

## 急性巨核芽球性白血病の犬の1例

外方祐子<sup>1),2)</sup> 林 聡恵<sup>2)</sup> 秋吉秀保<sup>2)</sup> 大橋文人<sup>2)</sup> 玉本智枝<sup>3)</sup>  
望月浩之<sup>3)</sup> 辻本 元<sup>3)</sup> 安田和雄<sup>1)†</sup>

- 1) 兵庫県 開業 (安田動物病院: 〒663-8184 西宮市鳴尾町5-8-12)  
2) 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 (〒598-8531 泉佐野市りんくう往来北1-58)  
3) 東京大学大学院農学生命科学研究科 (〒113-8657 文京区弥生1-1-1)

(2014年2月10日受付・2014年10月31日受理)

## 要 約

12歳、去勢雄の雑種犬が跛行と元気消失を主訴に来院した。血液塗抹では芽球様細胞が観察され、針生検にて骨髓及び脾臓に巨核球様芽球細胞の著しい増殖が認められた。同細胞はフローサイトメトリー (FCM) にて、血小板及び巨核球に発現するCD41/CD61抗原に陽性を示すことから、巨核球系細胞に由来することが示され、本症例は急性巨核芽球性白血病 (AML-M7) と診断された。プレドニゾロン投与により一般状態は改善が認められたものの、貧血及び血小板減少が急速に進行したため、L-アスパラギナーゼ投与及び全血輸血に反応せず、第26病日に死亡した。  
——キーワード: 急性巨核芽球性白血病, 犬, フローサイトメトリー。

-----日獣会誌 68, 182~187 (2015)

急性巨核芽球性白血病 (AML-M7) は急性骨髄性白血病 (AML) に分類されるまれな血液疾患であり、犬では1972年にRudolphら [1] により初めて報告された。この報告以降、いくつかの症例報告 [2-8] がなされているが、現在でも明確な診断基準及び治療法は確立されていない。診断基準に関しては、French-American-British cooperative group は、骨髓の全有核細胞中の30% (WHOガイドラインでは20%) 以上が芽球であることと定義している。しかし、巨核芽球は形態的にリンパ芽球や骨髄芽球に類似していることから、一般的な染色でこれらの芽球を鑑別することはしばしば困難である。そこで、形態学的な分類に加えて、免疫学的表現型を分析するためのフローサイトメトリー (FCM) が用いられるようになってきた [3]。FCMを用いた犬のAML-M7の診断に関する報告は、これまでに8例あるが [3-8]、本邦での報告は初めてである。また、犬のAML-M7は症例数が少ないため、詳細な臨床的知見の集積が必要である。今回、われわれは犬のAML-M7についてFCMを用いて診断し、疾患の経過について考察を加えた。

## 症 例

12歳齢の雑種の去勢雄犬、体重19kgが、跛行及び元気消失を主訴に来院した。身体検査では発熱 (39.5℃) 及び右前肢の跛行が認められ、X線検査では脾臓の腫大及び左肺における直径約2cm大の腫瘤状陰影が観察された。超音波検査では、脾臓は腫大し、その内部には高エコー源性が認められた。

血液学的には、血小板数の減少 (5.7万/μl)、血液生化学的には、CRPの高値 (5.3mg/dl) が認められた。また、血液凝固検査では、PTの軽度延長 (8.9秒) がみられた。

右前肢跛行、肺の腫瘤及び脾腫について精査を行う目的で、第3病日にCT検査並びに頸胸部のMRI検査を実施した。CT検査では、左肺前葉後部に孤立性の腫瘤が認められ、第5-6胸椎間の変形性脊椎症及び第4-5腰椎の脊柱管内左腹側の石灰化領域が観察された。両前肢肩関節における変形性関節症は認められなかった。脾臓では、腫大及び辺縁部における造影増強効果を欠く領域が散見されたが、腫瘤状病変は認められなかった。MRI検査では、第2-3頸椎間で軽度の椎間板突出が認められた。

