

氏名(本籍)	ふくしま たかし 福島 敬(埼玉県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博乙第1,524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2項該当
学位論文題目	Multicolor Flow-Cytometric, Morphologic, and Clonogenic Analysis of Marrow CD10-Positive Cells in Children with Leukemia in Remission or Nonmalignant Diseases (完全寛解中の白血病および非白血病小児の骨髄中に見られるCD10陽性細胞の表面抗原、形態、およびクロナリティに関する研究)
主査	筑波大学教授 医学博士 大川 治 夫
副査	筑波大学教授 医学博士 山本 雅 之
副査	筑波大学助教授 医学博士 長 澤 俊 郎
副査	筑波大学助教授 医学博士 松 井 良 樹

論 文 の 内 容 の 要 旨

(背景と目的)

CD10(common ALL 抗原)は、当初よりB細胞系白血病の特異抗原として用いられてきた。健常成人ではCD10陽性細胞は、末梢血中にはほとんど検出されず、骨髄でも単核細胞中に2~3%以内の低頻度である。一方、健常小児では、この細胞が高率に存在し、ALL発症時や再発時の骨髄と区別しにくい場合がある。非白血病CD10陽性細胞の性状を解析・検討した。

(対象)

診断目的あるいは治療経過の評価の目的で行った46小児症例の骨髄穿刺により採取した骨髄細胞を用いた。完全寛解維持中の急性白血病患児17例は、本解析施行後3年以上の完全寛解を継続している症例である。対照として用いたのは非白血病患児29例(固形腫瘍12例、良性血液疾患17例)である。固形腫瘍患児は、組織学的に骨髄浸潤はなく、造血能が正常な症例に限った。

(方法)

それぞれの症例の診断時、あるいは定期的に施行された骨髄穿刺検査で得られた骨髄液から単核細胞を分離して、以下の解析を行った。

- (1)FACSにより各疾患群について単核細胞のCD10陽性率を算出し、CD10陽性細胞の表面抗原検索のためのマルチカラー解析を行った。
- (2)各症例の単核細胞からゲノムDNAを抽出し、免疫グロブリン重鎖遺伝子再構成を検出するnested PCRを行い、特異バンドの有無を確認した。
- (3)ソーティングにより純粋に得たCD10陽性細胞を光顕的に観察した。
- (4)CD34陽性細胞を単細胞培養し、CD10発現の有無とコロニー形成能との関係を解析した。

(結果)

(1)寛解期の急性白血病群では、寛解導入直後から維持療法中にかけて、ALL群、AML群ともにCD10陽性細胞は、骨髄単核細胞の10%以下であった。化学療法終了後1か月以上経過すると、両群とも25~40%に増加した。非白血病群では、2歳未満の骨髄単核細胞に占めるCD10陽性細胞は30~35%、2~6歳では25%、7歳以降では15

%であった。

幼若な造血前駆細胞または造血管細胞のマーカーとされるCD34は、各々の疾患群でCD10陽性細胞の5～10%に発現していた。Bリンパ球全般のマーカーであるCD19は70～90%、HLA-DRは85～97%、比較的成熟したBリンパ球のマーカーであるCD20は30%前後であった。

(2)CD10陽性の初発ALL症例7例中6例においてモノクロナールバンド陽性であった。一方初発AML症例では陰性であった。治療後完全寛解のALLの骨髄についてはCD10陽性細胞が5%以上存在する検体を含め、解析した全例においてバンドは検出されなかった。

(3)各疾患群のCD10陽性細胞ライト染色標本では大部分が小型のリンパ球であったが、大リンパ球、芽球も含まれていた。これらは単調で一様な白血病細胞群とは異なり、これらCD10陽性細胞は多彩な形態を示した。

(4)CD34陽性細胞のうちCD10陰性群はコロニーを形成したが、CD10陽性群は通常の刺激因子ではコロニーを形成しなかった。

(結論および考察)

非白血病および固形腫瘍小児のCD10陽性細胞の比率をみると、特に乳幼児期において一層高率であった。白血病寛解期小児では、化学療法期間中は継続的に低比率であったが、薬剤終了後1か月以上すると乳児期に匹敵する程度まで増加した。マルチカラーFACS解析によれば、CD10陽性細胞の大部分はCD19およびHLA-DR陽性で、他の血球マーカーが陰性であったことから、Bリンパ球系に属すると考えられた。

CD10陽性細胞は比較的幼若なリンパ球が主体を占めるが、芽球様な細胞もあり、多様な分化段階を含んでいた。白血病細胞と異なり多様な形態を示し、多クローン性である。

そしてALLの発症や再発との鑑別が困難な場合にはPCR法により判別は容易であることをこの論文は明らかにしている。

審査の結果の要旨

本論文は小児期の急性白血病の治療に長年携わって来た著者自身が抱いてきた疑問を解決したいという意志に基づいて出発した研究の成果としてまとめられたものである。急性白血病群では、寛解導入に至るとcommon ALL抗原であるCD10を細胞表面抗原としてもつ骨髄細胞が10%以下になるが、その後1か月もするとCD10陽性細胞が有意に増量して、再発との区別がつかなくなる現象が見られる事を本論文で明らかに示した。小児に特有なこの現象を示す鑑別困難な症例を実際に経験して来たわけである。

造血前駆細胞に対する様々な研究手段を手にした著者がこの現象の本体を多数例の急性白血病の完全寛解維持中の患児および非白血病対照児を検索して、これがBリンパ球系に生ずる生理的な現象である事を明らかにした。更に白血病再発時との鑑別方法を光顕形態学、免疫重鎖遺伝子再構成を検出するPCR法などであることを示したことは大変意義深く、評価すべきことである。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。