

第19回日本検査血液学会学術集会 形態診断のためのケースカンファレンス

症例 3

症例提示者

京都大学医学部附属病院 検査部

川口隼佳

日本検査血液学会
COI（利益相反）の開示
筆頭発表者名： 川口 隼佳

すべての共同発表者を代表し、本発表演題に関連して
開示すべきCOI関係にある企業等はありません。

日本検査血液学会

症例 3 69歳 男性

- 【主訴】 全身倦怠感、発熱
- 【現病歴】 前医にて白血球数異常高値を認め当院緊急搬送
- 【既往歴】 皮膚癌（化学・放射線療法施行）、脳梗塞、高血圧
- 【内服薬】 バイアスピリン、バルサルタン
- 【身体的所見】 JCS I -2, BT 39.8°C, BP 112/88mmHg,
HR 130/min, SPO₂(O₂ nasal 2L) 96%,
眼瞼結膜：蒼白なし 眼球結膜：黄染
胸部：肺音清、心音不整、心雑音なし
腹部：平坦・軟、腸蠕動音減弱亢進なし、肝脾腫なし
四肢：下腿浮腫なし、各表在リンパ節を触知しない

症例 3 入院時検査所見

【血液一般】

WBC	119.87	$\times 10^9/L$
RBC	5.00	$\times 10^{12}/L$
Hb	13.7	g/dL
Ht	40.2	%
PLT	70	$\times 10^9/L$
Seg	4.0	%
Lym	3.0	%
Mono	1.0	%
Blast	92.0	%

【止血・血栓】

PT%	58.0	%
PT-INR	1.36	
APTT	32.9	sec
DD	29.8	$\mu g/mL$

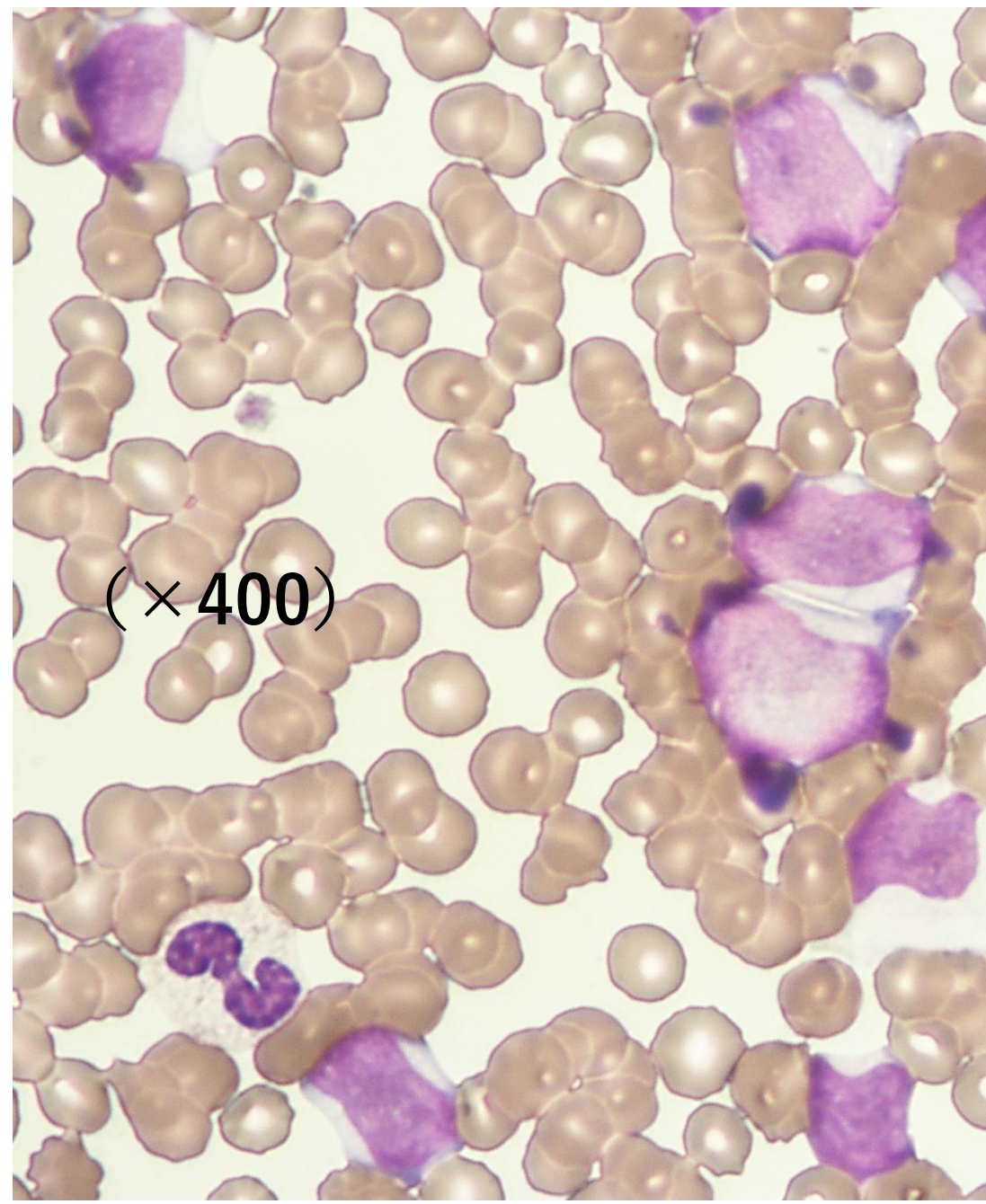
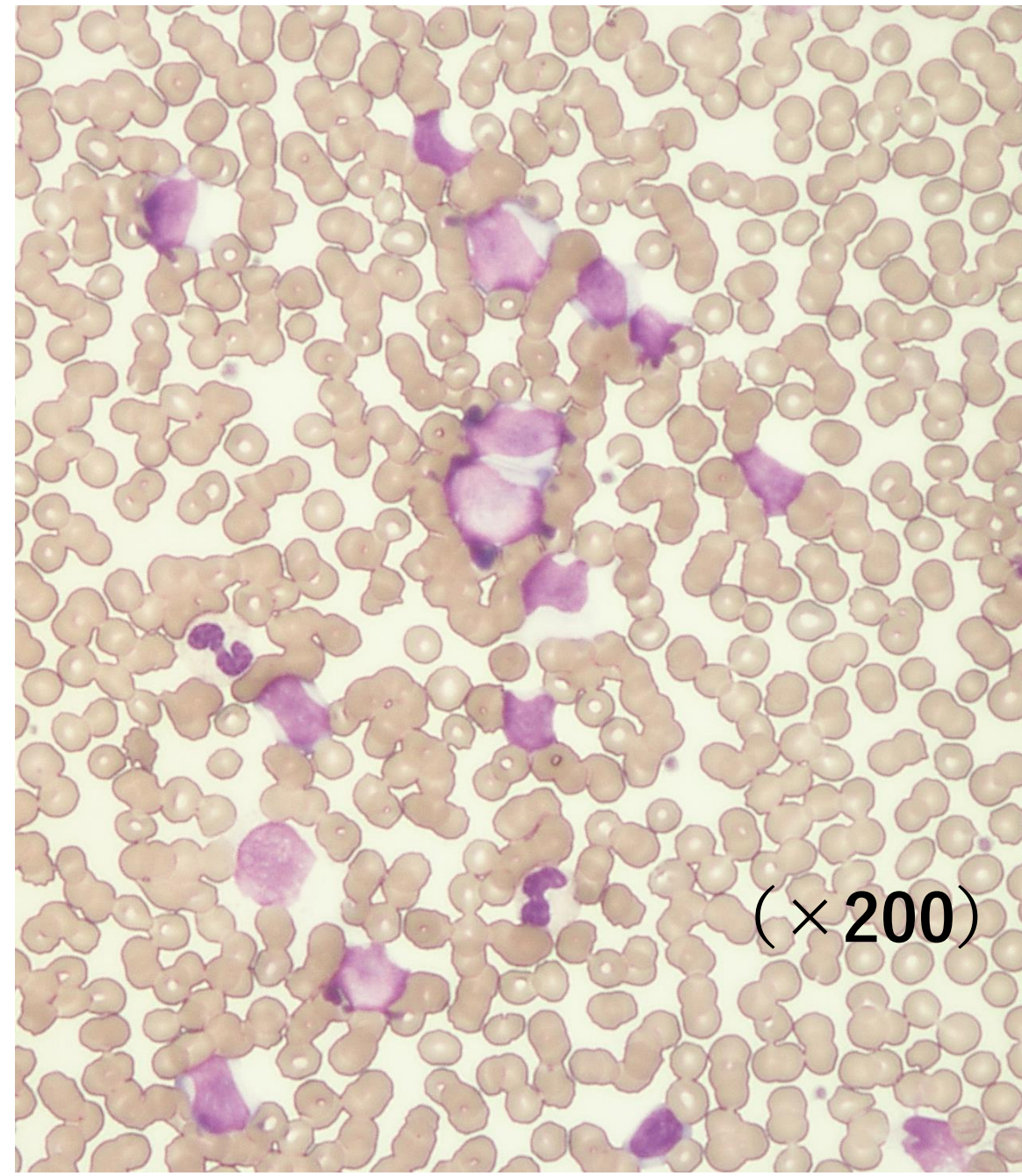
【生化学】

TP	6.4	g/dL
ALB	2.7	g/dL
T-Bil	4.2	mg/dL
AST	182	U/L
ALT	188	U/L
LD	931	U/L
ALP	791	U/L
Cre	2.08	mg/dL
UA	6.4	mg/dL
BUN	31	mg/dL
Na	127	mEq/L
K	4.3	mEq/L
Cl	94	mEq/L
CRP	8.3	mg/dL

末梢血液像

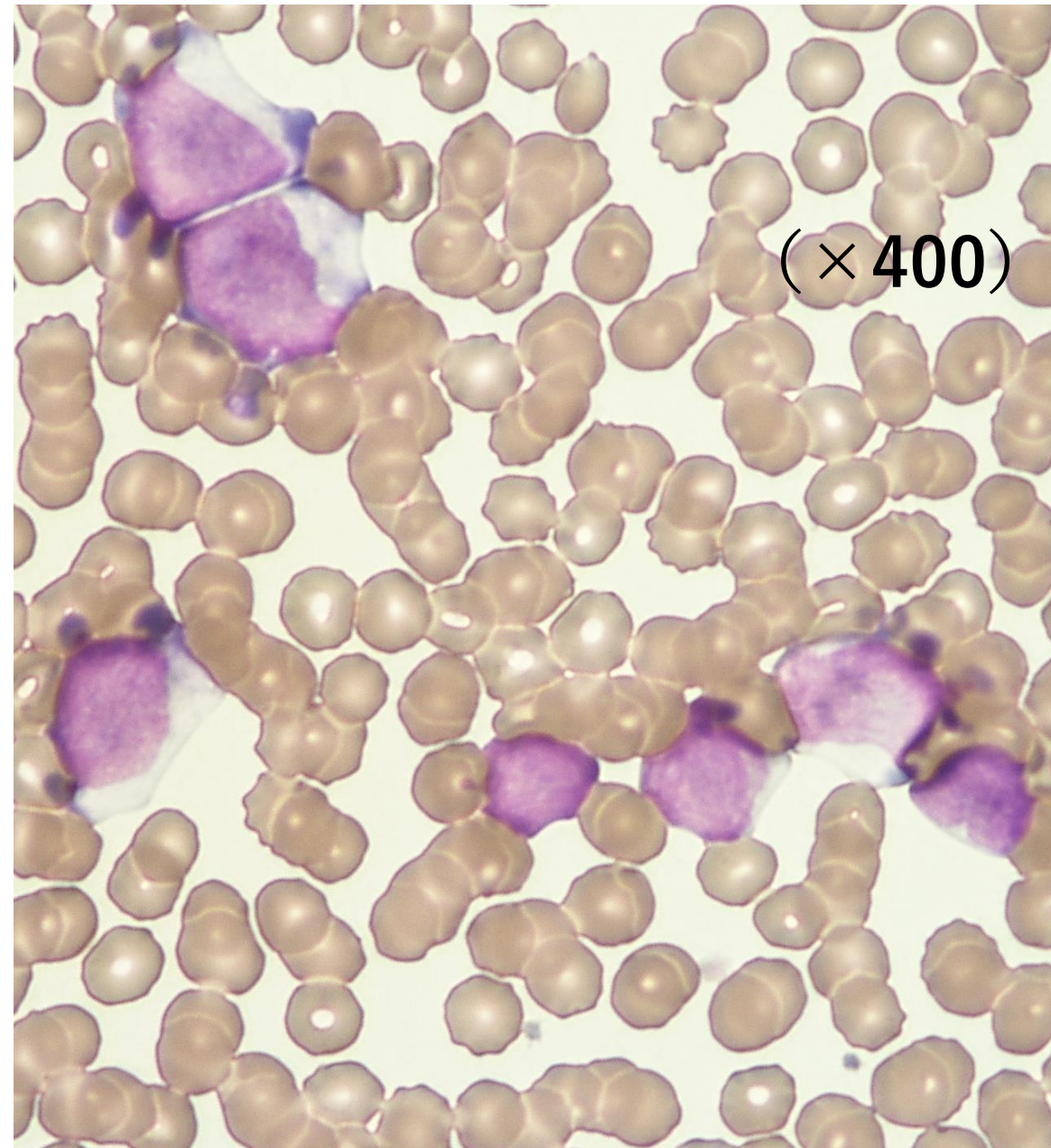
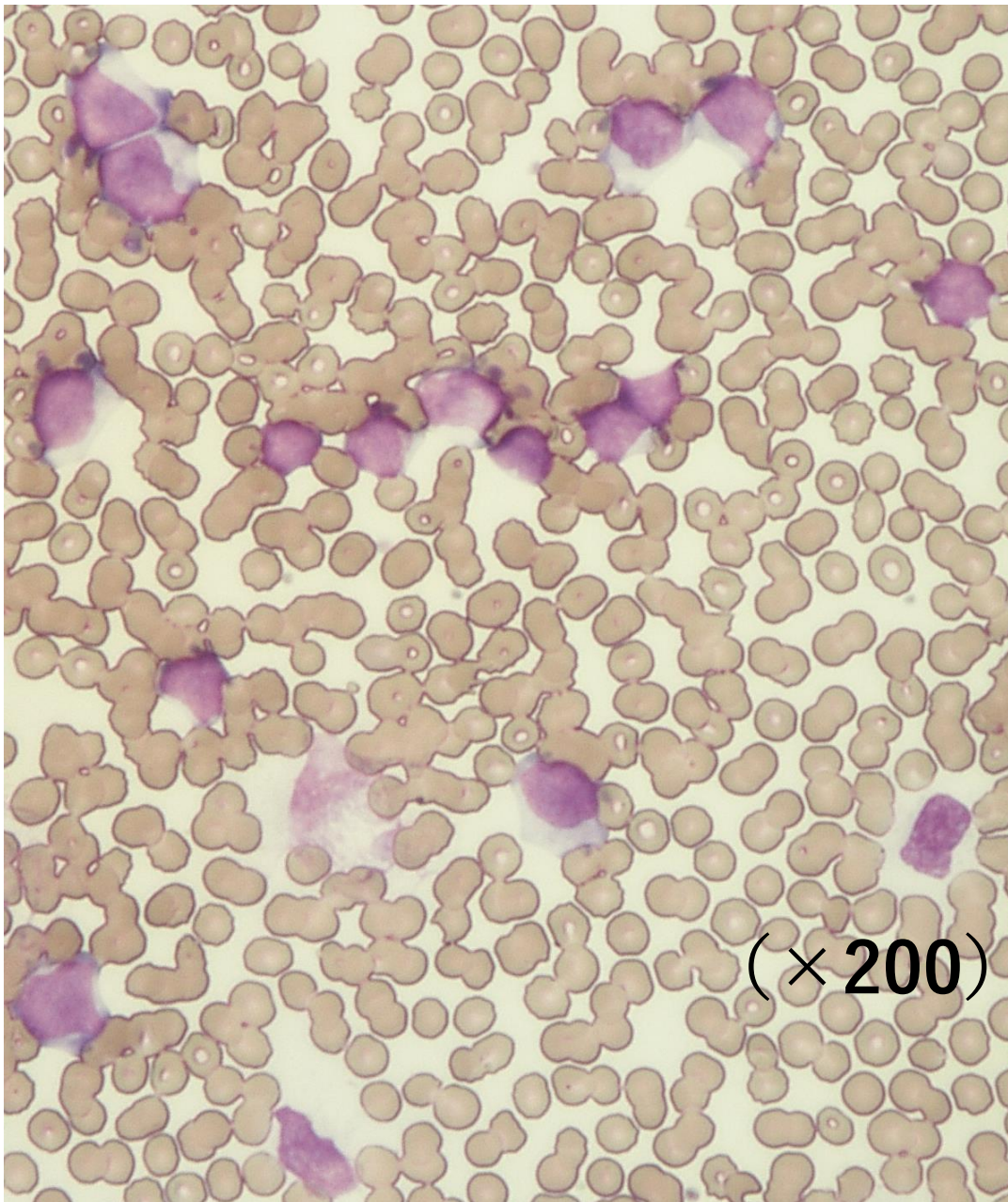
症例 3 末梢血所見

