

TABLE 4. Treatment and Clinical Outcome

Patient No.*	Treatment	Disease Progression	Survival (mo)
1	Related BMT	Extramedullary tumor	8 (VOD)
2	No treatment	Spontaneous regression	8+
3	Related PBSCT		12+
4	No treatment	Spontaneous regression	33+
5	6MP		5+
6	Related PBSCT		20+
7	U-CBT		26+
8	6MP		4 (GI bleeding)
9	No treatment	Infiltration to lungs	1 (with disease)
10	Related CBT & BMT		11+
11	U-BMT		17+
12	No treatment		4+
13	U-CBT		8+
14	No treatment		4 (heart failure)
15	U-BMT	Extramedullary tumor	6 (with disease)
16	U-CBT		22 (GVHD, pneumonia)
17	6MP		7+
18	U-BMT	AML-M6	24+

U-CBT, unrelated cord blood transplantation; U-BMT, unrelated bone marrow transplantation; PBSCT, peripheral blood stem cell transplantation; AML, acute myeloid leukemia; VOD, veno-occlusive disease of liver; 6MP, 6-mercaptopurine; GVHD, graft-versus-host disease.

*Patients with MxA protein levels greater than 2.0 FI are indicated by boldface type.

correlative studies of cellular MxA protein concentrations in patients with suspected or proven viral infections.^{14,17-22} We therefore sought to exploit MxA expression in blood mononuclear cells as a surrogate marker of viral infection in patients meeting the international diagnostic criteria for JMML.¹⁰

Our results showed a concomitant viral infection in 12 (67%) of the 18 children studied. CMV, rotavirus, or respiratory syncytial virus infection was documented in three children with elevated MxA protein levels, while in four others there was apparent reactivation of EBV, although the early antigen (D) or the amount of the EBV genome was not tested. Of the five patients with a chromosomal abnormality, indicative of malignant disease arising from a single transformed hematopoietic progenitor, three had increased MxA levels. The remaining nine cases with marker evidence of viral infection occurred in patients with "normal" karyotypes; however, we cannot rule out the possibility of monoclonal JMML associated with point mutations in the *NRAS* or *KRAS* proto-oncogene, recently identified *PTPN11* mutations, or other molecular genetic alterations.^{1,2,27} These observations demonstrate that concomitant viral infection is not restricted to JMML patients with a normal karyotype but may extend to cases of clonal disease, perhaps contributing to their pathogenesis (as discussed below). There were no reports describing the expres-

sion of the MxA protein in patients with malignancies including monocytic predominant disorders other than JMML in the literature, and the sensitivity and the specificity of the measurement of MxA for viral infections versus the other processes are unknown. Accordingly, we cannot rule out the possibility that MxA is apparently expressed in the absence of viral infections in a subset of patients with JMML.

The association of reactivated EBV infection with JMML (in patient 6) is a provocative finding and has not been reported by others, although Stollmann et al²⁸ described a child with persistent EBV infection and a t(3;5)-positive myeloproliferative disease resembling JMML. EBV causes a variety of malignant diseases, including nasopharyngeal carcinoma, Burkitt lymphoma, Hodgkin disease, and lymphoproliferative disease.²⁹ Moreover, in patients with chronic active EBV infection, which can evolve to virus-associated hemophagocytic syndrome,³⁰ the peripheral blood T cells and natural killer cells showed monoclonal integration of the EBV genome,³¹ a hallmark of natural killer cell-associated leukemia/lymphoma, Hodgkin disease, and gastric cancer, among other malignancies. We speculate that some cases of JMML may be exacerbated by chronic active EBV infection, either by viral stimulation of a pre-existing (e.g., monosomy 7) malignant clone or by direct induction of chronic myelomonocytic leukemia. This

hypothesis requires testing in larger numbers of patients with an established diagnosis of JMML.

There has been a longstanding debate over the significance of a viral infection in children with JMML, in particular whether this finding should supersede the primary diagnosis.^{11–13,32} Although we demonstrated a substantial rate of MxA protein positivity (67%), elevated levels of this surrogate marker of viral infection did not correlate with diagnostic criteria of the International JMML Working Group or with other clinical and laboratory features, suggesting that the presenting profiles of most of our patients represented leukemia and not a virally induced reactive process. We conclude that evidence of viral infection in JMML patients diagnosed with criteria similar to ours is not sufficient to motivate a revision of clinical management plans.

In this small series, the results of allogeneic HSCT were quite good (7 of 10 patients alive in complete hematologic remission for 8+ to 26+ months), confirming the efficacy of this treatment modality in JMML.^{4–8} We cannot rule out that a minor subset of these patients suffered from infection rather than leukemia and would have fared equally well on less aggressive therapy. This issue is difficult to address given the current understanding of JMML pathogenesis; however, continued refinement and evaluation of diagnostic guidelines with emphasis on newer molecular genetic techniques should greatly reduce the likelihood of mistaken interventions.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Kyosuke Nagata and Akiko Furuya for providing the KM1135 antibody and John Gilbert for editorial assistance and critical comments. We also thank Drs. Yasushi Noguchi, Hiroshi Ayukawa, Ryota Hosoya, Ritsuo Nishiuchi, Masahiro Sako, Shunsuke Umehara, Hiroo Fujita, Seiji Kojima, and Masami Inoue for providing patient data.

REFERENCES

1. Arico M, Biondi A, Pui CH. Juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood*. 1997;90:479–488.
2. Emanuel PD. Myelodysplastic and myeloproliferative disorders in childhood: an update. *Br J Haematol*. 1999;105:852–863.
3. Niemeyer CM, Arico M, Basso G, et al. Chronic myelomonocytic leukemia in childhood: a retrospective analysis of 110 cases. *Blood*. 1997;89:3534–3543.
4. Locatelli F, Niemeyer C, Angelucci E, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelomonocytic leukemia in childhood: a report from the European Working Myelodysplastic Syndrome in Childhood. *J Clin Oncol*. 1997;15:566–573.
5. MacMillan ML, Davies SM, Orchard PJ, et al. Hematopoietic cell transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 1998;103:552–558.
6. Bunin N, Saunders F, Leahy A, et al. Alternative donor bone marrow transplantation for children with juvenile myelomonocytic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 1999;21:479–485.
7. Smith FO, King R, Nelson G, et al. Unrelated donor bone marrow transplantation for children with juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2002;116:716–724.
8. Manabe A, Okamura J, Yumura-Yagi K, et al. Allogeneic hematopoietic

- stem cell transplantation for 27 children with juvenile myelomonocytic leukemia diagnosed based on the International JMML Working Group. *Leukemia*. 2002;16:645–649.
9. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: Report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol*. 1999;17:3835–3849.
10. Niemeyer CM, Fenu S, Hasle H, et al. Differentiating juvenile myelomonocytic leukemia from infectious disease. *Blood*. 1998;91:365–367.
11. Herrod H, Dow L, Sullivan J. Persistent Epstein-Barr virus infection mimicking juvenile chronic myelogenous leukemia: immunologic and hematologic studies. *Blood*. 1983;61:1098–1104.
12. Kirby MA, Weitzman S, Freedman MH. Juvenile chronic myelogenous leukemia: differentiation from infantile cytomegalovirus infection. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1990;12:292–296.
13. Lorenzana A, Lyons H, Sawaf H, et al. Human herpes virus-6 infection mimicking juvenile chronic myelogenous leukemia in an infant. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2002;24:136–141.
14. Yoshimasu T, Manabe A, Ebihara Y, et al. MxA expression in patients with viral infection after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003;32:313–316.
15. von Wussow P, Jakschies D, Hochkeppel HK, et al. The human intracellular Mx-homologous protein is specifically induced by type I interferons. *Eur J Immunol*. 1990;20:2015–2019.
16. Simon A, Fah J, Haller O, et al. Interferon-regulated Mx genes are not responsive to interleukin-1, tumor necrosis factor, and other cytokines. *J Virol*. 1991;65:968–971.
17. Chieux V, Hober D, Chehadeh W, et al. MxA protein in capillary blood of children with viral infections. *J Med Virol*. 1999;59:547–551.
18. Roers A, Hochkeppel HK, Horisberger MA, et al. MxA gene expression after live virus vaccinations: a sensitive marker for endogenous type I interferon. *J Infect Dis*. 1994;169:807–813.
19. Foster J, Schweizer M, Schumacher RF, et al. MxA protein in infants and children with respiratory tract infection. *Acta Paediatr*. 1996;85:163–167.
20. Halminen M, Honen J, Julkunen I, et al. Expression of MxA protein in blood lymphocytes discriminates between viral and bacterial infections in febrile children. *Pediatr Res*. 1997;41:647–650.
21. Chieux V, Hober D, Harvey J, et al. The MxA protein levels in whole blood lysates of patients with various viral infections. *J Virol Methods*. 1998;70:183–191.
22. Meier V, Mihm S, Ramadori G. MxA protein expression in peripheral blood mononuclear cells from patients infected chronically with hepatitis C virus treated with interferon-alpha. *J Med Virol*. 2000;62:318–326.
23. Sasaki H, Manabe A, Kojima S, et al. Myelodysplastic syndrome in childhood: a retrospective study of 189 patients in Japan. *Leukemia*. 2001;15:1713–1720.
24. Knapp W, Strobl H, Majdic O. Flow cytometric analysis of cell-surface and intracellular antigens in leukemia diagnosis. *Cytometry*. 1994;18:187–198.
25. Raab-Traub N, Flynn K. The structure of the termini of the Epstein-Barr virus as a marker of clonal cellular proliferation. *Cell*. 1986;47:883–889.
26. Ronni T, Melen K, Malygin A, et al. Control of IFN-inducible MxA gene expression in human cells. *J Immunol*. 1993;150:1715–1726.
27. Tartaglia M, Niemeyer CM, Fragale A, et al. Somatic mutations in PTPN11 in juvenile myelomonocytic leukemia, myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Nat Genet*. 2003;34:148–150.
28. Stollmann B, Fonatsch CH, Havers W. Persistent Epstein-Barr virus infection associated with monosomy 7 or chromosome 3 abnormality in childhood myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 1985;60:183–196.
29. Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481–492.
30. Straus SE. The chronic mononucleosis syndrome. *J Infect Dis*. 1998;157:405–412.
31. Kimura H, Hoshino Y, Kanegane H, et al. Clinical and virologic characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection. *Blood*. 2001;98:280–286.
32. Pinkel D. Differentiating juvenile myelomonocytic leukemia from infectious disease. *Blood*. 1998;91:365.

