

審査の結果の要旨

氏名 宮垣 朝光

本研究は皮膚悪性リンパ腫の病態に関与していると考えられているケモカインの働きをより詳細に明らかにするため、臨床サンプルを用いた系およびリンパ腫細胞株を用いた *in vitro*、*in vivo* の系にて、ケモカインの1つである *eotaxin* の役割の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 進行期の菌状息肉症 (MF)、セザリー症候群 (SS) の血清中 *eotaxin-3*、*eotaxin-1* 値は健常人と比して、有意に上昇しており、それらは MF、SS の病勢マーカーである血清中 LDH、soluble IL-2 receptor 値と正の相関を認めた。
2. MF、SS の病変部皮膚のパラフィン切片を用いた免疫組織化学染色にて、表皮角化細胞、真皮線維芽細胞、真皮血管内皮細胞にて *eotaxin-3* の発現を認め、その発現は正常人より強いことを示した。さらに、quantitative real time RT-PCRにて、MF、SS の病変部皮膚から単離した真皮線維芽細胞は健常人のそれと比して、*eotaxin-3*、*eotaxin-1* を強く発現していることを示した。
3. MF、SS の末梢血単核球中の CCR3 陽性細胞の割合は健常人と比して、上昇しており、また MF、SS の病変部皮膚の凍結切片を用いた免疫組織化学染色にて、真皮に浸潤しているリンパ球にて CCR3 陽性細胞が確認された。さらに、病変部皮膚を用いた quantitative real time RT-PCRにて、*eotaxin-3* の発現と CCR3 の発現に正の相関を認めた。
4. Annexin-V-FITC、Propidium Iodide を用いた flow cytometry の結果、*eotaxin-1* はヒトの未分化大細胞型リンパ腫細胞株である JCRB1065 細胞の serum free における生存率を上昇させることを示した。また、cell count、BrdU 取り込みを用いた proliferation assay の結果、*eotaxin-1* は CCR3 陽性のマウスのリンパ腫細胞株である EL-4 細胞の serum free における細胞増殖を促すことを示した。
5. Western blotting および intracellular flow cytometryにて、*eotaxin-1* と CCR3 の結合に伴い、MAPK44/42 がリン酸化されることを示した。また、MAPK44/42 の inhibitor を使用することで、上記の JCRB1065 細胞、EL-4 細胞への効果が抑制されることも示した。

6. マウスの皮膚に EL-4 細胞を注射し、腫瘍を発育させる実験系にても、eotaxin-1 は腫瘍の発育を促進することを示した。さらに、皮膚原発未分化大細胞型リンパ腫の病変部皮膚のパラフィン切片を用いた免疫組織化学染色の結果、腫瘍細胞にて MAPK44/42 のリン酸化を確認した。

以上、1～3の結果より、MF、SS の病変部の真皮線維芽細胞で高発現している eotaxin-3、eotaxin-1 が CCR3 陽性 Th2 リンパ球を遊走し、局所に Th2 優位の微小環境を形成していると考えられた。また、4～6の結果より、eotaxin-1 は CCR3 を発現している皮膚原発未分化大細胞型リンパ腫の腫瘍細胞と結合し、MAPK44/42 のリン酸化を介して、その生存、増殖を促していることを示した。本研究は未解明の点が多くあった皮膚悪性リンパ腫における eotaxin の役割を詳細に明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。