

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：32607
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2018～2020
課題番号：18K08371
研究課題名(和文) TGFβシグナル抑制分子CD109の造血における機能解析

研究課題名(英文) Biological function of CD109 in hematopoiesis.

研究代表者
鈴木 隆浩 (Suzuki, Takahiro)

北里大学・医学部・教授

研究者番号：40345210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：CD109はTGFβ制御を介して、造血器腫瘍・骨髄造血に関与することが想定される。本研究ではノックアウトマウスを用いてCD109の機能について解析を行った。その結果、マウスではヒトと異なり骨髄細胞にCD109の発現は認められず、形質芽細胞に発現が認められることが明らかとなり、CD109欠損下ではこれらの細胞が減少していることが示唆された。また、健康人および各種造血器疾患における血清可溶性CD109濃度を測定したところ、免疫性血小板減少症でCD109が高値傾向となることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、造血器腫瘍・骨髄造血の制御因子であるTGFβ分子に関与する研究であり、CD109分子についてマウス・ヒトにおける発現が明らかとなった。マウスにおいては骨髄細胞でCD109の発現が認められないことが明確となり、マウスで研究を行う場合には注意が必要であることが判明した。また、ヒト疾患との関連については、血清可溶性CD109の健康人における値が明らかになるとともに、免疫性血小板減少症で可溶性CD109が高値傾向になり、鑑別診断や病態把握に有用である可能性が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：CD109 is a negative regulator for TGFβ which is a key regulatory molecule for hematopoiesis and oncogenesis. In the research, we analyzed biological function of CD109 using knockout mice. We found that CD109 was expressed in mature B cells, and in the knockout mice, plasmablasts in the spleen showed tendency of decrease. Of note, expression of CD109 was not observed in the murine bone marrow cells, which was a major difference between human and mice. We also analyzed the value of serum soluble CD109 in healthy volunteers and patients with hematological disorders. The result showed that soluble CD109 had a tendency of increase in patients with immune thrombocytopenia (ITP), and soluble CD109 may be useful for the diagnosis and clinical follow-up for ITP.

研究分野：血液内科学

キーワード：CD109 造血分化

1. 研究開始当初の背景

造血幹細胞は骨髄において造血微小環境から増殖・分化制御を受け、恒常性を維持している。この制御は様々な接着分子やサイトカインを介して行われているが、TGFファミリー分子はその中でも最も重要なものの一つである。TGF β 1は巨核球など一部の血液細胞や骨髄間葉系細胞から産生され、細胞表面上のTGF β 受容体に結合することによってSmadシグナルを活性化し、造血幹細胞の分裂を抑制、未分化性の維持に寄与する。また、過剰なTGF β 産生は細胞外マトリクスの産生や線維芽細胞の増殖を促進することで線維化をきたし、骨髄線維症の病態を形成することが知られている。しかし、一旦産生された後のTGF β 分子の活性制御については不明な点が多い。

CD109分子は1980年台に未分化造血細胞上に発現する細胞表面抗原として同定された190kDaのGPIアンカー型糖タンパクである。膜上のCD109はfurinによって切断され可溶性・分泌された後(soluble CD109)、TGF β 1に結合して複合体を形成してTGF β 活性を抑制、最終的に細胞表面上のTGF β 受容体の活性化を抑制する。つまり、CD109はTGF β 分子を血中で直接制御することで、造血幹細胞の未分化性維持に何らかの役割を果たすことが想定されるユニークな分子であるが、その詳細は全く明らかになっていない。

また、CD109の発現は一部の悪性リンパ腫における予後予測因子であることが報告されているが、骨髄中のTGF β が発症に大きく関与する骨髄線維症をはじめとして、骨髄性腫瘍やその他のリンパ性腫瘍におけるCD109発現の意義は全く解明されていない。

そこで、これらの現状を背景として、本研究ではマウスを用いてCD109の発現とその機能を解析し、さらに悪性リンパ腫や血小板巨核球系疾患を含めた各種造血器疾患におけるCD109の発現量を解析することで、CD109が腫瘍発症に関わる意義を明らかにしたいと考えた。

2. 研究の目的

本研究では以下の2点を主な目的とした。

(1) CD109の生理的発現パターンおよび機能の解析

CD109については、生理的機能のみならず造血に関連する発現箇所についても明確には分かっていない。そこで本研究では野生型マウスを用いてCD109がどのような細胞に発現しているのか明らかにすることを第一の目的とした。

