

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08683

研究課題名(和文)皮膚悪性リンパ腫の包括的な病態解明による新規治療法の提案

研究課題名(英文) Proposing new treatment options for cutaneous lymphomas based on the comprehensive analysis of the pathogenesis of the diseases

研究代表者

宮垣 朝光 (Miyagaki, Tomomitsu)

聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50582003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚T細胞リンパ腫の腫瘍細胞がCyclophilin Aを産生し、同腫瘍細胞上のCD147を介して、オートクリン様式で、自身の増殖を促すことを見出し、その相互関係を破壊させることが新たな治療戦略になると考えられた。
また、セザリー症候群の腫瘍細胞がTh2優位の免疫環境を構築するサイトカインであるIL-34を発現し、血清IL-34値が上昇していることも見出した。これにより、IL-34の作用を抑制することが新たな治療戦略になると考えられた。
さらに、皮膚T細胞リンパ腫の腫瘍細胞は、PD-1、PD-L1の双方を発現しており、それらの相互関係が腫瘍の増殖に何らかの影響を与えてい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

皮膚T細胞リンパ腫では、腫瘍細胞の種類や浸潤形態などで異なるが、多剤併用化学療法を含めた複数の治療に抵抗性があり、診断確定後数年以内に死亡するケースも少なくない。近年、このような進行例、難治例に対して、複数の新規薬剤が使用されるようになってきたが、造血幹細胞移植以外に長期コントロールを達成できる治療法は未だなく、新規治療法が切に求められている疾患である。本研究では、複数の新規治療戦略、治療標的を見出すことができ、将来的に難治性患者に新たな治療を提供する礎となるような発見ができた。また、同様の機構が、他のT細胞リンパ腫で見られる可能性があり、新規研究にも繋がりと考えられる。

研究成果の概要(英文)：I revealed that tumor cells of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) produced Cyclophilin A (CypA) and expressed its receptor, CD147, on the cell surface and that CypA induced the proliferation of tumor cells through binding to CD147 in an autocrine manner. These results suggest that the disruption of CD147-CypA interactions could be a new therapeutic strategy for the treatment of CTCL.

I also found that tumor cells of Sezary syndrome expressed IL-34 and that serum IL-34 levels were increased in Sezary syndrome patients. Considering that IL-34 has the capacity to promote Th2 immune responses that help tumor progression, the suppression of IL-34 expression or function may be a new therapeutic option for Sezary syndrome.

I finally revealed that CTCL tumor cells coexpressed PD-1 and PD-L1, suggesting that the PD-1-PD-L1 interaction may affect the proliferation of tumor cells. Although further analysis is needed, these molecules can be a therapeutic target of CTCL.

研究分野：皮膚悪性リンパ腫

キーワード：皮膚悪性リンパ腫 Cyclophilin A CD147 IL-34 PD-1 自己分泌因子 腫瘍微小環境 免疫チェックポイント分子

1. 研究開始当初の背景

(1)皮膚悪性リンパ腫は、初診の時点で皮膚以外の臓器に病変を認めないリンパ腫である。その大部分はT細胞が腫瘍化した皮膚T細胞リンパ腫(cutaneous T cell lymphoma; CTCL)である。治療法や予後は腫瘍細胞の種類や浸潤形態などで異なるが、多剤併用化学療法を含めた複数の治療に抵抗性があり、診断確定後数年以内に死亡するケースも少なくない。近年、このような進行例、難治例に対して、レチノイドであるベキサロテン、ヒストン脱アセチル化阻害剤、分子標的薬である抗CCR4抗体、抗CD30抗体など複数の新規薬剤が使用されるようになってきたが、その効果は限定的であり、CTCLの治療戦略を大きく塗り替えるほどの効果は得られていないのが実情である。さらに、多くのがん腫で臨床応用が始まっている免疫チェックポイントをターゲットとする治療も適用となっておらず、その効果のほどは未だ不明である。それゆえ、CTCLの病態生理の解明と、それに基づいた有効性の高い新規治療薬の開発が望まれている。

