

同種造血幹細胞移植後の骨髄細胞における CD10, CD19 の発現

萩野 剛史¹ 西脇 嘉一¹ 古谷 伸之²

¹東京慈恵会医科大学内科学講座血液・腫瘍内科

²東京慈恵会医科大学内科学講座総合診療部

(受付 平成 17 年 10 月 14 日)

EXPRESSION OF CD10 AND CD19 IN THE BONE MARROW CELLS FOLLOWING ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Takeshi HAGINO¹, Kaichi NISHIWAKI¹, and Nobuyuki FURUTANI²

¹*Division of Hematology and Oncology, Department of Internal Medicine,
The Jikei University School of Medicine*

²*Division of General Medicine, Department of Internal Medicine, The Jikei University School of Medicine*

Objectives: An increase in B-lymphocyte precursor cells can be observed in children during bone marrow recovery following chemotherapy. Although the appearance of B-lymphocyte precursor cells after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has been reported, its clinical significance has not been established.

Subjects and Methods: This retrospective study examined the correlation between the expression of CD10, CD19, and CD20 in the bone marrow CD45 dull fraction after HSCT and the condition of 39 patients (16 male and 23 female) without recurrence for more than 6 months.

Results and Conclusion: Rates of CD10 and CD19 expression were high in 16 patients, many of whom showed the highest expression levels 6 months after HSCT. On univariate analysis of background factors in patients with high rates of CD10 and CD19 expression, the number of matching human leukocyte antigens was high ($p=0.0356$). Univariate analysis showed that the rates of infection with cytomegalovirus ($p=0.0207$) and varicella zoster virus ($p=0.0173$) and the mortality rate ($p=0.0002$) after HSCT were significantly lower in patients with high rates of CD10 and CD19 expression. Furthermore, multivariate analysis showed that both acute graft-versus-host disease ($p=0.0425$) grade II or higher and the cytomegalovirus infection rate ($p=0.0219$) were correlated with high rates of CD10 and CD19 expression. Our study has shown that the risk of viral infection is reduced in patients with high rates of expression of precursor B-cells after HSCT and suggests that the onset of acute graft-versus-host disease inhibits the subsequent reproduction of precursor B cells.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2006 ; 121 : 17-26)

Key words: hematopoietic-stem-cell transplantation, B-cell reproduction, CD19, CD10

I. 緒 言

小児の化学療法後における骨髄抑制の回復期に、形態学的に細胞質が乏しく、平滑で均質なク

ロマチンを持った比較的小型のリンパ芽球様細胞が骨髄で増加していることがあり、この現象を Hematogones (HG) と呼んでいる¹⁾⁻³⁾。HG は 1930 年代に初めて報告されたが、その本質は不明

のまま約半世紀が過ぎ、1980年代になって様々な報告がなされるようになり、HGsの本態は骨髄におけるB前駆細胞であることが判明した⁴⁾。また、稀ではあるが成人においても化学療法後の骨髄抑制の回復期にHGsが認められることが知られている⁵⁾⁻⁹⁾。HGsの細胞表面形質はすべての細胞においてCD10, CD19が陽性で、CD34, terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) 陽性のより未熟なものから、CD20が陽性となる比較的成熟したものまで含まれていると報告されている²⁾⁹⁾⁻¹²⁾。

一方、同種造血幹細胞移植においても移植後HGsと同様なB前駆細胞の増加がみられることがあり⁹⁾¹³⁾⁻¹⁵⁾、移植後におけるB細胞の再構築過程に伴うものと考えられているが、B細胞性急性リンパ性白血病の場合、骨髄再発との鑑別が問題とされている⁶⁾⁷⁾¹⁰⁾¹⁶⁾⁻¹⁹⁾。Leitenbergらは、CD10, CD19陽性、CD20弱陽性または陰性、CD45弱陽性のB前駆細胞の増加が同種造血幹細胞移植後1カ月以内に出現し、1年以上持続すると報告しているが²⁰⁾、移植後のB前駆細胞の動態に関する報告は少なく、B細胞の再構築過程が移植後どのような臨床的意義を有するかについては現在まったく不明である。

そこで今回われわれは、同種造血幹細胞移植症例におけるB細胞の再構築過程がどのように進み、移植後臨床病態にどのように関わっているかを明らかにするために、同種造血幹細胞移植後における骨髄細胞のCD10, CD19, CD20の発現の程度と変動、および臨床病態との関連性について検討した。

II. 対象ならびに方法

1. 対象

1995年9月から2002年9月までに慈恵医大柏病院血液腫瘍内科にて施行された同種造血幹細胞移植症例のうち、半年以上無再発にて経過した39症例を対象とした。男女比は男性16例、女性23例で、年齢は17-61歳(中央値37歳)、観察期間は222-3,473日(中央値1,705日)であった。

対象症例の疾患は、急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia: AML)16例、急性リンパ性白血病(acute lymphoblastic leukemia: ALL)9