また、CD109の機能については、CD109ノックアウトマウス(CD109 KOマウス)を用いて解析を行うこととし、骨髄未分化造血細胞の増減について検討を加える事とした。また、TGF β はリンパ球分化、血小板分化にも関わるため、これらに対するCD109の生物学的役割についても明らかにすることも目的とした。

(2) 造血器疾患におけるCD109の病理学的、臨床的意義についての検討

本研究ではCD109の生理的機能を明らかにすると共に、造血器疾患におけるCD109の病理的、臨床的意義を明らかにすることも目的とする。CD109やTGF β が発症、予後因子として想定されているびまん性大細胞型B細胞リンパ腫や骨髄線維症を含む造血器悪性腫瘍や血小板性疾患におけるCD109の発現量を網羅的に測定し、病態や治療反応性との関係について探索的な解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) CD109の生理的発現パターンおよび機能の解析

まず、CD109の生理的発現パターンを解析するため、野生型マウスの末梢血、骨髄および脾臓を採取し、末梢血血球、各種骨髄未分化造血細胞、および脾臓リンパ球におけるCD109の発現をFACSによって解析する。

そして、CD109 KOマウスにおいて同様の検体を採取し、FACS解析を行うことで造血器系に発生する変化を観察し、CD109が持つ生物学的機能について解析を行う。

(2) 造血器疾患におけるCD109の病理学的、臨床的意義についての検討

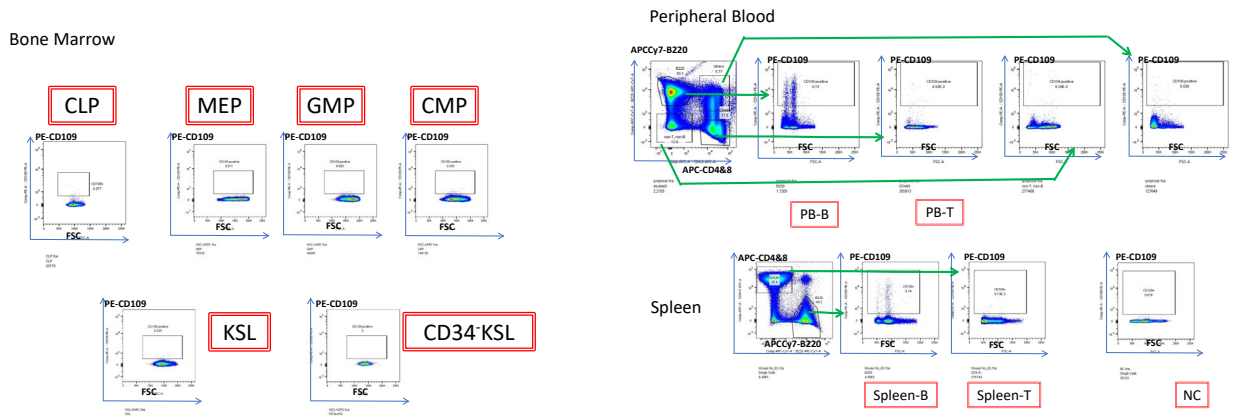
CD109は一部がfurinによって分解され、可溶性CD109として血中に存在することが明らかになっている。北里大学病院を受診する造血器疾患患者から同意を取得し、治療前および治療後の血清中可溶性CD109の測定を行う。また、可溶性CD109については健康人参考値も明らかになっていないため、健康人血清における可溶性CD109値を測定し、健康人対照値を確定する。そして、これらの値を比較することにより、各疾患における可溶性CD109値の分布、および診断・治療における利用可能性について検討を行う。

4. 研究成果

(1) CD109の生理的発現パターンおよび機能の解析

野生型マウスを用いて、末梢血リンパ球・骨髄未分化細胞・脾臓リンパ球におけるCD109の発現を解析したところ、当初の予想に反してマウス骨髄細胞においては造血幹細胞分画(CD34-KSL, KSL)、骨髄前駆細胞分画(CMP, CMP)、未分化巨核球赤芽球分画(MEP)、未分化リン

