The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Immunophenotypic Features and Configuration of Immunoglobulin Genes in Hairy Cell Leukemia-Japanese Variant
Author(s)	山口, 充洋
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39499
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	山　口　充　洋（やま　ぐち　みつ　ひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　12583　号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学　位　論　文　名	Immunophenotypic Features and Configuration of Immunoglobulin Genes in Hairy Cell Leukemia－Japanese Variant （日本型 Hairy Cell leukemia における免疫グロブリンの表現型と遺伝子型の特徴）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　木谷　照夫 （副査） 教　授　平野　俊夫　　教　授　青笹　克之

論文内容の要旨

［目的］

Hairy Cell leukemia（ＨＣＬ）の亜型であるＨＣＬ－Ｊは，慢性の経過と成熟型の細胞形態を示し成熟型Ｂ細胞性白血病に分類されるが，免疫形質を含めいくつかの点でＨＣＬ典型例とは異なる特徴を示す。ＨＣＬ－ＪではCD25抗原の発現が見られず，しばしば表面免疫グロブリン（SIg）が検出されない。またSIg陽性例では，λ陽性例に比べκ陽性例の割合が著しく高い。このようなIgの表現型は，成熟型Ｂ細胞性白血病ではまれである。本研究では，ＨＣＬ－ＪにおけるIgの表現型と遺伝子型を検索し，特異なIgの発現を示すこの亜型の特徴をより明らかにするとともに，ＨＣＬ－Ｊの発症機序ならびにＢ細胞分化からみた腫瘍細胞の位置づけを検討した。

［方法ならびに成績］

対象は，ＨＣＬ－Ｊ患者12例より分離した末梢血単核球（Ｂ細胞が70％以上）および別の患者より樹立したＨＣＬ－Ｊ由来の細胞株ＪＨＣ－２の計13例。表面抗原は下記のＦＩＴＣ標識，ＰＥ標識モノクローナル抗体を用い直接蛍光抗体法により検索した：Leu１（CD５），Leu16（CD20），Leu14（CD22），LeuM５（CD11c），CALLA（CD10），ＩＬ－２Ｒ（CD25）。CD24はＬ30モノクローナル抗体を用いて間接蛍光抗体法にて検索した。SIgは外来性のIgを除去するため培養後よく洗浄してから抗κ－ＦＩＴＣ標識およびλ－ＰＥ標識モノクローナル抗体で二重染色し直接蛍光抗体法によりFACScanを用いて検索した。細胞質内Ig（CIg）はＦＩＴＣ標識ヤギ抗ヒトκおよび抗ヒトλ抗血清を用いて蛍光抗体染色した。

ＨＣＬ－Ｊ細胞はいずれもCD20＋，CD５－，CD10－，CD11c ＋，CD22（膜型）＋，CD24－，CD25－の表面形質を示した。ＨＣＬ－Ｊ細胞ではCD20，膜型CD22といった成熟型Ｂ細胞に特徴的な形質を示したが，Ｂ細胞性白血病の大部分に発現されるCD24の発現を認めなかった。ＨＣＬ－ＪにおけるCD５－，CD11c強陽性，CD24－の形質は典型的ＨＣＬと同様で，他の成熟Ｂ細胞性白血病と区別された。一方，典型的ＨＣＬとは異なりCD25の発現は認めなかった。

SIgは，13例中細胞株ＪＨＣ－２を含む４例にκ鎖の発現が認められたが，残りの９例ではκ鎖，λ鎖ともに検出されなかった。このようにSIgの発現においてもＨＣＬ－Ｊは典型的ＨＣＬと異なっていた。CIg（κ，λ）は検索したSIg－例５例では検出されなかった。

Ig遺伝子の再構成は上記細胞より抽出した高分子DNA５μgを制限酵素で切断し，0.6％アガロースゲルにて電気

泳動をおこない，サザンブロッティング法にて検索した。検索には以下のプローブを用いた。ＪＨプローブ，Cκプローブ，Cλプローブ，κdeleting element（κde）プローブ。

