

赤白血病(AML-M6)における染色体核型、TP53免疫組織化学染色および赤芽球形態の検討

パナソニック健康保険組合 松下記念病院
中央臨床検査部
塩崎 尚子

緒言

- 赤白血病(AML-M6)は染色体核型が重要な予後因子とされる。
- 染色体複雑核型を有するAMLや骨髄異形成関連AMLにおいて、TP53遺伝子変異は予後因子として注目されている。
- AML-M6aの3症例で染色体核型、TP53免疫組織化学染色性、赤芽球形態を比較し、予後因子について検討した。

赤白血病 (AML-M6a)

- 骨髄有核細胞の50%以上が赤芽球で、かつ赤芽球以外の細胞の20%以上を骨髄芽球が占める。
- 各段階の赤芽球が存在するが、未分化なものが多い。骨髄は過形成で、しばしば非常に大型の細胞が観察される。
- 巨赤芽球様変化や核分裂異常などの異形成を認める。

TP53遺伝子

- TP53遺伝子は癌抑制遺伝子。
- 諸種の悪性腫瘍において一方のallele欠失(ないし不活性化)、他の一方のallele点突然変異を認める。
- 点突然変異TP53蛋白は代謝を受け難く、核内に長時間残存する。
- TP53蛋白免疫染色でしばしば悪性腫瘍の核は陽性に染まる。

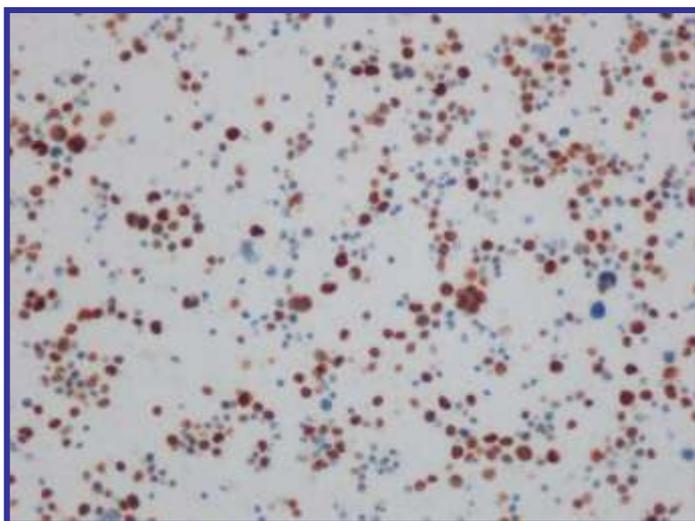
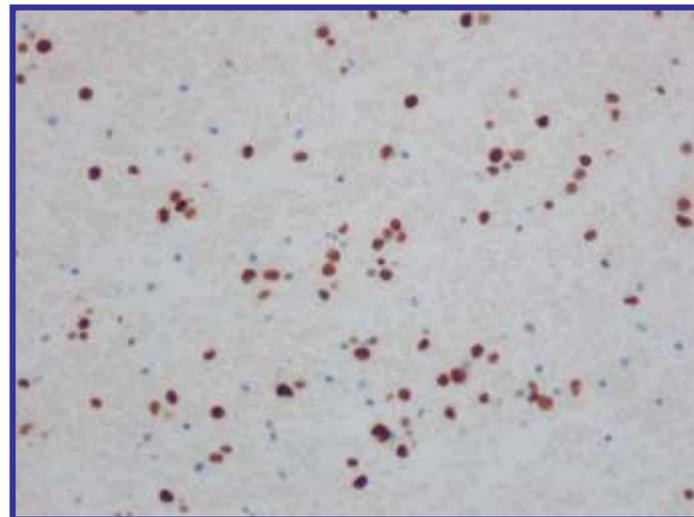
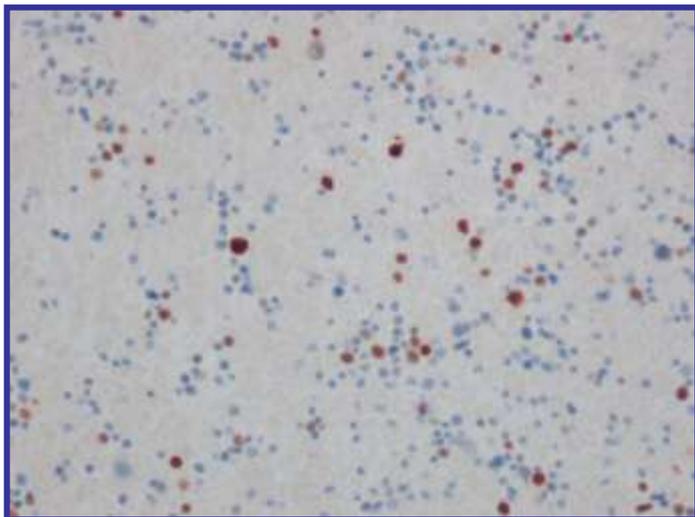
方法

- 染色体核型分析は骨髓液検体を用い、G- banding法(SRL社)で行った。
- TP53免疫組織化学染色は骨髓クロット標本(ノボカストラ社抗体)を用いた。TP53染色性は陽性率<1%(Grade0)、1-9%(Grade1)、10-20%(Grade2)、20%<(Grade3)の4群に分類した。

結果

症例		1	2	3
年齢/性別		50代, 女性	60代, 男性	50代, 男性
骨髓	細胞数 (× 10 ⁴ /μ l)	26.9	5.8	15.0
	芽球% (ANC)	6.4	3.6	4.6
	芽球% (NEC)	25.0	20.9	52.0
	赤芽球%	72.0	75.8	88.2
	TP53 Grade	Grade2 (14.2%)	Grade3 (51.5%)	Grade3 (45.0%)
	染色体核型	44,XX,del(5)(q?),-7,-9, inv(9)(p12q13),-12,-18,- 20,+mar1,+mar2,+mar3,1~8dmin 【15】	A: 47,XY,add(3)(p11)del(6)(q?), add(13)(q32),-14,-17, add(19) (p13),+21,+der(?)t(?;14) (?;q11.2),+mar1【1】 B: 46,idem,+3,-add(3), t(5;7)(p15;q22),+6,-del(6), add(16)(p11.2),-21【1】 C: 46,XY【1】	A: 47,add(7)(q11.2),-9,idel(9)(p12), add(15)(p12),-16,der(19) add(19)(p13.3)add(19)(q13.3), - 21,+mar【17】 B: 44,XY,add(7)(q11.2), add(9)(p11.2),add(9)(p13), add(12)(p11.2),add(15)(11.2), - 16,-19,-21,+mar【2】 C: 44,Y,add(X)(q11.2),add(7) (q11.2),-9,idel(9)(p12),add(15) (p12),-16,der(19)add(19) (p13.3)add(19)(q13.3),-21,+mar【1】

