

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 29 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500427

研究課題名(和文) 中枢神経原発悪性リンパ腫の免疫回避機構におけるエンドセリン受容体Bの役割

研究課題名(英文) The immune escape mechanism in primary central nervous system lymphomas: the role of the endothelin B receptor

研究代表者

杉田 保雄 (SUGITA, YASUO)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：80216316

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：中枢神経系原発悪性リンパ腫(PCNSL)におけるエンドセリンB受容体(EBR)およびケモカイン発現と腫瘍浸潤リンパ球(TIL)の関係が検討された。PCNSL症例24例中EBRは12例で陽性であった。CXCL12陽性は22例であり、CXCL13陽性18例で陽性であった。CXCL13陽性細胞は新生血管周囲に集簇し、またその周囲にTILが増加した。一方、EBR陽性例ではEBR陰性例に比較してTILが減少した。以上からPCNSLはEBRおよびCXCL13を介してTIL中のcytotoxic T cellを調整することにより宿主側の免疫を回避する。

研究成果の概要(英文)：In the present study, in order to clarify the immune escape mechanism of primary central nervous system lymphomas (PCNSL), the expression of endothelin B receptor (ETBR) and chemokines (CXCL12,13) in 24 PCNSL was investigated. CXCL12 was expressed by lymphoma cells in different brain cells in 22/24 cases. CXCL13 expression was identified in tumor cells in 18/24 cases. In addition, tumor infiltrated lymphocytes (TIL) accumulated in areas with expression of chemokines, particularly of CXCL13. ETBR expression was detected in 12/24 cases. Positive ETBR cases were associated with a paucity of TIL, particularly of cytotoxic T cells, whereas negative ETBR cases were associated with an abundance of TIL. These results indicate that CXCL12,13 up-regulation may be differently linked to the development of PCNSL and to the accumulation of TIL. In addition, ETBR expression by lymphoma and endothelial cells may mediate trafficking of TIL, which may explain the immune escape processes of PCNSL.

研究分野：神経病理学

キーワード：中枢神経系原発悪性リンパ腫 エンドセリンB受容体 免疫回避 腫瘍浸潤リンパ球 ケモカイン

### 1. 研究開始当初の背景

免疫系は悪性腫瘍細胞の排除に働くと考えられてきたが、むしろ積極的に腫瘍の増殖浸潤転移を促進する場合も明らかになった。一方、腫瘍細胞自身が免疫抑制分子や免疫抑制細胞を誘導して免疫抑制環境を構築することも明らかになっている。中枢神経系原発(PCNS)リンパ腫においても TIL の多寡が患者の予後因子となることが報告されている。最近、Buckanovich et al. は卵巣癌の腫瘍細胞においてエンドセリン B 受容体の過剰発現は TIL の非存在や患者の生存期間の短縮との相関性を明らかにした (*Buckanovich et al. Nature Medicine 2007;14:28-36*)。一方、申請者ら PCNS リンパ腫の病理組織像の特徴として腫瘍細胞が血管周囲に集簇を示して浸潤することに着目して PCNS リンパ腫の脳内進展時の腫瘍血管新生の特徴について明らかにした (*Sugita Y. et al. J Neuro-oncol 2007;82:249-256*)。さらに腫瘍血管新生にリンパ腫細胞、脳内血管、ニューロン、髄膜からのケモカイン発現が関与することを明らかにした (*Terasaki M, Sugita Y. et al. Brain Tumor Pathol 2011;28:89-97*)。したがって申請者らは以上の点を踏まえて「PCNS リンパ腫細胞は Virchow-Robin 腔に集簇した後に glia limitans perivascularis を破壊して脳実質に浸潤増殖する。その際の腫瘍新生血管のエンドセリン B 受容体の過剰発現は腫瘍へホーミングする T 細胞を障害する。すなわちエンドセリン B 受容体の過剰発現は血管内皮の障壁機能を仲介して宿主の免疫機能を無効化する。」という仮説を立て、エンドセリンおよび受容体の PCNS リンパ腫の診断、治療の新しいターゲットになりうると考えて研究を開始した。