(2)癌細胞には免疫システムに認識される癌関連抗原が存在することが知られている。そのため、増殖し、顕在化した癌組織に対してはこのような癌抗原を標的とした免疫反応が存在することが予想される。しかしながら、実際に癌患者で認められる癌抗原に対する免疫反応は多くの場合極めて微弱である。その理由として、腫瘍細胞や腫瘍周囲のストローマ細胞、免疫担当細胞上の免疫チェックポイント分子などの表面分子、腫瘍細胞より産生された自己分泌因子、ストローマ細胞によって産生されたサイトカインやケモカインなどの液性因子によって構成される腫瘍微小環境では、免疫細胞の機能を抑制するメカニズムが存在することが近年の研究により明らかになった。皮膚悪性リンパ腫でも、この腫瘍微小環境が、その成長、免疫回避に重要であると考えられている。

2. 研究の目的

前述のとおり、CTCLに対する治療は確立していない。本研究の目的はCTCLの病態形成に関わる1)腫瘍微小環境、2)免疫チェックポイント分子、3)自己分泌因子の3種類の要素について、新たな分子の発見、既知の分子の発見、機能を解析することを通して、それらをターゲットとした新規治療法を開発することである。

3. 研究の方法

(1)CTCLにおけるCyclophilin A(CypA)-CD147の関与の検討

CTCLの患者の血清及び病変部皮膚組織を用いて、ELISA法、免疫染色法にて、血清中CypA濃度および病変部におけるCD147の発現を検討した。

CTCLの細胞株を用いて、フローサイトメトリー法にてCD147の発現を、ELISA法にて上清中のCypA濃度を測定した。

CTCLの細胞株をCD147あるいはCypAの中和抗体と共培養し、増殖へ与える影響を検討した。

CTCLの細胞株であるHH細胞を免疫不全マウスに接種し、*in vivo*におけるCD147の中和抗体の治療効果を検討した。

(2)CTCL患者におけるTh2誘導サイトカインであるIL-34の関与の検討

CTCLの患者の血清及び病変部皮膚組織を用いて、ELISA法、免疫染色法にて、IL-34の発現を検討した。

(3)CTCL腫瘍細胞における免疫チェックポイント分子PD-1、VISTA、LAG-3の発現の検討

CTCLの患者の病変部皮膚組織を用いて、免疫染色法にて、PD-1、VISTA、LAG-3の発現を検討した。

CTCLの細胞株を用いて、フローサイトメトリー法にてPD-1、PD-L1、VISTA、LAG-3の発現を検討した。

4. 研究成果

(1)CTCLにおけるCyclophilin A(CypA)-CD147の関与の検討

CTCL患者では、早期患者でも進行期患者でも、血清中CypA濃度が、健常人と比較し、上昇していた。また、皮膚組織において、腫瘍細胞がCD147を発現していることが確認された。

