

第26回北陸臨床病理集談会総会

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/4630

学 会

第26回北陸臨床病理集談会総会

日 時：平成13年9月9日(日)午後1時
 会 場：金沢大学医学部附属病院
 (金沢市宝町13-1)

当番幹事：金沢大学大学院医学系研究科
 血液情報統御学講座

藤田信一

A会場

免疫化学・精度管理

座長 橋本琢磨(金沢大学)

A1. インタクトPTH測定自動化のための基礎的検討

○安藤京子, 荒木久生, 川井 清
 長田美津子, 高村利治, 西部万千子
 藤田信一, 小林 勉(金沢大検査部)

【目的】血清中の副甲状腺ホルモン(インタクトPTH)の測定を、ケミルミPTH(バイエルメディカル)を用いた手法からECLusys 2010(ロシュ・ダイアグノスティックス)による機器測定に変更するため、専用測定試薬の基礎的性能および従来法との相関性について検討を行った。

【結果】ECLusys 2010の使用により測定時間は約2日から約20分へと大幅に短縮された。プール血清(2濃度)による同時再現性(n=10)は、CV1.1~3.2%と良好であった。また、市販コントロール(3濃度)およびプール血清(2濃度)による日差再現性(n=10)はCV4.1~6.5%といずれも良好であった。希釈直線性は約900pg/mlまで良好な結果が得られた。実効感度は3.6pg/mlと、用手法の14.7pg/mlに比べ高感度であった。用手法との相関は $r=0.9772$, $y=0.92x+28.98$ (n=55), 測定値が<500pg/mlの検体で $r=0.9753$, $y=1.17x+6.44$ (n=50)と良好であった。

A2. 二次性副甲状腺機能亢進症(2HP)に関する話題

○木藤知佳志, 佐藤万美子, 鈴木 薫
 荒木英雄(福井県立病院腎臓内科)

I) 症例：61歳, 男性。CAPDとHDを合わせて10年半の透析歴。レ線的に2HP像が認められ, iPTH2774pg/ml, Alp1058U/L, BAP419U/L。PTxにて4腺の肥大が確認され, 一部が前腕に自家移植。術後3ヶ月にてiPTH68pg/ml。II) 2HPの機序：1970年以前は低Ca血症が腎不全の2HPの原因と考えられていた。1972年にBrickerがtrade-off仮説を提出した。Ca, Pi, PTHの関係を巧妙に説明したものであった。その後活性型のVitDのcalcitriolが腎臓で作られ, その受容体が副甲状腺にあり, calcitriolがPTHの産生, 分泌を抑制している事実が見い出された。またCaのセットポイントが, 腎不全では上昇しているも示された。最近リン酸が直接的に副甲状腺を刺激し, 腎での 1α 水酸化酵素を抑制することが示され始めた。III) 治療：大別すると, リン吸着剤, ビタミンD誘導体, Ca受容体作働性薬剤などの内科的治療と, 副甲状腺インターベンション, PTxの外科的治療がある。

A3. 甲状腺機能亢進症と血中TAFI抗原量の変動

○渡邊有美, 森下英理子

(金沢大学医学系研究科医用検査科学臨床血液病態学)

吉田知孝, 小林佑三子(同 附属病院検査部)

【目的】線溶系阻害因子であるthrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) について, Basedow 病患者での検討ならびに健常人への甲状腺ホルモン負荷による変動を検討したので報告する。【対象, 方法】対象はBasedow 病患者で, 未治療および抗甲状腺剤内服中の甲状腺機能亢進状態6例, 治療中の機能正常状態8例として, 血中TAFI抗原量をEIA法にて測定し, 健常人13例と比較した。次に健常人13例を対象とし, チロナミン(T3)を75 μ g/day7日間投与した。投与前, 投与1, 3週間後に空腹時採血し, 血中TAFI抗原量を測定した。【成績】血中TAFI抗原量は, 甲状腺機能亢進状態が健常人に比べ有意差は認めなかったが低値を示した。健常人のT3負荷試験では, 血中TAFI抗原量は前値に対して1週間後には有意に低下し, 投与中止により3週間後には徐々に回復した。【結論】甲状腺機能亢進症は, 血中TAFI抗原量の低下をきたす可能性が示唆された。

A4. インシュリン測定における4機種比較検討

○安藤京子, 寺上貴子, 川井 清

長田美津子, 高村利治, 西部万千子

藤田信一, 小林 勉(金沢大検査部)

【目的】血清中インシュリン測定のnon-RIA化を目的に, 当院で保有するインシュリン測定可能な4機種(AIA-21:東ソー, AxSYMアナライザー:ダイナボット, ECLusys2010:ロシュ・ダイアグノスティックス, ルミパルス1200:富士レジオ)について基礎的項目の比較を行った。

【結果・考察】プール血清による同時再現性, 日差再現性は, AIA-21がいずれもCV3%以内と良かった。希釈直線性, 添加回収試験はいずれの機種も良好であった。実効感度はいずれの機種を用いても1 μ U/ml未満となり, 現行のRIA法(5.6 μ U/ml)より高感度化が可能であった。ビリルビン, 乳ビの影響は見られなかったが, 溶血により低値となった。RIA法との相関は, いずれの機種においても良好な結果が得られたが, ECLusys 2010において著しい乖離例(RIA \rightarrow ECLusys:80.0 \rightarrow 5.47, 57.5 \rightarrow 11.52)が確認された。この原因としてインシュリンアナログ製剤に対する反応性の違いが推定された。

A5. 目標値と目標範囲によるコントロールサーベいの試み

○宮鍋真由美, 橋本 剛, 小倉敦子

滝野 豊

((社)石川県臨床衛生検査技師会 臨床化学検査研究班)

山崎美智子, 本間 望

(同 情報システム研究班)

福永壽晴(金沢医科大学臨床病理学)

【はじめに】従来の平均値と標準偏差による相対的評価ではなく, 標準化を目的とした目標値と目標範囲によるサーベいを試みたのでその結果を報告する。

【方法】試料：プール血清(凍結品)2濃度, チリトロール2000(千臨技認証品・凍結乾燥品)。実施項目：Glucose, TC, TG, Na, K, Cl, UN, UA, Creatinine, AST, ALT, CK, ALP, LD, γ GT, CRP。標準品：酵素はERM(JCCLS), CRPはCRM470をその他は

HECTEF 製品を使用した。値付け測定法：酵素項目はJSCC標準化対応法を、他は日常法で行った。

【評価方法】各項目3回測定をSp/2と比較して精密さを、平均値と目標値±範囲より正確さの評価を行った。

【結果】参加は30施設で精密さはほとんどの施設で良好であった。また正確さでは、目標範囲を満足した施設はGlucose, TC, K, ASTで80%以上であった。一方達成率が低い項目も、目標値から算出した回帰式の適用によりほとんどの項目で達成率が90%以上になり、標準品による補正効果が大いことが確認された。

