

事例解説

事例1

NさんはT大学医学部附属病院のER部に勤める看護師です。

10月のある日の夕方、引き継ぎのためにナース・ステーションに入ると、皆がテレビの緊急ニュースに見入っていました。茨城県東海村の原子力施設で何か事故があったようです。東海村からの中継や、千葉県放射線医学総合研究所に被害者が搬送される様子から、何か重大な事態が生じたようだと思って取れました。

翌日、被害者の一人がNさんの勤めるT大学病院ER部に搬送されて来ることになりました。部長のM教授から、患者のOさんは8グレイ(Gy)以上という大量の中性子線を浴びたと考えられること、無菌室に収容し、造血幹細胞移植を試みる予定であること、このような症例の治療については世界的に前例が少なく、最善を尽くすが極めて厳しい事態が予測されることなど、簡潔な説明を受けました。

キーワード例

- ☐ 東海村
- ☐ 原子力施設
- ☐ 中性子線
- ☐ 被曝
- ☐ 無菌室
- ☐ 造血幹細胞

学生の皆さんに考えて貰いたかったこと

1. 「東海村臨界事故」って聞いたことがある？
2. 放射線を浴びると身体のどこに傷害が起こるのだろうか？
3. なぜ無菌室に収容することが必要なのだろうか？
4. 無菌室に収容することでどんな利点があるの？
5. 造血幹細胞ってどこにあるの？
6. 血液細胞の分化について知っていることは？

今年度の事例は、まだ皆さんの記憶に新しいと思われる1999年9月30日発生の「東海村臨界事故」の被曝者を採り上げ、造血幹細胞移植とHLA、拒絶反応とGvH病、そして特に**血球貪食症候群**について自習を進めて貰うのが狙いです。

東海村臨界事故は、茨城県東海村の核燃料加工施設「JCO東海事業所」で起こりました。核燃料サイクル開発機構の高速実験炉「常陽」で使用するためのウラン燃料加工作業にあたり、本来用いるべき溶解塔施設を使用せず、ステンレス製のバケツでウラン化合物の硝酸溶液を調製するという違反行為が常態化しており、さらに製品を均一化するための工程でも、溶液を小分けせず、貯塔と呼ばれる細長い容器で攪拌をすることが行われていました。さらに、事故時の作業では臨界を防ぐために「裏マニュアル」に従って用いられていたこの貯塔さえ使用せず、よりずんぐりとした形状の沈殿槽を用いたことで中性子の捕獲が起こり易くなり、臨界状態が生じたのでした。

事例に患者として登場するO氏は、上司と3人で「転換試験棟」における沈殿槽作業を行っていました。O氏が沈殿槽に挿し込んだ漏斗を支え、同僚のS氏がステンレス容器からウラン溶液を注いでいる最中、「パシッ」という音と共にチェレンコフ反応による「青い光」をO氏は見たと言います。放射線の検出を知らせるエリアモニターのブザーが鳴り、別室の上司が

「逃げろ」と叫んだのを聞いたO氏は、管理区域の外にある更衣室まで逃げ込んだところで嘔吐し、意識を失いました(以上、NHK「東海村臨界事故」取材班『朽ちていった命』、新潮文庫、平成18年の記述による)。

事故の詳細については上記の文庫本の他、原子力資料情報室の監修によるホームページ「青い光は警告する！」(<http://www5a.biglobe.ne.jp/~kokokoko/>)、原子力教育を考える会のホームページ「よくわかる原子力」(<http://www.nuketext.org/jco.html>)などに纏められていますので、学生の皆さんはそれらを参照して下さい。

今回のテュートリアルコースは放射線医学がテーマではありませんので、放射線の生物効果に関して詳しい理解を求めるものではありません。但し、以前は我が国の複数の医学部に存在した「放射線基礎医学」などの講座がほとんど無くなってしまった現在、医学部低学年で放射線生物学の基礎を学ぶ機会が失われてしまったことは残念だと思います。

人体が大量の放射線被曝を受けた場合に生じる「急性放射線症候群」には、線量に応じて骨髓症候群、胃腸症候群、中枢神経症候群があるとされます。

急性放射線症候群の病期は、被ばく後の時間的経過によって前駆期・潜伏期・発症期・回復期に分けられ、前駆期は被曝後48時間以内に悪心・嘔吐・下痢・発熱・皮膚の紅斑などの前駆症状が一過性に発現します。これらの症状は、消化管の蠕動運動亢進や消化管ホルモン分泌亢進、皮膚・粘膜の毛細血管拡張および透過性の亢進(放射線による組織傷害に対する炎症反応)、血管運動神経反応の亢進などによるものです。続く潜伏期とは、放射線感受性が高い組織の細胞死に伴う発症期の細胞欠落症状が発現するまでの比較的無症状の期間を言い、被ばく線量が高いほど短くなります。これに続く発症期とは、線量に応じて種々の細胞欠落症候群が発症する時期を言います。

骨髓症候群:

1Gy以上の全身被曝では骨髓症候群が発症します。これは放射線感受性が高い骨髓の造血幹細胞がDNA損傷に伴う細胞死により失われるために、血球が担う生体防御・免疫、止血などの諸機能が低下する病態です。白血球減少症による易感染性や免疫不全症候群、血小板減少症による出血傾向などが生じます。被曝線量4～5Gy以下で骨髓機能が回復する可能性のある場合は、被ばく後1時間以降に嘔吐・微熱、軽度の頭痛などの前駆症状が出現し、2～3週間の潜伏期を経て、出血や紫斑、感染による発熱などの症状が出現します。末梢血の好中球数は被曝線量4Gyではほぼ3週間、2～3Gyではほぼ4週間で、また1Gyでは5週間足らずで最低値となるとされます。

腸症候群:

6Gy以上の全身被曝では、消化管粘膜面から所属リンパ節への細菌移行(bacterial translocation)が起こることが実験的に証明されています。線量が10Gyを超えると、上記の骨髓症候群に加え、水様性下痢や下血などの症状を呈する消化管症候群を発症します。小腸粘膜の絨毛は単層の円柱上皮により覆われており、絨毛基部の増殖帯にある幹細胞の分裂と、絨毛に沿う細胞移動により、3～4日のターンオーバーで新しい細胞と入れ替わっています。粘膜上皮細胞に分化する幹細胞は腸腺窩(クリプト)の基底部にあり、20～30個のクリプト細胞が周辺の2～3個の絨毛の再生を担っています。10～15Gyの被曝があると、この陰窩細胞の分裂・分化は停止し、絨毛は退縮して、バリア機能が低下します。その結果、蠕動障害・吸収障害・下痢が発症し、粘膜の剥落がさらに進行すると消化管出血を生じます。一般に10Gyを超す被ばくでは、なんらかの予防策を講じないと数日以内にこれらの症状が発症するとされます。

