

All-trans retinoic acid 療法に伴う acute promyelocytic leukemia (APL) 細胞の経時的形態変化についての検討

松丸 恭子, 加藤 新一, 遠藤 由一
成田 美奈子, 根本 美紀, 渡辺 恭子
佐々木 久美子, 今野 純夫, 遠藤 文朗*
菊地 正*, 遠藤 一靖*

まえがき

急性前骨髄球性白血病 (acute promyelocytic leukemia: APL) は, FAB分類における AML (acute myeloid leukemia) の M3 に分類される白血病である。APL に特異的な t(15;17) の染色体異常を伴い, DIC (disseminated intravascular coagulation) を合併し, 激しい出血症状を呈する。骨髄有核細胞の大部分を前骨髄球が占めるがそれらは形態的にも正常の前骨髄球とは異なり, azur 顆粒が粗大でその数も多く, Auer body や faggot cell なども見られ, dysplasia の強い細胞である。

これまで, AML は, total cell kill theory に基づき強力な化学療法による寛解導入を治療法としてきた。しかし, APL 細胞には他に分類される白血病細胞よりも, より多くの凝固活性物質が存在するといわれており, 化学療法による細胞の破壊によって DIC がさらに助長され, 寛解導入以前に重篤な出血症状を呈し治療を困難にすることが多かった。

最近, APL の治療として, all-trans retinoic acid (ATRA) を用いた治療法が注目されている¹⁾。ATRA は Vitamin A の活性型代謝産物であるが, 細胞の分化・増殖の制御に関与するといわれ, APL 細胞の分化能を誘導し成熟好中球へと分化させる。つまり, ATRA の経口投与により, APL 細胞を破壊することなく分化誘導を促進す

るため DIC を悪化させずに寛解導入が可能となった³⁾。

当院において, ATRA 療法と共に早期より化学療法を併用して寛解導入に成功した第 1 例目を経験した。今回, 化学療法を併用した際の末梢血 APL 細胞の ATRA 療法に伴う経時的な形態変化を, 従来の ATRA 単独療法との比較を念頭において報告する。

症 例

患者: 62 歳 男性

主訴: 肉眼的血尿

現病歴: 1995 年 1 月 7 日, 肉眼的血尿のため近医受診。17 日, 当院泌尿器科に紹介となり, 精査目的のため 24 日に入院。全身性皮下出血・発熱・咽頭痛あり。入院時の血液検査にて末梢血液像の

表. 一般検査成績

WBC	32.5×10 ³ /μl	GOT	21 IU
RBC	304×10 ⁴ /μl	GPT	15 IU
Hb	10.4 g/dl	ALP	154 IU
Ht	28.2%	LDH	522 IU
PLT	2.3×10 ⁴ /μl	CHE	236 IU
PT	71%	γGTP	50 IU
aPTT	29.0 sec	BUN	16 mg/dl
Fib	303 mg/dl	CREA	1.0 mg/dl
FDP	240.4 μg/ml	TP	6.6 g/dl
AT III	116%	T. BIL	0.6 mg/dl
α ₂ PI	15%	SIAL	87 mg/dl
PLG	68%	尿潜血反応	(3+)

