

骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome) における末梢血赤血球膜病態に関する研究 —特に末梢血赤血球形態異常について—

阿多 雄之

骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome, MDS) 32例における赤血球膜病態の検索を末梢血赤血球形態を中心に検討した。

MDS 症例では、正常対照群に比して、形態異常を示す赤血球 (abnormal red cells) が有意な増加を認めた ($p < 0.01$)。形態異常の分類は楕円赤血球型 (elliptocytosis type)、有口赤血球型 (stomatocytosis type)、奇形赤血球型 (poikilocytosis type) の3種類に分類され、多くの症例はこの3者が混合して認められた。

MDS 5病型間では、RARS ($34.0 \pm 11.05\%$)、RAEB ($29.4 \pm 14.1\%$)、RA ($23.7 \pm 14.9\%$) にて abnormal red cells の有意な増加を認めた ($p < 0.001$)。

この赤血球形態異常と骨髓での赤芽球の dysplasia、末梢血赤血球数との間には各々有意な相関は認められなかった。

赤血球膜病態を検索する上で赤血球膜輸送能、赤血球膜脂質、赤血球膜蛋白について検討した。Na-influx, Na-efflux はともに有意な亢進を示し ($p < 0.001$)、赤血球膜脂質に関しては、free cholesterolの増加 ($p < 0.01$)、リン脂質分画ではphosphatidylethanolamineの低下 ($p < 0.01$)、lyso-phosphatidylcholine の低下 ($p < 0.001$) を認めた。また、RAEB 1症例にて赤血球膜蛋白 band 4.1の部分欠損が認められた (38%欠損)。この症例では、elliptocytosis が著明に認められた。

MDS においては、末梢血赤血球形態異常が高頻度に認められ得ることが判明したが、その病因については、多くの因子が関与している可能性が示唆された。(平成3年2月28日採用)

Studies of Peripheral Red Cell Membrane Disorders in Association with Myelodysplastic Syndrome —Special Reference to Abnormalities of Peripheral Red Cell Morphology—

Kazuyuki Ata

The pathogenesis of red cell membrane abnormalities associated with the myelodysplastic syndrome (MDS, 32 cases) was studied by investigation of peripheral red cell morphology.

The percentage of the abnormal red cells in MDS patients ($26.0 \pm 6.5\%$) was marked in comparison with that of normal controls ($6.9 \pm 1.3\%$, $p < 0.01$). Abnormal

red cell morphological phenotypes were classified into three groups; elliptocytosis type, stomatocytosis type and poikilocytosis type. Most of our MDS patients exhibited all three phenotypes together, but some patients showed only one of these phenotypes.

An increased was of the abnormal red cells observed in almost all MDS patients, but it was especially marked in RARS ($34.0 \pm 11.0\%$), RAEB ($29.4 \pm 14.1\%$), and RA ($23.7 \pm 14.9\%$) ($p < 0.001$).

The pathogenesis of red cell membrane abnormalities in MDS patients was examined with regard to red cell membrane transport, membrane lipids, and membrane proteins. Sodium influx and efflux were significantly increased in MDS patients ($p < 0.001$). In the red cell membrane lipids, the free cholesterol content was increased ($p < 0.01$), while phosphatidylethanolamine and lyso-phosphatidylcholine were rather decreased ($p < 0.001$). A partial deficiency of band 4.1 was detected in one case of RAEB (36% deficiency) with marked elliptocytosis.

In summary, abnormalities of the red cell morphology in peripheral blood were marked in MDS patients. The cause of these abnormalities is left to be elucidated in detail in near future. (Accepted on February 28, 1991) *Kawasaki Igakkaishi* 17(1): 25-36, 1991

Key Words ① Myelodysplastic syndrome (MDS) ② Red cell morphology
③ Band 4.1

はじめに

骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome; MDS) は、血液細胞の異形成を主徴とし、骨髓低形成によらない原因不明の血球減少症を呈する疾患であり、末梢血所見からは、不応性貧血、予後の面からは、前白血病状態と従来呼ばれていた血液病態を包括したものである。

血球減少は、汎血球減少 (pancytopenia)、または2血球減少 (bicytopenia) を呈することが多く、特徴としては、一部の症例ではMDSから急性白血病へ移行し得ることがあげられる。

1982年にFrench-American-British (FAB) groupにより、血球形態異常の点より、不応性貧血 (refractory anemia; RA)、鉄芽球性不応性貧血 (RA with ringed sideroblasts; RARS)、芽球増加を伴うRA (RA with excess of blasts; RAEB)、移行期RAEB (RAEB in

transformation; RAEB-T)、慢性骨髓単球性白血病 (chronic myelomonocytic leukemia; CMML)の5病型に分類された。^{1), 2)} これら5病型の分類には、主に末梢血、および骨髓での芽球の割合が使用され、また血液細胞の形態異常の判断基準には、骨髓芽球および巨核芽球系の異常に関しては、骨髓および末梢血所見が用いられている。しかし、赤芽球系に関しては、骨髓所見のみに限定されており、末梢血赤血球形態に関する検討はほとんど行われていない。一方、本学血液内科教室では、赤血球膜異常症の検索を進めている過程で、MDS患者症例の末梢血において、明らかな赤血球形態異常が少なからず認められることを見いだしている。そこでMDS症例について、末梢血塗抹標本および走査電顕標本を用いて、赤血球形態を子細に検索し、さらに赤血球膜機能の立場からその病態的意義について検討を行った。

