

白血病の細胞学的分類

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木潔教授）

真	田	浩
太	田	善
小	塚	堯
尾	上	修
咲	川	嘉
西	原	達
本	家	和
		紀

〔昭和39年11月26日受稿〕

血液細胞の鑑別が May-Giemsa 染色等の死後染色によつてのみなされていた当時は芽球の分類は著しく困難であり、白血病の分類も甚だ不正確であつた。最近血球検査術式の進歩により特に動態観察がとりいられるに及んで不明の分野は著しく縮小された。しかしながら、急性白血病、特に大部分が芽球で占められているものについては、今日なお盛んに論議が行われている。現今では生体観察即ち位相差顕微鏡観察、墨粒貪喰試験、ヤーヌス緑・中性赤による生体染色等によつて、骨髓芽球、淋巴芽球等の鑑別が略確實になし得るようになった。しかしごく一部には鑑別困難な場合があり、電顕による観察の進歩と、細胞化学的検査、螢光顕微鏡的観察等の活用によつて、更に正確な分類が可能になりつつある。私達の教室においてはこれら諸検査術式のできるだけ多くのものを用いて血球鑑別を試み、総合判定を行い、白血病分類に多大の成果を収めている。ここでは特に最近注目され今後の進展が期待される、細胞化学的検査、螢光顕微鏡的検査、電顕像について簡単に述べる。

細胞化学的検査

近年細胞化学的検査法の進歩は著しいものがあり、漸く組織から血球塗抹標本について検索がなされるようになった。血球における化学成分の局在場所と、代謝に関するその役割及び病的細胞における化学成分の変動等を追求し、白血病分類にあつてその相違点を検討し血球鑑別に役立てようという試みがなされており、有用な所見が得られつつある。

細胞構成成分については、核酸および蛋白質では、白血球の種類による有意差は認められていない。炭水化物の検出には、PAS 反応と、メタクロマジー法があるが PAS 反応は盛に用いられ、また白血病時には屢々陽性を呈する。PAS 反応は成熟好中球では陽性であるが、正常骨髓芽球では大部分陰性、一部陽性である。白血病時には陽性のものと陰性のものがある。正常淋巴球では殆んど陰性であるが、急性淋巴球性白血病の芽球は陽性を示すといわれている。また、正常赤芽球は PAS 反応陰性であるが、赤血白血病の赤芽球は何れも陽性を示すとされている⁹⁾。顆粒白血球グリコーゲンは、類白血病反応では増加し、慢性骨髓性白血病では低下することが認められている¹²⁾。脂質の検出には従来 Sudan III, IV が用いられていたが、Sudan black B を用いると甚だよく染る。好中球顆粒は脂質を含んでおり陽性を呈するが幼若になるに従い減弱し、骨髓芽球では陰性のものもみられる。

好中顆粒（未熟顆粒を含む）には、脂質、蛋白質、多糖類及び酵素が局在しており、細胞化学的には安定 Nadi oxidase, Peroxidase, DOPA oxidase, 酸性、アルカリ性 Phosphatase, Sudanblack B, Di-thizone 染色がある。正常及び慢性骨髓性白血病の好中球系細胞は殆んど 100% 陽性を示し、正常及び慢性淋巴球性白血病の淋巴球はすべて陰性である。しかし急性骨髓性白血病では、これらの陽性率がまちまちであり、或程度陽性率が低下する。特に Azur, 安定 Nadi oxidase, Peroxidase で低下がみられる場合でも Sudan black B 染色では殆んど低下

せず Giemsa 所見で Azur に染らないものでも、これらの細胞化学的方法を併用することにより、好中顆粒特有の陽性所見が得られリン巴球系細胞との鑑別が可能になることがある¹⁷⁾。

血球内の酵素については、Aldolase, Cytochrom oxidase, Succinic dehydrogenase, Amylophosphorylase, 等の活性は何れも好中球系細胞に強く、リン巴球系細胞に低い所見を呈するが、リン巴芽球についてはなお充分明らかでない。Enolase 活性は骨髓芽球では正常乃至高値を示し、リン巴球系細胞では低下がみられ、急性白血病において細胞鑑別上或程度価値が認められている¹³⁾。

