

# 岡山医学会雑誌

第92巻3, 4合併号 (第1024, 1025号)

昭和55年4月30日発行

## Hairy cell leukemia に関する研究

### 第 1 編

#### 細胞株の樹立とその性状

岡山大学医学部第2内科 (主任: 木村郁郎教授)

正 田 隆 雄

(昭和55年2月4日受稿)

**Key words:** hairy cell leukemia

組織培養

### 緒 言

hairy cell leukemia (HCL) は臨床病理学的に明瞭な疾患単位であるが, hairy cell の由来に関しては未だ多くの議論がある。大多数の症例において異常細胞はBリンパ球であると考えられている<sup>2),3),5),6),7),10),21),25),26),31)</sup>, 一部の研究者達はそれらが単球起源であると考えている<sup>11),19),29)</sup>。また, 最近Tリンパ球の性質をもったHCLも報告されている<sup>4),17)</sup>。著者は hairy cell に関する詳細な観察を行う目的で, 同一 HCL 患者から HCL 株と正常リンパ芽球様細胞株を培養樹立し, 両者の細胞株を比較検討した。その結果本患者の hairy cell がBリンパ球の性質を有していることが明らかとなった。以下その概要について述べる。

### 対象および方法

症例

患者 (Z.K.) は69才の男性で, 1975年8月, 肝脾腫にて岡山大学医学部付属病院第二内科に入院した。患者は入院前数ヶ月間易疲労性を自覚していた。脾臓は肋骨弓下5cm, 肝臓は3cm 触知した。リンパ腺腫脹はなかった。ヘモグロビンは11.8g/dl, 白血球数は57,000/mm<sup>3</sup>, 血小板数は87,000/mm<sup>3</sup>であった。末梢血および骨髓塗抹標本は90%以上リンパ球様細胞で占められ, その大多数は位相差顕微鏡にて毛様の細胞質突起を示した。これらの細胞は酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ陰性であった。電子顕微鏡観察では稀に細胞質に ribosome-lamellar complex が認められた。ラテックス粒子の食食能は陰性であった。末梢血単核球を Ficoll-Conray により分離し, 表面マーカーの検索を行ったところ, κ light chain より成る IgG が大多数の細胞表面に認められた (表1)。羊赤血球 (E) に対するレセプター, 補体 (EAC) に対するレセプターは少数の細胞にのみ認められ, IgG

表1 患者白血球, ZK-H 細胞, ZK-N 細胞の表面マーカーの比較 (%)

	患 者 白血球	ZK-H 細胞			ZK-N 細胞	
		77年10月	78年2月	78年7月	78年4月	78年7月
Eロゼット	8	2	NT	0	NT	0
EAロゼット	73	15	NT	29	NT	3
EACロゼット	6	95	NT	92	NT	53
表面免疫グロブリン (多価)	92	90	93	100	65	86.7
IgG	90	91	94	97	47	85.4
IgA	1	0	0	0	13	5.1
IgM	2	0	1	4	50	17.9
kappa	69	69	82	65	35	55.8
lambda	14	8	0	3	12	37.0

NT=Not tested.

の Fc (EA) に対するレセプターは高率に認められた。Epstein-Barr (EB) ウイルスカプシド抗原に対する血清抗体価は 1 : 160 陽性であったが、EB ウイルス早期抗原に対する抗体は陰性であった。患者は比較的無症状だったので摘脾は施行されず、診断後 4 年の現在生存中である。なお本症例の臨床事項については別に報告されている<sup>15)</sup>。

#### 細胞培養

1977年4月6日、10mlの静脈血をヘパリンを入れた注射器にて採取した。この時の白血球数は  $53,700/\text{mm}^3$  で、95%がリンパ球様細胞であった。デキストランにより分離した白血病細胞を直径35mmの petri シャーレにて、RPMI 1640に10%牛胎児血清と10%人臍帯血血清と抗生物質を加えた培養液で培養した。植え込み時細胞の濃度は  $5 \times 10^6/\text{ml}$  に調整した。培養は37°C、7.5% CO<sub>2</sub> ふらん器内で行った。培養液は1週間に2回交換した。細胞株が樹立された後は3~4日毎に継代培養が行われた。6ヶ月後に同一患者より末梢白血球を分離し、RPMI 1640に20%牛胎児血清と抗生物質を加えた培養液にて同一の環境で培養した。

#### 細胞観察

細胞は倒立位相差顕微鏡にて観察するとともに、メイグリュンワルドーギムザ染色を施して観察した。酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ

染色と  $\alpha$  ナフチル酪酸エステラーゼ染色は Wilcoxon ら<sup>22)</sup> の方法により行った。細胞の貪食能は  $1 \times 10^6$  個の細胞を  $1 \times 10^8$  個のラテックス粒子 ( $0.8\mu\text{m}$ ) とともに37°C 1時間培養することにより観察した。

