

平成23年度形態検査部門血液検査分野研修会
2012.2.28 大分赤十字病院

平成23年度ホームページ症例解説 ～症例1～

大分県立病院 矢田 佳愛

症例1 34歳 女性

2、3日前から38度台の発熱あり、白血球減少・血小板減少あり紹介。

血液検査

WBC $1.31 \times 10^3 / \mu\text{L}$

RBC $4.91 \times 10^6 / \mu\text{L}$

HB 13.3 g/dl

Hct 41.0 %

MCV 83.5 fL

MCH 27.1 pg

MCHC 32.5 g/dl

RDW 13.4 %

PLT $84 \times 10^3 / \mu\text{L}$

生化学検査

TP 7.0 g/dl

ALB 4.2 g/dl

A/G 比 1.50

TB 0.4 mg/dl

GLU 87 mg/dl

AST 23 IU/l

ALT 21 IU/l

ALP 136 IU/l

LDH 206 IU/l

γ -GTP 28 IU/l

フェリチン 96.3 ng/dl

CRE 0.72 mg/dl

UA 4.3 mg/dl

CRP 0.85 mg/dl

凝固検査

PT(%) 101 %

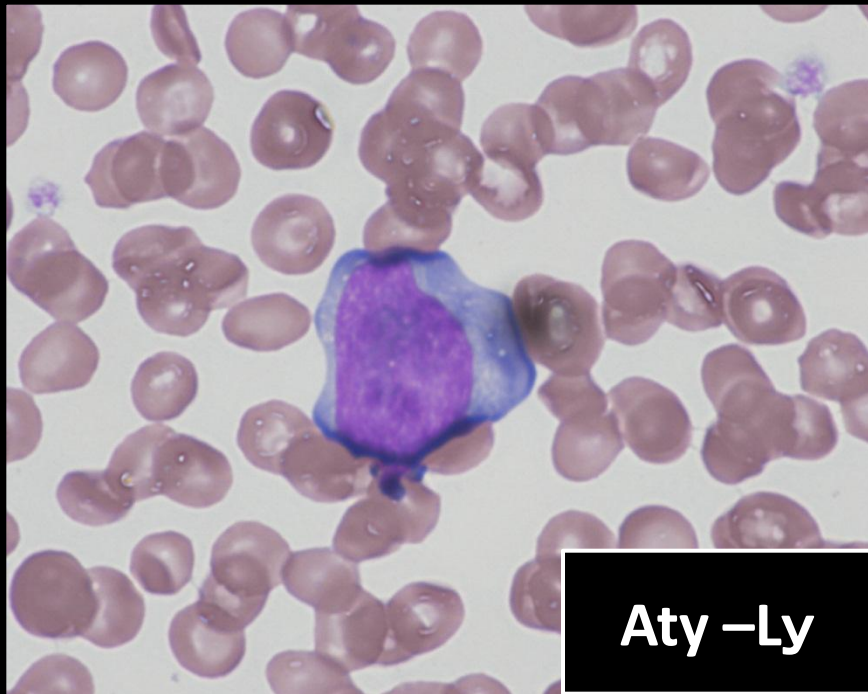
PT(INR) 0.99

APTT(秒) 33.0 sec

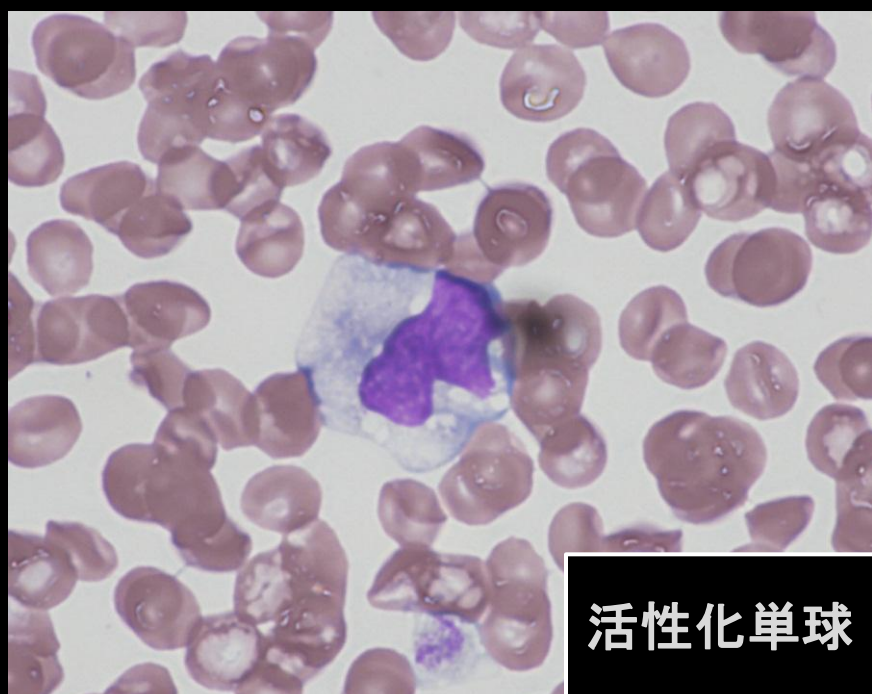
Fib 324 mg/dl

FDP 2.9 $\mu\text{g/dl}$

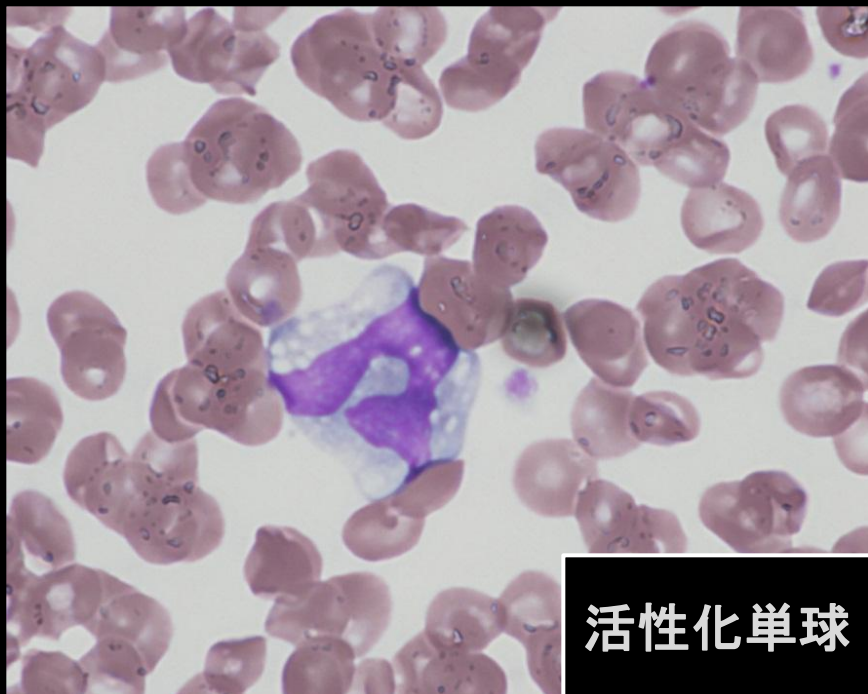
D-ダイマー 0.8 $\mu\text{g/dl}$



Aty -Ly



活性化単球



活性化単球

用手法分類

Meta	1.0 %
Stab	10.0 %
Seg	12.0 %
Lymph	44.0 %
Mono	22.0 %
Eosino	2.0 %

症例クイズ

- Q1 データと標本から推測される疾患をあげて下さい。
- Q2 上記疾患にした理由をあげて下さい。
- Q3 診断に必要な検査をあげて下さい。
- Q4 骨髄検査から推測される疾患をあげて下さい。

1.検査データと末梢血標本から推測される疾患をあげて下さい。

- ・血球減少症(白血病,MDS,再生不良性貧血,脾機能亢進症等)
- ・自己免疫性疾患
- ・ウィルス等の感染症
- ・薬剤性反応(無顆粒球症等)等

2.上記疾患にした理由をあげて下さい。

・白血球・血小板 2系統の血球減少

血球減少症(血液疾患、脾機能亢進症)等
自己免疫性疾患

・好中球の減少・顆粒球系左方推移・CRPのやや増加 異型リンパ球・活性化単球の出現

慢性感染症、薬剤性反応 等

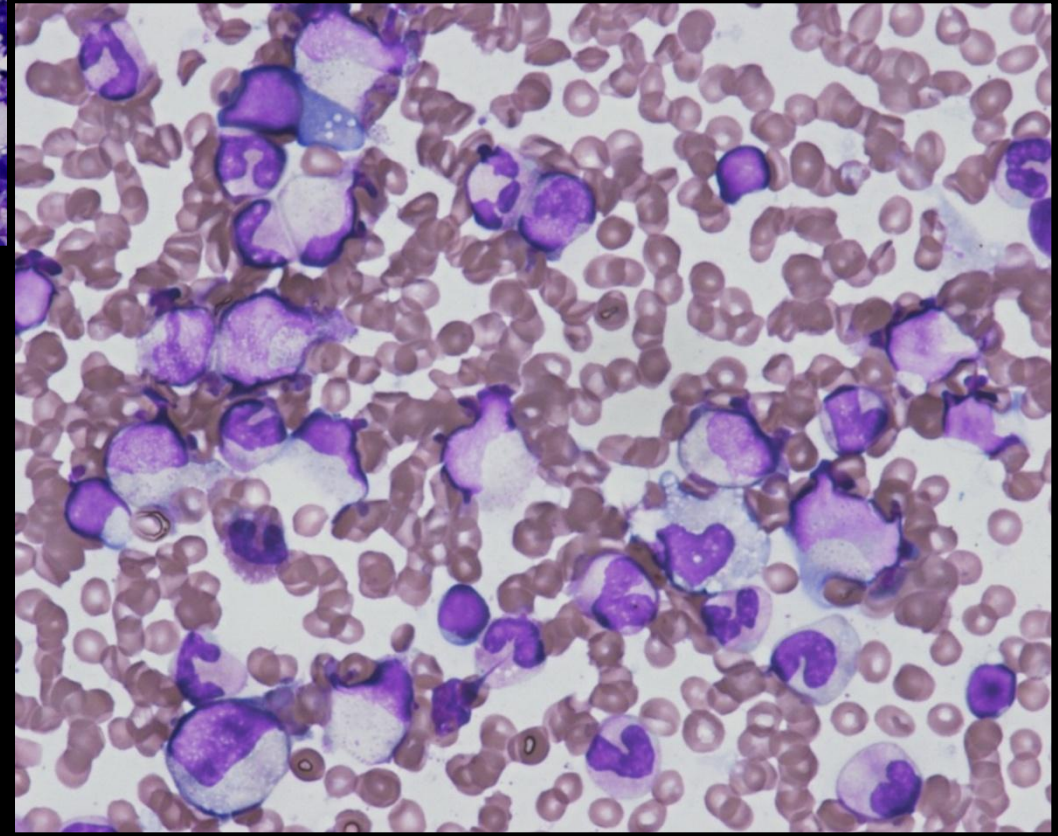
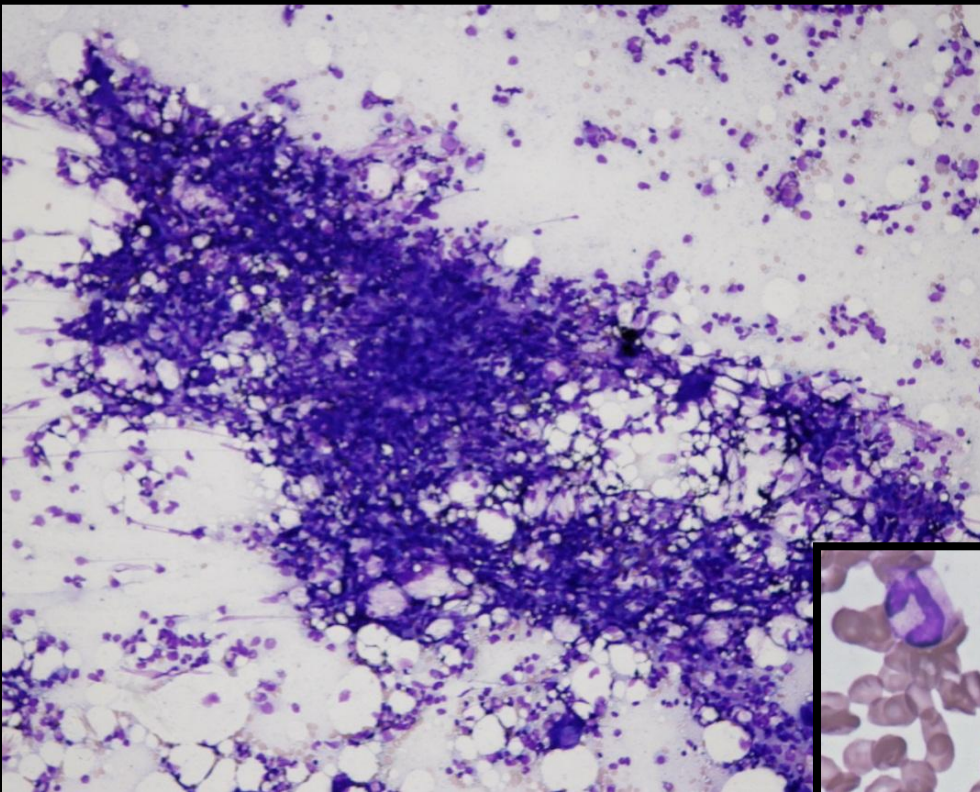
3.診断に必要な検査をあげて下さい。

- 網赤血球数、網血小板測定 → 貧血・血小板数の動向
- 抗核抗体、補体価等 → 自己免疫性疾患
- 各種ウィルス検査 → 感染症(急性・慢性)
- 臨床所見・経過の確認 → 一過性 or 持続性？
薬剤使用状況、脾腫の有無
- 骨髄穿刺 → 骨髄造血の評価

