

論文要旨

Adult T-cell leukemia predominantly involving exocrine glands

外分泌腺を主病変とした成人 T 細胞白血病

小 瀆 浩 介

【序論および目的】

成人 T 細胞白血病 (ATL) は末梢性 T 細胞の腫瘍であり、実に多彩な臨床症状、病態を呈することが知られている。その多様性は、生理的な counter part である末梢性 T 細胞の多様性を反映している可能性が高い。今回我々は外分泌腺に特異的に浸潤する ATL を経験した。1 症例の腫瘍細胞での解析ではあるが、外分泌腺を特異的に認識し浸潤する T 細胞の解析は、シェーグレン症候群等の外分泌腺炎の病態を考える上でも興味深い。今回、末梢血および耳下腺組織浸潤細胞の表現形質の検討、T 細胞受容体の解析 (TVRVβ レパートワ解析と CDR3 のアミノ酸配列の同定) 等を行い、この ATL 細胞が外分泌腺を特異的に認識するメカニズムについて検討を行った。

【材料 (症例) および方法】

症例は 73 歳男性、2000 年 4 月に両側の耳下腺の腫大で病院を受診、ATL の診断を受ける。末梢血は白血球数 11400/ μ l、40% は ATL に特徴的な異常細胞であった。初診時耳下腺、顎下腺の腫大を認めたが、リンパ節腫大、肝脾腫等は認めず、全経過を通じ、きわめて特徴的な臨床像を呈していた。治療には抵抗性であり、同年 12 月永眠される。

末梢血；フローサイトメトリー法 (FCM) による表面形質の解析、染色体解析、HTLV-1 のサザンブロット法による単クローン性の組み込みの解析を行った。

剖検所見；剖検の許可を頂き、マクロ、ミクロの視点で詳細な検討を行った。また耳下腺浸潤細胞が末梢血と同一の ATL 細胞であることの確認のため、HTLV-1 のサザン法による単クローン性の組み込みも確認した。

T 細胞受容体 (TCR) の解析；当初は浸潤 T 細胞の抗原認識機構に迫るため、TCRVβ 鎖のレパートワ解析、及び抗原認識にもっとも重要と考えられる TCR の CDR3 領域のアミノ酸配列と HLA-class II を同定することを目的とした。耳下腺組織から RNA を抽出し、cDNA を作成、各 TCRVβ サブファミリー特異的な 26 組のプライマを用いて、PCR を行い、product の spectratyping を行った。クローン性の分画が疑われる領域について、cloning、sequencing を施行した。また HLA-DR の DNA タイピングを施行した。さらに免疫染色法をもちいて TCR のサブファミリーの組織上での発現を検討した。

【結 果】

末梢血の解析；末梢血は形態的には核の分葉を伴う典型的な ATL 細胞であり、FCM 上 CD2, CD3, CD4 が陽性であったが、TCR $\alpha\beta$ 21%及び TCR $\gamma\delta$ 0.9%と TCR の発現は低値であった。染色体解析では 46, XY, t(1;16)(p13;p13), del(9)(q?), add(13)(q14), add(22)(q13)であり、サザンで HTLV-1 provirus の monoclonal integration が確認されたが、バンドの長さから欠損ウイルスであることが推定された。耳下腺組織のサザンも同一の結果であった。

剖検所見；耳下腺、顎下腺に massive な腫瘍形成を認め、気管支腺、舌下腺、食道腺にも明らかな浸潤を認めていた。最も特徴的なのは食道組織であり、5 層構造をとる食道において、食道腺が存在する粘膜下層に限局した ATL 細胞の浸潤を認めていた (Fig. 2)。

T 細胞受容体の解析；RT-PCR 法により T 細胞受容体 β 鎖の発現の解析を行ったところ、6 種の V β ファミリーに属する RNA の発現が同定された (Fig. 4)。CDR3 size spectratyping の結果では、最も量的に多い V β 2, V β 6, V β 1 においてもクローンは oligoclonal ~ polyclonal であり、sequencing の結果と合わせてみても、特定のクローンの集積は指摘できなかった。これは病的にほとんどが T 細胞性腫瘍で占められていることと矛盾する結果となった。

耳下腺組織の免疫染色 (Fig. 5)；この矛盾を解決するため、耳下腺組織の組織上で、TCR の染色を行った。組織上では汎 TCR $\alpha\beta$ 抗体にほとんどの細胞が染色されず、V β 2 陽性細胞が低頻度ながらもっとも良く染まり、PCR の結果と一致した。これらの結果は耳下腺浸潤細胞は末梢性 T 細胞腫瘍であるにもかかわらず、TCR の発現を欠失していることを示しており、末梢血の FCM の結果とも一致するものであった。

