

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790809
 研究課題名 (和文) 成人 T 細胞性白血病リンパ腫患者における PD-1, PD-L1, 2 発現の検討
 研究課題名 (英文) Analysis for expression of programmed death-1, programmed death ligand 1, 2 in adult T-cell leukemia/lymphoma patients

研究代表者

島内 隆寿 (SHIMAUCHI TAKATOSHI)
 産業医科大学・医学部・助教
 研究者番号：90399204

研究成果の概要：

Programmed cell death-1 (PD-1) という分子が様々な慢性ウイルス感染症患者のリンパ球に発現され、機能不全に陥ることが報告されている。我々は Human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) 感染によって生じる成人 T 細胞性白血病リンパ腫患者のリンパ球に PD-1 が発現され、これが患者の免疫不全状態につながっている可能性を見いだした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,300,000	0	2,300,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	300,000	3,600,000

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：癌

キーワード：癌、免疫学、ウイルス、感染症

1. 研究開始当初の背景

成人 T 細胞性白血病／リンパ腫 (ATL) 患者は病初期においても容易に日和見感染症を生じやすく、非常に予後不良である。患者の免疫不全状態は T 細胞機能不全に起因されるが、その原因は不明な点が多いのが現状である。

2. 研究の目的

最近、T 細胞が機能不全に陥った状態の時に発現される programmed cell death-1 (PD-1) という receptor が様々な慢性ウイルス感染症患者の T 細胞上に発現されることが報告されている。そこで、本研究はこの PD-1 に着目し、ATL 患者由来 T 細胞における

PD-1 発現の有無あるいは機能解析を進めることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 11 名の ATL 患者における末梢血 CD4⁺, CD8⁺ T 細胞表面の PD-1, PD-L1, 2 の発現をフローサイトメトリー法で解析した。

(2) ATL 患者、正常人の末梢血単核球を抗 CD3 抗体で刺激し、患者群での増殖能を評価した。更にこの系に PD-1/PD-L1 の中和抗体を添加し、サイトカイン産生能の回復を検討した。

(3) ヒト由来リンパ腫細胞である Jurkat 細胞と Cd2+依存性に Tax 遺伝子発現を誘導できる JPX-9 細胞 (Jurkat 細胞由来) を用いた。両細胞に Cd2+ 20 μ g/ml の濃度で添加、非添加群を用意して 3 日間培養後、PD-1, PD-L1, 2、細胞内 active-caspase3 をフローサイトメトリーを用いて解析した。

(4) Cd2+非添加状態で、JPX-9、Jurkat 細胞の両者に UVB を 60 mJ/cm² 照射し、18 時間後に PD-1、細胞内 active-caspase3 をフローサイトメトリーで解析した。

4. 研究成果

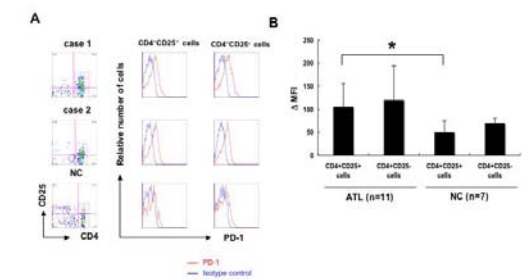
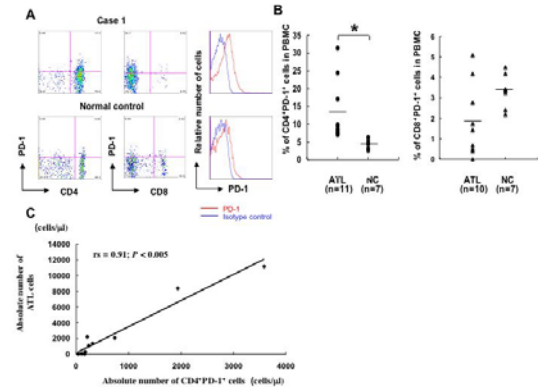
(1) 正常人と比較して、患者群 CD4⁺CD25⁻, CD4⁺CD25⁺ T 細胞上の PD-1 の発現が正常人に比較して有意に増加していた。一方、CD8⁺ T 細胞では特に発現の増強は認められなかった (Figure 1a)。興味深いことに数名の患者では CD4⁺ T 細胞上に PD-1 と PD-L1 の両者が発現していた。 (Figure 1b)

(2) ATL 患者の末梢血単核球を抗 CD3 抗体で刺激したところ、PD-1 発現患者では正常人に比べて増殖能の低下を認めた。更にこの系に PD-1/PD-L1 の中和抗体を添加すると、TNF- α 産生能の回復が認められた。 (Figure 2)