例、骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome: MDS)4例、慢性骨髄性白血病(chronic myeloid leukemia: CML)6例、非ホジキンリンパ腫(non Hodgkin's lymphoma: NHL)2例、多発性骨髄腫(multiple myeloma: MM)1例、再生不良性貧血(aplastic anemia: AA)1例であった。移植時の病期は、急性白血病とMDSの寛解導入不全1例、第1寛解期16例、第1再発期4例、第2寛解期以降の寛解期5例、第2再発期以降の再発期2例、CMLの移行期1例、慢性期5例、NHLの第1寛解期1例、第2寛解期1例、MMの部分寛解期1例、MDS-refractory anemia (RA)1例、AA1例であった。

移植前処置は、AML, MDSとCMLに対しては全身放射線照射(total body irradiation: TBI, 10-12 Gy)+cytosine arabinoside (AraC, 12-24 g/m²)+顆粒球コロニー刺激因子(granulocyte-colony-stimulating factor: G-CSF, 5 μg/kg/day, 2-4 days)±cyclophosphamide (CPM, 120 mg/kg), ALLに対してはBusulfan (BU, 8 mg/kg)+AraC (24 g/m²)1例を除く全例にTBI (10-12 Gy)+etoposide (30-60 mg/kg)±CPM (120 mg/kg), MMはmelphalan (L-PAM, 140 mg/m²)+fludarabine (Flu, 125 mg/m²), NHLはTBI (12 Gy)+L-PAM (140 mg/m²)1例、Flu (125 mg/m²)+CPM (120 mg/kg)1例であった。なお、2例が骨髄非破壊的前処置であった。造血幹細胞移植の種類は、HLA (human leukocyte antigen)一致血縁者間が21例(末梢血幹細胞移植5例、骨髄移植16例)、一座不一致血縁者間が5例(末梢血幹細胞移植1例、骨髄移植4例)であった。一方非血縁者間骨髄移植は13例(DNA適合7例、DNA不適合6例)であった。移植片対宿主病(graft-versus-host disease: GVHD)の予防法は短期methotrexate (MTX)+cyclosporine A (CYA)30例、短期MTX+tacrolimus (FK506)7例、CYA単独2例であった。

なお本研究は東京慈恵会医科大学倫理委員会より承認を得ている。

2. 方法

1) 骨髄細胞表面形質CD10, CD19, CD20の測定

同種造血幹細胞移植後1カ月, 3カ月, 6カ月,

12 カ月, 24 カ月, 36 カ月の各時期に骨髄穿刺を行い, 骨髄中の CD10, CD19, CD20 陽性細胞の発現率を測定した. 測定方法は直接抗体法を用い, Becton Dickinson 社の FACScan フローサイトメーターを用いて実施した²¹⁾. データ解析には未熟な細胞とされる CD45 の発現量の低い分画 (CD45 dull 分画) 中の CD10, 19, 20 陽性細胞の発現率を使用した²²⁾. なお, これらの検討に用いた CD10, CD19, CD20 に対する抗体は Beckman Coulter 社製の J5, B4, B1 を CD45 は Becton Dickinson 社製の CD45 抗体を使用した.

2) B 前駆細胞の発現程度と変動, ならびに臨床病態との関連に関する検討

同種造血幹細胞移植後 1 カ月, 3 カ月, 6 カ月, 12 カ月, 24 カ月, 36 カ月の CD45 dull 分画中の CD10, CD19, CD20 の陽性率の経時的変動について検討した. また CD45 dull 分画中における CD10 または CD19 の陽性率を 2 群に分類した場合, 最も 2 群間に差の認められる発現率が 70% であったため, CD10 または CD19 の陽性率が 70% 以上を示す症例を高発現群, 70% 未満を示す症例を低発現群とした. これら 2 群における患者背景, 移植前処置, 造血幹細胞移植の種類, GVHD 予防法, 急性 GVHD, 慢性 GVHD, サイトメガロウイルス (cytomegalovirus: CMV) 感染, 水痘・帯状疱疹ウイルス (varicella zoster virus: VZV) 感染症, 移植後再発について検討した. なお CMV 感染は血液中の CMV 抗原が陽性であることをもって CMV 感染症と診断した.

3. 統計解析について

B 前駆細胞の発現の分布をボックスプロットで示し経時的に比較した. B 前駆細胞の高発現群と低発現群との比較における, 移植時年齢, 原疾患などの移植背景因子, ならびに再発率, 死亡率, 急性・慢性 GVHD 発症率, 感染症発症率などの造血幹細胞移植合併症因子との関連についての分析には, 単変量解析では Wilcoxon 検定およびカイ 2 乗検定, 多変量解析では名義ロジスティック回帰分析を用いた Wald 検定にて行い, $p < 0.05$ をもって統計学的有意と判定した. なお, 統計解析は JMP 5.0 (SAS institute, Cary, NC) により行った.

