

## 2. 免疫学的マーカーによる小児急性リンパ性 白血病の分類と予後

中澤眞平\*<sup>1</sup>, 西野和良\*<sup>1</sup>, 杉田完爾\*<sup>1</sup>,  
木下明俊\*<sup>1</sup>, 高根恵子\*<sup>2</sup>

小児白血病の大部分を占める急性リンパ性白血病 (Acute lymphoblastic leukemia, ALL) は種々の形態学的分類が試みられて来たが、確立されたものはなく、免疫学的膜マーカーによる分類がその主流になって来ている。また、近年のモノクローナル抗体作製法の確立により、詳細な分類が可能になって来た。

一方、多数のモノクローナル抗体の出現により従来の簡単な分類と比較して著しく複雑になり、臨床面での分類の応用ならびに評価が難しくなり、再びその標準化が必要になって来た。本報告では、モノクローナル抗体による膜抗原を中心にした分類を試み、またその分類を基礎にした予後との関係について記載する。

### 1. 材料および方法

#### 1. 対象

1979年12月から1985年6月までに当教室で免疫学的膜マーカーの検索を行った小児急性リンパ性白血病 (ALL) 328例より経過の追跡が可能であった症例で、十分に膜マーカー解析が出来たものを選び解析した。症例は当教室自験例にくわえ東京小児白血病治療研究グループの諸病院より提供を受けたものである。

#### 2. 免疫学的膜マーカー

本研究で分類に用いた免疫学的マーカーは表1に示した。具体的な方法は省略するが、原則的には間接蛍光抗体法で行い、一部で検体量の少ない

例では間接ロゼット法<sup>1)</sup>を用いた。また1982年以前の症例では、モノクローナル抗体は使用出来なかったため、すべてヘテロ抗体を用いた。Common ALL 抗原 (CALLA) としては Rabbit anti-KOPN-K cell antibody<sup>2)</sup>を用いた。骨髓単球抗原ならびに巨核球血小板抗原は急性リンパ性白血病に混入する急性非リンパ性白血病を除外する目的で使用した。分類の基準<sup>3)</sup>は、Null-ALL は E-ロゼット形成 (-), 膜免疫グロブリン (-), CALLA (±, 大部分は+), T-抗原 (-), Ia 様抗原 (±, 大部分+), B-抗原 (B 1 抗原約50% + B 4 抗原大部分+), 骨髓単球抗原 (-), 巨核球血小板抗原 (-)。従来の分類と異なる点は、Null-ALL を Common ALL と CALLA (-) の Unclassified ALL に分け、後者は症例が少なく、また未熟な急性非リンパ性白血病が混ざるため、今回の検討からは除外した。また一部は Double PAP 法<sup>4)5)</sup>により細胞質内μ鎖を検索した。T-ALL は E-ロゼット形成 (±, 50%+), 膜免疫グロブリン (-), T-抗原 (+), CALLA (±, 大部分-), Ia 様抗原 (±), B-抗原 (-), 骨髓単球抗原 (-), 巨核球血小板抗原 (-)。B-ALL は E-ロゼット形成 (-), 膜免疫グロブリン (+), T-抗原 (-), B-抗原 (+), CALLA (±, 大部分+), Ia 様抗原 (+), B-抗原 (+)。

#### 3. 予後の解析

病型と予後の関連は Kaplan-Meier 法ならびに generalized Wilcoxon 法を用い、 $P < 0.05$  を有意とした。

### 〔結 果〕

\*<sup>1</sup> 慶應義塾大学医学部小児科学教室

\*<sup>2</sup> 社会保険埼玉中央病院免疫研究室

表1 免疫学的膜マーカー検索に用いた方法

1) ロゼット (E, EA, EAC) 【マイクロテストプレート法】
2) 膜免疫グロブリン (IgA, IgG, IgM, kappa, lambda) 【直接膜蛍光抗体法】
3) 細胞質内μ鎖 【Double PAP法】
4) 膜抗原 【間接膜蛍光抗体法】 1) T-抗原 OKT3, 4, 6, 8, 11, Tp40, KOR-T49, KOR-T60 Rabbit anti-human T-lymphocytes serum 2) Ia 様抗原 KOR-Ia17, I2 Rabbit anti-human B-lymphoid cell serum 3) B-抗原 Anti-B1, Anti-B4, KOR-B80 4) Common ALL 抗原 J5, KOR-N34 Rabbit anti-KOPN-K cell line serum 5) 骨髄単球抗原 MCS-2, MY4, MY7, MY9 Rabbit anti-human myeloid cell line (HL60) serum 6) 巨核血小板抗原 KOR-P77, Pit-1