IgH鎖（ＪＨ）遺伝子再構成はBamHＩにて切断したＤＮＡについて検索し，SIg－例を含む12例すべてに１本または２本の再構成バンドが検出された。この結果から，ＨＣＬ－ＪがSIg－例を含めＢ細胞の単クローン性増殖であることが確認された。Igκ鎖遺伝子における再構成あるいは欠失はそれぞれCκ，κdeプローブを用いてBamH１にて切断したＤＮＡについて検索した。Igλ鎖遺伝子はEcoR１切断によるrestriction fragment length polymorphisms（RFLPs）がみられるため，EcoR１およびEcoR１／HindⅢにて切断したＤＮＡについてCλプローブを用いて検索した。SIg＋例はいずれもκ鎖の再構成を示し（３／３），SIg－例９例中２例がκ鎖再構成を，４例はλ鎖再構成を示した。１例ではκ鎖が欠失しλ鎖胚細胞型を示し，また２例はκ，λ鎖ともに胚細胞型を示した。これら３例における遺伝子型は成熟型Ｂ細胞性白血病としては非常にまれで，通常未熟型Ｂ細胞性白血病に見られるものであった。

［総括］

未分化なＢ細胞性腫瘍と一部重複するIgの遺伝子型を示すＨＣＬ－Ｊは，ＣＬＬや典型的ＨＣＬよりも未分化な段階に位置すると考えられる。SIgの発現においてSIg－例の多いことや，SIg陽性例ではκ陽性例がλ陽性例に比し多い事も，この考えと矛盾しない。しかしながらＨＣＬ－Ｊでは慢性の経過を示し，細胞形態や膜型CD22の発現など成熟型Ｂ細胞性白血病の特徴を示しており，Igの発現や再構成パターンとの間に解離がみられた。以上の結果からＨＣＬ－Ｊでは，Ｂ細胞の比較的未分化な段階で腫瘍化の過程が始まり，細胞死を免れた細胞はIgの関与しない別の機構によって細胞形態や表面形質などある程度の分化能を示した可能性と，これとは別にＨＣＬ細胞が通常のＢ細胞分化経路から派生する別の経路に属するＢ細胞サブセットに由来する可能性が示唆される。いずれの可能性が妥当かは現在明らかでないが，ＨＣＬにおける特異なIgの発現は，その腫瘍細胞の起源や病因あるいはＢ細胞分化の研究に有用な手がかりをもたらすと思われる。

論文審査の結果の要旨

本研究は，Hairy Cell leukemia（ＨＣＬ）の一亜型であり，特異な免疫グロブリン（Ig）の表現型を示すJapanese variantの細胞起源およびＢ細胞分化上への位置づけを明らかにすることを目的とし，Japanese variantにおける免疫形質および免疫グロブリン遺伝子再構成を詳細に検索したものである。Japanese variantではCD20，膜型CD22の発現がみられ成熟型Ｂ細胞の免疫形質を示したが，CD５－，CD10－，CD11c＋，CD24－，CD2－の免疫形質は，典型的ＨＣＬを含む他の成熟型Ｂ細胞性白血病と異なっていた。さらに表面免疫グロブリンの発現を認めない例が多く，そのIg light chainの再構成パターンは多様でlight chainに全く再構成を認めない例もみられた。即ち他の成熟型Ｂ細胞性白血病と異なってＨＣＬ－Japanese variantでは未分化型Ｂ細胞に重なるIgの表現型と遺伝子型を示す広がりがあり，成熟Ｂ細胞としての細胞学的特徴や臨床像との間に解離がみられることが明らかとなった。以上の成績からJapanese variantのＢ細胞は通常のIg発現と細胞成熟過程を示さない通常のＢ細胞分化とは異なる分化経路に位置する可能性が示唆された。以上より本研究の成績はＨＣＬ－Japanese variantの特徴を初めて明らかにするとともに，その細胞起源や腫瘍化の過程を解明する上で極めて重要であり学位に値する研究であると考えられる。