トピックス

II. 診断へのアプローチ

2. 血液形態学

通山 薫

要 旨

骨髓不全症候群は特発性造血障害による血球減少を主徴とするが、しばしば血球形態異常（異形成）を伴っており、その顕著な例が骨髓異形成症候群（MDS）である。MDSの診断過程や他疾患との鑑別には異形成の評価が大きなウェイトを占めているので、顕微鏡観察力が求められるが、形態学的評価の標準化の確立とともに前方向視調査研究による形態診断の検証が必要である。

〔日内会誌 101：1919～1927, 2012〕

Key words 異形成, 芽球比率, 診断確度区分

はじめに

血球の異常を呈する疾患では、血球の数量的パラメーターと形態学的評価という2つの観点から検査診断の中核をなしている。血球の形態異常（異形成所見）を特徴とする疾患には、悪性貧血に代表されるように原因が明確である巨赤芽球性貧血、抗がん薬投与や放射線療法を施行したためにおこった血球減少や薬剤性の造血障害の他に、今回の主題である骨髓不全症候群、なかでも骨髓異形成症候群（myelodysplastic syndromes：MDS）が常に対象疾患となる。本稿ではMDSの形態学的特徴に焦点をあてながら血球形態学的診断に必要な項目を概説する。今回骨髓生検所見には言及しないがご了解いただきたい。なお實際上重要な点は、まず適切な検体を

得て適切な標本を作成し、かつ良好に染色されていることである。このいずれが欠けても正しい評価は下せない。

1. 血球の異形成所見

1) 末梢血球の異形成

赤血球形態における観察ポイントとして、まず小型菲薄赤血球あるいは大赤血球のような大きさの異常があり、自動血球分析装置が示す平均赤血球容積（mean corpuscular volume：MCV）が参考になる。鉄芽球性貧血ではヘモグロビン産生低下のために小球化や奇形赤血球が出現し、典型的な場合は小型菲薄赤血球集団を混じる二相性（dimorphism）を呈するが、MDSを含む後天的鉄芽球性貧血で二相性が明瞭に認識されることは比較的稀である。涙的赤血球は骨髓線維

川崎医科大学検査診断学

Bone Marrow Failure Syndrome (Idiopathic Hematopoietic Disorders) : Progress in Diagnosis and Treatment. Topics : II. Approach to Diagnosis ; 2. Morphology of blood cells.

Kaoru Tohyama : Department of Laboratory Medicine, Kawasaki Medical School, Japan.

トピックス

表 1. MDSに見られる異形成所見（文献 1 から改変引用）

赤芽球系	顆粒球系	巨核球系
核辺縁不整 核間架橋 核崩壊像 多核赤芽球 過分葉核赤芽球 巨赤芽球様変化 環状鉄芽球 細胞質空胞化 PAS染色陽性赤芽球	小型または巨大好中球 低分葉（Pelger核異常）好中球 過分葉好中球 無顆粒（低顆粒）好中球 偽Chédiak-Higashi顆粒 Auer小体	微小巨核球 単核～低分葉巨核球 分離多核巨核球

太字の 4 項目は特発性造血障害調査研究班におけるカテゴリー A に該当する。

症において特徴的に出現する。赤芽球は種々の病態で末梢に出現するが、赤芽球造血が旺盛であるか、あるいは髄外造血の存在や骨髄破壊性病変を示唆する。

好中球の形態異常としては、Pelger核異常(低分葉)好中球や過分葉好中球、無顆粒または低顆粒好中球、輪状核好中球、ペルオキシダーゼ陰性好中球などが異形成所見として重要であるが、詳細は次項で述べる。血小板については巨大血小板（赤血球と同等かそれ以上に大きい血小板）がときに検出される。

さらに末梢血所見で重要な点は、芽球の出現である。これは種々の疾患・病態で起りうるが、少数の芽球が継続的に出現しかつ血球減少を伴っている場合はMDSを積極的に疑うべきである。芽球の詳細は後述する。

2) 骨髄における血球異形成

骨髄塗抹標本ではまず骨髄細胞密度の評価を行う。再生不良性貧血では一般に低形成であるが、島状に造血巣が分布することがあるので骨髄採取部位によって細胞密度が異なる場合が少なくない。とくに胸椎では造血巣が比較的保たれる傾向があるが、それでも巨核球は著減している。一方MDSでは一般に正ないし過形成骨髄を呈するが、十数%の症例では低形成を示し、再生不良性貧血との鑑別に苦慮することもある。