骨髓標本 MG染色

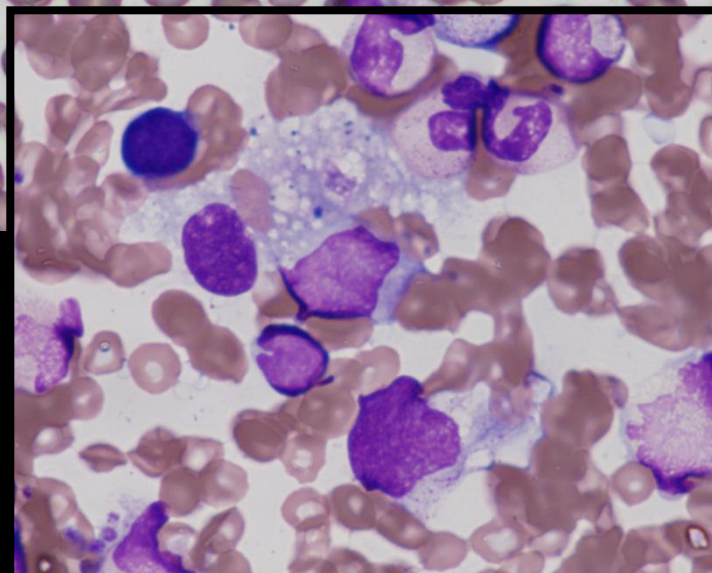
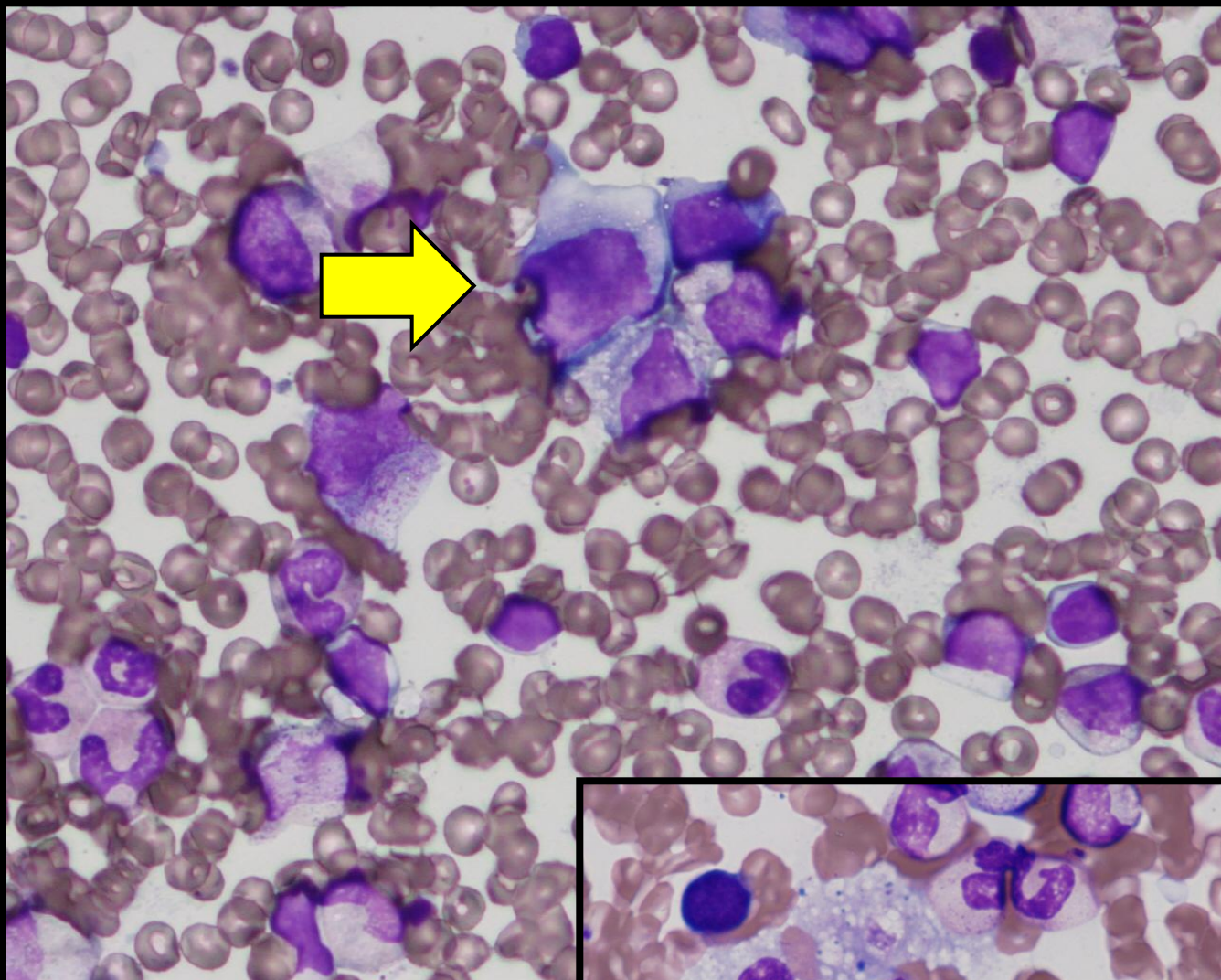
NCC 77000/ μ l

Mgk 16/ μ l



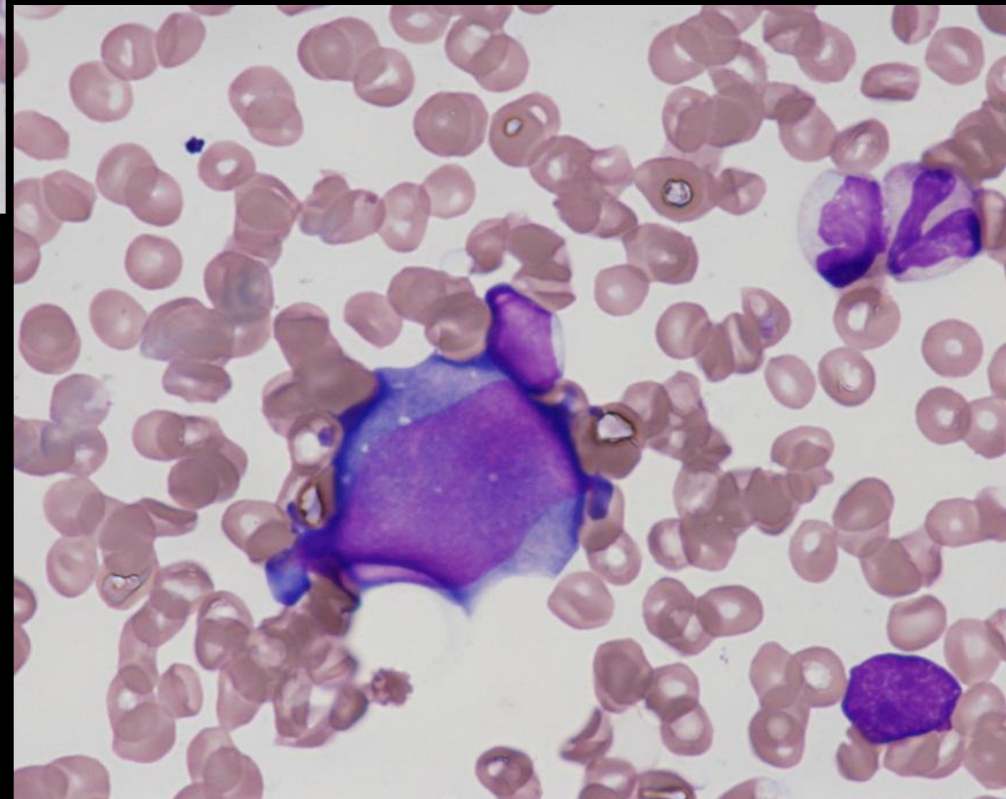
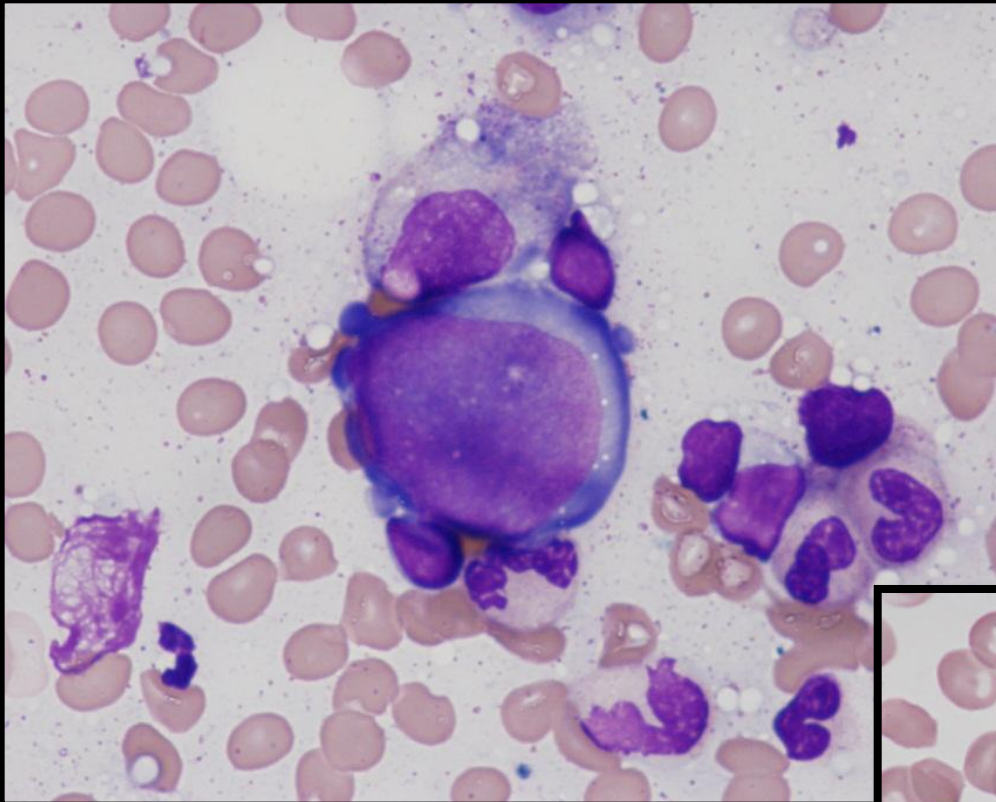
骨髓検査

Blast cell	0.2%
Pro-Ery	0.6%
baso-Ery	0.2%
poly-Ery	
orth-Ery	0.2%
Total Erythroid	1.0%
Neutrophil	
Pro	7.4%
Mye	12.6%
Meta	22.8%
Stab	13.4%
Seg	13.4%
Total Myeloid	71.4%



M/E ratio 71.40

巨大前赤芽球



大きさ; RBC8~10個大
核形; 類円形
核の構造; 粗顆粒状
核小体; 沈んだ核小体(+)-(-)
N/C比; 大
細胞質; 好塩基性

4. 骨髄検査から推測される疾患をあげて下さい。

赤芽球系：低形成。巨大前赤芽球を認め、好塩基性赤芽球以降の分化は殆ど見られない。

顆粒球系：相対的過形成。右方推移を認め、明らかな異形成は見られない。

巨核球系：正形成。明らかな異形成は見られない。

リンパ系：Aty-Lyが点在性に見られる。

Phagocyte系：マクロファージの軽度増加及び貪食像が見られる。

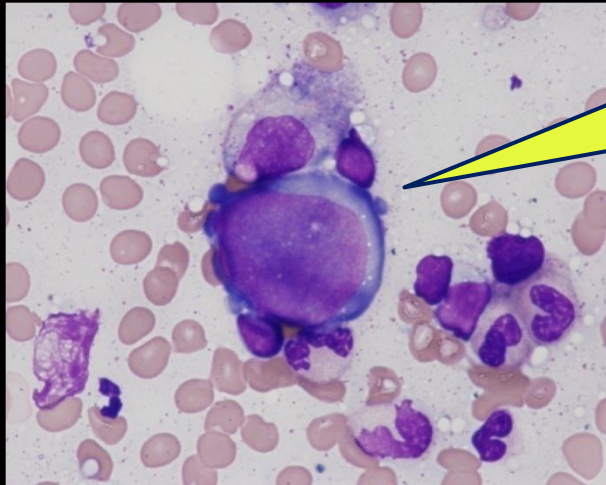
骨髄像からパルボウイルスB19関連の赤芽球癆が考えられます。
パルボウイルスIgM抗体の検査確認をお願いします。

症例1 まとめ

発熱・好中球減少が主訴で、貧血は認めなかった。



骨髄穿刺実施



パルボウイルスB19の感染による赤芽球癆が最も疑われた。



パルボウイルスB19 IgM抗体検索

IgM抗体 陽性(6.20)

パルボウイルスB19感染による赤芽球癆

赤芽球癆 (pure red cell aplasia:PRCA) とは？

正球性正色素正貧血と骨髓内赤芽球と網赤血球の著減を特徴とする症候群のこと。

病型；先天性

後天性

- ・ 特発性；原因となる基礎疾患を認めない
- ・ 続発性；様々な基礎疾患に起因

発症様式；急性型・慢性型

赤芽球癆は均一の病態ではなく、多くの病因・病型からなる。

赤芽球癆の病型・病因分類

(赤芽球癆 診療の参照ガイド(平成22年度改訂版) より)

<先天性>

Diamond-Blackfan anemia

<後天性 赤芽球癆>

1.特発性

2.続発性

胸腺腫

造血器腫瘍(CLL、LDGL、HD、MM、NHL、CML、AML、ALL、MDS 等)

固形癌(胃癌、乳癌、胆道癌等)

感染症(ヒトパルボウイルスB19感染症、HTLV-I 感染症、HIV感染症 等)

慢性溶血性貧血

リウマチ性疾患(SLE、関節リウマチ等)

