



Regulation of immunoglobulin synthesis by lymphocytes in multiple myeloma and benign monoclonal gammopathy

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 竹下, 明裕 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/886

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 33号	学位授与年月日	昭和61年 3月26日
氏 名	竹 下 明 裕		
論文題目	Regulation of immunoglobulin synthesis by lymphocytes in multiple myeloma and benign monoclonal gammopathy (多発性骨髄腫および良性 M 蛋白血症におけるリンパ球のヒト免疫グロブリン産生に及ぼす影響)		

医学博士 竹下明裕

論文題目

Regulation of immunoglobulin synthesis by lymphocytes in multiple myeloma and benign monoclonal gammopathy

(多発性骨髄腫および良性M蛋白血症におけるリンパ球のヒト免疫グロブリン産生に及ぼす影響)

論文の内容の要旨

多発性骨髄腫(MM)は、悪性形質細胞の増殖を本態とし、単クローン性免疫グロブリン(Ig)の異常増加、正常Igの減少を特徴とする疾患である。MMにおける多クローン性Ig減少の機序として、(1)M蛋白によるフィードバック抑制 (2)血漿量増加による血中Igの希釈 (3)Igの異化の亢進 (4)B細胞の減少 (5)正常B細胞のIg産生を抑制する単核細胞の存在、等多くの仮説が提唱されている。本研究では、この単核細胞のうち、リンパ球サブセットとその抗体産生に及ぼす影響について検討し、MMの液性免疫不全の原因及び正常Igの調節機構を解明しようとした。また、単クローン性Igの異常増加を認めるが正常Igの減少を認めない良性M蛋白血症(BMG)についても同様に検討した。

＜方法＞MM患者13名(IgG型10名、IgA型3名)、BMG患者9名、正常健常人22名よりヘパリン加末梢血を採取した。全血を用いた間接蛍光抗体染色法にて、OKT3、OKT4、OKT8、Coulter B1及びB2陽性細胞を染色し、セルソーターEPICS Vにて解析した。Ficollにて分離した単核球を単クローン性抗体と反応させ、OKT4あるいはOKT8陽性細胞、B細胞(OKT11陰性細胞)、及び単球を細胞の大きさ、細胞内構造、蛍光の強弱という三つのパラメータを使用したソーティングにより直接分離した。患者及び正常者由来の細胞群をallogenicの関係で組み合わせ、PWM刺激下で10日間培養しその上清中のIgM濃度をELISAのサンドイッチ法を用い測定した。各群間の有意差の検定はt検定を使用した。

＜結果＞①セルソーターを用いたOKT4陽性細胞、OKT8陽性細胞、リンパ球、単球の純度はそれぞれ>99.9%、>99.8%、>99.6%、>98.8%で、生存率も>99.9%と高かった。②MM患者ではOKT4陽性細胞が絶対数においても、リンパ球中の相対数においても正常人と比較して有意に(いずれも $P<0.001$)低値を示した。③MM患者ではOKT8陽性細胞の相対数が正常人と比較して有意に($P<0.05$)高値を示した。④MM患者ではOKT4/OKT8比が正常人と比較して有意に($P<0.001$)低値を示した。⑤MM患者のB1、B2陽性細胞の絶対数は有意に($P<0.01$)低値を示した。⑥抗体産生に及ぼすOKT4陽性細胞のヘルパー作用はMM患者において有意に($P<0.05$)低下していた。⑦抗体産生に及ぼすOKT8陽性細胞のサプレッサー作用は正常人と比較して有意差は認められなかった。⑧MM群に認められた上記のような異常はBMG群には認められなかった。

＜考案＞MM患者の多クローン性Igの低下の原因としてヘルパーT細胞及びサプレッサーT細胞の量的異常についてMellstedtらによって報告されている。今回得られた成績も、同様の傾向を示し、量的異常の存在を確認した。従来、質的異常に関しては、 T_{μ} 細胞、 T_{γ} 細胞を用いた報告、OKT8陰性細胞をOKT4陽性細胞として用い、OKT4陰性細胞をOKT8陽性細胞として用いた報告等があるが純度及び補体使用による単核細胞への影響等問題があった。今回の実験において単クローン性抗体とセルソーターを利用することにより今まで実現しえなかった高純度と高生存率をもったOKT4陽性細胞及びOKT8陽性細胞を直接分離し、OKT4陽性細胞の質的異常を認め、多クローン性Ig低下の原因にT細胞サブセットの質的・量的異常の両方が存在することを認めた。BMGについてはこの様なリンパ球の異常は認められず、Ig産生面における病態はMMとは明らかに異なっていることが示唆された。又、B細胞のIg産生の調節にはT細胞サブセットが重要な役割を有することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