仙台市立病院中央臨床検査室

* 同 内科

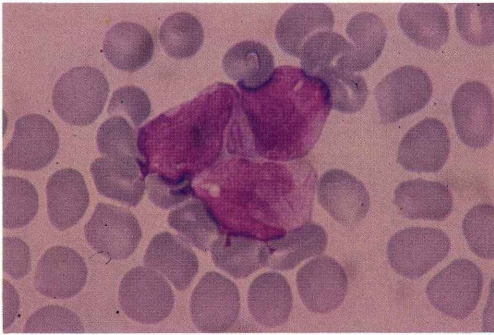


図 1. 入院時末梢血液像
leukemia cell が認められる。

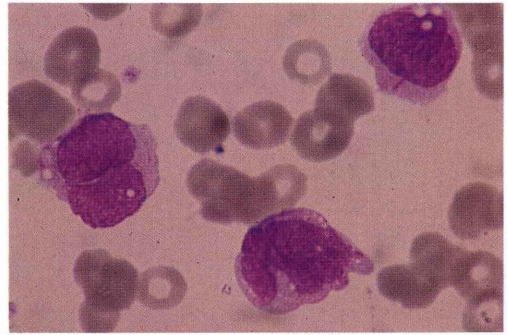


図 4. 治療開始 6 日目の末梢血液像
Auer body と空胞が認められた。

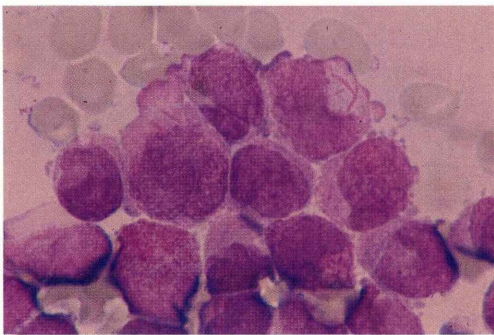


図 2. 入院時骨髓像
APL の所見である。

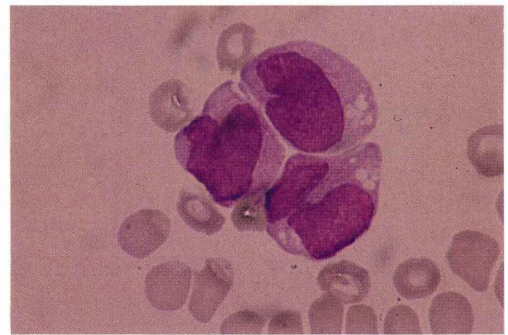


図 5. 治療開始 8 日目の末梢血液像
空胞が目立ってきた。

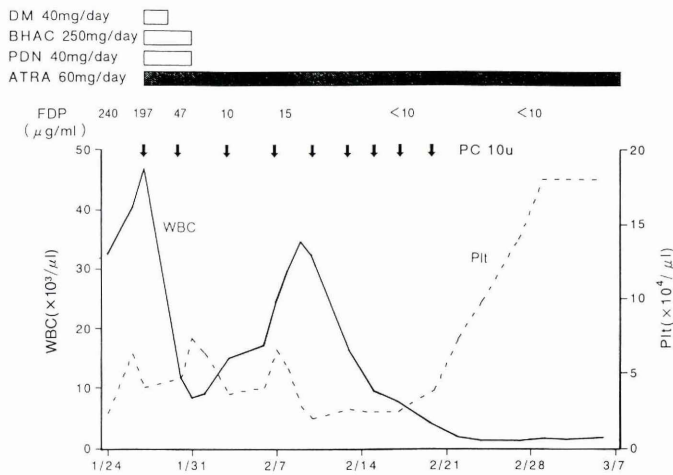


図 3. 治療経過

異常を指摘され、同年 1 月 26 日、当院内科に紹介となった。

入院時所見：一般検査成績(表)に示すように、

末梢血の白血球数増加，軽度貧血，血小板減少があり，血液像において 98% の leukemia cell (blast 15% promyelocyte 83%) が認められた(図

