

急性白血病寛解導入療法における 骨髄内白血病細胞減少動態に関する研究

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

竹 内 誠

(平成5年8月17日受稿)

Key words : acute leukemia, leukemic cell destruction curve, leukemic cell destruction kinetics, remission induction chemotherapy

緒 言

近年、急性白血病における治療成績の進歩は著しく、その治療目的は完全寛解 (CR) 率の上昇、生存期間の延長から治癒を指向した治療体系の確立へと移行し、現在化学療法により急性非リンパ性白血病 (ANLL) では30~40%¹⁾、急性リンパ性白血病 (ALL) では20~30%に²⁾治癒が期待されている。これら治療成績向上の背景には、cytosine arabinoside (ara-C)³⁾、daunorubicin (DNR)⁴⁾を始め behenoyl ara-C⁵⁾、aclarubicin (ACR)⁶⁾、mithoxantrone (MIT)⁷⁾、etoposide (ETP)⁸⁾などの効果的な抗白血病剤の開発と、臨床応用が大きな比重を占めていることは言うまでもないが、Skipper ら⁹⁾の "Total Cell Kill" の理念を基盤とした多剤併用療法の考案に始まり、宇塚ら¹⁰⁾の DCMP2 段療法等に見られる投与スケジュールの改良、交叉耐性のない薬剤を併用した寛解後地固め療法の導入¹¹⁻¹³⁾、さらには強力な抗菌剤の開発、成分輸血法の進歩、また顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)¹⁴⁾、マクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF)¹⁵⁾を始めとする各種サイトカインの臨床応用による補助療法の進歩があることは言うまでもない。すでに周知の如く悪性腫瘍の化学療法は「宿主—腫瘍—抗癌剤」の相互関係を前提としたものであり、急性白血病の寛解導入療法においては、骨髄を高度の低形成に至らしめるべく確かな "response oriented individualized chemotherapy"¹⁶⁾を行うことが必要とされる。

そのためには抗白血病剤の選択と投与量及び投与期間の設定が骨髄内白血病細胞の動態をより客観的に反映し、設定されることが要求され、さらに抗白血病剤投与時の正常骨髄細胞の減少動態が客観的に把握されることが必要と思われる。同時にまたこれら白血病細胞と正常骨髄細胞動態の解析は寛解後地固め療法の投与スケジュールの設定、さらにまた寛解導入不能例に対する salvage 療法の設定に際しても極めて重要な情報を提供するものと考えられる。

さて、放射線あるいは化学療法後の腫瘍動態についてはこれまで実験腫瘍を中心として検討され逆S字状曲線を描きつつその効果が発現することが報告されているが¹⁷⁾、臨床面では腫瘍 volume の定量に制限があり、白血病細胞数の減少という意味でその把握が比較的容易である急性白血病においても化学療法効果を数式的に解析することは困難とされてきた。本研究において著者はすでに実験腫瘍において確認されている逆S字状曲線のモデル式を設定することにより、臨床的な実測値から初回寛解導入療法中の骨髄内白血病細胞の減少動態を数式化し、骨髄内白血病細胞減少動態と治療効果、白血病病型、寛解導入療法、予後との関連を明らかにするとともに、寛解導入療法中の正常骨髄細胞減少動態として骨髄内赤芽球減少動態を検討することによって急性白血病治療体系の確立への一助とせんとした。

研究対象及び研究方法

1. 研究対象

昭和51年から昭和61年までに岡山大学第2内科及び関連病院にて初回寛解導入療法を行った成人 ANLL 60例 [男女比43:17, 年齢構成15~75歳 (中央値40歳)] を対象とした。病型は FAB 分類¹⁸⁾で M1 12例, M2 31例, M3 5例, M4 2例, M5 10例, 寛解導入療法としては NCMP [neocarzinostatin (NCS), ara-C, 6-mercaptopurine (6-MP), prednisolone (PSL)] 療法が14例, DCMP (DNR, ara-C, 6-MP, PSL) 療法が17例, BHAC-DMP [DNR, behenoyl ara-C (BHAC), 6-MP, PSL] 療法が15例, AC [ACR, ara-C] 療法が 8 例, BHAC-AMP (ACR, BHAC, 6-MP, PSL) 療法が2例, NCDP (NCS, ara-C, DNR, PSL) 療法が2例, DCV (DNR, ara-C, vincristine) 療法が2例に行われ, 完全寛解 (CR) 例は40例, 非寛解 (NR) 例は20例であった。寛解導入療法中骨髓穿刺は原則として, 治療前, 4, 7, 11, 14 日目に胸骨にて施行し, May-Giemsa 染色標本

を用い500個分類を行い, 有核細胞数に白血病細胞の比率を乗じて白血病細胞数を算出した。なお, CR は木村の判定基準¹⁹⁾に従った。

2. 研究方法: 骨髓内白血病細胞減少曲線の作成

L. Norton ら¹⁷⁾は化学療法に対する腫瘍の反応を数理的に解析し, その反応は腫瘍容量の大きい時と小さい時低く, 中等量腫瘍容量で高くなることを報告しているが, 急性白血病においても白血病細胞は化学療法開始後, 次第に減少速度を増して最大減少速度に達し, その後漸次速度は低下し減少停止に至る様式をとると考えられる。ここで化学療法開始後の時間(日数) t に対する腫瘍の容量を Z とし片対数グラフ上で Z を t の関数,

$$\log Z = N(t) \tag{1}$$

と表現する。この関数を減少開始 ($t = t_0$) から減少停止 ($t = t_{max}$) までの閉区間で考えれば, $N(t)$ は n 次の t の多項式で近似させることができる。急性白血病診断時点で白血病細胞は増殖の plateau に達していると仮定すると, 化学療法開始時の減少速度は0であり, さらに減

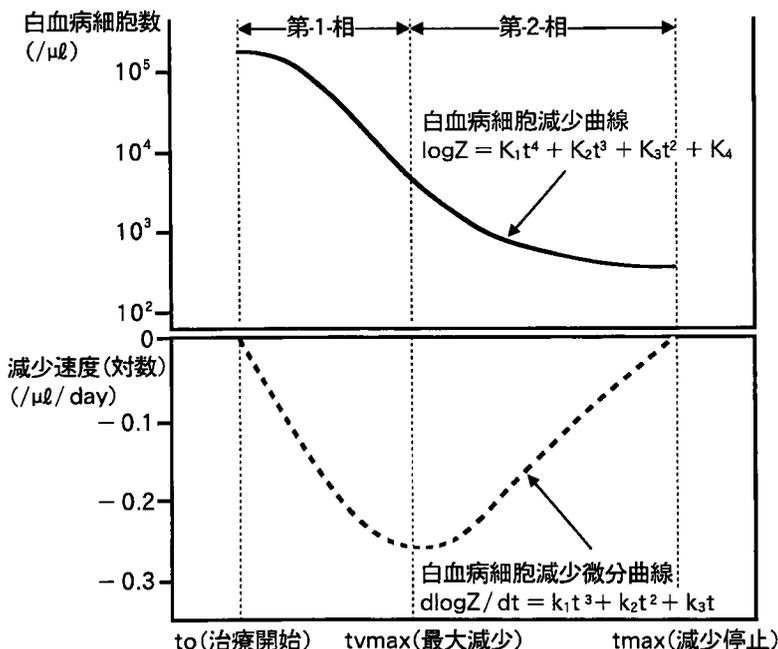


図1 骨髓内白血病細胞減少曲線

表1 骨髄内白血病細胞減少曲線各パラメーター間の相関関係

	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
① 第一相の期間		0.627	0.653	-0.415	-0.415	0.841	-0.278
② 第二相の期間			0.411	-0.577	-0.285	0.949	-0.473
③ 第一相の平均減少加速度				-0.773	-0.860	0.553	0.245
④ 第二相の平均減少加速度					-0.807	-0.572	-0.123
⑤ 最大減少速度						0.370	0.544
⑥ 減少停止日							-0.437
⑦ 減少停止時白血病細胞数							