† 連絡責任者: 安田和雄 (安田動物病院)

〒663-8184 西宮市鳴尾町5-8-12 ☎・FAX 0798-45-2388 E-mail: info@yasuda-vet.com

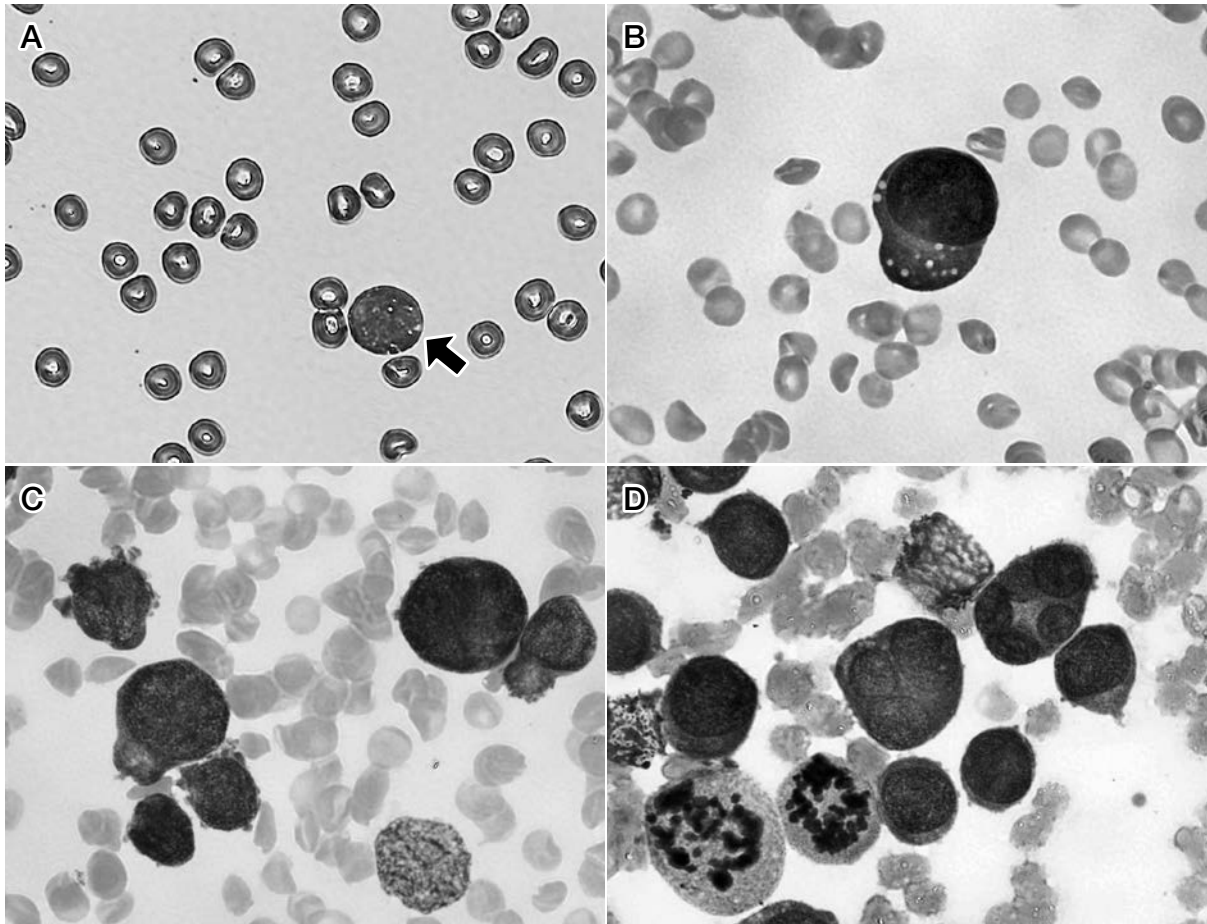


図1 A:末梢血。直径が赤血球の2倍以上の大型で空胞を有する好塩基性の血小板が散見される(矢印)。  
 B:末梢血。末梢血中に認められた巨核芽球。舌状突起を有している。  
 C:骨髄。巨核芽球は末梢血のものよりも細胞質の輪郭が不整で、舌状突起が顕著であり、多核の細胞も認められた。  
 D:脾臓。巨核芽球は骨髄のものよりも多核の細胞が多く、核分裂像も認められた。  
 ライト・ギムザ染色。