生化学・管理

座長 西部万千子（金沢大学）

A 6. 維持透析患者の骨型アルカリフォスファターゼ活性

○竹沢洋美, 大西かつえ, 太田玲子
戸沢尚恵, 山本政弘, 渡辺哲朗
井上寿美子, 野村八重子, 藤田 明
(福井県立病院検査室)
海崎泰治 (同 臨床病理研究科)
木藤知佳志 (同 内科)

維持透析患者における腎性骨異常症は依然として重大な合併症であり、特に無形成骨症に骨型アルカリフォスファターゼ (BAP) が有用であると報告されている。そこで、当院における維持透析患者を血液透析 (HD) 群と腹膜透析 (CAPD) 群に分け、BAPとその関連項目を検討した。

維持透析患者全群58名 (HD群: 41名, CAPD群: 17名) で、BAP, 総ALP, ALPアイソザイム3型 (ALP-3), オステオカルシン, Intact-PTHを測定した結果、HD群とCAPD群におけるBAPとALP-3に有意の差 ($p < 0.05$) を認めた。

次にBAPと各検査値との相関を求めたところ、HD群、CAPD群ともに総ALP, ALP-3とは高い正の相関を示した。さらにIntact-PTHレベルにおけるBAPを検討した結果、HD群では無形成骨症が疑われるIntact-PTH (< 100) においても、BAP低値 (\bar{m} 13以下, \bar{f} 9.6以下) の患者は認めなかった。

A 7. AIA-21による短時間測定試薬を用いたPSAの基礎的検討

○永野倫子, 吉谷久子, 川井 清
長田美津子, 高村利治, 西部万千子
藤田信一, 小林 勉 (金沢大検査部)

【目的】EIAを原理とするAIA-21を用い、抗原抗体反応が40分から10分に短縮されたST AIA-PACK PA (東ソー社) について基礎的検討を行った。【対象】当院に測定依頼のあった患者血清および検診検体を用いた。また、比較対照法として従来試薬であるAIA-PACK PA (抗原抗体反応時間40分, 東ソー社) を用いた。【結果・考察】同時再現性, 日差再現性, 希釈直線性は良好であった。分析感度, 実効感度はいずれも0.06ng/mlを示し、従来試薬に比べて低濃度領域の測定が可能であった。従来試薬との相関は $r=0.9915$, 回帰式 $y=0.94x+0.34$ ($n=50$) と良好で、短時間測定でも従来試薬と同等の測定値が得られることが確認された。本誌薬は精度もよく、従来試薬に比べて高感度となり、また、測定時間が20分と迅速性に優れルーチン検査に有用と思われた。

A 8. 血清鉄測定Nitroso-PSAP法に及ぼすICG色素の影響について

○豊島香織, 堀田 宏, 柴山正美
高山知子, 川端容子, 長原三輝雄
藤田信一, 小林 勉 (金沢大検査部)

【目的】当院の血清鉄測定はNitroso-PSAP法で実施している。日常検査の中で異常反応を示す症例を経験し、試薬改良の必要を認めたので報告する。

【対象】検体は血清鉄濃度 $-31 \mu\text{g/dl}$ (除蛋白後 $18 \mu\text{g/dl}$) を示し、同日ICG色素負荷試験 (51%) を実施していた。

【方法・結果】水にICGに添加したところ濃度が上昇するにつれて、鉄濃度は低下した。プール血清の鉄濃度は、異常反応を起こした検体に残存するICG 0.5mg/dl を添加すると51.4%低下した。また8時間放置後でもICGの影響は残り、試薬改良が必要と言えた。メーカーより得た改良試薬は、上と同様の試験でICGの影響が回避されることを確認した。

【結論】異常反応の原因は、ICGと第一試薬の成分が反応し、主波長吸光度が減少したことによる。我々は改良の必要性を指摘し、改良試薬はICGが残存する検体においても日常検査に使用可能であると考えた。

A 9. 耳漏中の $\beta 2$ トランスフェリン検出による髄液成分の鑑別同定法について

○百成富男, 圓田兼三, 宮川直子
宮鍋真由美 (金沢医大病院・中検)
野島孝之, 福永壽晴 (金沢医大・臨床病理)

【目的】交通外傷による、主病名が外傷性くも膜下出血, 脳挫傷, 脳蓋底骨折, 鎖骨骨折, 腓骨骨折の治療計画に、迅速に左耳からの耳漏が髄液であることを検査鑑別するよう検査依頼があり検討を行った。

【方法】血液中の各種蛋白成分は髄液中にも低濃度ながら存在する。中でもアガロースゲル支持体の電気泳動法で β 分画に分離される血中トランスフェリン (Tf) のほか、 $\beta 2$ 位 (τ 分画) に分離される $\beta 2$ -Tfも混在する特徴を有している。

我々は、アガロースゲルを支持体とした免疫固定法で患者の血清と耳漏についてTfの検索を行い $\beta 2$ -Tfを鑑別の根拠とした。

【結果】血清では β 位にTfのバンドが1本検出され、耳漏では血清のTfと同一のバンドの他、陰極側の $\beta 2$ 位にもTf ($\beta 2$ -Tf) のバンドを認め、髄液耳漏と同定鑑別した。

また、迅速に鑑別できたことが治療に有用な検査情報として提供できた。

A 10. 患者サービス向上を目指した大学病院検査部内改革の取り組み：検査部内活性化と時間外緊急検査整備

○大門良男, 奥田忠行, 桑原卓美
北島 勲 (富山医科薬科大学附属病院検査部)

【目的】中央診療部において実施している検査業務の見直し、時間外緊急検査充実、検査部の活性化およびセクショナルリズムの解除を図った。

【結果および考察】中央診療部において重複して実施していた検査項目 (血液, 生化学, 感染症検査等) のうち、救急部で実施していた血液, 生化学, 感染症検査項目および検査技師を検査部に移管した。また、救急部, 手術部, 輸血部で実施してい

た感染症項目については、時間内は輸血部、時間外は検査部で実施するなど業務の見直しを図った。また、輸血部、検査部所属技師合同で時間外輸血検査を実施し時間外緊急検査の充実を図った。更に、検査部内活性化のため、まず役付き職員の異動、セクショナルリズムの解除及び学術活動に目標値を決めた。現在、異動はほぼ完了し、部門間の連携も密になるとともに学会発表数の増加もあることから、当初の目的は達成されたと考えている。

免疫血清・感染症

座長 高村利治 (金沢大学)

A 11. 小児抗核抗体についての検討

○柴 則子, 林 史朗, 野手良剛
大門良男 (富山医科薬科大学検査部)
小沢哲夫, 北島 勲 (同 臨床検査医学)

【目的】抗核抗体は成人と小児の差があることが知られている。しかし成人の基準値は各施設で求められているが、小児においては正常検体入手が困難であることからなかなか進展しない。今回当院の小児血清について抗核抗体、抗ssDNA抗体、抗dsDNA抗体を測定し基準参考値の推定を試みた。またその母集団から性別、年齢別、疾患別による分類の検討をした。

