

Q&A No.19

今回のテーマ:

混合形質性急性白血病（Mixed-phenotype acute leukemia）の 診断基準について

質問:

WHO 分類において、混合表現型急性白血病（MPAL）の診断のための細胞系統同定の基準がありますが、これについては”あくまで MPAL の診断に用いる”というようなコメントがあるかと思います。また、2つの細胞集団がある場合（bilineage）や”一般的な AML や ALL では細胞系統決定のために、この厳格な基準を用いる必要はない”というようなコメントもあるかと思います。

私は、FCM 検査を実施する検査室で白血病などを解析する機会がありますが、結局はこの MPAL の表を用いて、系統に混合がないかを判断しております。

なので、”一般的な AML、ALL ではこれにのっって判断する必要はない”というようなコメントの真意がよく理解できておりません。どのように理解して利用すればよいのでしょうか。

回答にあたり

免疫学的系統特異マーカーは WHO 分類にも記載されているとおり、従来から大きな変化はありません。ただし、陽性率のどこから陽性とするのかについては議論の対象となりますので、少し記載させていただきます。

当施設の急性白血病の FCM は、病的芽球を約 9 割ゲートできる場合には、間接法にて陽性率とヒストグラムの評価を行っています。その結果、分化傾向や他の系統の存在が疑われる場合には、抗原発現量と蛍光の漏れ込みを考慮したパネルを設定し、亜集団の有無や分化傾向の解析を行います。間接法は、現状では実施施設はほぼありませんが、その利点は全ての目的抗原を公平に高い感度で測定できること、陰性の cut line の設定が容易なことです。抗体クローンを十分に選択した間接法では、蛍光強度について症例間および症例の経時的変化を評価することが可能です。染色の際には細胞数に注意しますが、直接蛍光標識抗体では細胞数・発現量などの絶対的な抗原量によって染色性が変化する可能性があり、直接法の抗体希釈試験では希釈に伴う蛍光強度の低下が顕著であることが多く、細胞数などの測定条件の

違いに注意する必要があります。また、直接蛍光標識抗体によるマルチカラー解析では、標識蛍光色素の輝度や spread による相対的な感度の低下が考えられ、感度の高い蛍光色素とお互いの漏れ込みのないパネルの設定が必要となります。このように、ガイドラインには基準が記載されていますが、その際にデータを取った方法が重要です。また、FCM 法における MPO や TdT、cytoplasmic μ 鎖などの細胞質内抗原は、オリゴクローナル抗体・ポリクローナル抗体などの違いや使用抗体濃度が不明など、厳密な陰性コントロールの設定が難しく、僅かなシフトの解釈は困難となります。

以下は、WHO 分類に精通した先生の回答です。

回答 1

MPAL の診断基準を見ると、骨髄系は MPO があるか、単球系については CD11c、CD14、CD64、リゾチーム (+非特異的エステラーゼ) の中から 2 つを求めています。M0 や M7 相当の AML では MPO 陰性です。M5 相当の AML では、上記の項目だけでなく CD11b や CD36、CD4 などを含めて判断することになります。また AML-MRC はしばしば MPO 陰性で、単球系マーカーが少し出ているようなことを経験しますが、上記の基準を満たしているとはいえないことはよくあります。

T 細胞系については、細胞表面あるいは細胞質内 CD3 の発現での評価がやはり重要かと存じます。実際、WHO 分類の T-ALL/LBL の項目では、“Of these markers (注 CD1a、CD2、CD3、CD4、CD5、CD7、CD8), CD7 and CD3 (cytoplasmic) are most often positive, but only CD3 is considered lineage specific.”とされています。ただし、この表記では、most often positive に留まっているため、必ずしも絶対条件になっていないように見えます。

B 細胞系については、CD19 とその他の 3 つのマーカー (CD79a、cCD22、CD10) を評価していますが、こちらについて、B-ALL/LBL (NOS) の項目ではむしろ always (CD19、cCD79a、cCD22) や in most cases (CD10) のような表現で、もう少し厳しめの基準になっているように見えます。一方で、B-ALL/LBL でも recurrent genetic abnormalities の各項目を見ると、CD19 や CD10 の発現のみに限定している場合が多く、KMT2A rearranged では CD10 は陰性であることが 1 つの特徴になります。

