

第20回新潟造血器腫瘍研究会

十周年記念シンポジウム

—造血器腫瘍十年の歩み—

20th Meeting of the Niigata Society of Hematologic Neoplasm

The Ten-year Anniversary Symposium

—Progress in Hematologic Neoplasm over the Ten Years—

日 時 平成元年3月11日(土)

会 場 新潟大学医学部 有壬記念館

昭和54年9月8日、第一回研究会を開催した新潟造血器腫瘍研究会は、富山、山形、福島県からも参加者をえ、抄録を日本臨床血液学会雑誌に掲載する形で発展し、今回、十周年、第20回を迎えた。本記録—造血器腫瘍十年の歩み—はその記念シンポジウムの記録である。主として新潟県におけるこの方面の進歩と現状が、夫々の専門

家によりほぼ網羅されているといえるのではないかとおもわれる。本記録は発表者のみならず多くの協力者の努力の集大成とも言える。最後に本特集のみならず、これまでの研究会に協賛頂いたヘキスト・ジャパン株式会社に厚く御礼申し上げます。

事務局 服部 晃、高橋益広

急性白血病細胞の表面形質の解析：最近の進歩

新潟大学医学部内科学第一教室(主任：柴田 昭教授)

青 木 定 夫

Recent Advances in Analysis of Phenotype of
Acute Leukemia Cells

Sadao AOKI

*Department of 1st Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Akira SHIBATA)*

The surface markers of pathological cells in patients with acute leukemia were

Reprint requests to: Sadao AOKI,
1st Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine,
Asahimachi-Dori 1, Niigata City, 951,
JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部内科学第一教室

青木定夫

analyzed using flow cytometry. In this study, firstly, the phenotype of acute non-lymphatic leukemia (ANLL) cells was determined with reference to the FAB classification. Secondly the two color analysis of acute leukemia cells was performed to detect hybrid acute leukemia (HAL).

In 39 cases of ANLL, leukemic blasts of M1 and M2 were positive for CD13, CD33 and anti-HLADR. Those of M3 were positive for CD13 and CD33 but negative for anti-HLADR. In case of M4 and M5 cells, CD14 was positive in addition to these three antibodies. These results showed that the analysis of ANLL cells could be related to the FAB classification easily using only a few antibodies. Five of 26 cases of acute leukemia in which two color analyses were performed showed HAL. The clinical diagnosis of 3 of 5 cases was acute lymphoblastic leukemia, that of 1 case was lymphoid crisis of chronic myeloid leukemia, and that of the remaining 1 case was ANLL. The phenotype of leukemic blasts in the former four cases was double positive for CD10 (CALLA), and CD33 and/or CD13. These cases were considered to be biphenotypic leukemia. The leukemic cells in the latter case consisted of two different populations. One population was comprised of CD33 positive cells and the other of CD10 positive cells. This case was considered to be bilineal leukemia. The significance of these HAL cases will be investigated through the accumulation of such cases.

Key words: flow cytometry, phenotype, monoclonal antibodies, hybrid acute leukemia

緒 言

急性白血病の診断において、モノクローナル抗体を用いた表面形質 (phenotype) の解析は今や不可欠となっている。著者は新潟大学輸血部に1983年10月にフローサイトメトリー (FCM) が導入されて以来、その解析を一貫して行い、その成績を報告してきた¹⁾²⁾。

今稿では、はじめに急性非リンパ性白血病 (acute non-lymphocytic leukemia, ANLL) 細胞の解析結果について、ついで最近試用の機会を得たいわゆる第2世代のFCM, FACScan (藤沢薬品) を用いた白血病細胞の2重染色による解析、特に hybrid acute leukemia (HAL) の診断について述べる。

対象および方法

ANLL の解析: 1985年11月から1987年12月までに

解析する機会があった ANLL 患者39例を対象とした。検体は患者末梢血または骨髓血を全血のまま使い、白血病細胞の phenotype を SpectrumIII, DS-1 system にて解析し FAB 分類別³⁾ に検討した。用いた抗体は CD13, CD14, CD33, DR である。

