



Title	Ganglioside GD3 May Suppress the Functional Activities of Benign Skin T Cells in Cutaneous T-Cell Lymphoma
Author(s)	久米, 美輝
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/96298
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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	久米 美輝
論文題名 Title	Ganglioside GD3 May Suppress the Functional Activities of Benign Skin T Cells in Cutaneous T-Cell Lymphoma (ガングリオシドGD3は皮膚T細胞リンパ腫における正常T細胞の機能活性を抑制する可能性がある)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 ガングリオシドは、糖鎖上に1つ以上のシアル酸を結合しているスフィンゴ糖脂質のサブファミリーで、様々な細胞の表面に発現している。ジシアログアングリオシド(GD)は2つのシアル酸残基を持つ。そのうちGD3は主に中枢神経系や抹消神経で発現している一方、悪性黒色腫を含め様々な腫瘍細胞で発現が亢進しており、腫瘍増殖に関わると考えられている。GD3は腫瘍細胞そのものの活性を促す一方で、免疫細胞の機能を抑制し、両側面から腫瘍増殖・浸潤・転移に関わることが知られている。一方、皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)では、GD3の発現や機能についての報告はない。今回我々は、CTCL病変部の腫瘍細胞においてGD3の発現が変化するかを解析した。また、GD3が免疫細胞に与える影響を解析するため、IL-17A陽性T細胞の割合、IFN γ 陽性T細胞の割合、T細胞分画のうち特に抗腫瘍活性を持つと考えられるレジデントメモリーT (T _{RM}) の割合を指標として、それらがCTCL正常細胞で健常皮膚T細胞と比較しどのように変化するかを解析した。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 CTCL検体12例、健常皮膚検体29例を用いて解析を行った。コラゲナーゼtypeIIIとDNaseで皮膚検体を2時間処理し、検体から単一細胞を得て、フローサイトメトリーを行った。細胞質内サイトカイン染色に関しては、Golgi Plug 添加下でphorbol 12-myristate 13-acetateとionomycinで4時間細胞刺激を行った後、染色を行った。CTCL検体において、SSC-A, FSC-Aが高値なCD3 ⁺ CD4 ⁺ CD7 ⁻ CD4 ⁺ T細胞を腫瘍細胞と定義した。一方、CTCL正常T細胞はSSC-A, FSC-Aが高値でないCD3 ⁺ CD4 ⁺ CD7 ⁺ CD4 ⁺ T細胞とした。これらと、健常皮膚におけるT細胞との比較を行った。 GD3の発現割合、MFIは、腫瘍細胞においてCTCL正常CD4 ⁺ T細胞と健常皮膚CD4 ⁺ T細胞と比較し有意に上昇していた。そこで、CTCL正常CD4 ⁺ T細胞と健常CD4 ⁺ T細胞のIL-17A, IFN γ 産生割合に着目したところ、CTCL正常CD4 ⁺ T細胞では健常皮膚CD4 ⁺ T細胞と比較し、IL-17A陽性細胞の割合が低下していた。マウスモデルやヒト検体を用いた実験から、T _{RM} 細胞は抗腫瘍活性を持つと考えられているため、T _{RM} マーカーであるCD69, CD103の発現を解析したところ、健常T細胞と比較してCTCL正常T細胞では、CD4 ⁺ T細胞、CD8 ⁺ T細胞両方においてCD69 ⁺ CD103 ⁺ T細胞の割合が低下していた。 以上より、腫瘍細胞が発現するGD3がT細胞に抑制系のシグナルを送っているものと考え、シアル酸結合免疫グロブリン-タイプレクチン(Siglec)に着目した。Siglecは広く免疫細胞に発現し、シアル酸をリガンドとする抑制系の受容体である。GD3の抑制系レセプターとしてよく知られているものとして、Siglec-7 やSiglec-9があり、本研究ではsiglec7に着目した。Siglec7の発現は、CTCL正常CD4 ⁺ T細胞において健常CD4 ⁺ T細胞と比較し発現割合が有意に上昇していた。一方、CD8 ⁺ T細胞ではsiglec7の発現の割合に差を認めなかった。実際に、GD3がCD4 ⁺ T細胞の機能を抑制するかを皮膚由来のT細胞を用いて検証した。健常皮膚をヒトリコンビナントIL-2とIL-15存在下で1週間培養し、皮膚由来T細胞を得、これらを15時間牛脳由来のGD3存在下/非存在下で培養しフローサイトメトリーで評価したところ、GD3非添加群と比較しGD3添加群ではIL-17A陽性細胞割合がCD4 ⁺ T細胞中で低下した。	
〔総 括(Conclusion)〕 以上より、CTCL腫瘍細胞はGD3の発現が亢進しており、これらは正常CD4 ⁺ T細胞上のSiglec7を介して免疫応答を抑制している可能性があると考えた。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 久米 美輝				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	大阪大学教授	藤 井 子	署 名
	副 査	大阪大学教授	藤 井 通 毅	署 名
	副 査	大阪大学教授	松 岡 悠 美	署 名

論文審査の結果の要旨

ガングリオシドGD3は様々な腫瘍で発現が亢進し腫瘍促進に働くことが知られている一方、皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)におけるGD3の発現と機能は既報がなく、申請者らはCTCL皮膚検体12例、健常皮膚検体29例を用いて腫瘍/反応性/健常T細胞におけるGD3の発現と、GD3が反応性T細胞に与える影響について検討を行った。腫瘍CD4T細胞においてGD3の発現が亢進し、反応性CD4T細胞では健常CD4T細胞と比べIL-17A陽性細胞の割合が低下していた。Vitro実験では、GD3がCD4T細胞からのIL-17A産生ポテンシャルを抑制した。さらに、反応性CD4T細胞でGD3の抑制性レセプターであるSiglec-7の発現が上昇していることを見出し、反応性CD4T細胞のIL-17A産生はGD3-Siglec-7を介して抑制されている可能性があると考えた。以上の内容は、学位に授与に値すると思われる。