

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

耳鼻咽喉科免疫アレルギー (2007.09) 25巻2号:81～82.

鼻性NK/T細胞リンパ腫細胞株SNK6におけるLFA-1とICAM1の発現

高原幹, 長門利純, 岸部幹, 森合重誉, 坂東伸幸, 荻野武,  
林達哉, 原渕保明

## 15. 鼻性NK/T細胞リンパ腫細胞株 SNK6におけるLFA-1とICAM1の発現

高原 幹, 長門利純, 岸部 幹, 森合重誉, 坂東伸幸, 荻野 武, 林 達哉, 原測保明

旭川医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

### Expression of LFA-1 and ICAM1 on SNK6 established from nasal NK/T-cell lymphoma

Takahara, M., Nagato, T., Kishibe, K., Moriai, S., Bandoh, N., Ogino, T., Hayashi, T., Harabuchi, Y.

Dept. of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Asahikawa Medical College

#### 1. はじめに

鼻性NK/T細胞リンパ腫はNK細胞または $\gamma\delta$ T細胞由来の鼻腔に好発する予後不良なリンパ腫である。我々は本腫瘍の腫瘍特性を種々検討し、腫瘍細胞にEBウイルスが高率に感染し、IL-9や10を通じてその腫瘍増殖に関与している事を明らかにして来た<sup>1)3)</sup>。しかし、その腫瘍特性はまだ十分に解明されていないのが現状である。

そこで今回我々は細胞表面接着因子であるLFA-1 (Leukocyte Function-associated Antigen-1)とICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1)に注目した。LFA-1はCD11aとCD18の重合体であり、ICAM-1はCD54とも言われ、LFA-1のリガンドである。NK細胞が標的細胞を攻撃する際、NK細胞側にCD11aとCD18が発現し、標的細胞側に発現しているCD54と結合する事により、NK細胞に活性化と細胞増殖のシグナルが伝達される事が知られている<sup>4)</sup>。すでに我々は、本リンパ腫細胞上にCD54の発現が認められる事を報告しており<sup>5)</sup>、今回細胞株を用いてその発現と機能について検討した。

#### 2. 対象と方法

使用した細胞株は鼻性NK/T細胞リンパ腫患者の鼻腔局所から樹立された細胞株SNK6を始め、末梢血から樹立されたSNK1、慢性活動性EBウイルス感染症から樹立されたKAI3、リンパ芽球性リンパ腫の胸水から樹立されたYTをEBV陽性の細胞株として用いた。EBV陰性の細胞株としてはNK細胞白血病から樹立されたKHYG-1とNKLを用いた。

方法としては、発現解析はフローサイトメトリーにて行った。まず、各細胞株を $1 \times 10^6$ に調整し、PBSにて洗浄後、一次抗体であるビオチン-抗CD11a (BioLegend, San Diego, USA)、CD18 (BioVendor, Palackeho, Czech Republic)、CD54 (LAB VISION, Fremont, USA)抗体を各2ulペレットに混合した。1時間4°Cで静置後、再度PBSにて洗浄し、二次抗体であるアビジン-FITCを2ulペレ

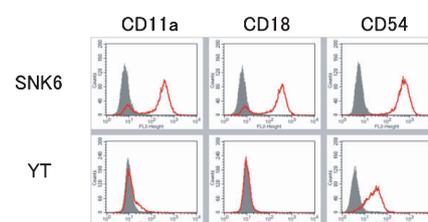
ットに混合、1時間4°Cで静置後、再度PBSにて洗浄し、FACScanにてフローサイトメトリーを施行した。

機能解析においてはCD54ブロッキング抗体 (LAB VISION, Fremont, USA)を用いてCD11a、CD18とCD54の結合阻害を行い、細胞増殖能をMTSアッセイにて検討した。まず、 $1 \times 10^5$ /mlに細胞を調節し、96穴プレートに200ulずつ分注後、抗CD54抗体を0, 1, 5ug/mlの濃度で各ウェルに添加した。72時間培養を行いMTS溶液 (CellTiter96 Promega)を20ulずつ各ウェルに添加し、再度4時間培養を継続した。最後にプレートリーダーにて490nmの吸光度を測定し、細胞増殖能を測定した。