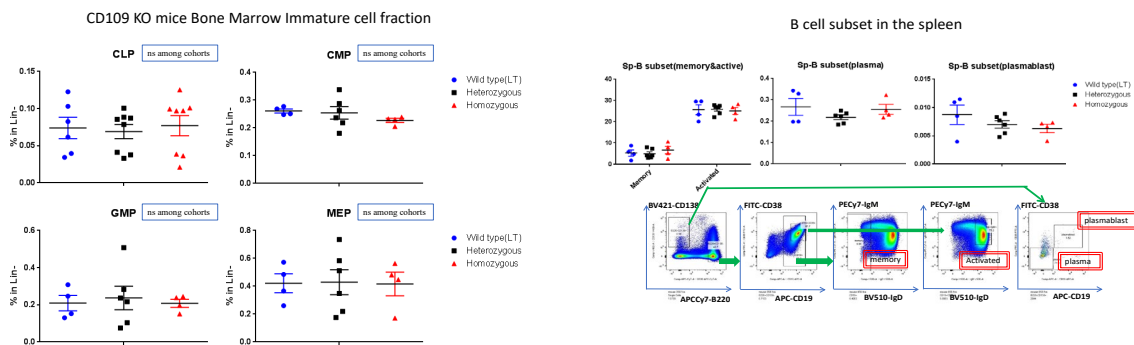
パルプ分画 (CLP) 全てにおいて CD109 の発現が認められないことが明らかとなった。ヒトではこれらの少なくとも一部には発現が確認されているため、これら発現パターンの相違は種の違いに起因するものと考えられる。このためマウスにおける研究では解析が限定されることが明らかとなった。ただし、末梢血および脾臓細胞においては、plasmablast を含む成熟 B 細胞の一部に CD109 陽性細胞が認められており、マウスにおいては B 細胞の分化・機能において CD109 が何らかの役割をはたす可能性が示唆された。



マウス骨髄細胞における CD109 発現

マウス末梢血・脾臓リンパ球における CD109 発現

CD105 KO マウスの解析では特に末梢血には有意な変化は認められず、骨髄における各種未分化造血細胞分画にも野生型と比較して有意な差異は認められなかった。これは未分化骨髄細胞に CD109 の発現が認められないことと関連していると考えられる。



CD109 genotype による骨髄未分化細胞分画

CD109 genotype による脾臓内 B 細胞の変化

そこで、CD109 の発現が認められる B 細胞について解析を加えたところ、CD109 KO およびヘテロマウスでは、脾臓内 plasmablast の割合が低下していることが判明した。現在 plasmablast について解析を進めているところであるが、CD109 はマウスにおいて plasmablast 分化に関わっている可能性が示唆される。

(2) 造血器疾患における CD109 の病理学的、臨床的意義についての検討

健康人および各種造血器疾患における CD109 発現の意義を検討するため、健康人および北里大学病院を受診した各種造血器疾患症例における血清可溶性 CD109 濃度について検討を行った。