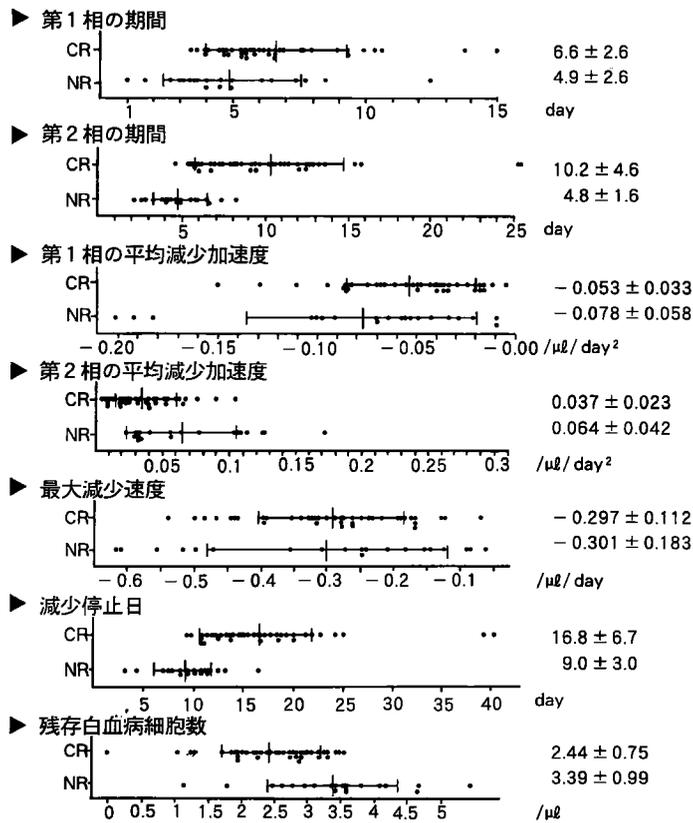


図2 CR例とNR例における骨髄内白血病細胞減少曲線各パラメーターの比較

少停止時の減少速度は0であるから、

$$dN(t_0) = 0 \quad [2]$$

$$dN(t_{\max}) = 0 \quad [3]$$

となる。以上より $dN(t)/dt$ は閉区間内で最大減少速度到達時 $t_{v\max}$ ($t_0 < t_{v\max} < t_{\max}$) に極小値を持つような曲線で描くことができる。

ここで閉区間を減少開始より最大減少到達時までの第一相とそこより減少停止までの第二相

に分けて呼ぶことにする。既に正岡ら²⁰⁾は第二相の $N(t)$ に二次曲線をあてはめ近似できることを解析している。即ち第二相における $dN(t)/dt$ は直線に近い動きをすると考えられ、全経過を通じての減少速度のモデル式は、しだいに減少速度を増して最大減少速度に達する第一相と、比較的直線的に速度を落とし減少停止に至る第二相との閉区間内で一つの極小値を中心とした

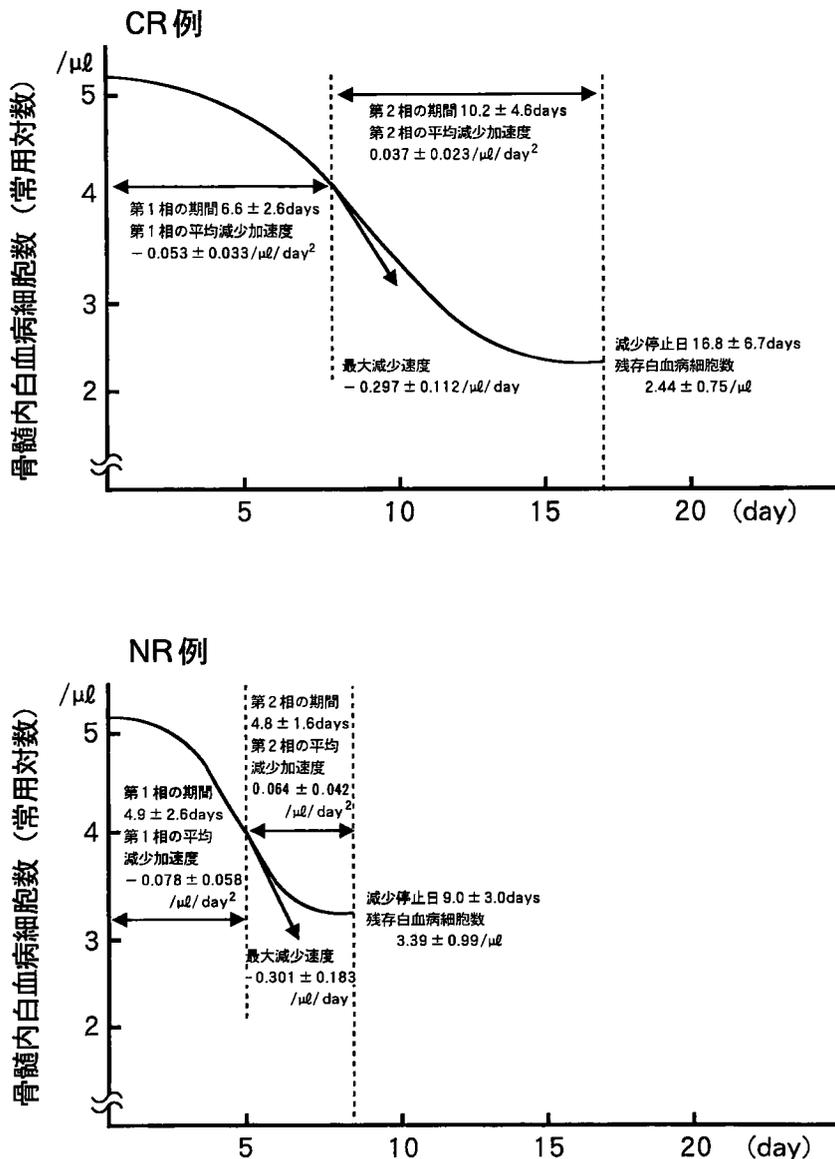


図3 CR例とNR例における骨髄内白血病細胞減少曲線の比較

非対称形の曲線である必要が想定され、この条件を満たす式のうち最も低次である3次式を設定した。[2] を満たすモデル式は

$$dN(t) = k_1 t^3 + k_2 t^2 + k_3 t \quad [4]$$

で表され、曲線は図1の破線のようになる。減少速度の実測値としては平均値の定理より、各測定値間を結ぶ直線の傾きをその中点における曲線の傾きの近似値とし、最小2乗法により[4]の係数を決定した。さらに閉区間内においてこの式を積分することにより骨髄内白血病細胞数を表す式

$$\log Z = K_1 t^4 + K_2 t^3 + K_3 t^2 + K_4 \quad [5]$$

が得られ、曲線は図1の実線のようになり、この区間の骨髄内白血病細胞の実測値から再度、最小2乗法により[5]の各係数を決定した。

骨髄内白血病細胞減少動態の解析はこの式より得られる第一相、第二相の日数及びその期間における平均減少速度、最大減少速度、第二相の終わりである減少停止日、減少停止時残存白血病細胞数をパラメータとして解析を行った。また、寛解導入療法中の骨髄正常細胞の減少動態を解析すべく骨髄内赤芽球の減少動態に対しても白血病細胞に対して用いた減少曲線を適用し解析した。

なお、以下に示す骨髄内白血病細胞数及び骨髄内赤芽球細胞数はすべて常用対数で表した。

研究成績

1. 急性非リンパ性白血病寛解導入療法における骨髄内白血病細胞減少動態の検討

(1) 白血病細胞減少曲線の実測値に対する決定係数及び各パラメーターの独立性の検討

今回作成した骨髄内白血病細胞減少曲線の白血病細胞実測値に対する決定係数[1-(残差2乗和/変動)]は0.92±0.11 (CR例: 0.92±0.08, NR例: 0.92±0.15)であった。