アルカリ性 Phosphatase は類白血病反応で上昇¹⁶⁾、慢性骨髓性白血病で低下する¹⁸⁾が、朝長¹⁹⁾の Naphthol-AS-MX phosphate⁶⁾を用いる方法によれば鋭敏度、再現性ともに極めて良好で簡単に行うことができる。しかし芽球の鑑別には用い得ない。以上の如く正常細胞と白血病細胞の間並びに各血球系統における酵素の差異について種々検索されているが、いまのところ酵素活性の量的な差が認められるのみで、質的な差は証明されていない。

Brachet test¹⁵⁾。血球の核は DNase によつて消化されるが、血球の種類により消化のされ方に差があり、リン巴球は最も強く抵抗し、対照と同様に核はよく染色されるのに対し、好中球系細胞の核はよく消化されて後染色に染らない。これを幼若血球の鑑別に応用し、リン巴芽球と、骨髓芽球を区別することができる。しかし、単球、好酸球、好塩基球、赤芽球の核は殆んど染色性を失わないので、単芽球とリン巴芽球の区別は本法では困難である。

(附)。染色体構成について。慢性骨髓性白血病において Philadelphia 染色体(第7群の染色体4箇が明らかに小さく、長脚の部分的欠損によるものと考えられる)が異常に高率にみられる他は、病型による特異性はなく、細胞鑑別には役立つ¹¹⁾。

螢光培養法

組織培養培地に培地濃度 10,000 倍の Acridine orange を添加して培養すれば、各血球系統に特異な所見が得られる。即ち増生帯構成細胞の種類並びに成熟度の種々な細胞の含まれる割合により、呈する色調に差がみられ、且つ、増生帯の Pattern をも同時にみることができるのであるが、更に個々の芽球についても特異的な螢光像を呈するので、May-Giemsa 所見で不明のものをも分類することが可能である。

即ち、リン巴球では核、胞体ともに帯黄緑色を呈し、核膜は最も厚く明瞭、核小体は強緑色であり、核網は他の芽球より粗で、胞体縁は明瞭、少数の赤色粗大な顆粒が胞体全域に少数散在し、屢々小空胞状を呈する。

骨髓芽球では核膜は緑色不明瞭であり、核網は線細で殆んど螢光を認めず、胞体の緑色螢光は最も弱く、微細針状の橙色顆粒が胞体内に散在する。

単芽球では核膜は最もうすいが、緑色螢光が強く、核網も非常に線細で弱緑色螢光を認め、核小体の螢光は他の芽球より強く、胞体も強い緑色を呈する。細胞中心域は屢々拡大して黒くぬけて見え、その周囲に赤橙色顆粒が集簇し、著明に空胞化して花冠形成を呈する。更に May-Giemsa 標本で芽球と思われる細胞の多くは、螢光法ではその細胞の所属を特徴づける顆粒が少数みとめられ容易に鑑別可能である。

位相差顕微鏡による圧挫標本の観察及び運動形態の所見及び生体染色所見は各芽球の鑑別上甚だ有用であるが、ここでは省略し、終に一括して表示する。

電 頭 像

血球の電頭的観察の重要性は特殊な操作を加えた状態でなく、位相差顕微鏡による観察と同様、細胞構成要素が生体内にある場合と極めて近似した状態で検査できる点で甚だすぐれている。電頭像では May-Giemsa 染色で芽球と思われる細胞にも、細胞の属する系列の特徴がみられ細胞鑑別が可能となる。即ち骨髓芽球では未熟好中顆粒の存在により細胞の同定を行い得る。また顆粒のない幼若細胞においても核、核小体、糸粒体、小胞体等の形態を総合検討することにより、細胞種を決定しうることが多い。

リン巴芽球。細胞は小型、辺縁平滑で細胞質はせまい。糸粒体は大型で短桿状乃至類円形で明るく膨化し易く、Cristae の乱れがあるものがある。糸粒体内顆粒は極めて少数、細胞中心域又はその他の部分に散在する。胞体には顆粒は稀である。高電子密度の脂肪顆粒をみることがある。粗面小胞体は甚だ少く、滑面小胞体は少数ある。Golgi 体の發育は貧弱。fibrillar formation はみられない。核は類円形で屢々大なる切れ込みを有する。核質は暗く、色質結節はない。核仁糸の構造は比較的明瞭である。リン巴肉腫では通常のリン巴芽球に比し糸粒体が比較的小型で長いものが多いことが特徴で、その他の所見はリン巴芽球に類似している⁴⁾。

