

論 文 要 旨

論文題目

**Establishment of a Primary Effusion Lymphoma Cell Line
(RM-P1) and In-vivo Growth System Using SCID Mice**

[原発性体腔液性リンパ腫細胞株(RM-P1)の樹立と SCID マウスを用いた in-vivo 増殖システムの確立]

氏名 宮城 純一 

【緒言】 Primary effusion lymphoma(PEL)は AIDS 患者に好発し，体腔（腹腔・胸腔・心嚢）にできる。PEL は腫瘤形成や他臓器浸潤しない特異なリンパ腫である。PEL の発症には Human herpesvirus-8(HHV-8)および Epstein-Barr virus(EBV)の関与が指摘されている。

HIV 陰性 63 歳男性 PEL 患者の心嚢液腫瘍細胞より HHV-8/EBV 陽性細胞株 RM-P1 を樹立した。重症複合型免疫不全(severe combined immunodeficiency; SCID)マウスに RM-P1 を移植した。PEL の動物モデルを確立した。

【方法】患者は糖尿病性慢性腎不全で透析中の 63 歳男性で，心嚢液貯留で発症した。心嚢穿刺液中にリンパ腫細胞を認めた。抗 HIV 抗体・抗 HTLV-1 抗体は陰性であった。全身検索でも腫瘤形成を認めなかった。化学療法を施行したが無効で約 2 ヶ月の経過で死亡した。同心嚢液腫瘍細胞より細胞株 RM-P1 を樹立した。染色体分析は Spectral karyotyping (SKY)法を用いた。また，8 匹の SCID マウスの腹腔

へ RM-P1 の移植を行い，形成された腫瘍と腹水について解析を行った。HHV-8/EBV の存在は PCR 法を用いて検討した。EBV の clonality の有無と免疫グロブリン JH 遺伝子再構成を Southern blot 法にて検討した。さらに，FACS にて細胞接着分子の発現を解析した。

【結果】

- ① RM-P1 は免疫芽球様の形態を示した。
- ② G-band 法では RM-P1 の複雑核型異常を明らかにできなかった。しかし SKY 法により RM-P1 の複雑核型異常を明らかにできた。
- ③ SCID マウスへの移植では 8 匹全例に一部腹水を伴う腹腔内腫瘍が形成された。
- ④ RM-P1，腫瘍，腹水より HHV-8 および EBV を検出した。
- ⑤ 免疫グロブリン JH 遺伝子再構成を確認した。
- ⑥ EBV の Southern blot 解析では clonality を示すバンドに加え，ウイルス複製を示すバンドを確認した。
- ⑦ RM-P1，腫瘍，腹水細胞のいずれも主な細

胞接着分子の発現を欠いていた。

【考察】RM-P1のSKY法による染色体解析で核型異常1q/3q/12q部分 trisomy, 19 trisomyを検出した。SKY法はPELの複雑な核型異常の解析に有用であった。

SCIDマウス腹腔に移植したRM-P1は腹水を伴う腫瘤を形成したが、RM-P1、腫瘤、腹水細胞のいずれもLFA-1などの主な細胞接着分子の発現を欠いていた。この腫瘤形成には他の細胞接着分子やSCIDマウスの要因が関与していることが想定された。

現在、PELに対する有効な治療法は確立していない。PELの予後は不良である。SCIDマウスを用いたin-vivoモデルではPELに対する抗腫瘍剤や抗サイトカイン療法を検討することが可能であり、新規治療法の研究に使うことができる。

【結語】PEL細胞株RM-P1を樹立し、動物モデルを確立した。PELの腫瘍発症機序の解明および治療法の研究に使うことができる。

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	宮城 純一
		平成 14 年 6 月 2 / 日		
論文審査委員	主査教授	森 直 樹	(森)	
	副査教授	成富 研二	(成)	
	副査教授	松崎 三 洋	(松)	
(論文題目)				
Establishment of a Primary Effusion Lymphoma Cell Line (RM-P1) and In-vivo Growth System Using SCID Mice.				
(論文審査結果の要旨)				
<p>研究に至る背景, 研究内容, 研究成果の意義, 学術的水準について慎重に検討し, 以下のような審査結果を得た。</p>				
<p>1. 研究の背景</p> <p>Primary effusion lymphoma (PEL)は極めて稀なリンパ腫で, AIDS患者に合併し, 体腔(腹腔・胸腔・心嚢)に形成される。PELは腫瘍形成や他臓器浸潤をしない特異な形態を示す。PELの発症には human herpesvirus-8 (HHV-8) および Epstein-Barr virus (EBV)の関与が指摘されているが, その詳細は未解明である。また, このリンパ腫は予後不良であり, 有効な治療法の開発が望まれている。</p>				
<p>2. 研究内容</p> <p>HIV陰性の63歳男性PEL患者の心嚢液腫瘍細胞よりHHV-8/EBV陽性細胞株RM-P1を樹立し, spectral karyotyping (SKY)法によりRM-P1の染色体分析を行った。8匹のSCIDマウスの腹腔へRM-P1の移植を行ったところ, 腫瘍と腹水の形成を認めた。心嚢液腫瘍細胞, RM-P1, SCIDマウスに形成された腫瘍と腹水について以下の解析を行った。HHV-8/EBV感染の有無はPCR法を用いて検討した。EBVのclonalityの有無と免疫グロブリン重鎖遺伝子再構成はSouthern blot法にて検討した。さらに, flow cytometryにて細胞接着分子の発現を解析した。</p>				

- 備 考
- 1 用紙の規格は,A4とし縦にして左横書とすること。
 - 2 要旨は800字~1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。

- ①SKY法により、G-band法では解析困難なRM-P1の複雑染色体異常を明らかにした。
- ②SCIDマウスへの移植では8匹全例に腹腔内腫瘍が形成され、2匹に腹水を認めた。
- ③心嚢液腫瘍細胞、RM-P1、SCIDマウスに形成された腫瘍、腹水よりPCR法にてHHV-8およびEBVを検出した。また、EBVのSouthern blot解析ではclonalityを示すバンドに加えて、ウイルス複製を示すバンドを確認した。
- ④心嚢液腫瘍細胞、RM-P1、腫瘍、腹水において免疫グロブリン重鎖遺伝子再構成を確認した。
- ⑤RM-P1、腫瘍、腹水細胞のいずれも主な細胞接着分子の発現を欠いていた。
このように樹立した細胞株および確立した動物モデルについて詳細な解析を行っている。

3. 研究成果の意義と学術水準

現在、PELに対する有効な治療法は確立されていない。SCIDマウスを用いたin vivoモデルではPELに対する抗腫瘍剤や抗サイトカイン療法を検討することが可能であり、新規治療法の研究に利用することができる。

本研究で解析されたPEL細胞株RM-P1および動物モデルはPELの腫瘍発症機序の解明および治療法の研究に有用であり、学術的にも貴重である。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
 - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。