【対象】当院入院・外来患者で免疫疾患を除いた743名。年齢0歳～15歳 (平均6.9歳) 男:女 430:313

【方法】ANA ELISA法 (エンザイグノストANA:協和薬品) IF法 (fluoro-HEPANAテスト: MBL社) 抗ssDNA抗体、抗dsDNA抗体 (MESUCAP: MBL社)

【結果・考察】基準参考値は、IF法160倍、ANA ELISA法1.97C.I.、抗ssDNA抗体29.4AU/ml、抗dsDNA抗体21.6IU/mlとなった。年齢、性による差は認めなかった。疾患別に結果の判定を考慮する必要があり、神経系疾患が一番高い結果となったのは抗てんかん薬による薬剤との関連が示唆された。今回設定した基準参考値と免疫疾患との対比による臨床的有用性について検討する必要がある。

A 12. HIV抗体検査の乖離症例について

ーリコンビナント抗原の盲点ー

○塩原奈緒, 高村利治, 蓮本和美
藤田信一, 小林 勉 (金沢大検査部)

本院では、HIV抗体検査は年間約1000件の検査依頼があり、そのうちスクリーニング陽性は、PA法弱陽性1例とイムノクロマトグラフィ (IC) 法強陽性1例が認められた。今回、IC法強陽性の症例について各種検査法の成績とHIV検査の問題点について報告する。

【症例】32才、男性。全身倦怠感・食欲減退・発熱を認めたため、当院受診。

【検査成績】<HIV関連検査>IC法 (ダイナスクリーン): (+), PA法 (-), ルミパルス・CLEIA法: (-), AxSYM・MEIA法: (+), Western blot法: (-), HIV-1 RNA定量: 4.0×10^2 未満 <その他の検査>HBsAg: (-), HBsAb: (-), HCVAb: (-), CMVlgG: 19.6, CMVlgM: 8.98

【結論】偽陽性反応の原因は不明だが、何らかの異常蛋白が反応しているものと考えられる。また、CMV抗体陽性検体において、偽陽性反応の報告もあり、その可能性も示唆される。非特異的反応による乖離を防ぐためには、抗原組成の違う試薬に

よる再測定およびHIV-RNAの検査が必要と考える。

A 13. 各種測定系におけるHBc抗体RIA200倍希釈陽性の基準

○棚橋真規夫, 小西奎子, 高岡幸子
(国立金沢病院臨床検査科)

【目的】HBc抗体RIA (ダイナボット) 200倍希釈陽性は重要なHBVの臨床的診断基準であるが、現在はnon-RIA傾向にあり、多種の測定系が日常検査に用いられている。試薬間差是正のために、RIA200倍希釈陽性の基準に対応する各測定系の基準値を求める必要があり、検討した。

【方法】RIA, IMx: EIA, AxSYM: EIA, ELSIA: EIA, LUMIPULSE f (Lum): CLEIA, ECLusys (ECL): ECLIA, PHA法の7種類の測定系を用いPHA法2^倍以上の陽性31例を対象とし、原血清と200倍希釈 (HBs抗原・HBs抗体・HBc抗体陰性ヒト血清で希釈) について測定した。RIA200倍希釈測定の結果、陽性7例、判定保留3例、陰性21例であり、この結果を基準に評価した。

【結果】200倍希釈RIA陽性に相応する基準を、原血清の測定値に求めることが出来るのは、PHA法 (2¹²倍以上) とLum (100INH%以上) の2法であった。他方は、高値における定量性が欠けるため、200倍希釈測定が必要であった。200倍希釈陽性がRIAと一致するのはELSIAであり、IMxは200倍希釈測定値90INH%以上、AxSYMは95INH%以上、ECLはMax値の0.006INH C.O.I.以下が診断基準として求められた。

感染症

座長 小西奎子 (国立金沢病院)

A 14. HBワクチン接種後のHBs抗体価の長期観察と追加接種の効果について

○川城昭代, 伊藤秀克 (国立療養所富山病院研究検査科)
京谷征三 (同 小児科)
小西奎子 (国立金沢病院臨床検査科)

【目的および方法】国立療養所富山病院の職員123名を対象に、1988年から1999年にかけて4期にわたって行われたHBワクチン接種によるHBs抗体価を、マイセルanti-HBs (PHA法, 特殊免疫研究所) を用いて測定し、その推移と追加接種の効果について調べた。ワクチンは第1～3期には筋肉内に、第4期は対象によって皮内、皮下に接種した。【結果および考察】抗体の持続期間は、獲得抗体が高い程長い傾向で、特に2^倍以上の高抗体価獲得者は93%が7年以上持続し、逆に2^倍の抵抗抗体価の者はその50%が3年以内に陰性化した。接種方法を筋肉内から皮下や皮内接種に変えることにより、平均抗体価が、それまでの2^倍前後から2^倍に上昇した。また、それまでのワクチン接種で抗体を獲得できなかった27例中20例が抗体陽性となり、追加接種者の抗体獲得率が90%になった。定期的な抗体検査と、接種方法を工夫したワクチン接種が必要と考えられた。

A 15. 風疹ウイルス抗体測定におけるAvidity試薬の有用性について

○山副有子, 遠田久美子, 宇野あゆみ
村田秀治 (石川県立中央病院中央検査部)
干場 勉 (同 産婦人科)

【目的】風疹初感染初期を初感染後期や再感染から鑑別するため、初感染初期のIgG抗体の抗原への結合力の弱さを応用しようという試みがなされてきている。これまで、その結合力

(Avidity) の測定は特異IgG抗体測定過程で抗原抗体反応終了後、尿素入り洗浄剤で洗浄するというものだが、この際、高濃度の尿素を使用するため結晶が析出しやすく、取り扱いだけでなく再現性にも問題がありルチン化が難しいといわれてきた。この度、デイド・ペーリング社より蛋白変成剤としての尿素を低濃度にしたアビディティ試薬が開発され、その試薬を検討する機会を得たので報告する。

【方法】測定装置、試薬はBehring ELISA Processor III (BEP III), エンザイグノスト風疹/IgG (デイドペーリング社), Avidity 試薬 (デイドペーリング社) であり、尿素洗浄時の吸光度/無処理の吸光度の百分率をAvidityindex (AI) とした。

【対象】風疹初感染20例の7~384病日の103検体、IgM陽性を示した再感染初期の2検体、IgM抗体が陰性及び弱陽性の58検体を用いた。

【結果及び考察】初感染時のAIは、発病後30日以内は30%以下と低く、その後約3ヶ月で40~60%に達した。再感染2例のAIは、76.6%, 67.0%と高値を示した。一方風疹IgM抗体弱陽性例ではワクチン接種1例を除きすべてAI30%以上を示し初感染初期とは区別された。以上よりエンザイグノストAvidity試薬を用いたAI測定は、自動化も可能であり風疹初感染初期を診断するのに有用と考える。

A 16. クラミジアニューモニエ抗体陽性例における高感度CRPの測定意義と動脈硬化性疾患との関連

○田中めぐみ, 小西奎子 (国立金沢病院臨床検査科)
佐々木久雄 (同 臨床研究部)

