



フローサイトメトリー／ マスサイトメトリー入門

今橋伸彦[†]

IRYO Vol. 78 No. 2 (129–132) 2024

【キーワード】フローサイトメトリー、マスサイトメトリー、造血器腫瘍

はじめに

細胞はその表面および細胞内にさまざまな抗原を発現しており、細胞の系統や分化の段階により抗原の発現パターンが異なる。腫瘍細胞の抗原発現パターンは、その起源となった正常細胞と類似していることが多い。フローサイトメトリーは、細胞が発現する抗原を解析し、サンプル内の細胞の種類・割合を明らかにできる検査であり、臨床現場で広く用いられている。一方で、研究室レベルではあるが、フローサイトメトリーよりも詳細かつ網羅的に細胞のプロファイリングを行うことができるマスサイトメトリーが普及しつつある。

フローサイトメトリーの検査手順(図1)

1. 検体の準備

検体は、リンパ節などの生検材料、骨髄液、末梢血、胸水、腹水、髄液などを用いる。検体に前処理(生検材料からの細胞浮遊液作成、赤血球を除くための溶血処理など)を施した後に、検体に蛍光色素が結合したモノクローナル抗体を加えて反応させる。モノクローナル抗体は、目的とする抗原に結合

するものを数種類用いる。この際、各抗原を認識するモノクローナル抗体は、結合している蛍光色素の種類が違うようにする。これにより、蛍光の種類と抗原の種類とが1:1に対応することになり、蛍光の種類により、抗原の種類を区別することができる。

2. フローサイトメトリーによる測定

フローサイトメトリーの細い流路に抗体で標識した細胞を流し、レーザーを照射すると、散乱光および蛍光が細胞から放出される。散乱光には前方散乱光(FSC: forward scatter)と側方散乱光(SSC: side scatter)の2つがあり、前者は細胞のサイズを、後者は細胞の内部構造を示す。一方、蛍光強度は、モノクローナル抗体によって標識された抗原の発現の程度を示す。こうして、サンプル内のすべての細胞に関して、FSC、SSC、および蛍光強度の測定値が取得される。

3. 解析

まず、2つのパラメーターを用いて展開し(例: CD45 x SSC, FSC x SSCなど)、得られたドットプロット上で、解析したい細胞集団を囲む(ゲーティング)。その後、ゲーティングした細胞集団に絞って、

国立病院機構名古屋医療センター 血液内科 [†]医師
著者連絡先: 今橋伸彦 国立病院機構名古屋医療センター 血液内科

〒460-0001 愛知県名古屋市中区三の丸4-1-1
e-mail: nimahashi@med.nagoya-u.ac.jp

(2023年10月30日受付 2023年12月15日受理)

Introduction to Flow Cytometry/Mass Cytometry
Nobuhiko Imahashi, Department of Hematology, NHO Nagoya Medical Center
(Received Oct. 30, 2023, Accepted Dec. 15, 2023)

