

5-①-6.

Prognostic significance of L-type amino acid transporter 1 expression in Non-Hodgkin's lymphoma

(大学院博士課程3年分子病理学分野)

○ Jigidkhorloo narangerel

L-type amino acid transporter 1 (LAT1) is an amino acid transporter on the cell membrane which is responsible for uptake of neutral amino acids, such as leucine, isoleucine, valine, phenylalanine, tyrosine, tryptophan, methionine, and histidine. Previous studies have demonstrated that LAT1 is highly expressed in several cancers and the expression level is correlated with aggressiveness of cancer and poor prognosis. However, no previous studies have investigated the expression level of LAT1 and its clinical significance in lymphoma. Therefore, we first retrospectively investigated the LAT1 expression profile in biopsy samples with Non-Hodgkin's lymphoma (NHL) and characterized its associations with clinical courses. Expression of LAT1 was immunohistochemically determined with archival paraffin-embedded sections taken from 137 patients diagnosed with NHL. The mean LAT1 expression level ranged from 20.5% in indolent lymphomas to 60.2% in aggressive lymphomas ($p < 0.001$). We determined the diagnostic LAT1 index threshold at 31.9% and 83.1% of indolent lymphomas have the LAT1 score less than 31.9% whereas 80% of aggressive lymphomas have the LAT1 score higher than 31.9% (AUC=0.884, $P=0.028$). The LAT1 expression level was directly correlated with the Ki-67 index which shows cellular proliferation ($r=0.698$, $P < 0.001$). In the follicular lymphomas, LAT1 expression level increased in parallel with disease grade, from 22.9% for grade 1 to 81.2% for grade 3b. Therefore, we concluded that the overexpression of LAT1 is significantly associated with cancer cell proliferation, aggressiveness, and grade of lymphoma, suggesting LAT1 could be a potential pathological diagnostic marker for NHL.

5-①-7.

ゼブラフィッシュを用いた腹部大動脈瘤でのプロスタグランジンE受容体EP4発現制御機序の解明と新規治療薬の探索

(細胞生理学)

○ 谷藤 章太、井上 華、横山 詩子

(病態生理学)

川原 玄理、林 由起子

腹部大動脈瘤 (AAA) は、慢性炎症により血管弾性線維が破壊されて血管壁が脆くなり、さらに血圧負荷が加わることで血管径が拡大して進行する致死性疾患であるが、進行を抑制する薬物療法は存在しない。AAAで多く産生される PGE_2 は病態の進行に関与しており、ヒト AAA 組織で発現が増加する PGE_2 受容体 EP4 のシグナル抑制が治療となる可能性がある。AAA では、恒常性維持のための EP4 に加え、病態における EP4 発現の過剰亢進が起きていると推測されるが、EP4 発現を亢進する分子機序については未だ不明である。

本研究では、AAAの進行に関与するEP4発現亢進の機序を明らかにし、AAA治療薬の候補化合物を探索することを目的とする。胚や稚魚が透明であり、蛍光タンパクによるEP4プロモーター活性の可視化が可能なゼブラフィッシュを使用し、① EP4-EGFP レポーターフィッシュ及び② AAAモデルフィッシュを作製した。①では、検索プログラムによりゼブラフィッシュEP4bのプロモーター領域を推定し、長さの異なるインサートDNA (1246 または 315 bp) を Tol2 ベクターに組み込んだコンストラクトを作製した。野生型の受精卵に導入したところ、長短どちらの配列を組み込んだ場合でもEP4プロモーター活性の指標となるEGFP発現が見られた。成熟後に、野生型と交配させて得られたF1でもEGFP発現が見られた。②では、血管内皮細胞選択的にEGFPを発現するゼブラフィッシュにアンジオテンシンII (AngII) を負荷し、AAAモデル作製を試みた。50-200 ng AngII を受精卵に注射し、受精後5日目にEGFPで可視化した大動脈径を測定した。その結果、AngIIを投与した個体の大動脈径が増大傾向を示した。今後は作製したゼブラフィッシュを用いて、EP4発現を亢進する機序の解明とAAA治療薬候補

の探索を進めてゆく予定である。

5-②-1.

美白成分による自己免疫性白斑症誘発の作用機序の解明

(医学総合研究所)

○片平 泰弘、溝口 出、井上 楨也
長谷川英哲、善本 隆之

2013年に美白化粧品の有効成分でメラニン合成に重要なチロシナーゼの阻害剤ロドデノール(RD)による白斑発症が、社会問題になった。この原因は、RD自身がチロシナーゼにより代謝活性化され、酸化された毒性物質オルトキノンを生じ、活性酸素を産生し、メラノサイト特異的に細胞傷害を引き起こし、メラノサイトが減少・消失し白斑を発症したと考えられている。この時、皮膚病変部では、細胞傷害性CD8⁺T細胞などの浸潤が見られることや、発症のHLA依存性が高いこと、患部より離れた場所でも起こることなどより、自己免疫反応の誘導の関与も示唆されているが、その作用機序については不明の点が多い。

そこで、本研究では、RDによる白斑誘発には、RDがメラノサイトの細胞死を誘導し、DCを活性化し、CTLを誘導するという仮説を考えて、その作用機序の解明を試みた。そこで、まず、DCとしてヒト単球様細胞株THP-1を、メラノサイトとしてヒトメラノーマSK-MEL-37を用いて、いわゆるトランスウエルのインサートに3次元培養用のScaffold(足場材)内で培養したSK-MEL-37を入れ、その下に通常の2次元培養のTHP-1を入れる共培養系を開発した。この系に、上からRDを加えると、SK-MEL-37が存在すると、SK-MEL-37の細胞死の誘導と共に、THP-1の細胞表面上にDCの成熟化マーカーである共刺激分子CD86の発現増強を誘導することを見出した。この時、SK-MEL-37が無いとCD86発現増強が見られず、活性酸素種の除去剤である抗酸化剤N-アセチルシステイン処理によっても、CD86発現増強が抑制された。RDと同様に白斑誘発作用が知られているラズベリーケトンでも、同様に、SK-MEL-37存在下で、THP-1の細胞表面上にCD86発現増強が見られたが、白斑誘発作用がない美白成分アルブチニンやアスコルビン酸で

は、CD86発現増強は見られなかった。

以上の結果より、RDが、ハプテン様の分子として、メラノサイトに作用して細胞死を誘導すると、活性酸素種産生を介しDCの成熟化を誘導し、自己免疫性白斑症を誘発する可能性が示唆された。

5-②-2.

ヒトPD-1/PD-L1抗体のT細胞疲弊解除機能を評価する分子イメージングシステムの確立

(免疫学分野、熊本大学医学部呼吸器外科)

○西 航
(免疫学分野)

若松 英、豊田 博子、古畑 昌枝
塚本 昌子、町山 裕亮、西嶋 仁
横須賀 忠

(免疫学分野、慶應義塾大学医学部呼吸器内科)

竹原 朋宏

(熊本大学医学部呼吸器外科)

鈴木 実

T細胞の活性化にはT細胞受容体と副刺激受容体の両方からの活性化シグナルが必要となる。この副刺激受容体は活性化と抑制性に分けられ、後者を特に「免疫チェックポイント分子」と呼んでいる。近年、複数の免疫チェックポイント阻害薬が開発・臨床応用され免疫療法は標準治療の1つとなりつつある。なかでもヒトPD-1とそのリガンドの結合を阻害するヒト型抗PD-1(CD279)/PD-L1(B7-H1, CD274)抗体は、本邦でも現在5種類が承認されており、それぞれに一定の効果をj得ている。今回我々は、T細胞腫瘍株およびマウスプライマリーT細胞にヒトPD-1を導入し、ヒトPD-L1発現標的がん細胞、抗原提示細胞、および抗原提示人工脂質二重膜を用いて受容体をクロスリンクした時、さらにここにヒト型抗PD-1/PDL1抗体を添加し結合阻害した際のPD-1および下流のシグナル伝達分子を高解像分子イメージングならびに生化学的・生理学的な解析を行った。ヒトPD-1を導入したT細胞腫瘍株をヒトPD-L1発現標的がん細胞や抗原提示細胞と細胞-細胞接着させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いてヒトPD-1とヒトPD-L1が2つの細胞接着面「免疫シナプス」に集まることを確認した。さらに、抗ヒトPD-L1モノクローナル抗体(MIH1)でこの接着