原 著

各種白血病の白血球組織トロンボプラスチン
活性について

石川 至* 山名 正紀* 塚原 敏弘* 梅田 正法*
 渡辺総一郎* 高槻 義夫* 山内 幹雄* 高安 勤*
 奥山 輝雄* 加藤 雅子* 高 誠信*
 白井 達男* 五十嵐紀子**

Leukocytic tissue thromboplastin activity in various
types of leukemia

Itaru ISHIKAWA*, Masanori YAMANA*, Toshihiro TSUKAHARA*,
 Masanori UMEDA*, Soichiro WATANABE*, Yoshio TAKATSUKI*,
 Mikio YAMAUCHI*, Tsutomu TAKAYASU*, Teruo OKUYAMA*,
 Masako KATO*, Seishin KHO*, Tatsuo SHIRAI*
 and Michiko IGARASHI**

Key words : DIC, leukocytic tissue thromboplastin, acute
 promyelocytic leukemia

Peripheral and bone marrow leukocytes from 24 leukemic patients (including 5 patients with DIC) were analysed for coagulant and fibrinolytic activity. Suspension of leukocytes were prepared by dextran method. Washed preparations were disrupted by freezing and thawing three times and homogenized. Lysates of these leukocytes were added into prothrombin time system instead of lyoplas-tin (rabbit lung tissue thromboplastin). For comparison, leukocytes from 10 normal donors were tested. Antithrombin III, fibrinogen, prothrombin and FDP were simultaneously measured and these change in clinical courses were compared with leukocytic thromboplastin like activity.

Lysate of these leukocytes from peripheral and bone marrow in cases of leukemia with DIC showed high coagulant activity in prothrombin time system. FDP increased and antithrombin III, prothrombin and fibrinogen decreased. However lysate of leukemia without DIC showed normal or lower leukocytic thrombo-plastin like activity in prothrombin time system and FDP, antithrombin III, pro-

* 東邦大学医学部第一内科 (〒143 東京都大田区大森西6-11-1), The First Department of Internal Medicine, Toho University School of Medicine, Tokyo, Japan.

** 同 生化学教室, Department of Biochemistry, Toho University School of Medicine, Tokyo, Japan.

thrombin and fibrinogen were not so changed. The coagulant activity of the lysate of AMMoL was intermediate between DIC and non DIC. In clinical courses of leukemic therapy, leukocytic thromboplastin like activity was relatively related to number of leukemic cells. The cases with high leukocytic thromboplastin like activity before chemotherapy have an anxiety to induce DIC.

We think that leukocytic thromboplastin like activity is related to DIC in leukemia.

はじめに

白血病における DIC 発症の trigger として細胞顆粒が重視されている¹⁾。そこで著者らは各種白血病患者の末梢血、骨髓血の白血球組織トロンボプラスチン (以下 TP) 活性を測定し、さらに治療による変化を検討したので報告する。

I. 対象および方法

急性骨髄性白血病 (以下 AML) 8 例, 急性前骨髄球性白血病 (以下 APML) 3 例, 急性骨髄単球様白血病 (以下 AMMoL) 5 例, 慢性骨髄性白血病 (以下 CML) 5 例, 急性リンパ性白血病 (以下 ALL) 3 例の計 24 例で, 健常成人 10 例を対照とした。

1) 白血球分離法: 二重修酸加血液に 1/2 容の 6% デキストラン液 (分子量 20~30 万) を加え 60 分間 4℃ で静置後, 上清を分離し, 1,000rpm で 7 分間遠心し, 沈渣にクエン酸加リン酸緩衝液 (以下 PBS) 4 ml を加えよく攪拌し同様に遠心した。この方法にて 3 回洗浄後, 沈渣白血球を PBS 0.3 ml 中に浮遊させ試料とした。なお同時に白血球数を算定した。骨髓血は 0.3 ml を採取し, PBS を加え全量を 5 ml として同様の操作を行った。いずれの白血球浮遊液にも血小板をほとんど認めなかった。末梢血および骨髓血の試料をそれぞれ 3 回凍結融解後, ホモジネートし実験に供した。

2) 凝固活性測定: 既知量の家兎肺組織 TP を用いて, プロトロンビン時間 (Quick 一段法) より検量曲線を作製し, 白血球 TP 活性に相当する肺組織 TP 量を求め, 分離前後の白血球数より, 血液 1 ml 中の白血球 TP 活性を算定し

た。0.01M 塩化カルシウムのみによる凝固時間より延長した検体は白血球 TP 活性を 0 とした。

3) 血中のアンチトロンビン III (以下 AT III) (発色ペプチド基質), プロトロンビン (発色ペプチド基質, Echis carinatus venom), フィブリノーゲン (重量法), FDP (Latex 凝集法) を測定した。

II. 成績

表 1 は血液 1 ml 中の治療前の白血球 TP 活性値である。健常成人 10 例の末梢血の平均値 $\pm$ SE は $9.05 \pm 1.63 \mu\text{g/ml}$ であった。APML の 3 例は入院時より DIC を合併した症例であり, 末梢血は $189.9 \pm 72.3 \mu\text{g/ml}$, 骨髓血では $2,462.5 \pm 738.8 \mu\text{g/ml}$ と他の病型に比して著しい高値を示した。なお芽球は末梢血において 14~52%, 骨髓血では 80~92% の範囲で存在し, 高率に顆粒が認められた。AMMoL では 1 例を除き概して高値であり, その平均は末梢血で $48.6 \pm 30.3 \mu\text{g/ml}$, 骨髓血では $361.3 \pm 173.1 \mu\text{g/ml}$ と APML ほどではないが同様に高値を示し, とくに DIC を合併した症例は, 末梢血は $335.4 \mu\text{g/ml}$, 骨髓血では $2,124.1 \mu\text{g/ml}$ と APML と同様の高値を示した。次に AML の平均は末梢血で $10.3 \pm 7.4 \mu\text{g/ml}$, 骨髓血では $95.8 \pm 15.6 \mu\text{g/ml}$ であった。なお DIC を合併した 1 例の白血球 TP 活性は末梢血で $202.1 \mu\text{g/ml}$, 骨髓血では $208.2 \mu\text{g/ml}$ と高値を示した。本症例は測定時に敗血症を合併し, 末梢血で顆粒を有する芽球が 26% みられた症例である。CML では 1 例の急性転化例 (No. 21) を除き, 末梢血, 骨髓血ともに活性は低値であり, ALL も同様であった。表 2 は血液 1

