

学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏 名 小林 加奈

学位論文名

CD200 欠失型 (CD200S) 分子は、腫瘍関連マクロファージに対して樹状細胞様の表現型の誘導することにより、ラット神経膠腫モデルにおける生存を延長する

学位論文の要約

——→ 【緒言】 CD200 とその受容体である CD200R は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する 1 回膜貫通型蛋白である。CD200 は血液細胞に加え、神経細胞・血管内皮細胞など非血液細胞にも広く発現している。一方で、CD200R の発現は主に骨髄系血液細胞に限定される。CD200R は細胞内シグナル伝達機能を有し、CD200/CD200R 相互作用により CD200R 発現細胞内で RasGAP を介した抑制機構が活性化され、免疫抑制状態を生じる。幾つかの固形腫瘍において、正常組織に比べ腫瘍部で CD200 の発現が高く、また CD200 の発現が高いほど腫瘍が進行しているとの報告がある (Moreaux et al. BBRC, 2008)。一方で、CD200 には一部のアミノ酸配列を欠失したスプライシングバリエーションである CD200 truncated form (以下 CD200S) が存在し、CD200S は、CD200/CD200R 相互作用に対する生理的 antagonist という報告がある (Chen et al. Transplantation. 2008)。我々は、ヒト肝細胞癌や胆管細胞癌において CD200 はその全長を持つ CD200L 分子と CD200S 分子の両方を発現していることを見いだした。そこで、腫瘍免疫における CD200S の役割の解明を目指し、本研究では、CD200S 分子を強制発現させたグリオーマ細胞を用いて、CD200S 分子の腫瘍免疫に対する影響を解析することを試みた。

【材料と方法】 ラット C6 グリオーマ細胞にウイルスベクターを用いて CD200L (C6-L) および CD200S (C6-S) をそれぞれ強制発現させた細胞株を作成した。対照細胞株として空ベクターを導入した C6-empty 株 (C6-e) および親株を用いた。これらの株の増殖率や特性を定量的リアルタイム RT-PCR (qPCR) で調べた。各細胞を生後 24 時間以内のウィスターラット新生仔線条体に注入し、実験的脳腫瘍モデルを作成し、その生存率・腫瘍の病理組織学的検索、qPCR による腫瘍免疫に関わる種々の因子の発現の違いを検討した。親株腫瘍から分離し

た腫瘍関連マクロファージ(TAM)と、各細胞株との共培養を行い、TAMの形質変化を調べた。

【結果】4つの細胞株では、増殖率、腫瘍進展、腫瘍免疫に関わる因子の発現に有意な差はみられなかった。ラット実験的脳腫瘍モデルでは、親株・C6-e、C6-L株注入モデルと比べてC6-S株注入モデルでは有意な生存期間の延長($p < 0.001$)を認めた。またC6-S腫瘍内(C6-S)では腫瘍細胞にアポトーシスが多発し、腫瘍のサイズは有意に小さかった。一方で、C6-eやC6-L腫瘍細胞ではアポトーシスは殆ど生じず、周囲の正常組織にアポトーシス細胞を認めた。また、腫瘍増大に関連する因子について、各細胞株のqPCRにて検討を行なったが、上記の現象を説明するような結果は得られなかった。脳腫瘍内には骨髄由来のTAMの集積が認められ、TAMは一般的に腫瘍増悪に関与すると言われている。しかし、C6-S腫瘍内ではTAMは樹状細胞様の形態と性質を示し、 $CD4^+$ または $CD8^+$ T細胞を取り囲むように存在し、樹状細胞化したTAMがT細胞へ抗原提示を行なっていることが示唆された。また、同腫瘍内では、グランザイムやパーフォリンなどのアポトーシス誘導因子の高発現を認めた。in vitroで、C6-S株と共培養したTAMでは樹状細胞マーカーの発現が誘導されることが、qPCRおよび蛍光免疫染色にて確認できた。

【考察】今回の研究結果で、実験的ラット脳腫瘍モデルにおいて、CD200S分子により腫瘍内に集積したTAMが樹状細胞様へと機能変化し、腫瘍に対する細胞性免疫を活性化することが判明した。

【結論】先行研究で提唱されるようなCD200S分子がCD200/CD200R相互作用に対する生理的antagonistとして作用するような結果は得られず、むしろ全く別の機能を有している可能性が示唆された。今後、CD200分子が新たながん免疫療法の標的として期待できる。

なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文 : Kana Kobayashi, Hajime Yano, Akihiro Umakoshi, Shirabe Matsumoto, Ayano Mise, Yu Funahashi, Yoshitomo Ueno, Yoshiaki Kamei, Yasutsugu Takada, Yoshiaki Kumon, Takanori Ohnishi, and Junya Tanaka : A truncated form of CD200 (CD200S) expressed on glioma cells prolonged survival in a rat glioma model by induction of a dendritic cell-like phenotype in tumor-associated macrophages. Neoplasia 278:471-482, 2016
DOI:10.1016/j.neo.2016.02.006