【末梢血MG染色】



症例 3 末梢血所見

【末梢血MG染色】



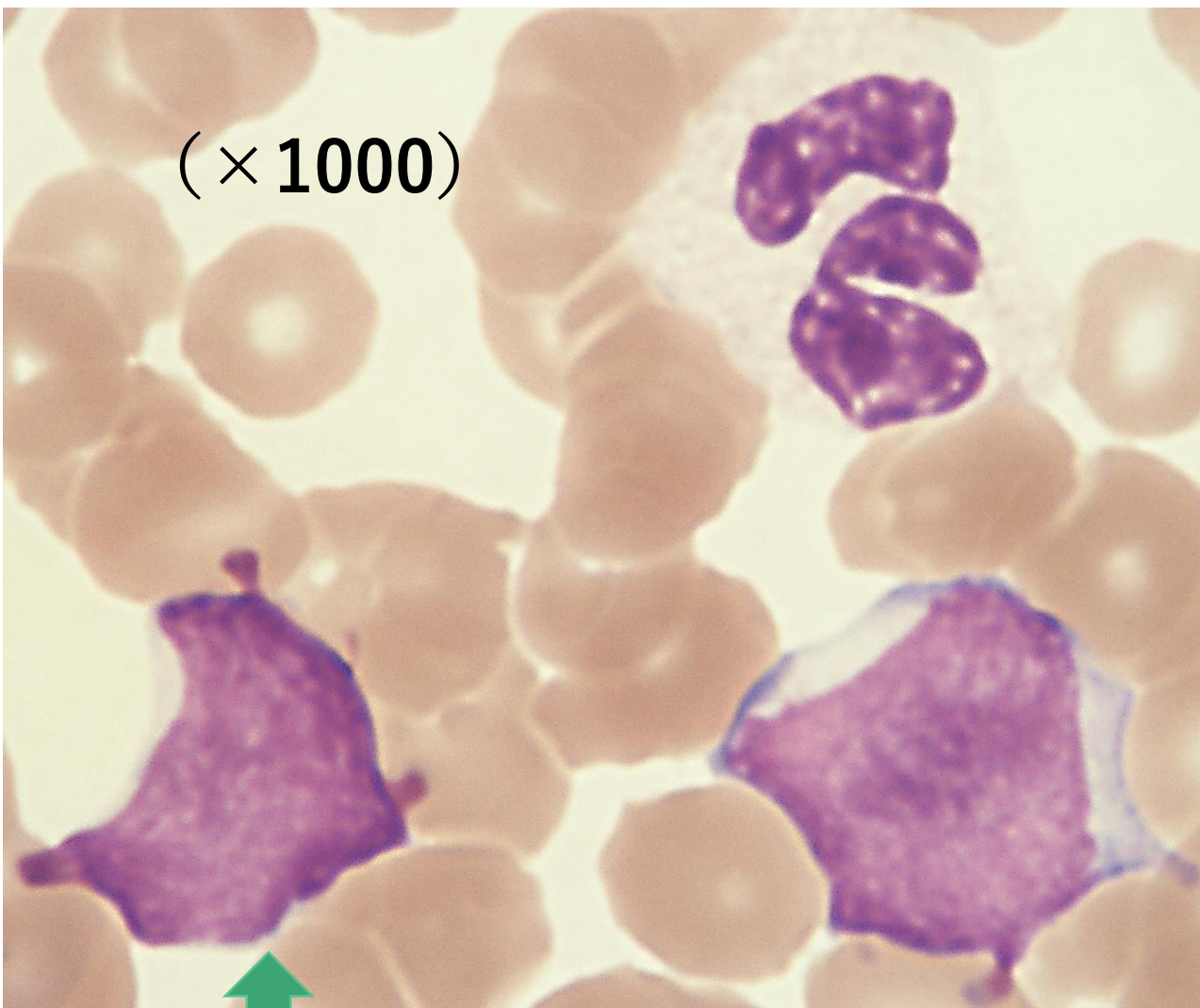
症例 3 末梢血所見

【末梢血MG染色】

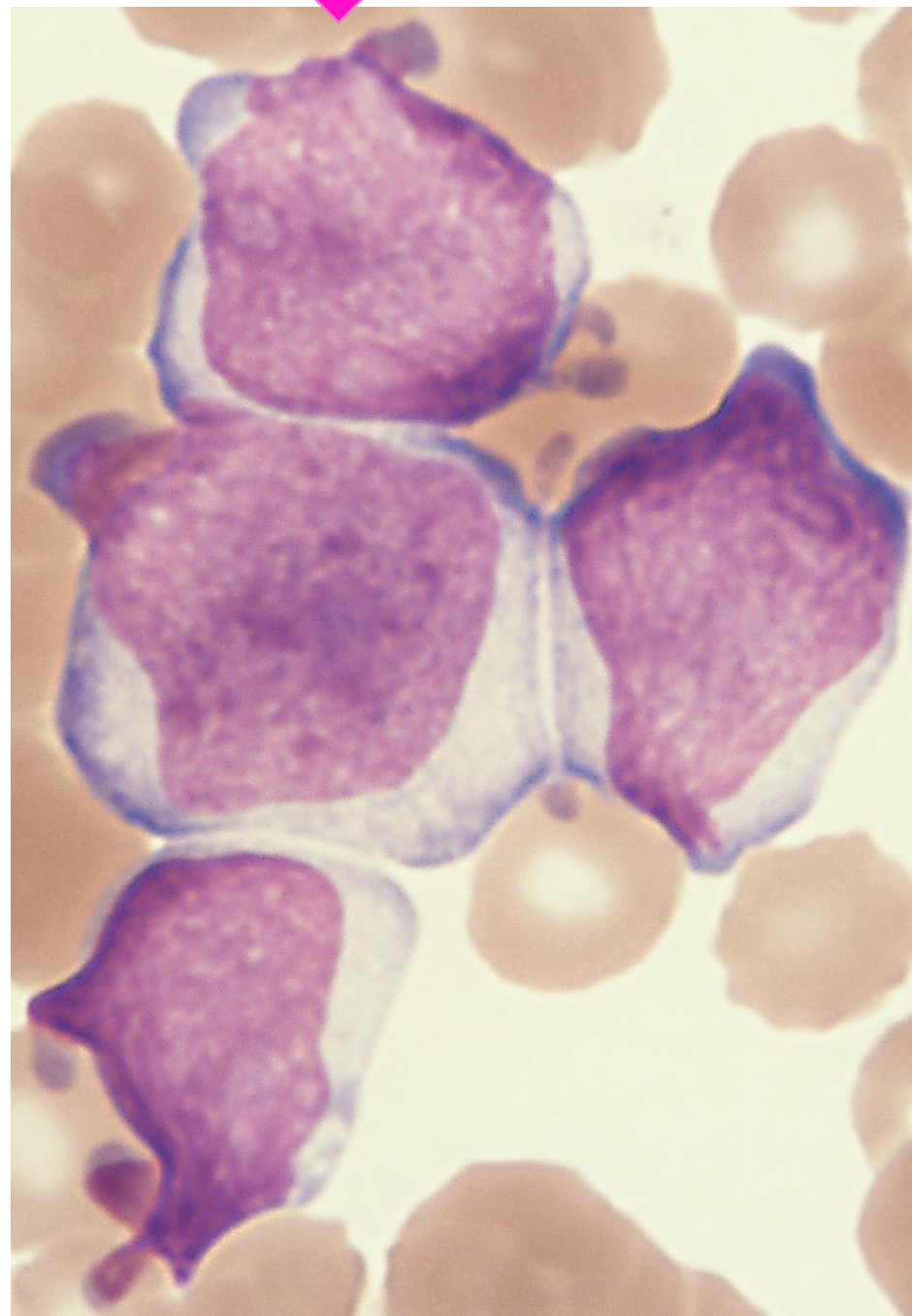
中～大型、N/C比80%未滿、
核網纖細、核小体明瞭



(×1000)



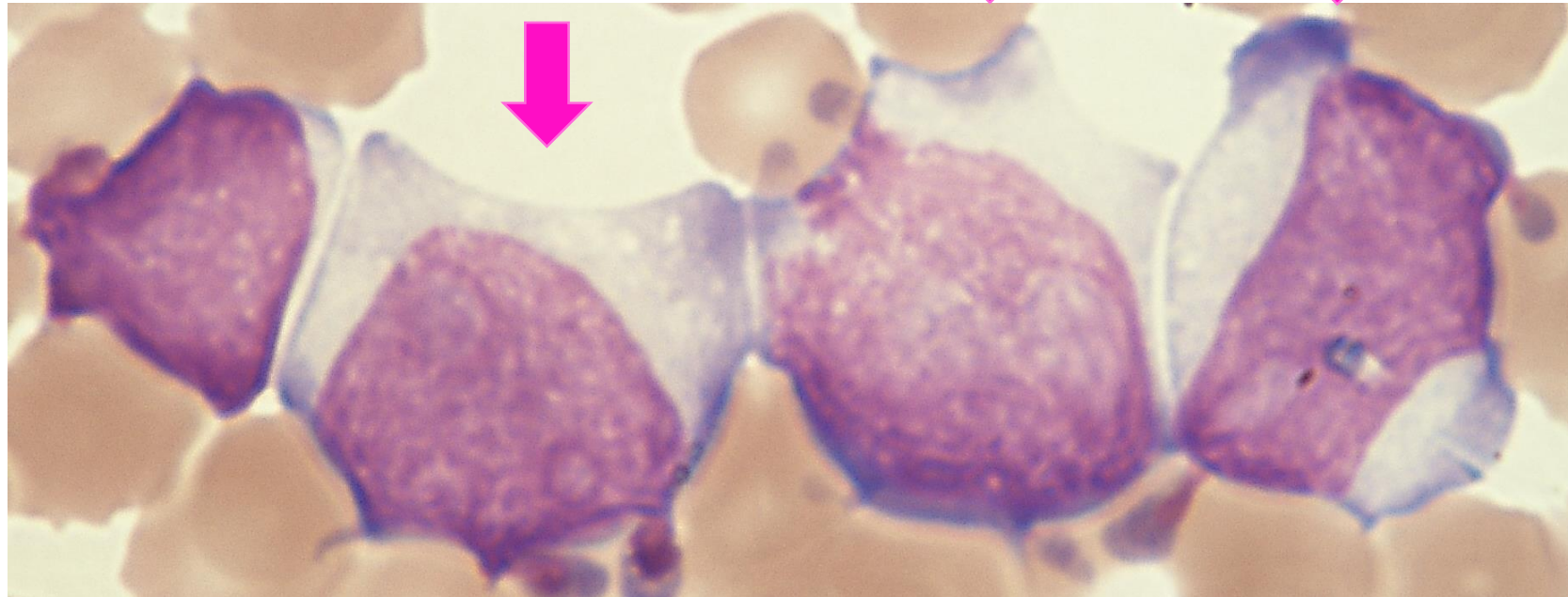
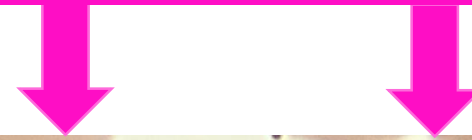
小～中型、N/C比90%以上、
核網粗剛、核小体不明瞭



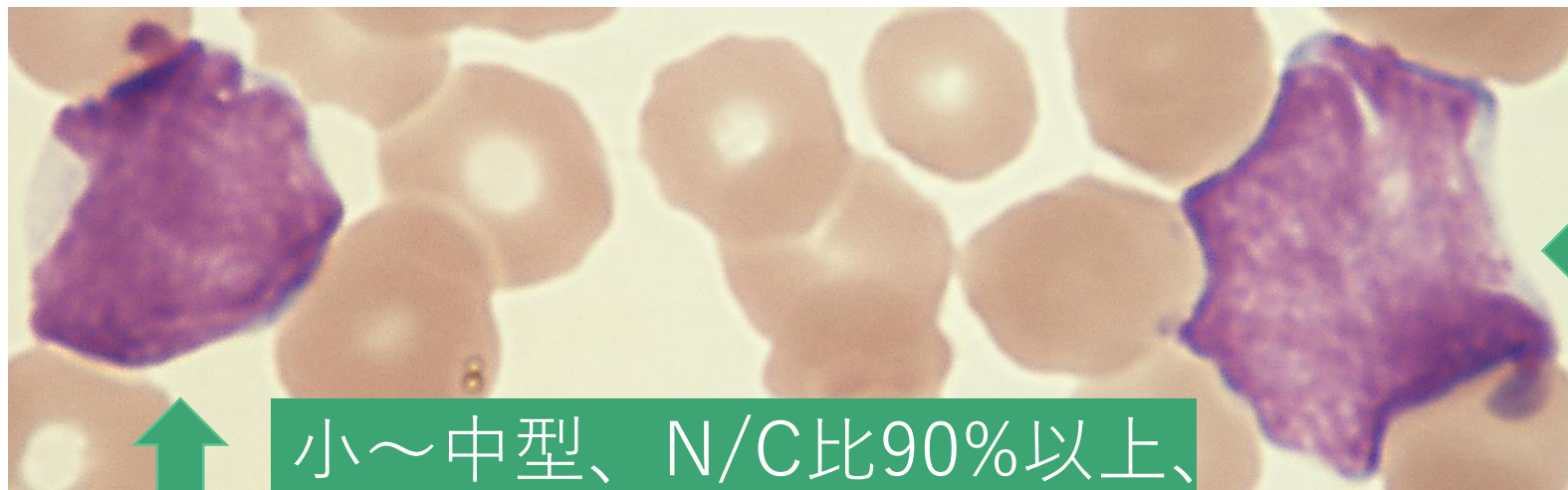
症例 3 末梢血所見

【末梢血MG染色】

中～大型、N/C比80%未滿、
核網纖細、核小体明瞭



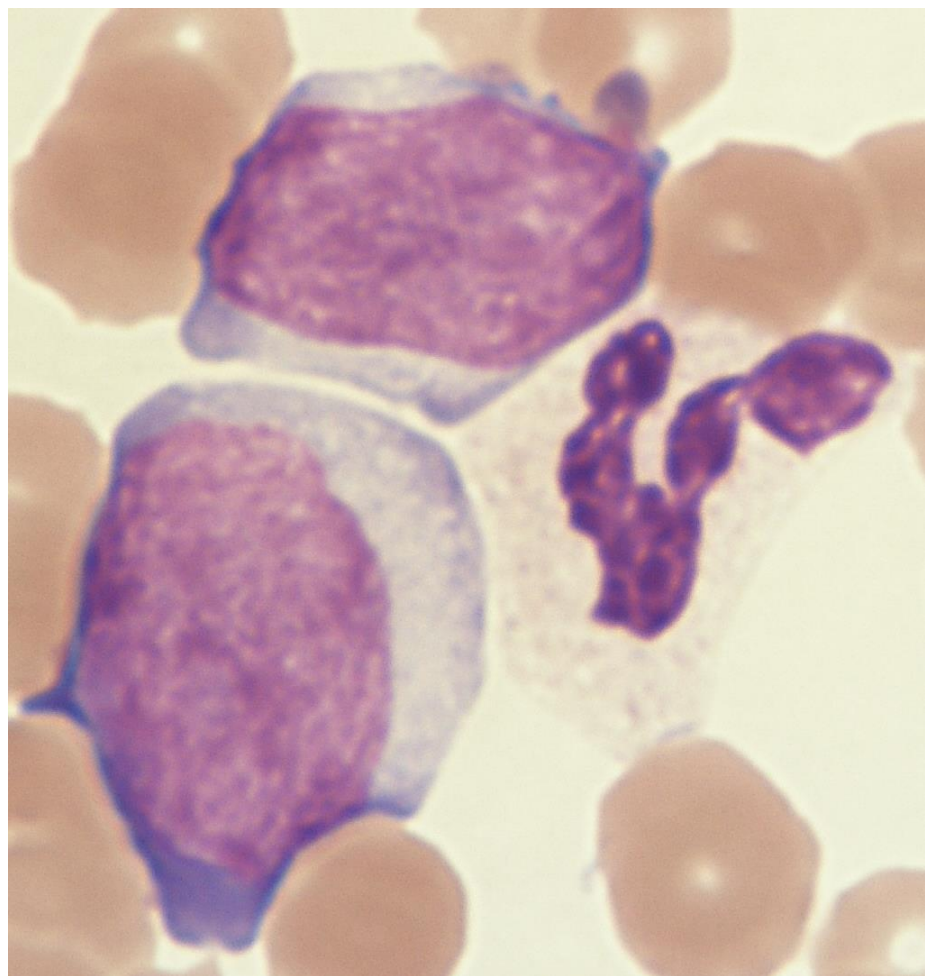
(×1000)



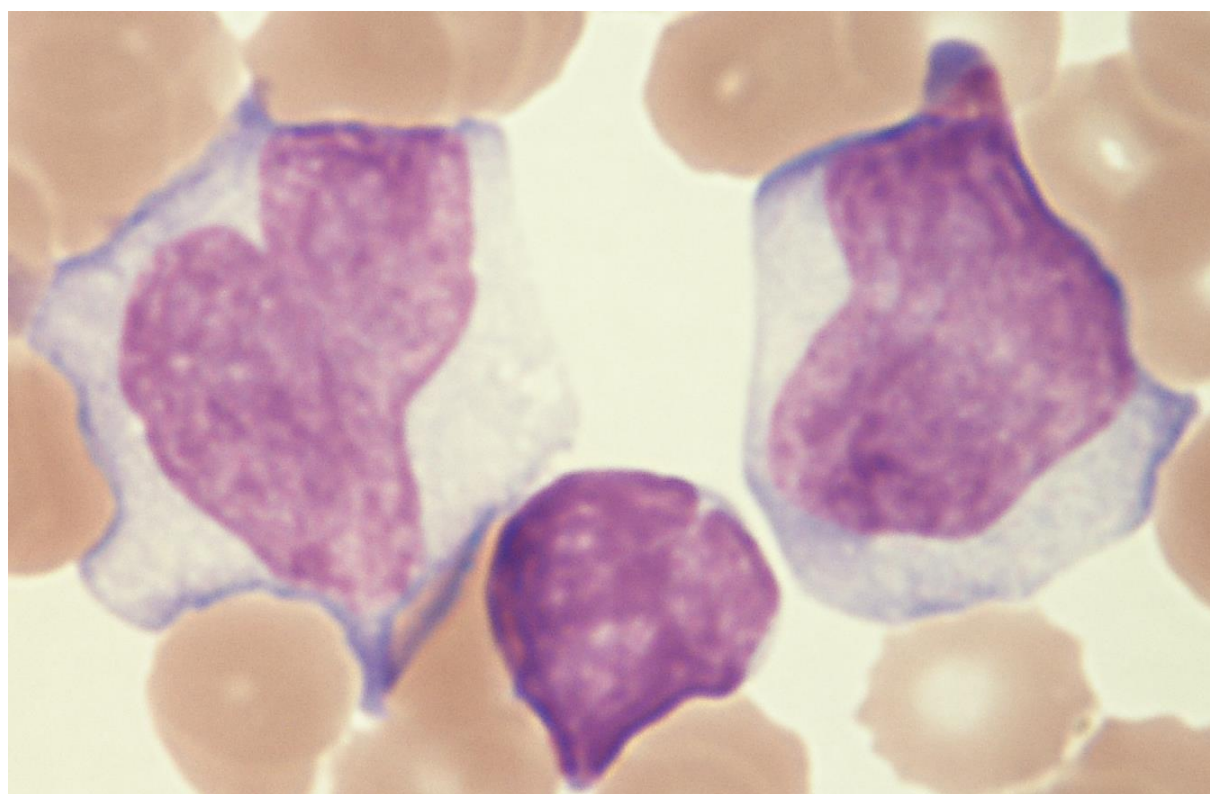
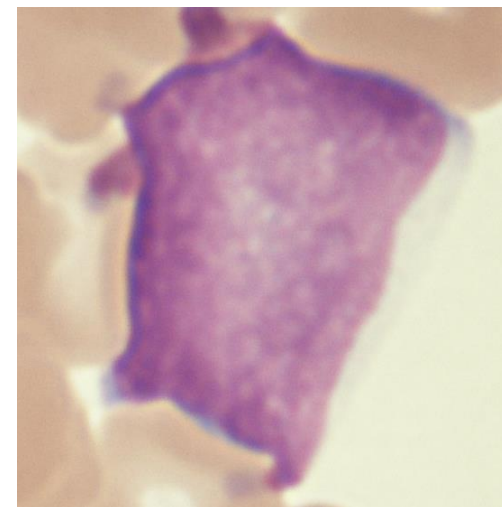
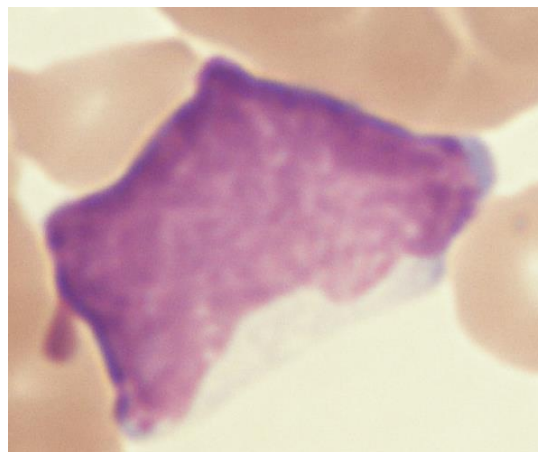
小～中型、N/C比90%以上、
核網粗剛、核小体不明瞭

症例 3 末梢血所見

【末梢血MG染色】



(×1000)