症例報告

CD7/CD13 陽性急性分類不能型白血病

長谷川大輔^{1,2}, 真部 淳¹, 鶴田 敏久¹, 大塚 欣敏¹, 海老原康博¹,
河崎 裕英¹, 有瀧健太郎², 松浦 恵子², 星加 明德², 辻 浩一郎¹

¹東京大学医科学研究所小児細胞移植科, ²東京医科大学小児科

Acute Unclassified Leukemia with CD7 and CD13 Positivity

Daisuke HASEGAWA^{1,2}, Atsushi MANABE¹, Toshihisa TSURUTA¹,
Yoshitoshi OHTSUKA¹, Yasuhiro EBIHARA¹, Hirohide KAWASAKI¹, Kentaro ARITAKI²,
Keiko MATSUURA², Akinori HOSHIKA² and Kohichiro TSUJI¹

¹Department of Pediatric Hematology-Oncology, Institute of Medical Science, University of Tokyo
²Department of Pediatrics, Tokyo Medical University

Abstract We report a 14-year old boy with an acute unclassified leukemia (AUL) with CD7 and CD13 expression without other lineage-specific markers. He was diagnosed with T-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL) at initial presentation because of the presence of a mediastinal mass and a negative cytochemical reaction for myeloperoxidase (MPO). He entered complete remission with standard chemotherapy for ALL and underwent allogeneic bone marrow transplantation (BMT) from an HLA-identical sibling at the 8th month. The post transplantation course was uneventful. The disease recurred in the bone marrow (BM) and in the skin 23 months after BMT. We characterized the blast cells again and made the diagnosis of AUL because of negative cytoplasmic expression for lineage-specific antigens: MPO, CD3 and CD79a. After unsuccessful induction treatment, he presented multiple bone metastases and hypercytokinemia-like symptoms. Finally, he entered hematological remission with cyclophosphamide and prednisolone 4 months after relapse. With a local irradiation to the right tibia, he received allogeneic peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) from the same donor as in the initial BMT. Chronic graft-versus-host disease in the oral mucosa and liver required intensive immunosuppressive therapy for 6 months and he relapsed in the BM 12 months after PBSCT. Although it is not well recognized in the literature, AUL with CD7 and CD13 positivity should be categorized as a unique entity with a dismal prognosis.

要旨 発症時14歳の男児。表面マーカーはCD7, CD13のみ陽性で、光顕MPO陰性、縦隔腫瘍の存在よりT細胞性急性リンパ性白血病と診断した。第1寛解にてHLA一致弟より同種骨髄移植を施行したが、移植後23カ月時に皮下浸潤を伴い骨髄再発した。このとき、細胞質内CD3(cCD3), cCD79a, cMPOがすべて陰性と判明し、急性分類不能型白血病と診断を変更した。化学療法に反応せず、多発性骨転移および高サイトカイン血症様の病態を呈したが、cyclophosphamideとprednisoloneを投与後に骨髄および末梢血より芽球は消失した。右脛骨に対する局所放射線照射後、第1回移植と同一ドナーより末梢血幹細胞移植を施行した。第2回移植から12カ月後、慢性GVHDに対して用いていたFK506を減量中に骨髄第2再発をきたした。CD7/CD13陽性急性白血病は予後不良と考えられ、独立した疾患として扱う必要がある。

Key words: acute unclassified leukemia, CD7, CD13, allogeneic bone marrow transplantation, extramedullary involvement

2004年3月15日受付, 2004年4月2日受理
別刷請求先: 〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1
東京大学医科学研究所小児細胞移植科 真部 淳
Reprint requests to Atsushi Manabe, Department of
Pediatric Hematology-Oncology, Institute of Medical
Science, University of Tokyo, 4-6-1, Shirokanedai,
Minato-ku, Tokyo, 108-8639 Japan

I. はじめに

白血病細胞の細胞系列は、形態の観察に加え、細胞化学染色および免疫学的検索に基づいて決定される。免疫学的検索は細胞系列のみならず、リンパ系芽球の成熟段階を特定するうえでも重要である¹⁾が、これらの検索に

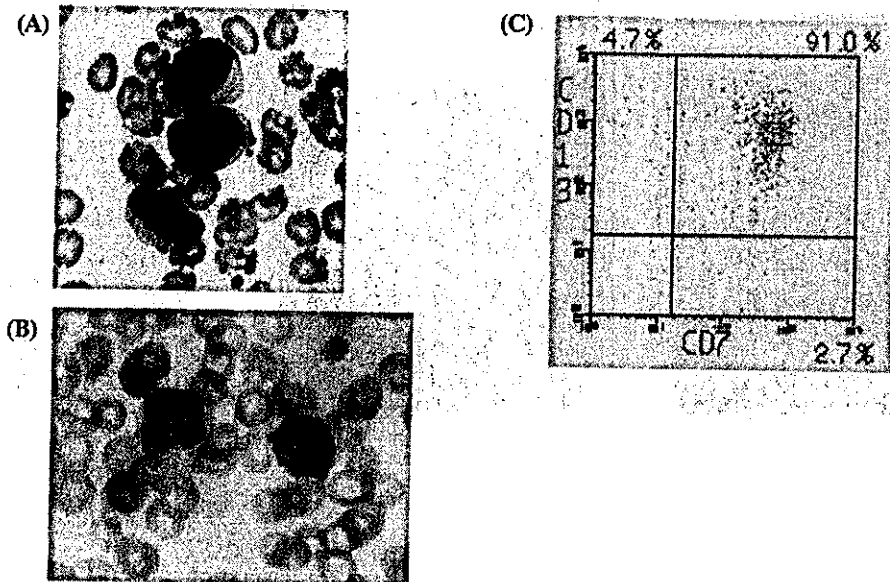


Fig. 1 Blasts in the bone marrow (BM) at initial diagnosis (A) and relapse (B), May-Giemsa stain, $\times 1,000$, and the flow cytometric staining of blasts in the BM at relapse (C)
The morphological appearance of blast cells was lymphoblastoid (A, B), and blast cells were CD7/CD13 double positive (C).

(TCCSG) L99-15 HEX プロトコールにて化学療法を開始した。寛解導入療法開始後 43 日目に骨髄寛解を確認し、縦隔腫瘍も消失したが、寛解導入療法開始後 8 日目の芽球が $126/\mu\text{l}$ と prednisolone (PSL) 初期反応性は良好ではなく、移植適応となった。2000 年 5 月に全身放射線照射 (TBI) 12 Gy, etoposide (VP-16) $60\text{ mg/kg}\times 1$, cyclophosphamide (CPA) $60\text{ mg/kg}\times 2$ を前処置として、HLA 一致弟から第 1 寛解にて同種骨髄移植 (BMT) を行った。移植片対宿主病 (GVHD) 予防は短期 methotrexate (MTX) + cyclosporine (CyA) で行った。移植後経過は良好で、急性 GVHD は grade I (皮膚 stage 1, 肝 stage 0, 腸管 stage 0), 慢性 GVHD は認められなかった。

再発後経過：発症より 31 カ月後の 2002 年 4 月に、下肢の暗赤色の腫瘍形成および血球減少が出現した。末梢血、骨髄および腫瘍部の皮膚生検にて CD7/CD13 二重陽性の芽球 (Fig. 1B, C) を認めたことより、皮膚浸潤を伴った骨髄再発と診断した。このとき、細胞質内抗原の検索を行ったところ、cCD79a, cCD3, cMPO すべて陰性であったため (Table 1B), AUL と診断した。TCCSG L99-15 HR プロトコールにて化学療法を開始したが寛解に到達せず、vincristine (VCR), PSL, VP-16, cytosine arabinoside (Ara-C) により再度寛解導入を試みたが無効であり、多発性骨浸潤をきたした (両側脛骨近位, 左上腕骨遠位, 左仙腸関節部内側, 右上腕骨遠位, 右尺骨遠位; Fig. 2)。次いで、fludarabine, Ara-C, G-CSF によ