Table 1. Hematological findings in various types of MDS

	RA	RARS	RAEB	CMML	RAEB-T
Number of cases	10	4	13	3	2
Sex M/E	4/6	3/1	8/5	2/1	0/2
Age (mean)	63	72	63	75	40
Age (range)	28-75	69-75	49-79	67-76	34, 47
RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	254 \pm 43	228 \pm 27	264 \pm 77	310 \pm 75	263, 248
WBC ($/\mu\text{l}$)	3697 \pm 1575	5100 \pm 1885	2831 \pm 1534	10800 \pm 9700	4700, 63900
Platelet ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	12.7 \pm 9.1	28.7 \pm 13.8	7.0 \pm 7.4	9.0 \pm 13.5	2.0, 9.0
Hb (g/dl)	8.7 \pm 1.6	8.0 \pm 0.9	8.1 \pm 1.7	9.3 \pm 1.8	6.2, 7.4
Ht (%)	26.5 \pm 4.6	24.2 \pm 3.0	25.5 \pm 5.8	28.2 \pm 5.9	23.4, 22.7
Retic. ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	3.4 \pm 2.4	3.0 \pm 2.0	4.7 \pm 8.0	0.7 \pm 0.3	24.7, 3.2
MCV (fl)	102 \pm 10	105 \pm 2	98 \pm 12	92 \pm 4	89, 92
MCH (pg)	34.3 \pm 3.4	35.3 \pm 0.4	31.5 \pm 4.1	30.4 \pm 1.9	23.6, 29.8
MCHC (%)	31.6 \pm 6.7	33.4 \pm 0.8	32.1 \pm 1.7	33.0 \pm 0.7	26.5, 32.6
NCC * ¹ ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	29.9 \pm 22.7	48.9 \pm 19.7	23.4 \pm 12.5	8.7 \pm 5.2	23.7, 21.1
M/E ratio	2.9 \pm 2.3	0.7 \pm 0.2	1.7 \pm 1.4	3.6 \pm 1.3	1.2, 6.0
NAP score	239 \pm 65	166 \pm 97	219 \pm 68	ND * ²	230, 181
ID. Bil. (mg/dl)	0.3 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.4 \pm 0.2	0.1 \pm 0.1	0.4, 0.3
LDH (IU/l)	194 \pm 59	144 \pm 47	167 \pm 64	186 \pm 50	120, 149
Fe ($\mu\text{g/dl}$)	99 \pm 73	144 \pm 67	123 \pm 85	114 \pm 84	146, ND

BM NCC *¹: Nucleated cell count in bone marrow, ND *²: not done

検 索 対 象

本学附属病院血液内科および検索依頼のあったMDS症例のうち、初診時試料が得られ、しかも既往に輸血歴、治療歴を有せず、かつ重篤な合併症の存在しない症例32例を検索対象とした。その内訳は、RA 10例、RARS 4例、RAEB 13例、CMML 3例、RAEB-T 2例である (Table 1)。なお、これらの症例の診断は、FAB group の診断基準によった。

方 法

1) 末梢血赤血球形態観察

検体には、ヘパリン加新鮮静脈血を使用し、その形態観察には、末梢血塗抹標本 (Wright-Giemsa 染色) を用い、光顕的に1000個観察し、Bessis³⁾ の基準に準拠し分類した。その細区分のうち、正常 discocyte 以外の形態異常 (elliptocyte, stomatocyte, poikilocyte) を示す赤血球群を包括して abnormal red cells と規定した (Fig. 1)。さらに1% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) による固定標本についても走査電顕写真を使用し、同様に分類した。末梢血塗抹標本と走査電顕写真を用い

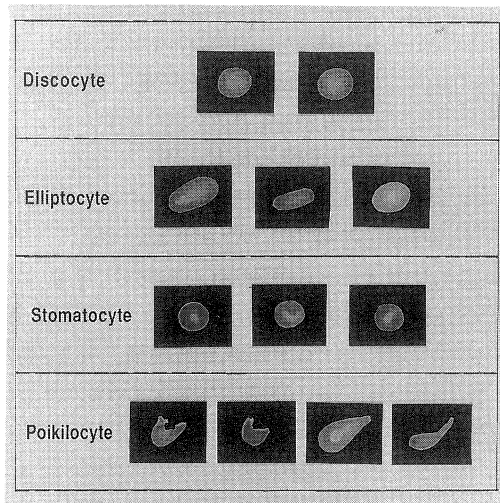


Fig. 1. Criteria for classification of various forms of peripheral red cells in MDS patients. Abnormal red cells were categorized as elliptocytes, stomatocytes, and poikilocytes.

た分類所見との一致率は高く (r=0.930)、末梢血塗抹標本であっても、注意深い鏡検観察によって十分に赤血球形態異常所見を検出し得ることが判明した。

2) 骨髄所見 (赤芽球形態異常)

骨髓塗抹標本を用いて、赤芽球形態異常について赤芽球の核異形成性 (multinuclearity, nuclear irregularity, mitosis, karyorrhexis, cytoplasmic bridge) を指標とした。

3) 赤血球膜 ghost の調製

ヘパリン加新鮮静脈血を 4°C の 150 mM NaCl 溶液で 4 回洗浄し buffy coat を除去後、Dodge ら⁴⁾ の方法に従い ghost を調製した。ただし lysing buffer として、5 mM NaPO₄, 1 mM ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA), 0.1 mM phenylmethyl sulfonyl fluoride (PMSF), 0.4 mM diisopropyl fluorophosphate (DFP), pH 8.0 とし、0°C にて溶血させ、赤血球膜 ghost を調製した。

4) SDS-polyacrylamide gel 電気泳動法 (SDS-PAGE)

Laemmli 法⁵⁾ により SDS-PAGE を施行し、coomassie brilliant blue R-250 染色後、⁶⁾ DU-8 Beckmann spectro-photometer を用い、波長 560 nm で各分画染色濃度を測定した。なお、蛋白濃度の測定には、Lowry 法⁷⁾ を用いた。

