 原 著

遺伝性球状赤血球症の2家系

—— 走査電顕像を中心として ——
 Scanning Electron Microscopic Findings of the
 Red Cells of Hereditary Spherocytosis

星 野 明 彦*
 AKIHIKO HOSHINO, M.D.

先天性溶血性貧血の代表的疾患であり、かつ常染色体優性遺伝形式を示した遺伝性球状赤血球症の2家系を報告するとともに、うち3症例について赤血球の走査電顕所見について検討した。

その結果によれば球状、円盤状およびカップ状赤血球の頻度はそれぞれ17~33%, 32~44%, 30~51%の範囲で認められた。また球状赤血球は必ずしも microspherocyte ではなく、大きささまざまなものが混在していた。カップ状赤血球の増加は著者らの3症例に特徴的な所見であろうと考えられた。

赤血球の走査電顕所見については小児科領域では極めて報告が少ない。今後画像診断として小児の血液疾患に利用すべきものであらうと思われた。

索引用語：遺伝性球状赤血球症，走査電顕

Key words：Hereditary spherocytosis, Scanning electron microscope

はじめに

溶血性貧血の疫学的調査¹⁾によると昭和49年1月~9月に全国の医療機関を受診した遺伝性球状赤血球症 hereditary spherocytosis (HS) は201例で、先天性溶血性貧血280例中の72%を占める。これは他の原因による先天性溶血性貧血、例えばサラセミア9例、ヒルビン酸キナーゼ欠乏症8例、遺伝性楕円赤血球症7例、G-6-PD 欠乏症4例などに比べると圧倒的に多く第1位を占めている。中山ら²⁾の全国調査によっても昭和45~47年の3年間に小児科に入院したHSは62例で年平均21例であったという。本症の有病率は白人(人口100万対200~300)に多く、日本人では多くみて

もその1/10程度であらうと推定されている。三輪³⁾によれば本邦のHSの正確な数は不明であるという。

HSにおける溶血における原因は現在のところ赤血球膜の異常^{4,5)}にあると考えられている。即ち赤血球膜の総脂質量の減少、解糖能の異常およびNa⁺透過性の亢進などである。その結果赤血球は円盤状の形態を維持することが出来ず球状化する。球状となった赤血球は変形能が減弱し、脾洞の毛細血管腔を通過しえず崩壊するとされている。従って摘脾は病的赤血球の崩壊を軽減すると考えられている⁶⁾。

HSでは血液塗沫標本で microspherocyte が認められるが、十分な形態的变化を観察するには走査電子顕微鏡 (SEM) が有用であらうと思われる。HSのSEM所見^{7,8)}は散見するがいまだ十分とはいえず、今回著者はHSの2家系を報告すると

*防衛医科大学校小児科
 Department of Pediatrics, National
 Defense Medical College
 (Aug. 19, 1983受付)

もにうち3例のSEM像について検討した。

症 例

症例1：K. O., 2歳, 女児。

主訴：顔色不良, 易疲労性。

家族歴：患児の母親は8歳の時HSの診断で摘脾を受けた。

既往歴：昭和54年8月21日満期正常分娩（生体時体重3,000g）で出生, 仮死はなく新生児黄疸も軽度で母子ともに1週間で退院した。

図1 家系図（症例1）

現病歴：昭和57年4月下旬より咳, 鼻水および微熱があった。5月2日母の実家に帰省したところ疲れやすい様子がみられ, 顔色不良および喘鳴がみられたので近医を受診した。そこでは溶血性貧血を指摘され, 5月12日に精査の目的で当科を紹介され入院となった。

現症：体温36.7℃, 脈拍72/分, 呼吸数20/分, 血圧120/70mm Hg, 体重は13.8kgおよび身長は70cmであった。顔色は蒼白で眼球結膜に黄染を認めた。リンパ節は触れず, 胸部では2度の収縮期心雑音が聞かれ, 呼吸音は清であった。腹部は平坦で, 肝1横指および脾は2横指触知した。