細胞密度の評価には患者年齢や採取部位による相違も勘案する必要がある。本来は骨髄生検や骨髄MRI (magnetic resonance imaging)などを併用して判断するのが望ましい。最低限でも骨髄クロットを確保して、組織切片にて細胞密度を判定すべきである。

骨髄像分類 (myelogram) は通常 500 個カウントにより行う。異形成像は必ずしもMDSに特異的ではない。ビタミンB₁₂ 欠乏や抗腫瘍薬の影響による巨赤芽球性貧血の場合は異形成像がより顕著なことがあるが、各骨髄細胞に等しく影響が出てくるので比較的均質な異形成像が現れる。つまり赤芽球でいえばどの赤芽球も一樣な巨赤芽球性変化を示す傾向がある。それに対してMDSの形態異常の現れ方は細胞によってさまざまで、同一視野の中でもいかににも異常な細胞と一見正常と思われる細胞が混在してみえることが多い。

WHO (World Health Organization) 分類第 4 版¹⁾ではMDSに見られる異形成所見が表 1 に示すごとく規定されているので、以後主な所見について解説を加える。

3) 赤芽球系の異形成所見

(1) 巨赤芽球様変化(megaloblastoid change)

赤芽球系で最もよく捉えられる異常所見である(図 1a)。細胞は一般に大型で(必ずというわ

図 1a. 巨赤芽球様変化 (May-Grünwald-Giemsa染色)

図 1c. 赤芽球の核間架橋 (May-Grünwald-Giemsa染色)

図 1b. 多核赤芽球 (長矢印) と核崩壊像 (May-Grünwald-Giemsa染色)

3核の多染性赤芽球 (長矢印) と核崩壊像 (短矢印) が見られる。

けではない), 核細胞質比はむしろ小さく, 細胞質が広くみえる。核クロマチンの凝集が遅れているために, 核網は網目状, レース状あるいはスポンジ状と形容される。これは核細胞質成熟乖離の結果であり, 幼若赤芽球よりも成熟段階の赤芽球で顕著となる。

(2) 多核赤芽球

通常多染性赤芽球までは分裂能を有するので, それよりも幼若な2核の赤芽球は赤芽球系過形成の場合にありうるが, 核に大小不同があったり3核以上の場合は明らかに異常とみなされる

(図 1b)。

(3) 核融解像 (karyolysis)・核崩壊像 (karyorrhexis)・過分葉核

核融解像は核網が不整・不均一になったり, 染色上の濃淡が不規則な状態に見えるものをいう。さらに進行すると核崩壊像や過分葉核, さらには核断片化と呼ばれる状態になるが, いずれも巨赤芽球様変化に連続した変化と思われる (図 1b)。

(4) 核辺縁不整 (nuclear budding)

成熟段階の赤芽球によく見られる。MDSに特異的とはいえ, 溶血性貧血や再生不良性貧血でもときに見られる。

(5) 核間架橋

細胞核分裂時の遺残と考えられる (図 1c)。

(6) 環状鉄芽球とその定義

鉄芽球自体は正常でもある頻度で認められるが, いわゆる環状鉄芽球は病的な状態でのみ見つかると考えてよい (図 1d)。先天性のヘム合成酵素異常, 後天性には抗結核薬, 鉛中毒などで出現し, 鉄芽球性貧血と総称する。その中で後天性かつ原因不明の場合はMDSの2病型, すなわちRARS (refractory anemia with ring sideroblasts) およびrefractory cytopenia with multilineage dysplasia and ring sideroblasts

トピックス

図 1d. 環状鉄芽球（鉄染色）

鉄顆粒が核周囲に分布する典型的な環状鉄芽球が多数見られる。

図 2a. Pelger核異常好中球（May-Grünwald-Giemsa染色）

図 1e. PAS染色陽性赤芽球（矢印, PAS染色）

好中球は元来PAS染色陽性である。

(RCMD-RS) に該当する (RCMD-RSはWHO分類第3版²⁾にて規定されたが, 第4版ではRCMDに包含されている)。環状鉄芽球の定義は, 核周囲に全周の3分の1以上にわたって5個以上のミトコンドリア鉄顆粒が見られる場合とされている。このような赤芽球が総赤芽球のうち15%以上を占めればRARSまたはRCMD-RSということになる。病的な骨髓で環状鉄芽球が少数見つかることはしばしばあるので, さしあたっては15%を越えるか越えないかの判定が求められる。