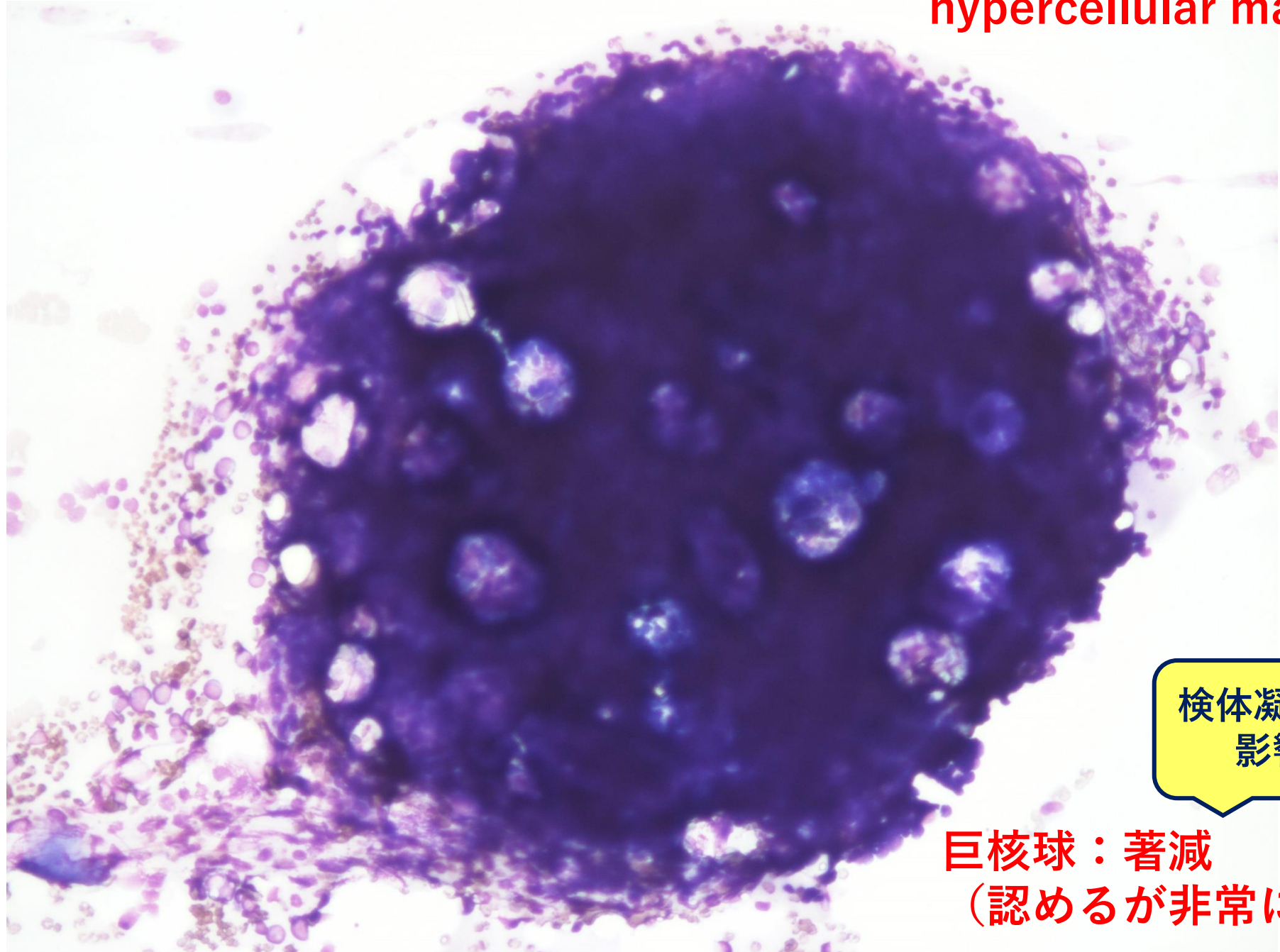


骨髓スミアの染色像

症例 3 骨髓所見

【骨髓MG染色】

**Severely
hypercellular marrow**

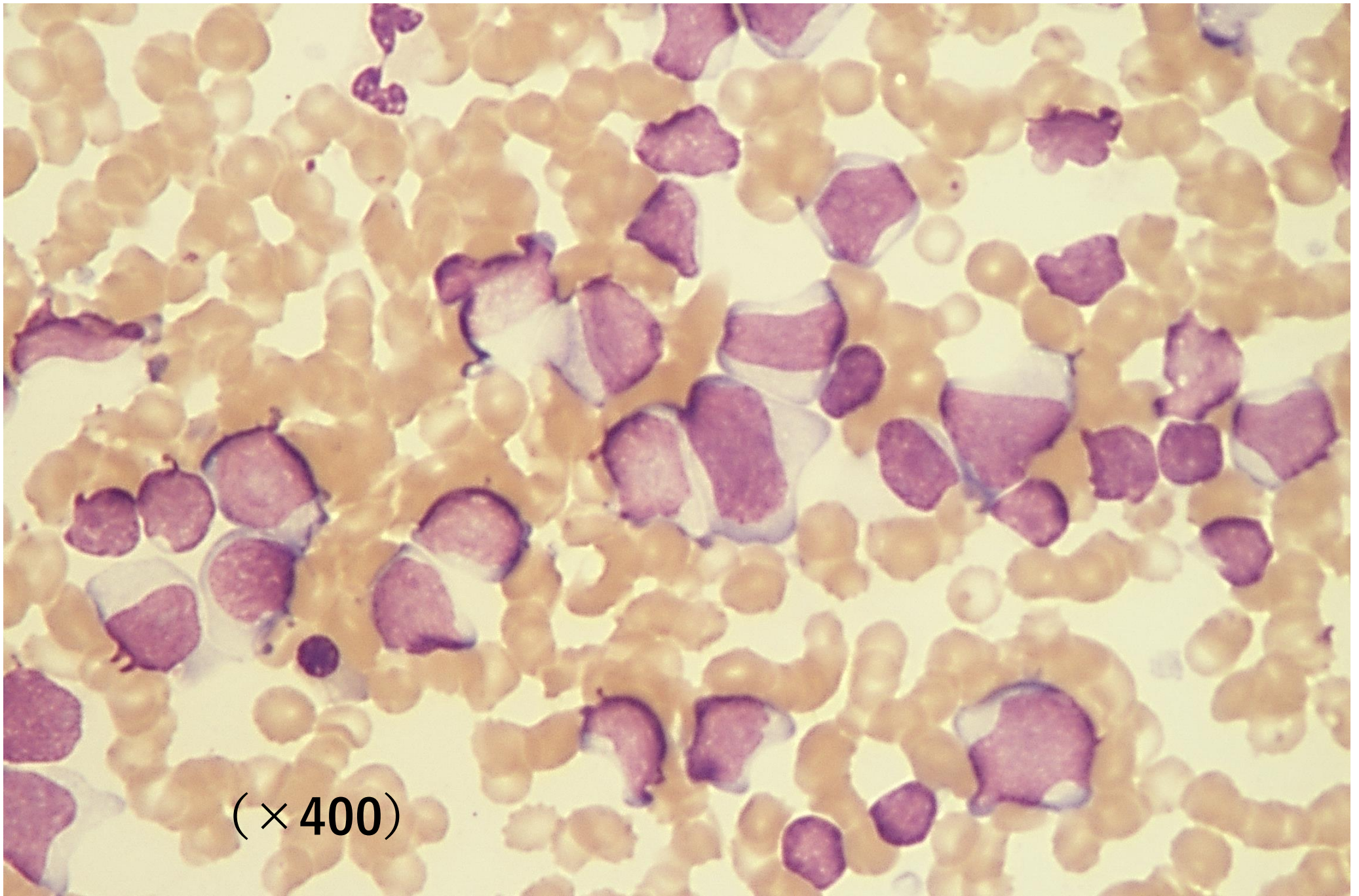


検体凝固の
影響

**巨核球：著減
(認めるが非常に少ない)**

症例 3 骨髓所見

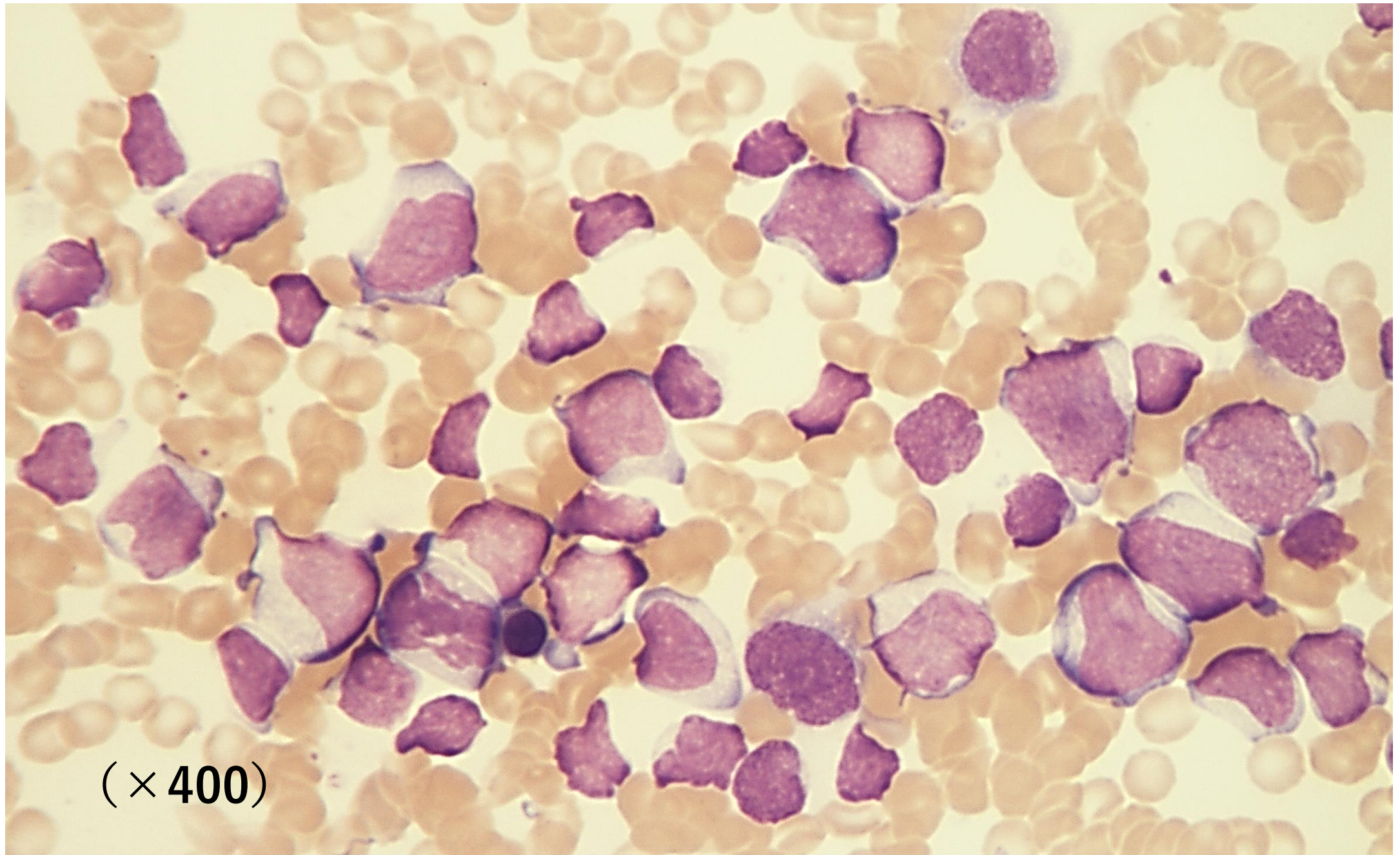
【骨髓MG染色】



(×400)

