

第26回 シスメックス血液学セミナー / 質疑応答

1. FAB分類とWHO分類：併用の意義を考える

朝長 万左男

【司会・中原】 質問票が来るまでに私から朝長先生にお聞きしたいと思います。今のお話にありましたように、今回のWHO分類が出てきた背景には、従来のFAB分類に加えて、染色体あるいは遺伝子分析が中心に据えられてきたように思います。

これに伴い、FAB分類は割と簡単な分類であったのですが、今回、WHO分類はそれに比べるとかなり複雑な印象があります。FABは簡単なところから入ってだんだん複雑になってきたという印象があるのですが、逆に今度、このWHO分類は最初から複雑で、クリアに理解していくには少し時間がかかるような印象があります。

今後これがさらに症例を重ねていくにしたがって、実際の運用においてはもう少しクリアになっていくのか。その辺の先生の見通しをお聞かせいただけませんか。

【朝長】 これは悪性リンパ腫のほうでも同じことだろうと思います。例えば今日のテキストの7ページをお開きいただきたいと思います。上の図でたくさんの染色体異常がありますが、こういうものの遺伝子変異はまだ見つかっていないわけです。

これらの頻度は、AML全体から言いますと、3%以下のものが多いのです。これらを網羅的に遺伝子変異を見つけて精密に分析していくには相当な時間がかかるのではないかと思います。

したがって、それよりも先に進んでいくのが治療効果が予測できる分類のほうで、それらがグルーピングされていくのではないかと思います。例えば染色体が正常に出たグループをグルーピングすることが、非常に今盛んになっています。これは全体として予後は中間型を示すのですが、その中に例えばFlt-3の異常がある群とない群の2群に大きく分かれ、後者の方が予後はるかに良好です。そういう分類のほうの実用的ですから、先に進んでいくのではないかと思います。

一方で、分子標的治療では、 $t(15;17)$, philadelphia

(ph) 染色体の $t(9;22)$ で、キメラタンパクを抑制するような薬が現実のものになってきています。そういうものが実際にあって、治療が効くグループの白血病が、例えば3%以下でも厳然としてあれば、それはそのまま疾患単位として認めざるをえないと思います。その両群の整合性を今後どのように取っていくかということが、実際的な問題になってくるのではないかと思います。

これが解決されるのに今後25年かかると仮定して、FABが提唱されたのが今から25年前ですので、ちょうどFAB分類が出て半世紀後には、果たして70~80%が遺伝子分類をできるようになっているかどうか。個人的にはそうなるという見通しを持っています。ですから、治療の発展とともに、治療反応を予測できる、予後を予測できる分類法にまとめられつつ変化していくのではないかと予測しています。

【司会】 ありがとうございます。神戸会場からご質問が出ていますのでご質問させていただきたいと思います。まず、これは技師の方ですが、二つ質問があります。

(質問) Ph1染色体がWHO分類の第1カテゴリーに入っていない理由は、Ph1-AMLが少ないためなのでしょう。治療薬グリベックとの関連からも、もう少し踏み込んだ分類が必要だと思うのですがいかがでしょうか。

【朝長】 確かにこのご質問は非常に重要なポイントです。今度のBlue Bookでは、この点が明確に書いていないのです。Ph1-ALLは成人のALLの約4分の1あります。非常に大きなカテゴリーで、これを第1カテゴリーに持ってきてもいいのではないかと思うぐらいですが、これもまだALLの中の一つのグループとしか規定していません。なぜかということ、キメラ遺伝子がp210とp190との2種類あります。その違いが本当に臨床的にあるのかという問題が解決していません。

それから、小児のPh1-ALLは比較的化学療法でも治る例があります。成人のPh1-ALLは移植をしないと絶対に治らないという大きな違いがあり、Ph1だけで一つの疾患単位として括れるかという問題があります。

それから、MDSの症例が、時には最後にPh1を発生してAMLになったりALLになったりすることもあるため、Ph1を本当にプライマリーイベントとしてとらえていいかという根本的な問題もあります。CMLは臨床病態とPh1ということで非常に明確に規定されているのですが、ALL、AMLのPh1の問題はまだ研究が足りないという考え方に立っているのではないかと想像します。

