



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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍) 德嶺進洋
 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-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) on leukemic cells from chronic B cell leukemia
 (12-O-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-P LT), 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-O-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: CLL 9例, CLL-P LT 3例, PLL 4例, HCL 11例, lymphosarcoma cell leukemia (L SCL) 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 RPMI 1640液に浮遊し TPA 100ng/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 -naphthyl

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 B 1 (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 CLL 1/9 例、CLL-PLT 2/3 例で spreading がみられた。

cIg は CLL 2 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-PLT 2 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。PLT は 1 例で培養前より陽性、2 例で陽性化した。LSC 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 例の非貧血性、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 B 1 抗原または cIg を検索した。spreading cell 中の B 1 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-PLT 1 例, HCL), spread+cIg+ (CLL 1 例, CLL-PLT 1 例), spread-cIg+ (大部分の CLL, CLL-PLT 1 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 紹介の 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 紹介の TPA 添加では活性 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。