症例 3 骨髓所見

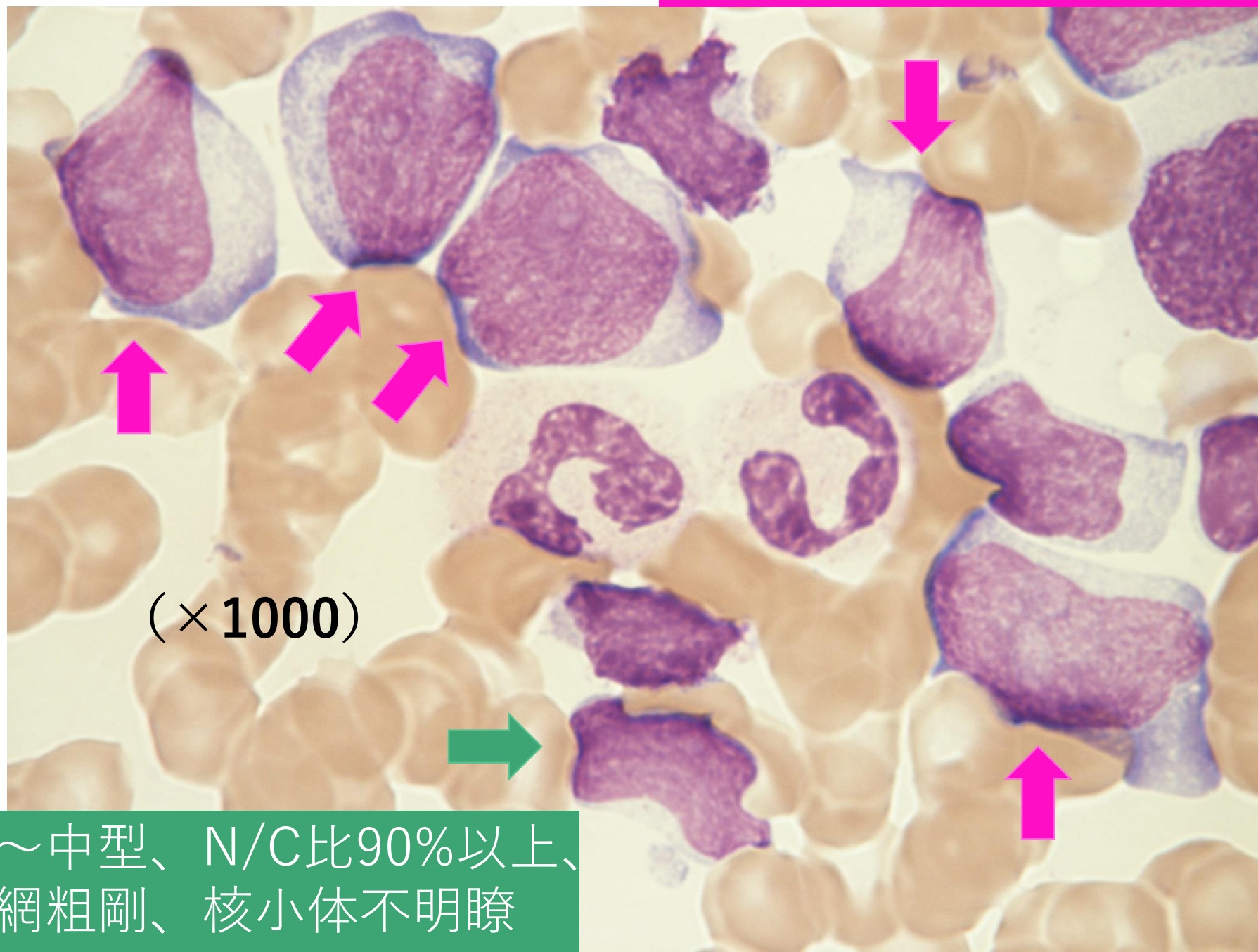
【骨髓MG染色】



症例 3 骨髓所見

【骨髓MG染色】

中～大型、N/C比80%未滿、
核網纖細、核小体明瞭

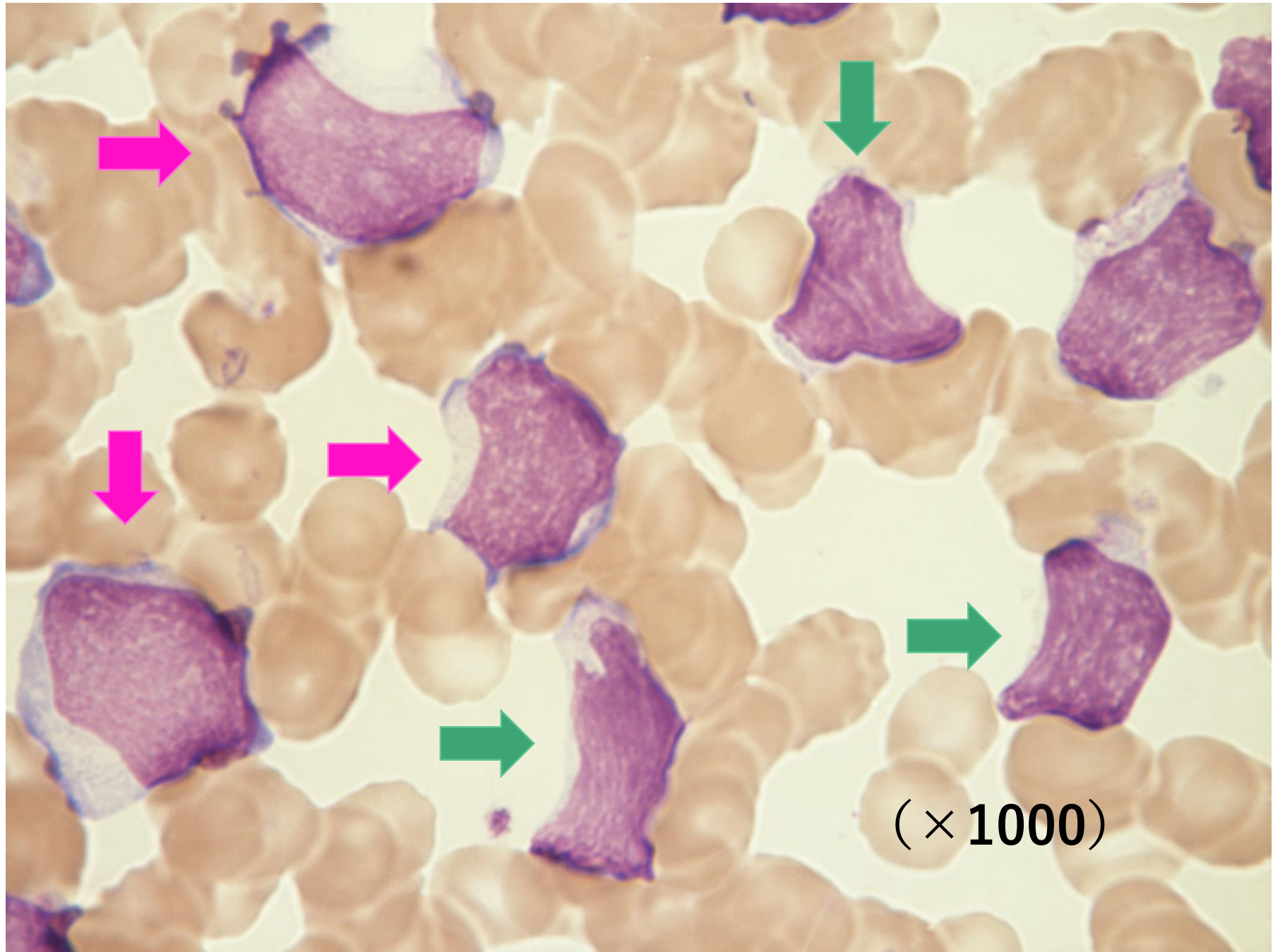


小～中型、N/C比90%以上、
核網粗剛、核小体不明瞭

症例 3 骨髓所見

【骨髓MG染色】

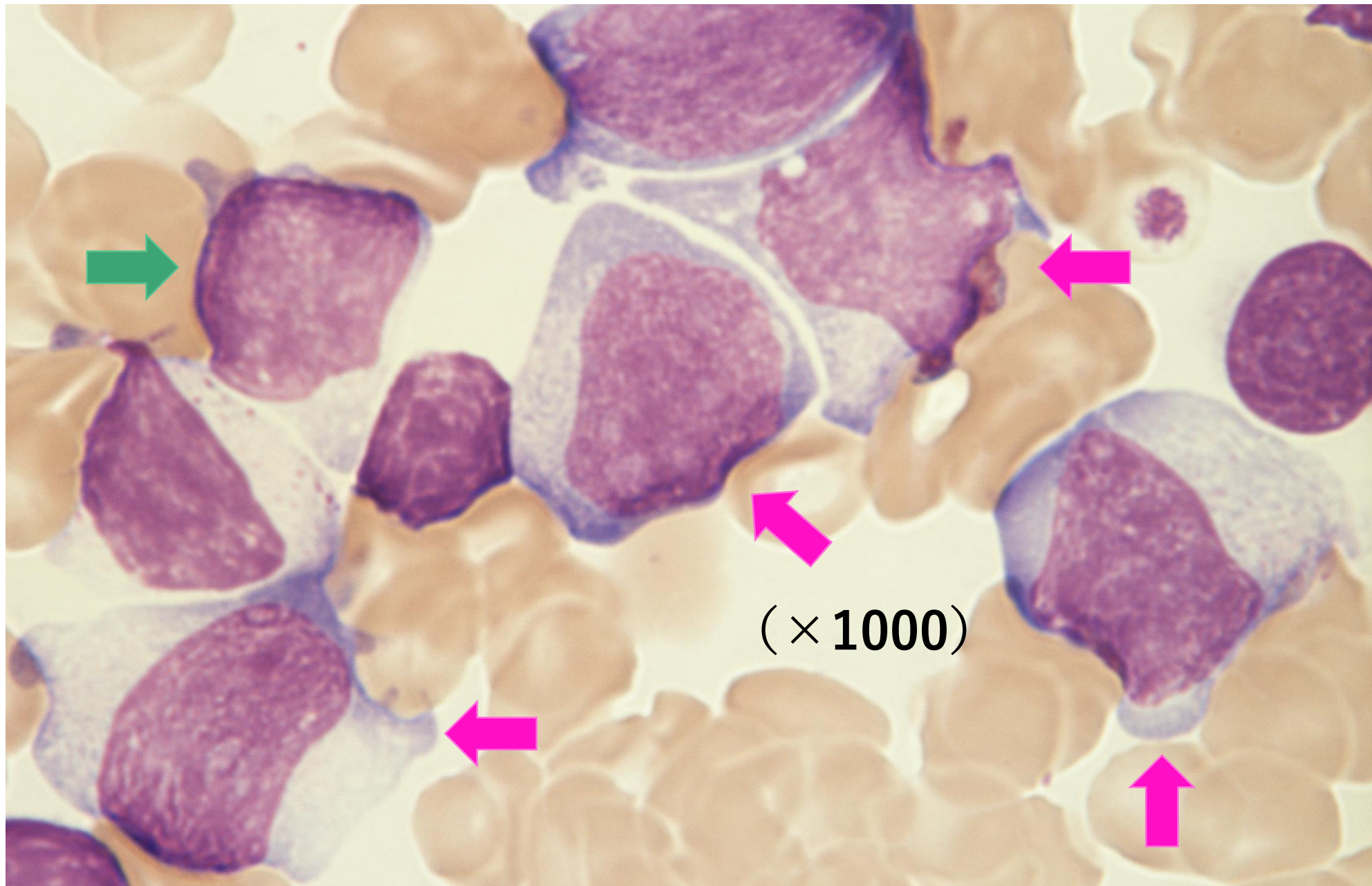
核形：類円形～不整形
細胞質好塩基性：強～弱



症例 3 骨髓所見

【骨髓MG染色】

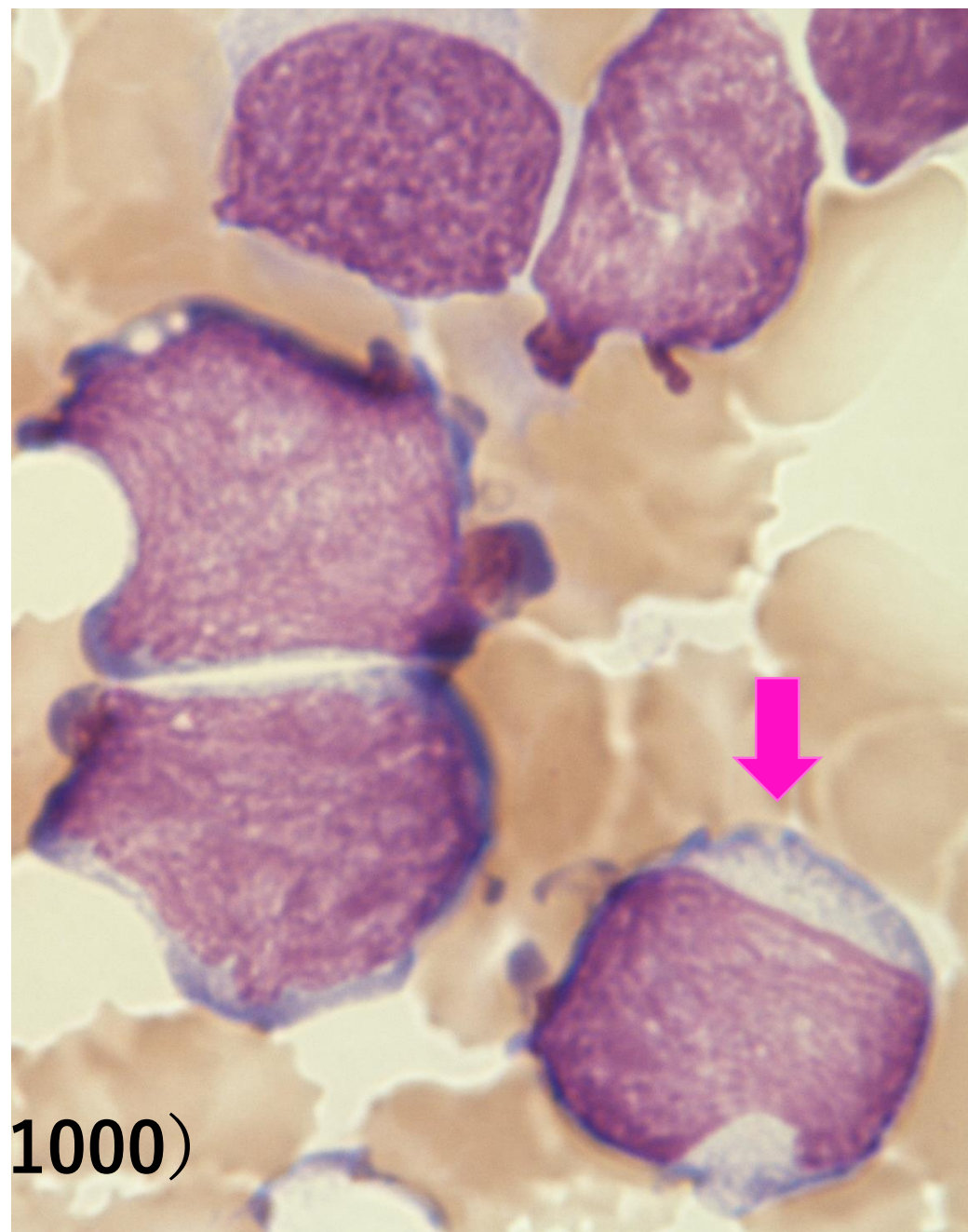
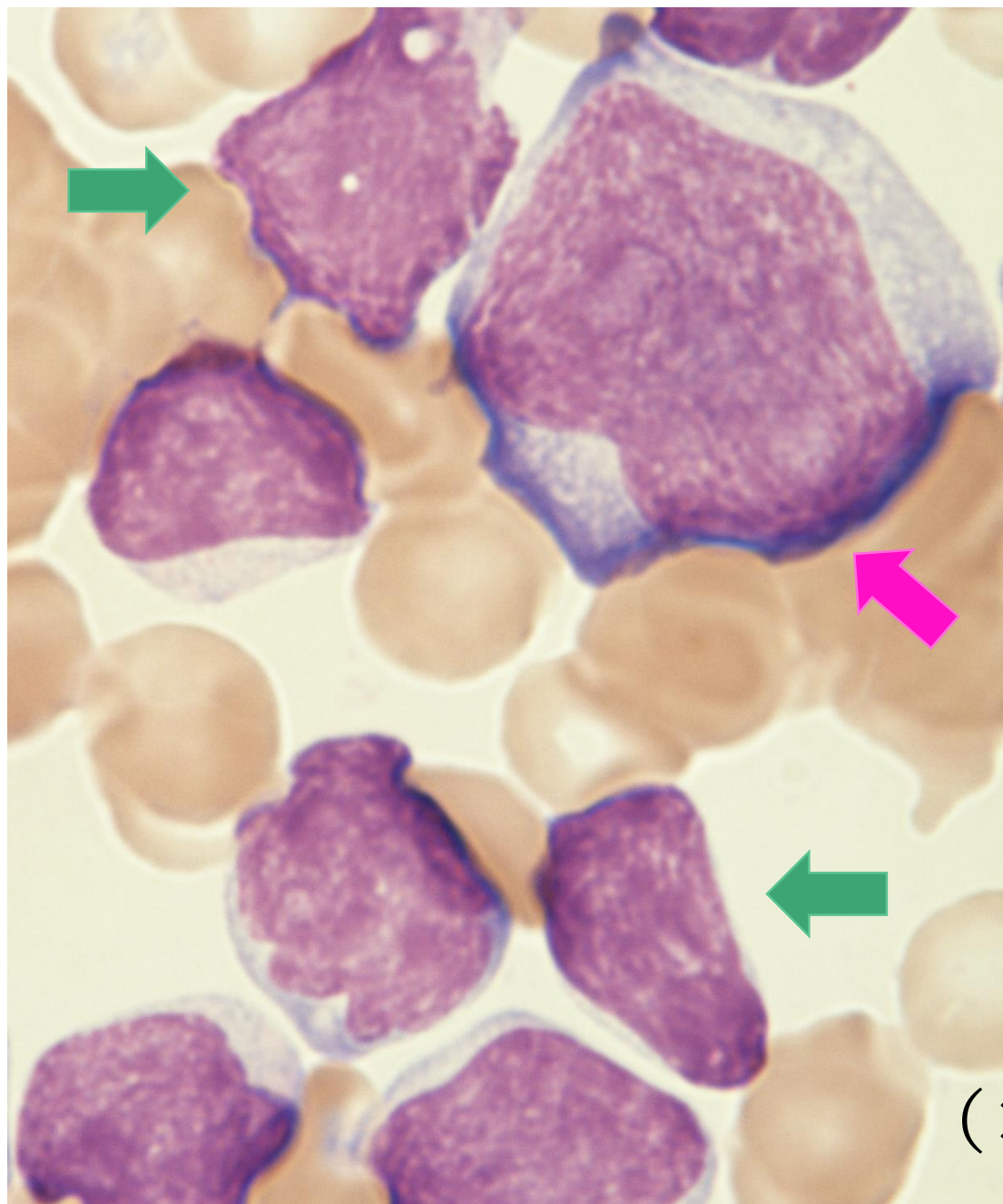
核形：類円形～不整形
細胞質好塩基性：強～弱



症例 3 骨髓所見

【骨髓MG染色】

核形：類円形～不整形
細胞質好塩基性：強～弱

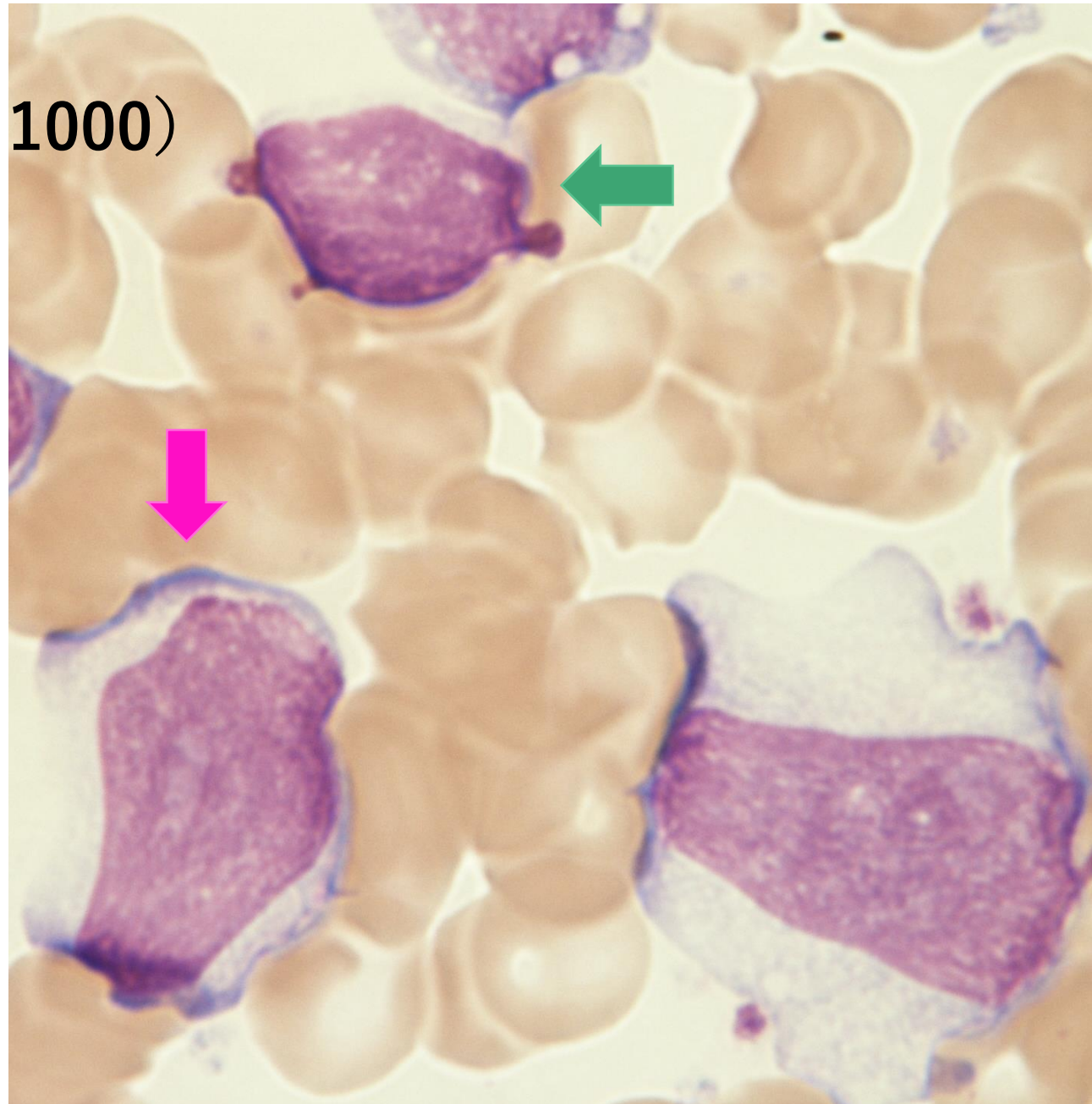
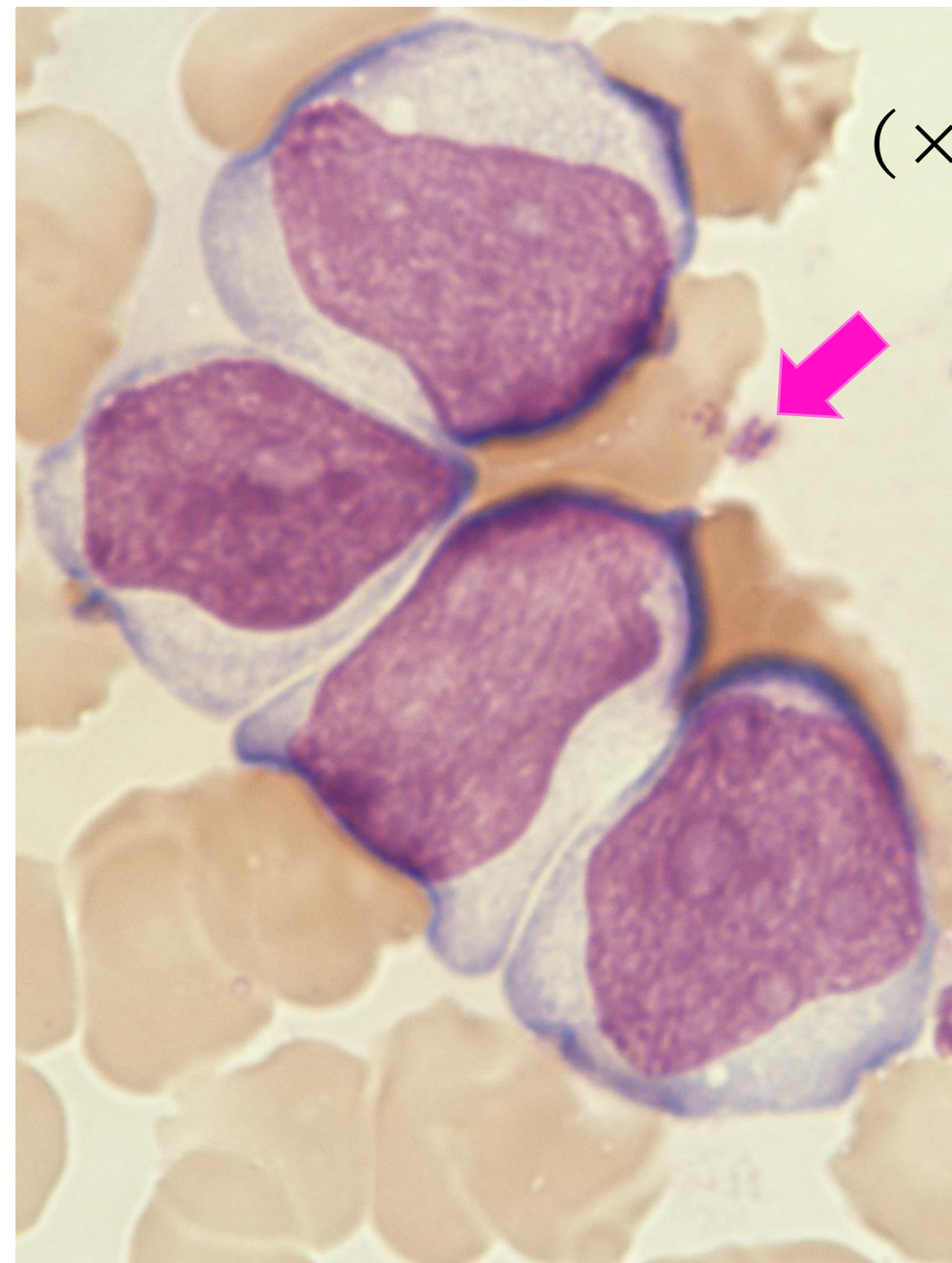


(×1000)