る FLAG レジメンを行うも奏効せず、発熱、凝固線溶系異常、血小板減少、フェリチンおよび LDH の高値などの高サイトカイン血症様の病態を呈した。原病の急激な増悪と考え、PSL 30 mg と CPA 1.5 g を投与したところ速やかに解熱し、異常検査所見も正常化した。その後、骨髄および末梢血から芽球は消失したが、画像上骨病変が残存したため、もっとも画像所見の著明な右脛骨に局所放射線照射 (18Gy/9 分割) を行った後、2002 年 9 月 11 日に ifosfamide (IFM) $2\text{ g/m}^2\times 4$, melphalan (L-PAM) $90\text{ mg/m}^2\times 2$ を前処置として、第 1 回移植と同一のドナーからの末梢血幹細胞移植 (PBSCT) を行った。GVHD 予防は移植前から継続していた PSL に短期 MTX を併用した。急性 GVHD を認めなかったが、移植後 82 日目から口腔粘膜と肝臓の慢性 GVHD が出現し、PSL と FK506 の投与を要した。その後 PSL は中止とし、FK506 のみ継続していた。移植後も画像上は骨病変が残存していたが、2003 年 6 月に施行した右脛骨の骨生検では腫瘍細胞の浸潤は認められなかった。第 2 回移植から 12 カ月後の 2003 年 10 月 6 日に発熱と血球減少が出現し、末梢血および骨髄で CD7/CD13 陽性芽球を認め、骨髄第 2 再発と診断された。

III. 考 察

CD7 は T 細胞分化段階の最も初期から発現するほか、骨髄系細胞の分化段階初期にも一過性に発現することが

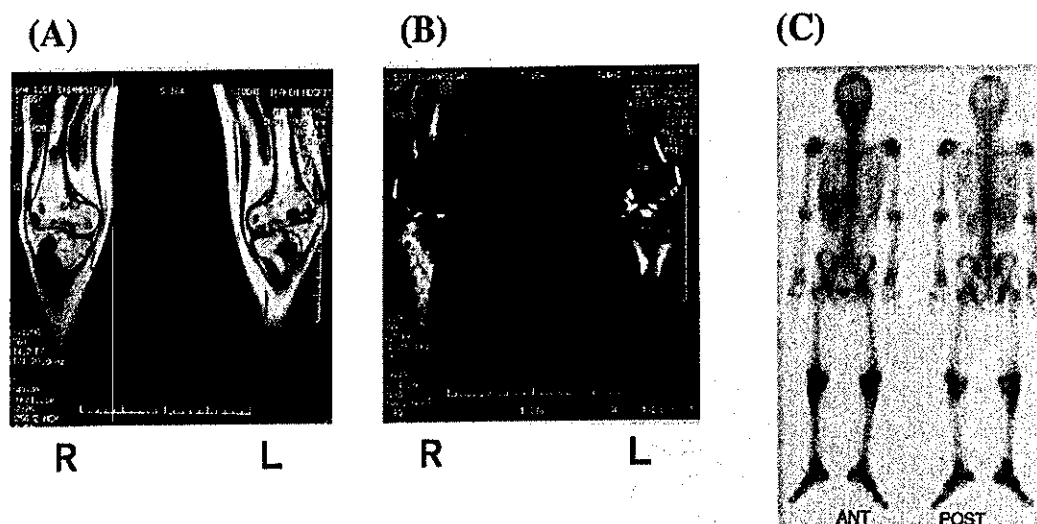


Fig. 2 MRI (A: T1-weighted, B: T2-weighted) and ^{67}Ga scintigraphy (C) findings of multiple bone metastases. Multiple bone metastases were detected in bilateral tibiae, fibulae and femora as low signal on T1-weighted (A) and high signal on T2-weighted (B). Abnormal ^{67}Ga uptakes were detected in right tibia, bilateral humeri, right ulna, and left sacroiliac joint.

知られている⁹⁾。一方、CD13は骨髄系細胞の分化初期から発現する。したがってCD7/CD13陽性急性白血病はきわめて未分化な造血細胞が腫瘍化したものと推測される。本症例の芽球の表面抗原はCD7、CD13のみ陽性で、CD3、CD19、CD33、CD56は陰性であった。細胞系列特異性の高いcCD3、cCD79a、cMPO²⁻⁶⁾がいずれも陰性であったことより、AULと最終的に診断した。AULの鑑別診断として、骨髄系抗原陽性ALL、リンパ系抗原陽性急性骨髄性白血病(AML)およびAML M0があげられる²⁾。現行のAML M0の診断基準⁹⁾ではリンパ系抗原の発現が弱い骨髄系抗原陽性ALLの鑑別が困難であることが指摘されており^{10,11)}、芽球の細胞系列決定が困難な症例に対しては、細胞表面抗原、TCR/Ig再構成、特殊染色などに加えて、細胞質内抗原の検索が必須である。

Bassanらは、CD7/CD13陽性白血病の6例の臨床症状および芽球の性状について報告している¹²⁾。6例全例においてCD33やHLA-DRを同時に発現しており、本症例のようにCD7、CD13のみ陽性の症例はなかった。また、T細胞系列への分化を示唆するTCR再構成およびCD3εmRNAの発現は、6例全例で陰性であった。吉田らは、縦隔腫瘍を伴ったCD7陽性AML M0症例を報告しているが¹³⁾、その症例は光顕MPO陰性、表面抗原はCD7、CD13、CD33、CD34、HLA-DRが陽性で、cMPOおよびcCD3が陰性と、Bassanらが報告したCD7/CD13陽性白血病と同一であった。Bassanらは縦隔腫瘍陽性例を骨髄系抗原陽性T細胞性ALLとして除外していたが、吉田らの症例と本症例はともに縦隔腫瘍を形成しており、

縦隔腫瘍はCD7/CD13陽性急性白血病において共通に認められる可能性がある。本症例で認められた皮膚、骨への髄外浸潤と腫瘍細胞の増殖に伴い出現した高サイトカイン血症様の病態については、Bassanら¹²⁾および吉田¹³⁾らの報告のほか、CD7陽性AML^{14,15)}やAML M0^{10,11)}にも記載がなく、本症例に特徴的な所見であった。Bassanらの報告では、治療を試みた5例中4例が治療抵抗性で、予後は不良であったが、1例のみmitoxantrone、Ara-C、VP-16とAML型の化学療法にて寛解に到達した後、大量Ara-C、TBIを前処置に自家BMTを施行され、報告時まで寛解が維持されていた¹²⁾。吉田らの症例は、idarubicin+Ara-Cを2コース施行した後、寛解を得た¹³⁾。本症例は、初発時はALL型の寛解導入療法にて寛解に到達したが、第1再発後はALL型、AML型いずれの治療に対しても抵抗性を示した。欧米において再発・治療抵抗性急性白血病に対し用いられ¹⁶⁾、小児での有効性も報告されているFLAGレジメン¹⁷⁻¹⁹⁾を試みたが、反応は認められなかった。その後、腫瘍細胞の急激な増加によるものと推測される全身状態の悪化を認めたため、緊急避難としてPSLとCPAを用いたところ、全身状態の改善とともに骨髄寛解が得られた。

最近、HLA一致同胞からのBMT後1年以内に再発した成人ALL2例に対し、初回移植と同一ドナーからのPBSCTと移植後早期の計画的ドナーリンパ球輸注(DLI)を施行し、長期寛解を得たとの報告があった²⁰⁾。2例とも全身型の慢性GVHDを認めており、骨髄における移植片対白血病(GVL)効果が示唆されるが、う

ち1例は髄外単独再発をきたしていた。免疫学的逃避が生じやすい髄外病変に対しては、十分なGVL効果は期待できないと考えられており²⁰⁾、骨生検で腫瘍細胞を認めなかったものの画像所見が残存していた本症例は、髄外病変から第2再発に至った可能性があると考えられた。

CD7/CD13 急性白血病はこれまでの診断基準では見落とされていた可能性がある。本症例および過去の報告例は、特異な病態を呈し、予後不良であったため、今後はその生物学的特性や治療反応性を解明するために、独立した疾患として扱い、症例を蓄積する必要があると考えられる。