今回検討した7項目のパラメーターにつき相互関係を表1に示した。第一相、第二相の日数と減少停止日との間、第一相平均減少加速度と最大減少速度との間に強い相関関係がみられたことは減少停止日が第一相、第二相の期間の和であること、さらには加速度と速度の関係から当然であるが、第一相平均減少加速度及び最大減少速度と第二相平均減少加速度との間にも負の相関関係を認めた。その他のパラメーターはおおむね独立したパラメーターであった。

(2) 治療効果別骨髄内白血病細胞減少曲線の検討

CR例40例とNR例20例の減少曲線各パラメーターについての比較を図2に示した。第一相の日数はCR例で6.6±2.6 days, NR例で4.9±2.6 days と有意 (p<0.05) にCR例で長かつ

表2 病型別にみた骨髄内白血病細胞減少曲線各パラメーターの比較

CR例 (n=40)	第一相の 期間 (days)	第二相の 期間 (days)	第一相の平均 減少加速度 (/μl/day ²)	第二相の平均 減少加速度 (/μl/day ²)	最大減少速度 (/μl/day)	減少停止日 (days)	減少停止時 白血病細胞数 (/μl)
M1 (n=5)	9.5±4.5	16.8±8.0	-0.026±0.017	0.015±0.009	-0.192±0.079	26.3±12.5	2.04±1.24
M2 (n=22)	6.0±1.9	8.9±2.5	-0.055±0.030	0.037±0.018	-0.291±0.084	14.9±3.9	2.70±0.60
M3 (n=3)	5.9±0.7	10.8±2.4	-0.070±0.028	0.040±0.020	-0.400±0.123	16.7±3.1	1.54±0.72
M4 (n=2)	8.0±1.7	13.8±2.7	-0.029±0.015	0.016±0.008	-0.218±0.068	21.8±4.4	2.62±0.32
M5 (n=8)	6.2±2.4	8.5±3.6	-0.067±0.048	0.052±0.033	-0.360±0.147	14.6±4.8	2.27±0.52
NR例 (n=20)	第一相の 期間 (days)	第二相の 期間 (days)	第一相の平均 減少加速度 (/μl/day ²)	第二相の平均 減少加速度 (/μl/day ²)	最大減少速度 (/μl/day)	減少停止日 (days)	減少停止時 白血病細胞数 (/μl)
M1 (n=7)	4.5±1.5	5.1±1.4	-0.087±0.053	0.063±0.033	-0.352±0.159	9.7±1.4	3.14±1.25
M2 (n=9)	4.9±3.5	4.5±1.8	-0.063±0.053	0.051±0.033	-0.228±0.163	9.5±4.2	3.80±0.85
M3 (n=2)	4.5±2.2	4.1±1.1	-0.193±0.017	0.148±0.315	-0.583±0.040	8.6±1.1	2.54±0.09
M4 (n=0)	—	—	—	—	—	—	—
M5 (n=2)	6.2±3.3	5.7±2.4	-0.037±0.038	0.028±0.008	-0.169±0.111	11.9±0.8	3.30±0.30

たが、第一相における平均減少加速度は CR 例で $-0.053 \pm 0.033/\mu\text{l}/\text{day}^2$, NR 例で $-0.078 \pm 0.058/\mu\text{l}/\text{day}^2$ と CR 例で小さい傾向を認めるものの有意差は認めなかった。第二相の日数は CR 例で $10.2 \pm 4.6\text{days}$, NR 例で $4.8 \pm 1.6\text{days}$ と有意 ($p < 0.001$) に CR 例で長く、さらに第二相平均減少加速度も CR 例で $0.037 \pm 0.023/\mu\text{l}/\text{day}^2$, NR 例で $0.064 \pm 0.042/\mu\text{l}/\text{day}^2$ と有意差 ($p < 0.001$) を認めた。最大減少速度は CR 例で $-0.297 \pm 0.112/\mu\text{l}/\text{day}$, NR 例で $-0.301 \pm 0.183/\mu\text{l}/\text{day}$ とほとんど差を認めなかった。減

少停止までの日数は CR 例で $16.8 \pm 6.7\text{days}$, NR 例で $9.0 \pm 3.0\text{days}$ と有意 ($p < 0.001$) に CR 例で長かった。減少停止時残存白血病細胞数は CR 例で $2.44 \pm 0.75/\mu\text{l}$, NR 例で $3.39 \pm 0.99/\mu\text{l}$ と CR 例で有意 ($p < 0.001$) に減少していた。以上より CR 例では NR 例に比べやや急峻で、より長く減少する曲線が描かれた (図 3)。

(3) 病型別骨髄内白血病細胞減少曲線の検討
FAB 分類による病型別の各パラメーターを CR 症例と NR 症例とに分けて比較した (表 2)。CR 率は M1 で 41.7% (12例中 5例), M2 で 71

表 3 治療別にみた骨髄内白血病細胞減少曲線各パラメーターの比較

CR 例	第一相の期間 (days)	第二相の期間 (days)	第一相の平均 減少加速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}^2$)	第二相の平均 減少加速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}^2$)	最大減少速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}$)	減少停止日 (days)	減少停止時 白血病細胞数 ($/\mu\text{l}$)
NCMP (n=9)	7.9 ± 3.1	11.0 ± 6.1	-0.040 ± 0.025	0.030 ± 0.015	-0.251 ± 0.086	18.9 ± 8.6	2.74 ± 0.47
DCMP (n=11)	5.8 ± 1.7	9.7 ± 3.0	-0.064 ± 0.046	0.039 ± 0.028	-0.314 ± 0.145	15.5 ± 4.5	2.57 ± 0.76
BHAC-DMP (n=11)	6.3 ± 2.2	9.6 ± 3.4	-0.058 ± 0.032	0.037 ± 0.017	-0.311 ± 0.106	16.0 ± 4.7	2.30 ± 0.75
AC (n=4)	5.1 ± 0.4	9.0 ± 1.0	-0.062 ± 0.019	0.035 ± 0.013	-0.306 ± 0.074	14.0 ± 1.4	2.54 ± 0.42
BHAC-AMP (n=2)	9.8 ± 7.3	15.6 ± 13.6	-0.048 ± 0.052	0.037 ± 0.042	-0.286 ± 0.158	25.4 ± 20.9	1.07 ± 1.58
DCV (n=2)	6.0 ± 0.4	7.4 ± 4.2	-0.055 ± 0.029	0.062 ± 0.061	-0.334 ± 0.194	13.4 ± 3.8	2.41 ± 0.68
NR 例	第一相の期間 (days)	第二相の期間 (days)	第一相の平均 減少加速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}^2$)	第二相の平均 減少加速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}^2$)	最大減少速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}$)	減少停止日 (days)	減少停止時 白血病細胞数 ($/\mu\text{l}$)
NCMP (n=5)	4.1 ± 2.2	4.6 ± 1.7	-0.074 ± 0.034	0.057 ± 0.030	-0.284 ± 0.169	8.9 ± 3.3	3.22 ± 0.32
DCMP (n=6)	5.1 ± 2.1	5.2 ± 1.3	-0.069 ± 0.064	0.051 ± 0.034	-0.268 ± 0.177	10.4 ± 2.0	3.25 ± 0.94
BHAC-DMP (n=4)	3.5 ± 1.8	4.1 ± 1.3	-0.135 ± 0.076	0.110 ± 0.058	-0.467 ± 0.158	7.6 ± 2.1	2.72 ± 1.47
AC (n=4)	6.7 ± 4.3	4.2 ± 4.3	-0.045 ± 0.026	0.057 ± 0.034	-0.217 ± 0.079	11.2 ± 3.8	3.84 ± 0.33

