

造血器（骨髄）組織診断の免疫染色

昭和大学藤が丘病院 臨床病理診断科

岸本 浩次, 関口 孝次, 外池 孝彦, 光谷 俊幸

【はじめに】

造血器（骨髄）疾患の診断には通常、骨髄穿刺吸引塗抹標本と骨髄組織標本が用いられている。骨髄検査は白血病の診断をはじめ、各種造血細胞の異常から様々な病態が診断可能となる。標本作製については骨髄穿刺吸引塗抹標本が血液検査室、骨髄組織標本は病理検査室において作製されることが多い。各々の方法には長所、短所があり両者を合わせ行なうことにより正確な診断が導かれる。塗抹標本の特徴としては個々の細胞の詳細な観察が可能となり造血細胞を百分率で表現することができる。しかし、塗抹によるアーチファクトが起こりやすいことや、吸引した細胞量が少ない場合など骨髄組織を反映しないことが起こりうる。骨髄組織標本の利点は骨髄の状態を広範囲に観察することができ、さらに造血細胞の **cellularity**（細胞髄/脂肪髄比率、造血細胞密度）の評価が正確になされる。しかし、塗抹標本に比べ個々の詳細な細胞観察には限界があり、芽球の異型性が乏しい場合や芽球数が少ない場合には判定が困難となる¹⁾。一方、造血器の診断においては腫瘍細胞の免疫学的形質を知ることが必須である。骨髄穿刺吸引材料を用いたフローサイトメトリーの検索は日常的に行なわれており、さらに近年では病理組織分野においてもパラフィン包埋切片を用いた各種造血器細胞マーカーが多数市販されている。本稿では代表的な造血器（骨髄）疾患（急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、骨髄異形成症候群、悪性リンパ腫の骨髄浸潤、赤血球細胞の異常、血小板、骨髄巨核球の異常など）について免疫染色の有用性を解説する¹⁾²⁾。

当院で使用している造血器（骨髄）疾患の主な診断用マーカー

マーカー	目的
CD34	芽球の同定
c-kit	芽球の同定
MPO	骨髄系細胞の同定
CD42b	巨核球の同定、微小巨核球の同定
CD61	巨核球の同定
CD71	赤芽球の同定
Glycophorin	赤芽球の同定
CD68	単球系、マクロファージの同定
TdT	主にリンパ球系の幼若細胞の同定

1. 急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病

FAB 分類は塗抹標本での血球形態観察が基本的手法であり急性骨髄性白血病 **acute myeloid leukemia (AML)** は芽球の評価から M0～M7 に分類されている。病理組織標本においても同様に形態観察が基本的な見方となる。しかし、近年の新 WHO 分類においては血球形態観察に加え、臨床所見、染色体、遺伝子異常、芽球の比率によって各種疾患が定義されている。この新 WHO 分類では AML の芽球比率を 20%以上としている。何れの分類においても病理組織標本の場合、芽球比率が高く多数みられる症例ではそれほど問題とならないが芽球の出現が少ない場合には免疫染色が有用となる。Myeloperoxidase (MPO) は幼若顆粒球～成熟顆粒球、および単球に陽性で白血病細胞が骨髄系腫瘍で有効となる。造血幹細胞のマーカーとしては CD34, CD117 (c-kit) などがあり、CD34 は急性白血病（骨髄性、リンパ性）において 30%程度の発現があり、診断、再発の判定には有用である。c-kit は造血幹細胞をはじめ AML における骨髄系芽球に陽性となる。

急性リンパ性白血病 **acute lymphoid leukemia (ALL)** は FAB 分類で L1, L2, L3 に分類されていたが、新 WHO 分類では B, T, T/NK-cell に分け、さらに前駆細胞性腫瘍と成熟細胞性腫瘍に分類している。最も経験するリンパ性白血病は急性リンパ芽球性白血病であり、診断時、骨髄組織はリンパ芽球のびまん性密な増殖によって占められる。免疫染色のマーカーとしては各種 B, T, T/NK マーカーが用いられるが骨髄系マーカーが陽性を示すことがある。また TdT はリンパ球系のマーカーとして用いられるが幼若な AML でも陽性となるため注意を要する。

2. 骨髄異形成症候群(MDS)

MDS とは造血幹細胞のクローナルな細胞増殖で血球減少症、および造血 3 系統の細胞形態異常（異形成）をきたし、白血病に移行する危険性を有する疾患である。新 WHO 分類では 7 型に分類されており 1 系統の異形成がみられ、芽球は 5%未満とする不応性貧血 Refractory anemia (RA) をはじめ、1 系統～多系統の異形成、芽球も 10～19%の増加を伴う不応性貧血 RA with excess of blasts-2 (RAEB-2) など様々な病型に分けられている。また芽球が 20%以上存在する急性白血病で MDS の形態像を伴う病型もある。3 系統の血球（赤芽球系、顆粒球系、巨核球系）異常を以下に記す。

