

第23回シスメックス血液学セミナー / 神戸会場での質疑応答

2. 白血球・リンパ球分野 - その発見から臨床応用まで -

中原 一彦

【司会】 中原先生には血液学の幕開け, 歴史から始まって, 顕微鏡, フローサイトメトリー, 染色法, 免疫学といういろいろな技術や概念の進歩, 主として白血球, リンパ球分野の疾患の診断や病態の理解にいかに関与したかということに非常にわかりやすくお話しいただきました。

札幌会場, 福岡会場, 質問はないでしょうか。特に免疫学的なマーカーの話, あるいは血球の特殊染色の話は, 聴衆の皆さん大変興味のあるところだと思うのですが, いかがでしょうか。

【中原】 少し時間を借りてよろしいですか。言い足りなかったことで, 例えばフローサイトメトリーが今非常に臨床に応用されているわけですが, ただ問題なのは, これはまだ標準化されていないことだと思うのです。たくさんの人たちがどんどん利用され, それは非常に良いことですが, 各施設によって必ずしも方法や基準値が統一されていないことがあります。これは決して好ましいことではなく, フローサイトメーターだけではなく, 検査の分野においては基準値の測定の方法, あるいは決め方等も含めて標準化が必要になってくるわけです。しかし, このフローサイトメトリーを標準化するのは, 通常の生化学的検査のようなかたちでの標準化が決して生やさしいことではないのです。

普通の生化学的検査の標準化は, 標準物質を定めそれに対してどのような方法が良いかを定めてそれにのっとって各施設でのいろいろな検査をする。それによる基準値というのはこんなものであるということで, 比較的できやすいのです。しかし, まだ生化学的検査でもなかなか安易にはいかないのですから, 特にこのフローサイトメーターの分野では, そ

れがより困難な訳です。

例えば, A施設とB施設で使っているCD4に対するモノクローの抗体は違う。また, 血球の分離方法も違う。分離した後の細胞の染色方法も統一されていない。機械にかける時の機械の内容あるいは解析方法もまちまちである。そのような状態が現実なので, それをうまく調整し標準化していくという作業は非常に大変なことなのです。でも, これをやらなければいけないということで, 現在, 日本臨床検査標準協議会の中で血液ワーキンググループというのがあり, そこでフローサイトメーターの標準化が進んでおります。特に正常のリンパ球の表面抗原の主な抗体, 抗原, CD4, CD8, CD3, あるいはCD19といった主なものを選んで, それに対する標準化の案を作りました。それを先程の臨床検査標準協議会から提案しているところです。これを提案した後に, 各関連の学会, 例えば, 臨床血液学会, 血液学会, 臨床病理学会, あるいは医師会, サイトメトリー学会などに投げかけまして, そこで検討していただいているところです。ある程度意見をいただきましたので, 現在それをもとにして2番目の改訂版を作りました。これが近々臨床検査標準協議会から雑誌に載るわけですが, もう一度実際の関連の皆さん方にお配りして意見をいただいた後に, 最終的に確定した標準化のガイドラインにしたいと思っております。

これはただ正常のリンパ球ですが, その次に, 白血病など異常リンパ球のフローサイトメトリーの標準化のガイドラインを作ろうと, 先程の委員会が中心となって進めているところです。そういう方向でこのフローサイトメトリーの標準化についても進みつつあるところ。道のりは長いのですが, 徐々にではあ

りますが進んでおりますので、皆さん方の中にもおそらくそのガイドラインを目にされた方もあるかと思いますが、ぜひいろいろな意見を聞かせていただいて、いいものを作っていきたいと思っているわけです。

【司会】 先生は最後に21世紀の医療の展望をされて、診断治療面ではEBMというようなことも言われましたが、確かに検査では、標準化と、クオリティコントロールも含めた問題が多いと思います。もう一つ、だんだん国際化の時代になって、例えば日本の地理的状况ですと、アジア諸国との交流がますます多くなるのですが、臨床検査全般、特に血液学分野でのアジアの国々の状況といいますが、標準化という点はいかがでしょうか。

