

ノクローナル抗体中に確認されたり、あるいは、リバーstransスクリプターゼが証明されたりという報告もあるようですので、これは結局あとになって、例えば新たな発癌といった点にも関連しますので、そういう minor effect もあるという事は、知っておく必要があると思います。

司会 なかなか日本では難しいと思うのですね。他にありませんか。それではこれで終わらせていただきます。どうも有難うございました。それでは第6席、造血器腫瘍の診断と治療を第一内科の青木先生お願いします。なお、第二病理から追加発言がありますので、まとめてディスカッションしたいと思います。

## 6) モノクローナル抗体による白血病の診断

新潟大学第1内科 青木 定夫・小池 正  
永井 孝一・柴田 昭  
新潟大学輸血部 品田 章二

表1 対象症例

	男	女	計
急性非リンパ性白血病 (ANLL)	17例	11例	28例
急性リンパ性白血病 (ALL)	9例	9例	18例
慢性リンパ性白血病 (CLL)	3例	2例	5例
慢性骨髄性白血病急性転化 (CMLBC)	2例	5例	7例
非ホジキンリンパ腫の白血化 (NHL)	2例	2例	4例
急性巨核芽球性白血病	3例	1例	4例
成人 T 細胞白血病	3例	1例	4例
総 計	39例	31例	70例

(新潟大輸血部 1983. 10~1985. 4)

血液学はモノクローナル抗体 (MoAb) の応用が最も早く進んだ分野のひとつである。現在では造血器腫瘍の診断、とりわけ白血病の診断には MoAb による表面形質の検索は不可欠となっている。それは多くの白血病ではそのマーカーから推定される血球の分化段階によってその予後も治療方針も異なることが知られているからである。私達は1983年9月に新潟大学輸血部にフローサイトメーター (FCM) オルソ社スペクトラムⅢ (Spectrum Ⅲ, Sp Ⅲ) が導入されて以来、この Sp Ⅲ を用いて造血器腫瘍の表面形質の解析を行なってきた。今回は特に白血病に限っての成績を示し、マーカーの臨床的な意義について述べる。

### 対象および方法

対象は1983年10月から1985年4月までに新潟大学輸血部細胞解析室で検索する機会があった各種白血病のうち、末梢血に異常細胞が形態学的に50%以上存在した70例である。その病型を表1に示す。男女比は39対31で、特に急性非リンパ性白血病で男性例が目立った。方法は、患者末梢血を EDTA またはヘパリン加で採血し、その 100μl に適当濃度に希釈した MoAb 5μl を加え 4°C で30分静置した。非標識抗体の場合は、洗浄後ペレットに2次抗体として適当濃度に希釈したヤギ FITC 標識抗マウス免疫グロブリン (GAM-FITC, コールター社) 5μl を加え 4°C で30分静置した。その後、lysing reagent (蒸留水1リットル中に塩化アンモニウム 8.26g, EDTA テトラナトリウム 37mg, 炭酸水素カリウム 1g を含む) 2ml で室温で15分溶血したあと洗浄し、PBS (phosphate buffered saline) 2ml に再

懸遊し、Sp Ⅲ で蛍光抗体陽性率を求めた。使用した MoAb は OKT 3, OKT 4, OKT 6, OKT 8, OKT 9, OKT 10, OKT 11, OKM 1 (以上オルソ社), Leu 1, Leu 7, Leu 8, Leu 9, Leu 10, Leu 11, Leu 12, HLADR, LeuM 1, LeuM 2, LeuM 3, LeuM 4 (藤沢), B 1, B 2, J 5, MY 4, MY 7, MY 9, Mo 1 (コールター社), Human Platelet Ⅱ (HPL Ⅱ, カベル社) BA 1, BA 2, BA 3 (大阪成人病センター 正岡博士より供与) NUN 2 (久留米大学医学部 横山教授より供与) 抗 TAC (京都大学医学部 内山博士より供与) である。terminal deoxynucleotidyl transeferase (TdT) 活性はベセスターサーチ社のキットを用い、間接蛍光抗体法で測定した。