5) 赤血球膜輸送能の測定

赤血球をグルコース加リン酸 buffer (pH 7.4) で Ht 30% に調製し、²²Na (NEZ-081, New England Nuclear, Boston, Mass) を加え、37°C 2 時間孵置した。定時に 4°C の 0.1 M MgCl 溶液を用いて赤血球を洗浄後、赤血球内に取り込まれた ²²Na の放射活性を γ -counter で測定した。⁸⁾ また、赤血球内 Na⁺ および K⁺ 濃度をフレームフォトメトリーを用いて波長 589 nm および 769 nm で測定した。

6) 赤血球膜脂質の分析

赤血球を用い、Rose らの方法⁹⁾ で膜脂質の抽出を施行した。次に phospholipids は Bartlett らの方法¹⁰⁾ を用いて分析し、free cholesterol は、ネスコート FC キット-K にて測定した。

7) Triton shell の調製

遠心分離法によって採取された赤血球から、10 mM Tris HCl buffer (pH 8.0) で ghost を調製した。この ghost を 1% Triton-X100, 10 mM Tris HCl, pH 8.0 の medium 下で 0°C、

5 分孵置し Triton shell を調製した。この ghost および Triton shell を 1% uranyl acetate で固定後、位相差顕微鏡を用いて、形態を観察した。

結 果

1) MDS 症例における末梢血赤血球形態異常
MDS 32 症例では、正常人に比較して、正常形態を示す discocyte は著減し、これに対して、異常形態を示す赤血球群は著増 (26.0 ± 6.5%, 正常対照群 6.9 ± 1.3%, p < 0.01) していることが判明した (Fig. 2)。

2) MDS 症例における典型的赤血球形態異常所見

MDS 症例では、主として次の 3 種の典型的な赤血球形態を示すことが判明した。すなわち、第 1 は elliptocytosis, 第 2 は stomatocytosis, 第 3 は poikilocytosis を主体とする所見である。MDS 症例の多くはこの 3 者を共有するが、症例によっては、比較的単一の形態を呈することがある (Fig. 3)。

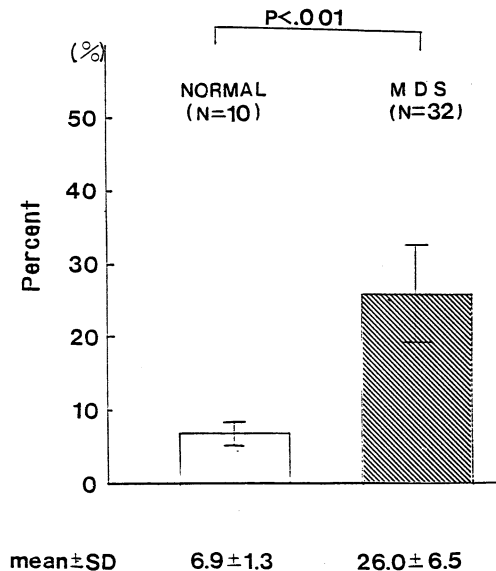


Fig. 2. Marked increase of abnormal red cells in peripheral blood of 32 patients with MDS patients

3) 形態異常を示す赤血球の細分類

MDS 32症例では、正常対照群に比較してdiscocyteの著減($p < 0.001$), elliptocyteおよびpoikilocyteの著増($p < 0.001$), stomatocyteの増加($p < 0.01$)を認めた(Fig. 4).

4) 赤血球形態異常とMDS各病型分類

abnormal red cellsの割合の程度を、MDS

5病型について検討した. RARS ($34.0 \pm 11.0\%$), RAEB ($29.4 \pm 14.1\%$), RA ($23.7 \pm 14.9\%$)において正常対照群に比較して有意な増加を示した($p < 0.001$, Fig. 5).

5) MDS 5病型における各赤血球形態異常の割合

MDS 5病型におけるelliptocytes, stomato-

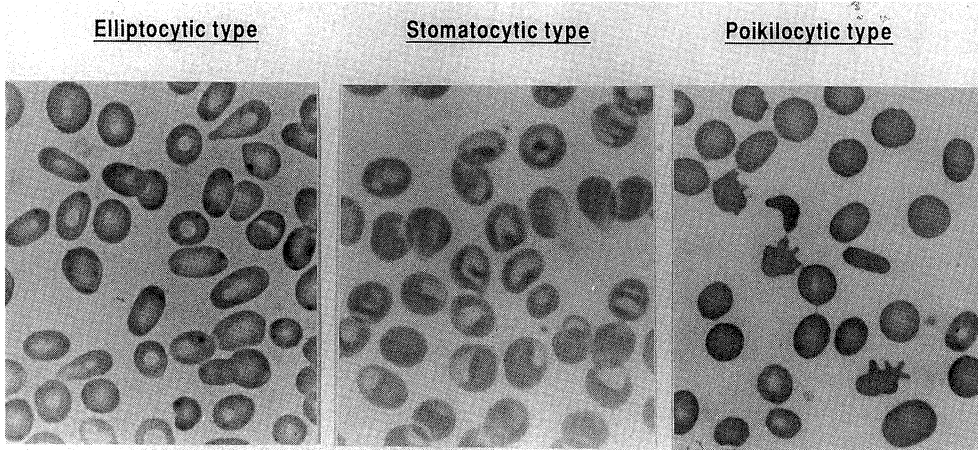


Fig. 3. Typical changes of red cell morphology in peripheral red cells with MDS (Wright-Giemsa stain, $\times 1,000$)

