

好中球アルカリフォスファターゼ染色

船橋市立医療センター 臨床検査科
奥野 真弓

はじめに

- ◎ 好中球の二次顆粒内に含まれるリソソーム酵素の一種で、骨髓球から成熟好中球でみとめられる。¹⁾²⁾
- ◎ アルカリ域に至適pHを持つ非特異的フォスフォモノエステラーゼである。²⁾
- ◎ 好中球造血能の変化に鋭敏に反応し、各種疾患の鑑別診断の補助手段として有用。¹⁾³⁾

1) 武藤化学ホームページALP染色キットより引用

2) ベックマンコールターホームページ好中球アルカリフォスファターゼ染色より引用

3) スタンダード検査血液学：医歯薬出版

染色原理(朝長法)

リン酸エステル + H_2O
(基質: Naphthol AS-MX phosphate)

NAP (好中球アルカリフォスファターゼ)

ナフトール + リン酸 (H_2PO_4)
(Naphthol AS-MX)

ジアゾニウム塩 (Fast Blue RR salt)

不溶性アゾ色素 (青色)

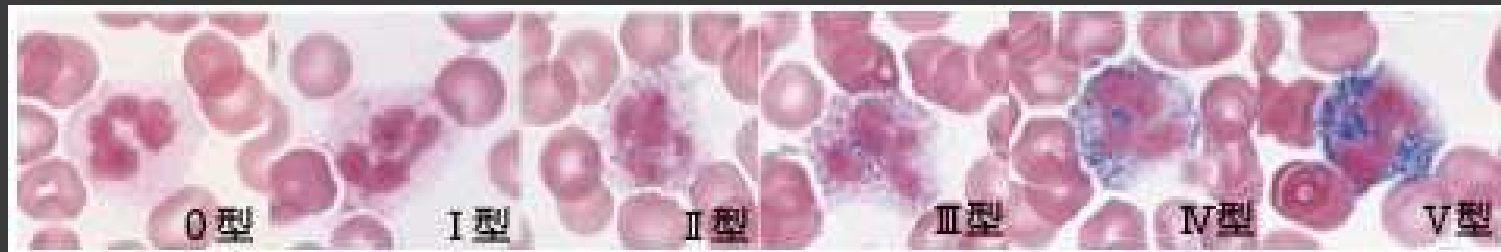
判定法・基準値(朝長法)

武藤化学ホームページALP染色キットより引用

◎ 判定の仕方

陽性率 rate(%) : 好中球(桿状核+分葉核)100個中の陽性比率

陽性指数 NAPscore : 好中球100個の活性度合いを点数化しその総和値



◎ 基準値(朝長らによる)

陽性率 60~100%

陽性指数 170~370

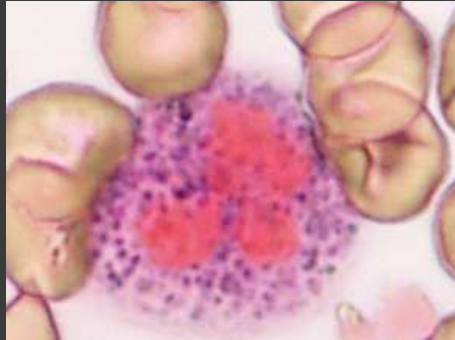
| 〔陽性度合い〕 | | | | | | |
|---------|----|------|--------|--------|---------------|------------|
| | 0型 | I型 | II型 | III型 | IV型 | V型 |
| 陽性顆粒 | なし | 5個まで | 約30個まで | 不平等に分布 | 平等に分布 間隔あり | 平等に分布 密 |
| 点数 | 0点 | 1点 | 2点 | 3点 | 4点 | 5点 |

