

## 研究

## 目玉焼き状リンパ球が出現した4症例

## —酸性ホスファターゼ染色所見の比較—

徳竹孝好<sup>1)</sup>、中田昭平<sup>1)</sup>、野崎美智江<sup>1)</sup>、馬場ひさみ<sup>1)</sup>、住 昌彦<sup>2)</sup><sup>1)</sup>長野赤十字病院 臨床検査科、<sup>2)</sup>長野赤十字病院 血液内科

## TRAP findings in 4 cases that a fried egg-like lymphocyte appeared

## 要旨

ヘアリー細胞白血病（HCL）が疑われた4症例を報告した。

末梢血液の冷風強制乾燥標本では「目玉焼き状」、自然乾燥標本では「有毛状」のリンパ球が4症例とも見られた。酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ（TRAP）活性が症例4を除いた3症例で観察されたが、その染色像は陰性から弱陽性が多く判定に苦慮した。TRAPの判定は、好中球と同様に完全に阻害された場合に陰性、弱陽性像以上を陽性と判定した。全細胞中のTRAP陽性率は細胞形態あるいは表面形質解析で得られたヘアリー細胞比率とほぼ一致した。

以上から、HCLを疑って酸ホスファターゼ染色を行った場合は、弱陽性像も陽性として積極的にカウントする必要があると考えられた。

Takayoshi Tokutake, et al: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 43(2):33—37, 2010(2010.01.25 受理)

## KEYWORDS

目玉焼き状リンパ球、有毛状リンパ球、ヘアリー細胞白血病  
酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ

## 【はじめに】

ヘアリー細胞白血病（HCL）の細胞は、風乾燥標本では「目玉焼き状」、自然乾燥標本では「有毛状」のリンパ球（以下ヘアリー細胞：HCと呼ぶ）が特徴的である<sup>1,2)</sup>。欧米型のHCLは酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ活性（TRAP）が強陽性を示すが、日本ではTRAP陰性から弱陽性のJapanese variantの患者が多いとされる<sup>3)</sup>。最近発表された新WHO分類2008（改定第4版）によると、形態学的にHC様の細胞でも、CD25陰性でTRAP陰性の場合にはHCLではなくSplenic B-cell lymphoma/leukaemia, unclassifiableに分類されている<sup>4)</sup>。TRAPはHCLの診断に重要であるにもかかわらず、陰性像のカラー

写真を載せている文献は少なく<sup>3)</sup>、TRAP陽性と陰性の境界が不明瞭である。

今回、目玉焼き状のリンパ球が出現し、酸性ホスファターゼ（ACP）染色所見の判定に苦慮した4症例を経験したのでTRAP所見と細胞表面形質解析を中心に報告する。

## 【対象と方法】

対象はHCLが疑われた4症例で、症例1が52歳男性、症例2が53歳男性、症例3が60歳女性、症例4が77歳女性であった。

臨床的に症例2を除く3症例で脾腫が認められた。症例3で腹部傍大動脈リンパ節に10～15mm大のリンパ節腫大がCTにより認められたが、他の3症例では明らかな表在およ