動脈硬化の成因の一つに炎症が考えられ、病原体としてChlamydia pneumoniae (Cpn) が注目される。高感度CRPを測定しCpn抗体陽性例における高感度CRPの測定意義と動脈硬化性疾患 (AS) との関連を検討。【対象と方法】健常者521例, AS群310例。高感度CRP (N-ラテックスCRP II : デイドペーリング) とCpn抗体 (ヒタザイムC.ニューモニエ : 日立化成) を測定。【結果】CRP : ASの16.8%が0.4mg/dl以上の異常値。CRP正常例のCRP : 健常者は年齢差なく, 成人男>女でM+2SDは男0.21・女0.18mg/dl。ASは性差・年齢差なく健常者より高値。Cpn抗体 : ASは抗体陽性率も高抗体価率も高い。Cpn抗体陽性例のCRP : 感染例・高抗体価例は高値。CRP0.21mg/dl以上の29例は24例がIgG・IgA抗体とも陽性。AS感染群はCRP高値で高抗体価例は更に高値。【結語】ASはCRP高値例が多く, CRP高値29例は28例がCpn抗体IgG・IgA共に陽性かIgA単独陽性であり, Cpnのアクティブな感染が推測される。

A 17. イムノカードによる抗マイコプラズマ抗体の測定について

○高岡幸子, 小西奎子, 前越 大
(国立金沢病院臨床検査科)
木部佳紀 (同 内科)
田丸陽一 (同 小児科)

最近、抗マイコプラズマ抗体測定用の迅速法として、マイコプラズマ肺炎 (Mpn) の菌体成分固相メンブレンを用いたEIA法 (イムノカード : Mダイアグノスティックス) が発売になった。抗IgM抗体検出用迅速法であり、Mpnの急性期診断の有用性について検討した【方法】疑Mpnで受診した48例 (内科16例, 小児科32例) を対象にMpn抗体を同法とPA法 (セロディアマコ : 富士レジオ基準値40倍) で測定した。【結果】①陽性

率 : PA法22例45.8%, EIA14例29.2%②一致率 : 81.6% EIA (-)/PA法 (+) 8例16.7%, EIA (+)/PA法 (-) 無し③受診科別陽性率 : EIA内科1例6.3%小児科13例40.6% (PA法内科6例37.5%小児科16例50.0%) ④判定時間 : 5分から30分に延長すると, 内科4例25.6%小児科17例53.1%と陽性率が増加⑤経過 : 抗IgM抗体は数日から2週間以上観察された【まとめ】イムノカードによる抗IgM抗体は小児Mpn感染例に有用であったが, PA法による同抗体の検出も充分可能であった。

B 会場 微生物

座長 山岸高由 (金沢大学)

B 18. バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の分離状況について
○千田靖子, 中口茂樹, 岩上千加子
西村佳子, 藤田信一, 小林 勉
(金沢大検査部)

欧米で院内感染の原因菌として問題になっているバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) は、我が国において明らかな院内感染の報告はないが年々増加傾向にある。今回我々はVREスクリーニング (VCM 6 µg/ml 含BHI) 培地を用いてVREの分離状況を検索した。VRE培地に発育したVCM耐性菌は①vanC1・C2遺伝子保有株-E. casseliflavus (23株), E.gallinarum (18株), ②vanA・B遺伝子陰性-E.faecalis (1株), ③VCM自然高度耐性-Pediococcus (4株), Leuconostoc (2株)の計49株で、院内感染の原因菌として問題になるvanA・B遺伝子保有株は検出されなかった。しかし、静脈血と胆汁よりvanC1・C2遺伝子保有株のE.casseliflavusとE.gallinarumが検出された症例を1例経験した。VRE感染症は感染症新法で4類感染症に分類されており、微生物検査室ではVRE検出方法の確立と院内感染防止のための適切な対応が求められている。

B 19. メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の分離状態

○中口茂樹, 千田靖子, 岩上千加子
西村佳子, 藤田信一, 小林 勉
(金沢大検査部)

【はじめに】メタロ-β-ラクタマーゼは、各地の医療施設から分離されており、臨床の現場での関心も高まってきている。検出方法は、PCRによる耐性遺伝子の検出、メルカプト化合物を用いたディスク法がある。我々は、1997年11月から2001年7月の間に、当検査室で臨床材料より検出された、腸内細菌、グルコース非発酵菌を対象に、その分離状況について検討した。【方法】ディスク法により、スクリーニング検査を行い、陽性株はIMP-1型の確認試験を行った。

【結果】ディスク法で陽性となったものは、18株 (17.5%), IMP-1型は10株 (9.7%)であった。菌種としては、緑膿菌が8株と多く、その他グルコース非発酵菌、腸内細菌では、S.marcescens, C.freundiiのほか、臨床分離株としては報告例の少ないK.pneumoniaeで陽性となった。プラスミド性耐性遺伝子は、広く、グラム陰性桿菌間に広がるのが予想され、高度医療の発展に伴い、ますますメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の動向に注意を払う必要がある。

B 20. *Haemophilus*属の薬剤感受性試験について ディスク法とMIC法の比較

○長澤智子, 多賀由紀子, 小野裕子
野手良剛, 吉田郁子, 大門良男
北島 勲 (富山医科薬科大学附属病院検査部)

現在, *Haemophilus*属の薬剤感受性試験にはディスク法が用いられている。しかし, 短期間でのディスクの劣化, 結果のばらつきなどの問題点があるため, 従来法から微量液体希釈法(以下MIC法)へ変更するにあたり, 比較検討を行った。2001年4月から8月までに当院で分離された*Haemophilus*属40株を対象とした。試薬は, センシ・ディスク(ペクトンデキシンソン社製), ドライプレート栄研(栄研社製), MICroFAST 4J(デイドベリング社製)を使用した。

MIC法において, 一部の菌株で発育不良により判定に熟練を要したが, ディスク法とMIC法2社, MIC法2社間の一致率は, 80~100%と良好な結果が得られた。MIC法は利点として, 再現性, 薬剤の安定性に富み, BLNARの判定にも有用である事から, 当検査部ではプロスまたはパネルの改良に期待しながら, MIC法を採用しさらに検討を進めてきたい。

B 21. 鞭虫卵が検出された1症例

○岩上千加子, 千田靖子, 中口茂樹
西村佳子, 藤田信一, 小林 勉
(金沢大検査部)
井関基弘 (金沢大学・医・寄生虫感染症制御学)
小林卓也 (金大病院第一内科)

症例は, 26才女性。平成8年に中国(上海)から日本へ留学し金沢市内に在住。平成13年3月下旬より微熱が続き, 肝障害, リンパ節腫脹が認められたため, 6月精査のため当院に入院。好酸球数, IgEの上昇は認められなかったが, 寄生虫による肝障害も考えられ虫卵検査(日本住血吸虫疑い)が行われた。直接塗抹法は陰性であったが集卵法(AMSⅢ法)で鞭虫卵が検出された。