骨髓芽球。細胞は中型、辺縁は比較的平滑、時に

小突起をみる。細胞質は中等度。糸粒体は中等大で短桿状乃至類円形を呈し時に細長い。最も暗くCristaeの乱れはない。糸粒体内顆粒は1~数箇認められる。糸粒体は核の陥凹部主として中心域に分布する。胞体には未熟顆粒を少数認める。粗面小胞体は少数で細胞全域に散在する。滑面小胞体も少数存在する。Golgi体の発育は中等度である。Fibrillar formation^{2), 6)}あり、Auer小体を認めることがある。核は類円形乃至腎形で、中等度電子密度、辺縁に僅かに色質結節あり。核仁糸は明瞭乃至不明瞭である。急性骨髄性白血病の骨髄芽球は慢性骨髄性白血病の骨髄芽球と大差はないが、核の陥凹著明なものが多くなりGolgi体は小さくなる⁷⁾。Peroxidase反応陰性の骨髄芽球においても上述と同様の所見を呈するといわれている⁸⁾。

単芽球。細胞は大型、不整形で辺縁凹凸、不規則な突起あり、糸粒体は小型で短桿状乃至類円形を呈し、暗く、Cristaeの乱れあり、糸粒体内顆粒を有し、細胞質全域に散在する。一部中心域に集合して

存するものもある。胞体には小型、略円形の未熟顆粒が散在する。粗面小胞体は少数。滑面小胞体は比較的多数ある。Golgi体の発育は中等度で放射状排列を認める。Fibrillar formationあり。核は類円形で切れこみは中等度、核質は明るく色質結節はない。核小体は大きく、紐状構造の集塊としてみられる。

赤血白血病の赤芽球では胞体、核型の不整、巨大化、核分葉、成熟度の解離(核小体遺残、線状小胞体、Golgi体が成熟した赤芽球にもみられる)がみられ、糸粒体は小型のものが多数存し、分布異常を示す⁹⁾。

以上最近における白血病細胞の分類に関して述べたが、従来の方法とともにこれらの観察法を加えて総合判定を行うならば殆んど確実に細胞種別を決定することが可能であり、臨床面においてできるだけ広く利用されることを切望する。

なお参考までに各観察法による所見の概要を表示した。

表1 各芽球の May-Giemsa 染色所見上の特徴



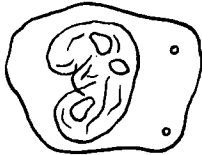
	淋 巴 芽 球	骨 髄 芽 球	単 芽 球	
細胞の大きさ	小	中	大	
胞体	形	類円形	類円形~楕円形	辺縁不規則、突起
	アウエル小体	(-)	屢々(+)	屢々(+)
顆粒	稀にアズール顆粒	時にアズール滴状物質	屢々アズール滴状物質	
核	形	類円形、鋭い陥凹	類円~楕円形、時に1~2の陥凹	不整、立体的分葉傾向
	核網	比較的粗で凝集傾向	線細~やや粗、緻密	甚だ線細
	核小体	1-2箇 明瞭	2-4箇 明瞭	2-4箇 不明瞭
		類円形、染色質縁なし	類円~不整形、染色質縁著明	類円~不整形、染色質縁あり
				

表2 プリラントクレシール青超生体染色所見

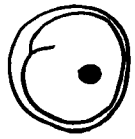
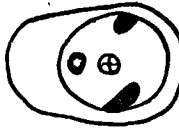
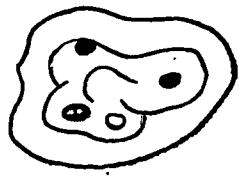
		淋 巴 芽 球	骨 髄 芽 球	単 芽 球
核	核 膜	菲薄, 微青色, 染色質塊の附着なし	明瞭に青染, 染色質塊の附着あり	明瞭に青染, 染色質と連絡あり
	核 網	微細顆粒状に染色質が散在	網状染色質あり, 染色質に富む,	網状染色質あり, やや染色質に富む
	核 形	類 円 形	類円形~楕円形, 屢々1~2の陥凹	立体的分葉傾向, 不整形,
核小体	形	類 円 形	類円形~不整形	類円形~不整形
	数	1 ~ 2	2 ~ 4	2 ~ 4
	染色性	均等に青染, 核染色質と連絡なし	均等に青染又は環状, 核染色質と僅かに連絡あり	均等に青染又は環状, 核染色質と僅かに連絡あり
				