### 2. 研究の目的

本施設で蓄積された PCNS リンパ腫症例を対象としてエンドセリン B 受容体を解析、検討する。対象となる PCNS リンパ腫における EB ウイルス関与を蛋白レベル、in situ hybridization (ISH) で検出する。EB 陽性例と EB 陰性例についての比較検討を行い、エンドセリンおよび受容体の種類、発現量などの違いを明らかにする。

### 3. 研究の方法

過去 10 年間の PCNS 症例 24 例を対象にした。免疫染色で腫瘍細胞、血管内皮細胞で

の EBR と CK, CXCL12, CXCL13 およびその受容体、腫瘍浸潤 T cell-subset (TIA-1, FOXP3) について検討した。腫瘍新生血管については CD105 により評価した。EBR, CXCL12, CXCL13 の評価は血管および腫瘍細胞の標識率により 3 段階で評価した (1+:0-5%, 2+:5-50%, 3+:50-100%)。血管内皮細胞の陽性は 5 個以上/x400 とし、T cell-subset は標識数/x400 によった。

### 4. 研究成果

EBR は 24 例中 12 例で陽性 (1+:4, 2+:5, 3+:3) であった (図 1, 4)。CXCL12 陽性は 24 例中 22 例 (1+:5, 2+:14, 3+:3) であり、血管内皮細胞は全例で陽性所見を示した。CXCL13 陽性は 24 例中 19 例 (1+:10, 2+:6, 3+:3) であった (図 2, 3)。CD105 陽性血管は 24 例中 22 例であった。CXCL13 陽性細胞は CD105 陽性の血管周囲に集簇する傾向がみられた (図 5)。またその周囲に TIL が増加する傾向がみられた。EBR 陽性例では TIA-1, FOXP3 陽性の TIL 数の平均値はそれぞれ  $13.58 \pm 14.2$ ,  $2.17 \pm 3.07$  であり、陰性例では  $38.30 \pm 39.61$ ,  $9.93 \pm 16.97$  であった。TIA-1 陽性 TIL については EBR 陽性例は陰性例よりも有意に少なかったが ( $P < 0.001$ )、FOXP3 陽性 TIL においても有意差がみられた ( $P < 0.05$ ) (図 6)。なお、研究目的に挙げていた EBV 症例と EBR との関係は EBV 症例数が少なかったために結論を得られなかった。

以上から PCNS リンパ腫の免疫回避機構における EBR の役割は下記のメカニズムが考えられる。

- (1) PCNS リンパ腫細胞は EBR を介して TIA-1 で標識される cytotoxic T cell を調整することにより宿主側の免疫を回避する。
- (2) PCNS リンパ腫は CXCL13 を発現して TIL を調整している。

図 1

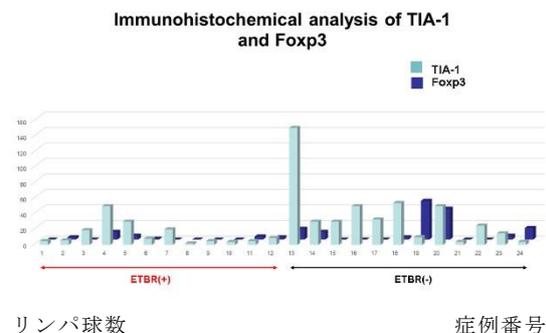
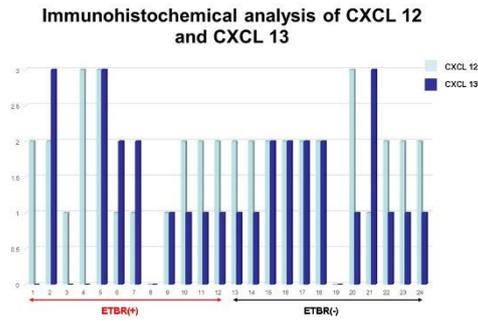