研究は北里大学病院倫理審査委員会の承認を得た後に行った。現在症例を集積している段階であり、明確な結果は得られていないが、健康人では可溶性 CD109 濃度はおよそ 300 pg/mL 以下であったが、免疫性血小板減少性紫斑病 (ITP) で高値傾向になることが示唆された。ITP では骨髄巨核球造血が亢進することが知られているため、可溶性 CD109 高値は巨核球造血亢進を反映している可能性がある。ITP の鑑別疾患として再生不良性貧血 (AA) が重要であることが知られており、両者の差は骨髄における巨核球造血の増減であることから、可溶性 CD109 測定が両者の鑑別 (=骨髄巨核球造血状態の鑑別) に有用である可能性があり、今後も症例集積を継続し、可溶性 CD109 の意義について検討を進める方針としている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Suzuki T	4. 巻 61
2. 論文標題 Iron metabolism and iron-refractory iron deficiency anemia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki.	6. 最初と最後の頁 475-483
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.61.475	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki T	4. 巻 61
2. 論文標題 Treatment of transfusional iron overload	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki.	6. 最初と最後の頁 1205-1211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.61.1205	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Horigome Y, Tadera N, Michishita Y, Motohashi T, Ishida T, Okina S, Kamata H, Miyazaki K, Suzuki T	4. 巻 61
2. 論文標題 Acute leukemia developing in the second trimester of pregnancy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki.	6. 最初と最後の頁 865-869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.61.865	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Horigome Y, Tadera N, Michishita Y, Motohashi T, Ishida T, Okina S, Kamata H, Miyazaki K, Suzuki T	4. 巻 61
2. 論文標題 Acute leukemia developing in the second trimester of pregnancy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki	6. 最初と最後の頁 865-869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.61.865	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki T	4. 巻 61
2. 論文標題 Iron metabolism and iron-refractory iron deficiency anemia.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki	6. 最初と最後の頁 475-483
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.61.475	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki T	4. 巻 61
2. 論文標題 Treatment of transfusional iron overload.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki	6. 最初と最後の頁 1205-1211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.61.1205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishida T, Miyazaki K, Okina S, Miyata T, Hayama K, Higashihara M, Suzuki T.	4. 巻 24
2. 論文標題 The clinical outcomes of chronic myeloid leukemia patients harboring alternatively spliced BCR-ABL variants.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hematology	6. 最初と最後の頁 49-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishida T, Ohashi K, Okina C, Ohashi S, Okina S, Miyazaki K, Suzuki T.	4. 巻 110
2. 論文標題 Characteristics of palliative home care for patients with hematological tumors compared to those of patients with solid tumors.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 237-243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-019-02673-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawabata H, Usuki K, Shindo-Ueda M, Kanda J, Tohyama K, Matsuda A, Araseki K, Hata T, Suzuki T, Kayano H, Shimbo K, Chiba S, Ishikawa T, Arima N, Nohgawa M, Miyazaki Y, Kurokawa M, Arai S, Mitani K, Takaori-Kondo A; Japanese National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes.	4. 巻 110
2. 論文標題 Serum ferritin levels at diagnosis predict prognosis in patients with low blast count myelodysplastic syndromes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 533-542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-019-02710-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 鈴木隆浩	4. 巻 20
2. 論文標題 骨髄異形成症候群 - 診断のポイント -	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本検査血液学会雑誌	6. 最初と最後の頁 99-109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishida T, Akagawa N, Miyata T, Tominaga N, Iizuka T, Higashihara M, Suzuki T, Miyazaki K	4. 巻 107
2. 論文標題 Dasatinib-associated reversible demyelinating peripheral polyneuropathy in a case of chronic myeloid leukemia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 373-377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-017-2339-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuda A, Kawabata H, Tohyama K, Maeda T, Araseki K, Hata T, Suzuki T, Kayano H, Shimbo K, Usuki K, Chiba S, Ishikawa T, Arima N, Nohgawa M, Ohta A, Miyazaki Y, Nakao S, Ozawa K, Arai S, Kurokawa M, Mitani K, Takaori-Kondo A	4. 巻 74
