

Q&A No.15

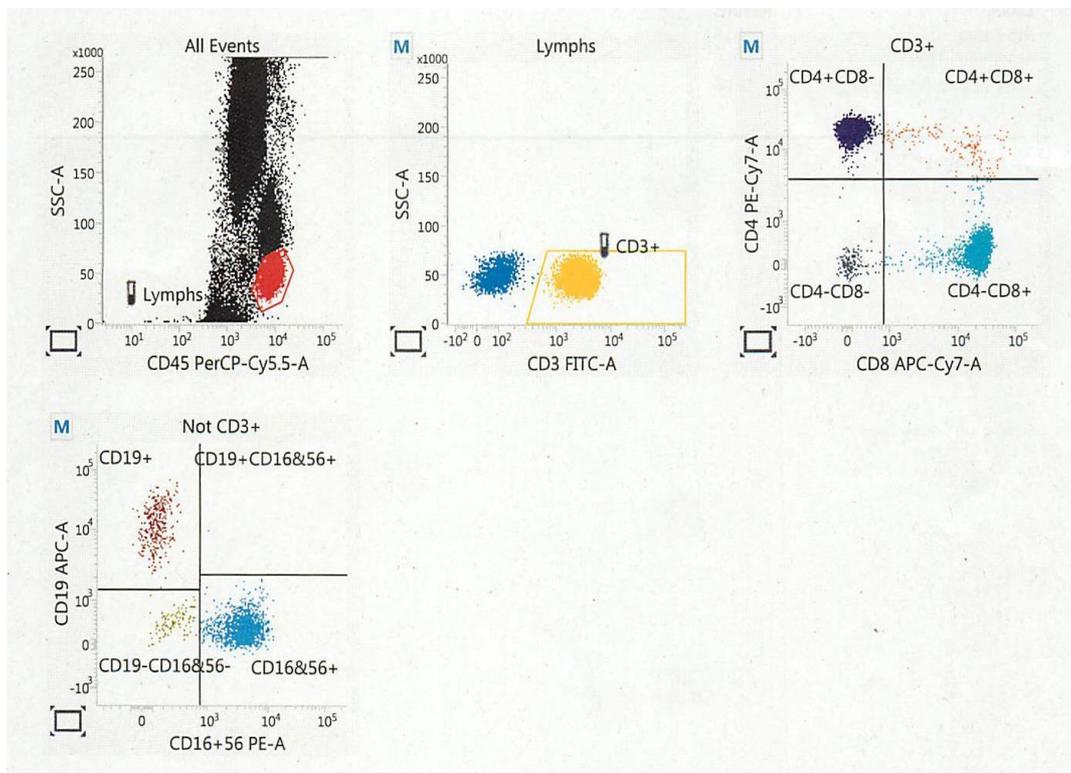
今回のテーマ：

リンパ球サブセット検査について（ダブルポジティブの報告）

質問：

CD4 および CD8 の分画は、CD3 陽性分画を展開して、CD3+CD4+領域および CD3+CD8+領域を報告するようにしております。

この際、CD4 と CD8 のダブルポジティブの部分というのは、含めて報告してよいのか、それとも除いたそれぞれシングルポジティブの部分のみの分画を報告するべきでしょうか。報告についてコンセンサスの得られた考え方などがございますでしょうか。



回答：

リンパ球サブセットにおける CD4+CD8+(DP)細胞の臨床的な意義や報告時の取り扱いについては、明確な取り決めはないように思います。一般に CD4%、CD8%は CD3 陽性 T 細胞についての報告となっていますので、DP が存在する場合には含まれることとなります。近年のマルチカラー解析では、白血球分類と T/B 分離、T サブセット、NK 細胞の分類を同時に 1 本のチューブで解析できるようになり、リンパ腫細胞などの異常な細胞も含め DP, CD4-CD8- (DN) の T 細胞も容易に検出が可能となっています。このため検査の依頼項目と実際の解析項目が一致しない状況になっています。臨床検体で良く見かける DP は、CD4bright/CD8dim であり、CD8bright/CD4dim、CD4bright/CD8bright もあり、癌や自己免疫疾患、ウィルス感染症などで出現し、サイトカインの影響にて排他的とされる他方の抗原が発現すると考えられます。また、DP は反応性以外にも腫瘍性についても考慮する必要があります。マルチカラー解析においては、DP, DN の他に CD3-CD4+T 細胞や CD3dimCD4+T 細胞なども検出可能であり、詳細な報告が役立つこともありますが、臨床の混乱を招くことも考えられ、質問者と同様の悩みは多く感じられます。実際のヒストグラムとコメントの活用が必要と考えられます。DP の取り扱いについて、下記のコメントを参考にしてください。