薬剤・化学物質

妊娠

重症腎不全

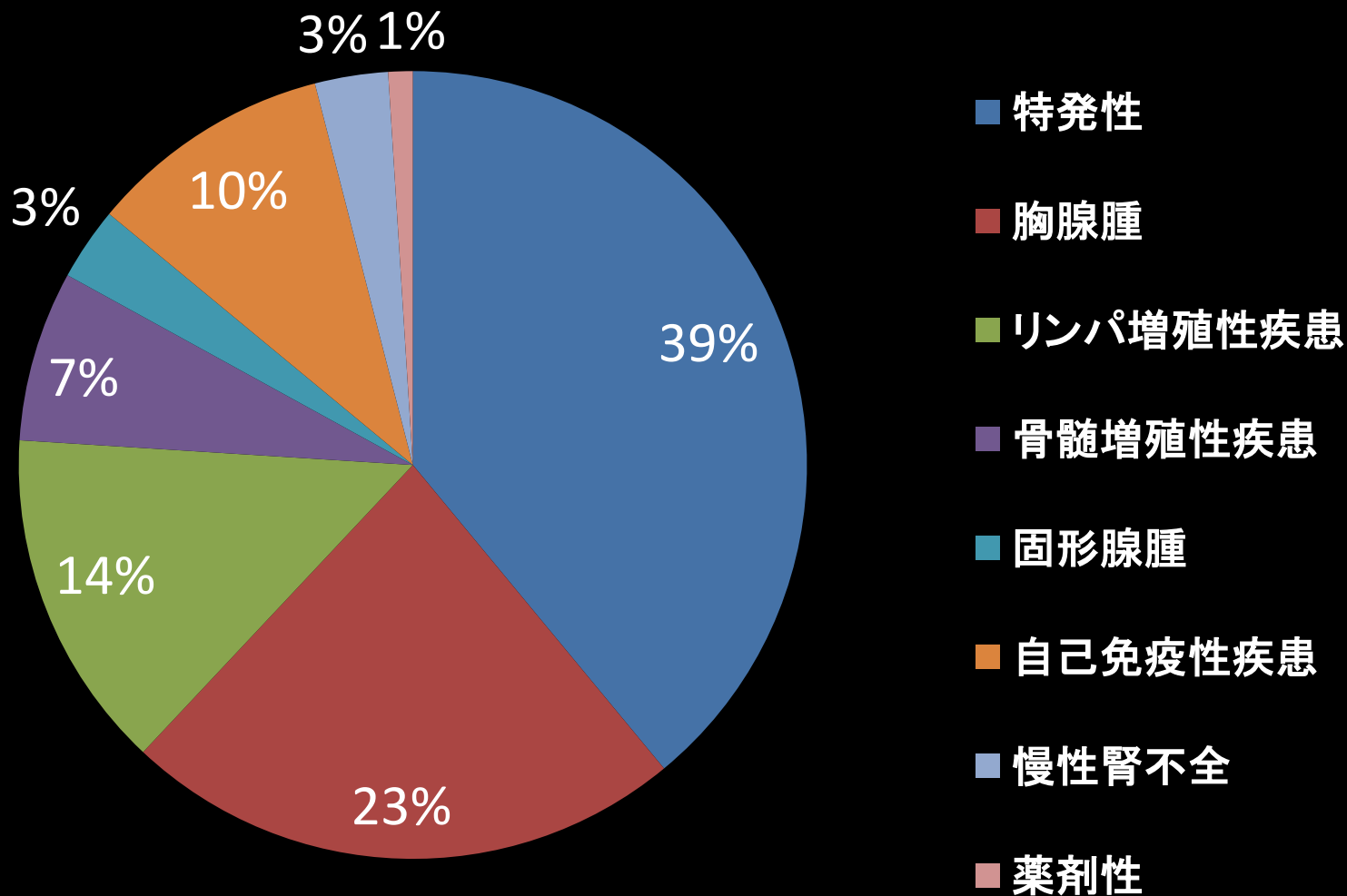
重症栄養失調症

EPO治療後の内因性抗EPO抗体

その他(ABO不適合移植後、自己免疫疾患 等)

日本における後天性赤芽球癆の病因別内訳

(赤芽球癆 診療の参照ガイド(平成22年度改訂版) より)



赤芽球癆

被疑薬の中止とともに1か月間は経過観察

急性型

パルボウイルスB19初感染
薬剤性
...等

1か月以内に網赤血球の回復が
みられ、貧血の改善が3か月以内に
認められるもの

慢性型

特発性赤芽球癆
胸腺腫合併赤芽球癆
LGL白血病に伴う赤芽球癆

長期に渡る免疫抑制療法が必要

病因・経過により治療が必要となるので
急性型と慢性型の区別は重要となる。

赤芽球癆の診断

骨髓赤芽球著減
正球性正色素性貧血
網赤血球著減

被疑薬の有無

なし

あり

病型診断の 為の検査

胸部
CT
MRI

大顆粒リンパ球数
リンパ球サブセット
T細胞抗原受容体
クロナリティー

パルボウイルス
B19DNA
自己抗体
悪性腫瘍の有無

被疑薬の中止・他
剤への変更
1カ月間経過観察

病型診断

特
発
性

胸
腺
腫

大顆粒
リンパ球
白血病

その他の
リンパ系
腫瘍

自己免疫
性疾患
固形腫瘍

パルボ
ウイルス
B19感染
症

薬
剤
性

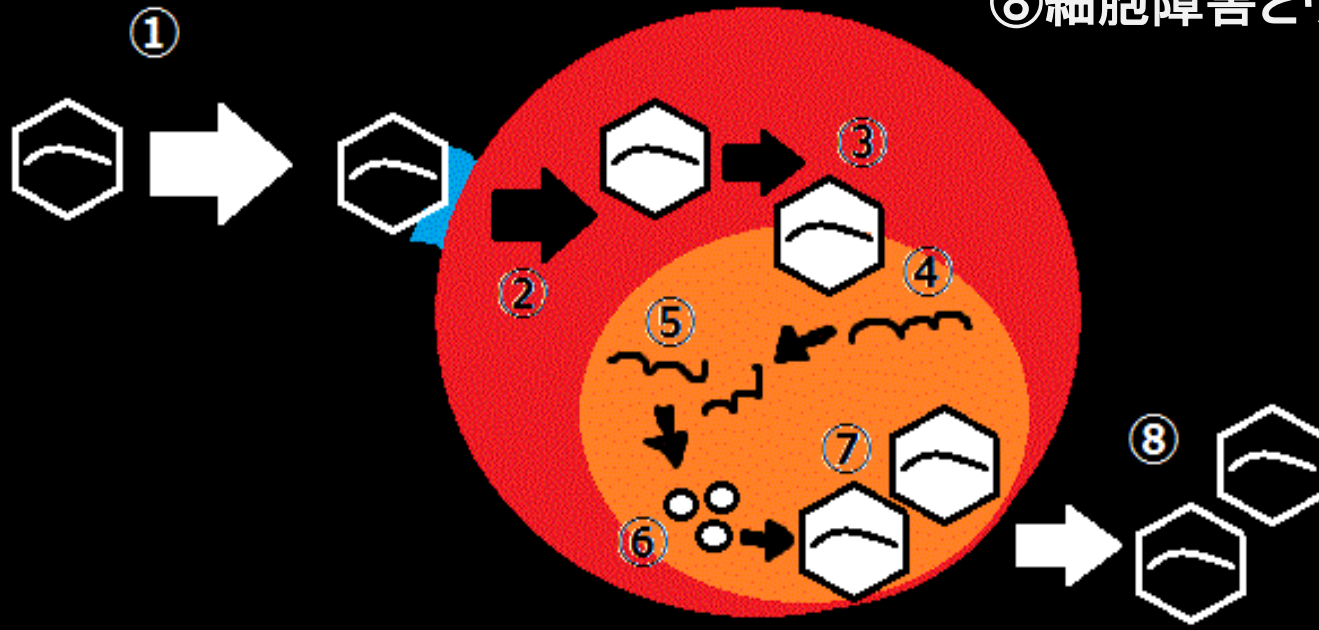
赤芽球癆の起因薬剤及び起因物質

Allopurinol	Diphenylhydantoin	Penicillin
α -Methyldopa	Erythropoietin	Pentachlorophenol
Aminopyrine	Estrogens	Phenobarbital
Anagryne	Fenbufen	Phenylbutazone
Arsphenamine	Fenoprofen	Procainamide
Azathioprine	FK506	Rifampicin
Benzene	Fludarabine	Salicylazosulfapyridine
hexachloride	Gold	Santonin
Calomel	Halothane	Sodium dipropylacetate
Carbamazepine	Interferon- α	Sodium valproate
Cephalothin	Lamivudine	Sulfasalazine
Chenopodium	Leuprolide	Sulfathiazole
Chloramphenicol	Linezolid	Sulfobromophthalein sodium
Chlormadinone	Maloprim	Sulindac
Chlorpropamide	(dapson and pyrimethamine)	Tacrolimus
Cladribine	Mepacrine	Thiamphenicol
Cotrimoxazole	Methazolamide	Tolbutamide
	Mycophenolate mofetil	Zidovudine
	D-Penicillamine	

**パルボウイルスB19は
なぜ赤芽球癆を起こすのか？**

パルボウイルスB19感染様式

- ①ウイルス受容体(P抗原)に結合
- ②細胞質内エントリー
- ③脱核
- ④ウイルスのDNAの複製
- ⑤RNAの転写
- ⑥ウイルス蛋白に翻訳
- ⑦ウイルス粒子の形成
- ⑧細胞障害とウイルスの放出



パルボウイルスB19感染症による合併症について

- ・溶血性貧血におけるaplastic crisis
- ・免疫不全患者における慢性赤芽球癆
- ・胎児水腫

…等

ウイルスそのものによる障害

- ・伝染性紅斑
- ・関節症状
- ・皮疹
- ・急性腎炎

…等

免疫応答における障害

治療法について

ヒトパルボウイルスB19感染症の場合は、対処的に経過観察を行う。しかし、上記に挙げたように免疫不全患者の場合感染が蔓延化することがあるので γ -グロブリン製剤による治療を考慮する。