細胞分類

陰性好中球



陽性好中球



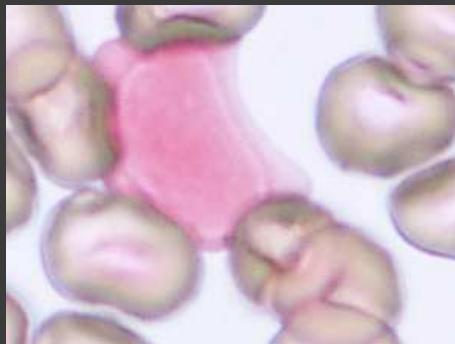
好酸球



単球



リンパ球

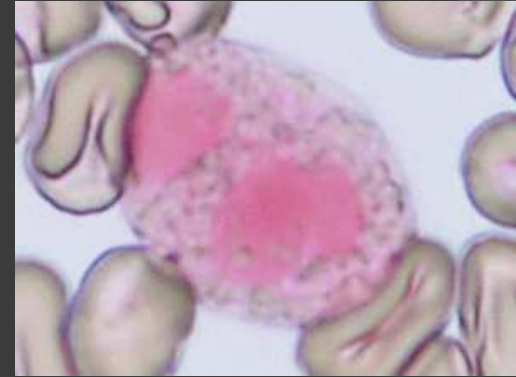
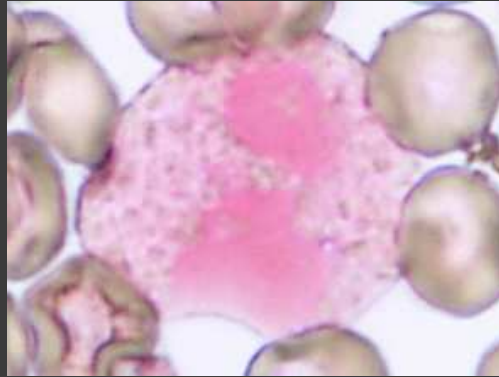
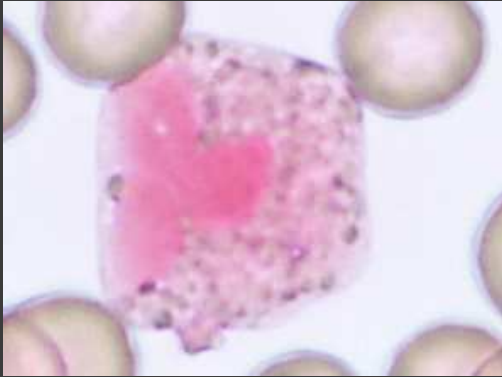