7～8Gyを超す被曝では、患者が急性期を乗り切った場合、1～3ヶ月の潜伏期を経て肺障害の初期症状である肺浮腫が出現し、やがて肺線維症へと進行します。10Gyを超す被ばくで、骨髄症候群や消化管症候群をある程度制御できれば、被曝2～3週間後に放射線皮膚障害が臨床上の問題となります。放射線事故での被曝は不均等であることが特徴で、紅斑・脱毛・落屑・水疱形成・潰瘍・壊死などの変化が、身体の異なった部位に線量依存性にさまざまな潜伏期を経て発現します。それ以降の晩期には、毛細血管閉塞などによる組織再生障害が問題となります。

中枢神経症候群：

20Gyを超す高線量の全身被ばくでは、被ばく後早期に意識障害・血圧低下などの中枢神経症状、循環障害に加えて、全身の毛細血管透過性亢進による浮腫・胸腹水の貯留、肺水腫、下痢などを伴う神経血管症候群が発症します。50Gy以上の被ばくでは、直後の激しい前駆症状に引き続いて血管運動失調が起こり、1～2日のうちに死亡するとされます。(以上、前川和彦、千葉 滋：「急性放射線症候群の診断と治療」に基づく)。

これら急性放射線症候群の3段階は、学生の皆さんに基本的知識として身につけていて貰うべきであると思います。

無菌室に収容することの必要性を学生たちは思いつくことが出来たでしょうか？私たちの身体は、普段全く意識することなく多種類の微生物と共存していること、免疫系を含む生体防御系の細胞群が、継続的に体内への微生物侵入と戦いを繰り返していることに気づいて貰う必要があります。

なお、本事例のO氏が受けた被曝線量については、放射線医学総合研究所名誉研究員・電力中央研究所研究顧問である早田 勇博士が末梢血リンパ球の染色体異常頻度を複数の方法によって測定した結果から、7.4～8.3Gy相当と算出されています。

事例2

事故から二日目にストレッチャーで運び込まれた35歳の男性患者Oさんは、はっきりとした意識があり、Nさんに向かって「宜しくお願いします」と声を掛けてきました。外見上は右腕と顔に日焼けのような赤みがある他は元気そうでした。血液検査の結果は、白血球数が22,000/ μ lで、リンパ球はほとんどゼロ、CRPが4.5mg/dl(正常値 0.4mg/dl以下)でした。事故から二日でリンパ球がゼロになっていることに、Nさんは驚きました。

キーワード例

- ☐ 日焼けのような赤み
- ☐ 白血球数 22,000/ μ l
- ☐ 事故から2日でリンパ球はゼロ
- ☐ CRP上昇

学生の皆さんに考えて貰いたかったこと

1. 末梢血の白血球数は正常でどのくらい？
2. そのうち、リンパ球の割合は？
3. 白血球の平均寿命はどのくらいだろうか？
4. リンパ球は本当に死んでしまったのか？
5. Nさんはどうして驚いたのだろうか？
6. CRPって何だい？

ここでは、既にコース第6週(「アレルギーと炎症」)を先取りして「発赤」という炎症の症状、それに炎症の全身反応としてのCRP上昇が出て来ます。これらは、学生の皆さんにとって自習を進め易い内容でしょう。

問題は、末梢血白血球数の変化、特にリンパ球の急激な減少です。

放射線障害によって骨髄や一次リンパ組織におけるリンパ球産生が減少したためと考えますか？それでは被曝から僅か二日でリンパ球がほとんどゼロになるという所見を説明するのは困難です。なぜなら、末梢血を流れているリンパ球の大半は、抗原刺激を受ける前のナイーブなリンパ球、または静止状態のメモリーリンパ球で、その寿命(半減期)は数年から数十年にも及びます。抗原刺激を受けて活性化したばかりのエフェクター細胞は、確かに十数日～数十日の寿命しかありませんが、それでも被曝から2日でゼロになるという程速く失われるものではありません。そもそも、より寿命の短い顆粒球でも血中半減期は6時間～数日程度と言われます。その顆粒球は却って増加しているのに、リンパ球がゼロになっているのはなぜでしょうか？

これは恐らく、被曝によって生じた急性の組織傷害(だから皮膚に炎症反応が生じ、CRPが上昇している)と、生命の危険を伴う激しいストレス反応による血中グルココルチコイド濃度の上昇が一つの原因と考えられます。グルココルチコイドが投与後数時間をピークとして急激な末梢血リンパ球数の減少と顆粒球数の増加を誘導することは実験的にもよく知られており、その際脾臓のリンパ球数は変化せず、骨髄のリンパ球数が増えることがわかっています。放射線標識を用いた古典的な実験の結果でも、グルココルチコイドの投与により、末梢血中のリンパ球が骨髄に移動することが示されています。

勿論、ストレスによって胸腺のTリンパ球前駆細胞に急速なアポトーシスが起きることもよく知られていますが、上記の通りこれだけでは被曝から2日間で末梢血リンパ球数がゼロになるという急激なリンパ球減少症は説明できません。むしろ、上記のような体内でのリンパ球分布の変化(redistribution)を考えに入れるべきでしょう。

事例3

事故から3日目に行われた骨髄検査では、著しい細胞密度の低下があり、残存している細胞の75～90%が成熟顆粒球で、赤芽球はほとんど見えませんでした。また、分裂中期の細胞核を探すと、一つの核あたり1個以上、動原体が二つ以上ある染色体が見られ、核型の決定は不可能でした。

末梢血の白血球数が急激に減少し始め、5日目には5,000/ μ l以下となったので、HLAの遺伝子型がA, B, C, DRについて完全一致した妹さんから、末梢血幹細胞移植を行うことになりました。

キーワード例

- ☐ 骨髄検査
- ☐ 赤芽球
- ☐ 分裂中期
- ☐ 染色体
- ☐ 核形
- ☐ HLA
- ☐ 末梢血幹細胞

学生の皆さんに考えて貰いたかったこと

1. 骨髄検査って、どのようにして行うのだろうか？
2. 染色体が見えるのは細胞分裂のどの段階？
3. 動原体が二つある染色体って正常に存在するの？
4. HLAって何だい？
5. どうして移植をする時にHLAを調べるの？
6. 造血幹細胞って、骨髄にあるんじゃないのかい？

O氏には急性放射線障害による骨髄症候群の症状として、末梢血白血球数の急激な減少が起こってきました。また骨髄の検査で細胞密度の低下と赤芽球の減少が認められています。これは、放射線障害により造血幹細胞のDNAに損傷を生じ、その分裂能力が低下したためです。実際、染色体検査では大半の染色体にstrand breakが生じ、二動原体やリング染色体が多数出来て、核形の決定が不可能な状況でした。逆にこのような染色体の変化から、被曝線量が推定できることは事例2の解説に述べた通りです。