本論文の要旨は、第45回小児血液学会(2003年10月、金沢)にて発表した。

引用文献

- 1) Pui CH, Behm FG, Crist WM: Clinical and biologic relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 82: 343-362, 1993
- 2) Brunning RD, Matutes E, Borowitz M, et al: Acute leukaemia of ambiguous lineage. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumour of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Jaffe ES ed IARC Press Lyon 2001, 106-107
- 3) Buccheri V, Mihaljevic B, Matutes E, et al: mb-1: A new marker for B-lineage lymphoblastic leukemia. *Blood* 82: 853-857, 1993
- 4) Bene MC, Castoldi G, Knapp W, et al: Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 9: 1783-1786, 1995
- 5) Atsaturov IA, Matutes E, Morilla R, et al: Differential expression of B29 (CD79b) and mb-1 (CD79a) proteins in acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia* 10: 769-773, 1996
- 6) Manabe A, Mori T, Ebihara Y, et al: Characterization of leukemic cells in CD2/CD19 double positive acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol* 67: 45-52, 1998
- 7) Ma F, Manabe A, Wang D, et al: Growth of human T cell acute lymphoblastic leukemia lymphoblasts in NOD/SCID mouse fetal thymus organ culture. *Leukemia* 16: 1541-1548, 2002
- 8) Tien HF, Chou CC, Wang CH, et al: Putative normal counterparts of leukaemic cells from CD7-positive acute myeloid leukaemia can be demonstrated in human haematopoietic tissues. *Br J Haematol* 94: 501-506, 1996
- 9) Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al: Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). *Br J Haematol* 78: 325-329, 1991
- 10) Villamor N, Zarco MA, Rozman M, et al: Acute myeloblastic leukemia with minimal myeloid differentiation: Phenotypical and ultrastructural characteristics. *Leukemia* 12: 1071-1075, 1998
- 11) Bene MC, Bernier M, Casasnovas RO, et al: Acute myeloid leukaemia M0: Haematological, immunophenotypic and cytogenetic characteristics and their prognostic significance: An analysis in 241 patients. *Br J Haematol* 113: 737-745, 2001
- 12) Bassan R, Biondi A, Benvenuto S, et al: Acute undifferentiated leukemia with CD7+ and CD13+ immunophenotype. Lack of molecular lineage commitment and association with poor prognostic features. *Cancer* 69: 396-404, 1992
- 13) 吉田勝彦, 楠本修也, 須賀原裕一, 他: 縦隔腫瘤を伴ったCD7(+)急性骨髄性白血病(M0). *臨床血液* 42: 644-649, 2001
- 14) Kita K, Miwa H, Nakase K, et al: Clinical importance of CD7 expression in acute myelocytic leukemia. *Blood* 81: 2399-2405, 1993
- 15) Lo Coco F, De Rossi G, Pasqualetti D, et al: CD7 positive acute myeloid leukaemia: A subtype associated with cell immaturity. *Br J Haematol* 73: 480-485, 1989
- 16) Pawson R, Potter MN, Theocharous P, et al: Treatment of relapse after allogeneic bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning (FLAG +/- Ida) and second allogeneic stem cell transplant. *Br J Haematol* 115: 622-629, 2001
- 17) McCarthy AJ, Pitcher LA, Hann IM, et al: FLAG (fludarabine, high-dose cytarabine, and G-CSF) for refractory and high-risk relapsed acute leukemia in children. *Med Pediatr Oncol* 32: 411-415, 1999
- 18) Fleischhack G, Hasan C, Graf N, et al: IDA-FLAG (idarubicin, fludarabine, cytarabine, G-CSF), an effective remission-induction therapy for poor-prognosis AML of childhood prior to allogeneic or autologous bone marrow transplantation: Experiences of a phase II trial. *Br J Haematol* 102: 647-655, 1998
- 19) Luczynski W, Muszynska-Roslan K, Krawczuk-Rybak M, et al: Results of IDA-FLAG programme in the treatment of recurrent acute myeloblastic leukaemia: Preliminary report. *Med Sci Monit* 7: 125-129, 2001
- 20) Ishikawa J, Maeda T, Kashiwagi H, et al: Successful second allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and donor lymphocyte infusion in patients with relapsed acute leukemia using the same donors as for the initial allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 31: 1057-1059, 2003
- 21) Kolb HJ, Schmid C, Barrett AJ, et al: Graft-versus-leukemia reactions in allogeneic chimeras. *Blood* 103: 767-776, 2004

後天性サイトメガロウイルス感染症小児に合併した
免疫学的血小板減少性紫斑病

河崎 裕英, 峰 研治, 野田 幸弘, 中野 崇秀

症例報告

後天性サイトメガロウイルス感染症小児に合併した 免疫学的血小板減少性紫斑病

河崎 裕英^{1,2}, 峰 研治¹, 野田 幸弘¹, 中野 崇秀¹

¹ 関西医科大学小児科, ² 東京大学医科学研究所小児細胞移植科

Immune Thrombocytopenic Purpura Associated with Acquired Cytomegalovirus Infection in Children

Hirohide KAWASAKI,^{1,2} Kenji MINE,¹ Yukihiro NODA¹ and Takahide NAKANO¹

¹ Department of Pediatrics, Kansai Medical University

² Department of Pediatric Hematology/Oncology, Institute of Medical Science, University of Tokyo

Abstract Immune thrombocytopenic purpura (ITP) is an infrequent complication of acquired cytomegalovirus (CMV) infection. We describe two immunocompetent children with ITP, which was associated with CMV infection. We also reviewed reports or abstracts on 13 similarly affected children. Both patients had severe thrombocytopenia and mild increase of serum AST and ALT. Their bone marrow examinations were consistent with platelet consumption. They also had a high titer of anti-CMV IgM in serum. One of them responded to a conventional intravenous high-dose immunoglobulin therapy. The other patient, who failed to respond to the above therapy, was successfully treated with an intravenous high-dose of an anti-CMV high-titered immunoglobulin preparation. A review of the literature showed the characteristics of ITP associated with CMV infection at diagnosis as follows: predominance in males; comparatively severe thrombocytopenia, but a mild bleeding tendency; mild lymphocytosis and mononucleosis in peripheral blood; mild elevation of serum AST and ALT; elevation of platelet associated-IgG in serum; normal or increased counts of megakaryocyte in bone marrow. Half of the patients underwent spontaneous remission or responded to conventional immunosuppressive therapy, but the remaining patients required a more aggressive immunosuppression or CMV-specific therapies. All patients eventually recovered and had no recurrence.

要旨 血小板減少性紫斑病 (ITP) を合併した後天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染症の自験例 2 例と文献報告例 13 例との臨床所見をまとめ、考察を行った。15 症例の年齢は 2 カ月から 8 歳、性別では 12 例が男児であった。血小板数は 1,000~33,000/ μ l で、重篤な出血症状はなかった。白血球数は正常から軽度上昇までで、リンパ球優位を 5 例、異型リンパ球を 4 例に認めた。PA-IgG は 13 例で上昇、骨髄巨核球は全例で増加し、AST、ALT は全例で上昇していた。治療は、2 例が無治療、4 例がプレドニゾン (PSL)、4 例が大量ガンマグロブリン (IVIg) 療法で軽快した。残る 5 例は初期治療に反応せず、1 例がメチルプレドニゾンパルス療法 (pulse) で、2 例がデキサメサゾン pulse で、1 例がガンシクロビルで、1 例が CMV 高力価大量 IVIg で血小板は正常化した。予後は、全例急性型で軽快し、慢性型への移行例や再発例はなかった。

Key words: immune thrombocytopenic purpura, acquired cytomegalovirus infection, intravenous immunoglobulin

I. 緒言

2003 年 3 月 25 日受付, 2004 年 5 月 14 日受理
別刷請求先: 〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1
東京大学医科学研究所小児細胞移植科 河崎裕英
Reprint requests to Hirohide Kawasaki, Department of
Pediatric Hematology/Oncology, Institute of Medical
Science, University of Tokyo, 4-6-1, Shirokanedai,
Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan

後天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染症は、大部分の健常児では不顕性に終わる。時に発熱や肝脾腫を伴い、肝細胞障害と末梢血リンパ球や異型リンパ球が増加する単核球症を示すが、免疫学的血小板減少性紫斑病 (ITP) を伴うものはまれである。

今回われわれは、CMV感染症が誘因と考えられたITPの2症例を経験した。自験例に、本邦の小児における文献報告例13例を加え、小児の後天性CMV感染症によるITPの臨床像について考察を行ったので報告する。

II. 症 例

1. 症 例 1

患児：1歳1カ月，男児。

主訴：点状出血斑と紫斑。

家族歴：特記すべきことはない。

既往歴：アトピー性皮膚炎で卵と乳製品の摂取制限を行っている。

現病歴：3日前に左前頭部の打撲部に紫斑が、2日前に四肢に点状出血斑と紫斑とが出現し来院した。発熱はなく全身状態は良好であった。

現症：四肢と前胸部に点状出血を、左前頭部、左腕、右大腿部、背部に紫斑を認めた。口腔粘膜に出血斑は認めない。肝脾は触知せず、リンパ節も触れなかった。

検査所見：血小板数の減少とリンパ球優位の白血球の増加、肝トランスアミナーゼの上昇を認めた。詳細はTable 1に示す。

臨床経過：末梢血血小板数の減少は、骨髓巨核球の増加と血小板関連IgG (PA-IgG)の増加からITPによるものと診断した。AST, ALTの上昇と異型リンパ球の増加、CMV IgM抗体の存在からCMV感染症が誘因と考えた。治療には、大量ガンマグロブリン (IVIg)療法 (1 g/kg)とプレドニゾン (PSL)の投与を行ったが、血小板数が20,000/ μ l前後で推移したため、CMV高力価大量IVIg (1 g/kg)を投与した。投与後、血小板数は速やかに正常化し、血小板減少の再発は認めない。発症9カ月後に、CMV IgMの消失を確認した (Fig. 1)。

