

体腔液細胞診検査における腫瘍マーカーの有用性

株式会社ファルコバイオシステムズ 東海中央研究所

○柳谷 愛 藤原 和幸 有川 正和

【はじめに】

細胞診検査は、体の様々な部位が検査材料となるが、中でも穿刺吸引細胞診は腫瘍の診断に直結する可能性のある重要な検査である。特に細胞検査士の責任で陰性報告を行う体腔液検査については慎重な検査が必要であるが、組織診による裏付けが得られず、細胞診が唯一の診断材料となる場合が多く、見逃しや誤判断等の偽陰性のリスクを抱えている。今回、体腔液の腫瘍マーカーを測定することで、細胞診検査の判断に活用できないかを検討したので報告する。

【対象・方法】

2023年2月1日から10月24日までの体腔液101件（胸水64件、腹水37件）を対象に、CA19-9、CEA、SCC（いずれもロシュ・ダイアグノスティクス：ECLIA法）、LD（関東化学：IFCC標準化対応法）を測定し、細胞診検査結果と測定結果との相関について考察を行った。

【結果】

CA19-9については、37U/ml以上を陽性、未満を陰性としたところ、感度42.1%、特異度86.6%であった。CEAについては、5.0ng/ml以上を陽性、未満を陰性としたところ、感度68.4%、特異度89.0%であった。SCCについては、2.6ng/ml以上を陽性、未満を陰性としたところ、感度は36.8%、特異度は63.4%であった。

【考察】

CA19-9では比較的高い特異度を示したが、感度は50%を下回る結果であった。一方でCEAは

CA19-9を上回る特異度、及び比較的高い感度を示しており、判定補助マーカーとして有用であると考えられる。なお、カットオフ値を5ng/mgから2ng/mgに変更してみたところ、感度は15.8%上昇したが、一方で特異度も減少していることから、より適切なカットオフ値の検討が必要である。また、細胞診検査で陽性であり、腫瘍マーカーが陰性である症例も数例存在した。腫瘍マーカー以外の指標検討の為、体腔液LD/血清LDを算出して、細胞診結果との相関を確認したところ、検討数は少ないものの感度100%、特異度75.0%であった。

【まとめ】

今回の検討により、CEAは高い感度、特異度を示し、体腔液検査の判定補助としての有用性が高いと考えられる。また、体腔液LD/血清LDは、今後の検討が必要ではあるが、判定補助の指標となり得る可能性があることがわかった。今回の検討より、腫瘍マーカー及びLD比については細胞診判定補助や細胞診精度管理（報告前の再検査）への活用が可能であると考え、一方で、CEAのカットオフ値の設定等は感度を上げる為の課題であり、今後も引き続き検討を行ってみたい。

連絡先 (TEL 052-739-1405)

膣トリコモナス（TV）及びマイコプラズマ・ジェニタリウム（MG）検査の有効性について

（株）メディック

○木下 陽太、 田中 祐貴、 遠藤 大熙、 横井 隆広、 吉田 里美

【はじめに】

世界で感染者が最も多いと言われている性感染症の膣トリコモナス(TV)と多くの研究により尿道炎や子宮頸管炎の原因微生物として確立されているマイコプラズマ・ジェニタリウム(MG)の体外診断用医薬品「コバスTV/MG」が2022年6月から保険適用されるようになった。国内での明確な疫学データがないため、当社のクラミジア・淋菌の依頼があった検体をロシュ社、コバス6800/8800システムを用いて、測定した結果を報告する。

【対象・方法】

2023年9月28日から2023年10月12日に当センターにクラミジア(CT)・淋菌(NG)の検査依頼で提出された検体、スワブ検体770本(CT/NG陽性90本・陰性680本)、尿検体860本(CT/NG陽性266本・陰性594本)をロシュ社の「コバスTV/MG」を用いて、分析機はCobas8800にて測定を行った。

