

(第3号様式)

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名 小林 加奈

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

---

### 学位論文要旨

【緒言】 CD200 と CD200R 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 (骨髄系・リンパ系細胞) に加え、神経細胞・心筋細胞・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 は主に骨髄系血液細胞に発現し、正常脳内ではマイクログリアが発現している。CD200R は、CD200 と異なり、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、結果として免疫抑制状態を生じる。幾つかの固形腫瘍において、正常組織に比べ悪性腫瘍で 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; 366: 117–122)。

一方で、CD200 にはスプライシングによって生じる一部のアミノ酸配列を欠失した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 として機能するという報告がある (Chen et al., *Transplantation*. 2008; 86: 1116-24)。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、これまで全く調べられていなかった、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 時間以内のウイ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を行うとともに、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

氏名 小林 加奈

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、腫瘍免疫に関わると思われ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株注入モデルでは優位な生存期間の延長( $p < 0.001$ )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、腫瘍のサイズは優位に小さかった。一方で、C6-eやC6-L腫瘍細胞ではアポトーシスはほとんど生じておらず、周囲の正常組織にアポトーシス細胞を認めるのみであった。これは、腫瘍増大により周囲の正常組織が圧排により死滅しているためと考えられた。また、腫瘍増大に関連する因子(増殖因子やTGF $\beta$ など)について、各細胞株の定量的PCR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ことが言われている。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<sup>+</sup>またはCD8<sup>+</sup>T細胞を取り囲むようにして存在していた。このことから樹状細胞化した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、各種細胞株とTAMを48h共培養すると、C6-S株と共培養したTAM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TAMsが樹状細胞様へと機能変化し、樹状細胞化したTAMsが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ているような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、むしろ全く新しい機能を有している可能性が示唆された。今後、CD200S分子が新たながん免疫療法の標的となることが期待できる。

キーワード (3~5)	樹状細胞 TAMs(Tumor-Associated Macrophages) CD200
-------------	---