骨髄に存在する多能性造血幹細胞はおおよそ5～10回の分裂の間に赤芽球系にコミットした前駆細胞に分化し、BFU-eは6回程度の分裂でCFU-eに、さらに3～4回の分裂で形態的に明瞭な赤芽球に分化しますから、最終的に一つの造血幹細胞がおおよそ $2^{15} = 30,000$ 個程度の赤血球を産み出すと考えられます(須田年生:『血液幹細胞の運命』羊土社, 1992)。ヒトの赤血球の半減期は約120日とされ、末梢血の赤血球総数は $5 \times 10^6 / \mu\text{l} \times 5 \text{ l} = 2.5 \times 10^{13}$ ですから、一日に産生されるべき赤血球の数は 10^{11} 以上のはずです。ヒト細胞の分裂速度は最大でも1日3回程度ですから、多能性造血幹細胞の数はそれが全て赤血球に分化するとしても 3×10^8 以上を必要とします。放射線障害によって多能性幹細胞の半数が失われただけでも急速な造血障害が生じることが、これから明らかでしょう。ましてや、O氏の場合はほとんど全ての造血幹細胞がDNAに損傷を受けて分裂能力を失っていたと考えられます。半減期の短い顆粒球が急速に末梢血から失われていったのは当然です。

造血幹細胞移植には骨髄移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植があります

(<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/mukin/sct.htm>)。また、骨髄移植については、以前に事例に採り上げたことがありますので、そのHPを参照させて下さい
(<http://www.med.kindai.ac.jp/immuno/tut2004b.htm#4>)。

造血幹細胞移植のうち、末梢血幹細胞移植は、ドナーに予めG-CSFなどの造血促進因子を大量投与して幹細胞の頻度を増やすことによりドナーの負担を軽減できる、麻酔が不要でその副作用がない、骨髄移植に較べレシipientの造血能回復が早いなどの利点がある一方、後に問題とするGvH病の発症頻度が高い、G-CSFの大量投与によりドナーに脾腫や心筋梗塞・脳梗塞が生じることがあるなどの問題点も存在します。

ヒトの主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)であるHLAの機能と意義については、このコースの第2週の講義を通じて、十分に学びます。ここでは、次週の講義への導入として、学生たちにHLAを予習させることが主眼です。

事例4

事故から6日目と7日目に、それぞれおよそ 1.8×10^8 のCD34陽性細胞が妹さんの末梢血からOさんへと移入されました。免疫抑制薬としてタクロリムスが点滴静注されましたが、NさんはHLAが完全一致した骨髓移植なのに、どうして免疫抑制薬を使うのだろうかと思いました。

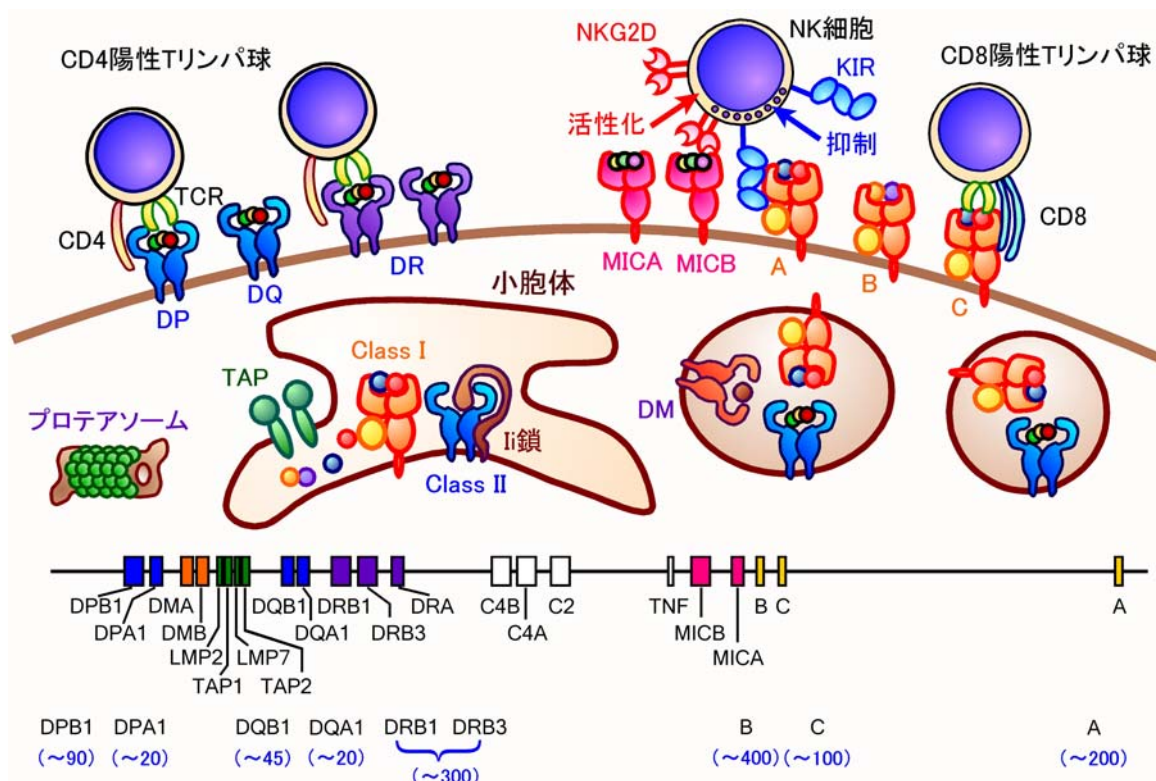
キーワード例

- ☐ ドナーは妹
- ☐ CD34陽性細胞
- ☐ 免疫抑制薬
- ☐ タクロリムス
- ☐ HLA完全一致

学生の皆さんに考えて貰いたかったこと

1. どうしてCD34陽性細胞を集めるのだろうか？
2. レシピエントのOさんは大量の放射線を浴びて末梢血のリンパ球はゼロになっているのに、どうして免疫抑制薬を使う必要があるのだろうか？
3. ましてやHLAは完全一致しているのに免疫抑制が必要なのか？
4. タクロリムスの作用機構は？
5. 兄妹でHLAが完全一致する確率はどのくらいなの？
6. HLAが完全一致していれば、拒絶反応は絶対に起こらないのだろうか？

造血幹細胞移植の方法として、ここではドナーへの負担がより少なく、造血機能の回復も早い末梢血幹細胞移植が選ばれました。ドナーとなったのは、レシピエントであるO氏とHLAが完全に一致する妹さんです。MHC遺伝子座には、細胞内及び細胞外由来のタンパク質