(7) PAS染色陽性赤芽球 (図 1e)

細胞化学染色態度の異常としてときに指摘さ

れる。急性骨髄性白血病 (AML) M6における異常赤芽球がしばしばPAS陽性になるのはよく知られているが, MDSにおいても見られることがある。

4) 顆粒球系の異形成所見

(1) 偽Pelger-Huët核異常 (Pelger核異常, 低分葉) 好中球

有名かつ重大な核形態異常である。AML-M2の異常成熟細胞にしばしば見られるほかはMDSに特異性が高いので診断的価値がある。atypical chronic myeloid leukemia (WHO分類のMDS/MPN (myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm)の一病型)でもしばしば見られる。MDSで本所見が散見される場合はAMLに移行しやすく, 予後不良因子のひとつと捉えられている。丸眼鏡のごとく完全に円形2分葉した典型的な細胞 (図 2a) は判断しやすいが, 核のくびれがわずかで後骨髓球や桿状核球と区別し難いが核クロマチンが十分に凝集したものも含まれる。

(2) 過分葉好中球

6分葉以上に分かれた場合が該当する。MDSでもときに見られるが, 典型例は悪性貧血のときである。従ってMDSとしての診断的価値は高くない。

図 2b. 無顆粒（低顆粒）好中球（May-Grünwald-Giemsa染色）

矢印の 2 つの好中球はほぼ無顆粒であり，他の好中球も顆粒に乏しい傾向がある。

図 2c. ペルオキシダーゼ陰性好中球（ペルオキシダーゼ染色）

ペルオキシダーゼ陽性顆粒は青緑色に見えるが，大部分の好中球は陰性ないし弱陽性にとどまっている。

（3）無顆粒（低顆粒）好中球

細胞質顆粒が完全脱失した場合を無顆粒，8割以上脱失した場合を低顆粒とみなす。Pelger核異常に次いで重要な所見である（図 2b）。ただしこの所見は良好に染色された標本でないと評価がむずかしく，正しく判定するためには複数視野での確認や末梢血標本観察を併用する。

（4）小型または大型好中球

好中球の大小不同も異形成所見とされる。巨

図 3a. 微小巨核球（矢印，May-Grünwald-Giemsa染色）

大きさは前骨髄球もしくはそれ以下である。

大後骨髄球，巨大桿状核球，さらに成熟型である大型好中球は悪性貧血のときに典型的である。

（5）その他の異常

偽Chédiak-Higashi顆粒が挙げられるが頻度は少ない。2核の骨髄球はMDSその他でときに見つかる。そもそも骨髄球は1回程度の分裂能を有していると思われ，本質的に異常と捉えるべきかどうか不詳である。リング状の核をもつ輪状核好中球もときどき見られる異常である。WHO分類の異形成リストには載っていないが，注意到値する所見であろう。

ペルオキシダーゼ陰性好中球はしばしば見られる所見であるが（図 2c），先天性ミエロペルオキシダーゼ欠損症の合併もありうるので，一部のクローンのか問題か顆粒球系全体にわたる所見かをよく確認する。好中球アルカリホスファターゼ活性（NAPスコア）は低下することが多いが一定の傾向はない。

5）巨核球系の異形成所見

（1）微小巨核球（micromegakaryocyte）

きわめて重要な異形成細胞であるが，「前骨髄球もしくはそれ以下のサイズ」ということになっているので，かなり小型でないと該当しない（図 3a）。逆にこれくらい小型であればMDSに特異性が高いといえる。もう少し大きな「小型」巨核

トピックス

図 3b. 単核巨核球 (5q-症候群症例, May-Grünwald-Giemsa染色)

2つの単核巨核球で、いずれも細胞質は発達している。

図 3c. 分離多核巨核球 (May-Grünwald-Giemsa染色)

