

ルーチン診断手順における NEUT-X 測定の有用性： 骨髄異形成症候群への適用

Prof. Florence Cymbalista

Haematology Biology Department, Hopital Avicenne, APHP (Public assistance-hospital of Paris) :
125, rue de Stalingrad 93009 Bobigny, France

はじめに

骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome ; MDS) は、よく見られる予後不良の悪性疾患であり、成熟赤血球の産生不能という共通の特徴を持った異なる骨髄疾患群の総称である。WHO の診断基準によると、MDS は以下の 6 群に分類される。

- ・ 5q- 症候群
- ・ 不応性貧血 (refractory anaemia ; RA)
- ・ 芽球増加を伴う不応性貧血 (refractory anaemia with excess of blasts ; RAEB)
- ・ 鉄芽球を伴う不応性貧血 (refractory anaemia with ring sideroblasts ; RARS)
- ・ 多血球系異形成を伴う不応性血球減少症 (refractory cytopenia with multilineage dysplasia ; RCMD)
- ・ 多血球系異形成と鉄芽球を伴う不応性血球減少症 (RCMD with ring sideroblasts ; RCMD-RS)

これらの症候群にはすべての年齢層が罹患し得るが、MDS 発症のリスクは加齢とともに増大する。MDS と診断される患者の平均年齢は 60 歳代半ばである。MDS と診断することは、患者の 20 ~ 30% には、急性骨髄性白血病 (acute myeloid leukemia ; AML) に転化し、ほとんど致命的となるリスクがあることを意味する。これ以外の MDS の致命的合併症には、しばしば感染症を伴う血球減少症がある。最近まで MDS の治療は輸血などの支持的治療のみであった

が、高リスク MDS の治療法が進歩してきたことにより、MDS の分類を早期かつ正確に行うことが重要となってきた。5q 欠失を伴う MDS の一部には、免疫抑制薬であるレナリノマイド™ (Lenalinomide™) が非常に有効であることが証明されている。エリスロポエチン治療などの早期の支持療法は有効であり、疾患の経過において輸血の必要性が低減される。MDS を発症すると、高齢患者に多い他の合併症の治療効果を低下させることがある。

残念ながら MDS の診断上の特徴は多様かつ非特異的である。大多数の MDS 患者には貧血が見られるが、われわれの検査室ではすべての血算検査のうち 3 分の 1 が貧血を示す。MDS の貧血は通常、正球性または大球性である。MDS 患者の 40% には診断時に好中球減少症が見られ、3 分の 1 には血小板減少症が見られる。これらの異常は単独で存在したり併存したりする。こういった特徴は非常に非特異的であり、血球分析装置で得られる標準的なパラメータは MDS の鑑別診断に役立つ情報を提供してくれない。最終的な診断は末梢血と骨髄の形態学的検査による。

研究目的

多項目自動血球分析装置 XE-2100 (以下、XE-2100 ; シスメックス社) で測定される赤血球、白血球および血小板についてのいくつかの細胞構造的パラメータを検討すること。これらのパラメータは目下のところ研究目的に限られたものであるため、

ルーチンで報告されることはないが、MDSの診断に役立つものと考えられる。

患者群および対照群

MDS患者 184例。

MDS以外の様々な原因による貧血患者 196例。

対照群として、ルーチンの血液学検査から無差別抽出した患者サンプル 3,545例。これらの患者はMDSではないが、必ずしも血算結果が正常であったとは限らない。

細胞構造的パラメータの基準範囲を定めるための健常検体 1,053例。

MDS患者は、骨髓穿刺検査、芽球数および異形成の程度によって診断した。骨髓核型決定も全症例について実施し、WHO分類に従い症例を層別化した。

方法

すべての血算はXE-2100で実施した。

MDSの診断は以下のパラメータを考慮して行った。

- ・ 定量パラメータのカットオフ値
 - ヘモグロビン < 11g/dL
 - 血小板 < $120 \times 10^9/L$
 - 好中球 < $1.5 \times 10^9/L$
 - MCV > 110 fL
- ・ 通常のパラメータに追加した構造的パラメータおよび成熟度パラメータ
 - 赤血球のRET-YおよびIRF
 - 好中球のNEUT-XおよびNEUT-Y
 - 血小板のP-MFV

