

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461421

研究課題名(和文) 転写後調節因子TFLによるB細胞リンパ腫発症メカニズムの解明

研究課題名(英文) The clarification of the mechanism of B-cell lymphoma progression with post-transcriptional factor, TFL.

研究代表者

皆川 健太郎 (Minagawa, Kentaro)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：80432574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ腫発症モデルマウスにTFLを欠失させると、死亡時期が早まる。このマウスの骨髄には特殊な細胞集団が存在し、TFLを欠損させることである分子が異常に増加していることが分かった。リンパ腫において当該分子を含む免疫異常が早期死亡につながる可能性が考えられる。TFLの欠損はリンパ腫患者の約2割でも認められ、予後の悪いリンパ腫症例の半数にTFLの低下が認められることから、当該分子がいかにBリンパ腫の進展にかかわっているのかを今後明らかにしたい。さらにTFLの免疫染色での患者標本の検討も行いTFLの欠損と標的分子の有無がリンパ腫の予後にかかわる可能性を検討中である。

研究成果の概要(英文)：We found the post-transcriptional factor, TFL, from a lymphoma patient. TFL modulates many cytokines after inflammation to localize its inflammatory effect. We found TFL deficient mice are prone to have worse prognosis in lymphoma induced mice. Further we found a certain molecule was abnormally controlled without TFL. In clinical setting, the deficit of TFL are worse prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. It is of interest whether TFL would be the reliable and effective prognosis marker for B-cell lymphoma.

研究分野：血液内科

キーワード：TFL 転写後調節 リンパ腫 mRNA

1. 研究開始当初の背景

我々はリンパ腫の形質転換の際に新規の分子 TFL を同定した。TFL は転写後調節因子でありサイトカインの制御を行っていることが明らかとなった。また、TFL は炎症にตอบสนองし発現誘導され炎症を鎮静化する役割がある。これら TFL の遺伝子欠損はリンパ腫患者の約 2 割で認められ、予後の悪いリンパ腫症例の半数以上で TFL の発現低下が認められた。また、リンパ腫発症モデルマウスも TFL を失うことで死亡時期が早まることが明らかとなった。

白血病やリンパ腫といったがん治療として近年、チロシンキナーゼ阻害剤や CD20 モノクローナル抗体に代表される分子標的療法が盛んになっている。これらはがん細胞の増殖を抑えたり、がん細胞自身にアポトーシスを誘導したりしてがん細胞を直接制御するという治療戦略である。また、がん幹細胞に関する知見も増えてきており TIM-3 や CD47 といった白血病幹細胞特有の標的抗原も同定されておりこれらのがん細胞制御による治療戦略はますます盛んになってきている。しかしながらかん標的治療が臨床応用されて 10 年以上が経過した今でもがんの死亡率は依然高いままである。がん細胞の詳細な研究が進む一方で環境が変化することにより正常細胞ががん化を起こすようなことも知られており、がんを取り巻く環境の制御もこれからのがん治療の新しい戦略となりうる。実際、IL-6 や TNF α といったサイトカインを抑えることで腫瘍をコントロールできる可能性についても近年盛んに報告されており、がんに伴う炎症を抑えるという治療戦略は単に患者さんの QOL を向上させるのが目的ではなく、新たながん治療戦略として注目を浴びつつある。

2. 研究の目的

私たちは濾胞型リンパ腫 (FL) からびまん性

大細胞型リンパ腫 (DLBCL) へとトランスフォームする過程で比較的高頻度に起こる遺伝子異常である 6 番染色体長腕(6q)の欠失に着目し免疫グロブリンの軽鎖 (Ig κ) との転座で (t(2;6)転座)染色体異常をきたした症例を見つけ (*Cancer Genet Cytogenet.* 147(2):128-33,2003)、Ig κ をプローブとして 6q 上の切断点を同定し、それが未知の遺伝子であることを報告した。その遺伝子を **Transformed follicular lymphoma gene (TFL)** と名付け (*Br J Haematol.* 139(1):161-3,2007)、この遺伝子の機能解析を進めた。この遺伝子はリンパ球に主に発現しており、細胞の増殖に伴って発現が上昇する蛋白であった。TFL は mRNA に結合するとされるジンクフィンガーモチーフを有し、その局在は細胞質に存在する mRNA 分解の場である細胞質内顆粒に存在することを明らかとした (*Mol Cancer Res.* 7(6):880-9,2009)。次いで TFL 遺伝子欠損 (*TFL*^{-/-})マウスを作製した。*TFL*^{-/-}マウスのリンパ球を刺激すると様々なサイトカインの上昇が認められ、IL-2, IL-6, IL-10, IL-17a が TFL による mRNA 制御を受けていることを明らかとした。多発性硬化症のモデルである実験的自己免疫性脳炎において *TFL*^{-/-}マウスは有意差を持って麻痺の遷延が起こり、その原因が脳内に浸潤した Th17 細胞での IL-17a の制御異常に起因していることを報告した (*J Immunol.* 2014 Feb 15;192(4):1512-24.)。TFL のサイトカインの制御は脳内の T リンパ球に限局しており、そのメカニズムは炎症を起こしている部位特異的であることが示唆された。以上の知見より TFL は炎症に伴い誘導され、RNA 制御により炎症性サイトカインをコントロールし炎症の遷延を防ぐ分子であると考えられている。

