

赤松 紀彦 論文内容の要旨

主 論 文

High IL - 21 receptor expression and apoptosis induction by IL - 21 in follicular lymphoma

濾胞性リンパ腫におけるインターロイキン 21 (IL - 21) レセプターの高発現および IL - 21 によるアポトーシスの誘導

赤松紀彦, 山田恭暉, 長谷川寛雄, 真壁幸樹, 浅野竜太郎, 熊谷泉, 村田健, 今泉芳孝, 塚崎邦弘, 鶴田一人, 跡上直, 菅原和行, 柳原克紀, 上平憲

Cancer Letters 256 巻 2 号 196 - 206 2007 年

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療科学 専攻
(主任指導教員: 上平 憲 教授)

緒 言

インターロイキン 21 (IL-21) は IL-2 や IL-15 と高い相同性を有するサイトカインであり、活性化 CD4⁺ T 細胞から分泌される。機能においては NK 細胞や細胞障害性 T 細胞の活性化など、IL-2 や IL-15 と類似した作用をもつことから、抗腫瘍薬としての可能性が示唆される。

一方、IL-21 レセプター (IL-21R) は IL-21R α 鎖と IL-2R, IL-4R, IL-7R, IL-9R および IL-15R に共通するサイトカイン共通受容体 γ 鎖のヘテロダイマーで構成されており、胸腺、脾臓、リンパ節などのリンパ系組織および末梢血単核細胞で mRNA の発現が認められている。しかし、これまでに造血器腫瘍において、IL-21R の発現に関する報告はほとんど認められない。そこで本研究では、臨床検体および各種細胞株を用いて、IL-21R の発現を調べ、疾患との関わりについて検討した。

対象と方法

【対象】臨床検体 35 例を用いた。その内訳は急性骨髄性白血病 3 例、成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATLL) 8 例、急性リンパ性白血病 6 例、慢性リンパ性白血病 2 例、非ホジキン B 細胞性リンパ腫 (B-NHL) 16 例 [濾胞性リンパ腫 2 例 (FL)、びまん性大細胞リンパ腫 (DLBCL) 11 例、バーキットリンパ腫、マントル細胞リンパ腫 1 例、節外性 MALT リンパ腫 1 例] であった。また、上記疾患由来株を含む 19 種の細胞株を用いた。

【方法】

- (1) IL-21R の発現は FITC 標識抗体を使用し、フローサイトメトリー法 (FCM) で測定した。
- (2) IL-21 の結合試験は myc 標識した rIL-21 および抗 myc 抗体を用いて、FCM で測定した。
- (3) 各種細胞株の IL-21 に対する反応性は MTS assay で行った。
- (4) アポトーシスの測定は Annexin V/PI 染色を行ったのち、FCM で行った。
- (5) ミトコンドリア膜電位低下の検討は Dioc(6)3 を用いて FCM で測定した。
- (6) アポトーシス関連分子の解析は各種抗体を使用し、ウエスタンブロット法で行った。
- (7) IL-21/IL-21R のシグナル伝達経路の解析は各種抗体を用いたウエスタンブロット法および STAT 1 および STAT 3 阻害剤を用いた MTS assay で行った。

結 果

- (1) 臨床検体における IL-21R の発現は 35 例中 6 例で認められた。6 例の内訳は ATLL 1 例、B-NHL 5 例であった。IL-21R 陽性の B-NHL 5 例のうち 2 例は FL、3 例は DLBCL であり、これらはすべて CD10(+) であった。
- (2) 細胞株における IL-21R の発現は ATLL 関連 7 株 (KK1, KOB, OMT, HUT102, MT1, MT2, S04)、濾胞性リンパ腫由来の SUDHL-4、CRL-2632 およびバーキットリンパ腫由来の Ramos, CA46, Daudi で認められたが、その他の細胞株では認められなかった。
- (3) IL-21 と IL-21R との特異的結合は SUDHL-4、CRL-2632 および Ramos で認められ、その蛍光強度は IL-21R の発現強度と比例していた。
- (4) IL-21 の作用により濾胞性リンパ腫由来の SUDHL-4 はアポトーシスを誘導したが、Ramos は誘導しなかった。
- (5) アポトーシス関連分子の解析において、SUDHL-4 では Caspase 3, 8, 9 の活性化、Bax の発現増強および Bcl-2 の発現低下が認められたが、Ramos では Caspase の活性化は認められなかった。
- (6) SUDHL-4 および Ramos における IL-21R の下流のシグナル解析では、JAK1, JAK3, STAT1 および STAT3 の活性化が認められた。また、STAT 1 および STAT 3 の阻害剤を用いたところ、SUDHL-4 と Ramos では阻害剤に対する反応性が異なっていた。

考 察

本研究において IL-21R の造血器腫瘍細胞における発現は濾胞性リンパ腫に選択的に高発現しており、IL-21 を作用させるとアポトーシスが誘導されることを初めて明らかにした。この新しい発見は本疾患に対する新たな治療法の可能性を示唆している。なお、従来の IL-21 の抗腫瘍作用は NK 細胞および細胞障害性 T 細胞の活性化と考えられている。しかし、本研究における IL-21 の濾胞性リンパ腫に対する作用はこれまでの報告とは異なり、腫瘍細胞に直接アポトーシスを誘導させるものであった。したがって、濾胞性リンパ腫に対する IL-21 の抗腫瘍作用は、リンパ球に対する NK 活性の増強および細胞障害性 T 細胞の活性化という間接的効果と腫瘍細胞に対するアポトーシスの誘導という直接的効果の Double Action が期待できる新たな治療法となる可能性が示唆された。