

論文の内容の要旨

論文題目 皮膚悪性リンパ腫における eotaxin の役割

指導教員 佐藤伸一教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 18 年 4 月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 宮垣朝光

ケモカインとはその受容体を発現する細胞の遊走を主な役割とする一群のサイトカインの総称であり、構造上の違いから CC ケモカイン、CXC ケモカイン、C ケモカイン、CX3C ケモカインに分類される。様々な疾患においてケモカインの動態を調べることは、その疾患の病態を理解する上で重要である。

Eotaxin-1、eotaxin-3 は共に CC ケモカインファミリーに含まれ、ケモカイン受容体 (CCR)3 が唯一の受容体である。これらのケモカインは CCR3 を発現している細胞、主に好酸球、好塩基球、一部のヘルパー T 細胞 2 型 (Th2) を遊走させる役割を担っている。当初 eotaxin-1 は種々の組織で恒常的に発現しており、生体のホメオスタシスに関与している可能性が報告された。その後、アレルギー性疾患である喘息やアトピー性皮膚炎において、eotaxin-1 の発現が上昇していることが指摘され、これらの疾患の病態に重要な役割を果たしていると考えられるようになった。さらに、炎症性腸疾患や Hodgkin リンパ腫の病変部においても eotaxin-1 発現の上昇が確認され、アレルギー性疾患以外の疾患でも病態への関与が示唆されている。また、eotaxin-1 はヒトおよびマウス由来の好酸球の培養液中での生存率を上げ、CCR3 を発現している腎細胞癌

の cell line の増殖率を上げることが報告されており、遊走作用以外に細胞のアポトーシスや増殖に関与していることが分かっている。Eotaxin-3 は近年発見された eotaxin ファミリーに属するケモカインであり、eotaxin-1 と同様に種々の臓器で恒常的に発現している。また、喘息、アトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患においても eotaxin-1 と同様に重要な役割を果たしていることが示唆されている。

CD4 ヘルパーT 細胞は、サイトカイン産生プロファイルによって 2 つのサブセットに分けられる。ヘルパーT 細胞 1 型 (Th1) 細胞は、interferon (IFN)- γ や interleukin (IL)-2 を産生し、細胞性免疫に関与している。一方、Th2 細胞は IL-4 や IL-5、IL-6、IL-10、IL-13 を産生し、液性免疫やアレルギーに関与している。Th1 と Th2 細胞は互いに抑制しあい、そのバランスの不均衡は、アレルギーや自己免疫など様々な病態に関与する。Th1 細胞は CXCR3 や CCR5、Th2 細胞は CCR3 や CCR4 などそれぞれ特異的なケモカイン受容体を発現している。前述のように eotaxin-1、eotaxin-3 は CCR3 のリガンドであり、アレルギー性疾患において重要な役割を果たしており、Th2 タイプの反応の鍵となるケモカインである。

リンパ球が単クローン性に増殖したものを悪性リンパ腫といい、Hodgkin リンパ腫および非 Hodgkin リンパ腫に大別され、後者はさらに T 細胞リンパ腫、B 細胞リンパ腫に分類される。リンパ節に原発した節性非 Hodgkin リンパ腫に対して、リンパ節以外に原発したものを節外性非 Hodgkin リンパ腫とよぶが、皮膚原発悪性リンパ腫は消化管原発のものに次いでよくみられる。皮膚原発悪性リンパ腫の大部分が腫瘍細胞が T 細胞の形質をもつ皮膚 T 細胞性リンパ腫 (cutaneous T cell lymphoma: CTCL) である。

菌状息肉症 (mycosis fungoides: MF) および Sézary 症候群 (Sézary syndrome: SS) は CTCL の中で最も高頻度に見られる病型であり、CTCL の約 50% を占める。臨床的には MF は通常境界明瞭な落屑性紅斑で始まり (紅斑期)、一部は年余をかけて扁平浸潤期、腫瘤期と進行し、さらにはリンパ節や内臓へ浸潤する症例もみられる。SS は