球ならば慢性骨髓増殖性疾患などで日常的に見られるほか、健常骨髓でもときに認められよう。微小巨核球は単核のことが多いが、2核の微小巨核球もある。いずれも核網や細胞質はある程度成熟しており、巨核芽球をこれと誤認してはならない。

(2) 単核巨核球 (図 3b)

細胞の大きさ、核網や細胞質の状況から、成熟巨核球ではあるが単核の場合をいう。しばしば遭遇する形態異常であるが、とりわけ 5q-症候群のときに顕著である。骨髓クロット標本や生検標本でもわかりやすい。

(3) 分離多核巨核球 (図 3c)

骨髓の中でとても目立つ形態異常のひとつである。ただし MDS における特異性はあまり高くない。初心者では破骨細胞と誤認することがあるかもしれない。

2. 異形成所見の重みづけと定量的評価

上述したようにこれらの異形成所見には、MDS に比較的特異的な所見と MDS に限らず非クローナルな疾患・病態の際にもしばしば見られる所見がある。International Working Group on Mor-

phology of MDS (IWGM-MDS)³⁾でのコンセンサスを踏襲して、厚生労働科学研究・特発性造血障害調査研究班では、MDS に比較的特異的な所見とされている環状鉄芽球、Pelger 核異常好中球、無顆粒好中球、微小巨核球の 4 項目をカテゴリー A (表 1 における太字の 4 項目)、それ以外の異形成をカテゴリー B に区分した⁴⁾。

次に異形成を示す細胞の頻度がどのくらいあれば、その血球系列に有意な異形成ありとみなしてよいかという定量的な判定が問題になる。WHO 分類 (第 3 版、第 4 版) では該当血球系列の 10% 以上に見られるときを有意としている。しかしカテゴリー A に相当する形態異常を 10% 以上に認める症例 (definite な異形成) は経験上さほど多くなく、実際にはカテゴリー B の異形成所見を含めて 10% 以上あるか否かで判定することとなる。表 2 は定量的判定に基づく異形成の程度の区分を示したもので、high, intermediate, low, minimal の 4 段階に区分する。

6 カ月以上持続する慢性的血球減少はあるが異形成所見が 10% 未満の細胞に認められるのみ (表 2 において Minimal に該当) で、MDS を示唆するような染色体異常や遺伝子学的所見が得られない症例は、暫定的に idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) という概念

表 2. 定量的判定に基づく異形成の程度区分（文献 4 から引用）

High :
1. Pelger核異常 $\geq 10\%$ または無顆粒 $\geq 10\%$, かつ微小巨核球 $\geq 10\%$ または
2. 環状鉄芽球 $\geq 15\%$
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%

表 3. WHO分類第 4 版における芽球比率と病型区分

病型	RCUD, RCMD	MDS-Uの一型	RAEB-1	RAEB-2	AML
末梢血芽球	<1%	1%台	2 ~ 4%	5 ~ 19%	$\geq 20\%$
	and	and	or	or	or
骨髓中芽球	<5%	<5%	5 ~ 9%	10 ~ 19%	$\geq 20\%$
	and	and	and	or	and
Auer rod	—	—	—	+	±

RCUD : refractory cytopenia with unilineage dysplasia, RCMD : refractory cytopenia with multilineage dysplasia, MDS-U : myelodysplastic syndrome, unclassifiable, RAEB : refractory anemia with excess of blasts

で扱い、慎重な経過観察の対象とすることが勧められている⁵⁾。さらに血球減少よりもむしろ異形成所見が顕在化している症例に対してidiopathic dysplasia of uncertain significance (IDUS) という概念も提唱されている⁵⁾。ICUSやIDUSはMDSを含む骨髓系腫瘍の予備軍の可能性がある。

一方再生不良性貧血や発作性夜間ヘモグロビン尿症の場合も、とくに赤芽球系に 10% 前後の異形成所見が見られることがあるので、形態学的評価のみからMDSとこれらの疾患を鑑別することはときに困難である。したがって例えば軽微な異形成 (minimal dysplasia) を伴う再生不良性貧血として対処する例もある。