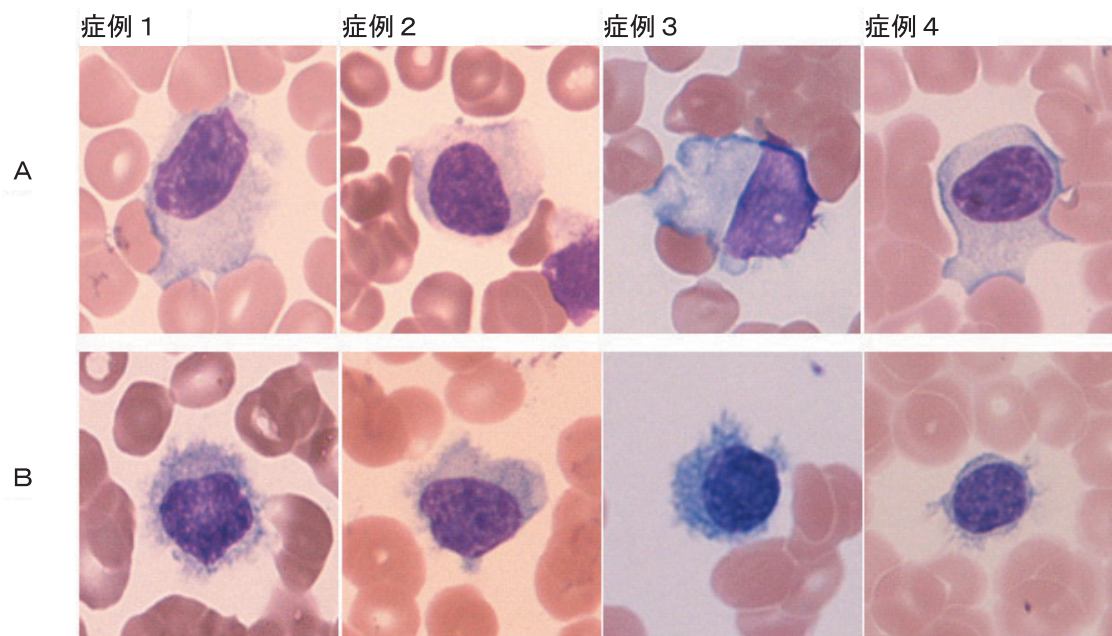


図1)末梢血液のMG染色像

A: 冷風乾燥標本、B: 自然乾燥標本. 4 症例とも風乾燥標本では細胞質の広い目玉焼き状リンパ球が、自然乾燥標本では有毛状リンパ球が見られた.

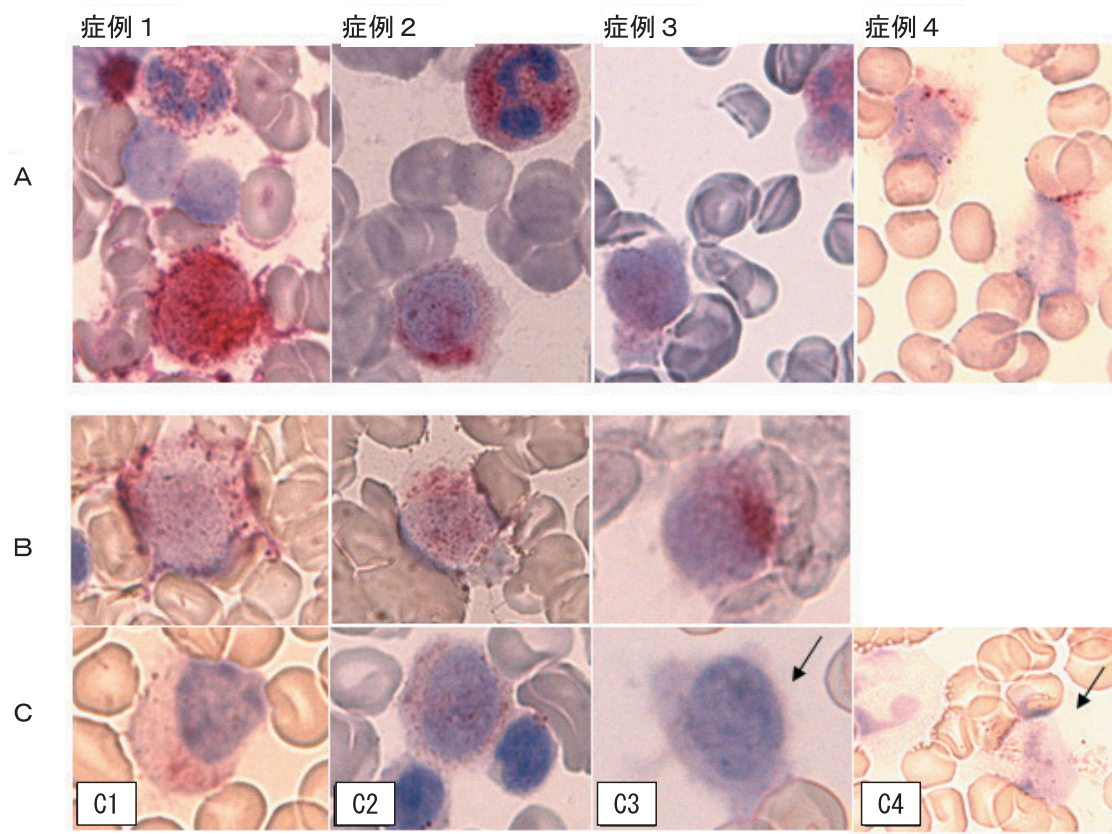


図2) 酸ホスファターゼ染色所見

A: 酒石酸無添加標本、 B,C: 酒石酸添加標本。

B はTRAP陽性. C1とC2はTRAP弱陽性. C3とC4(矢印)はTRAP陰性と判定した.

表1) 初診時末梢血液と骨髓検査所見

＜末梢血液＞	症例1	症例2	症例3	症例4
WBC(/ $\mu$ L)	14200	2540	2330	13600
HC様細胞(%)	60.0	1.0	4.0	52.0
Hb(g/dL)	14.2	13.8	8.9	14.1
Plt( $\times 10^4$ / $\mu$ L)	8.3	11.9	5.3	16.7
ALT(IU/L)	36	23	25	17
LDH(IU/L)	170	190	313	151
s-IL2R(U/mL)	19200	4540	37800	428

＜骨髓＞	症例1	症例2	症例3	症例4
細胞密度(生検)	正	低	高	正
NCC(/ $\mu$ L)	17000	20000	Dry-tap	33000
Mgk(/ $\mu$ L)	<6	6	ND	13
My系(%)	36.6	21.4	ND	43.4
Er系(%)	11.8	30.8	ND	18.8
HC様細胞(%)	30.8	34.0	ND	12.4

NCC：骨髓有核細胞数、HC：ヘアリー細胞、  
ND：not detect

び深部リンパ節腫大は認められなかった。

各症例の末梢血液標本あるいは骨髓吸引標本を用いてメイ・グリュンワルド・ギムザ(MG)染色とACP染色を行った。MG標本はドライヤーによる強制冷風乾燥標本と自然乾燥標本の2種類を作製した。ACP染色にはACP染色キット(武藤化学)を用い、酒石酸を添加しない標本と添加した染色標本を作製した。それぞれの染色標本におけるHC様細胞の染色像の観察とTRAP陽性率の算出および細胞表面形質解析との比較を行った。なお、骨髓吸引検体における細胞表面形質解析は株式会社SRLに依頼した。

### 【結果】

4症例の末梢血液像を図1に示す。4症例とも風乾燥標本では卵円形の核と広い細胞質を有する目玉焼き状リンパ球が見られた。自然乾燥標本ではこれらのリンパ球は細胞質が有毛状に変化した形態を示しHCLが強く疑われた。初診時の血球数算定では、HCLに特徴的とされる明らかな汎血球減少は4例中1例のみであった。(表1)症例1と症例4は白血球増加、症例2と症例3は白血球減少を示した。HC様細胞の出現頻度は、症例1から症例4までそれぞれ60.0%、1.0%、4.0%、52.0%であった。明らかな貧血を示したのは症例3のみで、血小板数が10万/ $\mu$ L未満を示したのは症例1と症例3であった。

骨髓生検では、症例1と症例4が正形成、症例2が低形成、症例3が過形成であった。骨髓吸引検体では全ての症例が有核細胞数は少なく、特に症例3はDry tapであった。HC様細胞の出現頻度は、症例1が30.8%、症例2が34.0%、症例4が12.4%であった。(表1)