2. 症 例 2

患児：1歳2カ月，女児。

主訴：点状出血斑と紫斑。

家族歴、既往歴：特記すべきことはない。

現病歴：6日前に両頬部に点状出血斑が、5日前から

Table 1 Laboratory findings (Patient 1)

WBC	15,700 / μ l	Na	141 mEq/l	CMV IgM	8.41 (+)
Neutro	20.5 %	K	3.8 mEq/l	CMV IgG	11.4 (+)
Mono	6.5 %	Cl	108 mEq/l	C7HRP	(-)
Lymph	68.0 %	BUN	10 mg/dl	EBV EA-DR	<10
Aty.lym	3.5 %	Cr	0.2 mg/dl	EBV VCA IgM	<10
RBC	459 \times 10 ⁴ / μ l	TP	7.1 g/dl	EBV VCA IgG	<10
Hb	12 g/dl	AST	125 U/l	EBV EBNA	<10
Ht	35 %	ALT	151 U/l	IgG	683 mg/dl
Plt	1,000 / μ l	LDH	502 U/l	IgA	22 mg/dl
APTT	35.0 sec	T-Bill	0.5 mg/dl	IgM	91 mg/dl
PT	99 %	CRP	0.14 mg/dl	PA-IgG	227.8 ng/10 ⁷ platelets
BM NCC	127,250 / μ l			Megakaryocyte	69 / μ l

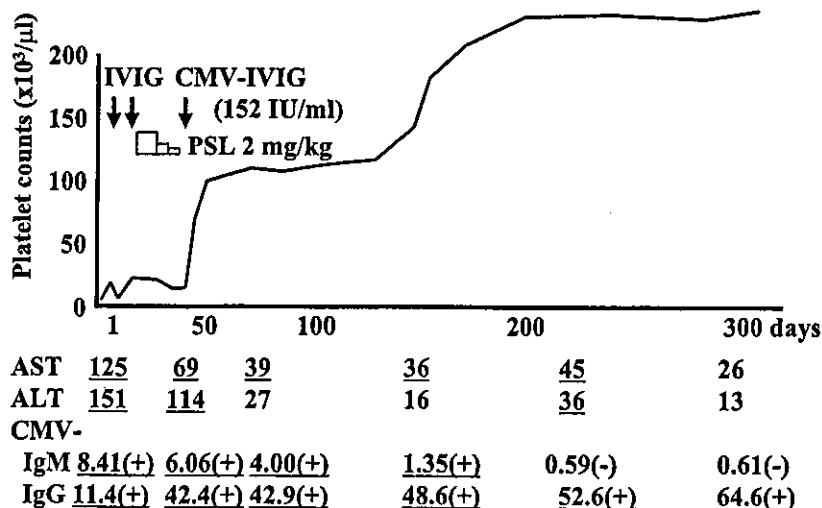


Fig. 1 Clinical course (Patient 1)

Table 2 Laboratory findings (Patient 2)

WBC	8,000 / μ l	Na	139 mEq/l	CMV IgM	3.96 (+)
Neutro	34.0 %	K	4.1 mEq/l	CMV IgG	27.8 (+)
Mono	2.0 %	Cl	103 mEq/l	C7HRP	N.D.
Lymph	63.0 %	BUN	9 mg/dl	EBV EA-DR	<10
Aty.lym	0.0 %	Cr	0.2 mg/dl	EBV VCA IgM	<10
RBC	452 \times 10 ⁴ / μ l	TP	6.4 g/dl	EBV VCA IgG	<10
Hb	13 g/dl	AST	45 U/l	EBV EBNA	<10
Ht	36 %	ALT	41 U/l	IgG	N.D.
Plt	7,000 / μ l	LDH	319 U/l	IgA	N.D.
APTT	32.3 sec	T-Bill	0.4 mg/dl	IgM	N.D.
PT	108 %	CRP	0.13 mg/dl	PA-IgG	285.2 ng/10 ⁷ platelets
BM NCC	135,000 / μ l			Megakaryocyte	194 / μ l

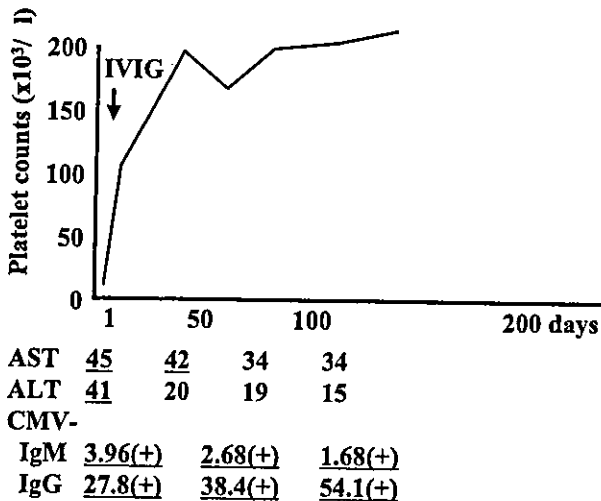


Fig. 2 Clinical course (Patient 2)

全身に点状出血斑と下肢に紫斑が出現した。発熱はなく全身状態は良好であった。

現症：顔面と四肢を中心に点状出血斑を，下肢に紫斑を認めた。口腔粘膜に出血斑は認めなかった。肝脾は触知せず，リンパ節も触れなかった。

検査所見：血小板数の減少と軽度の肝トランスアミナーゼの上昇を認めた。詳細は Table 2 に示す。

臨床経過：末梢血血小板数の減少は，骨髓巨核球の増加と PA-IgG の増加から ITP によるものと診断した。AST, ALT の上昇と CMV IgM 抗体の存在から CMV 感染症が誘因と考えた。通常的大量 IVIG 療法 (1 g/kg) を行ったところ，血小板数は速やかに正常化した。その後も血小板数は正常範囲内にあり，血小板減少の再発は認めない。発症 1 カ月後に AST, ALT は正常化した。発症 4 カ月後の現在，CMV IgG は増加し，CMV IgM は減少してきているものの，IgM 抗体は完全には消失していない (Fig. 2)。

III. 自験例と文献例のまとめ

本邦における CMV 感染症に伴う ITP の小児報告例の臨床像をまとめて Table 3 に示す (先天性および免疫不全症に伴うものは除く)。発症年齢は，2 カ月～8 歳 (中央値: 1 歳 2 カ月) で，性別は，12 例が男児であった。出血症状は，2 例で鼻出血や歯肉出血を認めた以外は全例皮膚出血のみであった。リンパ節腫大は 1/4 例で，肝脾腫は 6/10 例にみられた。発症時の血小板数は，1,000～33,000 (中央値: 6,000)/ μ l であった。白血球数は 5,900～15,700/ μ l で，リンパ球増加を 5/9 例に，異型リンパ球増加を 4/9 例に認めた。AST, ALT は全例で軽度上昇していた。骨髓巨核球は，検索された全例で正常ないしは増加しており，PA-IgG は 9/11 例で増加していた。治療とそれに対する反応は，2 例が無治療で，4 例が PSL で，4 例が大量 IVIG 療法で軽快した。残る 5 例は初期治療への反応が悪く，最終的に，1/3 例がメチルプレドニゾロン (mPSL) パルス療法 (pulse) で，2 例がデキサメサゾン (Dex) pulse で，1 例がガンシクロビル (GCV) で，1 例が CMV 高力価大量 IVIG 療法で，血小板数はそれぞれ正常化した。予後は，初期治療に抵抗した例も含めて全例急性型で軽快しており，慢性型への移行例や再発例はなかった。

IV. 考 察

CMV 感染症に伴う ITP は男児に多く，軽度の肝細胞障害，末梢血リンパ球の増加や異型リンパ球の出現などの単核球症を伴い，診断時の血小板数が比較的低値を示すことを特徴としている。とくに血小板数は 11 例 (73.3%) が 20,000/ μ l 未満で，そのうち 8 例 (53.3%) が 10,000/ μ l 未満であった。出血症状は，乳幼児が多いためか皮膚出血のみが多いが，年長児では鼻出血や歯肉出血の粘膜出血症状が強い症例もあり注意を要する。血

Table 3 Characteristics of children with ITP associated with acquired CMV infection