#### 細胞表面マーカー

細胞の E, EA, EAC に対するレセプターについて検索するとともに、表面免疫グロブリンについても FITC 標識山羊抗ヒト免疫グロブリン、IgG, IgA, IgM,  $\kappa$ ,  $\lambda$  light chain 抗血清を用いて直接蛍光抗体法により検索した。これら検索は Jondal と Klein<sup>12)</sup> の方法に従った。

#### EB ウイルス関連核抗原 (EBNA)

EBNA の検出は抗補体蛍光抗体法<sup>16)</sup>の変法<sup>14)</sup>により行った。

#### 電子顕微鏡観察

透過型電子顕微鏡観察には、細胞を2.5%グルタルアルデヒドで2時間固定した後、1%オスミウム酸で1時間固定し、エチルアルコール系列で脱水し、エポキシ樹脂に封埋した。切片を酢酸ウラニルとクエン酸鉛で重染色し、日立 HS-8 電子顕微鏡により観察した。走査型電子顕微鏡観察には、透過型電子顕微鏡観察の場合と同様に細胞を処理した後臨界点法により乾燥した。標本は金でコーティングし、日立 S-450 電子顕微鏡で観察した。

#### 染色体分析

染色体分析はギムザ染色標本とギムザバンド標本を既述の方法<sup>14)</sup>により作成し分析した。

## 結 果

### 細胞増殖様式

1977年4月6日に培養開始して2か月後に初めて継代培養された。細胞は次の3か月間ゆっくりと増殖し、その後3~4日毎に規則的に継代培養できるようになった。この細胞株はZK-Hと名づけられ、doubling timeは76時間で小さな細胞集塊を形成しながら浮遊状態で増殖した。一方、6か月後に培養開始された細胞は培養開始1か月後に増殖し始め、3~4日毎に継代培養可能となった。この細胞株はZK-Nと名づけられ、doubling timeは29時間で、大きな細胞集塊を形成しながら浮遊状態で増殖した。

### 細胞形態

位相差顕微鏡下で観察すると、ほとんどすべてのZK-H細胞はくりのとげ様の外観を呈し、多数の細長い細胞質突起を示した(図1a)。長い微絨毛には、まっすぐなもの、曲がったもの、

枝分れしたもの等があり、細胞の直径位の長さであった。膜様の細胞質突起もまた一部の細胞に観察された。患者の白血病細胞と異なってZK-H細胞の多くは2、3個の明瞭な核小体を示した。メイーグリェンワルドーギムザ染色標本上毛様突起はそれほど著明でなかったが、それでもなお大部分のZK-H細胞の表面に認められた(図2)。好塩基性の細胞質は比較的豊富で、しばしば空胞を有していた。ZK-H細胞は酒石酸抵抗性酸フォスファターゼも $\alpha$ ナフチル酪酸エステラーゼもともに陰性であった。これらの細胞はラテックス粒子を食しなかった。透過型電子顕微鏡観察では指状の細胞質突起と偽足を示した。核は楕円形で、弯入あるいは分葉し、大きな核小体が認められた。細胞質はしばしば脂肪粒子、tubuloreticular inclusion、細線維束等を含んでいたが、ribosome-lamellar complexは観察されなかった(図3)。同様に走査型電子顕微鏡観察でも多数の細胞質突起すなわち長短の微絨毛や膜状の突起を認めた(図4)。これらの電子顕微鏡所見は位相差顕微鏡所見とよく相