入院時検査所見：末梢血液では赤血球数206万, Hb5.8g/dl, Ht17.4%と高度の正球性貧血を認め, 網赤血球数は271‰, と亢進し, 血液像にて約半数の赤血球は球状と思われた。赤血球の osmotic fragility test (coil planet centrifuge, CPC法)

＜正常値：溶血開始値100mOsm, 溶血終了値60 mOsm＞は溶血開始値163mOsm および終了値82 mOsm と脆弱性を示した。血液生化学検査では総ビリルビン値は2.3mg/dlで, うち間接ビリルビン値が2.0mg/dlと大部分を占めていた。肝機能障害はなく, クームス試験は陰性であった。以上の結果より遺伝性球状赤血球症と診断した。

症例2：H. I., 2カ月, 女児。

主訴：黄疸, 心雑音。

家族歴：患児の父親はHSと思われる。現在の血液検査所見では赤血球数352万, Hb13.5g/dl, Ht36.7%, 総ビリルビン値4.4mg/dl（直接型1.6 mg/dl）, GOT22u, GPT12u, LAP150uで, 黄疸および脾腫を認める。父の妹は28歳の時HSのため摘脾を行った。患児の祖父は若い頃より黄疸, 貧血, 脾腫および胆石があって摘脾を勧められておりHSと思われる。

既往歴：57年3月5日満期正常分娩にて出生（生下時体重2,775g）した。生後2日目より黄疸が増強し, 3日間の光線療法を受けた。

現病歴：1カ月検診の時心雑音を指摘され, 某大学病院にて軽度の心室中隔欠損症の疑いと診断された。昭和57年5月3日午前3時頃突然顔面蒼白となりチアノーゼも認められたので近医を受診した。5月4日黄疸および心雑音の精査目的で当科

図2 家系図（症例2）

へ入院となった。

入院時現症：体温35.8℃，脈拍138/分，呼吸数42/分，体重は4.2kgおよび身長は55.2cmであった。全身状態は良好でチアノーゼも認めなかった。眼球結膜には黄染を認め，胸部では3度の収縮期心雑音があり，呼吸音は清であった。腹部は平坦で肝1.5横指を触れ，脾は触知しなかった。

入院時検査所見：末梢血液では赤血球数283万，Hb8.6g/dl，Ht24.4%と中等度の貧血を認め，網赤血球数は20%と軽度亢進し，血液像にて約半数の赤血球が球状であった。血液生化学検査では総ビリルビン値7.8mg/dl，うち直接型は0.5mg/dlで大部分を間接型で占め，肝機能障害はなかった。osmotic fragility testでは溶血開始値169mOsmおよび溶血終了値63mOsmで赤血球の脆弱性を認めた。クームス試験は陰性であった。以上よりHSと診断した。

走査電顕標本の作成および観察所見

作成法：症例1の患児および母親，症例2の計3例についてSEMの標本を作成した。1%グルタルアルデヒド（蔗糖によって浸透圧を280mOsmに調整した0.1Mリン酸緩衝液，PH7.4）液4.5cc入りの注射器に直接静脈より0.5cc採血し，試料とした。これを室温で1～2時間固定後，リン酸緩衝液で洗滌し，再び1%オスミウム酸で固定した。アルコール脱水後自然乾燥させ金パラジウムの蒸着を行い，日本電子製（JSM-2）走査電子顕微鏡で観察した。

観察所見：症例1の患児（写真1～5）およびその母親（写真6，7），症例2（写真8～10）のおおのについて赤血球を100個以上数え，その形態的所見に基づいて球状，円盤状およびその他に分類した（表2）。その結果によれば球状赤血球は17～33%の範囲にあり，円盤状赤血球は32～44%を占めていた。すなわち球状赤血球症とはいってもすべての赤血球が球状ではなく，赤血球の3～4割は健康人にみられる円盤状赤血球であった。その他の赤血球はカップ状（有口）赤血球（写真4）を主として30～51%の範囲で認められた。