第5病日の血液検査(表1)では、血小板はさらに減少(2.4万/ $\mu$ l)を示し、ライト・ギムザ染色による血液塗抹検査では、赤血球の2倍以上の直径で、大型で空胞を有する好塩基性の大型血小板が認められた(図1A)。赤血球、好中球、リンパ球、好酸球及び単球に異常は認められなかったが、異常な形態を示す芽球様細胞が散見された。これらの芽球様細胞は中型～大型の円形細胞で、核には顆粒状の核クロマチン網工及び明瞭な核小体を認め、細胞質は強好塩基性でしばしば空胞が認められた。また、細胞質の輪郭が比較的不整で舌状突起を有した細胞も散見された(図1B)。

第6病日には、右前肢だけでなく両後肢にも跛行が発現した。200mlの新鮮血輸血を行った後、全身麻酔下にて骨髄吸引生検、脾臓の針生検並びに関節穿刺を行った。

骨髄塗抹標本では、末梢血液にみられたものと同様な未分化円形細胞が多数認められ、赤芽球系細胞はほとん

表1 CBCの結果

	単位	検査値	参照値
赤血球	$\times 10^6/\mu$ l	6.13	5.5~7.9
ヘモグロビン	g/dl	14.9	12.0~18.0
PCV	%	43.5	37~55
MCV	fl	70.9	60~77
MCH	g/dl	24.3	30~35.3
MCHC	g/dl	34.2	12~16
血小板	$\times 10^3/\mu$ l	24	150~500
総白血球	/ $\mu$ l	9600	6000~17000
桿状核好中球	/ $\mu$ l	0	0~300
分葉核好中球	/ $\mu$ l	4896	3000~10500
リンパ球	/ $\mu$ l	2496	1000~4800
単球	/ $\mu$ l	864	100~1400
好酸球	/ $\mu$ l	96	100~1200
好塩基球	/ $\mu$ l	0	稀
芽球様細胞	/ $\mu$ l	1248	0