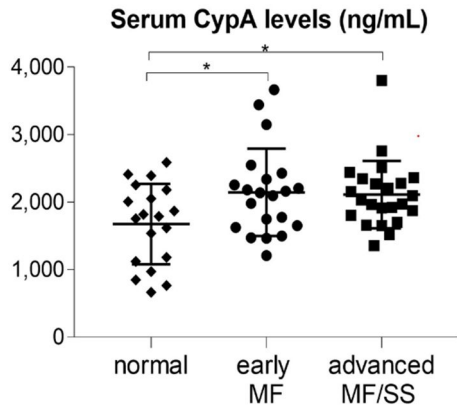


図 1. CTCL 患者の血清中 CypA 値

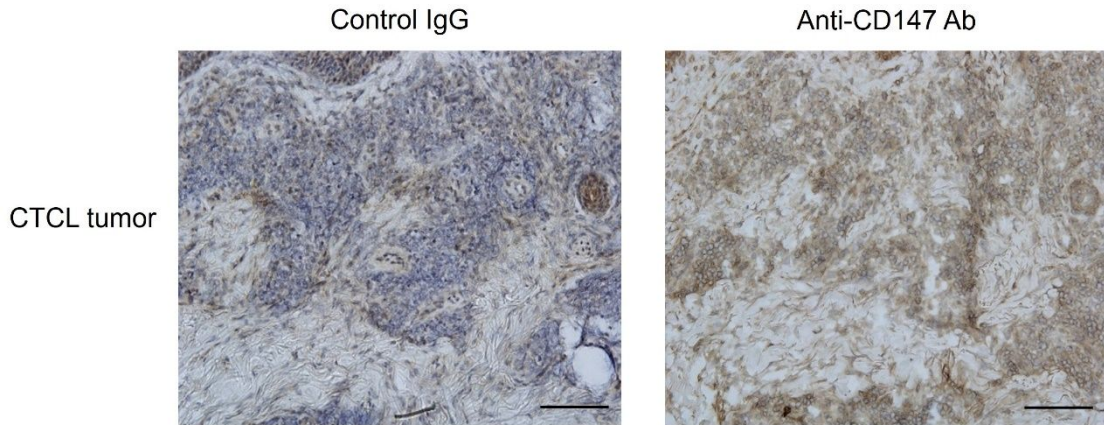


図 2. CTCL 患者の腫瘍細胞における CD147 の発現

CTCL の細胞株は CD147 を発現し、CypA を分泌していた。

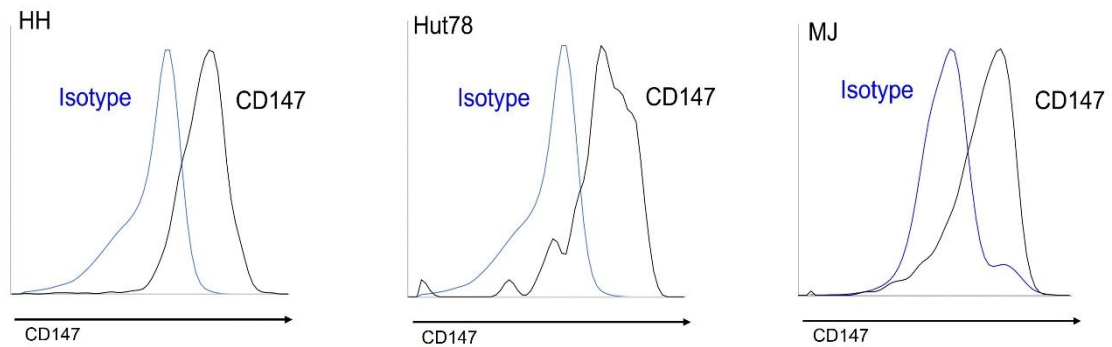


図 3. CTCL 細胞株における CD147 の発現

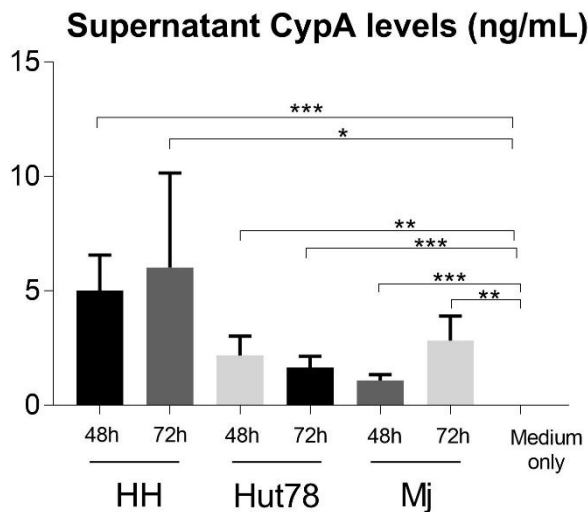


図 4. CTCL 細胞株における CypA の発現

CD147、CypA の中和抗体は in vitro における CTCL 細胞株の増殖を抑制した。