表 4 年齢別にみた骨髄内白血病細胞減少曲線各パラメーターの比較

CR 例 (n=40)	第一相の 期 間 (days)	第二相の 期 間 (days)	第一相の平均 減少加速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}^2$)	第二相の平均 減少加速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}^2$)	最大減少速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}$)	減少停止日 (days)	減少停止時 白血病細胞数 ($/\mu\text{l}$)
高齢者 (60歳以上) (n=3)	9.9 ± 4.0	14.2 ± 9.9	-0.021 ± 0.015	0.020 ± 0.170	-0.172 ± 0.090	24.1 ± 13.0	2.86 ± 0.11
非高齢者 (60歳未満) (n=37)	6.3 ± 2.3	9.8 ± 3.9	-0.057 ± 0.034	0.049 ± 0.070	-0.307 ± 0.109	16.2 ± 5.9	2.39 ± 0.76
NR 例 (n=20)	第一相の 期 間 (days)	第二相の 期 間 (days)	第一相の平均 減少加速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}^2$)	第二相の平均 減少加速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}^2$)	最大減少速度 ($/\mu\text{l}/\text{day}$)	減少停止日 (days)	減少停止時 白血病細胞数 ($/\mu\text{l}$)
高齢者 (60歳以上) (n=6)	4.6 ± 2.6	4.5 ± 1.4	-0.055 ± 0.037	0.044 ± 0.032	-0.212 ± 0.167	9.5 ± 3.3	3.80 ± 0.92
非高齢者 (60歳未満) (n=14)	4.9 ± 2.7	4.9 ± 1.7	-0.088 ± 0.063	0.073 ± 0.044	-0.339 ± 0.182	9.9 ± 2.9	3.22 ± 1.00

% (31例中22例), M3 で60% (5例中3例), M4 で100% (2例中2例), M5 で80% (10例中8例)であった。病型間で症例数に偏りがあるが、病型間には各パラメーターに差は認めなかった。

(4) 寛解導入療法別骨髄内白血病細胞減少曲線の検討

CR 症例及び NR 症例で寛解導入療法別に各パラメーターを比較した(表3)。CR 症例は2例以上の CR 例が得られた NCMP (14例中9例, 64.3%), DCMP (17例中11例, 64.7%), BHCA-DMP (15例中11例, 73.3%), AC (8例中4例, 50%), BHAC-AMP (2例中2例, 100%), DCV (2例中2例, 100%)の6療法において、また、NR 症例は2例以上の NR 例のある NCMP, DCMP, BHAC-DMP, AC の4療法で各パラメーターを検討したが、その結果

は表3に示すように、各治療法間で各パラメーターにおける差は認められなかった。

(5) 年齢別骨髄内白血病細胞減少曲線の検討

CR 症例及び NR 症例をそれぞれ60歳以上の高齢者群と60歳未満の非高齢者群とに分けて各パラメーターを検討した。CR 率は高齢者群で9例中3例(33.3%), 非高齢者群で51例中37例(72.5%)であった。症例数に偏りがあるが、表4に示すように CR 症例において高齢者群では第一相の期間が長く ($p < 0.05$), 最大減少速度が低値であった ($p < 0.05$) こと以外には各パラメーターにおける差はみられなかった。

2. 急性非リンパ性白血病寛解導入療法における骨髄内赤芽球減少動態の検討

(1) 治療効果別骨髄内赤芽球減少曲線の検討

化学療法に伴う骨髄正常細胞の減少動態の指標として今回検討した60例のうち47例(CR 31例,

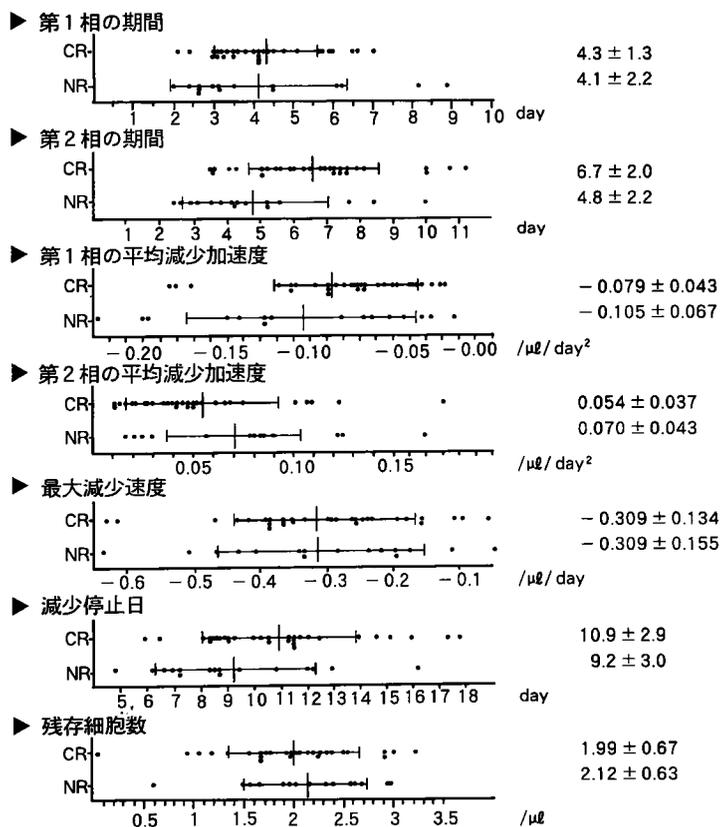


図4 CR 例と NR 例における骨髄内赤芽球減少曲線各パラメーターの比較

NR 16例)につき寛解導入療法中の骨髓内赤芽球の減少動態を白血病細胞に対して適用した減少曲線を用いて解析した。実測値に対する決定係数は 0.84 ± 0.19 (CR 例 0.82 ± 0.21 , NR 例 0.87 ± 0.14)であった。CR 例とNR 例を比較したところ図4に示すようにCR 例で第二相の期間が長かったが ($p < 0.01$), その他のパラメーターには治療効果による差を認めなかった。

(2) 年齢別骨髓内赤芽球減少曲線の検討

高齢者と非高齢者の骨髓正常細胞の減少動態の違いを検討する目的で、骨髓内赤芽球減少曲線を解析した47例を治療効果別に60歳以上の高齢者群 (CR 3例, NR 5例) と60歳未満の非高齢者群 (CR 28例, NR 11例) とに分けて検討したところ、表5に示すように両群間に各パラメーターにおける差を認めなかった。

3. 白血病細胞減少動態と予後の関連

CR 中早期に合併症にて死亡した3例と追跡不能例1例を除くCR 症例36例を対象に骨髓内白血病細胞減少曲線を予後との関連について検討した。まず、CR 持続期間2年以上の長期CR 持続群12例と2年未満の早期再発群24例とに分けて検討した結果、図5に示すように長期CR 持続群では早期再発群に比べ、第二相平均減少加速度が小さい傾向が認められた。第二相平均減少加速度を高値群[平均値+標準偏差値以上(7

例)], 中間値群 (平均値+標準偏差値未満で平均値-標準偏差値以上 (25例)], 低値群 (平均値-標準偏差値未満 (4例)] の3群に分けて初回寛解持続期間及び生存期間について検討したところ図6, 7に示すように高値群において初回寛解持続期間, 生存期間共に短い傾向がみられた。

