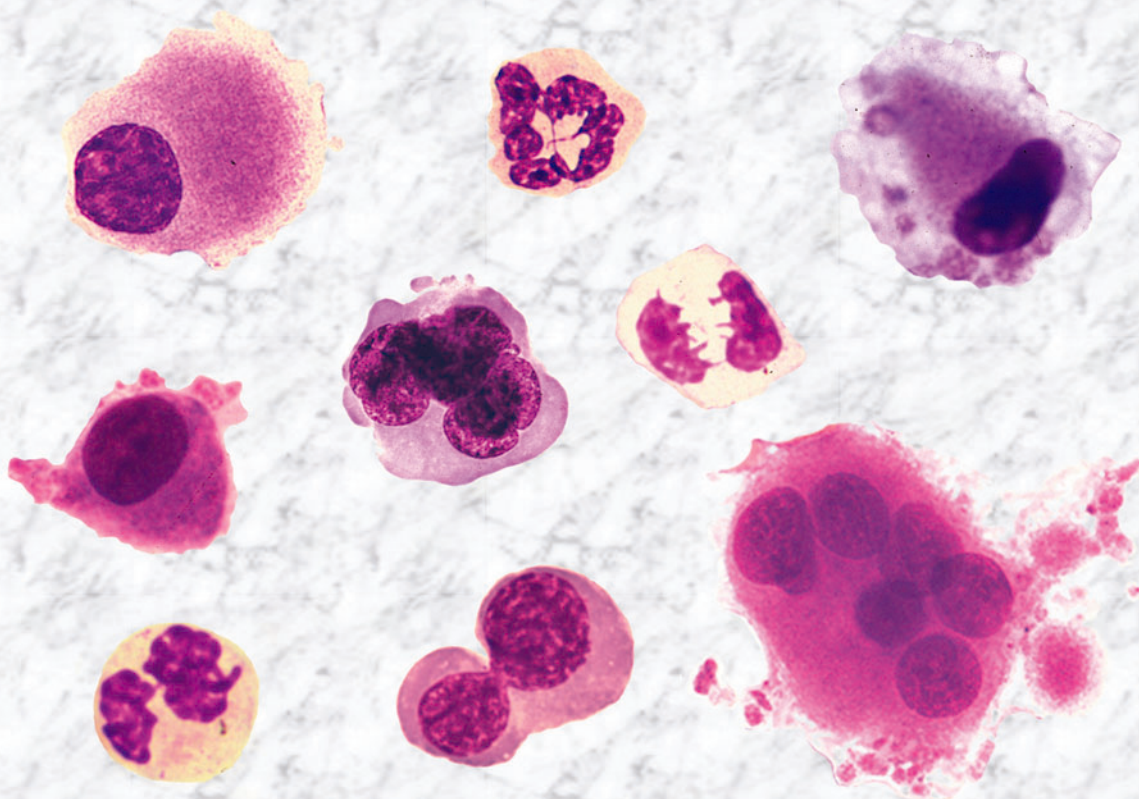


不応性貧血(骨髓異形成症候群)の 形態学的異形成に基づく診断確度区分と 形態診断アトラス

編集 朝長 万左男 (長崎大学原爆後障害医療研究施設)
松田 晃 (埼玉医科大学国際医療センター)

不応性貧血(骨髓異形成症候群)の形態学的診断基準
作成のためのワーキンググループ



厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
特発性造血障害に関する調査研究 (平成19年度)
主任研究者 小澤 敬也

不応性貧血(骨髓異形成症候群)の 形態学的異形成に基づく診断確度区分と形態診断アトラス

編集 朝長万左男 (分担研究者)
松田 晃 (研究協力者)

不応性貧血(骨髓異形成症候群)の形態学的診断基準作成のためのワーキンググループ

朝長万左男、宮崎泰司、波多智子、對馬秀樹 (長崎大学原爆後障害医療研究施設分子医療研究分野)
松田 晃、陣内逸郎 (埼玉医科大学国際医療センター血液内科学)
別所正美、荒関かやの (埼玉医科大学血液内科学)
通山 薫 (川崎医科大学検査診断学)

協力者

中尾眞二、山崎宏人、杉盛千春 (金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学)
鈴木隆浩 (自治医科大学内科学講座血液学部門)
石川隆之 (京都大学医学研究科血液・腫瘍内科学)
真部 淳 (聖路加国際病院小児科)
小松則夫 (山梨大学血液内科)
在家裕司 (東京大学医科学研究所附属病院検査部)

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
特発性造血障害に関する調査研究 (平成 19 年度)
主任研究者 小澤 敬也 (自治医科大学内科学講座血液学部門)

序

血液疾患の診断を進めるにあたって、遺伝子レベルの研究が進んだ現在にあっても形態学的診断がやはり基本となっている。しかしながら、骨髓像や末梢血液像の見方には主観的な要素が多く、必ずしも容易ではない。特に、骨髓異形成症候群(MDS: myelodysplastic syndromes)に特徴的な異形成像は、血液内科専門医にとっても判定に悩むことが多い。MDS 中の不応性貧血(RA)と再生不良性貧血を鑑別するには、異形成像の有無を見極めることが重要であるが、判定基準が一定しているとは言い難い。そこで、厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業の「特発性造血障害に関する調査研究」班では、MDS、再生不良性貧血、及びその境界例について、骨髓塗抹標本・骨髓生検標本・末梢血塗抹標本のセントラルレビュー検鏡担当施設委員会による中央診断を行うこととしている。この活動の中で、分担研究者の朝長万左男教授(長崎大学)と研究協力者の松田晃教授(埼玉医科大学)が中心となり、「形態学的診断基準作成のためのワーキンググループ」において診断基準の作成を進めてきた。本冊子は、その成果をまとめたものであるが、内容の理解を助けるために、具体例を示した形態診断アトラスの作成も併せてお願いしたものである。本研究班の関係者ならびに我が国の血液内科医、さらには臨床検査技師の皆さんにも本冊子を是非とも活用していただき、異形成像の見方が標準化されていくことを期待したい。

最後に、本冊子の編集を担当していただいた朝長教授と松田教授、ならびにワーキンググループのメンバーと協力者の諸先生に、心より感謝申し上げる次第である。

平成 20 年 1 月

特発性造血障害に関する調査研究班
主任研究者 小澤 敬也

目 次

第一部 不応性貧血(骨髓異形成症候群)の

形態学的異形成に基づく診断確度区分	1
目的と背景	2
不応性貧血(骨髓異形成症候群)の形態学的異形成に基づく診断確度区分 ..	5
補遺:再生不良性貧血(AA)と低形成 MDS の暫定的鑑別法	11

第二部 不応性貧血(骨髓異形成症候群)の形態診断アトラス 17 |

赤芽球系形態	18
顆粒球系形態	19
巨核球系形態	21
異形成のカテゴリー分類	22
定量的判定に基づく形態学的異形成の程度の区分	23
芽球の判定	24
May-Grunwald Giemsa 染色性による細胞形態の差	25
代表的な症例と血球形態	26

あとがき	33
------------	----

第一部

不応性貧血（骨髓異形成症候群）の 形態学的異形成に基づく診断確度区分

代表責任者

松田 晃（埼玉医科大学国際医療センター血液内科学）

目的と背景

染色体・遺伝子研究の進展にもかかわらず、骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndromes, MDS) に共通的な生物学的指標は未だ明らかではない。したがって臨床の現場において MDS の診断は依然として形態学に依存するところが強く、特に芽球増加がなく染色体異常も認められない場合の MDS の診断は、形態学的診断に頼らざるを得ないのが現状といえる。しかし主観的要素が入る形態学的所見の判定基準については、国際的コンセンサスも確立しているといえる状況にはない。MDS と鑑別が困難である軽微な異形成を認める血球減少症、例えば anemia of chronic disorders (ACD)、肝疾患¹⁾、ウイルス感染症²⁾ との鑑別、骨髄が低形成の場合に問題となる再生不良性貧血 (aplastic anemia, AA) との鑑別、さらには第 8 回国際 MDS シンポジウム (2005 年、長崎) にて、Mufti らにより最初に提唱された基礎疾患を認めず形態学的にも異形成が軽微な血球減少症 (idiopathic cytopenias of uncertain significance, ICUS) の存在など、多くの問題が MDS の診断には内在する。

「特発性造血障害に関する調査研究班」では、2006 年度から不応性貧血 (骨髄異形成症候群) の形態学的診断基準作成のためのワーキンググループを発足させ、形態学的診断基準の確立を目指して、症例の共同鏡検作業と討論をくり返して来た。その結果、異形成の形態学的判定の細胞異形成について、MDS に比較的特異性の高い異形成 (カテゴリー A) と、正常人や ACD などの非クローン性の血液疾患においても時に低頻度に見られ、必ずしも MDS に特異性が高いとは言えないが、その頻度が十分高い場合は MDS の存在を示唆する異形成 (カテゴリー B) の二つに区分できると考えるに至った。各カテゴリーの異形成の出現頻度 (百分率) を重視し、異形成の定性的判定ではなく、定量的判定によって形態学的診断につきまとう検鏡者間の差が最小限となると考えた。

おりから国際的にも MDS の形態診断の標準化をめざすワーキンググループ (International Working Group on MDS Morphology, IWG-MDS) が 2005 年に結成され、共同鏡検により芽球判定基準、環状鉄芽球判定基準、単球系細胞判定基準、各血球異形成の判定基準について作業が進められ、その成果が近く論文化される予定である。我々、ワーキンググループのメンバーの一部もこの IWG-MDS に参加しており、本班の形態学的診断基準の作成も IWG-MDS の国際的コンセンサスの提案に準拠する形で進めることが可能となっており、またそれが望ましいと考えた。IWG-MDS においては、各血球系の異形成 (IWG-MDS では異形成をカテゴリー A と B には区別していない) は、10%以上の場合に、明瞭な異形成ありと判定することが提唱される予定になっている。これは World Health Organization (WHO) 分類³⁾ の MDS 各病型の定義において用いられている 10%基準に準拠したものである。ただし WHO 分類では各異形成の細かい定義は十分には記載されておらず、分類の精度は必ずしも十分ではなかった。Valent らも MDS 診断のための minimal diagnostic criteria と ICUS の criteria を提唱⁴⁾ したが、やはり異形成については WHO 分類の MDS 各病型の定義において用いられている 10%基準 (環状鉄芽球に関しては 15%) に準拠したものであった。