RET-Yはポリメチン系色素で染色され、前方散乱光を用いて網赤血球のチャンネルで測定される。XE-2100では成熟赤血球と網赤血球のおおよその大きさの測定値が得られ、それぞれRBC-YおよびRET-Yと表される。

IRFは網赤血球の蛍光強度によって測定され、幼若網赤血球の分画を示す。

NEUT-XとNEUT-Yは好中球集団の側方散乱光と蛍光の平均値である。NEUT-Xは好中球の内部構造

を反映し、NEUT-Yは蛍光を反映する。

P-MFVは血小板の粒度分布のピークである。これは中央値と違って重度の血小板減少症でも得られるため、有用なパラメータである。

MDS患者と他の原因の貧血患者からの血液塗抹標本 196例を2人の熟練者により検査した。好中球の顆粒度を評価するために、0(高顆粒度)~5(無顆粒)の半定量スケールを設定し、このスコアをNEUT-X値と比較した。

ルーチンでは、定量パラメータが異常であっても必ずしも血液塗抹検査を実施するとは限らない。ヘモグロビンが11g/dLを下回っているだけのサンプルや大赤血球症のみのサンプルについては血液塗抹標本を作製しないが、好中球減少症や血小板減少症の場合は、それが単独の異常であるか他の異常との合併であるかにかかわらず、血液塗抹検査を実施する。

結果

MDS患者における定量パラメータ:

MDS患者における異常パラメータの頻度を表1に示す。MDS患者の32%は孤立性の貧血または大赤血球症であるため、われわれの検査室ではルーチン的に血液塗抹検査を行っていない。したがって、これらの患者を同定するためには他のパラメータが必要である。

対照群およびMDS患者群における構造的パラメータ:

ヘモグロビン、白血球数、好中球数、血小板数が正常である検体 1,053例を用いて、各パラメータの正常中央値と標準偏差(SD)を決定した(表2)。特にNEUT-Xでは、非常に狭いSDとなった。

対照群とMDS患者群の結果の比較には多変量解析を用いた。好中球数とNEUT-XについてMDS患者と正常検体を比較すると、有意な差が認められた。最も感度の高いパラメータはNEUT-Xであり、MDSで有意に低値を示した。MDS患者群におけるNEUT-Xの正常平均値からの偏差の累積度数を図1に示す。NEUT-Xが正常平均値を1SD以上下回っていたのは、対照群では17%であるのに対しMDS患者群では75%となっている。

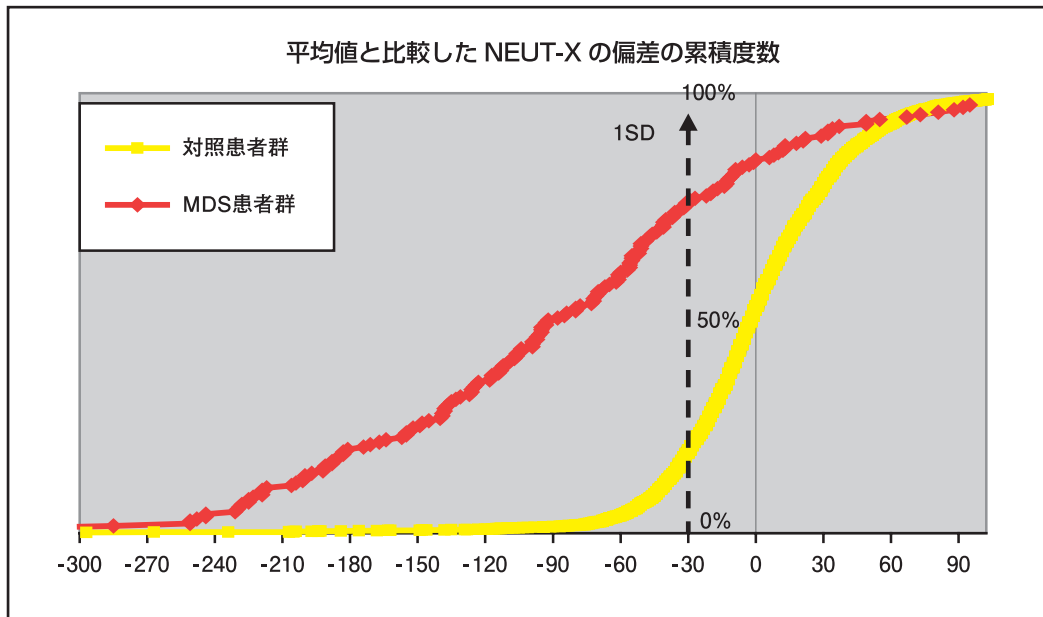
表 1. MDS 患者における異常定量パラメータの頻度

MDS 患者頻度				
貧血を伴う好中球減少症および / または血小板減少症	貧血を伴う大赤血球症	孤立性貧血 孤立性大赤血球症	貧血のない好中球減少症および / または血小板減少症	正常
50%	5%	32%	12%	1%

