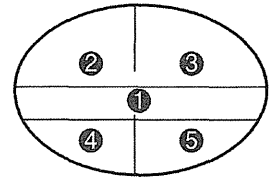


**3. リンパ節あるいは腫瘍の切り出し方法**

- 1. ホルマリン固定用(最大割面)
- 2. 表面マーカー解析(中央診断施設)用
- 3. 表面マーカー解析(自施設または検査会社)用
- 4. 染色体検査用
- 5. 免疫染色, 遺伝子解析用凍結組織



**ホルマリン固定用(組織診断用, 最大割面)**

捺印標本  
ホルマリン固定液

- リンパ節または腫瘍の最大割面を 5 mm の厚さにスライスし, 捺印標本作成後ただちにホルマリン固定液(10%中性緩衝ホルマリン液)に入れて, 自施設の病理検査室に提出する.
- 提出時に中央診断のために HE 染色標本 1 枚, シランコート(MAS コート)スライド未染標本(20 枚)を病理検査室に依頼しておく.
- 切り出しから固定液に入れるまでは長くても 5 分以内にとどめる.

**捺印標本の作製**

- あらかじめスライドガラス 5 枚程度と, 95%エタノール固定液を用意し, 手際よく捺印していく. ギムザ染色用には, 捺印後ただちにスライドガラスを冷風ドライヤーで乾燥する. パパニコロー染色, FISH 用には, 捺印したスライドガラスはすぐに 95%エタノール固定液に入れ, 室温で 1 時間固定する.
- FISH 法を用いた遺伝子解析に使用できるように, 捺印したスライドガラスは, エタノール固定後冷風ドライヤーで乾燥させ, -20℃で冷凍保存しておく.

表面マーカー解析

**表面マーカー解析(中央診断施設, 自施設または検査会社)用**

- 少なくとも 5 mm 角程度の大きさの腫瘍組織をメEDIUM入りチューブに無菌的に入れて提出する.
- 中央診断施設にはあらかじめ FAX 送信し, 4℃クール宅配便で翌日午前中に到着するように送付する.

染色体検査

**染色体検査用**

- 少なくとも 5 mm 角程度の大きさの腫瘍組織を, そのまま専用のメEDIUM入りチューブに無菌的に入れ, 各施設から検査会社に依頼する. 必ず 4℃で送付すること
- 成功率は低い(異常核型がみられる確率は低く, 多分 30%以下)が, カルノア固定検体があれば, 病理診断の結果からプローブを選択し間期核 FISH により有用な情報が得られる可能性が高い.

免疫組織化学染色  
遺伝子解析用凍結組織

**免疫組織化学染色, 遺伝子解析用凍結組織**

- 少なくとも 5 mm 角程度の大きさの腫瘍組織を OCT コンパウンドに包埋, ドライアイスを入れたアセトン, イソペンタンなどで凍結し(病理検査室に術中迅速診断の時と同じように, OCT コンパウンドに包埋した凍結組織をつくってくださいと丁寧に依頼してみるとよい), アルミホイルで包む.
- ドライアイスを入れた断熱容器(発泡スチロール容器)に入れて, 中央診断施設に

はあらかじめ FAX 送信し、-20℃ 冷凍クール宅配便で翌日午前中に到着するように送付する。週末などで翌日が休日の場合には、いったん自施設で冷凍保存し、休日明けに送付する。

## 4. 病型概説およびマーカー所見

### 4-1. 総論

リンパ芽球性リンパ腫  
バーキットリンパ腫  
びまん性大細胞型 B  
細胞リンパ腫  
未分化大細胞型リンパ腫

- リンパ芽球性リンパ腫 (lymphoblastic lymphoma, LBL), バーキットリンパ腫 (Burkitt lymphoma, BL), びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL), 未分化大細胞型リンパ腫 (anaplastic large cell lymphoma, ALCL), の 4 病型で小児リンパ腫の大半 (おそらくは 90% 以上) を占めると思われる。したがって、この 4 病型を正確に診断する方法に習熟していることが重要である。
- JPLSG が実施する臨床試験も上記 4 病型をカバーするものであるが、各臨床試験に適合するか否かを担保する目的で、中央診断の実施と複数の病理医によるコンセンサス診断確定が重要と考えている。
- この中央診断を円滑に進めるには免疫組織化学染色が必須であり、限られた枚数の標本に対して何を染色すればよいかの検討も重要である。
- 表 1 に現在実施中の臨床試験において病型診断の根拠とするマーカーの一覧を挙げる。
- 診断のプロセスとしては、まずは HE 染色標本の観察で病型を絞り込み、つぎにどの免疫組織化学染色を実施するかを決定するという手順になる。たとえば、成熟 B 細胞由来腫瘍が強く疑われるときには、ALCL 用パネルが使用されることはなく、LBL の除外、BL か DLBCL かの区別に力点を置いたマーカーパネルとなる、という具合である。

JPLSG

### 4-2. リンパ芽球性白血病/リンパ腫

B 細胞性リンパ芽球  
性白血病/リンパ腫  
T 細胞性リンパ芽球性  
白血病/リンパ腫

- リンパ芽球性白血病/リンパ腫 (lymphoblastic leukemia/lymphoma, LBL) は、細胞系統により 2 型に分ける
  - B 細胞性リンパ芽球性白血病/リンパ腫 (B-LBL)
  - T 細胞性リンパ芽球性白血病/リンパ腫 (T-LBL)

#### 組織学的特徴

FAB 分類

- B-LBL と T-LBL の組織はともに、急性リンパ腫白血病 (ALL) の FAB 分類 L1 あるいは L2 に相当する芽球が増殖、浸潤することを特徴としている。多くの場合、生検組織にはこのような芽球がびまん性に増殖する像をみるが、ときには既存構造を残しながら浸潤する像を呈することもある。FAB の L1 あるいは L2 芽球の HE 染色標本での見え方はかなり多様である。
- 一般に細胞は、裸核状で核網は繊細なことが多く、核小体は一般に認めがたい。
- 形態学的に B-LBL と T-LBL を区別することは不可能である。
- T-LBL は、縦隔腫瘍あるいは頸部リンパ節腫脹を認める場合が多く、また、胸水

表 1 リンパ腫病型とその診断・鑑別診断に必要なマーカー

病型	必須マーカー	追加マーカー
成熟 B 細胞腫瘍 バーキットリンパ腫 (BL) びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)	CD20 CD79a cCD3 TdT MIB-1 (ki-67)	CD10 BCL-2 BCL-6 Mum1 (IRF4) EBER1 (ISH)
リンパ芽球性リンパ腫 (LBL)	CD79a cCD3 TdT MPO	PAX5, CD19, CD22 CD1a CD4, CD8 CD10, CD34 CD43, CD56 CD99, CD117
未分化大細胞型リンパ腫 (ALCL)	CD30 ALK1 and/or ALKc CD2, cCD3, CD5, CD7 CD43 EMA Granzyme B and/or TIA-1	CD15, PAX5 CD79a, CD20 CD4, CD8 CD56 LMP-1 BCL-2 EBER1 (ISH)

- ・ 必須マーカーは該当病型を疑った場合は必ず行うべきマーカーを指す。
- ・ 追加マーカーは病型により意味合いが異なる。成熟 B 細胞性リンパ腫の場合は、BL と DLBCL の鑑別、DLBCL の中での亜群識別、EB ウイルス関連リンパ増殖性疾患の鑑別等を目的としている。LBL の場合は myeloid 系腫瘍や NK 細胞由来腫瘍との鑑別、T-LBL の亜群鑑別を目的としている。
- ・ CD79a 陽性の場合には、PAX5, CD19, CD22 といった B 細胞マーカーをもう 1 種類追加して B-lineage を確定する。
- ・ ALCL の場合は、ホジキンリンパ腫との鑑別や ALK 陽性大細胞型 B 細胞リンパ腫との鑑別を目的としている。

貯留や骨髄浸潤を伴うことが多いので、誤診される可能性は低い。

- B-LBL は、T-LBL よりもより広い臓器で発症することが多く、また骨や皮膚などの節外性発症も多いという特徴を持つ。したがって、ほかのリンパ腫病型(特に、DLBCL)、顆粒球肉腫や非血液腫瘍(ユーイング肉腫や横紋筋肉腫等)との区別に注意する必要がある。

