

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16093

研究課題名(和文)びまん性大細胞リンパ腫におけるIL-34異所性発現の意義

研究課題名(英文)the significance of IL-34 ectopically secreted in diffuse large B-cell lymphoma

研究代表者

野依 修 (Noyori, Osamu)

熊本大学・ヒトレトロウイルス学共同研究センター・特定事業研究員

研究者番号：30737151

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：これまで、血液系腫瘍におけるIL-34およびM-CSFの機能についてはほぼ不明であった。びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)の内、比較的予後不良とされるABC型に罹患した患者において、予後良好とされるGCB型の患者よりもIL-34の陽性率が有意に高いことに加え、IL-34陽性の患者で生存率が有意に低い事が分かった。DLBCLにおいて異所性に発現したIL-34は、腫瘍化したB細胞の増殖に寄与するのではなく、腫瘍組織への単球の遊走を誘導しマクロファージの増加を促した結果、病態の増悪に寄与している可能性を示唆する結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

M-CSFおよびIL-34は腫瘍組織における免疫抑制性の腫瘍関連マクロファージの増加を促し、様々な固形腫瘍の増悪に寄与するという負の側面を有することが知られている。本研究では、これらサイトカインは固形腫瘍と類似したメカニズムで血液系腫瘍の増悪にも寄与していることを初めて示した。本課題により、これらサイトカインに共通のレセプターFmsに対する阻害剤が、広範囲の腫瘍に応用できる可能性を示唆する重要な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Infiltration of macrophages through the tyrosine kinase receptor CSF1R is a poor prognosis factor in various solid tumors. However, the significance of CSF1R ligands, particularly, the newly discovered IL-34 in haematological malignancies, is not fully understood. We therefore analysed the role of IL-34 in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), the most common subtype of malignant lymphoma. Several lymphoma tissues showed a clear IL-34 signal, and such signal was detectable in 36% of patients. DLBCL cell lines also expressed IL-34. Interestingly, the percentage of IL-34+ patients in the activated B-cell subtype was significantly higher than that in the germinal centre B-cell subtype. More interestingly, IL-34+ patients showed shorter survival periods and higher number of macrophages in lymphoma tissues. The recruitment of monocytes is likely the first step for the higher macrophage density in the IL-34+ lymphoma tissues. Indeed, IL-34 induced the migration of monocytic cells.

研究分野：実験血液学、細胞生物学、微生物学

キーワード：DLBCL IL-34 M-CSF マクロファージ

1. 研究開始当初の背景

M-CSF および近年同定された IL-34 (Science 2008) は、単球に発現する共通の M-CSF レセプター Fms に作用し単球の増殖、生存およびマクロファージへの分化に必須のサイトカインである。一方、M-CSF や IL-34 は様々な固形腫瘍の増悪に寄与するという負の側面を有する事が明らかになってきた。これらサイトカインは、高頻度にがん組織及び炎症部位で異所性過剰分泌され、病巣部への単球遊走を促し、免疫抑制性のマクロファージ(TAMs) への分化を誘導した結果、腫瘍の拡大・転移を促進する。抗体やキナーゼ阻害剤による Fms シグナルの阻害は複数の腫瘍に有効であるとする研究成果が多く報告され(例: 腱滑膜巨細胞腫 N Engl J Med 2015)、治療標的としての M-CSF-または IL-34-Fms 経路に大きな注目が集まっている。しかし、IL-34 が同定されてから日も浅く、M-CSF の生物活性と比べて不明な点が多い。固形腫瘍における IL-34 の生物活性が徐々に明らかにされつつある一方で、血液系腫瘍における機能についてはほぼ不明であった。

申請者は、Fms に M-CSF と IL-34 の 2 つのリガンドが存在する意義の解明を目指して研究している。その過程で、興味深い事に、複数のリンパ腫・白血病細胞株 (TL-1、Raji、SLVL、Daudi、BALL-1、NALM など) は「M-CSF を産生しないが、IL-34 を高度に産生する」事を見出した。正常リンパ球は IL-34 を産生しないため、これは異所性発現と考えられる。さらに、公データベースの探索から、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) および濾胞性リンパ腫 (FL) 由来の細胞株が IL-34 の mRNA を発現することも見出した。そこで、熊本大学および東海大学の血液内科の協力を得て DLBCL (135 例) および FL (25 例) の腫瘍組織を収集し、熊本大学病理と共同して免疫染色を行った。その結果、DLBCL、FL 共に、IL-34 陽性症例を多数認めた(図 1) 特に DLBCL については、予後良好の GCB タイプより(20%、n=40)、比較的不良の non-GCB タイプに多い事を見出した(42%、n=95)。重要な事に、IL-34 陰性症例に比べ、陽性症例では腫瘍内マクロファージ数が多く(図 2)、かつ生存率が有意に低い事を見出した(図 3)。DLBCL 患者の進行例における病巣部での TAMs 増加と、それによるがん微小環境の形成が DLBCL の病態を増悪化しているとの報告があるが(Scientific Reports 2016)、我々の発見はこのメカニズムを解明する上で重要な知見となる。

