

平成23年度形態検査部門血液検査分野研修会

2012年2月28日 大分赤十字病院

平成23年度ホームページ症例解説

～症例2～

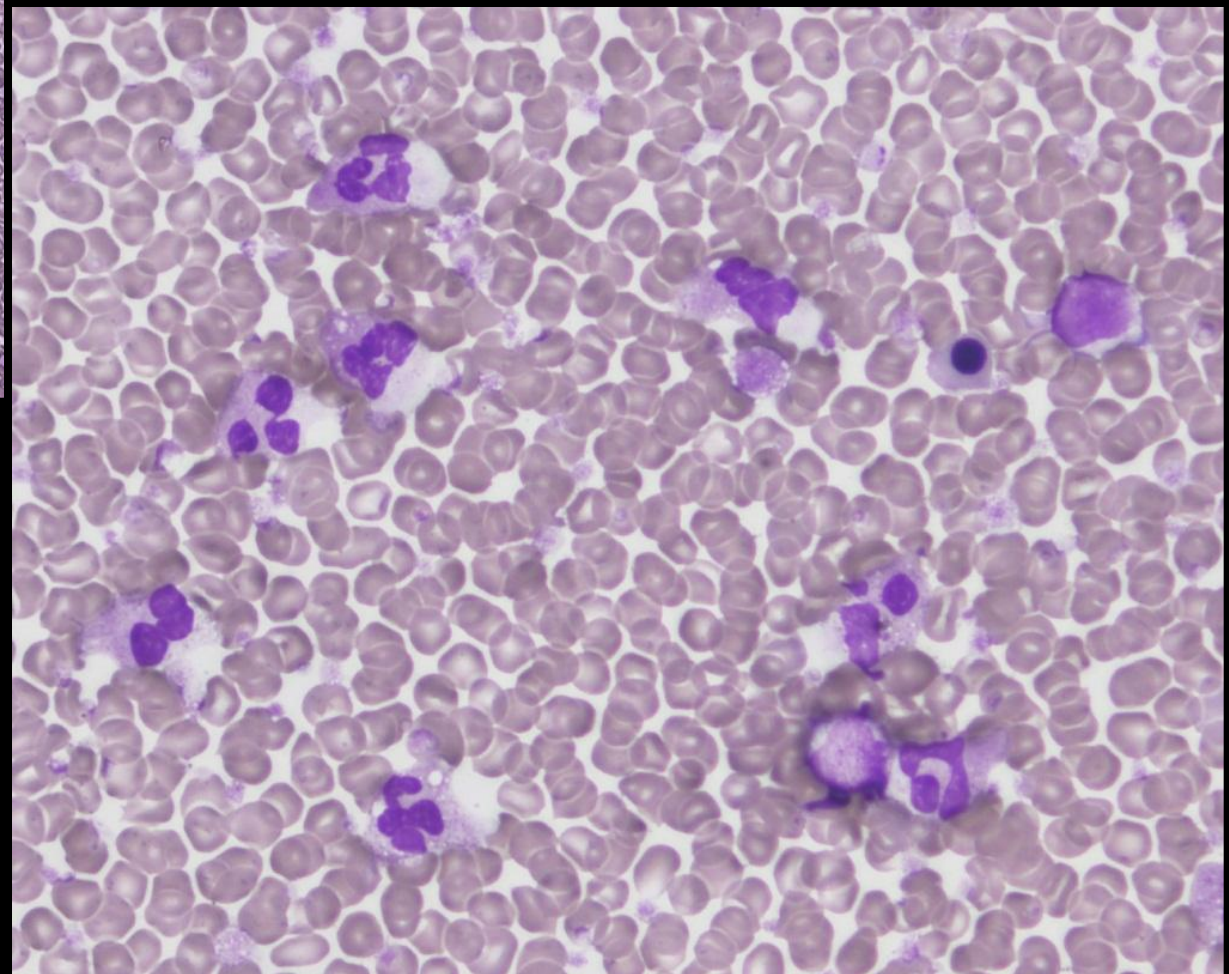
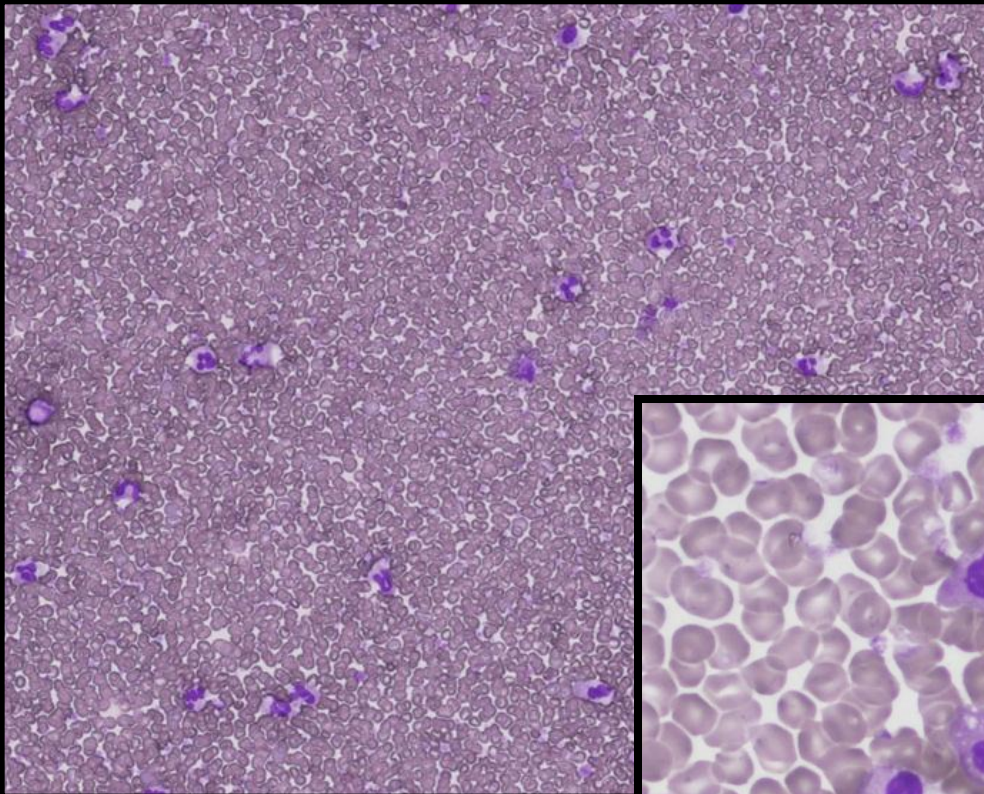
【症例2】 67歳 女性

1カ月前からめまいあり

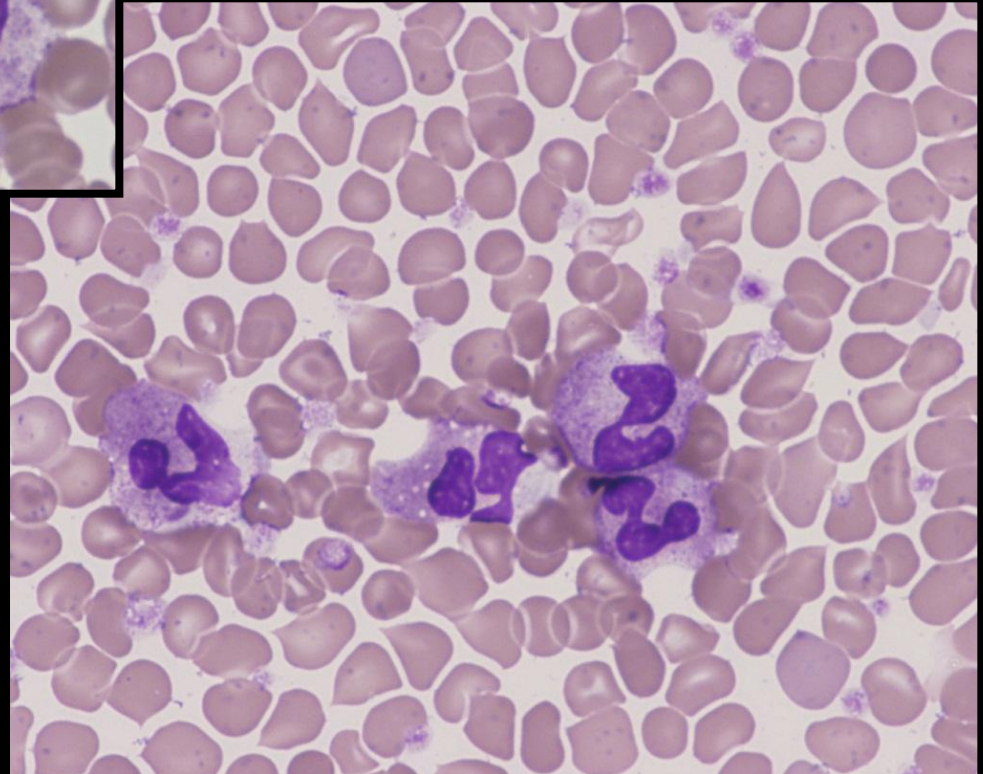
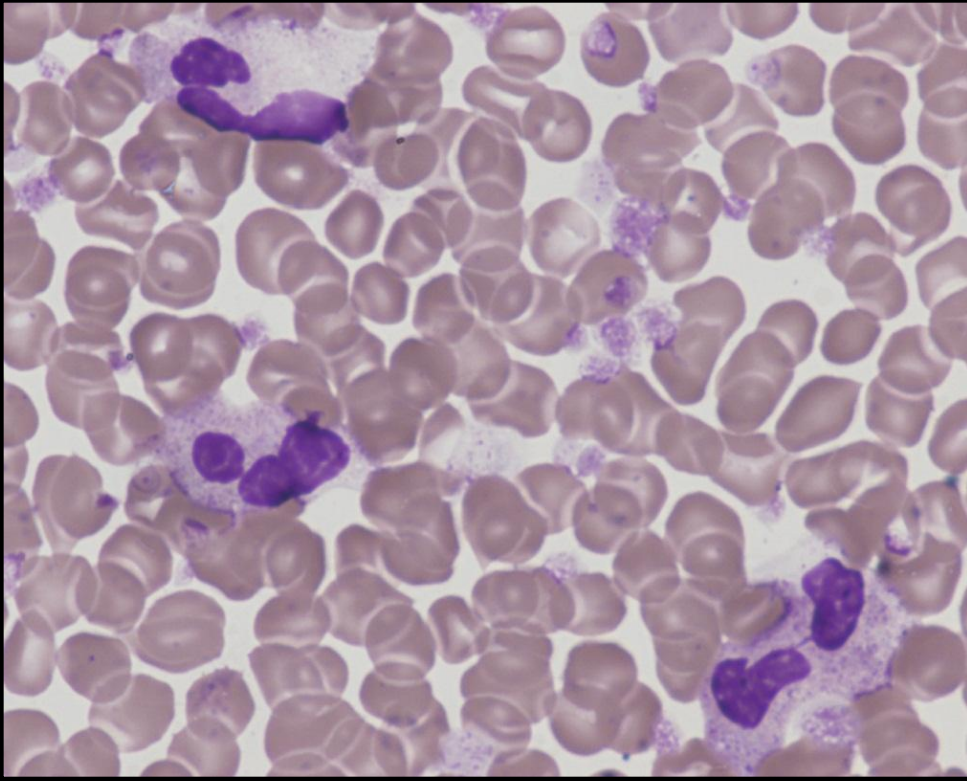
白血球増加、多血症、血小板増加があり紹介受診

WBC 33.74 ×10 ³ /μ L	TP 7.7 g/dL	LAP 84 IU/L
N-Meta 1 %	Alb 4.3 g/dL	GLU 103 mg/dL
N-Stab 3 %	A/G比 1.26	CRP 0.14 mg/dL
N-Seg 78 %	T-Bil 1.2 mg/dL	Na 140 mEq/dL
Ly 9 %	T-cho 205 mg/dL	K 5.0 mEq/dL
Mono 4 %	TG 155 mg/dL	Cl 103 mEq/dL
Eosino 4 %	AST 20 IU/L	Ca 10.3 mg/dL
Baso 1 %	ALT 5 IU/L	Fe 40 μ g/dL
RBC 8.32 ×10 ⁶ /μ L	CHE 302 IU/L	UIBC 316 μ g/dL
Hb 20.7 g/dL	LDH 535 IU/L	ferritin 16.7 ng/dL
Ht 61.6 %	ALP 431 IU/L	
MCV 74.1 fl	UN 8.0 mg/dL	PT 72 %
PLT 1254 ×10 ³ /μ L	CRE 0.62 mg/dL	APTT 14.7 sec
Retic 2.3 %	UA 8.0 mg/dL	Fib 321 mg/dL
	AMY 39 IU/L	ATIII 96 %
	CK 40 IU/L	FDP 3.2 μ g/dL

末梢血液像 MG染色



末梢血液像 MG染色



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。

- ・骨髄増殖性腫瘍(MPN)の中でも、真性赤血球増加症(Polycythemia vera; PV)、本態性血小板血症(Essential thrombocythemia; ET)を最も疑います。
- ・他の骨髄増殖性腫瘍、二次性赤血球増加症・相対的赤血球増加症の否定が必要。

2. 上記疾患にした理由をあげて下さい。

- ・血液学的検査：三系統の増加あり、
WBC 33740/ μ L Neut82% (27667/ μ L)
RBC 8.32×10^6 / μ L Hb 20.7 g/dL
PLT 1254×10^3 / μ L
- ・生化学・免疫学的検査：LDH高値、UA高値
- ・末梢血液像：赤血球重積像。血小板大小不同。好中球空胞形成。三系統に明らかな異形成は認めない。

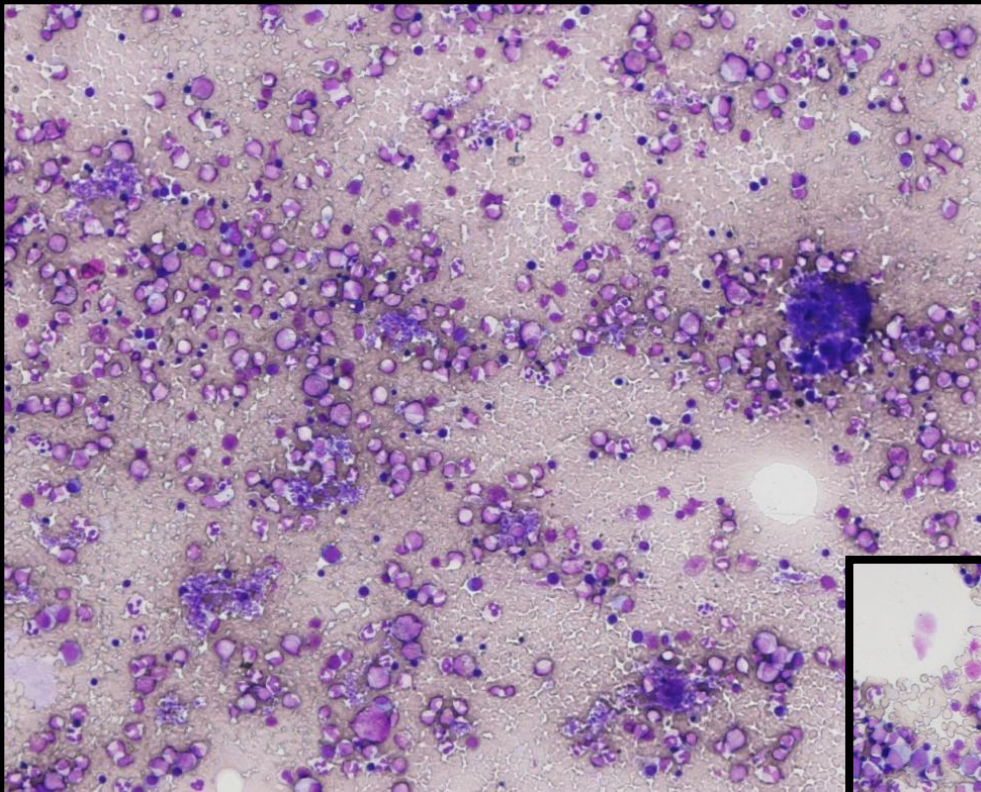
3. 診断に必要な追加検査をあげて下さい。

- ・**骨髓穿刺**；骨髓造血の評価
(必要により骨髓生検を実施；線維化の有無)
- ・**EPO値**；PVと二次性赤血球増加症の鑑別
- ・**Ph¹染色体の有無**；CMLとの鑑別(G-Banding法やFISH法)
- ・**JAK2遺伝子変異**；PVと二次性赤血球増加症の鑑別
- ・循環赤血球量、動脈血酸素飽和度、VB.12 等