3. 芽球比率の取り扱い

芽球増加の有無は病型診断のみならず患者の予後予測の点でも重大な所見である。一般には骨髓中の芽球比率が重視されており、International Prognostic Scoring System (IPSS)⁶⁾でもスコア上大きな比重を占めている。WHO分類第 4 版では末梢血中の芽球比率も細かく規定され、病型区分に反映されている (表 3)。なお芽球比率を算定するうえでの分母の細胞分画はall nucleated bone marrow cells (ANC : 骨髓全有核細胞) であるが、その範疇は [芽球, 前骨髓球, 骨髓球, 後骨髓球, 杆状核好中球, 分葉核好中球, 好酸球, 好塩基球, 前単球, 単球, リンパ球, 形質細胞, 赤芽球, 肥満細胞] とし、一方 [巨

トピックス

表 4. MDSの診断確度区分（文献 4 から引用）

診断確度区分	骨髄芽球比率（%）	異形成の程度の区分	染色体所見の区分
MDS Definite	5～19 0～4 0～4	High, Int, Low High Int, Low	Any Any Abnormal
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

核球，マクロファージ，骨芽細胞，破骨細胞，間質細胞]は除外する。

この捉え方に則ると，non-erythroid cells（NEC：非赤芽球系細胞）とはWHO分類第4版におけるANC（非骨髄系細胞も含める）から赤芽球を除き，さらにANCに含まれていた非骨髄系細胞［リンパ球，形質細胞，肥満細胞］を除いた狭義の骨髄球系細胞分画［芽球，前骨髄球，骨髄球，後骨髄球，杆状核好中球，分葉核好中球，好酸球，好塩基球，前単球，単球］ということになる。赤芽球がANCの50%以上を占める場合は，末梢血中芽球比率が20%未満で，骨髄中芽球比率がANCのうち20%未満かつ上記のNECのうち20%以上であればAML（M6）と診断される。一方，芽球比率がNECの20%未満の場合はMDSと診断されるが，その病型はANCを分母とした芽球比率によって判定されることになる。以上の内容は「特発性造血障害疾患の診療の参照ガイド 平成22年度改訂版」⁷⁾に記載されているので参照されたい。

WHO分類にて顆粒球系異形成に挙げられているAuer rodの生物学的意義や予後との関連については必ずしも確立していないが，RAEBでAuer rod陽性の場合にはRAEB-2に包含される。

おわりに

MDSの異形成所見と芽球比率の取り扱いを中心に，形態学的評価のポイントを紹介した。特

発性造血障害調査研究班では，骨髄芽球比率，異形成の程度の区分，染色体所見の区分の3項目を組み合わせることによって，表4に示すごとくMDSの診断確度区分を設定し，現在前方向視調査研究を展開中である。

血球形態診断法はいまだ客観的・標準的な指標に乏しく，とりわけ骨髄中の異常な血液細胞の判定には熟練を要する。一方異形成をもたらす分子機序については，家族性Pelger-Huët核異常の低分葉好中球における核蛋白lamin Bレセプター遺伝子の異常，RARSにおけるRNAスプライシングに関わる分子異常の報告が注目されているが，大部分の形態異常とそれらの分子医学的本態はまだ未解明であり，今後の研究の進展が望まれる。

謝辞 なお本稿の執筆にあたって，これまで多くの先生方のご指導を仰いできたが，とりわけ特発性造血障害に関する調査研究班の諸先生方に深謝申し上げる。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Brunning RD, et al: Myelodysplastic syndromes. Swerdlow SH, et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press, Lyon, 2008, 87-107.
- 2) Brunning RD, et al: Myelodysplastic syndromes. Jaffe ES, et al, eds. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press,

Lyon, 2001, 61-73.

- 3) Mufti GJ, et al : Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome : International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica* 93 : 1712-1717, 2008.
- 4) 朝長万左男, 松田 晃編：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, 厚生労働科学研究・特発性造血障害調査研究班 平成 19 年度研究. 2008.
- 5) Valent P, et al : Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) and idiopathic dysplasia of uncertain significance (IDUS), and their distinction from low risk MDS. *Leuk Res* 36 : 1-5, 2012.
- 6) Greenberg P, et al : International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 89 : 2079-2088, 1997.
- 7) 小澤敬也編：不応性貧血（骨髓異形成症候群）, 特発性造血障害疾患の診療の参照ガイド. 平成 22 年度改訂版, 2011, 57-98.