集計はCT/NGの検体をぬぐいと尿に分け、さらにそれぞれをCT/NGの陰性検体、陽性検体に分けて、TV/MG陽性検体がどのくらいの割合を占めるのか調べた。

【結果】

ぬぐい検体770本に占める、TV/MGの陽性率は、CT/NG陰性検体で42/680(6.2%)、CT/NG陽性検体で11/90(12.2%)であった。

尿検体860本に占める、TV/MGの陽性率は、CT/NG陰性検体で57/594(9.6%)、CT/NG陽性検体で26/266(9.8%)であった。

全体での陽性率は136/1630(8.3%)であった。クラミジア・淋菌とTV・MGの重複感染はぬぐいで11/90(12.2%)、尿で26/266(9.8%)、全体で重複感染は37/356(10.4%)であった。

【考察】

TV/MGの陽性率は全体で8.3%あったので、市中感染者数も相当数いるものと考えられる。また、重複感染率もぬぐいで12.2%、尿で9.8%、全体で10.4%と高い水準にあるため、CT/NGの疑いがある場合は、TV/MGの感染も考慮した方が良いと考える。近年、性感染症が増加傾向にあることから、TV/MGも増加することが予測される。

【まとめ】

原因微生物を明らかにすることは、適切な抗菌薬治療において重要であり、適切な治療を行うことで新たな薬剤耐性菌の発生を制御することに繋がる。また、TV/MG感染症は自覚症状がない場合もあるとされているため、検査して感染の有無を明らかにし、原因微生物を除菌することが感染制御に繋がると考えられる。

コバス8800における「コバスTV/MG」測定はルーチン検査で使用可能であることが示唆された。

レボヘム™ APTT SLA 試薬の基礎的検討

株式会社 LSI メディエンス 名古屋セントラル病院メディエンス検査室¹⁾

首都圏検査部第 4 G²⁾

○下平 優衣¹⁾ 秋月 伊津美²⁾ 田中 大介¹⁾ 杉山 央充¹⁾ 鈴木 千広²⁾

【はじめに】

現在血液凝固スクリーニング検査用試薬として使用しているトロンボチェック APTT SLA (Sysmex 社, 以下 TC-APTT) の販売中止に伴い、新たに販売されたレボヘム™ APTT SLA (Sysmex 社, 以下 R-APTT) の導入に向け基礎的検討を行ったので報告する。

【検討内容】

試料として管理血漿であるコアグトロール IX・IIX (Sysmex 社, 以下 CG IX・IIX) および患者プール血漿を用いた。検討試薬に R-APTT、対照試薬に TC-APTT、測定装置に全自動血液凝固測定装置 CS-1600 (Sysmex 社) を用いて以下の検討を行った。(1)同時再現性: 2 濃度の管理血漿 (CG IX・IIX) および患者プール血漿を用い、20 回連続測定を実施し、平均値、SD および CV を求めた。(2)日差再現性: CG IX・IIX を用い 1 日 2 回 20 日間測定し、平均値、SD および CV を求めた。(3)相関性: 匿名化した患者血漿 60 検体について、対照試薬との相関性を確認した。(4)干渉物質の影響: 干渉チェック・A プラス (Sysmex 社) を用いて遊離型ビリルビン、抱合型ビリルビン、ヘモグロビン (溶血)、乳びの影響を確認した。(5)凝固因子感受性: 患者プール血漿の因子活性を 100% としこれを因子欠乏血漿 (トロンボチェック第 VIII 因子欠乏血漿およびトロンボチェック第 IX 因子欠乏血漿 (Sysmex 社)) により段階希釈した試料を測定し、両試薬を比較した。(6)ヘパリン感受性: 患者プール血漿にヘパリン Na 注 5 千単位/5mL (モチダ) (持田製薬社) の濃度が段階的に増加するよう添加した試料を測定し、両試薬を比較した。

【結果】

(1)同時再現性の CV は、CG IX で 0.4%、IIX で 1.2%、プール血漿で 0.5% であった。(2)日差再現性の CV は CG IX で 1.8%、IIX で 2.8% であった。(3)相関性は回帰式 $y=0.988x-1.67$ 、相関係数 $r=0.988$ であった。(4)各干渉物質の最大濃度まで影響を認めなかった。(5)第 VIII 因子は 0%、第 IX 因子では 40% から R-APTT が TC-APTT より 10% 以上の延長傾向を示した。(6)ヘパリン濃度は 0.3U/mL から R-APTT が TC-APTT より 10% 以上の延長傾向を示した。

