

第21回上信越神経病理懇談会記録

日時 1995年11月25日(土)

会場 新潟大学医学部第一実習室

世話人 熊西敏郎(新潟大学脳研究所分子神経病理)

1. 脳原発悪性リンパ腫の培養株化の試み

遠藤 純男*, 阿部 聡*, 市川 富夫*, 鷺山 和雄*
熊西 敏郎*, 高杉 憲一**, 佐藤 征也**
本道 洋昭***, 河野 充夫***

* 新潟大学脳研究所分子神経病理

** デンカ生研

*** 富山県立中央病院脳神経外科

脳原発悪性リンパ腫は未だ不明の部分の多い疾患である。我々は株化細胞の樹立を試み長期継代株を得たので、その経過と原腫瘍との比較検討の結果を報告する。

症例：70才男性。既往歴に特記事項なし。歩行障害で発症、言動異常、左片麻痺等が加わり入院。CT・MRI上両側大脳半球にまたがる腫瘍像が認められた。全身検索で異常はみられなかった。針生検標本で悪性リンパ腫(B-cell, Diffuse large cell type) (LCA陽性, L26 陽性, UCHL1 陰性)と診断。放射線・化学療法施行。しかし2ヶ月後肺炎にて死亡。剖検は得られなかった。

方法：生検標本の培養は、初代培養に EB virus (B95-8 由来)を感染させ、以降10% FCS, 5% GIT 加 RPMI1640 にて維持、2ヶ月後より増殖を認め継代を行った。この細胞および原腫瘍より DNA を抽出し、Southern Blot 法による免疫グロブリン遺伝子(Ig)再構成パターンの比較と、PCR 法による IgH 鎖 VDJ 領域の検索を行った。

結果：原腫瘍は Southern 法でH鎖に再構成 band 1本を検出、λ鎖に再構成なくκ鎖再構成(κ鎖発現)の可能性が考えられた。PCR 法で1種のVDJ配列の増幅がみられた。培養細胞は Southern 法でH鎖とλ鎖に各1本の再構成 band とκ鎖の両鎖の欠失を認め

(λ鎖発現)、いずれも原腫瘍と異なっていた。しかし PCR 法で2種の配列の増幅があり、1種が原腫瘍と一致し少数の原腫瘍由来細胞の混在が確認された。培養細胞の免疫染色上70~80%がλ鎖抗体陽性、しかしκ鎖陽性細胞も少数認められ原腫瘍由来細胞と考えられた。

結論：EB virus 感染により脳原発悪性リンパ腫の培養株が得られた。しかしその株には原腫瘍の主体細胞以外の細胞も含まれ、それはむしろ優性であり、この方法によるリンパ腫株化の際に常に留意すべきと思われた。

〔討論〕

新保義勝(糸魚川病院) ① 継代株を得る目的で癌ウイルスを用いる事が以前よりやられているが EB ウイルスを使った理由は? ② 継代株は、ヌードマウスに移植可能か。

遠藤純男 ① EB virus は、B-cell を高率に transform することが一般的に認められている。EBV の EBNA2 や LMP が transform に関与しているといわれている。今回は、EBV 感染法と、通常の培養法とで培養を行い、前者から増殖細胞が得られた。② ヌードマウスへの移植については、原腫瘍組織が biopsy であり少量であるため、行えなかった。今後、リンパ腫細胞株が確立され

表 1 Comparative Analysis between Original Tumor and Cultured Cell

	Rearrangement and Deletion			PCR Analysis of VDJ region
	IgH	IgL κ	IgL λ	
Original Tumor	R	nd	G	One clone
Cultured Cells	R	D	R	Two clones One is correspond to original tumor

R; rearrangement, D; deletion, G; germ line, nd; not done

た時点で検討したい。

中里洋一（群馬大学） 株化された細胞のうち、原発の腫瘍細胞とは異なる細胞はどこから由来したと考えられるか。

田村 勝座長（群馬大学） 増殖したのは、反応性の細胞由来といえるか。

石崎 敬（厚生連病理センター） ① 2種類のリンパ株が培養されたということは培養時のコンタミネーションと考えてよいか？ ② T-cell rich large B-cell lymphoma との関連で興味深い。腫瘍細胞が T-cell 増殖性のリンホカインを出しているのではないか。

遠藤純男 Culture cell で有勢の cell の起源について。① Lymphoma は monoclonal であるという一般

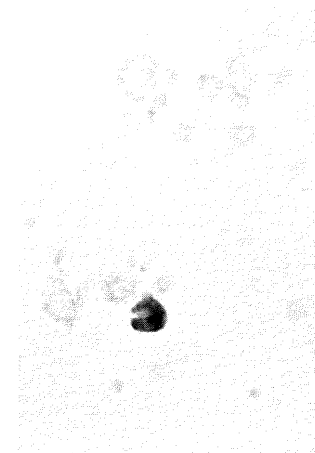


図 1 免疫組織化学的検索

Acetone 固定後の培養細胞を免疫グロブリン κ 鎖抗体を用いた ABC 法にて染色。少数だが陽性細胞が認められ、原リンパ腫細胞由来と考えられた。

的な定義から考えれば、サザンブロット法の結果から、原 lymphoma cell ではないと考えられ、反応性 B-cell の可能性が高いと思われるが、正確にはわからない。② 今回は、B-cell の IgH 再構成遺伝子をマーカーとして検索しており、T-cell の可能性は考えられない。

2. Intravascular malignant lymphomatosis: 免疫グロブリン再構成遺伝子の解析

阿部 聡, 熊西 敏郎
新潟大学脳研究所分子神経病理

Intravascular malignant lymphomatosis (IML) は中枢神経系を含む全身諸臓器の小血管内に腫瘍細胞が増殖する極めて特異な疾患である。一般に腫瘍細胞は B リンパ腫由来であることが知られている。IML における免疫グロブリン遺伝子再構成の実体を知る目的で、PCR 法にて免疫グロブリン H 鎖再構成遺伝子の検索を行った。

症例: IML 5 例を対象とした。凍結組織の得られた症例では表面免疫グロブリン (μ , κ) の発現を確認し、Southern blot 法で免疫グロブリン遺伝子再構成を証

明した。全例とも腫瘍細胞は LCA, B-cell marker が陽性、T-cell, monocyte, endothel marker は陰性で、B 細胞性リンパ腫であった。

方法: 検索対象の凍結組織あるいはパラフィン切片から DNA を抽出した。全例で V 領域フレームワーク配列と J 領域配列を primer として PCR 法にて H 鎖 VDJ 接合領域を増幅した。また、凍結組織の得られた症例では leader sequence の配列と J 領域の配列を用いて V 領域全長を増幅した。PCR 後、ポリアクリルアミドゲ