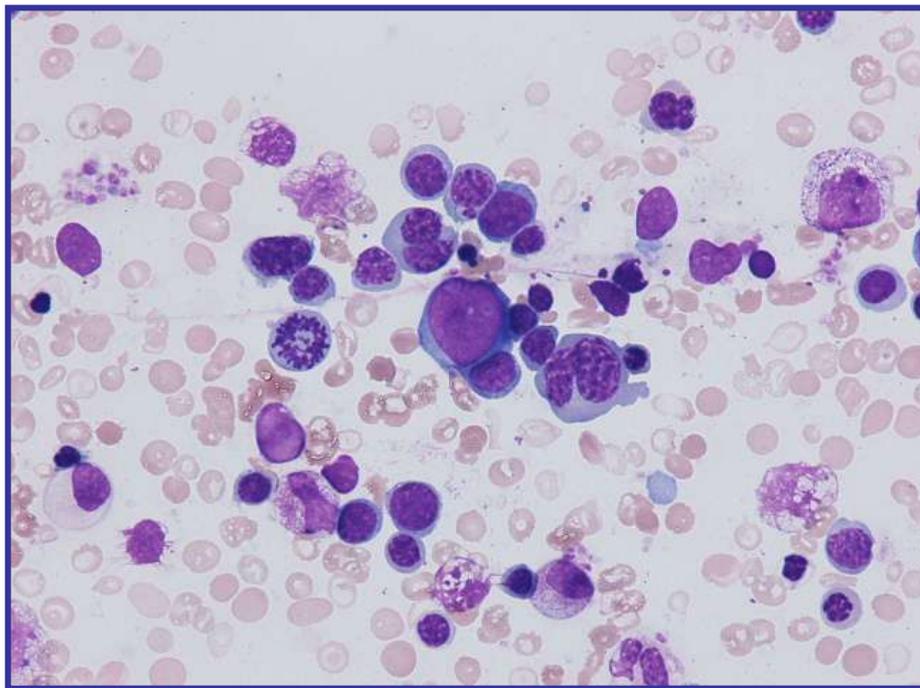
TP53染色性



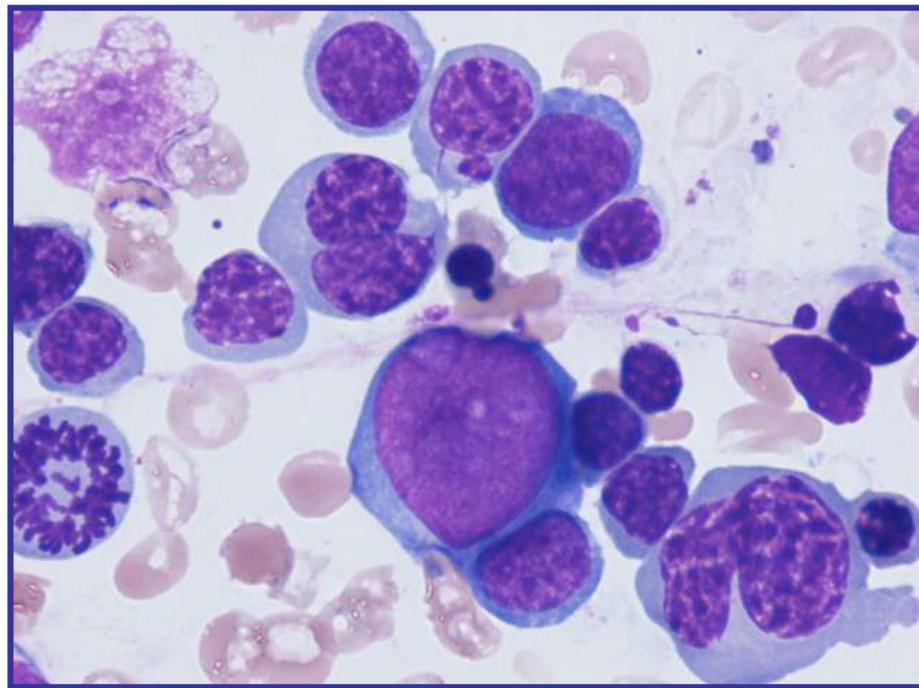
症例 1 14%	症例 2 51%
症例 3 45%	骨髓クロット標本 × 200