血小板数の低下と芽球様細胞が認められる。

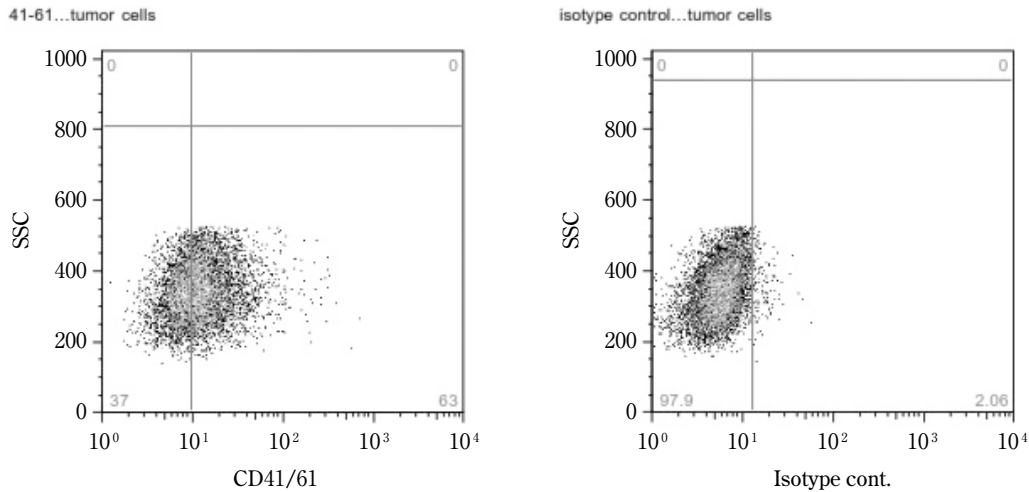


図2 末梢血のフローサイトメトリー  
腫瘍細胞はCD41/61抗体で検出されることからCD41/61を発現している。

表2 ミエログラムの結果

	%		%
前赤芽球	0	単芽球	0
好塩基性赤芽球	0.2	前単球	0
多染性赤芽球	0.2	単球	0.8
正染性赤芽球	0.2	リンパ芽球	0
骨髓芽球	0	リンパ球	6.2
前骨髓球	0.4	巨芽球	0
好中性骨髓球	1.0	前巨核球	0
好中性後骨髓球	1.2	巨核球	0
好中性桿状核球	3.0	形質細胞	0.2
好中性分葉核球	17.4	マクロファージ	0
好酸性骨髓球	0.2	異常芽球様細胞	68.2
好酸性後骨髓球	0.2	ME比	41.3:1
好酸性桿状核球	0.2		
好酸性分葉核球	0		
好塩基性骨髓球	0.2		
好塩基性後骨髓球	0		
好塩基性桿状核球	0		
好塩基性分葉核球	0.2		

芽球比率が30%以上であり、赤芽球及び骨髓球の低形成が認められる。

ど観察されなかった。骨髓の未分化円形細胞は、末梢血でみられたものと比較して、細胞質の輪郭がさらに不整で、舌状突起が明瞭であり、多核の細胞も認められた(図1C)。ミエログラムでは、芽球比率は68.2%であり、赤芽球及び骨髓球の低形成が認められた(表2)。

脾臓の細胞診では、末梢血及び骨髓と同様の未分化円形細胞が多数認められ、骨髓で観察されたものより多核の細胞が多く、核分裂像も認められた(図1D)。

右肩関節、左右膝関節並びに左右手根関節の関節穿刺を実施したが、関節液の異常は認められなかった。

以上のことから、急性巨核芽球性白血病を疑い、その脾臓への転移と仮診断した。

表3 フローサイトメトリーに用いた抗体の一覧

検出抗原	アイソタイプ	標識	ターゲット	結果
CD3	IgG <sub>1</sub>	Biotin/Streptavidin	T細胞	陰性
CD4	IgG <sub>2a</sub>	FITC	ヘルパーT細胞	陰性
CD8α	IgG <sub>1</sub>	PE	細胞障害性T細胞	陰性
CD14	IgG <sub>2a</sub>	FITC	単球	陰性
CD21	IgG <sub>1</sub>	PE	成熟B細胞	陰性
CD34	IgG <sub>1</sub>	PE	造血幹細胞	陰性
CD41/61	IgG <sub>1</sub>	FITC	血小板、巨核球	弱陽性～陽性
CD45	IgG <sub>1</sub>	FITC	白血球	陽性
TCRαβ	IgG <sub>1</sub>	PE	αβT細胞	陰性
TCRγδ	IgG <sub>2a</sub>	FITC	γδT細胞	陰性

末梢血でみられた腫瘍細胞の由来を明らかにするために、第11病日にFCMを実施した。血液検体は以前に報告された方法を用いて末梢血単核細胞を分離し[9]、FCMのLight scatter propertyによって腫瘍細胞分画を同定、解析した。FCMに用いた一次抗体は表3に示す。腫瘍細胞は、T細胞抗原(CD3, CD4, CD8, TCRαβ, TCRγδ)、B細胞抗原(CD21)及び単球/マクロファージあるいは樹状細胞抗原(CD14)、造血前駆細胞抗原(CD34)に陰性であったが、血小板/巨核球抗原(CD41/61)に対して弱陽性から陽性、さらに白血球抗原(CD45)に対し陽性を示した(図2)。以上のことから、本腫瘍は急性巨核芽球性白血病(AML-M7)と診断された。

