

Title	Analysis of surface antigen expression of human immunoglobulin-secreting cells : phenotypic heterogeneity in normal counterparts of myeloma cells
Author(s)	富永, 信彦
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/36816
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	とみ 富	なが 永	のぶ 信	ひこ 彦
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9009	号	
学位授与の日付	平成2年	3月	5日	
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	Analysis of surface antigen expression of human immunoglobulin-secreting cells: phenotypic heterogeneity in normal counterparts of myeloma cells (正常ヒト免疫グロブリン分泌細胞の表面形質の多様性に関する研究)			
論文審査委員	(主査) 教授	垂井清一郎		
	(副査) 教授	木谷 照夫	教授	北村 幸彦

論文内容の要旨

〔目的〕

近年、B細胞の最終分化段階である形質細胞の腫瘍と考えられている骨髄腫細胞において、その表面形質は均一でなく多様性を示すことが報告されている。骨髄腫細胞における多様性は、normal counterpartである正常形質細胞の多様性を反映していることが推察されるが、この方面の研究はほとんどなされていない。本研究は、生体内に広く分布する正常形質細胞の分化段階を解析する目的で、正常人及び各種非腫瘍性疾患症例の末梢血、骨髄、脾臓に少数ながら存在する免疫グロブリン分泌細胞(ISC)とin vitro培養系におけるmitogen誘導ISCにつき、plaque forming cell(PFC) assayとcomplement-dependent cytotoxicity(CDC) assayを組み合わせた方法(PFC/CDC assay)を考案し、これを用いて表面形質を詳細に検討した。

〔方法〕

対象は正常人12例と各種非腫瘍性疾患27例であり、13例の末梢血、16例の骨髄、ならびに難治性血小板減少のため摘脾を行った10例の脾臓(細切圧挫後の細胞浮遊液)より比重遠心法にて分離した単核球を用いた。また正常人5例の末梢単核球にStaphylococcus aureus Cowan I(STA)、recombinant interleukin-2(IL-2)を添加した培養細胞についても経時的に検討した。ISCの表面形質は、PFC/CDC assayにて解析した。すなわち、予めモノクローナル抗体(MoAb:CD9, CD10, CD20, CD38, HLA-DR, PCA-1)とウサギ補体で処理した単核球につき、protein-A吸着ヒツジ赤血球、抗ヒトH鎖特異家兎血清、モルモット補体を混合してPFC assayを行い、MoAbを加えずウサギ補体のみで処理した対照PFCからの減少率を各MoAbに対

する陽性率として算出した。

〔成績〕

末梢血 IgG-ISC は、正常人 5 例では CD38, HLA-DR 陽性で他の B 細胞関連抗原は全て陰性であるのに対し、mononucleosis syndrome 8 例は CD38, HLA-DR 陽性であるのに加え、5 例で CD20 が検出された。

骨髄 IgG-ISC (16 例) は正常群、疾患群を問わず CD38 陽性で、3 例を除き HLA-DR は陰性であった。HLA-DR の発現を認めた 3 例は、multicentric Castleman's lymphoma, immune complex disease, mononucleosis syndrome であり、前 2 例はポリクローナルな高 γ -グロブリン血症ならびに骨髄形質細胞増多を示した。また、16 例中 9 例に CD9, PCA-1 が検出された。

脾臓 IgG-ISC (10 例) は多様な表面形質を示した。すなわち CD38 は高率に陽性であり、さらに、CD9, PCA-1 の双方またはいずれかが、末梢血に比し高頻度に検出された。HLA-DR の陽性率は 0-90% と幅広く分布し、末梢血 ISC と骨髄 ISC の中間分化段階に位置づけられた。

SLE 例は CD38, HLA-DR の陽性率が低く、約 30% が CD20 陽性であった。

以上のように、IgG-ISC の表面形質は、臓器間で異なり、さらに polyclonal B cell activation (PBA) が存在すると考えられる症例では正常人及び PBA の存在しない症例に比し幼若な形質を示す傾向が見られた。なお検索した全症例 39 例中 8 例で、IgA あるいは IgM-ISC についても検討したが、IgG-ISC とほぼ同様の結果が得られた。

次に、STA 誘導 ISC の表面形質を経時的に検討した。培養 5 日目の ISC は、ほとんどが CD38, HLA-DR 陽性で、約半数は CD20 陽性であった。その後、HLA-DR と CD20 の陽性率は急速に低下し、CD38 の陽性率は微減を示したが、培養 9 日目には約 80% が CD38 のみ陽性となった。IgG-ISC と IgM-ISC との間に有意な差は見られなかった。さらに培養開始時より IL-2 を添加すると ISC の分化が促進され、培養 9 日目には約半数が CD38 陰性となった。

〔総括〕

1. PFC/CDC assay を考案し、諸臓器 (末梢血、骨髄、脾臓) に少数存在する ISC ならびに、mitogen 誘導 ISC の表面形質を詳細に検討した結果、正常形質細胞も骨髄腫細胞と同様に多様性を示すことが明らかとなった。
2. 末梢血 ISC は骨髄 ISC より幼若な表面形質を示し、脾臓 ISC は両者の中間に位置づけられた。さらに PBA が存在すると考えられる症例では、正常人あるいは PBA の存在しない症例に比し幼若な形質を示す傾向が見られた。
3. STA 誘導 ISC は培養とともにより成熟した表面形質を示し、IL-2 を添加すると分化が促進された。
4. 免疫グロブリン H 鎖のクラス間における ISC の分化段階の差異は、症例においても in vitro 培養系においても認められなかった。

論文の審査結果の要旨

本研究は、Plaque forming cell assayとComplement dependent cytotoxicity assay を組み合わせる方法を考案して、正常ヒト免疫グロブリン分泌細胞（ISC）の表面形質を分析し、正常形質細胞が骨髄腫細胞と同様、表面形質の多様性を示すことを明らかにした。

さらに、ISC の分化段階が存在する臓器により異なること、免疫グロブリンH鎖のクラス間では、ISC の分化段階に差がないこと、またStaphylococcus aureus Cowan 1 培養系でISC の分化過程が再現され、Interleukin-2の添加によりISC の分化が促進することを示した。

生体内に少数存在する正常形質細胞の表面形質を詳細に検討した本研究は、その分化の様式を明らかにするとともに、増殖の場を異にする種々の免疫グロブリン産生腫瘍の病態を研究する上でも貴重な知見であり、学位に値する業績と認められる。