赤芽球形態

- 症例1



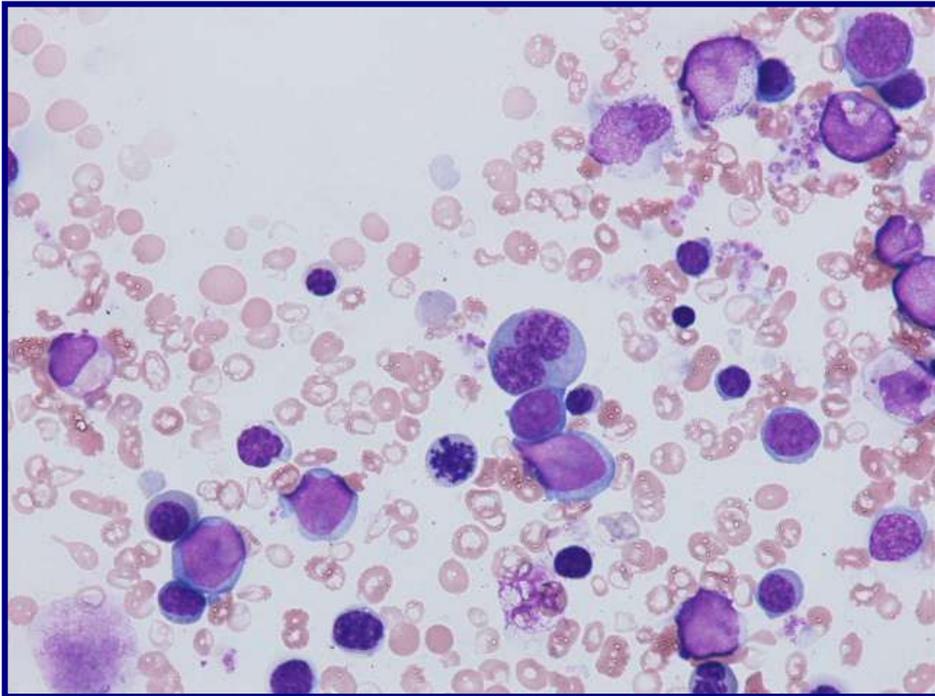
BM × 400



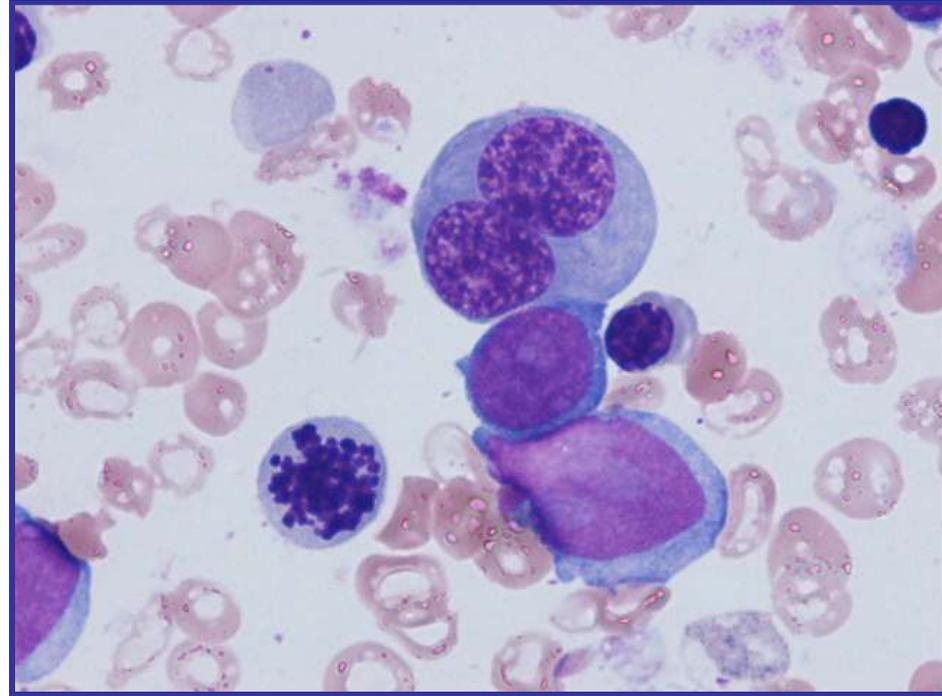
BM × 1000

赤芽球形態

- 症例1



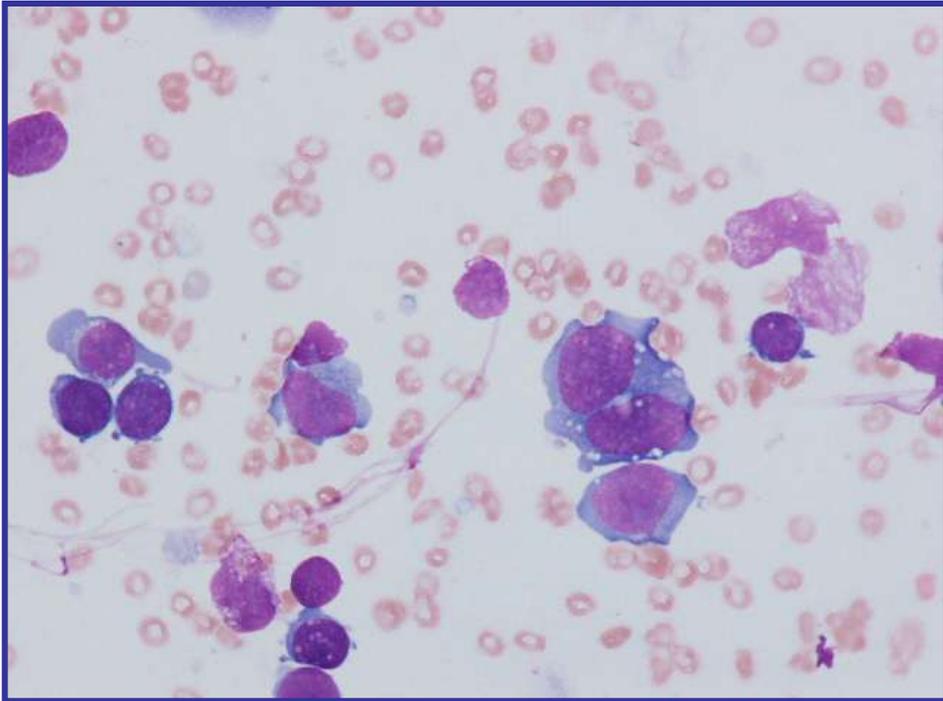
BM × 400



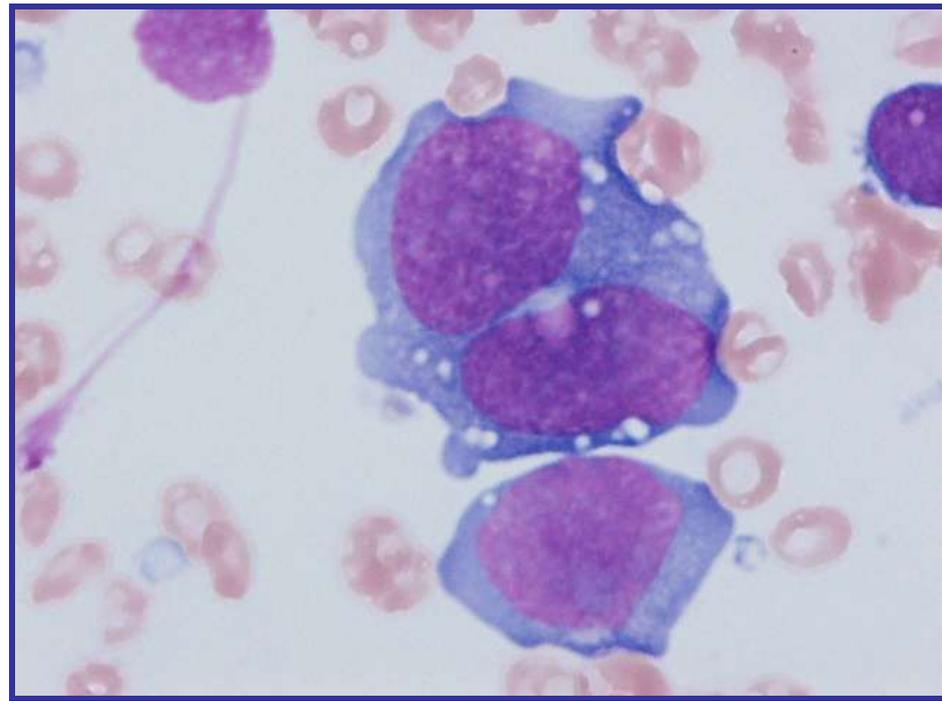
BM × 1000

赤芽球形態

- 症例2



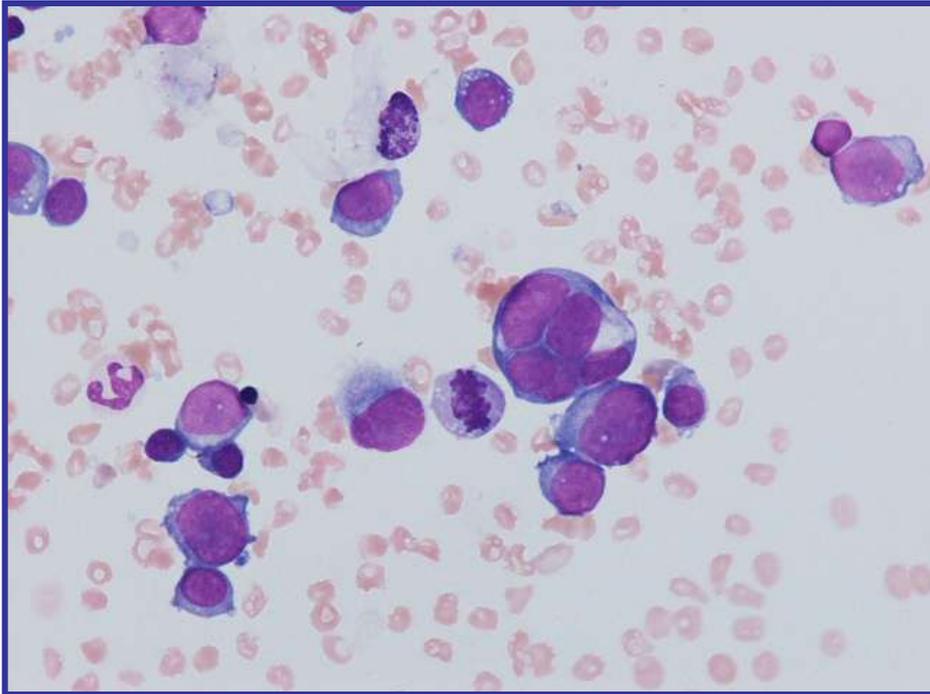
BM × 400



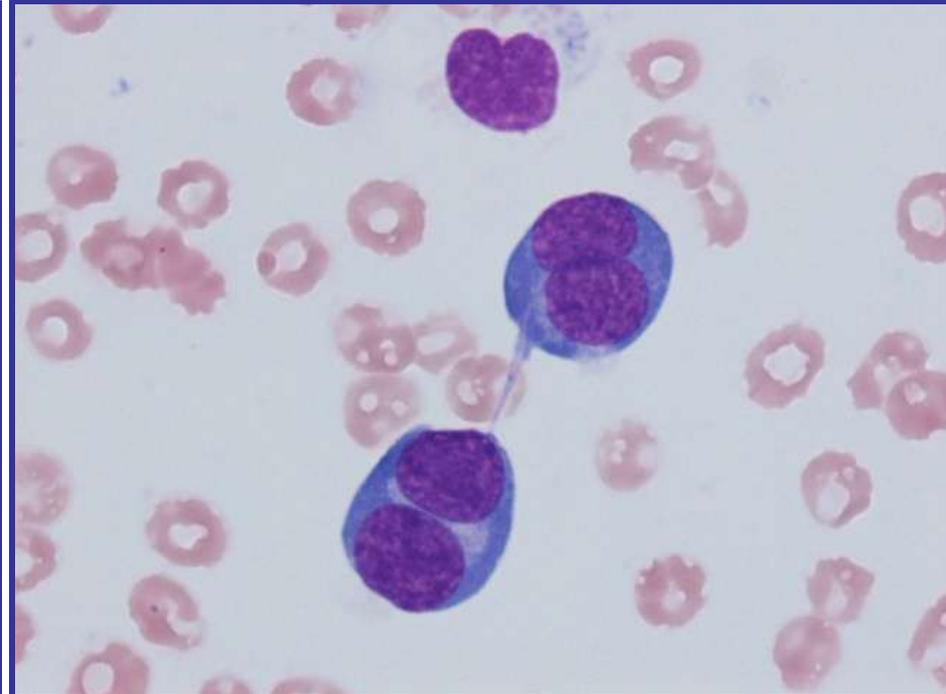
BM × 1000

赤芽球形態

- 症例2



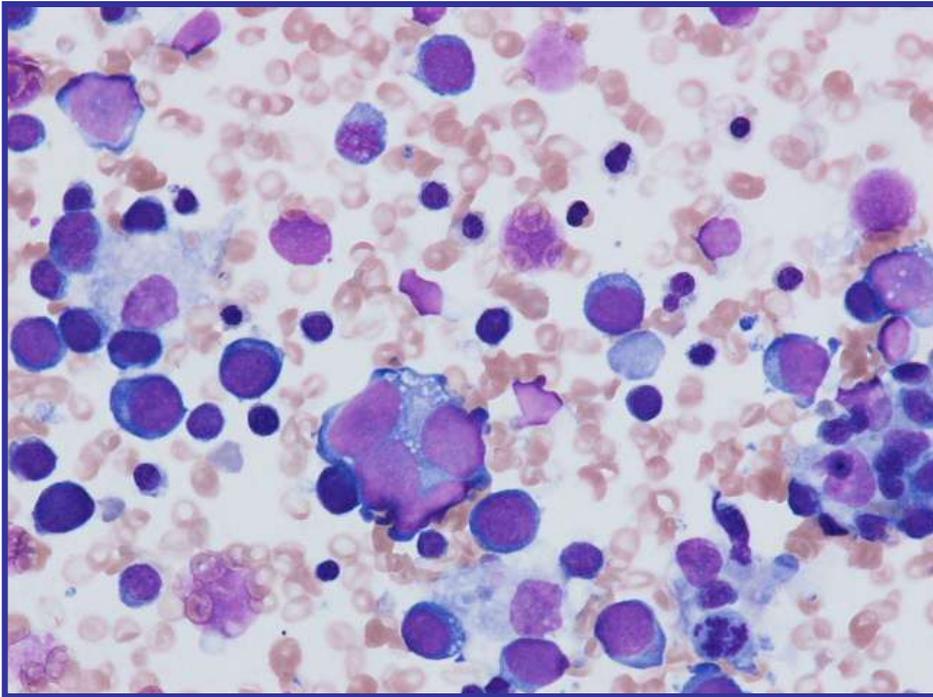
BM × 400



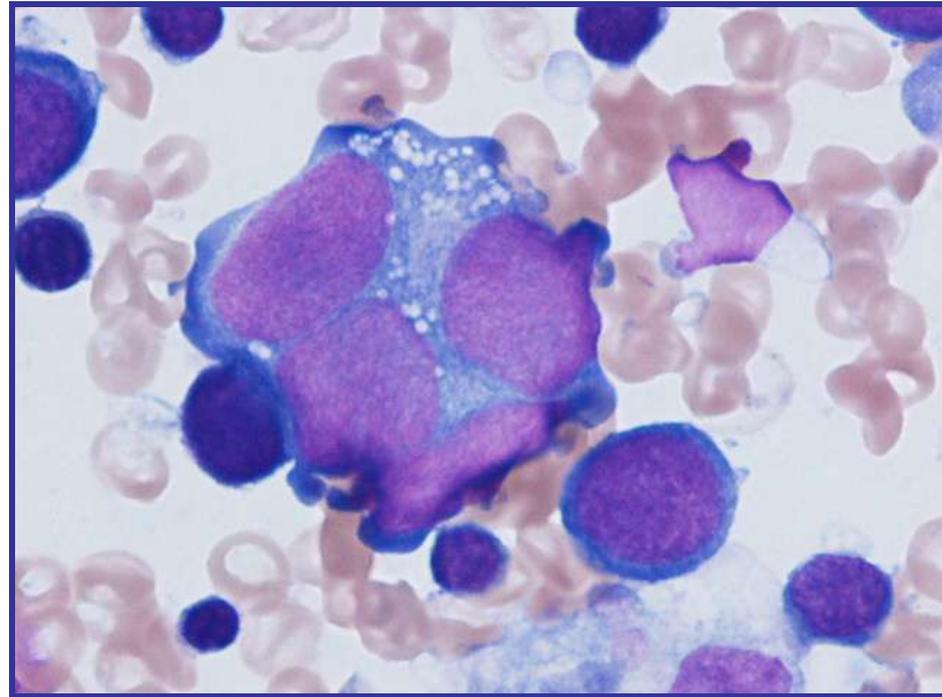
BM × 1000

赤芽球形態

- 症例3



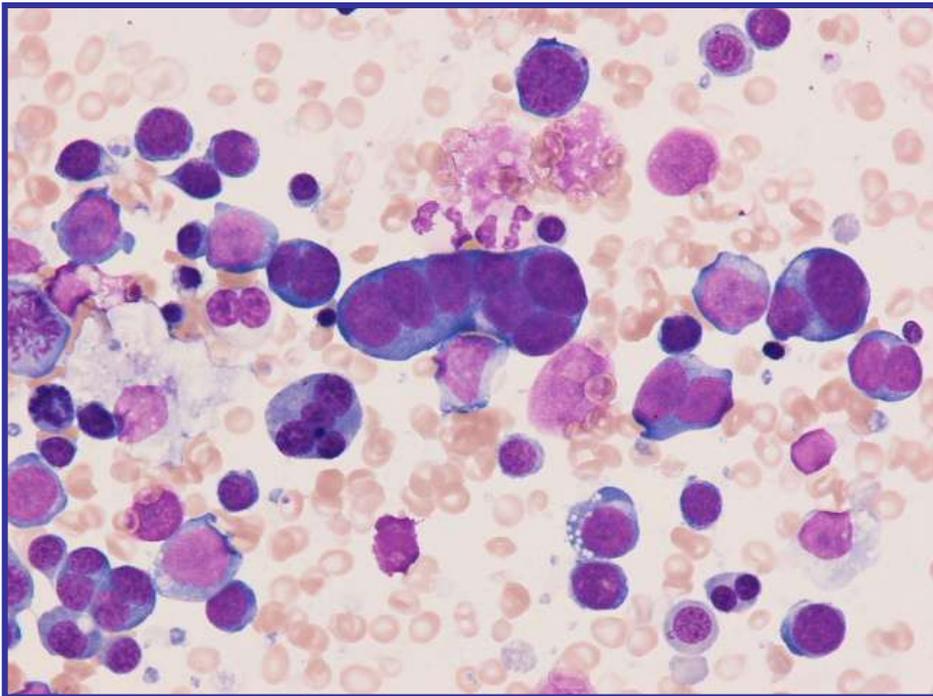
BM × 400



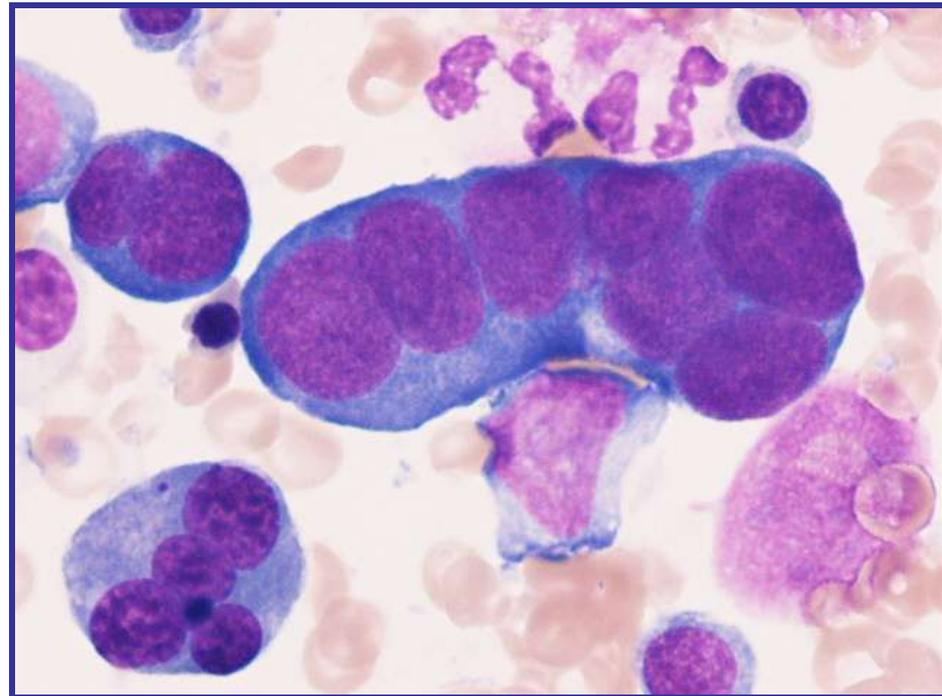
BM × 1000

赤芽球形態

- 症例3



BM × 400



BM × 1000

考察

症例		1	2	3
年齢/性別		50代, 女性	60代, 男性	50代, 男性
転帰		2nd.PBSCT後、follow up中	死亡	死亡
骨髓	細胞数 (× 10 ⁴ /μ l)	26.9	5.8	15.0
	芽球% (ANC)	6.4	3.6	4.6
	芽球% (NEC)	25.0	20.9	52.0
	赤芽球%	72.0	75.8	88.2
	形態異常	++(分化傾向)	++	++
	TP53 Grade	Grade2 (14.2%)	Grade3 (51.5%)	Grade3 (45.0%)
	染色体核型	44,XX,del(5)(q?),-7,-9, inv(9)(p12q13),-12,-18,- 20,+mar1,+mar2,+mar3,1~8dmin 【15】	A: 47,XY,add(3)(p11)del(6)(q?), add(13)(q32),-14,-17, add(19) (p13),+21,+der(?)t(?;14) (?;q11.2),+mar1【1】 B: 