Osaka University Knowledge Archive

Title	The effect of 12 − 0 −tetradecanoylphorbol − 13 −acetate (TPA) on leukemic cells from chronic B cell leukemia
Author(s)	徳嶺, 進洋
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36890
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【75】

氏名・(本籍)	徳嶺進洋（とくみねゆきひろ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8887 号
学位授与の日付	平成元年11月9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	The effect of 12－0－tetradecanoylphorbol－13－acetate（TPA）on leukemic cells from chronic B cell leukemia（12－0－tetradecanoylphorbol－13－acetate（TPA）の慢性型B細胞性白血病細胞に対する効果）
論文審査委員	（主査）教授 木谷 照夫 （副査）教授 濱岡 利之　教授 北村 幸彦

論文内容の要旨

〔目　的〕

B細胞分化からみると各種慢性型B細胞性白血病細胞は表面形質等の研究によりB－chronic lymphocytic leukemia（CLL），CLLの経過中prolymphocytoid cellの出現をみるCLL in prolymphocytoid transformation（CLL－PLT），B－prolymphocytic leukemia（PLL），特異な毛髪状細胞突起を有する白血病細胞からなるhairy cell leukemia（HCL），plasma cell leukemiaという順に分化度を位置付ける考えが一般的である。本研究はこれらの白血病細胞に分化誘導物質12－0－tetradecanoylphorbol－13－acetate（TPA）を添加し，その分化誘導の態度から，このような位置付けが妥当なものであるか否かを検討したものである。

〔方　法〕

材料：CLL9例，CLL－PLT3例，PLL4例，HCL11例，lymphosarcoma cell leukemia（LSCL）4例，Waldenström macroglobulinemia 1例，plasma cell leukemia（PCL）1例，および健常人6例より末梢血単核球分画（PBMC）を分離した。また，健常人2例で非貧食性，T細胞除去末梢血単核球の検討を行った。

TPAによる分化誘導：PBMCを15%FCS加RPMI1640液に浮遊しTPA100ng／mlを添加して4日間培養し形態変化，培養dishへの付着，細胞質内免疫グロブリン（cIg）の検出，細胞化学的検索を行った。即ち，付着細胞の比率（% adherence），細長い突起を伸ばす独特の形態変化を示す細胞の比率（% spreading）を算出し，付着細胞，非付着細胞の標本はそれぞれMay－Grünwald－Giemsa染色で形態を観察した。組織化学はperoxidase，naphthol－ASD－chloroacetate esterase，α－naphtyl

butyrate esterase, ＰＡＳ, acid phosphatase（ＡＰ), tartrate－resistant acid phosphatase（ＴＲＡＰ）を検索した。cIg は蛍光抗体直接法を用い，免疫組織化学によるＢ細胞の同定は avidin－biotin peroxidase complex 法によりモノクローナル抗体Ｂ１（ＣＤ20）の染色を行った。

〔成　　績〕

ＣＬＬでは大多数の例（８／９例）において，白血病細胞がＴＰＡ添加により活性化リンパ球ないし形質細胞様の形態変化を生じた。一方，ＨＣＬ例は11例全例で白血病細胞はガラス面に付着し細長い突起を伸ばす独特の形態変化（spreading）を示した。この spreading はＴＰＡ添加後短時間で始まり，２－３日後にその比率が peak に達した。ＨＣＬ以外にＣＬＬ１／９例，ＣＬＬ－ＰＬＴ２／３例で spreading がみられた。

cIg はＣＬＬ２例で培養前より陽性，他はＴＰＡ添加で陽性化をみた。一方，ＨＣＬでは全例 cIg は陽性化しなかった。spread したＣＬＬ－ＰＬＴ２例中１例は培養前より cIg 陽性，１例は cIg が陽性化しなかった。spread しなかったＣＬＬ－ＰＬＴは cIg の陽性化をみた。ＰＬＬは１例で培養前より陽性，２例で陽性化した。ＬＳＣＬは１例で培養前より陽性，１例が陽性化した。

細胞化学ではＡＰおよびＴＲＡＰ活性が検索したＣＬＬ，ＣＬＬ－ＰＬＴ，ＰＬＬ，ＨＣＬのいずれの例においてもＴＰＡ添加後著明に増強をみた。これは白血病細胞の種類に関係のないＴＰＡによる非特異的な反応と考えられる。

正常Ｂ細胞中にもＴＰＡ添加で spreading の形態変化をするものがあるか否かについて検討した。健常人２例の非貧食性，Ｔ細胞除去末梢血単核球のＴＰＡ添加で付着細胞中に spreading cell が各々6.0％，13.6％みられた。spreading cell がＢ細胞であることを確認するためＢ１抗原または cIg を検索した。spreading cell 中のＢ１陽性細胞は，それぞれ13.3％，38.2％であり，一方 cIg 陽性細胞は17.9％，7.4％であった。

〔総　　括〕

慢性型Ｂ細胞性白血病細胞にＴＰＡを添加したところ，症例により細長い細胞突起を伸ばす独特の形態変化（spreading）と cIg の陽性化という全く異なる反応を示した。この２つの指標により白血病細胞は spread＋cIg－（ＣＬＬ－ＰＬＴ１例，ＨＣＬ），spread＋cIg＋（ＣＬＬ１例，ＣＬＬ－ＰＬＴ１例），spread－cIg＋（大部分のＣＬＬ，ＣＬＬ－ＰＬＴ１例，ＰＬＬ）の３群に分かれた。Ｂ細胞分化の従来の概念のようにこれらの慢性型Ｂ細胞性白血病細胞が１系列の分化をするとすれば未熟なＣＬＬ細胞はＴＰＡ添加によりＨＣＬ細胞の段階を経て形質細胞へと分化しなければならない。しかしＣＬＬ細胞ではＨＣＬ細胞類似の毛髪様突起の出現はなく，かつＨＣＬ細胞のＴＰＡ添加でみられる spreading の形態変化も形質細胞への分化の途中には認められない。一方ＣＬＬとは対照的にＨＣＬ細胞のＴＰＡ添加では活発な Ig 産生をおこなう形質細胞への分化を認めない。これらの現象を細胞分化と白血病病型という立場で合理的に説明するためには，慢性型Ｂ細胞性白血病群を１系列のＢ細胞分化経路に位置付けることは困難である。以上の成績を説明するため，私はこれらの白血病が spreading と cIg からみた上記３群で示される複数のＢ細胞分化系列上にあるという仮説を提唱した。

正常末梢血Ｂ細胞分画のＴＰＡ刺激で spreading cell の出現がみられるので，この形態変化は腫瘍化

によるものではない。

論文の審査結果の要旨

本研究は各種の慢性型Ｂ細胞性白血病細胞に，分化誘導物質ＴＰＡを添加し，その分化誘導の態度から，これらの白血病細胞のＢ細胞分化段階における位置付けを検討したものである。白血病細胞は症例により細長い突起を伸ばす独特の形態変化（spreading）と細胞質内免疫グロブリンの陽性化という点で異なる反応を示し，この２つの指標により３系に分かれることを明かにした。spreading は正常Ｂ細胞分画をＴＰＡで刺激すると出現するので，この形態変化は腫瘍化によるものではない。以上の成績をＢ細胞分化と白血病病型との関連という観点で合理的に説明するため，慢性型Ｂ細胞性白血病が上記３系で示される複数のＢ細胞分化系列上にあるという仮説を提唱した。本研究は血液腫瘍学のみならず，Ｂ細胞分化を考える上で示唆に富む成績であり，学位に値する論文と考える。