- 1 赤芽球系：赤芽球系細胞の多核化、細胞質の空胞、巨赤芽球様変化、赤芽球細胞の過形成、
- 2 顆粒球系：顆粒球系の異常では顆粒球の核形不整、顆粒の減少、核過分葉、
- 3 巨核球系：巨核球系では細胞質は成熟しているが細胞のサイズが小さく、低分葉状の核の小型巨核球、細胞サイズが多系統と同等以下の微小巨核球などの出現を特徴とする。

骨髄組織標本では骨髄の過形成、赤芽球系細胞の過形成、赤芽球島の形成、RAEB では正常な造血細胞の分布パターンとは異なる異常な分布、少数の芽球のクラスターを形成する。このような場合、芽球の同定に CD34 が有用となる。また微小巨核球や他の異形成を伴う小型巨核球は HE 染色標本では同定困難である。これらの同定には CD42b、CD61 の免疫染色が有用で MDS において最も診断価値が高いとされている。

3. 悪性リンパ腫の骨髄浸潤

悪性リンパ腫の場合、骨髄浸潤の有無は病期の確定に必須である。病理組織標本における骨髄へのリンパ腫細胞の浸潤様式には、骨梁周囲型、間質浸潤型、結節浸潤型、びまん型などが知られている。悪性リンパ腫の各組織型にも特徴があり一般に B 細胞性リンパ腫では骨梁周囲型、結節型、びまん型がみられる。なかでも濾胞性リンパ腫は骨髄浸潤が約半数の例にみられ線維化を伴い中型リンパ球大の腫瘍細胞が骨梁周囲型に増殖する特徴を有する。T,T/NK 細胞リンパ腫は間質型を基本とし、病期が進行すると結節型、びまん型に移行する³⁾。免疫染色ではこの骨髄浸潤様式を参考に各種 B, T,T/NK マーカーが用いられる。

4. 赤血球系細胞の異常

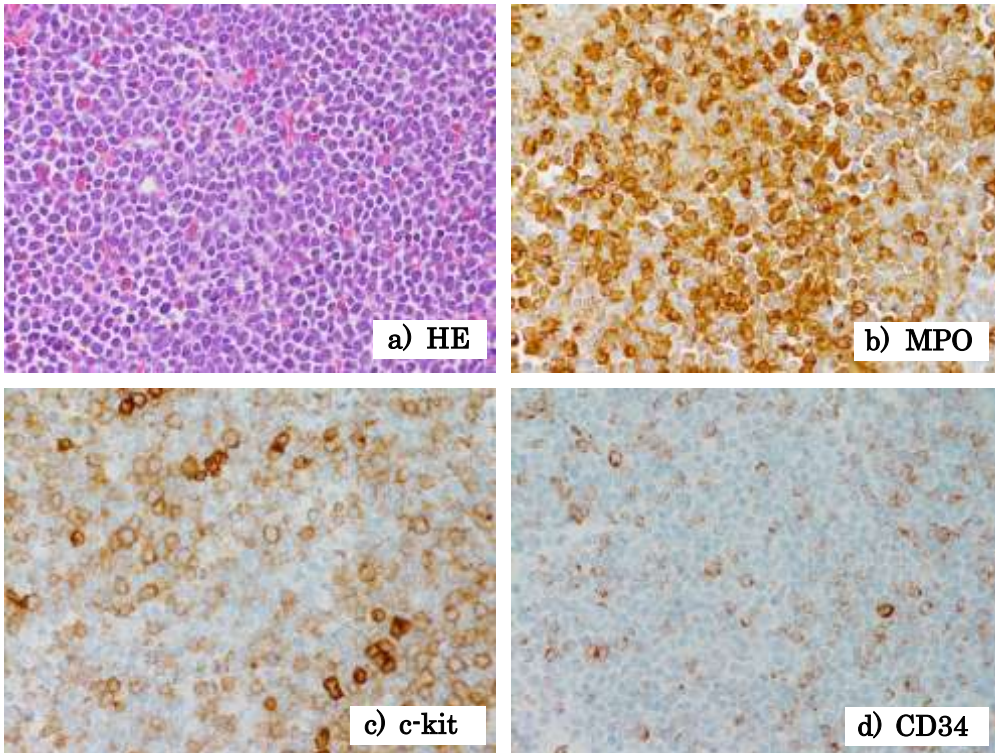
貧血の原因は骨髄の低形成、過形成であっても無効造血、赤血球自体の異常などである。造血幹細胞の障害、赤血球産生の低下による再生不良性貧血や赤芽球癆、赤血球産生過程の障害による巨赤芽球性貧血、サラセミア、鉄欠乏性貧血などが知られている。一方、腫瘍性では赤芽球が骨髄有核細胞の 50%以上を占める場合、WHO 分類によると、抗癌剤や放射線使用後に発症するもの、遺伝子変異を有するカテゴリー、また芽球比率によって AML with MDS、赤白血病などに分かれている。再生不良性貧血は末梢血の汎血球減少症 pancytopenia（貧血、血小板減少、好中球減少）を示す疾患で、骨髄は著明に低形成であるが、島状に散在する造血巣では赤芽球の過形成を伴う場合がある。本疾患の重要な所見は骨髄巨核球の低形成とされている。赤芽球癆は赤芽球のみが減少し、赤芽球系以外は減少することなく保たれている。巨赤芽球性貧血はビタミン B₁₂、葉酸欠乏による DNA 合成障害による無効造血である。骨髄像は赤芽球の過形成で、巨赤芽球の血球形態は核が類円形、核網が繊細、大型で明瞭な核小体を有することである。免疫染色ではこれらの貧血を起こす疾患について CD71 や glycophorin を用いて赤芽球の同定に役立つ。また、腫瘍性では赤芽球の増加が 50%以上を示す骨髄性腫瘍の病理組織標本における赤芽球の認識が困難な場合、赤芽球マーカーを用いた免疫染色が重要である。