パルボウイルスB19感染経路

通常の感染経路は鼻腔・咽頭等を介してであるが、その他に産道感染や輸血による感染もある。

パルボウイルスB19感染症の問題点

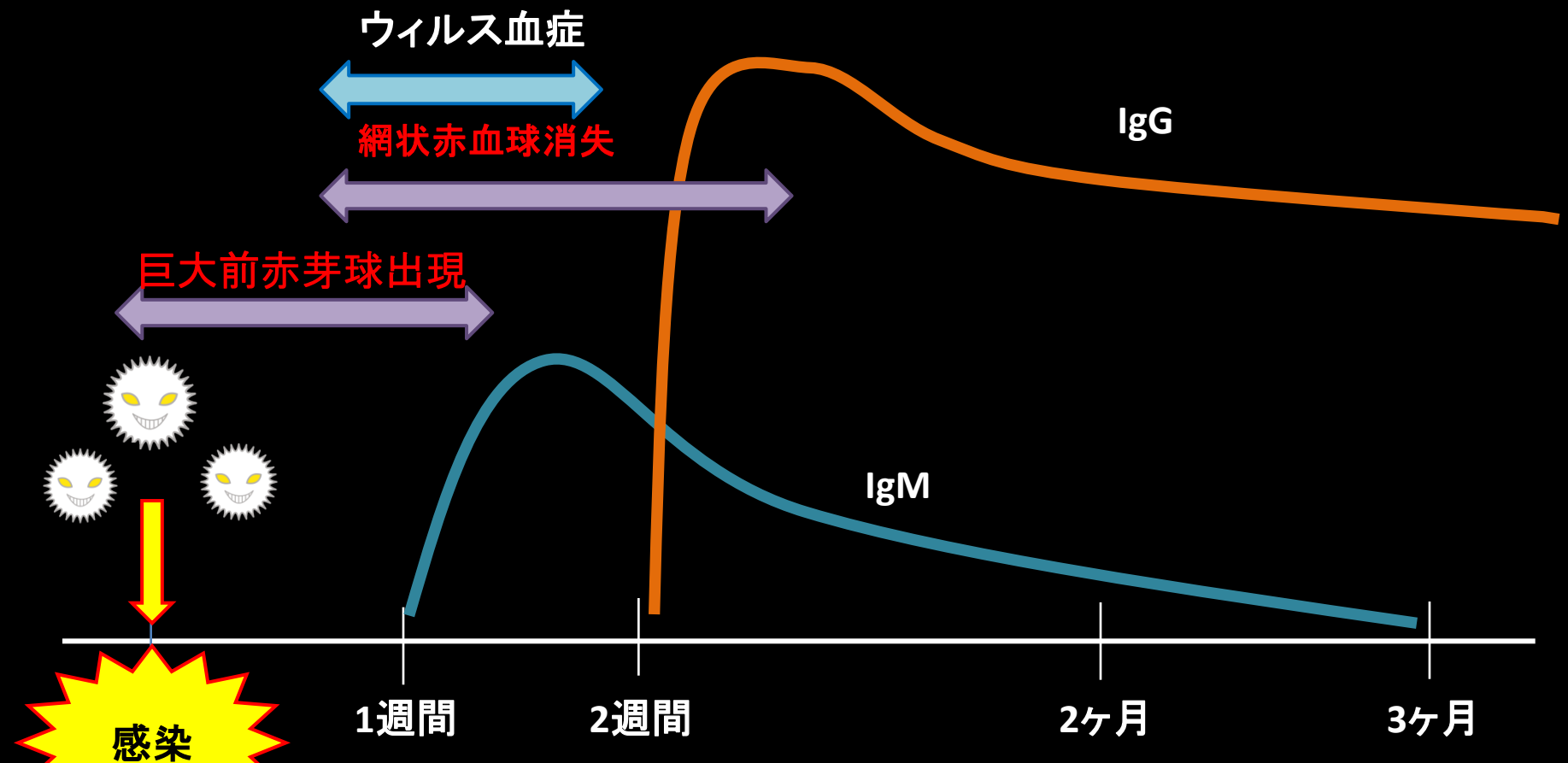
- ・流行期には小児だけでなく成人も罹患する。

感染後のウィルス血症の時期に健常成人では50%前後の人が無症状である。

そのため、病院内等の施設内での感染源として紛れ込む場合がある。

- ・免疫不全者では慢性的な造血不全を呈することがある。

- ・妊娠中に感染し胎児水腫を生じることがある。



IgM	(+)	(-)
IgG	(-) or (+)	(+)
結果の解釈	感染中もしくは最近の感染	3ヶ月以前の感染

症例提示

症例 61歳 女性
好中球減少と貧血を認め、MDS疑いで紹介。

初診時検査データ

血液検査

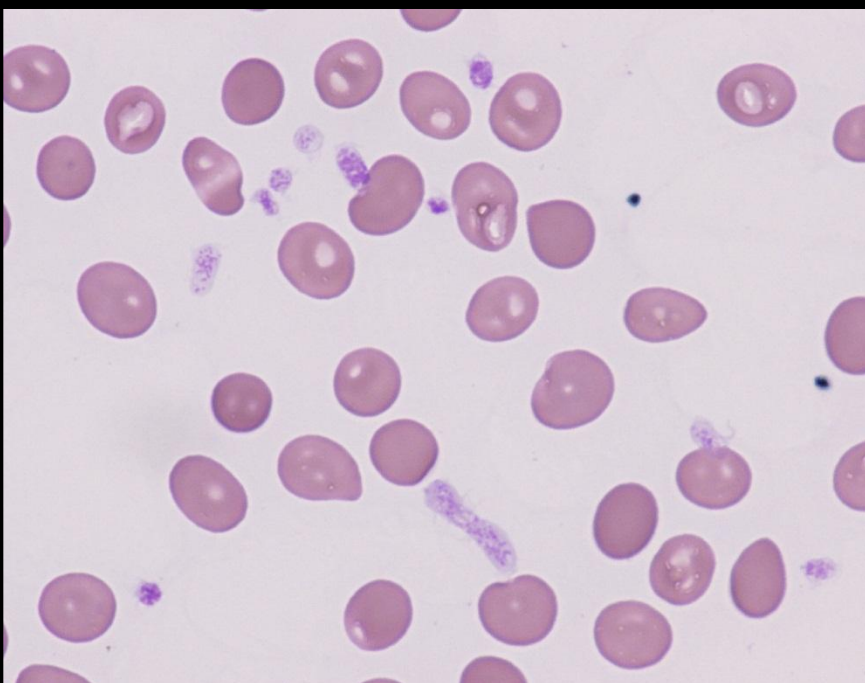
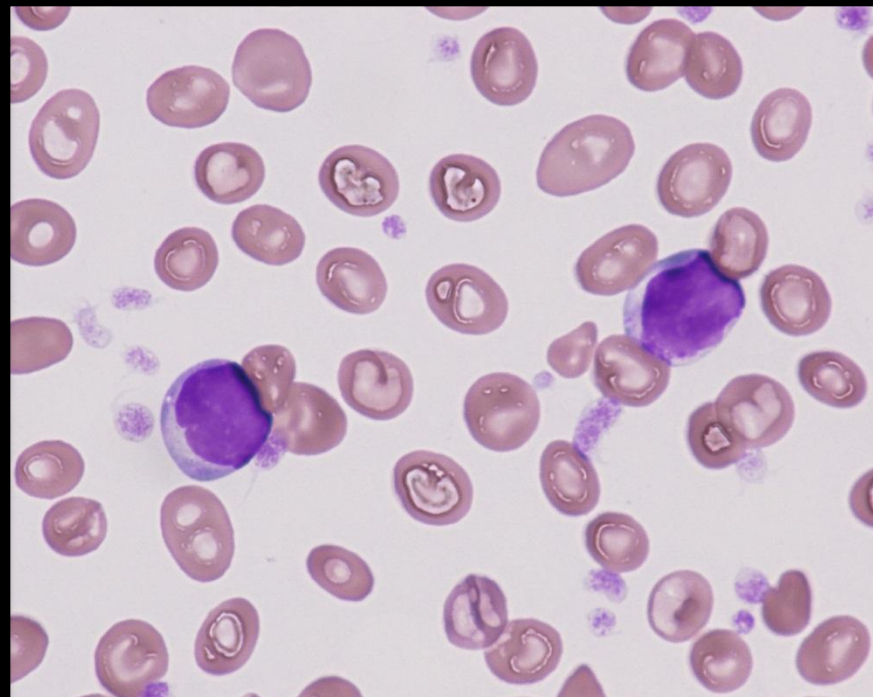
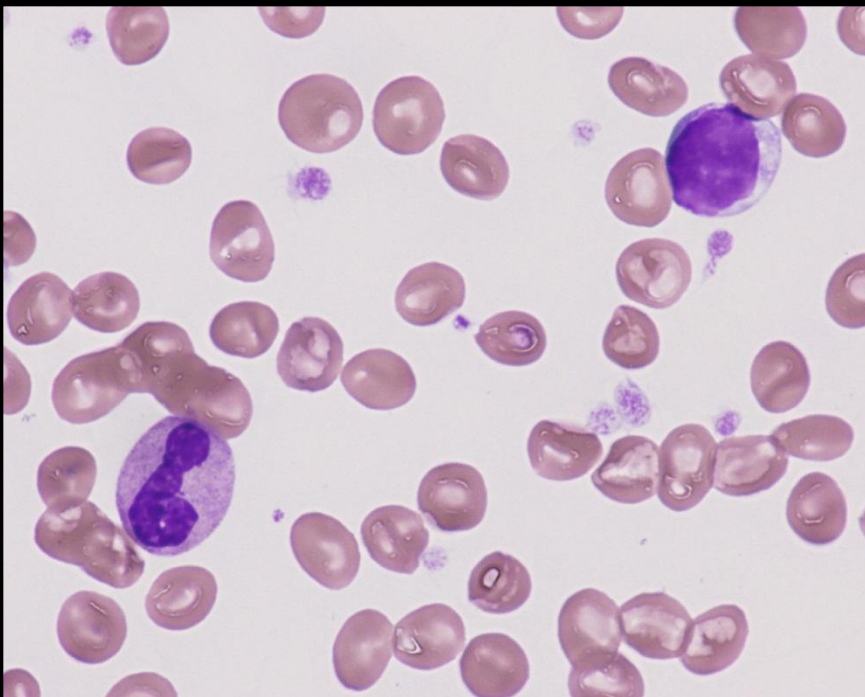
WBC $5.01 \times 10^3 / \mu\text{L}$
RBC $1.64 \times 10^6 / \mu\text{L}$
HB 5.7 g/dl
Hct 17.9 %
MCV 108.7 fL
MCH 34.9 pg
MCHC 32.1 g/dl
RDW 16.1 %
PLT $271 \times 10^3 / \mu\text{L}$

白血球機器分類

Seg 14.2%
Ly 78.4%
Mono 3.0%
Eo 1.9%
Baso 0.4%
LUC 2.0%

生化学検査

TP 6.3 g/dl
ALB 4.4 g/dl
A/G 比 2.32
TB 1.0 mg/dl
GLU 105 mg/dl
AST 15 IU/l
ALT 14 IU/l
LDH 218 IU/l
 γ -GTP 15 IU/l
CRE 0.56 mg/dl
UA 3.6 mg/dl
CRP 0.14 mg/dl



用手法分類

Seg	10.0 %
Lymph	83.0 %
Aty-Ly	1.0%
Mono	2.0 %
Eosino	2.0 %

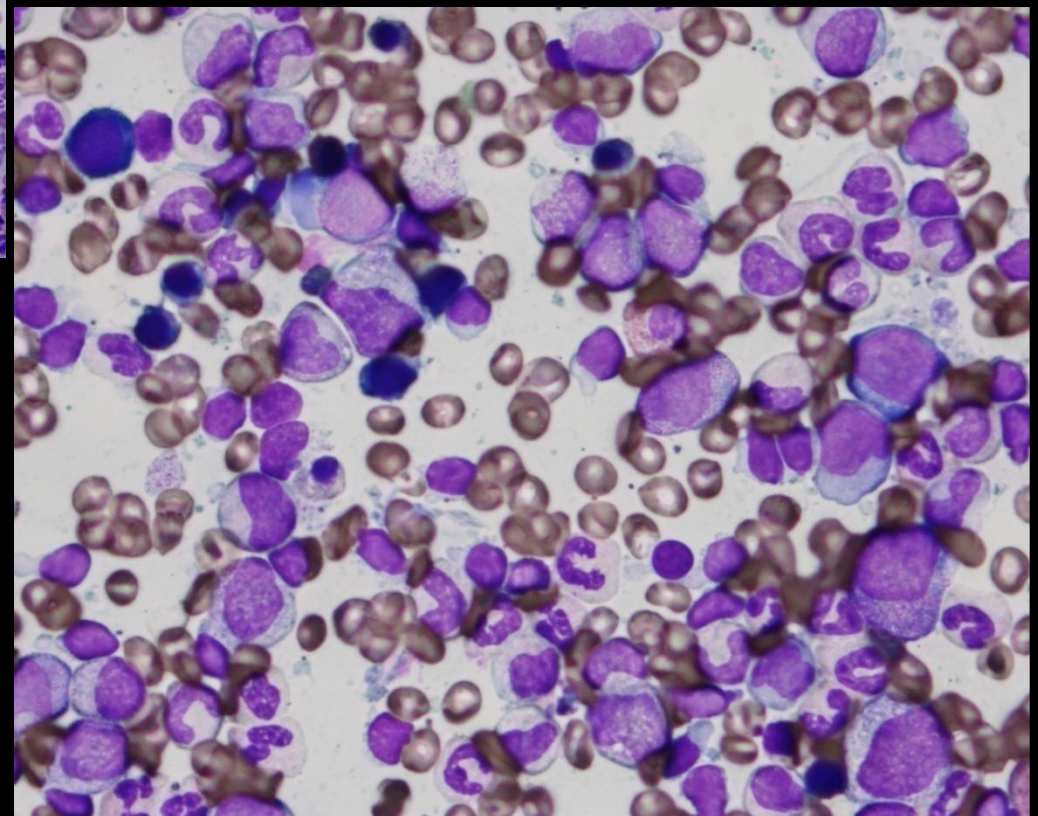
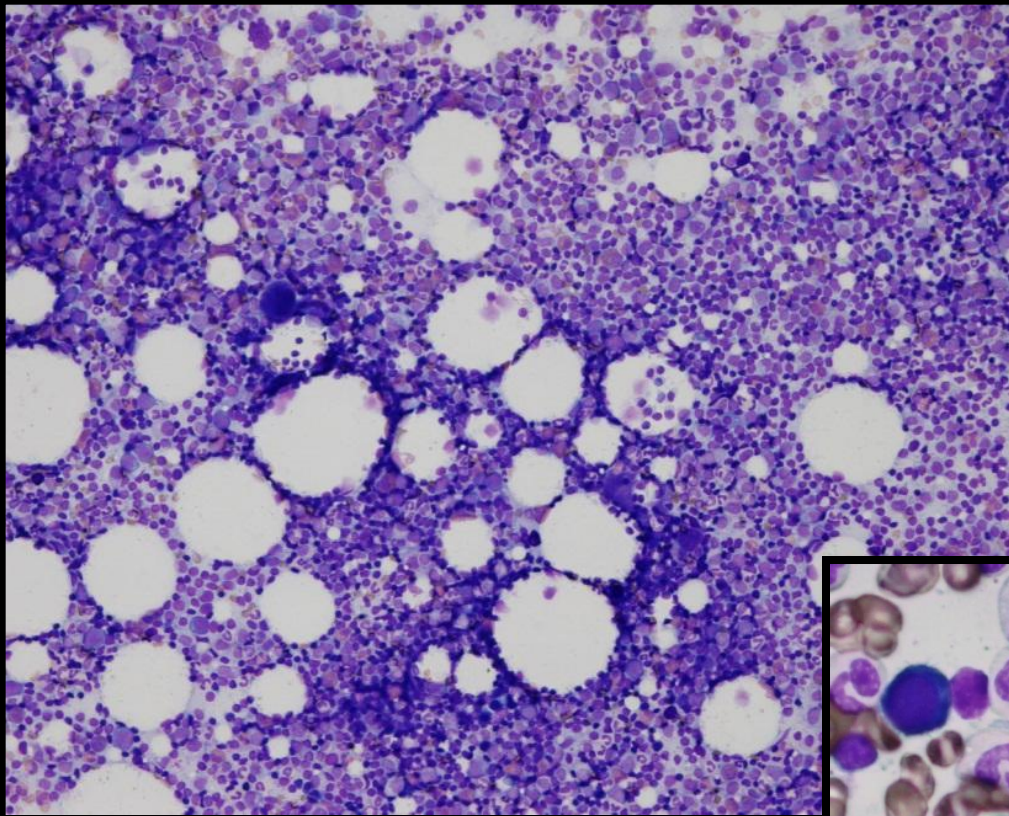
背景に大型・奇形血小板(+)