**細胞マーカー**

- 典型例は以下のごとくである。
  - ・ B-LBL : TdT 陽性, cCD3 陰性, CD79a 陽性, CD20 陰性ないし陽性
  - ・ T-LBL : TdT 陽性, cCD3 陽性, CD79a 陰性ないし陽性, CD20 陰性
- CD79a は B 細胞特異的ではなく、T-LBL の一部(10%程度)に陽性となる。したがって、CD79a 陽性所見のみで B-LBL と判断してはならない。CD79a 陽性の場合には、PAX5, CD19, CD22 といった B 細胞マーカーをもう 1 種類追加して B-lineage を確定する。
- CD43 は、T 細胞マーカーとして利用されてきたが、B-LBL や myeloid 系の未熟な細胞にも陽性となる。判断に迷う場合は、CD1a, CD4, CD8 などの T 細胞マーカーを実施すべきである。
- 縦隔腫瘤の場合、ホジキンリンパ腫、ALCL、縦隔(胸腺)原発大細胞型 B 細胞リ

B-LBL  
TdT  
cCD3  
CD79a  
CD20  
T-LBL  
  
PAX5

- リンパ腫などのいくつかの病型を念頭に置きながら診断する必要がある。
- 顆粒球肉腫
- 形態上鑑別すべきものは、顆粒球肉腫(myeloid sarcoma, 腫瘍形成性白血病)である。顆粒球肉腫はLBL様にみえるものからDLBCL様にみえるものまでさまざまのため、常に頭の片隅において置くべき疾患である。
- MPO, lysozyme, CD68
- 表1ではmyeloperoxidase(MPO)をスクリーニング用マーカールに加えたが、疑いが強い場合はlysozyme, CD68などの骨髄球系マーカーを追加する。
  - 近年、中央診断が実施されるにつれて、小児リンパ腫の中でのB-LBLの頻度が高くなりつつある。おそらく過去には、DLBCLあるいは「非ホジキンリンパ腫, diffuse medium-size」という病名で診断されていたと思われる(現在でもDLBCLと診断されている場合はある)。
  - 実はB-LBLとDLBCLの形態学的な区別が難しい場合がかなりの頻度であるためであり、免疫組織化学染色は必須である。
- TdT CD20
- 鑑別方法としては、DLBCLの場合はTdT陰性、CD20が明瞭に陽性であること、B-LBLの場合はCD79a, TdT陽性、CD20とCD45は陰性のことが多く、陽性の場合でも弱陽性のことが多い、という点を目安とする。
  - なお、LBLの鑑別疾患に非血液腫瘍をあげておく必要がある。鑑別すべきものはEwing肉腫、横紋筋肉腫などがあげられる。特にEwing肉腫との鑑別はマーカー的にも紛らわしい場合が多い。Ewing肉腫の診断に頻用されるCD99(MIC2)はLBLでも陽性となるマーカーであるため、ほかのマーカーとの組み合わせが重要になる。すなわち、TdT, CD79aおよびcCD3などの染色所見を参考として鑑別を行う。
- Ewing肉腫

### 4-3. 成熟B細胞性腫瘍

- 成熟B細胞性腫瘍
- 成熟B細胞性腫瘍(mature B-cell neoplasms)は以下の2病型をまとめて説明する。
    - バーキットリンパ腫(Burkitt lymphoma, BL)
    - びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)

#### 組織学的特徴

- myc 遺伝子
- BLはmyc遺伝子の再構成を伴うのに対し、DLBCLはmyc遺伝子の関与はほとんどないなど疾患単位がまったく異なるにもかかわらず、病理診断上は必ずしも明確な線を引くことができない場合もある。したがって、ここではこの2病型を比較しながら説明する。
  - BLおよびDLBCLは、いずれも成熟B細胞由来の腫瘍であり、また、その発生母地も胚中心B細胞である点で共通である<sup>1)</sup>。BLおよびDLBCLはおのおの典型例では診断は容易である。
  - 典型的なBLは、核片を貪食したマクロファージが腫瘍細胞間に散在性にみられるstarry sky像を示し、好塩基性の細胞質をわずかに認める。核はおおむね円形で大小不同が少ない。核のクロマチンはLBLにくらべると凝集傾向がある。小さな核小体を1~3個程度みることもあるが不明瞭な場合もある。
  - 一方、DLBCLは、小型で明瞭な核小体をもつ水泡状(vesicular)の核を有する大
- starry sky 像

- 型リンパ球がびまん性に増殖し、種々の割合で小型 T リンパ球が混在している。
- BL, DLBCL
- このような中心芽球(centroblastic)型 DLBCLが小児では多く、他に免疫芽球(immunoblastic)型、未分化(anaplastic)型といった亜型がある。典型例では問題なく BL と DLBCL の区別がつけられるが、BL と DLBCL の中間のような形態を示す場合が問題となる。
  - すなわち、BL 様だが細胞のサイズに大小不同がやや強い場合や、核形態が均一でない場合、BL 様だが核小体がかなり明瞭である場合、などである。
- WHO 分類
- WHO 分類(第 4 版)では、B 細胞リンパ腫-分類不能型、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫とバーキットリンパ腫の中間型(B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma)という項目が追加されており、鑑別診断には、染色体分析結果や表面マーカー所見が必要である。

**細胞マーカー**

成熟 B 細胞性腫瘍  
TdT  
CD79a  
CD20  
CD10  
BCL-2  
BCL-6  
MIB-1(Ki-67)  
MIB-1

- 成熟 B 細胞性腫瘍の共通したマーカー特徴は、TdT 陰性、CD79a 陽性、CD20 陽性、CD45 陽性である。  
BL : CD10 陽性、BCL-2 陰性、BCL-6 陽性、MIB-1(Ki-67)はほぼ 100%に陽性  
DLBCL : CD10 陽性/陰性、MIB-1 陽性率は 90%以下、BCL-2 陰性/陽性、BCL-6 陰性/陽性
- 小児 DLBCL では、BL と同じ胚中心 B 細胞様(germinal center B-cell-like ; GCB)の表現型、すなわち CD10、BCL-6 陽性、BCL-2 陰性を呈するものが多く、MIB-1 陽性率が高いため、しばしば免疫組織化学染色による表現型では鑑別が不可能である<sup>1)</sup>。
- BL あるいは DLBCL で典型的な組織像を示す場合は、B 細胞由来であることを証明するマーカー検査で十分と考える。CD79a あるいは CD20 のいずれかのマーカー陽性所見で十分な場合もある。
- たとえば、典型的な DLBCL の症例に対してあえて TdT の染色を行う必要性は少ないと考える。むしろ、DLBCL を亜群に分類できる可能性のあるマーカーの検索に力点を置くべきであろう。
- 一般的には、BL あるいは DLBCL の区別が難しい場合、MIB-1 陽性率が 100%近い場合は BL とし、それ以下なら DLBCL としている。
- なお、染色体分析や FISH により *c-myc* 転座が証明されている場合は、BL に分類することが暫定的には妥当と考えられる。形態学的に典型的な DLBCL であっても *c-myc* 転座が証明される場合があり、症例の蓄積が必要と思われる。

**縦隔(胸腺)原発大細胞型 B 細胞リンパ腫**

縦隔(胸腺)原発大細胞型 B 細胞リンパ腫

- 縦隔(胸腺)原発大細胞型 B 細胞リンパ腫(primary mediastinal(thymic)large B-cell lymphoma)は、DLBCL の一亜型ともいえるが、縦隔を主たる増殖の場として発症し、若い女性に多く独特の組織形態や細胞マーカーを示すため、WHO 分類では独立病型として記載されている。
- 組織学的には線維に富む腫瘍で、この線維によって腫瘍細胞が胞巣状もしくは結節状に分画されて存在することを特徴とする。腫瘍細胞は淡明で豊かな細胞質を持ち、核は分葉状になることが多いとされている。
- 細胞マーカーは CD20、CD79a および CD45 が陽性になるなど成熟 B 細胞性リン