表1 入院時検査所見

	症例 1	症例 2
末梢血液		
WBC	9,700/mm ³	6,100/mm ³
RBC	206 X 10 ⁴ /mm ³	283 X 10 ⁴ /mm ³
Hb	5.8g/dl	8.6g/dl
Ht	17.4%	24.4%
MCV	84μ ³	86μ ³
MCH	27.9μg	31.2μg
MCHC	33.2%	36.2%
Poly.	59%	8%
Band	9%	1%
Ly.	29%	81%
Mo.	2%	7%
Eo.	1%	4%
Platelet	48 X 10 ⁴ /mm ³	44 X 10 ⁴ /mm ³
Reticulo.	271‰	20‰
CPC max.	82mOsm	63mOsm
min.	169mOsm	169mOsm
血液型	A, Rh(+)	A, Rh(+)
血液生化学		
T-Bil.	2.3mg/dl	7.8mg/dl
D-Bil.	0.3mg/dl	0.5mg/dl
GOT	47u	46u
GPT	21u	47u
LAP	50u	31u
γ-GTP	6u	17u
T-Chol.	110mg/dl	138mg/dl
T-Prot.	7.6g/dl	5.5g/dl
血清鉄	134μg/dl	60μg/dl
総鉄結合能	342μg/dl	261μg/dl
ヘモグロビン分画		
Hb A ₂	2.9%	1.5%
Hb F	10.0%	32.0%
異常バンド	(-)	(-)
免疫血清		
CRP	(-)	(-)
Coombs test		
直接	(-)	(-)
間接	(-)	(-)

球状赤血球は写真9のごとく，大小は不同で真に球状のものは少なくタマゴ型，またはトマト型のものを含んでいた。

表2 球状赤血球の頻度

	spherocyte	discocyte	others
症例1	17%	32%	51%
症例1の母	26%	44%	30%
症例2	33%	36%	31%

考 察

健康小児の赤血球の走査電顕所見に関する報告はほとんど見当たらないが、健康成人20例について検討した Hattori の報告⁹⁾によれば普通にみられる円盤状赤血球 (平均 $76.27 \pm 7.05\%$) 以外にもさまざまな奇形赤血球が一通り認められるようである。特に球状赤血球は $2.0 \sim 0\%$ (平均 0.6%) 認められたという。HSの診断には末梢血液中に球状赤血球が一体どの位存在すればよいのであろうか。過去の本邦の報告例を調べてみたがほとんど記載がなくこの点不明である。亀井¹⁰⁾のHSの2例では38%および29%の頻度であった。松山¹¹⁾の1例では60~70%であったとしているが、いずれも光顕所見によるものであった。著者はSEMで球状赤血球の占める頻度を数えたところ34~39%の範囲であった。ところがHSという診断にもかかわらず全くあるいは殆ど球状赤血球が末梢血液中に認められないこともあるらしい。Hattori⁹⁾はHSの1例についてSEM所見を検討したところ真の球状赤血球は見当らなかったと述べている。このような場合には血液をブドウ糖およびATPを添加して24時間37℃にincubateすると赤血球は球状化したという。同様な操作をしても対照例では球状化はみられないことからHSの診断が可能である¹²⁾。

正常赤血球のsizeは平均直径 $7.5 \sim 8.3 \mu\text{m}$ 、厚さ $1.7 \mu\text{m}$ および体積は $83 \mu\text{m}^3$ とされている。その形態は両面の中央部で窪んだ円盤状のためdiscocyteと呼ばれている。HSでみられる球状赤血球spherocyteはdiscocyteより直径は短かいが容積は変わらないという⁶⁾。著者の3症例においても平均赤血球容積MCVは $84 \sim 86 \mu\text{m}^3$ で正常範囲 (90土

図3 赤血球の球状化する形態変化 (in vitro)

$8 \mu\text{m}^3$) にあった。

赤血球が球状化する形態変化 (in vitro) には2つの方向があり discocyte-echinocyte transformation および discocyte-stomatocyte transformation である (図3)。球状化した赤血球は形態を変え得る能力を失い、崩壊しやすい。したがって赤血球の osmotic fragility test はHSにおいて多くの場合脆弱性を示すが、spherocyteが2%以下では正常と変らないという¹²⁾。著者の2症例ではいずれもCPC法で中等度の脆弱性を示していた。