(質問) mixed leukemiaで、biphenotypic leukemiaとbilineageのleukemiaは、WHO分類においても同列に考えられているのでしょうか。

【朝長】同列というのは、同じ疾患と考えられているかという意味でしょうか。

圧倒的にbiphenotypicが多いのです。10人のmixed leukemiaの方がおられると9例はbiphenotypicで、1例程度わずかにAMLの芽球とALLの芽球が両方あるというのがあります。

mixed leukemiaでは、白血病になるStem Cellが、リンパ系にも骨髄系にも分化できるようなものが標的細胞になっているのだらうと予測されていて、そういう意味では同列なのですが、そこはまだ全くわかっていないのです。

これは後ほど次の演者がお触れになるかもしれませんが、要するにmixed leukemiaについては、意外と研究が進んでいないのです。今から15年前に大々的にこのカテゴリーが出てきましたが、本質論から言いますと、Ph1染色体陽性例が中に混じってきたり、いろいろな染色体異常が入ってきますし、本当に単一疾患と言っていいかどうかということはまだまだ疑問です。

したがって、フローサイトメトリー法の表現型による病型診断というところが正しいところだと思います。疾患単位かどうかというのは、まだまだ今から随分研究が進まないと分からないだろうと思います。

【司会】ありがとうございました。福岡会場で質問が

あるようです。

【質問者】つい最近ですが、形態学的にM3のvariantではないかと思われる症例に遭遇しました。芽球は非常に高率で90%以上あり、PO染色は強陽性で、形態学的には核異形成があったり、細胞質のblebが認められました。ただ、顆粒が少なく、中にはメタクロマジューを起こしたような顆粒もあったので、variantではないかということで形態学的には診断していたのですが、染色体分析ではM3の染色体異常がなくて正常核型で戻ってきました。

先生のお話の中で、通常のt(15;17)以外の染色体異常のものが最近出てきて、中には正常核型のものもあるということと、その中で、慣れてくれば形態学的にもある程度の判断がつくということでしたが、典型的なAPLと通常の染色体異常ではないものや正常核型のものの違いがあれば教えていただきたいと思います。

【朝長】正常核型というのは、遺伝子診断をしたらPML-RAR α があるグループと、遺伝子診断でも全く異常がないものに分かれます。

後者の場合は、往々にしてM3もどきのM2だと思います。大体、核が丸いという特徴が、私どもが経験した数例ではあります。そういう意味で、M3にそっくりのアウエルも束になって出てくるとか、そういうM3とは似て非なるM2があるということは事実だと思います。これはATRA療法で待てど暮らせど分化してこないというので、しびれを切らして化学療法に移るということがあって、まれに患者さんがDICのために亡くなることがあります。それが一つです。

それと、APLの形態異常もきっちりあって、正常核型で、しかし遺伝子診断で陽性になる場合がありますので、この症例はM3であろうと広く網を掛けて、必ずPML-RAR α の遺伝子検索をしなければいけない。それで引っかかると思います。

そのカテゴリーを超えた別の染色体異常と、PLGFという遺伝子がからむ遺伝子学的なvariantがあって、これはATRAが効かないのです。

ですから、今おっしゃった症例のようなものを、初診時に逃さないように検査をしていくことは大

変難しいのです。最初の1~2週間で染色体分析が早く返ってくるようにシステムを整備しなければいけないし、M3と思っただのにt(15; 17)がなければ同時に遺伝子診断をしておく。どちらも正常に出た場合はM2ではないかと疑ってみる。このような慎重さは必要だと思います。実際にそういう症例が質問の症例のようにあちこちで出ています。

【司会】ありがとうございました。福岡会場でもう一つ質問があるそうですが、いかがでしょうか。

【福岡会場】もう一つ質問をいただいています。

(質問) 形態異常に関してですが、多血球系異形成という場合の各血球系の形態異常の種類と基準をご教授ください。先生方の提示されている標準化案を適応させるのは、形態異常の軽い症例に関してのみでしょうか。

