

第 26 回 奈良県医学検査学会 抄録集

期日 平成 21 年 5 月 17 日 (日曜日)

会場 奈良県立医科大学 巖櫃会館

(社) 奈良県臨床衛生検査技師会

第 26 回 奈良県医学検査学会プログラム

総合司会 今田周二

9:30 ~ 13:20

会長挨拶

(社)奈良県臨床衛生検査技師会会長 山本 慶和

一般演題

(9:35 ~ 10:30)

(発表 6 分 質疑 3 分)

座長 (猪田 猛久)

- ノロウイルス・検査の種類と進め方
公立学校法人奈良県立医科大学付属病院 中央臨床検査部 藪内 博史
- 当院における輸血副作用状況報告
県立奈良病院 中央臨床検査部 高木 豊雅
- 酵素法による HbA1c 測定試薬「ノルディア N HbA1c」の基礎的検討
県立奈良病院 中央臨床検査部 三浦 沙智代

座長 (土屋 直道)

- CoaguChek XS の有用性について
公立学校法人奈良県立医科大学付属病院 中央臨床検査部 谷口 恵理
- 止血採血管の順序の検討
—— 凝固促進剤が止血採血管に及ぼす影響について ——
県立奈良病院 中央臨床検査部 山田 浩二
- 成人 T 細胞性白血病/リンパ腫の表面形質の特徴
天理よろづ相談所 医学研究所 北田 佳代

奈良学会公開セミナー

(10:30 ~ 12:00)

(司会進行 小泉 章)

テーマ『グラム染色』 トピックス：新型インフルエンザ

- <講演・アンケート調査より・グラム染色を取り巻く環境と現状、Q&A>
公立学校法人奈良県立医科大学付属病院 中央臨床検査部 小泉 章
- グラム染色の重要性とその意義
臨床医から見たグラム染色 済生会中和病院 内科・感染制御科 米川 真輔

ランチョンセミナー

(12:00 ~ 13:20)

(司会 梅木 弥生)

テーマ『こころ元気に！』

こころ元気研究所 鎌田 敏

閉会の辞

(社)奈良県臨床衛生検査技師会 学術担当副会長 今田 周二

ノロウイルス・検査の種類と進め方

藪内 博史 奈良県立医科大学附属病院

ノロウイルスは12~3月をピークに流行する急性胃腸炎の原因ウイルスの1つです。

2006年度の厚生労働省食中毒統計によれば、食中毒総発生件数1,491件のうち、499件(35.5%)がノロウイルスによるものでした。また食中毒総患者数30,926名中27,616名(70.8%)であり、いずれも第1位となっています。このように他の食中毒原因物質と比べ食中毒事件1事例における患者数が非常に多いのも特徴であり、また本ウイルスによる患者数は増加の傾向にあります。

ノロウイルスはカリシウイルス科(*Caliciviridae*)に属するウイルスです。その内部には遺伝子として約7,500の塩基からなるプラス1本鎖のRNAを持っています。現在、ノロウイルスはGenogroup I (GI)とGenogroup II (GII)の2つの遺伝子群に大別され、さらにそれぞれは14と17の遺伝子型(genotype)に分類されています。

感染後1-2日の潜伏期間を経て、急性胃腸炎の症状が現れます(主症状は嘔気、嘔吐、下痢)。一般には症状は軽症で、治療を必要とせず軽快しますが、まれに重症化する例もあり、老人や免疫力の低下した乳児では死亡例も報告されています。ウイルスは、症状が消失した後も3~7日間長いときには1ヶ月ほど患者の便中に排出され、また感染しても発症しないまま終わる場合(不顕性感染)もあるため、2次感染には注意が必要です。

ノロウイルスによる感染は、これまで本ウイルスに汚染された魚介類(特にカキに代表される2枚貝)を十分に加熱せずに喫食したために起こると考えられていましたが、最近ではノロウイルスに感染している食品従事者を介して起こる食中毒事例や、患者の吐物、便などから直接感染するヒト-ヒト間の2次感染による感染性胃腸炎も報告されています。また、不顕性感染者も認められていることから、施設や従業員の衛生管理など、院内感染対策の必要性も指摘されています。