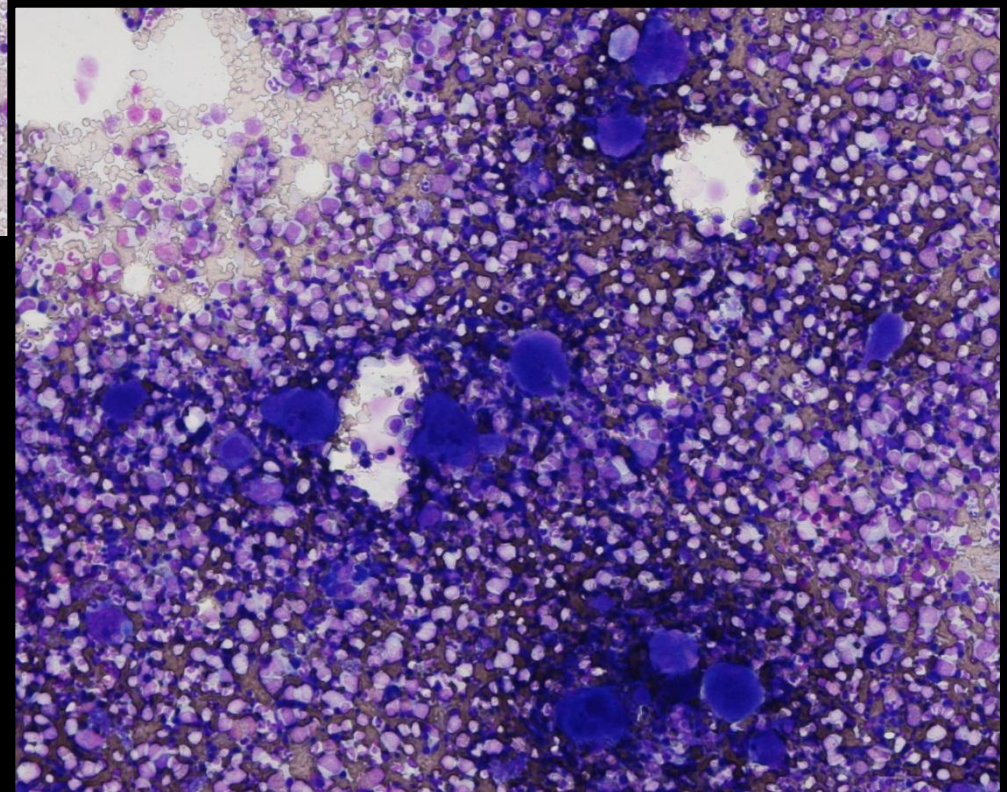
骨髓像 MG染色

NCC 191500 / μ L
Mgk 125 / μ L

圧挫標本



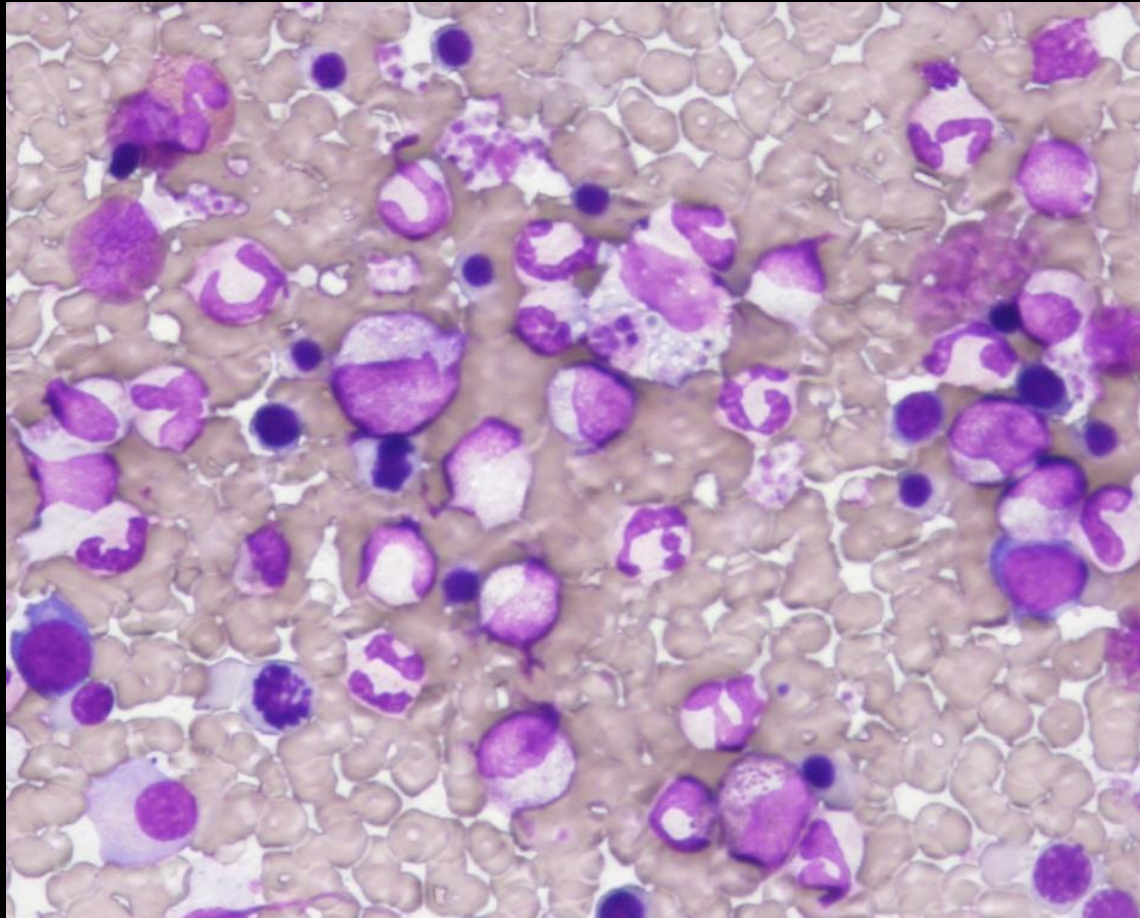
スミア標本



骨髓過形成像

三系統の増加

大小の巨核球が増生



M/E比 3.63

骨髓像 MG染色

Blast cell 1.3 %

pro-Ery 0.1 %

baso-Ery 0.6 %

poly-Ery 10.1 %

orth-Ery 7.4 %

Total Erythroid 20.2 %

N-pro 4.7 %

N-mye 18.1 %

N-meta 10.8 %

N-stab 11.6 %

N-seg 19.4 %

Total Neutrophil 64.6 %

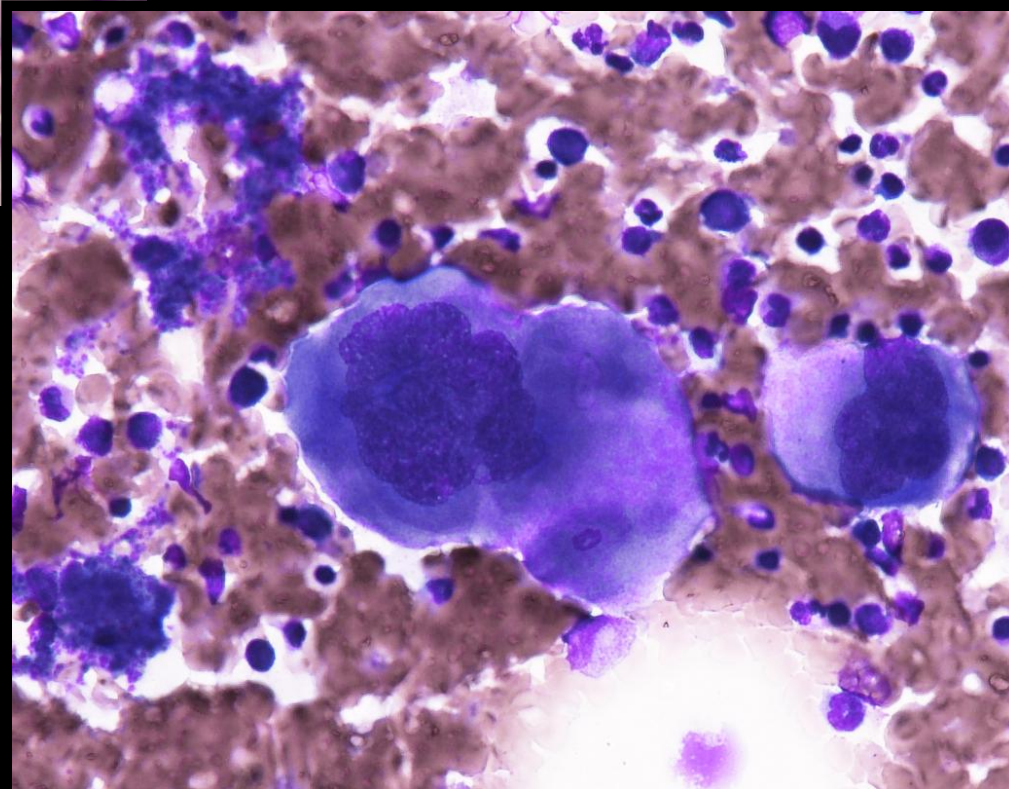
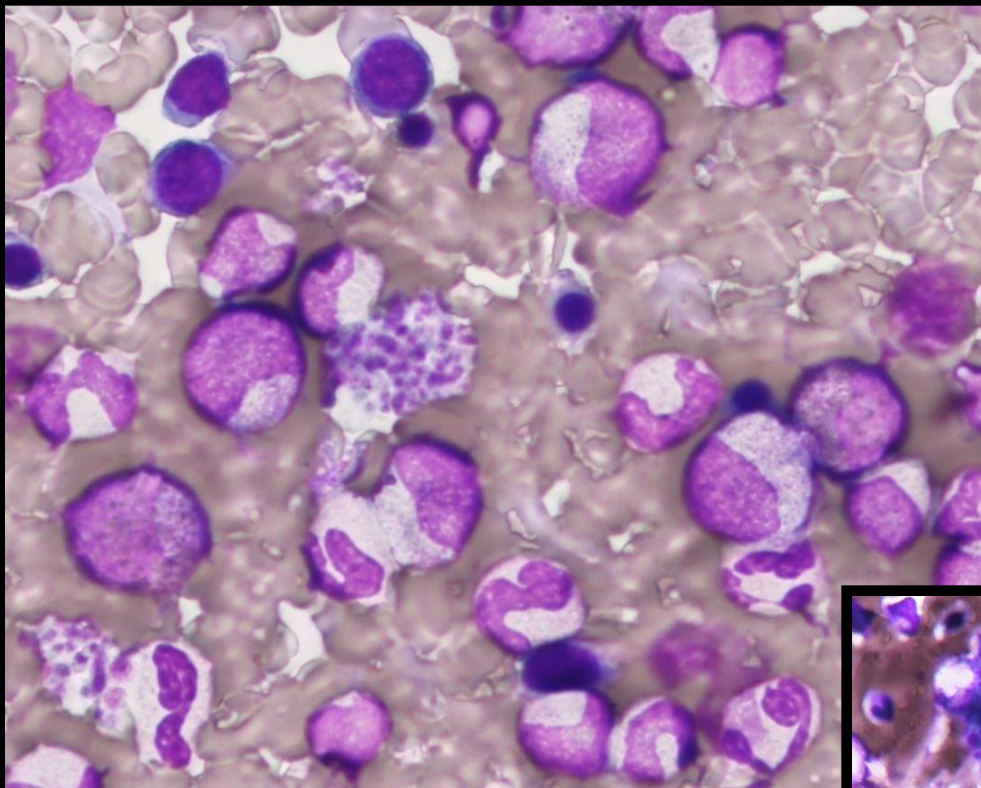
Eosin 3.8 %

Baso 0.2 %

Monocyte

Lymphocyte 5.4 %

骨髓像 MG染色



4. 骨髄検査から推測される疾患をあげて下さい。

- ・骨髄過形成像で、三系統の細胞の増加が見られる。
- ・M/E比は軽度高値。
- ・赤血球系・顆粒球系に明らかな異形成は認めない。
- ・好酸球系細胞、好塩基球系細胞の増加は認めない。
- ・巨核球系は大型化・過分葉・核形不整を認める。

骨髄増殖性腫瘍で、中でも真性赤血球増加症や本態性血小板血症が考えられる。

追加検査所見

- **NAP**; NAPスコアー RATE 100%, SCORE 427と**高値**
- **EPO値**; 1.0未満 mIU/mLと**低値**
- **染色体**; 46, XX [20] 、bcr-abl 融合シグナル 0.0%
- **JAK2遺伝子変異**; Tアレル含有率20%以上80%未満で、
遺伝子型(G/T)の**ヘテロ型**であった
- **VB.12**; 652 pg/mLと正常

症例2のポイント

真性赤血球増加症 (polycythemia vera; PV)

+ET?