【中原】 血液全般の標準化につきましては、生化学検査等も含めてなのですが、Evidence Based Laboratory Medicineという名前では呼ぶようになってきているのですが、いわゆる検査の中の感度あるいは特異度と言われるものがあります。感度は真の陽性率、特異度は真の陰性率を表しており、そうしたものを中心として、さらにいろいろな文献的検索、エビデンスを中心とした方法をこれから作っていかなければならないという動きがあります。

日本国内あるいは諸外国の中でも、先進国の中での動きが中心になっているわけですが、もちろん、アジア、アフリカを含めた国々にもそういう関心を持っている方が多くて、そうしたところも一緒になって検査の標準化を進めていこうというふうになっています。ただ、すでにいくつか進んでいるところもあり、世界的に統一した方法でということが完全に必ずしもスムーズにいつているという状況ではないと思いますので、これからアジア諸国にもいろいろ協力していただきながら、その話をしていく状況であろうと思います。

【司会】 それでは、福岡会場から質問があるようなので、福岡会場さん、どうぞ。

【質問者】 今日は、先生の話がむしろ診断の方

に重きを置かれていた気がいたしますが、治療、特にこれから高齢化社会で、先生が表の12にまとめられた治療法の進歩というところ、例えば化学療法等いろいろな方法でも高齢者に対しては非常に治癒率が悪いという状況があるかと思えます。高齢者に骨髄移植法などはなかなか難しいでしょうし、薬物療法にしても治癒率に限界があるということですが、今後どのような戦略で、治癒率の悪い高齢者に対して、どういう治療法を展開していけばいいかというビジョンがありましたらお示しいただきたいのですが。

【中原】 治療法については私はあまり詳しくはないのですが、確かに高齢者についての治療法は、若年者に比べますといろいろな観点でやはり違ってくると思います。生理的な状態もずいぶん違うわけですし、特に高齢化社会に進んでいくにしたがっておそらくいろいろな点で問題になるだろうと思うのです。

特に白血病の治療となりますと、従来の一般的な強い抗ガン薬を使う場合、もちろん高齢者の方でも体力のある方は最近たくさんおられますので、そういう方はいいのですが、やはり一般的には若年者と比べるとずいぶん体力的にも低下してきているわけですし、さらに副作用等も出やすいと思います。それに対してどういう治療法をしていくかについては、一概には申し上げる資料を持っておりません。しかし、一般的にはある程度弱めにした治療をしていくことになると思います。私が先程21世紀の展望のところでも少し述べましたように、これからの治療法というのは、個人の情報に従ってきめ細かい治療をしていかなければいけないのだと思うのです。一概に老人だから治療法をこうしなければいけないとか、若年者だからこう、というよりも、個人個人の情報、過去の経緯、そのときの状態、おそらくいろいろなデータが集積されてくるでしょうから、それを、コンピュータ等での解析を十分駆使しながら、個々の症例に即した治療をしてい

くというようなことになっていくのだろうと思います。ただ、今お尋ねのように、一般的にお年寄りに対してどのような戦略でやっていったらいいかということについては、これ以上のことはなかなか私自身申し上げる知識を持ち合わせておりませんので、回答にならないかもしれませんが、勘弁いただきたいと思えます。

【司会】 それでは、最初に触れられました偽性血小板減少症について2～3質問があります。

(質問) EDTAによる偽性血小板減少症の頻度について。それから、原因。3番目に、アミノグリコシド系の抗生物質を採血管に添加すると抑えられるというようなことを話されましたが、その原因は、その患者さんがこれらの抗生物質に対する抗体を持っていて、それが何か偽性血小板減少症に関与しているのでしょうか。

【中原】 頻度につきましては、各施設によって違うかもしれませんが、私は大体1,000人に1人くらいの割合ではないかと思っています。実際の臨床の現場でも、結構そういう目で見るとありまして、かなり極端に血小板が減る場合はわかるのですが、そうでないといつ見過ごしてしまう。あまり臨床的に問題にならないケースも含めてもっとあるかもしれませんが、大体ざっとそんなものではないかと思えます。