図2に骨髓あるいは末梢血液のACP染色像を示す。HCを疑う細胞は、好中球の陽性像とは異なり、症例1では強陽性、症例2と3ではゴルジ野を中心に弱陽性、症例4は顆粒状に陽性となった。(図2-A)酒石酸を添加したTRAP標本では、症例1から症例3で陽性を示す細胞が見られたが(図2-B)、これらの細胞はHC様細胞の1割程度でほとんどが陰性から弱陽性を示した。(図2-C)弱陽性像以上を陽性とした場合、症例1から症例4の全細胞中のTRAP陽性率はそれぞれ、5.5%、15.0%、3.3%、0.0%であった。

表2に、MG標本でカウントしたHC様細胞の割合とTRAP陽性率、および表面形質解析の結果を示す。HCLに特徴的な細胞表面形質は、CD5陰性、CD20、CD11c、CD25、CD103、FMC-7がそれぞれ陽性である。4症例でのHC様細胞と思われる細胞集団は

表2) 形態学・細胞化学的ヘアリー細胞比率と表面形質解析

(全細胞中)	症例1	症例2	症例3	症例4
試料	BM <sup>#4</sup>	BM	PB	BM
HC様細胞 <sup>#1</sup> (%)	8.0	34.0	4.0	12.4
TRAP陽性 <sup>#2</sup> (%)	5.0	15.0	3.3	0.0
染色像	(+/-)	(+/-)	(+/-)	(-)
ゲート細胞 <sup>#3</sup> (%)	6.6	9.9	3.2	10.0
CD5	N	N	N	N
CD10	N	N	P	N
CD20	P	P	P	P
CD23	N	N	N	N
CD11c	P	P	P	P
CD25	N	P	P	N
CD103	P	P	N	N
FMC-7	P	P	P	P
s-Ig	$\kappa$	$\lambda$	$\lambda$	N

#1:MG標本、#2:酒石酸添加ACP標本、  
#3:フローサイトメトリ、#4:再発時の骨髓。  
BM:骨髓液、PB:末梢血液、HC:ヘアリー細胞、  
TRAP:酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ活性、  
s-Ig:表面免疫グロブリン、P:陽性、N:陰性。



CD20、CD11c、FMC7 が、4 例とも陽性を示したものの、HCL に典型的な CD25 に関しては症例 2 と症例 3 のみが陽性を示した。また、CD103 は症例 1 と症例 2 のみが陽性であり、4 症例の表面形質の相違が見られた。なお、末梢血液あるいは骨髓細胞を用いた染色体検査では、症例 3 で増殖不良のため染色体異常は不明であるが他の 3 症例では異常は認められなかった。

4 症例ともに脾臓の摘出は行われておらず、組織学的診断はなされていないが、現時点での診断は、症例 1 から症例 3 までが HCL、症例 4 は脾辺縁帯リンパ腫 (SMZL) とされた。

### 【考察】

HCL の診断には、自然乾燥標本あるいは位相差顕微鏡や電子顕微鏡による細長い細胞突起を持つ HC の証明、細胞化学的な TRAP 陽性所見、そして細胞表面形質解析による類似疾患との鑑別により行われる。一般的に用いられる自然乾燥した MG 標本では、HCL 以外に SMZL でも有毛状突起 (Villous) は見られ<sup>4)</sup>、両者の形態学的鑑別は必ずしも容易ではない。一方、骨髓細胞で TRAP 活性をもつものは大型で多核の破骨細胞のみとされるので<sup>5)</sup>、小型から中型の単核細胞で TRAP 陽性の細胞を検出することは HCL を確定する上で極めて重要である。しかし HCL で見られる TRAP 陽性像が全ての HC に得られるのか、また弱陽性と陰性の境界がどの程度なのか明確に示した成書は我々が検索した限り見当たらない。

