

令和元年6月26日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15381

研究課題名(和文) 血球貪食性組織球肉腫は腫瘍なのか？マクロファージの自己認識の破綻からのアプローチ

研究課題名(英文) Is hemophagocytic histiocytic Sarcoma a malignant tumor? Approach from the failure of Macrophage self-recognition

研究代表者

高橋 雅 (Takahashi, Masashi)

鹿児島大学・農水産獣医学域獣医学系・准教授

研究者番号：40750419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：犬の血球貪食症候群と類似した特徴を有するヒトの血球貪食症候群ではCD47-SIRP シグナルによる貪食抑制シグナルを破綻させることが発症と関与していることが報告されている。犬において血球貪食症候群の病態を明らかにするため、このCD47-SIRP シグナルに関する基礎的検討を計画した。健康犬の各血球におけるCD47およびSIRP の発現分布をフローサイトメトリーにより評価し、それぞれヒトの血球での発現と類似していることを明らかにした。さらに、抗体などの条件検討により免疫組織化学によって脾臓のマクロファージにおけるSIRP の発現を評価することが可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究より犬におけるCD47およびSIRP の発現に関する基礎的情報を得ることができた。今回得られた知見をもとに、犬の血球貪食性組織球肉腫の病態を明らかにするための研究へとすすめることができる。これまで悪性腫瘍と考えられている本疾患がマクロファージの貪食能の異常による疾患であることを評価するための研究へとつながり、これまでとは異なる治療アプローチの発見に有用となる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：hemophagocytic syndrome in dogs has similar characteristics to hemophagocytic syndrome in human. It has been reported that disruption of the phagocytosis-suppressing signal by the CD47-SIRP signal is involved in the onset of hemophagocytic syndrome. To clarify the pathophysiology of hemophagocytic syndrome in dogs, we planned a basic study on CD47-SIRP signal in dogs. The expression distribution of CD47 and SIRP in each blood cell of a healthy dog was evaluated by flow cytometry and revealed to be similar to the expression in human blood cells, respectively. Furthermore, we evaluate the expression of SIRP in the spleen by immunohistochemistry.

研究分野：獣医学

キーワード：組織球肉腫 犬 マクロファージ cd47 SIRP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

イヌの組織球増殖性疾患は、反応性増殖であると考えられる反応性組織球症、良性腫瘍である皮膚組織球腫症候群、悪性腫瘍である組織球性肉腫症候群の3つに分けられている。組織球性肉腫症候群はさらに樹状細胞由来のものを組織球肉腫(孤立性もしくは播種性)、マクロファージ由来のものを血球貪食性組織球肉腫(HHS)と細分類されている。組織球性肉腫症候群はバーニーズマウンテンドッグ、フラットコーテッドレトリバー、そして日本国内ではウェルシュコーギーペンブロークが他の犬種と比較して明らかに罹患率が高く、その発症に遺伝的要因も関係していると考えられている。組織球肉腫に関してはロムスチン(CCNU)などによる化学療法が一過性に奏効することがあると報告されているが、効果は限定的であり予後不良の疾患である。さらに、血球貪食性組織球肉腫に関しては有効な治療に関する報告は存在せず、応募者らが以前報告した回顧的研究においてもHHSのイヌの生存期間の中央値はわずか11日であった(Takahashi M. et al., J Vet Med Sci, 76: 661-666, 2014)。したがって、血球貪食性組織球肉腫に対する治療法の確立は、小動物臨床の分野において早急に行って行かなければならない事項である。

血球貪食性組織球肉腫は脾臓などのマクロファージの悪性腫瘍とされているが、反応性の疾患であるヒトの血球貪食症候群(Hemophagocytic syndromes:HPS)と類似点を多くもっている。さらに、腫瘤を形成する組織球肉腫とは異なり、初期には脾臓に腫瘤を形成しないことや、増殖している細胞は分化している組織球主体であり、細胞分裂像などの異形成所見や多核巨細胞の出現頻度も少ない腫瘍性疾患ではない可能性を示唆する所見がある。それに対して血球貪食症候群はさまざまな原因によって正常な免疫反応が破綻し、高サイトカイン血症になることでマクロファージが増殖・活性化し血球貪食像を呈する病態である。血球貪食症候群では、CD47-SIRP シグナルによるマクロファージの貪食抑制シグナルを破綻させることが発症と関与していることが報告されている。