以上より、MPAL の基準はあくまで MPAL の診断における系列の決定に適用するものであり、特定の系統の腫瘍であることが限定されている場合には WHO 分類の個別の項目を見るべきであって、必ずしも MPAL にある基準で判断する訳ではない、ということなのだ と解釈しています。もちろん、骨髄系に比べて T 細胞系や B 細胞系の場合には、MPAL の基準に合致することが多いように感じています。

回答 2

MPAL の件、総説等には「一般的な AML や ALL では細胞系統決定のためにこの厳格な基準を用いる

必要はない」と記載しています。

たとえば、MPAL, B/骨髄性と診断するためには CD19 弱陽性の場合には骨髄系抗原に加えて CD79a、CyCD22、CD10 のうち 2 つ以上が陽性でないと「B 細胞系陽性」とは言えません。

一方で骨髄系抗原陰性の症例で例えば B-ALL/LBL with recurrent genetic abnormalities かどうかを判定する際には、CD19 弱陽性の場合でも上記 3 抗原中 2 つ以上が陽性にならなくてもよいという意味にとらえています。

回答 3

例えば CD3(-)CD19(-)CD7+CD13+CD33+CD117+HLA-DR+MPO (-) のような症例は、WHO 分類の MPAL の診断基準を絶対条件として分類すれば AUL に分類されてしまうことになると思いますが、実際には多くの場合 AML と診断されるのではないかと思います。

ETP-ALL の診断基準に紹介されている St. Jude の診断基準では、CD5 陽性は 75%以下と記載されており、myeloid 抗原については BJH Vol.156. 2012 の Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15 の EPT-ALL の予後検索では 25%以上を基準に分類しています。また、国立小児育成医療センターの清河信敬先生は、このような基準についての問題点として、「FCM の解析では、用いるクローンや標識蛍光の選択、機器の測定条件等によって検出感度が異なり、抗原の発現強度によっては陽性率が微妙に異なってくる可能性がある」と述べられています。標準化されてないためだと思いますが、EuroFlow のようにクローンや標識を最低限指定しなければ同じ診断には結びつかない症例も出てくるのは仕方ないと思います。

回答 4

B-ALL/LBL を例に挙げますと、MPAL の基準はやや厳しく設定されていると思います。WHO 分類 2017 (blue book) の B-ALL/LBL の項では、B-cell 系のマーカーの発現の程度は、少し曖昧な表現がなされています。

たとえば、小型～中型の芽球の細胞集団が 1 つあり、その診断を考えると、形態や FCM 所見から骨髄系や T-cell 系が否定的で、B-ALL/LBL の診断が妥当と考えられる場合は、MPAL の基準を満たしていなくても、B-ALL/LBL と診断することができると思います。

別の例を挙げますと、AML の典型像を呈する症例で、骨髄系以外のマーカーが発現していた場合、それが aberrant expression なのか？MPAL なのか？判断する必要があります。CD19 は AML でもしばしば陽性となりますが、細胞質内の B-cell 系マーカーが陰性かつ CD10 陰性であれば、MPAL の診断には至りません。

まとめますと、MPAL の基準に挙げられているマーカーは各系統に特異的な lineage マーカーであり、それらは細胞系統を判断する参考になりうると思います。ただし、実際に急性白血病を診断する際、それらを厳密に満たす必要はないと考えられます。WHO 分類 2017 の各疾患（AML, B-ALL/LBL, T-ALL/LBL）の項では、各マーカーが陽性となる頻度は、少し曖昧な記載がなされているためです。細胞形態や特殊染色所見、FCM 所見などから急性白血病として 1 つの診断にたどりついた後、その症例が複数の系統のマーカーを発現している場合に、MPAL であるかどうかを判断する際は、MPAL の基準を用いるのがよいと考えられます。