

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39499">https://hdl.handle.net/11094/39499</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	山 口 充 洋
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、 $\lambda$  陽性例に比べ  $\kappa$  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  $\kappa$ -FITC 標識および  $\lambda$ -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 FACSscan を用いて検索した。細胞質内 Ig (CIg) は FITC 標識ヤギ抗ヒト  $\kappa$  および抗ヒト  $\lambda$  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  $\kappa$  鎖の発現が認められたが、残りの 9 例では  $\kappa$  鎖,  $\lambda$  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 ( $\kappa$ ,  $\lambda$ ) 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 DNA 5  $\mu$ g 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、C $\kappa$ プローブ、C $\lambda$ プローブ、 $\kappa$  deleting element ( $\kappa$  de) 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。Ig $\kappa$ 鎖遺伝子における再構成あるいは欠失はそれぞれC $\kappa$ 、 $\kappa$  de プローブを用いて BamHI にて切断したDNAについて検索した。Ig $\lambda$ 鎖遺伝子は EcoRI 切断による restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) がみられるため、EcoRI および EcoRI/HindIII にて切断したDNAについてC $\lambda$ プローブを用いて検索した。SIg+例はいずれも $\kappa$ 鎖の再構成を示し (3/3)、SIg-例9例中2例が $\kappa$ 鎖再構成を、4例は $\lambda$ 鎖再構成を示した。1例では $\kappa$ 鎖が欠失し $\lambda$ 鎖胚細胞型を示し、また2例は $\kappa$ 、 $\lambda$ 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 $\kappa$ 陽性例が $\lambda$ 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。