異型 正常組織とも高異型度とも鑑別が 困難な細胞	大基準(必須) 被覆細胞でなく変性を認めない尿路上皮の N/C比の増大(0.5以上) 小基準(最低1項目) ・核クロマチン増量 ・核形不整(核縁不整な肥厚・辺縁不整) ・不整，塑像，凝集したクロマチン	必要に応じて検査
SHGUC	AUCの範疇を超えHGUCの可能性 異型細胞の出現が少量のため HGUCと判断できない状態の細胞	少なくとも0.5-0.7以上のN/C比増大 中等度～高度のクロマチン増量(必須) 以下の2項目を満たすこと 不整で凝集したクロマチン 顕著な核縁不整 上記を満たす5-10個以上の異型細胞出現	膀胱鏡・生検 異型度判定
HGUC CIS	N/C比の上昇，多型性，核形不整，クロ マチン増量を認める。 粗造クロマチンや明瞭な核小体を有する 細胞，コメット細胞，India ink細胞，ア ポトーシス細胞や孤立性の悪性細胞，高 度な壊死などを認める	少なくとも5-10個以上の異型細胞出現 N/C比は0.7以上 中等度～高度のクロマチン増量 不整で凝集したクロマチン(ヘテロクロマチン) 顕著な核縁不整	膀胱鏡・生検 病期判定
LGUN	血管結合組織を伴った三次元的乳頭状形態 を示す細胞集塊で，顕著な異型を認めな い腫瘍細胞が重なりを示す事が絶対条件	※日本の 「泌尿器科細胞診報告形式」では， 低異型度の診断に血管結合組織を伴った乳頭 状細胞集塊の出現は求められていない	
その他 Other malignancy	他臓器腫瘍の浸潤 非上皮性腫瘍 造血器腫瘍		

どで治療法や予後にも違いがあり，これらの治療方法などを知ることは，細胞像の変化に対応するためにも重要である。

そして，鏡検能力を向上させるには，やはり自分が気に留めた症例に対してはしっかりと経過を追跡し，自身の判断が正しかったか否か確認して経験を次に繋げていく努力をしていくことが重要である。

今回の内容を今後のルーチン業務に役立てて頂ければ幸いである。

参考文献

- 1) 監訳 岡本 道雄：図説 人体解剖学 第5版 原書第21版 第2巻 体幹・内臓・下肢，医学書院，180-195，東京，2002。
- 2) 監訳 相磯 貞和：Netter 解剖学アトラス 原書第4版，342-347，南江堂，東京2007。
- 3) 横山 貴，堀田 茂 著：そこが知りたい尿沈渣検査，医歯薬出版，東京，2006。
- 4) 酒井 恒 訳：わかりやすい解剖生理，文光堂，190-218，東京，1996。
- 5) 一條 尚 著：解剖学，医歯薬出版，158-185，東京，1993。

- 6) 高野 廣子 著：解剖生理学，南山堂，287-335，東京，2003.
- 7) 坂本 穆彦 著：臨床細胞診断学アトラス，文光堂，155-177，東京，1993.
- 8) 田中 昇 他：細胞診教本—その基礎と実際—，宇宙堂八木書店，9-33，173-177，東京，1972.
- 9) 藤田尚男，藤田恒夫著，標準組織学 各論 第2版，医学書院，183-240，東京，1984.
- 10) 折笠 精一 監修：標準泌尿器科学，医学書院，8-38，東京，2005.
- 11) 大西 義久 他 著：エッセンシャル病理学 第4版，医歯薬出版，442-493，東京，1995.
- 12) 日本泌尿器科学会 日本病理学会 編：腎盂・尿管・膀胱癌取り扱い規約 第1版，金原出版，東京，2011.
- 13) 日本泌尿器科学会 日本病理学会 編：前立腺癌取り扱い規約 第4版，金原出版，東京，2010.
- 14) 落合慈之／監修：腎・泌尿器疾患ビジュアルブック，学研メディカル秀潤社，東京，2010.
- 15) 医療情報科学研究所 編集：病気がみえる vol.8 腎・泌尿器，メディックメディア，東京，2012.
- 16) 坂井建雄／河原克雅 著：人体の正常構造と機能Ⅴ・腎・泌尿器，日本医事新報社，東京，2012.
- 17) 公益社団法人日本臨床細胞学会泌尿器細胞診報告様式ワーキンググループ 編：泌尿器細胞診報告様式2015，公益社団法人日本臨床細胞学会，2016.
- 18) 青笹克之，都築豊徳 編：癌診療指針のための病理診断プラクティス腎・尿路／男性生殖器腫瘍 初版，中山書店，164-230，東京，2016.

免疫血清検査研究班研修会一要旨

『前立腺癌診断に有用な新規項目 「プロステートヘルスインデックス (phi)」 について』

■開催日：2023年9月14日(木)

■講 師：昭和大学医学部泌尿器科講座 講師
押野見 和彦

■生涯教育点数：専門-20点

2018年に男性における罹患者数で前立腺癌が1位になり、それに伴い、死亡数も増加している。前立腺癌検診の利点は、進行癌や転移癌への進行抑制や前立腺癌による死亡率の低下が見込めることであるが、PSA偽陽性による不必要な生検や過剰診断・治療が起こる不利益が生じうる。とくに治療適応の決定に難渋するような年齢や基礎疾患を有する高齢者の場合は治療を開始し

ても、治療の有害事象によりQOLの低下が問題となることもある。しかし、男性の平均寿命が80歳を超えて上昇している現状において一定の年齢以上では生検をしないという線引きは困難であり、その基準もない。検診レベルで、根治療法が可能な年齢においては癌の見逃しを少なくする一方で、高齢者においては生検負担の低減を目指したい。PSA検診の不利益である過剰診断や過剰治療を減らす方策として考えられるのは、MRIガイド下生検による診断精度向上やPSA監視療法の確立と並んで新規腫瘍マーカーの活用であるとする。これまでPSA偽陽性を補うために、PSA free/total ratio (PSA F/T比)、年齢階層別PSA、PSA velocity (PSAV)、PSA density (PSAD)などのPSA関連パラメータ

phiの前立腺癌検出感度における 段階別カットオフ値と特異度

感度	phi	
	カットオフ値	特異度
95%	24.8	26.2%
90%	27.2	33.3%
85%	29.7	44.0%
80%	32.1	50.6%
75%	35.1	58.9%
70%	36.6	65.5%
65%	38.8	73.8%
60%	40.2	78.0%
55%	42.4	83.3%
50%	44.7	86.9%
45%	46.9	89.3%
40%	48.6	91.7%
35%	51.9	91.7%
30%	55.4	95.2%
25%	57.5	95.8%
20%	60.5	97.6%
15%	69.8	98.8%
10%	76.5	99.4%
5%	98.2	100.0%

(多施設共同研究データ、添付文書_A49752)

感度80%でカットオフ32.1以上で生検を行うと癌ではない症例の50.6%が生検を回避可能
(ただし見逃しは20%)

アクセス ハイブリテックp2PSA 添付文書より

私が考えるフローシートの1例

対象：PSA高値(4.0-10.0ng/ml)

(ただし
50~64歳: PSA3.0-10.0ng/ml
65~69歳: PSA3.5-10.0ng/ml)

87歳以下

phi 測定、前立腺MRI

79歳以下

MRI異常あり

MRI異常なし

phi 27.2以上 27.2未満

系統生検
±MRI標的生検
(phiに関わらず生検)

系統生検 PSAフォロー

80-87歳

MRI異常あり

MRI異常なし

phi 27.2以上 27.2未満
(G8 14点以下の場合カット
オフを32.1にする)

系統生検
±MRI標的生検
(G8 14点以下の患者は慎重に
適応考慮)

系統生検 PSAフォロー

押野見和彦, 深貝隆志.Prostate Journal 9(2);194-95.2022

を活用してきたが、その癌が significant cancer (臨床的に重要な癌) かどうかまでの判断は困難であった。Prostate health index (phi) はこれまで血液検査で施行してきた PSAF/T 比よりも、癌の有無だけでなく、有意に悪性度が高い癌の鑑別にも有用とされている¹⁾。また、組織学的に高悪性度ほど数値が高くなることが示唆されており、癌の有無だけでなく、見つけようとしている癌が臨床的に意義のある癌 (significant cancer) かどうかの検索にも有用とされている²⁾。

phi の使用は 60 代前半までの比較的若年男性において、根治に値する癌を見逃さないためにも有効であるが、前述したように治療の適応の見極めが困難な高齢者の不必要な生検低減にも寄与すると考える。

PSA 上昇は前立腺癌以外にも加齢、前立腺肥

大症、炎症などでみられる。実臨床では PSA 値 (正常 4 以下) が 4 ~ 10ng/mL のグレーゾーンの症例においては、MRI を行うが、その所見で悪性所見が疑わなければ生検を行わず経過観察としている症例が少なくない。自施設における 2022 年 9 月から 2023 年 6 月までの成績では PSA グレーゾーン患者で phi 採血と MRI を施行した 113 例のうち、約半数にわたる 56 例は MRI で明らかな悪性所見を認めなかった。そのうち生検を施行した 21 例のうち 8 例 (38.0%) に癌が検出されており、7 例が phi 値が 30 以上と上昇がみられた。画像所見のみの判断で生検を回避していた場合、56 例中 7 例 (14.3%) の癌が見逃された可能性がある。8 例はいずれも限局癌であったが、臨床的に意義のある癌は 5 例であり、いずれも根治療法につながられた。

前立腺癌検診の不利益である過剰診断、過剰治療は phi, MRI による画像診断の発達、標的生

私が考えるフローシートの1例

対象：PSA高値(4.0-10.0ng/ml)

(ただし
50~64歳:PSA3.0-10.0ng/ml
65~69歳:PSA3.5-10.0ng/ml)

88歳以上

phi 測定

phi 32.1以上 32.1未満

MRI異常あり

G8 15点以上

系統生検
±MRI標的生検

G8 14点以下

PSAフォロー
(状況でMRIも施行)

押野見和彦, 深貝隆志.Prostate Journal 9(2);194-95.2022

検、監視療法の普及で減らすことが望まれるが、診断時の *phi* の活用が癌の見落としも減らせるのではないかと期待される。また *phi* を補助使用することは、今後検診ガイドラインをはじめとした前立腺癌診断のあり方が変わる可能性がある。

参考文献

- 1) Ito K, Yokomizo A, Tokunaga S, *et al.* Diagnostic Impacts of Clinical Laboratory Based p2PSA Indexes on any Grade, Gleason Grade Group 2 or Greater, or 3 or Greater Prostate Cancer and Prostate Specific Antigen below 10 ng/ml. J Urol203 (1): 83-91, 2020
- 2) Ito K, Miyakubo M, Sekine Y, *et al.* Diagnostic significance of [-2] pro-PSA and prostate dimension-adjusted PSA-related indices in men with total PSA in the 2.0-10.0 ng/mL range. World J Urol31 (2): 305-11, 2013