III. 結 果

1. B 前駆細胞の発現時期とその変動

骨髄 CD45 dull 分画における CD10, CD19, CD20 陽性率の経時変化の中央値と範囲を Table 1 に示した. CD10, CD19, CD20 ともに移植後 6 カ月に発現率のピークを認め, その後は低下傾向を示した. 次に骨髄 CD45 dull 分画における CD10, 19, 20 陽性率の経時変化を高発現群と低発現群を分けて検討してみると, 高発現群においては全症例と同じく, 移植後 6 カ月に CD10, 19, 20 陽性細胞の発現率のピークを認め, その後は低下傾向を示したが (Fig. 1), 低発現群においてはこの傾向を認めなかった (Fig. 2). また, CD10 および CD19 の発現率に比べ, CD20 の発現率は低く, とくに高発現群においてその傾向が強かった. 移植後にこれらの分化抗原が同一細胞に共発現しているか否かについては今回検討していないが, CD10, 19 が高発現で CD20 が低発現の細胞集団, すなわち骨髄中の B 前駆細胞が増加していることを示唆す

Table 1. CD10, CD19 and CD20 expression in the bone marrow CD45 dull fractions from 39 transplanted cases

	CD10 (%)	CD19 (%)	CD20 (%)
1 month after SCT			
median	11.2	5.4	5.3
range	0.8-68.4	0.5-76.0	0.6-53.6
3 months after SCT			
median	21.7	27.8	10.9
range	0.4-87.6	0.7-83.9	0.5-50.3
6 months after SCT			
median	56.3	57.1	19.7
range	4.7-89.4	3.0-94.4	1.5-54.9
12 months after SCT			
median	32.6	41.2	11.2
range	1.8-72.6	0.2-88.8	0.3-71.0
24 months after SCT			
median	32.8	36.5	14.5
range	3.6-68.3	2.9-76.1	2.4-53.9
36 months after SCT			
median	38.4	47.0	17.1
range	2.6-66.1	3.3-74.4	3.4-22.8

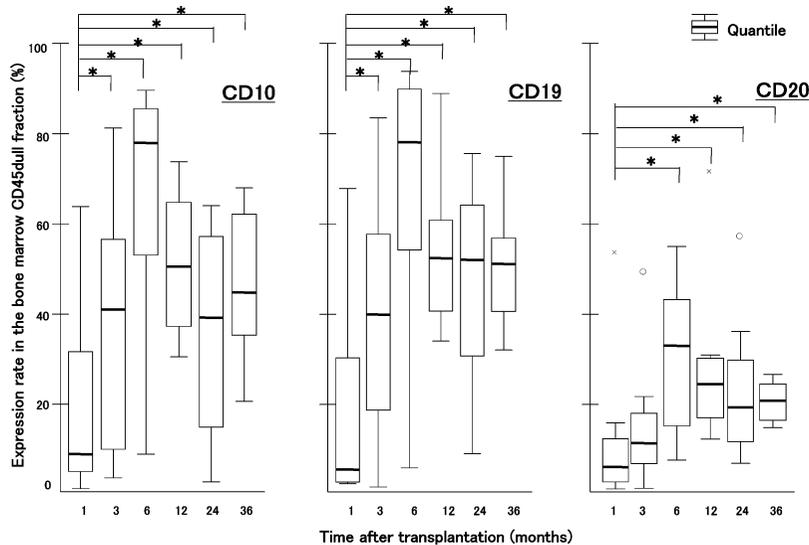


Fig. 1. CD10, CD19 and CD20 expression in the bone marrow CD45 dull fractions of high-expressing group from 16 transplanted cases.

* $p < 0.05$; Wilcoxon's labeled rank test

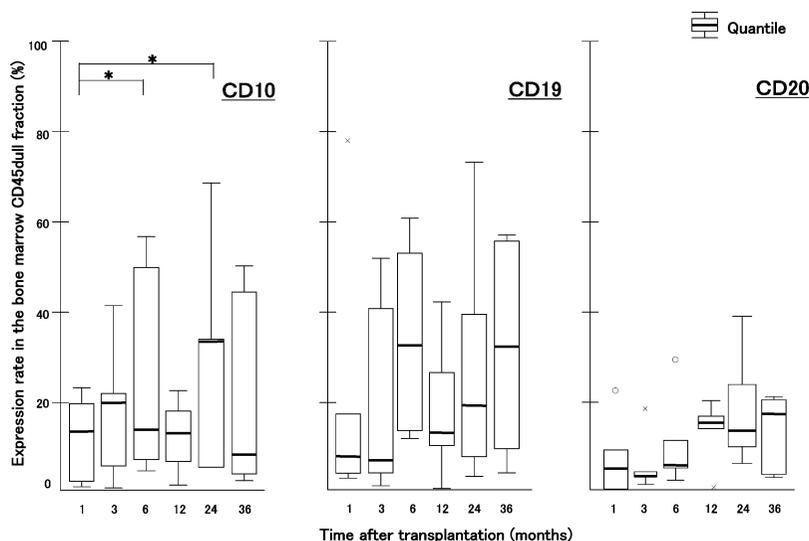


Fig. 2. CD10, CD19 and CD20 expression in the bone marrow CD45 dull fractions of low-expressing group from 23 transplanted cases.