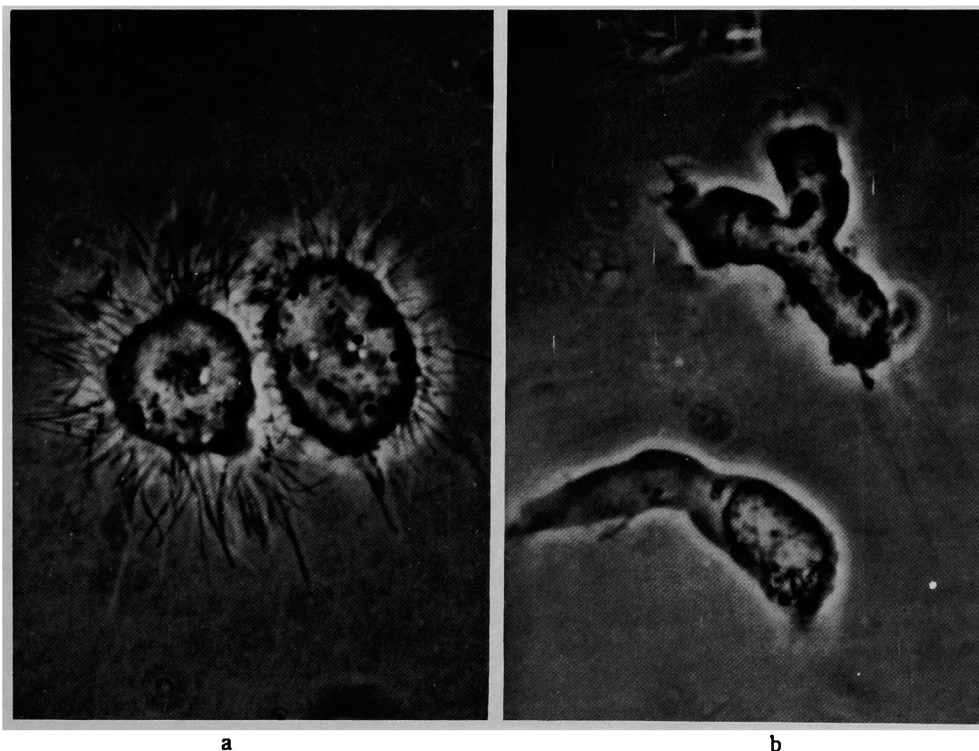


図1. ZK-H細胞(a)とZK-N細胞(b)の位相差像

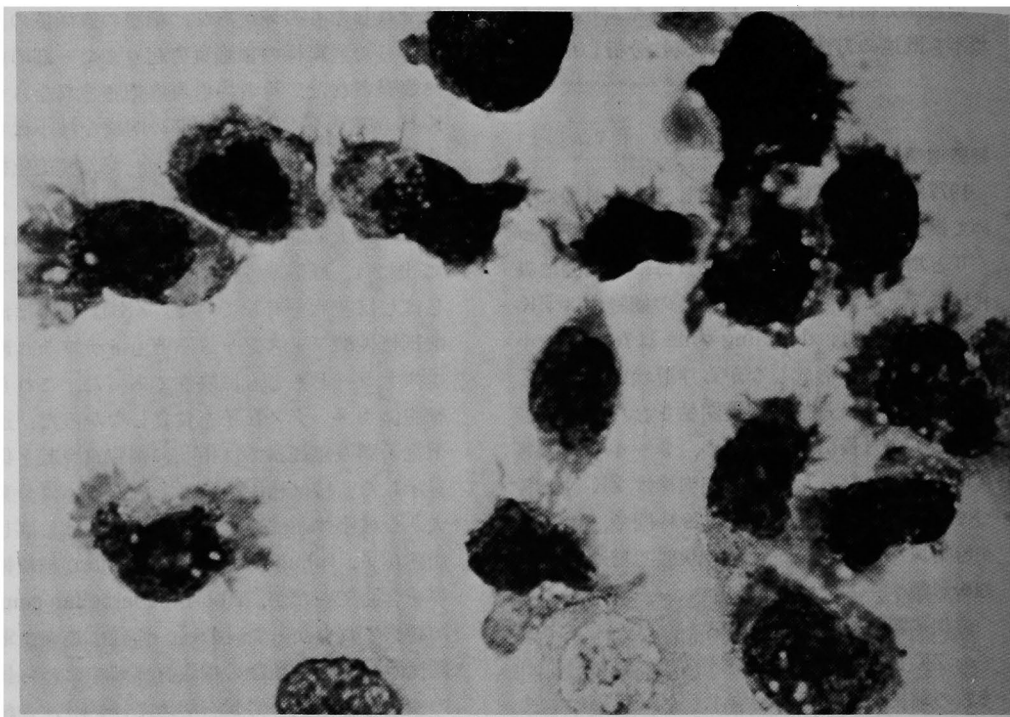


図2. ZK-H細胞のMay-Günwald-Giemsa染色標本

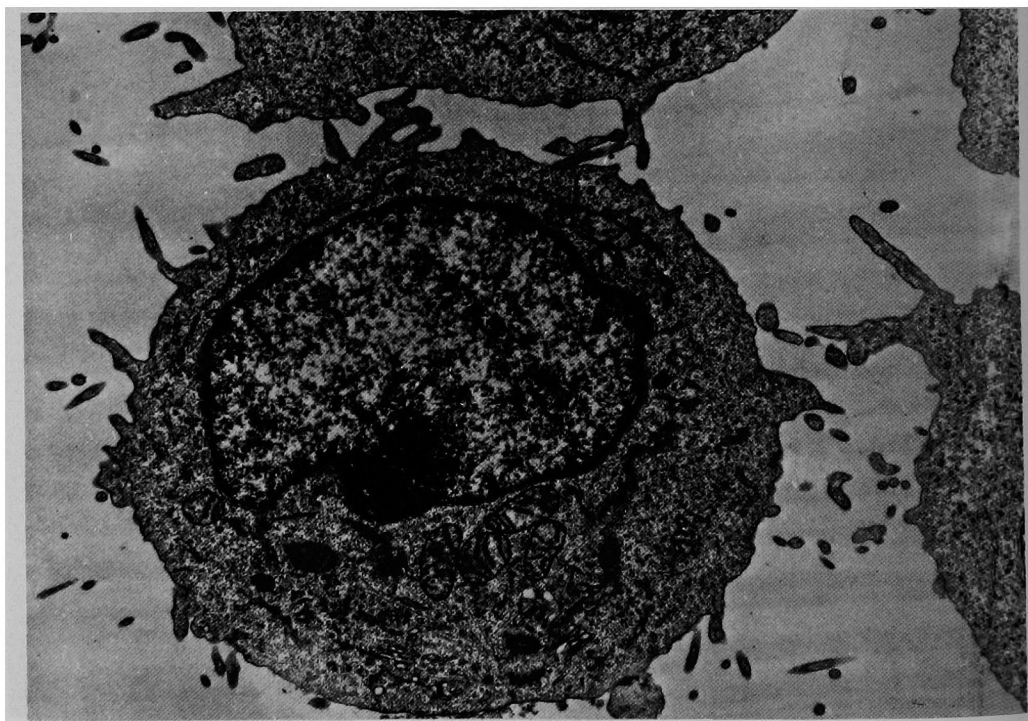


図3. ZK-H細胞の透過電顕像

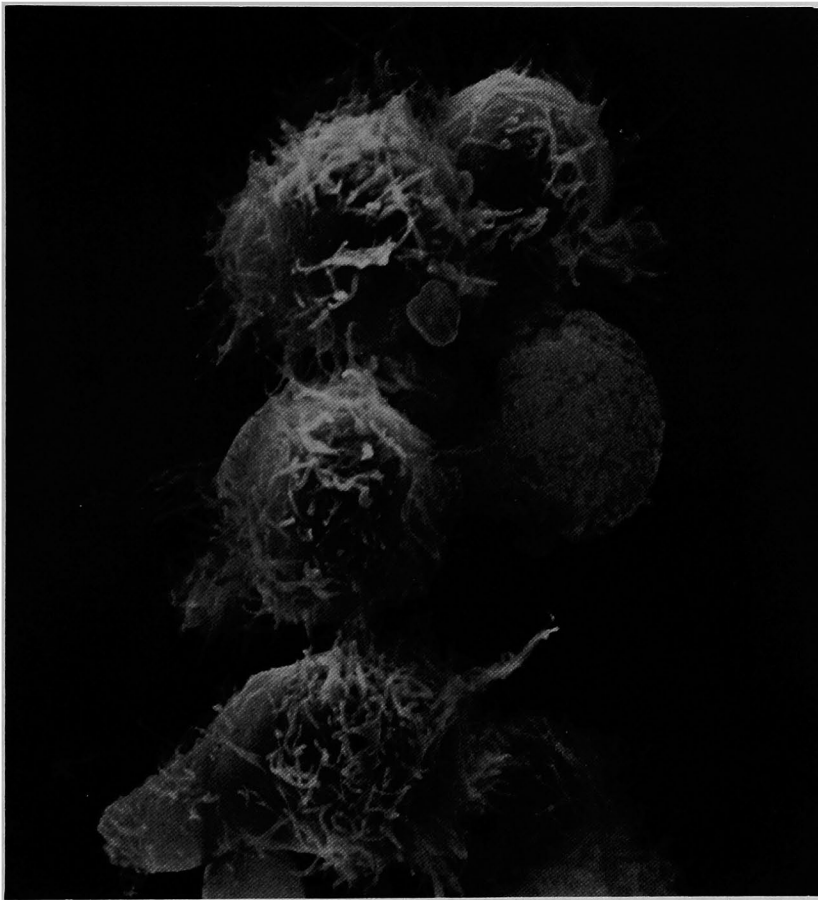


図4. ZK-H 細胞の走査電顕像

関した。

一方、ほとんどの ZK-N 細胞は位相差顕微鏡にて手鏡様の形態を示し、尾部の一部より毛様の突起を示すものもあった(図1b)。メイグリュンワルドーギムザ染色では辺縁の平滑な円形、楕円形あるいは手鏡様の細胞より成り、好塩基性の細胞質は乏しいものから豊富なものまで様々であった。多くの細胞に2~3個の核小体を認めた。

細胞表面マーカー

ZK-H 株については三回表面マーカーを検索したが、培養細胞の90%以上が常に表面 IgG,  $\kappa$  light chain を保有していた(表1)。EA と EA C レセプターはそれぞれ15~29%と92~95%の細胞に認められた。これらの表面マーカーは細胞樹立後 EAC レセプター陽性細胞の増加を除き、培養前の白血病細胞のそれに一致していた。