このように赤血球の形態と機能が一見して正常の場合HSの診断は難しいと思われる。このため相当数のHS (推定患者数の20~30%) が確定診断に至らぬまま見逃がされている恐れがあるという¹³⁾。また小児のHSは新生児期に重症黄疸を合併することが多いが^{14~16)}、先天性溶血性貧血を疑った場合にはSEMによる赤血球の観察が重要な決め手になり得ると思われた。

稿を終えるに当り走査電顕試料の作成法を伝授して下さった脳神経外科学教室秋山巖講師ならびに御協力下さった電顕室の市来やよい技官に感謝します。

追記：脱稿後越谷市立病院小児科三村朝彦部長の御好意により13歳男児で摘脾後の血液試料を検討させて頂く機会を得た。このHSのSEM所見はそのままでは、球状赤血球をほとんど認めえず、患児の血球にブドウ糖添加後37℃、24時間 incubation したところみごとに球状赤血球を観察(写真11, 12)することができたのでここに附記する次第である。

文 献

- 1) 小峰光博, 他: 溶血性貧血患者の全国実態調査: 厚生省溶血性貧血調査研究班昭和51年度業績集, 53~70.
- 2) 中山健太郎, 他: 小児血液疾患診療の実態調査成績: 小児臨床, 27, 1041~1974.
- 3) 三輪史朗: 先天性溶血性貧血: 日本臨床, 378, 1773~1775, 1974.
- 4) Jacob, H.S. & Jandl, J.H.: Increased cell membrane permeability in the pathogenesis of hereditary spherocytosis. : J. Clin. Invest., 43, 1704~1720, 1964.
- 5) Jacob, H.S.: Abnormalities in the physiology of the erythrocyte membrane in hereditary spherocytosis. : Am. J. Med., 41, 734~743, 1966.
- 6) 三輪史朗: 血液病学: Vol. 1, 文光堂, 41, 1982.
- 7) 服部 晃: 血球: 細胞, 3, 52~56, 1971.
- 8) 城之内治美, 他: 遺伝性球状赤血球症の1家系: J. Clin. Electron Microscopy, 12, 91~150, 1979.
- 9) Hattori, A.: Scanning electron microscopy of human peripheral blood cells. : Acta Haem. Jap., 35, 457~482, 1972.
- 10) 亀井 勲, 他: 遺伝性球状赤血球症の2例: 小児診, 31, 594~602, 1968.
- 11) 松山秀介, 他: 遺伝性球状赤血球症の2症例: 小児臨, 10, 2972~2978, 1971.
- 12) 武田武夫: 遺伝性球状赤血球症: 小児科, 223~230, 1977.
- 13) 栗山 達, 他: HSの3摘脾例(会): 小児診, 32, 801, 1969.
- 14) 吉川博幸, 他: 最近わが教室で経験したHSの14家系15例についての検討: 小児診, 39, 854~860, 1977.
- 15) 三輪史朗, 前川 正: 我国の溶血性貧血: 臨床血液, 20, 691~730, 1979.
- 16) 城之内治美, 他: 新生児期に交換輸血を必要としたHSの1例: 日児誌, 82, 654~658, 1978.

抄 録

腎移植患者にみられたカポジ肉腫

Kaposi's Sarcoma in Renal Transplant Recipients

—Ultrastructural and Immunoperoxidase Study of Four Cases—

Mohammed A. & Hernando B. et al (リヤード, ソウジアラビア): Cancer 53, 258~266, 1984.