- ◆ 末梢血は三系統とも増加
赤血球・血小板が著増し、Hb高値と大小不同の血小板
- ◆ 生化学検査所見ではLDHとUAが高値
- ◆ 骨髄は過形成で、三系統の増加を認め、各系統の比率はほぼ正常、
巨核球大小不同(+)
- ◆ NAPはRATE 100%, SCORE 427と高値
- ◆ 血清エリスロポエチンは1.0未満 mIU/mLと低値
- ◆ 染色体は正常核形
- ◆ JAK2遺伝子変異を認め、Tアレル含有率は20%以上80%未満であり、
遺伝子型(G/T)のヘテロ型であった

骨髓増殖性腫瘍 (MPN)

- 慢性骨髓性白血病 (CML)
- 真性赤血球増加症 (PV)
- 本態性血小板血症 (ET)
- 原発性骨髓線維症 (PMF)
- 慢性好中球性白血病 (CNL)
- 慢性好酸球性白血病 (CEL)、他のカテゴリーに入れられないもの
- 好酸球増加症候群 (HES)
- 肥満細胞症
- 骨髓増殖性腫瘍、分類不能型

骨髓異形成 / 骨髓増殖性腫瘍 (MDS/MPD)

- 慢性骨髓単球性白血病 (CMML)
- 若年性骨髓単球性白血病 (JMML)
- 非定型性慢性骨髓性白血病 (aCML)
- 骨髓異形成・骨髓増殖性腫瘍, 分類不能型
- 著名な血小板増加を伴い環状鉄芽球を有する不応性貧血

真性赤血球増加症 (polycythemia vera; PV)

臨床所見; 赤血球数および総血液量、白血球、血小板の増加と脾腫を特徴とし、全身の循環障害が生じる。

末梢血所見; 著明な赤血球増加、正球性正色素性。
好中球、好酸球、好塩基球が増加。血小板数増加。
未熟な白血球がみられるが、芽球は認めない。

生化学検査; LDH、UA高値

骨髄所見; 三系統の過形成を認める。各系統の比率は正常と著しい差は見られない。赤血球造血の亢進や巨大化した成熟巨核球等が見られる。少数に線維化が見られることもある。

染色体所見; 10~20%に染色体異常認める。
+8, +9, del(20q), del(13q), del(1p)など

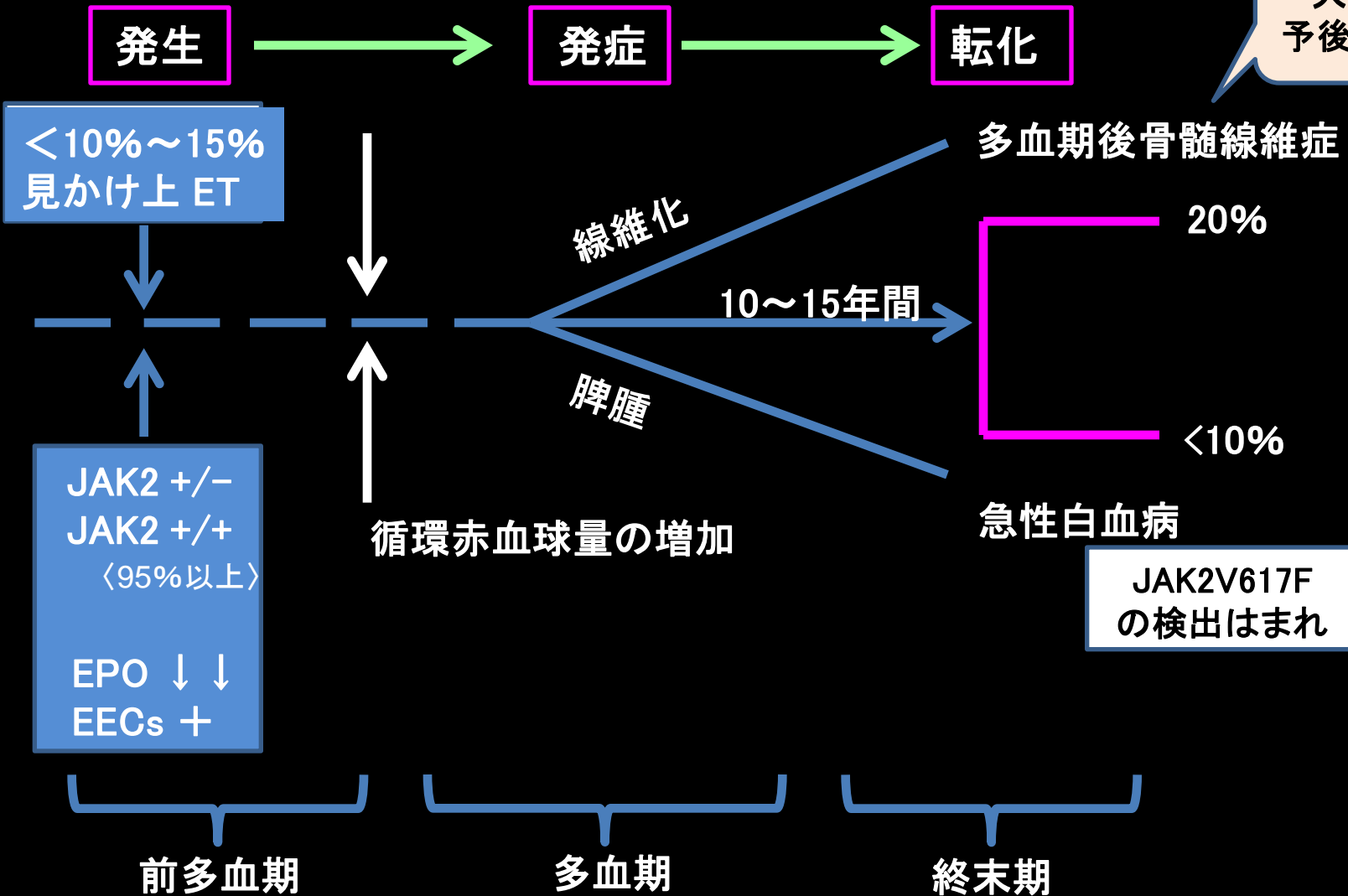
遺伝子所見; JAK2V617F変異 95%以上、JAK2 exon12変異 3%

臨床経過; 平均10年で骨髄線維化を来し、少数は急性白血病となる。

PVの病期進展

(WHO分類第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学 より)

大部分が
予後3年未満



無治療の場合の平均寿命は18ヶ月
死因: 血栓症、AML、悪性腫瘍、出血、MF 等

PVのWHO分類2008診断基準

以下の大基準の1と2の両方を同時に満たす、もしくは大基準の1と小基準の2つ以上を同時に満たすことで診断される。

大基準

- 1.ヘモグロビン値 男性18.5g/dl、女性16.5g/dl以上。
もしくは以下の所見のいずれかが確認できる
 - ・HbもしくはHtが年齢、性別、居住地の高度を考慮した基準値の99%
タイル値を超える
 - ・Hbが男性で17g/dl、女性で15g/dl以上、かつ発症前の平均値より
2g/dl以上の増加
 - ・赤血球量が予測値の25%を超える。
- 2.JAK2V617F変異遺伝子、もしくは類似したJAK2遺伝子変異が存在する。

小基準

1. 骨髄において赤血球系、顆粒球系および巨核球系細胞の著明な増殖により過形成を示す。
2. 血清エリスロポエチン低値。
3. 内因性赤芽球コロニー形成がある。

骨髓増殖性腫瘍の鑑別

		PV	CML	CNL	CEL /HES	ET	PMF
末梢血所見	PLT(/ μ l)	↑	>50万			>45万 (>100万)	>50万
	WBC(/ μ l)	↑	1~ 数10万	>2万	増加		1~数万
	Hb	>18.5,16.5 g/dl		N~↓	↓	N~↑	↓
	涙滴赤血球						+
	好塩基球		↑				
	好酸球		N~↑		>1500/ μ l		
	幼若白血球	+	++	-~±	+	+	+ / ++
	赤芽球						+ / ++
	NAPスコアー	↑	↓↓	↑		↑	↑
その他所見	骨髓像	3系統↑	↑↑			↑ (Meg)	繊維化
	Ph ¹ 染色体	-	+	-	-	-	-
	循環赤血球	↑					N~↓
	脾腫	+	++	+	+	+	++
		Epo低下				臓器浸潤	PLT形態異常

ALP染色(NAP;朝長法)

成熟好中球を100個算定

0型:陽性顆粒なし

I型:陽性顆粒1~5個 (n1) → $1 \times n1$

II型:陽性顆粒5~30個 (n2) → $2 \times n2$

III型:陽性顆粒30個以上、不平等に分布 (n3) → $3 \times n3$

IV型:陽性顆粒平等に分布、間隙あり (n4) → $4 \times n4$

V型:陽性顆粒平等、密に分布 (n5) → $5 \times n5$

SCORE
合計

RATE: 75~95%、SCORE: 170~330

活性の低下 (SCORE ≤ 200)	活性の上昇 (SCORE ≥ 320)
<ul style="list-style-type: none">・CMLの慢性期・発作性夜間血色素尿症・伝染性単核症などのウィルス疾患・急性肝炎・AML(8;21転座型)	<ul style="list-style-type: none">・感染症の合併または急性転化時のCML・原発性骨髄線維症・真性赤血球増加症・再生不良性貧血・類白血病反応・ALL・ダウン症候群・悪性腫瘍・化膿性細菌感染症

ALP染色(NAP)

PV(本症例)

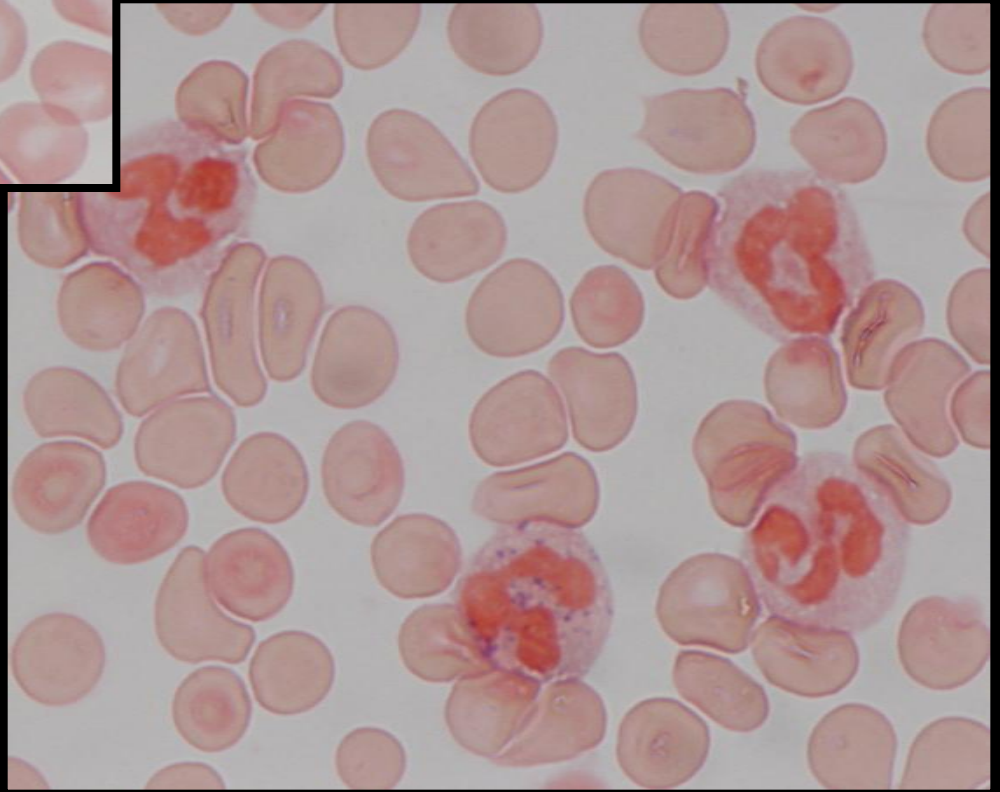
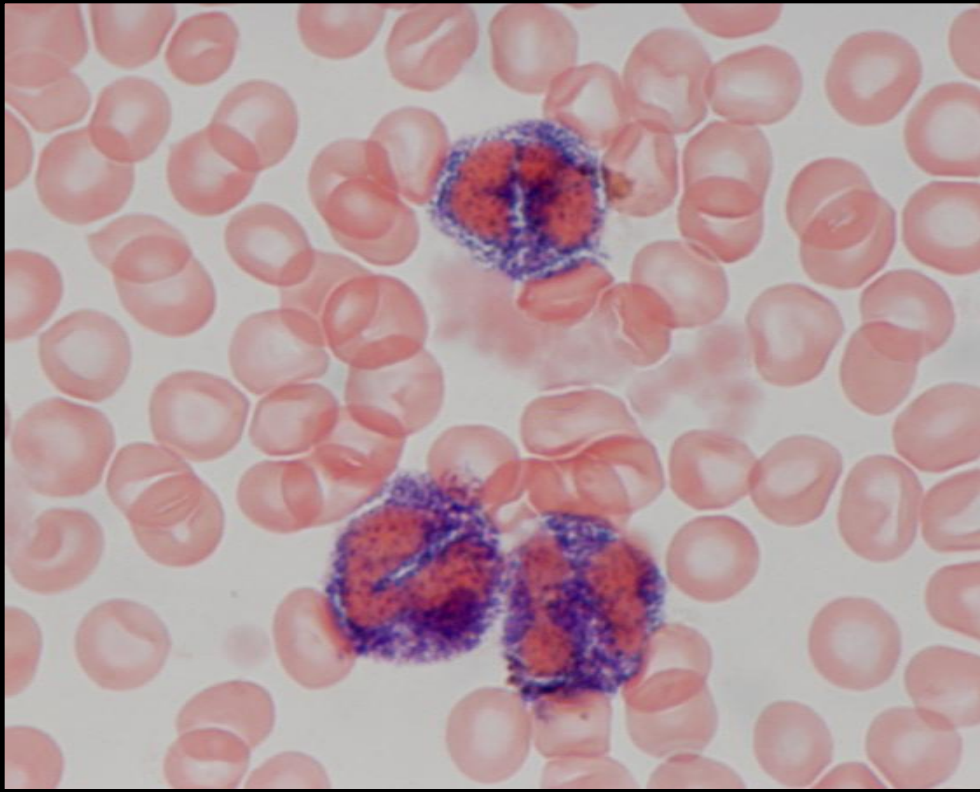
RATE 100%

SCORE 427

CML(CP)