表2 免疫学的膜マーカーによる分類と頻度

Type	症例数	頻度
Common ALL	236	72.0 %
Unclassified ALL	22	7.0 %
T-ALL	56	17.1 %
B-ALL	14	4.3 %
Total	328	

1. 分類結果

前述の基準により 328 例の ALL を分類した結果は表 2 に示した。Common ALL および Unclassified ALL は 258 例 (78.7%)、T-ALL は 56 例 (17.1%)、B-ALL は 14 例 (4.3%) であった。Common ALL の診断はモノクローナル抗体 (J5, KOR-N34) あるいはヘテロ抗血清のどれか一種の抗体に反応した場合陽性にしており、症例の中には 2 種のモノクローナル抗体の内一種にしか反応しないものが存在した。Unclassified ALL のうち約 50% の症例で Ia 様抗原の発現が見られなかった。T-ALL では全て抗 T-抗原ヘテロ抗血清に反応を示したが、モノクローナル抗体に対する反応はまちまちで、Tp 40<sup>6)</sup> の様な

Pan-T 抗体に対しても 100% の反応はみとめられなかった。表 3 には一部の T-ALL のモノクローナル抗体による細胞膜マーカーの解析結果を示したが、一定の傾向は認められなかった。B-ALL は大部分が CALLA を発現しており、形態も Burkitt's lymphoma 細胞様の形態 (FAB 分類 L3) を示した。しかし 2 例は FAB 分類 L1 の形態を示し、膜免疫グロブリン (μ鎖) も非常に微量で、いわゆる Pre-B ALL<sup>7)</sup> であった。Common ALL の内、61 例について細胞質内 μ鎖の検索を行ったところ、13 例 (21.3%) で細胞質内 μ鎖が認められた。

2. 病型と予後

急性リンパ性白血病 328 例のうち 3 カ月以上の経過が観察され、さらに具体的なデータが得られた症例 230 例 (Common ALL: 183 例, T-ALL: 35 例, B-ALL: 12 例) について Kaplan-Meier 法ならびに generalized Wilcoxon 法を用い予後との関連を検討した。Common ALL (CALL) は東京小児白血病治療研究グループの基準により High Risk Group (High RG) 104 例と、Standard Risk Group (Stand RG) 79 例に分けて検討した。図 1 はそれぞれのタイプの ALL を比較した結果

表3 The Reactivity of Monoclonal Antibodies to T-ALL

Pat	AGE	E	EAC	T-Ag	CALLA	T49	T3	T4	T6	T8	T11
CK	13F	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
SD	12M	+	-	+	-	+	+	-	nd	-	+
AT	3M	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+
SM	10M	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+
US	4F	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+
KY	5M	+	+	+	-	+	+	+	nd	+	+
EK	9M	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
OF	7M	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
MM	4F	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
UH	14M	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
AJ	5M	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
MN	11M	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
IT	9M	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-
AT	5M	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+
AS	5M	+	-	+	-	+	nd	+	nd	+	nd
III	11M	+	+	+	-	+	-	+	nd	+	+
SR	9M	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
IN	4F	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
MN	5M	+	+	+	-	+	nd	+	nd	+	nd

E : E-Rosette, EAC : EAC-Rosette,  
 T-Ag : T-antigen determined by rabbit anti-human T lymphocytes antigen  
 CALLA : CALLA determined by J5  
 T49 : Pan-T antigen determined by KOR-T49  
 nd : not tested

を示した。Disease Free Survivalで見ると、B-ALLは、他のタイプのALLと比較して有意に短く ( $P < 0.001$ )、予後不良であることを示した。〔T-ALLとCALL, Stand RG〕, 〔CALL, High RGとCALL, Stand RG〕の比較では、24カ月まではCALL, Standが他のタイプより予後良好 ( $p < 0.05$ ) であるが、24カ月以降では有意の差は認められなかった。さらにT-ALLとC

ALL, High RGではすべての時点で差を認めなかった。

Common ALLの中で、細胞質内 $\mu$ 鎖を発現しているPre-B ALL (13例)と発現していないもの(図2, Non-T, non-B, 48例)を比較した結果は図2に示した。Pre-B ALL群は12カ月までDisease Free Survivalは有意に短縮していたが、以降は両群に差は認めなかった。図3は