2. 研究の目的

これまでの研究成果から、IL-34 は DLBCL の病態に寄与すると考えられた。本課題では、ヒト DLBCL 細胞株を用いて、異所性発現した IL-34 が DLBCL の病態を増悪させる分子メカニズムの解明を目指す。

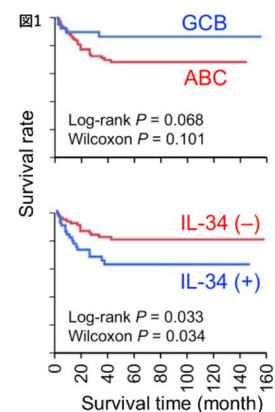
3. 研究の方法

135 名の DLBCL 患者のリンパ組織を用いて、IL-34 陽性率と生存期間およびマクロファージ数の相関性を検討する。種々のヒト DLBCL 細胞株を用いて、IL-34 と M-CSF の産生能、Fms の発現を解析する。さらに Fms 阻害剤を用いて、産生された IL-34 あるいは M-CSF が細胞増殖に及ぼす影響を解析し、DLBCL 患者において B 細胞はオートクラインシグナルで増殖するのか検討する。Fms を強発現した単球系細胞 (TF-1-Fms) を用いて、IL-34 と M-CSF が細胞遊走、増殖に与える影響を比較解析する。

4. 研究成果

(1) ABC 型患者における高い IL-34 陽性率

今回解析対象とした全 135 名の DLBCL 患者の内、約 36% のリンパ腫患者で IL-34 の産生が見られた。年齢や性別による違いは見られなかったが、予後良好の GCB 型と比較して予後不良の ABC 型患者において IL-34 の陽性率が有意に高いことが分かった。



(2) IL-34 陽性患者における生存期間の短縮

ABC 型と GCB 型の間で生存率に有意な違いは見られなかった。しかし興味深いことに、IL-34 陰性患者と比較して IL-34 陽性患者の生存率が有意に低い事が分かった(図 1)。

(3) DLBCL 細胞株の IL-34 発現と意義

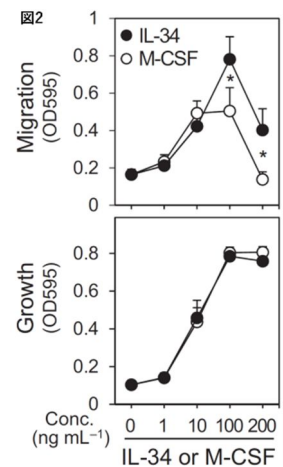
パーキットリンパ腫由来細胞株 DAUDI において IL-34, M-CSF, Fms の mRNA の発現が見られ、培養上清中からは M-CSF よりも高濃度の IL-34 が検出された。さらに Fms 阻害剤添加により細胞増殖能が著しく低下したことから、DAUDI は IL-34/Fms を介してオートクラインシグナルを受容していると考えられた。DLBCL の内、特に ABC 型に由来する細胞株 OCI-Ly3 と U2932 細胞において高度な IL-34 mRNA の発現が見られた一方で、M-CSF mRNA は検出されず、Fms mRNA は低度であった。従って、IL-34 陽性患者において、B 細胞は IL-34 を産生するものの、オートクラインシグナルによる増殖は行っていないと考えられた。

(4) IL-34 陽性患者のリンパ組織へのマクロファージ集積

腫瘍組織浸潤マクロファージの増加は DLBCL の病態増悪に寄与することが知られている。腫瘍組織浸潤マクロファージのマーカーとして CD68、CD163 が広く使用されるが、これに一致しない例も多い。そこで本研究では、CD163 に加えて、広範囲のマクロファージに発現する Iba-1 についても染色した。その結果、IL-34 陽性の患者において有意に Iba-1 陽性マクロファージ数が増加していることが分かった。

(5) IL-34 による単球系細胞の遊走誘導

これまでに M-CSF は単球の増殖、遊走誘導能がある事が知られている。本研究では、IL-34 も同様に Fms を強発現した単球系細胞 (TF-1-Fms) の増殖を促進するのみならず、サイトカイン濃度依存的に細胞の遊走を誘導することが分かった。IL-34 は Fms 以外のレセプターにも結合することが知られるが、Fms 特異抗体の存在下で細胞の遊走は顕著に阻害されたことから、IL-34 による細胞遊走の誘導は Fms シグナル依存的に起こっていると考えられた(図 2)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Noyori Osamu, Komohara Yoshihiro, Nasser Hesham, Hiyoshi Masateru, Ma Chaoya, Pan Cheng, Carreras Joaquim, Nakamura Naoya, Sato Ai, Ando Kiyoshi, Okuno Yutaka, Nosaka Kisato, Matsuoka Masao, Suzu Shinya	4. 巻 8
2. 論文標題 Expression of IL-34 correlates with macrophage infiltration and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical & Translational Immunology	6. 最初と最後の頁 e1074
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cti2.1074	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Osamu Noyori
2. 発表標題 Impact of ectopically secreted IL-34 on the pathology of diffuse large B-cell lymphoma
3. 学会等名 IRCMS symposium
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----