5. 血小板、骨髄巨核球の異常

骨髄巨核球の減少は造血障害による再生不良性貧血や様々な疾患における骨髄低形成や白血病などでみられる。骨髄巨核球の増加は非腫瘍性疾患で特発性血小板減少性紫斑病（ITP）が代表的で、本疾患は出血傾向を示す血小板減少症をいう。骨髄像は脾臓における血小板破壊に反応して骨髄では骨髄巨核球が代償的に増生する。骨髄像では骨髄巨核球は正常大の大きさで細胞質、核に異型性はみられない。一方、腫瘍性の場合には形態異常をきたし、MDS や MDS 関連変化を伴う AML、急性巨核芽球性白血病 acute megakaryoblastic leukemia (AMKL) などがあげられる。AMKL は巨核芽球が増殖する疾患であるが塗抹標本における骨髄芽球と類似した形態を示し確実な鑑別は難しい。免疫学的表現型の解析や電顕 PPO 陽性反応の証明が必要となる。HE 標本においても組織学的に巨核芽球の同定は困難で、このような場合、CD42b、CD61 などを用いた免疫染色が有用となる。

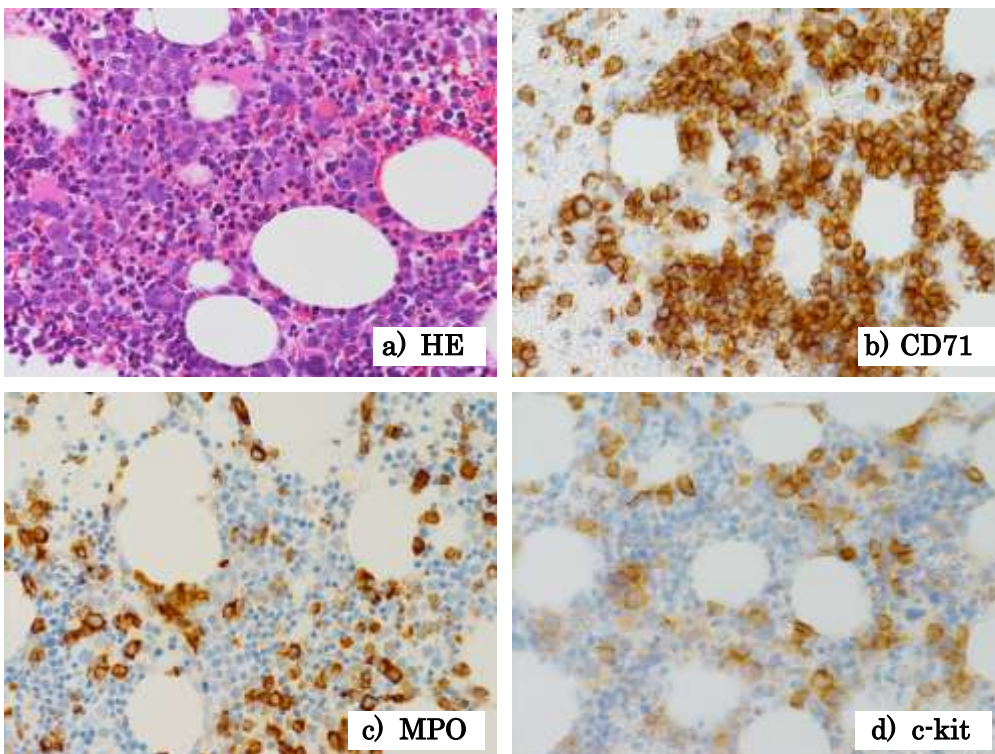


(写真は全て対物 40 倍です.)



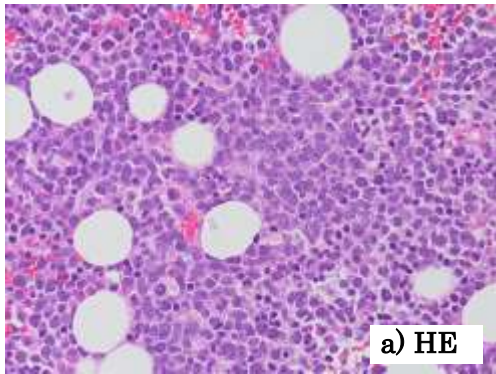
症例 1. 1 歳代, 女性. AML. FAB 分類 M2

高度過形成性骨髄で芽球のびまん性増殖がみられる. blastic cell は N/C 比の増大, 核クロマチン緻細, 核形不整を有する. 大半の細胞は骨髄系マーカーの MPO (+), 芽球マーカーである c-kit は大半の細胞に (+) も, CD34 (+) 細胞は少なめである. リンパ球系マーカーである TdT は全く染まらず (-) である.

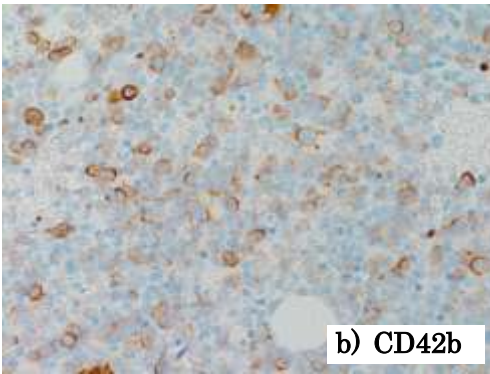


症例 2. 70 歳代, 男性. AML. FAB 分類 赤白血病 M6

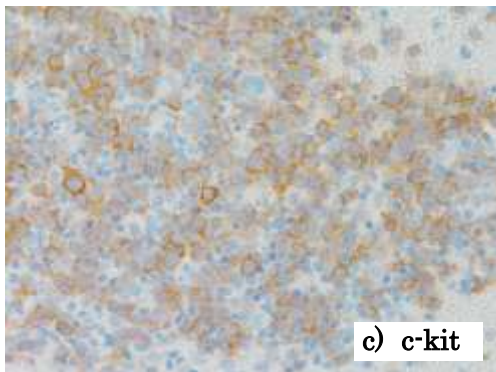
過形成骨髄で約半数の有核細胞は赤芽球細胞で占められており骨髄球系は少数である. 赤芽球マーカーである CD71 は大半の細胞に (+) で MPO は散在性に (+), CD34 は (-) で c-kit は芽球に (+) である.



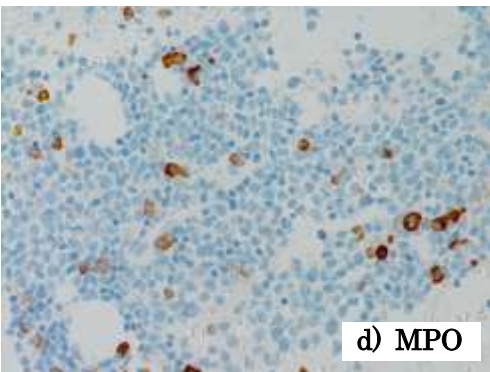
a) HE



b) CD42b

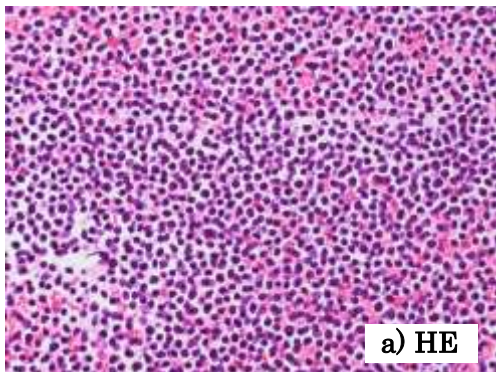


c) c-kit

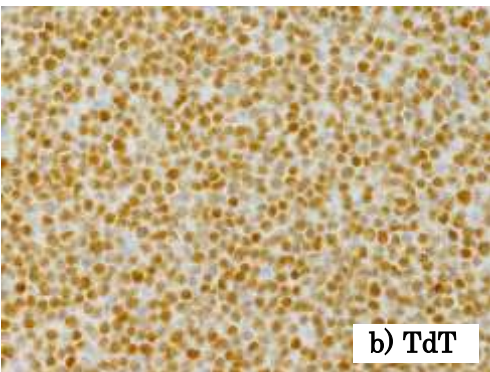


d) MPO

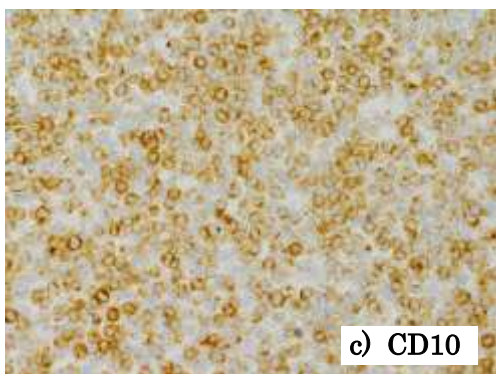
症例 3. 1 歳代, 男性. AML. FAB 分類 巨核芽球性白血病 M7
 過形成骨髄で芽球の単調な増生がみられる. MPO(+)細胞はごく僅かで, 芽球は巨核球マーカーの CD42b (+), c-kit (+) である.



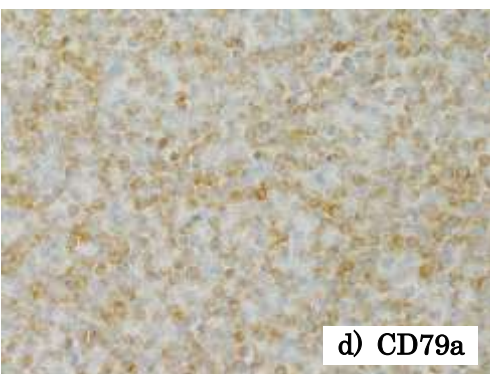
a) HE



b) TdT

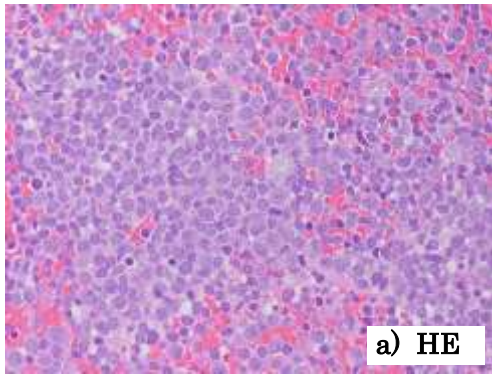


c) CD10

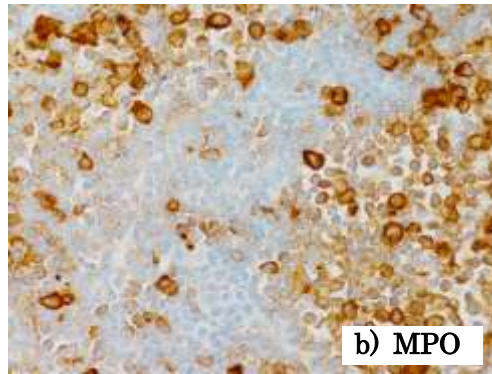


d) CD79a

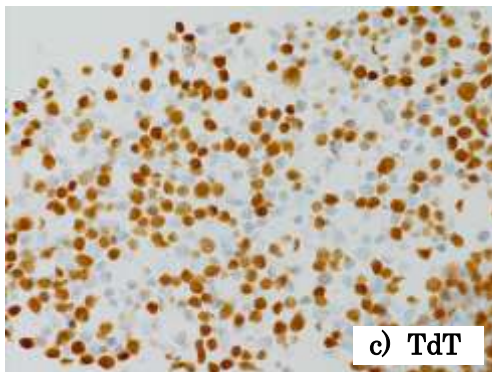
症例 4. 1 歳代, 男性. ALL
 過形成性骨髄で小型リンパ球系の芽球が単調に出現している. リンパ球系の幼若細胞のマーカーである TdT が大半の芽球に (+), CD10 (+), B cell マーカーである CD79a (+) である.



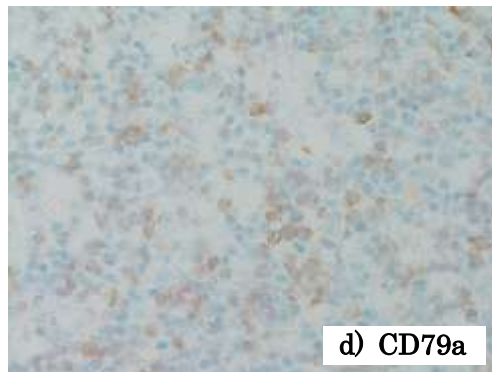
a) HE



b) MPO



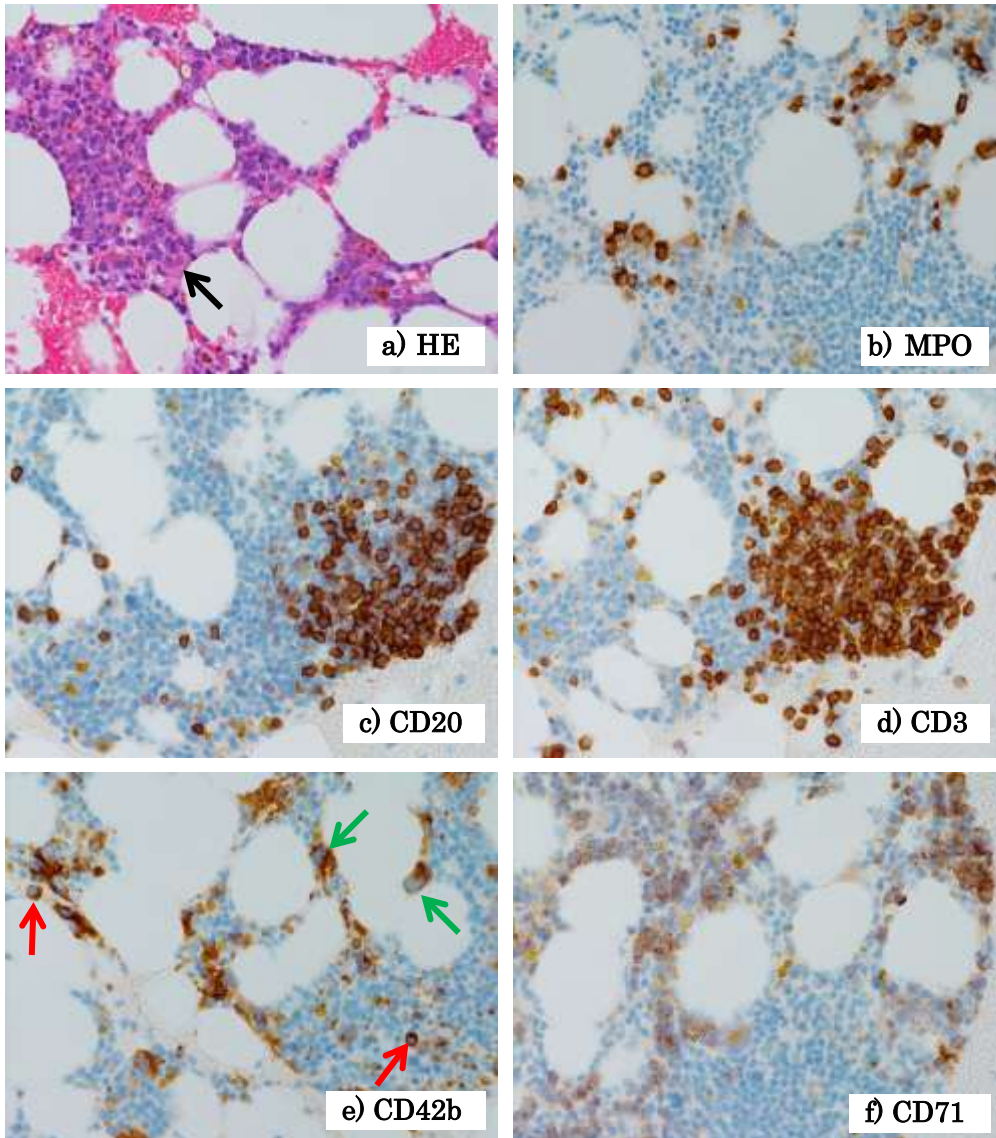
c) TdT



d) CD79a

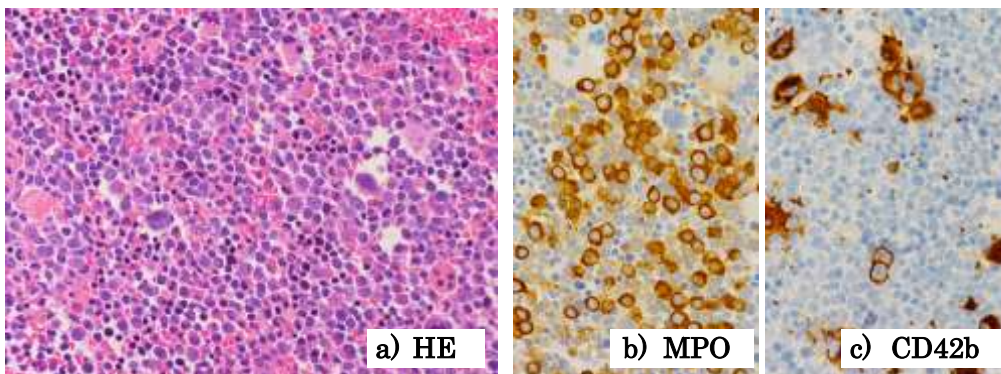
症例 5. 1 歳代, 女性. AML+ALL

高度過形成骨髄で大部分が芽球で占められている. 芽球は MPO (+) と, TdT (+) 細胞が混在しており, 染色強度は低い CD79a (+) 細胞が散見される.
フローサイトメトリーなどの他の検査所見から mixed lineage leukemia と診断されている.



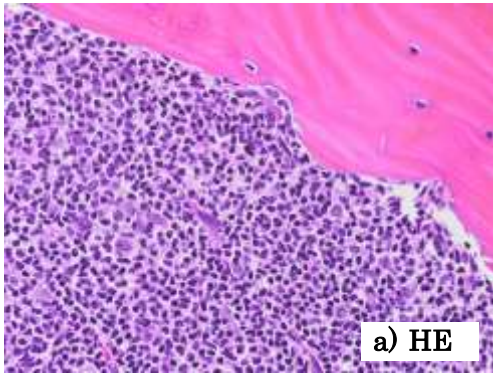
症例 6. 70 歳代, 男性. MDS

造血細胞は正形成からやや過形成. リンパ球の集簇巣もみられる. ごく一部に成熟巨核球 (↓) をみるが 3 系統の細胞の区別が困難である. リンパ球は T,B マーカー共に陽性でクローナリテイーを認めない. 巨核球マーカー (CD42b) では小型巨核球 (↓), および MDS の診断の決め手となる微小巨核球 (↓) が観察される.

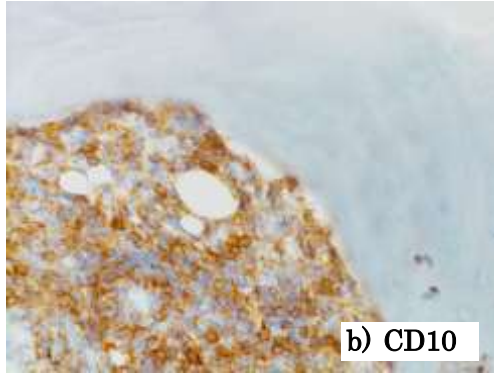


症例 7. 90 歳代, 女性. MDS with AML

高度過形成骨髄で約半数近くの芽球が出現している. 他の赤芽球系細胞, 巨核球系細胞もみられる. 芽球は MPO (+), CD42b では小型巨核球, 微小巨核球がみられることから MDS を伴った病変である.

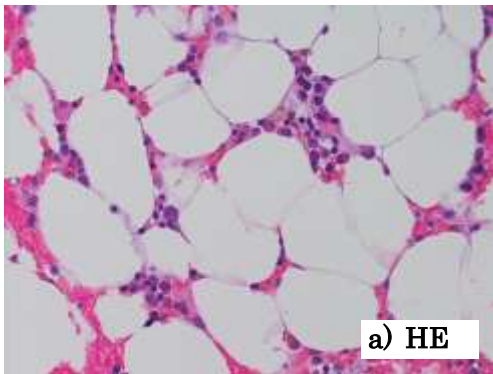


a) HE

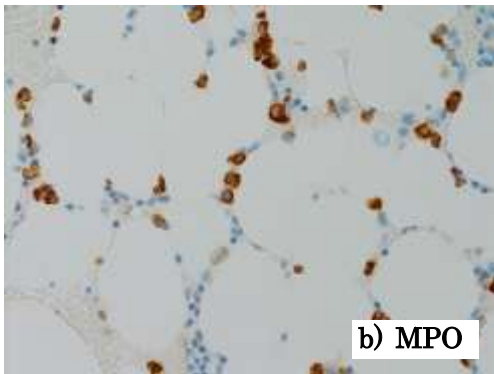


b) CD10

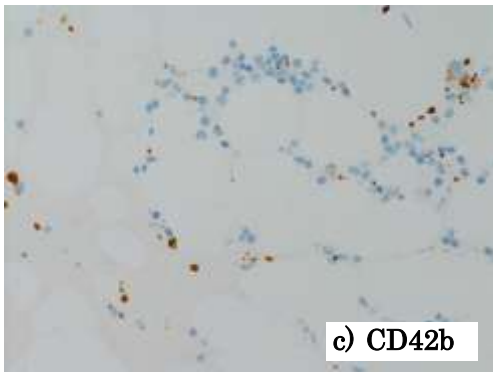
症例 8. 50 歳代, 女性. 濾胞性リンパ腫
 骨梁の周囲を密に小型リンパ球が取り囲んでいる. 濾胞性リンパ腫の骨髄浸潤の特徴であり CD10 (+) である.