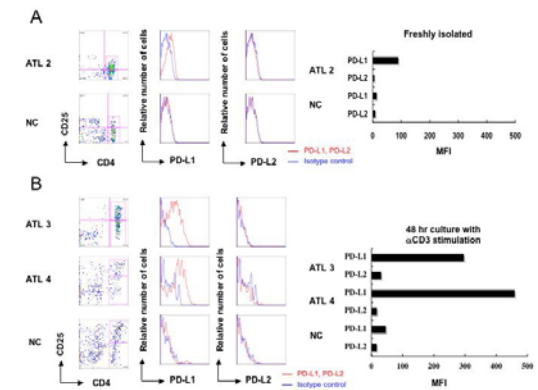
(3) Cd2+添加群 (Tax 遺伝子誘導) JPX-9 でのみ PD-1 の発現を認め、Cd2+非添加群ならびに Cd2+添加、非添加 Jurkat 細胞では PD-1 の発現は認められなかった。一方、PD-L1, 2 の発現は Cd2+に関係なく、両細胞では認められなかった。Tax 遺伝子誘導 JPX-9 細胞における PD-1 発現は同時に強い caspase3 活性を持っており、すなわち apoptosis 細胞にのみ認められることが分かった。 (Figure 3)

(4) UVB 照射により、JPX-9、Jurkat 細胞の両者に強い PD-1 の発現と caspase3 活性を認めた。 (Figure 4)

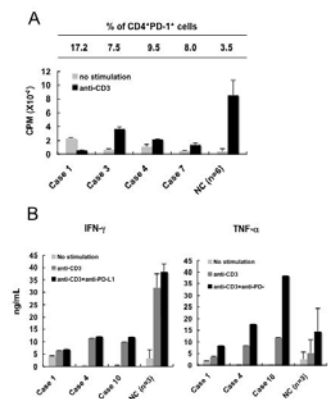
(Figure 1a)



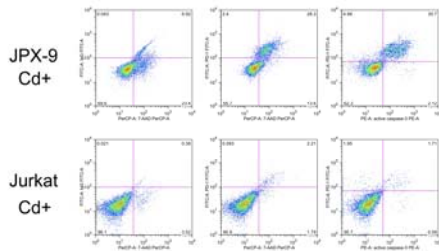
(Figure 1b)



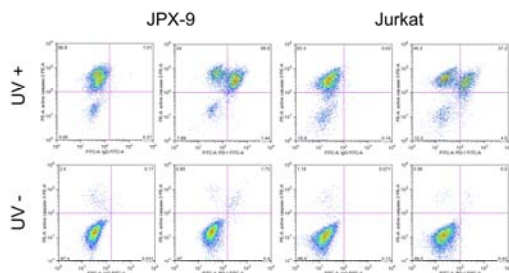
(Figure 2)



(Figure 3)



(Figure 4)



以上の結果は極めて慢性的にHTLV-I 感染を生じている CD4⁺ T 細胞は PD-1 を発現した、いわゆる疲弊状態であり、これが患者の免疫不全状態につながっている可能性が見いだされた。

また、ATL 患者における腫瘍 CD4⁺T 細胞における PD-1 発現は Tax の活性化に伴う apoptosis によって生じているが、Tax が直接的に PD-1 を promote していることは否定的であると推測した。

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 7 件)

1. Shimauchi T, Nishio D, Isoda H, Sugita K, Kabashima K, Tokura Y. Leukaemic mycosis fungoides in an atomic bomb survivor with lung and renal cancers. Clin Exp Dermatol. in press(2009) 査読有り

2. Kabashima R, Kabashima K, Hino R, Shimauchi T, Tokura Y. Scabies superimposed on skin lesions of adult T-cell leukemia/lymphoma: case report and literature review. Int J Dermatol. 47:1168-1171(2008) 査読有り
3. Shimauchi T, Sugita K, Nishio D, Isoda H, Abe S, Yamada Y, Hino R, Ogata M, Kabashima K, Tokura Y. Alterations of serum Th1 and Th2 chemokines by combination therapy of interferon-gamma and narrowband UVB in patients with mycosis fungoides. J Dermatol Sci. 50:217-225(2008) 査読有り
4. Shimauchi T, Kabashima K, Tokura Y. Adult T-cell leukemia/lymphoma cells from blood and skin tumors express cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 and Foxp3 but lack suppressor activity toward autologous CD8⁺ T cells. Cancer Sci. 99:98-106(2008) 査読有り
5. Tokura Y, Sugita K, Yagi H, Shimauchi T, Kabashima K, Takigawa M. Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma with fatal leukemic outcome in association with CLA and CCR4-genative conversion. J Am Acad Dermatol. 57(5 Suppl):S92-96(2007) 査読有り
6. Shimauchi T, Kabashima K, Nakashima D, Sugita K, Yamada Y, Hino R, Tokura Y. Augmented expression of programmed death-1 in both neoplastic and non-neoplastic CD4⁺ T -cells in adult T-cell leukemia/lymphoma. Int J

- Cancer. 121:2585-2590(2007)査読有り
7. Hino R, Kobayashi M, Mori T, Orimo H, Shimauchi T, Kabashima K, Tokura Y. Inhibition of T helper 2 chemokine production by narrowband ultraviolet B in cultured keratinocytes. Br J Dermatol. 156:830-837(2007)査読有り

〔学会発表〕(計 1 件)

島内 隆寿：Sezary症候群、ATL患者の腫瘍性CD4⁺T細胞によるprogrammed death-1高発現、第32回日本研究皮膚科学会年次学術大会、2007年4月18日、横浜

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕特になし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島内 隆寿 (SHIMAUCHI TAKATOSHI)
産業医科大学・医学部・助教
研究者番号：90399204

(2) 研究分担者

なし。

(3) 連携研究者

なし。