『検査に役立つ統計学の基礎』

■開催日：2023年11月22日（水）

■講 師：アボットジャパン合同会社
村上 聡

■生涯教育点数：基礎-20点

医療においては、新規治療薬や治療法の開発、疾患の診断などに関して様々な課題が存在する。様々な課題に対して、定量的かつ客観的なデータを提供しうるのが医療統計学である。医療統計学は、臨床研究、疾病統計、がん登録のみならず、病院経営、疫学調査、診療圏分析など、さまざまな用途で統計解析が行われ、診断や治療の支援、経営方針の決定、医療行政の資料などに活用されている。

医学に限らず、統計学は統計に関する研究を行う学問であり、経験的に得られたばらつきのあるデータから、数学的手法を用いて数値上の性質や規則性あるいは不規則性を見いだすことを目的としている。統計的手法は、実験計画、データの要約や解釈を行ううえでの根拠を提供するため、幅

Patient：疾患・病態を特徴づける因子
Exposure：曝露要因（観察的研究）
Intervention：介入（実験的研究）
Control：対照
Outcome：アウトカム

■ 図 臨床研究の基本的要素

■ 表 臨床研究における代表的な統計解析手法

解析の目的	変数の型			
	2 値変数	連続変数		
		正規分布	非正規分布	生存時間
データの記述	頻度集計 / 割合	平均±標準偏差	中央値（四分位範囲）	Kaplan-Meier
2 群間の比較 （対応なし）	カイニ乗検定 Fisher の正確検定	t 検定	Mann-Whitney の U 検定	Log-rank 検定
2 群間の比較 （対応あり）	McNemar 検定	対応のある t 検定	Wilcoxon の符号 順位検定	
3 群以上の比較	カイニ乗検定	分散分析 共分散分析	Kruskal-Wallis 検定	多群 Log-rank
関連性	ロジスティック回帰	相関分析 （Pearson の累積相関係数、Spearman の順位相関係数） 線形回帰		Cox 比例 ハザードモデル

広い分野で応用されている。統計を用いることで、集めたデータを目的に合わせて整理・グラフ化することで状況を的確に捉えやすくなると言える。

医学統計学の好例として、ナイチンゲールらはクリミア戦争時において戦争で死ぬ兵士よりも、極端に劣悪な衛生状況が原因でまん延した伝染病で死亡する兵士が多いという事実を鶏頭グラフと呼ばれる独自に工夫したグラフでデータを可視化した。ナイチンゲールは看護教育のみならず統計学者としても知られ、「神の考えを理解するには、統計学を学ばねばならない。なぜならそれは神の目的の尺度であるからだ」との言葉を残している⁽¹⁾。

医療分野の研究の多くは因果関係を探るものである。因果関係を求める臨床研究は、PECO、あるいは、PICO として知られている基本的な要素（図）をもつデザインにより行われなければならないとされている⁽²⁾。研究の計画段階において、これらの要素を明確に定義したうえで、統計的に客観的な解析を用いて結果を提示することが求められる。

実際の臨床研究において利用される代表的な統計解析手法を表に示す⁽³⁾。

臨床研究においてはこれらの解析手法（表）を

基に客観的な結果を導くが、臨床的に意義がある結果否かは個別に判断する必要がある。例えば、P値で有意差ありと判定された場合でも、臨床的に意義のある差かどうかは判断できない場合では、群間差の信頼区間を用いて、仮説検定結果から出た有意差が臨床的に意味のある差かどうかを判定する必要がある。潜伏変数によって因果関係があるかのように推測される擬似相関等も考慮に入れる必要がある。

研修会においては、統計学の基礎的概念および医療において使われる統計手法と注意点について概説した。

引用文献

- (1) 酒井弘憲, フローレンス・ナイチンゲールと統計, ファルマシア, 50 (8) : 800-801, 2014
- (2) 福原俊一, 臨床研究の道標 ", 健康医療評価研究機構, 東京, 15-51, 2013
- (3) 大塚 俊昭, 医学統計解析のいろは, 日医大医会誌 18 (3), 2022

血液検査研究班研修会一要旨

『独り立ちをするときに役立つ 凝固検査のピットフォール』

■開催日：2023年7月20日（木）

■講師：積水メディカル株式会社
検査事業部 カスタマーサポートセンター
学術企画グループ
須長 宏行

■生涯教育点数：基礎-20点

I. はじめに

今回で紹介する『独り立ちをするときに役立つ凝固検査のピットフォール』は、4つのテーマで構成される研修用資料であり、約70枚のスライドにまとめたものです。

◆凝固検査の基礎知識

◆凝固検査の前に必要な基礎知識となる文献

◆遭遇する可能性のある凝固検査の異常値

◆凝固検査の異常値対応に関する資料・文献

前半の2つのテーマは、凝固検査の基礎知識とプレアナリティカルな要因の影響を抑制するために必要なことを示しています。

凝固検査は採血・採血管取扱いの影響を強く受ける検査項目です。採血の現場での状況を想像すること、検査室に届けられた採血管を観察することは重要といえます。凝固検査用採血管に関する知識と凝固検査に関する知識の両方を兼ね備えることがもっとも重要といえます。

後半の2つのテーマは、遭遇する可能性のある異常値とその対応について示しています。

遭遇する可能性のある凝固検査の異常値は、①病態（止血異常・血栓症など）、②治療（抗凝固薬等の投与など）、③分析系（装置・試薬など）④採血・採血管の取扱いの4つの要因に由来する異常値に分類することができます。凝固検査ではこれらの異常値の由来を識別し、検査を依頼する目的を理解して報告することが重要となります。

II. 『独り立ちをするときに役立つ凝固検査のピットフォール』

1. 凝固検査の基礎知識

「凝固反応に必要な3要素」として、凝固因子、リン脂質、カルシウムイオンがあげられ、3要素のうち1つで不足すると凝固反応は延長します。採血量が少ない場合やヘマトクリット値が高い場合（多血症等）では影響することがあります。

「凝固検査値に影響する4つの要因」として、①検体、②試薬、③装置、④ヒトに関連する内容があげられます。②試薬では液状PT試薬の登場により試薬の管理・運営面での負担が大きく軽減されると考えられます。

凝固検査用採血管では、生化学（血清用）採血管に比べて約6倍も再採血となる可能性が高いことが報告されています。

2. 凝固検査の前に必要な基礎知識となる文献

◆JCCLS 標準採血法ガイドライン（GP 4-A 3）

本ガイドラインでは採血方法に加えて、医療安全を重視した内容（針刺し事故の抑制、神経損傷の低減等）を盛り込み、さらに採血手技の検査値影響についても示されています。

◆凝固検査検体取り扱いに関するコンセンサス

本コンセンサスでは採血・採血管取扱いから分析前（検査値を報告するうえで重要となるプレアナリティカルな過程）について示されました。なお、これは院内検査室向けのものです。

3. 遭遇する可能性のある凝固検査の異常値

採血時間が長くなると、抗凝固剤との混和ができなため、血液が凝固する可能性は高くなります。採血に時間を要したときは、採血管内に凝血がないこと（とくに管壁への付着等）に注意することが重要となります。採血困難な場合には組織トロンボプラスチンの混入により、外因系凝固が活性化されやすく、凝固時間が短縮することもある

り、また凝固反応が亢進して同時に線溶反応も亢進すると、FDPやDダイマー値も上昇することがあります。これらの現象は、採血直後の採血管の攪拌不良（転倒混和の不足）でも起こることがあるといえます。

4. 凝固検査の異常値対応に関する資料・文献

◆血液凝固線溶検査結果早見表（積水メディカル作成の下敷き）

この早見表では、PT、APTT、フィブリノゲン、Dダイマーの4項目をスクリーニング検査として、その結果より導かれる「疑われる疾患群と病態」、そして「有効な検査」が示されています。この下敷きは『独り立ちをするときに』ぜひとも座右に置かれることを薦めます。さらに、「疾患における検査値の挙動」、および「正しい検査結果を得るために」など役立つ関連情報が示されています。

◆「血液検査 誌上相談室」(Medical Technology)

本相談室は20の質問とその回答で構成されています。筆者も③④⑤の質問に回答させていただきました。

③凝固検査で3.8% クエン酸血漿はなぜ推奨されないのでしょうか？

④病棟で早朝に凝固検査用検体を採血後、検査室に届くまで2～3時間経過してしまう場合、検体の保管は氷冷か室温か、どちらが良いでしょうか？

⑤凝固検査用検体の適切な遠心条件について教えてください。

Ⅲ. まとめ

『独り立ちをするときに役立つ凝固検査のピツ

トフォール』は、これから「独り立ちをする」という皆さま向けに集められた情報をまとめたものです。

凝固検査は、採血手技の影響を強く受ける検査項目であり、採血の現場での状況を想像し、検査室に届けられた採血管を観察することが重要といえます。そのため、採血管に関する知識と凝固検査に関する知識のバランスがもっとも重要になると考えております。

本資料により、凝固検査の理解を深め、モチベーションを向上していただければ幸いです。

なお、今回の説明資料の一部は、2011年5月19日（木）および2019年4月18日（木）に使用したスライドを活用しています（参考文献5、6参照）。

参考文献

本研修資料の作成および説明に用いたものを以下に示しました。

- 1) 日本臨床検査標準協議会 渡邊卓編：JCCLS 標準採血法ガイドライン（GP4-A3）、2019
- 2) 日本検査血液学会 標準化委員会凝固検査標準化ワーキンググループ：凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス. 検査血液会誌, 17 (2) : 149-168, 2016
- 3) 血液凝固線溶検査結果早見表（積水メディカル作成、下敷きとして活用できる販促資材）〔2022-0292〕
- 4) 須長宏行：特集 血液検査 誌上相談室（相談③、相談④、相談⑤）. MEDICAL TECHNOLOGY, 45 (9) : 901-906, 2017
- 5) 須長宏行：スキルアップ検査血液学「血液凝固・線溶検査で知っておきたい基礎知識」. 都臨技会誌（東京都医学検査）, 39 (5) : 308-317, 2011
- 6) 須長宏行：血液検査の基礎から臨床まで「夜間当直者と若手検査技師のための凝固検査の基礎知識－遭遇する可能性のある検査異常値からピットフォールまで－」(東京都医学検査), 47 (3) : 186-187, 2019

『血液検査で知っておきたい

染色体・遺伝子検査』①染色体検査

■開催日：2023年9月28日（木）

■講師：東京慈恵会医科大学附属病院
中央検査部
湯本 春野

■生涯教育点数：基礎-20点

I. はじめに

1956年にTijoとLevanによりヒトの染色体が46本であることを明らかにし、1960年にリンパ球を用いた短期培養法、1968年に分染法が開発され、1990年代にFISH法が開発され、現在に至る。

今回、主に分染法に関して、検体培養法から検査、報告までの一連を述べる。

II. 染色体の基礎

1. 細胞分裂

細胞分裂には、1個の母細胞から2個の娘細胞に分裂し同じ数の染色体本数、DNA量が分配される体細胞分裂と、連続して2回分裂し、半数体（一倍体） n 個の染色体を有する4個の娘細胞となる減数分裂（精子・卵子）がある。