【結論及び考察】

本症例の臨床症状及び剖検所見は、この ATL 細胞が外分泌腺を特異的に認識することを示していた。当初この細胞の TCR と HLA の解析からターゲットの抗原を推察することを目的とした検討を開始した。HTLV-1 関連シェーグレン症候群においては、V β 7 を持つ T 細胞が腺組織局所で単クローン性に増加し、さらに抗原認識に重要な CDR3 のアミノ酸配列に共通する部分があるとする報告もあり、関連が注目された (ref. 17)。しかしながら当初の予想に反し、FCM、RT-PCR、免疫染色等の結果から、この細胞は T 細胞受容体の発現を欠失していることが判明した。この結果は、T 細胞が外分泌腺組織に特異的に浸潤するシステムには、抗原抗体反応は中心的な役割は担っておらず、ホーミングに関与する接着分子の一種によって担われている可能性を示している (ref. 21)。田中等は ATL の皮膚浸潤と CLA, 消化管浸潤と integrin α 4 β 7 との関連を報告している。同様に本例の ATL 細胞においては、外分泌腺に特異的なホーミングに関与する分子の存在が想定される。一般の外分泌腺炎においても、炎症局所および所属リンパ節で抗原の提示を受けた T 細胞は、同時に位置情報も伝達され、外分泌腺特異的なホーミングに関与する分子の発現または再構成が誘導され、effector/memory T 細胞として機能していく過程を経ていることが考えられる。

論文審査の要旨

報告番号	医論第 1428 号	氏名	小瀧浩介
審査委員	主査	有馬直道	
	副査	丸山征郎	河野嘉文

Adult T-cell leukemia predominantly involving exocrine glands

(外分泌腺を主病変とした成人T細胞白血病)

European Journal of Haematology 2004 Vol.73, 333-339

成人T細胞白血病(ATL)は末梢性T細胞の腫瘍であり、実に多彩な臨床症状を呈することが知られている。今回、外分泌腺に特異的に浸潤するATLの1例を経験した。本症例は Sjögren 症候群および HTLV-1 associated Sjögren 症候群の病態を考える上で非常に重要な症例と考えられたため、この症例から得られた末梢血および耳下腺組織浸潤細胞について詳細な解析を行い、この ATL 細胞が外分泌腺を特異的に認識するメカニズムについて検討を行った。またその結果を過去に報告されている Sjögren 症候群における外分泌腺浸潤 T 細胞の解析の結果と比較検討することも目的とした。

末梢血細胞については表面マーカーの解析、HTLV-1 のクローナリティ解析を施行、剖検組織においては、浸潤の広がりを見るため諸臓器の病理学的検索を施行した。また耳下腺浸潤細胞より RNA を抽出し、RT-PCR 法により T 細胞受容体β鎖のレパートワ解析、クローニングによる CDR3 のアミノ酸配列の同定を行った。さらに耳下腺組織切片上で TCR の各レパートワの免疫染色を施行し、PCR の結果と比較検討した。また HLA-DR の DNA タイピングも施行した。

本研究で得られた結果及び知見は以下の通りである。

- ①臨床所見（耳下腺、顎下腺腫大が主症状で、リンパ節腫大、肝脾腫は認めず）、剖検所見（浸潤は耳下腺、顎下腺、気管支腺、食道腺に限局）から、この ATL 細胞は外分泌腺を特異的に認識している。
- ②末梢血 ATL 細胞の TCR の陽性率は 21%、耳下腺浸潤細胞の RT-PCR 法による TCR レパートワ解析は CDR3 のアミノ酸配列の同定の結果を含めて oligoclonal であった。また組織切片での免疫染色ではほとんどが CD3 陽性であったにもかかわらず TCR 陽性細胞はまれでそのレパートワ頻度は PCR の結果と一致した。
- ③以上よりこの ATL 細胞は CD3 陽性の T 細胞でありながら、TCR の発現を欠失していると判断された。この結果として、この細胞が外分泌腺を特異的に認識して浸潤していくメカニズムには TCR を介する抗原抗体反応は関与しておらず、それとは独立した外分泌腺特異的なホーミングに関与する分子およびそのリガンドによって担われていると推測された。

本研究は 1 症例由来の検体の解析に基づくものであるが、きわめて稀で貴重な検体の解析を通し、T 細胞の臓器特異性に関する研究を行っている。その系統的な外分泌腺の認識機構には、少なくとも本例では TCR を介する抗原抗体反応は関与していないことを示し、間接的ながら TCR とは独立した外分泌腺特異的な受容体とリガンドの存在を示唆した点で興味深い仕事である。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

試験（学力確認）の要旨

報告番号	医論第 1428 号	氏名	小濱浩介
審査委員	主査	有馬直道	
	副査	丸山征郎	河野嘉文

主査及び副査の3名は、平成18年6月19日、学位請求者小濱浩介に面接し、学位請求論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1、HTLV-1 associated Sjögren は通常の Sjögren と臨床的に違いがあるのか？