好塩基球



O型好中球と好酸球

好酸球

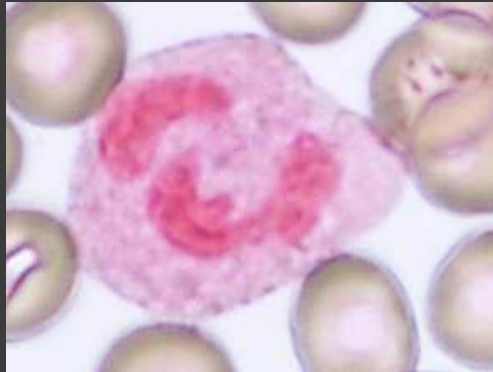


O型好中球



0型好中球と好塩基球

0型好中球



好塩基球

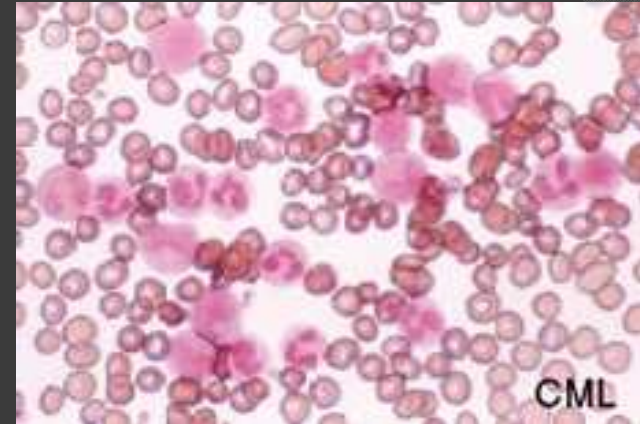


臨床的意義

武藤化学ホームページALP染色キットより引用

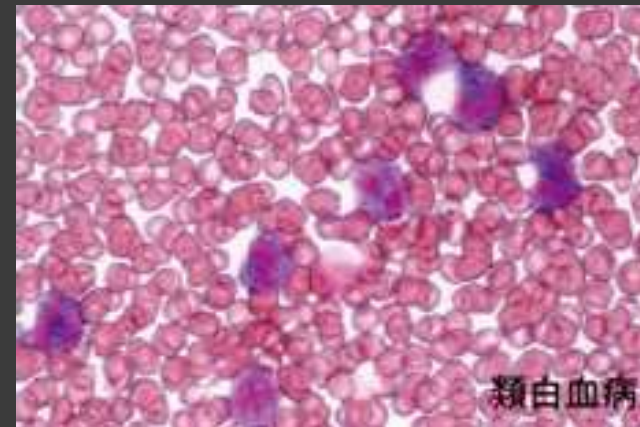
◎ NAP score 低値

慢性骨髄性白血病(慢性期)
発作性夜間血色素尿症
伝染性単核球症などの
ウイルス感染症



◎ NAP score 高値

慢性骨髄増殖性疾患
真性多血症、骨髄線維症、
慢性好中球性白血病
再生不良性貧血
類白血病反応
重症細菌感染症、悪性腫瘍末期



染色法(朝長法) 武藤化学 ALP染色キット使用

武藤化学ホームページALP染色キットより引用

- ◎ 固定 : 固定液に浸漬、 $-3\sim-5^{\circ}\text{C}$ 、5秒
- ◎ 水洗 : 流水水洗、30秒
- ◎ 染色 : 反応液を満載、 37°C 、120分、湿潤状態
- ◎ 水洗 : 流水水洗、10~30秒
- ◎ 核染 : サフラニンO液、2分
- ◎ 水洗 : 流水水洗、10秒
- ◎ 鏡検 : 1000倍観察

注意点とコツ(塗抹から固定まで)

武藤化学ホームページALP染色キットより引用

- ◎ 塗抹標本は**抗凝固剤無添加血**を用いる。
- ◎ できるだけ**速やかに**塗抹標本を作成する。
- ◎ **固定温度**および**固定時間**は厳守。
- ◎ 塗抹後固定までの時間は**30分以内**が望ましい。

つまり…

- ◎ 血液疾患疑いの患者さまを発見したら、すぐに採血をし直して、すぐに塗抹標本を作成し、すぐに固定、染色をすること!!!
- ◎ とは言え、他にも検体はたくさんあるし、手が空いている技師なんて一人もいない!!!
無理~~~~~!!!

抗凝固剤の有無による比較

抗凝固剤無添加血

| | count score | | count score | | count score | | count score | |
|------|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|
| O型 | 7 | | 10 | | 9 | | 13 | |
| I型 | 5 | 5 | 5 | 5 | 10 | 10 | 2 | 2 |
| II型 | 38 | 76 | 31 | 62 | 28 | 56 | 31 | 62 |
| III型 | 34 | 102 | 32 | 96 | 35 | 105 | 35 | 105 |
| IV型 | 9 | 36 | 19 | 76 | 17 | 68 | 18 | 72 |
| V型 | 7 | 35 | 3 | 15 | 1 | 5 | 1 | 5 |
| | 93 | 254 | 90 | 254 | 91 | 244 | 87 | 246 |

NAPscore 平均250

EDTA2K加血

| | count score | | count score | | count score | | count score | |
|------|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|
| O型 | 6 | | 6 | | 8 | | 11 | |
| I型 | 6 | 6 | 4 | 4 | 3 | 3 | 5 | 5 |
| II型 | 31 | 62 | 24 | 48 | 43 | 86 | 40 | 80 |
| III型 | 50 | 150 | 53 | 159 | 32 | 96 | 31 | 93 |
| IV型 | 6 | 24 | 13 | 52 | 14 | 56 | 13 | 52 |
| V型 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 93 | 242 | 94 | 263 | 92 | 241 | 89 | 230 |

NAPscore 平均244

時間経過による比較(健常人)

直後 score平均 244

| | count | score | count | score | count | score | count | score |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| O型 | 6 | | 6 | | 8 | | 11 | |
| I型 | 6 | 6 | 4 | 4 | 3 | 3 | 5 | 5 |
| II型 | 31 | 62 | 24 | 48 | 43 | 86 | 40 | 80 |
| III型 | 50 | 150 | 53 | 159 | 32 | 96 | 31 | 93 |
| IV型 | 6 | 24 | 13 | 52 | 14 | 56 | 13 | 52 |
| V型 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 93 | 242 | 94 | 263 | 92 | 241 | 89 | 230 |