細胞分裂を開始し次の分裂までの間を細胞周期といい、細胞分裂完了から次の分裂開始までを間期、有糸分裂の進行が観察できる時期を分裂期（M期）という。間期にはDNA合成準備期（G₁

期）、DNA合成期（S期）、分裂準備期（G₂期）に分けられる。

2. 染色体

染色体は、細胞核の中にあり、DNAが折りたたまれており、すべての真核生物が持つもので生命の設計図を伝えるものである。

ヒトの染色体は、基本22対の常染色体と2対の性染色体、女性46,XX、男性46,XYからなる。

常染色体は大きさ順に1番染色体から22番染色体まで番号がふられており、大きさによりA群からG群に分類され（図1）、形態により中部着糸型、次中部着糸型、端部着糸型に分類されている。（図2）

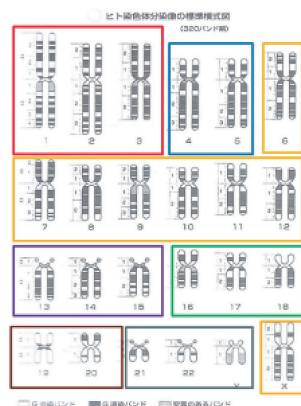
III. 染色体検査（分染法）

1. 標本作製・G分染法・分析

- ① 骨髓血（ほか）細胞数 $1 \times 10^6/\text{mL}$ に調整し、10～20% ウシ胎児血清（仔ウシ血清）加 RPMI 培地で短期培養
- ② コルセミド添加（紡錘糸形成阻害）
- ③ カルノア固定液（酢酸 1：メタノール 3）で細胞固定
- ④ 蒸気乾燥法で細胞展開
- ⑤ エージング処理
- ⑥ 0.025% トリプシン処理
- ⑦ メタノール媒染

染色体大きさによる分類

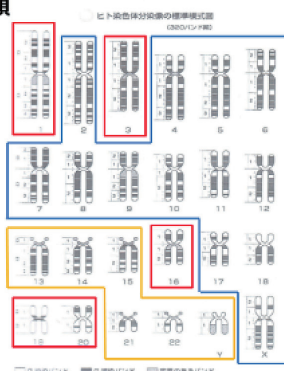
A群：1～3番染色体
B群：4・5番染色体
C群：6～12番染色体・X染色体
D群：13～15番染色体
E群：16～18番染色体
F群：19・20番染色体
G群：21・22番染色体・Y染色体



■ 図 1

染色体形態（着糸点の位置）による分類

- 中部着糸型：
 - ◆着糸点がほぼ中央に位置
 - ◆短腕(p)と長腕(q)ほぼ等しい
 - ◆1・3・16・19・20番染色体
- 次中部着糸型：
 - ◆着糸点の位置が中央から少しずれた位置
 - ◆短腕(p)が長腕(q)より短い
 - ◆2・4~12・17・18番染色体・X染色体
- 端部着糸型：
 - ◆短腕(p)が極端に短い
 - ◆着糸点が端に偏っている
 - ◆付随体(サテライト)を持つ
 - ◆13~15・21・22番染色体・Y染色体



■ 図 2

- ⑧ 5% ギムザ染色
- ⑨ 顕微鏡分析
- ⑩ 核板作成・写真分析・報告

2. 核型記載の一般的原则

染色体数、性染色体の順に記載、異常がある場合は性染色体、次いで1番染色体から22番染色体の順、異常の種類アルファベット順に記載する。

正常女性核型：46,XX 正常男性核型：46,XY

3. 症例と核型

BCR::ABL1 融合遺伝子 t(9;22)(q34.1;q11.2)

慢性骨髄性白血病 CML の95%以上にPh染色体 (t(9;22)(q34.1;q11.2) によって長腕が短くなった22番染色体) が認められるが、CMLの約5%Ph染色体陰性の症例が認められる。Ph染色体陰性CMLは、*BCR::ABL1* 融合遺伝子は陽性であり、染色体の再転座で形態的に正常染色体に復帰した例や、*ABL1* 遺伝子を含むミクロの染色体断片が挿入している例が報告されている。(masked Ph)

BCR 遺伝子には3種類の切断点があり、切断の違いにより病態も異なる。

- ◆ Major-*BCR* 遺伝子：p210^{*BCR-ABL1*} CMLの大多数とPh陽性ALLの半数弱
- ◆ minor-*BCR* 遺伝子：p190^{*BCR-ABL1*} Ph陽性ALLの半数強、CML少数(単球増多)
- ◆ micro-*BCR* 遺伝子：p230^{*BCR-ABL1*} CNL,

CMLの亜型

4. 分染法結果の解釈

造血器腫瘍におけるG分染で観察できるバンド数は320～550バンドであり、微細な欠失、挿入、バンドパターンが類似した部分同士の転座や逆位は見逃してしまうため、正常核型として報告される。また、悪性リンパ腫においてリンパ節から検査した場合、正常核型となることは考えられず、異常をとらえられなかったと考える。

分裂像が得られなかった場合は、細胞増殖が緩徐で分裂細胞が少ないことが考えられ、カルノア固定細胞からFISH検査や遺伝子検査を追加することが望ましい。

IV. 染色体検査 (FISH 法)

FISH法の実施は、分染法で診断された遺伝子異常について、その治療効果を判定するため間期細胞FISH、また異常細胞の染色体が得にくい白血病において、診断のために間期細胞FISHが用いられる。

各プローブの特徴を表1にまとめた。

V. まとめ

染色体分染法では、染色体分裂像が得られなければ結果報告することができないため、FISH法や遺伝子検査を併用することが望ましい。

人材育成に時間を要するのが課題と思われる。

■ 表 1

DNAプローブの種類				
種類	セントロメア (サテライト) プローブ	領域特異的 プローブ	ペインティング プローブ	テロメア プローブ
特徴	セントロメア領域 αサテライト配列の プローブ	特異低領域の検出 微細欠失症候群 転座型異常 構造異常の同定	1～22,X,Yの24種 類の染色体全体 を着色	テロメア領域
目的	数的異常の検出 +13 +18 +21 など	特異的染色体 転座・欠失・増幅 DiGeorge 症候群 Prader-Willi 症候群 Angelman症候群 白血病 他	転座・挿入・欠 失・などの構造 異常 マーカー 染色体	テロメア領域を含 む構造異常のと同 定 マーカー染色体・ 転座・逆位・欠失 などの構造異常
備考	細胞周期によりトリ ソミーに見えること あり	正常遺伝子が隣接 していて融合シグ ナルとして観察さ れることあり	間期核上で観察 できない	

参考文献

最新臨床検査学講座 遺伝子・染色体検査学第2版 医
歯薬出版
JAMT 技術教本シリーズ 遺伝子・染色体検査技術教本
丸善出版

『血液検査で知っておきたい 染色体・遺伝子検査』②遺伝子検査

■開催日：2023年9月28日（木）

■講師：順天堂大学医学部附属順天堂医院
臨床検査部
由利 麻衣子

■生涯教育点数：基礎-20点

I. はじめに

WHO 分類 2016（第4版改訂版）が2017年に出版された。WHO 分類 2016（第4版改訂版）は、WHO 分類 2008（第4版）の提唱以降に次世代シーケンサーの進歩によって、明らかになった最新の知見、特に染色体・遺伝子異常に基づいた診断基準の変更や新規病型の設定が行われている。

II. 遺伝子の基礎

生物の DNA セットはゲノムと呼ばれる。ヒトゲノムは、体内のほぼすべての細胞に存在し、約30億の DNA 塩基対が含まれている。1人のゲノムには約2万から3万種類の遺伝子が含まれており、遺伝子ごとに体を作るための様々な機能がある。遺伝子は人間の細胞の核に詰め込まれた23対の染色体上に位置する DNA ユニットのことであり、酵素やメッセンジャー分子を用いてタンパク質の生成を指示する。タンパク質は臓器や組織などの体の構造を構成するだけでなく、化学反応を制御し、細胞間の信号を伝える役割がある。

III. 遺伝子関連検査

ヒトから採取された検体に対する遺伝子関連検査は、病原体遺伝子検査、体細胞遺伝子検査、遺伝学的検査（生殖細胞系列遺伝子検査）の3つに分類される¹⁾。

病原体遺伝子検査は、ヒトに感染症を引き起こす外来性の病原体の核酸を検出・解析する検査である。例として、SARS-CoV-2 や HTLV-1 の核酸検出検査などが挙げられる。

体細胞遺伝子検査は、がん細胞特有の遺伝子における構造異常などの検出や疾患の病変部や組織の病状とともに変化する一時的な遺伝情報を明らかにする検査である。例として、白血病やリンパ腫の遺伝子や染色体の異常を調べる検査などが挙げられる。

遺伝学的検査（生殖細胞系列遺伝子検査）は、ヒトの個体がもつ遺伝情報のうち生涯変化することなく、次世代に受け継がれる可能性がある遺伝情報を対象とした検査である。例として、脊髄小脳変性症などの単一遺伝子疾患、コンパニオン診断薬の薬物の効果・副作用・代謝に関する遺伝学的検査などが挙げられる。

IV. 遺伝子検査の実際

遺伝子検査は、核酸抽出、核酸増幅、検出、結果報告の手順で行われる。

抽出法には、液相分離と吸着分離がある。吸着分離のシリカメンブレン法は、高塩濃度存在下で核酸と特異的に結合するシリカメンブレンを利用した手法であり、スピンカラムとの組み合わせにより迅速・簡便に核酸抽出が可能で、多くの施設で採用されている。

遺伝子の増幅には PCR（Polymerase Chain Reaction）が用いられ、生物の遺伝情報をもつ DNA を複製して増幅させる方法である。PCR を利用すれば、ごく微量な検体でもわずかな DNA から、特定の配列だけを短時間で増やすことで目的の微生物や遺伝子配列が存在しているかを確認できる。リアルタイム PCR は、PCR 反応による増幅をリアルタイムに測定することができ、増幅率から鋳型 DNA の定量が可能である。

塩基1つ1つの確認にはシーケンス解析が用いられる。

V. 遺伝子標記方法

研究の過程では、同じ遺伝子を調べている研究者から、複数の名前や略称が出てくることがあるため、ヒトゲノム命名法委員会（HUGO Gene

Nomenclature Committee; HGNC) で既知のヒト遺伝子に対して正式な名前と略称を指定している。白血病でみられる HGNC 遺伝子名と別名を表 1 に記す。