ノロウイルスは細胞培養や実験動物への感染による増殖系がなく、今のところヒトの腸管内でのみ増殖すると言われていています。そのため、ノロウイルスの基礎的研究は遅れていましたが、ウイルスゲノムの全塩基配列が決定され、その詳細な分析がなされたことにより、新しい検出方法が開発されています。

現在は、主にRT-PCR法によりノロウイルスの遺伝子を検出する方法が使用されています。ウイルスのRNAを逆転写し、得られたcDNAをPCRにより増幅、電気泳動により検出を行い、ハイブリダイゼーションにより確認を行いますが、操作が煩雑かつ時間がかかるという難点があります。

また、ノロウイルスと同様の抗原性を有する中空ウイルス粒子の作製が可能になったことにより、ELISA法、イムノクロマト法などの免疫検出系も開発されており、体外診断用医薬品として臨床の現場で使用されています(デンカ生研より発売)。しかしながら簡便である半面、十分な検出感度が得られていないのが現状です。

RT-PCR以外の遺伝子検査法も、様々な改良がされたものが各社から発売されています。糞便からのRNA抽出を簡易化したAmpdirect RT-PCR法(島津製作所)、反応時間を30分と短縮したTRC法(東ソー)、2つのヒートブロックのみで検査可能なNASBA-核酸クロマト法(カイノス)、H5N1に代表される新型インフルエンザ検査にも応用されPCRに次いで各分野で広く汎用されているLAMP法(栄研化学)など、特徴ある遺伝子の増幅・検出法により、PCRの感度に匹敵する性能の検査が、これまで以上に簡便・迅速に行うことが可能になっています。

院内でのノロウイルス感染の制御を効率的に行うためには、免疫系迅速キットと遺伝子検査キットの特徴を理解した上で、使い分けを考えていく必要があります。

当院における輸血副作用状況報告

県立奈良病院 中央臨床検査部

高木豊雅、永井眞美、川越善子、宗川 義嗣

平 康二（輸血部）

はじめに

2004年（H16年）3月に輸血システムBLAD（富士通）を導入し、同年6月より輸血副作用報告を開始し調査を行ってきたので報告する。

対象及び方法

2004年6月1日から2008年12月31日までに使用された輸血用血液製剤11409本を対象とした。

副作用の有無は製剤払い出し時に貼付する「製剤ラベル」（輸血副作用報告と輸血実施報告を兼ねる）に輸血実施者が記入し、返却されたものを解析した。

結果

全体では11409本中226本、1.98%に副作用がみられた。製剤別では赤血球製剤7001本中100本1.43%（発熱40.0%、じんましん17.4%、悪心・嘔吐9.6%、頭・腹・腰・胸痛2.6%）、濃厚血小板821本中45本5.48%（発熱8.2%、じんましん67.3%、悪心・嘔吐2.0%、頭・腹・腰・胸痛2.0%）、新鮮凍結血漿3587本中81本2.26%（発熱18.2%、じんましん22.6%悪心・嘔吐24.8%、頭・腹・腰・胸痛5.8%）であった。さらに白血球未除去製剤と白血球除去製剤（LR製剤）を比べるとMAP及びRCCでは4574本中64本1.40%、RCC-LRでは2427本中36本1.49%。FFP1及び2では2511本中44本1.75%、FFP-LR657本中17本2.59%、FF5 419本中20本4.77%であった。

この間に血液センターに副作用報告を行ない、検査を依頼したのは12症例で抗血漿蛋白抗体・抗HLA抗体を認めたものが各2症例あった。

考察

輸血システムの導入に伴い、全製剤の副作用報告を実施することでその実態を把握できた。今回は白血球除去製剤（LR製）による副作用の減少は認められなかったが今後も副作用報告を分析し臨床側へ情報を提供することにより輸血療法の安全性を高めるよう努めたい。

酵素法による HbA1c 測定試薬「ノルディア N HbA1c」の基礎的検討

○ 三浦 沙智代、上野 真佑、吉田 雅紀、中本 和男、草尾 恵、宗川 義嗣
奈良県立奈良病院 中央臨床検査部

【はじめに】HbA1c の測定には HPLC 法や免疫法、酵素法が用いられている。当院では日常検査に専用機器を用いて HPLC 法で測定しているが、今回そのダウン対策として汎用自動分析装置で測定可能な酵素法試薬について検討したので報告する。