* $p < 0.05$; Wilcoxon's labeled rank test

るものと考えられる。

CD10, 19 の高発現を示す症例の骨髄像を Fig. 3 に示す。このような症例の骨髄には小型のリンパ芽球様細胞が比較的多く見られ、これらの細胞は細胞質が乏しく、平滑で均質なクロマチンを持ち、核小体がないかあるいは不明瞭な特徴を有していた。このような形態を持った細胞の骨髄での比率

は CD45 dull 分画中の CD10, 19 陽性細胞の比率とほぼ一致しており、この細胞が B 前駆細胞であると推察された。

2. B 前駆細胞の発現率と各種移植合併症との関連

B 前駆細胞の高発現症例は 39 例中 16 例 (41%) に認められた。B 前駆細胞の高発現群と低発現群における背景因子を Table 2 に示した。年齢は高

発現群で 17-49 歳(中央値 34 歳), 低発現群で 19-61 歳(中央値 40 歳)と低発現群で若干高い傾向が見られた。またドナーとの HLA が遺伝学的に一

致している割合は高発現群 13/16 例(81%) に対して低発現群は 15/23 例(65%)と、低発現群に HLA が遺伝学的に不一致である移植症例が有意

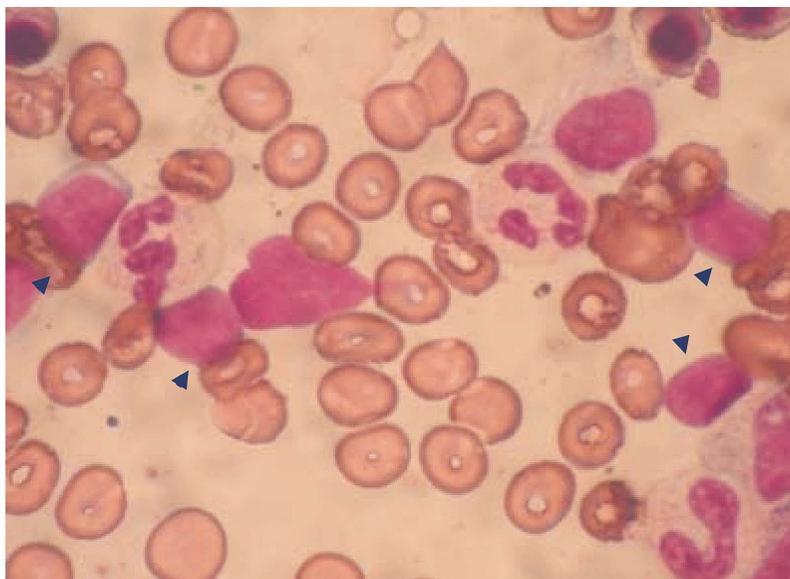


Fig. 3. Bone marrow smear from a patient with high CD10 and CD19 expression.

Table 2. Baseline characteristics of patients

	High expression (<i>n</i> =16)	Low expression (<i>n</i> =23)	<i>p</i> value
Age (median)	17-49 (34)	19-61 (40)	0.1945
Sex (M/F)	5/11	11/12	0.0995
Disease			0.3044
AML	6	10	
ALL	5	4	
MDS	2	2	
CML	3	3	
Other	0	4	
Disease Status (CR/non CR)	12/4	17/5*	0.4870
Conditioning regimen			
TBI/non TBI	16/0	19/4	0.0626
Source			
HLA identical related	9	12	
HLA 1 antigen mismatch related	1	3	
DNA identical unrelated	4	3	
DNA 1 allele mismatch unrelated	2	5	
Related/Unrelated	10/6	15/8	0.2344
HLA match/mismatch	13/3	15/8	0.0356
GVHD prophylaxis			
CYA±sMTX/FK506+sMTX	14/2	18/5	0.2107

*Except for a patient with aplastic anemia

に多く含まれている傾向がみられた。そこで、両群間の各因子について単変量解析を行った結果、ドナーとの HLA の一致度にのみ有意差を認め ($p=0.0356$)、その他の因子、年齢、男女比、疾患別、移植時病期、TBI の有無、血縁者間・非血縁者間移植の比率、GVHD 予防法については有意差を認めなかった。

次に B 前駆細胞の高発現群および低発現群における各種移植後合併症の頻度と単変量解析の結果を Table 3 に示した。

Grade II 以上の急性 GVHD は、全 39 例中 11 例 (28%) に認め、発症時期は移植 12-54 日後 (中央値 31 日) であった。B 前駆細胞の高発現群では発症頻度が 3/16 例 (19%) であったのに比べ、低発現群では 8/23 例 (35%) であり、高発現群で発症率が低かったが、有意差は認められなかった ($p=0.1927$)。