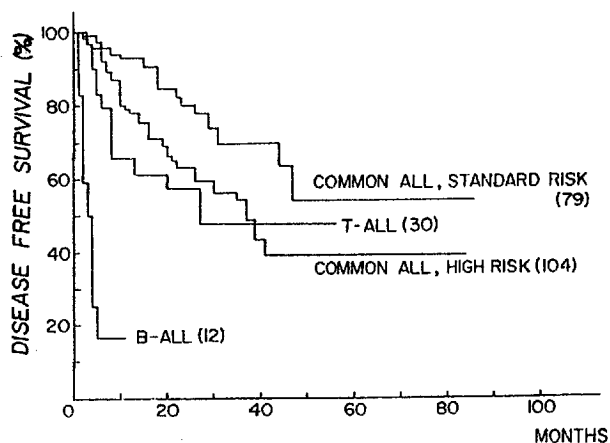


図1 Disease Free Survival (%)

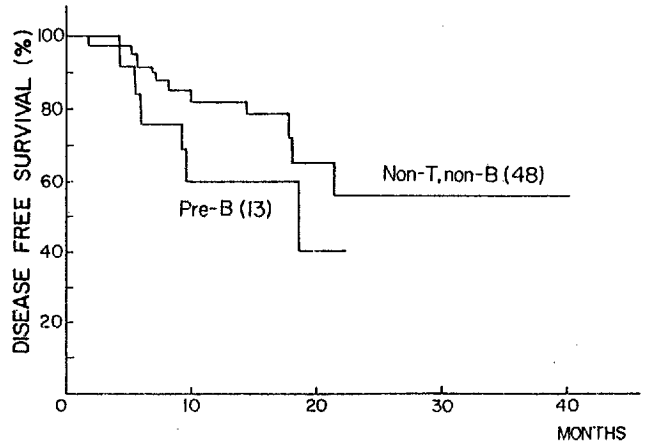


図2 Disease Free Survival (%)

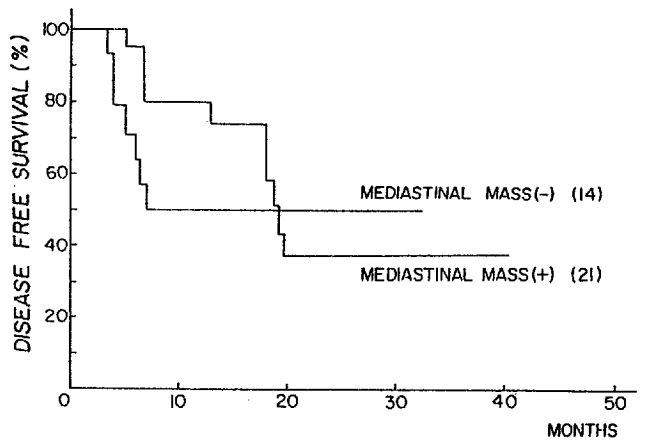


図3 Disease Free Survival (%)

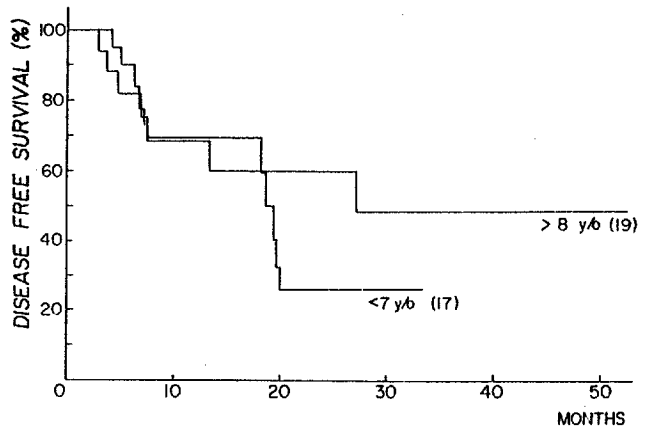


図4 Disease Free Survival (%)

T-ALL において前縦隔腫瘍の有無による比較 ( $p > 0.1$ ), 図4は T-ALL での年齢差による比較 ( $p > 0.1$ ) を示したが, 前縦隔腫瘍の有無, 年齢は今回調べた限りでは T-ALL の予後因子にはならなかった。