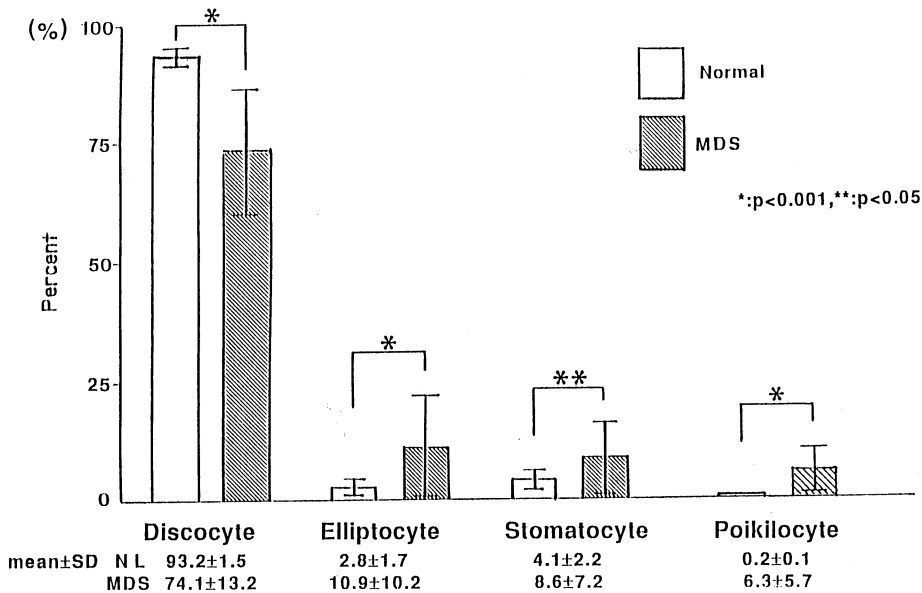


Fig. 4. Various forms of abnormal red cell morphology in MDS patients

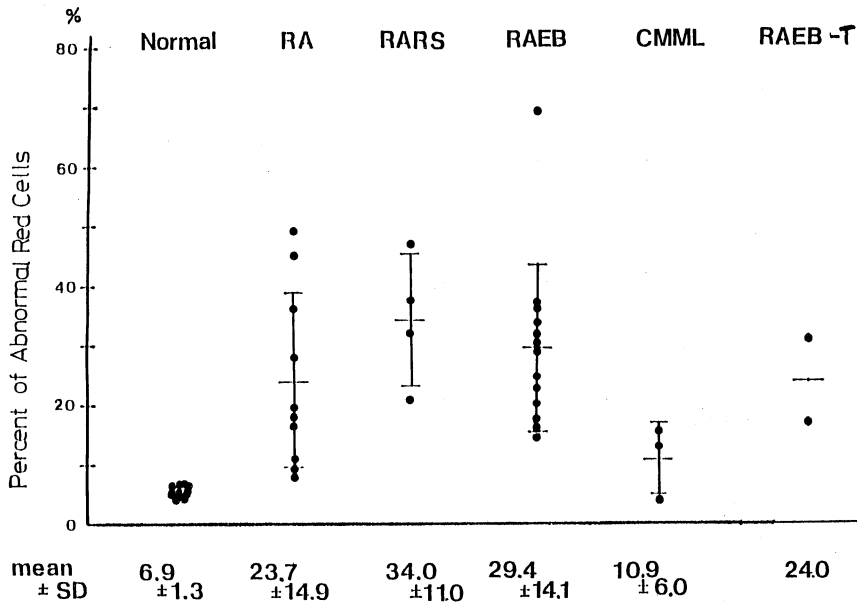


Fig. 5. The extent of abnormal red cells in peripheral blood among various types of MDS

Table 2. The extent of abnormalities of red cell morphology in peripheral blood in various types of MDS

Percent of abnormal red cells						
	Normal	RA	RARS	RAEB	CMML	RAEB-T
Number of cases	10	10	4	13	3	2
Elliptocytes	2.8±1.7	9.6±8.5	12.7± 7.9	12.6±14.5	3.7±1.9	9.8
Stomatocytes	4.1±2.2	7.4±7.9	15.7±12.4	9.3± 5.7*	5.6±4.4	7.8
Poikilocytes	0.2±0.1	6.7±8.3	5.6± 0.8*	7.3± 5.5**	1.5±0.4**	6.2

All parameter are shown as mean value±standard error except for RAEB-T (only mean value).
* p<0.01, **p<0.001

Table 3. Incidence of various dysplastic changes in erythroblasts of the bone marrow in 32 patients with MDS

Dysplastic change	Multinuclearity	Nuclear irregularity	Mitosis	Karyorrhexis	Cytoplasmic bridge
RA	13.0± 7.8 %/100	6.4± 6.1 %/100	3.9±2.9 %/100	9.2±7.7 %/100	2.8±4.9 %/100
RARS	7.7± 7.8 %/100	8.0± 4.0 %/100	3.0±4.7 %/100	6.3±5.8 %/100	2.2±3.3 %/100
RAEB	22.0±13.2 %/100	14.5±11.5 %/100	5.8±4.9 %/100	8.4±7.6 %/100	0.6±1.3 %/100
CMML	2.3± 2.5 %/100	5.3± 0.6 %/100	3.0±2.6 %/100	4.7±0.6 %/100	4.0±0.0 %/100
RAEB-T	4.5± 0.7 %/100	7.5± 3.5 %/100	3.2±1.0 %/100	10.5±6.3 %/100	2.2±0.3 %/100
mean±SD	15.0±11.0 %/100	9.5± 9.1 %/100	3.8±4.1 %/100	7.5±6.9 %/100	1.9±3.5 %/100

cytes, poikilocytes の割合を比較検討すると、正常対照群に比較して、3種共に増加傾向を示したが特に、RAEBにおけるstomatocytes (p<0.01), RARS, RAEB, CMMLにおけるpoikilocytes (p<0.001) に有意な増加傾向が認