患者の白血病細胞と培養細胞の両方に表面免疫グロブリン IgG- $\kappa$  が存在することは白血病細胞の単クローン性を示すものである。一方、ZK-N 株については二回表面マーカーを検索したが、いずれの場合にも培養細胞は IgG, IgM, IgA および  $\kappa$ ,  $\lambda$  light chain 陽性であった(表1)。EA と EAC は培養細胞の3%と53%にそれぞれ認められた。これらの表面マーカーは患者の白血病細胞と異なっており、異なった免疫グロブリン陽性細胞が存在することは ZK-N 株が多クローン性であることを示すものである。

EBNA

ZK-H 細胞は *in vitro* 培養5か月後および16か月後の二回検査したが、100%の細胞が EBNA 陽性であった。しかるに、患者の培養前の hairy cell は2度検査したが、全く EBNA 陰性であった。一方、ZK-N 細胞は *in vitro* 培養7か

表2 ZK-H細胞とZK-N細胞の比較

	ZK-H細胞	ZK-N細胞
培養材料	HCL 患者末梢血	
細胞の大きさ (平均直径)	8.8~20 $\mu$ m (14.4 $\mu$ m)	9.6~25.6 $\mu$ m (15.9 $\mu$ m)
組織培養における 増殖パターン	遊離細胞と 小細胞集塊	遊離細胞と 大細胞集塊
doubling time	76 時間	29 時間
最大細胞濃度 /ml	8 $\times$ 10 <sup>5</sup>	4.6 $\times$ 10 <sup>5</sup>
EBNA	陽 性	陽 性
クローン性	単クローン性	多クローン性
核 型	No.2トリソミー	正 常
異種移植	陽 性	NT

NT=Not tested.

月後に検査したが、100%の細胞がEBNA陽性であった。

#### 染色体構成

患者の末梢白血球について2回(1977年4月と9月)PHAを加えることなく培養24時間後に染色体分析を試みたが、いずれのサンプルからも分裂細胞が得られなかった。ZK-H株の染色体構成について培養開始後6か月後(細胞株樹立後1か月後)に検索された。染色体の数は44個~48個の範囲にあり、50個の分裂中期の細胞のうち40個が染色体数47本であった。ギムザバンドによる分析を行なった18個の細胞のうち16個がNo.2トリソミーを有していた(図5)。これら16個の細胞のうち9個においてはNo.2トリソミーが唯一の異常であったが、その他の7個の細胞においてはat randomな染色体数の変化がみられた。No.2トリソミーを欠いていた2つの細胞のうち1個は正常核型で、他はNo.9とNo.10トリソミーを示した。ZK-N株の染色体構成は培養開始7か月後(細胞株樹立後6か月後)に検索され、染色体数、構成ともに正常であった。表2はZK-H細胞とZK-N細胞の比較を示す。

#### 考 按

本研究において著者はHCL患者末梢血より新しいhairy cellの培養株(ZK-H)を培養樹

立した。この細胞株はそれが由来した患者の白血病細胞と同じ表面形質を持っていた。すなわち両方とも毛様の表面形態を示し、表面免疫グロブリンの特異性はIgG<sub>k</sub>であった。これにもかかわらず両者の細胞は次の2点で異なった。すなわち患者の白血病細胞がEBNA陰性であったのに対して、ZK-H株はEBNA陽性であった。また、ほとんどのZK-H細胞が明瞭な核小体をもつリンパ芽球様細胞であったが、培養前の白血病細胞は成熟リンパ球様細胞であった。これまで報告されたhairy cell株にヘルペスタイプのウイルス<sup>20,27)</sup>あるいはEBNAが検出されており(Goldeよりの私信)、ZK-H株を含めてこれらすべての細胞株はin vitroでのEBウイルスによるトランスフォーメーションにより培養樹立された可能性が考えられる。他の可能性はこれらの細胞株はin vitroでパセ JennerウイルスとしてEBウイルスの感染を受けたものであり、EBウイルスは細胞株の樹立には直接的関係を有しなかったという考えである。Bリンパ球のみがEBウイルスに対する表面レセプターをもっていることは周知の事実であり<sup>9),12)</sup>、EBNAの存在はZK-H株がBリンパ球由来であることを一層支持するものである。ZK-H細胞の白血病細胞としての悪性度は、抗リンパ球血清処置新生児ハムスターにZK-H細胞を移植した場合侵潤性の腫瘍が発生することにより示された<sup>13)</sup>。この場合ハムスターに発生した腫瘍がヒトのHCLに極めて類似した特有の組織像を呈したことは甚だ興味深い。

in vitroでhairy cellを増殖させようとする試みはいくつかの研究グループによってなされている。しかし、hairy cellは一般に成熟した形態を有しており、その分裂能力は低いと考えられる<sup>1),5)</sup>ので、ある研究者達の失敗<sup>1),2)</sup>は予期されないことではなかった。他方、Sinkovicsら<sup>20)</sup>は2人のHCL患者の脾臓より長期培養した細胞について簡単に報告した。これらの培養細胞は多数の長い表面絨毛、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ、表面IgGおよびヘルペスタイプのウイルスを有していた。Goldeとその共同研究者達もまた3人のHCL患者から2系のB細胞株<sup>7),18)</sup>と1系のT細胞株<sup>17),18)</sup>の樹立を報告

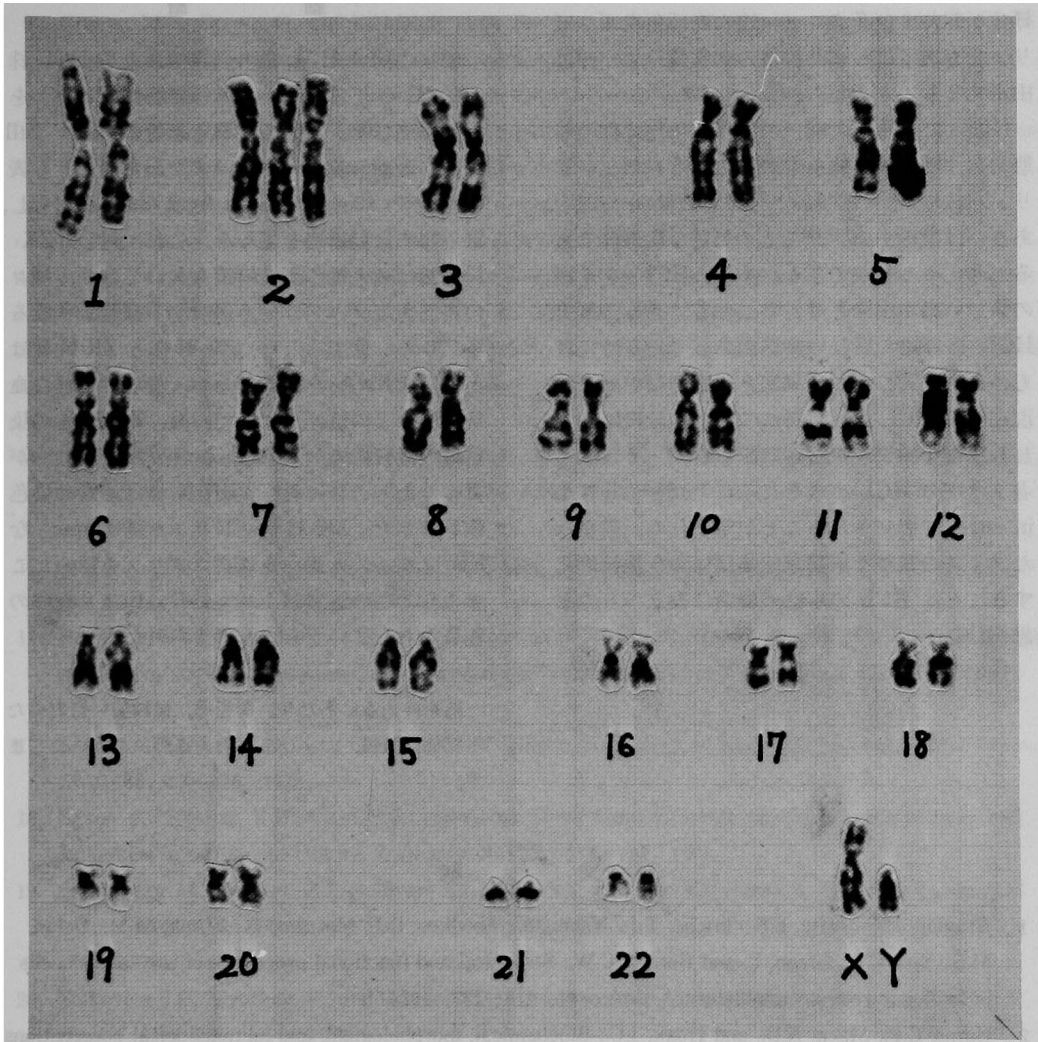


図5 ZK-H 細胞の核型

した。B細胞株はIgMを合成し、T細胞株はEロゼットを形成した。B細胞株はいずれもEBNA陽性であった（Goldeよりの私信）。

HCLに関する細胞遺伝学的研究は少なく、現在まで2、3の報告がなされているに過ぎない。バンディング法が導入される前にYamら<sup>23)</sup>は、HCL患者の脾細胞にAグループの過剰染色体を観察した。最近、Golombら<sup>8)</sup>はHCL患者20例の染色体を研究し、2人の患者に共通した染色体異常を見出した。それらのうち1例はY染色体を欠き、No.12の染色体がトリソミ

であった(46, X, +12)。他の1例もまたY染色体を欠き、その長腕がNo.12の染色体に非常によく似た過剰染色体をもっていた(46, X, +mar)。いずれの患者も急速に病気が進行したので、このような染色体異常の存在は強力な化学療法の施行を正当化するかもしれないことを示唆した。著者のHCL患者においては、その培養細胞がNo.2トリソミーを示したが、摘脾術も化学療法も行なうことなく部分寛解に入り、4年の観察期間中ほとんど無症状に経過している。また、やや遅れてこの患者から樹立された



正常リンパ芽球様細胞株は核型上正常で、手鏡様の形態および多クローン性の表面免疫グロブリンを有することより複数の正常Bリンパ球に由来するものと考えられる。

HCL に共通した唯一の特有な所見は細胞形態であり<sup>33)</sup>、貪食能をもつあるいはもたないBリンパ球<sup>2),3),5),6),7),10),21),24),25),26)</sup>、Tリンパ球<sup>17)</sup>、あるいは単球由来<sup>11),19)</sup>などの異質な疾患群であると考えられる。また、HCL を未知の新しい細胞由来と考えることもできる。事実、HCL を未知の新しい細胞由来と考える研究者もいる<sup>28),30),32)</sup>。白血病細胞と正常細胞の両者が混在する HCL 患者材料についての分析は必ずしも正確な結果を生むとは限らない。それ故、各タイプの HCL よりそれぞれ hairy cell 株が *in vitro* で樹立されることが望まれる。異なったタイプの純粋な培養細胞集団につき比較研究することは HCL の本態の解明に役立つものと思われる。