異形成をカテゴリーA と B に区別することは、一般の血液専門医あるいは血液専門検査技師にとって異形成の判断は必ずしも容易ではないことを念頭に置いたものである。特にカテゴリーA の異形成について習熟することによって MDS 診断が容易となると期待される。また 10%基準を設けることによって、カテゴリーA のような MDS に特異性が高い異形成が 10%以上存在する場合は、その他のカテゴリーB の異形成を含め、種々の異形成を有する細胞も高頻度に存在しており、クローン性疾患としての MDS の病態を十分保証できることなどを考慮したもので、本班独自の criteria である。これによって診断の精度の向上が期待される。

今回作成した「不応性貧血（骨髄異形成症候群）の形態学的異形成に基づく診断確度区分」は 8 つのステップにより構成されている。MDS 診断において最も重要なことは、MDS 以外の血球減少症の慎重な除外（ステップ I）から始まるということである。ステップ I をクリアできた場合に、ステップ II で形態学的異形成の分類、ステップ III でカテゴリーA の異形成の定量的判定、ステップ IV でカテゴリーA と B を合計した各系統の異形成の定量的判定を行い、ステップ V で定量的判定に基づく形態学的異形成の程度（Grade of dysplasia）を区分する。ステップ VI で染色体所見の区分（Division of cytogenetic findings）を行う。ステップ VII で骨髄の芽球比率、Grade of dysplasia、Division of cytogenetic findings より診断確度（Grade of diagnostic accuracy）の評価を行い、MDS の診断確度を ‘Definite’、‘Probable’、‘Possible’ の 3 つに区分し、さらに ‘ICUS’ の区分を設ける。最終的に WHO 分類を行うこと（ステップ VIII）を原則とする。ステップ I での十分な検討にもかかわらず、MDS 以外の血球減少症の除外が困難である場合や ‘Possible’/‘ICUS’ と区分された例では、適切な観察期間での再度の評価が必要になる。‘ICUS’ と区分された例に対する再度の評価により、この ICUS の意義、ICUS と MDS との関連などが明らかになる可能性がある。

わが国においては、French-American-British (FAB) 分類⁵⁾の不応性貧血（refractory anemia, RA）に相当する MDS 症例の異形成は欧米と比較し軽微な例が多く、また血小板減少例が多いという特徴を有することが報告されており⁶⁾、骨髄生検により骨髄低形成が明らかな場合には、AA との鑑別に苦慮する症例にしばしば遭遇する。近年、発作性夜間ヘモグロビン尿症（paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH）型血球の微量存在が、免疫抑制療法の効果を予測できる高反応性マーカーとして有用であるとの報告がなされているが、AA と MDS の定型例の双方に検出されるため⁷⁾、残念ながら両疾患の鑑別の最終的な決め手にはならない。したがって現時点では骨髄低形成例については、AA と MDS の鑑別も主に形態学的所見に頼らざるを得ない。赤芽球系のみの異形成は AA においてもしばしば認められるため、他の系統（好中球系または巨核球系）の異形成がカテゴリーA と B の合計として 10%以上と未満によって機械的に評価し、これを当面、AA と低形成 MDS の暫定的鑑別法として用いることを提案する。今後の研究の発展によって両者の鑑別が何らかの遺伝子あるいは分子マーカーによって可能になり、この AA と低形成性 MDS の鑑別法の有用性についても一定の結論が導かれることが期待される。本診断確度区分により MDS (‘Definite’、‘Probable’、

‘Possible’) に区分された例の中にも、免疫抑制療法により改善する非クローン性の造血不全が含まれている可能性がある。したがって治療法を選択する際には、微少 PNH 型血球のような免疫病態マーカーの有無を参考にする必要がある。

今回我々が作成した「不応性貧血（骨髄異形成症候群）の形態学的異形成に基づく診断確度区分」は、当初は形態学的所見のみによる診断基準の作成を目標として開始され、「不応性貧血（骨髄異形成症候群）の形態学的診断基準（案）」⁸⁾として平成 18 年度総括-分担報告書に経過報告したが、その後の検討の結果、形態学的所見のみにより基準を作成するには診断確度の面で限界があるとの結論に至った。そのため「特発性造血障害に関する調査研究班」の「不応性貧血（骨髄異形成症候群）の診断基準」⁹⁾の 4-2) の「骨髄細胞の染色体異常が加われば診断の確実性が増す」という記載にしたがい、本診断確度区分には染色体所見を加えることになった。よって、染色体所見を加えたことは本班の「不応性貧血（骨髄異形成症候群）の診断基準」の基本的方向性と矛盾はなく、整合性はとれているものと御理解いただきたい。

不応性貧血（骨髓異形成症候群）の形態学的異形成に基づく診断確度区分

ステップ I : MDS の除外診断のための必要条件

基本的には、Valent らが作成した MDS の minimal criteria の prerequisite criteria⁴⁾ に準ずる。以下の A-E の項目をすべて満たす必要がある（Table 1）。

A. 1 血球系以上の持続する血球減少がある

血球減少症が 1～3 血球系に存在する。持続性の判断はおおむね 3 ヶ月とする。変動がみられる場合、6 ヶ月観察を続けて判定する（特に ICUS が疑われる場合）。

B. 末梢血と骨髓の芽球比率が 20%未満で、WHO 分類の acute myeloid leukemia with recurrent cytogenetic abnormalities で定義される染色体異常がない

原則的には骨髓の芽球比率の評価は 500 細胞以上を検鏡して行う。芽球の定義は IWG-MDS が提唱する予定の agranular blasts（FAB 分類の type 1 blasts）と granular blasts（FAB 分類の type 2 blasts と Goasguen らの提唱した type 3 blasts¹⁰⁾）にしたがう。芽球増加を伴う不応性貧血（refractory anemia with excess blasts, RAEB）は急性骨髓性白血病（acute myeloid leukemia, AML）と鑑別されなければならない。特に骨髓の芽球比率 10%以上の MDS（RAEB-2）と AML との鑑別は重要である。t(8;21) 等の WHO 分類の acute myeloid leukemia with recurrent cytogenetic abnormalities で定義される反復性染色体異常を保有する例で、骨髓の芽球比率が 20%未満の場合が時にみられるが、これらは WHO 分類の基準にしたがい芽球比率の如何にかかわらず AML と診断する。11q23 abnormalities に関する取り扱いは後述する（ステップ VI 参照）。

C. 末梢血の単球数が $1 \times 10^9/L$ 未満である

末梢血の単球数は慢性骨髓単球性白血病（chronic myelomonocytic leukemia, CMML）を除外するために重要である。単球の形態学的異形成については、その存在を指摘する報告もあるが、国際的なコンセンサスは確立していないため、FAB、WHO 両分類には採用されていない。単芽球、前単球、単球の区分について IWG-MDS で検討が進められつつある。

D. 血球減少の原因となる他の血液疾患と非血液疾患が除外できる

先天性および MDS 以外の後天性の血球減少症および非血液疾患による血球減少症の存在を精査する。遺伝性鉄芽球性貧血、MDS 以外の後天性鉄芽球性貧血、悪性貧血、各種溶血性貧血、特発性血小板減少性紫斑病などの血液疾患、ACD を有する膠原病・悪性腫瘍・感染症などを慎重に除外する必要がある。

E. 再生不良性貧血が除外できる

AA と低形成 MDS との鑑別（後述）が重要である。骨髓細胞密度の評価のためには状態が良く、適切な長さ（1.5cm 以上）の Jamshidi 針生検標本が必要である。初回の骨髓針生検標本が診断のために不適切である場合は、再度の検査を要する。骨髓細胞密度は年齢による影響を受ける。低形成は 60 歳未満では 30%未満、60 歳以上では 20%未満と定義する^{11, 12)}。細胞数が少なく、異形成の評価が困難な場合があるため、異形成の評価には必要に応じて複数の骨髓塗抹標本を用いる。塗抹標本、クロット標本、針生検標本、骨髓 MRI 等を駆使して異形成と骨髓細胞密度を判定する。赤芽球の異形成は AA でも認められるため、これのみでは MDS との鑑別はできない。

ステップ II：形態学的異形成の分類

形態学的異形成をカテゴリーA とカテゴリーB に分類する（Table 2）。

カテゴリーA の異形成

MDS に特異性が高いとされる次の 4 種類と定義する。

好中球：

- ① hypo-segmented mature neutrophils（pseudo Pelger-Huet anomaly, Pelger）

2 分葉は fine または thin フィラメントで結合し、粗大な核クロマチン構造をもつ。

- ② degranulation of neutrophils（a- or hypogranular neutrophils, Hypo-Gr）

無顆粒または 80%以上の顆粒の減少がある。

巨核球：

- ③ micromegakaryocytes（mMgk）

単核または 2 核で、サイズは前骨髓球以下である。

赤芽球：

- ④ ringed sideroblasts（RS）

核周の 1/3 以上に核に沿った鉄顆粒を認める。または核に沿って 5 個以上の明瞭な鉄顆粒を認める。後者は IWG-MDS の RS の定義である。

カテゴリーB の異形成

MDS 以外の血液疾患や ACD などでも出現し、特異性においてカテゴリーA の異形成に劣るが各血球系において 10%以上の頻度で認められる場合は、MDS が示唆される。PAS 染色標本はルーチンに作成されることは少ないため、PAS 陽性赤芽球を除く WHO 分類においてリストアップされた異形成のうち、カテゴリーA 以外のものをカテゴリーB の異形成と定義する。

ステップ III：カテゴリーA の異形成の定量的判定

骨髓メイギムザ染色塗抹標本において異形成を定量的に評価する（ringed sideroblasts の判定には鉄染色を併用する）。

判定法：

- ① hypo-segmented mature neutrophils（pseudo Pelger-Huet anomaly, Pelger）
成熟好中球 100 個以上を検鏡して、その頻度（%）をもとめる。
- ② degranulation of neutrophils（a- or hypogranular neutrophils, Hypo-Gr）
成熟好中球 100 個以上を検鏡して、その頻度（%）をもとめる。骨髓メイギムザ染色標本において Hypo-Gr が認められた場合は、必ず末梢血標本においてもそれを確認する。骨髓標本は一般に好中球の顆粒の染色が不十分な場合が多く、末梢血標本の方が顆粒染色性において優れている。Hypo-Gr のみが唯一の異形成で他の異形成が認められない場合は、それを陽性所見と判断すべきではない。
- ③ micromegakaryocytes（mMgk）
巨核球 25 個以上を検鏡して、その頻度（%）をもとめる。巨核球が少なく 25 個が検鏡できない場合は判定不能とする。ただし、巨核球を 25 個が検鏡できないものの、mMgk が 3 個以上認められる場合は（25 個検鏡できた場合に 10%以上相当となるため）mMgk は 10%以上と判定する。
- ④ ringed sideroblasts（RS）
骨髓鉄染色塗抹標本で赤芽球 100 個以上を検鏡して、RS 陽性率（%）をもとめる。