初診時骨髓標本

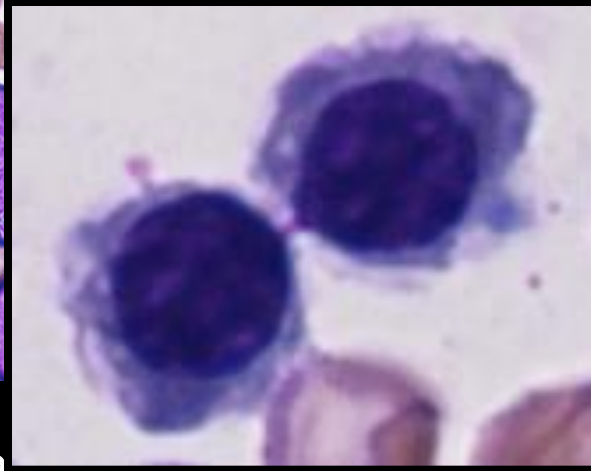
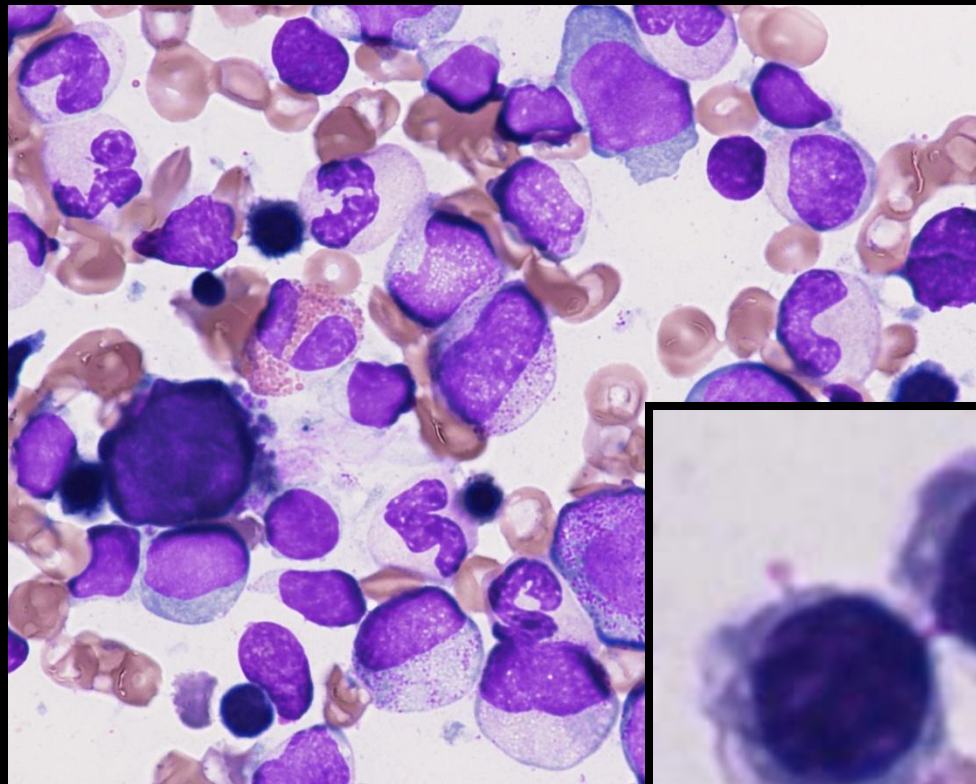
(2010.05.28)

NCC 151500 / μL

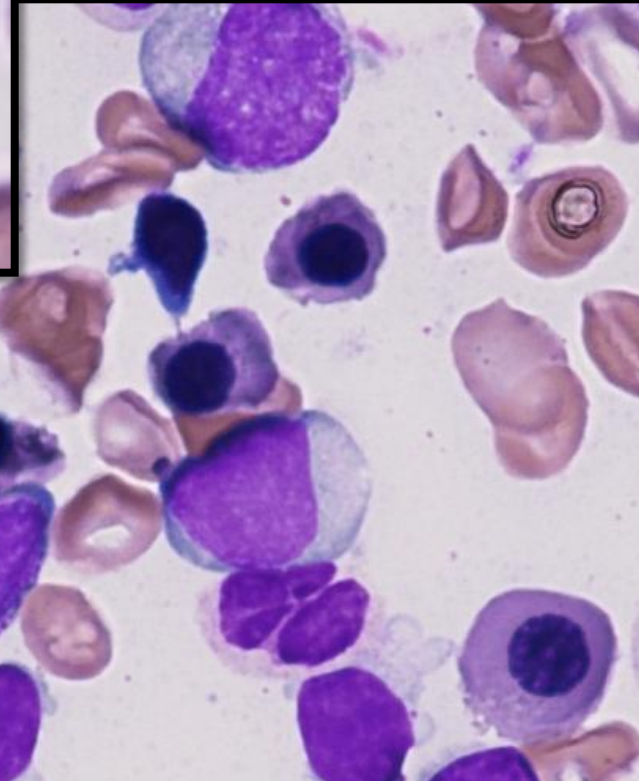
Mgk 125/ μL



初診時骨髓標本

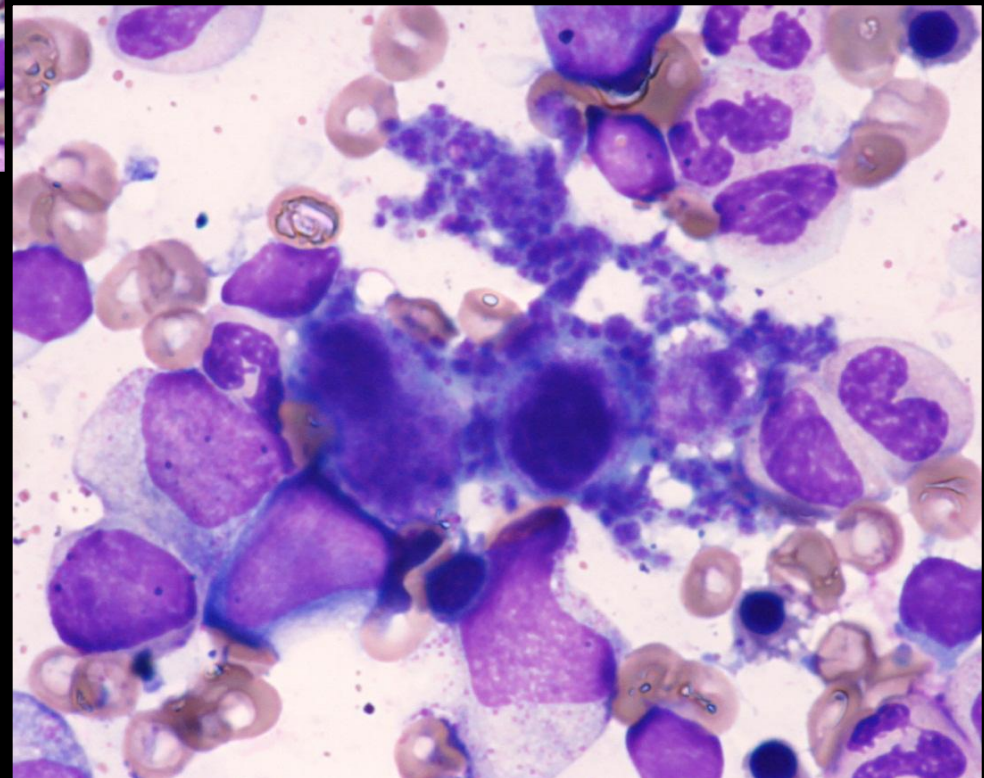
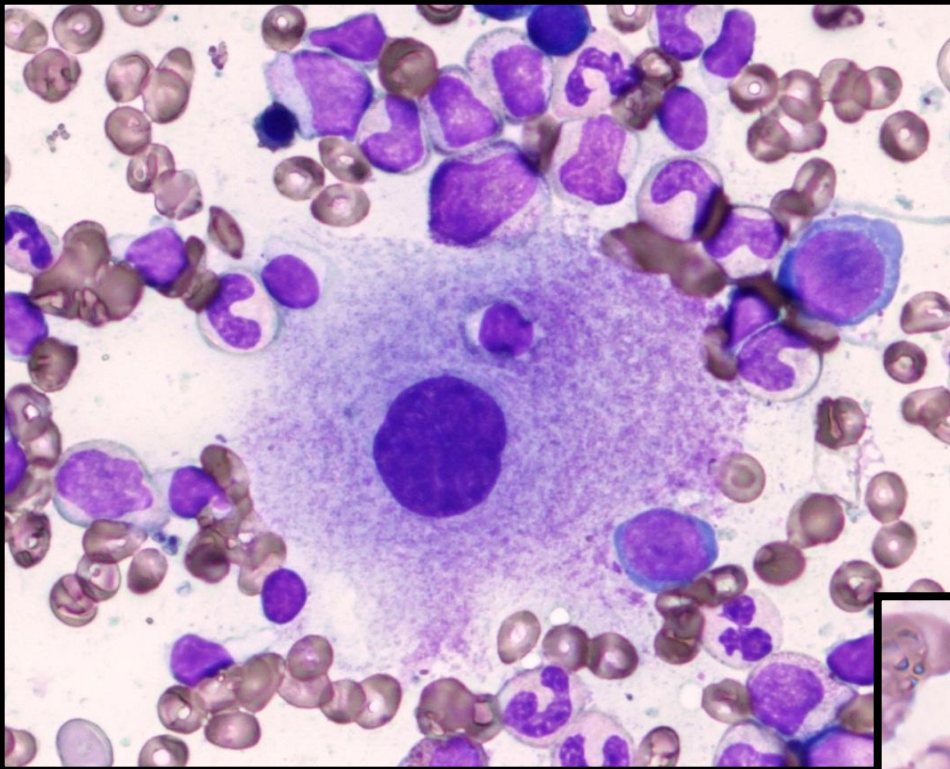


ratio 5.59



Blast cell	0.8%	Neutro	20.4%
Pro-Ery	0.8%	Pro	4.2%
baso-Ery	1.2%	Mye	14.6%
poly-Ery	5.6%	Meta	10.4%
orth-Ery	4.6%	Stab	10.8%
		Seg	20.4%
Total Erythroid	12.6%	Total Myeloid	70.4%

初診時骨髓標本



巨核球系過形成
單核・micro Mgk等；10%程度

初診時骨髓検査所見

赤芽球系：低形成。各成熟段階の細胞を認める。
核融解像・核形不整(+)。

顆粒球系：過形成。各成熟段階の細胞を認める。
好中球核クロマチン塊粗大・核縁不整(+)。
(Ⅱ型好中球>Ⅲ型好中球)

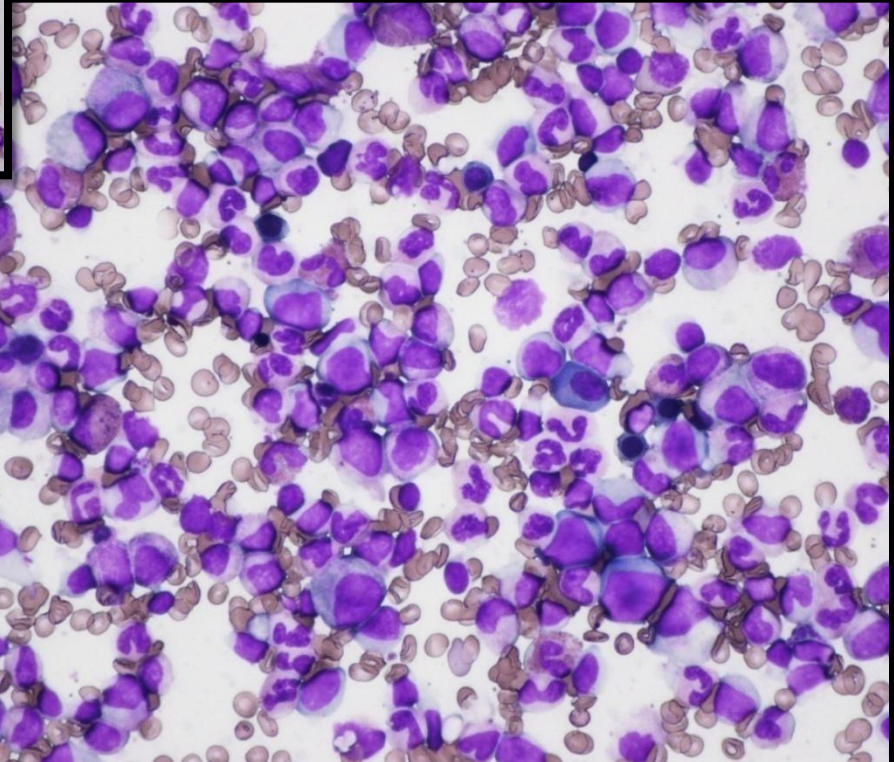
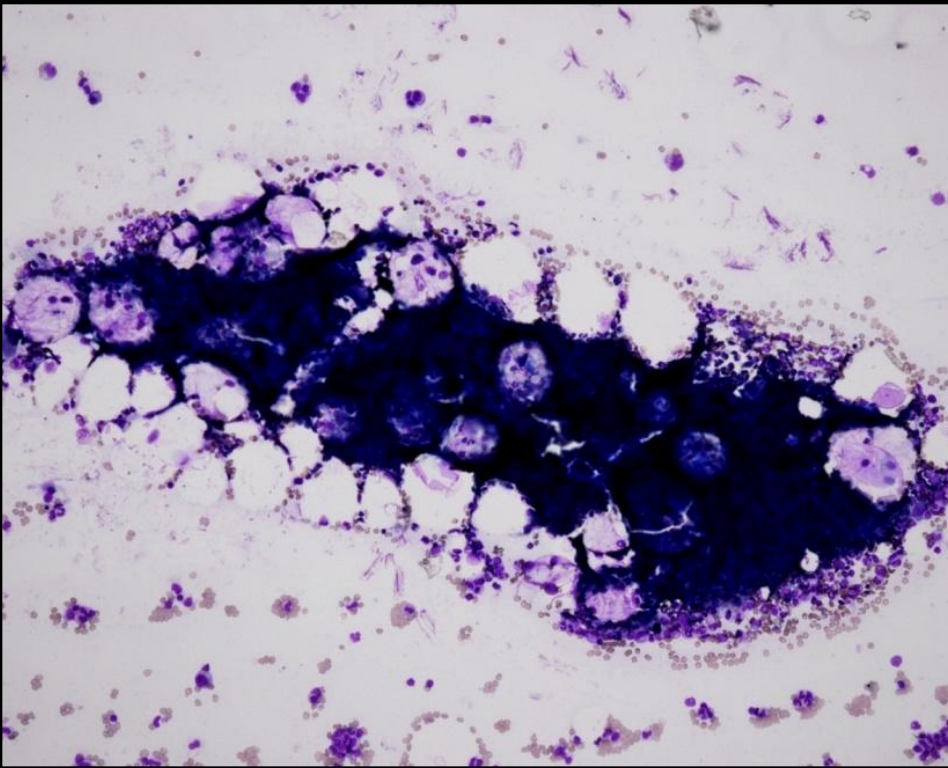
巨核球系：過形成。単核・micro Mgk等(10%程度)。