### 結 果

各白血病の病型ごとのマーカーの成績を以下に示す。

## I. 急性非リンパ性白血病 (ANLL) の表面形質

症例を FAB 分類<sup>1)</sup>にしたがって分類し、各群の病的細胞の主な MoAb に対する反応性を表 2 に示した。M1, M2 群には大きな差はなく、いずれも骨髓系と単球系を認識する MoAb である MY7, MY9, LeuM1 の少なくともひとつが陽性になった。しかし単球系を認識するとされる MY4, OKM1, LeuM3 が陽性となる例は少なく、特に MY4 の陽性例はなかった。また抗ヒト HLADR は、M1, M2 とも大多数の例で陽性であり、成熟傾向のある M2 でも陽性であったことが注目された。

M3 例では症例数が少ないため明言できないが M1, M2 類似のパターンに加え単球系のマーカーも陽性であった。

M4, M5 の例では、骨髓系と単球系を認識する MoAb の多くが陽性であるのに加えて、以前リンパ系に特異的とされた OKT4/Leu3a が 8 例中 6 例で陽性で

ありこの群の診断に有用であった<sup>2)</sup>。しかしマーカーの所見から M4 と M5 を区別することは別は困難であった。

M6 は症例がなかった。

表 2 急性非リンパ性白血病の表面形質  
(陽性数/解析数)

FAB	M1	M2	M3	M4	M5
HLADR	5/7	8/8	2/5	3/3	3/5
MY4	0/4	0/8	1/3	2/3	2/2
MY7	3/4	7/8	1/3	2/3	2/2
MY9	3/4	5/8	3/3	2/3	2/2
OKM1	2/6	2/8	1/5	3/3	4/5
LeuM1	1/6	2/8	3/3	3/3	3/3
LeuM2	0/6	2/8	1/3	2/3	1/3
LeuM3	1/6	0/8	1/3	3/3	1/3
LeuM4	0/6	0/8	0/3	0/3	2/3
OKT4	0/7	0/8	0/5	2/3	4/5

表 3 急性リンパ性白血病の表面形質 Dx; 診断

## B 細胞系

症 例	Leu10	Leu12	HLADR	B1	B2	J5	BA1	BA2	BA3	NUN2	TdT	Dx
S.Y10M	●	○	○	●	●	●	--	--	--	●	○	B-stem
N.M13F	○	○	○	●	●	●	●	○	●	●	○	B-stem
K.S38F	●	○	○	○	●	○	--	--	--	○	○	common
E.H24F	●	●	○	●	●	○	●	●	○	●	○	common
K.M66M	○	○	○	●	●	○	●	●	○	○	○	common
M.I8F	○	○	○	○	●	○	○	●	○	○	○	common
Y.H33M	●	●	○	○	●	○	○	○	○	○	○	common
T.H67F	●	○	○	○	●	○	○	●	●	○	--	common
H.M44F	●	○	○	○	●	○	●	●	○	○	○	common
Y.S10F	●	○	○	●	●	○	○	○	○	○	○	common
M.S38F	○	○	○	●	●	○	○	○	●	●	○	common
K.H29M	●	○	○	○	●	○	○	○	○	○	○	common
Y.H34M	●	○	○	○	●	○	●	○	○	●	○	common
N.K44M	○	○	○	○	●	●	○	○	●	●	●	B(IgG, κ)

○: 陽性    ●: 陰性    --: 未検

## T 細胞系

症 例	OKT3	OKT4	OKT6	OKT8	OKT9	OKT10	OKT11	Leu9	HLADR	Dx
H.M42M	●	●	●	●	●	●	●	○	○	pre T
M.S8F	●	●	●	●	--	○	●	--	○	T
T.M10M	○	●	○	●	●	○	○	--	○	T
H.K20M	○	●	○	●	○	--	○	○	●	T

○: 陽性    ●: 陰性    --: 未検

## II. 急性リンパ性白血病 (ALL) の表面形質

結果を表3に示す。表の上段に示す B 細胞系と考えられた小児例と成人例を含めた14例ではいわゆる common ALL が11例と約80%も存在したことが注目された。成人例に限ってでは10例中9例が common ALL であった。B 幹細胞由来と考えられた2例では、B 細胞系に特異的とされる B1<sup>9)</sup> は陰性であったが、TdT と Leu 12 が陽性であったことから、Leu 12 はこの系統の識別に有用と考えられた。