表3 位相差顕微鏡所見


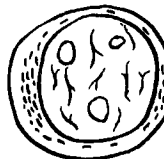
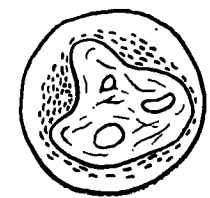
		淋 巴 芽 球	骨 髄 芽 球	単 芽 球
細胞の大きさ		やや小	中等大	やや大
細胞の形		円形~卵円形~多角形	円形~卵円形, 胞体突起あるものは不整	円形~卵円形
胞体の巾, 辺縁		狭い, 厚い, 一般に平滑, 凹凸又は鋸歯状の短突起をもつものあり	中等度, 薄い, 辺縁平滑, 時に多少凹凸	広い, 最も薄い辺縁平滑, 時に波状膜状, 針状突起
糸粒体	数	少 数	多 い	最 多
	形	短 桿 状	短桿状又は点状	短桿状又は点状
	大きさ	大, 長いものがあるのが特徴	大~中等大	中等大~微細
分布		核周, 細胞中心部の核陥凹部にすだれ状に並ぶ傾向	核周, 時に疎な集合形成	核周, 屢々密な集合形成(核陥凹部)胞体周辺部まで散布, 胞体突起に入る
顆 粒		な し	時に存在, ゴルジ野又は核側	な し
空 胞		屢々数箇存在(光輝性空胞)	稀, 小	稀, 大, 3-4箇
核	形	円形又は不整形, 時に深い切れこみ	楕円形, 時に1-2の陥凹	楕円形又は2-3の陥凹
	膜	厚い, 大部分に部分的肥厚	薄い, 部分的結節状肥厚軽度	非常に薄い, 核膜肥厚はごく僅少
核 質		太い, 粗剛, 核質の凝集部分が斑状にみられる	中等度~細い小凝集塊を所々にみる	細い, 所々に核質凝集部あり
核 小 体		1~3箇, 比較的小, 円形~楕円明瞭のこと多し, 辺縁平滑鋭利泡状構造中等	1~4箇中等大, 円形~卵円比較的不明瞭, 辺縁平滑, 鋭利, 泡状構造乏し	2-5箇不整形を呈するもの屢々, 比較的不明瞭, 小泡状構造明瞭
ゴ ル ジ 野		發育不良, 不明確	中等大, 周囲は明確に限界	よく發育し大, 放線状構造
運 動 形 態		比較的好く動く, 濃厚な小形偽足(辺縁は鋸歯状~平滑)を出没する. 手鏡状, 前進部に円形~鋸歯状の薄い突起をだし, 次いで核がすべりこみ, 最後に糸粒体が残る. 運動に際し核はかなり変形する	他の芽球に比し運動性は低いが明瞭にみられる. 舌状突起をだし, 偽足の進展方向は安定, 程度は軽微. 変形~旋回運動のみのことあり	成熟単球と同様の旗状偽足運動, 出沒頻度さかんで進展方向は変化し易い
				

表4 生体染色所見

		淋巴芽球	骨髓芽球	単芽球
糸粒体	数	少い	多い	最も多い
	形	短桿状	短桿状又は点状	短桿状又は点状
	大きさ	大	大~中等大	中等大~微細
	分布	核周に疎, 時に小集合形成	核周, 時に疎な集合形成	核周, 屢々密な集合形成
中性赤顆粒		なし	屢々存在, 橙赤色, 核周	なし
中性赤空胞	数	屢々少数存在	屢々少数存在	多数~無数
	大きさ	小~中等大	小	大
	色調	帯黄赤色	濃赤色	緋紅色
	分布	核周, 時により小集合形成	小集合形成	核の一侧に集合形成, 時に胞体内に疎に分布


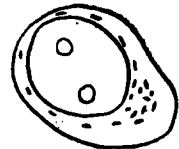
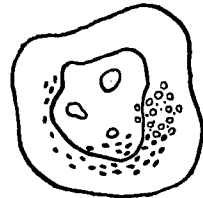




