

AMCoR

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

日本鼻科学会会誌 (2011.04) 50巻1号:87～90.

鼻副鼻腔疾患におけるウイルス感染の位置づけ
鼻性NK/T細胞リンパ腫の発症・増殖におけるEBウイルスの関与

岸部 幹

シンポジウム1-4

鼻性 NK/T 細胞リンパ腫の発症・増殖における EB ウイルスの関与

旭川医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

岸部 幹

はじめに

鼻性 NK/T 細胞リンパ腫は、腫瘍細胞内に EB ウイルスの感染(Harabuchi et al, Lancet , 1990)を認め、現在では EB ウイルス関連リンパ腫として認知されている。本稿では、腫瘍が産生するケモカインに着目し、その役割について考察する。

1. 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫が産生するケモカインとそのレセプターの発現

鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株(SNK6、SNK1、SNT8)と非鼻性 NK 細胞株(KHYG1:EBV 陰性)を対象にケモカインアレイによるスクリーニングを行った。その結果、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株において KHYG1 より有意に発現が上昇しているケモカインとして TARC、MDC、IL-8、MCP-1、IP-10 が同定された(図 1A)。これらのケモカインの中で、IP-10 については、LMP1 が IP-10 の産生を促し、オートクライン機序により浸潤能を自ら亢進させ、パラクラインにて炎症性細胞を腫瘍におびき寄せ、本疾患の組織像である炎症性細胞の浸潤を引き起こす可能性について、当科にて報告している(Moriai et al, Clin Cancer Res, 2009)。今回は、TARC、MDC、IL-8、MCP-1 について検討を行った。TARC と MDC は CD4 陽性 T 細胞、胸腺細胞、NK 細胞、単球などの遊走活性に関与しており、受容体は CCR4 である。IL-8 は好中球、好塩基球、T 細胞などの遊走活性や血管新生に関与しており、受容体は CXCR1 と CXCR2 である。MCP-1 は単球、T 細胞、好塩基球などの遊走活性に関与しており、受容体は CCR2 である。また、いずれのケモカインも EB ウイルスの LMP-1 蛋白によって発現が誘導されるとの報告がある。しかしながら、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫においてこれらのケモカインを詳細に検討した報告はない。そこで、4種類のケモカイン発現が鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株に特異的かどうかを調べるために、他の NK 細胞株や T 細胞株を含めた細胞株培養上清中のケモカイン量を ELISA 法にて測定した(図 1B)。鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株では、ケモカインアレイの結果に一致して、TARC は3つの細胞株すべてにおいて、MDC は SNK6 と SNK1 で、IL-8 は SNT8 と SNK1 で、MCP-1 は SNT8 でそれぞれ十分量の産生を認め、時間とともに増加していた。その他の NK 細胞株や T 細胞株では、それらはほとんど産生を認めなかった。今回使用した細胞株でケモカインを産生している細胞株のほとんどが EBV 陽性 LMP-1 陽性細胞株であることから、ケモカイン産生に EBV 感染が関連している可能性が考えられた。また、ケモカインレセプターの腫瘍における発現をフローサイトメトリー法にて検討した。CCR4 は鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株すべてで発現を認めた。しかし、CXCR1、CXCR2、CCR2 は発現を認

めなかった。これらの結果から、本疾患におけるケモカインの役割について考察した。まず、ケモカイン発現には LMP1 などの EBV 由来の分子が関与している可能性がある。さらに、レセプターも発現していた TARC、MDC については、腫瘍自身へのオートクライン作用により浸潤、転移能の亢進、増殖に関与している可能性がある。また、これらケモカインのパラクライン作用で腫瘍周囲への炎症性細胞の遊走、浸潤に関与している可能性があり、本作用が本疾患の病理組織像の特徴を形成している可能性が示唆された。