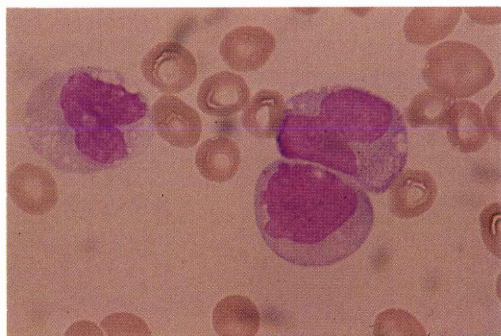


図6. 治療開始11日目の末梢血液像
自動分析機で monocyte に分類された APL 細胞。

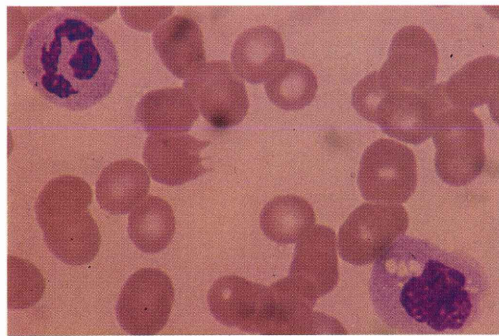


図8. 治療開始20日目の末梢血液像
成熟好中球（左上）が出現した。

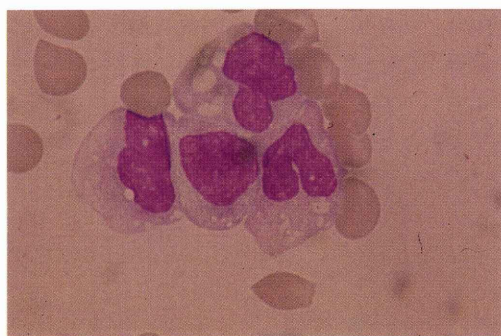


図7. 治療開始15日目の末梢血液像
核クロマチンが濃縮してきた。

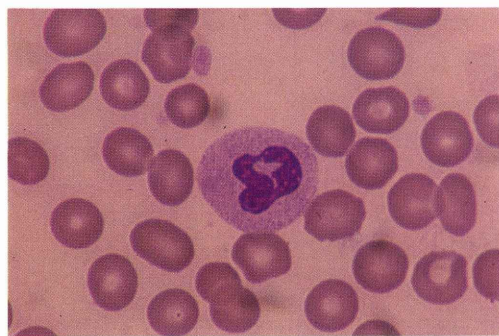


図9. 治療開始34日目の末梢血液像
APL細胞は認められなくなった。

1)。また、FDP が高値であり DIC の所見も認められた。

骨髓検査において、骨髓有核細胞数 (NCC) が著増しており、98.2% を leukemia cell が占めていた (図2)。また、染色体検査では APL に特徴的な No. 15 と No. 17 の相互転座が認められ、APL (AML M3) と診断された。

治療経過: 末梢血に APL 細胞が認められなくなるまでの治療経過を示す (図3)。入院時 NCC が $100 \times 10^4 / \mu\text{l}$ と高値であったため、ATRA 治療と同時に化学療法も開始した。また、直ちに FOY による DIC の治療も開始し、濃厚血小板や濃厚赤血球の輸血も行い、平成7年3月22日に完全寛解となった。以後、化学療法による強化・維持療法を継続し、同年10月現在、外来にて通院中である。

APL細胞の経時的形態変化

本症例で末梢血に出現した APL 細胞が ATRA によって形態的にどのような変化を伴うのか、治療開始から経時的に述べる。

1) 治療前 [1月27日]

細胞の大小不同や核が不整で dysplasia が強く、核小体も目立つ。Auer body が認められ、微細な azur 顆粒も細胞質に充満している。これらは細胞学的特徴より APL 細胞と判断された。

2) 開始4日目 [1月30日]

この時点では特に大きな変化は認められなかった。核に切れ込みを持つ細胞が出現した。

3) 開始6日目 [2月1日] (図4)

1~2個の空胞をもつ細胞が出現し、治療による変化が認められた。治療前に比し、白血球数が5分の1以下 ($8,400 / \mu\text{l}$) に減少した時点での観察であ

る。

4) 開始 8 日目 [2 月 3 日] (図 5)

APL 細胞の空胞形成が更に顕著となった。核に核小体が存在する幼若な段階の細胞であるが、切れ込みやくびれを有し、核網の粗い細胞も多くなってきた。

5) 開始 11 日目 [2 月 6 日] (図 6)

この時期になると形態的变化がより明瞭になった。核小体はわずかに存在し、核はまだ幼若な段階であるが、分化(分葉)傾向も認められ、単球様形態を示した。細胞質中の空胞形成が目立ち、azur 顆粒もわずかに存在する。Auer body は極めて少数であった。

6) 開始 15 日目 [2 月 10 日] (図 7)

開始 11 日目と比較して核クロマチンの濃縮傾向が観察された。2 核に分葉した偽 Pelger 核異常を呈している細胞も認められた。

7) 開始 20 日目 [2 月 15 日] (図 8)

APL 細胞は、更に核クロマチンが濃縮し、分葉傾向も進んできた。形態的に正常と思われる成熟好中球が出現した。

8) 開始 25 日目 [2 月 20 日]

形態的に正常と思われる好中球の割合が増し APL 細胞との区別が困難になってきた。これらの中に Auer body を認める好中球が少数ではあるが存在した。

9) 開始 34 日目 [3 月 1 日] (図 9)

分化した APL 細胞を明らかに認識することが出来なくなった。

3 月 1 日以降、末梢血には APL 由来の細胞と考えられる細胞は認められなかった。3 月 22 日に実施された骨髓検査により、完全寛解と判断された。

考 察

ATRA 療法により APL 細胞は PML-RAR α 融合遺伝子を遊離して癌化機構を解除され、分化能を誘導して成熟好中球へと分化するといわれている。今回、化学療法を早期より併用した症例での末梢血における APL 細胞の分化の過程を経時的に詳細に観察することを目的とした。

ATRA による治療開始から 6 日目までは明ら

かな形態変化は認めないものの、核に切れ込みを持つ細胞や、1~2 個の空胞を有する細胞などの、後の形態変化につながる徴候が出現した。しかし、dysplasia の強い APL 細胞では、元核に切れ込みが認められる場合もあり、また、ATRA 療法と同時に開始した化学療法による直接的な傷害もありうる。このため、ATRA による分化誘導作用の影響のために生じた形態変化であるかどうかは断言できなかった。