46,idem,+3,-add(3), t(5;7)(p15;q22),+6,-del(6), add(16)(p11.2),-21【1】 C: 46,XY【1】	A: 47,add(7)(q11.2),-9,idic(9)(p12), add(15)(p12),-16,der(19) add(19)(p13.3)add(19)(q13.3), - 21,+mar【17】 B: 44,XY,add(7)(q11.2), add(9)(p11.2),add(9)(p13), add(12)(p11.2),add(15)(11.2), - 16,-19,-21,+mar【2】 C: 44,Y,add(X)(q11.2),add(7) (q11.2),-9,idic(9)(p12),add(15) (p12),-16,der(19)add(19) (p13.3)add(19)(q13.3),-21,+mar【1】

考察

- 造血器腫瘍の発症に関わる遺伝子異常は、クラス I 変異（増殖促進）とクラス II 変異（分化阻害）に大別され、AMLはこれらの組み合わせで生じるとするモデルが提唱されている。
- 骨髄増殖性疾患（MPN）はクラス I 変異を主体とした増殖性疾患、MDSはクラス II 変異による分化異常が主体の疾患と考えられている。

考察

- TP53遺伝子は細胞周期制御やDNA修復、アポトーシス誘導などに関連する遺伝子群を制御する。
- TP53遺伝子変異はクラス I 変異、クラス II 変異双方と重複してみられ、多血球系統の異形成や染色体複雑核型との関連が報告されている。
- AMLにおいて染色体複雑核型、TP53遺伝子変異は予後不良因子とされる。

考察

- 今回検討した染色体複雑核型を示すM6aにおいて、TP53染色性陽性率が高い症例がより予後不良であった。
- TP53染色性陽性率が高い症例は赤芽球形態が未分化な傾向であった。AML-M6b（未分化型）がAML-M6a（分化型）に対して予後不良であると同様に、AML-M6a群内においても赤芽球形態の分化傾向が予後予測因子になり得るかもしれない。

検討2.

- 症例1.は他の2症例に比して、TP53陽性率が低く、赤芽球が分化傾向にあった。
- TP53染色性、染色体核型と予後の関係を追跡した。

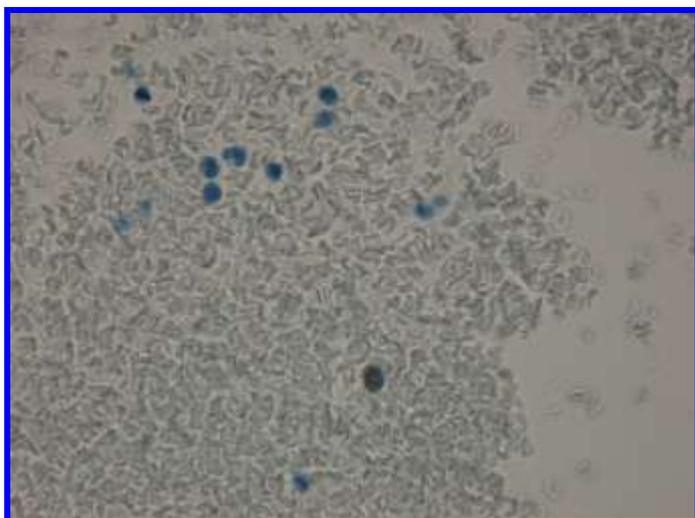
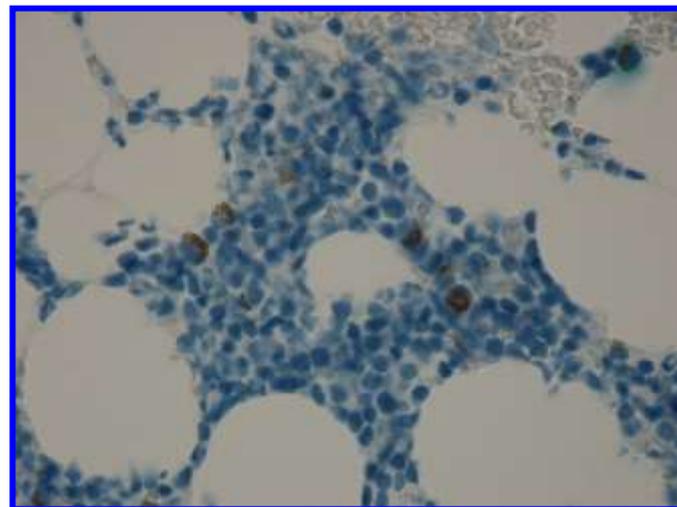
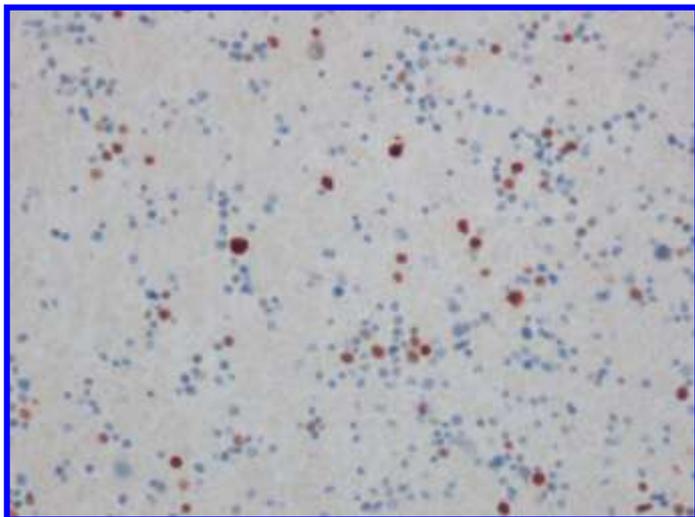
- 【臨床経過】