2. 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫と周囲の炎症性細胞との関係

炎症性細胞と鼻性 NK/T 細胞リンパ腫との関連について検討した。本リンパ腫に特異的に発現していたケモカインである IP-10、MDC および MCP-1 は単球を遊走させるケモカインであり、近年、正常 NK 細胞と単球との共培養により、正常 NK 細胞の増殖能が亢進することが報告(Zhang, et. al, 2007)されている。また、単球の膜上には膜結合型 IL-15 が発現しており、NK 細胞上には IL-15 レセプターが発現しており、IL-15 による本リンパ腫細胞株の刺激により、細胞株の LMP-1 の発現が亢進する(Takahara et. al, 2006)ことを我々は報告してきた。以上から、炎症性細胞のなかでも単球に着目して研究を進めた。まず、臨床検体を用いて腫瘍周囲の単球の浸潤について 2 重免疫染色にて検討したところ、CD14 陽性細胞近傍に CD56 陽性 NK/T 細胞リンパ腫細胞を認めた。次に単球と NK 細胞株とを 1:1 で混合し共培養を行なった。NK 細胞株単培養と比べ、共培養における NK 細胞株の生細胞数は経時的に増加した(図 2A)。続いて NK 細胞株と混合する単球の比率を変えて共培養を行った。混合する単球の比率が増えるほど、NK 細胞株の増殖能が亢進した(図 2B)。また、共培養したリンパ腫細胞株の LMP1 の発現をウェスタンにて検討したところ、単球との共培養により増殖した腫瘍細胞では、腫瘍細胞の LMP1 の発現が亢進していた。次に、NK 細胞株と単球との作用が、細胞間接触にて起こることを証明するため、トランスウェルをもちいて NK 細胞株と単球との細胞間接触を阻害しながら共培養を行い NK 細胞株の増殖能を検討した。トランスウェル有りの培養では、NK 細胞株の生細胞数は徐々に低下することが認められた。一方、トランスウェル無しの培養では前述のように細胞増殖が認められた(図 2C)。このことから、単球との共培養により誘導された NK 細胞株の増殖能には細胞間接触が大きく関与していることが示唆された。最後に、IL-15 中和抗体による単球と共培養された NK 細胞株の増殖能について検討した。IL-15 中和抗体を加えることにより NK 細胞株の生細胞数が減少し増殖能が抑制されていることが示された(図 2D)。また、共培養したリンパ腫細胞株の LMP1 の発現をウェスタンにて検討したところ、IL-15 中和抗体にて LMP1 の発現が低下していた。以上より、本疾患における腫瘍に浸潤する単球の役割については、LMP-1 によりケモカインである単球遊走能のある MDC、MCP-1 の発現が亢進し、パラクラインにより単球をリンパ腫へ遊走させ、単球上の膜結合型 IL-15 とリンパ腫細胞の IL-15 が結合し、LMP-1 の発現が亢進し、細胞増殖に関与することが示唆された(図 3)。

結語

1. 鼻性NK/T細胞リンパ腫細胞株において、特異的に発現しているケモカインとしてTARC、MDC、IL-8、MCP-1があり、これらはEBウイルスのLMP1がその発現に関与している可能性がある。
2. これらケモカインのパラクライン作用が、本リンパ腫組織像の特徴である高度の炎症性細胞の浸潤に寄与している可能性が示唆された。
3. IP-10、MDC、MCP-1については、単球を遊走させる作用を有し、臨床検体の検討では、本リンパ腫周囲に単球の集積を認めた。
4. 単球と本腫瘍細胞との結合により、LMP1を介した腫瘍増殖への関与が示唆された。

図1. 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株が産生するケモカイン

- A. ケモカインアレイの結果
- B. 各細胞株でのケモカインの発現(ELISA 法)

図2. 単球と共培養した鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株の増殖変化

- A. 経時的变化による腫瘍生細胞数変化
- B. 単球の比率変化による腫瘍生細胞数変化
- C. トランスウェルを用いた腫瘍生細胞数変化
- D. IL-15 中和抗体を用いた腫瘍生細胞数変化

図3. 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫における腫瘍に浸潤する単球の役割(仮説)

図1

A

	SNK6 / KHYG1	SNT8 / KHYG1	SNK1 / KHYG1
TARC	183	101	183
MDC	13.8	2.11	12.8
IL-8	1.09	9.75	12.7
MCP-1	2.08	269	1.99
IP-10	9.76	6.57	8.96