表 2. 構造的パラメータの正常範囲

健常群の構造的パラメータ				
	P-MFV	NEUT-X	IRF	RET-Y
最小値	7.4	1212	17	1720
最大値	13.4	1413	243	1992
中央値	9.1	1330	103	1872
SD	8%	3%	53%	4%

MDS では NEUT-X が有意に低い



NEUT-Xが1SD以上低いのは対照患者群では17%であるのに対し、MDS患者群では75%である。

図 1. 対照患者群と MDS 患者群における NEUT-X の正常平均値からの偏差の累積頻度を示すプロット

NEUT-X と好中球の形態学的特徴の関係：

図2に示すように、低NEUT-Xは好中球の低顆粒度と強く相関していた ($R^2 = 0.867$)。NEUT-Xは、重度の好中球減少症であっても、好中球数とは相関していなかった。MDS患者群は対照群よりも高齢であったため、NEUT-Xと年齢の相関を調べたが、相関は認められなかった。NEUT-Xの値は年齢依存性ではない。

対照群における NEUT-X 値の確認および本研究で用いたカットオフ値：

対照患者群における NEUT-X の中央値に、われわれの病院の患者カテゴリーによる偏りが無いことを確認するため、他病院の対照患者群で NEUT-X の範囲を求めた。それらの病院の患者コホートの違いを基に、3か所の検査室を選択した。そのすべての検査室において、NEUT-X 値の分布は同一であることが認められた。

MDS の診断においては、正常値 -30 (1 SD) とい

うカットオフ値で最も良く識別されたが、これと同じ数値はわれわれの当初の研究でも認められており、複数の統計学者によって確認されている。

顆粒度指数 (Granularity Index ; GI) の定義およびルーチン業務における MDS 診断のためのスクリーニングツールとしての利用：

すでに考察したとおり、NEUT-X は好中球の顆粒度と強く関係している。本研究では、ルーチンにおける MDS 診断の指標として、NEUT-X の半定量的表現の利用可能性を検討した。対照患者群の NEUT-X の平均値は 1330 であり、SD は 30 であった。この SD は、MDS 患者群と健常群の中央値の差と同一であった。そのため、この SD に基づいて顆粒度指数を決めた。

NEUT-X \pm 1 SD を GI スコア 0 とし、平均から 1 SD 下回る場合は GI スコア -1、平均から 1 SD 上回る場合は GI スコア +1 とする。GI スコアリングシステムを表3に示す。