症例 3 骨髓所見

【骨髓MG染色】

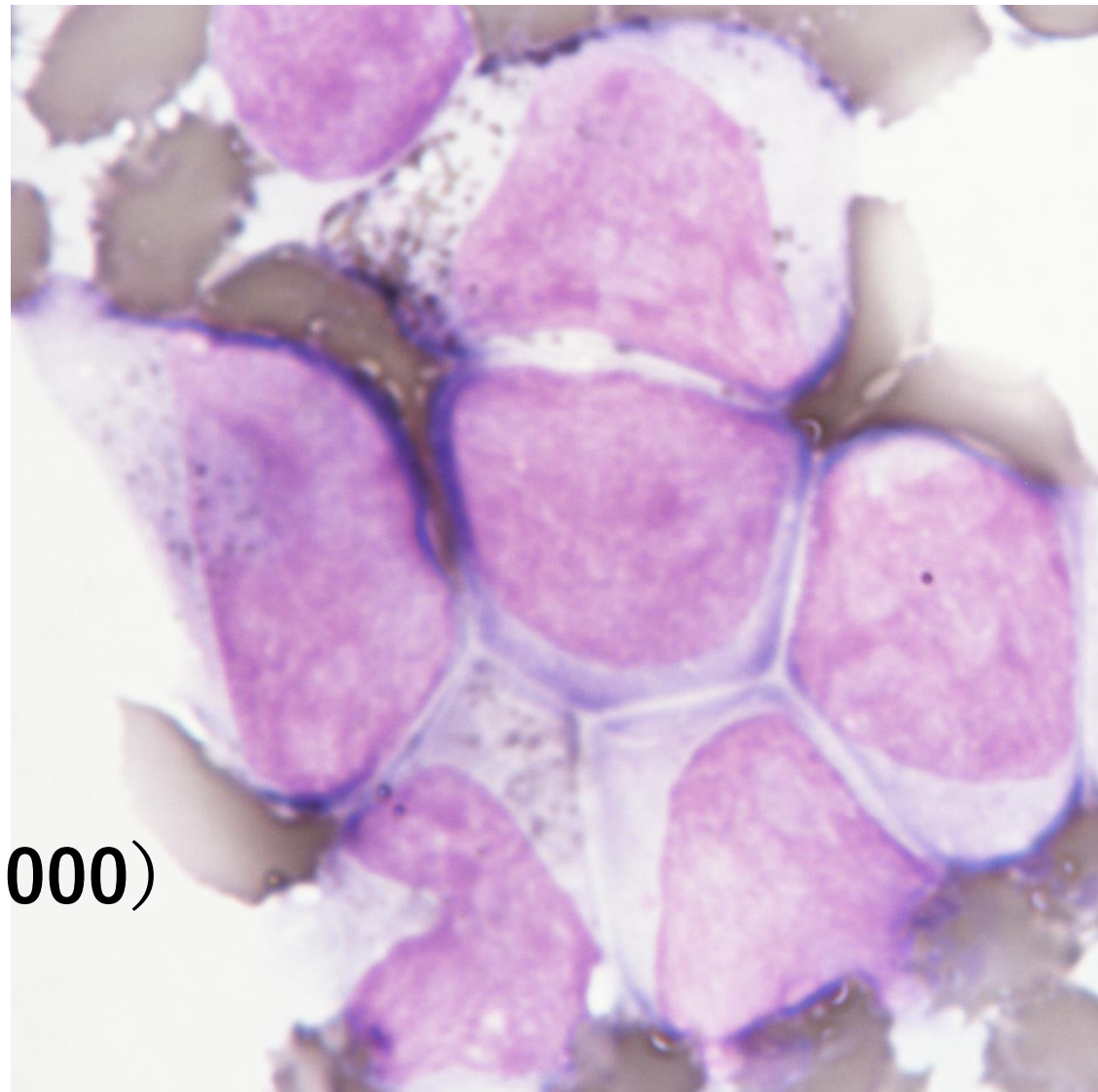
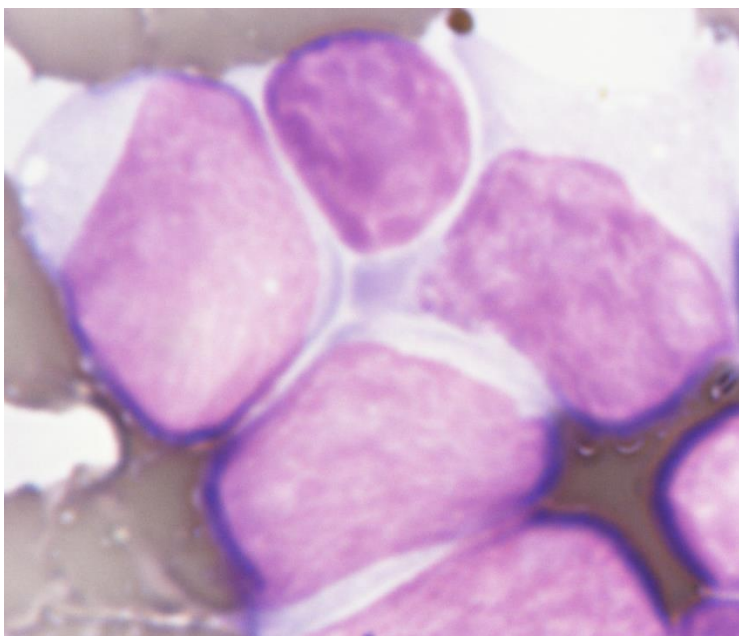
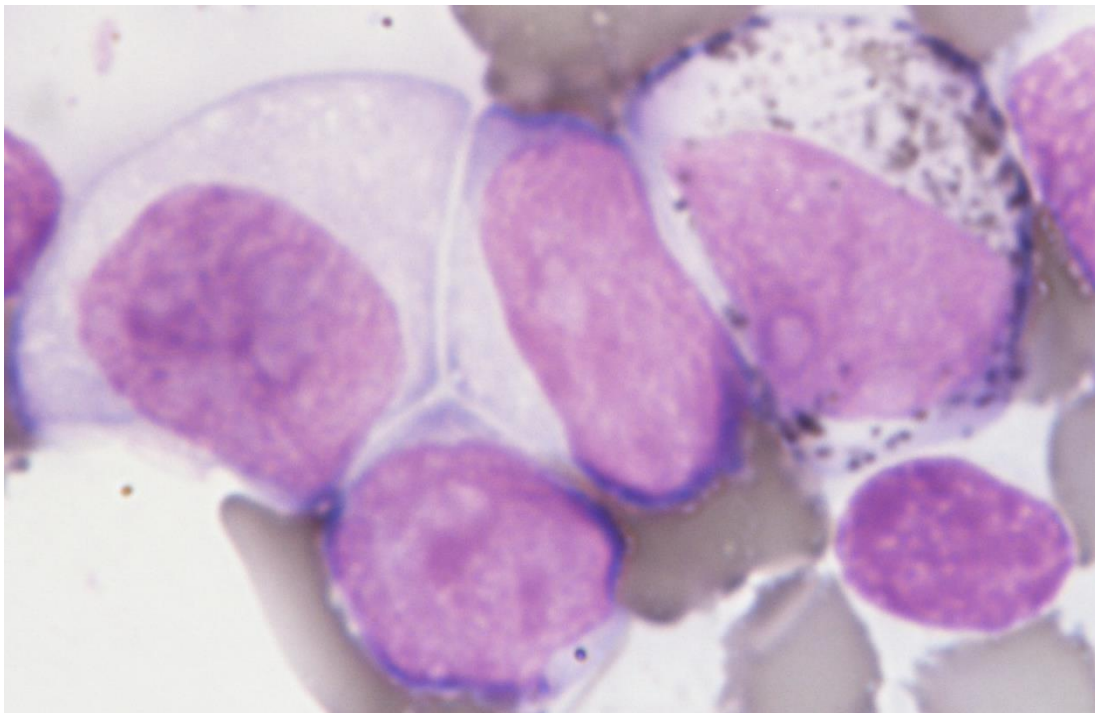
核形：類円形～不整形
細胞質好塩基性：強～弱



特殊染色結果

症例 3 骨髓所見

【骨髓MPO染色】



($\times 1000$)

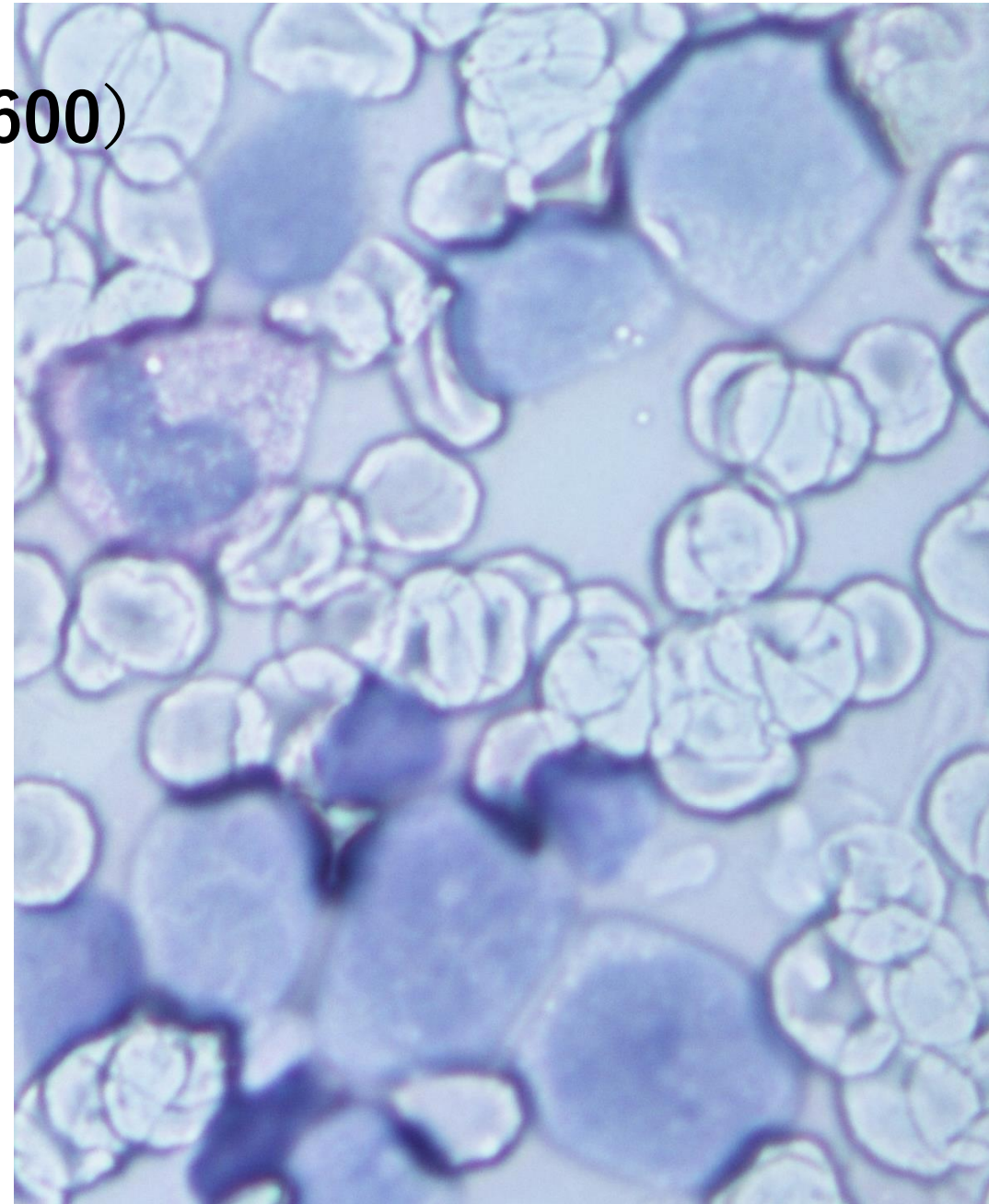
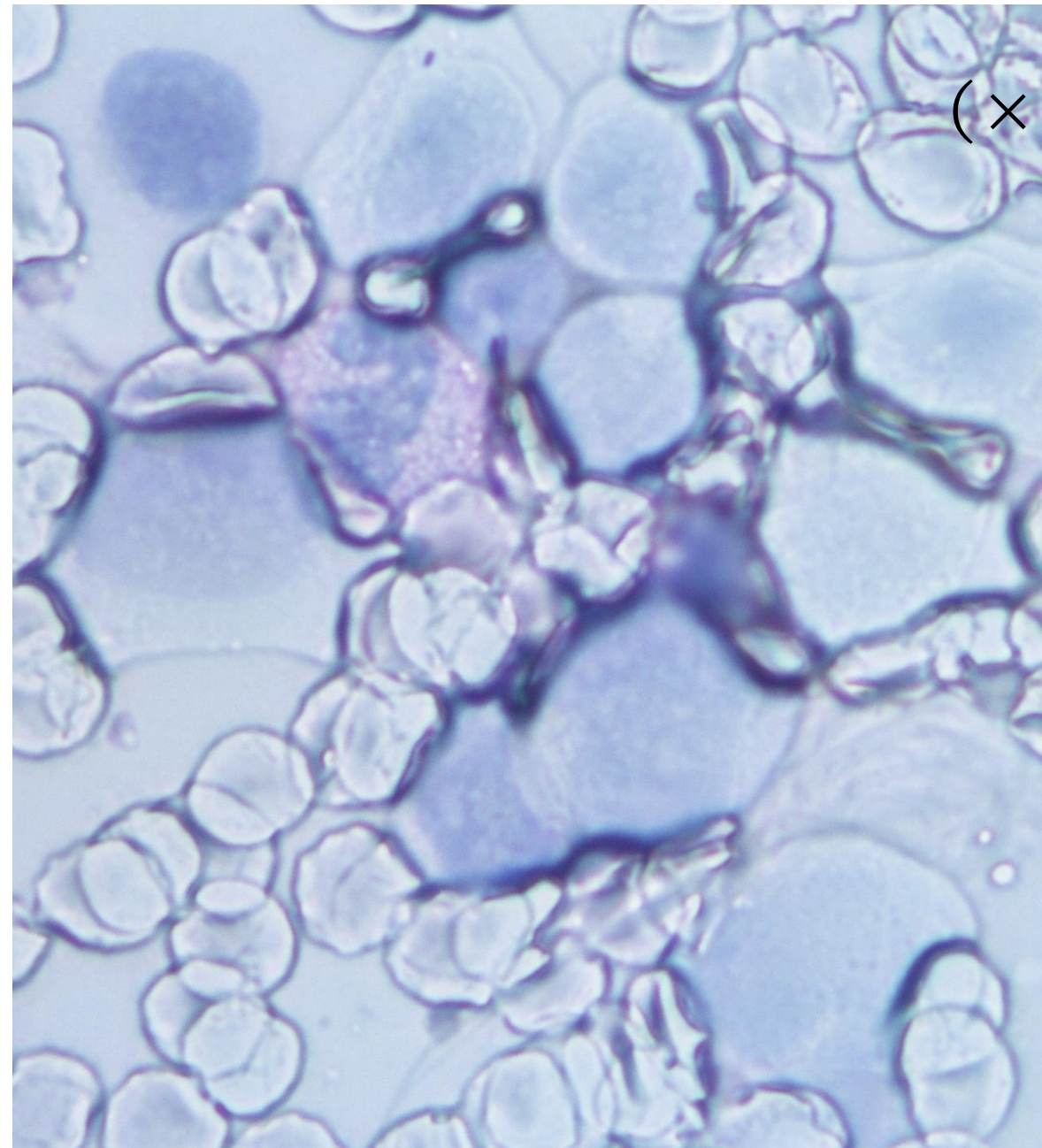
芽球(中～大型)：陽性率5.4%(27/500)
芽球(小型)：MPO陰性

症例 3 骨髓所見

【骨髓PAS染色】

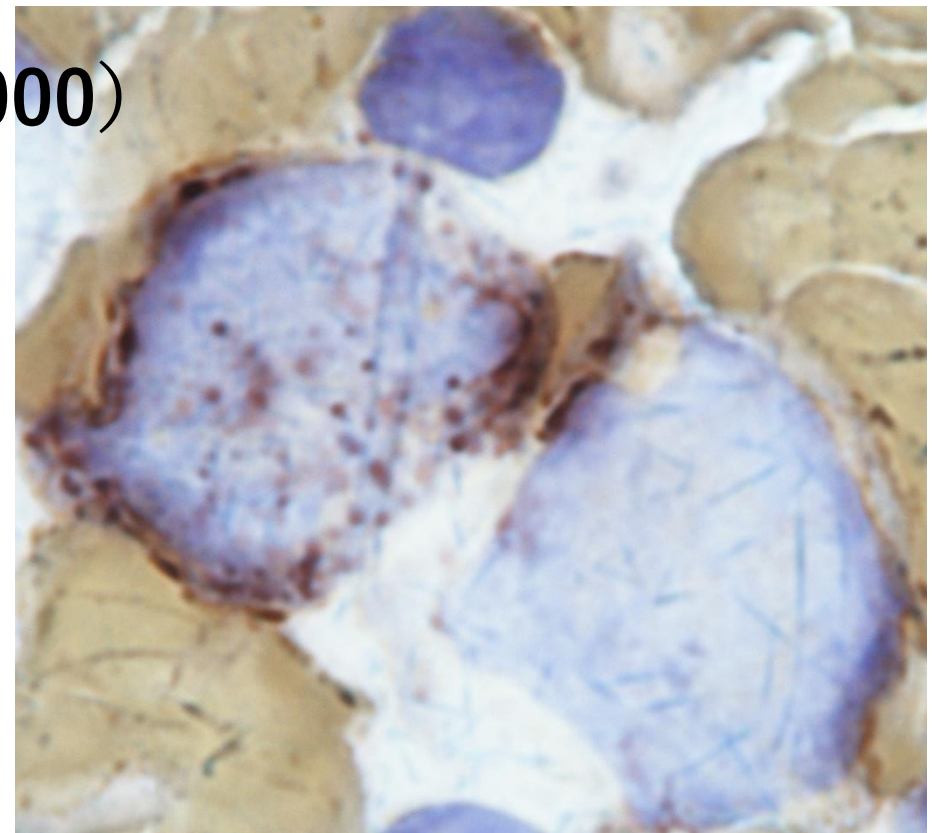
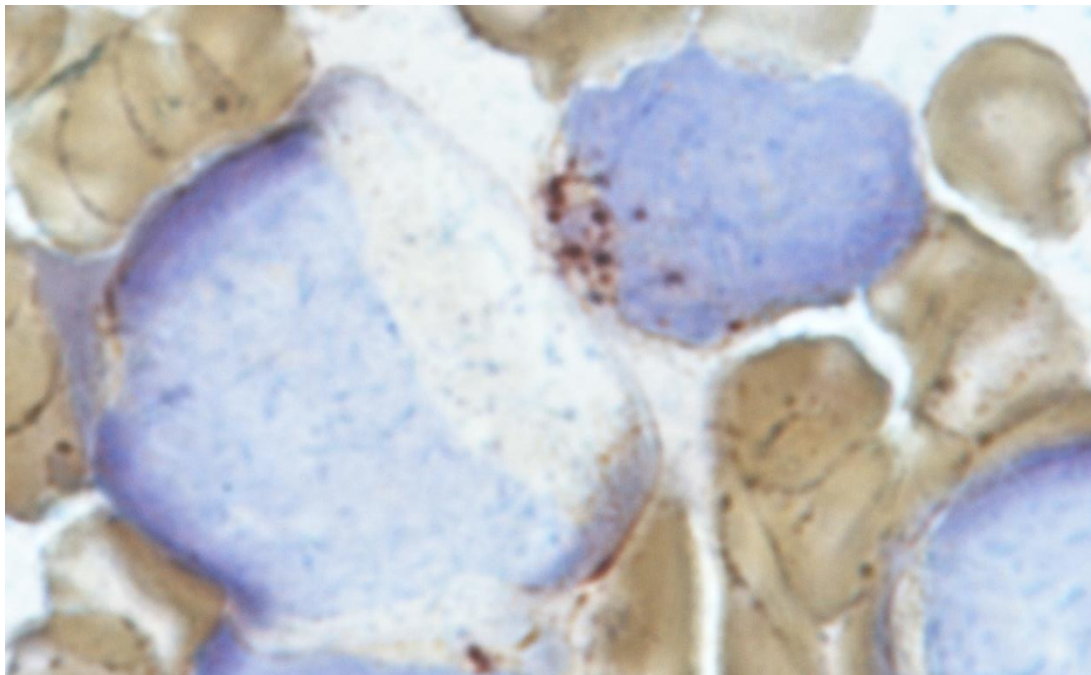
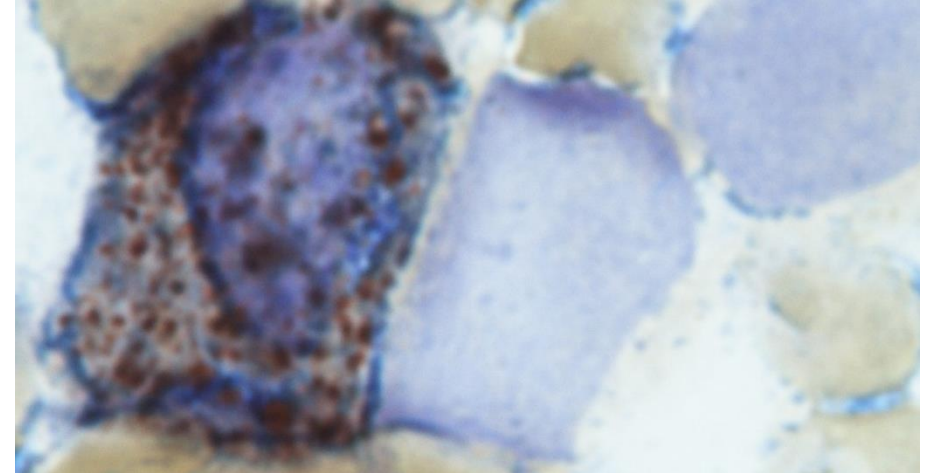
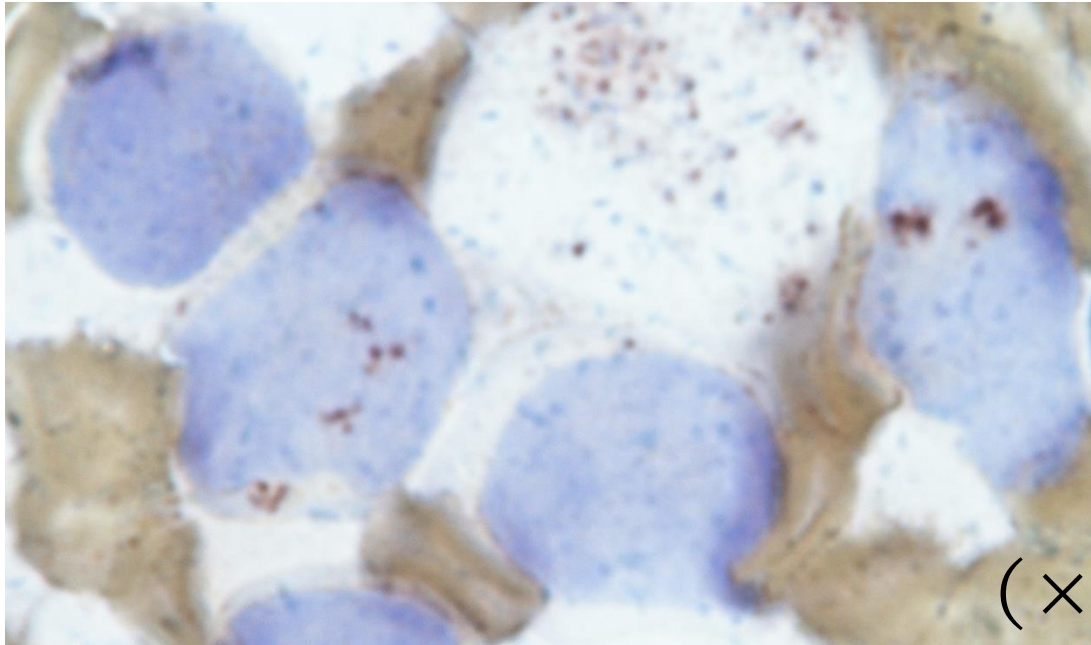
PAS : 陰性