30分後 score平均 221

| | count | score | count | score | count | score | count | score |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| O型 | 17 | | 8 | | 10 | | 17 | |
| I型 | 13 | 13 | 9 | 9 | 11 | 11 | 10 | 10 |
| II型 | 28 | 56 | 32 | 64 | 42 | 84 | 28 | 56 |
| III型 | 32 | 96 | 38 | 114 | 24 | 72 | 26 | 78 |
| IV型 | 10 | 40 | 13 | 52 | 13 | 52 | 18 | 72 |
| V型 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 |
| | 83 | 205 | 92 | 239 | 90 | 219 | 83 | 221 |

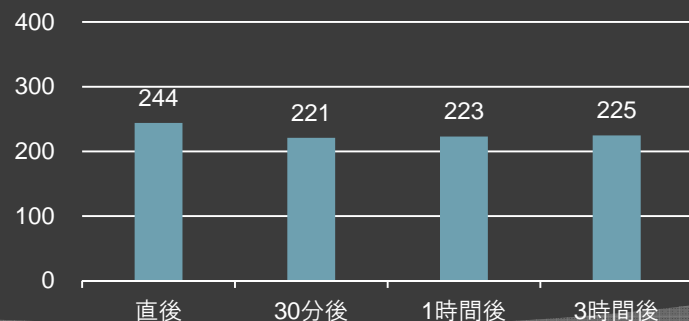
1時間後 score平均 223

| | count | score | count | score | count | score | count | score |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| O型 | 14 | | 16 | | 12 | | 15 | |
| I型 | 5 | 5 | 7 | 7 | 8 | 8 | 4 | 4 |
| II型 | 37 | 74 | 39 | 78 | 32 | 64 | 38 | 76 |
| III型 | 31 | 93 | 27 | 81 | 29 | 87 | 32 | 96 |
| IV型 | 12 | 48 | 10 | 40 | 18 | 72 | 11 | 44 |
| V型 | 1 | 5 | 1 | 5 | 1 | 5 | 0 | 0 |
| | 86 | 225 | 84 | 211 | 88 | 236 | 85 | 220 |

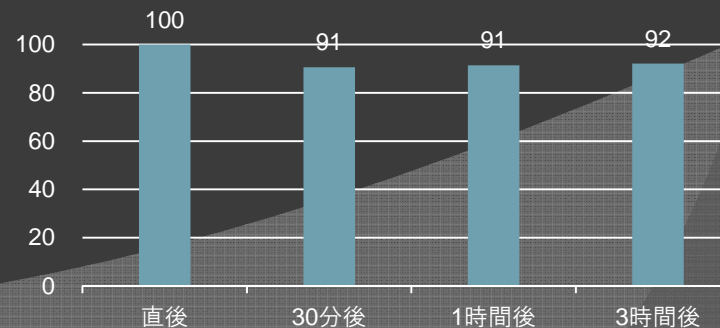
3時間後 score平均 225

| | count | score | count | score | count | score | count | score |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| O型 | 16 | | 15 | | 9 | 0 | 9 | |
| I型 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 6 | 6 |
| II型 | 32 | 64 | 41 | 82 | 41 | 82 | 45 | 92 |
| III型 | 35 | 105 | 33 | 99 | 36 | 108 | 28 | 84 |
| IV型 | 14 | 56 | 6 | 24 | 9 | 36 | 12 | 48 |
| V型 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 84 | 228 | 85 | 210 | 91 | 231 | 91 | 230 |

健常人 EDTA加血 時系列変化 (score)



健常人 EDTA加血 時系列変化 (score%表示)



時間経過による比較(炎症あり)