【朝長】先ほどお示ししました赤芽球系で20%、顆粒球系で20%、巨核球で30%という、我々が今、仮に考えているクライテリアは、ほかの疾患です。鉄欠乏でもdysplasiaがありますし、溶血性貧血でもありますし、そういうものから除外するための、「ミニマム・dysplasia・クライテリア」と呼んでいるのですが、そのための基準です。

それと、形態異常の軽いRAと重いRA、即ちRCMDをどこで区別するかということには、今日は触れませんでした。これはパリの国際MDSシンポジウムの時にも問題になりました。どこからがRCMDかということです。例えばミクロメガカリオがRCMDでほとんど確実に出てくるというならミクロメガカリオの出現をもってRCMDと言えるのです。白血病への移行率も確かにRCMDは高いのです。今各国の専門家がそういうところについて、WHO分類のこのRCMDの提唱によって、逆に非常に神経質に形態の見直しを始めたところです。

WHO分類はdysplasiaが強いというのを、典型的なdysplasiaが10%以上あればいいとBlue Bookに書いているのですが、なぜ10%かということ私を調べました。そうするとある文献が引いてあって、それは実は私どもの文献だったのです。

AMLを治療したあとに寛解した人を調べると、

20%ぐらいの人にdysplasiaがあるのです。そういうものを発見するクライテリアに我々は「10%以上」というのを使っていたのですが、それをそのまま引用しています。だからこれはあまりフェアではないと思います。自分たちでやっていないのです。そういうことで、国際MDSシンポジウムに参加されていた皆さんも、severe-dysplasiaをどこから取るかということに関しては、まだ今からの問題だと言っていました。

【司会】ありがとうございました。名古屋会場から質問があるようです。お願いします。

【名古屋会場・高本】名古屋会場は、お2人の検査技師の方から三つの質問があります。一つずつお願いしたいと思います。

(質問) がんの化学療法後の患者さんで、血球回復の悪い場合にマルク(骨髄穿刺)をやると異形成の認められることがあります。このような場合はMDSと薬剤の直接的な作用との鑑別はどのようすればよいでしょうか。

【朝長】今のご質問について、がんの化学療法はいつやられたかということをお教えいただけますか。もう何年も前にやられたのか、あるいはつい最近終了したばかりなのかによって全然違うのですが、ご質問された方、いかがでしょうか。

【名古屋会場・高本】時間的な記載は書かれておりません。

【朝長】化学療法終了直後は、やはり注意して判断すべきだと思います。化学療法が入ったあとの骨髄は非常に紛らわしいのです。期間をあけて形態異常が持続するかどうかということが非常に重要だと思います。定型的なdysplasiaが3か月ぐらい間を置いて検査をしても常に存在するとなると、染色体異常を分析する等、MDSの存在を疑わないといけません。一方、1~2年前に抗がん剤の投与が行われた例で、途中は全く正常の骨髄が1回以上観察されていたのに再び汎血球減少になってdysplasiaがある場合は、いよいよ白血病の前兆だというふうに普通は考えたほうがよろしいかと思えます。そういうふうに把握していただければと思います。よろしいでしょうか。

【名古屋会場・高本】それに関連したもう一つの質

問です。

(質問) 化学療法中に付加的染色体異常が認められた場合の取り扱いはどうなるのでしょうか。therapy-related AMLに属するのでしょうか。

【朝長】今のご質問は、白血病の方が、例えば最初は染色体異常がなかったけれども、あとから再発した時には染色体異常があるというようなことなのでしょう。

【名古屋会場・高本】「付加的」と書いてありますので、もともと異常があって、治療後さらに付加的な異常が出現したということだと思います。

【朝長】これは、普通は治療関連というカテゴリーには入れないと思います。クローン進展という考え方がもう一つあって、もともとの白血病のクローンが持っていた染色体はそのまま存在し続けて、プラスアルファが出ているわけですから、もともとのクローンがより悪性度を増したと考えるほうが正しいのではないかと思います。それが治療によって誘発されたかどうかというのは非常に微妙な問題になってきて、断定はできないのではないかと思います。