それから、偽血小板減少の原因は、まだいろいろな議論があるのですが、確定されていないと思えます。例えば、血小板に対する抗体がどうも悪さをしているのではないかとか、電位の問題ではないかとか、いろいろな説はあるのですが、まだ実ははっきりわかっていないと思えます。

最後の質問の、例えばカナマイシンなどを加えて凝集を防げるということは、現象としては確かにあるのですが、その機序がどうなのかということはまだ解明されておりません。先程のご質問のように、例えば抗生物質を使っ

て抗体ができていて、それを抑えているのではないかという話ですが、実は、もともと私もカナマイシンといいますが、抗生物質に注目したのは、取っ掛かりはそんなところだったわけです。

特に入院患者が中心になるのですが、いろいろ偽血小板減少の患者さんの症例を分析していきますと、以前に抗生物質を使っている患者さんが非常に多かったのです。したがって、抗生物質に対する何らかの抗体のようなものができて、それを抑えることによって、偽血小板減少を抑えられるのではないかとということで始めたのですが、現実的には、いろいろ調べていくとそうではなく、抗生物質を使っていない患者さんも結構いるわけです。抗生物質も、アミノグリコシド系ではなく、他の抗生物質を使っていることが多いわけです。したがって、現在では抗体ということは考えておりません。ただし、原因についてはまだ検索中で、残念ながら、まだお話しする段階には至っておりません。

【司会】 それに関連した質問です。

(質問) 同じ患者さんで一度偽血小板減少があって、半年後や1年後にもまた同じ現象が見られるのですか。

【中原】 それもいろいろなケースがあるようで、同じように見られることもありますし、途中で治ってしまう方もあります。例えば、いろいろな手術がきっかけになって起こる人もありますし、感染症やmalignancyをきっかけとして起こる人もあります。全く何もなくてそういった現象が起きる方もあります。ずっと継続して起こる人もあれば、途中でよくなってしまいう人もあるという、いろいろなケースがあるようで、なかなか解析が難しいのが現状です。

【司会】 ほかにいかがでしょうか。福岡会場、札幌会場は何かご質問はないでしょうか。朝長先生、どうぞ。

【朝長】 フローサイトメトリーの標準化というのは非常に重要なことではないかと普段から思

っているわけです。我々は白血病の共同研究グループで、40施設、50施設と数が増えてきて、そこから出てくるデータというのがなかなか難しいのです。それで、もう10年くらいたつのですが、マーカーと治療成績との関係をいまだに出せずにあります。それに関連して、最近私どもが気付いているのは、私どもの内科はJALSGの標準施設ということで、少し特殊な免疫染色、いわゆるフローは生きた細胞を標準法として使いますが、そうではなく、スメアや単核細胞を分離して、サイトスピン標本にして固定してやる。すると細胞内の抗原が染まるということがあるわけです。細胞内抗原と表面抗原の関係を見ていると、どうも表面抗原が出ていない例で、例えばM0のような幼若なタイプですでにミエロイドの抗原がゴルジ野に少し出るとか、そういう現象が出てきますと、標準化というのも、もう1つサイトプラスミックな抗原をどうやってディテクトするかという問題、かなり難しい問題が出てくるのではないかと思うのですが、先生のお考えはいかがでしょう。

【中原】 サイトメトリーの標準化については、今回のガイドラインを作るにあたってサーベイをしました。全国的なサーベイをして、この中にもおそらく参加していただいた施設も結構多いのではないかと思います。68施設だったのでしょうか。非常に典型的な抗原を選び、例えばCD3と4と8と19、20、あるいはNKのCD56、それでサーベイしたのですが、最初に私どもが予想したのと比較しますと、例えば、CD3とか、比較的、CVがせいぜい10%くらいだったのでまずまずかと思ったのですが、逆にNKやCD8になりますと、かなりCVのばらつきが多くて、やはり標準化は必要だと思ったのです。したがって、先生がおっしゃいますように、大切なのですが一朝一夕にはいかないという、そのとおりだと思います。