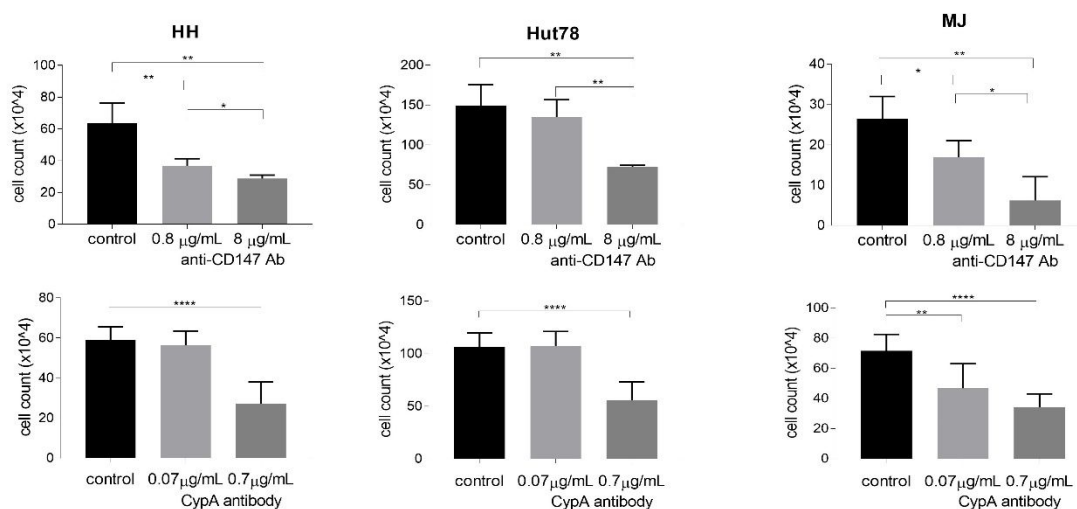


図 5. CD147 および CypA の中和抗体による CTCL 細胞株の増殖抑制効果

CD147 の中和抗体は in vivo における HH 細胞の増殖を抑制した。

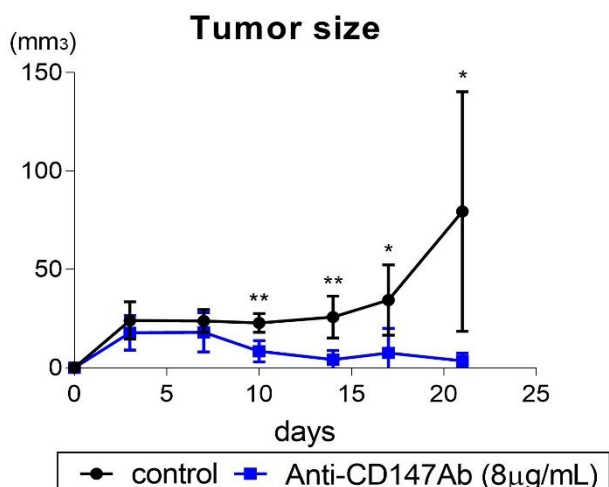


図 6. CD147 の中和抗体の in vivo における HH 細胞の成長抑制効果

以上の結果から、CTCL の腫瘍細胞は CypA を分泌し、自身の CD147 を介して、オートクリンに自己増殖を促していると考えられた。CypA-CD147 の相互関係を阻害することは CTCL の新たな治療法になることが示唆された。