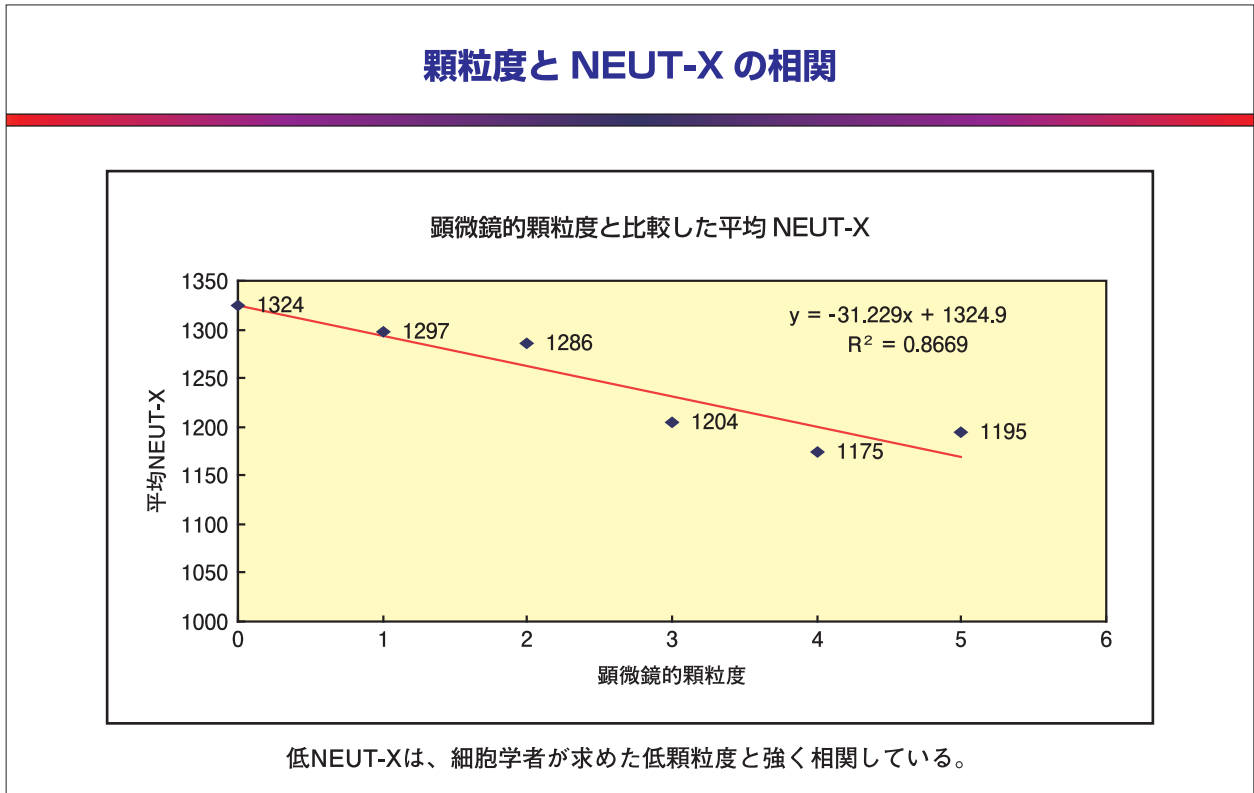


図2. NEUT-X と鏡検の半定量スコアリングシステムによる好中球の顆粒度との相関

表3. 健常群と対照患者群で認められた NEUT-X の平均値からの偏差に基づく顆粒度指数の算定

顆粒度指数の定義							
NEUT-X の基準値からの差	> -90	-61 ~ -90	-31 ~ -60	-30 ~ +30	+ 31 ~ + 60	+ 61 ~ + 90	> + 90
GI 値	-3	-2	-1	0	1	2	3