パ腫のそれに一致するが、CD30 が弱く陽性になることが多いといわれている。

#### ■ 4-4. ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫 (Anaplastic large cell lymphoma, ALCL, ALK-positive)

未分化大細胞型リンパ腫 ● WHO 分類第 4 版では、未分化大細胞型リンパ腫を ALK 陽性と陰性にわけている。小児では 90%以上が ALK 陽性である。

##### ■ 組織学的特徴

- 腫瘍細胞は大型で豊かな細胞質を持ち、核の多形性が目立つ。このような細胞が接着性を保ちながら、リンパ濾胞間やリンパ洞を好んで増殖する場合、診断は容易である。
- hallmark cell ● 上記のような腫瘍細胞のことを“hallmark cell”といい、hallmark cell が容易に見つかり特徴のある増殖様式を示す場合を common pattern とよぶ。
- 一方、hallmark cell 以外の腫瘍細胞が種々の程度に混ざる亜型が、いくつか知られている。Small cell pattern は小型ないし中型の腫瘍細胞が主に増殖しているが、よく観察すると少数ながら hallmark cell が認められる。
- small cell pattern
- Lymphohistiocytic pattern は、小型リンパ球と組織球が多数存在する中に少数の腫瘍細胞を認めるものである。Hodgkin-like pattern は nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma に類似した組織像を示す。
- lymphohistiocytic pattern  
Hodgkin pattern
- 以上の組織学的亜型が二つ以上存在するものを composite pattern とよぶ。腫瘍細胞が血管に沿って配列する“perivascular pattern”は small cell pattern や lymphohistiocytic pattern に多く認められ、予後との関連を示す重要な所見である<sup>2)</sup>。

##### ■ 細胞マーカー

- CD30  
ALK 遺伝子  
ALK 蛋白 ● CD30 が陽性であることが必須条件である。ALCL, ALK-positive では ALK 遺伝子の転座相手により、ALK 蛋白の局在が異なることが知られている。
- t(2;5)(p23;q35)転座(NPM-ALK)では、核と細胞質に ALK が陽性となるが、これ以外では核には陽性とならない。たとえば t(1;2)(q25;p23)転座(TPM3-ALK)では、ALK は細胞質と細胞膜に陽性となるが、核には染まらない。
- ホジキンリンパ腫 ● ALK 陰性 ALCL の診断はより慎重にすべきであるとされ、ホジキンリンパ腫や末梢性 T 細胞リンパ腫との鑑別を厳密に行う必要がある。
- JPLSG  
ALCL 臨床研究 ● JPLSG が実施する ALCL 臨床研究では、ALK 陰性 ALCL と判断するためには、3名の中央病理診断医のコンセンサス診断が必要であると取り決めている。
- その他の細胞マーカーの特徴としては、EMA が高い頻度で陽性になること、各種の T 細胞マーカーが陽性になる場合が多いことなどである。
- ALCL の診断にあたっては、可能な限り T 細胞系統である証拠を積み重ねる努力が求められている。
- T 細胞マーカーとしては、CD3, 2, 5, 7, 43 などの従来のマーカー以外に細胞傷害性顆粒(Granzyme-B, TIA-1, perforin など)も用いられる。
- PAX5 ● ホジキンリンパ腫との鑑別には、PAX5 がよいマーカーとなる。なお、ALK 染色は small cell variant や lymphohistiocytic variant の判定には必須で、小型～中型

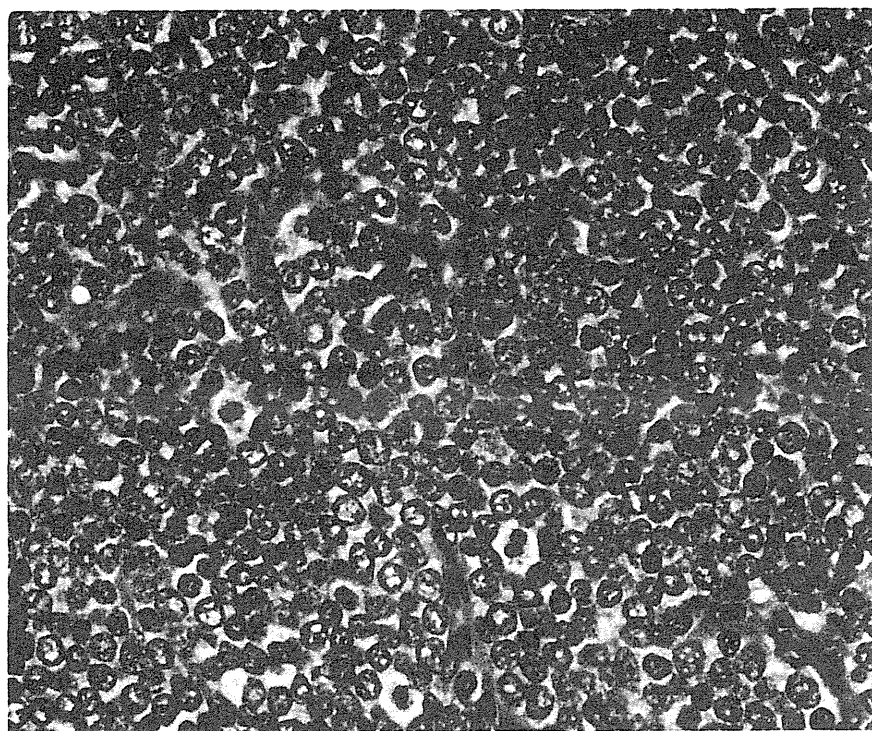


図 1 左頸部リンパ節(HE 染色)

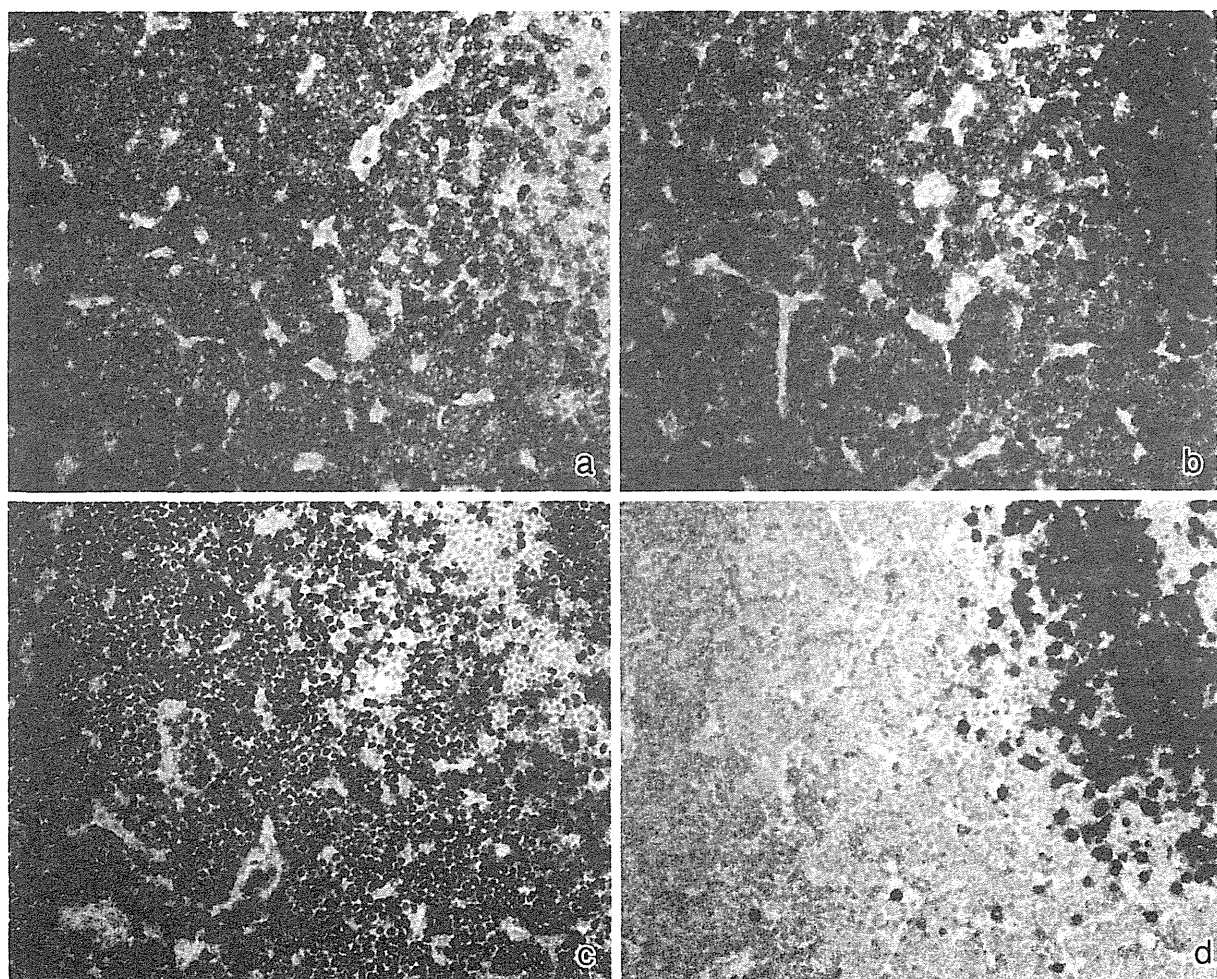


図 2 左頸部リンパ節  
(免疫組織化学染色, a: cCD3, b: CD79a, c: TdT, d: CD20)