当院検査部では本年6月から虫卵検査を開始した。本症例は腹部症状を伴うことはなかったが偶然鞭虫卵が検出された。近年の本邦における鞭虫卵の感染率は0.1%以下で, 今回の症例のようにキャリアが多いと思われる。近年は食生活の変化, 食用動植物の輸入, 発展途上国との交流, ペットの家庭内飼育の増加における人畜共通寄生虫も含む種々の寄生虫感染症の増加が認められる。従って, いろいろな寄生虫に対応できるように検査体制を整える必要があると思われる。

遺伝子

座長 藤田信一 (金沢大学)

B 22. PCRを用いた*Haemophilus influenzae*の病原因子検出法の検討

一線毛遺伝子 *hifA* の検出について一

○浅香敏之, 福島律子, 渡辺麒七郎
(国立金沢病院臨床検査科)
桐田暁子, 宮崎初美, 塩川真帆
中村雅彦, 山岸高由
(金沢大・医・保健・医学検査学)
千田靖子, 藤田信一 (金沢大・医・検査部)
浅香敏之, 山岸高由 (金沢大・院・保健学)

*Haemophilus influenzae*は, 小児の肺炎や髄膜炎の原因菌でa-fの莢模型のうち, 特にb型の病原性が強い。また, 莢膜非形成の型別不能株も, 慢性気管支炎や中耳炎の原因菌となり, 病原因子として線毛が関与している。方, 本菌は健康人の常在菌であり, 病原性の有無の判定が極めて困難であるので, 私達は, *H. influenzae*の病原因子の一つである線毛を遺伝子レベルで検出する方法を検討し感染症診断の一助にしたいと考えた。線毛蛋白は, 6個の遺伝子群によって形成されるが, 構造遺伝子の *hifA* に注目して検討し, 遺伝子配列の多様性を考慮したプライマーセットを作製してほぼ初期の目的を達成した。この方法を用いて, 2000年4月~01年4月までに入院および外来から分離された34株の莢膜遺伝子と線毛遺伝子の検出をおこなった。検査した35株は, すべて莢膜遺伝子をもたず, 9株は *hifA* をもっていた。今後, 例数を増やし, 病状との関係を明らかにしたい。

B 23. PCR法を用いた*Propionibacterium acnes*の検出法の検討

○中村雅彦, 龜谷郁代, 山岸高由
(金沢大・医・保健・医学検査学)
桧垣修一 (富山医大・医・皮膚科学)

*P. acnes*は皮脂腺などに常在し, ニキビや術後の眼内炎などの原因となる。今回, 時間と労力の必要な生物性状を中心とした鑑別法に代わりPCR法を検討した。使用菌株は9株の *P. acnes*他, 本菌属の菌種9株を用いた。 *P. acnes*の16SrRNAとリパーゼをコードする遺伝子に対するプライマーを設計し, 全使用菌株から核酸を抽出しPCR法をおこなった。また, 生物性状との比較も行った。

リパーゼ遺伝子のPCRでは *P. acnes* 9株中9株が陽性となったが, 16SrRNA遺伝子のPCRでは9株中6株が陽性であった。また陰性の3株は異なった生物性状を示した。従って, リパーゼ遺伝子のPCR法は病原菌としての *Propionibacterium* の同定に有用と考えられた。その他の9株中, *P. lymphophilum*のみが両PCRで陽性となった。 *P. lymphophilum* でみられた陽性反応については検討中である。

B 24. *Corynebacterium diphtheriae* の毒素遺伝子検出法の検討

宮崎初美, 山岸高由 (金沢大・医・保健・医学検査学)
千田靖子, 藤田信一 (金沢大検査部)

わが国では *Corynebacterium diphtheriae* による感染例はほとんど報告されていないが, ジフテリアの疑いのある場合や輸入伝染病として患者発生の可能性が充分考えられる。今回は, ジフテリア毒素(DT)遺伝子をPCR法によって検出する方法について検討した。すなわち, Pallenらが考案した偽陰性監視用テンプレートを組み込む方法と, 新たに設定したプライマーセットによる方法を用いて, 研究室保存の菌株および標準株のDT遺伝子検出について比較検討した。

新しいプライマーセットは, 偽陰性監視用テンプレートの作製が容易で, テンプレートの核酸濃度の違いによる電気泳動像への影響が少なく, 遺伝子検出がより効果的であった。またコロニーを直接反応液に懸濁しPCRを行うことが可能で, 検査時間を短縮することができた。偽陰性監視用テンプレートを組み込む方法は内部コントロールとして有効であると考えられた。

病理・血液

座長 森下英理子 (金沢大学)

B 25. C-ErbB-2からみた両側性乳癌の癌細胞性格について

○安藤さおり, 渡辺駿七郎, 川畑圭子
尾崎 聡, 富田小夜子, 日高祥一
(国立金沢病院臨床検査科)

両側性乳癌の左右の癌細胞性格についてHER2(C-ErbB-2)を用い, 免疫組織化学的に検討した。同時性6症例, 異時性23症例の計29症例58検体を対象とした。細胞膜が強度に染色されたものをHER2過剰発現として(+)と判定。同時性6症例のうち左右ともにHER2(-)が3例(50%), 左右ともにHER2(+)が1例(16.7%), 左右で判定が異なつたのは2例(33.3%)であった。また, 異時性23症例では左右ともにHER2(-)が15例(65.2%), 左右ともにHER2(+)が2例(8.7%), 左右で染色結果が異なつたのは6例(26.1%)であった。このことから両側性乳癌での左右の判定は約7割のもので変わらず, 約3割のもので異なる傾向がみられた。異時性の第1癌でHER2(+)例の第2癌手術までの平均月数は22ヶ月であったのに対し, (-)例では91.4ヶ月と長く差がみられた。

B 26. マラリア感染血液の薄層塗抹標本の染色について

○広沢静香, 森日登美, 永田勝宏
田中 佳 (金沢医大病院・中検)
福永壽晴, 野島孝之 (金沢医大・臨床病理学)
及川陽三郎 (同・医動物)
川端 浩 (同・血液免疫内科)

当院を受診した三日熱マラリア患者の1症例において, 血液薄層塗抹標本中の原虫の染色性を検討した。標本は, 抗凝固剤(EDTA-2K)加静脈血で, 採血から数時間を経過した後に塗抹したものである。染色は, pH7.2PBS(リン酸緩衝生理食塩水)・pH6.8PB(リン酸緩衝液)・pH7.4PBでそれぞれ希釈されたギムザ染色, ルーチンで行っているメイ・ギムザ染色(pH6.4), および網赤血球算定に用いるニューメチレン青での超生体染色である。マラリア原虫の観察には, pH7.2~7.4PBで希釈されたギムザ染色が一般的であるが, 通常, 血液検査室で使用されているメイ・ギムザ染色やニューメチレン青でも原虫は十分認められた。しかし原虫種の特定には, シュフナー斑点の有無やアメーバ体の形態から判断されるため, 染色液のpHだけでなく, 抗凝固剤の使用, 採血からの経過時間等に注意して, 標本を作製するべきである。