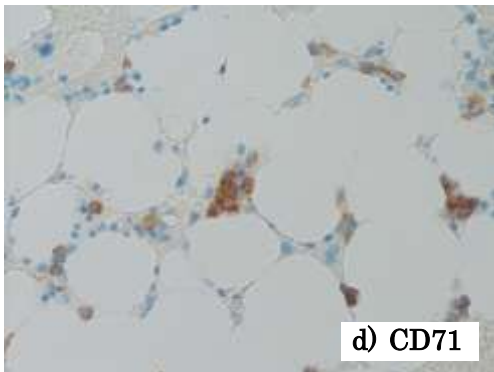
a) HE



b) MPO

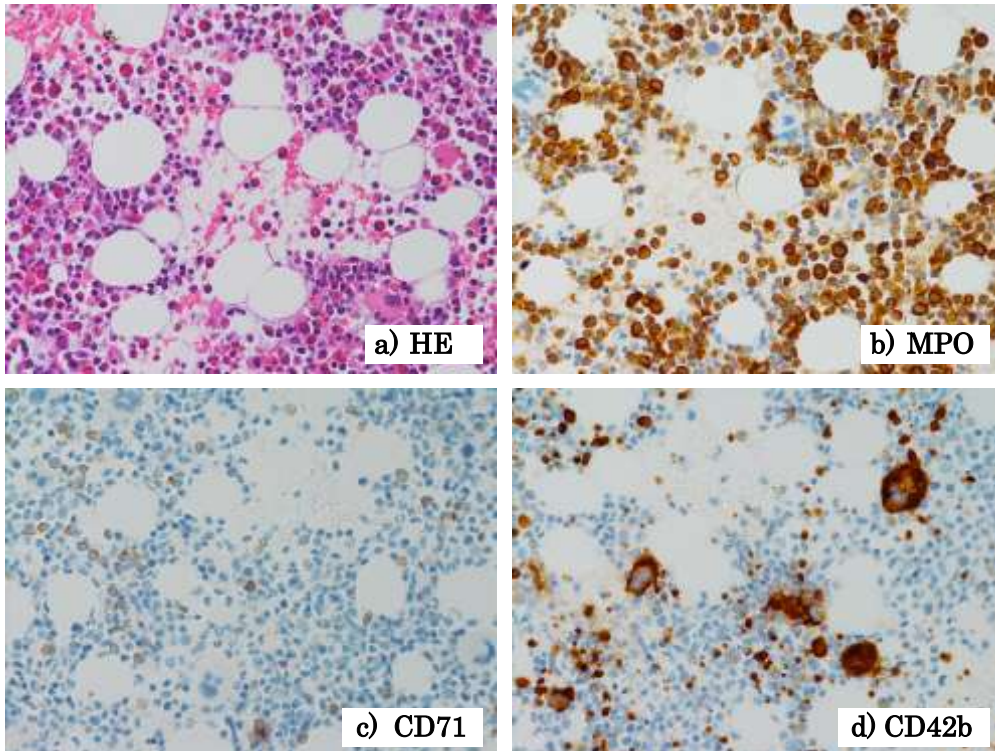


c) CD42b

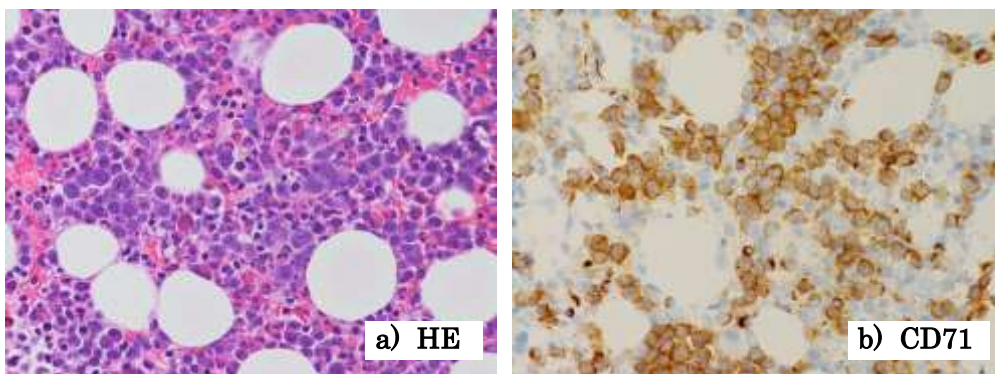


d) CD71

症例 9. 70 歳代, 男性. 再生不良性貧血 Aplastic anemia
 低形成骨髄であり脂肪の多い組織である. 細胞成分は MPO (+), CD71 (+) 細胞が散見されるが CD42b に染まる巨核球系細胞はほとんどみられない.



症例 10. 20 歳代，男性．赤芽球癆 Pure red cell
 軽度過形成骨髓であり幼若細胞から成熟顆粒球の各段階の骨髓球系細胞，MPO (+)，成熟巨核球，CD42b (+) をみるが，赤芽球系細胞，CD71 は著減している．



症例 11. 80 歳代，女性．巨赤芽球性貧血 Megaloblastic anemia
 過形成骨髓のなかにスリガラス状の淡く大きな核を有し，核小体の目立つ巨赤芽球が島状に散見されている．巨赤芽球は CD71 (+) である．

【文献】

- 1) 光谷 俊幸：造血器腫瘍，腫瘍病理鑑別診断アトラス，編集：定平 吉都，北川 昌伸，文光堂，2013
- 2) 松谷 章司：血液・骨髓，外科病理学「第4版」II，編者：向井清，真鍋俊明，深山正久，文光堂，2006
- 3) 竹下 盛重：造血器腫瘍，腫瘍病理鑑別診断アトラス，編集：定平 吉都，北川 昌伸，文光堂，2013