The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Lineage Switch in Childhood Leukemia with Monosomy 7 and Reverse of Lineage Switch in Severe Combined Immunodeficient Mice
Author(s)	藤崎, 弘之
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41713
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

【69】

氏　　名	藤　崎　弘　之（ふじ さき ひろ ゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　14498　号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学　位　論　文　名	Lineage Switch in Childhood Leukemia with Monosomy 7 and Reverse of Lineage Switch in Severe Combined Immunodeficient Mice （小児モノソミー7白血病における lineage switch と SCID マウスにおける lineage switch の逆転）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　岡田伸太郎 （副査） 教　授　宮坂　高之　　教　授　金倉　　譲

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

Lineage switch は白血病が診断時の lineage（リンパ系，骨髄系）から後に別の lineage に変化する現象で，再発白血病では6～9％に生じると報告され，小児例が主である。その機序としては，リンパ系にも骨髄系にも分化しうる多分化能前駆細胞が白血化し，診断時に優位であったクローンが化学療法で根絶されたあと異なる表現型を有する他のクローンが進展する，あるいは新たな白血病誘発事象が原因となって生じるなどと考えられているが，明らかではない。モノソミー7は多分化能前駆細胞を含むさまざまな分化段階の造血細胞の異常増殖に関わるという示唆があるが，数例の急性B前駆細胞性白血病と混合性白血病を除けば MDS や AML などの骨髄系疾患のみでモノソミー7が報告されている。本論文では，T細胞性から骨髄性に lineage switch した極めて稀な小児モノソミー7白血病細胞を用いて SCID マウスモデルと in vitro 培養によりその性質を解析するとともに，lineage switch や混合性白血病細胞の生物学的解析におけるサイトカイン投与 SCID マウスモデルの有用性を明らかにすることを目的とした。

【方法】

患者は，モノソミー7を有する急性T細胞性白血病で発症し，急性リンパ性白血病に対する化学療法中に骨髄性白血病に lineage switch した2歳男児。両親からのインフォームドコンセントに基づき得た患者細胞を用いて，以下の実験をおこなった。

① Lineage switch 後の細胞1～4×10^7 個を CB－17 SCID マウス（雌，6～8週齢）13匹の尾静脈より静注した。マウスに対する前処置は，静注3～1日前の抗アシアロ GM 1 抗体20 μg／日腹腔内投与と静注直前の放射線全身照射200 cGy で行なった。移植マウスはサイトカイン無投与群（7匹），GM－CSF 投与群（rh GM－CSF 3 μg を4日毎に腹腔内投与。3匹），IL－3 投与群（rh IL－3 3 μg を4日毎に腹腔内投与。3匹）の3群にわけ，発病後解剖し各臓器を得た。骨髄と末梢血からは細胞を回収してフローサイトメトリーで表面抗原を解析するとともに，PCR とダイレクトシークエンシングでT細胞受容体遺伝子再構成とN－ras 遺伝子変異を解析した。脳，脊髄，胸腺，肺，肝，脾については，抗ヒト CD45抗体を用いた免疫組織染色で移植細胞の浸潤を評価した。

② Lineage switch 後の細胞をサイトカイン無添加，GM－CSF 10ng／ml添加，IL－3 10ng／ml添加の3群にわけて10% FCS 加 RPMI 中で培養し，定期的に3群の増殖を比較するとともに，培養細胞を回収してフローサイトメト

リーで表面抗原を解析した。

③　初発時の細胞についてフローサイトメトリーで表面抗原を解析するとともに，PCR とダイレクトシークエンシングでＴ細胞受容体遺伝子再構成とＮ－ras 遺伝子変異を解析した。

【成績】

移植後55～116日で全マウスに細胞生着が得られた。細胞浸潤は脳，脊髄，胸腺，肺，肝，脾にみられ，サイトカイン無投与群とサイトカイン投与群間に差はなかった。サイトカイン無投与マウス群に生着した細胞はすべて骨髄性クローンであった。サイトカイン投与マウス群では，骨髄性クローンが生着したIL－３投与マウスの１匹を除いた全例にＴ細胞性クローンが生着した。このふたつのクローンは同一の変異Ｎ－ras 遺伝子（コドン61：CAA→CAC）をもっていたが，Ｔ細胞受容体γ鎖遺伝子再構成はＴ細胞性クローンのみが有していた。またこのＴ細胞受容体γ鎖遺伝子再構成は，初発時細胞のＴ細胞受容体γ鎖遺伝子再構成とＮ領域を含めて同一であった。一方 in vitro 培養では，サイトカイン添加群で細胞増殖が促進されたが，サイトカイン無添加群，サイトカイン添加群ともに骨髄性クローンのみが生育した。

【総括】

本例ではモノソミー７とＮ－ras 遺伝子変異をもつＴ細胞／骨髄球共通前駆細胞がＴ細胞方向に分化した段階で初発時のＴ細胞性クローンが発生し，そのＴ細胞／骨髄球共通前駆細胞に生じた別のイベントにより骨髄性クローンが発生したものと推定される。Ｔ細胞性クローンの生育は GM－CSF，IL－３とマウスの造血微小環境に依存性であったが，骨髄性クローンはそれらに非依存的に生育した。このことは骨髄性クローンがＴ細胞性クローンより化学療法に抵抗性であったことと関連しているものと思われる。SCID マウスを用いる方法は lineage switch や混合性白血病の生物学的性質の解析に有用であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

当論文は，急性Ｔ細胞性白血病から急性骨髄性白血病にリニエージスイッチした小児モノソミー７白血病細胞の生物学的性質を，SCID マウスモデルと in vitro 培養モデルを用いて解析したものである。リニエージスイッチは，急性白血病の数％に生じるが，その根本的機序は明らかでない。

本論文から以下のような結果・知見が得られている。

１）サイトカイン投与 SCID マウスモデルによるリニエージスイッチ後微少残存クローンの生育は，リニエージスイッチの機序や混合性白血病の病態の解明に貢献する解析方法と考えられる。

２）モノソミー７急性Ｔ細胞性白血病が提示されているが，これはモノソミー７がＴ細胞の白血化に関与しうることを初めて示した。

以上より，当論文の内容は博士（医学）の学位授与に値するものである。