多発性骨髄腫(MM)患者における正常多クローン性免疫グロブリンの減少の原因及び病態について、今までに多くの可能性と仮説が提唱されてきたが、その詳細はいまだ明白でない。

そこで申請者はMM患者13名、良性M蛋白血症(BMG)9名及び正常健康人22名について正常多クローン性免疫グロブリンM(poly-IgM)の産生に影響を及ぼすTリンパ球(主論文)及び単球(副論文)に焦点をあててその追求を試みた。

審査委員会において申請者の口頭発表及び論文内容等の審査の結果、以下の点を明らかにしたことが研究成果として認められた。

1. 本研究で用いた材料、方法及びpoly-IgMの試験管内産生系は研究の目的達成に一応適切であった。
 2. 末梢血中の免疫担当細胞数について、
 - ① MM患者では正常人と比較してOKT4反応陽性細胞(T4リンパ球)の絶対数及び相対数(%)の減少
 - ② MM患者では正常人と比較してOKT8反応陽性細胞(T8リンパ球)の相対数(%)の増加
 - ③ MM患者ではT4/T8リンパ球比 1.01 ± 0.31 を示し、正常人の比 1.73 ± 0.43 と比較して有意差をもって低下
 - ④ MM患者のB細胞の絶対数の減少などの所見を示した。
 - ⑤ BMG患者についてはT4リンパ球、T8リンパ球及びBリンパ球の数の異常が認められなかった。
 3. poly-IgM産生に及ぼすTリンパ球の影響について、
 - ① MM患者のT4リンパ球のヘルパー機能は正常人と比較して有意に低下していた。
 - ② MM患者のT8リンパ球のサプレッサー機能は正常人と比較して有意差は認められなかった。
 - ③ BMG患者ではT4リンパ球、T8リンパ球ともに機能異常は認められなかった。
 4. poly-IgM産生に及ぼす単球(Mo)の影響について検討したところ、MM患者ではその活性機能低下が認められたが、BMG患者では認められなかった。
- 以上のうち3、4の項目について、特にMM患者の病態としての新しい面、すなわちリンパ球及び単球の免疫機能異常が誘発されているということを申請者は明らかにした。
- しかし、次のような問題が指摘されて、質疑が交わされた。
1. 特異的なモノクローナル抗体を用い、自動細胞蛍光分離装置で分離採取した免疫担当細胞の機能を検討しているが、使用したモノクローナル抗体は抗体産生系に影響しないのか。
 2. MM患者で、発症前のT4細胞の機能はどうなっていたのか。
 3. 治療をしている患者の場合、治療薬の影響は出てこないか。
 4. どうしてT4リンパ球の機能低下がMM患者で惹起されるのか。
 5. IL-2の産生を検討したか。
 6. 10日間で抗体産生を見ているが、7日間等、経時的に検討したか。
 7. B細胞を固定して細胞質内の抗体量等を検討したか。
 8. 論文内容からMM患者のB細胞の抗体産生機能の低下を指摘できるようなデーターがあるが申請者は気付いていなかったか。
 9. MoのかわりにIL-1を代替できないか。
 10. Moをマイトマイシン処理して加えた実験はあるか。
 11. IL-1のMoからの産生について検討したか。

以上の審査において、MM患者の病態における正常多クローン性免疫グロブリンの減少の原因を免疫担当細胞、特にT4リンパ球のヘルパー機能の低下によることを明らかにした点が高く評価された。さらに副論文において単球の機能低下も原因の一つであることを明らかにした。データーの解析からB細胞機能の低下も誘発されていることが指摘され、今後MM細胞の出現、増殖に伴う、免疫担当細胞の機能不全が誘発されてくる機序を解析する糸口がつかめたものと評価された。

学位論文は採用されたものであるが、語句、論旨の展開等の一部を訂正することにして、審査委員会ではこの研究が学位授与に値するものと全員で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	吉	田	孝	人			
	副査	教授	浅	野	稔		副査	教授	山 崎 昇
	副査	教授	山	下	昭		副査	助教授	瀧 川 雅 浩