RATE 26%

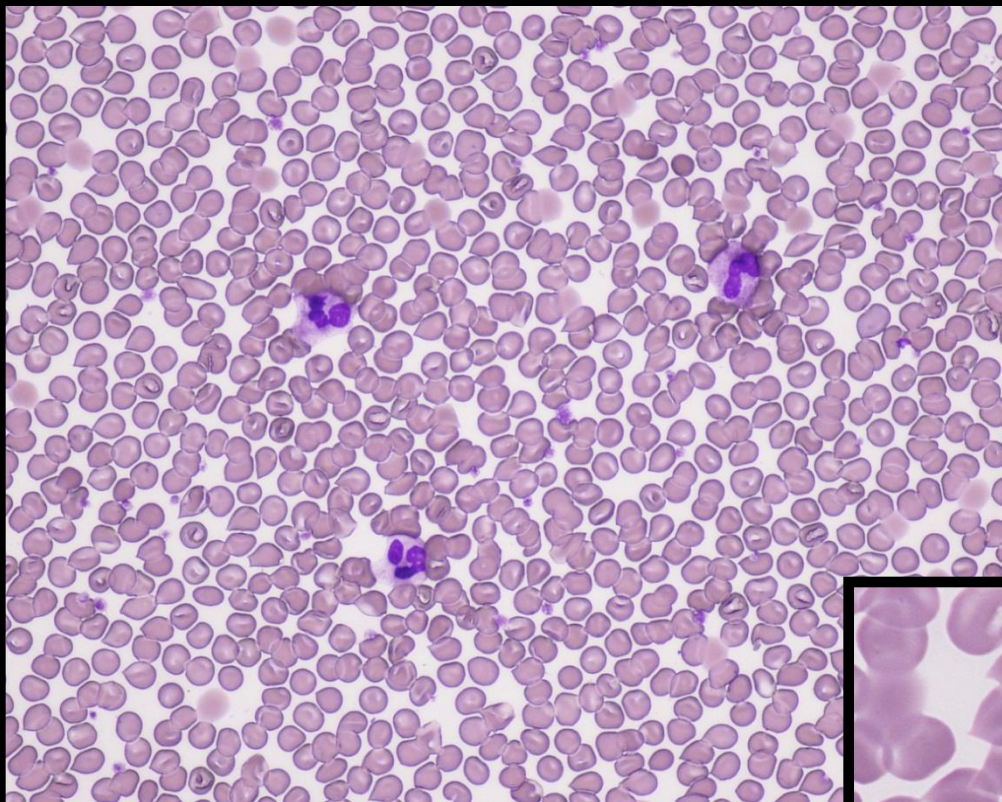
SCORE 51



赤血球増加症の鑑別

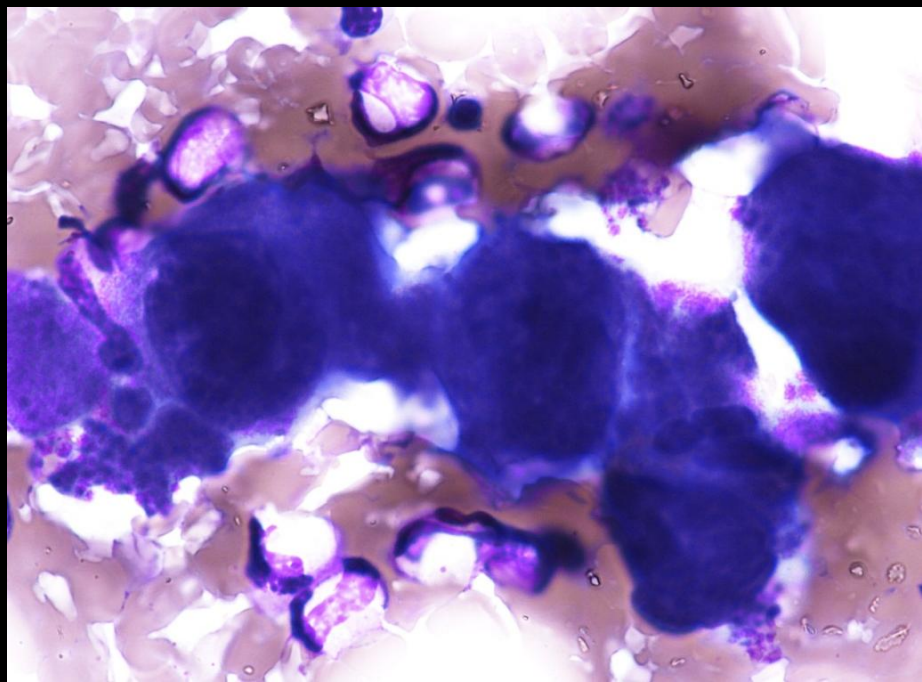
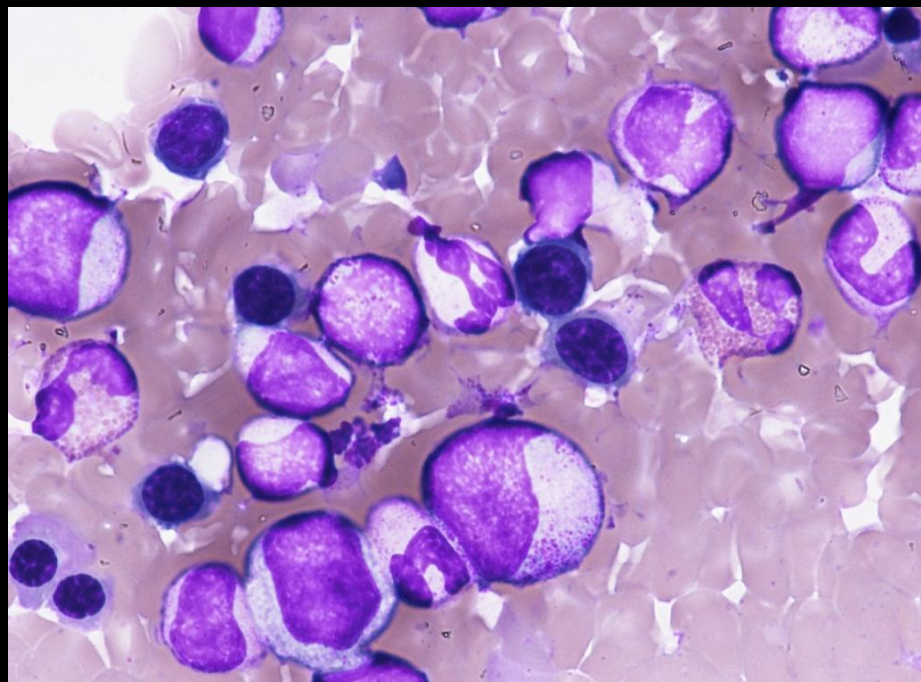
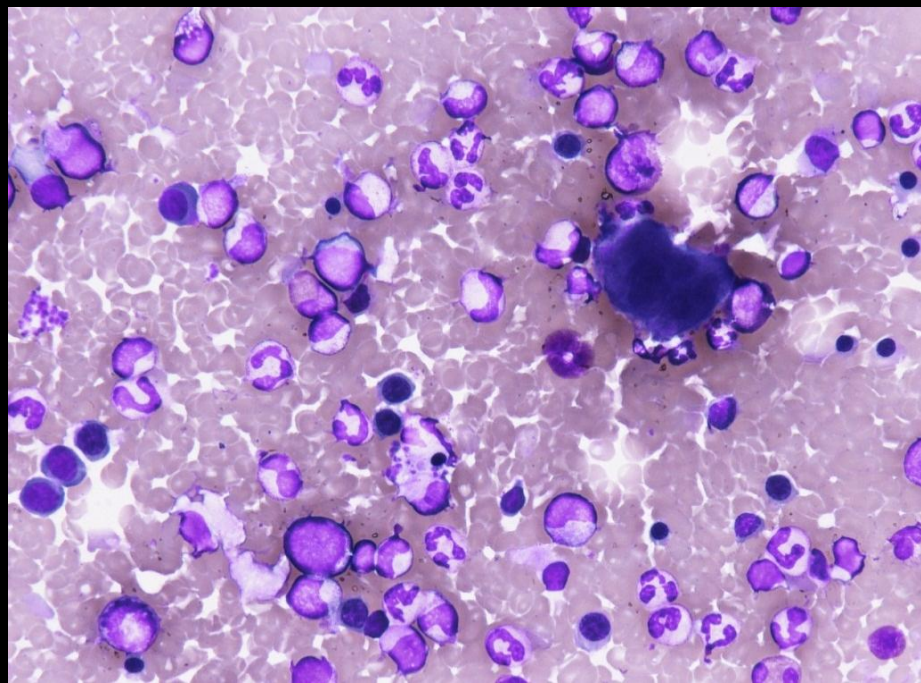
	真性赤血球増加症	二次性赤血球増加症	相対的赤血球増加症
循環赤血球量	増加	増加	正常
白血球	増加(ときに正常)	正常	正常
血小板数	増加(ときに正常)	正常	正常
好塩基球(絶対数)	増加	正常	正常
エリスロポエチン (血清・尿)	低下	上昇	正常
NAPスコア	高値	正常	正常
動脈血酸素飽和度	正常	正常	正常もしくは低下
ヒスタミン値	高値	正常	正常
血清ビタミンB12	高値	正常	正常

PV 末梢血 MG染色

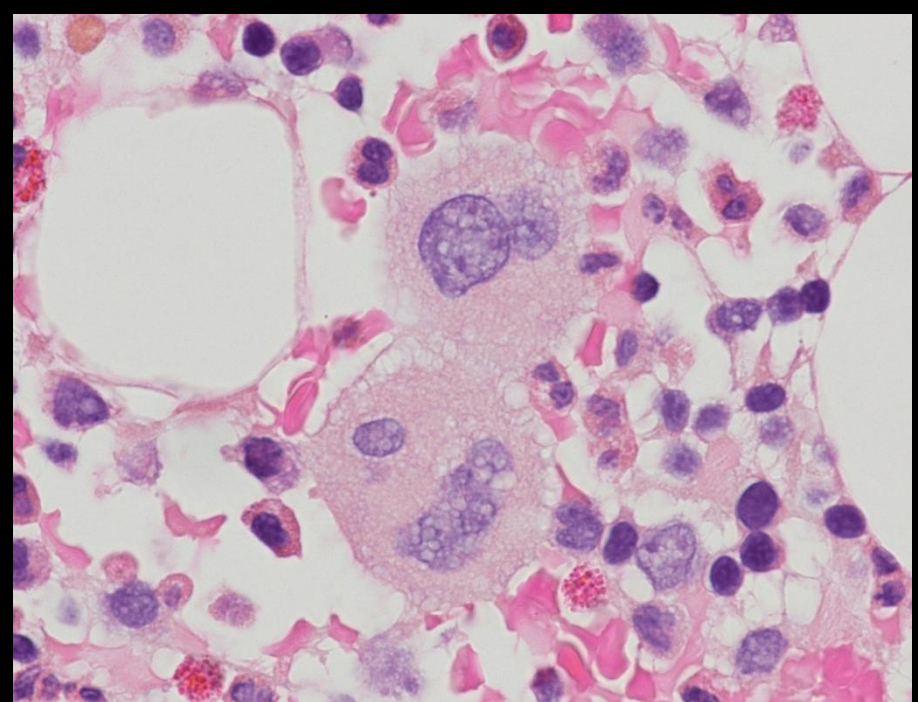
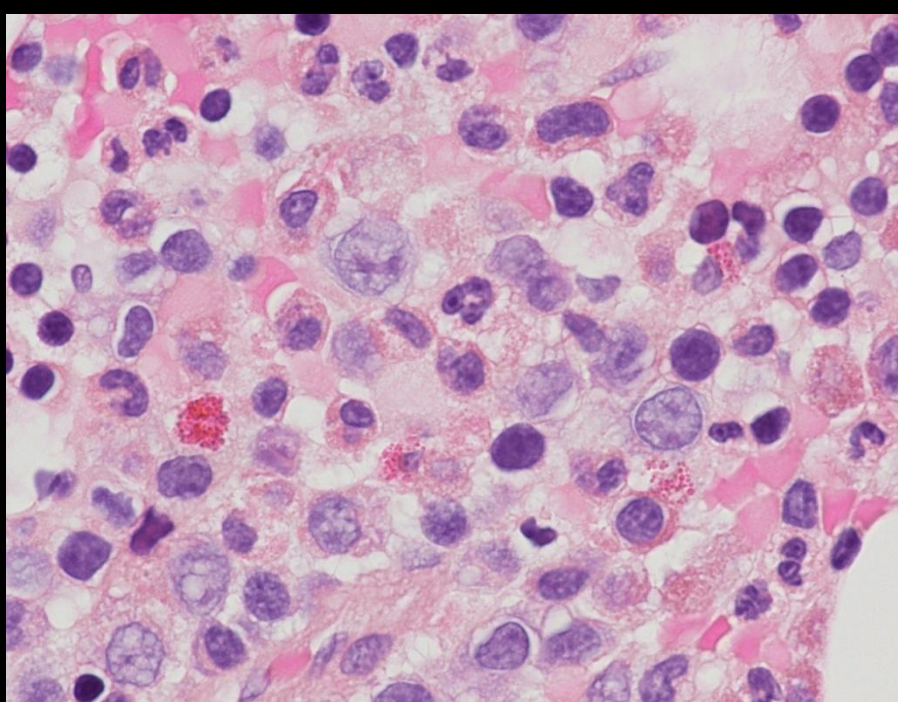
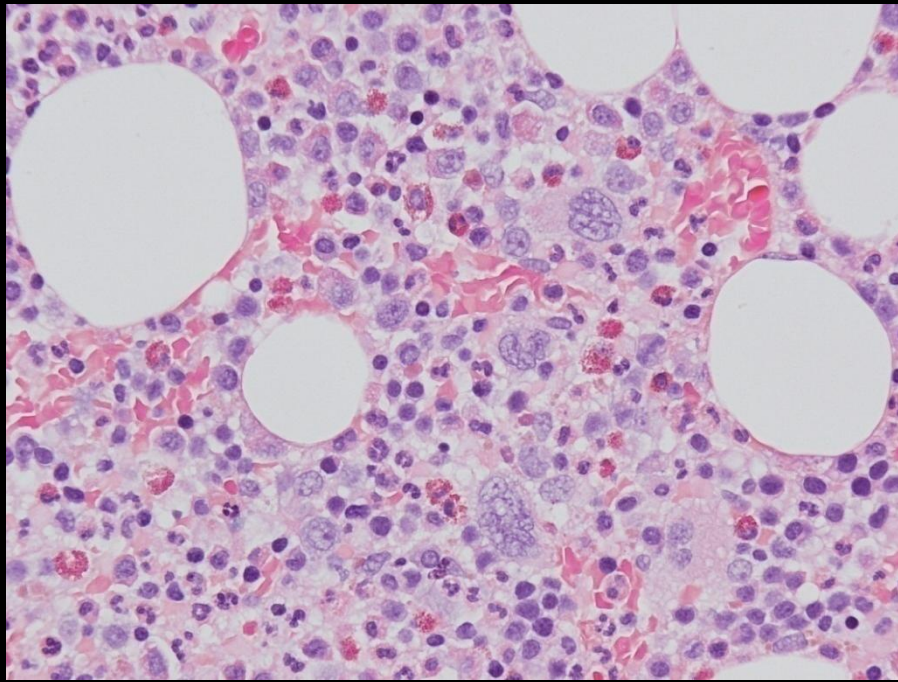


WBC	7.34	$\times 10^3$	/ μ L
RBC	6.15	$\times 10^6$	/ μ L
Hb	20.4	g/dL	
PLT	217	$\times 10^3$	/ μ L

PV 骨髓 MG染色



PV 骨髓クロット HE染色



骨髄増殖性腫瘍の特徴と細胞像(典型例)

- 慢性骨髄性白血病(CML)
- 本態性血小板血症(ET)
- 原発性骨髄線維症(PMF)

慢性骨髄性白血病 (Chronic myelogenous leukemia; CML)