### 治療及び経過

第6病日からアモキシシリン(22mg/kg, po, bid)

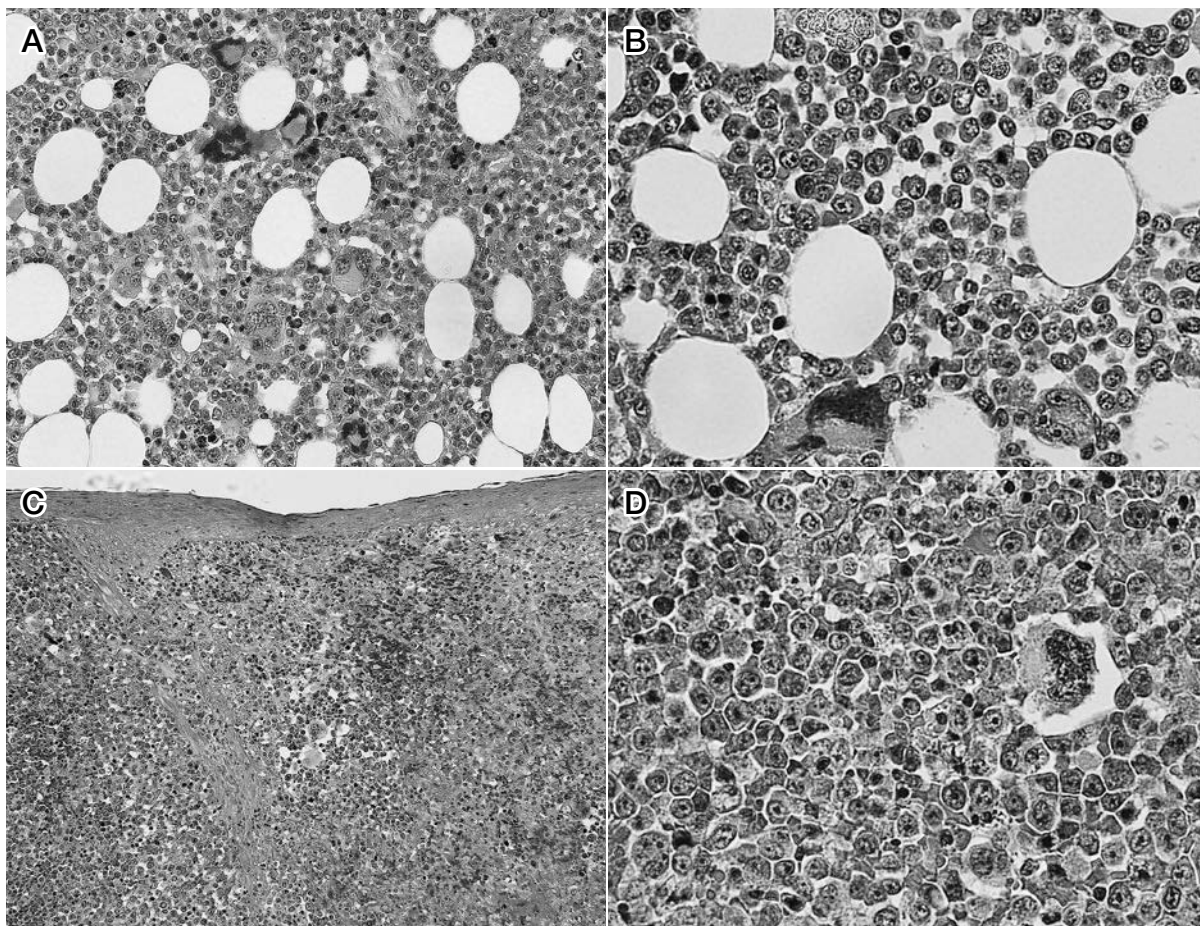


図3 剖検の病理組織所見

- A, B: 骨髄, 異型性の高い芽球様細胞の増殖が認められた.
  - C, D: 脾臓, 骨髄と同様の腫瘍細胞の増殖が認められた.
- HE 染色.