Common ALL とした群では、細胞質内 IgM (Cy $\mu$ ) の陽性例はなく、すべて pre-pre-B cell 由来と考えられた。

いわゆる common ALL 抗原 (CALLA) を認識する MoAb として多くのものが知られているが、そのうち今回の検討に用いた J5, BA3, NUN2 の反応性を比較すると、J5 は全例陽性であった。しかし国際ワークショップ分類では同じ cluster designation (CD) に含まれている<sup>4)</sup> BA3, NUN2 では陰性例が前者では10例中2例、後者では11例中2例存在したことから、CALLA に多様性のあることが推察された<sup>5)</sup>。したがって CALLA 陽性と診断するためには J5 の検索が必須であると考える。

表3下段に示した T 細胞系の ALL では、胸腺に入る前の段階を認識するとされる Leu 9 のみが陽性で、pre-T 細胞由来と考えられた1例を経験した。その他

Reinherz の模式図<sup>6)</sup>に合わせたように、各成熟段階の由来と思われる症例が見られた。

## III. その他の白血病の表面形質

慢性リンパ白血病 (CLL) は B 細胞型4例、T 細胞型1例であった。B-CLL では Leu 1 が陽性であることが特徴的であった<sup>7)</sup>。

慢性骨髄性白血病の急性転化 (CMLBC) 例は、リンパ性急性転化が5例、骨髄性急性転化が2例で症例数は少ないが欧米の頻度<sup>8)</sup>にくらべて前者が多かった。リンパ性急性転化は全例が CALLA 陽性であった。非ホジキンリンパ腫 (NHL) は4例のうち3例が B 細胞由来、1例が T 細胞由来であった。後者は OKT 3 と OKT 4 が陽性であったが抗 ATLA 抗体は陰性であった。

## IV. 成人 T 細胞白血病 (ATL) と急性巨核芽球性白血病 (AMgKL) の表面形質

最近注目されている特殊な白血病である ATL と AMgKL の検索結果を表4に示す。

ATL の4例では、OKT 3, OKT 4, OKT 11 陽性の末梢型成熟 T 細胞の形質を持つとともに、抗インターロイキン2レセプター (IL2R) である抗 TAC 抗体が陽性で、この白血病細胞の増殖機序を考える上が興味深い所見であった<sup>9) 10)</sup>。また1例では OKT 4 と OKT 8 の両者が陽性であり非典型例であったが、臨床経過は ATL としてきわめて典型的であった。

表4 成人 T 細胞白血病と急性巨核芽球性白血病の表面形質

### 成人 T 細胞白血病

症 例	OKT 3	OKT 4	OKT 6	OKT 8	OKT 11	OKT 10	HLADR	Leu 7	TAC
M.A 60M	○	○	●	●	○	●	●	●	--
M.U 42M	○	○	●	●	○	●	●	●	--
T.T 53F	○	○	●	●	○	--	●	●	○
E.T 48M	○	○	●	○	○	--	●	●	○

○：陽性    ●：陰性    --：未検

### 急性巨核芽球性白血病

症 例	HLADR	HPL II	MY 4	MY 7	OKM 1	Leu 8	OKT 4
M.S 53M	●	○	--	--	●	--	●
T.K 56M	○	●	--	--	●	--	●
Y.K 57F	○	●	●	○	●	○	○
T.T 16M	○	●	●	●	●	●	●

○：陽性    ●：陰性    --：未検

AMgKL の4例の結果は多様であった。1例は血小板表面の糖蛋白 IIb IIIa 複合体を認識する HPL II のみが陽性であった。他の2例は HLADR のみが陽性であり、この抗体のみが陽性となる未分化な白血病細胞を見た場合には本症を念頭におく必要があると思われる。他の1例は HLADR のほかに表に示したように、リンパ系骨髄系の種々のマーカーが陽性で、巨核芽球がある段階では様々な表面形質を発現している可能性がある<sup>11)</sup>。