多能性造血幹細胞の形質転換によっておこる腫瘍性疾患

Ph¹染色体を認め、この異常によって形成されるBCR-ABLが病因である

全白血病の20%

発生頻度 1~1.5/10万人

症状 慢性期;脾腫、肝腫、微熱、体重減少など
急性期;全身状態悪化、貧血、脾腫の増大など

末梢血

- ・左方推移を伴う顆粒球系細胞の著明な増加(白血病裂孔認めない)
- ・好塩基球の増加、好酸球の増加
- ・NAPスコア—低値

生化学検査

- ・LDの上昇、VB₁₂の著増

骨髄所見

- ・著しい過形成;顆粒球系過形成(M/E比 ↑ ↑)・巨核球系過形成
- ・三系統に異形成認めず

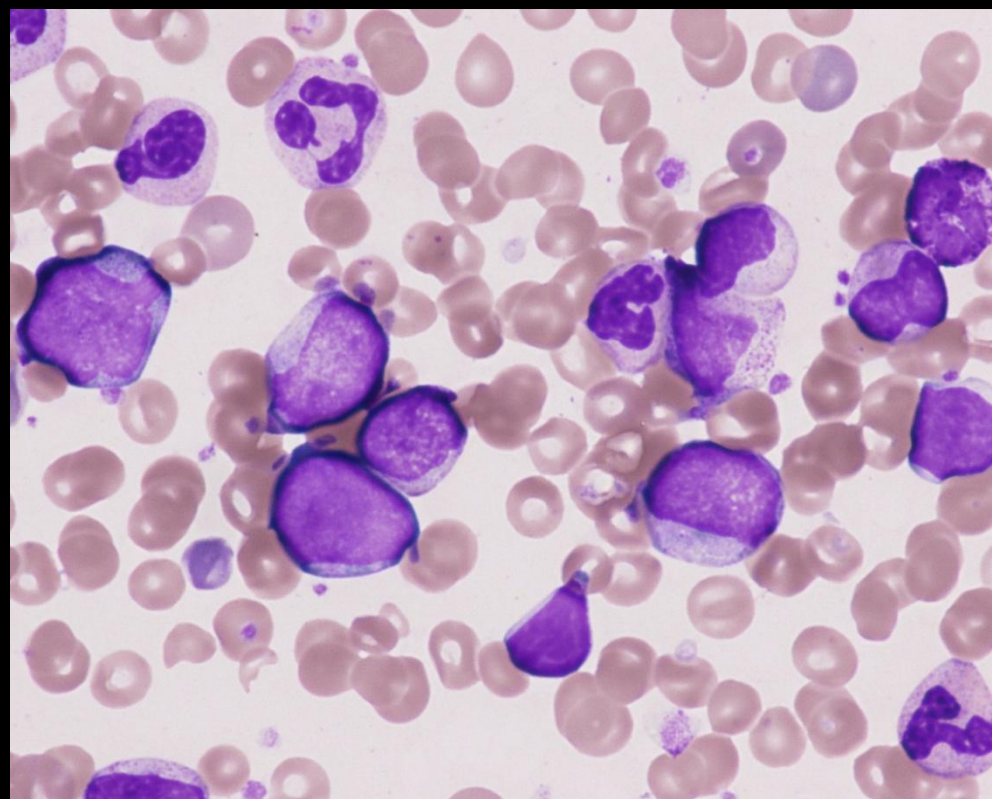
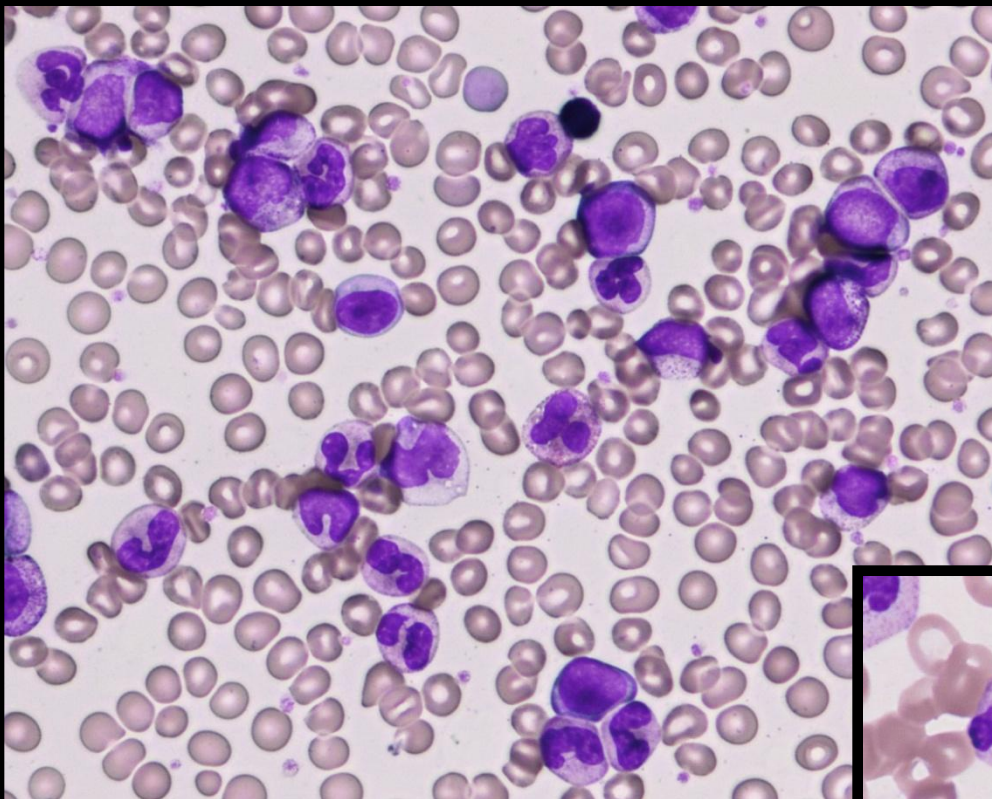
染色体・遺伝子

フィラデルフィア染色体(Ph¹);t(9;22)(q34;q11)、BCR/ABL融合遺伝子

臨床経過

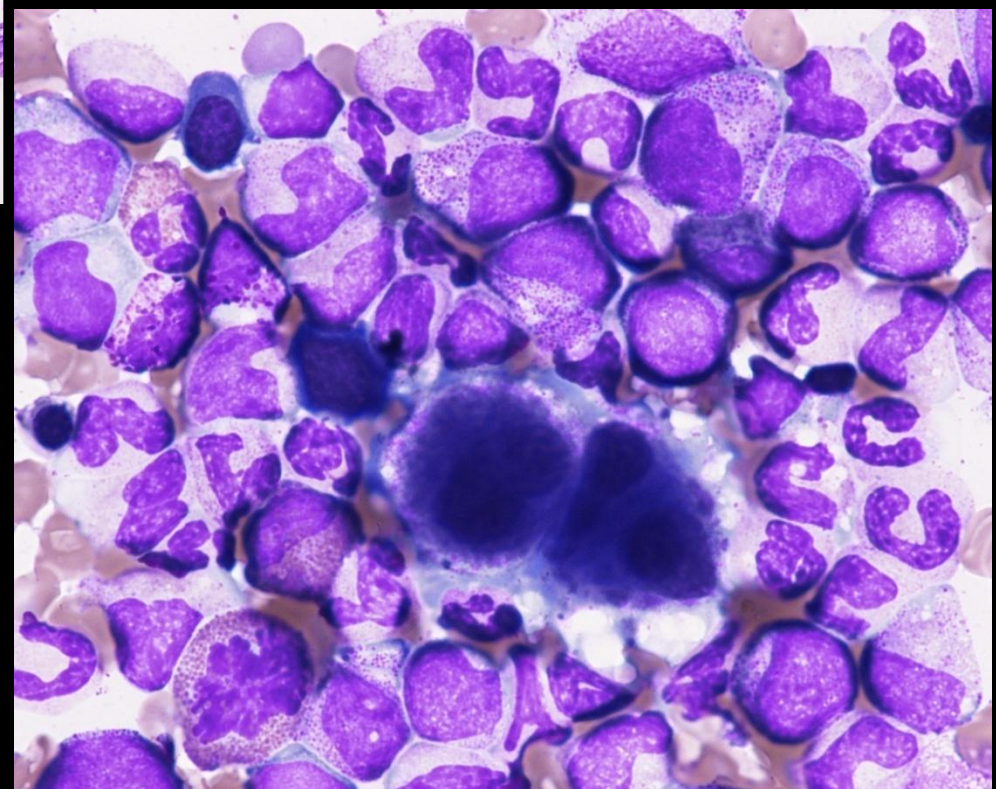
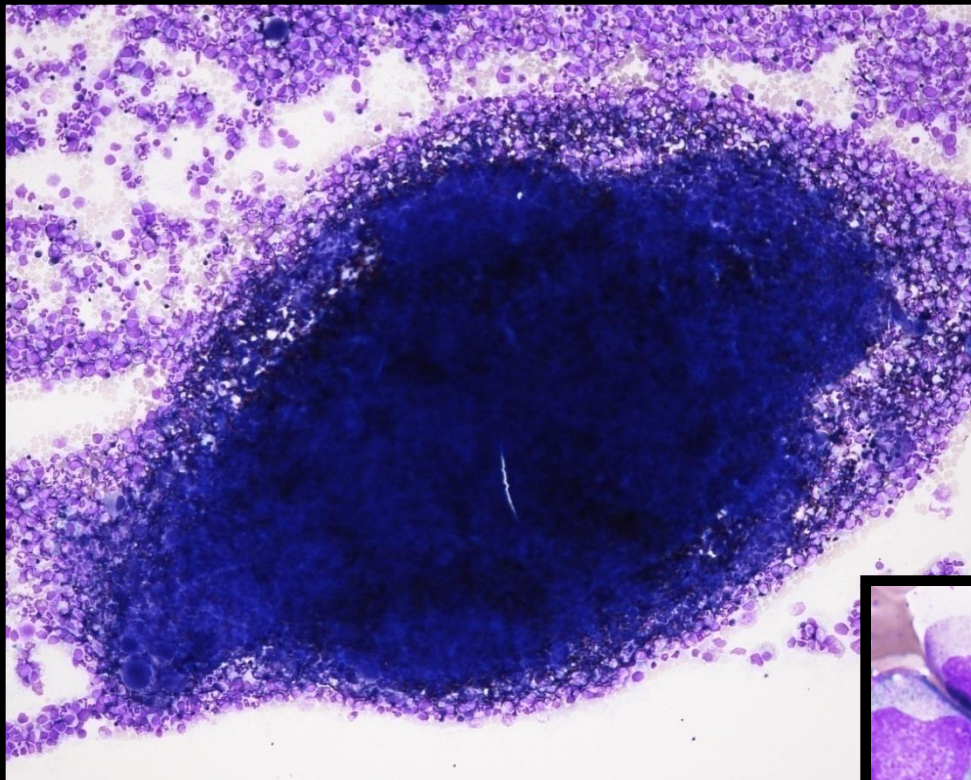
急性転化;平均3~4年で急性白血病に移行(慢性期→移行期→急性転化期)

CML 末梢血 MG染色

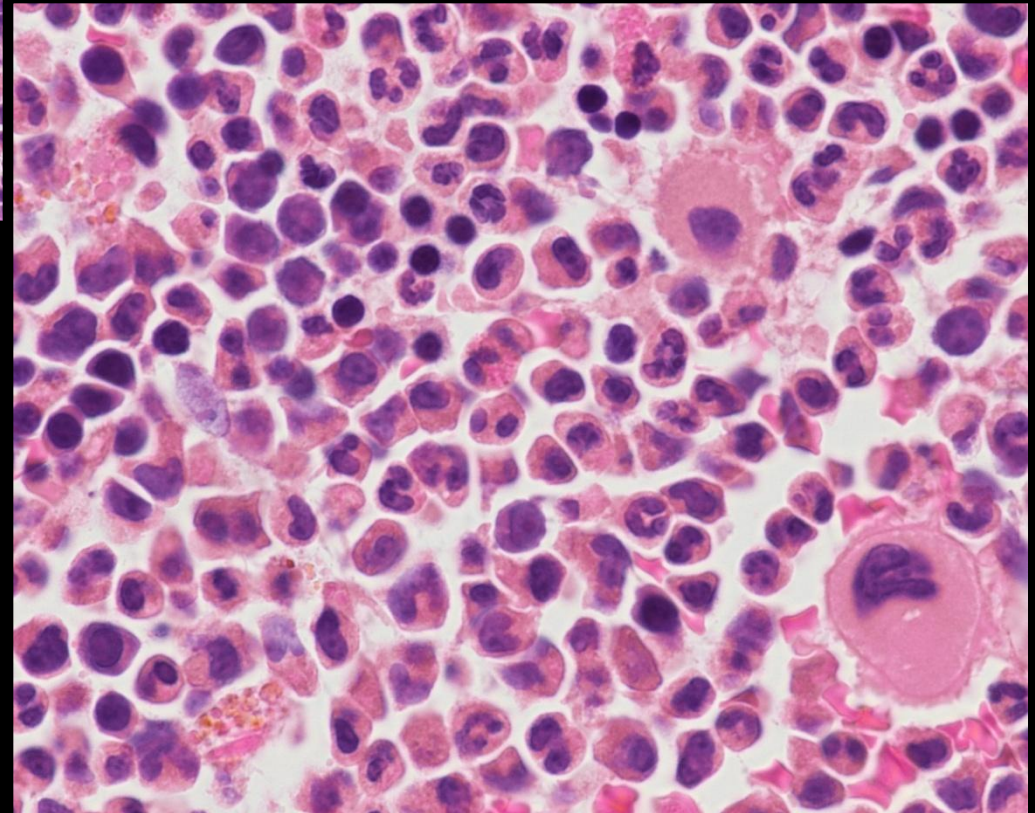
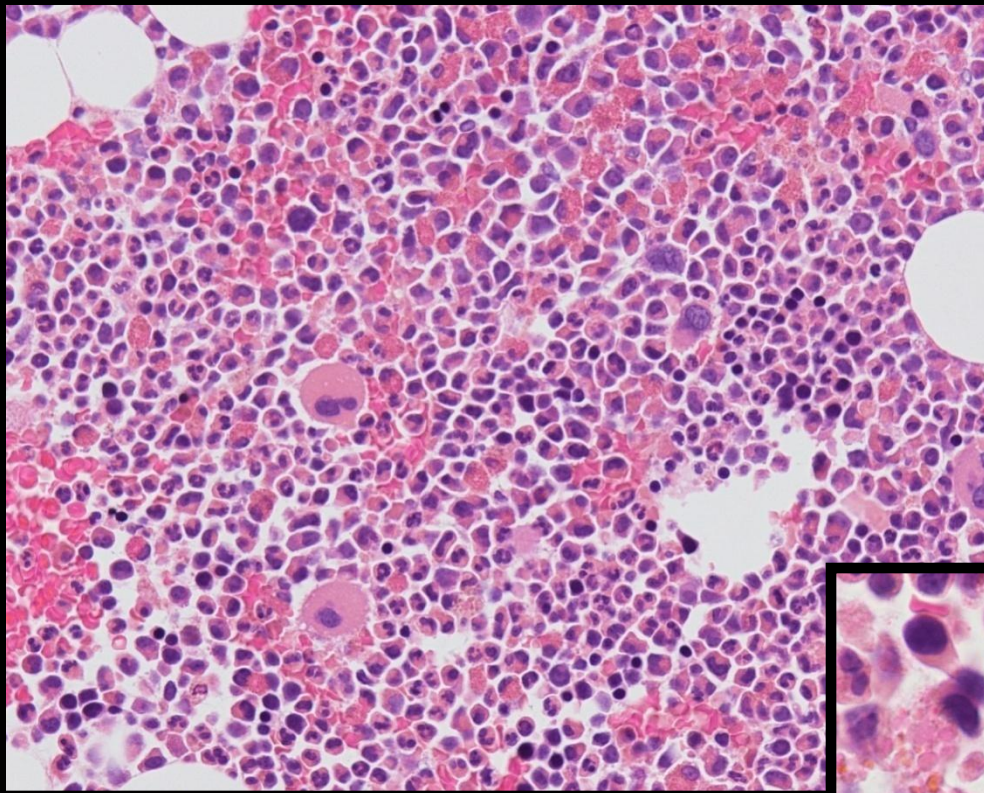


WBC	21.26	$\times 10^3$	/ μ L
RBC	2.86	$\times 10^6$	/ μ L
Hb	8.8	g/dL	
PLT	352	$\times 10^3$	/ μ L

CML 骨髓 MG染色



CML 骨髓クロット HE染色



本態性血小板血症 (Essential thrombocythemia; ET)