(×600)



症例 3 骨髓所見 【骨髓Esterase染色】

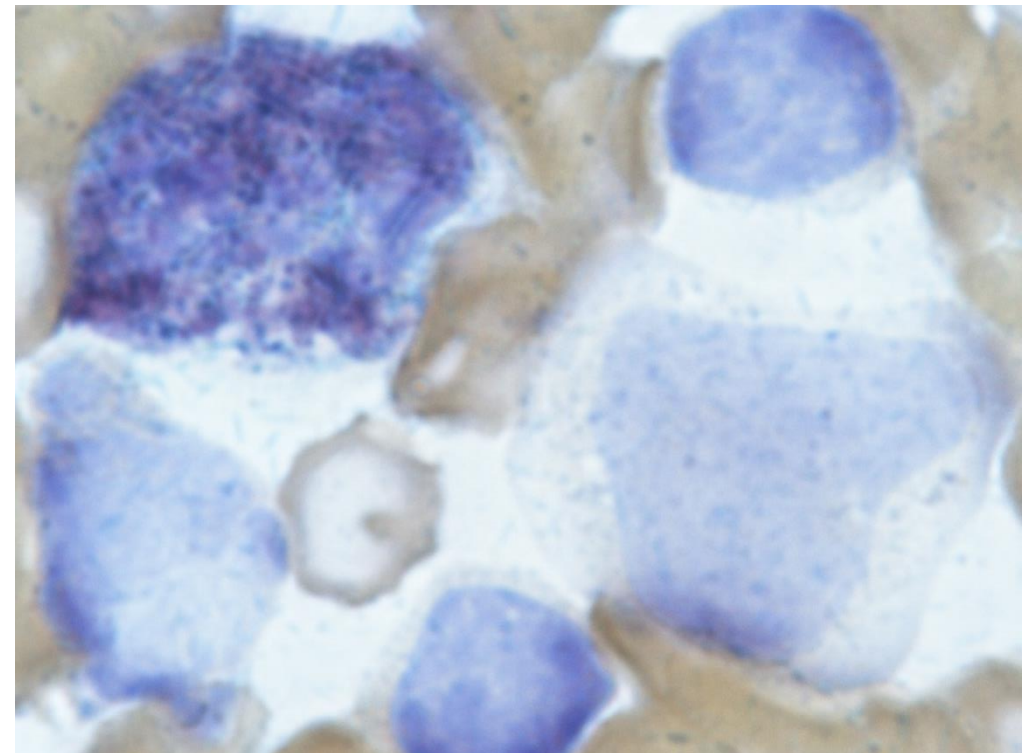
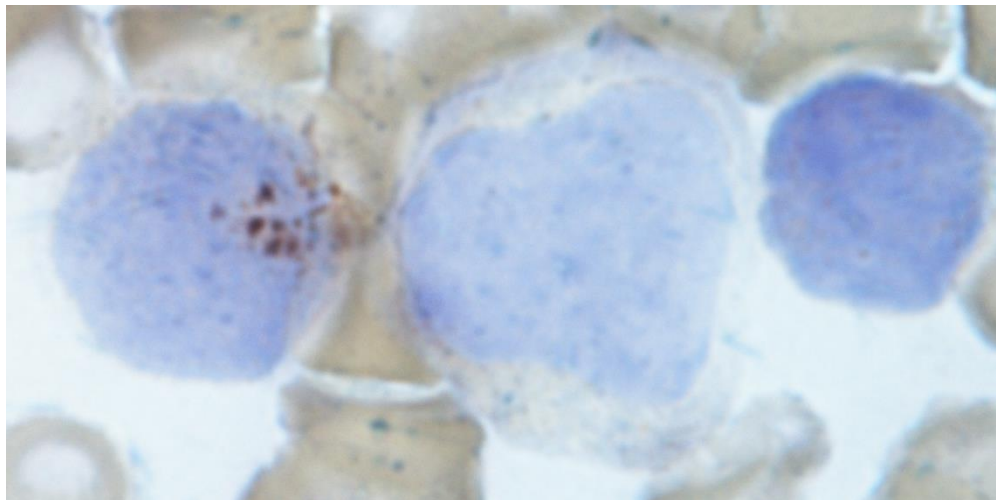
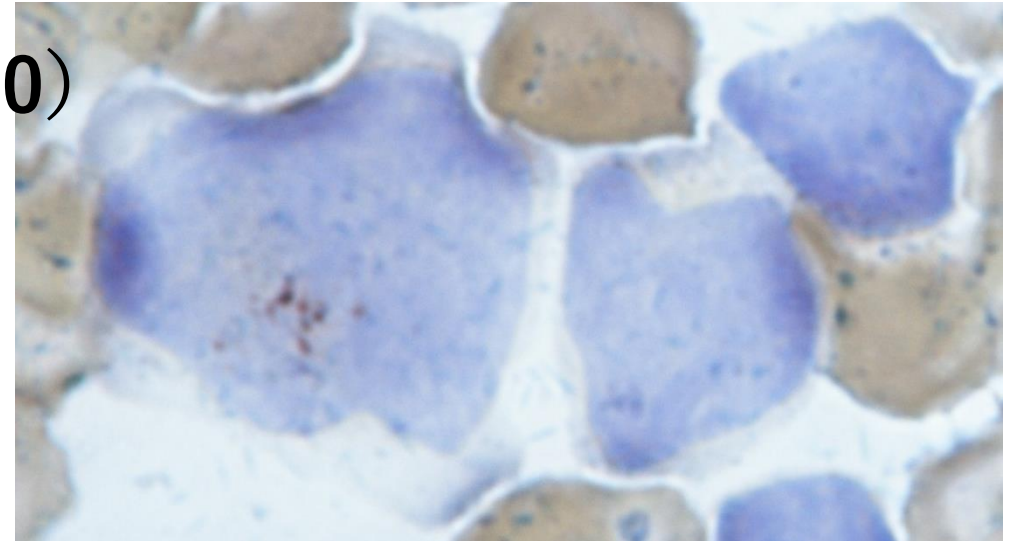
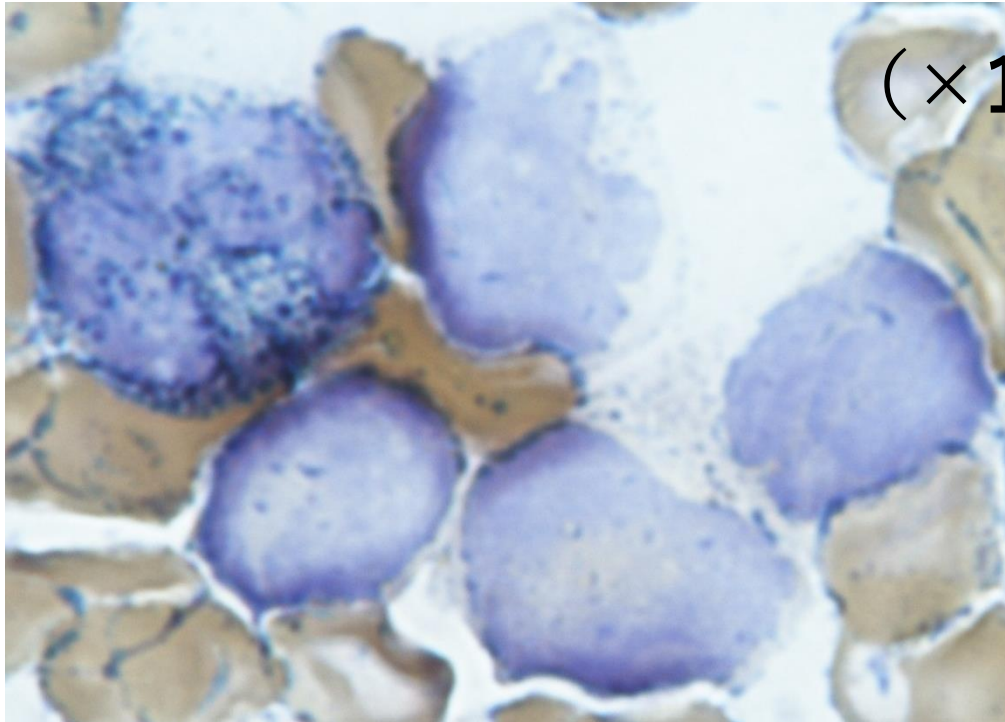
**非特異的Est：
ごく一部の芽球で顆粒状陽性
を確認**



症例 3 骨髓所見

【骨髓Esterase染色 NaF阻害】

NaFによる阻害：
リンパ芽球と思われる
小型芽球⇒阻害されず



症例 3 特殊染色結果まとめ

	POD	PAS	非特異的Esterase
大型芽球	一部陽性	陰性	ごくわずかに陽性
小型芽球	陰性	陰性	ごくわずかに陽性

症例 3 骨髓検査所見（カウント）

顆粒球系	好中球系	骨髓芽球	0.0 %	リンパ球系	リンパ芽球	0.0 %
		前骨髓球	0.4 %		リンパ球	4.4 %
		骨髓球	1.6 %		形質細胞	0.4 %
		後骨髓球	0.8 %		マクロファージ	0.0 %
		桿状核球	0.4 %		肥満細胞	0.0 %
		分葉核球	2.0 %	赤芽球系	前赤芽球	0.0 %
	好酸球系	前骨髓球	0.0 %		好塩基性赤芽球	0.0 %
		骨髓球	0.0 %		多染性 + 正染性赤芽球	1.2 %
		後骨髓球	0.0 %		分裂像(顆粒球系)	1
		桿状核球	0.0 %		分裂像(赤芽球系)	0
		分葉核球	0.0 %		Unknown cell	86.8 %
		幼若好塩基球	0.0 %		カウント数	250
		好塩基球	2.0 %		M/E比	4.33
単球系		単芽球	0.0 %	Unknown cellは、 小型～中型のLymphoblast様細胞と 中型～大型のMyeloblast様/Monoblast 様細胞を含む。		
		前単球	0.8 %			
		単球	1.2 %			

症例 3 骨髓所見シート

形態的特徴

小型～大型まで、様々な大きさの芽球が出現

(1)細胞の大きさ	小	中	大	(正常リンパ球を小、好中球を中とする)
(2)N/C比	< 60%	60~80%	> 80%	N/C比も様々
(3)核の形状 (不整、切れ込みなどの有無)	類円形~不整形			
(4)クロマチンの性状	網状繊細	顆粒状	粗剛	塊状
(5)核小体	不明瞭	明瞭	クロマチン粗剛・核小体不明瞭な lymphoblast様細胞	
(6)細胞質	1)好塩基性	強い	弱い	
	2)顆粒 (顆粒の大きさ、色調、大体の個数を記載)	なし		
	3)細胞質辺縁	不整	不明瞭	偽足様突起
	4)その他の構造			

クロマチン繊細・核小体明瞭な myeloblast 様細胞

クロマチン粗剛・核小体不明瞭な lymphoblast 様細胞

症例 3 考えられる疾患

Mixed phenotype acute leukemia
(MPAL)

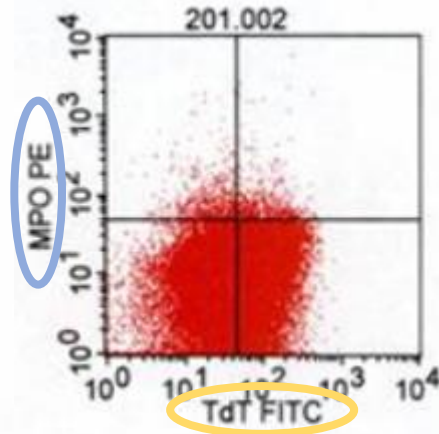
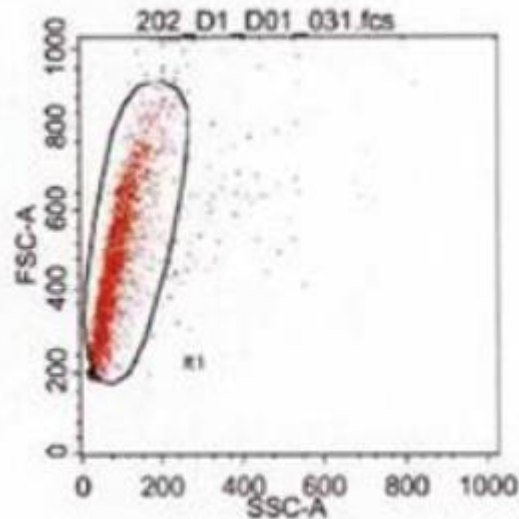
⇒ 診断にはFCMを用いた細胞表面
マーカー検査が必要

FCM結果

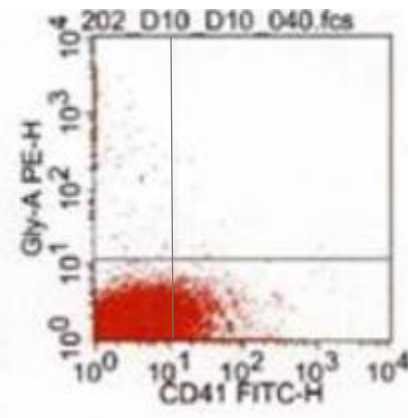
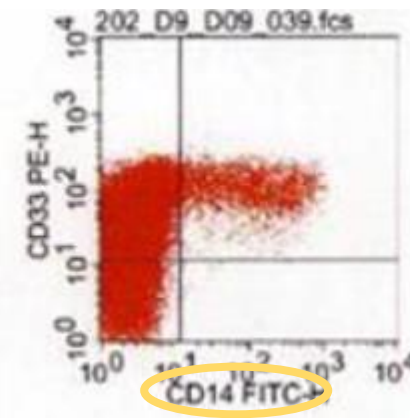
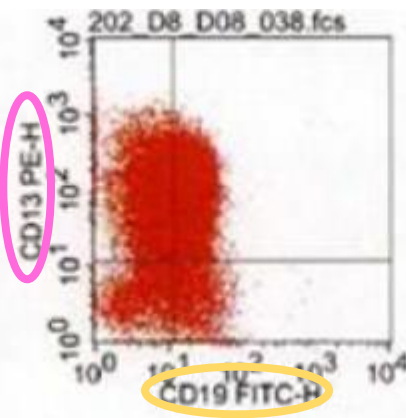
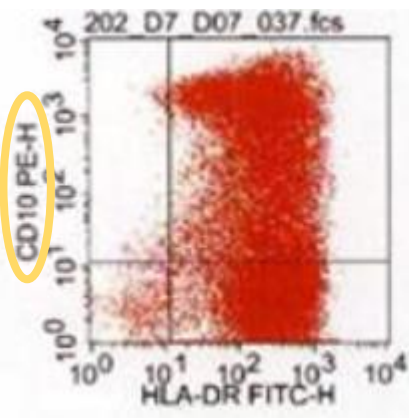
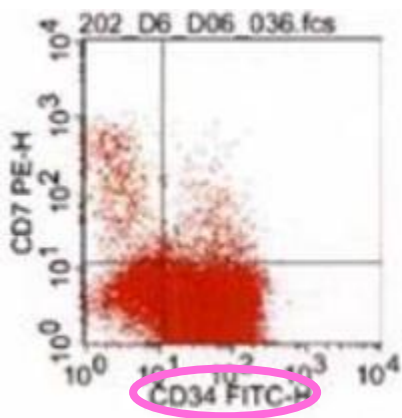
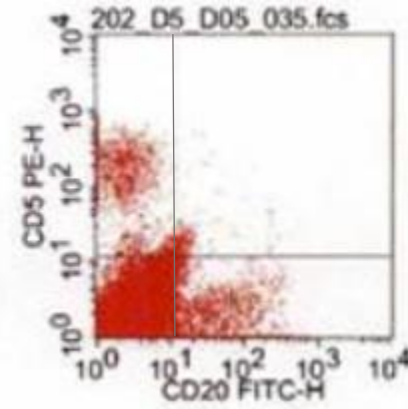
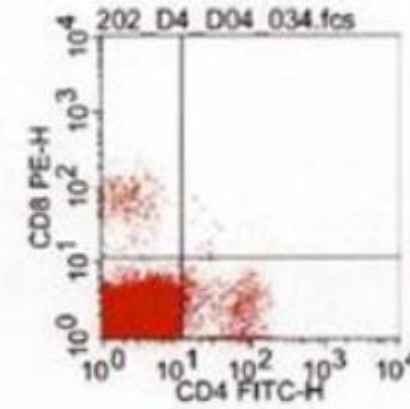
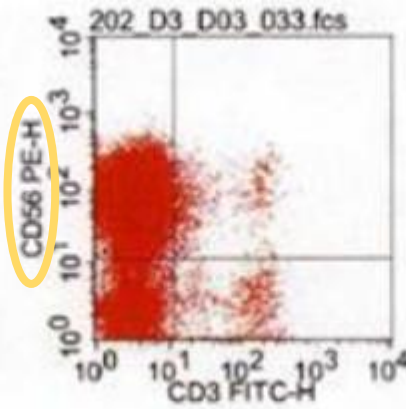
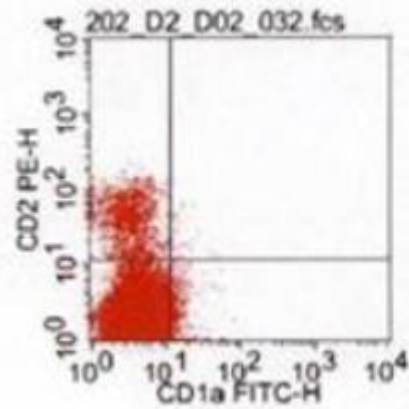
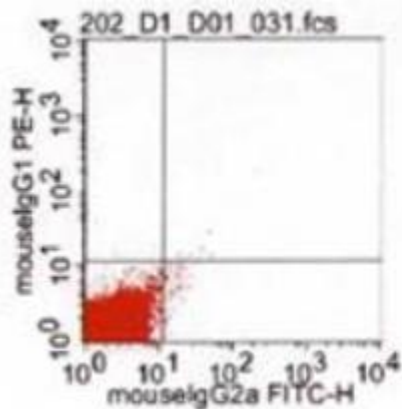
症例 3 骨髓FCM(外注検査)

<陽性率>

CD34 :88%, CD13 :86%,
CD10 :38%, CD19 :60%,
CD14 :5%, CD56 :70%



陽性 : CD34, CD13
一部陽性 : CD10, CD19, CD14,
CD56, TdT
陰性 : MPO



MPALの細胞系統同定のための基準 (WHO分類2017)