Age	Sex	Plt ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	BM mega ($/\mu\text{l}$)	PA-IgG (ng/ 10^6 plt)	WBC ($/\mu\text{l}$)	Lymph atyp-L (%)	AST (U/l)	ALT (U/l)	CMV IgM	CMV IgG	Treatment	Outcome	Ref	
1	2m	M	0.2	inc.	<12.5	12,700	87.5 0	86	54	+	NS	PSL	→GR	1
2	2m	M	1.1	inc.	262.2	10,100	82 1	54	22	+	NS	PSL	→GR	1
3	4m	M	2.3	175	22.3	133,300	72 0	60	66	+	+	PSL	→GR	2
4	5m	M	1.9	967.2	38.8	10,400	84 0	65	50	$\times 20$	$\times 320$	IVIg	→GR	3
5	5m	M	2.2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	+	NS	PSL	→GR	4
6	1y	F	0.1	125	NS	9,520	NS	42	28	8.08	NS	PSL IVIg Dex pulse	→PR →PR →GR	5
7	1y7m	M	3.3	110	105.8	12,800	52 20.5	54	73	$\times 160$	$\times 640$	IVIg	→GR	6
8	1y10m	M	3.1	281	140.6	8,900	50 0	NS	NS	+	+	—	→GR	2
9	2y	M	0.1	inc.	598.5	5,900	NS	54	24	$\times 80$	NS	PSL IVIg mPSL pulse Dex pulse	→NR →NR →PR →GR	5
10	4y	M	1.5	NS	NS	NS	NS	NS	NS	+	NS	—	→GR	4
11	4y4m	F	0.5	NS	NS	NS	NS	inc.	inc.	NS	$\times 156$	PSL+IVIg	→GR	7
12	6y	M	0.5	inc.	—	NS	NS	199	197	5.44	15.0	IVIg mPSL pulse	→NR →GR	8
13	8y	M	0.1	187.5	1.529	6,800	38 8	62	72	+	NS	PSL IVIg mPSL pulse VCR+CyA GCV	→NR →NR →PR →NR →GR	9
14	1y1m	M	0.1	69	227.8	15,700	68 3.5	125	151	8.41	11.4	IVIg PSL CMV IVIG	→PR →NR →GR	pt.1
15	1y2m	F	0.6	194	285.2	8,000	63 0	45	41	3.96	27.8	IVIg	→GR	pt.2

CMV: cytomegalovirus, ITP: immunological thrombocytopenic purpura, Plt: platelet, BM: bone marrow, mega: megakaryocyte, WBC: white blood cell, lymph: lymphocyte, atyp-L: atypical lymphocyte, ref: reference, pt: patient, y: year, m: month, M: male, F: female, inc: increased, NS: not shown, GR: good response, PR: partial response, NR: no response, PSL: prednisolone, IVIG: intravenous high-dose immunoglobulin, Dex: dexamethasone, mPSL: methylprednisolone, VCR: vincristine, CyA: cyclosporin, GCV: ganciclovir, -: negative, +: positive.

血小板減少の機序に関しては、多くの症例で骨髄巨核球や PA-IgG が増加しており、通常の ITP と同じく免疫学的機序による血小板の破壊亢進が考えられる。

治療に関しては、粘膜出血等の出血症状の強いものは多くないものの、血小板数が低く年少児が多いため、2 例を除いて初期から ITP の治療が行われている。ITP の治療に対する反応は、2/3 の症例では良好な反応がみられたが、残り 1/3 の症例は、初期治療に反応せず、一部では出血症状も強いため、mPSL あるいは Dex pulse 療法など、より強い免疫抑制療法や GCV などの CMV 感染治療が必要であった。成人では、ITP に対する種々の治療に抵抗性で、最終的に GCV や CMV 高力価 IVIG が有効であった症例の報告も散見される¹⁰⁻¹³⁾。小児でも通常の ITP 治療に反応しない場合は、早期から CMV 感染治療を併せて行うことを念頭に置くべきであろう。自験の症例 1 では、CMV 高力価大量 IVIG 療法が有効であった。急性期に通常的大量 IVIG 療法で血小板の増加が得られない場合には、CMV 高力価大量 IVIG 療法が治療選択肢の 1 つになりえると考えた。急性期に適切に治療すれば慢性型や再発例に移行することはまれであり、急性期の治療選択が重要である。

引用文献

- 1) 七野浩之, 麦島秀雄, 永田俊人, 他: *後天性 cytomegalovirus 感染による ITP の 2 乳児例. 日小血会誌 12: 311, 1998
- 2) Sakata H, Ikegami K, Nagaya K, et al: Thrombocytopenia caused by acquired cytomegalovirus infection in children. *Pediatr Int* 41: 113-114, 1999
- 3) Mizutani K, Azuma E, Komada Y, et al: An infantile case of cytomegalovirus induced idiopathic thrombocytopenic purpura with predominant proliferation of CD10 positive lymphoblast in bone marrow. *Acta Paediatr Jpn* 37: 71-74, 1995
- 4) 廣田保蔵, 若林和代, 内藤英紀, 他: *サイトメガロウイルス IgM 抗体が陽性であった血小板減少症の 3 例. 日小血会誌 15: 266, 2001
- 5) 佐藤広樹, 合井久美子, 赤羽弘資, 他: *サイトメガロ感染後の血小板減少性紫斑病に対しデキサメタゾンパルスを行った 2 症例. 日児誌 105: 292, 2001
- 6) 小松博史, 大澤美奈子, 清水芳隆, 他: 後天性サイトメガロウイルス感染症の臨床像—サイトメガロウイルス単核球症と血小板減少性紫斑病の 2 例—, 小児科臨床 51: 90-94, 1998
- 7) 新谷尚久, 金兼弘和: *サイトメガロウイルス感染が関与したと考えられる血小板減少性紫斑病の 1 例. 臨床とウイルス 22: S88, 1994
- 8) 鈴木 潤, 田中 文, 吉原 康, 他: *CMV 感染症の急性期に ITP を発症した 1 男児例. 日児誌 101: 1548, 1997
- 9) 黒澤寛史, 大竹正俊, 新堀哲也, 他: サイトメガロウイルス感染症に合併した治療抵抗性特発性血小板減少性紫斑病の 1 例. 仙台市病誌 21: 55-59, 2001
- 10) van Spronsen DJ, Breed WPM: Cytomegalovirus induced thrombocytopenia and haemolysis in an immunocompetent adult. *Br J Haematol* 92: 218-220, 1996
- 11) Arruda VR, Rossi CL, Nogueira E, et al: Cytomegalovirus infection as cause of severe thrombocytopenia in a nonimmunosuppressed patient. *Acta Haematol* 98: 228-230, 1997
- 12) 野口雅章, 有賀誠記, 加藤 淳, 他: 著明な血小板減少をきたしたサイトメガロウイルス単核症. 臨床血液 41: 1171-1177, 2000
- 13) 渡辺滋夫, 高橋秀夫, 辻 泰弘, 他: 肝障害および血小板減少, 好中球減少を伴った成人サイトメガロウイルス単核球症の 1 例. 徳島市病医誌 4: 51-54, 1990

血液の事典

編集

平井久丸

押味和夫

坂田洋一



朝倉書店

巨核球は洞外膜に接して局在し、内皮有窓部からその細胞質突起が洞内に突出し、血小板を血中に放出する。赤芽球系細胞は時折、赤芽球島 (erythroblastic island) を形成し、洞壁近くに位置する。この構造物は中心にマクロファージがあり、このマクロファージを central macrophage と呼んでいる。赤血球系細胞は洞壁通過時に脱核する。

■文献

- 1) 張ヶ谷健一：骨髄環境と造血。現代病理学大系，補遺2，循環器 消化器 乳腺 血液・造血器，pp145-153，中山書店，東京，1995。
- 2) Weiss L：Bone marrow. In：Histology (Weiss L and Greep RO eds)，4th ed，pp487-502，McGraw-Hill，New York，1977。
- 3) Jandl JH ed：Blood：Pathophysiology，Blackwell Sci Pub，Boston，1991。

19

造血幹細胞

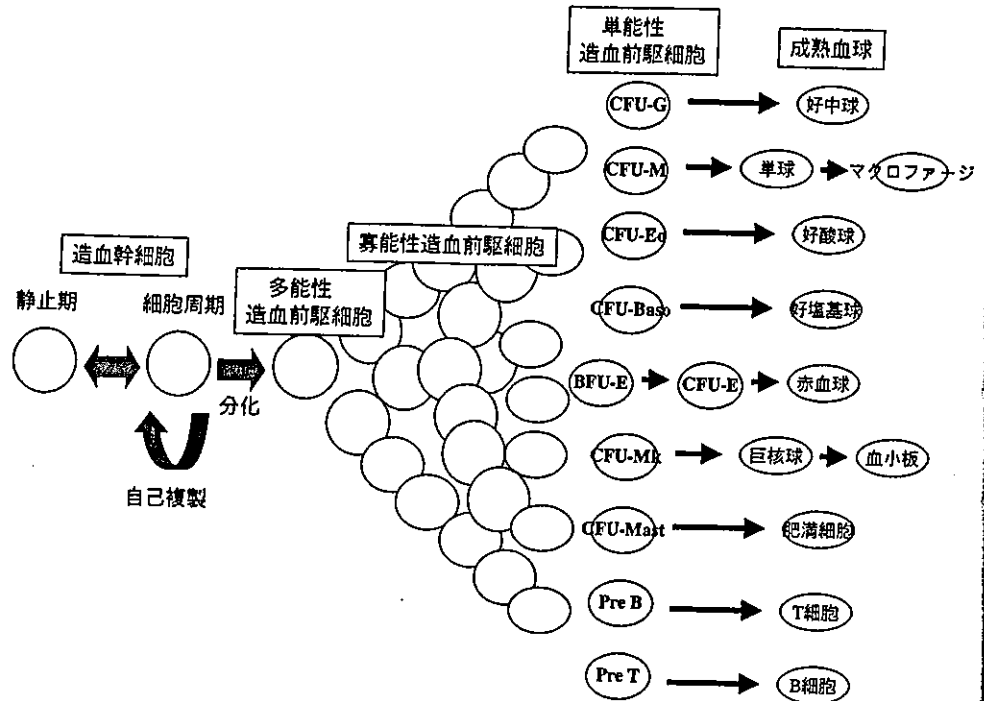
辻浩一郎

血液中には形態と機能を異にする種々の血球が存在するが、それらはいずれも固有の寿命で崩壊している。この膨大な数の血球を一生涯の間供給し続けるためには、血球の源となる未分化な細胞のプールが必要であり、これらの細胞を造血幹細胞と呼ぶ。造血幹細胞は、細胞分裂により自己と同じ能力を有する細胞を複製する能力（自己複製能）と、すべての成熟血球を産生する能力（多分化能）という二つの能力をあわせもつことにより、われわれの一生にわたる造血を枯渇させることなく維持しており、造血幹細胞移植においては、レシピエントの体内、主には骨髄において新たな造血を再構築し、長期にわたり維持することを可能としている。こうした造血幹細胞の能力は「長期造血再構築能」と呼ばれる。