抗原の分解によって生じたペプチドをTリンパ球抗原受容体に提示するclass Iおよびclass II分子をコードする遺伝子座が、それぞれ重複して存在しています(MHC遺伝子産物の多重性)。各class I及びclass II遺伝子座には、ヒトという種を通じてそれぞれ数十から数百の対立遺伝子が存在しますが(但し、class IIのDRA遺伝子座だけは、ヒト種を通じてほとんど一つの遺伝子型しか無いと言って良い)、第6染色体上の極めて狭い領域にこれらの遺伝子座がかたまって存在しているため、class Iおよびclass II遺伝子座の特定の対立遺伝子の組が互いに強く連鎖する傾向があります(MHC遺伝子型間の連鎖不平衡)。つまり、特定のDRB遺伝子型とB遺伝子型を持つ個体は、自動的にある特定のC及びA遺伝子型を持つ確率が高いと言うことになります。このような連鎖不平衡のため、HLA遺伝子型は複数のclass Iおよびclass II遺伝子型の組を一つに纏めて、あたかも一つの遺伝子座であるかのように取り扱っても大きな間違いはないと言うことになります。これをHLAのハプロタイプと言います。

この考え方に立てば、兄弟間でも父親由来のHLA遺伝子座と母親由来のそれの間にほとんど組換えは起こらないと考えることが出来、理論的に1/4の確率でHLAの完全一致が生じます。それならば、HLAが完全一致する兄妹間では移植片の拒絶は全く起こらないのでしょうか？一卵性双生児と同じと考えて良いのでしょうか？

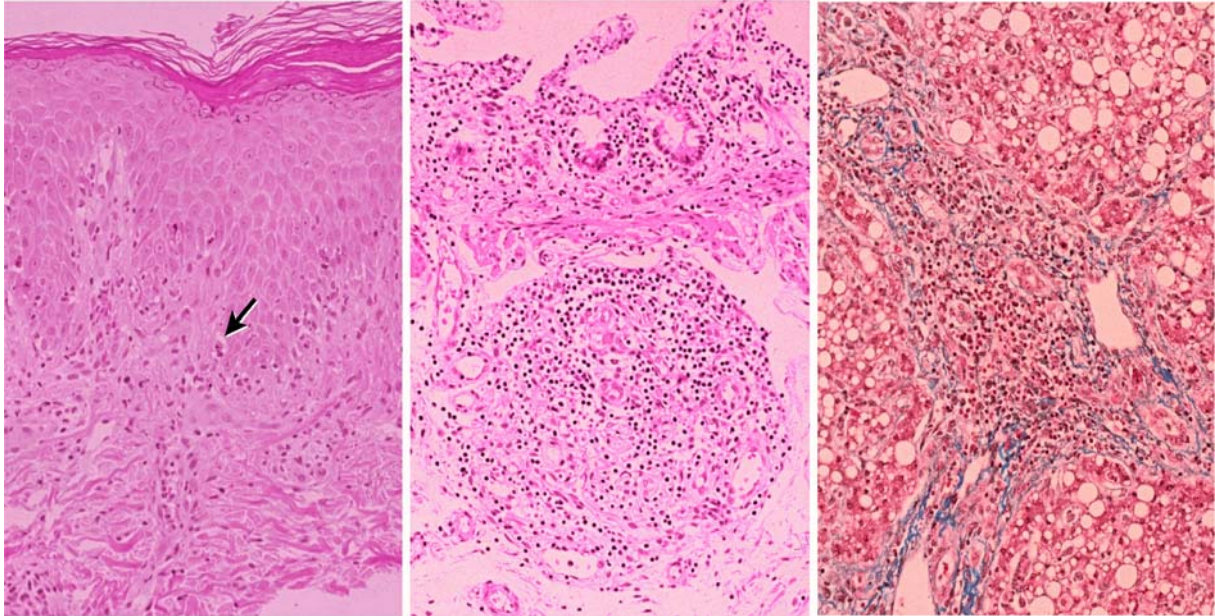
残念ながらそうとは言えません。なぜならば、ヒトという種を通じて多型の存在する遺伝子は、HLAだけではないからです。Oさんとその妹は、血液型が違っても知れません。ABO式血液型を決定しているのは糖脂質や糖タンパク質の末端糖鎖の構造を決定している糖転移酵素ですから、血液型が違えると言うことは、異なる酵素の遺伝子が発現しているということです。そもそも、Oさんは男性で妹さんは女性ですから、Oさんの細胞には妹さんには絶対に発現していないY染色体の遺伝子産物が存在します。その他、恐らく数千の遺伝子座について、Oさんと妹さんの間に遺伝子多型が存在することでしょう。これらを「マイナー組織適合抗原」と言います。HLAが一致している条件下では、ドナーとレシピエントの間でアミノ酸配列が異なるマイナー抗原由来のペプチドが、両者に共通のMHC class I またはclass II分子によって提示されることになり、Tリンパ球から見るとマイナー抗原の異なる細胞はあたかもウイルス感染細胞のように排除の対象となることになります。

末梢血幹細胞移植においては、CD34陽性細胞を十分に濃縮しても、ドナー由来成熟Tリンパ球の混入を完全にゼロにすることは出来ません。そのため、移植片中にごく僅か混入していた妹さんの成熟Tリンパ球の中に、Oさんの体細胞が発現する遺伝子産物を非自己として認識するものが多数含まれている可能性が生じます。その結果起こるのが**移植片対宿主病 (Graft-versus-host disease: GvHD)**です。

GvH病は拒絶反応とは全く異なります。拒絶反応はレシピエントのTリンパ球が移植片中のドナー由来遺伝子産物を認識し、これを排除するものです。これに対して、GvH反応はドナーに由来する成熟Tリンパ球がレシピエント組織の遺伝子産物を非自己と認識し、これに対して細胞傷害反応を起こすものです。レシピエントが正常の免疫応答能を持っていれば、通常はレシピエントのリンパ球数が移植片中のそれを上回りますから、ドナー由来のリンパ球に対しても拒絶反応が起こり、ドナーのリンパ球は排除されます。しかし、臓器移植や骨髄移植が行われる場合は、拒絶反応を抑制するため免疫抑制や、骨髄にドナー由来細胞定着の場を作るための放射線照射などが行われます。この条件下では、レシピエントのリンパ球はドナー由来の成熟リンパ球を排除できません。その状況下でドナーからある程度以上の数の成熟リンパ球が移入されれば、これがレシピエントの遺伝子産物を認識して活性化し、GvH反応が生じます。つまり、GvH病発症の前提条件は、レシピエントが免疫抑制状態にあることです。

GvH反応に伴って起こる病態であるGvH病には、急性GvH病と慢性GvH病を区別します。一般に移植後100日以内に発症するGvH病を急性型、それ以降に発症するものを慢性型と

言います。急性GvH病ではドナー由来のリンパ球が表皮細胞、消化管粘膜上皮細胞、肝臓の胆管上皮細胞、及びリンパ組織の細胞を傷害する結果、組織学的にこれらの細胞にアポトーシスを生じ、皮膚の紅斑・水疱、ビリルビン値の上昇、激しい下痢とこれに伴う低タンパク血症などを生じます。一方、慢性GvH病では皮膚病変が真皮層の線維化、消化管病変が潰瘍形成や粘膜下層の線維化へと進行し、さらに閉塞性気管支炎、唾液腺炎、筋膜炎、脂肪織炎などの多臓器・組織傷害が生じます(「自己免疫病」との類似に注意)。