直後

score平均 405

| | count | score | count | score | count | score | count | score |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| O型 | 0 | | 1 | | 1 | | 0 | |
| I型 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| II型 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 4 | 3 | 6 |
| III型 | 8 | 24 | 13 | 39 | 24 | 72 | 14 | 42 |
| IV型 | 60 | 240 | 60 | 240 | 49 | 196 | 58 | 232 |
| V型 | 31 | 155 | 25 | 125 | 24 | 120 | 24 | 120 |
| | 100 | 420 | 99 | 406 | 99 | 392 | 100 | 401 |

30分後

score平均 403

| | count | score | count | score | count | score | count | score |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| O型 | 0 | | 1 | | 0 | | 1 | |
| I型 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| II型 | 2 | 4 | 2 | 4 | 3 | 6 | 0 | 0 |
| III型 | 9 | 27 | 19 | 57 | 14 | 42 | 13 | 39 |
| IV型 | 62 | 248 | 53 | 212 | 61 | 244 | 67 | 268 |
| V型 | 27 | 135 | 25 | 125 | 22 | 110 | 18 | 90 |
| | 100 | 414 | 99 | 398 | 100 | 402 | 99 | 398 |

1時間後

score平均 395

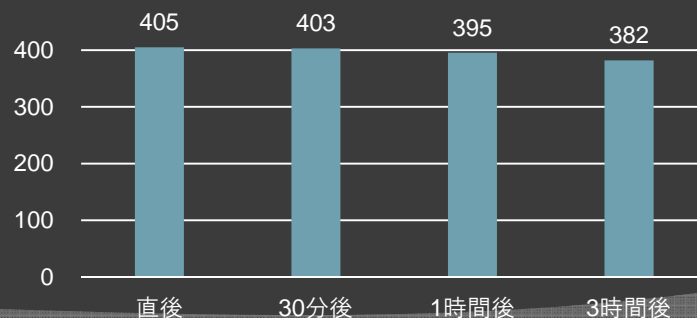
| | count | score | count | score | count | score | count | score |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| O型 | 1 | | 0 | | 0 | | 1 | |
| I型 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| II型 | 2 | 4 | 1 | 2 | 2 | 4 | 0 | 0 |
| III型 | 15 | 45 | 24 | 72 | 13 | 39 | 9 | 27 |
| IV型 | 66 | 264 | 59 | 236 | 74 | 296 | 73 | 292 |
| V型 | 16 | 80 | 16 | 80 | 11 | 55 | 17 | 85 |
| | 99 | 393 | 100 | 390 | 100 | 394 | 99 | 404 |

3時間後

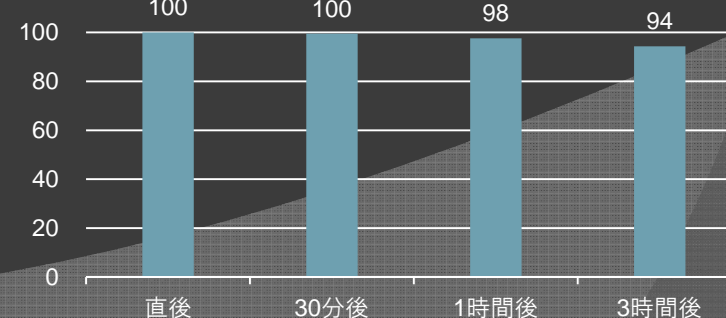
score平均 382

| | count | score | count | score | count | score | count | score |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| O型 | 2 | | 0 | | 0 | | 2 | |
| I型 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| II型 | 3 | 6 | 2 | 4 | 1 | 2 | 2 | 4 |
| III型 | 20 | 60 | 16 | 48 | 19 | 57 | 16 | 48 |
| IV型 | 68 | 272 | 70 | 280 | 71 | 284 | 69 | 276 |
| V型 | 6 | 30 | 12 | 60 | 9 | 45 | 10 | 50 |
| | 98 | 369 | 100 | 392 | 100 | 388 | 98 | 379 |

炎症あり EDTA加血 時系列変化 (score)



炎症あり EDTA加血 時系列変化 (score%表示)



まとめ

- ◎ 抗凝固剤の有無による違いはほぼ見られなかった。
- ◎ 標本作製は可能な限り速やかに行うことが望ましい。
- ◎ 標本作製が30分を超えてしまった場合scoreの低下は10%ほどであったが、同一検体での差の範囲内であった。