められた (Table 2)。

6) 骨髄における赤芽球核異形成と末梢血赤血球形態異常との関連

MDS 症例における骨髄の赤芽球異形成性の頻度を示した (Table 3)。これら核異形成性と

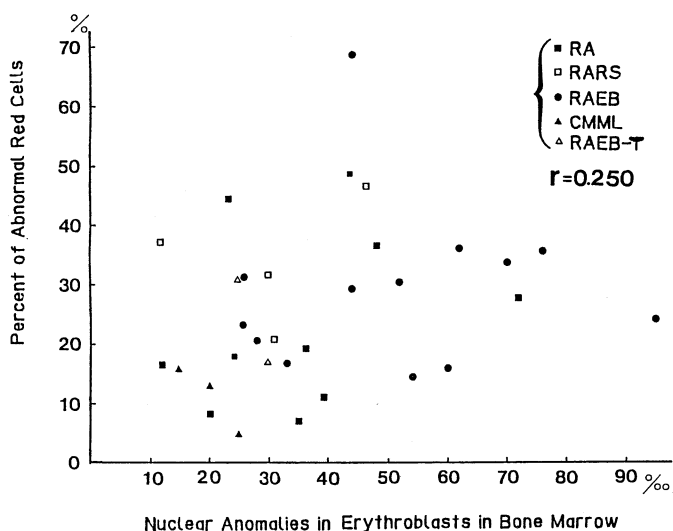


Fig. 6. Relationship between the percent of abnormal red cells and the extent of nuclear anomalies in erythroblasts in bone marrow in various types of MDS

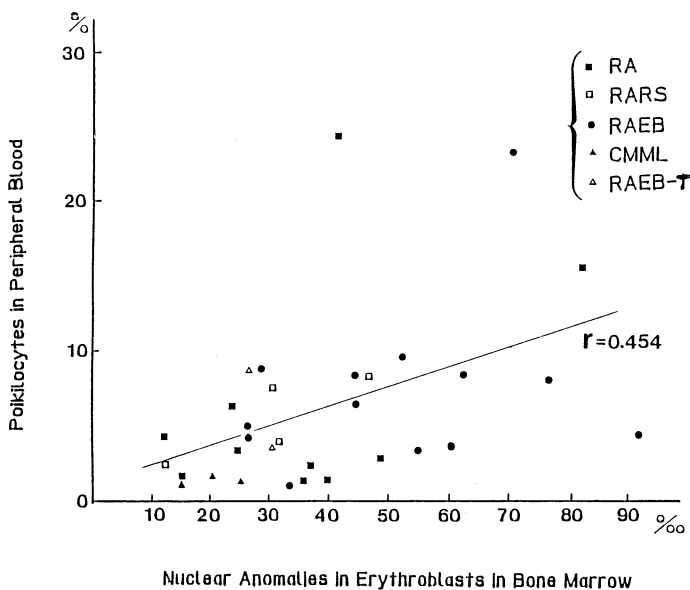


Fig. 7. Relationship between the extent of poikilocytosis in peripheral blood and the extent of nuclear anomalies in erythroblasts in bone marrow in various types of MDS

abnormal red cells, および poikilocytes との間の相関を検討した. その相関係数は各々 $r=0.250$, $r=0.454$ であった (Figs. 6, 7).

7) 赤血球数と末梢血赤血球形態異常

末梢血赤血球数と abnormal red cells との相関を検討したところ, 相関係数は $r=0.253$ であった (Fig. 8).

8) MDS 14 症例における赤血球膜病態の分析

MDS 32 症例のうち, 検索可能であった 14 症例 (RA 5 例, RARS 2 例, RAEB 5 例, RAEB-T 2 例) (Table 4) において, 赤血球膜輸送能, 赤血球膜脂質, 赤血球膜蛋白について検討した.

i) 赤血球膜輸送能の検索

赤血球膜輸送能については, Na influx; 1.50 ± 0.25 m moles/l RBC/h (正常対照群; 1.29 ± 0.14 , $p < 0.001$), Na efflux; 4.1 ± 1.3 (正常対照群; 2.4 ± 0.5 , $p < 0.001$) と有意な亢進を認めた. Na^+ , K^+ -ATPase も 7.80 ± 12.45 (正常対照群; 2.52 ± 0.60 , $p < 0.001$) と有意な亢進を認めた. しかし, その際, 赤血球内 Na^+ , および K^+ 濃度は, ほぼ正常対照群と大差なく, 赤血球内の電解質バランスを変えるほどではなかった (Table 5).

ii) 赤血球膜脂質の検索

赤血球膜脂質は, free cholesterol; $1354 \pm 197 \mu\text{g}/10^{10}$ RBC (正常対照群; 1202 ± 103 , $p < 0.01$) と増加し, リン脂質分画では, phos-

phatidylethanolamine の低下 ($p < 0.01$), lyso-phosphatidylcholine の増加 ($p < 0.001$) を認めた (Table 7).

iii) 赤血球膜蛋白の検索

RAEB の 1 症例にて赤血球膜蛋白 band 4.1 の部分欠損を認めた (38%欠損) (Fig. 9). この症例では, 形態学的に elliptocytosis が著明であり, 他の MDS 症例と比較検討する目的で, ghost, Triton shell を調製し, その形態的变化

を検討した. band 4.1欠損を伴う RAEB 症例では, ghost, Triton shell とともに elliptocytic form を呈していたが, 他の MDS 症例 (elliptocytosis type) においては, 正常対照と同様に round form の形態を呈していた (Fig. 10). さらに本症例について家系調査も施行したが, 検索し得た範囲内では, 他の家系成員はすべてその末梢血赤血球形態は正常 discocytosis を呈しており, また Band 4.1欠損についても現時点では認められていない (Fig. 9).