VI. 血液検査で知っておきたい遺伝子検査

1. 慢性骨髄性白血病 (CML) の遺伝子検査

CML は、多能性造血幹細胞が悪性化してクローン性の骨髄増殖を起こし、成熟および幼若顆粒球の著しい過剰産生をもたらす、骨髄増殖性腫瘍の 1 つである。t(9;22)(q34.1;q11.2) が生じることで *BCR::ABL1* 融合遺伝子が形成される。*BCR::ABL1* 融合遺伝子は、チロシンキナーゼを恒常的に活性化させることで細胞内の不死化、過剰増殖が引き起こされる。*BCR::ABL1* 融合遺伝子は、切断点により 3 タイプがあり、Minor *BCR::ABL*, Major *BCR::ABL*, Micro *BCR::ABL* とよび、それぞれチロシンキナーゼタンパク質の p190, p210, p230 が生成される²⁾。

リアルタイム PCR 法による CML の *BCR::ABL1* mRNA の定量は、CML 治療の第一選択薬であるチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の治療効果判定に必須である。また、*ABL* 遺伝子変異の解析は TKI 抵抗例における薬剤耐性を把握することが可

能である。

2. *JAK2* 変異, *MPL* 変異, *CALR* 変異

真性赤血球増加症 (PV), 本態性血小板血症 (ET) ならびに原発性骨髄線維症 (PMF) の 3 疾患に共通の遺伝子変異である *JAK2* exon12 変異が発見された³⁾。その後も、ET や PMF におけるトロンボポエチン受容体をコードする *MPL* の遺伝子変異, *CALR* 遺伝子の発見があり、WHO 分類第 4 版から骨髄増殖性疾患の診断基準として盛り込まれた。*JAK2* p.V617F の遺伝子変異割合が高いと血栓症・出血イベントがみられることが報告されており、変異検出の有用性が高まっている。

3. *WT1*

WT1 は、急性骨髄性白血病 (AML) や骨髄異形成腫瘍 (MDS) の患者において高い発現量を示すがん関連遺伝子である。AML や MDS における *WT1* 過剰発現の原因は現時点では不明だが、*WT1* 過剰発現と予後との相関も検討されており、AML や MDS のモニタリング指標としても活用できる。

4. FMS-like tyrosine kinase 3 (*FLT3*) 遺伝子変異

FLT3 は 13 番染色体長腕 (13q12.2) に座する遺伝子である。*FLT3* に変異が発生する

■ 表 1

HGNC	WHO分類	別名
<i>RUNX1</i>	<i>RUNX1::RUNX1T1</i> を伴うAML	<i>AML1, CBFA2</i>
<i>RUNX1T1</i>		<i>AML1T1, ETO, MTG8</i>
<i>PML</i>	<i>PML::RARA</i> を伴うAML	<i>MYL, TRIM19</i>
<i>RARA</i>		<i>RAR, NR1B1</i>
<i>CBFB</i>	<i>CBFB::MYH11</i> を伴うAML	<i>PEBP2B</i>
<i>MYH11</i>		<i>SMMHC, SMHC</i>
<i>MLLT3</i>	<i>MLLT3::KMT2A</i> を伴うAML	<i>AF9</i>
<i>KMT2A</i>		<i>MLL, TRX1</i>
<i>DEK</i>	<i>DEK::NUP214</i> を伴うAML	<i>D6S231E</i>
<i>NUP214</i>		<i>CAIN, CAN</i>

HGNC	WHO分類	別名
<i>GATA2</i>	<i>GATA2, MECOM</i> を伴うAML	<i>NFE1B</i>
<i>MECOM</i>		<i>MDS1, EVI1</i>
<i>RBM15</i>	<i>RBM15::MKL1</i> を伴うAML	<i>OTT, OTT1</i>
<i>MKL1</i>		<i>KIAA1438</i>
<i>BCR</i>	<i>BCR::ABL1</i> を伴うAML	<i>BCR1</i>
<i>ABL1</i>		<i>ABL</i>
<i>NPM1</i>	<i>NPM1</i> 遺伝子変異を伴うAML	<i>B23, NPM</i>
<i>CEBPA</i>		<i>CEBP</i>

と、リガンド非依存的に細胞増殖が活性化され、腫瘍化することが知られている。AML 症例の約 30% で変異がみられ、患者の予後に関連することが報告されている⁴⁾。*FLT3* 阻害薬は、*FLT3* - ITD 変異や *FLT3* - TKD 変異といった活性化変異を有するチロシンキナーゼに対する阻害作用を示し、腫瘍の増殖を抑制する。

VII. まとめ

血液疾患を正しく診断し、治療を行うために血液検査技師も遺伝子の知識が必須となっている。

形態検査やフローサイトメトリー検査などと併せて、遺伝子検査を迅速に臨床へ提供できることが望まれる。

参考文献

- 1) 宮地勇人：遺伝子検査の現状とゲノム医療への展開. 医療機器学, 80 : 332-342, 2010
- 2) Avelino KYPS *et al.*: J King Saud Univ - Sci. 2017: 413-23
- 3) Kralovics R *et al.*: N Engl J Med, 352: 1779-1790, 2005
- 4) Daver N *et al.*: Leukemia, 33 (2) : 299-312, 2019.

『造血器腫瘍 WHO 分類第 5 版の改訂のポイント—実例を交えて—』

■開催日：2023 年 10 月 19 日（木）

■講 師：国家公務員共済組合連合会
虎の門病院分院 臨床検査部
増田 亜希子

■生涯教育点数：専門-20 点

I. 造血器腫瘍の分類の変遷

造血器腫瘍の分類は、以前は形態学に基づく French-American-British (FAB) 分類がその中心であったが、2000 年代以降、分子生物学的研究の成果を反映した World Health Organization (WHO) 分類が重視されている。WHO 分類の書籍は“Blue Book”と呼ばれ、2001 年に第 3 版、2008 年に第 4 版が刊行された。現在は 2016 年～2017 年に発表された改訂第 4 版が広く用いられている。

2022 年 6 月には、WHO 分類の最新版として第 5 版の概要が Leukemia 誌に掲載された^{1), 2)}。2023 年 10 月時点では、第 5 版の書籍版は発行されていないが、Blue Books Online でオンライン版 (Beta V2) を閲覧することができる。第 5 版では改訂第 4 版から編集者が大幅に変更されており、改訂第 4 版の編集メンバーは、2022 年 9 月に International Consensus Classification (ICC) と呼ばれる別分類を Blood 誌上で発表した。したがって、造血器腫瘍の新たな分類は 2 種類存在することになる。

今後我が国で WHO 分類第 5 版や ICC がどのような位置づけで活用されるか、本稿執筆時点でははっきりしない。本講演では、講演時の最新情報に基づき、WHO 分類第 5 版の改訂点について実例を交えて概説する³⁾。

II. WHO 分類第 5 版の主な改訂点：骨髄系腫瘍

融合遺伝子の表記がハイフンからダブルコロンのに変更された (例：PML-RARA → PML::RARA)。

クローン性造血 (clonal hematopoiesis: CH) が新たに記載された。CH は、単一の細胞を起源とした血液細胞がクローン性に増殖する状態を指す。CH は 65 歳以上の高齢者の約 10% にみられ、心血管疾患や造血器腫瘍などのリスクとなることが知られている。

急性骨髄性白血病 (acute myeloid leukemia: AML) は、特定の遺伝子異常を伴う AML (AML with defining genetic abnormalities) と、分化段階で定義される AML (AML, defined by differentiation) の 2 つに大別された。特定の遺伝子異常を伴う AML の 9 病型では、芽球 20% 未満でも AML と診断する。特徴的な再構成を有する 3 つの病型 (KMT2A, MECOM, NUP98) が、特定の遺伝子異常を伴う AML として新たに記載された。改訂第 4 版の急性骨髄性白血病、非特定型 (AML, NOS) は、分化段階で定義される AML に名称が変更された。骨髄異形成関連変化を伴う AML (AML with myelodysplasia-related changes: AML-MRC) は、AML, myelodysplasia-related (AML-MR) に変更された。形態学的異形成の所見のみ (改訂第 4 版の基準：2 系統以上 50% 以上) では、AML-MR とは診断しない。

骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndromes: MDS) は骨髄異形成腫瘍 (myelodysplastic neoplasms: MDS) に名称が変更され、病型分類に遺伝子異常 (TP53 の両アレル不活性化変異や SF3B1 変異) の有無が取り入れられた。低形成 MDS が新たに記載され、小児 MDS も正式な病型となった。異形成の種類や判定基準には変更はなかった。

SF3B1 変異陽性で芽球の増加を認めない MDS は、SF3B1 変異を伴う低芽球比率 MDS (MDS-SF3B1) と診断する。SF3B1 変異が測れない場合や SF3B1 変異が陰性の場合、環状鉄芽球が 15% 以上であれば、「環状鉄芽球を伴う低芽球比率 MDS」と診断してよいとされている。

慢性骨髄性白血病は移行期が削除され、慢性期と急性転化期のみになった。慢性好酸球性白血病は、診断基準の一部が変更された。好酸球増加の持続期間が定義上 6 ヶ月から 4 週間に短縮され、クローナリティの検出および骨髄形態異常が必須の条件となった。

慢性骨髄単球性白血病 (chronic myelomonocytic leukemia: CMML) では、単球数の基準が「1,000/μL 以上」から「500/μL 以上」に引き下げられた。ただし、単球数が 1,000/μL 未満の場合、クローナリティおよび 1 系統以上の異形成が診断に必要となる。サブグループでは CMML-O が削除された。また、末梢白血血球数に基づくサブタイプが正式に記載された。非定型慢性骨髄性白血病 (atypical chronic myeloid leukemia: aCML) は、好中球増加を伴う骨髄異形成 / 骨髄増殖性腫瘍に名称が変更された。

混合表現型急性白血病 (mixed phenotype acute leukemia: MPAL) では、細胞系統を判断する基準として、芽球の蛍光強度の目安が記載された。たとえば骨髄系では、細胞質内 MPO 陽性と判断する目安として、「芽球の一部は正常好中球の蛍光強度の 50% を超える」と定義されている。第 5 版の基準に基づいて判断した場合、従来に比べて MPAL と診断される症例が減る可能性がある。

Ⅲ. WHO 分類第 5 版の主な改訂点：リンパ系腫瘍

組織学的に腫瘍と紛らわしい疾患・病型が、鑑別上重要として、WHO 分類に新たに記載された。たとえば、B 細胞優位の腫瘍様病変として IgG4 関連疾患や多中心性キャスルマン病などが、T 細胞優位の腫瘍様病変として菊池・藤本病などが記載された。

リンパ芽球性白血病 / リンパ腫の疾患名では、染色体異常は省かれ、遺伝子異常のみの記載となった。B 細胞性リンパ芽球性白血病 / リンパ腫 (B-lymphoblastic leukemia/lymphoma: B-

ALL/LBL) では、*ETV6::RUNX1* 様特徴を伴う B-ALL/LBL などの新たな病型が追加された。T 細胞性リンパ芽球性白血病 / リンパ腫 (T-lymphoblastic leukemia/lymphoma: T-ALL/LBL) では、初期前駆 T 細胞性リンパ芽球性白血病 / リンパ腫 (early T-precursor ALL/LBL: ETP-ALL/LBL) が暫定病型から正式な病型に変更された。