次に我々は B 細胞性リンパ腫のがん化における TFL の役割を検討したいと考え、リン

パ腫の遺伝子異常としてよく知られる分子に注目した。比較的早期にリンパ腫を効率的に発症するマウスを用いて TFL を欠損させると、注目すべきことに TFL を欠失した群で有意に死亡時期が早まった。しかしながらマウスの腫瘍の大きさには差が認められず直接死亡を早めている原因は腫瘍そのものではないことが示唆された。

興味深いことにリンパ腫の患者の TFL が欠失は FISH 法による検討で、約 17% に TFL 遺伝子を含む領域の欠失を認めた。さらに、TFL のモノクローナル抗体による約 250 例の FL・DLBCL の検体で TFL の発現の半定量では DLBCL の約 35% で TFL の発現が認められず、DLBCL 166 例に対して Hans 法を用いて比較的予後がよい Germinal center B-cell lymphoma (GCB) と Activated B cell type (ABC) に分けて検討したところ ABC では 7 割近くで TFL を欠損が認められた。

リンパ腫の予後予測精度向上とメカニズム解明のため、サイトカインの制御異常がリンパ腫発症にどのように関わるのかを調べる。また、近年 TFL は脱ユビキチン酵素として NFκB 経路の制御にも関わっていることが報告されており、本機能がリンパ腫の悪性化に寄与しているかどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

TFL のリンパ腫悪性化のメカニズムを探るため、リンパ腫発症モデルマウスの検討においてリンパ腫発症時期のリンパ腫標本を作製し TFL の欠失により組織の悪性化に変化が見られないかを検討する。それぞれの組織における TFL の発現、サイトカイン、NFκB 経路の異常などにつき網羅的に検討する。TFL の発現低下は plasmablast への B リンパ球分化に関わっている可能性があるためそれらを調節する分子との関わり合いについて重点的に検討する。miRNA の制御に関しても TFL ファミリーについて報告されて

おり、TFL についてもリンパ腫モデルで検討を行う。

4. 研究成果

リンパ腫発症モデルマウスに TFL を欠失させると、腫瘍量の増加はないものの死亡時期が早まる。このマウスの骨髄には特殊な細胞集団が存在し、TFL を欠損させることである分子が異常に増加していることが分かった。リンパ腫においては当該分子の発現は腫瘍細胞でなく支持細胞などが産生しており、腫瘍周辺環境の変化に伴い腫瘍周辺の免疫異常が早期死亡につながる可能性が考えられる。TFL の欠損はリンパ腫患者の約 2 割でも認められ、予後の悪いリンパ腫症例の半数に TFL の低下が認められることから、当該分子がいかに B リンパ腫の進展にかかわっているのかを今後明らかにしたい。

さらに TFL の免疫染色での患者標本の検討も行い TFL の欠損と標的分子の有無がリンパ腫の予後にかかわる可能性を検討中である。近年 TFL はファミリー分子を含め研究が盛んな分野であり世界的にも注目されている。中でも TFL に関する研究においては当研究室が群を抜いて研究を進めておりこれからの研究成果が期待できる。

リンパ腫は免疫不全による感染症などの合併症のため、白血病と比べ同種移植の成績も良好ではない。同様に化学療法などで腫瘍自体の制御ができていてもリンパ腫に伴う免疫異常により死亡するケースも見られる。リンパ腫による標的分子異常を補正することができればそのようなケースを防ぐことができ、患者さんの生命予後改善に寄与できるかもしれない。また炎症遷延を抑えるために誘導されている“癒し”の分子 TFL が疾患特異的な新規炎症マーカーともなりうる。リンパ腫における TFL が制御するサイトカインは他にも見つかる可能性があり、リンパ腫のメカニズム解明に大きく寄与できるものと考

える。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

TFL, a hidden post-transcriptional modulator behind inflammation

Kentaro Minagawa, Yoshio Katayama, Toshimitsu Matsui
Inflammation & Cell Signaling 2014; 1: e244.

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称: がん検出方法

発明者: 松井 利充、皆川 健太郎

権利者: 国立大学法人神戸大学

種類: 特許

番号: 特許第 5 3 5 4 4 8 4 号

取得年月日: 2013/9/6

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.kansai.meti.go.jp/2giki/kansai-seeds/2014/pdf/kou/kou263minagawa-kou.pdf>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

皆川 健太郎 (MINAGAWA, Kentaro)

神戸大学医学研究科 総合内科 研究員

研究者番号: 80432574

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: