

Title	Ectonucleotidase CD39 is highly expressed on ATLL cells and is responsible for their immunosuppressive function
Author(s)	長手,泰宏
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/77551
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨 Synopsis of Thesis

氏 名 Name	長手。泰宏
論文題名	Ectonucleotidase CD39 is highly expressed on ATLL cells and is responsible for their immunosuppressive function
Title	(エクトヌクレオチダーゼCD39はATLL細胞に高発現し、免疫抑制機能に関与する)

論文内容の要旨

[目 的(Purpose)]

Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) は非常に予後の悪い疾患として知られ、その原因の一つにATLL患者が著明な免疫抑制状態にあることが挙げられる。ATLL腫瘍細胞の表面形質は大半がCD4+CD25+CCR4+Foxp3で制御性T細胞(Treg) と類似していることから、ATLL腫瘍細胞自体が免疫抑制機能を有していることが示唆される。本研究では、ATLL腫瘍細胞の遺伝子発現を網羅的に解析しTregとの比較を行った。そしてATLL腫瘍細胞において免疫抑制を司る分子を同定し、その機能的・臨床的意義を明らかにした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ATLLは病勢の進行に伴いCD4+分画はCD7発現低下、CADM1発現を伴い、CD4+CD7-CADM1+分画に腫瘍細胞が濃縮されるこ とが知られている。我々はATLL3症例から正常CD4+分画(CD4+CD7+CADM1-)、腫瘍分画(CD4+CD7-CADM1+)をそれぞれソー ティングし、mRNAシーケンスにより遺伝子発現パターンを解析、比較した。23,284個の遺伝子中16,881個の遺伝子が 検出され、1,526個の遺伝子が有意に増減した(Fold change>2倍、P値<0.1)。腫瘍細胞において547個の遺伝子発現 が上昇、979個の遺伝子発現が低下していた。さらにTregの免疫抑制機能に関わる遺伝子群を抽出するとFoxp3を筆頭 に、IKZF2、TIGIT、CD25、CCR4、CTLA4など既知の遺伝子発現上昇が確認できた。その中で我々はATLLで過去に報告さ れていないAdenosine経路に関わるEctonucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1(ENTPD1;CD39)の発現上昇、 Dipeptidylpeptidase VI (DPP4;CD26) の発現低下に着目した。30例のATLL症例(急性型14例、リンパ腫型2例、慢性型12 例、くすぶり型2例)および10例のHTLV-1キャリアの腫瘍細胞(CD4+CD7-CADM1+分画)を用いて、Adenosine経路に関わる CD39、CD73、CD26の発現をFCMでそれぞれ解析した。ATLL症例ではCD39とCD73の発現が有意に高い一方、CD26の発現は ほぼ全例で消失していた。ATLL患者腫瘍細胞でCD39は30例中21例(70%)で陽性で、特に急性型では14例中12例(86%)と 高発現であった。CD73は病型による発現の違いを認めなかった。慢性・くすぶり型症例ではCD39陽性症例が陰性症例 と比べて急性転化しやすい傾向を認めた。In vitroでATLL細胞株(MJ、MT1、MT2、MT4)及び患者細胞を用いてATPDase 活性を測定したところ、CD39陽性細胞株及び患者細胞は細胞外ATPを著明に脱リン酸化した。MJ細胞株は正常CD4・CD8T 細胞との共培養でT細胞増殖抑制効果を認めることが知られているが、今回CRISPR/CAS9システムを用いてCD39ノック アウトMJ株を作成したところ、CD39ノックアウトMJ細胞株は共培養によるT細胞増殖抑制効果を失った。次にマウスT 細胞リンパ腫細胞株のEG7-0VAにCD39を強制発現させC57BL/6マウス皮下へ移植し、PolyI:Cによる腫瘍免疫を誘導し た。CD39安定発現EG7-OVA細胞株を移植した群では、野生型EG7-OVA細胞株と異なりPolyI:Cによる腫瘍縮小効果が消去 された。

〔総 括(Conclusion)〕

ATLL腫瘍細胞はCD39の高発現、CD26の発現低下などにより細胞外ATPDase活性を上昇させ、Adenosine経路を介して免疫応答を抑制し、腫瘍免疫を回避していることが示唆された。慢性・くすぶり型ATLLではCD39発現の有無が急性転化を予測する有用なマーカーとなりうることを示した。ATLLでは既に実用化されている抗CCR4抗体だけでなく、抗PD-1/PDL-1抗体など免疫チェックポイント阻害剤の臨床研究も進んでおり、将来的にCD39はATLLの有望な治療ターゲットとなるかもしれない。

論文審査の結果の要旨及び担当者

論文審査の結果の要旨

ATLLは非常に予後の悪い疾患で、その原因の一つとして患者の多くが免疫不全状態にあることが挙げられる。ATLL腫瘍細胞はCD4+CD25+CCR4+Foxp3+と制御性T細胞(Treg)に類似した免疫形質を示すことが知られているが、ATLL腫瘍細胞自体が免疫抑制機能を有するかについては明らかにされていない。今回mRNAシーケンスによる網羅的解析によりATLL腫瘍細胞においてCD39が高発現していることを発見し、vitroの実験で正常T細胞の増殖を抑制することを示した。このことはATLL腫瘍細胞がAdenosine経路を介して抗腫瘍免疫を抑制することで免疫回避機構が働いていることを意味する。また慢性型・くすぶり型ATLLではCD39発現の有無が急性転化を予測する有用なマーカーとなりうることも示した。CD39は将来的にATLLの有望な治療ターゲットとなることも期待される。これらの内容は学位論文に値する。