B 27. 末梢血リンパ球の空胞形成と好酸球の異常顆粒出現を契機に診断されたGM1ガングリオシドーシスの1例

○谷みね子, 扇谷晶子, 坂本純子
川島猛志, 桑原卓美, 大門良男
北島 勲 (富山医科薬科大学附属病院検査部)
渡辺綾佳, 栗原真紀子, 野村恵子
金兼弘和, 本郷和久, 八木信一
宮脇利男 (同 小児科)

今回我々は, 末梢血リンパ球の空胞形成と好酸球の異常顆粒出現を契機に診断されたGM1ガングリオシドーシスの1症例を経験したので報告する。

本症例は, 4ヵ月男児, 在胎38週, 3,046gにて出生。3ヵ月時に追視, 頸定を認めず, 肝脾腫も目立つようになった。末梢

血液像検査にてリンパ球に多数の空胞形成を認め, 代謝異常症が疑われ紹介入院となった。

入院時検査所見は, WBC8,840/ μ 1, (うち空胞形成を認めるリンパ球56.5%), ALP3,732IU/1と高ALP血症を認め, 酸性 β -ガラクトシダーゼ酵素活性測定により1.4nmol/mg protein/hrと活性低下を認め, GM1カングリオシドーシスと診断された。末梢血液像では大型の空胞を多数有するリンパ球を認め, また, 好酸球には, 顆粒が大型, 粗である細胞が観察された。

代謝異常症を疑う要素として, 末梢血液像判読時にリンパ球の空胞形成や細胞内の異常顆粒の存在を見つけることは, きわめて重要な診断根拠の一助になり, 有用である。

B 28. 抗リン脂質抗体症候群における血中TAFI抗原の検討

○吉田知孝, 藤田信一, 小林 勉
(金沢大検査部)
森下英理子, 吉田知孝
(金沢大学医学系研究科保健学専攻)
朝倉英策 (金沢大学第3内科)

【目的】thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI)はトロンビンにより活性化を受けるとcarboxypeptidase Bに似た基質特異性を示し, プラスミノゲンの結合するフィブリンのC末端リジン残基の除去によりプラスミノゲンの活性化を阻害する線溶系阻害因子である。今回我々は, APS患者の血漿中TAFI抗原量の測定を行い, 臨床的意義について検討した。【対象および方法】対象はループスアンチコアグラント(LAC)陽性で血栓症(+)症例(A群)18例, (LAC)陽性で血栓症(-)症例(B群)22例と健康人(C群)42例とした。LACはKCT, dRVVTでスクリーニングおよび混合補正試験を行い, 確認試験は血小板中和試験を実施した。血漿中TAFI抗原量は, ELISA法により測定した。統計学的解析は, Mann-Whitney U testを用いた。【結果】血漿中TAFI濃度はA群が, C群やB群に比べて有意に増加していた。【結語】APS患者では, こうした線溶能の低下が血栓発症機序に関与している可能性が示唆された。

血液凝固

座長 北島 勲 (富山医科薬科大学)

B 29. 血漿用FDP測定試薬についての比較検討

○表 美香, 吉田知孝, 藤田信一
小林 勉 (金沢大検査部)
朝倉英策 (金沢大第3内科)

【目的】今回, 我々は2社の血漿用FDP測定試薬(エルビアFDP-P, コアグソルオートP-FDP)について, 当院で現在採用している血清用FDP測定試薬(エルビアFDP)との比較検討を行った。【対象・方法】当院入院・外来患者の血清およびクエン酸加血漿を対象としてLPIA-200(ダイアヤロン)およびCOBAS MIRA Plus(ロシユ・ダイアグノスティックス)を用いて測定した。【結果】同時・日差再現性および希釈直線性は2社ともに良好な結果であった。干渉物質の影響は認められなかった。また, 血清法と血漿法との相関は, エルビアFDP-PおよびコアグソルオートP-FDPでそれぞれ, 相関係数 $r=0.773$, $r=0.665$ であった($n=60$)。【結語】血清FDP値と血漿FDP値とが大きく乖離する症例が認められるので, その変更には診療側の充分な理解が不可欠であると思われる。

B 30. 触媒領域に新しい変異を認めた先天性第X因子欠損症の遺伝子解析

○上田暁子, 森下英理子
(金沢大学医学系研究医用検査科学臨床血液病態学)

山口和男 (同 遺伝子実験施設)

吉田知孝 (同 検査部)

【目的】今回, FX欠損症家系の遺伝子解析を行ったので報告する。【症例】発端者は27歳女性, FX活性は35%であった。父, 母, 弟のFX活性はそれぞれ80%, 41%, 40%であり, 先天性FX欠損症と診断した。【方法および結果】発端者および家族の末梢血白血球より genomic DNAを抽出し, 各 exon および exon/intron 境界領域をPCR法にて増幅した。PCR-SSCP法にて, exon7に正常人と異なるバンドが検出され, 発端者の exon7をサブクローニングした後 dideoxy法により塩基配列を決定したところ, Gly223(GGA)→Val(GTA)の missense mutation が同定された。他の部位には変異を認めなかった。【考察】発端者では, FX遺伝子の Gly223(GGA)→Val(GTA)の一塩基置換が欠損症の原因であると考えられた。この変異は今までに報告のない新しい変異であった。

B 31. 先天性プロテインC欠乏症の遺伝子解析

○浜中由美子, 森下英理子, 平野京子

(金沢大学医学部保健学科)

吉田知孝 (同 附属病院)

朝倉英策, 山崎雅英, 中尾真二 (同 第三内科)

丸田高広 (金沢西病院)

【目的】今回, PC欠乏症の一家系の遺伝子解析を行ったので報告する。【症例】発端者は60歳女性, 54歳時に突然脳塞栓症を発生し, その原因検索を行ったところ PC活性値が49%と低下していた。次女のPC活性は52%と低下しており, 先天性PC欠乏症と診断した。【方法】発端者および子供の末梢血白血球より genomic DNAを抽出し, 各エクソンおよびエクソン/イントロン境界領域をPCR法にて増幅し, direct sequencingにて塩基配列を決定した。【結果】塩基配列解析により, 発端者のPC遺伝子のエクソン9にG→Aへの missense mutation が同定された。【考察】以上の結果より, 発端者は, PCのVal297(GTG)がMet(ΔTG)に一アミノ酸置換したヘテロ接合体の異常と考えられた。この変異は, 日本ですでに9家系報告されているものであった。

生理

座長 福永壽晴 (金沢医科大学)

B 32. 動悸診断におけるホルター心電図検査の有用性

○鈴木健二, 中本琴美, 板倉 力

田中めぐみ, 宮嶋良康 (国立金沢病院臨床検査科)

加藤理良, 古荘浩司, 吉澤 尚

藤本 学, 中村由紀夫 (同 循環器科)