慢性 GVHD は、全 39 例中 25 例 (64%) に認め、発症時期は移植 105-1,303 日後 (中央値 202 日) であった。B 前駆細胞の高発現群の発症頻度は 8/16 例 (50%) に対して低発現群 17/23 例 (74%) で、慢性 GVHD についても 2 群間に有意差は認められなかった ($p=0.3485$)。

CMV 感染は、全 39 例中 19 例 (49%) に認めら

れ、発症時期は移植 23-287 日後 (中央値 44 日) であった。B 前駆細胞の高発現群における発症頻度は 5/16 例 (31%) であったのに対し、低発現群は 14/23 例 (61%) と、CMV 感染症の発症率は低発現群で有意に高いとの成績が得られた ($p=0.0207$)。

また VZV 感染症は、全 39 例中 11 例 (28%) に認め、発症時期は移植 49-2,479 日後 (中央値 165 日) であった。B 前駆細胞の高発現群における発症頻度は 3/16 例 (19%) であったのに対し、低発現群は 8/23 例 (35%) と、VZV 感染症の発症率においても低発現群が有意に高かった ($p=0.0173$)。

一方、再発は全 39 例中 6 例 (15%) に認め、再発時期は移植 405-2,098 日後 (中央値 662.5 日) であった。B 前駆細胞の高発現群の再発率が 2/16 例 (13%) であったのに対し、低発現群は 4/23 例 (17%) であり、再発率には 2 群間に有意差を認めなかった ($p=1.0000$)。しかし、死亡は 39 例中 13 例 (33%) に認め、死亡時期は移植 222-3,177 日後 (中央値 437 日) であったが、B 前駆細胞の低発現群では死亡率 13/23 例 (57%) に対し、高発現群では死亡例がなく、死亡率に関しては明らかな違いが見られた ($p=0.0002$)。

Table 3. Outcomes of treatment

	High expression (n=16)	Low expression (n=23)	p value
Relapse (%)	2 (13)	4 (17)	1.0000
Death (%)	0 (0)	13 (57)	0.0002
Acute GVHD, grade (%)			
0	8 (50)	6 (26)	
I	5 (31)	9 (39)	
II	2 (13)	5 (22)	
III	1 (6)	3 (13)	
IV	0 (0)	0 (0)	
0-I/II-IV	13 (81)/3 (19)	15 (65)/8 (35)	0.1927
Chronic GVHD (%)			
None	8 (50)	6 (26)	
Limited	3 (19)	6 (26)	
Extensive	5 (31)	11 (48)	
None/Limited+Extensive	8 (50)/8 (50)	6 (26)/17 (74)	0.3485
CMV (%)	5 (31)	14 (61)	0.0207
VZV (%)	3 (19)	8 (35)	0.0173

Table 4. Results of multivariate analysis (Cox proportional hazard model)

	<i>p</i> value
Acute GVHD (grade \geq II)	0.0425
Chronic GVHD	0.0525
CMV	0.0219
VZV	0.0636
Relapse	1.0000

以上の単変量解析の結果を基に、多変量解析として、B 前駆細胞の高発現が移植後各種合併症に影響を与えるか否かのロジスティック解析を行ったところ、II 度以上の急性 GVHD ($p=0.0425$) と CMV 感染症 ($p=0.0219$) で有意差を認め (Table 4)、B 前駆細胞の高発現群は II 度以上の急性 GVHD と CMV 感染症が低発現群に比べ発症しにくいとの成績が得られた。

IV. 考 察

われわれは今回、同種造血幹細胞移植後の骨髄細胞 CD45 dull 分画中における CD10, CD19 陽性細胞の発現とその変動について検討した。その結果 CD45 dull 分画中の CD10, CD19 の発現率はともに移植後 6 カ月でピークとなり、その後は低下傾向を示した。また、その傾向は高発現群ではより顕著であったが、低発現群では明確ではなかった。一方、CD20 の発現は CD10, CD19 の発現に比べ明らかに低い傾向が認められた。

Leitenberg らは、CD10 陽性、CD19 陽性、CD20 弱陽性または陰性、CD45 弱陽性、L-selectin 陰性または弱陽性を示す B 前駆細胞の増加が同種造血幹細胞移植後 1 カ月以内に出現し、1 年以上持続すると報告し、この変化が B 細胞の免疫学的再構築の過程で起こっているとしている²⁰。また、Kobayashi らも移植後の骨髄に見られる小芽球様細胞の形質について検討し、これらの細胞が移植後の骨髄に 4.0-21.3% 出現し、表面形質は CD10, CD19 陽性、CD20 陰性、細胞形質は terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) と cytoplasmic μ が陽性で、出現時期は移植 55-365 日後と報告している¹³。われわれが検討した骨髄中の CD45 dull 分画細胞も Leitenberg, Kobaya-

shi らの報告と同様の細胞表面マーカーを有したものであり、B 前駆細胞の変動を見ているものと考えられる。なお、Leitenberg らは健常成人の骨髄における B 前駆細胞比率と比較して、その増加している時期と期間を報告しているが、経時的な陽性率の変動については検討しておらず、われわれの結果と単純に比較することはできない。また他に同様の報告例もなく、造血幹細胞移植後の B 前駆細胞比率の経時的变化に関する本成績は興味ある結果と考えられる。