【名古屋会場・高本】最後の質問になります。

(質問) 朝長先生のご講演の中で、RAEB-t19例の見直しのうち、M6と再分類された1例がアウエル小体陽性というお話ですが、これをどのように考えたらよいのでしょうか。

【朝長】M6でアウエル小体が出るか出ないかという問題でしょうか。あまりアウエル小体は出ないのですが、M6でも全くゼロではないと思います。

M6というのは一つの疾患単位ではなくて病型だと思っております。赤芽球も腫瘍クローンとして増生して、なおかつmyeloblastも増生しているグループがありまして、そのmyeloblastをよくよく調べると巨核芽球も混じっていたりします。

そういう意味で、まだまだM6というのはすっきりいけません。しかも赤芽球だけのpure erythroblastic leukemiaをWHO分類は提唱していますが、あれもまだまだ症例蓄積が足りません。日本でもあちこちでちらほら出ていますので、集積していったら、このM6のカテゴリーにどのくらいの疾患が存在するかを明らかにするというのは今

後非常に興味ある課題だと思っています。

【司会】名古屋会場、ありがとうございました。

【名古屋会場・高本】ありがとうございました。

【司会】神戸会場で質問があります。

(質問) 11q23AMLで、VP16で治療関連である場合に、WHO分類ではどちらのカテゴリーを優先して診断するのでしょうか。

【朝長】Blue Bookの規定で言いますと、二次性白血病のところに分類することになります。そういう事例は、t(8;21)の症例は通常第1カテゴリーになりますが、これが抗がん剤を投与した人に起こった場合は二次性白血病の第3カテゴリーに入ってきます。それはWHO分類を採用する以上は仕方がないのです。だからこそFAB分類の病名をずっとつけておいたほうがいいというのが、私の先ほどの最後の話です。

【司会】もう一つ質問です。

(質問) mixed lineage leukemiaは、ペルオキシダーゼ陽性ならばWHO分類ではAMLのカテゴリーに従うのでしょうか。mixed lineage leukemiaは独立したカテゴリーにならないのでしょうか。

【朝長】mixed lineage leukemiaは第5カテゴリーのambiguous、「系統不詳」と訳していますが、そういうものに入ってきています。

先ほど申し上げたと思うのですが、まだmixed leukemiaは疾患単位として確立していないのです。例えばMPOが陽性でかつリンパ系のマーカーも出るというようなbiphenotypicも入ってくるわけです。一番重要なのは、治療をしたときにどういう予後を示すかということです。一般的にはmixed leukemiaは予後不良で、なかなか化学療法だけでは治癒しないから骨髄移植をするのだということになっているのですが、私の知る限り、40~50例、あるいは100例以上の研究は皆無です。ここではマーカーでどのくらい精密にmixed leukemiaを診断していくかという問題があって、これは川合先生があとでお触れになると思うのですが、まだ私の見解では未完成状態だと思います。

今のご質問の方が疑問に感じておられることについては、我々も全部疑問に感じています。化学療法をする人には、POが陽性ならAMLでいいの

ではないかと言う人もいるのですが、そうは一筋縄ではいかない部分もあって、ふたを開けてみると mixed leukemia であつたりするわけです。そういうことでまだまだ非常に複雑ということだと思います。

【司会】ありがとうございました。東京会場、いかがでしょうか。何か質問はありますでしょうか。

【東京会場・米山】東京会場からは一つ質問が教員のかたから出ています。細かな点になりますが、お教えいただきたいと思います。

(質問) MツーとMニ, MスリーとMサン, 読み方に関してはどこらでもよろしいのでしょうか。

【東京会場・米山】関連して私から一つ確認させていただきたいのですが、WHO分類のAMLの第4カテゴリーは、M0, M1, M2というような表記はBlue Bookでは記載されていませんが、今後はそういうかたちで「WHOのM2」とか、「WHOのM3」というような言い方が一般的になってくるのでしょうか。

【朝長】あとのほうから先にお答えしますが、WHO分類は確かにあそこにはM0, M1, M2とは書いていません。しかし、FABの従来のやり方に従うということが書いてありますので、一応そのような解釈でいいのではないかと思います。実際、WHOのグループもそのように言っていますのでよろしいのではないかと思います。