#### 3. 結果

フローサイトメトリーの結果を図1に示す。サイトグラムに示す様に、SNK6ではCD11a、CD18、CD54の発現が認められたが、YTではCD54の発現は認められるものの、CD11a、CD18の発現は認められなかった。他のNK細胞株での発現も含め表にまとめたが、YT以外はEBV陽性、陰性株に関わらずCD11a、CD18、CD54の発現を認めた。

細胞増殖能の測定結果を図2に示す。SNK6において、IL2非存在下では細胞がアポトーシスを起こす事もあり、



	SNK6	KAI3	SNK1	KHYG1	NKL	YT
CD11a	+	++	+	++	+	-
CD18	+	++	+	++	+	-
CD54	+	++	+	++	+	+

図1 CD11a、CD18、CD54の発現。SNK6を含めたNK細胞株でCD11a、CD18、CD54の発現が認められた。

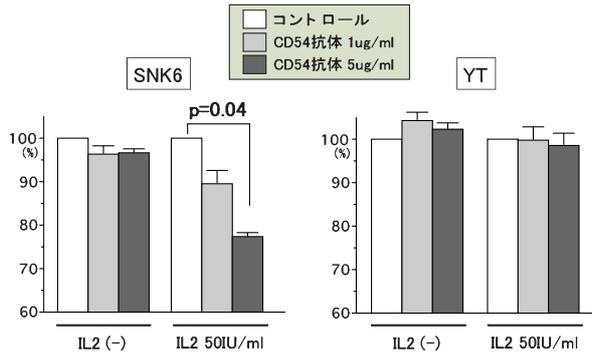


図2 抗CD54抗体存在下での細胞増殖能の変化。抗CD54抗体によってIL2存在下でのSNK6の細胞増殖能が有意に低下した。

抗体での増殖能抑制効果は認められなかったが、IL2存在下ではCD54抗体5ug/mlにて抗体非存在下に比較して有意な増殖抑制効果を認めた。ところが一方、CD11a, CD18が発現していないYTでは同条件下でもSNK6にて認められた細胞増殖抑制効果は認められなかった。

#### 4. 考察

上記の結果から、鼻性NK/T細胞リンパ腫細胞株SNK6ではCD11, CD18, CD54の発現を認め、その結合により、オートクライン的に細胞増殖が亢進している可能性が示唆された。今後の検討としては、LFA-1が実際の腫瘍細胞で

発現しているかを免疫染色等で検討しなければならないが、発現している事が確認されれば、実際すでに米国では皮膚科疾患の治療として抗LFA-1抗体(エファリズマブ)が使用されている事もあり、治療として応用できる可能性が十分期待できる。今後、上記の検討も含め、LFA-1, CD54の発現調節についても研究を続けて行く予定である。

#### 参考文献

- 1) Harabuchi, Y., Yamanaka, N., et al.: Epstein-Barr virus in nasal T-cell lymphomas in patients with lethal midline granuloma. *Lancet* **335**: 128-130, 1990.
- 2) Nagato, T., Kobayashi, H., et al.: Expression of interleukin-9 in nasal natural killer/T-cell lymphoma cell lines and patients. *Clin. Cancer Res.* **11**: 8250-8257, 2005.
- 3) Takahara, M., Kis, L.L., et al.: Concomitant increase of LMP1 and CD25 (IL-2-receptor alpha) expression induced by IL-10 in the EBV-positive NK lines SNK6 and KAI3. *Int. J. Cancer* **119**: 2775-2783, 2006.
- 4) Sugie, K., Nakamura, K., et al.: Activation of natural killer cells by the mAb YTA-1 that recognizes LFA-1. *Int. Immunol.* **7**: 763-769, 1995.
- 5) Harabuchi, Y., Kataura, A., et al.: Circulating intercellular adhesion molecule-1 and its cellular expression in head and neck non-Hodgkin's lymphomas, including lethal midline granuloma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **105**: 634-642, 1996.