腎移植患者には、さまざまな腫瘍が発生しやすい。患者らは、51例の腎移植患者を7年間観察し、4例のKaposi肉腫(K. S.)を経験し、これらについて光顕、電顕学的検索、第8因子抗原に対する免疫組織学的検索を行ない、K. S.の組織学的特徴、発生について考察を加えた。

K. S.は、光顕的に血管腔を形成する内皮細胞基質となる紡錘形の細胞よりなる。電顕的には、内皮細胞、外皮細胞、線維芽細胞、ミオファイブラスト、他、分類不能の細胞や、いろいろな分化の程度の異なる細胞により、さまざまな血管形成の段階がみられた。また、腫瘍細胞には、細胞質内ウイルス様管状複合体(CTC)をみた。

第8因子抗原は、内皮細胞の同定に有効である

が、K. S.においては、内皮細胞だけでなく、基質にも陽性の部分がみられた。これらは、K. S.が、原始的な多形成能を有する血管メザンギウムを起源とすることを示し、K. S.と肉芽組織との構造の類似性より、K. S.が肉芽組織の悪性相ではないかと疑わせる。

C. T. Cは、サイクロスポリン治療の中止後、その姿を消し、サイクロスポリンに少なからず関係があると思われるが、詳細は不明である。

この同じ7年間に、同施設で11人のK. S.が一般患者内にも見られたが、光顕、電顕的に、両者に形態学的差異は認められなかったが、一般患者の腫瘍細胞には、C. T. C.を認めなかった。

(外科専攻生 大谷俊樹)

Summary

Scanning Electron Microscopic Findings of the Red Cells of Hereditary Spherocytosis

Hereditary spherocytosis is the most common inherited disorder of the red-cell membrane and is transmitted as an autosomal-dominant trait in 80 to 90 percent of the cases. The classic features are a congenital and familial hemolytic-process-associated splenomegaly and red cells that are spherical in shape.

The author reported two families with this disease and also observed red cells morphologically in three of these cases by scanning electron microscope. As a result, spherocytes, discocytes and stomatocytes occupied 17 to 33%, 32 to 44%, and 30 to 51% of their specimens respectively. Their spherocytes varied in size and shape, and a seriously spherical shape was rare. An increased percentage of stomatocytes, which are precursors of spherocytes, was characteristic on scanning electron microscopic observations.

Key words : hereditary spherocytosis, scanning electron microscope

AKIHIKO HOSHINO, M.D.

*Department of Pediatrics, National Defense Medical
College, 2, Namiki 3 chome Tokorozawa, Saitama Japan*

抄 録

胃切除後の低カルシウム血性発作

Hypocalcaemic seizures following gastrectomy

Taitz L.S., Wales J. K. H. and Spitz L. : Eur. J. Pediatr., **141**, 36-38, 1983.

成人では、胃切除後の合併症として、低カルシウム血症および骨軟化症がしばしば認められる。著者らは、気管・食道奇形のため胃酸分泌粘膜の存在する胃の近位部を切除され、低カルシウム血症をきたし、けいれんをおこした2小児例を報告している。

第1例は胃切除後2年目に他の1例は6年目に大発作をおこした。2例とも低カルシウム血症が認められ、骨レントゲン像でクル病の所見が認められた。また副甲状腺ホルモン (PTH) は2次的に高値を示した。

非経口的にビタミンDを投与したところ、症状は改善し、血中カルシウム、PTHとも正常化した。

胃噴門部の切除により胃酸の産生が失われ、そのためビタミンDとカルシウムの吸収不全を起こし、クル病とけいれん発作が出現したと考えられる。

小児にとって胃切除術を行うことは稀であるが、近位部の胃粘膜を切除した症例では常にビタミンDの投与を考慮しておかなければならない。

(小児科 渡辺豊彦)

写真 1

写真 4

写真 2

写真 5

写真 1 ～ 5 : 症例 1 (2 歳の女児) の SEM 像

写真 3

写真 6

写真7

写真6, 7: 症例1の母親(34歳, 摘脾後)のSEM像

写真10

写真8~10: 症例2(2カ月の女児)のSEM像

写真8

写真11

写真9

写真12

写真11, 12: 13歳男子, 摘脾後のHSの症例(越谷市立病院三村部長の御好意による). ブドウ糖添加後37℃, 24時間 incubation したもの.