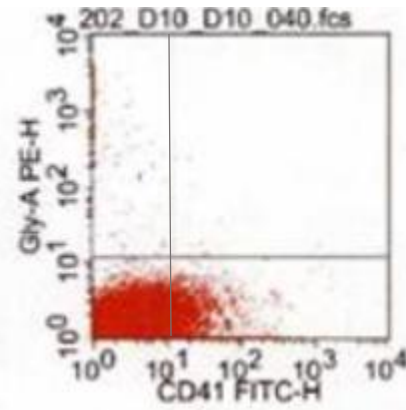
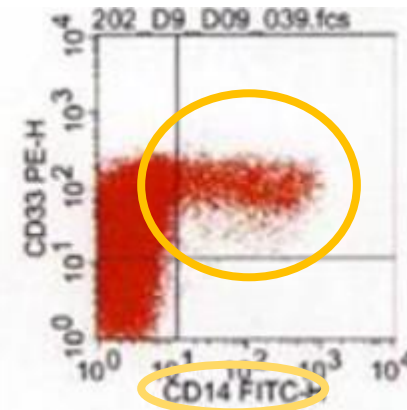
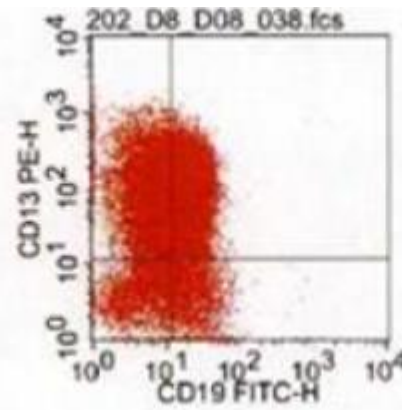
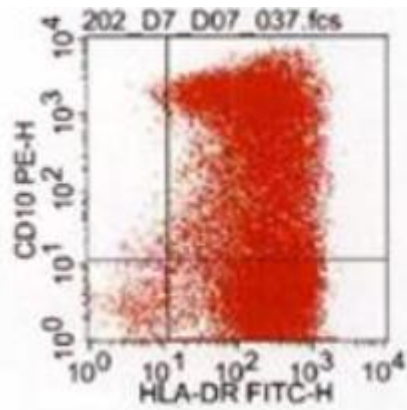
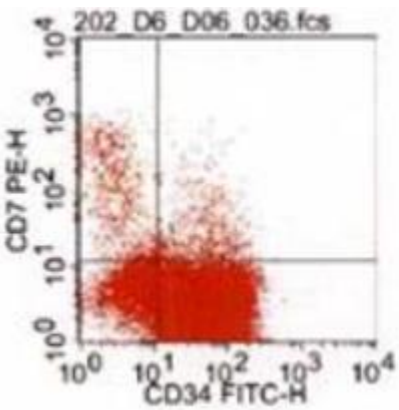
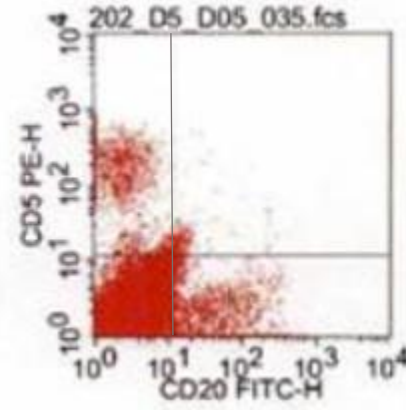
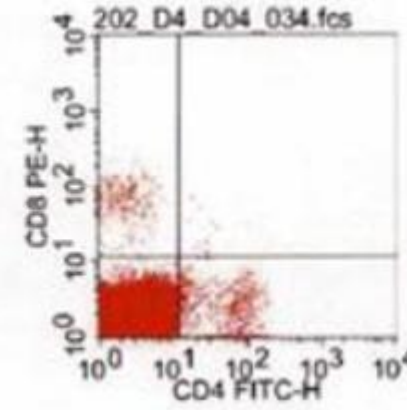
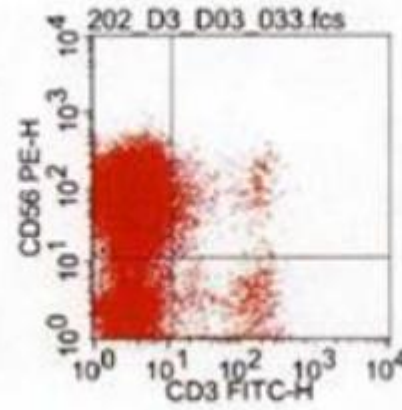
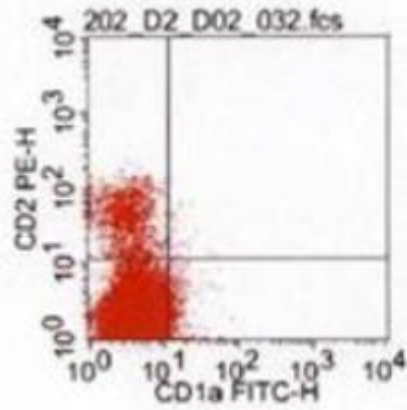
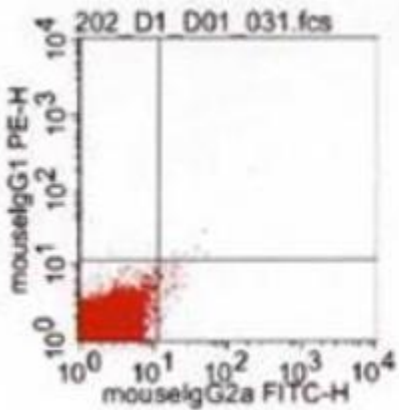
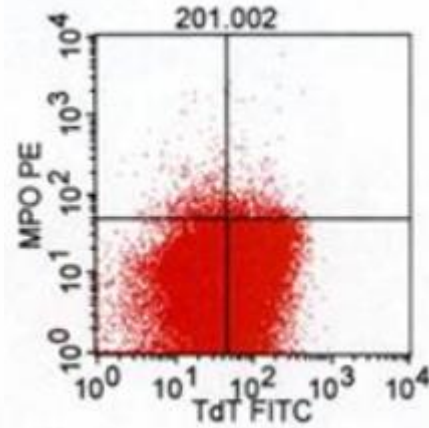
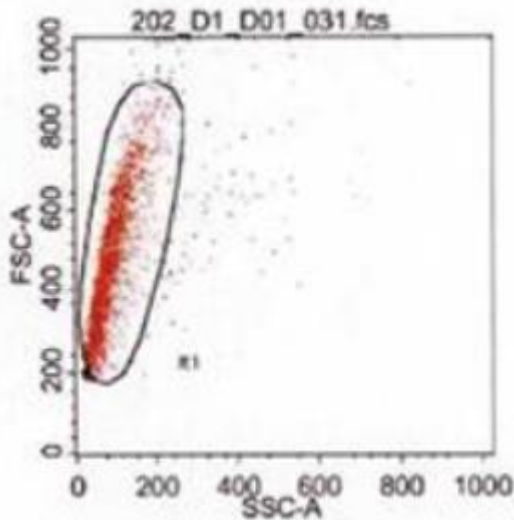
細胞系統	細胞系統同定のための要求事項
骨髄系	①MPO陽性（FCM、免疫組織染色または細胞化学） もしくは ②単球系への分化（非特異的Est染色(びまん性陽性)・ CD11c・CD14・CD64・リゾチームの2つ以上が陽性)
T細胞系	①細胞質内CD3（FCMの場合のみ） もしくは ②細胞表面CD3
B細胞系	①CD19強陽性 + CD79a, 細胞質内CD22, CD10の1つ以上が強陽性 ②CD19弱陽性 + CD79a, 細胞質内CD22, CD10の2つ以上が強陽性

症例 3 骨髓FCM(外注検査)

<陽性率>

CD34 :88%, CD13 :86%,
CD10 :38%, CD19 :60%,
CD14 :5%, CD56 :70%

陽性 : CD34, CD13
一部陽性 : CD10, CD19, **CD14**,
CD56, TdT
陰性 : MPO



MPALの細胞系統同定のための基準 (WHO分類2017)

検査項目	測定値	基準値
リゾチーム (血清)	33.1 μg/mL	4.2~11.5 μg/mL

細胞系統

細胞系統同定のための要求事項

骨髄系

- ①MPO陽性（FCM、免疫組織染色または細胞化学）
もしくは
- ②単球系への分化（非特異的Est染色（びまん性陽性）・
CD11c・CD14・CD64・リゾチームの2つ以上が陽性）

T細胞系

- ①細胞質内CD3（FCMの場合のみ）
もしくは
- ②細胞表面CD3

B細胞系

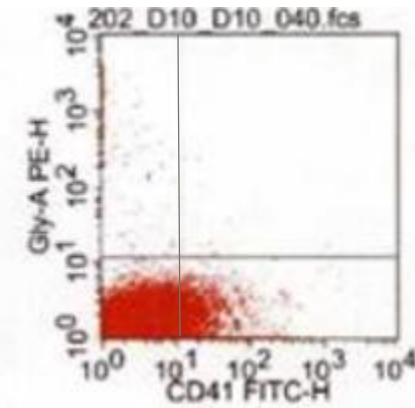
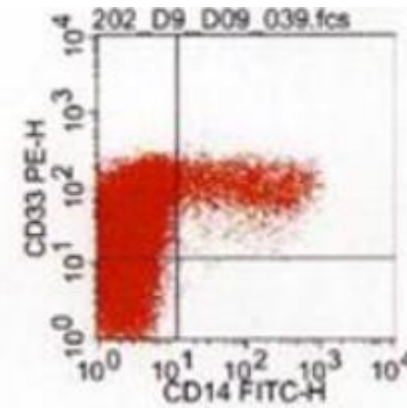
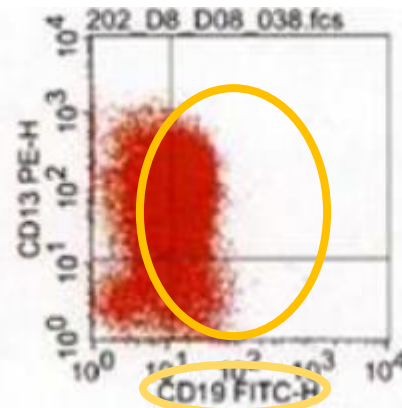
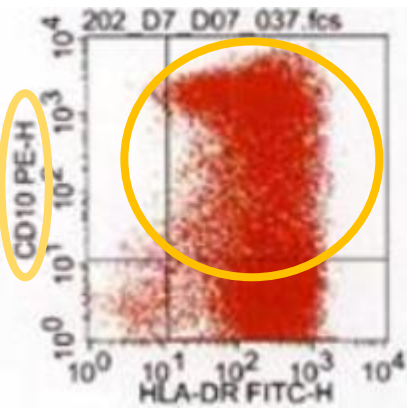
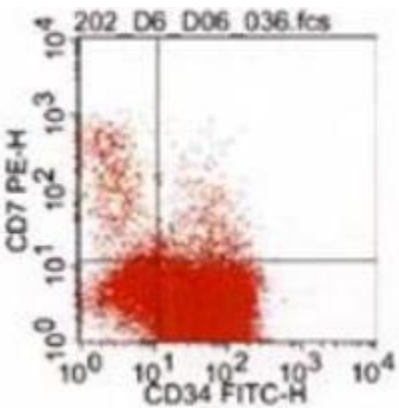
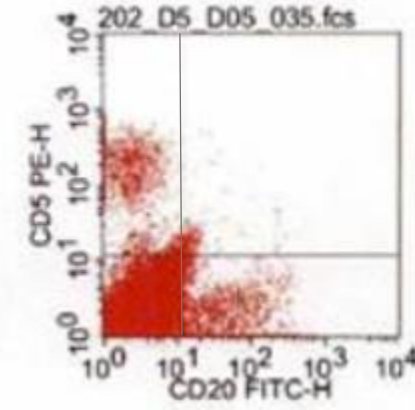
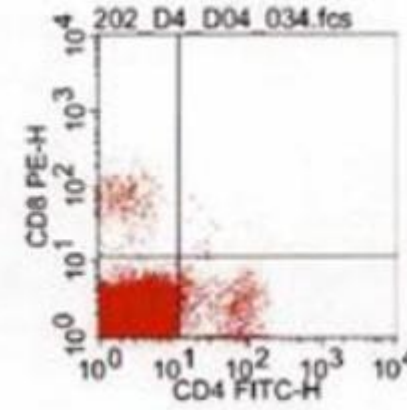
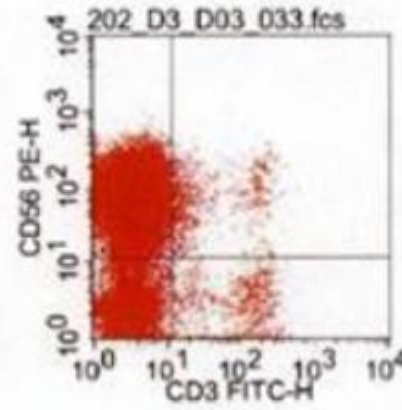
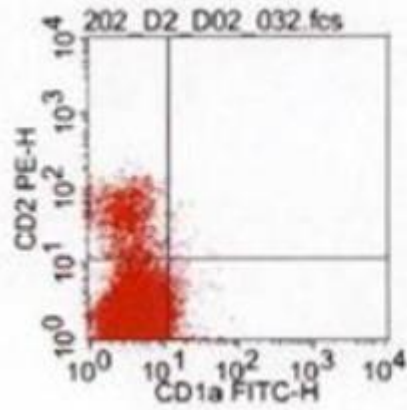
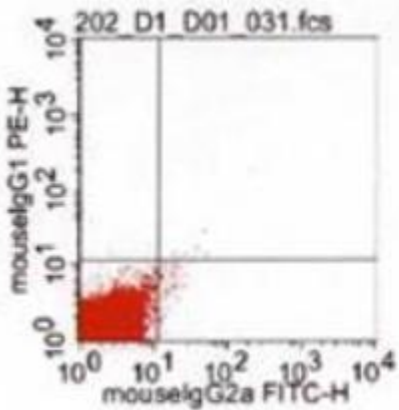
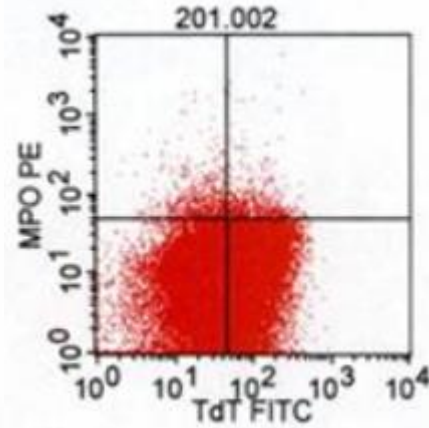
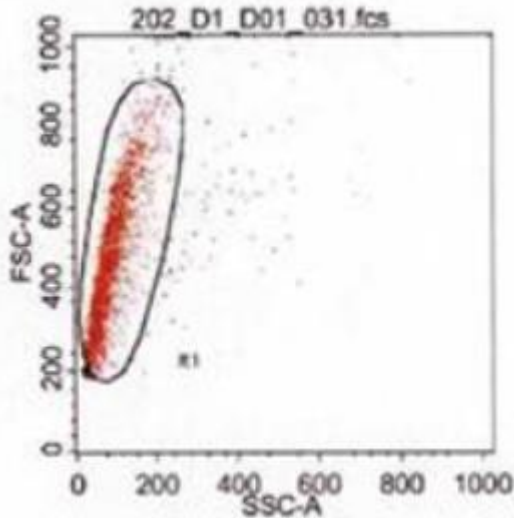
- ①CD19強陽性 + CD79a, 細胞質内CD22, CD10の1つ以上が強陽性
- ②CD19弱陽性 + CD79a, 細胞質内CD22, CD10の2つ以上が強陽性

症例 3 骨髓FCM(外注検査)

<陽性率>

CD34 :88%, CD13 :86%,
CD10 :38%, CD19 :60%,
CD14 :5%, CD56 :70%

陽性 : CD34, CD13
一部陽性 : **CD10**, **CD19**, CD14,
CD56, TdT
陰性 : MPO



MPALの細胞系統同定のための基準 (WHO分類2017)

細胞系統

細胞系統同定のための要求事項

骨髓系

- ①MPO陽性（FCM、免疫組織染色または細胞化学）
もしくは
- ②単球系への分化（非特異的Est染色（びまん性陽性）・
CD11c・CD14・CD64・リゾチームの2つ以上が陽性）

T細胞系

- ①細胞質内CD3（FCMの場合のみ）
もしくは
- ②細胞表面CD3

B細胞系

- ①CD19強陽性 + CD79a, 細胞質内CD22, CD10の1つ以上が強陽性
- ②CD19弱陽性 + CD79a, 細胞質内CD22, CD10の2つ以上が強陽性

治療開始後4日目の 末梢血FCM結果

【白血球分画】

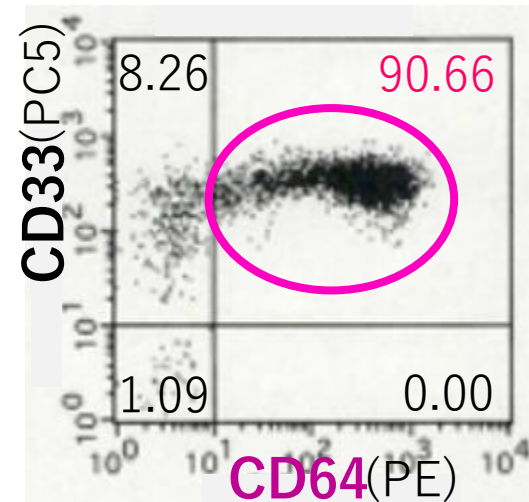
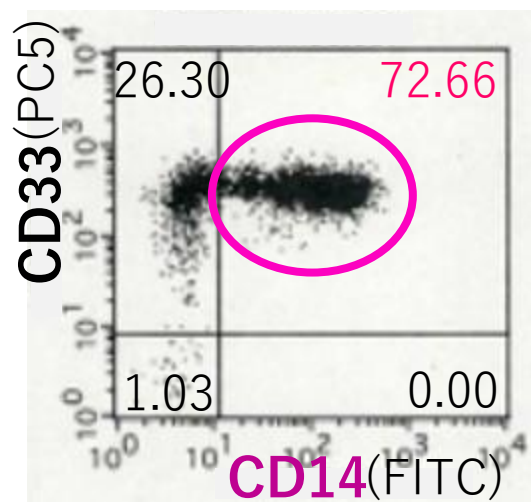
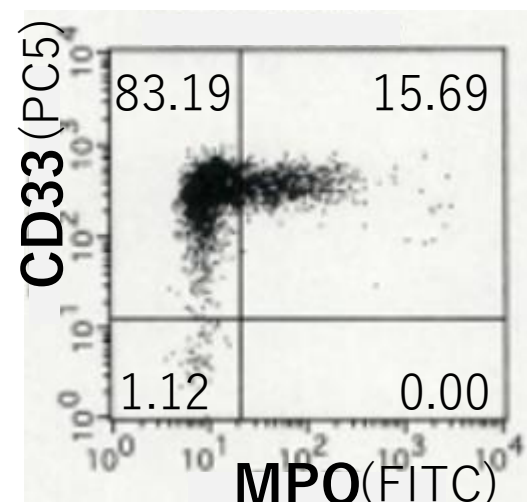
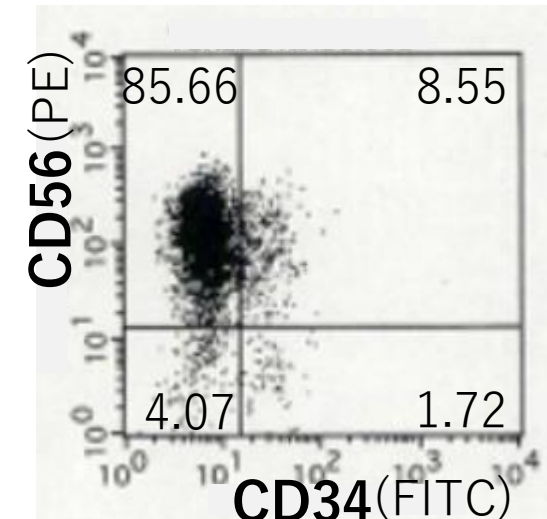
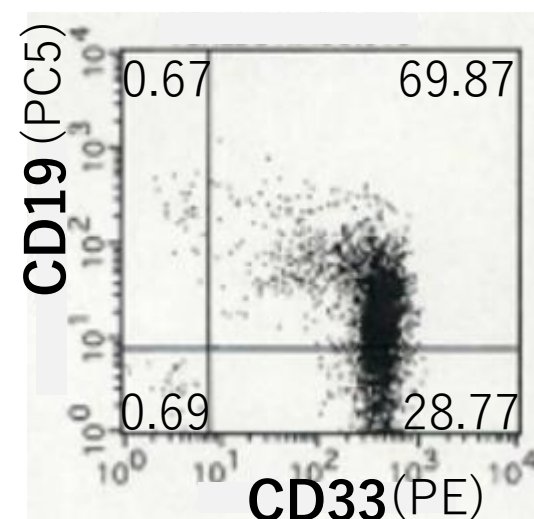
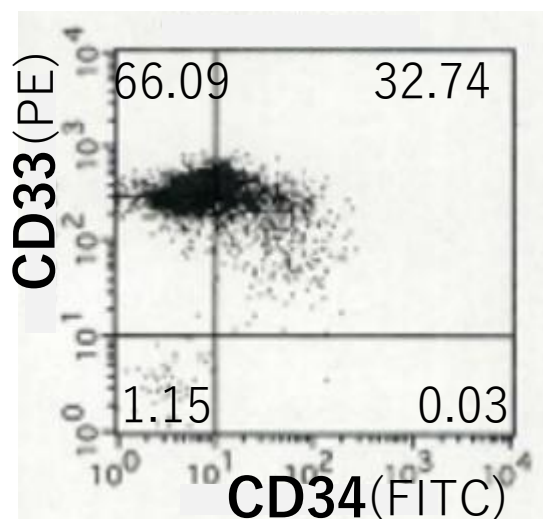
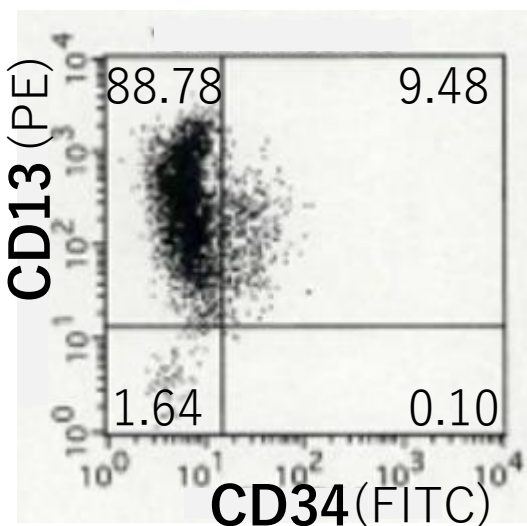
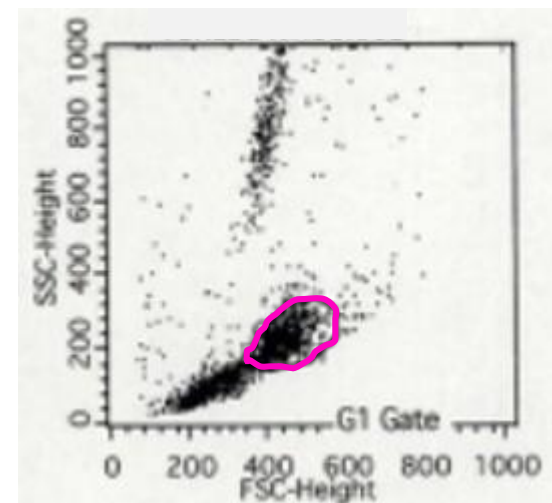
WBC	22.19	× 10 ⁹ /L
Neut	15.0	%
Lym	14.0	%
Mono	46.0	% (一部幼弱な細胞を含む)
Myelo	1.0	%
Blast	24.0	%