GvH病の病理組織所見 左から表皮・真皮境界層へのリンパ球浸潤と表皮基底細胞のアポトーシス、消化管粘膜絨毛の萎縮と上皮の剥落、及び粘膜リンパ槽値の著しい萎縮、肝Glisson鞘へのリンパ球浸潤と胆管の破壊

ドナー組織に成熟Tリンパ球が混入しやすい末梢血幹細胞移植では、GvH病の予防が特に重要で、造血幹細胞が生着する場を作ることより、GvH病をいかに防ぐかが移植の成否を左右すると言われます。この事例で移植後にタクロリムスが投与されているのは、拒絶反応を抑制するためではなく、GvH病を予防するためなのです。

タクロリムス(FK506)はTリンパ球抗原受容体からのシグナル伝達を阻害する免疫抑制薬です。この薬物の作用機序については、講義でも触れますし、テュートリアル室に備え付けの「医学生のための薬理学」にも記載してあります。

事例5

造血幹細胞移植の9日後には、移植直後にほとんどゼロだった末梢血の白血球数が5,000/ μ lに増加し、骨髄の細胞密度は50%に回復していました。有核細胞のうち15～20%が赤芽球、65-80%が顆粒球系の前駆細胞で、染色体解析の結果は46, XXでした。

移植21日目に行った蛍光 *in situ* hybridizationによる性染色体の検出では、98%の細胞がXXでしたが、ごく少数XYの細胞があり、それらは全てCD3陽性のTリンパ球でした。

キーワード例

- ☐ 末梢血白血球数の増加
- ☐ 骨髄の細胞密度
- ☐ 染色体検査はXX
- ☐ *in situ* hybridization
- ☐ ごく少数の細胞がXY
- ☐ CD34陽性細胞

学生皆さんに考えて貰いたかったこと

1. 染色体検査の結果は何を意味しているのだろうか?
2. *in situ* hybridizationとはどのような技法?
3. 核型がXYであるCD3陽性細胞の由来は?

移植した妹由来の造血幹細胞は少なくとも一旦生着したようで、骨髄の細胞数は増加し、末梢血の白血球数も回復してきました。染色体検査の結果は、骨髄の造血細胞が妹のものと入れ替わったことを示しています。

しかし、通常の染色体検査は分裂中期の細胞を探してその染色体を形態から分類し、核型を決定するものですから、多数の細胞を調べるのは不可能です。そのような場合に威力を発揮するのが*in situ* hybridizationで、特に蛍光*in situ* hybridization (FISH)法は、特定の遺伝子を持つ染色体の同定や、特定の染色体の有無の判定に極めて有用です。性染色体の有無については、X染色体あるいはY染色体特異的な蛍光プローブを用いることにより、間期核で性染色体数を数えることが出来、多数の核からごく僅かのキメリズムを見出すことが出来ます。

ここでは、FISHの結果骨髄にごく少数のY染色体陽性細胞が見出されました。しかも、それらのY染色体陽性細胞は、全てCD3陽性T細胞だったと言います。これの意味するところは何でしょうか?

先週の事例2でも解説しましたが、ヒト末梢組織中のリンパ球には、極めて長命の細胞が混じっています。ナイーブなTリンパ球は抗原刺激を受けて活性化されるまで、血液と全身の二次リンパ組織の間を往き来して(リンパ球再循環)、自らの持つTリンパ球抗原受容体で認識可能な抗原ペプチドを提示する樹状細胞との接触を待っています。一旦活性化されたTリンパ球は多数のエフェクター細胞と少数のメモリー細胞に分化します。エフェクター細胞に分化した細胞の寿命は短く、再活性化により数日程度でアポトーシスに陥るものと考えられます(そうでなければ、エフェクター細胞由来サイトカインの過剰状態が簡単に生じてしまいます)。一方、メモリー細胞に分化した細胞は、静止状態のまま十数年から数十年生きていると考えられます。

急性放射線障害で死滅するのは、分裂増殖を行っている細胞です。DNAに傷が生じ、染色体が切れたり、異常な繋がり(二動原体やリング染色体)が生じたりするのですから、娘細胞への遺伝子配分が正常に出来ず、分裂を続けられないのは当然です。しかし、静止状態

にある細胞はDNAに傷があってもすぐに死滅しなければいけない理由はありません。即ち、末梢リンパ組織や骨髄に存在するナイーブリンパ球やメモリー細胞は、急性放射線障害の後もそのまま生き残っている可能性がある訳です。検出されたY染色体陽性のCD3陽性細胞とは、そのような細胞ではないでしょうか？

事例6

事故から15日目に消化管の内視鏡検査が行われました。検査を行った消化器内科の医師は、回腸も結腸も、粘膜の上皮細胞は良く保たれており、色も正常のように見えると、意外そうな顔で言っていました。

ところが、事故の26日後から激しい下痢が始まり、一日に1,000mlを超える体液が消化管から失われるようになりました。26日目の内視鏡検査では回腸や結腸で粘膜のひだが失われ、結腸には多数の出血点が見えるということでした。元々一部に紅斑のあった皮膚には、全身で多数の水疱が生じてきました。また、血清のビリルビン値も上昇してきました。

M教授は1,000mgの糖質コルチコイドを3日間続けて点滴静注する、「パルス療法」を指示しました。

キーワード例

- ☐ 内視鏡検査
- ☐ 以外そうな顔
- ☐ 下痢
- ☐ 体液の漏出
- ☐ 消化管からの出血
- ☐ 全身の皮膚の水疱
- ☐ ビリルビン値上昇
- ☐ ステロイドパルス療法

学生の皆さんに考えて貰いたかったこと

1. 消化器内科の医師は、何を意外に感じたのだろうか？
2. 15日目まで保たれていた消化管の粘膜が、26日目に傷害を受けていたのは何故だろうか？
3. 下痢の原因は？
4. 皮膚の水疱は何を意味するか？
5. 事例2では右腕と顔に「日焼け」のような赤みがあったと言うが、紅斑は全身に生じたのだろうか？水疱は何故全身に出来たのか？
6. ステロイドのパルス療法を指示したM教授は、何を考えてそうしたのだろうか？

事例2の解説に述べた通り、急性放射線障害における腸症候群は10Gy以上の被曝で生じ、数日間で消化管粘膜上皮が傷害されて激しい下痢が起こります。ところが、Oさんの場合は、15日目の内視鏡検査で回腸や結腸の粘膜上皮は保たれており、下痢が始まったのは被曝26日以降です。これはどう考えたらいいのでしょうか？

実際の治療チームも、これが急性放射線障害によるものか、GvH病によるものか判断に苦慮したようです。通常患者であれば、消化管粘膜や皮膚のバイオプシーを行い、そこに(ドナー由来の)リンパ球浸潤と上皮細胞のアポトーシスがあるかどうかを判断の根拠と出来ます。しかし、Oさんの場合、消化管のバイオプシーを行えばそこから出血や感染が起こる可能性があり、皮膚も全体が水疱形成状態で、とてもバイオプシーに踏み切ることが出来ませんでした。