それから、日本人として言うときは「Mニ」で、外国人と話すときは「Mツー」で、両方ミックスして使っている現状があります。

【司会】ありがとうございました。よろしいでしょうか。

【東京会場・米山】ありがとうございました。

【司会】恐らく質問はまだまだたくさんあると思いますが、そろそろ時間が来たようです。朝長先生、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】 M0 ~ M7の分類は白血球の分化度と一致しているのでしょうか。もともと正常コースの分化をたどっているものではないので、分化度で比較はできないのでしょうか、何らかの道標のようなものがあると思いますのでお教えてください。

【回答】 FAB分類の大きな特徴として、白血病細胞集団の分化度を取り入れた点を上げることができます。すなわち promyelocyte から好中球までの分化傾向の程度の差はあれ、明らかに認められる M2, M3, M4 が分化型と言えます。また芽球段階での分化停止 (maturation arrest) が顕著な M0, M1, M5a, M6 (赤芽球は分化傾向がありますが、骨髄系は骨髄芽球が中心になっている) は未分化型と言えます。現在の化学療法の成績、特に寛解率と5年生存率は明らかに分化型が良好、未分化型が不良で、診断時点でおよその予後を推定できます。

FAB分類が広く受け入れられた原因の一つがこれです。なぜ分化型が予後がよいか? 化学療法剤に対する感受性が良いからと思われそうですが、その真の機構は不明で、現在遺伝子レベルの研究が進んでいるところです。

【質問】 MDSでの赤芽球の核融解像や好中球の核クロマチン分類の typeII や typeIII を、朝長先生が書かれた本を見て分類しようとしたのですが、とても微妙で私の見ているものが本当にそうなのか、自信がありません。写真と標本では少し見え方も違ってくると思いますし、また個人差が出るとは思いますが、正しく見分けられる様になるにはどのような訓練が必要でしょうか?

【回答】 これはご質問の方がおっしゃるとおり形態学の難しいところです。しかし海外のMDSの専門家はそのレベルで判定している人が多いのも事実で

す。日本ではFAB分類で示されたベルゲル核異常、脱顆粒、多核巨大赤芽球、ミクロ巨核球等が有名になりすぎて、そればかりみて診断することに慣れすぎていたと思います。欧米では多くの赤芽球、また多くの好中球に異常性を認めることを重要視し、上記の有名な異常が出現すれば、なお確実なMDSの所見と見なしています。特に赤芽球に軽度のクロマチン構造の乱れ（核融解像と呼んでいますが、巨赤芽球様変化と呼ぶ人もいます）を認めることが重視されています。正常人の骨髄で良く染色されたものを常に対照にして、正常の多染性赤芽球と、MDS疑い例の多染性赤芽球を比べながら顕微鏡観察をしてください。正常ではクロマチンの粒が均一に、かつ密に分布していますが、MDSでは乱れて、クロマチンの一部は周辺と融合して融解像と呼んでいる不均一性を示しています。ひどい例ではクロマチンの粒はなくなり、べったりした無構造の核となります。この異常がMDSの赤芽球では20～100%（平均50%以上）とたいへん多くみられます。我が国では、従来これらは正常と見なされ、あまり重視されていませんでした。

同様にMDS患者において、大部分の好中球でどこが一番異常かという観点でみると、分節核のクロマチン構造が粗大な固まりをつくり、核は不整型となり、かつ濃染する（我々が提唱しているⅡ型からⅢ型の）好中球が20～80%（平均50%以上）と最も多い事実気付きます。これまでも熟練したMDS専門家はこれを見て、好中球の大部分が異常だと判断する根拠にしていたのですが、形態学的に表現が難しいため、あまり重視されないままでした（FAB分類のオリジナル論文の写真にもこの異常は載っています）。そのため判定しやすいベルゲル核異常や原形質脱顆粒が重視されてきましたが、それぞれの出現頻度は高々全症例の30%程度であり、多くのMDS例では上記の核クロマチン構造の乱れが最も高頻度に見られる異常と言わざるを得ません。MDSはクローン性の疾患であり、定量的に見て、多くの細胞が形態学的に異常という事実を重視すべきものと現在は考えられています。