症例 3 末梢血FCM(院内)

大型細胞集団：Mono系への分化

陽性：CD13, CD33, CD19, CD56, HLA-DR, **CD64**

一部陽性：CD34, CD4, **CD14**, CD16, MPO



検査項目	測定値	基準値
リゾチーム(血清)	33.1 μg/mL	4.2~11.5 μg/mL
リゾチーム(尿)	91.2 μg/mL	1.0未満 μg/mL

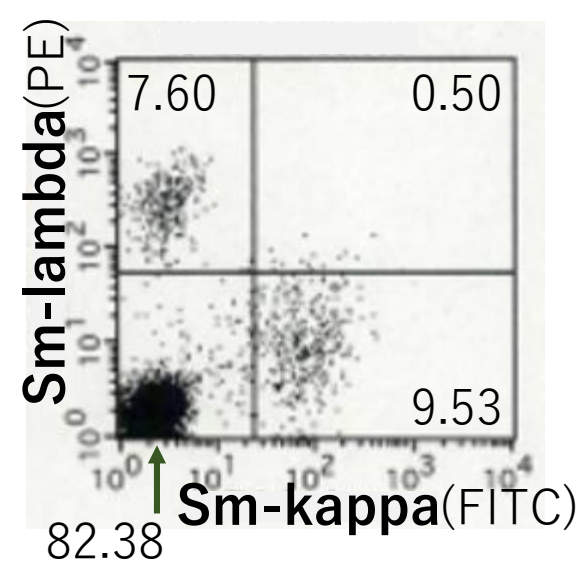
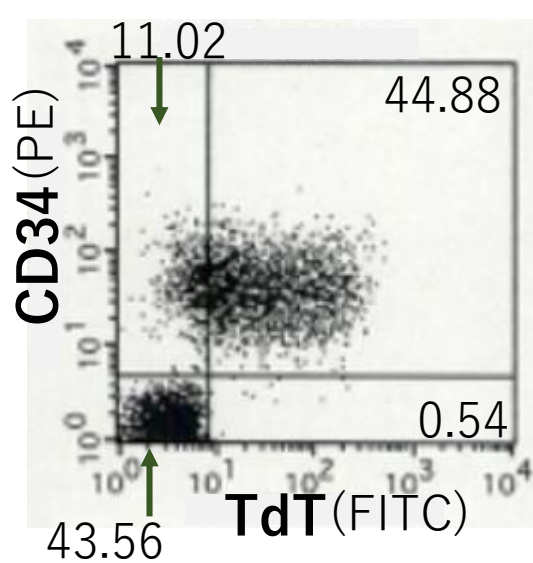
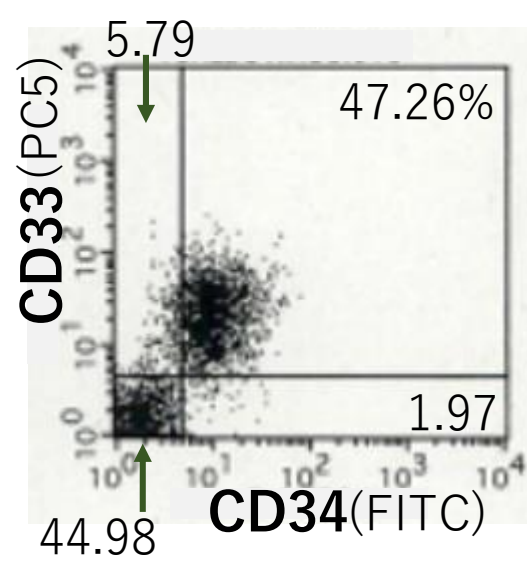
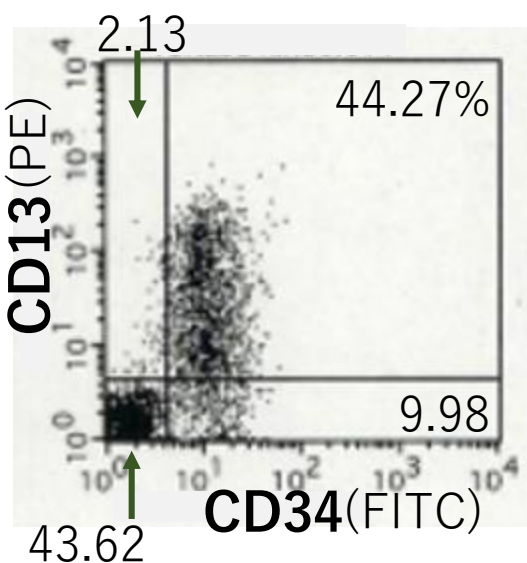
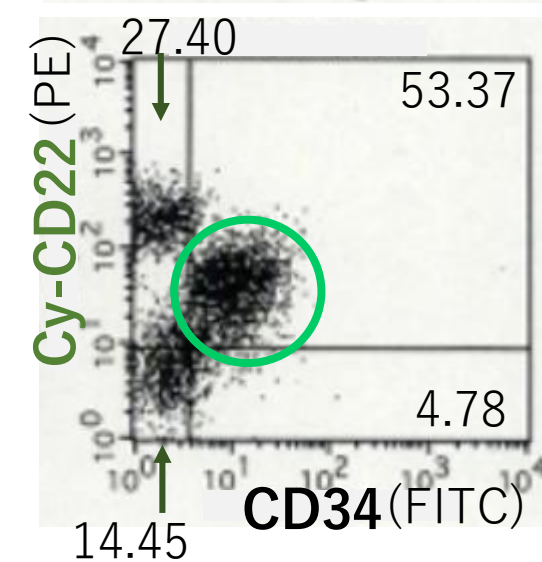
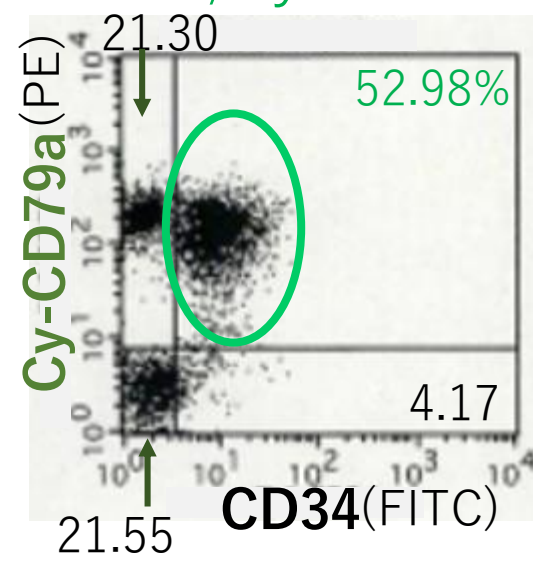
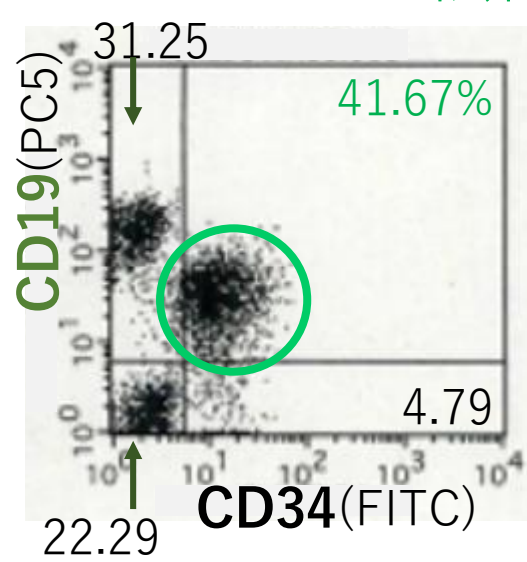
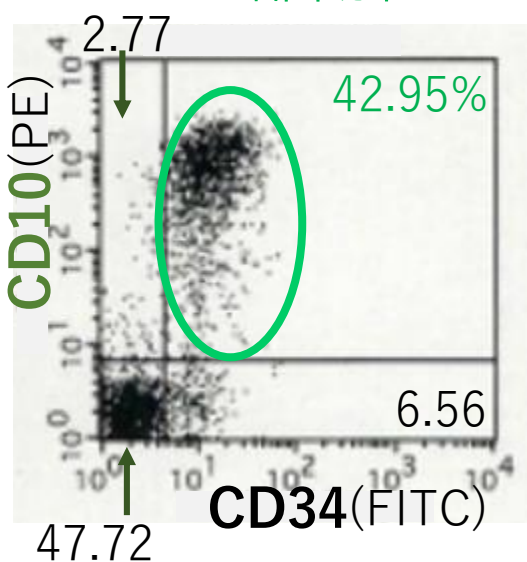
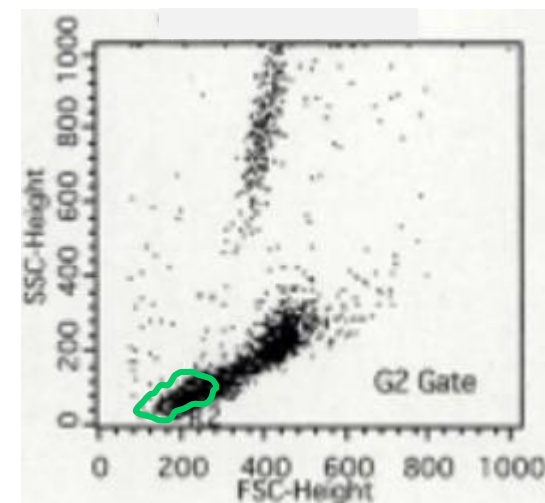
症例 3 末梢血FCM(院内)

小型細胞集団： **B細胞系への分化**

陽性：CD34, **CD10**, **CD19**, **cy-CD79a**, **cy-CD22**,
CD13, CD33, HLA-DR, TdT

一部陽性：CD56

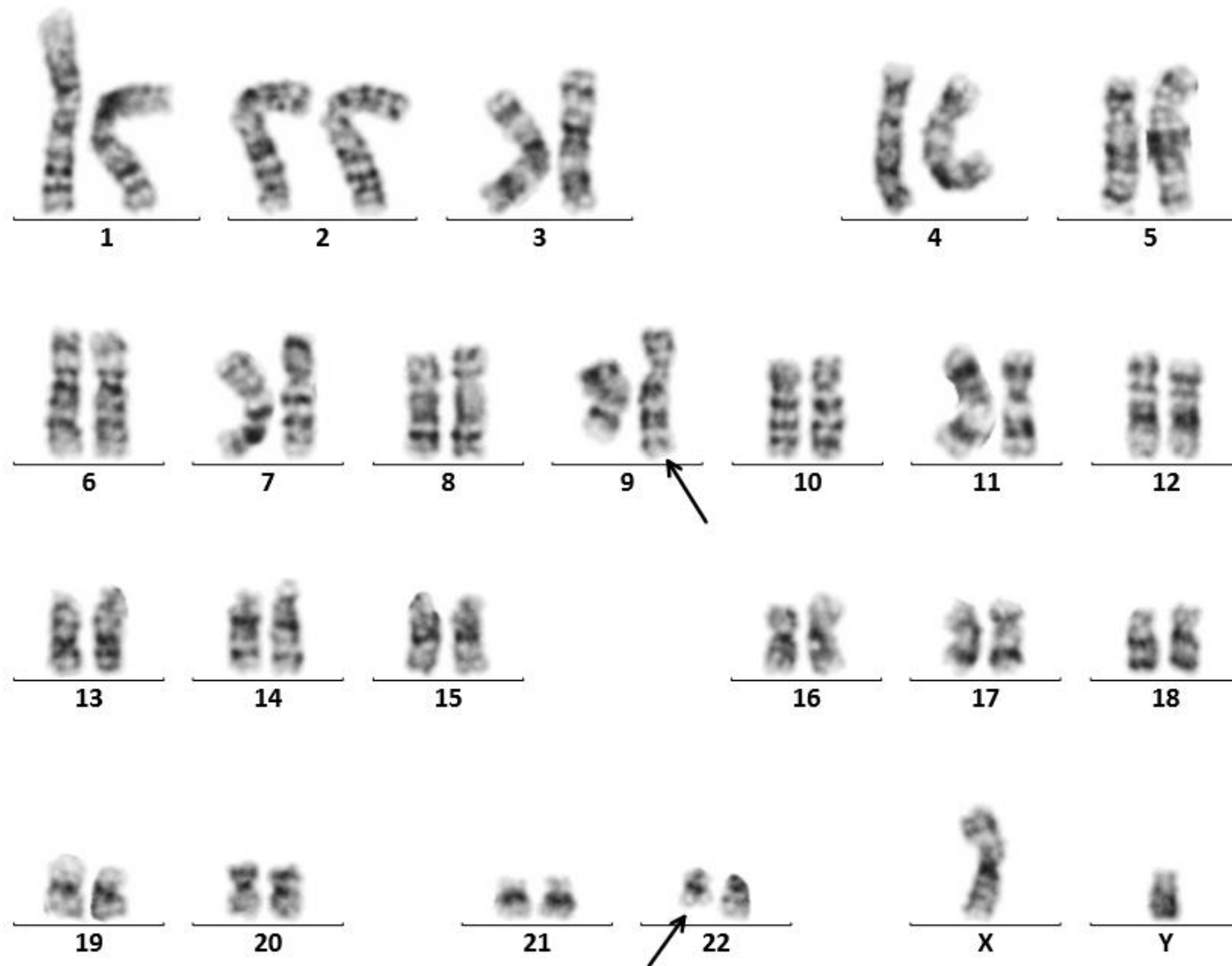
陰性：MPO, cy-CD3



MPALの細胞系統同定のための基準 (WHO分類2017)

細胞系統	細胞系統同定のための要求事項
骨髓系	①MPO陽性（FCM、免疫組織染色または細胞化学） もしくは ②単球系への分化（非特異的Est染色(びまん性陽性)・ CD11c・CD14・CD64・リゾチームの2つ以上が陽性)
T細胞系	①細胞質内CD3（FCMの場合のみ） もしくは ②細胞表面CD3
B細胞系	①CD19強陽性 + CD79a, 細胞質内CD22, CD10の1つ以上が強陽性 ②CD19弱陽性 + CD79a, 細胞質内CD22, CD10の2つ以上が強陽性

症例 3 染色体検査 (骨髓G-Band)



46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[20]

症例 3 遺伝子検査（末梢血での追加検査①）

採取日時: 2018-07-20

採取時刻: 10:38

依頼科: 血内

材料コメント:

Major bcr-abl定量		minor bcr-abl定量	
血液		血液	
Major bcr-abl定量	50>	minor bcr-abl定量	1600000
ABL(内部標準)	3200000	ABL(内部標準)	3200000
実測値(参考)	*	検査材料	血液
検査材料	血液	m bcr-abl/ABL(%)	50.000
M bcr-abl/ABL(%)	0.001>	m bcr-abl/ABL(log)	-0.3
M bcr-abl/ABL(log)	-5.3>		

Major bcr-abl : 陰性

minor bcr-abl : 陽性

⇒ MPAL with *BCR-ABL1*と診断

MPAL with *BCR-ABL1*

- t(9;22)(q34.1;q11.2) ; *BCR-ABL1*はMPALの中では最も多くみられる染色体・遺伝子異常である
(全急性白血病の中では1%未満と考えられる)
- 小児、成人ともに発症するが、成人により多い
- ほとんどの場合はB細胞系と骨髄球系の判定基準を満たすが、一部でT細胞系と骨髄球系の組み合わせの場合もある
- まれながら3系統の形質をもつ場合も報告されている
- 全例で、染色体分析でt(9;22)を認めるか、あるいはFISHまたはPCRにて *BCR-ABL1*が同定される
- 融合蛋白質はp210(major BCR-ABL)よりもp190(minor BCR-ABL)の方が多い
- しばしば複雑核型を呈する
- 他のMPALと比べてもさらに予後が悪いと考えられており、特に成人例の予後は不良である
- TKIを用いた治療が予後を改善する可能性がある
- 治療反応性を予測する因子は知られていない

しかし...

症例 3 末梢血好中球FISH（追加検査②）

【検査結果】

9;22転座によるBCR/ABL 陽性細胞が認められました。

【検査所見】

BCR/ABL ES Probeによる融合シグナルの検出状況

	細胞数、細胞数/観察総数(%)	
	分葉細胞	単核細胞
Positive	86 (17.2 %)	424 (84.8 %)
Negative	414 (82.8 %)	76 (15.2 %)

※ 観察細胞数を分葉 500 細胞、単核 500 細胞とし、核どうしの接触がなく物理的損傷を受けていないシグナルの判別可能な間期核を観察対象としました。

⇒腫瘍細胞は、好中球への分化能をもった多能性造血幹細胞である

症例 3 確定診断

CML blast crisis
(minor BCR-ABL陽性)

minor BCR-ABL

- *BCR-ABL1* 融合遺伝子は、*BCR* 領域の切断点の違いにより major, minor, microの3つが存在し、それぞれ分子量の異なる p210, p190, p230 チロシンキナーゼをコードしている。

minor BCR-ABL :

- Ph陽性B-ALLのうち、小児B-ALLの大半、成人B-ALLの約半数に認められる。

- CMLでは約1%の症例で陽性となる。

(CML1260例の解析にて、15例(1.2%)でminor BCR-ABL陽性であったとの報告。 Arun et al. *Int J Lab Hem* 2017;39:235)

症例 3 経過

- ①DNR/Ara-Cによる初回寛解導入 ⇒ 失敗
 - ②TKI(Dasatinib)+PSLを用いた再寛解導入療法を開始
⇒呼吸状態悪化のためDasatinib中止
 - ③再度TKI導入の方針となりImatinib導入(点滴抗がん剤併用)
⇒血液学的寛解達成するも、臓器障害強いため内服薬のみの治療へと方針変更
(minor BCR-ABL定量検査では明らかな減少認めず)
-
- ◆高齢かつ臓器障害のため骨髄移植の適応なし
 - ◆現在Ponatinib単剤での治療を継続中

症例 3 結語

- 骨髄系とリンパ系の2系統の芽球を同時に認め、形態学的にはMPALが示唆された症例であった。
- しかし後日、追加検査にて好中球FISH陽性が判明した。
- CMLには慢性期(CP)が観測されない症例が存在し、de novoの急性白血病との鑑別が困難な場合がある。末梢血好中球FISHは、真のPh陽性急性白血病とBC発症CMLの鑑別に有用であると考えられる。