## 考 案

白血病の治療方針の決定、予後の推定には白血病細胞に発現している表面形質の検索による分化段階の推定が必須であることは先に述べた。その検索に FCM を用いることは、判定が客観的かつ迅速に行なえることよりきわめて有用である。また FCM として Sp III を用いた場合には、抗体の陽性率の算定と同時にサイトグラムが得られ鑑別診断の一助となることは既報の通りである<sup>12)</sup>。急性白血病の病型診断は現在は FAB 分類にしたがって形態学的に行なうのが主になっているが、形態学に細胞化学的な検索を加えても鑑別診断に苦慮することが少なからずある。その点 MoAb を用いた細胞表面形質の解析は適切な抗体を選択すれば、データは客観的にかつ正確に得られる。事実治療方針の決定は MoAb による検索結果を見てから行なうのが普通になりつつあるし、形態学的診断を MoAb による検索でくつがえした経験も少なくない。したがって、MoAb を用いた細胞表面形質の解析は、従来の白血病の診断法を単に補助するだけではなく、より積極的に新たな細分類を行なうに不可欠な手段であることを強調したい。

骨髄性白血病では、従来特異的な抗体が手に入りにくかったことから、後に述べるリンパ性白血病にくらべて解析が遅れていた。しかし私達が用いている MoAb の MY 4, MY 7, MY 9, LeuM 3, OKM 1/Mo 1, OKT 4 の組合せで、FAB 分類における M1, M2 群と M4, M5 群の鑑別は容易に可能であった。後者の群で OKT 4 が大多数で陽性であったことはきわめて興味深い。リンパ性白血病ではいまや、MoAb を用いた細分類が汎用されている<sup>13)</sup>。この分野の進歩は著しく、かつての総説<sup>14)</sup>も今や大幅な変更を余儀無くされている。図1は経験例をもとに現時点での考えを入れて描いた模式図である。これは白血病やリンパ腫の新たな治療の指針をもたらすとともに正常の血球の分化のモデルとしても重要である。

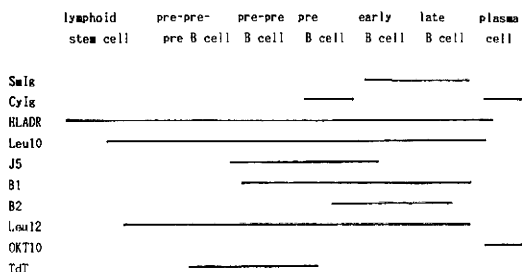


図1 細胞の分化とその表面形質

反面私達が解析に用いている MoAb が腫瘍特異抗原ではなく単に分化抗原にすぎないことを意味しているとも言える。今後はさらに症例を集積し、より詳細な解析と適切な MoAb の選択により、予後との対応などより臨床的な検討を加える予定である。

## 結 語

フローサイトメーターを用いたモノクローナル抗体による各白血病細胞の表面形質の解析結果を示しその臨床的意義を報告した。

稿を終わるにあたり、フローサイトメリーの使用に協力してくれた木村美奈子さんに深謝します。

## 参 考 文 献

- 1) Bennet, J.R., et al.: (FAB Co-operative Group). Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*, **44**: 724~731, 1982.
- 2) Wood, G.S., et al.: Anti-Leu 3/T4 antibodies react with cells of monocyte/macrophage and langerhans lineage. *J Immunol*, 1983; **131**: 212~216, 1983.
- 3) Minato, K., et al.: Inference of cellular origin and differentiation stage of B-cell malignancies using multiple immunological markers. *Acta Haematol JPN*, **47**: 1567~1578, 1984.
- 4) Bernand, A., et al.: Joint report of the first international workshop on human leucocyte differentiation antigens by the investigators of the participating laboratories In *Leucocyte Typing* (ed. by Bernand A et al.). Springer-Verlag, pp. 9~142, 1984.