これらの皮膚・粘膜病変が線量の関係から少し遅れて起こった急性放射線障害であるのか、GvH病であるのかは、確定は出来ません。しかし、蛋白漏出性の下痢、消化管粘膜の萎縮と出血、皮膚の紅斑と水疱、それにビリルビン値の上昇は、全て急性GvH病の診断基準に合致します。だからこそ、主治医のM教授はステロイドパルス療法の実施を決断した訳

です。

剖検時の組織像からGvHの有無を判定することも、矢張り困難であると思います。しかし、剖検所見を記載した論文を見ると消化管粘膜上皮の広範な脱落と共に、粘膜固有層の線維化が記載されており、ビリルビン値の上昇と共にGvH病と考えることも可能な所見です。逆に、ビリルビン値の上昇を急性放射線障害だけで説明することは出来ないと思います(勿論、免疫抑制に伴って上向性の胆道感染症などが起こっていた可能性はあります)。

事例7

末梢血幹細胞移植から49日目、末梢血白血球数が突然2,700/ μ lに減少し、移植65日目には1,000/ μ l以下に低下しました。また、同じ頃に激しい消化管出血が始まり、1日に1,000ml前後の下血が見られるようになりました。

移植55日目の骨髓検査では赤芽球系・顆粒球系の造血細胞成分が著しく減少し、マクロファージ系細胞による血球貪食像と広範なヘモジデリンの沈着が見られるということでした。「血球貪食症候群」という言葉を初めて聞いたNさんは、マクロファージが自分の血球を食べるというのはどういうことだろうかと思いました。

キーワード例

- ☐ 末梢血白血球数の突然の減少
- ☐ 消化管出血
- ☐ 造血細胞の減少
- ☐ ヘモジデリン
- ☐ 血球貪食症候群
- ☐ マクロファージが自己細胞を食べる

学生の皆さんに考えて貰いたかったこと

1. 一旦生着した造血幹細胞がどうして消えていったのだろうか？
2. 消化管出血の原因は何だろうか？
3. ヘモジデリンって何？
4. 「血球貪食症候群」とはどのようなものだろうか？
5. もともと、血球はマクロファージが貪食処理しているものではないの？

今回の事例で一番考えて貰いたかったのは、この「血球貪食症候群」です。

この事例を扱ったNHK「東海村臨界事故」取材班の『朽ちていった命』では、「原因不明の血球貪食症候群」と記載され、当時の主治医たちもその理解に苦しんだようです。

現在では血球貪食症候群について、少なくともその細胞レベルでの「原因」は明らかです。しかし、そのことと、この事例で何故血球貪食症候群が生じたかという病態の理解とは全く別問題になります。

血球貪食症候群 (Hemophagocytic syndrome) は、マクロファージの異常活性化によりその貪食能が亢進し、全ての系統の血球が過剰に貪食・処理される結果汎血球減少症を生じ、貧血・顆粒球減少症、及び血小板減少症に伴って、高フェリチン血症、発熱・肝脾腫・黄疸、高脂血症、時には皮疹やDICを合併する病態を言います。大部分は二次性で、ウイルス感染症、特にEBウイルスやサイトメガロウイルス感染、悪性腫瘍、自己免疫疾患などを背景に生じますが、一部は家族性で、遺伝子異常が原因になります。

血球貪食症候群の病因・病態が明らかとなったのは、家族性血球貪食症候群 (Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: FHLH) の遺伝子解析からです。FHLHには複数の家系があり、それぞれ原因遺伝子は異なっていますが、共通しているのはそれらの遺伝子が何れも、ナチュラルキラー細胞やCD8陽性細胞傷害性Tリンパ球 (cytotoxic T-lymphocyte: CTL) からの細胞傷害分子パーフォリンの分泌に関わっているということです。即ち、原因遺伝子の一つはパーフォリンをコードする *Perf1* そのものの変異であり、他の原因遺伝子もパーフォリン含有顆粒の細胞膜との融合に関与するシンタキシン11の遺伝子 (*Stx11*) など、パーフォリンの分泌と標的細胞傷害に関わる分子の異常でした。

NK細胞やCTLは、細胞表面の受容体を介してウイルス感染細胞や同種異系細胞を認識し、活性化してパーフォリンを放出、標的細胞のアポトーシスを誘導します。この細胞傷害機構に異常があると、NK細胞やCTLは標的細胞を排除することが出来ず、ウイルス感染細胞や同種異型細胞などによる抗原刺激が持続するため、NK細胞やCTLを活性化する方向の免疫反応、即ちIFN- γ の産生によるTh1タイプの反応が持続します。この条件下では、過剰なIFN- γ によりマクロファージの持続的かつ過剰な活性化が起こり、活性化されたマクロファージは本来貪食すべき老廃・傷害血球だけでなく、正常の血球までも貪食するようになります。過剰な血球貪食の結果汎血球減少が起こり、細胞膜由来の脂質の分解による高脂血症、赤血球の分解による高フェリチン血症と造血組織へのヘモジデリン沈着、骨髓における血球貪食像を生じます。

家族性でない血球貪食症候群でも、サイトカイン過剰状態がマクロファージの異常活性化を招く病態は同じです。持続性ウイルス感染症や悪性腫瘍の存在が免疫系の持続的活性化を起こしたり、自己免疫病の存在が自己抗原による免疫系細胞の持続的刺激の原因になったりします。

それでは、本事例におけるサイトカイン過剰状態の原因は何でしょうか？

EBウイルスの再活性化やサイトメガロウイルスなど、ウイルス感染が引き金となる可能性があります。ありますが、実はこの事例に関しては全経過を通じてPCR法による主要なウイルス・細菌・真菌の検出が行われており、少なくとも血球貪食症候群の原因として知られているようなウイルスの感染(または持続活性化)はありませんでした。また、悪性腫瘍の存在も、剖検では見出されていません。矢張り、一番考えられる原因はGvH反応だと思います。

実は宮澤は本事例とよく似た、GvH病の症例を経験したことがあります(当時の医学部の学生に解析をさせ、英文論文を発表しました)。その事例は、再生不良性貧血の男児でしたが、やはりHLA完全一致の姉から骨髓移植が行われました。本事例と全く同じく、移植した造血幹細胞は一旦生着し、骨髓の細胞密度も末梢血血球数も回復しましたが、移植3ヶ月後頃から骨髓細胞の分化能力が低下し、汎血球減少症を生じて剖検時の骨髓はマクロファージ系細胞で満たされ、ヘモジデリンの沈着が目立ちました。この男児例では明瞭なGvH病が起こっており、皮膚の紅斑部にはTリンパ