（回答）詳細な検討はしていないが、明確な違いはないと考えている。

質問2、剖検上腭臓や皮膚への浸潤はどうであったか

（回答）腭臓には microscopic infiltration があり、他の部位同様 minor な所見があった。また皮膚には明らかな浸潤はなかった。

質問3、TCR の低下は抗がん剤の投与が修飾した結果ではないのか？

（回答）フローサイトでの検討は初診時であり、当初より TCR の発現がなかったと判断される。また過去に TCR が低下したと報告された例では RNA の発現はあり、自己抗原のような大量の抗原曝露により TCR が低下するという生理的な側面を反映している可能性があるが、今回の例では RNA の発現もなく、genetic な変化を伴っていたと考えている。

質問4、炎症性リンパ節炎の組織を免疫染色所見の対象としているが、患者自身のリンパ節を対象にして、外分泌腺に浸潤する細胞とリンパ節に浸潤する細胞を比較する必要はなかったか？

（回答）リンパ節は数 mm 程度の腫大はあったが、末期においては全身にミクロな所見は存在しており、非特異的な現象と考えている。そのリンパ節をとりあげて検討する意義はないと判断した。

質問5、死因は？

（回答）耳下腺、顎下腺腫大に伴う気道閉塞と MRSA 肺炎があり、どちらが主体とは言えないが、これらによる呼吸不全であった。

質問6、耳下腺のホモジネートで患者の ATL 細胞の刺激実験はしなかったか？外分泌腺への浸潤はどこから入っていくのが？

ホモジネート刺激は検討できていない。また外分泌腺においても HEV のような血管を介して浸潤していくのではないかと考えられ、血管内皮上にそのリガンドがあると推定されるが、詳細は不明である。

質問7、他に外分泌腺浸潤主体の例はないのか？エイリアンシンドロームとの考えは？

（回答）実際には存在する可能性があるが、報告はないようである。エイリアンシンドロームという考えは現在は想定していない。

質問8、涙腺は？

(回答) 臨床的にははっきりせず、剖検では詳しく検討していないようである。

質問 9、通常 ATL では CD3 が低下しているが、TCR の低下の頻度は？

(回答) 過去の報告で 12 例の ATL で 2 例低下しているとの報告があるが、全体の頻度は不明、さらに今回のように RNA レベルでも欠失している例は、そこに genetic な変化があったと考えられ、きわめて稀と考えられる。

質問 10、病型と治療は？

(回答) 病型は急性型。治療は CHOP であった。

質問 11、今回の TCRV β の結果のパターンは通常見られる正常 T 細胞のパターンと考えてよいか？

(回答) まったくの正常パターンは、泳動上正規分布をとる場合と考えられる。この耳下腺はまったくの健常状態ではなく、浸潤細胞や壊れた腺組織に対する反応などが混在している。したがって反応性の複数のクローンを含む状態であり、ATL を反映してはいないが、正常とも言えない状態と考えられる。

質問 12、ホーミングの関与する分子群の存在の推定は説得力があるが、何か具体的な検討はしていないか？

(回答) 現在調べられる接着因子は CLA や $\alpha 4\beta 7$ 等非常に限られているので、現時点では具体的な検討すべきターゲットがなく、検討できていない。chemokine については一般に特異性が低い、最近 CCL28 が比較的外分泌腺に特異的ではないかという報告があり、検討する価値はあるかもしれない。

質問 13、これまで ATL の臓器浸潤について、臓器特異性のメカニズム関した報告は他にあるのか？また一般に Sjögren に合併するリンパ腫の特異性とその解析は？

(回答) 最も代表的な報告は産業医大から方向された L-selectin, CLA, $\alpha 4\beta 7$ に関するもので、非常に綺麗なデータであり、その他数報ある程度である。Sjögren に合併するリンパ腫はやはり外分泌腺及び所属リンパ節に発症する。そのリンパ腫における解析は現在までなされていない。

質問 14、HLA-DR が外分泌腺の抗原認識と関連という意味は？

(回答) 当初は HLA-DR と抗原の複合体を認識する TCR の解析を行う目的であった。レパートワ自体はスーパー抗原に対する特異性という意味合いになるが、CDR3 は DR と抗原の複合体を認識するため、どういう DR を持つかによって結果の解釈が変わってくるため。

質問 15、論文中の glandular neoplastic cell とは？

(回答) 耳下腺組織に massive に浸潤した ATL 細胞のことを指している。

質問 16、外分泌腺特有の増殖因子はないのか？ATL との関連は？

(回答) 特有の増殖因子は解らないが、直接 ATL との関連はないと思われる。

質問 17、motor neuron に関連した MALT とは？

(回答) ALS 様の症状を呈するリンパ腫。spinal cord の前角に特異的に浸潤していくリンパ腫で私自身過去に 1 例、報告上過去に 1 例報告されている。

以上の結果から、3 名の審査委員は、本人が大学院博士課程修了者と同等あるいはそれ以上の学力・識見を有しているものと認め、博士 (医学) の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。