そこで応募者らはイヌの血球貪食性組織球肉腫の病態の把握のためにCD47-SIRP シグナルに着目し、その基礎的研究として本研究を計画した。また、研究計画の初年度に予定し実施していた犬のCD47およびSIRPのクローニングおよび塩基配列の決定は、他の研究グループにより発表されたため、応募者らは研究の中断をした。

2. 研究の目的

イヌの血球貪食性組織球肉腫は、組織球肉腫のなかでも脾臓および骨髄のマクロファージ由来の腫瘍性疾患と分類されている。これまでいくつかの化学療法が試されているが、有用な治療は報告なく予後不良の疾患である。したがって、血球貪食性組織球肉腫に対する新規治療法の確立は早急に行っていかなければならない事項となっている。このイヌの血球貪食性組織球肉腫は、マクロファージによる貪食・増殖の調節が破綻し非腫瘍性にマクロファージが増殖する疾患として医学領域で知られている**血球貪食症候群と類似している**点がある。そこでマクロファージによる貪食の調節に重要な役割を果たし、血球貪食症候群の病態にも関与が報告されているCD47-signal regulatory protein alpha 結合による自己細胞認識システムがイヌの血球貪食性組織球肉腫の病態に関連しているか検討し、新規治療を確立するために本研究を計画した。本期間中は、犬におけるCD47およびSIRPに関する基礎的検討として正常の血球における発現分布を評価した。また、実際の血球貪食性組織球肉腫の症例におけるCD47およびSIRPシグナルの関与を評価するために免疫組織化学により脾臓マクロファージ上に発

現している SIRP を評価した。

3. 研究の方法

(1) 健常犬の正常血球における CD47 および SIRP の発現分布の解析

末梢血から各血球を比重遠心法などにより各血球を分離し、フローサイトメトリーを用いて各血球における CD47 および SIRP の発現を評価した。

(2) 免疫組織化学によるマクロファージ上の SIRP の評価

組織学的に異常を認めない脾臓組織のホルマリン固定パラフィン包埋標本を利用して、脾臓に存在するマクロファージ上の SIRP の発現を評価するための免疫組織化学の条件を検討した。

4. 研究成果

1) まず基礎的検討として、健常犬の各血球および各臓器における CD47 および SIRP の発現量をフローサイトメトリーにより定量した。CD47 は、末梢血中の単球、好中球、リンパ球、赤血球、血小板のいずれの細胞においても発現していた。一方、SIRP は単球および好中球において発現が確認され、いずれもヒトでの発現分布と同様の結果であった。

(2) 犬の脾臓内マクロファージにおける SIRP を免疫組織化学により評価するための適切な抗体濃度および抗体賦活化の条件を決定した。

研究期間中に本研究の対象としている血球貪食症候群の症例に遭遇しなかったこともあり、計画していた研究が実施できなかった点もあるが、本研究で得られた知見をもとに今後は血球貪食性組織球肉腫における CD47-SIRP シグナルの関与に関して研究を継続していく。

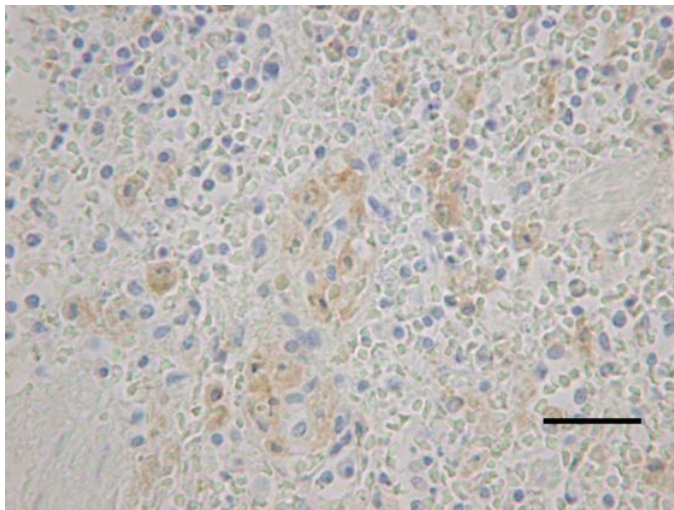


図 犬 脾臓組織. 抗 SIRP 抗体による免疫組織化学.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 0 件)

〔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：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。