ホジキンリンパ腫は以前から B 細胞由来であることが知られており、第 5 版から成熟 B 細胞腫瘍に含まれることとなった。広義のびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma: DLBCL) は、大細胞型 B 細胞リンパ腫 (large B-cell lymphoma: LBCL) という新名称に変更された (family/class に相当する)。びまん性に増殖するものは、従来どおり DLBCL と診断される。改訂第 4 版の「*MYC* および *BCL2* と *BCL6* の両方か一方の再構成を伴う高悪性度 B 細胞リンパ腫」は、第 5 版では「*MYC* と *BCL2* 再構成を伴うびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 / 高悪性度 B 細胞リンパ腫」に変更された。*BCL2* 再構成がなく *BCL6* 再構成のみの場合は含まれない。濾胞性リンパ腫では、Grade 1 ~ 3A の組織学的グレーディングは必須ではなくなった。B 細胞リンパ腫の診断基準は満たさないが、B 細胞のクローン性増殖に関連した疾患として、寒冷凝集素症が新たに記載された。

改訂第 4 版の血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫 (angioimmunoblastic T-cell lymphoma: AITL) は、節性濾胞ヘルパー T 細胞リンパ腫、血管免疫芽球型 (nodal T-follicular helper cell lymphoma, angioimmunoblastic-type: nTF-HL-AI) に変更された。

Ⅳ. WHO 分類第 5 版の主な改訂点：組織球 / 樹状細胞腫瘍

組織球肉腫やランゲルハンス細胞組織症などが含まれるカテゴリーである。第 5 版では、芽球

形質細胞様樹状細胞腫瘍 (blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: BPDCN) がこのカテゴリーに移動した。第 5 版では BPDCN の診断基準に免疫表現型が明記された。

V. WHO 分類第 5 版導入後に想定される 形態所見の方向性

AML や MDS の診断において、芽球比率の評価は依然として重要だが、芽球比率が 20% 未満であっても AML と診断される例が増えると思われる。また、MDS の診断においては、末梢血の芽球比率 1% 未満かどうか病型分類に影響しなくなる。異形成の系統数や定量的評価についても、第 5 版では診断や病型分類に与える影響が小さくなった。一方で、慢性好酸球性白血病のように骨髓形態異常が診断に必須となった疾患もあり、形態所見の評価は依然として重要と考えられ

る。全体として遺伝子異常の有無が重視されているため、我が国でも造血器腫瘍の遺伝子パネル検査の臨床実装が期待される。

参考文献

- 1) Khoury JD, et al: The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*, 36 (7):1703-1719, 2022
- 2) Alaggio R, et al: The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*, 36 (7):1720-1748, 2022
- 3) WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023/6/14]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>.

『血液像からせまる血液疾患の基本と考え方 —血液像観察に必要な基礎知識とその応用—』

■開催日：2023年11月16日（木）

■講 師：NTT 東日本関東病院 臨床検査部

後藤 文彦

■生涯教育点数：基礎-20点

I. 血液像とは

生体内を流れる1滴（数 μL ）の血液から作製される塗抹標本を顕微鏡下で観察することにより、多くの情報を短時間に得ることができる検査である。しかし、実際に多くの情報を得るには、やはり知識と経験が必要となる。これらが不足していると、診断に直結する重要な所見でさえも見落としてしまう可能性がある。一方、血液形態学は正しい基礎知識を習得し、日々の業務経験を重ねることで自ずとスキルアップを図ることができる。

II. 基礎知識の整理

1. wedge 法による塗抹標本

標本作製では過剰なアーチファクトを防ぎ、再現性のよい作製が肝要である。そのポイントは、①血液量：約5 μL 、②引きガラスの角度：約30°、③引く速度：約0.5秒の条件を極力一定にすることにある。しかし、貧血や多血症（赤血球増加症）の患者検体では、その性状により引きガラスの角度や、引く速度の調整が必要な場合もある。また、特性として単球や顆粒球のように大型の細胞は、引き終わりや辺縁部に集まりやすく、逆にリンパ球や血小板など小型の細胞は引き始め～中央部に分布する傾向がある。

2. 血液像観察の目的と観察ポイント

(1) 100倍での観察：全体像の観察を行う。とくに引き終わりや、辺縁部の観察で大型の異常細胞、細胞集塊（血小板凝集を含む）の有無を確認する必要がある。同時に各血球の染色性や、分布状況、量的観察を行う。血液像では、この全体像の把握が最も重要となる。

(2) 400倍での観察：赤血球および血小板の評

価。細胞の分布状況、強拡大での観察部位を決定する。

①赤血球の評価：大きさ、染色性（色調）、形状など

②血小板の評価：大きさ、染色性、顆粒の有無や、その分布状態など

③白血球の観察：大きさ、特異顆粒の染色性、数の概算など

(3) 1,000倍での観察：個々の細胞について、細胞質（色調、顆粒、封入体の有無）、核（形、核網、核小体の有無）の観察しながら細胞分類、形態異常の判定を行う。

3. 血液細胞観察・鑑別のコツ

標本上の観察では、赤血球に同一方向の歪み（アーチファクト）がなく、分布が密すぎない均一な部位から、赤血球同士の重なりが50%以内の部位を選択する。また、細胞個々の鑑別（コツ）は、①細胞質、②顆粒、③核、④核小体をよく観察し、必要に応じておのおのの大きさ、形、色調、数について確認するとよい。

4. 血液細胞の大きさの表現法

赤血球（平均8 μm ）をスケールとして、おおよその大きさを測り知ることができるが、大きさを表現するには、成熟好中球（13 μm 前後）を基準として、小型・中型・大型の表現をする。

5. 血液細胞のコメント法（とくに異常細胞）

対象となる異常細胞について、細胞の外側から内側に向かい順序立ててコメントすることで、職場内で統一化が図りやすい。具体的には、①大きさ、②N/C（比）、③細胞質（辺縁の形状、色調、封入体の有無）、④核（形、構造、核小体の有無など）の順でコメントするとよい。

6. 不明細胞の論理的同定法

(1) 分析帰納法：成書（アトラス等）に記載してある基準的な形態学的特徴と比較して目的の細胞を同定する方法。

(2) 比較類推法：形態学的な変動相をよく理解し、目的の細胞がどの細胞群の特徴をより多く有しているか判断し、同定する方法。

(3) 除外法：目的の細胞がどの細胞系統にも合致しないことから別な系統の細胞として同定する方法。

7. 血液細胞の分化・成熟

血液細胞は、骨髄において多能性幹細胞からおのおのの前駆細胞が造血因子（サイトカインを含む）の刺激を受けながら各種白血球、赤血球、血小板へと分化・成熟し、やがては末梢血や組織でそれぞれの機能を営んでいる。しかし病的な場合には、末梢血中へも幼若細胞が出現することがあるため、各成熟段階の細胞についても形態学的特徴を熟知しておく必要がある。

(1) 顆粒球（好中球）：骨髄系幹細胞から形態学的に認識可能な【骨髓芽球】→【前骨髓球】→【骨髓球】（まで分裂能がある）→【後骨髓球】→【桿状核球】→【分葉核球】の順で分化・成熟する。【骨髓芽球】が【後骨髓球】になるまで通常4～5回細胞分裂を行うため、理論的には1つの【骨髓芽球】から【成熟好中球】が16～32個産生されることになる。

(2) 赤血球：【前赤芽球】→【好塩基性赤芽球】→【多染性赤芽球】（→時に【正染性赤芽球】）→（脱核を経て）【多染性赤血球】（超生体染色では【網赤血球】に相当）→【成熟赤血球】となる。【前赤芽球】から【多染性赤芽球】まで分裂能があり、通常3～4回細胞分裂を行うため、理論的には1つの【前赤芽球】から【成熟赤血球】が8～16個産生されることになる。

(3) 血小板：【巨核芽球】（多倍数体で存在）→【前巨核球】→【巨核球】（前血小板）→【血小板】（1つの巨核球から血小板2,000～5,000個）が産生される。巨核球系細胞は、核分裂はするが細胞分裂はしないため、核DNA量が増加するにつれて細胞は大型化する。一般的には3回の核分裂をして巨核球になるものが多いとされている。ただし、巨核球は必ずしも大きさと成熟度が関連しないことは念頭におく必要がある。

8. 血液像で診断の手がかりとなる形態所見

以下の形態学的異常所見について形態画像を示し、解説を行った。

(1) 幼若顆粒球、有核赤血球（白赤芽球症）：骨髓浸潤性病変、髄外造血を示唆。

(2) 腫瘍性リンパ球：リンパ腫の骨髓浸潤を示唆。しかし、形態学的所見のみでは正常リンパ球、反応性（異型）リンパ球との明確な鑑別は困難である。そのため、フローサイトメトリー検査で補完する。

(3) 好中球過分葉：巨赤芽球性貧血、骨髓異形成腫瘍（MDS）などで出現する。

(4) 偽ベルゲル核異常：MDSに特異性が高い異形成（カテゴリーA）の一つである。同時に特異顆粒（二次顆粒）の染色性についても評価する。

(5) 連銭形成：多発性骨髓腫を代表とする高γグロブリン血症や、フィブリノゲン上昇（炎症）時に観察される。

(6) 赤血球凝集：寒冷凝集素症を示唆。

(7) 涙滴赤血球：骨髓線維症を示唆。

(8) 標的赤血球：肝疾患、サラセミアなどで出現する。

(9) Howell-Jolly 小体（核の遺残物）：巨赤芽球性貧血、摘脾後、MDSなどで出現する。

(10) 好塩基性斑点：鉄芽球性貧血、MDS、鉛中毒などで出現する。塗抹標本作製後の乾燥時にリボソーム（RNA）が凝集したものと考えられている。

(11) 巨大血小板（赤血球より大きい）：MDSを示唆。同時に血小板の大小不同にも着眼する。出現をみた場合、血小板数について視算法での確認が必要である。

その他、見逃してはいけない偽性血小板減少症（採血不備、EDTA依存性血小板凝集、血小板衛星現象など）の紹介を行った。

Ⅲ. おわりに

血液担当技師は、検体採取（採血時に生じる誤差要因）、検体の保存性（EDTA 塩の影響）、塗抹標本作製、染色（染色性）、鏡検に至るまで、すべての検査工程について熟知しておく必要がある。また、血液細胞の鏡検技術はもちろんであるが、そこで得られた情報を正しく評価し、正確に臨床医へ伝えること、また、同時に患者情報（臨床症状）や疑問点については臨床医へ問い合わせるなどコミュニケーションスキルを日頃から養うことも重要と考える。

参考文献

- 1) 三輪史朗, 渡辺陽之輔: 血液細胞アトラス第 5 版, 文光堂, 2004
- 2) 奈良信雄, 小山高敏, 他: 臨床検査講座第 2 版 血液検査学, 医歯薬出版, 2006
- 3) 朝長万左男: 「血液細胞形態学」マスターコース, 武藤化学株式会社, 2013
- 4) 阿南建一, 他: エビデンス血液形態学, 近代出版, 2014

微生物検査研究班研修会一要旨

『一属入魂 !! 菌属を徹底的に学ぶ』

Salmonella 属

開催日：2023年7月21日（金）

講師：国立病院機構茨城東病院

臨床検査科

守屋 任

生涯教育点数：基礎-20点

Salmonella 属菌は食中毒原因菌として古くから便培養の主たる検査目的菌に位置づけられます。Salmonella 属菌は2014年時点で2600種を超える亜種分類がされており、感染症法上できわめて重要な Salmonella Typhi, Salmonella Paratyphi A も含まれます。本研修会では Salmonella 属の分類学的な話からチフス性サルモネラと非チフス性サルモネラの異なる点、微生物学的な同定検査・薬剤感受性検査等における注意点について概説しました。2019年新型コロナ

ウイルス流行以降では渡航者の激減により国内におけるチフス性サルモネラ件数は減少していましたが、国策としてのインバウンド観光の促進がすすめられていることから、今後またチフス性サルモネラの国内流入が増えてくることが予想されます。チフス菌、パラチフス A 菌は日常的に遭遇することはきわめて少ない菌ですが、いざというときに迷わず自信をもって検査できるように準備をしておくことは重要と考えます。

私事で恐縮ですが、平成26年から東京都臨床検査技師会微生物検査研究班に所属しておりましたが県外へ転勤のため2022年度末で幹事から退任いたしました。研究班の活動は新しいことを学び続けるためのモチベーションを保つ絶好の場であり、微生物研究班の皆様と研修会に参加していただいた皆様に厚く感謝を申し上げます。

分類学

Domain (座) : "Bacteria"

Phylum (門) : Pseudomonadota

Class (綱) : Gammaproteobacteria

Order (目) : Enterobacterales

Family (科) : Enterobacteriaceae

Genus (属) : Salmonella

"Salmonella" アメリカの細菌学者 "D.E. Salmon" の名前から命名

Type species: *Salmonella enterica*

(ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987

Salmonella属

腸内細菌目・腸内細菌科に分類され、運動性を持つオキシダーゼ陰性、カタラーゼ陽性、通性嫌気性のグラム陰性桿菌である。Salmonella属の性状は、クエン酸塩を唯一の炭素源、リジンを窒素源として使用する能力と、TSI寒天上での硫化水素産生によって定義される。(一部例外を除く)



2014年時点の血清型による Salmonella 属の亜種分類は2600種を超える！

【LPSN: Salmonella属 correct name(2023.7.9)】

Salmonella分類について：血清型名

カウフマン-ホワイト分類 (Kauffman-White classification)

Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme

✓ O抗原 (菌体抗原)

✓ Vi抗原 (英膜抗原の一種)

✓ H抗原 (鞭毛抗原) の組合せで分類する方法

血清型名：菌の種形容詞名とは違うため表記方法も違う

【腸チフス菌の菌名記載】

Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi

または、Salmonella serovar Typhi

Salmonella Typhi

【血清型記載方法】 Salmonella Typhi (9,12:1Vi:-)

Salmonella ParaTyphi A(1,2,12:a:-)

イタリック記載

非イタリック記載

Salmonellaの分類のポイント

Salmonella 属レベルの鑑別と血清型試験の組合せで判別

鑑別が重要な菌

✓ 非チフス性 Salmonella

✓ Salmonella Typhi

✓ Salmonella Paratyphi A

チフス性サルモネラ

非チフス性サルモネラ症

非チフス性サルモネラ菌による食中毒。

- ◆潜伏期：汚染食品を摂取してから8時間から2日間
- ◆症状：大腸型の急性胃腸炎症状（発熱、腹痛、下痢）が典型症状で軽症の場合は単なる水様便の場合もある。
- ◆診断：便からSalmonellaを検出すること。
- ◆治療：例外を除き**抗菌薬治療は行わない**。
抗菌薬により保菌状態（排菌期間）が延長する報告があるため。

調理師などの食品取扱者

腸チフス、パラチフス

腹痛を伴う発熱主体の全身感染症（**食中毒主体ではない**）

- ◆潜伏期：1～2週間※（5～21日間）（※6週間の報告もあり）
- ◆非特異的前駆症状

悪寒、発汗、頭痛、咳、虚脱感、咽頭痛、筋肉痛など

- ◆典型症状

- ① 第一病週：発熱、比較的徐脈、第一病週後半からバラ疹、脾腫
- ② 第二病週：肝脾腫、高熱の稽留熱（2～4週）、昏迷状態
- ③ 第三病週：回腸末端の腸出血、腸穿孔
- ④ 第四病週：解熱回復に向かう。（完治まで数か月の場合も）

- ◆合併症

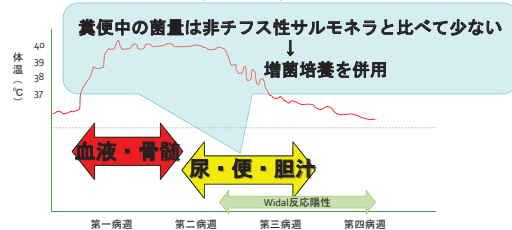
転移性病変を生じ、細菌性動脈瘤・粥状動脈硬化巣、骨髓炎、髄膜炎、心内膜炎、肺炎を生じる。

腸チフス、パラチフス

- ◆診断（診断したらただちに届出、三類感染症）
便、血液、骨髓、皮疹（バラ疹）の培養で菌を検出する。
- ◆治療
非チフス性サルモネラと異なり基本的に全例が治療対象。
経験的治療：CTX、AZM（保険適応なし）
感受性株一選択薬？：CPFX
感受性株代替薬？：AMPC、ST合剤



腸チフスの定型的経過と検査法



飯田哲也、平松啓一編、サルモネラ属、標準微生物学第11版 図13-4改変

微生物学的検査：培養法について

- ◆増菌培養
非チフス性Salmonella：原則的に不要、食品検査の場合には必須
S. Typhi, S. Paratyphi：併用することで検出率が向上する。
- ✓マラカイトグリーン、ブリラントグリーンなどを含む培地では発育しないことに注意する。
- ✓増菌培養は12～16時間を超えると検出率がさがすることに注意する。
- ◆分離培養
選択培地ではまれに発育しない株があるため、非選択培地を必ず併用する。

ニッスイ分画プレート羊血液寒天/ドリガルスキー（35℃24時間通常大気）

Salmonella Enteritidis

Salmonella Typhi

Salmonella Paratyphi A

クロモアガーSTEC/SS エクストラ分画培地（35℃24時間通常大気）

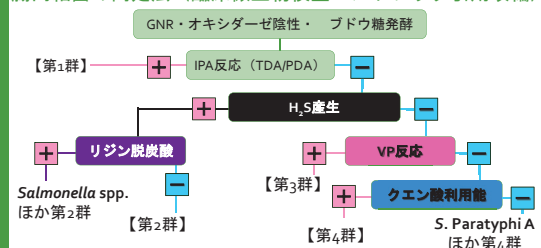
Salmonella Enteritidis

Salmonella Typhi

Salmonella Paratyphi A

微生物学的検査：同定検査について

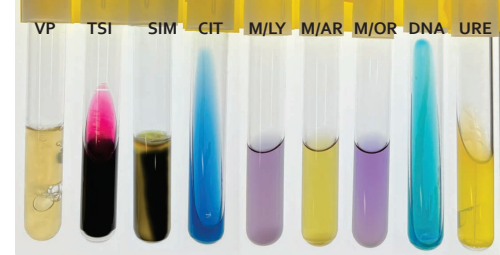
腸内細菌の同定法（臨床微生物検査ハンドブック引用改編）



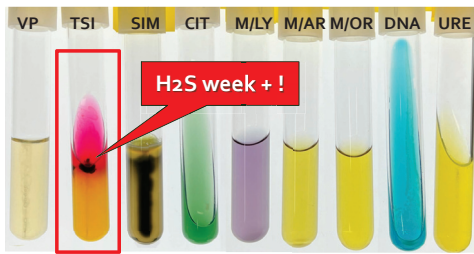
生化学的性状

	斜面	高層	ガス	硫化水素	VP	インドール	運動性	クエン酸塩	リジン	アルギニン	オルニチン
<i>Salmonella</i> spp. (一般)	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. Typhi</i>	-	A	+	+	-	-	+	-	+	d	-
<i>S. Paratyphi A</i>	-	A	+	or (+w)	-	-	+	-	-	+	+
<i>Citrobacter freundii</i>	or -	A	+	+	-	+	+	+	+	d	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	-	A	+	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	A	+	+	d	-	+	+	+	+	-

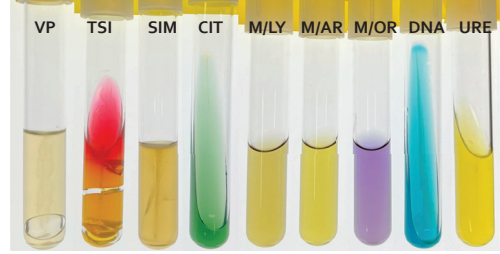
Salmonella Enteritidis Salmonella典型的な性状



Salmonella Typhi



Salmonella Paratyphi A Salmonella っぽい性状...



血清型試験を実施しない場合の誤同定に注意

医療施設の無症状調理従事者から分離された
Citrobacter 属菌が **パラチフスA菌** と誤同定された事例
(医療施設・調理従事者の定期検便検査：症状・渡航歴なし)
(IASR Vol. 37 p. 112-113: 2016年6月号)

- ◆ *Citrobacter freundii* genom-species 6 : *C. braakii*
BD CRYSTAL (89.4%)
WalkAway (90.6%)
apizoE (%ID=99.5, 非典型的な反応なし)
- *S. Paratyphi A* と同定
- ※血清型試験による確認が実施されていなかった

発生報告した場合、就業制限がかけられるなど社会的な影響が大きいことに注意する

とはいえど、
検出できない方が社会的に問題が大きいです

“腸チフスのメアリー” メアリー・マローン (1869-1938)



世界で初めて臨床報告された
腸チフスの健康保菌者&料理人
→数十人にアウトブレイク

死後、病理解剖の結果から胆のう内に感染巣があったことが判明。

Salmonella検出に胆汁培養が推奨される理由

Gallstones play a significant role in *Salmonella* spp. gallbladder colonization and carriage
Robert W. Crawford, et al. PNAS 107: (9) 4353-4358, 2010.

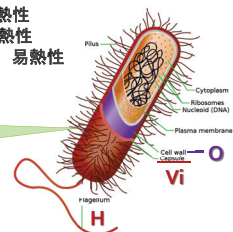
- ✓ チフス菌を含むサルモネラ属菌は、コレステロールを主成分とする胆石表面にバイオフィームを作り、生体防御から隠れて治療に対する抵抗性を獲得する。
- ✓ さらに、バイオフィーム形成により、腸チフスでは持続的な症状を呈し、菌が急性的な症状を引き起こさず広く拡散する原因となることが考えられている。

血清型試験の基本的考え方

- ✓ O抗原：菌体抗原（リポ多糖）耐熱性
- ✓ Vi抗原：莢膜抗原（莢膜多糖）易熱性
- ✓ H抗原：鞭毛抗原（鞭毛タンパク）易熱性

莢膜が外側にあると
O抗原が反応しない

Vi陽性=O抗原陰性となるため
莢膜を除く必要性→加熱



国内のサルモネラ免疫血清で唯一のPMDA登録試薬？

サルモネラ菌キット

サルモネラ免疫血清「生研」（デンカ株式会社）

◆サルモネラ免疫血清(O群血清)

➢ 多価血清：O多価、O1多価

➢ 単価血清：O2群、O4群、O7群、O8群、O9群、O9,46群、O3,10群、O1,3,19群、O11群、O13群、O6,14群、O16群、O18群、O23群、O35群

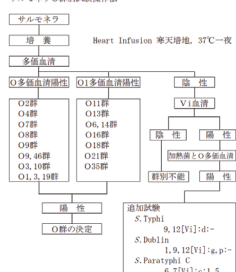
◆サルモネラ免疫血清(Vi血清)

◆サルモネラ免疫血清(H血清)

➢ 単価血清：H-a, H-b, H-c, H-d, H-e, h, H-g, H-i, H-k, H-l, H-r, H-y, H-e, n, H-1, H-z, H-z 4, H-z 10, H-z 2 9

➢ 因子血清：H-v, H-w, H-z 1 3, H-z 2 8(H-L抗原群因子) H-z, H-5, H-6, H-7, H-z 6(H-I抗原群因子) H-f, H-m, H-p, H-q, H-s, H-t, H-u(H-G抗原群因子) H-z 2 3, H-z 2 4, H-z 3 2(H-z 4抗原群因子) H-x, H-z 1 5(H-e, n抗原群因子)

サルモネラO群別試験操作法



- S. Typhi (Og) 以外のVi陽性菌
- ◆ S. Dublin (Og) →H抗原, 生化学性状
- ◆ S. Paratyphi C (O7) →生化学性状
- ◆ Citrobacter sp. →生化学性状
- ◆ Escherichia sp. →生化学性状

サルモネラ免疫血清「生研」添付文書 図引用

血清型試験の手技について 神奈川県衛生検査所ホームページ参照

写真画像付きで検査手技が詳細に記載されています。
サルモネラ血清型試験の経験が少ない方はぜひご覧ください。
つづきはWebで。



神奈川県衛生検査所ホームページ画像引用
https://www.pref.kanagawa.jp/lphys/teiken/002_kensa/02_microbe/kessei.htm

薬剤感受性試験について (CLSI M100ED33)

便から検出された場合の治療の前提

- 腸チフス・パラチフスA：全症例が治療対象
- 非チフス性サルモネラ：原則抗菌薬は使用しない

Salmonella and Shigella spp.

薬剤感受性試験で実施・報告すべき抗菌薬

◆ Tier 1 (日常的な一次検査)

Ampicillin, Ciprofloxacin, Levofloxacin, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Cefotaxime or Ceftriaxone,

◆ Tier 2 (日常的な一次検査と各施設のカスケードルール報告)

Azithromycin (S. Typhiに限る)

◆ Tier 4 (Tier1,2の抗菌薬が最適でない場合に検討)

Ertapenem, Imipenem, Meropenem, Tetracycline

WARNING !!

- ◆ Salmonella spp.はアミノグリコシド、第1, 2世代セファロスポリン、セファマイシンに対してin vitroで感受性結果であっても臨床的效果がない。
(※自然耐性とは違うことに注意)
- ◆ カルバペネム系薬の有効性を示す臨床データは限られている。
- ◆ TC感受性→DOXY・MINO感受性と推定ができる。
- ◆ TC中間/耐性→DOXY・MINOは感受性の場合もある。

CLSIM100ED33 MICブレイクポイント特徴

	S	R	
Azithromycin※	≤16	≥32	※ S. Typhi限定
	S	I	R
Ciprofloxacin	≤0.06	0.12-0.5	≥1
Levofloxacin	≤0.12	0.25-1	≥2
Oxfloxacin	≤0.12	0.25-1	≥2
Salmonella以外	S	I	R
Ciprofloxacin	≤0.25	0.5	≥1
Levofloxacin	≤0.5	1	≥2
Oxfloxacin	≤2	4	≥8

Salmonella薬剤耐性の発生頻度と考え方

◆第3世代セファロスポリン：I or R

◆Azithromycin：R

◆Fluoroquinolones：I or R

上記の結果はいずれも珍しい耐性に含まれるため

- ✓ 同定と感受性検査の再検査を実施する。
- ✓ 施設の予防策を確認し特別な報告手順や追加措置が必要が講じる。
- ✓ 保健所・感染研等に相談して、適切な報告および隔離の手順を確認する。

ESBL産生Salmonellaは稀です。



本邦ではまれな ESBL 産生 Salmonella 属菌が分離された一例

遠藤 彰一郎¹⁾ 安藤 隆²⁾ 阿部 正樹³⁾ 中田 浩二⁴⁾
河野 緑⁵⁾ 政本 隆博⁶⁾ 松浦 知和⁷⁾

1) 東京都感染症センター 大腸菌検査・診断科 検査部長 (〒200-8501) 東京都目黒区南町 4-1-1
2) 東京都感染症センター 大腸菌検査・診断科 検査部長
3) 東京都感染症センター 大腸菌検査・診断科 検査部長
4) 東京都感染症センター 大腸菌検査・診断科 検査部長

- ◆ 便由来 Salmonella sp. (Serotype O8)
- ◆ CTX-M-15 type

まれな耐性は学会発表や論文などでエビデンス化することで疫学上重要なデータとなるので是非報告してください。

「東京都医学検査」原稿作成の決まり

都臨技編集部

1. 用語

1. 新字と旧字

膣, 頸, 渣 (医療用語として左記を用いる。)

固有名詞は旧字のままでよい。

例) 藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院など。

2. 単位

mL, μ L など。L は大文字。

マイクロは立体の μ で表す。ミューはギリシャ文字 (斜体) の μ で表す。

3. イタリック体表記

菌, カビ, 酵母の学術名とラテン語, in situ も斜体 (イタリック) で表記する。

例) *Escherichia* sp.

単数を表す『sp.』, 複数を表す『spp.』は菌名ではないのでイタリック体にしない。

例) *Salmonella enteric* serovar Typhi

Typhi は種ではなく血清型を表したもののなので, イタリック体にせず, 頭の文字も大文字にする。

4. よく使う語

1) 副詞

まず, いったん, いっそう, ほとんど, わずか, あらかじめ, いずれ, なお, すべて, まったく, あわせて, きわめて, まだ, ついに, なぜ, いかに, さらに, とくに, ともに, もっとも, たとえば, たびたび, あるいは, いわゆる, もしくは, なんら, すでに, 初めに, 次いで, 主に, だいたい, いっさい, ぜひ, ふつう, さすが, およそ, たいてい

2) 接続詞・連体詞

および (注: 及ぼす), または, ただし, したがって (注: 従う), ゆえに, しかも, さらに, なお, ならびに, かつ, ところで, それとも

3) 名詞

～するうえで, ～につき, ～のとおり, ～のよ
うに, ～したために, ～のほか (注: その他),

いまでは, ～したこと, 様々, 我が国, 私たち, 皆さま, 我々, コンピュータ, サーバ, 1ヶ月, 2階 (Fは使用しない)

4) 動詞・助動詞・形容詞

行う, 表す, まとめる, 分かる, ～することができる, ください, いたします, いただきます, 申し上げます, ～にみられるように (注: ～を見る), ～とよぶ, ～をはじめに (注: ～し始める, 初めて～する), ごとく, ～したことがない, ～ない, しがない, しやすい, してよい, やさしい<易>, 難しい, するようだ, ください

5) 助詞

ぐらい, など, まで, ほど

6) その他 当て字

その, それぞれ, おのおの, ～において, など, ～につき, はやり, たくさん, かかわらず, ありがとう

5. 記号

(株)(社)(財)…予定表・議案書, 論文の表中, 議事録の本文。

(株)(社)(財)…要旨・記録の肩書きと本文, 論文の本文。

株式会社…特集, シリーズ, 投稿論文の肩書き。

基本的に病院名などは「〇〇法人〇〇会 〇〇病院」と書き, 省略不可。ただし, 〇〇法人〇〇会の省略を認めることもある。

6. その他

1つ, 2つ, 3つ (1人, 2人…)

生涯教育 自宅研修の手引き

このページは自宅研修用に会誌の利用の仕方、会誌各内容の教科別区分け、教科点数の案内をしています。
ここに案内している教科分類は、日臨技の自宅研修方式に基づき地区単位技師会誌の扱いに合致したものです。評価にはレポートの提出が義務づけられます。

〈レポート提出について〉

レポート提出は日本臨床衛生検査技師会ホームページ

(<http://www.jamt.or.jp/>) の「生涯学習」「生涯教育研修制度ガイドライン」をご利用ください。

本号には 2024 年 2 月号対象掲載項目の教科点数を案内しています。

著者名：谷古宇 利樹，高槻 祐菜，中島 昌哉
表題名：PCR 技術特集
～PCR，リアルタイム PCR，デジタル PCR～
掲載誌：第 52 巻 1 号 6 (6)～18 (18) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：佐藤 佑樹
表題名：当院における血液培養検査状況と夜間休日
帯検査体制の推移
掲載誌：第 52 巻 1 号 19 (19)～24 (24) 頁
教科点数：基礎-30 点

著者名：長谷 麻樹子
表題名：デジタル PCR の基礎～デジタル PCR っ
てなに？ 次世代の PCR 技術を学ぼう !!
掲載誌：第 52 巻 1 号 32 (32)～36 (36) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：後藤 義也
表題名：遺伝子検査未染標本作製の工夫
―受託検体会社の検査品質におけるリスク
要因と取り組み―
掲載誌：第 52 巻 1 号 37 (37)～44 (44) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：垣花 昌俊
表題名：肺癌マルチ遺伝子検査のための生検検体の
取り扱いと精度向上のための工夫
掲載誌：第 52 巻 1 号 45 (45) 頁～49 (49) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：馬島 大
表題名：輸血部門の施設における教育体制について①
掲載誌：第 52 巻 1 号 50 (50)～51 (51) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：相川 佳子
表題名：輸血部門の施設における教育体制について②
掲載誌：第 52 巻 1 号 52 (52)～54 (54) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：飴谷 利江子
表題名：赤十字血液センター MR の業務について
掲載誌：第 52 巻 1 号 55 (55)～58 (58) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：山本 雅史
表題名：知っておくと得する，精密呼吸機能検査の
ハナシ～FRC と DLco を中心に～
掲載誌：第 52 巻 1 号 59 (59)～64 (64) 頁
教科点数：基礎-30 点

著者名：里見 和浩
表題名：不整脈診断と最新の治療
掲載誌：第 52 巻 1 号 65 (65)～67 (67) 頁
教科点数：基礎-30 点

著者名：山里 勝信
表題名：尿沈渣に必要な腎泌尿器の構造と病理
掲載誌：第 52 巻 1 号 68 (68)～73 (73) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：押野見 和彦
表題名：前立腺癌診断に有用な新規項目「プロス
テートヘルスインデックス (phi)」について
掲載誌：第 52 巻 1 号 74 (74)～76 (76) 頁
教科点数：専門-30 点

著者名：村上 聡
表題名：検査に役立つ統計学の基礎
掲載誌：第 52 巻 1 号 77 (77)～78 (78) 頁
教科点数：基礎-30 点

著者名：須長 宏行

表題名：独り立ちするときに役立つ凝固検査のピット
フォール

掲載誌：第 52 巻 1 号 79 (79)～80 (80) 頁

教科点数：基礎-30 点

.....

著者名：湯本 春野

表題名：血液検査で知っておきたい染色体・遺伝子
検査①染色体検査

掲載誌：第 52 巻 1 号 81 (81)～83 (83) 頁

教科点数：基礎-30 点

.....

著者名：由利 麻衣子

表題名：血液検査で知っておきたい染色体・遺伝子
検査②遺伝子検査

掲載誌：第 52 巻 1 号 84 (84)～86 (86) 頁

教科点数：基礎-30 点

.....

著者名：増田 亜希子

表題名：造血管腫瘍 WHO 分類第 5 版の改訂のポ
イントー実例を交えてー

掲載誌：第 52 巻 1 号 87 (87)～89 (89) 頁

教科点数：専門-30 点

.....

著者名：後藤 文彦

表題名：血液像からせまる血液疾患の基本と考え方
ー血液像観察に必要な基礎知識とその応用ー

掲載誌：第 52 巻 1 号 90 (90)～92 (92) 頁

教科点数：基礎-30 点

.....

著者名：守屋 任

表題名：一属入魂!! 菌属を徹底的に学ぶ *Salmonella* 属

掲載誌：第 52 巻 1 号 93 (93)～96 (96) 頁

教科点数：基礎-30 点

.....

論文投稿規定

平成 30 年 1 月改定

I. 投稿資格

筆頭者、共同研究者は本会員に限る。ただし、共同研究者が非会員の場合 1 名につき 10,000 円を申し受ける。

II. 投稿論文の内容

臨床検査、公衆衛生検査に関するもので、他誌または出版物に未発表なものに限る。

III. 投稿論文の種類

1) 原著

独創的な研究成果で学術的評価が高いもの。10 枚以内（刷上り 8 頁以内）。

2) 研究

検査法の追試、改良等の研究に関するもの。7 枚以内（刷上り 5 頁以内）。

3) 管理運営および調査資料

臨床検査の管理運営や調査に関するもの。7 枚以内（刷上り 5 頁以内）。

4) 試薬と機器

既成のキット、機械、器具、試薬等を検討したもの。7 枚以内（刷上り 5 頁以内）。

5) 症例報告

有用な情報を提供する症例に関するもの。7 枚以内（刷上り 5 頁以内）。

6) 文献紹介および書評

広く検査に関する国内および海外の文献の要約紹介および書評に関するもの。2 枚以内（刷上り 2 頁以内）。

7) 読者のページ

広く医療に関する意見、感想などのほか諸外国の検査技師教育制度、研究所および病院検査室の紹介、留学生活体験などに関するもの。5 枚以内（刷上り 4 頁以内）。

8) 工夫、アイデア

日常検査に有用な工夫やアイデアに関するもの、2 枚以内（刷上り 2 頁以内）。

9) 支部活動

支部集会に関するもの。2 枚以内（刷上り 2 頁以内）。

★原稿は、1 枚 1,200 字（40 字×30 行）とする。

★上記原稿枚数には、図表、文献を含む。

★規定の枚数を超えたものに関しては、超過料金を申し受ける。

IV. 執筆要領

1) 原稿には表紙を付け、表題、著者名、所属、所在地、別刷り請求先、著者連絡先、表および図の点数を書き、著者負担分の別刷りを必要とされる方は請求部数（単位 50 部）を記載する。すべての原稿は、表紙から順に通し番号をつける。

2) 原著については、表題、著者名、所属、所在地、別刷り請求先を和文と英文で併記する。さらに、英文 summary（200 words 以内）と和文の要旨（400 字以内）を添付し、キーワードは 5 語以内で、和文と欧文で併記する。

3) 改行する場合は必ず改行を入力し、新しい行のはじめは全角（1 コマ）あける。句読点は「、」「。」を使用する。専門用語以外は常用漢字、現代かなづかい、数字は算用数字とする。なお、数字、欧文は半角文字とする。

また、菌名などはイタリック体で表記する。

4) 本文中の大見出しには、Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ…を使い、前文間を 1 行あける。必要であれば、中見出し以下 1., 2., 3.…, 1), 2), 3)…, i), ii), iii) …の順で使用する。

5) 本文中頻回に記述される語句については、初回に母体となる用語を記述した後その略語を括弧内に記入し、以後その略語を用いる。

6) 度量衡の単位は、原則として SI 単位を用いる。

7) 表、図、写真については、表 1、図 1、写真 1 のように別個に番号を付し、A4 判用紙に 1 枚ずつ個別に書き、図のキャプションは別紙にまとめて付す。また、本文中欄外には、表、図、写真の差し入れる箇所を朱書きで明記する。

また、表、図の他からの引用は出典を明らかに

し、転載許可を著者責任で得ておく。

- 8) 本文中の引用文献番号は、右肩づけとし、引用順に番号をつける。
- 9) 引用文献の記載順序は、本文中の引用順とし本文中の引用箇所に番号を付す。引用文献の記載は下記の通りとし原稿の末尾にまとめて添付する。

【雑誌の場合】

著者名：表題名、雑誌名（略語）、巻数（号）：始頁－終頁、発行年

【単行本の場合】

著者名：表題名、書名、始頁－終頁、発行所、発行地、発行年

- ★著者名は、筆頭者のみとし、和文文献の引用には姓名を明記する。和文以外の文献の引用ではファミリーネームを記し、次にパーソナルネームはイニシャルを明記する。共同発表、共著の場合には“ほか”，“*et al.*”とする。

- 10) 提出原稿は、原則としてテキストデータを使用し、明朝体またはゴシック体を用いる。本文は、A4判 40 字× 30 行の横書き文章でフォントサイズは 12 ポイント位を使用し印刷したものを提出する。

V. 原稿の審査

- 1) 投稿原稿の採否は、査読結果に従って編集委員会において決定する。
- 2) 結果により原稿、図、表の加筆訂正を求める場合もある。

VI. 著者校正

原稿の初校は著者校正とし、再校以降は、編集委員会において行う。校正時の原稿への加筆訂正は、原則として認めない。

VII. 原稿採用決定時のデータ提出

編集委員会で採用が決定すれば、原稿の収載されたデータの提出を求める。なお、データ保存形式は、原則としてテキストファイル(.TXT)とする。図、表、写真についても、使用したソフト名を記載し提出すること。しかし、印刷時に対応ができないソフトの場合は提出原稿の使用またはトレースを行うことがある。

VIII. 別刷り

別刷りは、原著、研究、管理運営および調査に関してのみ投稿時に申込むことにより 50 部まで無料で贈呈する。

50 部以上の請求は、50 部単位で増刷しその実費（送料を含む）を著者が負担する。

IX. 原稿の送付

- 1) 原稿はオリジナルとコピーの 2 部（図、表、写真を含む）を送付する。
- 2) 投稿原稿は原則として返却しない。

原稿送付先

〒 102-7703

東京都千代田区九段北 4 丁目 1 番 5 号

市ヶ谷法曹ビル 405 号

公益社団法人 東京都臨床検査技師会

会誌編集部 宛

（封筒の表には「会誌投稿原稿」と朱書きする）

X. 著作権および引用・転載

- 1) 本誌に掲載された論文の著作権は（公社）東京都臨床検査技師会に帰属する。
- 2) 投稿論文執筆に際して他著作物等から引用・転載する場合は、原著者および出版社の許諾を受け、原稿に出典を明示すること。

あとかき

今回の特集では、「PCR 技術特集～PCR, リアルタイムPCR, デジタルPCR の基礎～」と題して3部構成でPCRの基礎的な内容をお届けいたしました。遺伝子染色体研究班の初めての特集記事のため、手探りの部分も多々ありましたが、お役に立てれば幸いです。

現時点(2023年12月)の遺伝子染色体研究班の2024年の活動としましては、1月に第3回研修会と4月以降に初級研修会を開催する予定です。第3回研修会はマイクロアレイに関わる基礎的内容となりますので、最新の検査技術にご興味のある方は是非ご参加いただければと思います(本誌発行のころにはすでに終了していますが…)。今後の研修会についてもより充実させていきたいと考えていますので、取り上げて欲しいトピックなどご意見をお待ちしております。まだまだ寒い日が続きますが、皆さまお体に気を付けてお過ごしください。

(遺伝子染色体研究班 谷古宇)

東京都医学検査 Vol. 52 No. 1

2024年2月1日発行

発行所 公益社団法人

東京都臨床検査技師会

〒102-0073

東京都千代田区九段北

4丁目1番5号

市ヶ谷法曹ビル405号

電話 (03)3239-7961

FAX (03)3556-9077

発行者 原田 典明

編集責任者 山方 純子

製作・印刷所

株式会社 日本廣業社

本誌掲載記事、写真、図、グラフ、イラスト等の無断複写(コピー)複製(転載)を禁じます。

■編集委員

学術部総括部長
会誌編集主幹

学術部長
(編集担当)

学術部長
(研究班担当)

学術次長

学術次長

編集長(免疫血清)

委員(微生物)

委員(輸血)

委員(臨床化学)

委員(情報システム)

委員(一般)

委員(生理)

委員(病理・細胞診)

委員(公衆衛生)

委員(血液)

委員(遺伝子・染色体)

学術担当

副会長

山方 純子(慶應義塾大学病院)

平木 一嘉(東京女子医科大学病院)

近藤 昌知(府中恵仁会病院)

堀口 新悟(東京慈恵会医科大学附属病院)

市川喜美子(東京医科大学病院)

大竹 千晶(地方独立行政法人東京都立病院機構
東京都立大塚病院)

安藤 隆(東京慈恵会医科大学附属第三病院)

永沼 真一(日本赤十字社関東甲信越ブロック
血液センター)

宮川 典子(東京都済生会中央病院)

梶 良太(東京医科大学八王子医療センター)

塚原 祐介(東京女子医科大学病院)

堀田 直(医療法人社博鳳会敬愛病院)

渡部 朱織(帝京大学医学部病理学講座)

星本 淳吉(公益財団法人ライフ・エクステンション
研究所付属永寿総合病院)

由利麻衣子(順天堂大学医学部附属順天堂医院)

谷古宇利樹(東京都済生会中央病院)

中村香代子(順天堂大学医学部附属練馬病院)