今回 4 症例中 3 例に TRAP 陽性が見られたが、酒石酸を添加しない ACP 染色標本での陽性像に比べると弱い染色像であるため、陽性か陰性かの判定に苦慮した。また HC 様細胞は細胞ごとに染色性が異なり、同じ標本でも陽性から陰性まで様々な頻度で混在していた。症例 4 に出現した HC 様細胞は明らかに TRAP 陰性であり、対照となる好中球の酒石酸阻害像と一致した。以上の所見をふまえ、今回は弱陽性像以上を陽性、完全な阻害像を陰性と判定し全細胞中の TRAP 陽性率を算出した。症例 1 と症例 3 は、MG 染色で得られた HC 様細胞の比率は TRAP 陽性の比率とほぼ一致した。症例 2 は酒石酸に阻

害される細胞が多く、TRAP 陽性率が MG 標本の HC 様細胞の半数以下であった。

HCL には形態学的、免疫学的に様々な亜型が存在することが知られているが、新 WHO 分類では CD25 陽性、TRAP 陽性の典型例のみを HCL とし、それ以外の非典型例を Splenic B-cell lymphoma / leukaemia, unclassifiable に分類している<sup>4)</sup>。Splenic B-cell lymphoma / leukaemia, unclassifiable には Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma と HCL-variant が含まれるが、HCL の基準に満たないものは全てこの中に含まれる。我々の症例のうち、HCL の典型例は症例 2 のみで、症例 1 と症例 3 は新 WHO 分類では Splenic B-cell lymphoma / leukaemia, unclassifiable に分類されてしまう。症例 1 は白血球数増加と CD25 陰性から Machii ら<sup>3)</sup> が提唱する Japanese variant に相当し、症例 3 は CD10 陽性と CD103 陰性から Chen ら<sup>6)</sup> が報告した HCL の immunophenotypic variant に相当するため、同じ分類でも Splenic B-cell lymphoma / leukaemia, unclassifiable は多様で不均一な集団が形成されていると考えられる。このように多様な集団を生物学的に同じものとして分類していいのか疑問であり、HC 様細胞が出現する疾患分類の再編を期待したい。症例 4 の HC 様細胞は CD11c が陽性であるものの、CD25 と CD103 そして表面免疫グロブリンが陰性で TRAP が完全に陰性であったため、HCL の可能性は低いと考えられる。今後、症例 4 が SMZL で妥当なのか、それとも Splenic B-cell lymphoma / leukaemia, unclassifiable に分類されるのかは、脾臓の組織診断にゆだねられるが、現在無治療で症状は安定しているため摘脾の予定はなく暫定的な診断しか行えない。

以上の結果から、症例 4 も含め TRAP 陽性率は細胞形態や表面形質解析で得られた HC の割合とほぼ一致したことから、HCL を疑って ACP 染色を施行した場合は酒石酸に阻害されるかどうかではなく、酒石酸に抵抗性かどうかを評価することが重要であり、TRAP 弱陽性像も陽性として積極的にカウントする必要があると考えられた。

**【参考文献】**

- 1) 小西恵理子ら：Hairy cell leukemia Japanese variant の一例。－見逃さないための標本作製ポイント－。日本検査血液学会雑誌, 4:244-248, 2003.
  - 2) 廣瀬朝生ら：播種性非定型抗酸菌症、真菌性肺炎を合併した Hairy cell leukemia の一例。血液診療, 3:41-43, 2005.
  - 3) Machii T, et al : A unique variant of Hairy cell leukemia in Japan. Jpn J Med, 29:379-383, 1990.
  - 4) Swerdlow SH, et al : WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues ,4th Edition, pp185-193, 2008
  - 5) 久米春喜：ACP (acid phosphatase). Medicina, 42:214-217, 2005
  - 6) Chen YH, et al. : Immunophenotypic variations in Hairy cell leukemia. Am J Clin Pathol, 125:251-259, 2006
-