

機関番号：32666
研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2008～2010
課題番号：20591157
研究課題名(和文) 骨髄腫細胞の発現する補助刺激分子群(B7系分子など)とそのシグナル:病態への関与
研究課題名(英文) The effect and function of co-stimulatory molecules (B7 family molecules) on myeloma
研究代表者
田村 秀人(TAMURA HIDETO)
日本医科大学・医学部・助教
研究者番号：70256949

研究成果の概要(和文)：

骨髄腫細胞上の B7 分子群の発現は骨髄環境で増強され、直接的・間接的に腫瘍特異的 T リンパ球を抑制する可能性が示唆され、さらに腫瘍細胞の増殖・アポトーシス回避にも関与した。

研究成果の概要(英文)：

The results of our study suggest that the expression of some molecules belonging to the B7 family on myeloma cells is induced or enhanced in the bone marrow microenvironment and that these molecules inhibit the proliferation of myeloma-specific cytotoxic T cells directly or indirectly. Furthermore, these B7 molecules are associated with tumor proliferation and the inhibition of tumor cell apoptosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液免疫学

キーワード：血液免疫学、骨髄腫、補助刺激分子

1. 研究開始当初の背景

(1) 骨髄腫(MM)は形質細胞由来の極めて予後

不良な腫瘍であり、MM細胞は主に骨髄中のス

トローマ細胞と接着し増殖する。MMでは液性

免疫の異常が必発であるが、樹状細胞やT細胞の免疫機能低下も報告されており、これらが病気の進行などに関与している可能性がある。(2)申請者らは、補助刺激分子である新規 B7 family 分子群 (B7-H1, B7-H2, B7-H4) や TNF family である LIGHT 分子の cloning や機能解析をしてきた。これらの分子の一部は腫瘍細胞表面に発現し、腫瘍特異的細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) の増殖抑制などにより、抗腫瘍免疫反応を制御することが判明してきた。MM においても腫瘍細胞上の補助刺激分子群が病態に関与している可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、補助刺激分子群 (特に B7.2、B7-H1、B7-H2) 径路の MM 病態への関与を検討するため、(1)MM 細胞上の補助刺激分子発現が抗腫瘍免疫反応に及ぼす影響、(2)補助刺激分子 (あるいはそれらレセプター) 発現と *in vitro* での細胞特性 (細胞増殖能・アポトーシスの回避・抗癌剤耐性など) との関連、(3)補助刺激分子発現と臨床病勢・臨床特徴との関連、などについて解析した。

3. 研究の方法

補助刺激 (or 抑制) 分子 (B7.2、B7-H1、B7-H2 など) とそのシグナルの MM 病態に及ぼす影響を明らかにするために以下の解析を行った。(1)MM 細胞株、患者 MM 腫瘍細胞における新規補助刺激分子・それらレセプター分子 (CD28、PD-1、ICOS など) の発現、(2)MM 細胞での補助刺激分子・それらレセプター分子の発現誘導: MM 細胞増殖や生存維持に重要なサイトカイン添加、骨髄ストローマ細胞との共培養による発現誘導、(3)MM 細胞上に発現する新規補助刺激分子が T 細胞免疫 (CD4⁺ T 細胞、CTL、アポトーシス) に及ぼす影響、(4)新規補助刺激分子発現 MM 細胞の特徴 (細胞周期、増殖能、無血清あるいは治療薬 (MEL, ADM, DEX) により誘導されるアポトーシスへの耐性能、(5)MM 患者における新規補助刺激分子・それらレセプター分子発現と病期、治療薬剤への反応、病勢などとの関連について検討した。

4. 研究成果

(1)MM 患者細胞の B7.2、B7-H1、B7-H2 発現は、正常骨髄・MGUS に比べ高く、また、予後不良例や再燃時で比較的高かった。*in vitro* では、IFN α ・ γ により B7-H1、TNF α で B7.2 や B7-H2

の発現が誘導され、また、自己ストローマ細胞との共培養で B7 分子発現が増強した。ヒト MM 細胞株(14 種)では、B7.2 発現を 7 株に、B7-H2 発現を 9 株に、B7-H1 発現を RPMI8226 のみに認めしたが、他の細胞株でもサイトカイン刺激や骨髄ストローマ細胞との共培養で B7 分子の発現が誘導された。(2)MM 細胞株での B7.2・B7-H1・B7-H2 陽性分画は、陰性分画と比べ、S/G2/M 期の増加・Ki-67 の高発現を認め、細胞増殖が増強していた。(3)B7.2⁺B7-H2⁺ MM 細胞株 KMS-27 を健常者 CD4⁺T 細胞と共培養し、B7 分子径路を遮断すると CD4⁺T 細胞増殖および IL-10 産生が抑制された。これら MM 細胞株の増殖は IL-10 添加で増強した。(4)B7-H1 陽性 RPMI8226 細胞と T 細胞を共培養すると、T 細胞のアポトーシスが誘導され、この誘導は B7-H1 シグナル遮断抗体により抑制された。(5) B7-H1 陰性細胞株を IFN α 刺激し B7-H1 発現を誘導すると、この細胞株に対する CTL 活性が抑制された。

以上より、MM 細胞の B7 分子発現は骨髄環境で増強され、直接的・間接的に腫瘍特異的 CTL を抑制するだけでなく、腫瘍細胞の増殖・アポトーシス回避・薬剤耐性にも関与している可能性が示唆された。本研究は、今後

の病態の解明とともに免疫治療開発に有用であると考えられる。

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 3 件)

- ① Kondo A, Yamashita T, Tamura H, Zhao W, Tsuji T, Shimizu M, Shinya E, Takahashi H, Tamada K, Chen L, Dan K, Ogata K. Interferon- γ and tumor necrosis factor- α induce an immunoinhibitory molecule, B7-H1, via nuclear factor κ B activation in blasts in myelodysplastic syndromes. *Blood* 116(7):1124-1131; 2010.
- ② Tamura H. Expression and function of B7 family molecules in hematologic malignancies. *J Nippon Med Sch* 77:45-47; 2010.
- ③ Yamashita T, Tamura H, Satoh C, Shinya E, Takahashi H, Chen L, Kondo A, Tsuji T,

Dan K, Ogata K. Functional B7.2 and B7-H2 molecules on myeloma cells are associated with a growth advantage. Clin Cancer Res 15(3):770-777; 2009.

[学会発表] (計 7 件)

- ① 田村秀人、山下泰史、星野伸太郎、石橋真理子、近藤麻加、守屋慶一、田野崎栄、辻孝、檀和夫、緒方清行. 骨髄腫細胞の B7-H1 分子発現と臨床的意義. 第 72 回日本血液学会学術集会 (2010. 9. 横浜)
- ② Taishi Yamashita, Hideto Tamura, Chikako Sato, Asaka Kondo, Eiji Shinya, Hidemi Takahashi, Lieping Chen, Takashi Tsuji, Kazuo Dan, Kiyoyuki Ogata. Expression and function of B7.2 and B7-H2 molecules on myeloma cells. 50th Annual Meeting, American Society of Hematology (2008. 12. San Francisco)
- ③ 山下泰史、田村秀人、佐藤千香子、近藤麻加、常理紗、辻孝、緒方清行、檀和夫. 骨髄腫細胞の B7-H1 分子発現：病態への関与. 第 70 回日本血液学会総会

(2008. 10. 京都)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田村 秀人 (TAMURA HIDETO)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：70256949

(2) 研究分担者

緒方 清行 (OGATA KIYOYUKI)

日本医科大学・医学部・教授

研究者番号：20169171

(3) 連携研究者

なし