ステップ IV：カテゴリーA と B を合計した各系統の異形成の定量的判定

成熟好中球 100 個以上、赤芽球 100 個以上、巨核球 25 個以上を検鏡して、カテゴリーA と B を合計した各系統の異形成の頻度（%）をもとめる。巨核球が少なく 25 個が検鏡できない場合は判定不能とする。ただし、巨核球を 25 個検鏡できないものの、異形成のある巨核球が 3 個以上認められる場合は（25 個検鏡できた場合の 10%以上相当となるため）巨核球の異形成は 10%以上と判定する。赤芽球系に関しては、骨髓鉄染色塗抹標本で赤芽球 100 個以上を検鏡して RS 陽性率が 5%、骨髓メイギムザ染色塗抹標本で赤芽球 100 個以上を検鏡してカテゴリーB の異形成の頻度が 10%の場合は、赤芽球の異形成の頻度は 15%（5%＋10%）と判定する。

ステップ V：定量的判定に基づく形態学的異形成の程度の区分

定量的判定に基づき下記の定義で形態学的異形成の程度（Grade of dysplasia）を ‘High’、‘Intermediate’、‘Low’、‘Minimal’ に区分する（Table 3）。

High：下記の 1 または 2 と定義する。

1. カテゴリーA が好中球系で 10%以上（Pelger が 10%以上または Hypo-Gr が 10%以上）で、かつ巨核球系で 10%以上（mMgk が 10%以上）
2. カテゴリーA が赤芽球系で 15%以上（RS が 15%以上）
ただし、RS が 15%以上の所見のみで ‘High’ と判定する場合は、MDS 以外の鉄芽球性貧血の否定が必要である。

Intermediate：

カテゴリーA+B の頻度が 2～3 血球系で 10%以上

Low：

カテゴリーA+B の頻度が 1 血球系のみで 10%以上

Minimal：

カテゴリーA+B の頻度が 1～3 血球系で 1～9%

ステップ VI：染色体所見の区分

染色体所見の区分 (Division of cytogenetic findings) は下記の定義で ‘Abnormal’、‘Normal’、‘Unknown’ に区分する。

Abnormal：

MDS 特有のクローン性染色体異常*が存在する。

※MDS 特有の染色体異常は基本的には、Valent らが作成した MDS の minimal criteria の MDS-related (decisive) criteria⁴⁾ を Haase らの報告¹³⁾を基に改訂し、5q-、-7/7q-、+8、20q-、complex、others と定義する。t(8;21)(q22;q22)、t(15;17)(q22;q12)、inv(16)(p13;q22)、t(16;16)(p13;q22)は WHO 分類の定義では AML with recurrent cytogenetic abnormalities の範疇となるため、これにしたがいこの区分に含めない。

注：WHO 分類では、t(8;21)(q22;q22)、t(15;17)(q22;q12)、inv(16)(p13;q22)、t(16;16)(p13;q22)に関しては、骨髄の芽球比率が 20%未満でも AML と診断するとの記載があるが、11q23 abnormalities に関してはこの記載がない。

Normal :

染色体異常がない（正常核型）。

Unknown :

分裂細胞などが得られず不明。

ステップ VII : 診断確度区分

骨髄芽球比率、異形成の程度 (Grade of dysplasia)、染色体所見の区分 (Division of cytogenetic findings) により MDS の診断確度 (diagnostic accuracy) を ‘Definite’、‘Probable’、‘Possible’ の 3 つに区分し、さらに ‘ICUS’ の区分を設ける (Table 4)。

MDS 診断確度区分 Definite :

次の 3 つの場合と定義する。

(1) 骨髄芽球比率 : 5～19% の場合

‘High’・‘Intermediate’・‘Low’のいずれかの異形成の程度の区分であれば、染色体所見の区分は‘Abnormal’・‘Normal’・‘Unknown’にかかわらない。

(2) 骨髄芽球比率 : 0～4% の場合

‘High’・‘Intermediate’・‘Low’のいずれかの異形成の程度の区分であり、かつ染色体所見の区分が‘Abnormal’である。

(3) Grade of dysplasia: ‘High’の場合

骨髄の芽球比率が 0～19%であれば、染色体所見の区分は‘Abnormal’・‘Normal’・‘Unknown’にかかわらない。

MDS 診断確度区分 Probable :

骨髄芽球比率が 0～4%、異形成の程度の区分は‘Intermediate’で、染色体所見の区分は‘Normal’または‘Unknown’の場合。

MDS 診断確度区分 Possible :

骨髄芽球比率が 0～4%、異形成の程度の区分は‘Low’で、染色体所見の区分は‘Normal’または‘Unknown’の場合（ただし、骨髄が低形成の場合は後述する基準により、AA と低形成 MDS を鑑別する必要がある）。

ICUS :

Valent らが作成した ICUS の criteria⁴⁾ に準じ、下記のように定義する。

十分な除外診断が必須で、6 ヶ月以上持続する 1～3 血球系の血球減少症を認める。骨髓は正～過形成で芽球比率は 0～4%、染色体所見の区分は‘Normal’または‘Unknown’であり、異形成の程度の区分は‘Minimal’あるいは異形成を認めない。

臨床的には‘ICUS’に区分された例は 6 ヶ月ごとに精査をくり返し、MDS の区分基準を満たした時点で MDS に区分を変更する。‘Possible’に区分された例も診断の確認のために 6 ヶ月後の精査を要する。

ステップ VIII. WHO 分類の実施

現在の WHO 分類の基準に準拠する。今後改訂があれば変更する。‘Possible’に区分された例での初回の診断は暫定的なものとする。適切な観察期間（6 ヶ月間）での再検査により診断を確定する。

補遺：再生不良性貧血（AA）と低形成 MDS の暫定的鑑別法

骨髄細胞密度の判定法

理想的には、胸骨と腸骨の2箇所の穿刺吸引と腸骨の骨髄生検（Jamshidi 針生検）、および骨髄 MRI（脊椎骨）を実施することが望ましい。骨髄生検標本は状態が良く、適切な長さ（1.5cm 以上）であることが必要である。骨髄 MRI は骨髄細胞密度の判定に補助的に用いる。骨髄 MRI を施行できない施設では、胸骨および腸骨の穿刺吸引で骨髄クロット標本を作成し、腸骨で骨髄生検を実施すれば、骨髄細胞密度の判定は十分確実なものとなる。骨髄 MRI が実施可能な施設では、腸骨の骨髄クロット標本と骨髄生検標本での骨髄細胞密度の評価と骨髄 MRI の所見により、十分な判定が可能である。巨核球の減少がある場合は、骨髄が低形成の可能性があると考えられる。したがって巨核球の減少があるも骨髄の低形成が組織学的に確認できない場合には、部位を変えて再度骨髄検査を行い、骨髄細胞密度を慎重に判定する必要がある。健常人においても高齢者では、腸骨の骨髄細胞密度が低下するため、高齢者の骨髄低形成の判定には複数の部位からの骨髄穿刺や骨髄生検が必要である。

骨髄生検標本/骨髄クロット標本により、低形成（骨髄系細胞が 60 歳未満で 30%未満、60 歳以上で 20%未満）、正形成（骨髄系細胞が 60 歳未満で 30～59%、60 歳以上で 20～59%）、過形成（骨髄系細胞が 60%以上）と判定する。

AA:

- ・骨髄細胞密度は上記の基準で低形成である。
- ・好中球系と巨核球系でカテゴリーA+B の頻度が 10%未満である。
- ・赤芽球系にカテゴリーA+B の異形成を 10%以上の頻度で認めることがある。
※赤芽球系の異形成は再生不良性貧血でもしばしば認められる。また、再生不良性貧血の非重症例では低頻度のカテゴリーA+B の異形成が好中球においても認められることがある。
- ・巨核球は通常著減しており、異形成の有無を評価できないことが多い。
- ・abnormal localization of immature precursors (ALIP) を認めない。
- ・骨髄の芽球比率は 5%未満である。
- ・低頻度の染色体異常は再生不良性貧血でも認められることがある。
※低頻度の染色体異常は、骨髄細胞に明らかな異形成がなく、免疫抑制療法によって改善し、その後に MDS への移行がない再生不良性貧血例でも認められることがある。

低形成 MDS:

- ・ 骨髓細胞密度は上記の基準で低形成である。
- ・ 再生不良性貧血が否定されたうえで、MDS の診断確度区分で‘Definite’、‘Probable’、‘Possible’のいずれかにあてはまる。

※ただし、10%以上の頻度の赤芽球系の異形成（カテゴリーA+B）は再生不良性貧血でもしばしば認められるため、骨髓が低形成の場合はこれのみでは MDS 診断確度区分の‘Possible’にはできない。好中球系と巨核球系の異形成の評価を注意深く行うことが必要である。

Table 1. 骨髄異形成症候群の診断のための必要条件

必要条件
A. 下記の基準を満たす 1 系統以上の持続する血球減少： ヘモグロビン濃度 <11 g/dL 好中球数 <1,500/μL 血小板数 <100,000/μL B. 末梢血と骨髄の芽球比率が 20%未満かつ Acute myeloid leukemia with recurrent cytogenetic abnormalities で定義される染色体異常*がない C. 末梢血の単球数が 1×10^9/L 未満 D. 血球減少の原因となる他の血液疾患および非血液疾患の除外 E. 再生不良性貧血の除外 骨髄が低形成の場合に、形態学的所見と染色体所見を参考に検討する A-E をすべて満たす
* t(8;21)(q22;q22); (AML1/ETO), t(15;17)(q22;q12); (PML/RARα), inv(16)(p13;q22) または t(16;16)(p13;q22); (CBFβ/MYH11) とする。 注：11q23 (MLL) abnormalities はここに含めない。