(2)CTCL 患者における Th2 誘導サイトカインである IL-34 の関与の検討

予後不良の進行の早いセザリ-症候群の患者の血清中 IL-34 値は上昇しており、また、病変部皮膚組織の腫瘍細胞は IL-34 を発現していた。

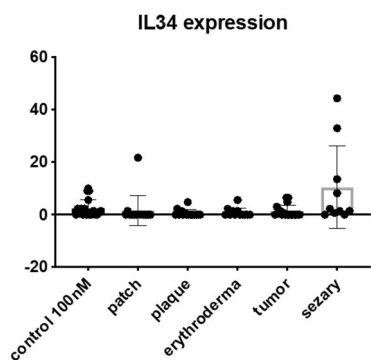


図 7. CTCL 患者の血清中 IL-34 値

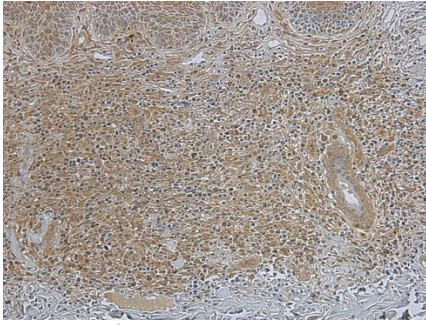


図 8. セザリー症候群患者の腫瘍細胞における IL-34 の発現

IL-34 は Th2 タイプの免疫反応を亢進することが広く知られており、以上の結果から、セザリー症候群の腫瘍細胞は IL-34 を分泌し、自身にとって、有利な Th2 優位の皮膚微小環境を形成している可能性が考えられた。IL-34 の働きを阻害することは、セザリー症候群の新たな治療法になることが示唆された。

(3) CTCL 腫瘍細胞における免疫チェックポイント分子 PD-1、VISTA、LAG-3 の発現の検討

CTCL の患者の皮膚組織では、一部の腫瘍細胞が PD-1 を発現していたが、VISTA、LAG-3 はほとんど発現していなかった。

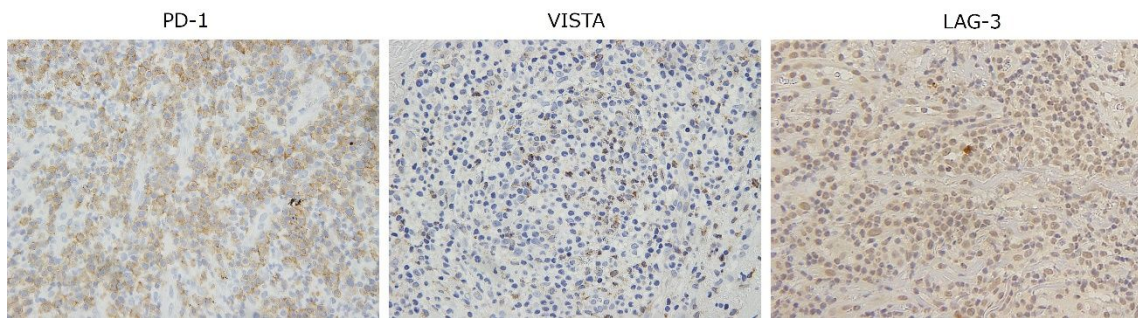


図 9. CTCL の腫瘍細胞における PD-1 の発現と VISTA、LAG-3 の発現の欠如 (LAG-3 はバックグラウンドが高いが、腫瘍細胞は陰性と考える)