MDS(RA)の像として矛盾はしません。
臨床所見や染色体等の検査はいかがでしょうか。

フォロー一時骨髄標本 (2011.10.11)

NCC 161000/ μ L

Mgk 16/ μ L



フォロー一時血算

WBC $6.61 \times 10^3/\mu\text{L}$

RBC $1.90 \times 10^6/\mu\text{L}$

HB 5.8 g/dl

Hct 17.6 %

MCV 92.6 fL

MCH 30.6 pg

MCHC 33.0 g/dl

RDW 14.7%

PLT $356 \times 10^3/\mu\text{L}$

用手法分類

Seg 11.0 %

Lymph 78.0 %

Aty-Ly 1.0%

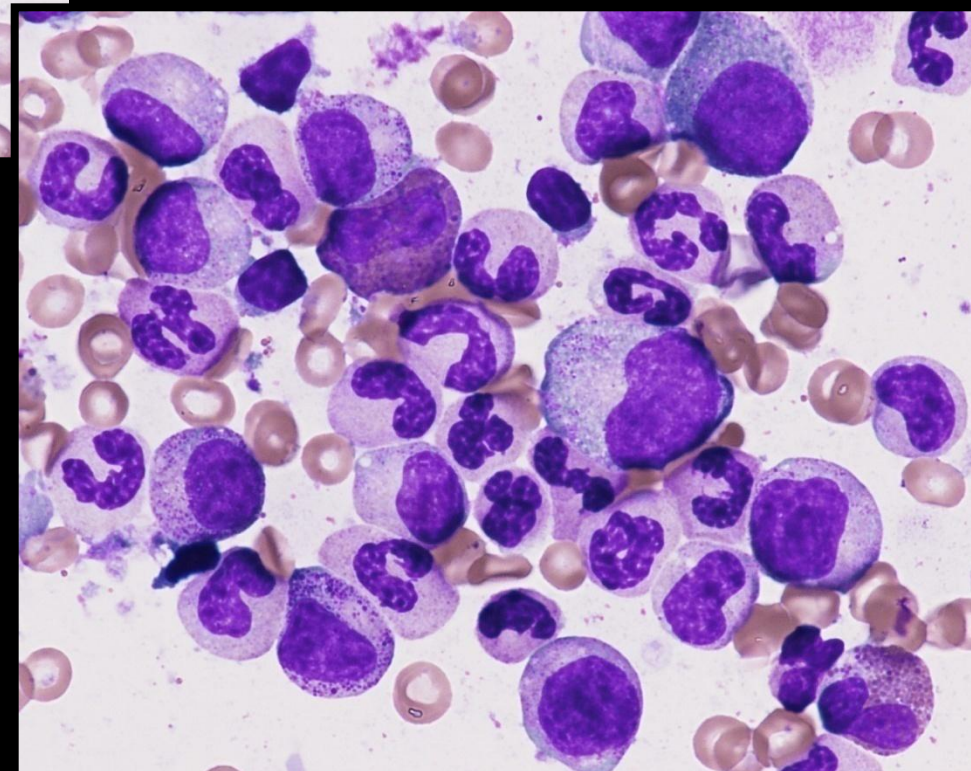
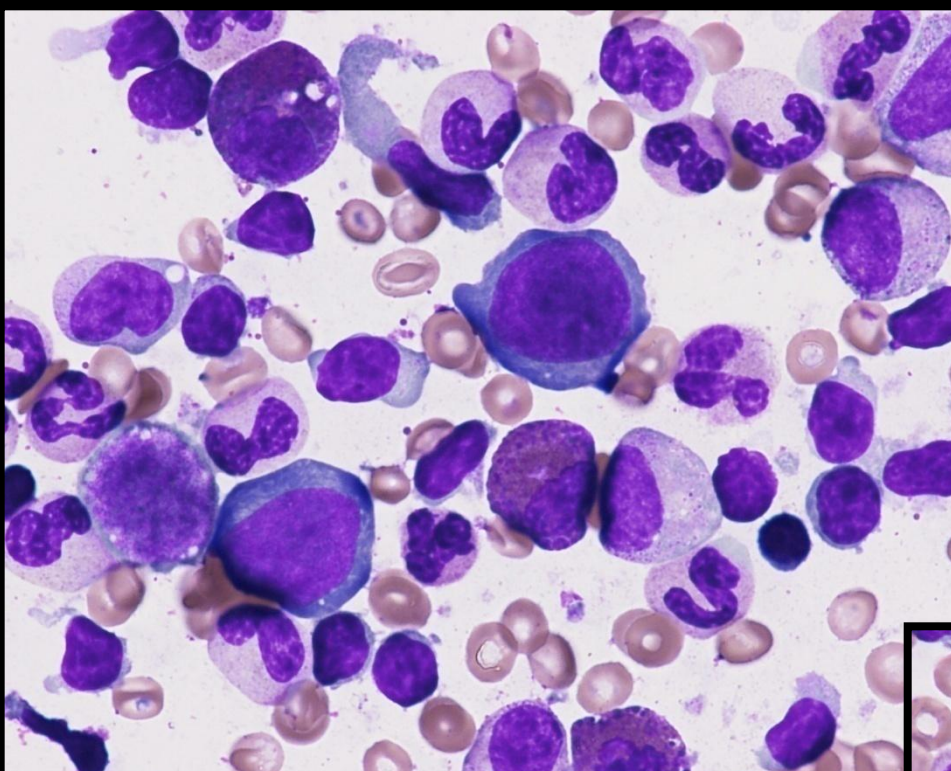
Mono 2.0 %

Eosino 2.0 %

大型・奇形血小板(+)

フォロー時骨髄検査

M/E ratio 43.50



Blast cell	1.2%	Neutrophil	
Pro-Ery	0.4%	Pro	5.4%
baso-Ery	0.8%	Mye	11.4%
poly-Ery	0.8%	Meta	7.6%
orth-Ery		Stab	15.6%
		Seg	38.2%
Total Erythroid	2.0%	Total Myeloid	87.0%

フォロー時骨髄検査所見

赤芽球系：低形成。前赤芽球～好塩基性赤芽球は散見されるが、多染性・正染性赤芽球は殆ど認めない。

顆粒球系：相対的過形成。右方推移を認める。
好中球核クロマチン塊粗大(+)。
(Ⅱ型好中球>Ⅲ型好中球)

巨核球系：正形成。単核・micro M_{gk}等(10%程度)。

MDS増悪の所見は認めない。臨床所見等はいかがでしょうか。

初診時骨髄分類

フォロー時骨髄分類

NCC 151500 μ l

Mgk 125/ μ l

NCC 161000/ μ l

Mgk 16/ μ l

Blast cell 0.8%

Blast cell 1.2%

Pro-Ery 0.8%

Pro-Ery 0.4%

baso-Ery 1.2%

baso-Ery 0.8%

poly-Ery 5.6%

poly-Ery 0.8%

orth-Ery 4.6%

orth-Ery

Total Erythroid 12.6%

Total Erythroid 2.0%

Neutrophil

Neutrophil

Pro 4.2%

Pro 5.4%

Mye 14.6%

Mye 11.4%

Meta 10.4%

Meta 7.6%

Stab 10.8%

Stab 15.6%

Seg 20.4%

Seg 38.2%

Total Myeloid 70.4.0%

Total Myeloid 87.0%

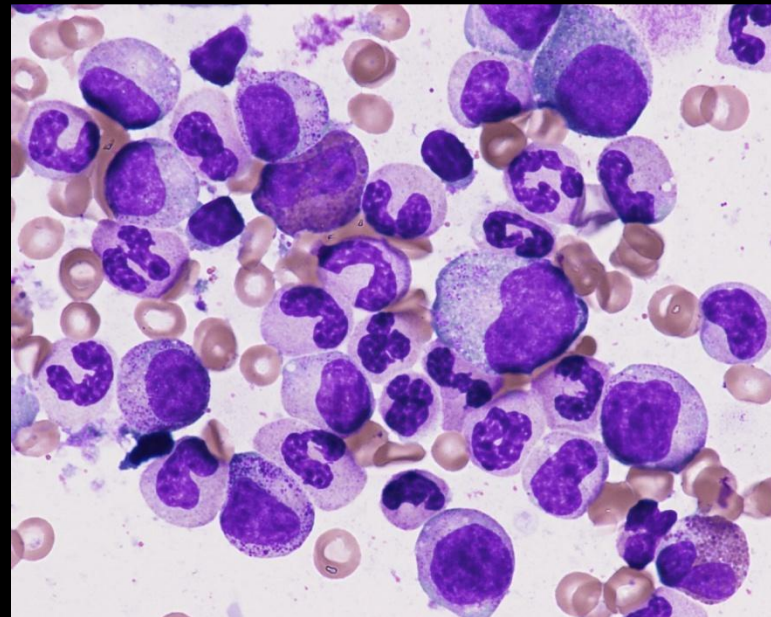
M/E ratio 5.59

M/E ratio 43.5

赤芽球系の低下が
進んでいる。

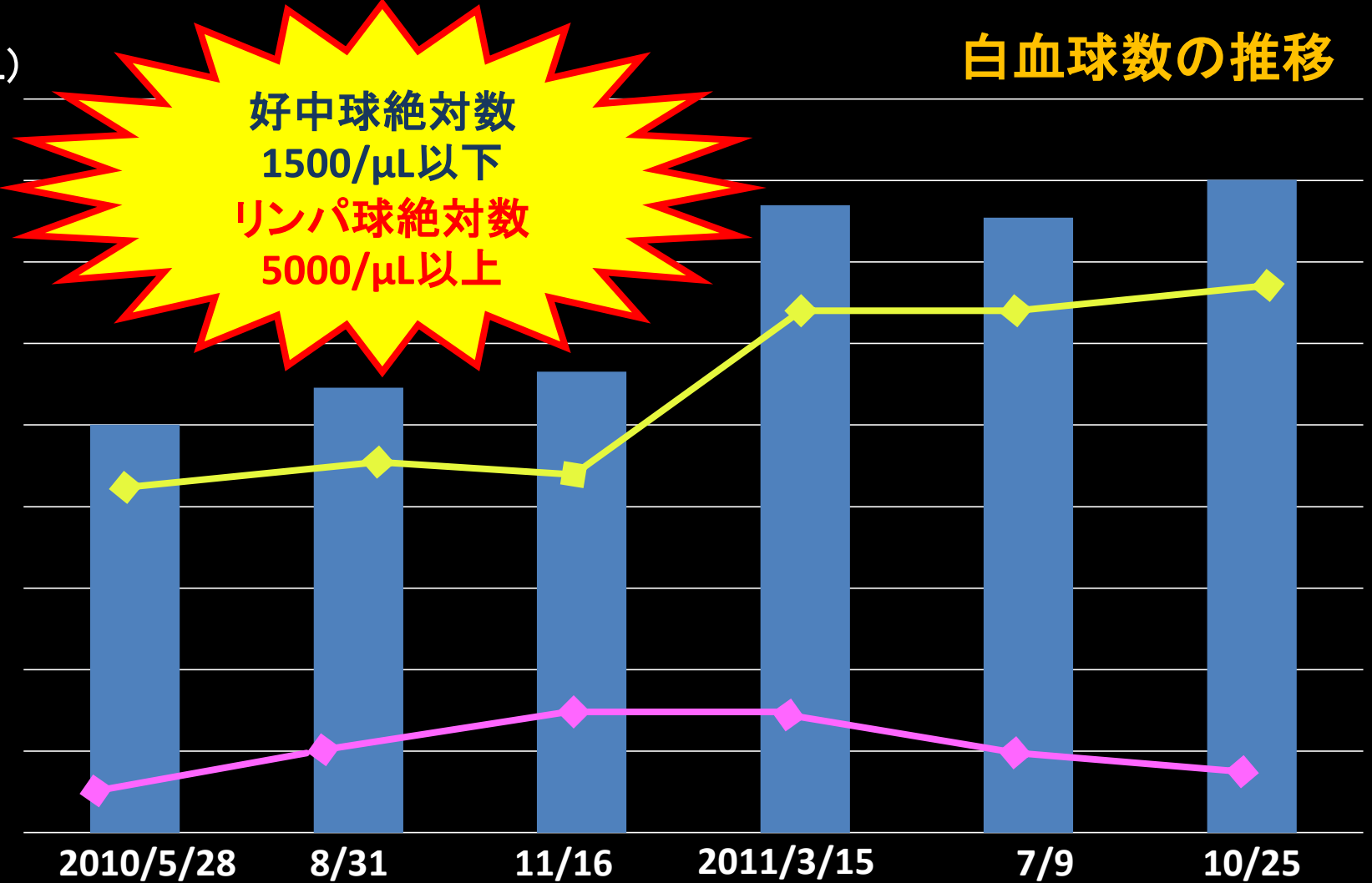


赤芽球癆の病態？



白血球数の推移

($\times 10^3/\mu\text{L}$)



2010/5/28

8/31

11/16

2011/3/15

7/9

10/25

WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)

5.01

5.46

5.66

7.70

7.55

8.01

N-Seg (絶対数)

0.50

0.68

1.08

1.08

0.91

0.56

Ly (絶対数)