の腫瘍細胞では核のみに陽性となる。

## 5. 診断・測定困難例の実際とその解説

NHL

【症 例】 6歳女児, NHL(non-Hodgkin lymphoma)疑い

- 主訴：咽頭痛, 左頸部リンパ節腫脹
- 初診時, 両側頸部リンパ節と左腋窩リンパ節の腫脹がみられた。縦隔腫瘍も認められ, Stage 3と考えられた。
- 診断確定のため, 左頸部リンパ節の生検が行われた。大きさは15×12 mm大。組織学的にリンパ濾胞は消失し, 比較的緻細な核クロマチンを有する中型リンパ球のびまん性増殖が認められた(図1)。
- 免疫組織化学的に増殖するリンパ球は, cCD3, CD79a, TdT 陽性, CD20 陰性であった(図2)。
- CD79a 陽性であることより, B-cell lineage かどうかが問題となったが, 追加で染色したPAX5は陰性であった。以上より, T-LBLと診断した。
- ヨーロッパの臨床研究 Euro-LB 02の中央病理診断によると, T-LBLの12%がCD79a 陽性であり, B lineageと診断するためには, CD79a以外のB-cell マーカー, CD19, CD20, PAX5が陽性であることを確認することが必要であるとされている。
- CD79a 陽性のT-LBLでは, CD10 陽性のことがある。B-LBLにおけるCD20 陽性率は34%と低いが, PAX5 陽性率は100%で, B cell lineageの診断にはPAX5が最も有効と報告されている<sup>3)</sup>。

PAX5

### 文 献

- 1) Oschlies I, Klapper W, Zimmermann M et al. : Diffuse large B-cell lymphoma in pediatric patients belongs predominantly to the germinal-center type B-cell lymphomas : a clinicopathologic analysis of cases included in the German BFM (Berlin-Frankfurt-Munster) Multicenter Trial. Blood 107 : 4047-4052, 2006
- 2) Lamant I, McCarthy K, d'Amore E et al. : Prognostic impact of morphologic and phenotypic features of childhood ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma : results of the ALCL99 study. J Clin Oncol 29 : 4669-76, 2011
- 3) Oschlies I, Burkhardt B, Chassagne -Clement C et al. : Diagnosis and immunophenotype of 188 pediatric lymphoblastic lymphomas treated within a randomized prospective trial : experiences and preliminary recommendations from the European childhood lymphoma pathology panel. Am J Surg Pathol 35 : 836-844, 2011



# 2

## 免疫学的診断

マーカー検査  
免疫学的診断

- 小児造血器腫瘍の治療にあたっては、精度の高い標準的な診断法により、正確な診断を得ることが重要である。
- 腫瘍細胞の細胞表面・細胞内抗原の解析(マーカー検査)による免疫学的診断は、細胞形態学的診断、染色体あるいは遺伝子解析診断とともに、造血器腫瘍の臨床診断には必須となっている<sup>1)</sup>。
- また、細胞抗原の解析は、腫瘍細胞の起源や分化段階の推定、形態上は区別が困難である幼若な正常細胞と腫瘍細胞との正確な鑑別も可能とし、さらには、適切な治療法の選択、予後判定にも有用と考えられる。

### 1. 検査材料(末梢血、骨髓血、髄液、リンパ節など)の採取方法、および送付方法

#### ■ 1-1. 検体取り扱いの注意

- いかなる検体も既知および未知の病原体を含む可能性が常に存在するため、手袋を着用するなど、その取り扱いには感染防御の十分な注意が必要である。
- また、取り違えを避けるため、検体に適切なIDを明記することが重要である。

#### ■ 1-2. 検体の種類と量

- 白血病のマーカー検査に用いる検体としては、骨髓液が最も一般的である。しかし、芽球が確実に含まれていることがわかっている場合には、末梢血も検査に用いることができる。
- 特に、白血球数が多くて芽球の割合が非常に高い末梢血の場合、検体が凝固する危険性を考えると、むしろ骨髓液よりも末梢血のほうが好ましい検体といえる。
- 髄液中に著しい芽球の増多を認める場合には、これを検査に用いることも可能である。
- また、悪性リンパ腫では、腫瘍細胞を含む胸水、腹水も検査の対象であり、リンパ節などの生検・手術組織から浮遊細胞を調整してマーカー検査を行うことも可

能である。

- 小児の場合には、いずれの検体でも多量に採取することが困難な場合が多いが、マーカー検査にはほかの検査よりも大量の細胞が必要となるため、可能な限り多くの検体をマーカー検査に回してほしい。具体的には、白血球数  $10,000/\mu\text{L}$  の末梢血であれば、5 mL (総細胞数で  $5 \times 10^7$  個) 以上を送付することが望ましい。
- 一方、骨髓液ではあらかじめ細胞数を予測することは難しいが、1 mL 程度が現実的と考えられる。
- ただし、骨髓液の場合には、多量に吸引すると末梢血が混入する危険性があるため、その点に配慮が必要である。
- 骨髓スミアの検鏡所見と、実際にマーカー用に送付された骨髓液に含まれる芽球の割合が大きく異なることは、日常的に頻繁に経験される。
- 組織の場合も、回収される浮遊細胞は病型にも依存して予測困難であるが、最低限 5 mm 角以上ないと検査は難しい。
- しかし、いずれの場合でも、よい検査を実施するためには、検体の量よりも検体の質、特に“凝固していない”、“芽球が確実に含まれている”といったことのほうが、より重要なファクターである。

#### 抗凝固剤

### 1-3. 抗凝固剤と検体の採取方法

- 凝固さえしていなければ、ほとんどの検体はマーカー検査が可能なので、抗凝固剤としては、多少検体安定性が異なるものの、日常的に用いられている EDTA (エチレンジアミン四酢酸, ethylenediaminetetraacetic acid)、ヘパリンが使用可能である。
- 末梢血の場合には、ヘパリン採血のほか、採血後に抗凝固剤入りの容器に移すことも可能である。
- 骨髓液の場合、末梢血よりも凝固しやすいため、あらかじめヘパリンを入れた注射器で採取するか、採取後すみやかにヘパリン加培養液を入れた容器に移すことが推奨される。
- 特に骨髓液の場合には、採取時には凝固していないように見えても、輸送の過程でフィブリンが析出してきて凝固してしまい、検査が困難になる場合が多く、採取後ただちに、十分、かついねいに、抗凝固剤と混和することが非常に重要である。
- 髄液、胸水、腹水の場合にも、ヘパリンなどの抗凝固剤を添加することが推奨される。

### 1-4. 検体の送付方法

- 採取した検体は、可及的すみやかに検査することが推奨される。本邦における中央診断の現状では、採取翌日に検査される場合が多いと考えられるが、可能な限り 24 時間以内に検査されることが望ましい。
- 検体の輸送に際し、末梢血、あるいは骨髓液については、腫瘍細胞の生存率の観点から室温 ( $18 \sim 22^\circ\text{C}$ ) での保存のほうがよいというデータも示されており、夏期

表 1 急性白血病の免疫学的診断に有用なマーカー解析パネル

Primary panel			
B細胞系	T細胞系	骨髄系	non-lineage
CD19	細胞表面CD3	MPO	CD10
CD79a	細胞質内CD3	CD13	CD34
$\kappa/\lambda$	CD7	CD33	CD45
		CD41	CD56
			HLA-DR
			TdT
(16種類)			
Secondary panel			
B細胞系	T細胞系	骨髄系	
CD20	CD2	CD14	CD15
CD22	CD4	CD65	CD36
細胞表面 $\mu$ 鎖	CD5	CD117	CD42b
細胞質内 $\mu$ 鎖	CD8	Glycophorin A	CD61
			CD64
(17種類)			
追加パネル			
B細胞系	T細胞系		
CD24	CD1a		
CD58	TCR $\alpha/\beta$		
	TCR $\gamma/\delta$		
(5種類)			

を除いては常温での輸送で差し支えないと考えられる。しかし、夏期の場合には、輸送中の過度の温度上昇の可能性や、万一、微生物が混入した場合においてその繁殖の可能性を考慮して、クール便を使用し、冷蔵での輸送が望ましい。冷凍は不可である。