巨核球の異常増殖による疾患で、他のMPNでは説明できない慢性非反応性血小板増多をきたす疾患(除外診断)。
他のMPNへの移行率は低い。

発生頻度: 10万対1~2.5人/年

診断時平均年齢: 60歳(40歳未満は10~25%、小児はまれ)

男女比=1:1~2

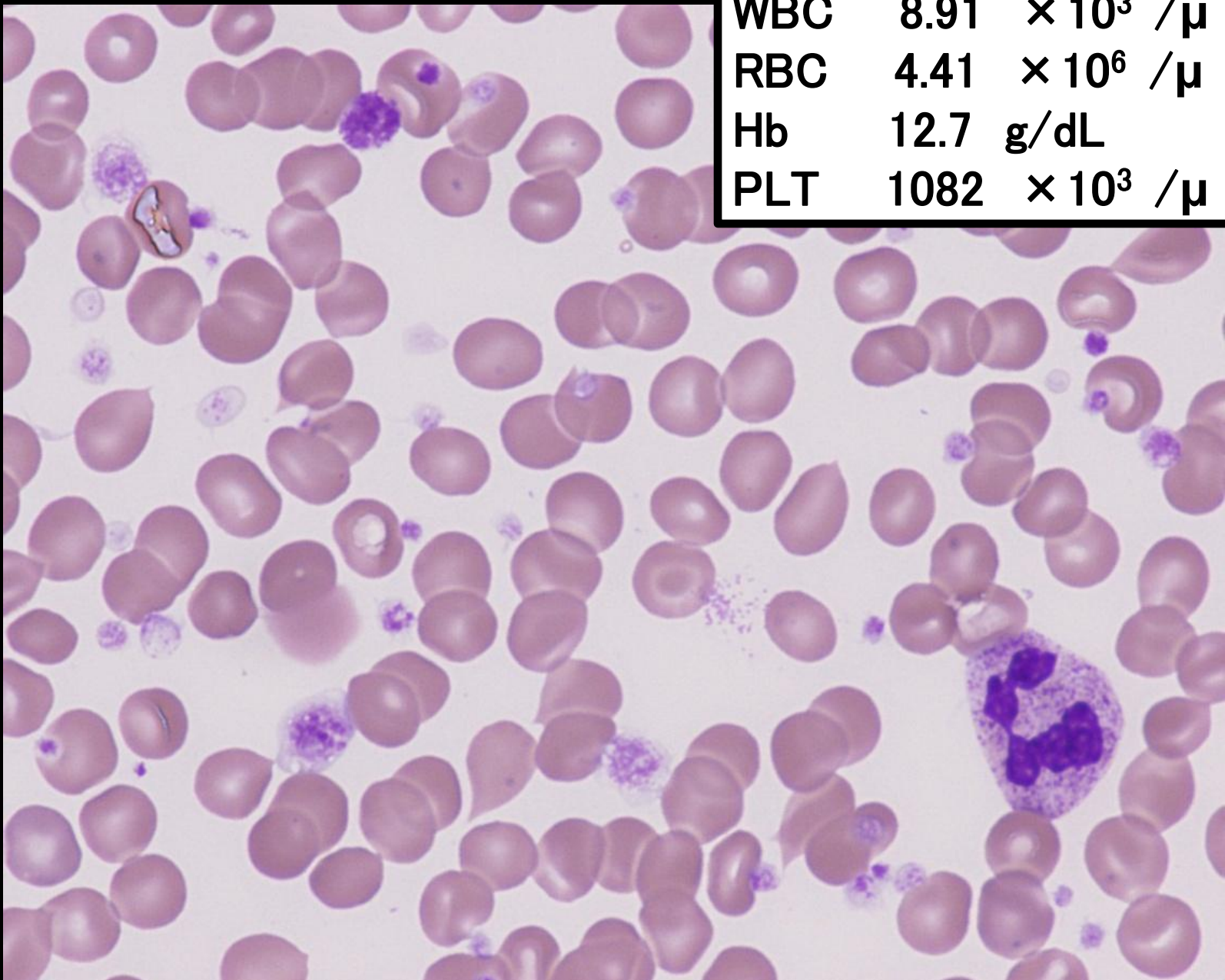
診断時の1/4~1/3が無症状、他は血管運動性症状や血栓出血症状あり

診断基準 PLT増加45万/ μ L以上(多くの例は100万以上)
骨髄生検にて、大型成熟巨核球増加(核の切れ込みや過分葉)
他のMPNの診断基準を満たさない
JAK2V617F(50%)もしくは他のクローナルマーカ存在

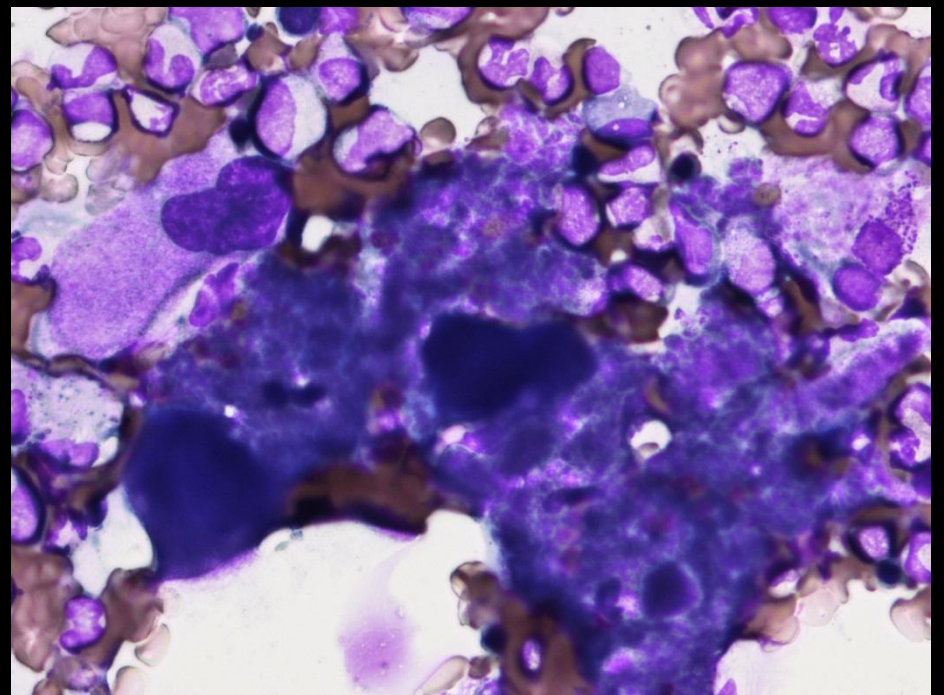
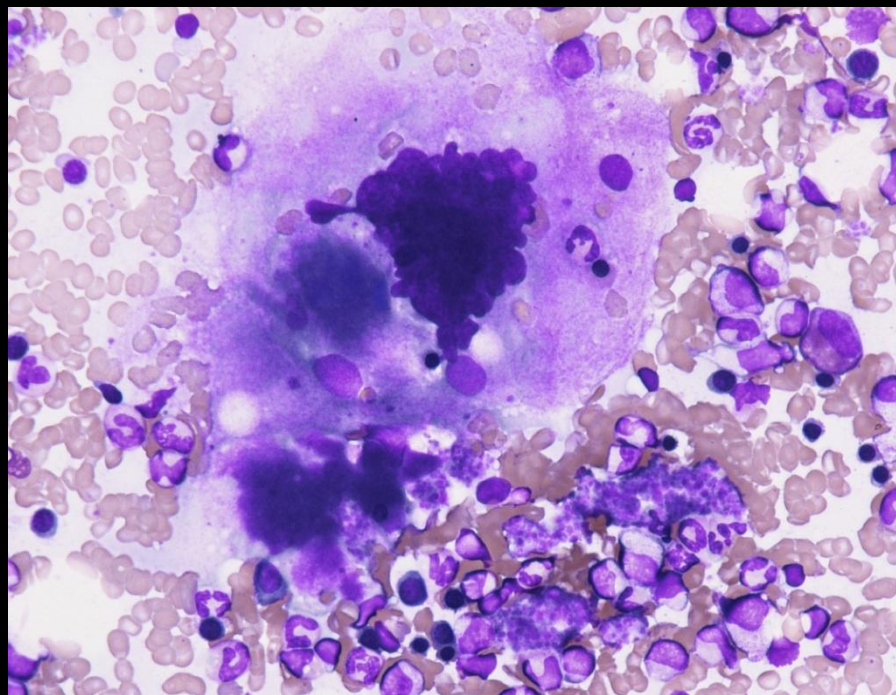
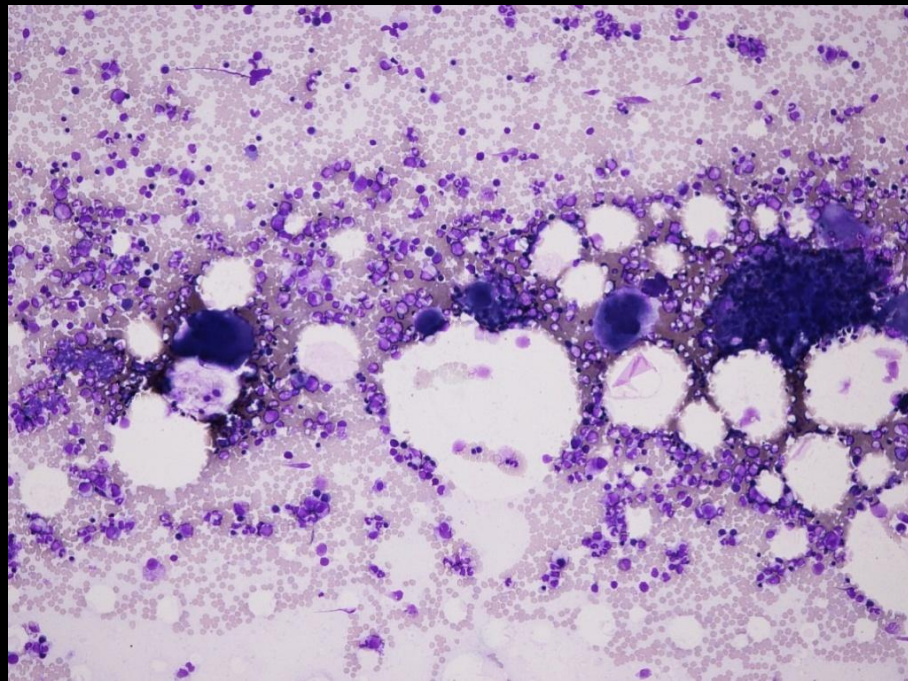
末梢血; 血小板は大きさ、形、構造の異常あり

ET 末梢血 MG染色

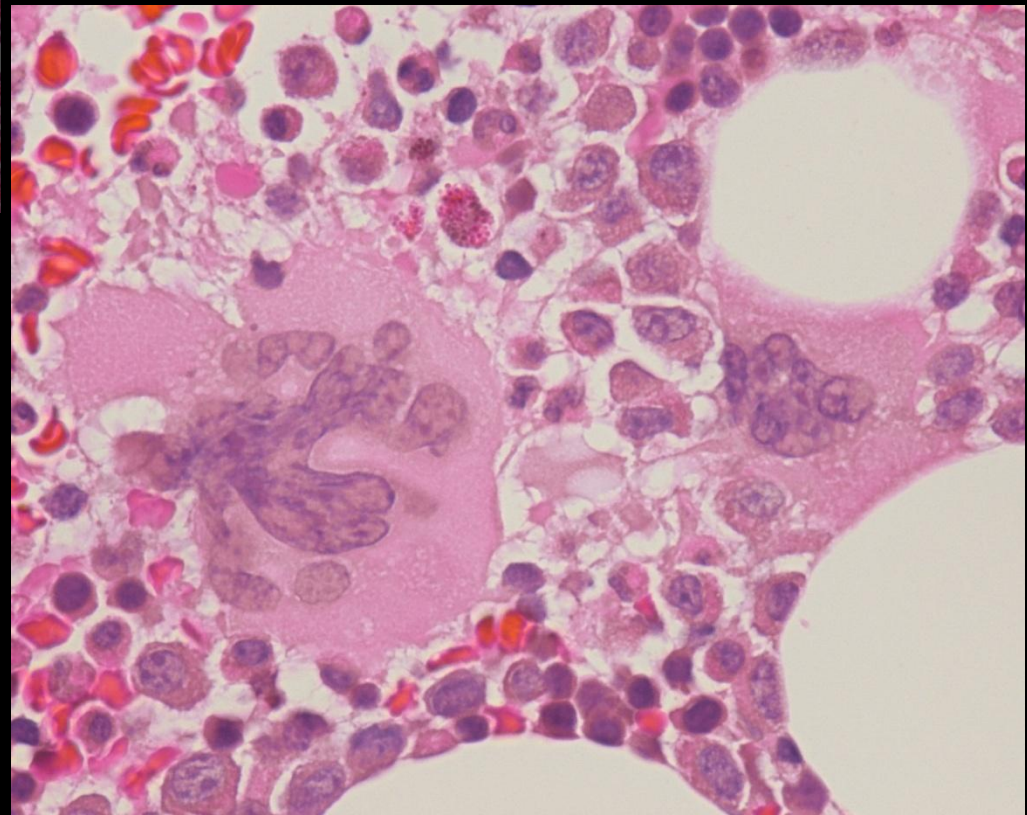
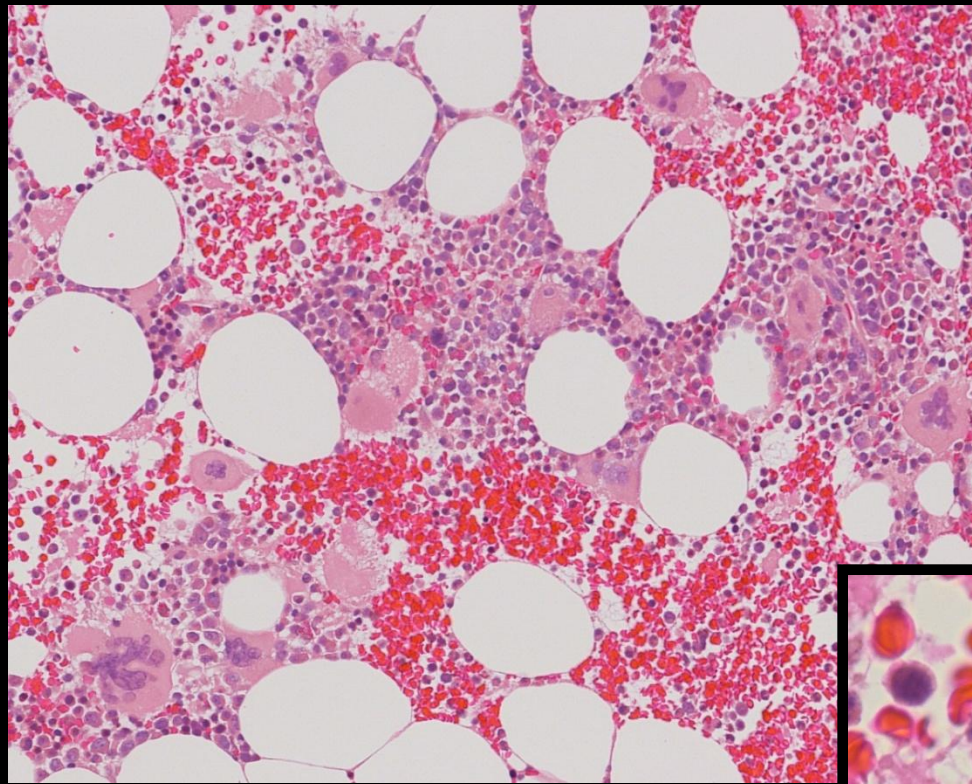
WBC	8.91	$\times 10^3$	/ μ L
RBC	4.41	$\times 10^6$	/ μ L
Hb	12.7	g/dL	
PLT	1082	$\times 10^3$	/ μ L



