

31 CML の治療効果モニタリングの検査法である FISH・RT-PCR・RQ-PCR についての検討

○梶原寿子 秋田真美子 佐藤謙一 木村明佐子 曾川一幸 児玉明好 大山正之 糸賀栄(千葉大学医学部附属病院)根津雅彦(千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学)野村文夫(千葉大学医学部附属病院・千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学)

[目的]慢性骨髄性白血病(CML)における治療効果のモニタリングには Major *BCR-ABL* キメラ遺伝子の検出が有用である。当院では、治療効果のモニタリングとして RT-PCR 法(定性)と FISH 法に加え、新たに RQ-PCR 法(定量)を導入した。そこで、3 法について感度や相関などの基礎的検討を行い、CML の治療効果をモニタリングする上で分子生物学的かつ臨床的に効果的な検査法を検討した。

[方法]Major *BCR-ABL* キメラ遺伝子および内部コントロール用の *ABL* 遺伝子を挿入した Plasmid DNA standard を作製し、それらを用いて RQ-PCR の希釈直線性と検出感度を求めた。*BCR-ABL* 陽性細胞株 K562 細胞と陰性株 HL-60 細胞を混合して希釈系列を作製し、FISH・RT-PCR・RQ-PCR の 3 法について検出感度と相関を検討した。また、実際の臨床検体について 3 法の相関を検討した。

[結果]Major *BCR-ABL* キメラ遺伝子および *ABL* 遺伝子ともに定量測定系は 10 コピーからの検出が可能であり、 $10^1 \sim 10^{10}$ コピーの間で直線性が得られることを確認した。K562 細胞と HL-60 細胞の希釈系列を用いた FISH・RT-PCR・RQ-PCR の 3 法での測定値の比較では、陽性細胞数が多いほど RQ-PCR では頭打ちになる傾向があり、FISH では陽性細胞数が少ないと検出感度以下となり正確な相関を得ることは難しかった。3 法とも検出感度域では良好な相関を示した。臨床検体でも同様の結果を得た。

[結語]CML の治療効果をモニタリングするには選択的に FISH・RT-PCR・RQ-PCR の 3 法を使い分ける必要性が示唆された。

連絡先：043-222-7171 (内線 6279)

32 当院で経験した hairy cell leukemia の一症例

○脇田智恵子 岡澤恵美子 浪川 薫(社会保険船中央病院)石塚保弘(同 血液内科)

【目的】hairy cell leukemia(以下 HCL)は臨床的には 50 歳以上の男性に多く、全身リンパ節の腫大を伴わない脾腫が特徴的である。欧米では全白血病の約 2%に見られるが、我が国ではまれな疾患である。当院で経験した症例を報告する。

【症例】71 歳、男性、数年前より健診にて脾腫を指摘されていたが 2005 年 6 月の健診にて $\text{Plt } 6.6 \times 10^4 / \mu\text{l}$ と減少が認められた。精査のため 7 月当院受診する。入院時所見：腹部左季肋下に脾臓を 9 横指触知する。圧痛なし。

【入院時検査所見】WBC $8,600 / \mu\text{l}$ 、RBC $376 \times 10^4 / \mu\text{l}$ 、Hgb $11.0 \text{ g} / \mu\text{l}$ 、Hct 33.3%、MCV 89fl、MCH 29.8pg、MCHC 33.4%、 $\text{Plt } 6.0 \times 10^4 / \mu\text{l}$ 、RET 44%、St 1%、Seg 28%、Eo 0%、Baso 0%、Mono 1%、Ly 70%。生化学：TP $6.6 \text{ g} / \text{dl}$ 、Alb $4.6 \text{ g} / \text{dl}$ 、T-Bil $0.5 \text{ mg} / \text{dl}$ 、D-Bil $0.0 \text{ mg} / \text{dl}$ 、AST 25 IU、ALT 14 IU、LDH 158 IU、ALP 238 IU、 $\gamma\text{-GTP } 36 \text{ IU}$ 、ChE 366 IU、BUN $19.0 \text{ mg} / \text{dl}$ 、Cre $1.24 \text{ mg} / \text{dl}$ 、Ca $8.6 \text{ mg} / \text{dl}$ 、CPK 54 IU、CRP $0.29 \text{ mg} / \text{dl}$ 、IgG $881 \text{ mg} / \text{dl}$ 、IgA $134 \text{ mg} / \text{dl}$ 、IgM $12 \text{ mg} / \text{dl}$ 、sIL-2R $3,090 \text{ u} / \text{ml}$ 、ACE $13.9 \text{ IU} / \text{l}$ 。骨髓検査：NCC $27.1 \times 10^4 / \mu\text{l}$ 、Meg $120 / \mu\text{l}$ 、M:E1.5、Blast 1.4%、Pro 2.4%、My 7.6%、Meta 7.8、St 7.2%、Seg 12.0%、Eo 0.6%、Baso 0.2%、Mono 0%、Lym 30.6%、Plasma 0.8%、Ebl 27.0%。表面マーカー：gate(1)22.4% CD 19, 20, 11c, (+) CD23, 25, (−)。染色体：46, XY[20/22]末梢血のリンパ球は細胞表面に全周性に突起が見られ、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ反応はわずかに陽性で HCL が疑われた。電顕：定型的な毛髪状の突起を多数伸ばし、比較的広い細胞質にはミトコンドリア、粗面小胞体を認め、核は不規則粗大なくびれを有する不整類円型核で核縁にヘテロクロマチンの強い凝集像を有し核小体は不明瞭で HCL の定型的な像を呈した。

【まとめ】本症例では、リンパ球形態観察に注意が必要であった。自然乾燥標本により HCL 細胞の特徴が把握可能であった。

連絡先：047 - 433 - 2111