FACScan による白血病細胞の2重染色: FACScan の解析プログラム Simulset に検討する抗体をあらかじめ登録しておき、解析と同時に自動的に結果が打出されるように設定した。用いた抗体の組合せを表1に示した。対象とした患者は1988年10月から1989年2月までに解析した急性リンパ性白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 7例, ANLL 15例, 慢性骨髄性白血病急性転化 (chronic myeloid leukemia, blastic crisis, CMLBC) 4例の計26例である。

表1 白血病細胞2重染色に用いる抗体の組合せ

FITC	CD4	CD3	CD2	CD13	CD36	CD10	CD1	CD7
PE	CD8	CD19	HLADR	CD20	CD14	CD33	CD21	*

*: FITC 単独染色

結 果

ANLL の phenotype: ANLL のうち M1, M2 は骨髄系の抗原の CD13, CD33 と HLADR 陽性で単球系の抗原の CD14 は陰性であった. M3 は M1, M2 同様 CD13, CD33 陽性 CD14 陰性であったが, HLADR 陰性であった. M4, M5 はこれらの抗体のいずれもが陽性を示し, この3群は明瞭に区別された. また M4, M5 の比較ではいずれの抗体とも M4 の発現が強かった. これらの結果を表 2 にまとめて示した.

表 2 急性非リンパ性白血病の FAB 分類別の phenotype, 39例の解析結果をまとめて示した

	CD13	CD14	CD33	HLADR
M 1	2+	-	2+	2+
M 2	2+	-	2+	3+
M 3	2+	-	3+	-
M 4	3+	2+	3+	2+
M 5	+	+	2+	2+
M 6	+	-	2+	2+

-: 25%[<], +: 25~49%, 2+: 50~74%, 3+: 75%[<] 陽性を意味する.

白血病細胞の 2 重染色: 2 重染色を施行した26例のうち, Gale のいわゆる hybrid acute leukemia (HAL)⁴⁾ に一致する症例は 5 例存在した. その内訳は, 臨床診断上 ALL 3 例, CML lymphoid crisis 1 例, AML 1 例であった. これらの例の主な抗体の解析結果を表 3 に示した.

症例 1-4 は biphenotypic type, 後者は bilinear type であった. Biphenic type はいずれも同一細胞上に CD10 と CD33 and/or CD13 が陽性であった. 図 1 にその典型例の CD10, CD33 の 2 重染色を示す. Bilinear の 1 例は芽球と考えられる細胞集団に CD10 陽性細胞と CD33 陽性細胞の 2 群が存在した.

表 3 いわゆる Hybrid acute leukemia の phenotype を示す. 数値は芽球の各抗体の陽性率%.

CASE	AGE/SEX	CLIN. DX	CD19	CD20	CD10	CD13	CD33	TYPE
1	70 F	ALL	61	6	60	17	81	biphenotypic
2	30 F	ALL	45	10	32	5	74	biphenotypic
3	71 M	ALL	80	9	76	71	60	biphenotypic
4	59 F	CMLBC	1	3	69	64	63	biphenotypic
5	34 M	AML	57	86	27	2	73	bilinear

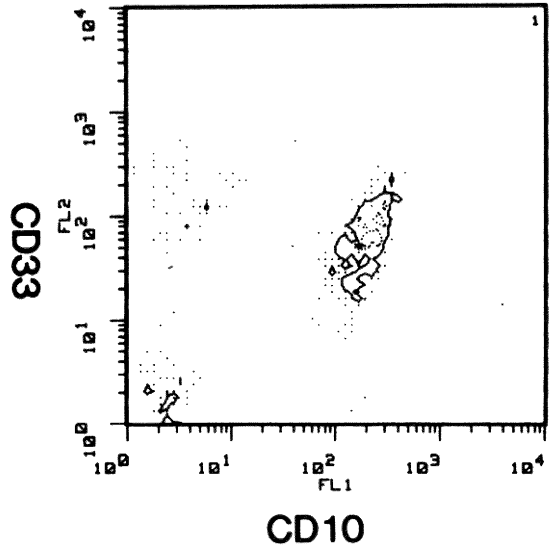


図 1 Biphenotypic leukemia の CD 10, CD 33 の 2 重染色を示す (表 3 の症例 3).