球の浸潤と表皮細胞のアポトーシスが、消化管粘膜には絨毛の萎縮と上皮の剥落、及び粘膜固有層へのリンパ球浸潤があり、肝臓はGlisson鞘にリンパ球が浸潤して細胆管が破壊されていました。当時は血球貪食症候群に関する知識がなく、その目で臨床データを解析することは出来ませんでしたが、少なくともGvH病に伴うリンパ球の持続活性化がマクロファージ系細胞の増速と活性化を引き起こし、これが汎血球減少症の原因となっていたことは明らかです。

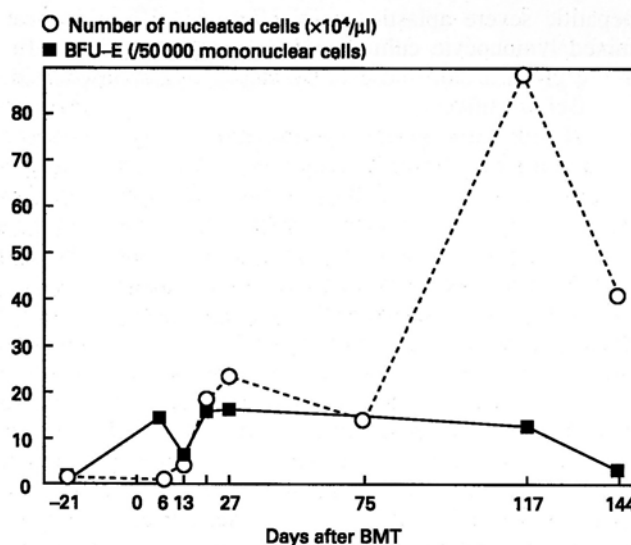


Figure 1 Changes in the number of nucleated cells (○) and the frequency of erythroid burst-forming units (■) in the patient's bone marrow.

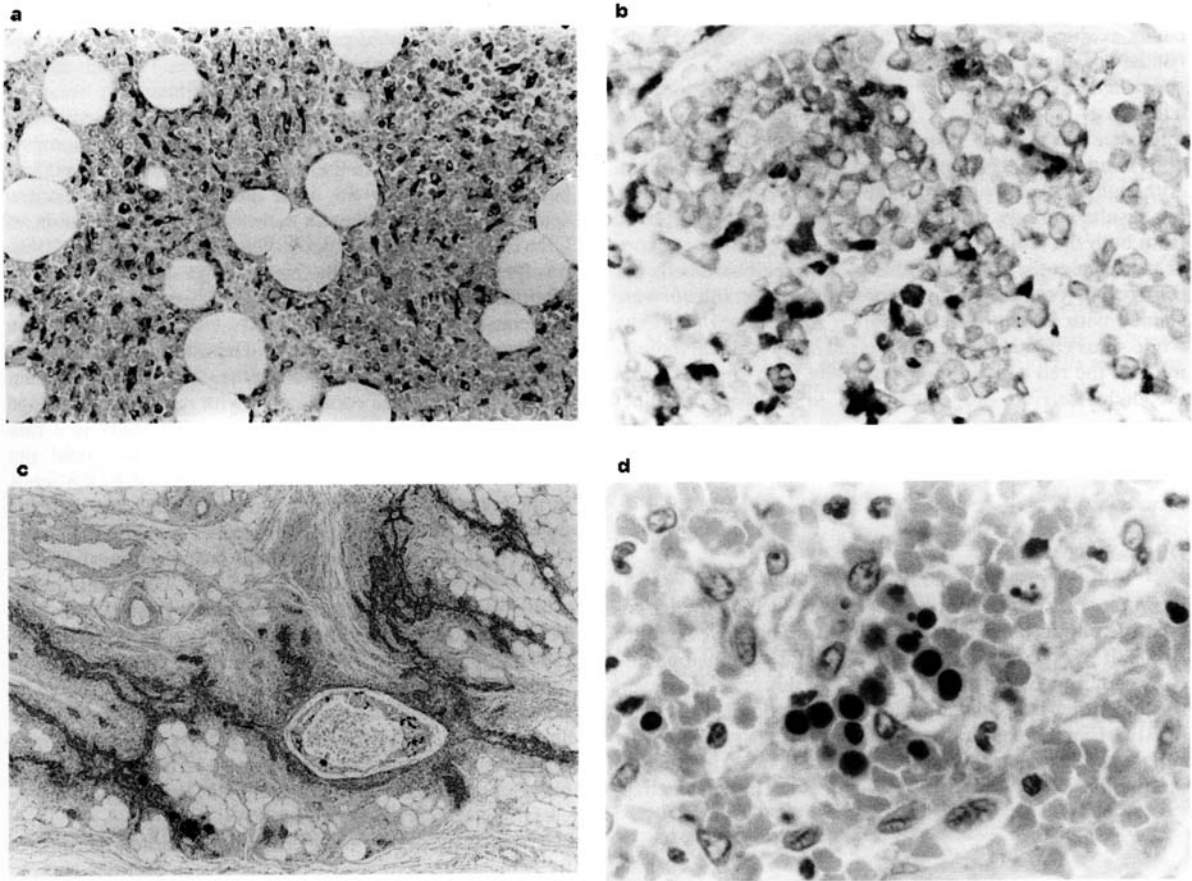


Figure 2 (a) Immunohistochemical demonstration of CD68-positive cells in the bone marrow. Avidin-biotinylated peroxidase complex (ABC) method, $\times 108$. (b) A higher magnification ($\times 324$) reveals that most of the round mononuclear cells are CD68-positive, in addition to macrophages that are more intensely stained with the same antibody. (c) Immunohistochemical staining of epithelial components in the patient's thymus with anti-cytokeratin monoclonal antibody. Note the branching strands of epithelial cells with a cystic change in the center. ABC method, $\times 21$. (d) A focus of erythropoiesis in the red pulp of the patient's spleen. Hematoxylin and eosin, $\times 324$.

今回の事例は、全く同じくHLA完全一致の妹から造血幹細胞移植が行われていますが、HLA完全一致の同胞からの移植が、GvH病を引き起こす可能性と事例は上記の通りです。また、この事例の消化管障害や皮膚所見、それに肝障害の所見はGvH病に一致します。さらに、GvH病によるサイトカイン過剰産生がマクロファージの活性化を引き起こすことも上記の症例で見た通りですから、これが血球貪食症候群の原因であると考えer根拠は十分にあると言えるでしょう。

さらに言うならば、骨髓細胞のFISHでY染色体を持つCD3陽性細胞が少数見られたことも見逃せません。それらレシピエント由来と考えられるTリンパ球が、ドナーの抗原に反応してサイトカインを産生していた可能性も否定は出来ないのです。レシピエントの細胞は染色体DNAが破壊されて活性化できない筈ではと思うかも知れませんが、実はリンパ球の活性化は必ずしも細胞分裂を伴うものではありません。ナイーブTリンパ球が最初に活性化する時には分裂してクローンを増やしますが、一旦活性化して生じたメモリーT細胞は、T細胞抗原受容体からのシグナルが入れば、分裂することなく数時間以内にサイトカインを産生します。つまり、骨髓に見出されたY染色体を持つCD3陽性細胞がもしもメモリーT細胞であれば、それらがほとんど分裂しないでサイトカイン過剰産生に関与している可能性も考えられる訳です。