Table 2. 形態学的異形成の分類

カテゴリー A
- Granulocytic series hypo-segmented mature neutrophils (Pelger) degranulation (a- or hypogranular neutrophils: Hypo-Gr) - Megakaryocytic series micromegakaryocytes (mMgk) - Erythroid series ringed sideroblasts (RS)
カテゴリー B
- Granulocytic series small size hypersegmentation pseudo Chediak-Higashi granule - Megakaryocytic series non-lobulated nuclei multiple, widely-separated nuclei - Erythroid series nucleus budding internuclear bridging karyorrhexis multinuclearity megaloblastoid change cytoplasm vacuolization

Table 3. 定量的判定に基づく異形成の程度の区分

High
High は下記の 1 または 2 と定義する
1. Pelger $\geq$ 10% または Hypo-Gr $\geq$ 10% で、mMgk $\geq$ 10%
2. RS $\geq$ 15%
Intermediate
2～3 系統で異形成(カテゴリー A と B の合計) $\geq$ 10%
Low
1 系統で異形成(カテゴリー A と B の合計) $\geq$ 10%
Minimal
1～3 系統で異形成(カテゴリー A と B の合計)=1～9%
Pelger : hypo-segmented mature neutrophils
Hypo-Gr :degranulation (a- or hypogranular neutrophils)
mMgk : micromegakaryocytes RS: ringed sideroblasts

Table 4. 診断確度区分

診断確度区分	骨髄芽球の比率 (%)	異形成の程度の区分	染色体所見の区分
MDS Definite	5～19	High, INT, Low	Any
	0～4	High, INT, Low	Abnormal
	0～4	High	Any
MDS Probable	0～4	INT	Normal or Unknown
MDS Possible	0～4	Low	Normal or Unknown
ICUS	0～4	Minimal or None	Normal or Unknown

INT : Intermediate ICUS : idiopathic cytopenia of uncertain significance

参考文献

- 1) Hadnagy C, Laszlo GA. Acquired dyserythropoiesis in liver disease. *Br J Haematol* 1991; **78**: 283.
- 2) Karcher DS, Frost AR. The bone marrow in human immunodeficiency virus (HIV)-related disease. Morphology and clinical correlation. *Am J Clin Pathol* 1991; **95**: 63-71.
- 3) Brunning RD, Head D, Bennet JM, et al. Myelodysplastic syndromes. ed. Jaffe ES, Harris NL, Stein H et al. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics, Tumour of Haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon, 2001; 62-73.
- 4) Valent P, Horny HP, Bennett JM, et al. Definitions and Standards in the Diagnosis and Treatment of The Myelodysplastic Syndromes: Consensus Statements and Report from a Working Conference. *Leuk Res* 2007; **31**: 727-736.
- 5) Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; **51**: 189-199.
- 6) Matsuda A, Germing U, Jinnai I, et al. Difference in clinical features between Japanese and German patients with refractory anemia in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2005; **106**: 2633-2640.
- 7) Wang H, Chuhjo T, Yasue S, et al. Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome. *Blood*. 2002; **100**: 3897-3902.
- 8) 松田晃、別所正美、陣内逸郎他. 不応性貧血（骨髄異形成症候群）の形態学的診断基準（案）. 特発性造血障害に関する調査研究班平成 18 年度総括-分担報告書. 75-76, 2007.
- 9) 不応性貧血（骨髄異形成症候群）の診断基準と診療参照ガイド作成のためのワーキンググループ. 不応性貧血（骨髄異形成症候群）診療の参照ガイド. 特発性造血障害に関する調査研究班平成 14 年度～16 年度総合研究報告書. 129-153, 2005.
- 10) Goasguen J, Bennett J, Cox C, et al. Prognostic implication and characterization of the blast cell population in the myelodysplastic syndrome. *Leuk Res*. 1991; **15**: 1159-1165.
- 11) Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, et al. Bone marrow cellularity in myeloid stem-cell disorders: impact of age correction. *Leuk Res* 1994; **18**: 559-564.
- 12) Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, et al. Hypocellular myelodysplastic syndromes (MDS): new proposal. *Br J Haematol* 1995; **91**: 612-617.
- 13) Haase D, Germing U, Schanz J, et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*. 2007; **110**: 4383-4395.

第二部

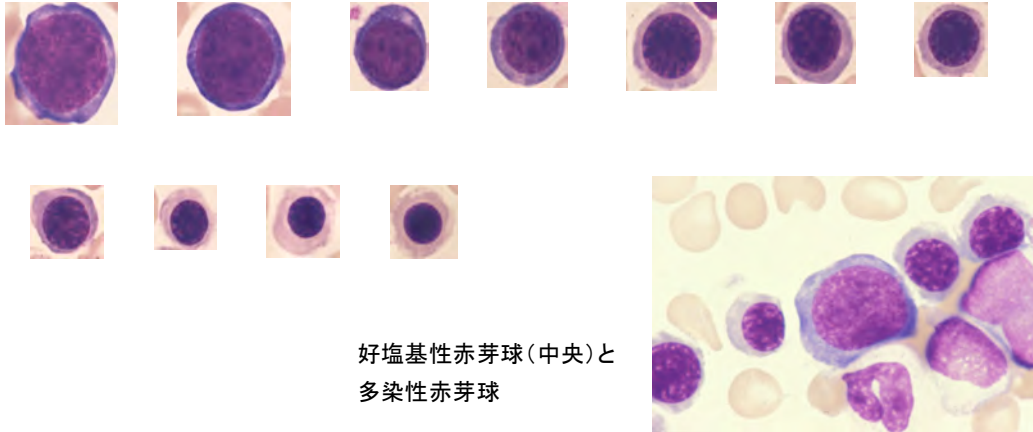
不応性貧血（骨髓異形成症候群）の 形態診断アトラス

代表責任者

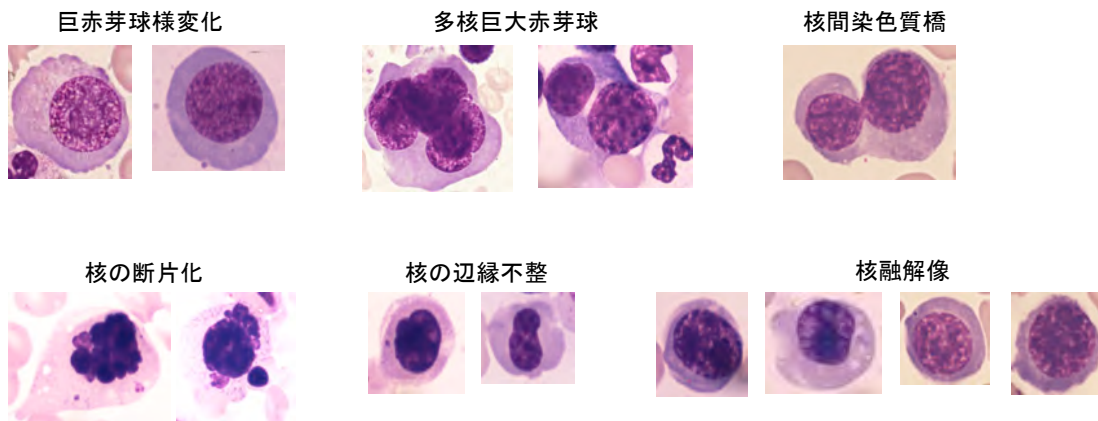
朝長万左男（長崎大学原爆後障害医療研究施設分子医療研究分野）

I. 赤芽球系形態

(1) 正常骨髓における赤芽球の成熟段階

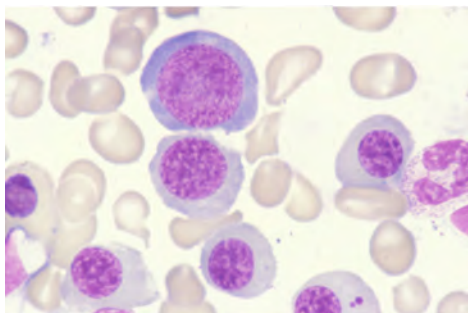
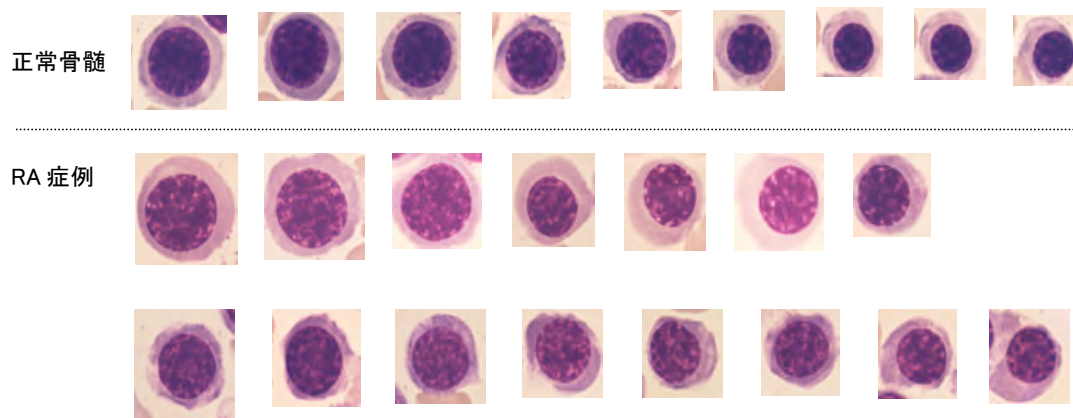


(2) MDSにみられる赤芽球形態異常



巨赤芽球様変化とは細胞質の成熟度に対して核の成熟度が遅れることで、正常より小さい顆粒クロマチン構造が核に均等に分布し、典型的なものはスポンジ状と表現される。多核巨大赤芽球は大型で 2 核以上を有する。クロマチン粒子の大小不同が著しく不均等に分布する。核間染色質橋は 2 個の細胞で核が繋がっている状態をさす。核の断片化はアポトーシス様形態をとるものでカリオレキシスとも呼ばれる。核辺縁の不整もみられる。クロマチンの異常凝集やクロマチン構造の崩壊像を核融解像と名付けた。