考 察

急性白血病の治療においては、診断時点で 10^{12} 個以上存在する白血病細胞を減少させ、正常造血細胞の回復をもって完全寛解に到達させることが第一目標であり、またこのことが長期生存を得るための最も重要な要因である。骨髓内白血病細胞は抗白血病剤投与により減少するが、その減少動態はいまだ十分に解明されたいと言い難い。Nortonら¹⁷⁾は実験腫瘍において化学療法効果は逆S字状曲線を描きつつ発現することを確認しており、また化学療法による白血病細胞の減少動態につき、Hartら²¹⁾はexponentialな減少を示すとし、Presant²²⁾らはAzacytidine投与マウスL1210白血病においてColony Forming Unitは当初急速に減少し、その後緩徐に減少するといった二相性を示すことを明らかにしている。正岡ら²⁰⁾は急性白血病寛解導入時の末梢血及び骨髓中の白血病細胞の減少動態を①白血

表5 年齢別にみた骨髓内赤芽球減少曲線各パラメーターの比較

CR 例 (n=31)	第一相の 期 間 (days)	第二相の 期 間 (days)	第一相の平均 減少加速度 (/ $\mu\text{l}/\text{day}^2$)	第二相の平均 減少加速度 (/ $\mu\text{l}/\text{day}^2$)	最大減少速度 (/ $\mu\text{l}/\text{day}$)	減少停止日 (days)	減少停止時 白血病細胞数 (/ μl)
高齢者 (60歳以上) (n= 3)	4.6 \pm 1.8	8.2 \pm 2.7	-0.052 \pm 0.032	0.029 \pm 0.018	-0.233 \pm 0.136	12.7 \pm 4.5	2.03 \pm 0.42
非高齢者 (60歳未満) (n=28)	4.2 \pm 1.2	6.5 \pm 2.0	-0.081 \pm 0.043	0.057 \pm 0.038	-0.317 \pm 0.133	10.7 \pm 2.8	1.98 \pm 0.71
NR 例 (n=16)	第一相の 期 間 (days)	第二相の 期 間 (days)	第一相の平均 減少加速度 (/ $\mu\text{l}/\text{day}^2$)	第二相の平均 減少加速度 (/ $\mu\text{l}/\text{day}^2$)	最大減少速度 (/ $\mu\text{l}/\text{day}$)	減少停止日 (days)	減少停止時 白血病細胞数 (/ μl)
高齢者 (60歳以上) (n= 5)	3.5 \pm 1.7	4.4 \pm 2.4	-0.012 \pm 0.072	0.075 \pm 0.062	-0.266 \pm 0.145	7.9 \pm 3.1	2.21 \pm 0.51
非高齢者 (60歳未満) (n=11)	4.3 \pm 2.4	5.0 \pm 2.2	-0.097 \pm 0.067	0.069 \pm 0.038	-0.328 \pm 0.163	9.7 \pm 2.9	2.08 \pm 0.70

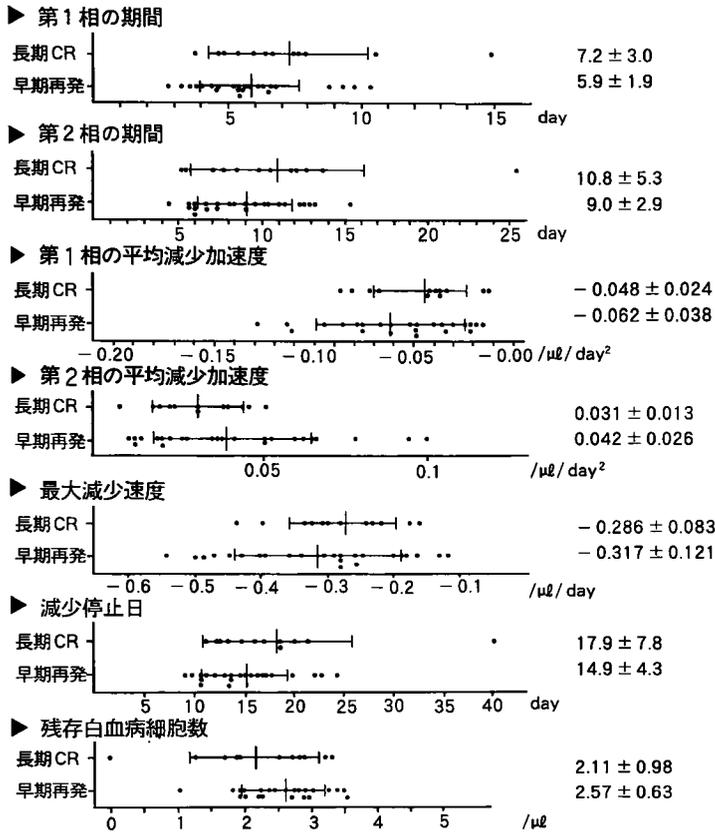


図5 長期CR持続例と早期再発例における骨髄内白血病細胞減少曲線各パラメーターの比較

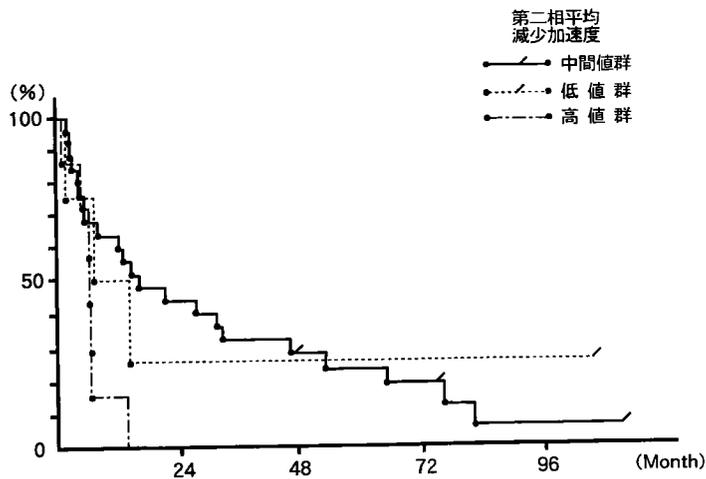


図6 寛解維持期間

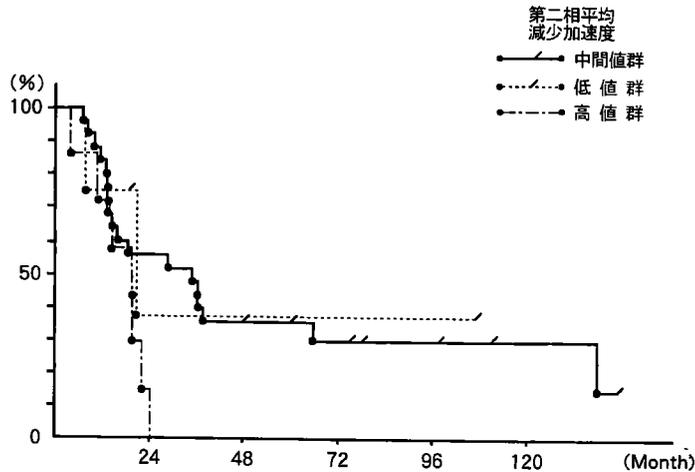


図7 生存期間

病減少開始から最大減少までの第一相, ②最大減少から減少停止までの第二相, ③減少停止後一定値に留まる第三相, ④再び増加に転じる第四相の4期に分け, 特に第二相について白血病細胞減少曲線を2次式に近似させ, 「最大減少速度とその時期」, 「減少速度の低下率」, 「減少停止時期」, 「減少停止時残存白血病細胞数」などを検討した結果, 残存白血病細胞数と生存期間とに有意な関連のあること, そしてまた抗白血病剤の種類により減少動態に差のあることを報告している。ただ正岡らの報告は抗白血病剤の単剤投与によるものであり, 作用機序の異なった薬剤を併用し, かつ投与量, 投与期間の異なった多剤併用療法例^(23,24)では, 第二相の開始日を画一的に設定することには無理があり, 第一相と第二相を含めた減少曲線が必要とされよう。今回減少曲線の作成に当たっては, 実験腫瘍における腫瘍減少動態が逆S字状曲線を描くこと, 第二相の減少様式を2次曲線に近似し得ることなどから減少速度の変化に着目し, 前述した方法を考案したわけであるが, 作成された減少曲線はその決定係数からみても実測値をよく反映するものであった。この減少曲線によれば化学療法後, 骨髄内白血病細胞は次第に減少速度を増し, 最大減少速度に達した後, 漸時減少速度を低下させ減少停止に至ることが確認された。またこの減少曲線は白血病細胞の生物学的特性