回答 1 :

リンパ球サブセット用カクテル試薬、『BD マルチテスト 6 カラー-TBNK』（ベクトンデッキンソン社；体外診断用医薬品）の能書の 3 頁に陽性率の算出、4 頁に測定結果の判定法についての記載では、リンパ球サブセット解析において CD4+CD8+ (DP) 細胞ポピュレーションは定義されていない集団であり、製造会社のリンパ球サブセット健常値範囲の算出においても、CD4+CD8+ (%) および絶対数(cells/ μ L)は加えていないようです。

〈四分画領域 (Q1-Q4) 内の細胞ポピュレーション〉

構成試薬	Q1	Q4
CD8 vs CD4	CD3+CD4+ (CD8-) ヘルパー/インデューサーT細胞リンパ球	CD3+CD8+ (CD4-) サブプレッサー/細胞傷害性T細胞リンパ球
CD16+56 vs CD19	CD3-CD19+ (CD16-CD56-) B細胞リンパ球	CD3- (CD16+ or CD56+) (CD19-) NK細胞リンパ球

【測定結果の判定法】

CD3+は T 細胞、さらに CD3+中の CD4+ (CD8-) はヘルパー / インデューサー T 細胞リンパ球、CD3+中の CD8+ (CD4-) は、サブプレッサー / 細胞傷害性 T 細胞リンパ球、また CD3-中の CD19+ (CD16-CD56-) は B 細胞、CD3-中の CD16+又は CD56+ (CD19-) は NK 細胞であることが知られています。

これらのリンパ球サブセットのリンパ球に対する陽性率を求め、各施設にて設定する健常値と比較します。

1) 陽性率の算出について

検査試薬の能書に従いますと、T 細胞サブセットの CD4+ヘルパーT、CD8+細胞傷害性 T には、CD4+CD8+ダブルポジティブの数値は含めず、CD4+CD8+ダブルポジティブの値が高いケースの場合は、CD4+CD8+の結果データを別に追記することで対応すべきと考えられ

ます。

2) DP の記載の基準について

基準を示す情報がありませんが、測定内変動から考えると、 $\pm 2SD$ の測定誤差以上の値が適切と思われます。能書の測定内変動最大値が1.07%なので、5%以上でよいと思われます。

〈測定内変動〉

CD4 Low Control, n=21	陽性率 (%)			絶対数 (細胞数/ μ L)		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
CD4	9.3	0.64	6.9%	176	7.6	4.3%
CD8	41.9	1.07	2.6%	190	4.1	2.2%
CD3	55.2	1.17	2.1%	1040	4.0	0.4%
CD19	25.0	0.89	3.6%	471	5.7	1.2%
CD16+CD56	18.7	0.90	4.8%	353	7.0	2.0%

Control, n=21	陽性率 (%)			絶対数 (細胞数/ μ L)		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
CD4	47.5	0.95	2.0%	1299	4.7	0.4%
CD8	24.5	0.65	2.7%	671	4.7	0.7%
CD3	74.3	0.86	1.2%	2031	4.2	0.2%
CD19	14.4	0.62	4.3%	394	5.3	1.3%
CD16+CD56	10.6	0.61	5.8%	290	7.9	2.7%

回答2：

1) 陽性率の算出およびCD4/8比の計算について

JCCLS のガイドラインには CD4/CD8 比に関する記載がなく、CLSI ガイドライン(H42-A2)でも CD4/CD8 比については「参考になる追加情報」であるとの記述しかなく、具体的な計算方法は記載ありません。一般の施設では CD3+CD4+と CD3+CD8+の陽性率から計算されており、CD4+CD8+等も計算に含まれているのが現状と思います。ベックマンコールター社 (BC) の自動解析システムでも上記同様に CD3+CD4+/CD3/CD8+にて計算となっています。

2) DPが高い場合の記載について

DP 高値でのコメント等記載の基準については、DP とは限定していないものの影響を受ける CD3+CD4+、CD3+CD8+の合計値と CD3+陽性率を比較した際の差異について、BC システムでは 5%を超える差異がある場合は CD3+CD4-CD8-や CD3+CD4+CD8+の細胞集団の確認等を勧めています。また、CLSI ガイドラインでも通常上記の差異は $\pm 5\%$ 以内で最大 $\pm 10\%$ とされ、原因として CD3+CD4-CD8-や CD3+CD4+CD8+細胞の存在が記載していますので、これらの数値を基準に考えられると思います。