とビタミン K1 (2mg/kg, po, bid), ミソプロストール (5mg/kg, po, bid) 及びプレドニゾロン (40mg/m<sup>2</sup>/day) の投与を開始したところ, 第8病日には跛行が消失し, 血小板数 (3.2万/μl) に軽度ながら改善が認められた. しかし, 第20病日には急速に貧血及び血小板減少が進行したため (PCV 20.3%, Plt 1.2万/μl), 飼い主と相談の上, 犬の急性リンパ球性白血病の治療に準じて, 第22病日にL-アスパラギナーゼ (14,000U/m<sup>2</sup>, im) の投与を行ったが, 貧血及び血小板数の減少には改善はなく, 第23病日に200mlの新鮮血輸血を実施したが, 第26病日にPCV 9.1%, Plt 0万/μl, FDP 21.1μg/ml, Dダイマー 16.5μg/mlを示し, 高度な貧血及びDICのために死亡した.

剖検時の肉眼所見では, 脾臓の腫大及び小結節が観察され, 腹腔内リンパ節にも腫大が認められた. また, 左肺前葉に直径約2cm大の白色結節が観察されたが, その他の臓器には著変は認められなかった. 病理組織学的には, 骨髄に異型性の高い芽球様細胞がび漫性に増殖し, 全有核細胞の約30%以上を占めていた. これらの

異型細胞では, 核は不整な円形で, 明瞭な核小体を複数個有し, 細胞質は大小不同, 淡塩基性を呈した (図3A, B). また, しばしば巨核芽球や巨核球への分化も認められ, 間質には線維増生も伴っていた. 脾臓では, 正常な固有構造が消失し, 骨髄と同様の腫瘍細胞がび漫性に増殖しており, 血管腔内にも集積していた (図3C, D). 腫瘍細胞は, 肺, 肝臓, 腎臓及び腸間膜リンパ節にも観察された. また, 肺では, 左前葉の結節部位で異型上皮細胞が乳頭状及び管腔形成性に増殖し, 同細胞の核は楕円形, 明瞭な核小体を有していた. 左前葉の肺で認められた結節は, 肺腺癌と診断された. また, 肺並びに脾臓の血管には, 硝子血栓が認められた.

#### 考 察

人のAMLでは, 形態学的及び細胞化学的な評価として, French-American-British (FAB) group や National Cancer Institute (NCI) workshop の定義に準じた分類が行われている. 一方, 犬及び猫の急性白血病は, 人の分類を基に the Animal Leukemia Study

Groupが定義した分類法が用いられている [10]. 犬の急性骨髄増殖疾患は、この定義に基づいてAML-M1からM7に分類され、なかでも巨核芽球性白血病 (AML-M7) は巨核芽球系の骨髄増殖性腫瘍として定義されている. AML-M7の形態的な特徴は、細胞質における舌状突起や血小板の剥離断片及び大型化した血小板とされる [5]. さらに、末梢血及び骨髄のどちらかあるいはその両方において30%以上の巨核芽球が認められることもAML-M7の診断根拠とされる [11]. 本症例では、末梢血、骨髄並びに脾臓において、巨核芽球の特徴を示す細胞が認められ、さらに骨髄中の芽球比率は68.2%であったことから、AML-M7と考えられた.