【考 按】

急性リンパ性白血病の分類はモノクローナル抗体の開発により, 一般化されてきた。しかしながらモノクローナル抗体だけで診断する場合, 多種

類のモノクローナル抗体を使用する必要がある。T-ALL の診断には Pan-T 抗体を用いても、100%診断することは出来ず<sup>8)</sup>、また多くの Pan-T 抗体は他の lineage の細胞とも反応することがあり、ヘテロ抗血清を併用する必要がある。我々が用いた Pan-T 抗体、Tp 40は一部の急性骨髄性白血病細胞に反応を示した。また種々の T-リンパ球 subset に対するモノクローナル抗体パネルで小児 T-ALL を調べた結果では、一定の傾向を示さず、限られた症例ではあるが、モノクローナル抗体による分類の意義は明らかでなく、今後の詳細な検討が必要と思われる。小児白血病の大部分を占める急性リンパ性白血病 (ALL) の予後因子の一つに免疫学的細胞膜マーカーが関与することは既に報告した来た。我々が前回行った解析では、Non-T, non-B ALL (Pre-B ALL, Unclassified ALL を含む)、T-ALL, B-ALL の3群間に明らかな予後の差を認めた<sup>9)</sup>。しかしながら今回の検討では、Common ALL, Standard Risk Group と T-ALL では2年以降は差はなく、また Common ALL, High Risk Group と T-ALL ではどの時点でも差は認められなかった。限られた観察期間であり、結論的なことは明らかではないが、T-ALL では LSA<sub>2</sub>, L<sub>2</sub> や Hex (TCLSG 11 th. Protocol) の様な強力な治療プロトコルが用いられて来て、治療成績が向上したことも考えられる。Pre-B ALL の予後については議論のおおいところである。今回の我々の方法による診断方法での分類と予後の検討では、細胞質内  $\mu$  鎖陰性群との差は認められなかった。他の報告でも差があるとするもの<sup>10)</sup>と、ないとするもの<sup>11)</sup>があり、結論は得られていない。Pre-B ALL の診断方法の標準化と長期の観察が必要と思われる。

## § 文 献

- 1) 中澤真平, 森泰二郎, 西野和良, 杉田完爾, 高根恵子: 間接ロゼット法による白血病細胞膜抗原の解析, 厚生省心身障害研究報告書, III, 小児白血病の治療に関する研究昭和59年度研究業績, p. 133-140.
- 2) 森泰二郎, 中澤真平, 西野和良, 杉田完爾, 高根恵子, 他: Pre-B 細胞性白血病細胞株 KOPN-K の樹立とその性状. 日児誌, 90: 6 (in press).
- 3) 中澤真平: 白血病の分類. 小児科の進歩, 前川喜平, 今村栄一編, 1985, 診断と治療社.
- 4) 中澤真平, 杉田完爾, 西野和良, 高根恵子: Double PAP 法による細胞質内  $\mu$  鎖の検出, Pre-B ALL の診断. 厚生省心身障害研究報告書, III, 小児白血病の治療に関する研究昭和58年度研究業績, p. 123-128.
- 5) 杉田完爾, 中澤真平, 高根恵子, 木下明俊, 鈴木敏雄, 他: Double PAP 法を用いた各種培養細胞株ならびに小児 non-T, non-A ALL 細胞の細胞質内  $\mu$  鎖の検出. 日血誌, 49: 147-154, 1986.
- 6) Tsuge, I., Ueda, R., Nishida, K., Nami-kawa, R. et al.: Five antigens on human T cells detected by mouse monoclonal antibodies. Clin. exp. Immunol., 58: 444-452, 1984.
- 7) 西野和良, 中澤真平, 杉田完爾, 高根恵子, 森泰二郎, 他: Non-Burkitt's type B-ALL 患者末梢血より樹立された白血病細胞株 KOPB-26 の性状. 日血誌 (in press).
- 8) Borowitz, M. J., Dowell, B. L., Boyett, J. M. et al.: Monoclonal antibody definition of T cell leukemia: A pediatric oncology group study. Blood, 65: 785-788, 1985.
- 9) 中澤真平, 森泰二郎, 杉田完爾: 免疫学的マーカーによる小児白血病の分類. 厚生省心身障害研究報告書, III, 小児白血病の治療に関する研究昭和58年度研究業績, p. 129-132.
- 10) Crist, W., Boyett, J., Roper, M. et al.: Pre-B cell leukemia responds poorly to treatment. A pediatric oncology group study. Blood, 63: 407-414, 1984.
- 11) Vogler, L. B., Crist, W. M., Sarrif, A. M. et al.: An analysis of clinical and laboratory features of acute lymphoblastic leukemias with emphasis on 35 children with pre-B leukemia. Blood, 58: 135-140, 1981.



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



小児白血病の大部分を占める急性リンパ性白血病(Acute lymphoblastic leuckemia,ALL)は種々の形態学的分類が試みられて来たが、確立されたものはなく、免疫学的膜マーカーによる分類がその主流になって来ている。また、近年のモノクローナル抗体作製法の確立により、詳細な分類が可能になって来た。

一方、多数のモノクローナル抗体の出現により従来の簡単な分類と比較して著しく複雑になり、臨床面での分類の応用ならびに評価が難しくなり、再びその標準化が必要になって来た。本報告では、モノクローナル抗体による膜抗原を中心にした分類を試み、またそのその分類を基礎にした予後との関係について記載する。