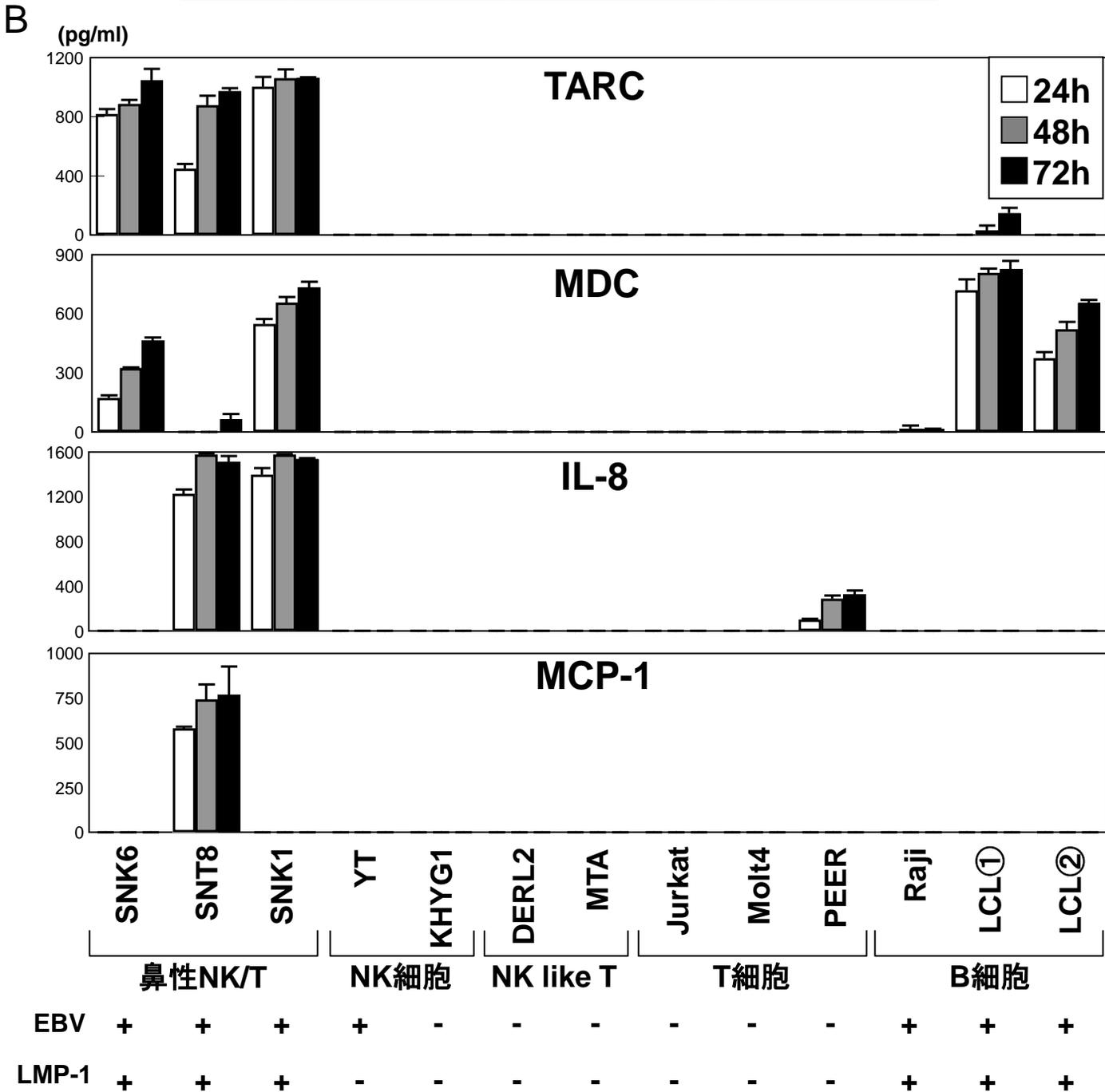


図2