化学療法抵抗性で2011年7月14日1st.PBSCT実施。2012年4月再発を確認し、5月28日2nd.PBSCT実施。2012年7月再々発が確認されたが、3回目の移植はせずに外来フォロー中。

結果2.

年齢/性別		50代, 女性		
		2011.05. 初発時	2012.04 1st. 移植後再発	2012.07 2nd.移植後再発
骨髓	細胞数 ($\times 10^4/\mu l$)	26.9	2.5	1.3
	芽球% (ANC)	6.4	1.2	0.2
	芽球% (NEC)	25.0		
	赤芽球%	72.0	12.8	1.6
	TP53 Grade	Grade2 (14%)	Grade1 (2%)	Grade1 (5%)
	染色体核型	44,XX,del(5)(q?),-7,-9, inv(9)(p12q13),-12,-18,- 20,+mar1,+mar2,+mar3,1~8dmin 【15】	A: 46,XY,inv(9)(p12q13)【20】	A: 42,XX,del(1)(q21q25),t (2;8)(p23;q13),-3,del(5)(q?),-6,-7,- 9,inv(9)(p12q13),-12,-18,- 20,+3mar,2dmin【1】 B: 46,XY,inv(9)(p12q13)【19】
WT-1	2011.05. 39000(BM)	2012.04. 4100(PB)	2012.08. 23000(PB)	

TP53染色性



症例 1 14%	症例 1-2 2%
症例 1-3 5%	骨髓クロット標本 ×200

考察2.

- 症例1.は、経過中の骨髄検査で骨髄芽球および赤芽球の増加を認めず、WT-1値で再発が確認された。
- 移植、再発の経過を通じて、TP53染色性はGrade2(14%)→Grade1(2%)→Grade1(5%)と低かった。
- 染色体核型は複雑→正常変異→複雑であった。
- TP53染色性が低い症例も予後不良とみるか、M6a症例にありながら長期観察可能とみるかは、今後の症例蓄積に待たねばならない。

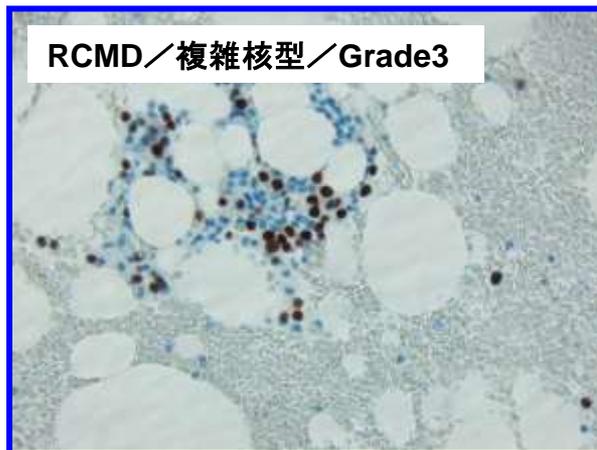
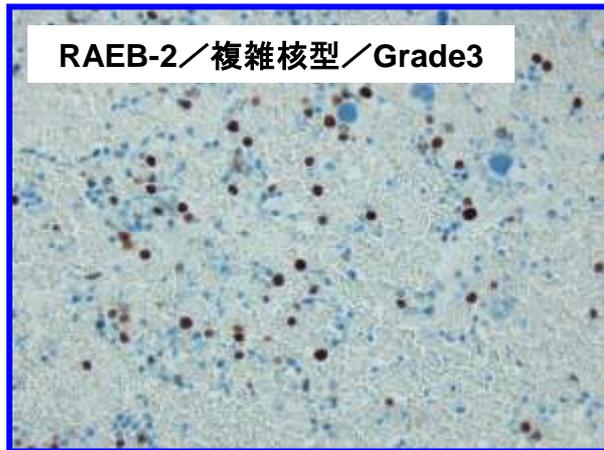
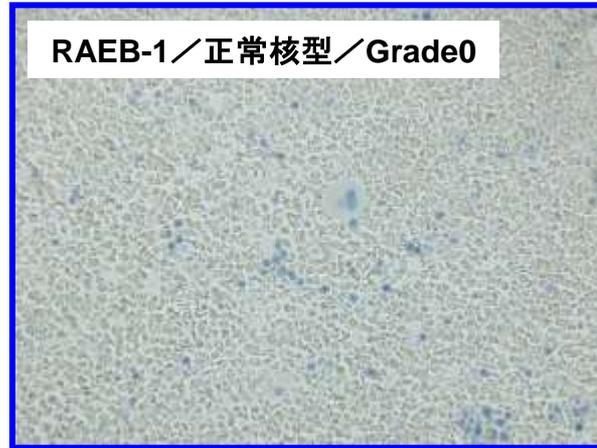
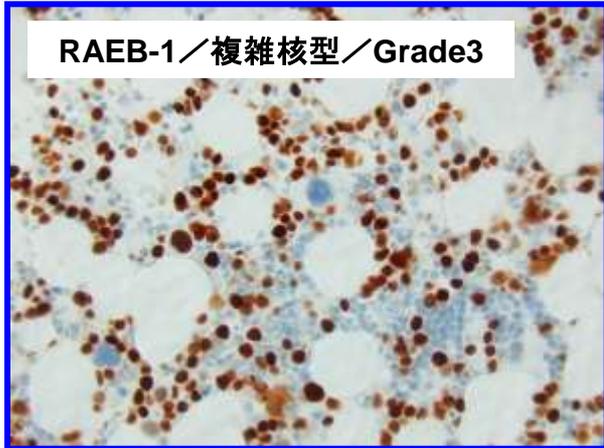
検討3.

- 染色体核型とTP53染色性の関連を追加調査した。
- 症例はすべてMDSで、骨髄中に赤芽球の増加を認められた2例(RAEB-1)と直近の2例(RAEB-2、RCMD)を選んだ。

結果3.

症例	4 (RAEB-1)	5 (RAEB-1)	6 (RAEB-2)	7 (RCMD)	
年齢/性別	80代, 男性	60代, 男性	70代, 男性	60代, 男性	
骨髓	細胞数 (× 10 ⁴ /μ l)	5.2	6.6	8.9	0.7
	芽球% (ANC)	5.5	8.0	11.6	3.0
	芽球% (NEC)		20.0		★異常細胞: 16%
	赤芽球%	31.1	52.2	3.6	15.4
	TP53 Grade	Grade3 (45%)	Grade0 (<1%)	Grade3 (22%)	Grade3 (25%)
染色体核型	A: 42,XY,del(5)(q?),-7,-9,add(14)(p11.2)add(15)(p11.2),-16,-19,-21,+mar【2】 B: 43,XY,idem,+mar【3】 C: 46,XY【12】	A: 46,XY【20】	A: 45,XY,der(1)add(1)(p32)add(1)(q11),-5,der(6)t(1;6)(q25;p21)ins(6;?)(p21;?),del(7)(q?),add(12)(p11.2),add(17)(p11.2),-18,+r1【5】 B: 45,idem,-r1,+r2【2】 C: 46,XY【8】	A: 42,XY,del(5)(q?),-7,-9,add(14)(p11.2)add(15)(p11.2),-16,-19,-21,+mar【2】 B: 43,XY,idem,+mar【3】 C: 46,XY【12】	
WT-1	2012.01. NT	2012.01 NT	2012.08. 4100(PB)	2012.09. 21000(PB)	