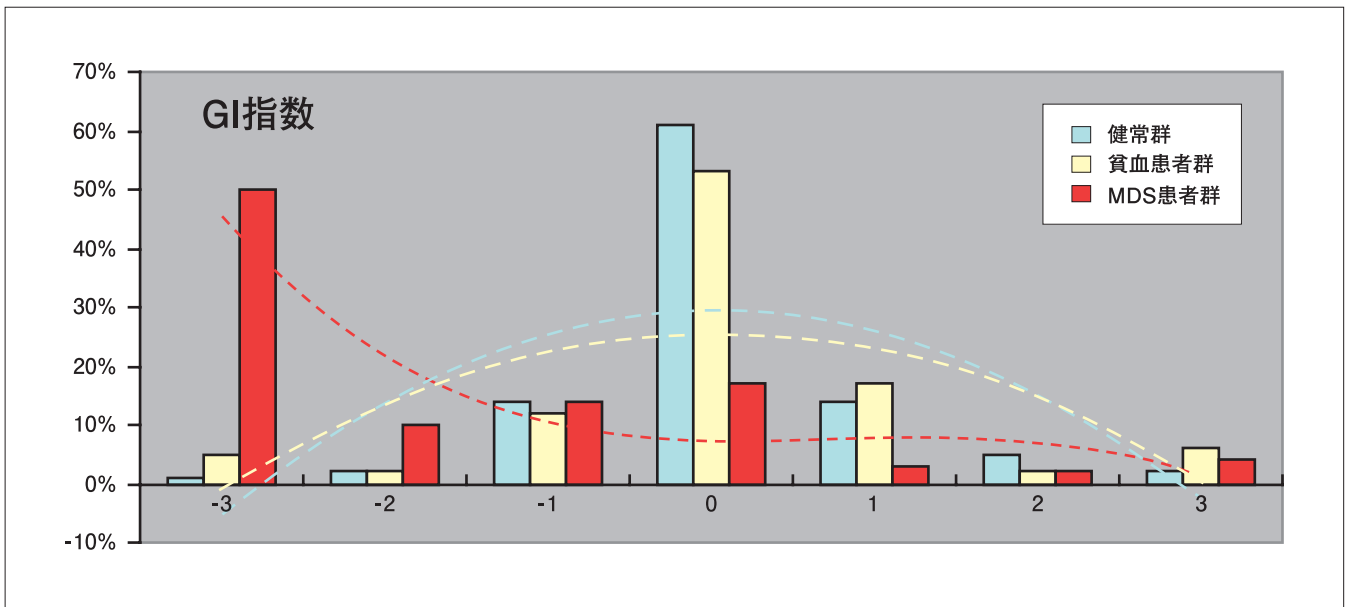


図3. 3患者群におけるGIスコアの分布

負のスコアは好中球の顆粒度が低めであることを示す。MDS患者についてはスコアリングを-9までの段階としたときのGIが3から-3の結果のみを示している。

3患者群におけるGI値の分布：

GIを健常群、貧血患者群およびMDS患者群で調べた。MDSとは無関係の原因による貧血患者のGIは健常群と酷似していた。MDS患者のGIは他の2群よりも統計学的に低かった(図3)。健常群と貧血患者群は、GIスコア0付近を中央とする同様のガウス分布(正規分布)を示した。MDS検体の大多数はGIスコアが-3となり、スコアリングシステムを-9までの段階とすると、MDS患者の50%で-3以下のスコアとなった。一方、健常群、無作為抽出対照群および貧血患者群では、-3を下回るスコアは認められなかった。MDS患者でも少数は0以上のGIとなることがある。

孤立性貧血が存在する場合におけるMDSに対するGI指標の臨床的有用性：

MDS患者の33%では血算結果の唯一の異常が低ヘモグロビンである。これら58患者中54患者が低GIであった。GIを指標として利用していれば、これらの患者は血液塗抹検査の対象とされていたことになり、その反面、非MDS症例における塗抹検査実施の増加はわずか2%に留まっていたはずである。したがって、貧血単独と低GIを関連付けて考えることはMDSを高度に示唆することが分かり、偽陽性として血液塗抹検査を増やすことなく、ルーチン業務においてMDSの新患を発見するための指標として極めて有用であると思われる。

GI と WHO の診断基準を用いた MDS の鑑別診断：

われわれは MDS の各サブクラスにおいて診断基準としての低 GI の重要性を検討した。各分類においては、塗抹検査を必要とするすべての異常、すなわち好中球減少症、血小板減少症、2 または 3 系統血球減少症、および大赤血球症を伴った貧血 (MCV > 110 fL) を考慮した。その他の症例、つまり、上記の異常がないあるいは孤立性貧血の症例では塗抹検査は考慮されない。したがって、低 GI を孤立性貧血と合わせて考慮すれば、孤立性貧血で低 GI の症例のすべてがスライド検査を実施され、発見につながることになる。

図 4 に示したとおり、上記の考慮による発見率向上はすべての分類で認められ、その範囲は RAEB の 13.7% から RARS の 71.4% にわたっていた。とりわけ、5q- の MDS は 42.3% が貧血かつ低 GI の組合せから発見された。

孤立性貧血における GI は適中率が高く (97%)、これは低 GI が認められなければ MDS のリスクがゼロに近いことを意味する。

GI が -1 を下回っていると、そうでない場合に比べて MDS である確率が 18 倍高くなるため、このような状況では、ほぼ MDS と診断できると考えられる。

結 論

- ・本研究の目的は、シスメックス社の血液分析装置で得られるパラメータのうち、ルーチンでの MDS 発見に役立つと思われるものを見つけることであった。
- ・本研究において、われわれは好中球の構造的パラメータである NEUT-X が MDS 発見に利用できることを実証した。

WHO 分類による MDS 症例の詳細分析

	5Q-	RA	RAEB	RARS	CRDM	CRDM-RS
正常	3.8%	13.3%	4.1%	0.0%	2.6%	0.0%
GI<0の孤立性貧血	42.3%	33.3%	13.7%	71.4%	23.7%	36.4%
他の異常	53.8%	53.3%	82.2%	28.6%	73.7%	63.6%