を含めた薬剤に対する感受性によって規定されるものと考えられるが, 具体的には白血病細胞の増殖速度, 細胞周期など細胞側要因, 抗白血病剤の作用機序, あるいは投与スケジュールといった薬剤要因などによって規定されることが予想される。このことから考えると第一相は, 薬剤の殺細胞効果が徐々に発現し, 白血病細胞の減少速度が加速され最大減少に達するまでの期間, すなわち白血病細胞に対する薬剤感受性が抵抗性を上回る期間と考えられ, 第二相は減少速度が徐々に低下する期間, すなわち減少に対する抑止力が働いていることを意味する。特に減少を制止する要素は, 「すでに治療開始前より存在する自然耐性(抵抗性)細胞集団」, 「細胞周期と薬剤感受性の関係において殺細胞効果を逃れた細胞集団」, 「早期に薬剤耐性を獲得した細胞集団」の存在とその増殖に起因するものと考えられ, 第二相の減少加速度はこれら細胞集団が存在することを示す一つの指標となるものと考えられる。

今回著者は骨髄内白血病細胞減少動態と治療効果, 病型, 寛解導入療法との関係についてまず検討したが, CR例, NR例で減少曲線を解析した結果, 第一相ではその期間がCR例で長い傾向にあったが, 平均減少加速度及び最大減少速度についてはCR例, NR例で有意差はみられず, 第二相においてはその期間と平均減少

加速度に著明な差が認められた。すなわち CR 例において最大減少速度に達した後も減少に対する抑止力が小さく、より長期間白血病細胞の減少が続くことが確認された。従って CR 例では減少停止日も遅く、最終的に残存白血病細胞数も NR 例に比べ有意に少なかった。逆にこのことは NR 例においては自然あるいは治療早期に薬剤耐性を獲得した白血病細胞の population が多く、減少に対する抑止力が大きいことを意味するものと考えられる。しかし、第一相の平均減少加速度、最大減少速度は CR 例、NR 例に有意差なく、治療開始初期の減少動態—治療早期に存在する感受性細胞集団—が最終的な治療効果を反映することは少ないのではないかと考えられる。教室の西村²⁵⁾は Minden ら²⁶⁾の方法を用いて Leukemic blast progenitor 由来一次コロニーを形成し、その形成能を経時的に観察することによって、「コロニー数最高値からの50%減少までの日数」が骨髄内白血病細胞減少曲線における第二相平均減少加速度と正の相関関係を示すことを報告している。Leukemic blast progenitor が一定の分裂の後死滅するとすればコロニー数は最高値に達した後急速に減少するが、引き続き分裂（自己再生）を繰り返すとすればコロニー数の減少は緩やかであると予想され、西村²⁵⁾は「コロニー数最高値からの50%減少日数」は Leukemic blast progenitor の自己再生能の指標となるとしている。このことからすれば第二相平均減少加速度、すなわち白血病細胞減少に対する抑止力は一つには自己再生能の高い細胞群によって形成されているものと考えられ、より密度の高い治療効果を得るためには自己再生能の高い細胞集団への対応—薬剤選択、投与量、投与スケジュール—が必要とされるものと考えられる。

つぎに病型別、寛解導入療法別に白血病細胞の減少動態について解析したが、各病型間での比較では特に差は認められなかった。

また、寛解導入療法別に各パラメーターを比較したが、各療法間には差は認められなかった。すでに正岡ら²⁰⁾は DNR、6-MP、ara-C、NCS など各種抗白血病剤を単独で使用した場合の第二相における減少速度と減少期間につき検討した

結果、最大減少速度は DNR、NCS>ara-C>6-MP、減少期間は6-MP>ara-C、DNR>NCS であったとしている。今回の検討から NCMP 療法、DCMP 療法、BHAC-DMP 療法、AC 療法、BHAC-AMP 療法、DCV 療法間には差は認められなかったことについては、今回の減少曲線が多剤併用療法での減少動態を総合的に把握するため考案したものであることによると考えられるが、対象症例のほとんどが抗癌性抗生物質+代謝拮抗剤あるいは phase non-specific drug+phase specific drug といった組合せで治療されており、減少曲線はこれら抗白血病剤の基本的併用効果を示したものと解釈される。また化学療法の施行に際しては当然のことながら正常骨髄細胞の減少が認められ、通常 CR 例では骨髄抑制を受けた後、白血病細胞より正常骨髄細胞の方が早く回復する。このことは正常細胞の細胞回転時間が白血病細胞より早いことによるが^{27,28)}、NR 例や再発難治例においては白血病細胞の方がより早期に増殖することが臨床上市しばしば経験される。このことは NR 例においてはより強い正常骨髄細胞への影響が関与するのではないかとといった問題を一面では提起するが、この点につき骨髄内赤芽球減少曲線から検討した結果、CR 例でむしろ第二相の日数が長いことが注目された。このことは寛解導入療法に際し高度の骨髄低形成状態を得るべく薬剤の追加投与がなされたことによると考えられるが、少なくとも初回寛解導入においては白血病細胞集団を target としたより強力な治療が必要なことをあらためて示唆するものと考えられる。ただ、そのためには単に薬剤の intensity を高めるのみでは治療効果は期待できないことは言うまでもなく、より有効な薬剤の開発はもとより、G-CSF をはじめとしたサイトカインの先行投与によって白血病細胞を薬剤感受性の高い分裂増殖期に導入する²⁹⁾といった方法などが今後積極的に検討されてゆく必要がある。

さて、化学療法は「宿主—腫瘍—薬剤」の相関において検討される必要があることは言うまでもない。これまで白血病寛解率に及ぼす宿主要因としては加齢の問題が注目され、一般に高齢者 ANLL では CR 率が非高齢者に比し低値

とされている³⁰⁻³²⁾。このことは加齢による宿主予備能の問題も一つの要因として想定されるが、白血病細胞の減少動態に非高齢者との間に差が存在するのかといった問題が宿主要因も加味した腫瘍要因として注目される。今回この点に関し骨髄内白血病細胞減少曲線の面から高齢者群と非高齢者群とに分けて検討したところ、CR例で高齢者群において第一相の期間が長く、最大減少速度が低値であった。これは高齢者群で抗白血病剤の intensity が弱かったことによるものと考えられるが、その他のパラメーターにはCR例、NR例ともに違いは見い出せなかった。このことは高齢者 ANLL の低 CR 率の要因として薬剤感受性をはじめとした白血病細胞の生物学的特性の関与は比較的少なく、各種臓器の予備能をはじめとした宿主要因すなわち①化学療法に対する骨髄予備能の低下、②肝腎機能の低下に起因した pharmacokinetics の変化と薬剤副作用の増強、③免疫力の低下による易感染性などが主たるものと考えられ、今後、CR率の向上に際してはより完全な補助療法を前提とし、非高齢者におけると同様の化学療法の施行が必要と考えられる。