【使用試薬・機器】検討法は、酵素法「ノルディア N HbA1c」（積水メディカル）を使用し、日立 LAbOSPECT008 で測定した。

【方法】①同時再現性：ノルディア N HbA1c コントロール 2 濃度を 20 回連続測定した。②日差再現性：初日にキャリブレーションした後、試薬を開封したまま機器に搭載し、ノンキャリブレーションでノルディア N HbA1c コントロール 2 濃度（日毎に調製）を 28 日間測定した。③コントロールの安定性：初日にキャリブレーションした後、初日に調製したノルディア N HbA1c コントロール 2 濃度を 5 日間測定した。④相関：比較対照に、HPLC 法の HLC-723G8（東ソー）を用い、当院における外来及び入院患者の NaF/EDTA-2K 加血液を用いて検討を行った。⑤トレーサビリティ：HbA1c 測定用常用参照標準物質 JCCRM411-2(JDS Lot4)を測定した。⑥希釈直線性、⑦Hb 濃度の影響、⑧血球の採取部位の影響：血球の上層、中層、下層から採取し、HbA1c 値を比較した。⑨異常 Hb を確認できている検体について比較した。

【結果】①同時再現性：コントロール L（参考中央値=5.1）の平均値 \bar{X} =5.18 であり、変動係数(CV)=1.21%、コントロール H（9.2）の \bar{X} =9.36、CV=0.88%と良好であった。②日差再現性：コントロール L（4.6）の \bar{X} =4.76、CV=1.85%、コントロール H（9.3）の \bar{X} =9.41、CV=0.90%と良好であった。③コントロールの安定性：コントロール L（4.6）の \bar{X} =4.72、CV=2.28%、コントロール H（9.3）の \bar{X} =9.37、CV=1.12%であった。④相関：HPLC 法(X)と酵素法(Y)で n=152、相関係数 r=0.993、回帰式 Y=0.9894X-0.1326(図)参照)、HbF 含有率 2%未満群(n=138)では、r=0.994、

Y=0.9869X-0.0982、HbF 含有率 2%以上群(n=14)では、r=0.937、Y=0.9071X+0.2136⑤トレーサビリティ：単日反復測定（10 重測定）した平均値は、レベル 1（認証値 4.57 ±0.18）では 4.61、レベル 2（5.19 ±0.16）では 5.18、レベル 3（6.91 ±0.16）では 6.95、レベル 4（9.19 ±0.20）では 9.28、レベル 5（11.65 ±0.24）では 12.02 であった。⑥希釈直線性：HPLC 法で 4.6%と 13.2%の検体を用いて段階希釈し、測定した結果、良好な直線性が確認できた。⑦Hb 濃度：患者検体 2 濃度について、メーカー推奨の前処理試料中 Hb 濃度 90~310 μmol/L において HbA1c 値に影響が無いことを確認した。⑧血球の採取部位によって影響が見られた。⑨異常 Hb は当日スライドで表示する。

【まとめ】本検討の結果、酵素法を原理とした「ノルディア N HbA1c」は、再現性、HPLC 法との相関も良好であり、試薬開封後もノンキャリブレーションで 28 日間の使用に耐え得ることから日常検査法として有用であり、健診など多検体を同時処理するような場合に役立つと考えられる。HPLC 法はヘモグロビンに変異がある場合、クロマトグラムが種々のパターンを呈し、HbA1c 値だけでなく他の糖尿病マーカー測定値との乖離がないか合わせて判断する必要がある。HPLC 法のダウン時の対応としてばかりではなく、変異ヘモグロビンが疑われる場合にも酵素法による確認が有用と考えられる。

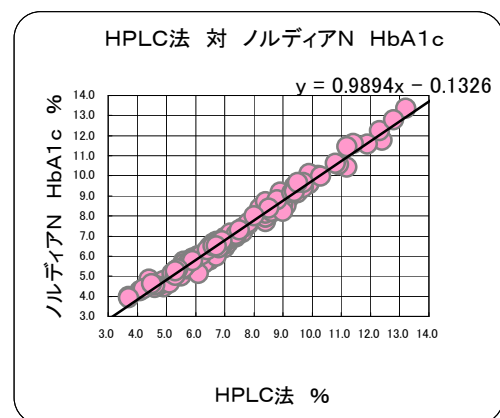


図) 酵素法と HPLC 法の相関

CoaguChek XS の有用性について

谷口 恵理 白土 美佳 長谷川 真弓 山口 直子
片岡 美香 倉本 智津子 波賀 義正 岡本 康幸

(公立学校法人奈良県立医科大学付属病院 中央臨床検査部)