- リンパ節などの組織では、輸送中の乾燥を避ける必要がある。採取当日に検査する場合は、生理食塩水で湿らせたガーゼにくるんだ状態で輸送することが望ましいが、翌日以降に処理する場合には、培養液(なければ生理食塩水)に浸かった状態で、組織破壊の進行を防ぐ観点から冷蔵で輸送するほうが安全と考えられる。

## 2. 解析パネルの紹介と解説、診断基準

JPLSG  
急性白血病  
免疫学的診断  
マーカー解析パネル

- 表1に、日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)免疫診断委員会で策定した急性白血病の免疫学的診断に有用なマーカー解析パネルを示す。以下、各測定項目について概説する。

一次パネル

### 2-1. 一次パネル(primary panel)

- このパネルには、免疫学的診断において細胞系統の決定に最低限必要な項目を含む。

#### B細胞系

CD19  
B-precursor ALL  
mature B-ALL

CD79a

- CD19：B細胞に特異的な刺激伝達分子で、ほとんどのB-precursor ALLおよびmature B-ALLに発現するが、まれにB-precursor ALLで発現の弱い症例がある。B細胞系に特異性が高いが、一部の急性骨髄性白血病(AML)も陽性を示す。
- CD79a：B細胞抗原受容体関連の刺激伝達分子で、ほとんどのB細胞性腫瘍で陽

性を示す。B-precursor ALL では基本的に細胞質のみに、mature B-ALL では細胞表面に発現する。しかし、一般的な抗 CD79a 抗体は細胞質内エピトープを認識するため細胞内の染色が必要である。T-ALL の一部でも陽性となり、AML でも陽性例の報告がある。

- T-ALL
- κ/λ ● κ/λ：免疫グロブリンの軽鎖で、mature B-ALL にのみ、いずれかが陽性を示す。ただし、血清中の免疫グロブリンの吸着による非特異的反応に注意が必要である。

#### T 細胞系

- CD3 ● CD3：T 細胞抗原受容体関連の刺激伝達分子で、T-ALL の最も信頼性の高いマーカーであるが、小児 T-ALL では細胞質内のみの発現が多い。
- CD7 ● CD7：免疫グロブリンスーパーファミリー分子で、大部分の T-ALL で陽性となる。M7 を含む一部の急性骨髄性白血病 (AML) や NK 細胞性腫瘍でも陽性を示す。

#### 骨髄系

- MPO ● MPO (ミエロペルオキシダーゼ)：AML M0, M1, 2, 3, 4 で陽性を示す。使用する抗体によっては非特異反応が強く、染色条件の至適化が必要である。
- CD13  
AML ● CD13：膜結合型酵素 (アミノペプチダーゼ N) で、多くの AML で陽性を示すが、しばしば急性リンパ性白血病 (ALL) にも発現が認められる。近年、一部の固形腫瘍の癌幹細胞のマーカーとして注目されている。
- CD33 ● CD33：免疫グロブリンスーパーファミリー分子で、大部分の AML で陽性を示す。しばしば ALL にも発現が認められる。
- CD41 ● CD41：血小板膜糖蛋白 II b ( $\alpha$  II b インテグリン) で、AML M7 の特異的なマーカーである。

#### Non-lineage

- CD10 ● CD10：膜結合型酵素 (中性エンドペプチダーゼ) で、common-ALL 抗原として同定され、大部分の B-precursor ALL で陽性を示すが、*MLL* 関連のキメラ遺伝子を有する症例などでは陰性あるいは弱陽性的場合が多い。大部分の mature B-ALL (L3)、一部の T-ALL でも陽性で、成熟好中球や神経芽腫の一部にも発現がみられる。
- B-precursor ALL
- T-ALL
- CD34 ● CD34：ムチン様の膜蛋白で、ヒト造血幹細胞の最も重要な細胞表面マーカーである。AML, B-precursor ALL, T-ALL のそれぞれ一部で陽性を示す。
- CD45 ● CD45：白血球に特異的な蛋白質チロシン脱リン酸化酵素で、造血器腫瘍の特異的なマーカーであるが、B-precursor ALL をはじめとする腫瘍細胞では、陰性～弱陽性的場合が多く、白血病細胞のゲーティングに用いられる。
- CD56 ● CD56：神経細胞接着分子 (N-CAM) で、最も代表的な NK 細胞マーカーとして有用であるが、AML の一部でも陽性である。神経芽腫などの多くの固形腫瘍も陽性を示す。
- HLA-DR ● HLA-DR：MHC Class II 分子で、B 細胞、単球、活性化 T 細胞に発現する。ほとんどの B 細胞系 ALL、多くの AML、一部の T-ALL において陽性を示す。腫瘍ではないが、伝染性単核症の場合は HLA-DR 陽性の活性化 CD8 陽性細胞が選択的に増加する。用いる抗体のクローンなどの関係で、B-precursor ALL でも HLA-DR 陰性となる場合がある。
- TdT ● TdT：遺伝子断片に核酸を付加する酵素で、遺伝子再構成が進行中の未熟リンパ

球に発現するため、T-ALL、B-precursor ALL の特異的なマーカーとして有用である。ただし、水溶性が強くて細胞外に漏出しやすく、染色には注意が必要となる。また、AML でも陽性となる場合がある。

二次パネル

■ 2-2. 二次パネル(secondary panel)

- このパネルには、免疫学的診断において細胞系統の決定に重要な項目を含む。

■ B細胞系

- CD20 : B細胞特異的なカルシウムイオンチャンネル分子で、CD19 に比較してやや成熟した段階から発現する。B-precursor ALL では約半数で弱～中程度(まれに強)陽性を示し、mature B-ALL では大部分で強陽性となるので、鑑別の参考となる。抗CD20抗体はB細胞性リンパ腫の治療薬として臨床応用されている。
- CD22 : B細胞特異的な免疫グロブリンスーパーファミリー分子で、B細胞性腫瘍で陽性となる。陽性の場合、B細胞に特異性が高いが、用いる抗体のクローンと抗原発現の状況によるmaskingの関係で、発現していても検出できない場合があることが報告されている。
- $\mu$  : 免疫グロブリン重鎖で、大部分のmature B-ALLで細胞表面に発現するが、この場合、軽鎖も同時に発現する。B-precursor ALLでもPre-Bタイプの場合、細胞質内で陽性を示し、ごくまれに細胞表面にも発現する場合がある(この場合、軽鎖は陰性)。

■ T細胞系

- CD2 : T細胞特異的な免疫グロブリンスーパーファミリー分子(LFA-2)で、多くのT-ALLに陽性を示す。
- CD4 : MHC Class II認識にかかわる免疫グロブリンスーパーファミリー分子で、T細胞と単球に発現する。T-ALLの一部に陽性で、AML M4,5の一部でも陽性を示す。
- CD5 : 膜蛋白で、多くのT-ALLに陽性で、一部の成人型B細胞性腫瘍でも発現を認める。Eraly T-cell precursor leukemiaの診断には、CD5の発現の程度が鑑別上、重要な所見となる。
- CD8 : MHC Class I認識にかかわる免疫グロブリンスーパーファミリー分子で、正常T細胞とNK細胞に発現し、T-ALLの一部に陽性を示す。
- CD4, CD8両者陽性細胞は、正常の場合、胸腺以外ではほとんど存在しないため、CD4, CD8両者陽性所見は、腫瘍性のT細胞であることを示す根拠となりうる。

■ 骨髄系

- CD14 : 単球、顆粒球に発現する膜蛋白(GPI結合型)で、単球系への分化傾向を示す。一部のAMLで陽性を示す。
- CD65 : 顆粒球に発現するガングリオシドで、一部のAMLで陽性を示す。B-precursor ALLでもまれに発現が認められる。
- CD117 : SCF受容体で、一部のAMLで発現する。ALLでもときに弱陽性を示す。
- Glycophorin A (CD235a) : 赤血球、赤芽球特異的なシアロ糖蛋白で、AML M6の有用なマーカーである。
- CD15 : Lewis X糖鎖抗原決定基で、血球では顆粒球に発現し、分化傾向を示す

AMLで陽性を示す。ホジキンリンパ腫のRS細胞にも陽性である。

- CD36：単球，赤芽球，巨核球・血小板に発現する細胞膜蛋白で，AMLのうちM4，M5，M6，M7で陽性を示す。
- CD42b ● CD42b：血小板膜糖蛋白Ib $\alpha$ (von Willebrand 因子受容体構成分子)で，巨核芽球性白血病の特異的なマーカーである。巨核球においては，CD41，CD61に比較してより成熟した段階で発現する。
- CD61：血小板膜糖蛋白IIIa( $\beta$  IIIインテグリン)で，CD41と同様にAML M7の特徴的なマーカーである。
- CD64：高親和性IgG-Fc受容体で，単球系への分化傾向を示すAMLでしばしば陽性を示す。