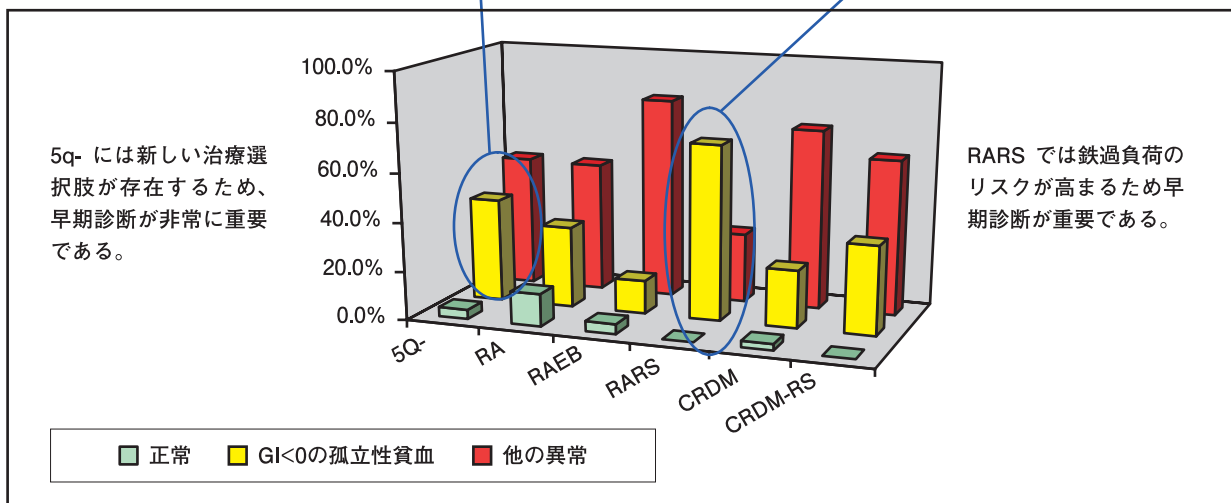


図 4. GI 指標を利用した場合としない場合の WHO 分類の各 MDS 分類における血液塗抹検査数

- ・ NEUT-X は半定量パラメータである顆粒度指数 GI に換算できる。
- ・ 貧血において負の GI が認められれば、MDS が高度に示唆されることが証明された。
- ・ 孤立性貧血と負の GI を組み合わせると、血液塗抹検査の対象とされる MDS 患者の割合が 67% から 96% に増加した。
- ・ 対照における偽陽性結果すなわち不要な塗抹検査はわずか 2% であった。
- ・ 孤立性貧血において GI スコアが正であれば、ほぼ確実に MDS は正しい診断ではない。
- ・ -1 を下回る GI は MDS を強く示唆する（その確率は 18 倍となる）。
- ・ 現在進行中の研究およびこれらからの予備的所見は、NEUT-X/GI を他の疾患にも適用できる可能性を示唆している。

本研究は、シスメックス社の血液分析装置で得られるルーチンで報告可能な血算パラメータに NEUT-X/GI を含めるべきであることを示唆するものである。

謝 辞

シスメックス社、本会議の委員会および事務局の皆様がこの賞を感謝したい。このような賞を頂戴し、非常に嬉しく思う。本研究は、私だけではなく、私の研究室のスタッフ全員、そして協力してくれた 3 カ所の施設の仲間たちとの共同の成果であり、以下の皆様に感謝申し上げます。

Mr. JP Perol, SYSMEX Europe, 本研究への貴重な助力に対して

Dr F Schillinger, EFS Bourgogne-Franche Comté, Besançon

Dr JY Peltier, CH Saint Germain en Laye

Dr B Savin, laboratoire Gillard, Reims

Dr Levy, Biostatistics, Hopital St Louis

Dr Fenaux, Clinical department, Hopital Avicenne, Bobigny

JF Collon, M Ganthier および技師の皆さん

Dr G Leroux と医療スタッフの皆さん (Haematology Biology department, Hopital Avicenne, Bobigny)

Usefulness of NEUT-X Determination in Routine Diagnostic Procedures: Application to Myelodysplastic Syndromes

Prof. Florence Cymbalista

Haematology Biology Department, Hopital Avicenne, APHP (Public assistance-hospital of Paris),
125, rue de Stalingrad 93009 Bobigny, France