CTCL の細胞株には、PD-1、PD-L1 は発現していたが、VISTA、LAG-3 は発現していなかった。

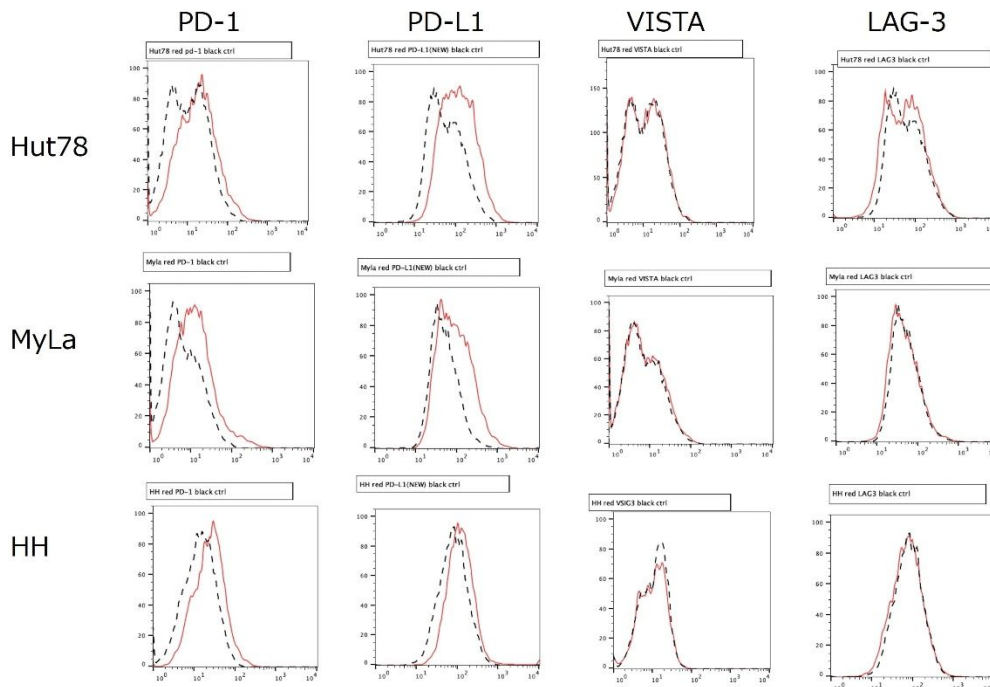


図 10. CTCL 細胞株における PD-1、PD-L1 の発現と VISTA、LAG-3 の発現の欠如

以上の結果から、PD-1-PD-L1 の相互作用は、CTCL の腫瘍細胞に何らかの影響を与えている可能性が示唆された。一方で、VISTA、LAG-3 は CTCL の腫瘍細胞に発現しておらず、CTCL の病態への関与は薄いと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Takahashi-Shishido N, Sugaya M, Morimura S, Suga H, Oka T, Kamijo H, Miyagaki T, Sato S	4. 巻 48
2. 論文標題 Mycosis fungoides and Sezary syndrome tumor cells express epidermal fatty acid-binding protein, whose expression decreases with loss of epidermotropism	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 685-689
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1346-8138.15775	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 Sakamoto M, Miyagaki T, Kamijo H, Oka T, Boki H, Takahashi-Shishido N, Suga H, Sugaya M, Sato S	4. 巻 22
2. 論文標題 CD147-Cyclophilin a Interactions Promote Proliferation and Survival of Cutaneous T-Cell Lymphoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 7889
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22157889	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 Kawana Y, Suga H, Kamijo H, Miyagaki T, Sugaya M, Sato S	4. 巻 22
2. 論文標題 Roles of OX40 and OX40 ligand in cutaneous T-cell lymphoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 12576
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms222212576	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 Nakao M, Miyagaki T, Sugaya M, Sato S	4. 巻 21
2. 論文標題 Exacerbated Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in IRF5-Deficient Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 3681
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21103681	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ohashi H, Takeuchi S, Miyagaki T, Kadono T	4. 巻 14
2. 論文標題 Increase of lymphocytes and eosinophils, and decrease of neutrophils at an early stage of anti-PD-1 antibody treatment is a favorable sign for advanced malignant melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Drug Discov Ther	6. 最初と最後の頁 117-121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5582/ddt.2020.03043	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 Chen A, Yoshizaki A, Miyagaki T, Streilein RD, Tedder TF, Hall RP 3rd	4. 巻 141
2. 論文標題 Regulatory B10 Cells Increase after Rituximab Therapy but Not after Conventional Immunosuppression in Patients with Pemphigus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol	6. 最初と最後の頁 443-446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2020.06.018	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 該当する