細胞内抗原についての標準化は、これはま

だそこまで考えておらず、細胞内抗原もフローサイトメトリーで分析できるのですが、その前に細胞表面抗原でもかなりのばらつきがありますので、そこまで到達するのはかなり先の話だろうと思うのです。特に、細胞の中の微細な抗原の分析となりますと、いろいろな固定法にもよるでしょうし、抗体の種類にもよるでしょうし、いろいろな表面抗原以外のファクターが入ってきますので、より難しいのだろうと思っています。

【司会】 他にいかがでしょうか。どうぞ、山口先生。

【山口】 EDTA依存性の血小板減少症の件について、1つ2つ追加して申し上げたいと思うのですが、1つは、惹起する場合は、先生がおっしゃったようにいろいろな疾患があって、感染症あり悪性腫瘍あり抗ガン剤で治療中ありということで、出現及び消失は一定しないということについては私も経験的に同感です。

もう1つは、抗体説のことでおっしゃいましたが、このことについて、私どもはかなり現職時代に興味があってやったのですが、そのときにただ一つわかりましたのは、そういう抗体にGP b / aで被覆しますと完全に起こらないということがありました。ところが他のように、例えば、血小板が凝集された状態で血小板が変形していくかどうかというのは、電顕で見ても何も起こりませんから、全く先程のリストセチンと同じように中に刺激伝導というかたちで活性化されることは起こらない。けれども、入り口はどうもGP b / aらしいというようなことで、一度これは論文にしたことがあります。その後やっておりませんので、多くの症例についてそれが立証されるかどうかということについては自信がありませんが、何かのご参考にしていただければありがたいと思います。

【司会】 それではちょうど時間になりました。中原先生には長時間にわたり大変興味あるお話をありがとうございました。

[後日ご回答をいただいた質問]

【質問】 表14のような造血刺激因子が知られていますが、化学療法時に使用されるG-CSFのようなファクターはまだ他にも必要なのでしょうか。G-CSFでは不十分でもっと強力な造血因子が必要なのでしょうか。

【回答】 実際の化学療法時に使用されるサイトカインはG-CSFのみで、顆粒球系細胞はよく反応するようです。これにより、顆粒球減少による感染症は随分少なくなりました。

赤血球系は、エリスロポエチンがありますが、化学療法時に投与することは余りなく、特に腎性貧血の改善に効果があります。

血小板系については近年トロンボポエチンが開発されましたが、臨床応用はまだこれからということになります。

その他、IL-13、IL-6等candidateはありますが、臨床応用するまでには至っておりません。

【質問】 骨髄異形成症候群のFAB分類によると、芽球比率に関係なくAuer小体を有する芽球を認めるとRAEB-tに分類されます。芽球にAuer小体を認めることでRAEB-tに分類する意義をお教えいただけませんか。また、Auer小体に注目した時、予後良好とされる染色体転座t(8;21)を有するAMLのM2芽球ではAuer小体を認めます。MDSにおいても芽球比率は低いけれどAuer小体を有するためにRAEB-tに分類された群と、芽球比率によって分類されたそれとは予後に違いが

見られるのでしょうか。

【回答】 Auer小体があればRAEB-tに入る理由としては、詳しい経緯はわかりませんが、Auer小体があるMDSはまず間違いなくovert leukemiaになるからだと思います。

Auer小体があるものと無いものでは予後に違いがあるかどうかですが、RAEB-tの中での違いははっきりわかりません。しかし、治療に関連した二次性白血病(MDSを含む)では、Auer小体の無い方が予後が悪いという報告はあります。

(小松弘和,他;日本における治療関連白血球の疫学調査と予防対策,日本臨牀56(1)233~241,1998)

【質問】 フローサイトメトリーの原理について簡単に書かれている書物、文献等があればお教えください。

【回答】 文献はいろいろあると思いますが、フローサイトメトリーの原理も含め全般的によくまとまっているのは最近出版された下記の書籍です。(フローサイトメトリー以外のサイトメトリーも含まれます。)この書籍は日本サイトメトリー学会のメンバーが中心となって編集しております。

「応用サイトメトリー」監修 天野美夫, 編集責任 河本圭司, 井上勝一, 中内啓光, 医学書院, 2000年8月1日発行