【はじめに】

近年、健康成人における心房細動有病率は加齢とともに増加し、その人数は推定で 100 万人以上と言われており、特に 70 歳以上で急激に合併症が上昇している。弁膜症、心房細動等で抗凝血薬を服用する患者が年々増加すると思われる。また、2008 年に改訂された心房細動治療(薬物)ガイドラインでは、例外を除き抗凝固療法(ワルファリン療法)を必要としているため、これら薬剤の服用者の更なる増加が伺える。これらの患者は PT-INR 測定によるモニタリングが必要となり医療機関を訪れるが、PT-INR 測定をアウトソーシングしている施設では後日再来院するか医療機関から連絡するなど患者等の負担が大きくなるばかりでなく、緊急時の対応が遅れる可能性がある。今回、毛細管血(以下指先血)を点着するだけで RT-INR・SEC・%が測定できる POCT 製品の CoaguChek XS(販売元 三光純薬・提携 エーザイ株式会社)を検討する機会を得たので報告する。

【測定原理】

テストストリップ中の組織トロンボプラスチンにて検体の外因凝固系が活性化し、生成されたトロンビンが基質に作用。その結果放出された電子を電極にて測定、電子量は凝固活性に比例する。

【対象及び方法】

当院循環器内科でワルファリン療法中の入院外来患者様 73 名で、クエン酸血、抗凝固剤未添加静脈血(以下静脈血)、指先血を用いた。測定機器は CoaguChek XS、CP2000(セキスイメディカル社)で、CP-2000 での測定試薬は、Thromborel S を用いた。

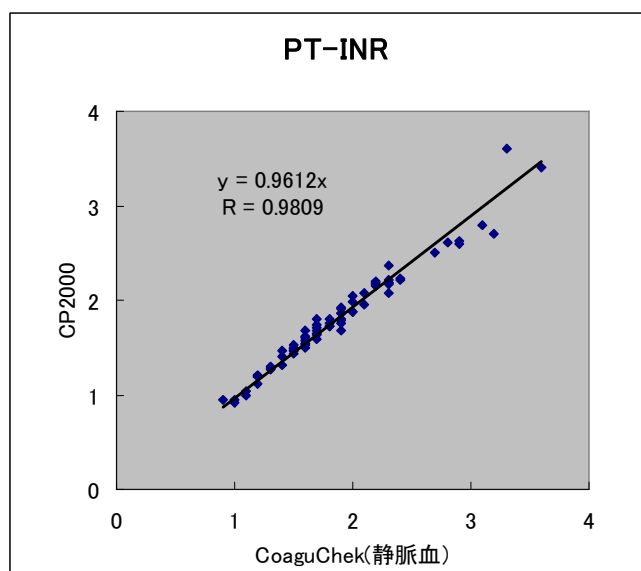
【結果】

静脈血とクエン酸血の相関は PT-SEC $r=0.9864$ ・

PT-% $r=0.9841$ ・PT-INR $r=0.9809$ 、静脈血と指先血の相関は PT-SEC $r=0.9864$ ・PT-% $r=0.9946$ ・PT-INR $r=0.9845$ といずれも良好な相関を得た。

【まとめ】

POCT 製品の CoaguChek XS は血液凝固分析装置を使用するクエン酸血と同様な測定結果が得られ、小型で軽量なので診察現場・処置室等で測定可能、微量検体、約 1 分間で測定結果が得られる迅速測定、簡単操作で精度管理に OBIS を用いるため安心など、PT-INR 測定をアウトソーシングしている施設等でも安心して使用できると思われる。又、いずれの医療機関でも PT-INR 測定が行える事で地域連携の医療が可能である。さらに今後は、微量検体測定が可能のため、NICU などでの使用も検討したい。