1. 著者名 Otobe S, Hisamoto T, Miyagaki T, Morimura S, Suga H, Sugaya M, Sato S	4. 巻 21
2. 論文標題 CX3CR1 Deficiency Attenuates DNFB-Induced Contact Hypersensitivity Through Skewed Polarization Towards M2 Phenotype in Macrophages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 7401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21197401	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakao M, Sugaya M, Fujita H, Miyagaki T, Morimura S, Shibata S, Asano Y, Sato S	4. 巻 21
2. 論文標題 TLR2 Deficiency Exacerbates Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation through Decrease in Regulatory T Cells and Impaired IL-10 Production	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 8560
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21228560	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Senda N, Yanai H, Hibino S, Li L, Mizushima Y, Miyagaki T, Saeki M, Kishi Y, Hangai S, Nishio J, Sugaya M, Taniguchi T, Sato S	4. 巻 118
2. 論文標題 HMGB1-mediated chromatin remodeling attenuates IL24 gene expression for the protection from allergic contact dermatitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A	6. 最初と最後の頁 e2022343118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2022343118	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 Morimura S, Sugaya M, Oka T, Suga H, Miyagaki T, Tsunemi Y, Asano Y, Sato S	4. 巻 22
2. 論文標題 Increased Regulatory T Cells and Decreased Myeloid-Derived Suppressor Cells Induced by High CCL17 Levels May Account for Normal Incidence of Cancers among Patients with Atopic Dermatitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 2025
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22042025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hisamoto Teruyoshi, Suga Hiraku, Omori Issey, Mizuno Yuka, Oka Kenta, Boki Hikari, Takahashi Shishido Naomi, Oka Tomonori, Miyagaki Tomomitsu, Sugaya Makoto, Sato Shinichi	4. 巻 5
2. 論文標題 Decreased keratinocyte Proline Rich protein expression in cutaneous T cell lymphoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cutaneous Immunology and Allergy	6. 最初と最後の頁 120 ~ 124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12240	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 Mizuno Yuka, Miyagaki Tomomitsu, Suga Hiraku, Kamijo Hiroaki, Boki Hikari, Kawana Yuki, Oka Kenta, Hisamoto Teruyoshi, Oka Tomonori, Takahashi Shishido Naomi, Sugaya Makoto, Sato Shinichi	4. 巻 5
2. 論文標題 Poor prognostic factors of Sezary syndrome: A retrospective single center study from Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cutaneous Immunology and Allergy	6. 最初と最後の頁 125 ~ 132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12241	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 Mizuno Yuka, Shibata Sayaka, Miyagaki Tomomitsu, Ito Yukiko, Taira Haruka, Omori Issei, Hisamoto Teruyoshi, Oka Kenta, Matsuda Kazuki M., Boki Hikari, Takahashi Shishido Naomi, Sugaya Makoto, Sato Shinichi	4. 巻 49
2. 論文標題 Serum cell free DNA as a new biomarker in cutaneous T cell lymphoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1124 ~ 1130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.16520	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 Oka Kenta, Miyagawa Takuya, Suga Hiraku, Miyagaki Tomomitsu, Mizuno Yuka, Kamijo Hiroaki, Hisamoto Teruyoshi, Omori Issei, Boki Hikari, Oka Tomonori, Takahashi-Shishido Naomi, Sugaya Makoto, Sato Shinichi	4. 巻 32
2. 論文標題 Increased expression of squamous cell carcinoma antigen 1 and 2 in mycosis fungoides and Sezary syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 464 ~ 470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1684/ejd.2022.4305	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 Boki Hikari, Kimura Takayuki, Miyagaki Tomomitsu, Suga Hiraku, Blauvelt Andrew, Okochi Hitoshi, Sugaya Makoto, Sato Shinichi	4. 巻 142
2. 論文標題 Lymphatic Dysfunction Exacerbates Cutaneous Tumorigenesis and Psoriasis-Like Skin Inflammation through Accumulation of Inflammatory Cytokines	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1692 ~ 1702.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2021.05.039	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------