### ■ 2-3. 追加パネル

- このパネルには，免疫学的診断において細胞系統の決定に有用な項目を含む。

#### ■ B細胞系

- B-precursor ALL ● CD24：刺激伝達分子(GPI結合蛋白)で，ほとんどのB-precursor ALLで陽性だが，MLL関連のキメラ遺伝子を有する症例などでは，陰性あるいは弱陽性の場合がある。一部のmature B-ALLでも陽性を示す。正常成熟顆粒球や，非血液腫瘍でも発現する。
- mature B-ALL ● CD58：細胞膜蛋白LFA-3で，白血球に広範に陽性となり，発現の細胞系統特異性は低いが，B-precursor ALLでより強く発現することから，正常のB前駆細胞との鑑別に有用である。

#### ■ T細胞系

- CD1a ● CD1a：胸腺皮質のT細胞に特異的な膜糖蛋白で，胸腺以外で陽性の場合にはT-ALL診断の根拠になりうる。ランゲルハンス細胞にも発現し，ランゲルハンス細胞組織球症の最も信頼性の高いマーカーである。
- T-ALL ● TCR $\alpha/\beta$ ，TCR $\gamma/\delta$ ：T細胞抗原受容体で，T-lineageに特異的である。通常，CD3と複合体を形成して細胞表面に発現する。

### ■ 2-4. 免疫学的診断基準

- JPLSG ● JPLSG免疫診断委員会では，中央診断施設における過去の白血病マーカー検査結果を再解析し，上記のマーカー解析パネルを参考に，以下の診断基準を決定した。

#### ■ ALL (acute lymphoblastic leukemia) の診断基準

- 細胞化学検査で，MPO陰性の白血病について，以下の基準に従い細胞系統を決定する。
- T-ALL：CD3陽性かつCD2，CD5，CD7，CD8のうち一つ以上が陽性
- B-lineage：CD19，CD79a，CD20，CD22のうち二つ以上が陽性
  - B-precursor ALL：B-lineageの基準を満たし，Ig $\kappa$ とIg $\lambda$ が陰性
  - Pre-B ALL：B-lineageの基準を満たし，細胞質内(まれに細胞表面) $\mu$ 鎖陽性，かつIg $\kappa$ とIg $\lambda$ が陰性
- Mature B ALL：B-lineageの基準を満たし，Ig $\kappa$ またはIg $\lambda$ のいずれかが陽性

表 2 mixed-lineage leukemia の分類  
Acute leukemia with aberrant lymphoid or myeloid antigen expression  
and 'true' mixed-lineage leukemia

Myeloid antigen <sup>+</sup> B-lineage ALL (all criteria must be met)	Lymphoid <sup>+</sup> AML (all criteria must be met)
<b>Leukemic cells are :</b> 1. Express at least two B-lineage markers (CD19, 20, 22, or 79a) 2. CD3 <sup>-</sup> 3. MPO <sup>-</sup> and express CD13, 15, 33, or 65	<b>Leukemic cells are :</b> 1. MPO <sup>+</sup> or express at least two other My markers (CD13, 15, 33, or 65) 2. CD3 <sup>-</sup> and CD79a <sup>-</sup> 3. Express CD2, 5, 7, 19, 22, or 56
Myeloid antigen <sup>+</sup> T-lineage ALL (all criteria must be met)	'True' mixed-lineage leukemia
<b>Leukemic cells are :</b> 1. CD3 <sup>+</sup> and express CD2, 5, 7, or 8 2. CD79a <sup>-</sup> 3. MPO <sup>-</sup> and express CD13, 15, 33, or 65	<b>Leukemic cells coexpress :</b> 1. MPO and CD79a or clg $\mu$ or 2. MPO and CD3 or 3. CD3 and clg $\mu$

表 3 JPLSG 中央診断の解析パネル

	FITC	PE	PC7	APC	PerCP
1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	CD45 (gating)
2	Kappa	CD13	CD19	Lamda	
3	CD65	7.1	CD10	CD33	
4	CD66c	CD24	CD34	HLA-DR	
5	Mue	CD22	CD20	CD56	
6	CD58	CD11b	CD117	CRLF2	
7	CD4	CD8	CD3	CD5	
8	CD36	CD42b	CD61	CD14	
9	CD99	CD7	CD2	CD38	
10	CD21	CD64	CD41	CD1a	
11	CD15	TCR- $\gamma/\delta$	CD235a	TCR- $\alpha/\beta$	
12	cy-IgG1	cy-IgG1	cy-IgG1	cy-IgG1	
13	cy-TdT	cy-MPO	cy-CD3	cy-CD79a	
14	cy-Mue	cy-CD22			

( $\mu$  鎖の発現は必須ではないが、重要な参考所見とする)

- ただし、CD3, CD79a, CD22 の発現は細胞内、細胞表面を問わない。

mixed-lineage leukemia  
mixed-lineage leukemia

**Mixed-lineage leukemia の分類**

- 同様に、Mixed-lineage leukemia について、表 2 のように分類した。

**2-5. JPLSG 中央診断の解析パネル**

- 上記で決定された診断基準と推奨パネルをもとに、2011 年より実施されている JPLSG 疫学研究の中央診断で実際に使用されるマーカー解析パネルを表 3 に示す。



- 共通の検査項目について同一抗体を使用して実施することで、同 中央診断の標準化と均てん化を図っている。
- 解析パネルに含まれていて、上記で説明していない検査項目について、以下に概説する。

#### B 細胞系

- CD21：正常では成熟 B 細胞に発現する補体 C3d および EB ウイルスの受容体であるが、B-lineage の白血病やリンパ腫では陽性となることはまれである。逆に、T-ALL、非ホジキンリンパ腫(NHL)の 2 割程度の症例で陽性となる。

#### 骨髄系

- CD11b：インテグリン  $\alpha$ M 鎖で、CD18 と複合体を形成し、NK 細胞、顆粒球、単球/マクロファージに発現する。

#### Non-lineage

- CD38：細胞系統特異性はないが、細胞の分化と活性化に依存して発現し、微小残存病変(MRD：minimal residual disease)検出に用いられる。
- CD66c：正常血球では顆粒球に発現するが、B-precursor ALL では Ph1 陽性例や、hyperdiploid の症例の一部に発現する。
- CD99：Ewing 肉腫に特異的なマーカーである MIC2 として知られているが、さまざまな血球にも発現し、T-ALL や B-precursor ALL の一部でも陽性となる。
- 7.1：melanoma-associated chondroitin sulfate proteoglycan (MCSP) として発見されたが、MLL 関連のキメラ遺伝子を有する白血病で陽性となる。
- CRLF2：Cytokine receptor-like factor 2 あるいは thymic stromal lymphopoietin protein receptor として知られ、IL-7R $\alpha$ (CD127)と介合して、高親和性 TSLP レセプターを形成する。近年、CRLF2 を発現する B-precursor ALL は予後不良という報告がある。

### 3. FCM データの解析方法

#### 3-1. FCM 測定で得られる情報

フローサイトメトリー

- フローサイトメトリー(FCM)は、フローセル中を高速で流れる血液細胞などの細胞浮遊液にレーザー光などの励起光を照射し、細胞が通過する際に生じる励起光の散乱(散乱光：scatter)や蛍光(fluorescence：FL)を細胞ごとに検出して、その強さを解析する。
- 散乱光は、散乱する方向によって異なる情報を含んでいる。励起光の進行方向に生じる前方散乱(forward scatter：FS または FSC)は、細胞の大きさと相関性が強い。
- 一方、励起光の進行方向と直角方向に生じる側方散乱(side scatter：SS または SSC)は、主に顆粒などの細胞内成分によって生じるため、細胞の“内部構造”の指標とされる。
- したがって、末梢血の白血球を FCM で測定すると、前方散乱と側方散乱のドットプロット(散乱光サイトグラム)上で、リンパ球、単球、顆粒球の 3 分画に分別できる。プロットの表示の仕方は、測定機種の違いや測定施設の考えで異なるが、