TP53染色性

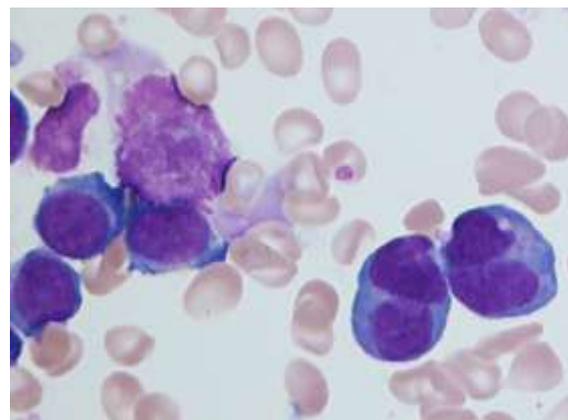
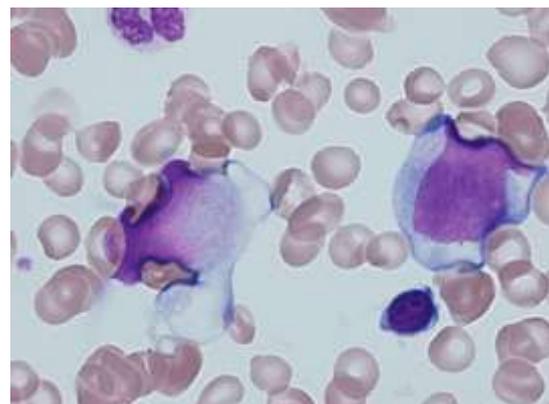
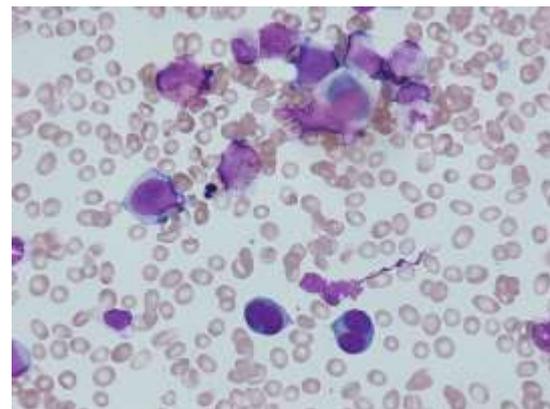
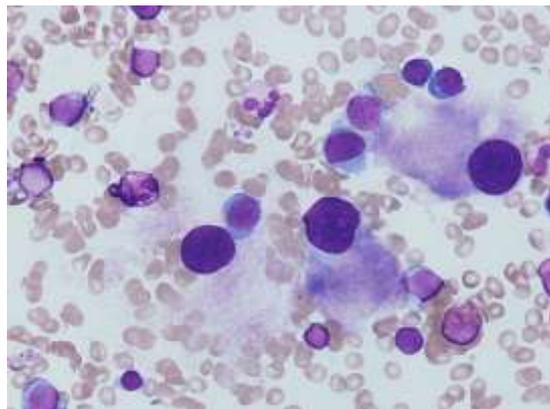
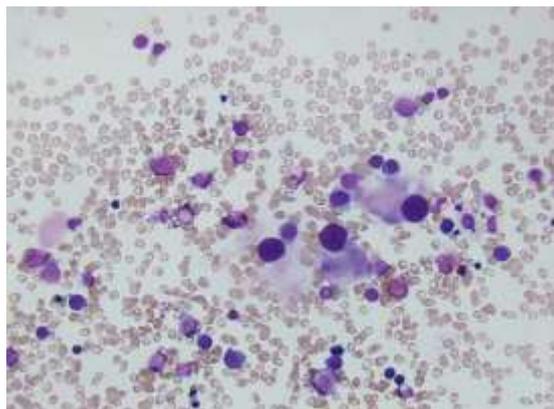


症例 4 45%	症例 5 <1%
症例 6 22%	症例 7 25%

骨髓クロット標本
x200

骨髓像

- 症例4 RAEB-1 / 複雜核型 / Grade3

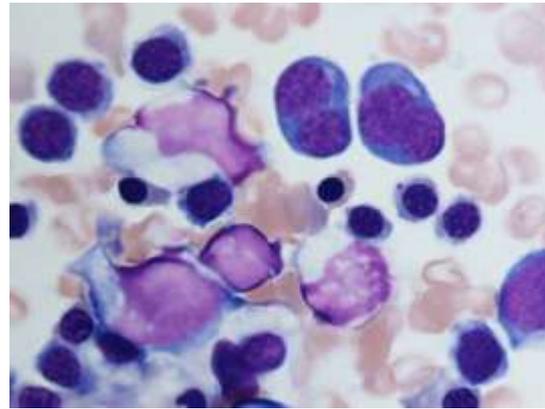
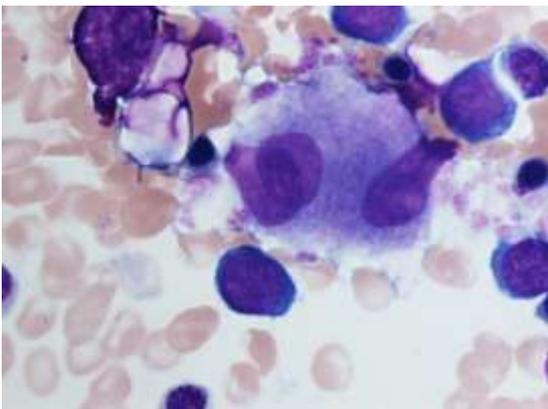
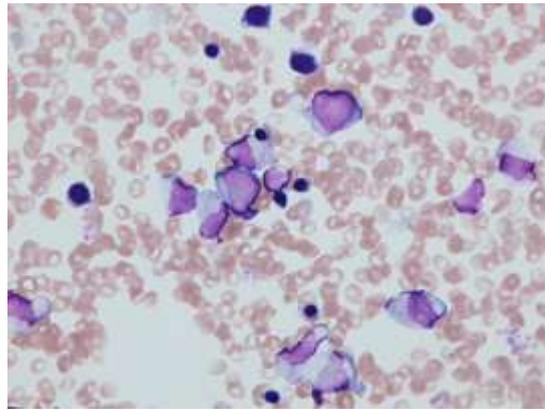
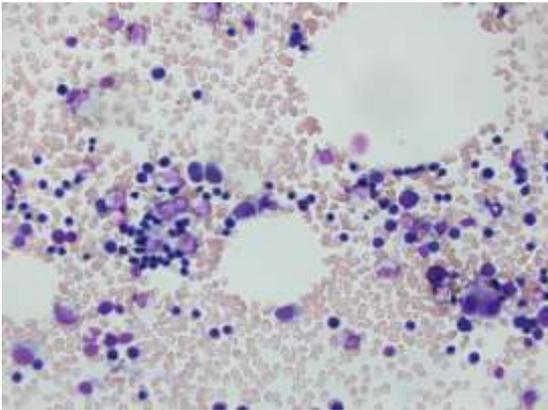


BM x200	BM x400	BM x400
BM x1000	BM x1000	

骨髓像

RAEB-1 / 正常核型 / Grade0

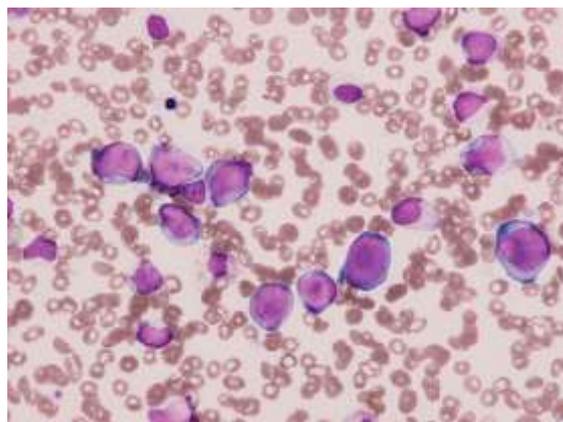
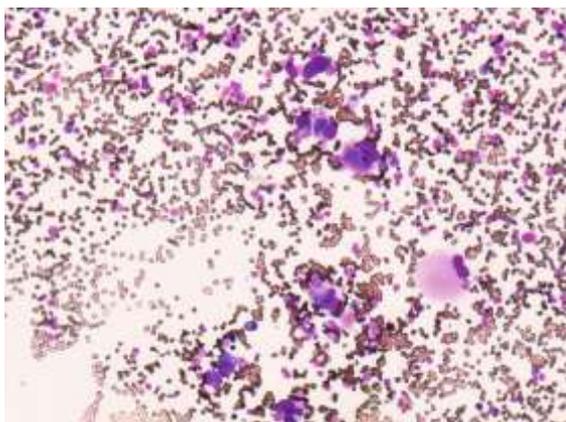
- 症例5 RAEB-1 / 正常核型 / Grade0