図 2

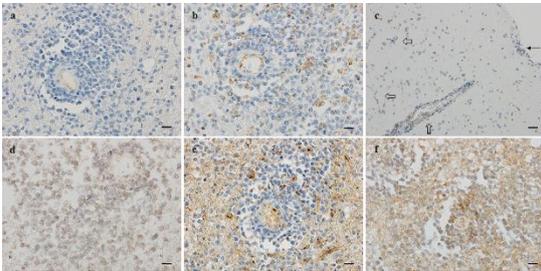


リンパ球数

症例番号

図 3

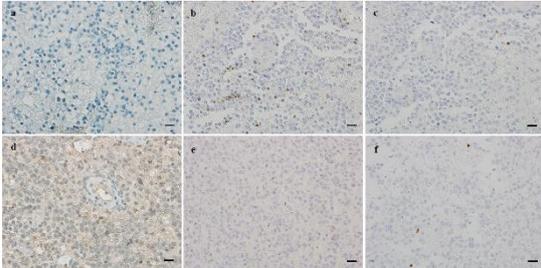
PCNS リンパ腫における CD105 およびケモカイン, ケモカイン受容体の発現



a:CD105, b,c:CXCL12, d:CXCR4, e:CXCL13, f:CXCR5 (bar:20 μ m)

図 4

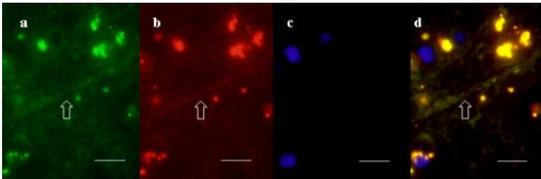
PCNS リンパ腫における EBR および TIA-1, FOXP-3 の発現



a, d:EBR, b, c:TIA-1, e, f:FOXP-3 ((bar:20 μ m)

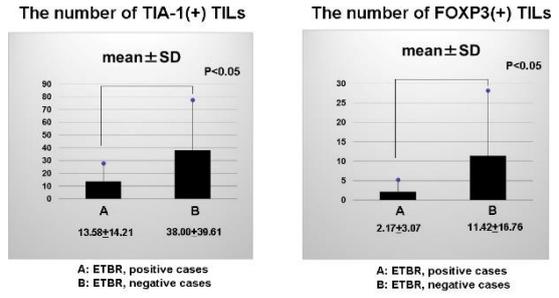
図 5

EBR および CD105 の二重染色



a:CD105, b:ETBR, d:DAPI, e:merged (bar:20 μ m)

図 6



### 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)

Sugita Y, Terasaki M, Nakashima S, Ohshima K, Morioka M, Abe H. The perivascular microenvironment in primary central nervous system lymphomas: the role of chemokines and the endothelin B receptor. Brain Tumor Pathology (2015)32:41-48.

[学会発表] (計 3 件)

- Sugita Y, Terasaki M, Nakashima S, Ohshima K, Morioka M, Abe H. The perivascular microenvironment in primary central nervous system lymphomas: the role of chemokines and the endothelin B receptor. 91th Annual Meeting of American Association of Neuropathologists. June 11, 2015, Grand Hyatt Denver (Denver・Colorado・USA)
- 杉田 保雄, 寺崎 瑞彦, 中島 慎治, 大島 孝一, 森岡 基浩. 中枢神経系原発悪性リンパ腫における免疫回避機構: エンドセリンB受容体とケモカインの役割. 第104回日本病理学会総会, 4月30日, 2015, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)
- 杉田 保雄, 寺崎 瑞彦, 中島 慎治, 大島 孝一, 森岡 基浩. 中枢神経系原発悪性リンパ腫における免疫回避機構:ケモカインCXCL12, CXCL13と浸潤リンパ球の役割. 第32回日本脳腫瘍病理学会学術集会. 5月24日, 2014, あわぎんホール (徳島県・徳島市)

4.

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 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 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

杉田 保雄 (SUGITA YASUO)  
久留米大学・医学部・教授  
研究者番号：80216316

##### (2) 研究分担者

大島 孝一 (OHSHIMA KOICHI)  
久留米大学・医学部・教授  
研究者番号：50203766

##### (3) 研究分担者

寺崎 瑞彦 (TERASAKI MIZUHIKO)  
久留米大学・医学部・准教授  
研究者番号：70320223

##### (4) 連携研究者

( )

研究者番号：