

氏 名	市 山 聖 子
(ふりがな)	(いちやま しょうこ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成24年 6月 9日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Immunohistological diagnosis of plasma cell myeloma based on cytoplasmic kappa/lambda ratio of CD138-positive plasma cells (CD138 陽性形質細胞の細胞質内 kappa/lambda 比解析に基づく多発性骨髄腫の免疫組織学的診断)
論文審査委員	(主) 教授 朝 日 通 雄 教授 林 秀 行 教授 岡 田 仁 克

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《緒言および目的》

多発性骨髄腫は形質細胞が腫瘍性に増殖し単クローン性免疫グロブリン(モノクローナル蛋白)が産生される造血器腫瘍性疾患であり、World Health Organization (WHO) の診断基準に基づいて診断される。診断基準には、血清及び尿中のモノクローナル蛋白の検出、骨髄におけるクローナルな形質細胞の増加、臓器障害の存在(高カルシウム血症、腎機能障害、貧血、骨病変など)が挙げられている。そのため、診断時には血液生化学検査、血清及び尿の免疫電気泳動検査、骨髄検査、各種画像検査の施行が必要である。近年、フローサイトメトリー検査などが多発性骨髄腫の診断に有用とされているが、病理学的な形質細胞の形態学的評価及び増殖程度の評価は、依然として必要不可欠な診断指標である。しかし、HE染色標本のみでは、骨髄腫細胞の形態はしばしば正常な形質細胞の形態との区別

がつかず、さらに未熟な形質細胞から成熟した形質細胞まで多岐にわたり、形態学による骨髄腫細胞の同定は困難であることが多い。

膜貫通ヘパラン硫酸プロテオグリカンである CD138 細胞表面抗原は、造血系細胞では形質細胞にのみ発現し、特異的な表面抗原マーカーである。またパラフィン切片における抗 CD138 抗体による免疫組織染色は、形質細胞の 95%で陽性を示し、形質細胞の同定に有用である。さらに、多発性骨髄腫では形質細胞の細胞質内免疫グロブリン軽鎖 (κ 鎖、 λ 鎖) の発現率の乖離 (κ/λ 比の異常) を認める。しかし、多発性骨髄腫における κ/λ 比の詳細な診断的意義について検討された報告はみられない。本研究では骨髄生検組織のパラフィン切片において、抗 CD138 抗体、抗 κ 鎖抗体、抗 λ 鎖抗体を用いた免疫組織染色を実施し、抗 CD138 抗体陽性形質細胞における細胞質内 κ/λ 比の解析を行い、診断的意義のある κ/λ 比のカットオフ値を設定し、多発性骨髄腫の診断への応用を検討した。

《方 法》

2000年から2010年までにWHOの診断基準により多発性骨髄腫と診断された疾患群50例(κ 型多発性骨髄腫 33例、 λ 型多発性骨髄腫 16例、非分泌型多発性骨髄腫 1例)を用いた。コントロール群として、血液疾患を疑い骨髄生検を実施したが、異常を認めなかった50例を用いた。パラフィン包埋された骨髄生検組織において、HE染色、抗CD138抗体、抗 κ 鎖抗体、抗 λ 鎖抗体による免疫組織染色を施行した。抗 κ 鎖抗体、抗 λ 鎖抗体による染色結果は、Aperio Scanscope CSを用い、プレパラートをデジタルスライドに変換した。解析プログラムは、Membrane v9 algorithmを用いた。さらに、個々の腫瘍細胞の染色強度と細胞内の染色範囲により、negative (0)、weak (1+)、moderate (2+)、strong (3+)と判定し、1+、2+、3+を陽性細胞とした。抗 κ 鎖抗体陽性細胞(κ 陽性細胞)数もしくは、抗 λ 鎖抗体陽性細胞(λ 陽性細胞)数が、抗CD138抗体陽性形質細胞数に占める割合を陽性細胞率とした。さらに、 κ 陽性細胞率/ λ 陽性細胞率の比を κ/λ 比とした。