## 結 語

69才の同一 HCL 患者の末梢血より HCL 株 (ZK-H) と正常リンパ芽球様細胞株 (ZK-N) を培養樹立した。ZK-H 細胞と患者の hairy cell は同じ表面形質を示した。すなわち両方とも表面免疫グロブリン IgG,  $\kappa$  light chain を保有し、絨毛様の表面構造を呈した。これに対し、ZK-N 細胞は絨毛様の表面構造を欠いており、種々の表面免疫グロブリンを保有する細胞より成る多クローン性であった。ZK-H 株と ZK-N 株はともに EBNA を保有したが、患者の新鮮白血病細胞はこの抗原を欠いていた。ZK-H 株の染色体数は47にモードを有し、No. 2 トリソミーが見られた。これに対し、ZK-N 株は正常の染色体を有した。ZK-H 株に Bリンパ球 tropic な EB ウイルスと表面免疫グロブリンを認めたことより、この患者の hairy cell は Bリンパ球の性質を有しているものと考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲いただいた木村郁郎教授、および三好勇夫講師に深謝いたします。

## 文 献

1. Braylan, R.C., Jaffe, E.S., Triche, T.J., Nanba, K., Fowlkes, B.J., Metzgar, H., Frank, M.M., Dolan, M.S., Yee, C.L., Green, I., and Berard, C.W.: Structural and functional properties of the "hairy" cells of leukemic reticuloendotheliosis. *Cancer* 41, 210—227, 1978.
2. Burns, C.P., Maca, R.D., and Hoak, J.C.: Biochemical, morphological, and immunological observations of leukemic reticuloendotheliosis. *Cancer Res.* 33, 1615—1624, 1973.
3. Catovsky, D., Pettit, J.E., Caletto J., Okos, A., and Galton, D.A.G.: The B-lymphocyte nature of the hairy cell of leukaemic reticuloendotheliosis. *Br. J. Haematol.* 26, 29—37, 1974.
4. Cawley, J.C., Burns, G.F., Nash, T.A., Higgy, K.E., Child, J.A., and Roberts, B.E.: Hairy-cell leukemia with T-cell features. *Blood* 51, 61—69, 1978.
5. Debusscher, L., Bernheim, J.L., Collard-Rongé, E., Govaerts, A., Hooghe, R., Lejeune, F.J., Zeicher, M., and Stryckmans, P.A.: Hairy cell leukemia: Functional, immunologic, kinetic, and ultrastructural characterization. *Blood* 46, 495—507, 1975.
6. Fu, S.M., Winchester, R.J., Rai, K.R., and Kunkel, M.G.: Hairy cell leukemia: Proliferation of a cell with phagocytic and B-lymphocyte properties. *Scand. J. Immunol.* 3, 847—851, 1974.
7. Golde, D.W., Stevens, R.H., Quan, S.G., and Saxon, A.: Immunoglobulin synthesis in hairy cell leukemia. *Br. J. Haematol.* 35, 359—365, 1977.
8. Golomb, H.M., Lindgren, V., and Rowley, J.D.: Chromosome abnormalities in patients with hairy cell