Key Words: Flow cytometry, Mass cytometry, hematological malignancy

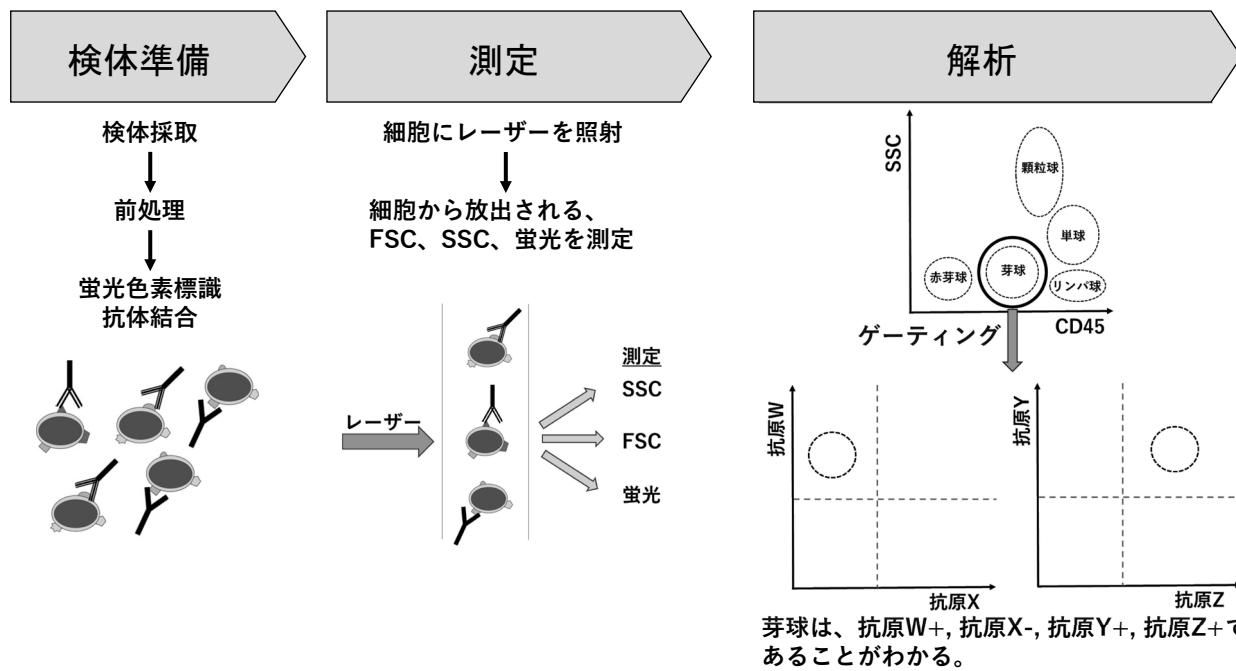


図1 フローサイトメトリーの検査手順

抗原の発現量を評価する。

どの抗原を検査するかや、どの細胞集団にゲーティングするかは、検査の目的や鑑別となる疾患により異なる。したがって、検査を行う前に、他の所見から鑑別疾患を絞る必要がある。検査会社や施設により、目的に応じた、ゲーティングの方法と対象抗原が決められている。

●●フローサイトメトリーの使用例

1. 造血器腫瘍の診断

検査結果を確認する時は、まずゲーティングを確認する（ゲーティングの方法は施設や検査会社によって異なり、以下に示すのは一例である）。たとえば、急性白血病を疑う場合、白血病芽球は通常CD45の発現が低下しているため、CD45弱陽性の領域をゲーティングする。一方、リンパ腫や慢性リンパ性白血病など、CD45の発現が高い腫瘍の場合、CD45陽性領域をゲーティングする。また、多発性骨髄腫の場合、CD38の発現が高いため、CD38強陽性領域をゲーティングする。このように疾患により、適切なゲーティング方法が異なる。

次に、ゲーティングした細胞集団において、各抗原の発現の程度を確認する。この際、2つ注意点がある。まず、1つ目の注意点は、陽性割合（%）に基づいて陽性/陰性を判断するのではなく、陽性の割合はゲーティングした細胞集団の中でその抗原を

発現している細胞の割合を示しているということである。たとえば、30%の陽性割合は、gateされた細胞の内で30%がその抗原を発現していることを意味する。したがって、陽性割合が低い場合でも、腫瘍に特有の抗原の発現パターンを示す細胞集団が存在すれば、その腫瘍が存在する可能性が高いことを意味する。2つ目の注意点は、各腫瘍細胞の抗原発現量が不均一であるために、腫瘍細胞の集団が抗原陽性領域から抗原陰性領域にまたがって存在することがあるということである。したがって、検査結果のドットプロットを注意深く確認することが不可欠である。

表1は、代表的な造血器腫瘍における抗原の発現パターンを示したものである¹⁾。ただし、フローサイトメトリーは造血器腫瘍の診断に有用ではあるが、その結果だけから診断を確定することはできない。たとえば、フローサイトメトリーは、検体中の個々の細胞の抗原の発現状況を評価することはできるが、組織学的な評価はできない。そのため、リンパ腫の診断では、病理学的評価が必須である。このように、他の所見と組み合わせて、総合的に診断を確定する必要がある。

2. 造血器腫瘍の治療後の効果判定および再発のモニタリング

治療後の検体中に腫瘍細胞が存在するか否かをフローサイトメトリーを用いて評価することが可能で

表1 代表的な造血器腫瘍における抗原の発現パターン

B細胞性リンパ腫 マントル細胞リンパ腫 バーキットリンパ腫 濾胞性リンパ腫 びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 慢性リンパ性白血病	CD5+, CD10-, CD20+, CD23-, sIg+ CD5-, CD10+, CD19+, CD20+, CD23-, sIg+ CD5-, CD10+, CD19+, CD20+, CD23-/, sIg+ CD5-, CD10-/, CD19+, CD20+, sIg+/- CD5+, CD10-, CD19+, CD23+, sIg+
多発性骨髓腫	CD19-, CD38+, CD138+, CD56+, sIg-
T細胞性リンパ腫 成人T細胞性白血病/リンパ腫 未分化大細胞リンパ腫 節外性NK/T細胞リンパ腫, 鼻型	CD2+, CD3+, CD5+, CD7-, CD4+, CD25+ CD25+, CD30+, CD4+/-, CD3-/ CD2+, CD3ε+, CD5-, CD56+
急性骨髓性白血病	CD13+, CD33+, CD34+, CD117+, cMPO+, HLA-DR+(M0-M7により異なる)
急性リンパ性白血病 Bリンパ芽球性白血病 Tリンパ芽球性白血病	TdT+, CD10+, CD19+, cCD79a+ TdT+, CD2+, cCD3+, CD5+, CD7+