次に、B 前駆細胞発現の高低が移植後の各種合併症に対し何らかの関与を有している可能性が有るか否かについて検討した結果、単変量解析では高発現群でドナーとの HLA の一致度が有意に高く、死亡率、CMV 感染症、VZV 感染症が有意に低値を示した。また、多変量解析では II 度以上の急性 GVHD と CMV 感染が有意差をもって高発現群が低発現群に比べ少ないとの結果であった。すなわち統計学的には、HLA が一致した造血幹細胞移植では B 前駆細胞の発現率が高く、B 前駆細胞高発現群では II 度以上の急性 GVHD の発症率が明らかに低く、かつ CMV 感染症の併発率も有意に低値であったため、死亡例が皆無 (皆無のため多変量解析の対象外) であったと分析される結果であった。

同種造血幹細胞移植後には血清中のレシピエント由来の免疫グロブリンが低下し、その後徐々にドナー由来の液性免疫が回復する。ドナー由来の血清免疫グロブリンの回復は移植後 2-6 カ月を要してまず IgM から始まり、その後 IgG が 3-18 カ月をかけて回復、最後に IgA が 6-36 カ月をかけて回復すると考えられており、これらの回復の時期と程度は患者の移植後の状態と移植片の特徴に関係していると報告されている²³⁾⁻²⁵⁾。また、移植後の病原特異的な抗体のレベルは、移植後 6 カ月間については、移植前の患者における抗体の水準に依存していると考えられている²⁶⁾。

移植後の B 前駆細胞の出現が液性免疫の回復にどのように関与しているかは不明であるが、液性免疫の回復に先立って B 前駆細胞の発現が起こると考えるのが妥当であろう。われわれが観察した B 前駆細胞高発現のピークが移植後 6 カ月目に認められたことは、ドナー由来の免疫グロブ

リンの回復時期を考慮すると、妥当な時期であると考えられる。また、B 前駆細胞高発現群で CMV 感染症あるいは単変量解析で VZV 感染症が有意に低頻度であり、B 前駆細胞の発現が高い症例の方が液性免疫の再構成がよりスムーズに行われ、これらの感染症に対する抵抗性が担保されたものと考えられる。これらの点を明らかにするためには、移植後の免疫グロブリンの推移と B 前駆細胞との関係を検討する必要があるが、本研究では検討しておらず、今後の課題と考える。

今回の検討では、B 前駆細胞の発現率は造血幹細胞移植の 6 カ月後にピークを示した。急性 GVHD は移植後 100 日以内に起こる合併症であるが、移植後に免疫グロブリンを投与した方が急性 GVHD の危険性を低下させるとの報告²⁷⁾もあり、B 前駆細胞高発現群で II 度以上の急性 GVHD の発症率が有意に低かったという結果は、液性免疫の回復程度が急性 GVHD の発症リスクに関与している可能性を示唆する成績と考えられる。一方、GVHD の発症によってサイトカインや移植片対ストローマ効果を介し、あるいは GVHD の治療薬の影響によって、B 細胞系の造血を低下させるとの報告もあり²⁵⁾、低発現群では急性 GVHD の発症によりその後の B 前駆細胞の再構築が妨げられた可能性も推察される。

Storek らは B 細胞の免疫学的再構築の過程が慢性 GVHD の発症によって妨げられると報告している²⁸⁾²⁹⁾。また、慢性 GVHD は移植片の種類に関係なく、血清中の免疫グロブリンを低下させ、末梢血中の B 細胞や骨髄中の B 前駆細胞を減少させるとの報告もある³⁰⁾。今回のわれわれの検討では、慢性 GVHD に関しては有意差が得られなかったが、有意検定値は 0.0525 であり、症例数を重ねれば Storek らの結果を支持する結果が得られる可能性は否定できない。本来 GVHD の発症に関しては T 細胞が重要な役割を担っていることは周知の事実である。今回の検討結果に T 細胞の再構成過程がどの様にかかわっているかについては検討していないが興味深い点であり、今後検討を要する。

ウイルス感染症は造血幹細胞移植合併症としてとくに重要であり、時に致死的事となることが知られている³¹⁾³²⁾。今回の結果からは B 細胞の再構築

が十分で無い場合、ウイルス感染症が起りやすくなることが推察され、移植後の骨髄細胞における B 前駆細胞の発現頻度を検討することにより、ウイルス感染のリスクを予測できる可能性が示唆された。しかし B 細胞の移植後における再構築の過程についてはまだ不明な点も多く、今後さらなる検討が必要であると考えられる。