すでに周知の如く、急性白血病の治療は完全寛解率のみでなく、長期生存率ひいては治癒率の向上を目指すものでなくてはならない。急性白血病の長期予後を規定する因子についてはこれまでも検討されてきたが^{32,33)}、今回作成した骨髄内白血病細胞減少曲線から寛解導入療法中の白血病細胞の減少動態が予後にどのように関与するかについて検討を行った。白血病細胞の減少動態はCR例、NR例で明らかに異なり、特にCR例においては減少の抑止力と考えられる第二相の減少加速度がNR例に比べ極めて小さいことが特徴的であったが、予後との関連においても長期寛解群では第二相平均減少加速度が低値であり、逆に第二相平均減少加速度が高値の症例ではCR期間、生存期間ともに短い傾向にあった。すでに述べた如く第二相平均減少加速度は減少抑止力に相当し、この減少抑止力の一つには薬剤抵抗性を示す白血病細胞集団によって構成されるものと考えられるが、今回の成績はこれら初期に残存する白血病細胞集団が

予後に対しても影響を与えることを示すものであり、治癒を指向した治療体系の確立に対し極めて重要な情報を提供するものと思われる。すなわち治癒を指向した治療体系を考える場合、白血病細胞の減少はいずれの症例においても直線的でなく減少抑止力によって形成される第二相が存在することに注目する必要があり、"Total cell kill"⁹⁾を達成させるには、まず初回寛解導入において薬剤耐性を獲得していない細胞群を可及的に減少させ、さらに薬剤抵抗性を持った残存白血病細胞集団(第二相白血病細胞集団)を撲滅させるため寛解導入後の早期に交叉耐性のない薬剤を含めた強力な寛解後療法¹¹⁻¹³⁾が必要と考えられる。また、これらの第二相の白血病細胞集団は自己再生能の強い細胞集団と考えられ²⁵⁾、寛解後早期化学療法においては自己再生能を持つ白血病細胞に対してより効果的に殺細胞効果を発揮する ara-C など²³⁾を積極的に導入する必要があるものと考えられる。現在、わが国では寛解導入療法においては individualized therapy¹⁶⁾、すなわち治療効果を治療中に判定し、一定の target point に持ち込むまで薬剤を追加投与する治療法がひろく用いられているが、寛解後早期化学療法においては白血病細胞を target とした individualized therapy はなされていない。今後個々の症例で骨髄内白血病細胞減少動態を解析することによって寛解後早期化学療法の開始時期、選択薬剤、投与量等の決定がよりの確になされてゆくものと考えられる。

結 語

急性非リンパ性白血病 (ANLL) 寛解導入療法中の骨髄内白血病細胞及び正常骨髄細胞 (赤芽球) の減少動態を解析する目的で、減少曲線として4次関数を適用し、第一相(減少開始から最大減少まで)の期間及び平均減少加速度、第二相(最大減少から減少停止まで)の期間及び平均減少加速度、最大減少速度、減少停止日、減少停止時白血病細胞数の7パラメーターを設定し、治療効果、病型、寛解導入療法、年齢、予後との関連について検討した。その結果、

(1)治療効果別骨髄内白血病細胞減少曲線の検討では、CR例において有意に、第一相、第二相

の期間が長く、第二相平均減少加速度が小さく、残存白血病細胞が少なかった。

(2)病型別骨髄内白血病細胞減少曲線の検討では、病型間に各パラメーターの差は認めなかった。

(3)治療法別骨髄内白血病細胞減少曲線の検討では、治療法間に各パラメーターの差は認めなかった。

(4)年齢別骨髄内白血病細胞減少曲線の検討では、CR例の高齢者群で有意に第一相の期間が長く、最大減少速度が低値であったが、その他は高齢者と非高齢者群間に各パラメーターの差を認めなかった。

(5)治療効果別骨髄内赤芽球減少曲線の検討では、CR例で第二相の期間が有意に長かったが、その他のパラメーターに差は認めなかった。

(6)年齢別骨髄内赤芽球減少曲線の検討では、高齢者群と非高齢者群間に各パラメーターに差は認めなかった。

(7)骨髄内白血病細胞減少曲線と予後との関連を検討した結果、CR例において第二相平均減少加速度が大きい症例でCR持続期間、生存期間共に短い傾向を認めた。

以上の結果を得たが、今回作成した骨髄内白血病細胞減少曲線は寛解導入療法中の白血病細胞減少動態をよく反映し、治療効果及び予後との関連において、特に治療抵抗性細胞集団の動態について貴重な情報を提供するものであり、白血病治癒を指向した治療体系の確立に寄与するものと考えられた。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜った恩師木村郁郎教授に深謝するとともに、終始懇切なる御指導と御助言を頂いた高橋功講師、大本英次郎助手に感謝の意を表する。

本論文の要旨は第49回日本血液学会総会（東京）、第32回日本血液学会中国四国地方会（高松）において発表した。

文 献

- 1) Ohno R, Yokomatu S, Okamura M, Nagai T, Kitaori K, Ito T, Takeo T, Suguura I, Yano K, Ito Y, Kataoka T, Hamaguchi M, Adachi K, Tanimoto M, Ogura M, Morishita Y, Morishima Y, Kawashima K, Minami S, Kodera Y and Sato H : Intensive individualized induction therapy with behenoyl cytarabine, daunorubicin and 6-mercaptopurine followed by intensive consolidation including intermediate-dose continuous cytarabine, mitoxantron, etoposide and vinca alkaloids in acute myeloid leukemia in adults. *Int J Hematol* (1991) **54**, 487-493.
- 2) 高橋 功, 稲垣登穂, 仲田浩之, 西村正隆, 林 直樹, 関籐典子, 野中研一, 竹内 誠, 長田 建, 松崎敏郎, 福田俊一, 中村 達, 村瀬敏夫, 木村郁郎 : 成人急性リンパ性白血病の治療成績. *臨床血液* (1989) **30**, 1167-1170.
- 3) Ellison RR, Holland JF, Weil M, Jacquillat C, Boiron M, Bernard JF, Sawitsky A, Rosner F, Gussoff B, Silver RT, Karanas A, Cuttner J, Spurr CL, Hayes DM, Blom J, Leone LA, Haurani F, Kyle R, Hutchison JL, Forcier RJ and Moon JH : Arabinocyl cytosine : A useful agent in the treatment of acute leukemia in adults. *Blood* (1968) **32**, 507-523.
- 4) Boiron M, Jacquillat C, Weil M, Tanzer J, Levy D, Sultan C and Bernard J : Daunorubicin in the treatment of acute leukemia. *Lancet* (1969) **1**, 330-333.
- 5) Aoshima M, Tsukagoshi S, Sakurai Y, Ohishi J, Ishida T and Kobayashi H : Antitumor activities of newly synthesized N-acyl-1- β -arabinofuranosyl-cytosine. *Cancer Res* (1976) **36**, 2726-2732.
- 6) Hori S, Shirai M, Hirano S, Oki T, Inui T, Tsukagoshi S, Ishizuka M, Takeuchi T and Umezawa H : Antitumor activity of new-anthracycline antibiotics, aclacinomycin-A and its analogs, and their toxicity. *Gann* (1977) **68**, 685-690.
- 7) 三比和美, 小川一誠, 木村郁郎, 大契泰亮, 山田一正, 正岡 徹, 涌井 昭, 目黒安定, 水井清保, 大谷照