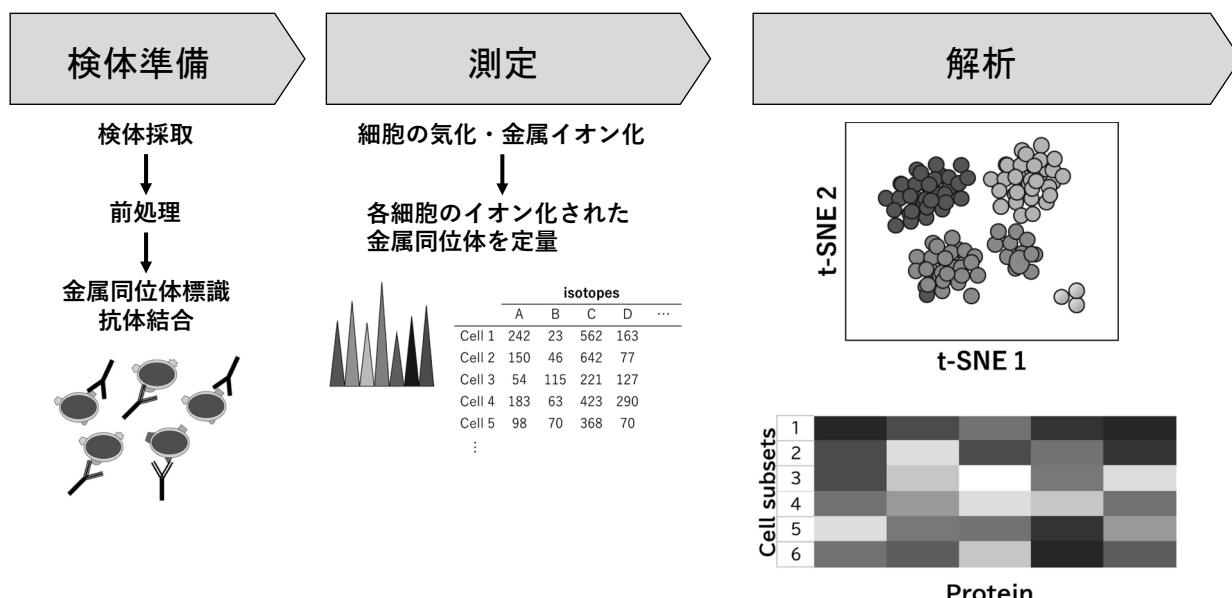


図2 マスサイトメトリーの検査手順

ある。これにより、治療効果の深さを判定することや再発をモニタリングすることができる。たとえば、多発性骨髓腫では、マルチカラーフローサイトメトリーを用いて、 $1/10^5$ 程度の感度で検体中に微量に存在する腫瘍細胞（微小残存病変）を検出することができ、予後予測に有用であることが報告されている²⁾。

3. その他の使用例

発作性夜間血色素尿症（PNH）は、CD55とCD59という赤血球を補体による溶血から保護する蛋白が欠損することによって、溶血性貧血が引き起こされ

る疾患である。PNHの診断では、赤血球と顆粒球のCD55およびCD59の発現を評価するために、フローサイトメトリーが用いられる。その他、フローサイトメトリーは、HIV感染者のモニタリングや免疫不全症の診断の際に行われるリンパ球サブセットの検査にも用いられている。

●マスサイトメトリー(CyTOF®)(図2)

フローサイトメトリーは、検体中の細胞の抗原の発現を解析する非常に有用なツールである。しかし、同時に解析する抗原の種類を増やしていくと、同時

に測定する蛍光の種類も増え、ある蛍光色素に由来する蛍光を測定するときに、他の蛍光色素に由来する蛍光がもれこむことが問題となる。この問題を解決したのが、マスサイトメトリー（CyTOF®）であり、同時に約50種類のタンパク質を評価できる³⁾。フローサイトメトリーで問題となった蛍光間のオーバーラップが問題とならないのは、マスサイトメトリーでは、抗体を蛍光色素ではなく、金属安定同位体で標識しているからである。マスサイトメトリーを用いることにより、シングルセルレベルで詳細な解析が可能となり、新たな細胞サブセットの同定や、細胞サブセットの詳細なプロファイリング、新規バイオマーカーの同定などに有用である。しかし、現時点では研究レベルでの使用にとどまっており、測定にかかる費用・時間が大きいことや結果の解釈が

容易ではないことなどが課題である。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

[文献]

- 1) Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immuno-phenotyping for hematologic neoplasms. *Blood* 2008; **111**: 3941-67.
- 2) Takamatsu H. Methods and clinical values for minimal residual disease detection in patients with multiple myeloma. *Rinsho Ketsueki* 2018; **59**: 2153-61.
- 3) Iyer A, Hamers AAJ, Pillai AB. CyTOF® for the Masses. *Front Immunol* 2022; **13**: 815828.