4.16

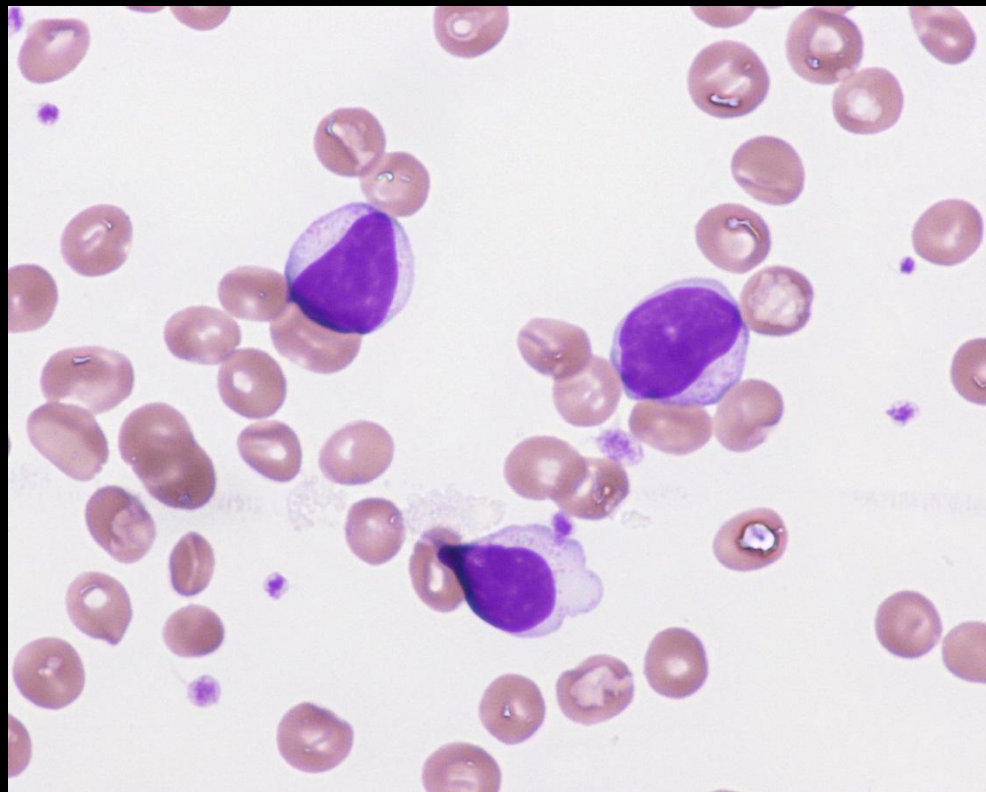
4.42

4.30

6.47

6.49

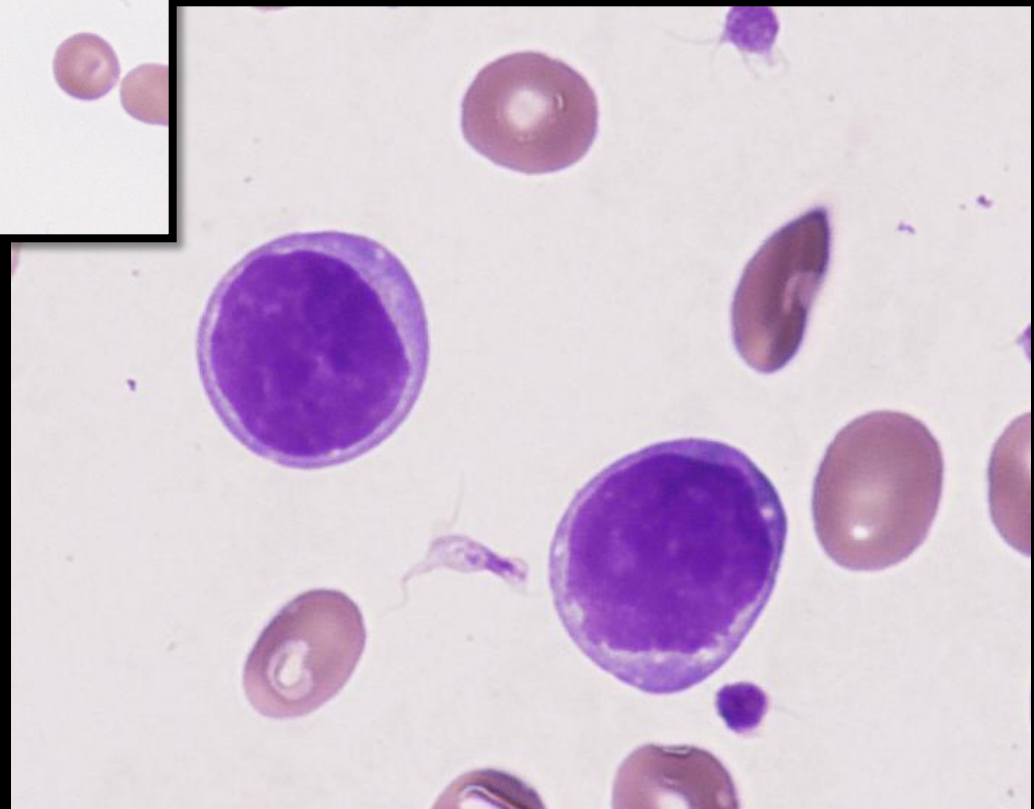
6.81



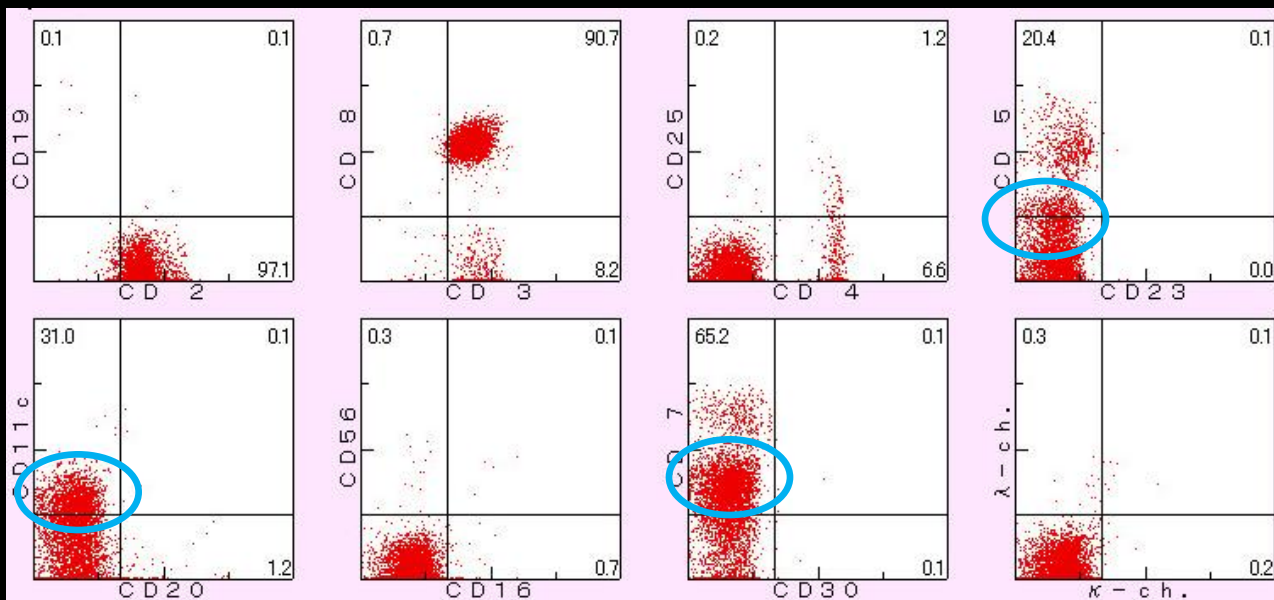
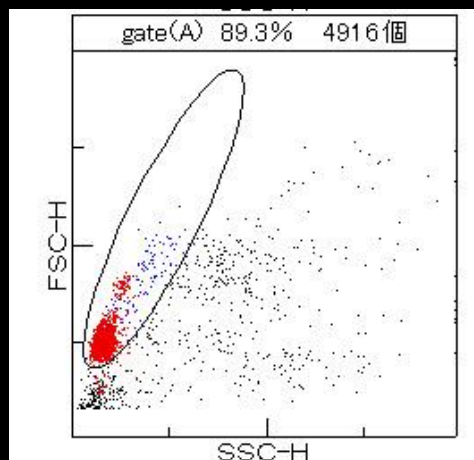
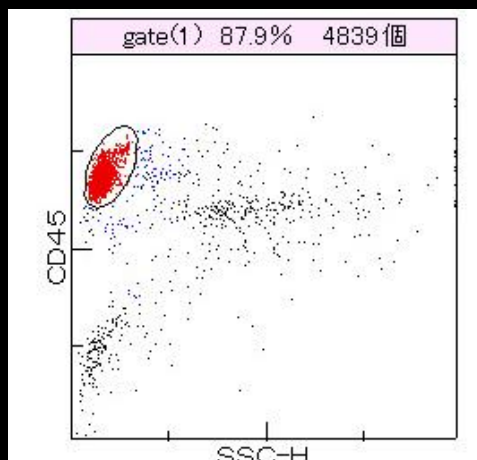
大きさ;RBC1個半~2個大
核形;類円形
核クロマチン構造;ブロック状
核小体;不明瞭
N/C比;大
細胞質;微細なアズール顆粒(+)

Seg	11.0 %
Lymph	2.0 %
顆粒Ly	76.0%
Aty-Ly	1.0%
Mono	2.0 %
Eosino	2.0 %

背景に奇形血小板(+)



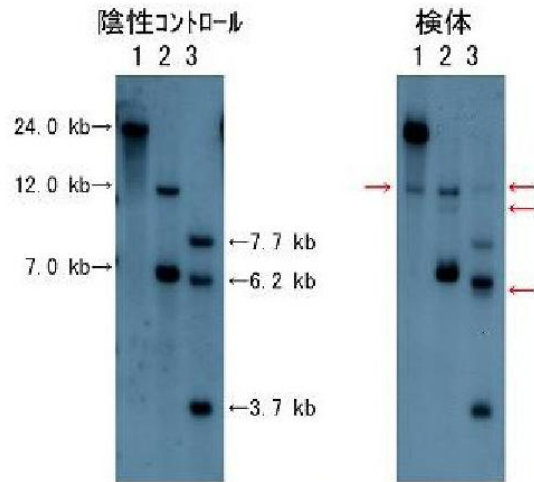
末梢血細胞表面マーカー



- CD2 97.2%
- CD3 98.9%
- CD4 7.8%
- CD5 20.5% dim
- CD7 65.3% dim
- CD8 91.4%
- CD10 0.2%
- CD11c 31.1% dim
- CD16 0.8%
- CD19 0.2%
- CD20 1.3%
- CD23 0.1%
- CD25 3.5%
- CD30 0.2%
- CD34 0.2%
- CD56 0.4%
- kappa 0.5%
- lambda 0.4%

	症例	T-LGL (T細胞性LGL白血病)	CLPD-NK (慢性NK細胞増加症)	ANKL (アグレッシブNK細胞白血病)
CD2	+	+	+	+
CD3	+	+	-	-
CD4	-	-	-	-
CD8	+	+	-	+(多くは)
CD16	-	+(80%以上)	+	-
CD56	-	-	-/dim	+
CD57		+(80%以上)	+	-
	CD5 dim CD7 dim	まれにCD4-CD8- CD5やCD7の低発現・ 欠失 TCRβ 遺伝子再構成 を示す	cyCD3はしばしば陽性 CD2・CD5・CD7弱いか 陰性のことが多い TCR遺伝子再構成、免 疫gIb遺伝子は胚芽型	TCR遺伝子再構成を認 めない EBV clonalityの証明

検査項目	TCR C β 1(サ β)
結果	遺伝子再構成を認めました。



← : 再構成バンド

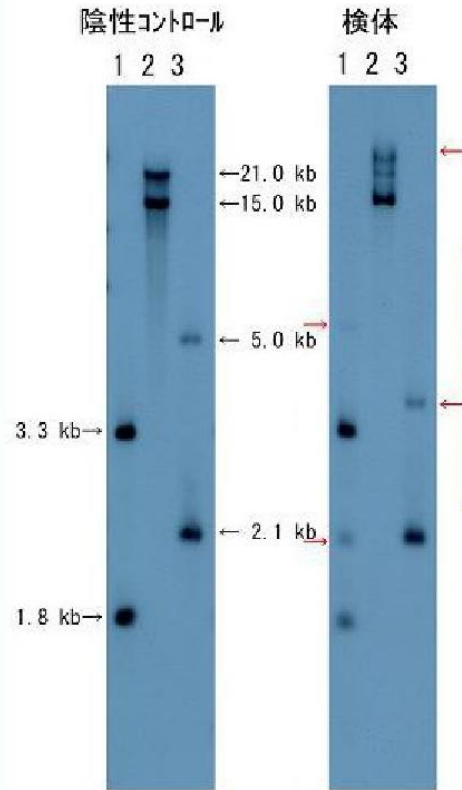
プローブ : CT β

レーン	1	2	3
制限酵素	BamH I	EcoR V	Hind III
バンドサイズ (←)	24.0 kb	12.0 kb 7.0 kb	7.7 kb 6.2 kb 3.7 kb