巨核芽球は、形態的にリンパ芽球や骨髄芽球に類似していることから、一般的な染色ではこれらの芽球を鑑別することが困難であることが多い. 本症例でも、形態学的特徴だけに基いた確定診断は困難と考えられたため、人医療では欠かせない検査法となっているFCMを用いた診断を試みた [11]. 巨核球系細胞は、一般的にCD41 (GP II b) 及びCD61 (GP III a) の一方あるいは両方発現することが知られており [7], 本症例でも陽性を示した. 一方、CD45はリンパ球膜の主要構成成分の一つであり、骨髄の白血球前駆細胞にも存在するためAMLの診断に用いられる [3]. CD34は造血幹細胞に発現することが知られているが、すべての芽球でCD34が陽性になるわけではなく [12], 人のAML-M7の症例のうちCD34陰性の割合は26%という報告がある [13]. 本症例では、FCM解析の結果、CD41/61に弱陽性から陽性、CD45に対し陽性、CD34には陰性を示した. これらのことから本症例をAML-M7と確定診断した.

急性巨核芽球性白血病の病態は、巨核球前駆細胞の腫瘍性増殖とそれに伴う正球性正色素性貧血並びに血小板減少症が特徴的である [8]. 貧血は、骨髄が傷害されて2次的に赤芽球系の低形成が生じるためであると考えられており、本症例においても診断当初は貧血が認められなかったものの、徐々に進行し、重度の貧血が死因の一つになったと考える. AML-M7における血小板減少症は、骨髄における血小板産生が低下及び血小板産生不全に起因すると考えられている [5]. 血小板産生不全とは、血小板の成熟過程において巨核球の核が分散し、倍数に分裂増加する際の同期不全であり、それにより巨大な血小板が認められることが報告されている. 本症例においても診断当初から血小板数の減少が認められ、徐々に進行し、血液塗抹上では巨大血小板が認められた. さらにPT及びAPTTの延長も認められ、最終的にFDPとDダイマーの増加も認められたことから、播種性血管内凝固症候群 (DIC) が併発していたと考えられる. 犬のAML-M7にDICが併発例に関する報告はないが、病理

組織学的に肺及び脾臓に硝子血栓が認められていることから、本症例では最終的にDICを併発し、血小板減少の原因並びに死因の一つとなったと推察される.

一般に犬の急性巨核芽球性白血病はきわめて予後不良とされる疾患の一つであり、多くの生存期間は約2週間以内と報告されている [7]. 有効な治療法も確立されておらず、診断後すぐに安楽死されるか、支持療法や緩和治療に限定される症例がほとんどである. 本症例では、緩和療法としてプレドニゾロンを使用したところ、一般状態が改善し、生活の質 (QOL) の向上に一定の効果は得られたものと考えられた. その後、貧血の進行及び血小板の減少は増悪化傾向に転じたことから、さらなる治療法の選択が必要であった. 犬の急性骨髄性白血病に対して有効な化学療法は報告されていないため、飼い主と相談の上、急性リンパ球性白血病に準じたL-アスパラギナーゼの投与を行ったが、治療効果は認められなかった. 犬の急性巨核芽球性白血病に対して高用量のARA-Cを投与し、長期予後の良好であった症例が1例報告されている [7]. 本病態について、今後詳細な臨床像の集積と、さらなる治療法の開発が望まれる.

#### 引用文献

- [1] Rudolph R, Hubner C : Megakaryocytic leukemia in a dog, *Kleintier Praxis*, 17, 9-13 (1972)
- [2] Miyamoto T, Hachimura H, Amimoto A : A case of megakaryoblastic leukemia in a dog, *J Vet Med Sci*, 58, 177-179 (1996)
- [3] Tasca S, Carli E, Caldin M, Menegazzo L, Furlanello T, Gallego LS : Hematologic abnormalities and flow cytometric immunophenotyping results in dogs with gematopoietic neoplasia: 210 cases (2002-2006): *Vet Clin Pathol*, 38, 2-12 (2009)
- [4] Suter SE, Vernau W, Fry MM, London CA : CD34<sup>+</sup>, CD41<sup>+</sup> acute megakaryoblastic leukemia in dog, *Vet Clin Pathol*, 36, 288-292 (2007)
- [5] Ameri M, Wikerson ML, Stockham SL, Almes KM, Patton KM, Jakson T : Acute megakaryoblastic leukemia in a German Shepherd dog, *Vet Clin Pathol*, 39, 39-45 (2010)
- [6] Valentini F, Tasca S, Gavazza A, Lubas G : Use of CD9 and CD61 for the characterization of AML-M7 by flow cytometry in a dog, *Vet Comp Oncol*, 10, 312-318 (2012)
- [7] Willmann M, Müllauer L, Schwendenwein I, Wolfesberger B, Kleiter M, Pagitz M, Hadzijušević E, Shibly S, Reifinger M, Thalhammer JG, Valent P : Chemotherapy in canine acute megakaryoblastic leukemia: a Case Report and review of the literature, *In Vivo*, 23, 911-918 (2009)
- [8] Comazzi S, Gelain ME, Bonfanti U, Roccabianca P : Acute megakaryoblastic leukemia in dogs: A report of three cases and review of the literature, *J Am Anim Hosp Assoc*, 46, 327-335 (2010)