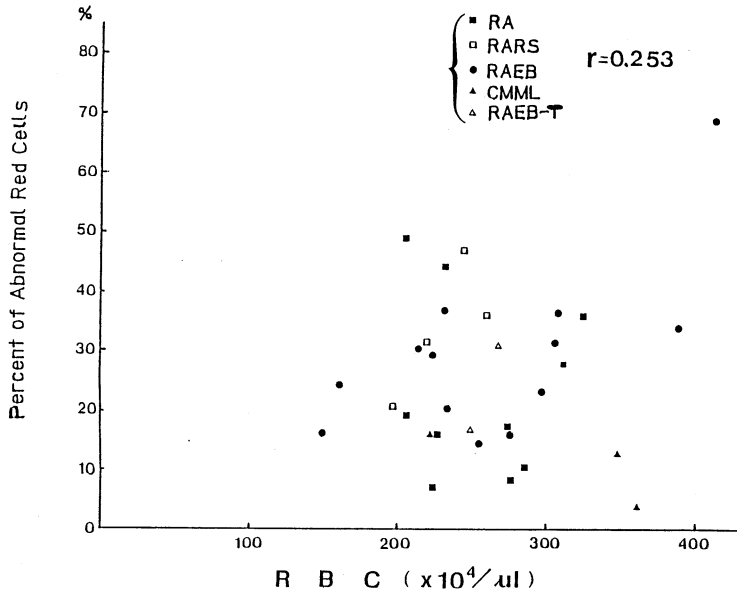


Fig. 8. Relationship between the percent of abnormal red cells and the extent of reduced red cell counts in peripheral blood in various types of MDS

考 察

MDS では, その異形成性が, 造血細胞 3 系統に認められることは, よく知られているが, その検索は主に骨髓における検討である.^{11),12)} 末梢血赤血球形態異常に関しては, わずかに佐藤ら¹³⁾ の報告があるが, これによると奇形赤血球 (正常赤血球以外の形態異常) の出現率は, 正常範囲を 3%以下とすると, RAEB 群 3.5-57.0% (5 例), RA 群 2.5-17.0% (3 例), RARS 群 30.5% (1 例) で

Table 4. Hematological data in 14 cases with MDS

Case	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (/mm ³)	Blast (%)	Platelet ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Retic. (%)	Diagnosis
1	2.30	7.3	23.8	2000	0.0	30	8.3	RA
2	2.72	10.8	32.4	420	0.0	40	5.2	RA
3	3.13	9.4	29.5	2500	1.0	14	4.3	RA
4	1.66	5.4	15.9	800	1.0	29	1.4	RA
5	2.09	7.2	22.4	6100	0.0	160	1.1	RA
6	2.58	9.0	27.9	7600	0.0	289	2.1	RARS
7	2.42	8.5	24.7	3800	0.0	233	1.9	RARS
8	2.21	7.7	26.9	3520	0.0	21	5.3	RAEB
9	2.14	7.1	21.5	3400	0.0	23	2.4	RAEB
10	2.34	7.0	22.9	1680	0.0	213	2.8	RAEB
11	2.60	6.6	27.4	19500	1.0	103	1.8	RAEB
12	2.76	9.6	29.0	1900	0.0	145	1.5	RAEB
13	2.99	8.0	26.7	6210	35.0	25	1.7	RAEB-T
14	2.48	7.4	22.7	4700	0.0	90	3.2	RAEB-T

Table 5. Red cell membrane transport in 14 cases with MDS

Case	Na-influx*	Na-efflux*			[NA] _{RBC} (mM)	[K] _{RBC} (mM)	Na ⁺ , K ⁺ - ATPase*
		Total	Ouabain				
			Sensitive	Insensitive			
1	1.54	5.1	3.0	2.1	11.2	84.4	4.79
2	1.08	4.2	1.7	2.5	13.6	93.5	3.20
3	1.64	3.8	1.9	1.9	6.0	106.7	ND
4	2.08	ND	ND	ND	19.5	71.6	40.86
5	1.45	ND	ND	ND	11.7	63.6	3.63
6	1.26	3.9	2.3	1.6	11.6	97.8	3.63
7	1.45	ND	ND	ND	13.1	78.3	3.77
8	1.21	4.3	2.3	2.0	6.0	116.7	ND
9	1.55	6.2	3.2	3.0	16.0	79.0	1.97
10	1.46	1.4	0.3	1.1	7.1	92.8	5.63
11	1.73	4.2	1.9	2.3	8.8	97.9	ND
12	1.32	ND	ND	ND	7.9	83.0	4.19
13	1.64	4.4	2.1	2.1	14.4	94.2	ND
14	1.56	3.1	1.3	1.8	16.2	81.9	ND
Mean±SD	1.50±0.25*	4.1±1.3*	1.9±0.8	2.1±0.5	11.6±4.1	88.8±14.1	7.80±12.45**
Normal	1.29±0.14	2.4±0.5	1.4±0.7	1.0±0.3	10.6±3.9	90.0±5.0	2.52±0.60

ND : not determined, *m moles/l RBC/h, # p<0.02 **p<0.001

Table 6. Red cell membrane lipids in 14 cases with MDS

Case	Membrane lipids ($\mu\text{g}/10^{10}\text{RBC}$)						
	FC	PL	Membrane phospholipid composition				
			PE	PS+PI	PC	SM	L-PC
1	1403	2964	797	525	809	768	68
2	1581	2673	516	406	992	668	91
3	1311	1744	419	293	495	450	87
4	1207	2347	648	368	664	554	113
5	1351	2780	815	434	778	676	78
6	1758	3283	919	552	978	791	39
7	1434	2502	643	450	686	643	80
8	1451	3239	774	635	1046	745	39
9	1258	2670	764	401	729	716	61
10	1428	2460	667	426	605	753	12
11	896	1805	513	291	462	493	47
12	1383	2838	826	460	769	707	77
13	1287	2079	597	360	509	563	50
14	1210	2632	729	466	705	647	84
Mean±SD	1354±197*	2573±466	688±141*	433±95	731±184	655±105	66±26**
Normal	1202±103	2604±241	806±86	366±38	733±64	663±73	38±11

FC : free cholesterol, PL : phospholipids, PE : phosphatidylethanolamine, PS : phosphatidylserine
 PI : phosphatidylinositol, PC : phosphatidylcholine, SM : sphingomyelin
 L-PC : lyso-phosphatidylcholine