<方法>

DNA抽出
制限酵素処理
電気泳動
サザントランスファー
ハイブリダイゼーション
化学発光検出
判定

検査項目	TCR J γ (サ γ)
結果	遺伝子再構成を認めました。



← : 再構成バンド

プローブ : J γ

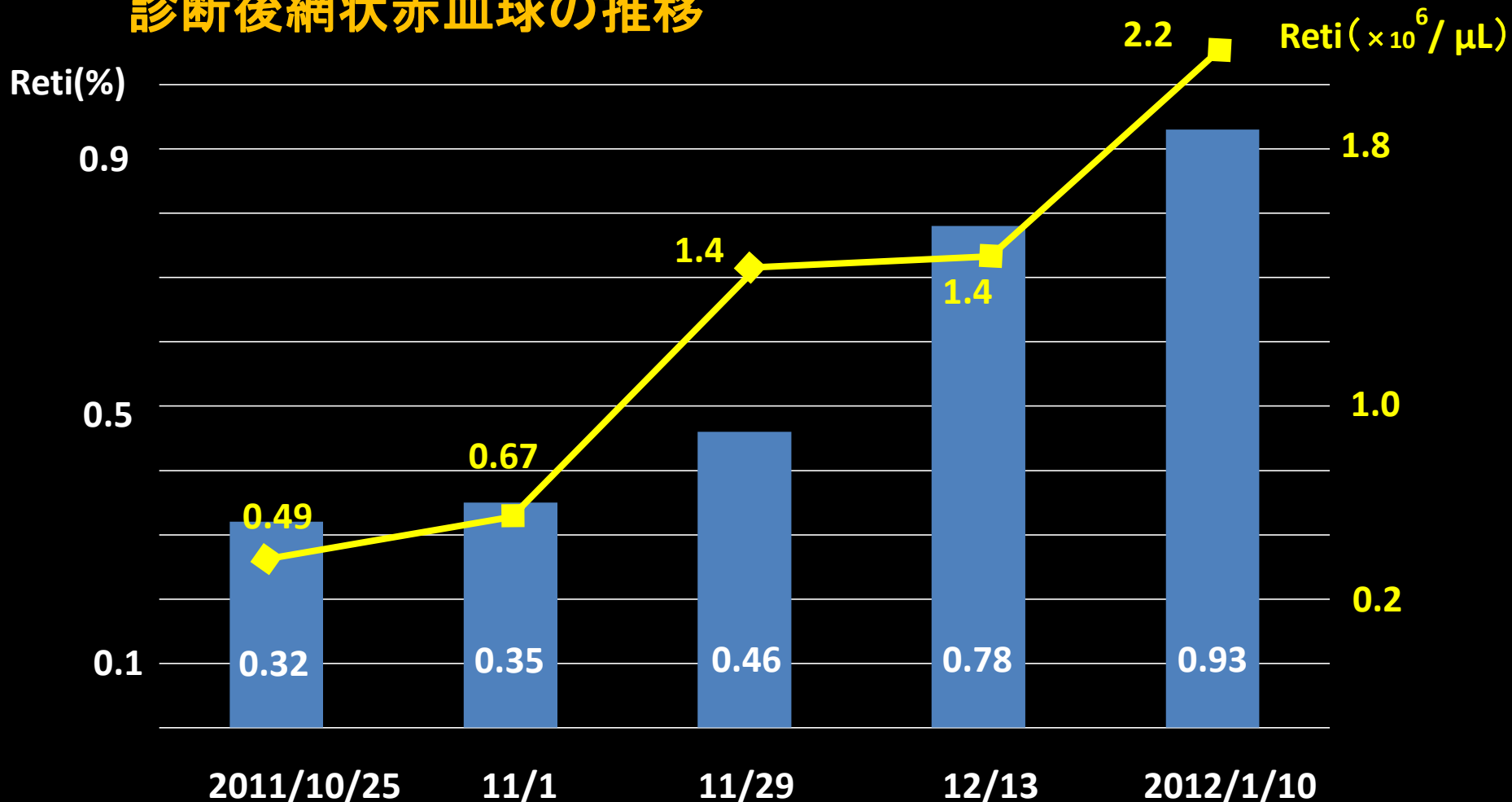
レーン	1	2	3
制限酵素	EcoR I	BamH I	Hind III
バンドサイズ (←)	3.3 kb 1.8 kb	21.0 kb 15.0 kb	5.0 kb 2.1 kb

<方法>

DNA抽出
制限酵素処理
電気泳動
サザントランスファー
ハイブリダイゼーション
化学発光検出
判定

- ・TCR β 遺伝子再構成を認めた。
- ・TCR γ 遺伝子再構成を認めた。

診断後網状赤血球の推移



2011/11/1~11/29 エンドキサン 100mg

2011/11/30~12/13 エンドキサン 50mg

2011/12/27~1/9 シクロスポリン 100mg

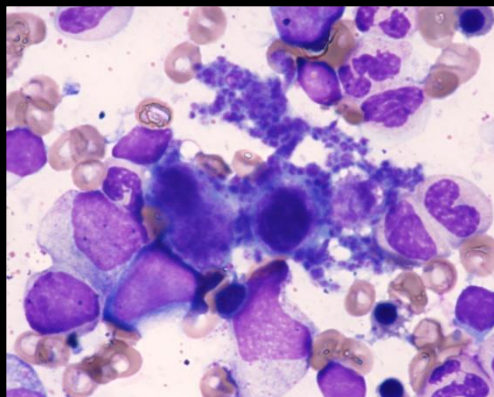
2012/1/10~2/8 シクロスポリン 120mg

2012/2/8~2/22 シクロスポリン 150mg

症例 まとめ

好中球減少と貧血で紹介され、MDSとしてフォローされていた。

初診時骨髄標本



末梢血; 奇形血小板
赤芽球核融解像
好中球核クロマチン粗大
Micro Mfgk

貧血が遅延し、輸血依存であった。MDSの増悪を疑い、骨髄検査(フォロー時)を実施したところ、成熟赤芽球は殆ど認めなかった。(初診時から赤芽球低形成であった。)

赤芽球癆の病態?

末梢血のLy絶対数増加・顆粒Ly(++)
好中球減少(<1000/ μ L)

末梢血細胞マーカー
TCR再構成等により
T-LGLによる
赤芽球癆

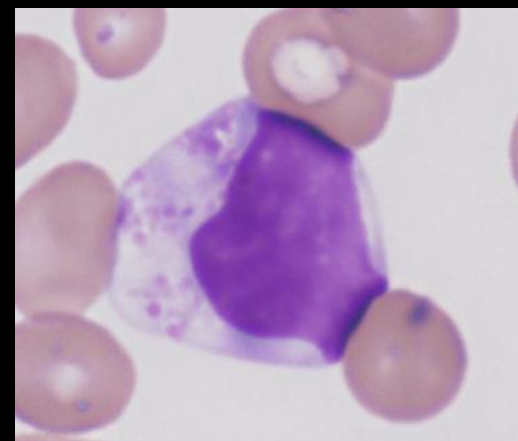
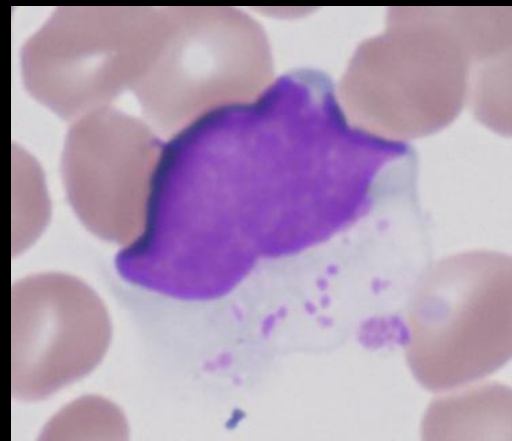
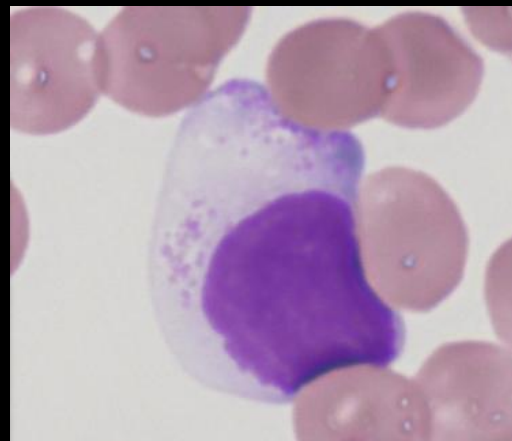
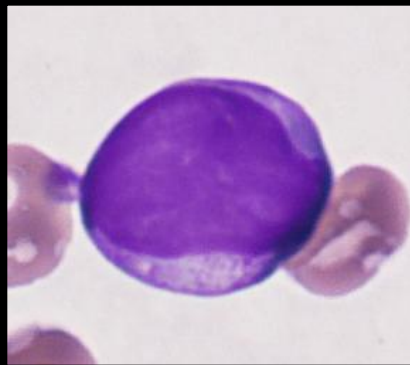
T細胞性LGL白血病(T-LGL)とは？

明らかな原因のない6か月以上持続する末梢血の顆粒リンパ球の増殖症。

大顆粒リンパ球 (Large granular lymphocyte)とは？

胞体に3個以上のアズール顆粒を認めるリンパ球のこと。その多くは赤血球の2倍(約 $15\mu\text{m}$)前後の大きさである。アズール顆粒の大きさは問わない。2000/ μL 以上を顆粒リンパ球(+)と記載する。

(日本臨床検査技師学会:血液形態検査に関する勧告法、1996、一部改定より)



今回の症例で認めた顆粒リンパ球
N/C比;大
細胞質;アズール顆粒微細

T-LGLにおける赤芽球癆合併のメカニズム

$\gamma\delta$ 型T細胞のクローナルな増殖

HLA Class I ; 発現正常

抑制性KIR

TCR

TCR-L

抑制性KIR

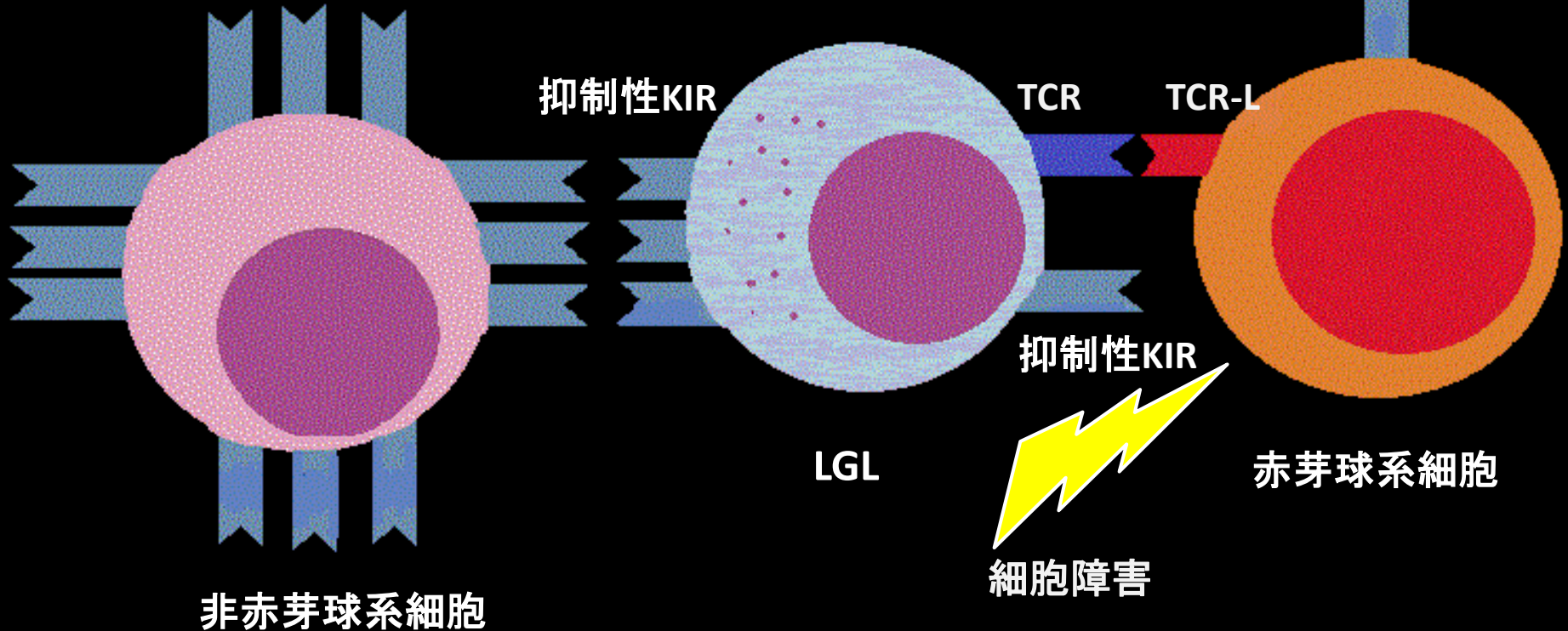
LGL

赤芽球系細胞

非赤芽球系細胞

細胞障害

HLA Class I ; 発現低下



T-LGL 検査所見

- ・末梢血中のリンパ球が2000～20000/ μ L位の症例が多い。
- ・著明な好中球減少や貧血を認める。
- ・そのうちの約半数が赤芽球癆であるが、血小板減少は認めない。



末梢血での顆粒リンパ球の確認。

細胞マーカー及びTCR再構成の検索。

まとめ

- ホームページ症例1は、骨髄中に特徴的な巨大赤芽球を認めたことにより、パルボウィルスB19の感染による赤芽球癆と診断を得ることが出来た。発熱・白血球減少・血小板減少は感染によるものと考えられた。
- 提示症例はMDSの増悪を疑ったが、再評価の骨髄検査では赤芽球癆の所見であった。末梢血中のリンパ球絶対数増多に注目したことが、T-LGLによる赤芽球癆の診断を得るきっかけとなった。リンパ球数を絶対数で捉えること、詳細に形態観察を行うことの重要性を再認識した。
- 後天性赤芽球癆の病型・病因は多様であり、長期に渡り免疫抑制療法を必要とする場合もある。臨床所見、末梢血所見、骨髄所見等、様々な所見を総合的に捉えることが重要であると考えられた。

参考文献

- ・WHO分類第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学
- ・澤田 賢一、高後 裕、小松 則夫 ほか
赤芽球癆 診療の参照ガイド(平成22年度改訂版)
- ・藤島 直人、廣川 誠、澤田 賢一 赤芽球癆 細胞 42号 270-273
- ・熊野 浩太郎 人パルボウィルスB19感染症の様々な病態
- ・會田 志乃 ほか 17年間の経過中に赤芽球ろうおよび骨髓異形成
症候群を合併したT細胞大顆粒リンパ球性白血病(T-LGLL)の1例
山形済生館医誌 第29巻 第1号94-101