止血採血管の順序の検討
—— 凝固促進剤が止血採血管に及ぼす影響について ——

○山田 浩二* 川村 文* 柳田 裕起* 胡内 久美子* 梅木 弥生** 宗川 義嗣*
*奈良県立奈良病院 中央臨床検査部 **奈良県立三室病院 中央臨床検査部

[はじめに] 2006年に作成された標準採血法のガイドラインではPT・APTTの基本的凝固検査項目では1本目に採取しても検査値には影響ないとされ、凝固検査用検体は1本目に採血することが望ましいとされている。その理由として、血清用採血管には凝固促進剤が含まれている場合が多く、この後に凝固検査用の採血を行うと、血液中に混入した凝固促進剤がゴムスリーブに付着し、血液中に混入した凝固促進剤が凝固検査値に影響を与える可能性があるためとしている。しかし、それに関する文献はなく当施設では統一見解に至っていない。

[目的] 今回われわれは、凝固促進剤入り血清用採血管の直後に採取した凝固用検体が、どの程度凝固促進剤の影響を受けるか、検討を行ったので、若干の考察を加え報告する。

[方法]

方法1) 2008年当院、職員健康診断時に中検で採血可能であった健常人職員98名(男性43名 女性45名 平均年齢43.6歳)を対象として、①止血採血管 ②凝固促進剤入り血清用採血管 ③止血採血管の手順で採血を行い①,③それぞれのPT・APTT測定をし、③に凝固促進剤の及ぼす影響をみた。

方法2) 凝固促進剤入り血清用採血管に生理食塩を入れた●容器を用意する。健常人職員1人に止血採血管をI～VI本採取し、Iは通常とおりPT、APTT測定を行った。II～VIは、●容器をホルダーに装着し1回転倒混和したあとIIの止血採血管に入れかえ混和、再び●容器をホルダーに装着し2回転倒混和したあとIIIの止血採血管に入れかえ混和、と1回づつ回数を増やし5回転倒混和までをそれぞれIV、V、VIの止血採血管について行った後、PT、APTTを測定し凝固促進剤入り血清用採血管が止血検査におよぼす影響をみた。

測定機器 CA6000 (シスメックス)

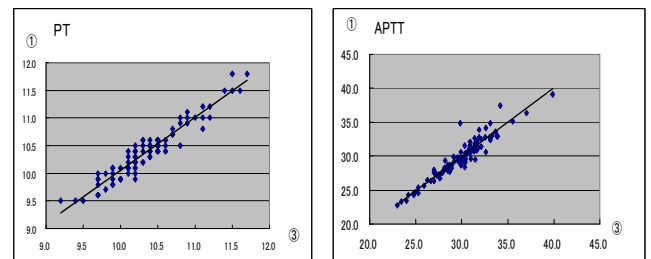
試薬 PT: トロンボレル S

APTT: トロンボチェック APTT

[結果]

1) ①と③の凝固検査の測定値の差はみられなかった。PT: $y=0.956x+0.485$ $R^2=0.915$ APTT: $y=1.007x-0.274$ $R^2=0.903$ と良好な相関関係がみられた。

図1



2) 表1のように方法2)のような実験を試みたが凝固促進剤が凝固検査値に影響を与えないことがわかった。

表1

容器番号	I	II	III	IV	V	VI
混和数(回)	0	1	2	3	4	5
PT(秒)	10	9.8	9.9	9.9	9.9	10
APTT(秒)	29.5	29.1	30.1	28.8	29.3	29.2

[考察] 標準採血法のガイドラインでは凝固用採血管は1本目に採血することが望ましいとされているが、今回われわれが検討を行った結果、凝固促進剤入りの血清用採血管の影響を受けないことがわかった。ただし、本検討は職員健康診断時におこなったため、正常範囲での検討のみとなった。凝固検査異常値での検討を行う必要があると思われる。

成人 T 細胞性白血病/リンパ腫の表面形質の特徴

北田佳代 林田雅彦 竹岡加陽 天理よろづ相談所 医学研究所

成人T細胞性白血病/リンパ腫 (ATL) は、HTLV-Iを原因ウイルスとして発症する難治性のリンパ増殖性疾患であり、病期および病態からくすぶり型、慢性型、急性型およびリンパ腫型の4病型に分類され、予後は病型によって著しく異なる。急性型では末梢血中に出現する花弁状細胞を特徴とするが、形態のみで腫瘍細胞量を把握することは難しく、腫瘍細胞量が少ない場合やくすぶり型などでは腫瘍細胞の存在を判断することは極めて困難である。一般にATLの細胞表面形質はCD2+, CD3+, CD4+, CD7-, CD8- であり、CD25+, HLA-DR+の活性化されたT細胞の表面形質を示すのが特徴とされている。