解析は FACSscan program Consort 30 による.

考 案

モノクローナル抗体を用いた ANLL 細胞の解析は, ALL に比し詳細に検討がなされていない分野である. この領域では FAB 分類という形態学を中心とした分類が汎用され, 共通の用語として用いられることが原因とも考えられる. ALL 細胞では正常の分化段階に対応する抗体が確立され, それに準じた形で分類されている⁵⁾ のと対照的に, myeloid/mono 系の分化段階に対応する抗原を認識する抗体が供給されていないという事実とも無関係でない.

今回示したように, 僅かな種類の抗体でも, FAB 分類に対応した結果解析は可能なことが示唆される. さらに FAB 分類とは別に, それぞれの抗体の反応性で, ANLL 全体を見直し, 今後その結果をもとに臨床像や病態の解

析を行うことが必要かつ重要と考える。

FACScan の導入によって、最近開始した白血病細胞の phenotype の2重染色は、単一細胞について一度に複数の情報が得られること、理論的に2分の1の細胞数で多くの抗体の解析ができるなど利点が多い。FACScan は従来の FCM にくらべ蛍光検出感度が、特に弱陽性部で改善されており、これまで検出できなかった抗原を陽性と捉えられる可能性がある。今回の検討で26例中5例と高い頻度で HAL が見出されたことが注目されよう。

これらの点については、現段階では症例数も少なく今後の成績の蓄積を待ちたい。

結 語

白血病細胞の phenotyping について、特に ANLL の解析結果と、最近試み始めた2重染色について述べた。

参 考 文 献

- 1) 青木定夫, 木村美奈子, 品田章二, 柴田 昭: フローサイトメトリーによる急性非リンパ性白血病細胞の解析, 日臨免誌, **9**: 282~287, 1986.
- 2) 青木定夫: 急性白血病細胞のフローサイトメトリーによる多因子解析, 日血会誌, **50**: 958~970, 1987.
- 3) Bennett, M., Catovsky, D., Daniel, M.T., Landrin, G., Galton, D.A.G., Gralnick, H.R., Sultan, C.: Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia, Ann. Intern. Med., **103**: 626~629, 1985.
- 4) Gale, R.P., Bassart, I.B.: Annotation: Hybrid acute leukemia, Brit. J. Hemat., **65**: 261~264, 1987.
- 5) Foon, K.A., Todd, R.F.: Immunologic classification of leukemia and lymphoma, Blood, **68**: 1~31, 1986.

治療——急性骨髓性白血病

新潟市民病院内科 真田 雅好

Chemotherapy for Adult Acute Non-lymphocytic Leukemia in Niigata Shimin Hospital

Masayoshi SANADA

Department of Internal Medicine, Niigata Shimin Hospital

Between May 1974 and December 1988, 57 patients with acute non-lymphocytic leukemia ranging in age from 15 to 83 years were treated with combination chemotherapy consisting of DCMP, BHAC-DMP, or others in Niigata Shimin Hospital.

Complete remission was achieved in 19/27 (70.4%), 9/14 (64.3%), 5/16 (31.3%) patients treated with DCMP, BHAC-DMP and others, respectively. The predicted continuing complete remission was 27% and survival in 36% at the maximal follow-up of 15 years. Disease-free survivors more than 5 years were 5.

Reprint requests to: Masayoshi SANADA,
Department of Internal Medicine,
Niigata Shimin Hospital, Shichikuyama 2-6-1,
Niigata City, 950, JAPAN.

別刷請求先: 〒950 新潟市紫竹山 2-6-1
新潟市民病院内科 真田雅好