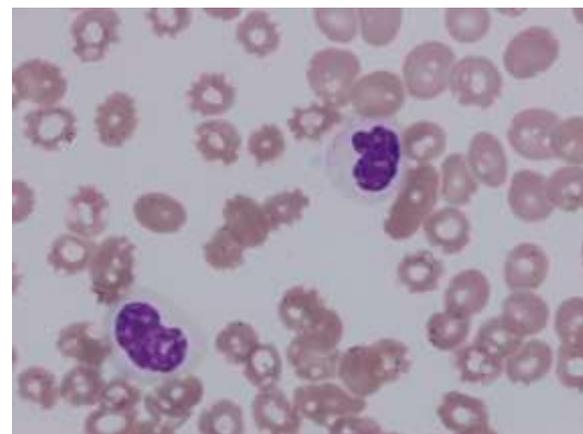
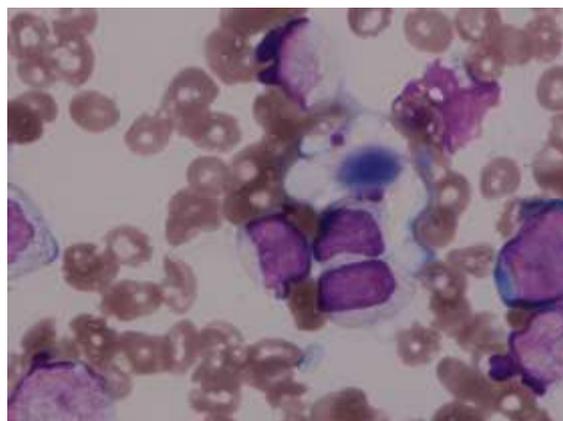
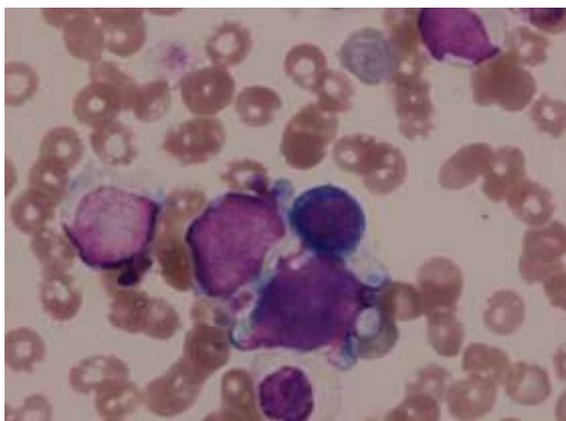
BM x200	BM x400
BM x1000	BM x1000

骨髓像

- 症例6 RAEB-2 / 複雜核型 / Grade3



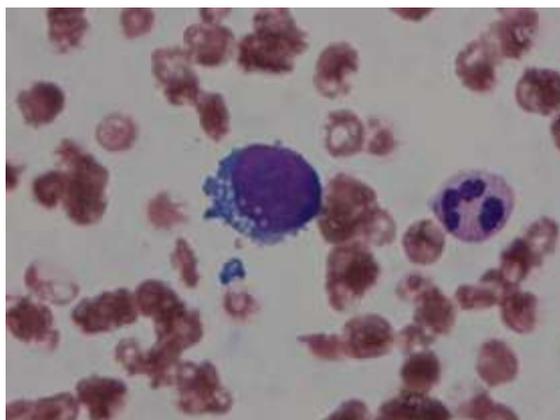
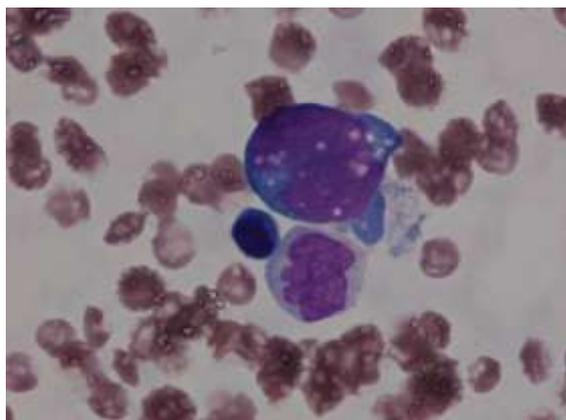
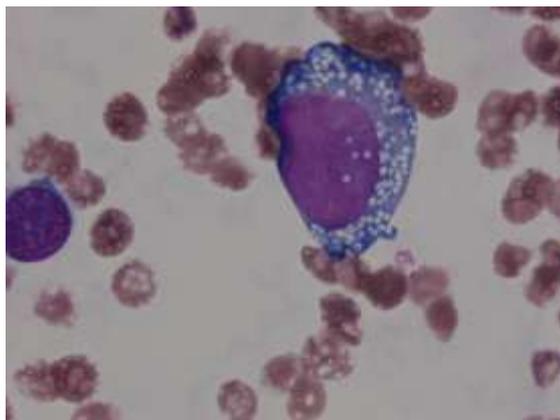
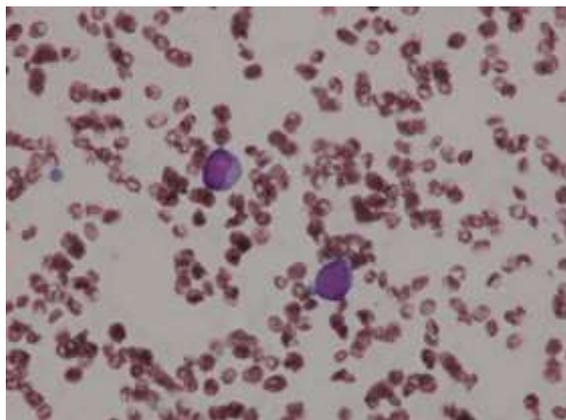
BM x200	BM x400	
BM x1000	BM x1000	PB x1000



骨髓像

RCMD / 複雜核型 / Grade3

• 症例7 RCMD / 複雜核型 / Grade3



BM x400	BM x1000
BM x1000	BM x1000

考察3.

- MDSの病理組織学的診断において、形態的異形成の評価に免疫染色を加えることで客観性が付加され、赤芽球のHbFとTP53の有用性が報告されている。

考察3.

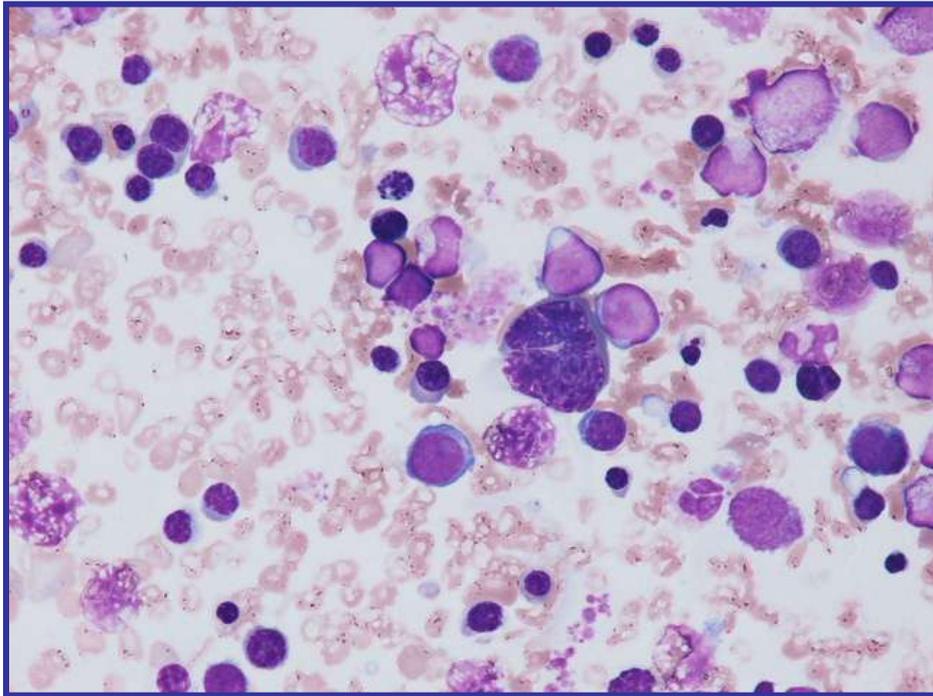
- 染色体核型とTP53染色性は、3例が複雑核型/Grade3、1例が正常核型/Grade0であった。
- 細胞形態を比較すると、複雑核型/Grade3症例は特に巨核球系に形態異常が目立つ傾向にあった。
- M6aの赤芽球形態と同様に、MDSにおける巨核球形態も予後に何らかの意味を持つかもしれない。

考察

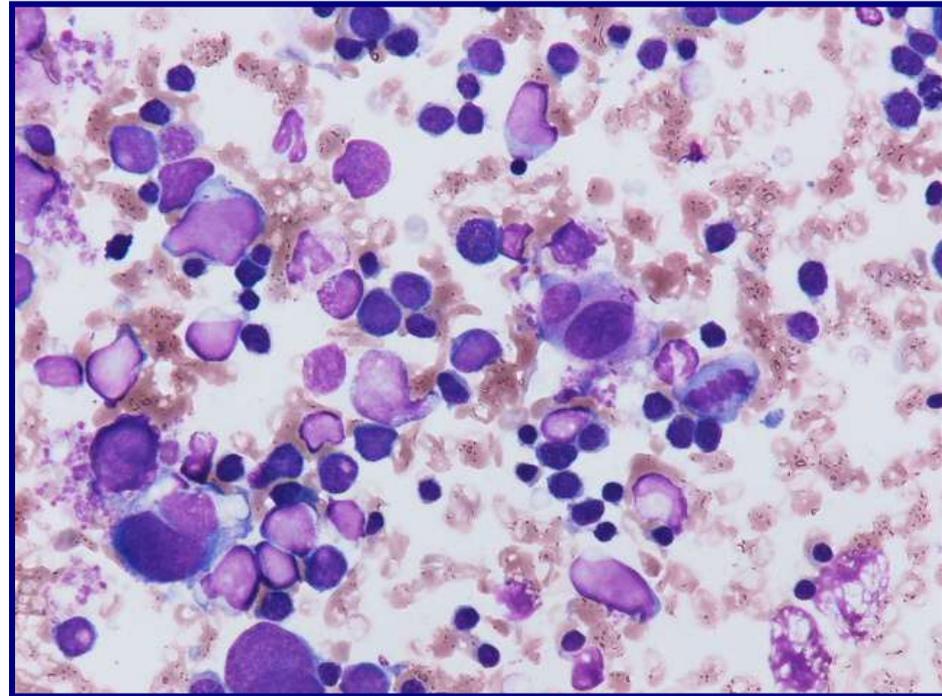
- 今回、正常核型AMLや造血器腫瘍以外の疾患におけるTP53染色性は未検索である。
- TP53抗体の特異性による差を見ている可能性がある。
- AMLやMDSの発症には多数の遺伝子が関与しており、TP53のみで疾患全体を捉えることはできない。
- 今後例数を増やし、骨髄クロット標本で簡便に得られるTP53染色性の有用性を確認したい。