散乱光サイトグラム

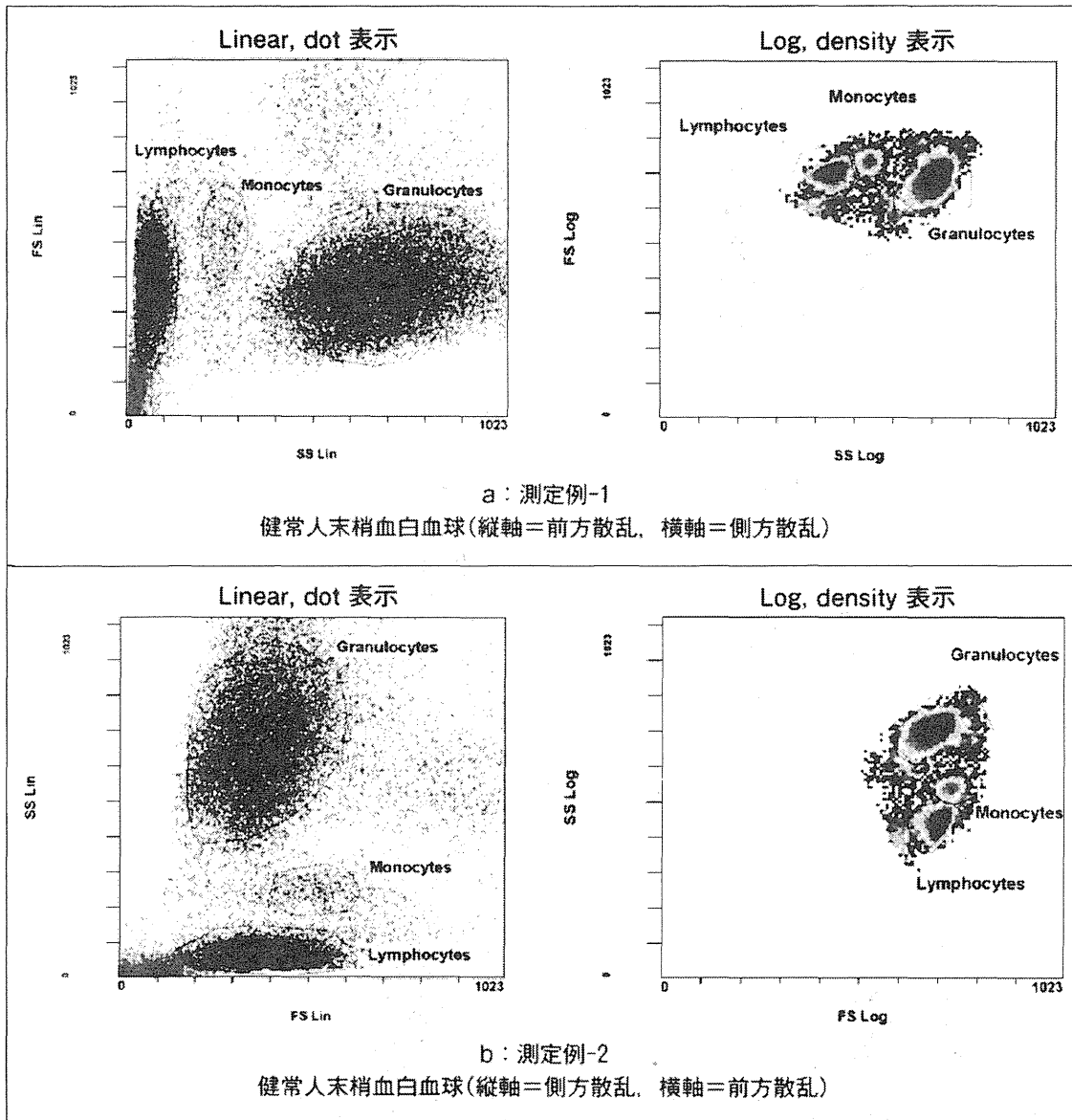


図 1 散乱光サイトグラムの例

目的や得られる情報は同じである(図 1a,b).

蛍光ヒストグラム

- 細胞を適当な蛍光標識抗体で免疫染色しておくことで、細胞の発する蛍光の強さから、細胞表面抗原や細胞内抗原の発現の有無を測定できる。蛍光強度は、蛍光強度チャンネルを横軸にした蛍光ヒストグラム(図 2a)で表示される。
- 蛍光強度チャンネルは、細胞に結合したモノクローナル抗体の量、すなわち抗原の発現量の指標で、蛍光陰性の細胞はヒストグラムの左側に、蛍光陽性の細胞はヒストグラムの右側に、それぞれプロットされる。右にプロットされるほど、抗原の発現が強い細胞であることを意味している。

蛍光ドットプロット

- 蛍光波長の異なる複数の蛍光標識抗体を用いた多重染色試料の測定では、2種類の蛍光を組み合わせた蛍光ドットプロット(図 2b)で、結果を表示することができる。たとえば、FITC 標識抗体と PE 標識抗体の 2 カラー蛍光ドットプロットでは、FITC のみ陽性、PE のみ陽性、FITC と PE の両方が陽性、FITC と PE の両方が陰性、の 4 種類の細胞集団が得られる。この場合は、それぞれ右側もしくは

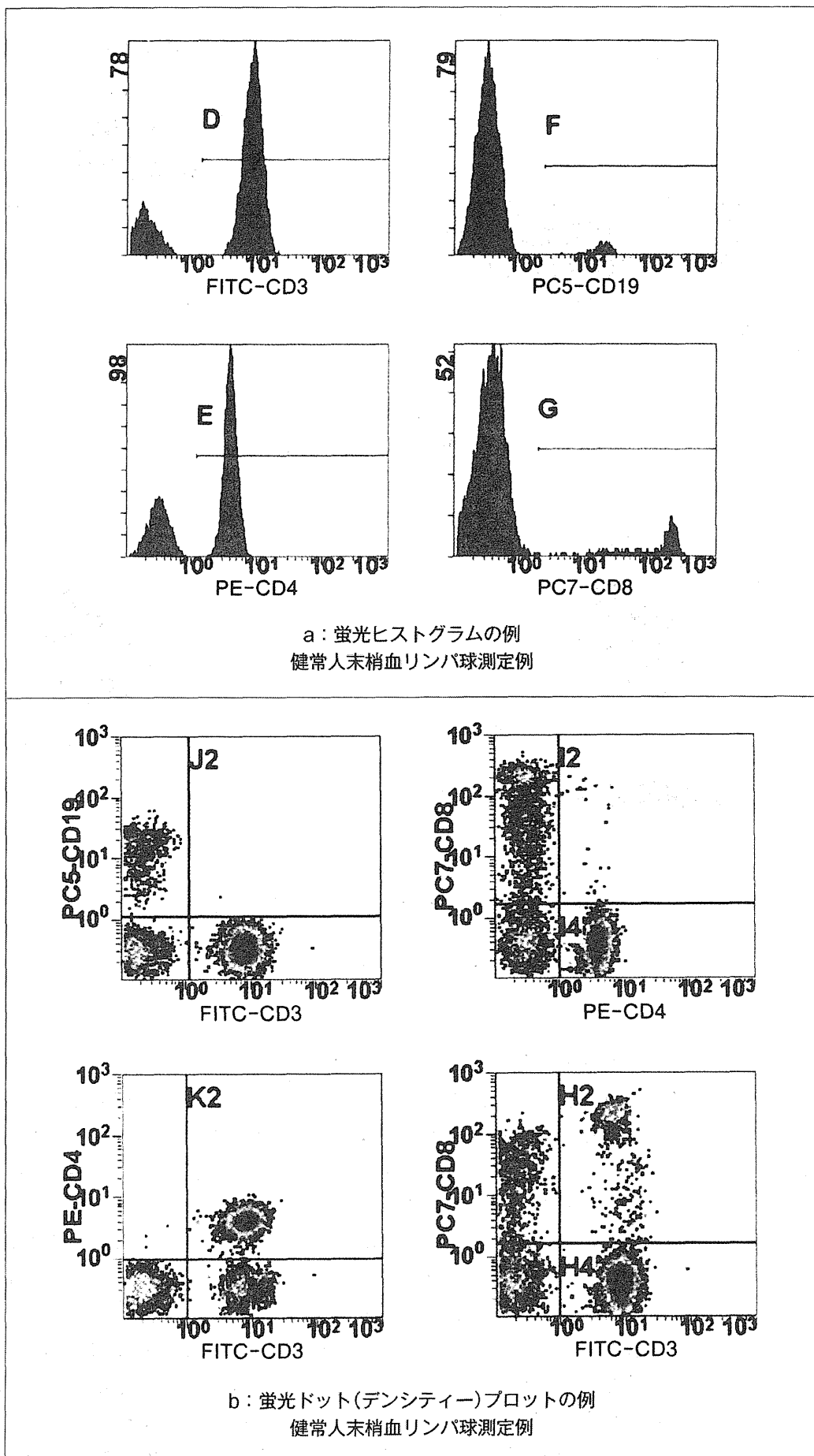


図 2 蛍光ヒストグラムと蛍光ドットプロットの場合

は上側にプロットされるほど抗原の発現が強く、ドットの密度や等高線で分布のピークを表現している。

JPLSG  
CD45 ゲーティング

- 3種類以上の蛍光標識抗体による白血病細胞のマルチカラー測定も、分析機器や試薬の進歩に伴い急速に発展している。JPLSG 疫学研究の中央診断では5カラー解析(CD45 ゲーティング+4カラー解析)を標準としている。

