

平成30年4月12日

平成29年度独立行政法人日本学術振興会
藤田記念医学研究振興基金研究助成事業研究概要報告書

独立行政法人日本学術振興会理事長殿

研究者所属・職 国立大学法人金沢大学
附属病院脳神経外科 助教
氏 名 笹川 泰生

本助成事業による研究について、次のとおり報告します。

1. 研究課題名 中枢神経系悪性リンパ腫における IL-10 産生に関連した免疫寛容の解明と治療法の構築 (英文名) Immunological tolerance system associated with interleukin-10 in primary central nervous system lymphoma
2. 研究実施期間 平成29年4月1日～平成30年3月31日
3. 助成金額 <u>1,000,000円</u>
4. 研究の目的 本研究は、難治性悪性脳腫瘍の一つである中枢神経系悪性リンパ腫において免疫抑制サイトカインのひとつである IL-10 に着目する。悪性リンパ腫における免疫回避機構が IL-10 と関連シグナルに起因すると仮定し、実験的に IL-10 と関連シグナルの機能的役割を証明する。これにより中枢神経系悪性リンパ腫の免疫寛容について明らかにし、関連した治療法の基盤を構築する。 中枢神経系悪性リンパ腫は進行が速く、診断/治療が遅れると神経学的な後遺症が残り、生命予後も不良である。しかし、本来リンパ組織が存在しない中枢神経において、なぜリンパ腫が発生し増殖するのか未だ明らかでない。IL-10 の生物活性は多岐に渡るが、他のサイトカインと際立って異なる特徴として“免疫抑制活性”を有し、抗炎症性サイトカインとして免疫を負に制御する。IL-10 は癌の免疫機構において免疫寛容に関わり、正常な癌免疫を抑制するとも言われる。中枢神経系悪性リンパ腫では脳脊髄液の IL-10 が高値となる。我々は、平成27年度の科学研究費で、中枢神経系悪性リンパ腫の早期診断のための指標として脳脊髄液の IL-10 (以下、髄液 IL-10) に着目し微量測定を行った。その結果、他の悪性脳腫瘍や炎症性疾患と比べて有意に高く、髄液 IL-10 測定の診断的価値について報告した (研究業績: Sasagawa et al. J Neurooncol 2015)。しかしながら、髄液 IL-10 の上昇と中枢神経系悪性リンパ腫における免疫寛容の関連は明らかではない。本研究では IL-10 に着目し免疫機構の観点から中枢神経系悪性リンパ腫における治療法の基盤を構築したい。

5. 研究概要報告

【脳脊髄液 IL-10 と悪性リンパ腫の治療予後判定について】

中枢神経悪性リンパ腫の特性として、IL-10 を産生し過剰分泌している可能性が高いと示唆された。治療前の髄液 IL-10 値は、1 例を除いて有意な上昇を認めた (median: 28 pg/ml, range: 3-1040 pg/ml)。このうち 9 例において、化学療法全コース終了後、髄液 IL-10 を測定できた。9 例すべてにおいて、治療前に比べて髄液 IL-10 は有意に低下していた (median: 2 pg/ml, range: 2-212 pg/ml)。また、6/9 例では髄液 IL-10 は感度以下 (2 pg/ml 以下) となった。その後の経過で再発は 4/9 例で認め、再発した時点での髄液 IL-10 は化学療法後と比べて上昇していた。髄液 IL-10 は PCNSL における診断的マーカーだけでなく、治癒評価や再発マーカーとしても有用であると考えられた。この結果については今後症例数を増やし、英文雑誌へ投稿を検討している。

【悪性リンパ腫の免疫組織染色と IL-10 およびレセプターの発現】

IL-10, IL-10R の陽性コントロールとしては脾臓の組織標本を用い、陰性コントロールとしては一次抗体を省いたものとした。IL-10 の関連サイカイン関連シグナル分子を同定するために各 JAK/STAT ファミリー (JAK 1-3 Tyk2/STAT 1-6) についても同染色を行った。免疫染色の評価: 免疫染色標本でリンパ腫細胞中の陽性細胞数を計測し、その平均を百分率で評価する。リンパ腫と鑑別を要した他頭蓋内疾患も同様の手法で行い比較した。染色部位については IL-10, IL-10R は細胞膜、JAK は細胞質、STAT は細胞質および核内で発現の有無を評価する。リンパ腫細胞において IL-10 の高発現を認めた。ただし、この発現の程度は髄液 IL-10 値と明らかな相関は得られなかった。これはサンプル数の影響もしくは抗体の染色性の問題が考えられた。今後も症例を蓄積し検討する必要がある。

【ウェスタンブロット解析】

手術で摘出されたリンパ腫標本をトリプシン-EDTA 処理後、電気泳動法 (SDS-PAGE 法) により行った。一次抗体は、抗 IL-10, IL-10R 抗体および各 JAK/STAT ファミリーの抗体を用いた。IL-10, IL-10R は蛋白レベルでの上昇を認めたが、他の腫瘍とは有意差がなく、検出方法の再検討を要する結果となった。抗体の特性や希釈倍率を考慮し、再度実験を予定している。

【今後の展望】

これらの実験で中枢神経系悪性リンパ腫の IL-10 と関連シグナルのタンパク質レベルでの関与が明らかになることが期待される。本来、リンパ組織の無い中枢神経系において悪性リンパ腫が発生する病態は未だ明らかではない。また、脳は血液脳関門という特殊な環境から有効な抗がん剤や分子標的薬剤はなく、中枢神経悪性リンパ腫に対する新たな薬剤の開発が望まれる。本研究は IL-10 というサイトカインにターゲットを絞り、その分泌機構およびこれに関与した増殖機構を解明することで、標的療法のターゲットとして応用されることを目指す。

6. 研究成果の発表について

独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業の英文称：
「JSPS Fujita Memorial Fund for Medical Research」

研究者所属・職 国立大学法人金沢大学 附属病院 脳神経外科 助教

氏 名 笹川 泰生

○論文発表 発表者名、テーマ名、発表誌名・巻号、発刊年月を記入してください。
また、別刷り2部を必ず添付してください。

研究成果をまとめ発表を予定している。

○口頭発表 発表者名、テーマ名、会合名、発表年月日を記入してください。

研究成果をまとめ発表を予定している。

○著 書 著者名、出版社名、刊行年月日、共著または単著の別を明記してください

なし

注：

- (1) 研究成果を学会誌等で発表する場合には、独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業による助成を受けた旨を必ず明記して下さい。
また、その別刷り2部を「研究概要報告書」と共に必ず提出して下さい。
- (2) 本基金の助成に係る代表的な論文、口頭発表及び著書にはタイトルの前に○を付けて下さい。