赤芽球形態

- 症例1



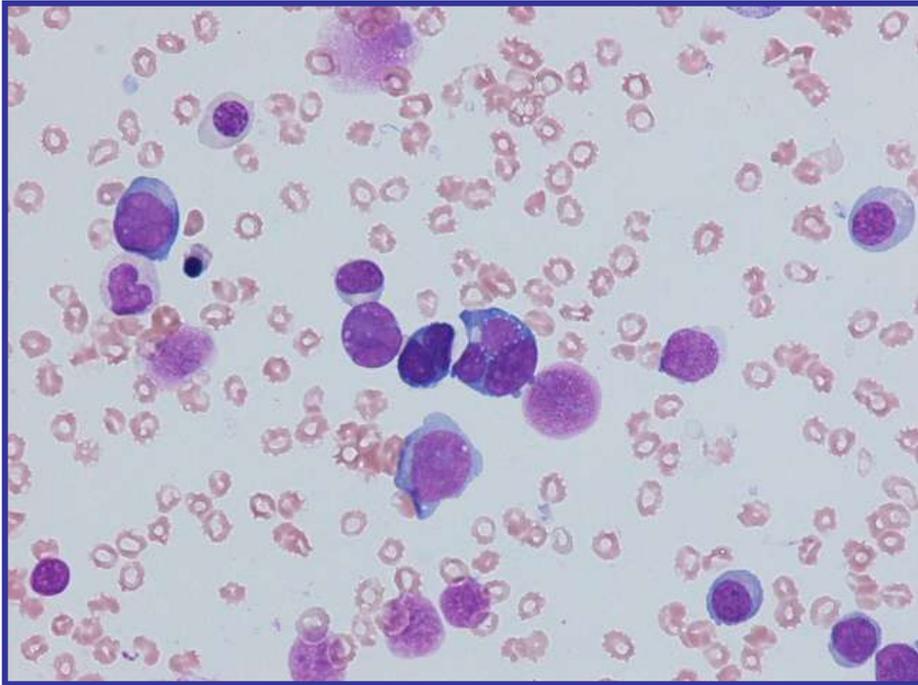
BM × 400



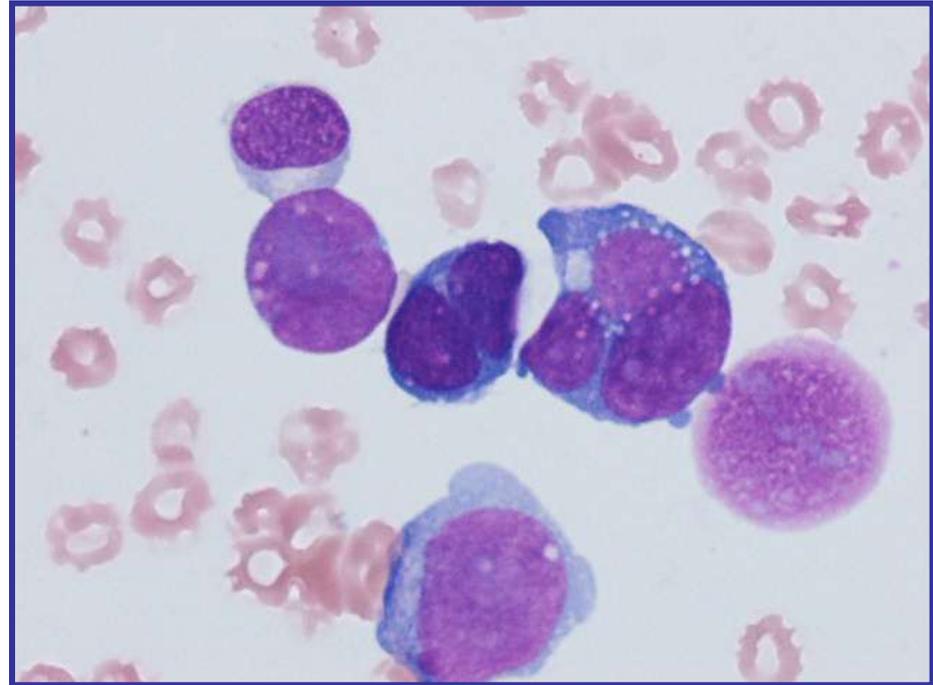
BM × 400

赤芽球形態

- 症例2



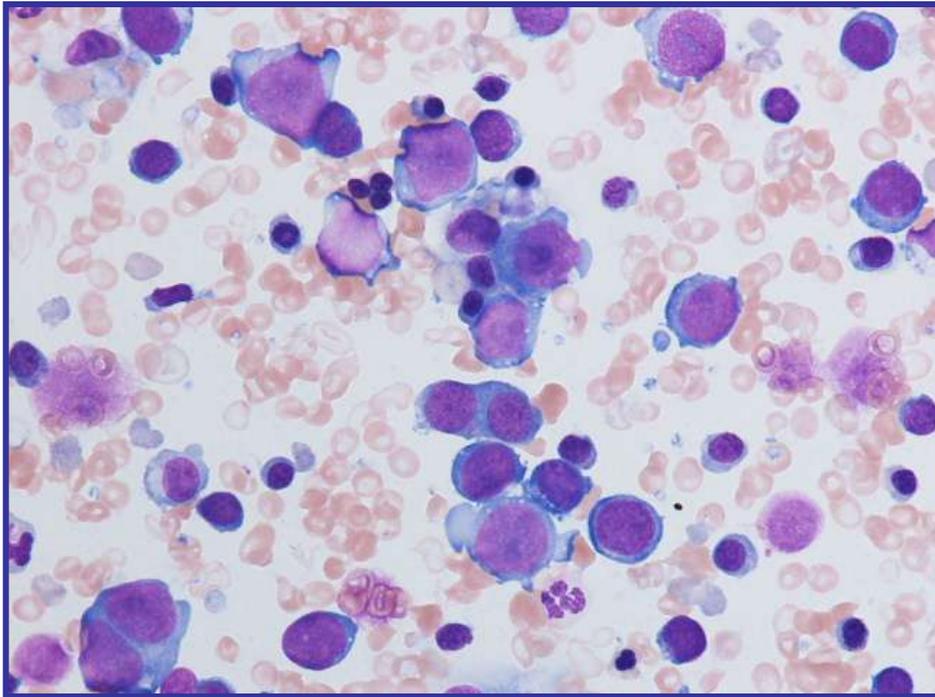
BM × 400



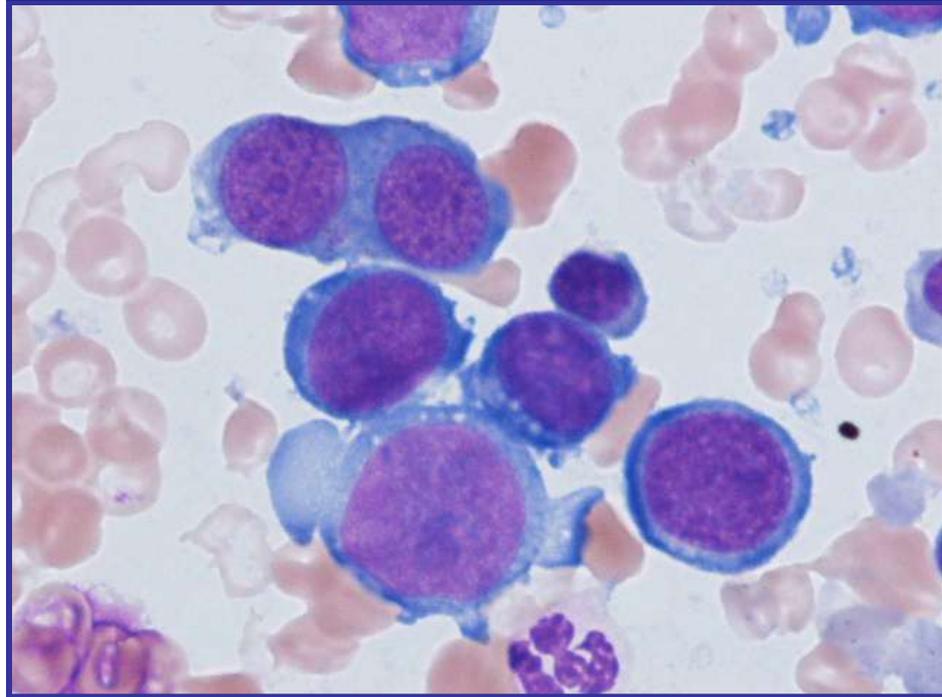
BM × 1000

赤芽球形態

- 症例3



BM × 400



BM × 1000