Table 1 Thromboplastic activity of leukocytes ($\mu\text{g/ml}$)

No.	Type	Peripheral	Bone marrow	DIC
	Normal	9.05 $\pm$ 1.63 (n=10)	—	
1	AML	0.0	0.0	
2	"	6.5	39.6	
3	"	8.8	56.9	
4	"	0.0	0.0	
5	"	66.8	420.2	
6	"	0.0	0.0	
7	"	202.1	208.2	(+)
8	"	0.0	—	
9	APML	99.3	1,933.8	(+)
10	"	12.6	208.7	(+)
11	"	259.8	5,245.0	(+)
12	AMMoL	26.1	235.4	
13	"	0.0	0.0	
14	"	335.4	2,124.1	(+)
15	"	22.7	—	
16	"	10.0	190.0	
17	CML	2.1	0.0	
18	"	0.2	0.0	
19	"	3.4	48.1	
20	"	0.0	0.0	
21	"	50.7	—	
22	ALL	6.8	—	
23	"	9.1	14.4	
24	"	6.9	6.9	

Table 2 Thromboplastic activity of leukocytes ($\mu\text{g}/1\times 10^4\text{WBC}$)

No.	Type	Peripheral	Bone marrow	DIC
	Normal	17.37 $\pm$ 3.9 (n=10)	—	
1	AML	0.0	0.0	
2	"	8.2	1.5	
3	"	17.9	21.6	
4	"	0.0	0.0	
5	"	121.4	52.4	
6	"	0.0	0.0	
7	"	4,041.2	462.4	(+)
8	"	0.0	—	
9	APML	27.4	105.1	(+)
10	"	114.3	56.1	(+)
11	"	387.8	489.3	(+)
12	AMMoL	86.4	7.4	
13	"	0.0	0.0	
14	"	161.2	277.3	(+)
15	"	325.0	—	
16	"	20.0	10.0	
17	CML	2.3	0.0	
18	"	0.1	0.0	
19	"	3.3	3.2	
20	"	0.0	0.0	
21	"	4.0	—	
22	ALL	8.8	—	
23	"	12.2	10.2	
24	"	5.5	0.1	

ml中の白血球 TP 活性を白血球数1万に換算したものである。健康成人の末梢血における平均値 $\pm$ SEは17.37 $\pm$ 3.9 $\mu\text{g}/10^4\text{WBC}$ であり、APML および DIC 例においては、末梢血、骨髓血ともに高活性であるが、CML, AML, ALLでは活性の上昇を認めなかった。AMMoLはこれらの中間的位置に存在するようである。次に治療による変化をAMLの1症例(図1)についてみると、入院時に末梢血、骨髓血とも芽球は93%以上を占めるも、末梢血白血球 TP 活性はほとんど認められなかった。再強化療法後の骨髓芽球は6%となり、骨髓血白血球 TP 活性は17.9 $\mu\text{g/ml}$ であった。その後骨髓において再び芽球は63.6%と増加し、骨髓血白血球 TP 活性も249.8 $\mu\text{g/ml}$ と増加した。ATⅢ, プロトンピン, フィブリノーゲンは漸次低下

した。

III. 考案および結語

白血病に併発するDICのtriggerとして、白血病細胞内のTP様物質が関与するとの報告がみられ¹⁾²⁾³⁾、とくにAPMLのごとく白血病細胞に顆粒の多い病型にDICの合併が多いことから、顆粒との関連が重視されている。また渡辺⁴⁾らはAPMLの細胞中の α -chymotrypsinの存在を重視し、これをDICの一因と推測している。著者らはDICと白血球TPとの関連を知るため、白血病を病型別に分類し、白血球TP活性を測定した。APMLは末梢血、骨髓血とも1mlあたりの活性値は高く全例にDICの併発をみた。他の病型では活性値が高値の症例にDICの併発が多くみられ、経過中に活性

K.S 31Y. M AML

Fig. 1 Change of thromboplastic activity in one case of AML

が上昇した時点で DIC を併発した例もあり、DIC と白血球 TP 活性は関連性を有するものと思われる。これらの点から、経過中の DIC の予知の 1 指標として、白血球 TP 活性測定は有用と考えられる。

文 献

- 1) Gralnik, H. R. and Abrell, E.: Studies of procoagulant and fibrinolytic activity of promyelocytes in acute promyelocytic leukemia. *Br. J. Haematol.*, **24**; 89~99, 1973.
- 2) Eiseman, G. and Stefanini, M.: Thromboplastic activity of leukemic white cells. *Proc. Exp. Biol. Med.*, **86**; 763~765, 1954.
- 3) Koshiba, G. J., Loeb, W. F. and Wall, R. L.: Development of procoagulant (tissue thromboplastin) activity in cultured leukocytes. *J. Lab. Clin. Med.*, **79**; 778~787, 1972.
- 4) Watanabe, K.: Fibrinolytic activity of leukemic cells. *Keio J. Med.*, **19**; 47~59, 1970.