2. 論文標題 Interobserver concordance of assessments of dysplasia and blast counts for the diagnosis of patients with cytopenia: From the Japanese central review study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Leuk Res	6. 最初と最後の頁 137-143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.leukres.2018.06.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yokoyama Y, Takami A, Mori Y, Sato S, Suzuki T, Gosho M, Obara N, Miyazaki Y, Akashi K, Chiba S	4. 巻 59
2. 論文標題 Reference guide for adult chronic neutropenia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki.	6. 最初と最後の頁 845-857
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.59.845	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 宮島 律子、鎌田 浩稔、鈴木 隆浩、厚田 幸一郎
2. 発表標題 Hematological Toxicity of Bendamustine in Patients with Renal Dysfunction
3. 学会等名 第81回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本橋 知美、鎌田 浩稔、翁 祖誠、田寺 範行、堀米 佑一、道下 雄介、羽山 慧以、泉山 和久、江畑 晃一、石田 隆、宮崎 浩二、鈴木 隆浩
2. 発表標題 Risk of Renal Dysfunction Induced by Each Tyrosine Kinase Inhibitor in CML
3. 学会等名 第81回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀米 佑一、田寺 範行、道下 雄介、本橋 知美、石田 隆、翁 祖誠、鎌田 浩稔、宮崎 浩二、鈴木 隆浩
2. 発表標題 Two cases of acute leukemia (AL) which occurred during the 2nd trimester of pregnancy
3. 学会等名 第81回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀米 佑一、翁 祖誠、鎌田 浩稔、田寺 範行、道下 雄介、石田 隆、羽山 慧以、本橋 知美、江畑 晃一、泉山 和久、宮崎 浩二、鈴木 隆浩
2. 発表標題 リンパ形質細胞性リンパ腫（LPL）に対してBR療法を施行中にKaposi肉腫（KS）の増悪を来した一例
3. 学会等名 第11回 日本血液学会関東甲信越地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江畑 晃一、石田 隆、道下 雄介、羽山 慧以、堀米 佑一、田寺 範行、鎌田 浩稔、翁 祖誠、堀江 良一、宮崎 浩二、鈴木 隆浩
2. 発表標題 イブルチニブ投与中に繰り返し爪周囲炎、肉芽形成をきたし、抗生剤治療で改善した症例
3. 学会等名 第10回 日本血液学会関東甲信越地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 隆浩
2. 発表標題 MDSの病態と診療 - 最近の話題 -
3. 学会等名 第125回 日本血液学会東北地方会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木 隆浩
2. 発表標題 骨髄異形成症候群 診断のポイント
3. 学会等名 第19回 日本検査血液学会学術集会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大橋晃太、石田隆、翁千香子、大橋志保、翁祖誠、宮崎浩二、鈴木隆浩
2. 発表標題 Characteristics of palliative home care for hematological tumors in comparison with solid tumors
3. 学会等名 第80回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小倉慎司、秋谷昌史、堀米祐一、吉田功、翁祖誠、田寺範行、石田隆、道下雄介、横山真喜、鎌田浩稔、宮崎浩二、村雲芳樹、鈴木隆浩
2. 発表標題 Expression of adhesion molecules in intravascular lymphoma: histopathological review of our cases
3. 学会等名 第80回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横山泰久、小原直、五所正彦、鈴木隆浩、高見昭良、宮崎泰司、赤司浩一、千葉滋
2. 発表標題 A nation-wide study of adult chronic neutropenia in Japan: 2nd report
3. 学会等名 第80回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川端浩、白杵憲祐、新堂真紀、通山薫、松田晃、荒関かやの、波多智子、鈴木隆浩、茅野秀一、新保敬、千葉滋、石川隆之、北野俊行、直川匡晴、宮崎泰司、黒川峰夫、荒井俊也、三谷絹子、高折晃史
2. 発表標題 MCV and reticulocyte count at diagnosis predict prognosis of MDS patients with low blast percentages
3. 学会等名 第80回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsutsue S, Suzuki T, Kim H, Kuan YH W, Crawford B.
2. 発表標題 Real-World Assessment of Nationwide Health Economic Burden and Treatment-Based Survival for Current Myelodysplastic Syndromes Treatment Practice in Japan
3. 学会等名 The American Society of Hematology 62nd Annual Meeting and Exposition
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木隆浩
2. 発表標題 輸血後鉄過剰症の治療指針と今後の展開
3. 学会等名 第68回 日本輸血・細胞治療学術総会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木隆浩
2. 発表標題 造血器疾患と輸血後鉄過剰症
3. 学会等名 第44回 日本鉄バイオサイエンス学会学術集会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木隆浩
2. 発表標題 輸血後鉄過剰症の診療
3. 学会等名 第82回 日本血液学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田寺範行、羽山慧以、横山真喜、泉山和久、江畑晃一、道下雄介、堀米佑一、鎌田浩稔、翁祖誠、宮崎浩二、鈴木隆浩
2. 発表標題 寒冷凝集素症ではリンパ性腫瘍が高率に合併する：単施設後方視的解析の結果
3. 学会等名 第82回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田智也、松田晃、諫田淳也、川端浩、石川隆之、通山薫、荒関かやの、新保敬、波多智子、鈴木隆浩、茅野秀一、白杵憲祐、新堂真紀、有馬靖佳、直川匡晴、太田晶子、千葉滋、宮崎泰司、中尾眞二、小澤敬也、荒井俊也、黒川峰夫、高折晃史、三谷絹子
2. 発表標題 5q-を除くFAB-RA症例での各血球系統の異形成が与える予後への影響：特発性造血障害調査研究班報告
3. 学会等名 第82回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020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
研究協力者	石田 隆 (Ishida Takashi)		
研究協力者	羽山 慧以 (Hayama Kei)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------