ET 骨髓 MG染色



ET 骨髓クロット HE染色



原発性骨髄線維症 (Primary myelofibrosis; PMF)

骨髄線維化、脾腫、白赤芽球症、髄外造血を特徴とする疾患
約1/4が診断時無症状

発生頻度: 10万人対 0.5~1.5/年 診断時平均年齢: 60歳
性差: やや男性に多い

大基準

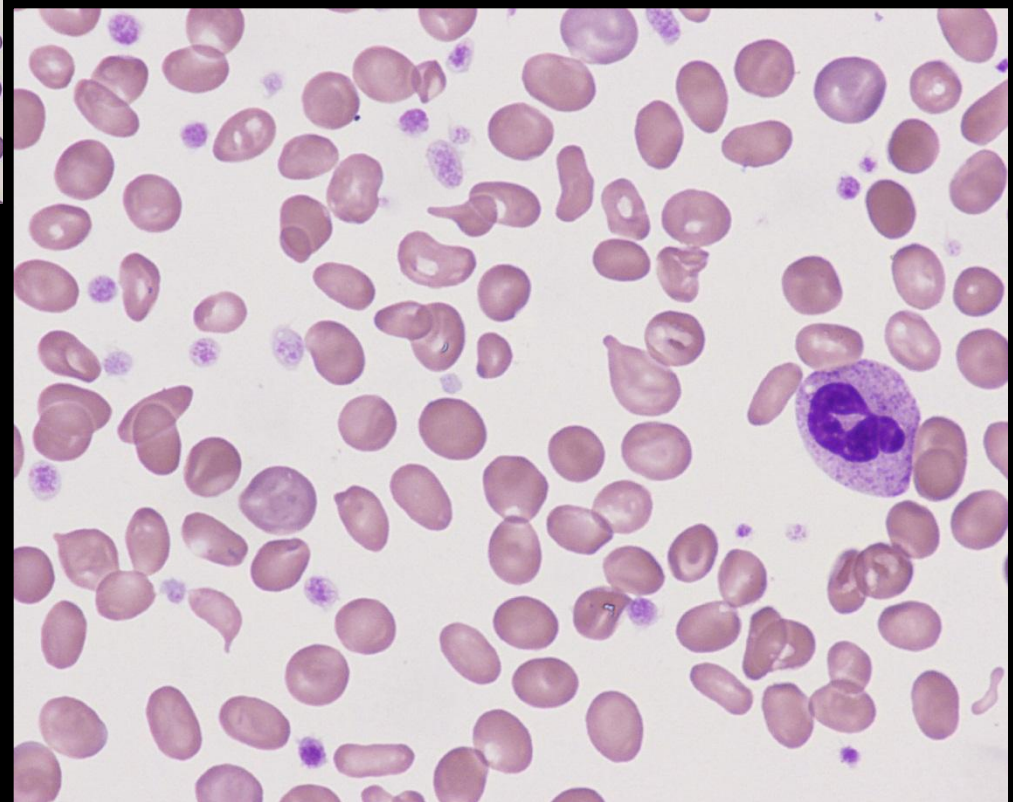
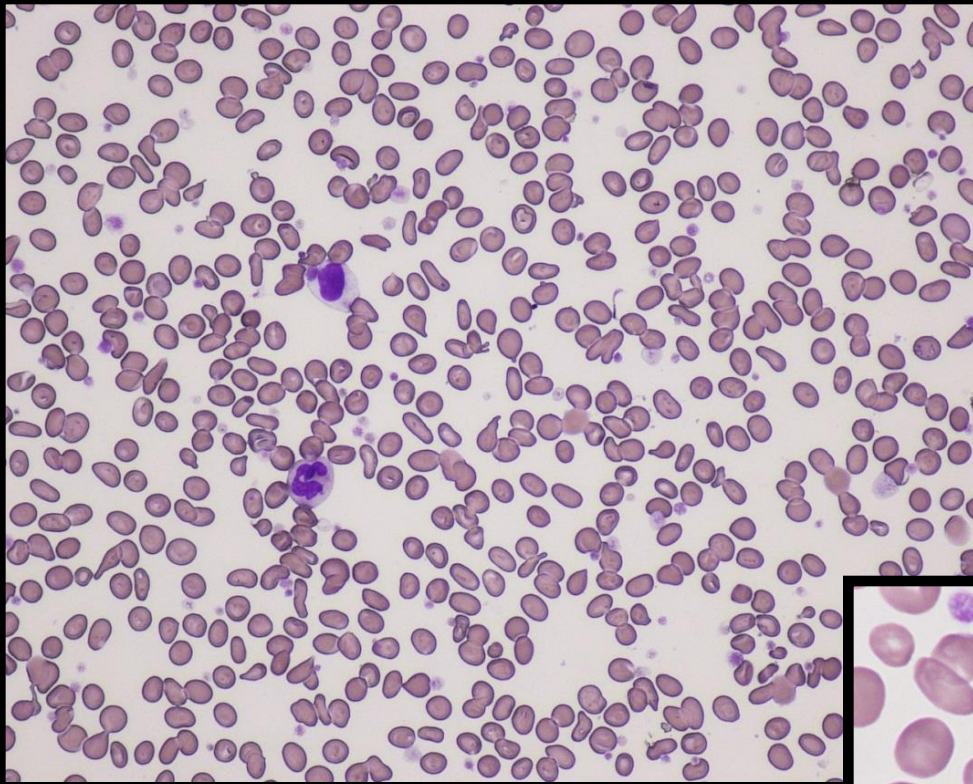
1. 巨核球増加と異形成の存在、細網線維もしくは膠原線維の増生を伴う。
有意な線維化を認めない場合には顆粒球系細胞成分の増加としばしば赤芽球系成分の減少を伴った巨核球の過形成と異型を認める。
2. PV、CML、MDS、他の骨髄性腫瘍のWHO基準を満たさない。
3. JAK2V617F変異(50%)を証明するか、他のクローナルマーカ―を認める。
クローナルマーカ―を認めない場合には炎症や他の腫瘍などによる反応性線維化の所見を認めない。

小基準

1. 白赤芽球症
2. 血清LDH値上昇
3. 貧血
4. 触知可能な脾腫

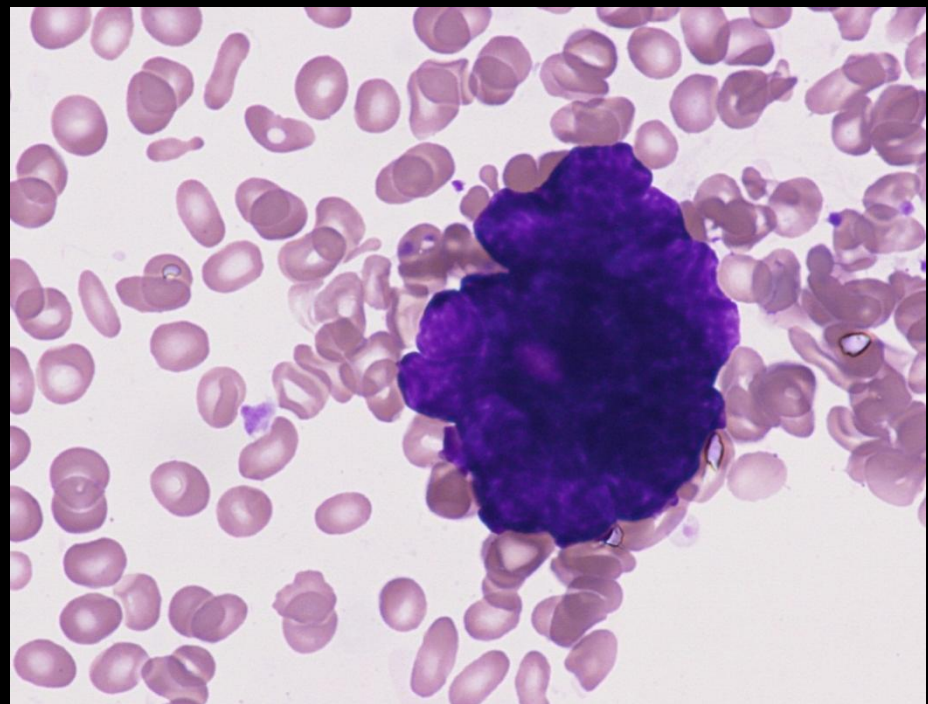
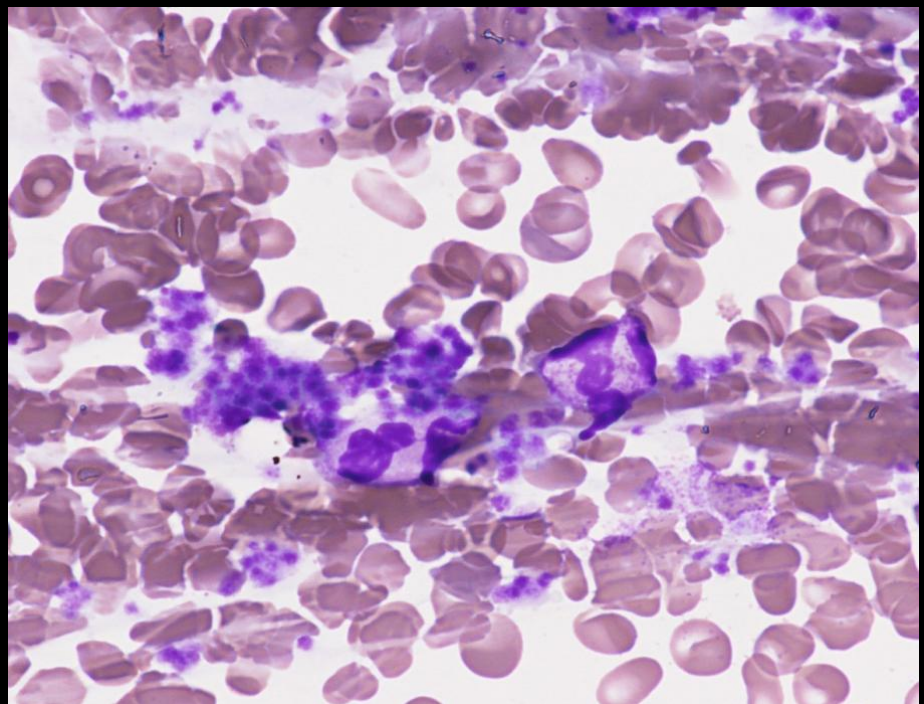
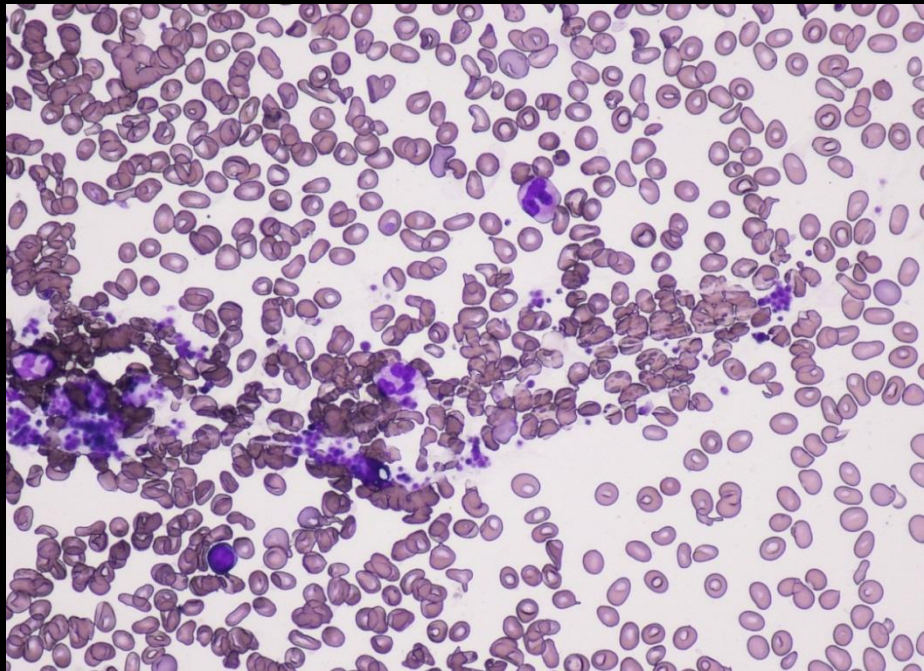
末梢血; 涙滴赤血球, 大型・巨大・奇形血小板
骨 髄; dry tap

PMF 末梢血 MG染色



WBC $5.85 \times 10^3 / \mu\text{L}$
RBC $3.78 \times 10^6 / \mu\text{L}$
Hb 11.1 g/dL
PLT $630 \times 10^3 / \mu\text{L}$