事例8

幹細胞移植から50日を過ぎる頃からOさんは貧血がひどくなり、赤血球と血小板の輸注が繰り返されました。55日目に心停止の発作を起こし、救命措置で一旦回復しましたが、尿が全く出なくなり、持続的血液濾過透析装置が装着されました。また、GOT 3,310 IU/l、GPT 1,065 IU/lと肝機能も悪化し、意識レベルが急激に低下しました。その後何回かショック状態を起こし、被曝82日目に永眠されました。

剖検の結果、骨髄にはマクロファージ系細胞が増加しており、血球貪食像が目立つことのでした。また、表皮と消化管の粘膜上皮はほぼ完全に失われており、一部に核の形が異常な上皮細胞の再生像が見られたと言うことでした。

キーワード例

- ☐ 貧血
- ☐ 乏尿・無尿
- ☐ 血液濾過透析
- ☐ 肝機能
- ☐ 剖検
- ☐ 消化管粘膜上皮の再生

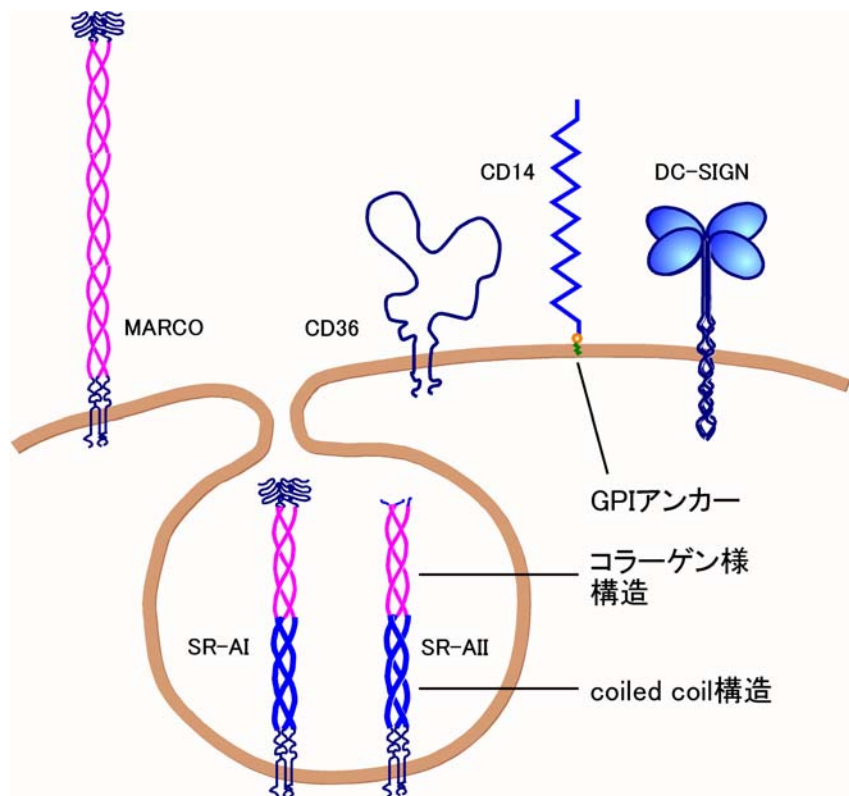
事例の提示は今回で終わり、金曜日は討論と纏めだけに使います。

この事例の病態理解については、前回までの解説に十分述べてきた積もりですが、最後にマクロファージによる血球認識と貪食の機構について少し触れます。

マクロファージは元々生理的機能として老廃血球やアポトーシス細胞、それに酸化リポタンパク質の貪食除去を行っています。マクロファージはこれに関わる複数の細胞表面受容体を発現していますが(右の図)、老廃赤血球やアポトーシス細胞の認識・除去に関わる主要な受容体はCD14です。実際、CD14を欠くマクロファージ

は老廃赤血球やアポトーシスに陥った細胞を貪食出来ないことが証明されています。

それでは、新しく健常な赤血球と老廃赤血球の区別はどのように行われているのでしょうか？それに関わる赤血球側の構造が、細胞膜におけるアミノリン脂質・フォスファチジルセリン(PS)の不均衡分布だと考えられます。即ち、健常な赤血球ではPSは脂質二重層の内側と外側に不均等に分布しており、外側にはごく僅かしか露出していません(細胞あたり検出



可能部位数として、表面に300ヶ所程度)。ところが、カルシウムイオノフォアで赤血球を処理するとこの数が細胞あたり30,000にも上昇し、鎌状赤血球貧血症の赤血球でも12,000～13,000に増加していました。また、細胞が小型化し、密度が高まった老化した赤血球画分は、「新鮮」と考えられる赤血球画分に較べて表面により多くのPSを発現していました。

これらのことから、マクロファージは血球の老化を細胞膜のPSの分布からCD14によって認識し、脾臓や肝臓で老廃赤血球の処理が行われているものと考えられます。サイトカインによる持続的なマクロファージ活性化は、この認識の閾値を下げ、本来は貪食すべきでないまだ新しい血球も、激しい貪食の対象としてしまうものと考えられます。

参考文献

この事例の症例報告

Chiba, S. *et al.* Transplantation for accidental acute high-dose total body neutron- and γ -irradiation exposure. ***Bone Marrow Transplant.* 29:** 935-939, 2002.

Igaki, H. *et al.* Pathological changes in the gastrointestinal tract of a heavily radiation-exposed worker at the Tokaimura criticality accident. ***J. Radia. Res.* 49:** 55-62, 2008.

血球貪食症候群

Arceci, R.J. When T cells and macrophages do not talk: the hemophagocytic syndromes. ***Curr. Opinion Hematol.* 15:** 359-367, 2008.

Jank, G.E. Hemophagocytic syndromes. ***Blood Rev.* 21:** 245-253, 2007.

骨髄移植後GvH病の自験例

Kazama, T., M. Miyazawa, S. Tsuchiya, and A. Horii. Proliferation of macrophage-like cells, severe thymic atrophy, and extramedullary hematopoiesis of possible donor origin in an autopsy case of post-transplantation graft-versus-host disease. ***Bone Marrow Transplant.* 18:** 437-441, 1996.

赤血球貪食とCD14, PS

Bratosin, D. *et al.* Cellular and molecular mechanisms of senescent erythrocyte phagocytosis by macrophages. A review. ***Biochimie* 80:** 173-195, 1998.

Schlegel, R.A., S. Krahling, M. K. Callahan, and P. Willimasnon. CD14 is a component of multiple recognition systems used by macrophages to phagocytose apoptotic lymphocytes. ***Cell Death Differentiation* 6:** 583-592, 1999