### ■ 3-2. 測定対象となる細胞の絞り込み

- 図3.4に、実際の測定の際の、対象となる細胞の絞り込みを例示する。

散乱光ゲーティング

#### ■ 散乱光ゲーティング

- 白血病細胞の測定を行うには、散乱光サイトグラム上で白血病細胞と他の細胞集団を識別して、白血病細胞に限定した蛍光の分析を行わねばならない。この操作が“ゲーティング”であり、FCMで正しい測定結果を得るにあたって最も重要な手順の一つである(図3)。
- 散乱光サイトグラム上の白血病細胞の分布が、患者検体ごとに異なるため、ゲーティングも患者検体ごとに行う必要がある。実際には、白血病細胞の分布と正常リンパ球や単球の分布は重なることが多く、白血球中に占める白血病細胞の割合が少ない検体では、白血病細胞のみのゲーティングは難しい。特に、散乱光サイトグラム上で白血病細胞の分布が不明瞭な場合は、白血球集団全体をゲーティングせざるをえない。

蛍光ヒストグラム

- 蛍光ヒストグラムやドットプロット上で、白血病細胞が正常白血球で“希釈”されてしまうので、結果の解釈には十分な注意が必要である。
- 白血病細胞の形態学的特徴や白血球中の割合を、血球分画検査などで確認しておく、ゲーティングを行う際の参考となる。たとえば、ALLの場合は、測定対象から顆粒球を除外できる。AMLでも、前骨髄球性(AML-M3)の場合を除いて、正常顆粒球領域に白血病細胞が分布することはまれである。リンパ節を検体とする場合にも、凍結切片やスタンプ標本から得られる形態学的情報がゲーティングを行う際の参考になりうる。
- ただし、一般に骨髓検査では、骨髓スミア用の試料を最初に採取後、マーカー解析用の試料などを採取するので、複数回吸引することにより後者には末梢血が混入して、芽球の割合が低くなっている場合もあるため、その点を考慮する必要がある。

CD45 ゲーティング

#### ■ CD45 ゲーティング

- 散乱光サイトグラム上で白血病細胞の分布が明瞭でない場合、もし白血病細胞の細胞表面抗原(または細胞内抗原)の発現がユニークであれば、その特徴を利用して白血病細胞をゲーティングできる。
- “leukocyte common antigen(LCA)”とも呼ばれるCD45は、白血球に発現し、リンパ球と単球で発現が強く、好中球では比較的弱い。さらに、急性白血病細胞はCD45の発現強度が正常リンパ球、単球にくらべてしばしば低下している。このことを利用して、CD45蛍光と側方散乱のドットプロット上で正常白血球と白血病細胞を区別するCD45ゲーティング法が考案された。
- 散乱光サイトグラムと同様に、プロットの表示の仕方は測定機種の違いや測定施

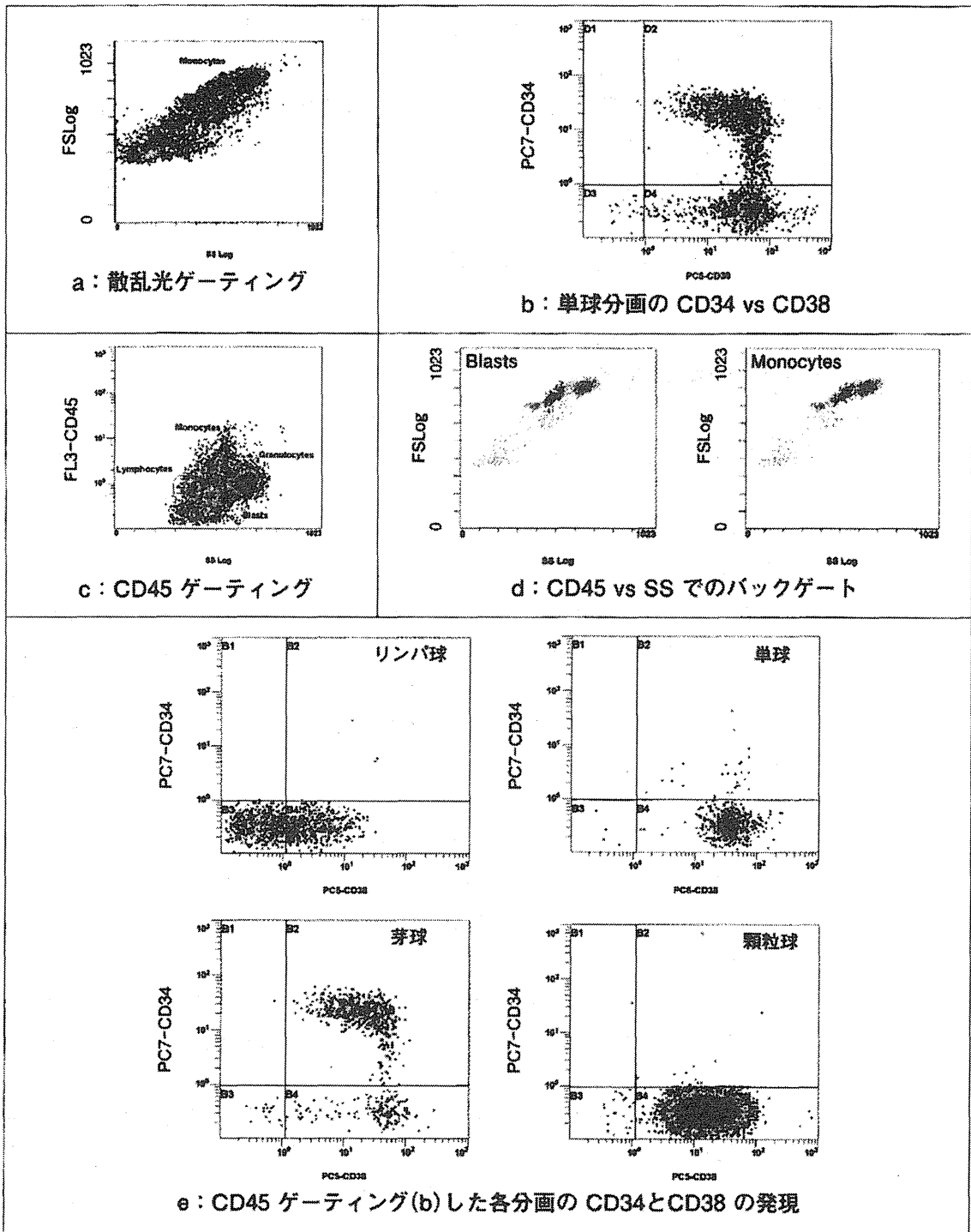


図 3 実際の測定例-1(MDS 疑い症例)

- a: 散乱光ゲーティングでは、リンパ球と顆粒球の分画の中間に単球相当の分画がやや広がって分布し、三つの細胞集団が認められる。
- b: 単球の分画をゲートして CD34 と CD38 の発現をみると、両者陽性の細胞と、CD38 のみ陽性の細胞集団が認められる。
- c: CD45 と SS のサイトグラムで表示すると、単球相当の分画は CD45 強陽性の単球と、CD45 弱陽性の分画(おそらく芽球)の二つの細胞集団が含まれている。
- d: CD45 ゲーティングで芽球と単球の分画をゲートして、それぞれの分画の細胞を散乱光のサイトグラム上にドットで表示すると両者が重なって分布していることがわかる。
- e: CD45 ゲーティングで分画した各細胞集団の CD34 と CD38 の発現を 2 カラー表示で解析すると、それぞれの集団が明らかに異なる発現パターンを示していることがわかる。特に、b のサイトグラム上で混在していた両者陽性の芽球の分画と、CD38 のみ陽性の単球の分画が明確に分離される。