【目的】動悸診断におけるホルター心電図検査(DCG)の有用性を検討した。【対象・方法】DCGを施行した2880例のうち動悸を主訴とする患者324例(男性105例, 女性219例), 平均年齢58.7歳について検討した。【結果】検査中に動悸を認めた例は174例(54%), 動悸を認めなかったのは150例(46%)であった。動悸症状と一致して心電図変化があったのは71例(男性20例, 女性51例)であった。動悸症状と一致して心電図変化がなかった

のは103例(男性28例, 女性75例)であった。動悸時の心電図変化はPVC31, 洞性頻脈27, PAC19, ST-T変化6, Pa3, PSVT2例だった。Lown I, III, IV bでは動悸時に心電図変化のない例が多く, Lown IIでは動悸時に心電図変化を認めた例が多い傾向にあった。【結語】動悸の原因が心臓性, 非心臓性に関わらず1回のDCGでの診断能力は約54%であった。心臓性の動悸の原因は期外収縮が最も多く次いで洞性頻脈, ST-T変化の順であった。

B 33. 体性感覚誘発電位P20-N20成分の頭皮上導出における双極子性の検討

○大江宏康, 藤田信一, 小林 勉

(金沢大検査部)

根本 鉄, 高田重男 (同大学院医学系研究科保健学専攻)

【目的】左正中神経手関節部刺激における体性感覚誘発電位(SEP)測定において, Fz, T4, Pzからの三角誘導による導出より, 双極子性を利用したP20-N20成分の定量化を試みた。【結果】双極誘導Fz-T4, Fz-Pzにおける各導出波形には, C4-AA(耳朶連結基準)のN20, P23に対応する成分が認められた。その各波形の頂点潜時とN20, P23の各潜時の間には弱い相関関係が認められた。Fz-T4, Fz-PzおよびN20, P23の潜時成分のすべてを同時に比較した場合, Fz-T4-Fz-PzとN20-P23の間には, 強い相関関係が認められた($r=0.913$)。【結論】頭皮上双極誘導によるSEP記録によって, P20-N20成分はより定量的に計測できると考えられた。接線方向双極子は, 多点双極誘導法を用いることによって一点単極誘導法では得られない双極子成分の方向と大きさを推測する上で有用であると考えられた。

B 34. 肺機能検査用感染防止フィルターの気道抵抗検査に及ぼす影響

○氣屋村 恵, 中村正人, 中村まり子

山本博之, 東 由佳

(金沢医科大学病院中央臨床検査部)

福永壽晴, 野島孝之 (同 臨床病理)

【目的】肺機能検査用感染防止フィルター(マウスフィルター PIF-1: ミナト医科学社)の気道抵抗検査に及ぼす影響について検討した。【対象・方法】対象は26名で, 気道抵抗はミナト社製プレチスモグラフ装置BX-9で測定した。感染防止用フィルターは, ミナト社製のマウスフィルターPIF-1に, 整流用金属フィルターを接続したものと, 対照として従来のスコットフィルター(ウレタン製スポンジフィルター)にそれぞれ専用のマウスピースを接続して, 気道抵抗(Raw)を測定し比較した。フィルターの種類により流量計の感度が異なるので各シリーズの測定前に流量計を校正した。Rawは, 50回/分と, 90回/分の呼吸数(RR)で各々3回測定した。【結果】MFおよびSF使用時のRawはそれぞれRR=90で 1.786 ± 0.983 , 1.798 ± 0.993 , RR=50で 1.747 ± 0.992 , 1.741 ± 0.301 であり, 有意差は無かった。同様に気道抵抗の他のパラメーターでも有意差は見られなかった。

第9回北陸臨床病理集談会セミナー

日 時：平成13年9月9日（日）午後3時30分

会 場：金沢大学医学部附属病院
（金沢市宝町13-1）

当番幹事：金沢大学大学院医学系研究科
血液情報統御学講座

藤田信一

A会場

司会 藤田信一（金沢大学）
渡辺駿七郎（国立金沢病院）

S1. 検体検査値の標準化への挑戦

○小西奎子（国立金沢病院臨床検査科）

厚生労働省関連医療機関では、19分野の政策医療ネットワークの構築が進められている。その目的には、「医療の高度化・標準化による医療レベルの向上」や「共同研究の効率的な実施」、「施設間の情報の共有化と発信」等が挙げられる。これらは検査値の統一・標準化なくしては成立しないことである。一方、各都道府県においては、地域での検査値共有化を狙って、標準化を推進する動きがある。石川県においても、県の事業として、県医師会精度管理委員会が標準化小委員会を立ち上げ、5か年計画で検討を開始した。

県単位での標準化は、福岡県が平成11年3月に、千葉県が平成11年12月、熊本県が平成12年3月、三重県は平成13年度予定で、マニュアルを作成し、それぞれスタートした。いずれも、ここ1・2年での開始であるが、これら先進県では、20余年に亘る県単位の精度管理調査や、特定施設間での標準化の試行あるいは共通基準値の設定作業などの実績があり、標準化事業を支えている。

標準化は、JSCC勧告法や標準物質のある項目を対象に、生化学や免疫化学の一部からスタートする。しかし、政策医療ネットで要求される検査項目には、生化学以外の重視される多様な項目がある。例えば、肝ネットでは血算、凝固、肝炎ウイルス関連マーカー、自己抗体、AFP・AFPL₀、やPIVKA IIなどの腫瘍マーカーがあり、腎ネットには補体関連、PTHなどのホルモン、BMGやコラーゲンを含む尿中生化学定量などが加わる。標準化の手法のないこれらの項目について、特定の測定試薬を限定することは検査値の統一を可能にする最も近道である。しかし、やっつけられない手法であると考え、「検査値の標準化」への要求は切迫しているが、「標準化の実際」は全くこれからの状態である。

政策医療ネットについて考える機会を持ち、石川県の標準化事業に関わりを持つことになった私は、検査値の標準化への「挑戦」を意識しながら模索している。

S2. 病院検査部としての院内他部門に対する協力・支援への挑戦

長原三輝雄（金沢大学附属病院検査部）

当院検査部はかねてより新たな検査項目や検査機器の導入を積極的に努めてきた。しかしながら、院内検査室に対してのニーズは実際の検査のみならず、検査に関わるすべてのことまでおよんできている。そこで、それらの声を少しでも取り入れるべく、従来、年に1回開催していた院内各部署の代表による検査部運営委員会を年2回に増やすとともに、意見や希望をい