末梢血液中の腫瘍細胞、表在リンパ節腫脹、紅皮症、発熱を主症状とし、急速な経過を辿ることが多い。MF、SS は疾患特異的な遺伝子の転座やカリオタイプは見つかっていないが、MF の経過中に SS と同様の症状を呈する症例があることや腫瘍細胞の表面形質が同じことから、同一のスペクトラム上の疾患と考えられている。MF、SS の患者では共に好酸球、IgE の上昇を認め、Th1 サイトカインの産生が低下し、Th2 型の免疫反応が優位であることが示唆されている。この局所における Th2 優位の微小環境は腫瘍細胞に有利であると考えられている。実際に Th1 サイトカインである IFN- γ は MF、SS の治療として有効である。また、MF、SS では病勢マーカーとして血清中乳酸脱水素酵素 (LDH)、可溶性インターロイキン 2 受容体 (sIL-2R) 値が知られている。

皮膚原発未分化大細胞型リンパ腫 (primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma: pcALCL) は、MF、SS に次いで高頻度に見られる CTCL である。臨床的にはドーム状、局面状に隆起した腫瘍や皮下腫瘍として認められ、比較的緩徐に進行することが多い。病理学的には大型の腫瘍細胞がシート状に増殖し、75% 以上の細胞で CD30 陽性を示し、細胞障害性分子の granzyme B、perforin、T-lymphocyte intracellular antigen-1 などが陽性となることも多い。

CTCL の病態における eotaxin-1、eotaxin-3 の関与については今までほとんど検討されていない。過去の報告では MF、SS の腫瘍細胞の大部分は CCR3 を発現していない。一方、pcALCL においては、腫瘍細胞が CCR3 およびそのリガンドである eotaxin-1、regulated on activation normal T cell expressed and secreted (RANTES) を発現していることが報告されており、autocrine により腫瘍の増殖に関与する可能性が示唆されている。Hodgkin リンパ腫の病変部、特に線維芽細胞で eotaxin-1 の発現が強く、組織中の好酸球、Th2 細胞の遊走に関与していることが報告されていることから、今回我々は皮膚悪性リンパ腫における eotaxin-1、eotaxin-3 の関与を検討することにした。腫瘍細胞が CCR3 陰性の MF、SS では Th2 優位の微小環境という観点から、CCR3 陽性の

pcALCLでは腫瘍細胞への直接的影響を検討することにした。

MF、SS患者の血清中ではeotaxin-3、eotaxin-1が上昇しており、病期が進むほど値が高くなっていた。また、血清中のLDH、sIL-2R値と正の相関があった。それらは皮膚病変が改善すると低下し、また増悪と共に上昇していた。免疫組織化学染色では表皮角化細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞にてeotaxin-3の発現の上昇しており、病変の改善とともに発現が低下していた。また、病変部皮膚から単離した線維芽細胞は健康人皮膚のそれよりeotaxin-3、eotaxin-1の発現が高いことをquantitative real time RT-PCRにて確認した。さらに、flow cytometryでは末梢血中のCCR3陽性細胞の割合の上昇を確認し、免疫組織化学染色では病変部皮膚においてCCR3陽性細胞が増加していた。以上よりeotaxin-3、eotaxin-1によってCCR3陽性のTh2細胞が病変部皮膚に遊走し、局所にTh2優位の微小環境を形成し、MF、SSの治療への抵抗や病変の進行に関与していると考えられた。この相互関係を阻害することはTh2優位の環境を破壊し、Th1型の免疫反応を惹起することにつながり、MF、SSの治療に応用できる可能性が示唆された。

Eotaxin-1はCCR3陽性のヒトのリンパ腫細胞株であるJCRB1065細胞の生存を上昇させた。CCR3陽性のマウスのリンパ腫細胞株であるEL-4細胞に関しては増殖を上昇させていることを確認した。また、Western blottingおよびflow cytometryにて、eotaxin-1とCCR3の結合によって、MAPK44/42がリン酸化されることを確認した。さらに、そのリン酸化を阻害することによって生存率や増殖の上昇がみられなくなった。マウスを利用したvivoにおけるEL-4細胞の増殖の検討では、eotaxin-1は腫瘍の増殖を促していた。最後に臨床に戻って、実際の免疫組織化学染色では、pcALCLの腫瘍細胞におけるMAPK44/42のリン酸化を確認した。以上よりpcALCLの腫瘍細胞ではCCR3を介して、MAPK44/42がリン酸化しており、その増殖、生存に関わっていると考

えられた。これより MAPK44/42 のリン酸化を阻害することが、腫瘍細胞の成長抑制につながり、pcALCL の新たな治療となりうる可能性が示唆された。