- 夫, 廣田 豊, 古川 敏, 小林政英, 大野竜三, 山本正彦, 齊藤達雄: 治療抵抗性白血病に対する Mitoxantrone の Phase II study. 癌と化学療法 (1989) **13**, 3020—3021.
- 8) Sauter C, Fehr J, Frick P, Gmuer J, Honegger H and Martz G: Acute myelogenous leukemia. successful treatment of relapse with cytosine arabinoside, VP16-213, vincristine and vinblastin (A-Triple V). *Eur J Cancer Clin & Oncol* (1982) **18**, 733—737.
 - 9) Skipper HE: Experimental evaluation of potential anticancer agents XIII, On the criteria and kinetics associated with “curability” of experimental leukemia. *Cancer Chemother Rep* (1964) **35**, 1—11.
 - 10) Uzuka Y, Liong SK and Yamagata S: Treatment of acute non-lymphoblastic leukemia using intermittent combination chemotherapy with daunomycin, cytosine arabinoside, 6-mercaptopurine and prednisolone-DCMP two step therapy. *Tohoku J Exp Med* (1976) **118**, 217—225.
 - 11) Goldie JH, Coldman AJ and Gudauskas GA: Rationale for the use of alternating non-cross-resistant chemotherapy. *Cancer Treat Rep* (1982) **66**, 439—449.
 - 12) Wolff SN, Marion J, Stein RS, Flexner JM, Lazarus HM, Spitzer TR, Phillips GL, Herzig RH and Herzig GP: High-dose cytosine arabinoside and daunorubicin as consolidation therapy for acute non-lymphocytic leukemia in first remission: a pilot study. *Blood* (1985) **65**, 1407—1411.
 - 13) Weinstein HJ, Mayer RJ, Rosental DS, Camitta BM, Coral FS, Nathan DG and Frei E III: Treatment of myelogenous leukemia in children and adults. *N Engl J Med* (1980) **303**, 473—478.
 - 14) Ohono R, Tomonaga M, Kobayashi T, Kanamaru A, Shirakawa S, Masaoka T, Omine M, Oh H, Nomura T, Sakai Y, Hirano M, Yokomaku S, Nakayama S, Yoshida Y, Mimura A, Morishima Y, Dohy H, Niho Y, Hamajima N and Takaku F: Effect of granulocyte colony stimulating factor after intensive induction therapy in relapsed or refractory acute leukemia. *N Engl J Med* (1990) **323**, 871—877.
 - 15) 元吉和夫, 高久史磨, 正岡 徹, 宮崎 保, 柴田 昭, 小峰光博, 木村 健, 三浦恭定, 古沢新平, 阿部 師, 服部理男, 野村武夫, 溝口秀昭, 小川一誠, 下山正徳, 衣笠恵士, 富永 健, 出浦喜丈, 太田和雄, 白川 茂, 田口 男, 垂井清一郎, 安富正幸, 中山志郎, 木村郁郎, 土肥博雄, 三好勇夫: 低又は無顆粒球症に対する P-100 (CSF-HU) の投与効果. 日本癌治療学会誌 (1988) **23**, 2760—2768.
 - 16) 宇塚善郎, 齊藤淑子: 成人急性非リンパ性白血病の治癒的治療法. 臨床血液 (1989) **30**, 1163—1166.
 - 17) Norton L and Simon R: Tumor size, sensitivity to therapy, and design of treatment schedules. *Cancer Treat Rep* (1977) **61**, 1307—1317.
 - 18) Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR and Sultun C: Proposals for classification of the acute leukemias. French-American-British (FAB) Co-operative group. *Br J Haematol* (1976) **33**, 451—458.
 - 19) 木村喜代二: 造血器腫瘍における化学療法の効果判定に関して: 癌化学療法・癌免疫療法の効果判定基準と制癌剤開発, 齊藤達雄編, サイエンスフォーラム, 東京 (1981) pp 54—66.
 - 20) 正岡 徹: 急性白血病治療と白血病細胞数の変動. 臨床血液 (1976) **17**, 707—715.
 - 21) Hart JS, Shimakawa S, Trujiro J and Frei E III: The mechanism of induction of complete remission in acute myeloblastic leukemia in man. *Cancer Res* (1969) **29**, 2300—2307.
 - 22) Presant CA, Vietti T and Valeriote F: Kinetics of both leukemic and normal cell population reduction following 5-Azacytidine. *Cancer Res* (1975) **35**, 1926—1930.
 - 23) Clarkson BD, Dowling MD, Gee TS, Cunningham JB and Burchenal JH: Treatment of acute leukemia in adults. *Cancer* (1975) **36**, 775—795.
 - 24) Keating MJ, Smith TL, McCreddie KB, Body GP, Hersh EM, Gutterman JU, Gehan E and Freireich

- EJ : A four year experience with anthracycline, cytosine arabinoside, vincristine and predonine combination chemotherapy in 325 adults with acute leukemia. *Cancer* (1981) **47**, 2779—2788.
- 25) 西村正隆：急性白血病並びに類縁疾患における造血幹細胞動態に関する研究。第一編 急性白血病における Leukemic Blast Progenitors 由来コロニー形成能並びに形成パターンの検討。岡山医誌 (1991) **103**, 1147—1158.
- 26) Minden MD, Buick RN and McCulloch EA : Separation of blast cell and T-lymphocyte progenitors in the blood of patients with acute myeloblastic leukemia. *Blood* (1979) **54**, 186—195.
- 27) Gavosto F, Maraini G and Pileri A : Proliferative capacity of acute leukemic cells. *Nature* (1960) **187**, 611—612.
- 28) Clarkson B, Ohkita T, Oka K and Fried J : Studies of cellular proliferation in human leukemia I. Estimation of growth rate of leukemic and haematopoietic cells in two adults with acute leukemia given single injection of tritiated thymidine. *J Clin Invest* (1967) **46**, 506—529.
- 29) Hanazono Y, Miyazono K, Patio YF, Taketazu F, Chiba S, Miyagawa K, Hirai H, Sakamoto S, Miura Y, Yazaki Y and Takaku F : Treatment of acute nonlymphocytic leukemia by combination of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and cytotoxic agents : A report of six cases. *Int J Hematol* (1992) **55**, 243—248.
- 30) 高橋 功, 原 雅道, 高岡和子, 植田育寛, 福本光宏, 稲垣登稔, 滝沢道弘, 大本英次郎, 小田康広, 藤本修逸, 遠藤 裕, 頼 敏裕, 厚井文一, 喜多嶋康一, 木村郁郎, 真田 浩, 時岡正明, 依光聖一 : 高齢者血液疾患に関する検討。第三報 : 高齢者急性非リンパ性白血病の化学療法効果。日老医誌 (1984) **21**, 14—19.
- 31) Keating MJ, Smith TL, Geham EA, McCredie KB, Bodey GS and Freireich MD : A prognostic factor analysis for use in development of predictive models for response in adult leukemia. *Cancer* (1982) **50**, 457—465.
- 32) Passe S, Mike V, Mertersmann R, Gee TS and Clarkson BD : Acute nonlymphocytic leukemia *Cancer* (1982) **50**, 1462—1471.
- 33) Buick RN, Chang LJ-A, Messner HA, Curtis JE and McCulloch EA : Self-renewal capacity of leukemic blast progenitor cells. *Cancer Res* (1981) **41**, 4849—4852.

Leukemic cell destruction kinetics in bone marrow

Makoto TAKEUCHI

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director Prof. I. Kimura)

An equation was developed to describe the kinetics of leukemic cell destruction in bone marrow during induction chemotherapy for acute nonlymphocytic leukemia ($\log Z = K_1 t^4 + K_2 t^3 + K_3 t^2 + K_4$, where Z = leukemic cell number, t = time, and K = a constant). The leukemic cell destruction curve was biphasic; phase I was the period from the initiation of a decrease in cells to the maximum velocity of the decrease, and phase II was the subsequent period to the cessation of decrease. The following parameters were established: duration and acceleration of decrease in phases I and II, maximum velocity of decrease, duration of reduction, and residual volume of leukemic cells.

1. Patients who achieved CR showed a longer duration of phases I and II, a lower acceleration of the decrease in phase II, and smaller residual leukemic cell volume than patients who did not achieve CR. There were no significant differences of parameters related to FAB classification, type of induction therapy, or the age of the patients.
2. This equation could be adapted to explain erythroblast kinetics during induction chemotherapy. There were no significant differences of the parameters with respect to the effect of induction therapy and patient age.
3. Patients with high acceleration of the decrease in phase II had a short duration of CR and survival.

The leukemic cell destruction curve was thought to be useful not only for evaluation of the effect of induction therapy, but also for establishment of post-remission chemotherapy.