表5 細胞化学的所見

	好中球系細胞	淋巴球系細胞
不安定 Nadi oxidase	+	++
Succinic dehydrogenase	+	++
Glycogen	++	+
Amylophosphorylase	++	+又は-
Aldolase	++	+又は-
Lactic dehydrogenase	++	+又は-
Enolase	++	+
Acid phosphatase	++	+
Alkaline Phosphatase	++~+	-
Brachet test	++	-
好中球顆粒及び Progranula を染める細胞化学的染色		
安定 Nadi oxidase	++	-
Peroxidase	++	-
DOPA oxidase	++	-
Sudan black B	++	-
Dithizone	++	-

表 6 螢 光 所 見

	淋 巴 芽 球	骨 髓 芽 球	単 芽 球
胞 体 色 調	帯黄緑色	弱 緑 色	緑 色
顆 粒 成 分	数, 色 調	少数, 橙色	比較的多数, 赤橙色
	形 態	粗大顆粒状又は不整形	微細針状
核	分 布	胞体全域に散在	細胞中心域附近に限局
	空 胞 化	比較的著明	軽 微
核	核 膜	最も厚く明瞭, 強緑色 又は帯黄緑色	比較的厚く不明瞭, 緑色
	核 網	粗, 帯黄緑色	微細, 殆んど螢光を認めず
	核 小 体	円形, 不明瞭, 帯黄緑色	円形, 不明瞭, 緑色



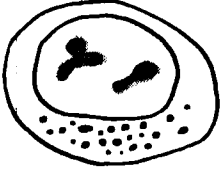
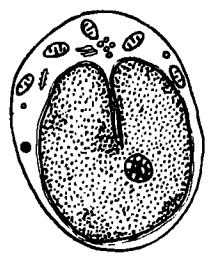
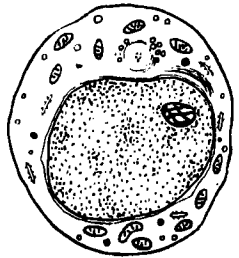
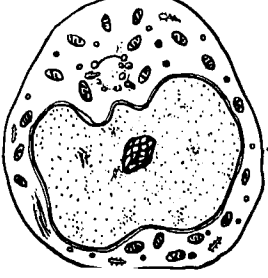




表 7 電 顕 像

	淋 巴 芽 球	骨 髓 芽 球	単 芽 球	
細胞の大きさ	やや小	中	やや大	
細胞の形	円形~楕円形, 辺縁平滑細胞質はせまい	円形~楕円形~不整形比較的平滑, 時に小突起	不整円形~不整楕円形, 辺縁凹凸あり, 不規則な突起あり	
	数	少	中	多
糸粒体	大きさ	大 (0.4~0.5 μ に達す)	中(太さ0.25, 長さ0.5~0.7 μ)	小
	形	短棒状~類円形, 時に太く長い.	短棒状~類円形, 時に細長い.	短棒状~類円形
	構造	Cristaeの乱れているものあり明るい, 膨化し易い	Cristaeの乱れなし, 最も暗い.	Cristaeの乱れあり暗い
顆粒分布	ごく少数	1~数箇	あり	
	中心域その他の部分に散在	核の陥凹部, 主として中心域	細胞質全域に散在, 一部中心域に集合	
未熟顆粒	大, 甚少い	大, 少い.	小, 少い, 略円形, 散在	
粗面小胞体	甚少い. 部分的開大あり	少い, 開大殆どなし, 細胞全域に散在	少い, 開大殆どなし	
滑面小胞体	少 い	少 い	比較的多い.	
RNA顆粒	少 い	な い	中 等	
Fibrillar formation	(-)	(+)	(+)	
Golgi体	構造	微小空胞~層状	微小空胞~層状, 放射状配列	
	發育	小	中	
核	形	類円形, 屢々大なる切込み	類円形~腎形	
	核質	高電子密度, 微細顆粒状, 色質結節なし	中等電子密度, 微細顆粒状, 色質結節が辺縁に僅にある	
核小体	核仁糸の構造比較的明瞭.	核仁糸明瞭~不明瞭	巨大で紐状構造の集塊としてみえる	
その他		Auer小体	Auer小体	