【まとめ】

R-APTT は同時再現性、日差再現性、対照試薬との相関性が良好であり、干渉物質の影響も認められず、試薬性能と安定性が確認された。各感受性では、既報の通り R-APTT は TC-APTT より第 VIII 因子および第 IX 因子の低濃度域の感受性が高く、ヘパリンにおいても R-APTT は TC-APTT に比べ濃度依存的に延長傾向を示しており、感受性が高いことが確認された。

【結語】

R-APTT の基本性能は良好であったが TC-APTT と比較し凝固因子やヘパリンに対する反応性に乖離を認めた。そのため、試薬の切り替えに際しては、事前に臨床側に周知することが必要である。また、ループスアンチコアグラントやその他の凝固因子等との反応性の違いも報告されており、対象群を絞った両試薬の相関性の確認等、更なる追加検討が必要である。

〈連絡先 TEL 052-454-3632〉

ChE の異常反応を塩溶効果で回避した一例

株式会社ファルコバイオシステムズ 名古屋ラボラトリー¹⁾, 東海中央研究所²⁾

○澤田 菜美¹⁾ 廣重 隆志²⁾ 有川 正和²⁾ 青山 麻子¹⁾

【はじめに】生化学項目測定時において、生理学的に起りえない測定値に遭遇することがある。測定値の確からしさを検証するため、反応過程や、希釈系列による直線性を確認する。今回、我々は血清中 ChE で極端に低値を示し、生理食塩水 (0.9%NaCL) を用いた希釈操作では整合性がとれなかった事例に遭遇し、回避策を検討したので報告する。

【方法および結果】分析装置は AU5840 (ベックマン・コールター)、BM6050 (日本電子)。測定試薬はシカリキッド ChE (関東化学)。0.9%NaCL で段階希釈した結果、3 倍、5 倍、10 倍でそれぞれ 159 U/L、285 U/L、252 U/L を示し結果に乖離が生じた。ChE の反応過程では副波長で吸光度上昇があり、試験管法にて試薬を添加し、二次反応後の溶液を観察したところ、明らかな白濁を認めた。免疫グロブリン定量と蛋白分画および免疫電気泳動を実施した結果、IgG 996 mg/dL、IgA 86 mg/dL、IgM 1032 mg/dL、分画ではγグロブリン領域に M ピークを認め、特異抗血清による同定では IgM-κ 型 M 蛋白が認められた。試験管法にて NaCL 濃度を 5% に調整した溶液を用い血清と溶液を 1 対 9 容で混合したところ、濁りは認められなかった。試験管法にて調整した ChE 活性値は 220 U/L であり、副波長における二次反応後の吸光度上昇は抑制された。

【考察】本症例の、ChE における極端な低値は M 蛋白と試薬の反応により生じた白濁による影響と考えられ、正常な酵素反応となる方法を模索した。白濁の正体は M 蛋白と考えられたため、蛋白質の溶解度に影響を及ぼすイオン強度に着目した。希釈液に使用する NaCL 濃度について検討した結果、5%NaCL を用いて 10 倍希釈した際の塩濃度であれば塩溶効果を発揮し、ChE 活性値は 220 U/L であることが判明した。

【まとめ】通常、反応系を阻害する物質を回避する場合、主に生理食塩水を用いて希釈操作を実施する。今回の事例は M 蛋白の影響により、生理食塩水による希釈が有効ではなかったと考えられた。回避策として、塩濃度を調整した食塩水を使用することで、塩溶効果により濁りを除去することが可能となり、正常な反応へ導く手段の一つとして有用であると考えた。

新型コロナウイルス PCR 検査において判定不能となる検体の前処理法の検討

株式会社 ビー・エム・エル名古屋ラボ

○村上 千尋、櫛山 雄紀、吉野和寿

【はじめに】

新型コロナウイルス感染症の検査として PCR 検査が行われている。本検査は保険診療のみならず、自費検査として海外渡航や各種イベントのような社会活動・経済活動にも活用された。このような種々のニーズにより検査結果報告の迅速性が求められる場面も多かった。

新型コロナウイルス PCR 検査の工程は、用いる試薬の仕様により多少異なるが、基本的には検体から核酸を抽出し、逆転写反応後リアルタイム PCR によりウイルス RNA を検出する。新型コロナウイルス PCR 検査では一連の工程が適した状態で行われたかどうかを確認するために、核酸抽出工程の検体の前処理時に人工の RNA を添加しウイルス RNA と同時に検出する。添加した RNA が検出されない場合は判定不能となる。