(3) 多染性赤芽球にみられる核融解像

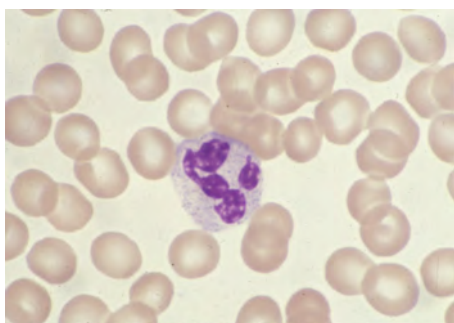


MDS の赤芽球における核融解像は、多染性赤芽球においてよくみられる。判定には染色状態が良好な標本を用いる。

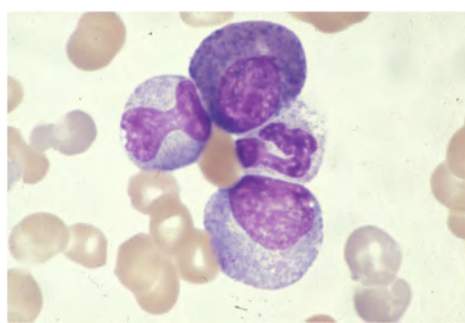
悪性貧血にみられる巨赤芽球は細胞質が広く、サイズがいずれも正常赤芽球の 125% 程度に大きい。細胞質のヘモグロビン合成の進行はほぼ正常だが、核のクロマチン凝集が遅延し、スポンジ状になる。左の写真において、右下の細胞には Howel-Jolly 小体が観察される。

II. 顆粒球系形態

(1) 正常末梢血・骨髓における顆粒球



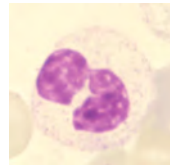
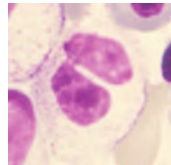
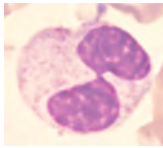
正常好中球



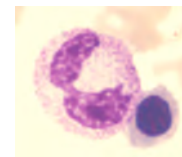
正常骨髓顆粒球

(2) MDS にみられる好中球形態異常

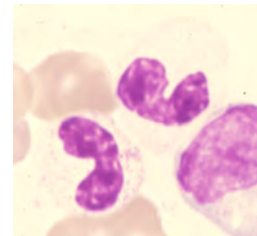
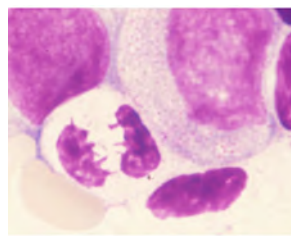
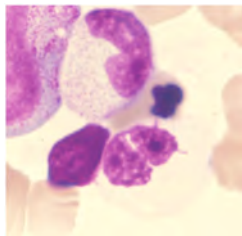
偽ペルゲル核異常・低分葉好中球



偽ペルゲル核異常としない



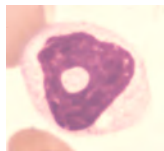
脱顆粒



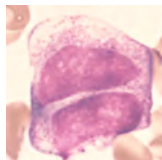
過分葉



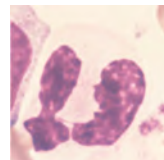
輪状核



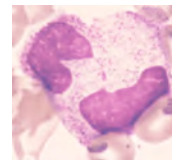
2 核骨髓球



低顆粒巨大好中球



巨大好中球



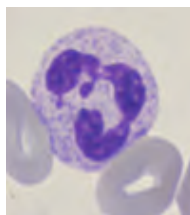
典型的な偽ペルゲル核異常は鼻眼鏡状と表現される核を示す。広くは、粗大な核クロマチン構造を持ち、分葉部分の幅が $1/3$ より細ければ偽ペルゲル核異常としてよいと考えられる。脱顆粒好中球は顆粒が消失したもので、過分葉核は 6 葉以上に分葉したものをさす。細胞の巨大化、輪状核好中球、複数核好中球なども認められる。顆粒球系の形態異常では、偽ペルゲル核異常と脱顆粒が診断特異度が高い。

(参考) クロマチン染色パターンによる好中球分類

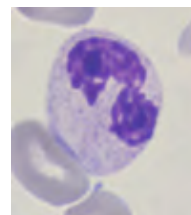
Type 1



Type 2



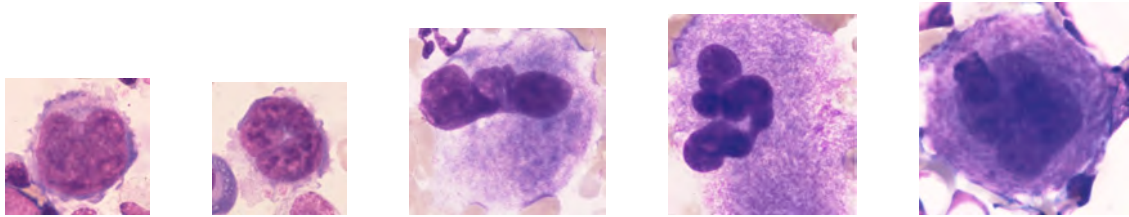
Type 3



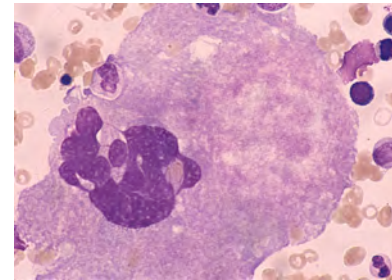
MDS においては好中球の核クロマチン染色パターンにも変化が生ずる。比較的均一なクロマチンを示し核の輪郭がスムーズなものを Type 1 とし、粗大粒状にクロマチンの濃染を示すが核の輪郭に不整がないものを Type 2、ブロック状にクロマチンが濃染し核の輪郭に不整があるものを Type 3 とする。MDS では Type 3 が増えてくる。ただし、このパターンは染色状態に大きく左右されるので、標本の状態を十分に吟味してから判定する必要がある。

III. 巨核球系形態

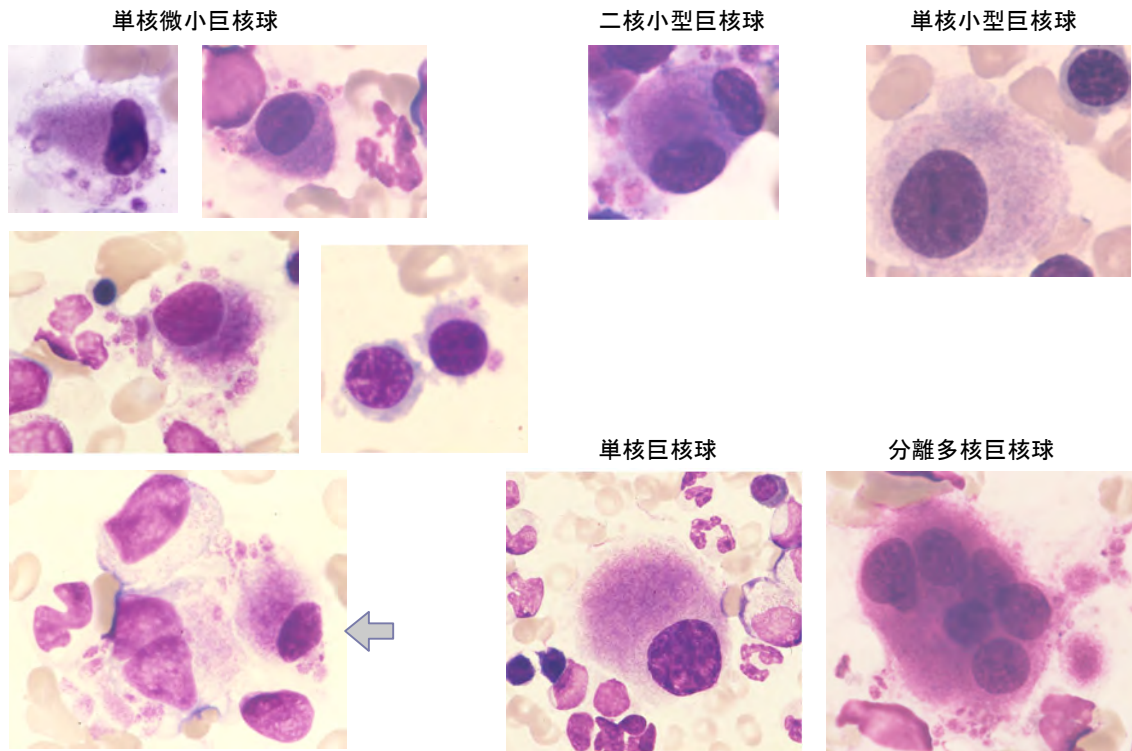
(1) 正常骨髓における巨核球の成熟段階



左上の 2 個は小型で、前巨核球と呼ばれる未熟な巨核球である。核は DNA 合成を繰り返すが細胞は分裂しない、いわゆる endoreduplication をくり返して大型化し、右下のようなフィラメントでつながった多核かつ巨大な細胞となる。成熟巨核球では光顕にて血小板の顆粒が観察されるが、前巨核球ではまだ血小板生成が見られない。下記の微小巨核球では血小板形成が観察され、明らかに異なる。



(2) MDS にみられる巨核球形態異常

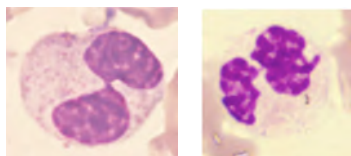


微小巨核球は前骨髄球以下のサイズで、単核または時に 2 核を示す。前骨髄球より大きいものは小型巨核球と呼ばれ、単核が多く、サイズは前骨髄球の 2 倍程度から正常巨核球の 1/2 程度。分離多核巨核球の大きさは小型から正常大までで、3～10 個程度の分離した円形核を有する。微小巨核球は診断特異度が高い。

IV. 異形成のカテゴリー分類

(1) カテゴリーA の異形成

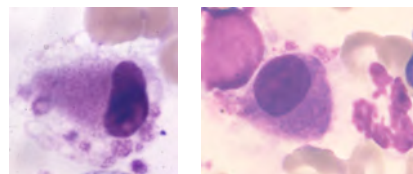
低分葉成熟好中球



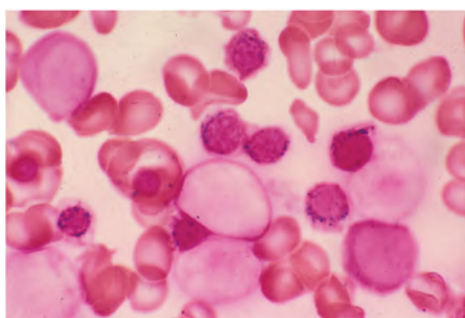
脱顆粒好中球



微小巨核球



環状鉄芽球



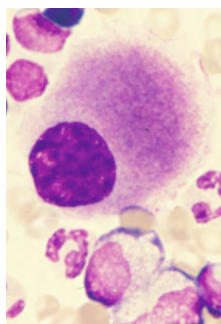
好中球では「低分葉成熟好中球」と「脱顆粒好中球」を、巨核球では「微小巨核球」を、赤芽球系では「環状鉄芽球」を MDS における特異性が高いものとしてカテゴリーA の異形成とし、その他の WHO 分類にリストアップされた形態異常(PAS 陽性赤芽球は除く)をカテゴリーB の異形成とする。

(2) 代表的なカテゴリーB の異形成

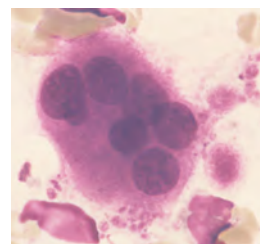
過分葉好中球



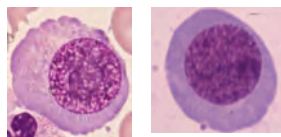
単核巨核球



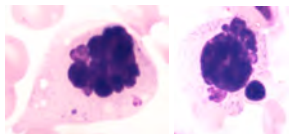
分離多核巨核球



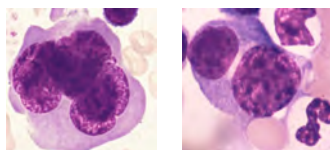
巨赤芽球様変化



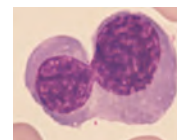
核の断片化 (赤芽球)



多核赤芽球



核間染色質橋 (赤芽球)



V. 定量的判定に基づく形態学的異形成の程度の区分

◆ High: 下記の 1 または 2 と定義する。

1. カテゴリーA が好中球系で 10%以上 (低分葉成熟好中球が 10%以上または脱顆粒好中球が 10%以上) で、かつ巨核球系で 10%以上 (微小巨核球が 10%以上)
2. カテゴリーA が赤芽球系で 15%以上 (環状鉄芽球が 15%以上)

◆ Intermediate:

カテゴリーA+B の頻度が 2~3 血球系で 10%以上

◆ Low:

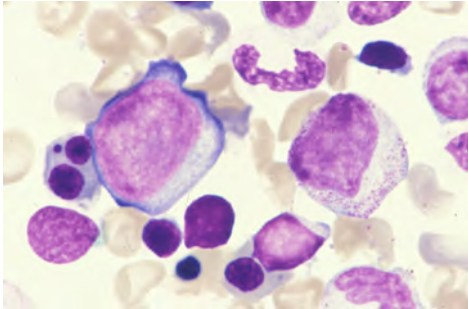
カテゴリーA+B の頻度が 1 血球系のみで 10%以上

◆ Minimal:

カテゴリーA+B の頻度が 1~3 血球系で 1~9%

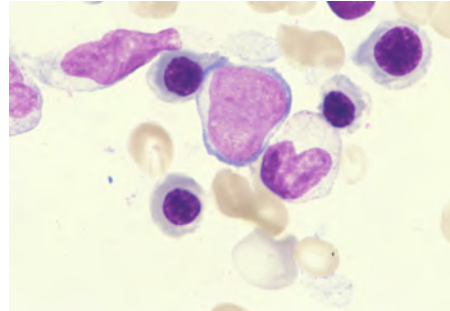
VI. 芽球の判定

顆粒を持たない芽球（左側）



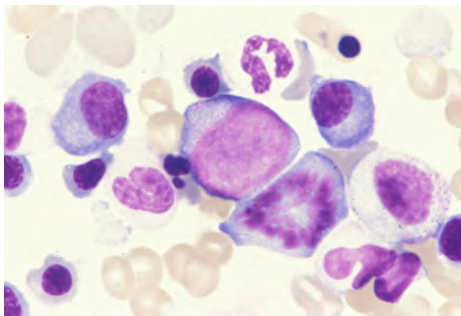
左に骨髓芽球が、右に前骨髓球が観察される。骨髓芽球はサイズが大きく、核はやや偏在して核網は繊細網状である。核小体は見えない。細胞質は比較的豊富だが顆粒は認めない。正常の骨髓芽球では核小体は目立たない。

顆粒を持たない芽球



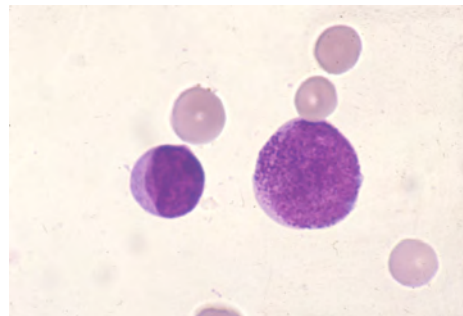
中央の骨髓芽球は細胞質は少なく、顆粒を認めない。

顆粒を有する芽球



芽球はやや細胞質に乏しく、アズール（青紫色）顆粒を 10 個程度認める。

顆粒を持たない芽球（左側）と顆粒を有する芽球（右側）

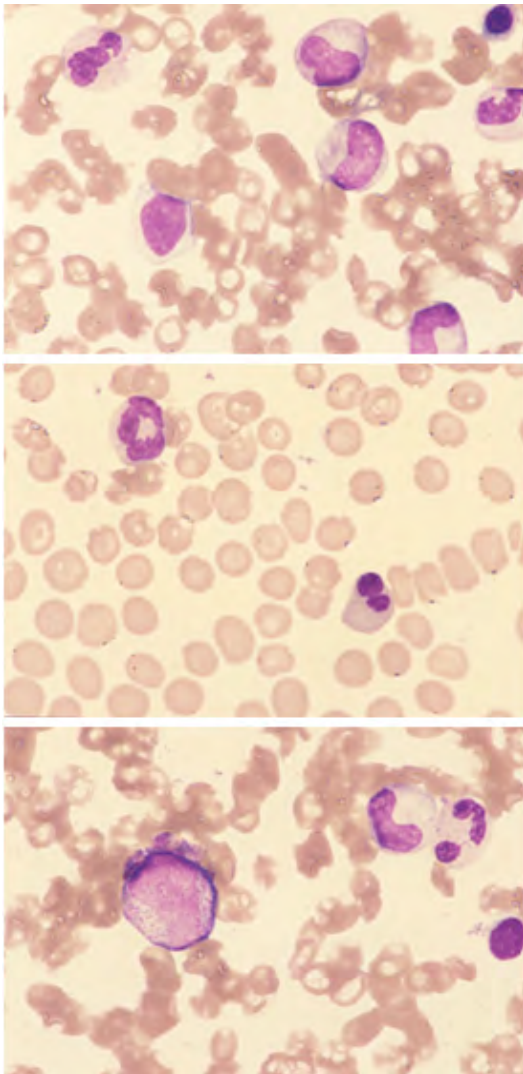


AML 患者にみられた芽球。右側の芽球には小型の核小体が数個観察される。核の上の部分を含めかなりの数のアズール顆粒を認める。その左の細胞は超小型の芽球で核にくぼみがみられ、顆粒は認められない。

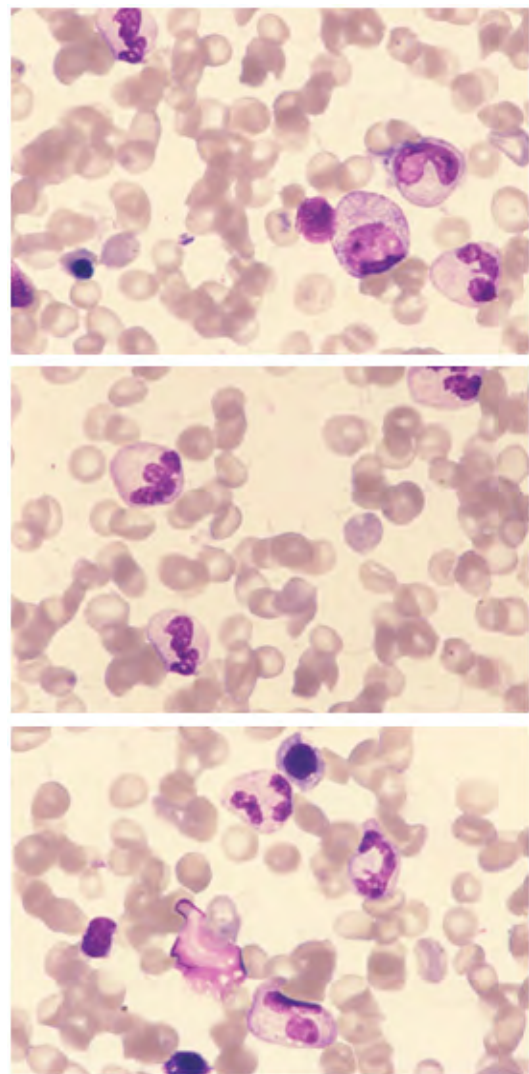
VII. May-Grunwald Giemsa 染色性による細胞形態の差

－ 同一の重症再生不良性貧血例による比較 －

十分な風乾後に染色



乾燥が不十分なまま染色



重症再生不良性貧血の症例で、左列は標本作成後翌日まで十分に乾燥させた後に、右列は骨髓穿刺直後にまだ十分に乾燥していないままMGG染色をした。右列では赤血球の色合いが不良で、分節核好中球のクロマチン凝集が異常に強く見え、骨髓異形成症候群の異形成と誤る可能性がある。左列では好中球のクロマチン凝集は正常で、異形成は全くみられない。左列中段写真のように、再生不良性貧血でも2核の赤芽球が時にみられるが、MDSと診断できる異形成はない。

VIII. 代表的な症例と血球形態

(1) RA

(2) RCMD

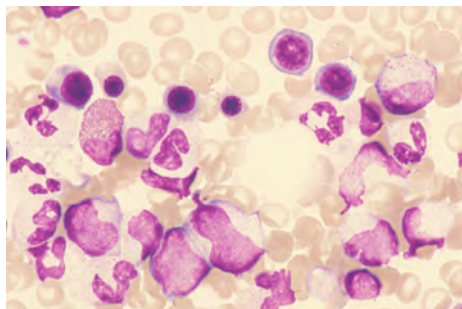
(3) RAEB

(4) RCMD-RS

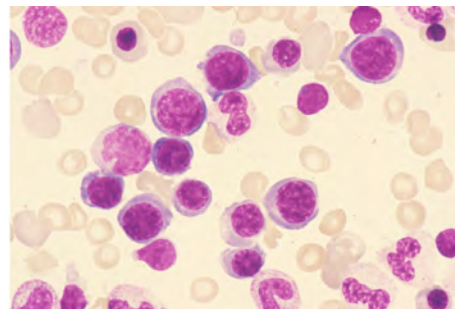
(5) 5q-症候群

(参考) その他の血液疾患にみられた異形成

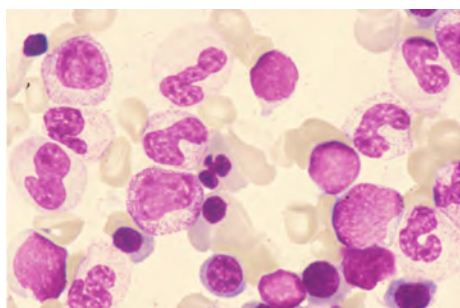
(1) RA (Refractory Anemia) 例



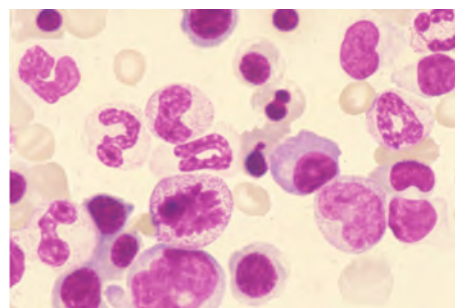
WHO-RA (Possible) として経過観察中。正常と判定される好中球は右下の3個で、他は分葉、クロマチン構造に異常を認める。汎血球減少を認め、二次性貧血を説明できる疾患がない。



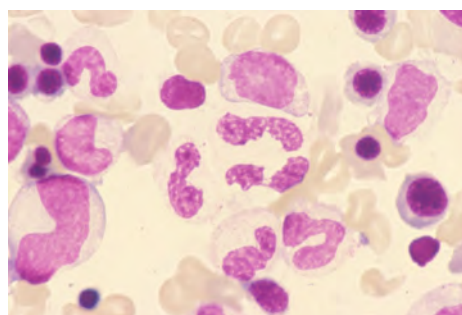
WHO-RA (Possible) または ICUS。経過観察中。赤芽球の1/3にクロマチン構造の異常を認める。好中球の核にもクロマチン構造の異常を認めるが、10%は超えない。2血球減少を認める。



WHO-RA (Possible) または ICUS として経過観察中。汎血球減少を認めるが、二次性を思わせる基礎疾患を全く見いだせない。骨髓細胞の染色体は正常核型。

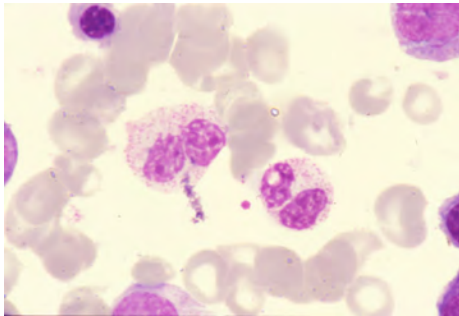


WHO-RA (Possible) または ICUS。一部の赤芽球で細胞質にヘモグロビンのない領域が存在する。こうした例では鉄染色が必須となる。この例では環状鉄芽球は増加していなかった。左上の好中球は脱顆粒が著明。

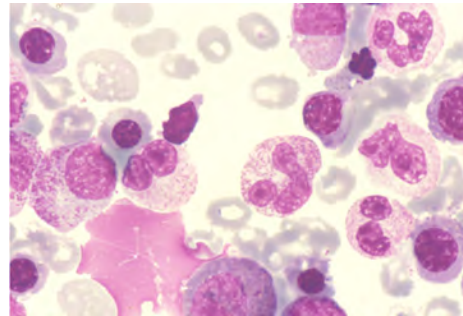


WHO-RA (Possible) または ICUS の異形好中球。中央の2個では、クロマチンが融解している。右側の好中球は巨大で、脱顆粒も著明。

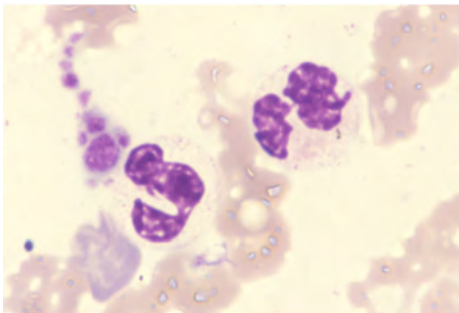
(2) RCMD (Refractory Cytopenia with multilineage dysplasia) 例



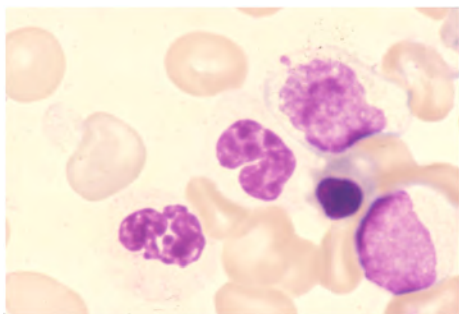
典型的な偽ペルゲル核異常を持つ2個の好中球。



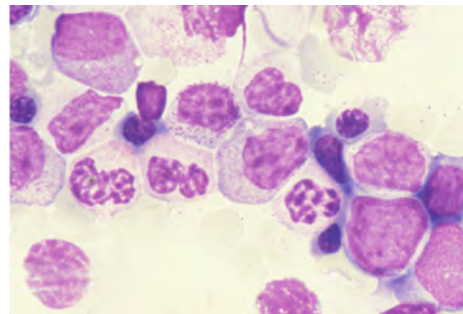
異常好中球。めがね状を含む低分葉好中球を認める。



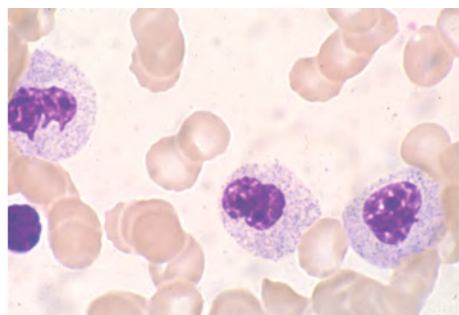
(左写真) 異常好中球。皮下膿瘍合併時にG-CSFと抗生剤が投与されたが、逆に悪化した。生検の結果、Sweet症候群(異常好中球の浸潤による無菌性膿瘍)と判明し、ステロイド投与により軽快した。MDSの好中球は様々な異常性を持つと思われる。



好中球の核クロマチンの粗大化と脱顆粒(右は完全、左は部分的な脱顆粒)。

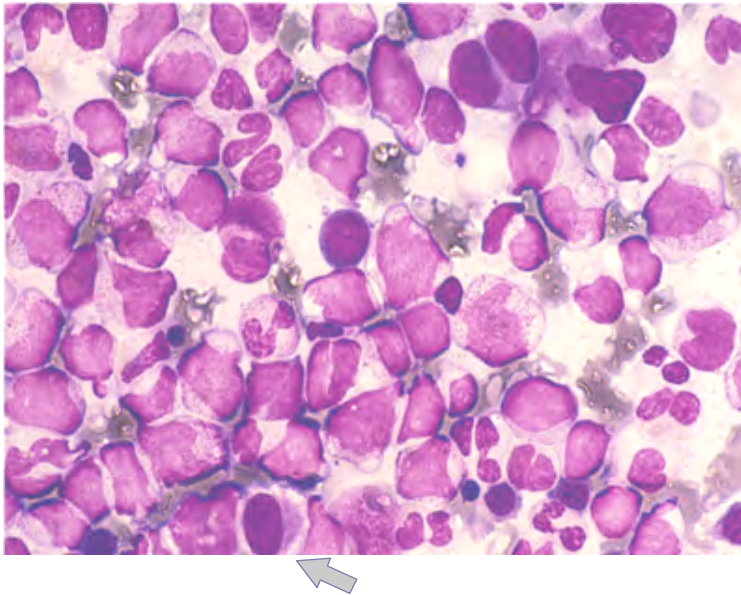


好中球の核クロマチン粗大化が著しい。異常好中球は同時に低分葉である。

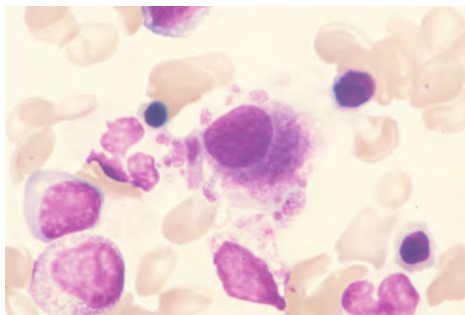


(左写真) 強い好中球偽ペルゲル核異常。低分葉で核クロマチン構造は粗造である。

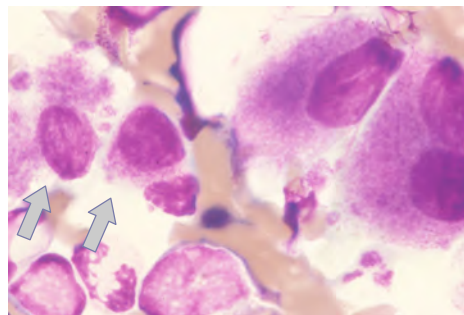
(3) RAEB(RA with excess blasts)例



芽球の増加を伴う症例。WHO分類のRAEBと診断される。RAEBは骨髓中の芽球の%によってRAEB-1(芽球5~9%)、-2(芽球10~19%)に分けられる。矢印は微小巨核球。

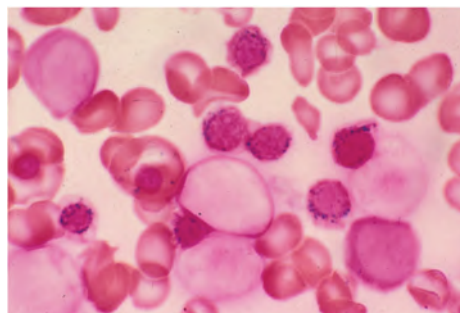
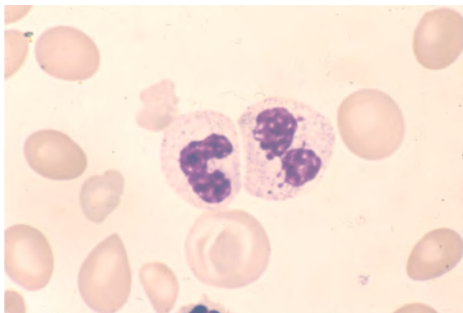