■造血幹細胞の動態

図は、造血幹細胞から成熟血球が産生される過程を示している。恒常状態では多くの造血幹細胞は静止期にあり、必要に応じて細胞周期に入り細胞分裂する¹⁾。造血幹細胞は細胞分裂すると、その娘細胞は自己複製して再び造血幹細胞となるか、あるいは分化して多能性造血前駆細胞となる。多能性造血前駆細胞はすでに分化することが運命づけられた細胞で、多分化能は有しているが自己複製能はもたないことより、造血幹細胞とは区別される。

造血幹細胞由来の多能性造血前駆細胞は、細胞分裂を繰り返しながら次第にその多分化能を失い、数種類の血球系への分化能のみを有する寡能性造血前駆細胞を経



造血幹細胞の自己複製と分化

CFU-G : granulocyte-colony forming unit, CFU-M : macrophage-CFU, CFU-Eo : eosinophil-CFU, CFU-Baso : basophil-CFU, BFU-E : erythroid-burst forming unit, CFU-E : erythroid-CFU, CFU-Mk : megakaryocyte-CFU, CFU-Mast : mast cell-CFU, Pre-B : B cell precursor, Pre-T : T cell precursor.

て、単一の血球系への分化を運命づけられた単能性造血前駆細胞となり、最終的にはリンパ球を含むすべての成熟血球を産生する²⁾。

■造血幹細胞の評価法

従来造血幹細胞の評価法としては、コロニー形成法、LTC-IC (long-term culture-initiating cell) 測定法などが多く用いられてきたが、こうした *in vitro* での評価法はあくまで造血前駆細胞の評価法であって、長期造血再構築能を正しく評価しているわけではなく、その意味では造血幹細胞の評価法の代替法にすぎない。少なくとも現時点で信頼できる長期造血再構築能の評価法としては移植系以外にはなく、ヒトの場合はNOD/SCID (nonobese diabetic/severe combined immunodeficiency) マウスをレ

シビエントとする移植系がよく用いられる。NOD/SCID マウスは、成熟リンパ球の欠損、マクロファージ活性の低下、補体活性の低下、NK細胞活性の低下などの特徴を有し、ヒトサイトカインの投与などの処置を必要とせず、ヒト造血幹細胞が安定して生着する。NOD/SCID マウス、あるいはSCIDマウスの骨髄に生着可能なヒト細胞は、SRC (SCID mouse-repopulating cell) と呼ばれ、造血幹細胞に相当する細胞と考えられている。

■造血幹細胞の細胞表面形質

1) マウス造血幹細胞の細胞表面形質
成体マウス造血幹細胞には、単球/マクロファージ、顆粒球、B細胞、T細胞、赤芽球の分化抗原である Mac-1, Gr-1, B220, CD4, CD8, TER119などは発現されておら

ず、これらの分化抗原は成体マウス造血幹細胞のネガティブマーカーとして用いられる。これに対し、T細胞関連抗原であるThy-1は成体マウス造血幹細胞にも弱く発現されており、Thy-1弱陽性分画は成体マウス造血幹細胞分画として用いられる³⁾。このほか、成体マウス造血幹細胞のポジティブマーカーとしては、Sca (stem cell antigen)-1, SCF (stem cell factor) の受容体であるc-Kitなどが用いられるが、最近成体マウス骨髄中には、c-Kitを発現しない造血幹細胞も存在することが報告された。また、ミトコンドリアを染色するとされるrhodamin 123はday12-CFU-Sでは強く染色されるが、造血幹細胞は弱陽性とされている。

胎仔マウス造血幹細胞の細胞表面マーカーの発現は、成体マウスのそれとはやや異なっている。最近、成体マウス造血幹細胞はCD34を発現していないか、あるいは発現しているとしても極めて弱いことが明らかとなったが⁴⁾、胎仔あるいは新生仔マウス造血幹細胞はCD34を発現している。また、胎仔マウス造血幹細胞は、成体マウス造血幹細胞には発現されていないMac-1を発現していることなども報告されている。

2) ヒト造血幹細胞の細胞表面形質 前述のように、成体マウスの造血幹細胞はCD34をほとんど発現していないが、CD34は従来よりヒト造血幹細胞のポジティブマーカーとしては臨床的にはよく用いられてきた。これまでのところ、異種移植によるアッセイ法で検討する限り、CD34を発現するヒト造血幹細胞が存在することは間違いなが、CD34陰性細胞中にはより未分化な造血幹細胞が存在する可能性が示唆されている。このほか、ヒト造血幹細胞のポジティブマーカーとしてはThy-1, c-Kit, Flk-2/Flt-3などが報告されている。

■文献

- 1) Lemischka IR, Raulet DH and Mulligan RC : Developmental potential and dynamic behavior of hematopoietic stem cells. *Cell*, 45 : 917, 1986.
- 2) Ogawa M : Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood*, 81 : 2844, 1993.
- 3) Spangrude GJ, Heimfeld S and Weissman IL : Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science*, 241 : 58, 1988.
- 4) Osawa M *et al* : Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science*, 273 : 242, 1996.

5 造血幹細胞ならびにサイトカインの基礎と応用

辻 浩一郎

A 血液細胞の産生

1. 造血幹細胞 / 前駆細胞の分化・増殖

血液中には、形態と機能を異にする種々の血球が存在するが、それらはいずれも固有の寿命で崩壊している。この膨大な数の血球を一生涯の間供給し続けるためには、血球の源となる未分化な細胞のプールが必要であり、これらの細胞を造血幹細胞と呼ぶ。この造血幹細胞をレシピエントに移植し、その体内、主には骨髄に新たな造血を再構築し、長期にわたり維持することが、造血幹細胞移植の目的といえる。

こうした造血幹細胞の能力は「長期造血再構築能」と呼ばれる。この造血幹細胞の長期造血再構築能は、造血幹細胞が、細胞分裂により自己と同じ能力を有する細胞を複製する能力(自己複製能)と、すべての成熟血球を産生する能力(多分化能)、という2つの能力を併せ持つことにより、可能となっていると考えられている。

図1は、造血幹細胞から成熟血球が産生される過程を示している。恒常状態では多くの造血幹細胞は静止期にあり、必要に応じて細胞周期に入り、細胞分裂する。造血幹細胞は細胞分裂すると、その娘細胞は自己複製して再び造血幹細胞となるか、あるいは分化して多能性造血前駆細胞となる。多能性造血前駆細胞は、すでに分化することが運命づけられた細胞で、多分化能は有しているが、自己複製能は持たないことより、造血幹細胞とは区別される。

造血幹細胞由来の多能性造血前駆細胞は、細胞

分裂を繰り返しながら次第にその多分化能を失い、数種類の血球系への分化能のみを有する寡能性造血前駆細胞を経て、単一の血球系への分化を運命づけられた単能性造血前駆細胞となり、最終的にはリンパ球を含むすべての成熟血球を産生する。ただし、移植後の免疫機構の再構築が、造血機構のそれよりかなり遅れることから明らかのように、リンパ球の分化成熟過程は、他の血液細胞とは異なっており、必ずしも十分に解明されているわけではない。

特に、多能性造血前駆細胞からリンパ球が産生される初期分化の過程は不明な点が多く、T細胞とB細胞に共通な前駆細胞の存在も想定されている(したがって、図1についても、T細胞とB細胞の分化に関してはあえて詳述しなかった)。ただいずれにしても、このリンパ球を含む血液細胞の産生過程は、サイトカインと呼ばれる種々の細胞から産生される液性因子と、血液細胞を取り囲む造血微小環境により制御されている。

2. 造血支持組織

1) 造血微小環境

骨髄における造血支持組織は、静脈洞系の発達した血管系と、網状の間質構造により、構成されている。骨髄の血管系の経路は、栄養動脈→毛細血管→静脈洞→中心静脈洞→栄養静脈からなり、毛細血管と静脈洞が連続的な閉鎖血管系を形成する。静脈洞で仕切られた造血実質は、間質(ストローマ)細胞とこれを支持する細胞外マトリックス(extracellular matrix; ECM)からなり、造血微小環境を形成する。造血微小環境は造血細胞を定着させ、いわゆる「造血の場」を提供し、造血細胞は造血微小環境において効率的に増殖分化する。