つでも伝えられるよう門戸を広げ、e-mailによる連絡手段も取り入れた。さらに、院内他部門への協力・支援として、我々は近年、新たに3つのサービスを展開した。その1番目が平成11年3月に導入された採血管準備システムによる採血業務支援である。採血管準備システムから適切なラベルの貼付された採血管が自動的に準備されることにより外来患者の採血業務が円滑になったばかりでなく、患者誤認などの医療事故防止に大変役立っている。一方、入院患者の採血に関してもあらかじめ準備された採血管が病棟に届けられることにより、病棟ナースの業務軽減と同時に採血管等の余剰在庫改善にも効果を上げている。2番目は臨床試験（治験）用検体採取支援である。当検査部では臨床試験センターからの要請により平成12年6月より、治験に伴う検体採取および前処理を実施している。具体的には受託研究審査委員会で承認され、事務手続きが完了した治験の、セットアップミーティングに参加し、検体採取や前処理に関して、その内容や運用上の問題点の有無の確認を行い、必要に応じて検査オーダーリングシステムの設定変更を実施している。また、実際の検体の処理に関しては、検体採取後、個々の治験で多種多様にわたる検体前処理に対して、それぞれ適切に処理を行い、集配業者への引き渡しまで対応している。最後に3番目として感染対策に伴う検査支援である。平成13年5月には研修医に対するワクチン接種のための血清抗体価測定に対する採血および検体前処理、同年7月には医学部医学科4年生の臨床実習前検査として肝炎ウイルス抗原抗体検査を実施しており、今後も継続的に対応していく予定である。

以上、我々が近年開始した院内他部門へのサービス展開を示した。これらは直接的な生産性は伴わないが、臨床検査に関わる事項としてニーズが高く、院内検査室として今後も力を入れていきたいと考えている。

S3. ルーチン検査としての染色体検査への挑戦

竹本賢一（金沢大学附属病院検査部）

平成11年に茨城県東海村で起きた臨界事故を契機とし、原子力関連施設を有する都道府県の基幹病院に対し、被爆医療への機能強化を目的とした補正予算が盛り込まれた。志賀原発を有する石川県でも、金沢大学医学部附属病院と国立金沢病院に対し、前述の予算が配分された。金沢大学医学部附属病院はそれ以前に、放射線測定器や被爆患者の骨髄移植に対応できる無菌手術室を有していたため、予算の一部が我々の所属する検査部にも配分され、染色体解析装置一式が導入された。

そして、それと併行して、臨床側との打ち合わせが進められ、臨床側の要望、並びに過去の外注検査の実績から院内実施する項目が決められた。その結果、平成13年1月からFISH (fluorescence *in situ* hybridization) 法による染色体検査のうち、bcr/abl(t(9;22))、PML/RARA(t(15;17))を、4月からAML1/ETO(t(8;21))、異性間BMT(XY)をルーチン検査として実施している。そして、平成13年4月に「染色体・遺伝子検査室」が新たに設置された。

院内でのFISH法の実施により、外注検査では7～10日間掛かっていた結果報告が2～3日に短縮された。更に、特に結果を急ぐ際には、翌日には臨床側に電話での報告を行い、臨床側から好評を得ている。また、検査コストが削減され、外注検査時では費用の面で問題のあった同時複数項目依頼や、ミニ移植時の生着の頻繁な確認も行っている。例えば、異性間BMT後

の慢性骨髄性白血病の症例で再発が強く疑われれば、bcr/abl検査と共に、異性間BMT検査を行い、検査結果の裏付けを行っている。

このように、FISH法による染色体検査の一部を院内に取り込むことにより、その利点を生かし、従来検査センターでは難しかった、迅速性、経済性、きめ細かいフォローアップの追求を計り、検査センターとの差別化を試みている。

S 4. これからの病理診断

野々村昭孝, 湊 宏 (金沢大学附属病院病理部)

病理検査は、光学顕微鏡検査から始まり、電子顕微鏡検査の導入、そして最近では免疫組織化学法が導入され、病理診断学における診断技術は飛躍的に向上した。さらに、近年における分子生物学の進歩は著しく、病理分野でも分子病理学という新しい分野を形成している。80年代からは癌遺伝子の研究が大いに進み、一時は“癌遺伝子の診断で癌の診断はできるようになり、近い将来病理医は不要になるかもしれない”との危惧を抱いたこともあったが、結局そこまでは到らず、現在も従来からの顕微鏡による病理診断の意義は変わっていない。まだまだ研究レベルのことが多い分子病理学とは言え、次第に病理形態像と遺伝子異常、あるいは予後と遺伝子異常の関連などが明らかになり、多くの疾病の病理診断について分子病理学的手法が応用されはじめている。中にはそれらの検索なしには最終病理診断が困難なものまで出てきている。これからの病理診断は、従来の形態に基づく病理医による“病理組織診断”と分子病理医による“分子病理診断”の2つをあわせた“molecular-pathological diagnosis, 分子・病理診断”を最終診断とする方向が一つであり、もう一つは、コンピューターによる画像解析装置の発達と、その病理診断への応用である。病理診断に応用される分子病理学的技術としては、染色体分析、ISH、FISH、RFLP、PCRなどがある。最近では、細胞遺伝子の検出のみではなく、結核菌やウイルスなどの組織内感染因子の検出にも分子生物学的手法が応用されている。病理診断分野に用いられる画像解析装置としては、種々の組織計測、核内DNAの検索、免疫染色の評価、細胞診標本のスクリーニング、共焦点顕微鏡など多方面への応

用が考えられる。

S 5. PCR法による病原微生物の

迅速同定法への挑戦

藤田信一

(金沢大学大学院医学系研究科血液情報統御学)

迅速な病原微生物の同定は原因菌の決定や抗菌薬の選択に重要である。今回は、PCR産物の電気泳動パターンから、一般細菌や酵母真菌の迅速同定が可能か否かについて検討した。

使用菌株は当院検査部および菌株保存施設から分与された一般細菌と真菌を使用した。一般細菌からのDNAはAchromopeptidase, ProteinaseK, 加熱処理して抽出した。DNAの増幅は23SrDNAと16SrDNAに挟まれた領域をユニバーサルプライマーを用いて行った。真菌からのDNA抽出はすでに報告した方法により行い、DNAの増幅は5.8SrDNAとその両端のinternal transcribed spacer regionを特異的に増幅する3種類のユニバーサルプライマーを用いるmultiplex PCRにより行った。また、グラム染色陽性の血液培養ボトル124検体について、上記と同様に処理後、核酸抽出用キットを用いてprospectiveにDNAを抽出しPCRを行った。増幅産物のサイズはアガロースゲル電気泳動法(4.5V/cmで3時間)とマイクロチップ電気泳動法(ME)(4分)により求めた。

Streptococcus 属では1本、*Enterococcus* 属では2本、*Staphylococcus* 属では1~5本、ブドウ糖非醗酵グラム陰性菌では1本、腸内細菌では1~2本、真菌ではすべての菌株において明瞭な2本のバンドを認めた。これらのバンドサイズは一部の細菌を除き、属または種レベルで異なっていた。また、MSSAとMRSAの鑑別も可能であった。血液培養ボトルではmixed floraの2検体を除き、泳動パターンから菌種レベル(または属)の同定が可能であった。

今回の方法ではユニバーサルプライマーを用いているため、2種類以上の真菌または細菌が存在している場合には同定が困難である。さらに、今後多数の微生物について検討されると、類似のパターンが多数出現することも予想される。しかし、血液培養や髄液において本法の有用性は高く、ME法はより簡便・迅速なバンド検出法として価値がある。