微小巨核球。単核で血小板形成を認める。

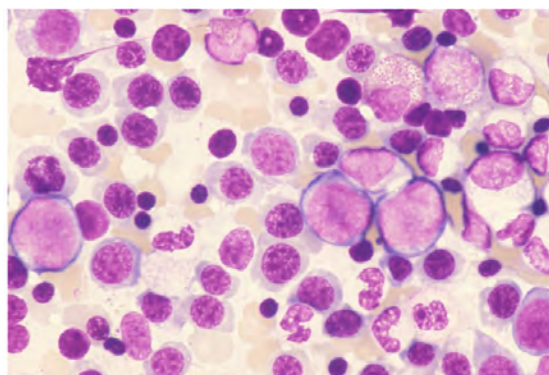


微小巨核球(矢印)を含む巨核球系細胞の増殖。

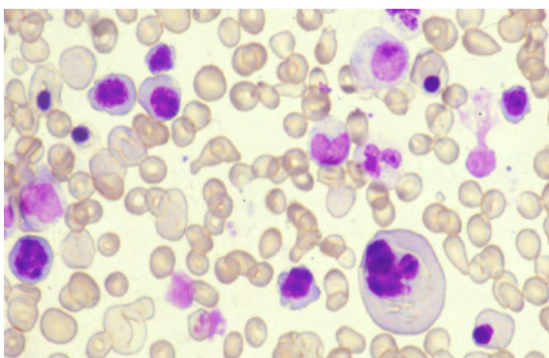
(4) RCMD-RS 例



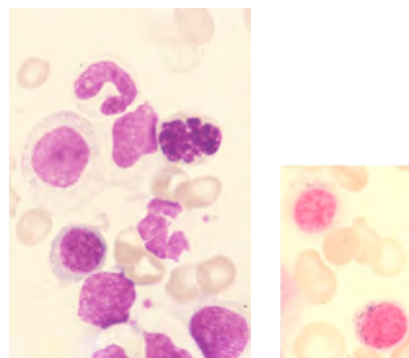
好中球に強い低分葉傾向と核クロマチンの粗大化を認める。鉄染色(右側写真)では、左から2番目の細胞で核周より離れて鉄顆粒がみられるが、これは環状鉄芽球とは呼ばない。他の赤芽球では核周に5個以上の鉄顆粒沈着がみられ環状鉄芽球と判定される。



上記とは別の症例。赤芽球は過形成で、少なくとも30%以上に巨赤芽球様変化が認められる。赤芽球の核クロマチン融解像も多数みられる。好中球には低分葉、核クロマチンの粗大化がみられる。

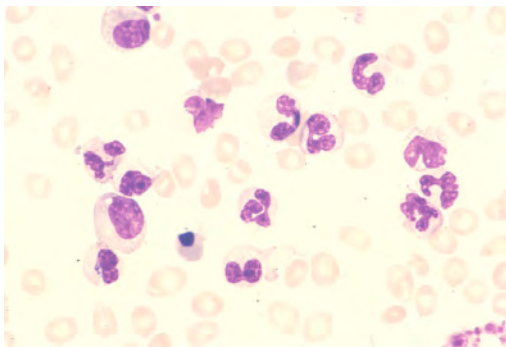
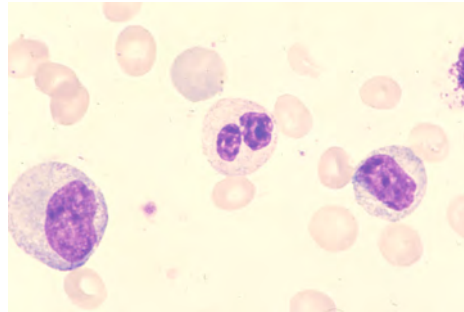
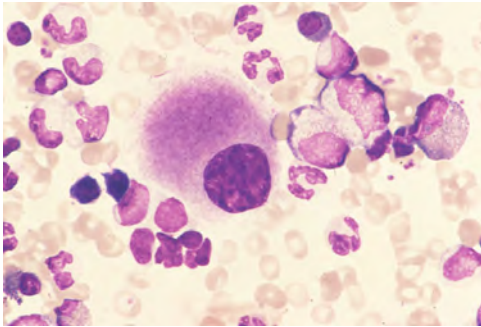


上の2例とは別の症例。赤芽球の核異形が強い。

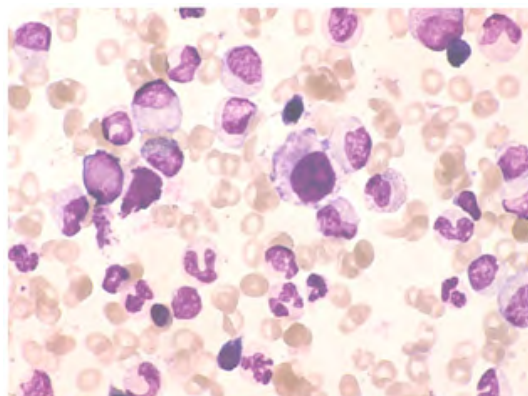


赤芽球の核異形、好中球の脱顆粒がみられる。鉄染色(右側写真)では環状鉄芽球が確認できる。

(5) 5q-症候群例



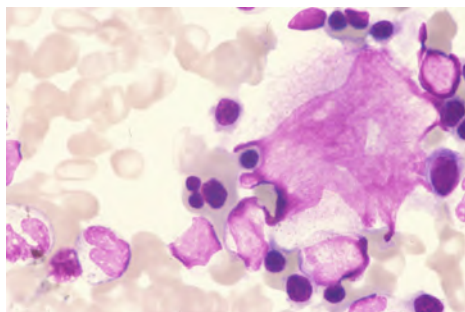
65才、女性。10年以上にわたる輸血依存があるが、AMLへの進展はない。Hb 6.5g/dl (MCV 98), WBC 3200, Plt 28万、骨髓は赤芽球がやや少なく、顆粒球が多い。好中球には低分葉のものを10%以上認め、核クロマチンの粗大化が多く、好中球でみられる。巨核球は増加し、ほとんどが単核である。



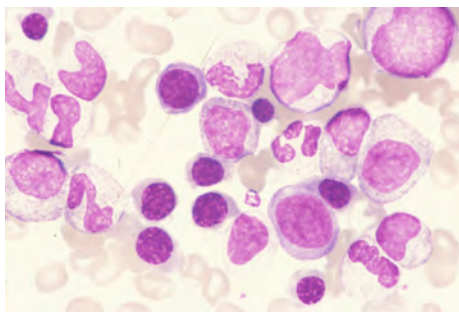
別の症例。単核巨核球が観察される。

(参考) 他の血液疾患にみられた血球異形成

〈再生不良性貧血〉

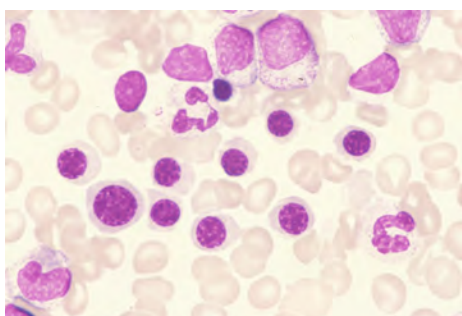


中等症再生不良性貧血。免疫抑制療法後に寛解した症例の初診時標本。重症 AA では通常、巨核球はほとんど観察できないが、中等症と軽症例ではまれに巨核球が少数残存するのが確認できる。その形態は正常である。しかし赤芽球では三つ葉様の核のくびれを持つ赤芽球が中央部に1個みられる。

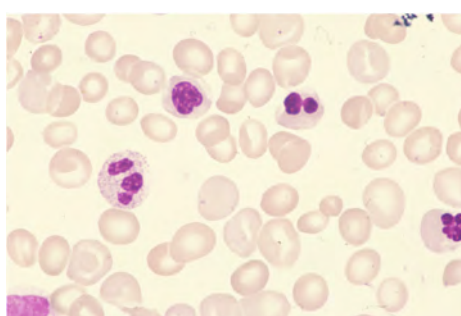


同一例。他の視野では、全く形態異常を指摘できない。

〈発作性夜間ヘモグロビン尿症〉



赤芽球と顆粒球に異形成は全くみられない。



同一例。別の視野ではごく軽度の巨赤芽球様変化と、核の辺縁不整を少数観察できる。

再生不良性貧血と発作性夜間ヘモグロビン尿症でも、赤芽球を中心に10%未満の細胞には軽度異常がみられる。これに対して、MDSでは10%以上の細胞に明瞭な異形成がある上に、大部分の細胞に程度の差はあれ、軽度異形成を種々認め、正常形態には見えない。

あとがき

1982 年の French-American-British (FAB) グループによる骨髄異形成症候群 (Myelodysplastic syndromes, MDS) の疾患概念の提唱と分類は、この複雑な病態を有する疾患群の理解と診療・研究の発展に大きく貢献してきた。その後、MDS の分類は 2001 年の WHO 分類へと進化している。現在では、血液専門医のみならず、一般臨床医においても骨髄異形成症候群は血球減少例において鑑別すべき疾患として広く認知されるようになった。骨髄異形成症候群は人口の高齢化に伴い、比較的頻度の高い疾患となってきた。

染色体・遺伝子研究の進展により、骨髄異形成症候群の全貌が次第に明らかにされてきたが、骨髄異形成症候群に共通的な生物学的指標は未だ明らかではない。したがって、臨床の現場において MDS の診断は依然として形態学に依存するところが強い。しかし、形態学的所見の判定については主観的要素が強く反映し、その判定基準も国際的コンセンサスが十分に確立しているといえる状況ではない。今回われわれが作成した「不応性貧血(骨髄異形成症候群)の形態学的異形成に基づく診断確度区分」と「形態診断アトラス」は、共同鏡検と討論を基に、過去の報告と International Working Group on MDS Morphology (IWG-MDS) の方向性などを加味して作成され、その目的は臨床の現場において、骨髄異形成症候群の診断精度を高めることにある。「不応性貧血(骨髄異形成症候群)の形態学的異形成に基づく診断確度区分」と「形態診断アトラス」が、血液専門医と血液検査に従事する臨床検査技師にとって、臨床の現場における手引きとなることを願う。

平成 20 年 1 月

朝長万左男
松田 晃



厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
特発性造血障害に関する調査研究班

自治医科大学内科学講座血液学部門

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺3,311-1

TEL: 0285-58-7353 FAX: 0285-44-5258

URL: <http://www.jichi.ac.jp/zoketsushogaihan>