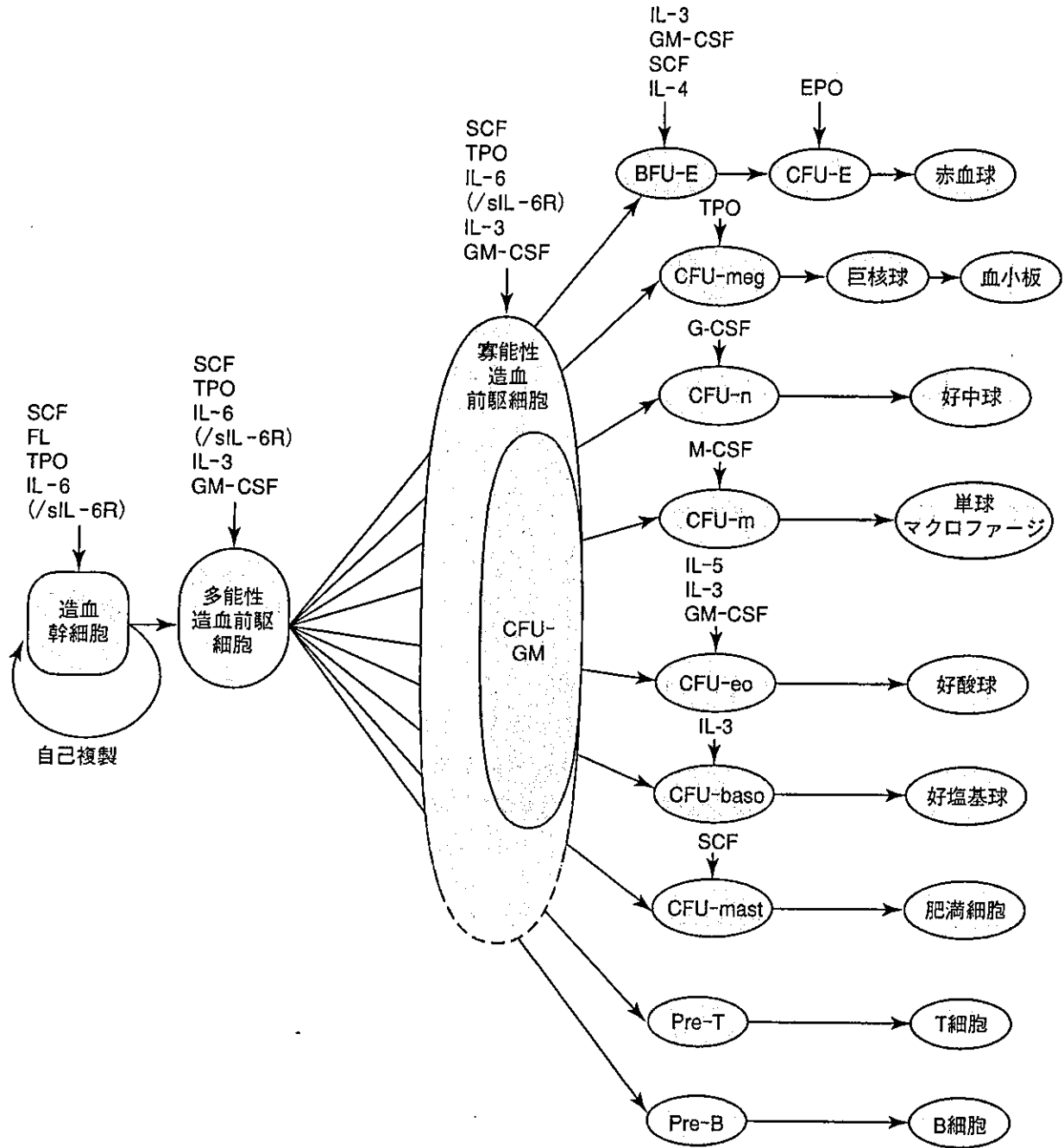


図1 造血幹細胞からの血液細胞の産生

造血幹細胞は、細胞分裂により自己複製して再び造血幹細胞になるか、あるいは分化して多能性造血前駆細胞になる。多能性造血前駆細胞は、細胞分裂を繰り返しながら次第に多分化能を失い、寡能性造血幹細胞を経て、単能性造血前駆細胞となり、最終的に成熟血球を産生する。こうした過程の多くは種々のサイトカインにより制御されている。

2) ストローマ細胞

ストローマ細胞は、線維芽細胞、マクロファージ、前脂肪細胞、内皮細胞などからなる⁴⁾。ストローマ細胞は、種々のサイトカインやケモカイン、ECMを産生するばかりでなく、その細胞表面には、VCAM (vascular cellular adhesion mole-

cule) -1, ICAM (intercellular adhesion molecule) -1のような接着分子、あるいはSCF (stem cell factor; 幹細胞因子), M-CSF (macrophage colony-stimulating factor; マクロファージ・コロニー刺激因子)などの膜結合型サイトカインを発現し、これらを介する細胞間相互作用によって

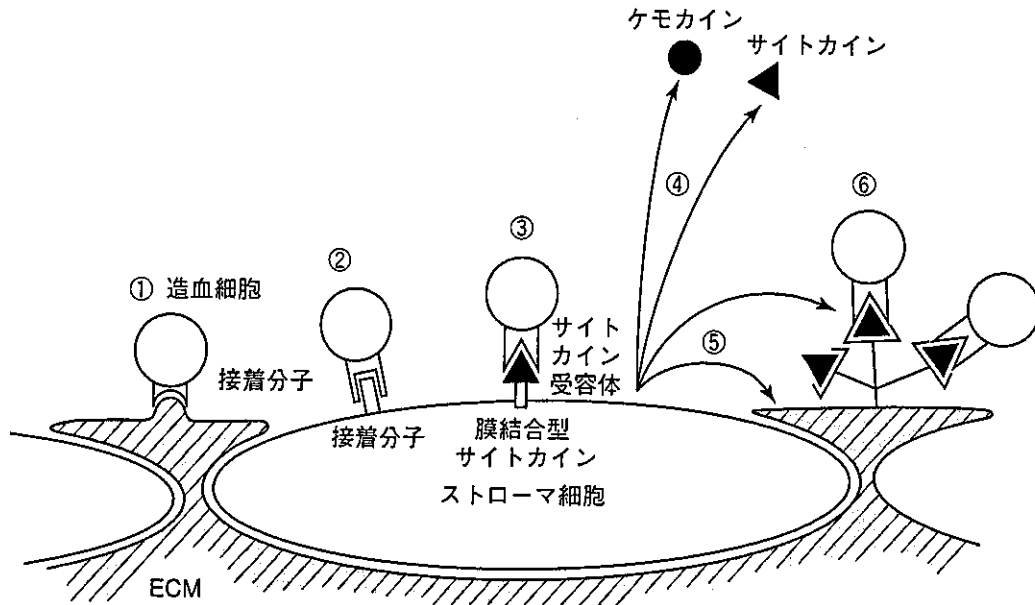


図2 造血微小環境と造血細胞

- ① ECMによる造血細胞の接着
- ② ストローマ細胞上の接着分子による造血細胞の接着
- ③ ストローマ細胞上の膜結合型サイトカインによる造血細胞の接着
- ④ ストローマ細胞によるサイトカイン、ケモカインの産生
- ⑤ ストローマ細胞によるECMの産生
- ⑥ ECMに捕捉されたサイトカインによる造血細胞の分化増殖の制御

も、造血幹細胞/前駆細胞の増殖分化を制御している(図2)。

3) ECM

ストローマ細胞により産生される、フィブロネクチン、ヘモネクチン、プロテオグリカン、トロポスポンジン、テネイシン、コラーゲン、ラミニンなど、ECMはストローマ細胞間の結合に関与し、造血微小環境の立体構造を維持する一方、接着分子を介する造血細胞の骨髄への定着、造血細胞とストローマ細胞の接着にも作用し、その分化増殖にも関与している。さらに、ECMは、サイトカインを捕捉し、その作用を増強している(図2)。

4) ケモカイン

特定の細胞の遊走活性を促進するケモカインは、GVHDを含む種々の炎症あるいは免疫反応において重要な役割を担っているが、ストローマから産生されるケモカインは造血にも関与してい

る。特に、SDF (stroma cell-derived factor) -Iは、その受容体であるCXCR4を発現する造血細胞に作用し、移植造血幹細胞の骨髄への定着、あるいは骨髄造血幹細胞の末梢血中への動員に関与していることが示されている¹⁾。

B 造血幹細胞

1. 造血幹細胞の動態

1) 造血幹細胞の活性化

1986年、Lemischkaら²⁾は、レトロウイルスの組み込み部位をマーカーとするマウス造血幹細胞の移植実験を行った。彼らは、放射線照射されたマウスに、マーカーを付けた造血幹細胞を移植し、末梢血球のDNAを解析することによりそのクローン性を検討した。その結果、少なくとも移植後の造血回復期においては、造血幹細胞のプール