文 献

- 1) Ackermann G. A. and N. C. Bellios: A study of the morphology of the living cells of blood and bone marrow in supravital films with the phase contrast microscope. II. Blood and bone marrow from various hematologic dyscrasias. *Blood*, **10**, 3~16, 1955.
- 2) Akasaka. K.: An electron microscopic study of blood cells. Ultrastructure of acute myelogenous leukemic cells: with particular reference to Auer bodies. *Acta haemat. jap.* **22**, 899~915, 1958.
- 3) 赤坂清司: 赤芽球系細胞の微細構造. 日本血液学全書. **1**, 形態. 310~326, 丸善, 東京, 1963.
- 4) 天木一太, 伊藤健次郎, 堀内篤: 電顕像による分類. 日本血液学会雑誌. **26**, 35~39, 1963.
- 5) Burstone M. S.: Histochemical comparison of naphthol AS phosphates for the demonstration of phosphatases. *J. Nation. Cancer Inst.* **20**, 601~616, 1958.
- 6) Freeman J. A. and M. S. Samueles: The ultrastructure of a "fibrillar formation" of leukemic human blood. *Blood*, **13**, 725~731, 1958.
- 7) 伊藤亨, 赤坂清司, 福原文雄: 電顕像による分類. 日本血液学会雑誌. **26**, 39~42, 1963.
- 8) 伊藤亨: オキシダーゼ陰性の白血病性骨髄芽球. 殊にその電顕像について. 日本血液学会雑誌. **26**, 139~141, 1963.
- 9) 橋本薫明: 赤白血病の経験. その赤血病および白血病との境界. 日本血液学会雑誌. **26**, 88~92, 1963.
- 10) 平木潔, 小塚堯: 蛍光顕微鏡による分類 (アクリジンオレンジ使用). 日本血液学会雑誌. **26**, 22~25, 1963.
- 11) 衣笠恵士, 三輪卓爾: 白血病の種類と染色体構成について. 日本血液学会雑誌. **26**, 17~21, 1963.
- 12) Mitus W. J. et al.: Cytochemical studies of glycogen content of lymphocytes in lymphocytic proliferation. *Blood*, **13**, 748~756, 1958.
- 13) 三輪史朗: 白血病細胞の Enolase. 日本血液学会雑誌. **26**, 13~17, 1963.
- 14) 宮崎重武: 血液及び骨髄細胞の位相差顕微鏡学的研究. **1**. 血液及び骨髄細胞の正常所見並びに白血病細胞所見. 特にその治療による影響について. *内科宝函*. **6**, 1002~1024, 1959.
- 15) Miyoshi I, H. Sanada: Brachet-test (urine hydrolysis test) as an aid to differentiation of leukemic cells. *Acta Med. Okayama*. **16**, 225~231, 1962.
- 16) 中尾喜久, 前川正: 類白血病反応. **A**. 臨床病理. 日本血液学全書. **5**, 白血病及類縁疾患, 1~17, 丸善, 東京, 1962.
- 17) 滝川清治: 白血病の細胞化学による分類. 日本血液学会雑誌. **26**, 10~13, 1963.
- 18) Tomonaga M. et al.: Leukocyte drumsticks in chronic granulocytic leukemia and related disorders. *Blood*, **18**, 581~591, 1961.
- 19) 朝長正允, 佐々木隆子, 奥崎美江子: 白血球 Alkaline Phosphatase の研究. **1**. Naphthol AS-MX phosphate を基質とする白血球 Alkaline Phosphatase 証明法. 日本血液学会雑誌. **26**, 179~192, 1963.

Cytological Classification of Leukemias

By

Hiroshi Sanada

Zensuke Ota

Takashi Kotsuka

Osamu Onoye

Yoshinobu Sakikawa

Tatsuro Saihara

Kazunori Honke

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

In the attempts to classify leukemic cells it is often difficult to identify cells solely with fixed and stained blood smears as in acute leukemia where the percentage of blast cells is high. In such instances, however, it is generally possible to distinguish most cells when vital observations are carried out in conjunction with cytochemical methods, fluorescence microscopy, as well as electronmicroscopy. The results of these observations have been briefly summarized.

The characteristic findings of lymphoblasts, myeloblasts, and monoblasts as revealed by May-Giemsa staining, brilliant cresyl blue supravital staining, phase-contrast microscopy, vital staining and electronmicroscopy are illustrated in the tables.