V. 結 語

造血幹細胞移植後の骨髄 CD45 dull 分画における CD10, CD19, CD20 の発現頻度と臨床病態との関連について検討し、以下の結論を得た。

1) CD10, CD19 の高発現群 (陽性率 70% 以上) は 16/39 例 (41.0%) に認め、これらの多くは移植後 6 カ月に発現率のピークを認め、その後は低下傾向を示した。一方、低発現群 (陽性率 70% 以下) では、同様のピークは認めなかった。

2) B 前駆細胞の高発現群と低発現群における移植背景因子の比較では、ドナーとの HLA の一致度が高発現群で有意に高かった。

3) 前記両群における移植後合併症頻度の単変量解析では、高発現群で死亡率、CMV 感染症および VZV 感染症の発症率が有意に低値であった。

4) 両群における移植後合併症頻度の多変量解析では、高発現群で II 度以上の急性 GVHD と CMV 感染症の発症率が有意に低値であった。

以上より、HLA が一致した造血幹細胞移植では B 前駆細胞の発現率が高く、B 前駆細胞高発現群では II 度以上の急性 GVHD の発症率が低く、かつ CMV 感染症の併発頻度も低いことから、低発現群に較べ生命予後が良好であることが示唆された。

本稿を終わるにあたり、ご指導、ご校閲を賜った、東京慈恵会医科大学内科学講座血液・腫瘍内科 小林正之教授に深甚なる謝意を表すとともに、ご協力賜りました東京慈恵会医科大学内科学講座血液・腫瘍内科の諸兄に深謝いたします。

本研究の内容の一部は第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会で発表した。

文 献

- 1) Vogel P, Lowell A, Rosenthal N. Hematological observations on bone marrow

- obtained by sternal puncture. *Am J Clin Pathol* 1937 ; 7 : 436-47.
- 2) McKenna RW, Asplund SL, Kroft SH. Immunophenotypic analysis of hematogones (B-lymphocyte precursors) and neoplastic lymphoblasts by 4-color flow cytometry. *Leuk Lymphoma* 2004 ; 45 : 277-85.
 - 3) Muehleck SD, McKenna RW, Gale PF, Brunning RD. Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT)-positive cells in bone marrow in the absence of hematologic malignancy. *Am J Clin Pathol* 1983 ; 79 : 277-84.
 - 4) Riley RS, Massey D, Jackson-Cook C, Idowu M, Romagnoli G. Immunophenotypic analysis of acute lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2002 ; 16 : 245-99.
 - 5) Longacre TA, Foucar K, Crago S, Chen IM, Griffith B, Dressler L, et al. Hematogones: a multiparameter analysis of bone marrow precursor cells. *Blood* 1989 ; 73 : 543-52.
 - 6) Ryan DH, Chapple CW, Kossover SA, Sandberg AA, Cohen HJ. Phenotypic similarities and differences between CALLA-positive acute lymphoblastic leukemia cells and normal marrow CALLA-positive B cell precursors. *Blood* 1987 ; 70 : 814-21.
 - 7) Ifrah N, Boucheix C, Marie JP, Innes J, Perrot JY, Rio B, et al. Persistence of bone marrow lymphocytosis after induction treatment in common acute lymphoblastic leukemia: marker analysis and significance. *Cancer* 1986 ; 58 : 2018-22.
 - 8) Davis RE, Longacre TA, Cornbleet PJ. Hematogones in the bone marrow of adults: immunophenotypic features, clinical settings, and differential diagnosis. *Am J Clin Pathol* 1994 ; 102 : 202-11.
 - 9) McKenna RW, Washington LT, Aquino DB, Picker LJ, Kroft SH. Immunophenotypic analysis of hematogones (B-lymphocyte precursors) in 662 consecutive bone marrow specimens by 4-color flow cytometry. *Blood* 2001 ; 98 : 2498-507.
 - 10) Lucio P, Parreira A, van den Beemd MW, van Lochem EG, van Wering ER, Baars E, et al. Flow cytometric analysis of normal B cell differentiation: a frame of reference for the detection of minimal residual disease in precursor-B-ALL. *Leukemia* 1999 ; 13 : 419-27.
 - 11) Vandersteenhoven AM, Williams JE, Borowitz MJ. Marrow B-cell precursors are increased in lymphomas or systemic disease associated with B-cell dysfunction. *Am J Clin Pathol* 1993 ; 100 : 60-6.
 - 12) Kroft SH, Karandikar NJ, McKenna RW, Asplund SL. Circulating hematogones in adults: a 4-color flow cytometry study of 102 patients. *Mod Pathol* 2003 ; 16 : 241.
 - 13) Kobayashi SD, Seki K, Suwa N, Koama C, Yamamoto T, Aiba K, et al. The transient appearance of small blastoid cells in the marrow after bone marrow transplantation. *Am J Clin Pathol* 1991 ; 96 : 191-5.
 - 14) van Wering ER, van der Linden-Schrevel BE, Szczepanski T, Willems MJ, Baars EA, van Wijngaarde-Schmitz HM, et al. Regenerating normal B-cell precursors during and after treatment of acute lymphoblastic leukaemia: implications for monitoring of minimal residual disease. *Br J Haematol* 2000 ; 110 : 139-46.
 - 15) Dworzak MN, Fritsch G, Fleischer C, Printz D, Froschl G, Buchinger P, et al. Multiparameter phenotype mapping of normal and post-chemotherapy B lymphopoiesis in pediatric bone marrow. *Leukemia* 1997 ; 11 : 1266-73.
 - 16) Rimsza LM, Larson RS, Winter SS, Foucar K, Chong YY, Garner KW, et al. Benign hematogone-rich lymphoid proliferations can be distinguished from B-lineage acute lymphoblastic leukemia by integration of morphology, immunophenotype, adhesion molecule expression, and architectural features. *Am J Clin Pathol* 2000 ; 114 : 66-75.
 - 17) Mlcakova A, Babusikova O. Multiparametric flow cytometry in detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia of early B-cell phenotype. *Neoplasma* 2003 ; 50 : 416-21.
 - 18) Rimsza LM, Viswanatha DS, Winter SS, Leith CP, Frost JD, Foucar K. The presence of CD34+ cell clusters predicts impending relapse in children with acute lymphoblastic leukemia receiving maintenance chemotherapy. *Am J Clin Pathol* 1998 ; 110 : 313-20.
 - 19) Kallakury BV, Hartmann DP, Cossman J, Gootenberg JE, Bagg A. Posttherapy surveillance of B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Am J Clin Pathol* 1999 ; 111 : 759-