特に唾液検体では、再検査を行っても判定不能となるような判定結果を得る上で処理が困難な検体が散見される。はじめに触れたような海外渡航などの迅速な報告が要求される状況に対応するために前処理法を検討した。

【対象・方法】

対象は 2022 年 12 月 1 日～2023 年 2 月 28 日までの BML 名古屋ラボで行われた新型コロナウイルス PCR 検査で Roche 社 cobas 6800/8800 システムを用いて測定された検体のうち、判定不能となった唾液検体。

判定不能検体の再検は、感染研「病原体検出マニュアル 喀痰検体の前処理法」や日本遺伝子診療学会作成の解説書に準じて検体の遠心上清を希釈しているが、遠心しても濁りがあまり解消されない少し粘性のある特徴を持った唾液検体は、経験上、ほぼ全例で再度判定不能になる。このような特徴のある検体については再検時に希釈した上で再度遠心した上清を用いた。

【結果】

通常通り再検した場合、4 割程度の検体で再び判定不能となったが、希釈再遠心の場合は 9 割以上の検体で判定結果が得られた。

【考察】

遠心後に濁りが解消されない検体は少し粘性のある性質があり密度が通常よりも高いと考えられる。希釈して検体の密度が低下し、再遠心で夾雑物が沈殿して分離できたことで核酸抽出工程が改善されたことにより判定結果が得られるようになったと推測される。

【まとめ】

新型コロナウイルス PCR 検査において判定不能となる唾液検体の前処理法として、検体を希釈した上で再度遠心することで高い確率で判定結果が得られるようになった。

深層学習 (Faster R CNN) による末梢血液像分類モデルの構築と検討

株式会社 エスアールエル G P 西日本検査部 G P 西日本ラボ 2 課¹

○佐藤秀樹¹、菊池有子¹

【はじめに】

近年、医療業界をはじめ、様々な業界で AI の導入事例が報告されている。その中でも深層学習技術の台頭により急速に実利用が進み始めた分野の一つが物体検出である。今回、我々エスアールエル愛知ラボでは、深層学習の物体検出モデルである Faster R CNN を構築し、血液像自動分析装置 DI-60 との比較検討を行い、血液形態学検査への有用性、可能性について検討を行った。

【対象・方法】

塗抹標本作製装置 SP-10 により作成された血液塗抹標本から血液像自動分析装置 DI-60 の撮像機能を用いて白血球画像 2100 枚を取得、アノテーションを行った。フレームワークは pytorch lightning、学習回数は 30 epochs とした。学習曲線と出力画像及び予測スコアよりモデルの評価を行い、未知のデータセット(各 25 枚、計 150 枚)を用いて DI-60 と構築した学習モデルとの比較検討を行った。

【結果】

構築した学習モデルをテストデータで検証した結果、test_loss:0.0573 となった。

DI-60 と構築した学習モデルとの比較検討の結果、全体の accuracy は 0.873 であった。

細胞ごとの accuracy は以下の通りである。

band:0.680,seg:0.840,lym:0.880,mono:0.920
,baso:1.000,eosi:0.920。

【考察】

検討結果より、好中球の band と seg の間で accuracy が低値となり誤分類が多く認められた。これは学習回数が少ないため、核のくびれや核糸の認識ができていないことが原因と考えられる。また、AI による画像認識では鏡検と違い、核の立体的な構造を認識できないためと考えられる。他に、baso の分類結果は良好であったが、eosi、mono、lym でも一部で誤分類が認められ、核の形状よりも細胞質の顆粒の有無や色調を分類情報として捉えているように思われた。

【まとめ】

今回、深層学習モデル Faster R CNN による血液細胞分類モデルの構築・検討を行った。DI-60 との比較検討の結果、accuracy は 0.873 となり比較的良好的な結果となった。しかし、検査現場の要求精度には及ばず、精度向上には学習回数や訓練データの増量、前処理方法の見直し・工夫など検討する必要がある。

また、今回はハイパーパラメータの探索・最適化などの手法は取り入れていないため、精度向上や改良の余地は十分にあると思われる。