PMF 骨髓 MG染色

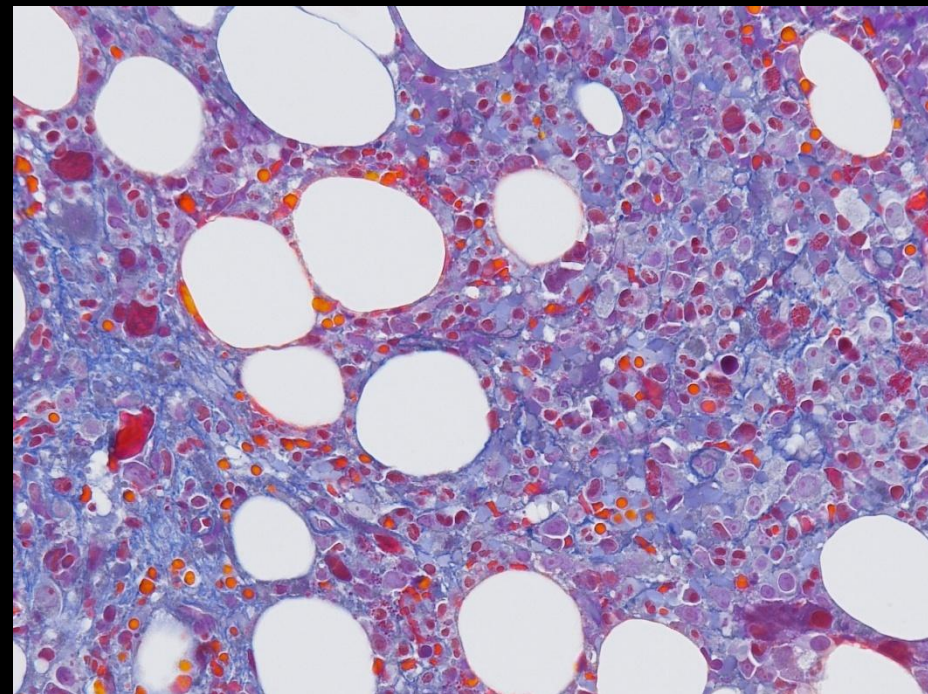
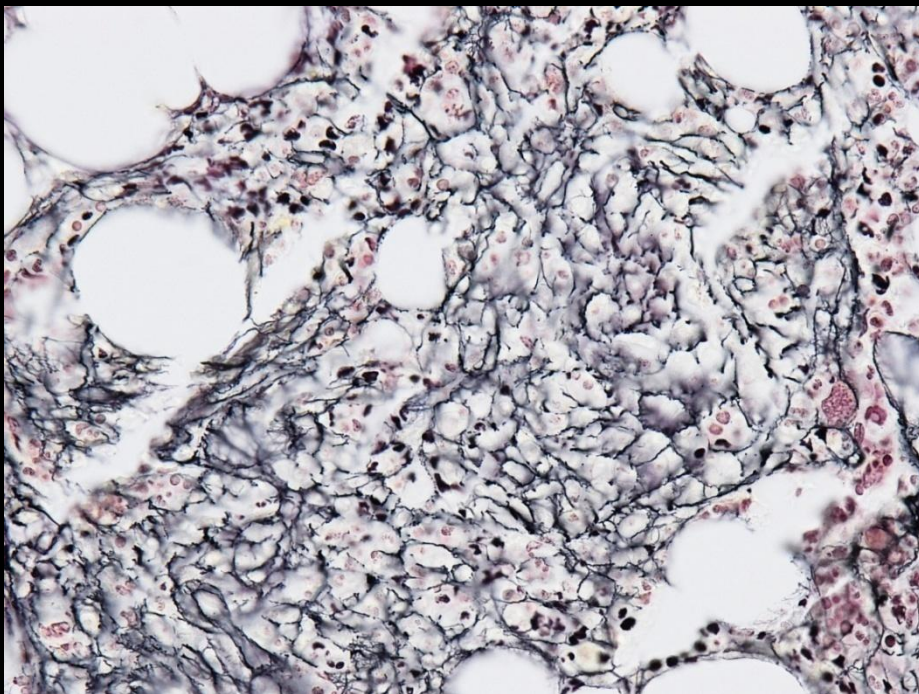
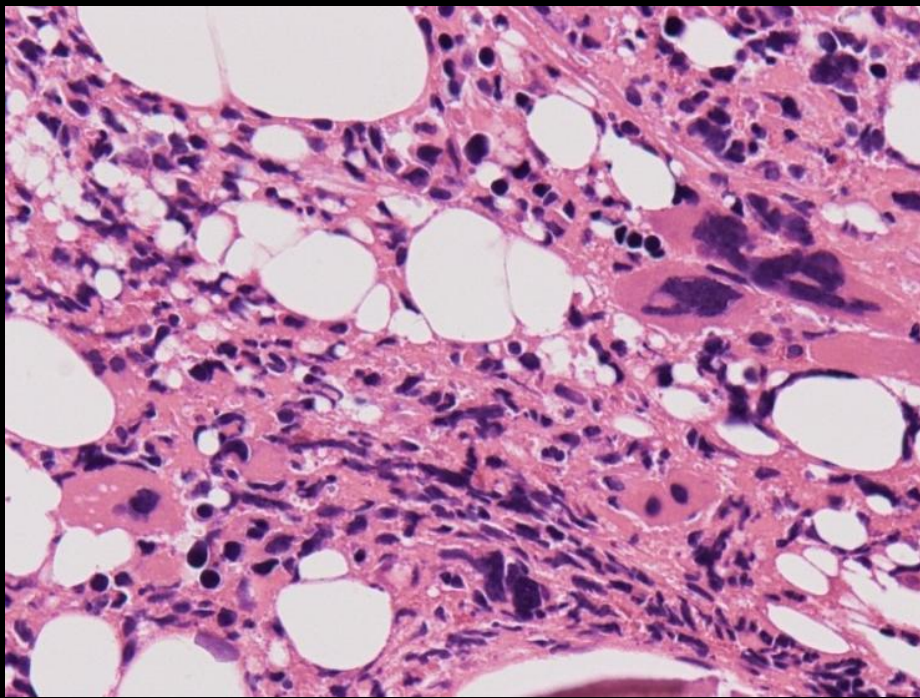


PMF 骨髓生検

HE染色

鍍銀染色

アザン染色



JAK2遺伝子変異解析結果報告書

【結果】

JAK2 V617F (GTC→TTC) 遺伝子変異解析

変異を認めました。 判定 (2+)

なお、判定につきましては下記をご参照ください。

*結果の説明

JAK2 V617F (GTC→TTC) 変異におけるTアレルの含有率 (%) をもとに以下の基準で判定しております。

<方法>

Tアレル含有率 (%)	判定	遺伝子型
5%未満	-	野生型 (G/G)
5%以上20%未満	1+	ヘテロ変異型 (G/T)
20%以上80%未満	2+	ヘテロ変異型 (G/T)
80%以上	3+	ホモ変異型 (T/T)



JAK2遺伝子変異とは・・・

JAK2 (Janus activating kinase 2) (エリスロポエチンのシグナルを伝達)

1,849 番目のグアニンがチミンに1塩基置換 (exon 14 G1849T)

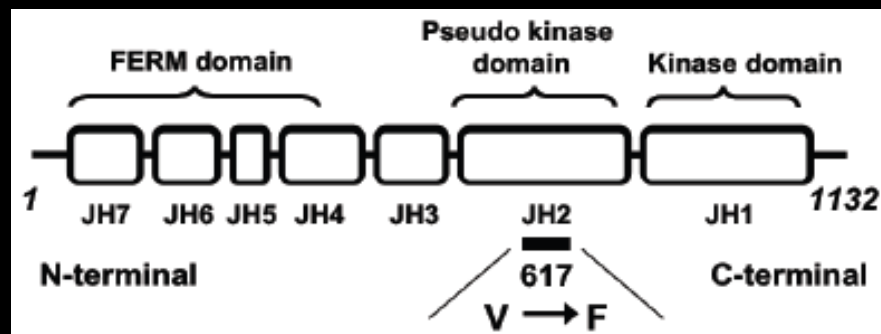
1アレル変異

GTC

→

TTC

617 番目のバリンがフェニルアラニンに置換 (JAK2V617F)



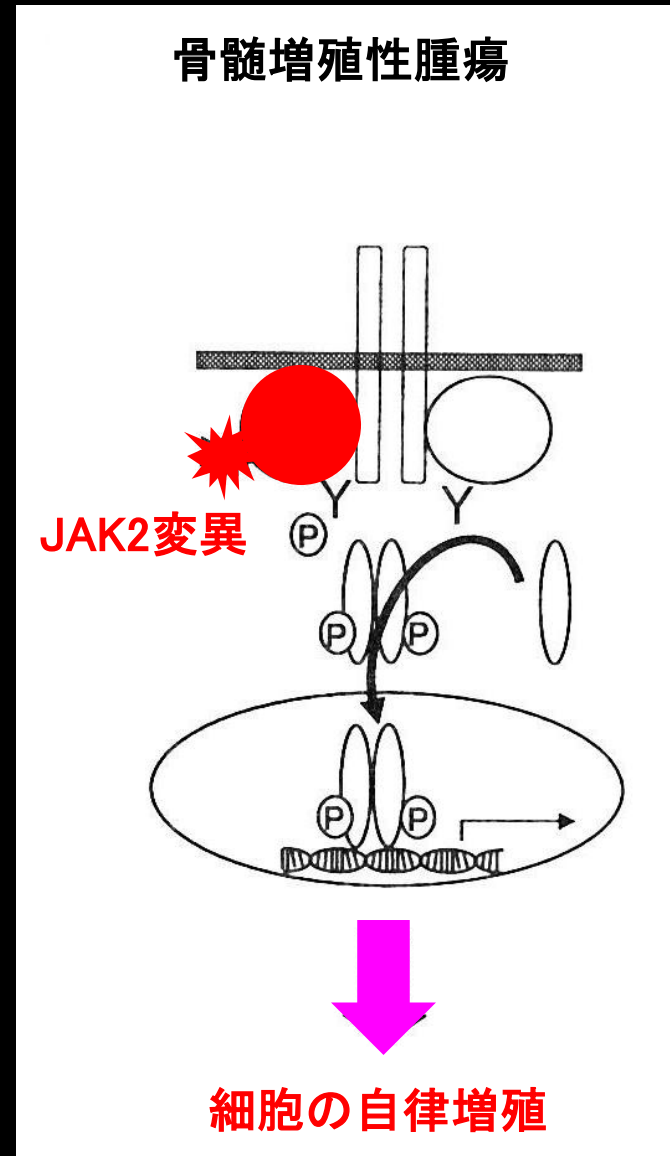
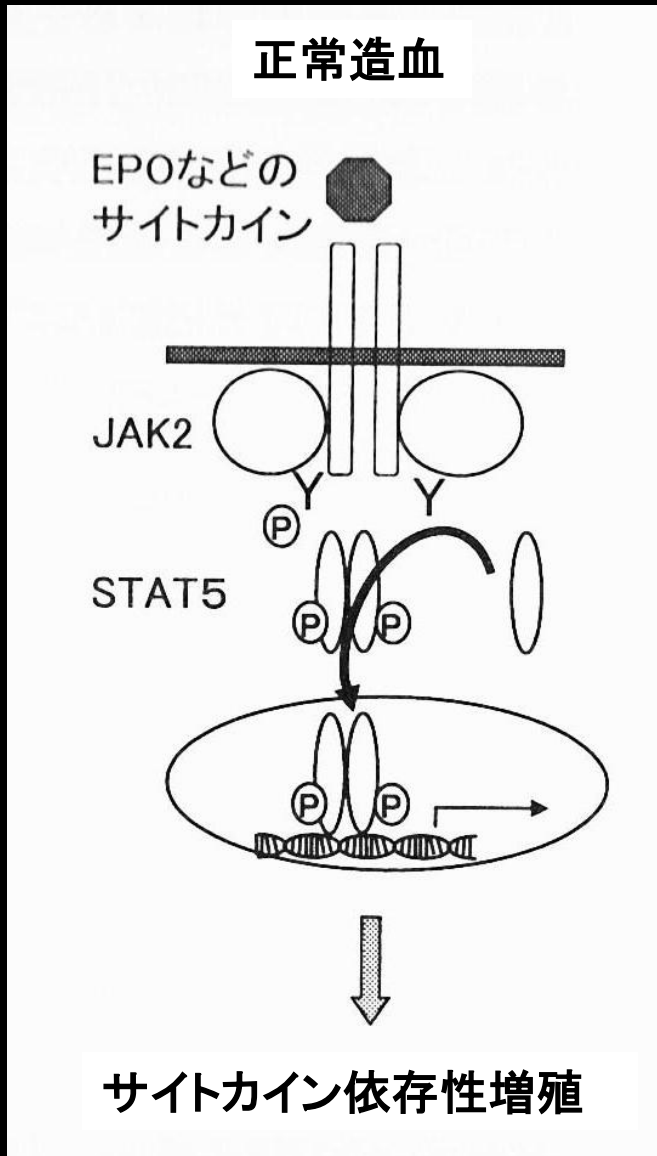
(JAK2 変異体による発がんシグナルの解析 Kamishimoto J より)

本来、エリスロポエチン刺激により初めて生じるシグナル伝達が、エリスロポエチンの非存在下でシグナル伝達が進行するようになり、細胞増殖を促す

JAK2変異の検査は、PCRでアレル変異部位を検出し、その割合によって、陰性(5%未満)、ヘテロ(5~80%)、ホモ(80%以上)と分類。1アレル変異なのでアレル特異的PCRでの検出が可能。

シグナル伝達

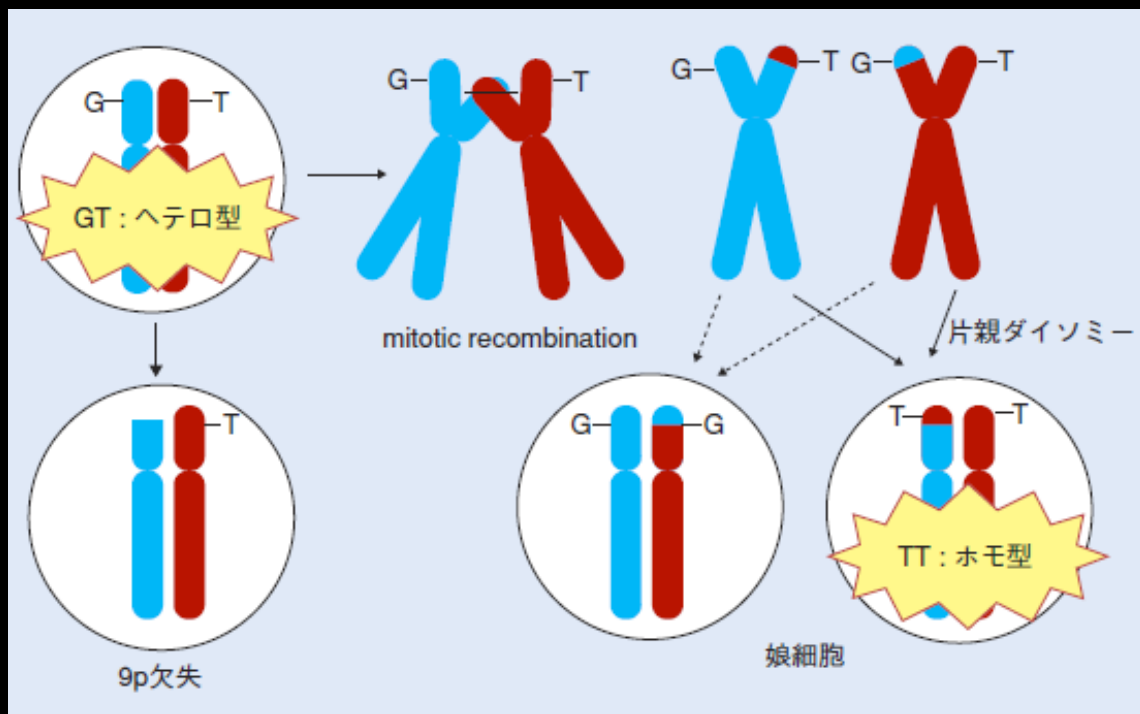
～サイトカイン依存性伝達と、JAK2変異による自律性増殖～



JAK2V617F 陽性のPV

JAK2V617F 陰性の症例に比べ

- 高齢者で男性が多い
- 有意な白血球数および血小板数の増加
- ハイドロキシウレアを含む抗悪性腫瘍薬による治療の必要度が高い
- 骨髄線維化や白血病への移行頻度が高い



PV では両側のアレル変異 (ホモ型) の症例が3分の2を占め、腫瘍量を判定する根拠となる。ET やPMF での検出頻度は半数程度であり、その殆どが片側のアレルのみの変異 (ヘテロ型) であることが知られている。

まとめ

- 症例2は、PVと診断されたが、血小板数は100万/ μ L以上で巨大・大型巨核球や血小板を認め、ETの病態の関与も考えられた。
- PVは赤血球数及び総血液量の著しい絶対的な増加をきたし、白血球数及び血小板増加、脾腫を特徴とするMPNである。
- PVの病期進行は緩慢であるが、無治療のPV症例の平均寿命は18ヵ月である。二次性・反応性赤血球増加症や他のMPNと的確に鑑別・診断することは予後に大きく関わっている。臨床所見や検査所見を総合的に判断することが重要である。

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
- ・SRL 宝函Vol. 29, No. 2 2008
- ・第24回博多シンポジウム『造血器腫瘍の新たな診断技と治療戦略』