- 66.
- 20) Leitenberg D, Rapoport JM, Smith BR. B-cell precursor bone marrow reconstitution after bone marrow transplantation. *J Clin Pathol* 1994 ; 102 : 231-6.
 - 21) Browits MJ, Guenther KL, Shults KE, Stelzer GT. Immunophenotyping of acute leukemia by flow cytometric analysis. *Am J Clin Pathol* 1993 ; 100 : 534-40.
 - 22) Hassett J, Parker J. Laboratory practices in reporting flow cytometry phenotyping results for leukemia/lymphoma specimens: results of a survey. *Cytometry* 1995 ; 22 : 264-81.
 - 23) D'Sa S, Peggs K, Pizzey A, Verfuert S, Thurai-sundaram D, Watts M, et al. T- and B-cell immune reconstitution and clinical outcome in patients with multiple myeloma receiving T-cell-depleted, reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation with an alemtuzumab-containing conditioning regimen followed by escalated donor lymphocyte infusions. *Br J Haematol* 2003 ; 123 : 309-22.
 - 24) Gokmen E, Raaphorst FM, Boldt DH, Teale JM. Ig heavy chain third complementarity determining regions (H CDR3s) after stem cell transplantation do not resemble the developing human fetal H CDR3s in size distribution and Ig gene utilization. *Blood* 1998 ; 92 : 2802-14.
 - 25) Peggs KS. Immune reconstitution following stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma* 2004 ; 45 : 1093-101.
 - 26) Storek J, Viganego F, Dawson MA, Herremans T, Boeckh M, Flowers MED, et al. Factors affecting antibody levels after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2003 ; 101 : 3319-24.
 - 27) Sullivan KM, Kopecky KJ, Jocom J, Fisher L, Buckner CD, Meyers JD, et al. Immunomodulatory and antimicrobial efficacy of intravenous immunoglobulin in bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1990 ; 323 : 705-12.
 - 28) Storek J, Saxon A. Reconstitution of B cell immunity following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1992 ; 9 : 395-408.
 - 29) Storek J, Ferrara S, Ku N, Giorgi JV, Champlin RE, Saxon A. B cell reconstitution after human bone marrow transplantation: recapitulation of ontogeny? *Bone Marrow Transplant* 1993 ; 12 : 387-98.
 - 30) Abrahamsen IW, Somme S, Heldal D, Egeland T, Kvale D, Tjonnfjord GE. Immune reconstitution after allogeneic stem cell transplantation: the impact of stem cell source and graft-versus-host disease. *Haematologica* 2005 ; 90 : 86-93.
 - 31) Dykewicz CA. Summary of the guidelines for preventing opportunistic infections among hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2001 ; 33 : 139-44.
 - 32) Sullivan KM, Dykewicz CA, Longworth DL, Boeckh M, Baden LR, Rubin RH, et al. Preventing opportunistic infections after hematopoietic stem cell transplantation: the Centers for Disease Control and Prevention, Infectious Diseases Society of America, and American Society for Blood and Marrow Transplantation Practice Guidelines and beyond. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2001 ; 392-421.