そこでATLにおける細胞表面形質の発現状況を調べ、細胞表面形質の検索が腫瘍細胞量の把握に有効であるか否かを検討した。

<対象および方法>

1995年6月から2008年6月までに当院にてATLと確定診断された19症例(内訳は急性型8例、リンパ腫型7例、慢性型4例)の末梢血およびリンパ節生検材料を対象とした。なお、確定診断はサザンブロット法によるHTLV-Iプロウイルスの組み込み検査にて行った。細胞表面形質の解析は、FITCおよびPE標識抗体の二重染色を行い、T細胞抗原であるCD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8の発現動態および活性化抗原であるCD25, HLA-DRの発現をフローサイトメーター (EPICS XL; Beckman Coulter) を用いて検索した。なお、対照症例として、健康人末梢リンパ球および同期間にリンパ節生検した反応性リンパ節細胞を用い発現動態を比較した。

<結果および考察>

ATLの腫瘍細胞における細胞表面形質の発現状況を表1に示した。T細胞抗原の発現は、CD2が19/19例、CD3

18/19例、CD4 19/19例、CD5 17/18例、CD7 1/18例、CD8 3/19例で認められた。CD3においては17/18例が減弱していた(CD3+^w)。対照症例はCD3+^wを認めず、CD7欠損細胞(CD7-T細胞)もほぼ認めなかったことから(10%以下)、腫瘍細胞量の把握には、CD4+, CD7-T細胞およびCD3+^w, CD4+細胞の検出が有効と考えられた。

活性化抗原においては、CD25が18/18例、CD45RO 17/17例、HLA-DR 14/19例に認め、大部分の症例は活性化T細胞であった。CD25+T細胞の割合は、腫瘍細胞量の把握が可能であるCD4+, CD7-T細胞およびCD3+^w, CD4+細胞の陽性率にはほぼ一致する症例が多かった。ただし、一部の症例ではCD25の発現が弱く、陽性率が低くなる症例も存在した。

また、陽性率がCD25>HLA-DRの関係を示す症例が18/18例存在した。正常T細胞の活性化は、HLA-DRの発現に遅れてCD25が発現することから、陽性率はHLA-DRの方が高値を示す。対照症例においてもHLA-DR>CD25の関係を示したことから、この逆転現象は腫瘍性の判断に有用と考えられた。

その他に、活性化T細胞の抗原であるCD30の発現は3/7例と高頻度に認めたが、発現は弱く、かつ一部の腫瘍細胞のみであったことから、腫瘍細胞量の把握には適さなかった。DNA-ploidyの検索では、4/14例にDNA-aneuploidyを認め、腫瘍性および腫瘍細胞量の把握に有用であった。

病型別における細胞表面形質は差を認めなかった。

<結語>

ATL細胞の表面形質は、CD4+T細胞で、CD7-T細胞、CD3+^w、さらにCD25+T細胞>HLA-DR+T細胞の逆転現象を特徴とした。腫瘍細胞量の把握には、CD4+, CD7-T細胞、CD3+^w細胞、CD4+, CD25+細胞の検索が有用と考えられた。

表1 ATL症例における細胞表面形質の発現状況 (n=19)

	CD2	CD3 (weak)	CD4	CD8	CD5	CD7	HLA-DR	CD25	CD45RO	CD30	DNA-aneuploidy
ATL全症例	19/19	18/19 (17)	19/19	3/19	17/18	1/18	14/19	18/18	17/17	3/7	4/14
病型別											
急性	8/8	7/8 (7)	8/8	1/8	7/7	1/7	6/8	8/8	7/7	0/1	2/5
リンパ腫	7/7	7/7 (6)	7/7	2/7	6/7	0/7	4/7	6/6	7/7	3/6	2/7
慢性	4/4	4/4 (4)	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	4/4	3/3	0/0	0/2