《結 果》

κ 型多発性骨髄腫 33 例では、κ 陽性細胞率は 25.53 - 99.30% (mean ± SD; 71.89 ± 26.31%)、λ 陽性細胞率は 0.08 - 11.24% (1.18 ± 2.27%)、κ/λ 比は 5.92-991.20 (356.48 ± 347.30) であった。また、λ 型多発性骨髄腫 16 例では、κ 陽性細胞率は 0.05-4.14% (0.55 ± 1.04%)、λ 陽性細胞率は 25.68 - 99.83% (81.54 ± 23.15%)、κ/λ 比は 0.0005 - 0.0477 (0.0079 ± 0.0136) であった。非分泌型多発性骨髄腫 1 例では、κ 陽性細胞率は 81.78%、λ 陽性細胞率は 0.10%、κ/λ 比は 817.8 であった。コントロール群では、κ 陽性細胞率は 0.08 - 92.85% (19.69 ± 20.05%)、λ 陽性細胞率は 0.17 - 94.12% (12.51 ± 18.43%)、κ/λ 比は 0.18 - 2.12 (1.31 ± 0.49) であった。κ/λ 比のカットオフ値の設定にあたり、誤診断率（偽陽性、偽陰性の全体に占める割合）が最小になるように設定した。その結果、0.35 より低値または 5.5 より高値を多発性骨髄腫の κ/λ 比とした時、誤診断率が 1%と最小となった。疾患群 50 例全例が、κ/λ 比 0.35 より低値または 5.5 より高値を示した。また、コントロール群 50 例のうち 49 例が κ/λ 比 0.35 から 5.5 の間の値を示し、残り 1 例のみが 5.5 より高値を示した。感度は 100%、特異度は 98%となった。

《結 論》

骨髄生検組織のパラフィン切片を検体とし、抗 CD138 抗体を用いた免疫組織染色により形質細胞を同定し、抗 CD138 抗体陽性細胞における κ 陽性細胞率と λ 陽性細胞率から κ/λ 比を評価した。その結果、κ/λ 比が 0.35 より低値または 5.5 より高値を取るときに多発性骨髄腫と診断することは、簡便でかつ診断精度の向上に寄与すると考えられた。

(様式 甲 6)

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

多発性骨髄腫は、形質細胞が腫瘍性に増殖し単クローン性免疫グロブリン（モノクローナル蛋白）が産生される造血器腫瘍性疾患である。World Health Organization (WHO) の診断基準では、血清及び尿中のモノクローナル蛋白の検出、骨髄におけるクローナルな形質細胞の増加、臓器障害の存在（高カルシウム血症、腎機能障害、貧血、骨病変など）が挙げられているため、多発性骨髄腫の診断にあたっては多種多様な検査の施行が必要である。

形質細胞の形態学的評価及びクローナルな増殖の病理学的評価は、依然として必要不可欠な診断指標である。しかし、HE 染色標本のみでは、骨髄腫細胞の形態は多岐にわたり、形態学による骨髄腫細胞の同定は困難であることが多い。そこで、申請者は CD138 細胞表面抗原が形質細胞に特異的な表面抗原マーカーであること、多発性骨髄腫では形質細胞の細胞質内免疫グロブリン軽鎖（ κ 鎖、 λ 鎖）の発現率の乖離（ κ/λ 比の異常）を認めることに着目し、 κ/λ 比の多発性骨髄腫診断における意義について検討した。

申請者は対照群と疾患群の骨髄生検組織のパラフィン切片において、抗 CD138 抗体、抗 κ 鎖抗体、抗 λ 鎖抗体を用いた免疫組織染色を実施し、抗 CD138 抗体陽性形質細胞における細胞質内 κ/λ 比の解析を行うことで、診断的意義のある κ/λ 比のカットオフ値を設定し、多発性骨髄腫の診断への応用を検討した。その結果、多発性骨髄腫の κ/λ 比を用いた診断基準は 0.35 より低値または 5.5 より高値となり、感度は 100%、特異度は 98%となった。このことから、これらのカットオフ値を用いて多発性骨髄腫と診断することは、簡便でかつ診断精度の向上に寄与すると考えられた。

以上により、本論文は本学大学院学則 11 条に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Leukemia & Lymphoma 53(11): 2205-2209, 2012