*p<0.01, **p<0.001

あった。今回の検索では、いわゆる abnormal red cells の出現率は正常対照群に比較して明らかに高いことを認めることを発見し得た。さらにこれらの赤血球形態異常は、elliptocytosis, stomatocytosis, poikilocytosis 等の混在するこ

とが認められた。elliptocytosis を呈する疾患としては、代表例として遺伝性橢円赤血球症 (HE) があり、その他に鉄欠乏性貧血でも、橢円赤血球が認められることがあるが、家族歴、臨床化学的検査により、これらの疾患は明らかに除外

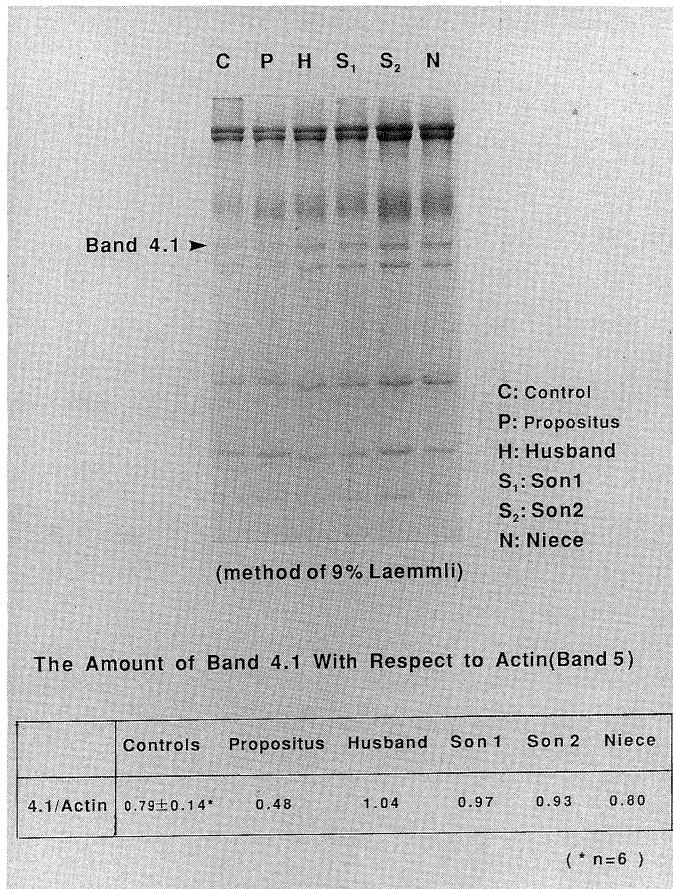


Fig. 9. A partial band 4.1 deficiency in a patient with RAEB (SDS-PAGE of erythrocyte membrane proteins)

できた。stomatocytosisを呈する疾患としては先天性有口赤血球症、種々の薬剤などの化学修飾、先天性脂質代謝異常症アルコール性肝障害などが挙げられるが、¹⁴⁾ これらも臨床検査成績より除外し得た。

これら3種の形態異常のMDS 5病型間での相対頻度では、RARS, RAEB, RAの順に多く認められた。CMML, RAEB-T群では、症例数が少なく、その有意差は不明である。元来MDSの病型分類は、末梢血、または骨髓における芽球の出現頻度により分類されており、この点から考えても白血球系の異常に力点が置かれている。したがって病態的にみると、RAEB, RAEB-T, CMMLでは、前白血病状態として

の病態が全面にでている。

一方、RA, RARSでは赤芽球系の無効造血を反映することが前3者に比較すると多いと考えられることから、これらの疾患群では赤血球形態異常の出現率が高いことは理解し得る。無効造血に関しては和田ら¹⁵⁾によるとRA, RARSで特に顕著な無効造血が認められると報告している。これらの赤血球形態異常の出現と骨髓でのdysplasiaとの関連、さらに貧血との関連についても検討したが、症例数の点もあって明らかな相関関係は得られなかった。

赤血球形態を保持しているのは基本的には、膜脂質二重層と裏打ち構造を構成する膜蛋白である。そこで、次に赤血球形態異常の病態解明の目的で、赤血球膜病態について検討を加えた。赤血球膜脂質組成に関しては、各々の症例で有意の差異が認められた。その病因としては、単に赤血球膜脂質固有の問題のみではなく、全身状態の変化に伴う血清脂質異常との関連も無視できないものと推定され

る。次に膜輸送能に関しては、Na influx, Na effluxともに明らかな亢進を認め、Na輸送能の異常を示唆する結果となった。赤血球膜ghostにおける膜蛋白分析では、著明なelliptocytosisを呈するRAEB 1症例にて、赤血球膜band 4.1の部分欠損を発見した。MDS症例における膜蛋白欠損の報告はなく、貴重な症例と思われるが、band 4.1欠損はHEに多く認められ、¹⁶⁾ HEと本症例との鑑別が重要であるが、検索した範囲以内では家系内にHE症例は認められないことより、その病因は遺伝性とは考えにくく、むしろMDS発症との関連が注目される。