- leukemia. *Cancer* 41, 1374—1380, 1978.
9. Greave, M.F., Brown, G., and Rickinson, A.B.: Epstein-Barr virus binding sites on lymphocyte subpopulations and the origin of lymphoblasts in cultured lymphoid cell lines and in the blood of patients with infectious mononucleosis. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 3, 514—524, 1975.
  10. Haegert, D.G., Cawley, J.C., Collins, R.D., Flemans, R.J., and Smith, J.L.: Leukaemic reticuloendotheliosis: A morphological and immunological study of four cases. *J. Clin. Pathol.* 27, 967—972, 1974.
  11. Jaffe, E.S., Shevach, E.M., Frank, M.M., and Green, I.: Leukemic reticuloendotheliosis: Presence of receptor for cytophilic antibody. *Am. J. Med.* 57, 108—114, 1974.
  12. Jondal, M., and Klein, G.: Surface markers on human B and T lymphocytes. II. Presence of Epstein-Barr virus receptors on B lymphocytes. *J. Exp. Med.* 138, 1365—1378, 1973.
  13. Miyoshi, I., Hiraki, S., Hikita, T., Ota, T., Tsubota, T., Tanaka, T., and Kimmura, I.: Hairy cell leukemia: Transplantation into hamsters and Production of tumors. *Am. J. Clin. Pathol.* 71, 105—106, 1979.
  14. Miyoshi, I., Kubonishi, I., Uchida, H., Hiraki, S., Matsuda, Y., Tanaka, T., Masuji, H., and Hiraki, K.: Production of lymphoid tumors in hamsters by direct implantation of normal human peripheral and umbilical cord leukocytes. *Int. J. Cancer* 18, 67—75, 1976.
  15. 三好勇夫, 松田勇蔵, 平木俊吉, 真田浩, 社本幹博, 山下清章, 板垣哲郎, 宮原一喜: Hairy cell leukemia (variant type) の1例: 臨床血液18(1), 45—50, 1977.
  16. Reedman, B.M., and Klein, G.: Cellular localization of an Epstein-Barr virus (EBV) -associated complement-fixing antigen in producer and non-producer lymphoblastoid cell lines. *Int. J. Cancer* 11, 499—520, 1973.
  17. Saxon, A., Stevens, R.H., and Golde, D.W.: T-lymphocyte variant of hairy-cell leukemia. *Ann. Intern. Med.* 88, 323—326, 1978.
  18. Saxon, A., Stevens, R.H., Quan, S.G., and Golde, D.W.: Immunological characterization of hairy cell leukemias in continuous culture. *J. Immunol.* 120, 777—782, 1978.
  19. Scheinberg, M., Brenner, A.I., Sullivan, A.L., Cathcart, E.S., and Katayama, I.: The heterogeneity of leukemic reticuloendotheliosis, "hairy cell leukemia". Evidence for its monocytic origin. *Cancer* 37, 1307, 1976.
  20. Sinkovics, J.G., Gyorkey, F., and Gyorkey, P.: Leukemic reticuloendotheliosis and "hairy cells". *N. Engl. J. Med.* 295, 1016, 1976.
  21. Utsinger, P.D., Yount, W.J., Fuller, C.R., Logue, M.J., and Orringer, E.P.: Hairy cell leukemia: B-lymphocyte and phagocytic properties. *Blood* 49, 19—27, 1977.
  22. Wilcox, M.B., Golde, D.W., and Cline, M.J.: Cytochemical reactions of human hematopoietic cells in liquid culture. *J. Histochem. Cytochem.* 24, 979—983, 1976.
  23. Yam, L.T., Castoldi, G.L., Garvey, M.B., and Mitus, W.J.: Functional cytogenetic and cytochemical study of leukemic reticulum cells. *Blood* 32, 90—101, 1968.
  24. Harvey M. Golomb: Hairy cell leukemia: Unusual lymphoproliferative disease, a study of 24 patients. *Cancer* 42, 946—956, 1978.
  25. Golde, D.W., Quan, S.G., and Cline, M.J.: Hairy cell leukemia: In-vitro culture studies. *Ann. Int. Med.* 85, 78—79, 1976.
  26. Sultan, C., and Marquet, M.: Colony-stimulating capacity of cells of hairy-cell leukemia. *Lancet* 1, 920, 1975.

27. Sinkovics, J.G., Györkey, F., Györkey, P., and Wang, C.H.: Hairy cells in long-term cultures. *Ann. Int. Med.* **85**, 532—533, 1976.
28. Roath, S., and Newell, D.G.: Cell-surface characteristics in hairy-cell leukaemia. *Lancet* **1**, 283—284, 1975.
29. Banerjee, D., Hamdy, H., Bormanis, J., Walker, T., Richter, M.: Leukemic reticuloendotheliosis: Polyclonal surface immunoglobulin on “hairy” cells. *Cancer* **41**, 1804—1810, 1978.
30. Boldt, D.H., Speckart, S.F., MacDermott, R.P., Nash, G.S., and Valeski, J.E.: Leukemic reticuloendotheliosis: “hairy cell leukemia”, functional and structural features of the abnormal cell in a patient with profound leukocytosis. *Blood* **49**, 745—757, 1977.
31. Haak, H.L., de Man, J.C.H., Hijimans, W., Knapp, W., and Speck, B.: Further evidence for the lymphocytic nature of leukaemic reticuloendotheliosis (hairy-cell leukaemia). *Br. J. Haematol.* **27**, 31—38, 1974.
32. Daniel, M.T., and Flandrin, G.: Fine structure of abnormal cells in hairy cell (tricholeukocytic) leukemia, with special reference to their in vitro phagocytic capacity. *Lab. Invest.* **30**, 1—8, 1974.
33. Bouroncle, B.A.: Leukemic reticuloendotheliosis (hairy cell leukemia). *Blood* **53**, 412—436, 1979.

**Studies on hairy cell leukemia**  
**Part I. Establishment of a hairy cell leukemia line**  
**and its characteristics**

**Takao HIKITA**

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. I. Kimura)

A hairy cell leukemia (HCL) line, ZK-H, and a normal lymphoblastoid cell line, ZK-N, were established from the peripheral blood of a 69-year-old male patient. The ZK-H cells and the patient's original hairy cells shared the same surface properties; both possessed membrane-bound IgG with kappa light chains and villous surface structures. The ZK-N cells were devoid of villous surface structures and polyclonal in that they consisted of cells having different membrane-bound heavy and light chains. Both the ZK-H and ZK-N lines carried Epstein-Barr virus (EBV)-determined nuclear antigen, but the patient's fresh leukemic cells lacked this antigen. The ZK-H line had a hyperdiploid chromosome constitution of 47 and trisomy No. 2, but the ZK-N line had a normal chromosome constitution. The presence of membrane-bound immunoglobulin and B-cell tropic EBV in the ZK-H line provides evidence of the B-cell nature of HCL in this patient.