- [9] Goto-Koshino Y, Ohno K, Nakajima M, Mochizuki H, Kanemoto H, Tsujimoto H : A rapid and simple method to obtain canine peripheral blood-derived macrophages, *Immunology*, 73, 773-778 (2011)
- [10] Jain NC, Blue JT, Grindem CB, Havey JW, Kociba GJ, Krehbiel JD, Latimer KS, Raskin RE, Thrall MA, Zinkl JG : Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats, *Vet Clin Pathol*, 20, 63-82 (1991)
- [11] McManus PM : Classification of myeloid neoplasms: a comparative review, *Vet Clin Pathol*, 34, 189-212 (2005)
- [12] Craiq FE, Foon KA : Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms, *Blood*, 111, 3941-3967 (2008)
- [13] Duchayne E, Fenneteau O, Paqes MP, Sainty D, Arnoulet C, Dastuque N, Garand R, Flandrin G : Acute megakaryoblastic leukaemia: A national clinical and biological study of 53 adult and childhood cases by the Groupe Francais d'Hematologie Cellulaire (GFHC): *Leuk Lymphoma*, 44, 49-58 (2003)

---

### Acute Megakaryoblastic Leukemia in a Dog

Yuko MASUKATA<sup>1),2)</sup>, Akiyoshi HAYASHI<sup>2)</sup>, Hideo AKIYOSHI<sup>2)</sup>, Fumihito OHASHI<sup>2)</sup>,  
Chie TAMAMOTO<sup>3)</sup>, Hiroyuki MOCHIZUKI<sup>3)</sup>, Hajime TSUJIMOTO<sup>3)</sup>  
and Kazuo YASUDA<sup>1)†</sup>

1) *Yasuda Animal Hospital, 5-8-12 Naruo-cho, Nishinomiya, 663-8184, Japan*

2) *Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University, 1-58 Rinku-ouraikita, Izumisano, 598-8531, Japan*

3) *Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, 113-8657, Japan*

#### SUMMARY

A 12-year-old male neutered mixed breed dog presented with left forelimb lameness and lethargy. Peripheral blood cytology revealed the presence of blastic cells, and bone marrow and spleen cytopathology showed neoplastic cells that were suspected megakaryocyte-derived cells. Flow cytometry revealed frequent platelet- and megakaryocyte-derived cells that were positive for CD41/61, markers for megakaryocytic precursors. The present case was therefore diagnosed as acute megakaryoblastic leukemia. Although the dog's general condition improved with prednisolone treatment, it developed acute anemia and thrombocytopenia, and subsequently died 26 days after admission, despite L-asparaginase and blood transfusion treatments.

— Key words : acute megakaryoblastic leukemia, dog, flow cytometry.

† *Correspondence to : Kazuo YASUDA (Yasuda Animal Hospital)*

*5-8-12 Naruo-cho, Nishinomiya, 663-8184, Japan*

*TEL · FAX 0798-45-2388 E-mail : info@yasuda-vet.com*

*J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 68, 182 ~ 187 (2015)*