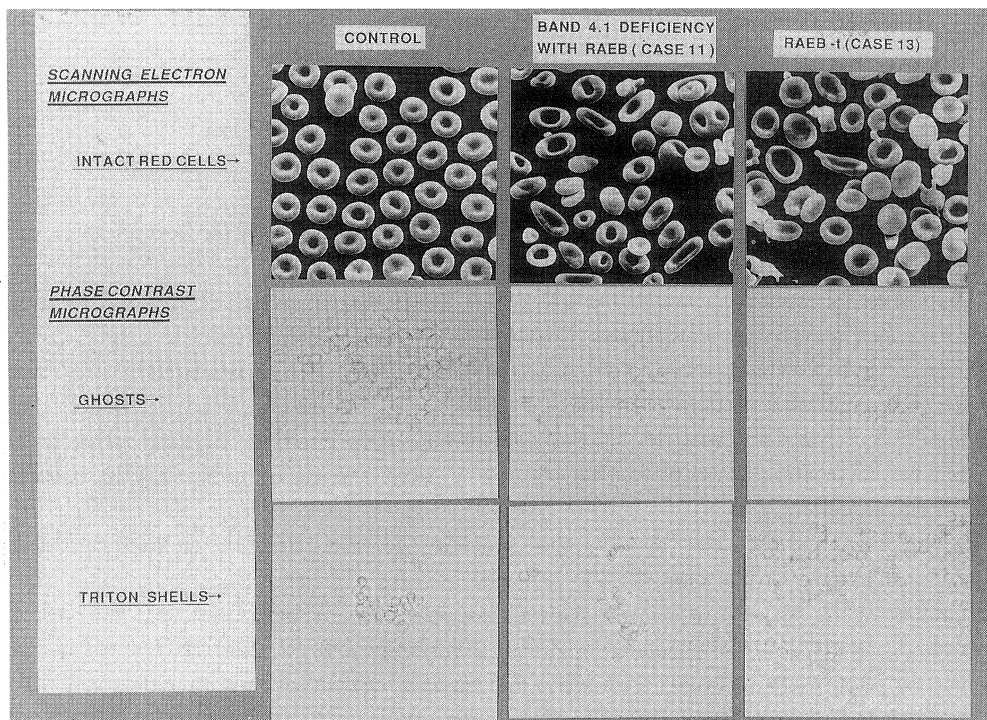


Fig. 10. Dependency of abnormal peripheral red cell shape on band 4.1 deficiency in a patient with RAEB, control, and a patient of RAEB-T

おわりに

MDS 症例における末梢血赤血球形態異常の出現は、比較的高頻度であり、それらの形態異常は、elliptocytosis, stomatocytosis, poikilocytosis を呈し、多くはこれら3種が混合していることが今回の検索にて判明した。この血球形態異常の出現の明確な病因を検索することはできなかったが、種々の因子が関与している可能性が示唆された。今後、さらに症例の検索を増加させることで、この病因について追究していきたい。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った川崎医科大学学生化学教室 細川桂一教授、川崎医科大学血液内科 八幡義人教授、ならびに直接御指導いただいた同科 神崎暁郎講師に深甚なる謝意を表します。また貴重な症例の検索の機会をお与えいただいた東京都老人医療センター 森真由美先生に深謝いたします。

また、技術的援助をいただいた川崎医科大学血液内科 高原真弓嬢、山根美樹嬢に深く感謝いたします。

なお、本論文の要旨は第52回日本血液学会総会（1990年4月、東京）において発表した。

文 献

- 1) Bennet, J. M., Catovsky, D., Daniel, M. T., Flandrin, G., Galton, D. A. G., Gralnick, H. R. and Sultan, C.: Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. Br. J. Haematol. 51: 189-199, 1982

- 2) Bennet, J. M., Catovsky, D., Daniel, M. T., Flandrin, G., Galton, D. A. G., Gralnick, H. R. and Sultan, C. : Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia : A report of the French-American-British cooperative group. *Ann. Intern. Med.* 103 : 620—625, 1985
- 3) Bessis, M. : Blood smears reinterpreted. New York, Springer International. 1977
- 4) Dodge, J. T., Mitchell, C. and Hanahan, D. J. : The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 100 : 119—130, 1963
- 5) Laemmli, U. K. : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680—685, 1970
- 6) Fairbanks, G., Steck, T. L. and Wallach, D. F. H. : Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. *Biochemistry* 10 : 2606—2617, 1971
- 7) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin phenolreagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265—275, 1951
- 8) Jacob, H. S. and Karnovsky, M. L. : Concomitant alterations of sodium flux and membrane phospholipid metabolism in red blood cells : Studies in hereditary spherocytosis. *J. Clin. Invest.* 46 : 173—185, 1967
- 9) Rose, H. G. and Oklander, M. : Improved procedure for the extraction of lipids by thin-layer chromatography. *J. Lipid Res.* 6 : 173—185, 1967
- 10) Bartlett, G. R. : Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* 234 : 466—468, 1959
- 11) 小池 正, 高橋益広 : Myelodysplastic syndrome. 血液形態学の立場より. *臨血* 27 : 1752—1764, 1986
- 12) Jacobs, A. : Myelodysplastic syndromes : Pathogenesis, functional abnormalities, and clinical implications. *J. Clin. Pathol.* 38 : 1201—1217, 1985
- 13) 佐藤貞夫, 岡本克実, 唐沢正光, 河合弘進, 土田晃靖, 竹内季雄 : 再生不良性貧血, myelodysplastic syndromes および種々な骨髄増殖性疾患における奇形赤血球比率に関する臨床的検討. 厚生省特定疾患—特発性造血障害調査研究班昭和59年度研究業績報告集 1985, pp. 294—301
- 14) 八幡義人, 神崎暁郎 : 有口赤血球症の膜輸送能の病態. 「Annual Review 血液 1989」(高久史麿, 青木延雄, 仁保喜之, 長尾 大編), 第1版. 東京, 中外医学社. 1989, pp.13—38
- 15) 和田秀穂, 山田 治, 岡本直人, 井上孝文, 肥後郁代, 生駒公子, 阿多雄之, 大塚明代, 白戸りさ, 大槻剛巳, 神崎暁郎, 杉原 尚, 八幡義人 : 最近10年間に当科で経験した myelodysplastic syndrome (MDS) 30 症例の臨床的検討. *川崎医会誌* 15 : 635—645, 1989
- 16) Lux, S. E. and Becker, P. S. : Disorders of the red cell membrane skeleton : Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. *In The Metabolic Basis of Inherited Disease*, ed. by Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S. and Valle, D. 6th ed. New York, McGraw-Hill. 1989, pp. 2367—2408