- 5) 青木定夫, 他: モノクローナル抗体で検索される CALLA 陽性白血病の多枝性. 日血会誌, **48**: 413, 1985.
- 6) Reinherz, E.L. and Schlossman, S.F.: The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell, **19**: 821~827, 1980.
- 7) Herrmann, F., et al.: p. 69, 71 antigen complex detected by monoclonal antibody Leu 1 in the identification of particular stages of malignant B-cell differentiation. Scand J Haematol, **32**: 215~222, 1984.
- 8) Champlin, R.E. and Golde, D.W.: Chronic myelogenous leukemia: recent advances. Blood, **65**: 1039~1047, 1985.
- 9) Tsudo, M.T., et al.: Failure of regulation of Tac antigen/TCGF receptor on adult T cell leukemia cells by anti-Tac monoclonal antibody. Blood, **61**: 1014~1016, 1983.
- 10) Yodoi, J., et al.: Rat lymphoid cell lines producing human T cell leukemia virus II. constitutive expression of rat interleukin 2 receptor. J. Exp. Med., **161**: 924~934, 1985.
- 11) 高橋浩造: 私信.
- 12) 青木定夫, 他: フローサイトメトリーによる白血病細胞患者末梢血のサイトグラムパターン, 医学のあゆみ, **132**: 803~804, 1985.
- 13) Foon, K.A., et al.: Surface markers on leukemia and lymphoma cells: recent advances. Blood, **60**: 1~19, 1982.
- 14) 柴田 昭, 青木定夫: リンパ性白血病, 日本臨床, **42**: 711~718, 1984.

司会 有難うございました。それでは早速只今の演題の追加として、第二病理の 本間先生、お願いいたします。病理組織への応用—ヒト血小板グライコプロテイン II b III a complex と第 VIII 因子関連抗原に対するモノクローナル抗体の応用例というテーマです。

## 指 定 発 言

### 7) 病 理 組 織 へ の 応 用

新潟大学医学部第二病理 本間 慶一・大西 義久

最近、モノクローナル抗体は病理学の分野でも頻繁に用いられるようになり、生検材料の日常検索にもしばしば用いられている。

一方、血球に対する各種のモノクローナル抗体は、血球の分化、成熟のマーカーとなり得るため、血液細胞の発生を研究する上で、有効な手段となることが期待される。当教室でも、胎生期造血の新たな検索手段として、これらの抗体を用いた免疫組織化学的手技が導入されつつある<sup>1)</sup>。実際の反応方法としては PAP 法や ABC 法などもあるが、手技としては間接酵素抗体法が単純である。血球に対するモノクローナル抗体は細胞膜抗原に対するものが多いため、著者らは、主として PLP 固定後の凍結切片上で、間接酵素抗体法を施し、光顕的、電顕的に検索している。手技は省略するが、著者らの別紙<sup>1)</sup>、または成書<sup>2)</sup>を参照されたい。今回は、病理組織へのモノクローナル抗体応用の一例として、ヒト血小板 GP II b/III a complex と第 VIII 因子関連抗原に対する抗体を巨核球系細胞のマーカーとして用いて検討した剖検例を紹介する。

症例は79才女姓で、昭和58年6月頃から食思不振となり、検血では汎血球減少を認めた。昭和59年7月から、再び食思不振となり、白血球数が1万を越え3%の芽球も認めたため入院。骨髓穿刺では、有核細胞数18.9万で、芽球は30%、小型の巨核球も目立った。一方、骨髓針生検所見は過形成を示し、芽球の増殖も高度であったが、多数の巨核球、赤芽球も混在し、通常の急性白血病とは像をやや異にしていた。さらに好銀線維も軽度増加していた。その後、白血球数が3万を越え、芽球も増加したため、急性巨核芽球性白血病を疑って治療したが、十分な効果をあげることなく死亡された。

剖検時の骨髓は、いずれも生検時とほぼ同所見であった。左大腿骨骨髓の PLP 固定後の凍結切片では、GP II b/III a complex と第 VIII 因子関連抗原のそれぞれに陽性の単核～多核の細胞が多数みられた(写真1)。これらの陽性細胞の密度は Naphthol ASD Chloroacetate esterase 陽性のものよりむしろ高かった。組織学的に、肝、脾でも中等度の白血病性細胞浸潤があり、これらの臓器でも、単核の芽球様細胞の他に、多核のやや