好中球のⅡ～Ⅲ型の判定は、骨髄標本上で細胞が最も良く伸展された部分で判定することが極めて重要です。そのような部分では正常人の好中球の分節核では、Ⅱ～Ⅲ型のクロマチン異常を示すものは合わせて20%未満と少なく、80%以上はⅠ型であり、MDSとの大きな違いに気付きます。是非、正常骨髄を対照において常に比較鏡検する習慣をつけてください。

【質問】 FAB分類でも同様のことが言えるかと思いますが、WHO分類において、芽球の割合がBM、PBとで一致しなかった時に、例えばBMにおいては芽球が15%、PBにおいては25%というような時は、MDSのRAEB-IIとすべきか、AMLとすべきかお教えください。

また、BM、PBどちらの芽球%を優先させて診断すべきでしょうか。PBの芽球が多いケースでは予後が悪いという報告もあると思うのですが、いかがでしょうか？

【回答】 AMLの多くの症例では末梢血より骨髄で芽球%がより高いのが原則ですが、稀に末梢血の方がより高い場合があり、FAB分類では末梢血が30%以上あり、骨髄が30%未満でこれをRAEB-Tとするかどうか議論されたことがあります。この場合多くの例で骨髄はしばらくすると必ず30%以上に増加してくることから、AMLと考えて良く、またperipheral AMLと言う名称でも呼ばれていました。御質問のケースは、AMLの基準が30%が20%に下げられたWHO分類ではどうなるかと言うことになります。WHO分類では明確な記述はないのですが、末梢血が骨髄のいずれかで20%以上あるとAMLと診断すると解釈することでよいのではないかと思います。このような症例はしばらく経過を見ていると、上述のようにやがて骨髄も20%を超えてくると思います。一番注意しなければならないのは、末梢血と骨髄いずれも20%未満でRAEBと診断する場合、このような症例の中にt(8;21) AMLの初期段階が紛れ込むことです。形態学的にもこのタイプは独特な好中球系の異常を示し、3系統の形態異常、特に巨核球異常は見られないことから鑑別できますが、染色体検査の結果、RAEBとした中にもt(8;21)例があった

場合は、芽球20%未満であってもAML (early AML) とすると言うことがWHO分類には明記してあります。

なおRAEB患者の骨髄で芽球が10%未満、しかし末梢血では10～19%と多い場合は、RAEB-1ではなく、RAEB-2とする規定がWHO分類には記述されています。

【質問】

- 1) WHO分類で芽球のタイプ1～3をWHOではどう取り扱うのでしょうか？
- 2) MDSのRCMDの中で異形細胞が10%を越えるという規定があるのですが、MDS/MPDなどの場合にもその異形細胞が10%を越えないといけないのでしょうか？
- 3) MDSのRAでの赤芽球系の異形成も10%以上の赤芽球で異形成があるという規定になるのでしょうか？

【回答】

- 1) タイプ3という芽球は顆粒がたくさん存在する芽球ですが、タイプII(顆粒が存在するがその数は少ない)とも連続があり、あまり明確に区

分する意義はこれまでも確立しなかったと思います。WHO分類でも取り上げられていないと思います。

- 2) RCMDで異形成10%以上の定義が確かに記述されていますが、その異形成はsignificant(意義がある、あるいははっきりした)なものとしてされており、ペルゲル核異常や脱顆粒、ミクロ巨核球、巨大多核赤芽球などのような明瞭な異形成が10%異常という意味と解釈できます。MDS/MPDには特にこの点の記述はなく、従来のFABのRAをこの10%で、RAとRCMDに分ける場合にのみ適応される規定と思います。この10%規定の妥当性は今議論になっており、RCMDの定義をどのようにするか今後かなり研究されると思われます。
- 3) WHO分類では、MDSのRAは主に赤芽球系のみの異常を持つとされていますが、これについても議論があり、全例で3系統に軽度ながら異常は存在すると考えているMDS専門家が多いと思います。RAの赤芽球で10%以上という規定は特にありません。