

辻 智 悠 論文内容の要旨

主 論 文

Clinical and Oncologic Implications in Epigenetic Down-Regulation of CD26/
Dipeptidyl Peptidase IV in Adult T-Cell Leukemia Cells

ATLにおけるCD26/DPPIVの後生的変調発現の臨床的及び腫瘍学的意義

辻 智悠, 菅原 和行, 鶴田 一人, 上村 亜希子, 原澤 仁美, 長谷川 寛雄, 浜口 行雄,
山田 恭暉, 朝長 万左男, 上平 憲.

International Journal of Hematology・80 巻 3号 254 - 260 2004 年

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻
(指導教授:上平 憲 教授)

緒 言

CD26 は、細胞外ドメインに Dipeptidyl peptidase IV(DPPIV)酵素活性を有する、766個のアミノ酸からなる特異な膜糖蛋白質で、血液細胞・腎臓・肺・肝臓の上皮細胞及びメラノサイトなど様々な細胞に分布している。その生物学的機能は多彩で、1)受容体機能、2)共刺激蛋白作用、3)接着分子機能、4)アポトーシス誘発機能などが知られている。この多彩な機能の変調は、免疫学的、腫瘍学的病態に深く関与しているものと考えられている。特に、腫瘍との関連においては、T細胞性腫瘍である菌状息肉腫(Mycosis fungoides)やT-リンパ芽球性白血病(T-ALL)においてCD26抗原の変調と造腫瘍性との関連性が報告されている。

そこで、本研究では、活性化T細胞の表現型をもつATL細胞を用いて、CD26抗原及びmRNAの発現プロファイルを調べ、その抗原変調をきたす機序やその臨床的、腫瘍病態学的意義について検討した。

対象と方法

対象:ATL細胞/関連細胞株(SO4, KK1, KOB, Hut102株):4株、ATL:49症例(急性型21, 慢性型18, ぐすぶり型10), HTLV-1キャリアー:10例、健常人対照:14例である。

方法:

1. 抗CD26抗体を用いてフローサイトメトリー法にてCD26膜抗原を、Exon8からExon10を認識するプライマーを用いてRT-PCR法にてmRNAの発現状況を検討した。
2. DPPIV活性ドメインを認識するprobeを用いたSouthern blot hybridization法とExon2, 9, 6, 22を標的としたSequenced-tagged-site(STS)-PCRにより、CD26遺伝子のゲノム変異(欠損)を検討した。
3. CD26遺伝子プロモーター領域のメチル化の有無をGenomic bisulfite sequencing法により検討し、

また、脱メチル化にて CD26mRNA が再発現するか否かをメチル化細胞株で検討した。

4. GPADH を内部コントロールとして、Real-time PCR 法により HTLV-1 tax を定量し、CD26 膜抗原の発現との比較を行った。

結 果

1. CD26 膜抗原と mRNA の発現プロファイル:

- ・細胞株 SO4・KK1・KOB・Hut102 では、両者とも完全に欠損していた。
- ・新鮮 ATL 細胞では、抗原・mRNA の発現量は並行して減少し、病型の進行につれて、完全な欠損傾向を示した。
- ・HTLV-1 キャリアーでは、健常人単核球と比較して有意な差はなかった。

2. CD26 遺伝子の変異検索:

- ・株細胞・新鮮 ATL 細胞・HTLV-1 キャリアー単核球細胞で、SBH、STS-PCR 法にて CD26 遺伝子の変異(欠損)は検出されなかった。

3. CD26 遺伝子プロモーター領域のメチル化解析:

- ・細胞株 (SO4・Hut102)では検索したクローンの 100%、急性型 ATL では 86%、慢性型 ATL では 80%でメチル化が認められた。また、メチル化細胞株(SO4・Hut102)で、脱メチル化剤を添加培養することにより、CD26mRNA の再発現が確認された。

4. Tax と CD26 抗原との相関

- ・細胞株(SO4・KK1・KOB・Hut102)において、Tax と CD26 抗原の発現量に相関は認められなかった。

考 察

HTLV-1 関連株化細胞および新鮮 ATL 細胞は CD26 膜抗原が著明に down-regulate され、特に ATL 患者では病型の進展・悪性度に並行して減少していくことが明らかになった。

その機序として、 mRNA が存在しないこと、 CD26 遺伝子の変異がないこと、 CD26 遺伝子プロモーター領域の CpG のメチル化が証明されたことなどから、エピジェネティックな機構が示唆された。一般に、ATL 細胞においては HTLV-1 provirus 自体のメチル化をはじめとして、癌抑制遺伝子である CDKN2A 遺伝子などの広範囲なメチル化が Leukemogenesis に深く関与しているとされている。従って、CD26 遺伝子も ATL 細胞の一連のメチル化の一つと考えられ、ATL の造腫瘍性や悪性度に関連する重要なイベントの一つと予想される。また、ATL の腫瘍化の initiation に関与する Tax と CD26 膜抗原との関係は認められなかったことから CD26 の変調発現は、Tax による直接的な制御下にはないと考えられた。

以上、本研究を通して、ATL 細胞の CD26 抗原はエピジェネティックに down-regulate され、臨床的には腫瘍細胞のネガティブセレクションのバイオマーカーとなると同時に、ATL の悪性度や予後の推定に有用な分子標的となることが示された。