

審査の結果の要旨

氏名 石垣 知寛

本研究は、マルチカラーフローサイトメトリーを用いて、成人 T 細胞白血病 (ATL) の新規解析法の確立、ならびにそれらの臨床・基礎研究への応用を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ATL 患者の末梢血単核球 (PBMC) の CD4 陽性細胞を CD7 ならびに CD3 の発現レベルで展開すると、細胞密度を用いた等高線プロット解析から CD4 陽性細胞は主に CD3^{Positive}CD7^{Positive} (CD7P^{1G})、CD3^{Dimly-positive}CD7^{Dimly-positive} (CD7D^{1G})、CD3^{Dimly-positive}CD7^{Negative} (CD7N^{1G}) の 3 画分に分画される。同様に CD7 ならびに CADM1 (cell adhesion molecule 1) のプロットで展開すると、CD4 陽性細胞は主に CADM1^{Negative}CD7^{Positive} (CD7P^{2G})、CADM1^{Positive}CD7^{Dimly-positive} (CD7D^{2G})、CADM1^{Positive}CD7^{Negative} (CD7N^{2G}) の 3 画分に分類され、2つの分画法の CD7P・CD7D・CD7N 画分は概ね対応した。各画分の HTLV-1 Proviral Load (PVL) や HTLV-1 bZIP factor (HBZ) の PCR を用いた解析から、HTLV-1 感染 ATL 細胞は CD7D および CD7N の画分に濃縮されることが示された。
2. 急性型 ATL では CD7D^{1G} の割合が少なく、異常リンパ球が CD7N^{1G} 画分に集積することを見だし、急性型における末梢血の CD7N^{1G} 細胞数をフローサイトメトリーにて正確に定量する臨床検査手法を確立した。当該手法を用いて急性型 ATL 患者の末梢血を評価したところ、末梢血の CD7N^{1G} 細胞数は、ATL 細胞の形態診断に熟練した検査者による異常リンパ球数と極めて高度に相関することが示され、また原点回帰を条件とした線形近似係数も 1.0 に極めて近く、当該検査手法の有用性が示された。
3. 観察期間における初回化学療法前後の CD4 陽性細胞における CD7N^{1G} 画分の割合の変化を用いて、CD7N^{1G} 画分割合減少群と変化無/増加群に分け、Kaplan-Meier 生存曲線を用いて Disease-specific survival (DSS) を評価したところ、CD7N^{1G}

画分割合減少群の予後が有意に良好であることを示した。化学療法前後の CD4 陽性細胞の CD7N¹⁶ 画分の割合の変化は、急性型 ATL 患者の予後を予測できることが示された。

4. HTLV-1 キャリア、くすぶり型 ATL、慢性型 ATL、急性型 ATL において CD4 陽性細胞における CD7P²⁶・CD7D²⁶・CD7N²⁶ 画分の割合は異なっており、キャリアからくすぶり型や慢性型を経て急性型へ進展するにつれて、CD7P²⁶ の割合が減り、CD7N²⁶ の割合が増加していくことを示した。ゆえに、この分画法は HTLV-1 キャリアから indolent ATL を経て Aggressive ATL へ進展する病態を反映することが示された。
5. 急性型 ATL における ATL (CD7N¹⁶) 細胞の細胞表面抗原の発現を、フローサイトメトリーを用いて網羅的に評価し、健常 CD4 陽性リンパ球と比較しながら、統計学的階級クラスタリング解析にて評価した。その結果、急性型 ATL における ATL 細胞は他の CD4 陽性リンパ球と比較し、特徴的な細胞表面抗原の発現パターンをとることを見いだした。
6. 急性型 ATL 患者の末梢血より CD4+CADM1+(ATL) 細胞のみを取り出し、間葉系細胞との共培養系を用いて、CD4+CADM1+(ATL) 細胞の中で生存・増殖可能な画分の同定を試みたところ、間葉系細胞上に生存・増殖可能な細胞は CD4+CADM1+/CD71-CD25+ の画分 (S 画分) に主に濃縮されることを見いだした。また、S 画分の細胞は化学療法抵抗性であり、細胞径が小さく、CADM1 の発現も低く、細胞集団のヒエラルキー解析 (SPADE 解析) から ATL 前駆細胞である可能性を示した。

以上、本論文はマルチカラーフローサイトメトリーを用いて ATL における新規分画法を確立し、その方法を実際に臨床検査、病態進展・予後評価に用い、有用であることを示した。また、基礎研究にも用いて、メジャークローン主体で均一であると思われていた末梢血の急性型 ATL 細胞において、これまで未知であった性質の異なる細胞集団を同定した。本研究は今後の臨床・基礎研究に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。