治療開始から 1 週間目以降は形態変化が著明になってきた。核には切れ込みやくびれが形成され、分葉傾向が認められ、その後、核クロマチンは核小体が消失し日ごとに濃縮されていった。正常な分化過程と比較すると、核の分葉と核クロマチンの濃縮(成熟)に解離が存在し、分化の過程においても典型的な myelocyte や metamyelocyte などは認められなかった。また、APL 細胞の分化とともに azur 顆粒、Auer body が減少した。これらの所見は ATRA による分化誘導作用の影響であると考えられた。その他の形態的变化として、APL 細胞に多数の空胞形成を認めた。本症例では早期より化学療法を併用しており、その影響を否定できないが、APL 細胞の apoptosis の 1 つの所見として考えられた。APL 細胞は ATRA によりすべてが成熟好中球まで分化するのではなく、その途中の段階で多くが死滅していると推測される⁴⁾。

治療開始から 10 日目には、APL 細胞の形態変化により、当院で使用している末梢血液自動分析機(COULTER STKS)でこれらの細胞がすべて monocyte に分類された。この時点で本来の monocyte は出現しておらず、今後このような症例についての末梢血細胞分類の解析では、十分に注意する必要があるだろう。

治療開始約 3 週間後に末梢血中に正常と思われる成熟好中球が出現した。白血球数増加もピークを過ぎ減少傾向にあったので、APL 細胞の分化は最終段階に達してきていると思われる。その後、正常と思われる成熟好中球の割合が増加し、分化した APL 細胞との区別が形態的に困難になってきたが、APL 細胞に特徴的な Auer body が、判断の

大きな要素となった²⁾。

治療開始から約1カ月でAPL細胞は全く認められなくなった。完全寛解に近いことを示唆する所見であると思われた。

本検討の特色は、ATRA投与後の末梢血APL細胞の形態変化を、早期より化学療法を併用した症例で観察した点である。その結果、従来のATRA単独投与症例と比較すると、治療6日目後の空胞形成がより明らかであったが、その後の形態変化は大きな差異を認めなかった。

ATRA療法を施行したAPL症例について、末梢血APL細胞の経時的な形態的变化を詳細に観察することは、白血球数、DIC所見の推移とともに、治療効果を早期に評価できる重要な指標になり、化学療法を施行した場合も同様な評価ができると考えられた。またこの形態変化については、出現様式と治療効果との関係など興味深く、今後の検討課題であろう。

今回の検討により検査担当者は、ATRA治療では疾患や患者の病態、さらに末梢血自動分析機の特長などをよく把握して検査結果に適正に反映させることが求められる。

ま と め

- 1) ATRA投与による末梢血のAPL細胞の分化過程を詳細に観察した。
- 2) ATRA治療開始から約1週間でAPL細胞に変化が出現した。
- 3) ATRA治療開始から約3週間で正常な成熟好中球が出現した。

4) ATRA治療開始から約1カ月でAPL細胞は認識されなくなった。

5) ATRA治療開始から約2カ月で完全寛解に到達した。

文 献

- 1) Huang, M.E. et al.: Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* **72**, 567-572, 1988.
- 2) Wanel, R.P.Jr. et al.: Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia with tretinon (all-trans retinoic acid). *N. Engl. J. Med.* **324**, 1385-1393, 1991.
- 3) 大野竜三 他: 急性前骨髄性白血病の病態と分化誘導療法. *内科* **69**, 1359-1362, 1992.
- 4) 半田敦史 他: 急性白血病とアポトーシス. *医学のあゆみ* **173**, 851-854, 1995.
- 5) 大野竜三: 急性白血病治療の進歩. *臨床血液* **36**, 395-398, 1994.
- 6) 山田 治 他: 急性前骨髄性白血病に対するトレチノイン (Ro 01-5488) の分化誘導療法. *癌と化学療法* **21**, 1981-1989, 1994.
- 7) 垣塚 彰: t(15;17) 染色体転座とAPL. *Molecular Medicine* **31**, 1002-1007, 1994.
- 8) 東條有伸 他: 急性前骨髄球性白血病の分子病態とトレチノイン酸による分化誘導療法. *Mebio* **10**, 57-61, 1993.
- 9) 川合陽子: 急性前骨髄球性白血病のATRA療法とDIC. *臨床検査* **37**, 1242-1244, 1993.
- 10) 阿南建一 他: 白血球形態. *Medical Technology* **19**, 605-613, 1991.
- 11) 三輪史朗: 血液細胞アトラス. p.188-230, 文光堂, 東京, 1990.