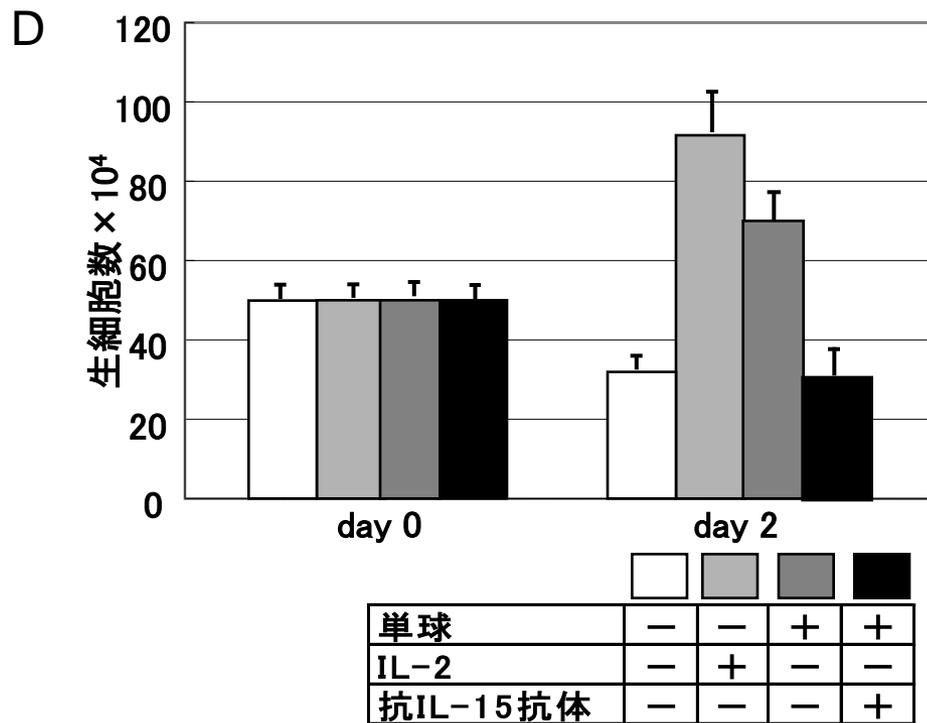
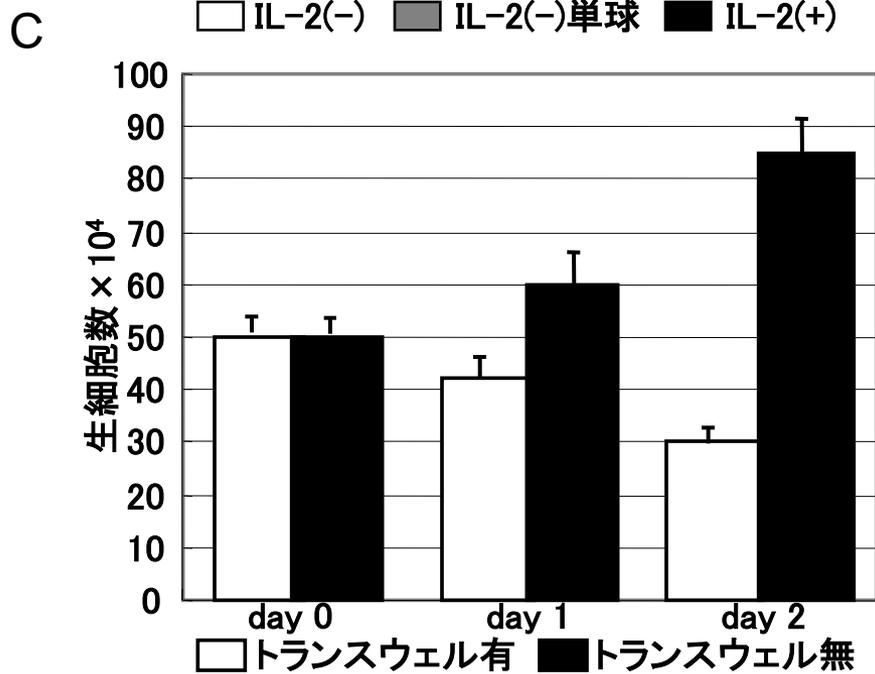
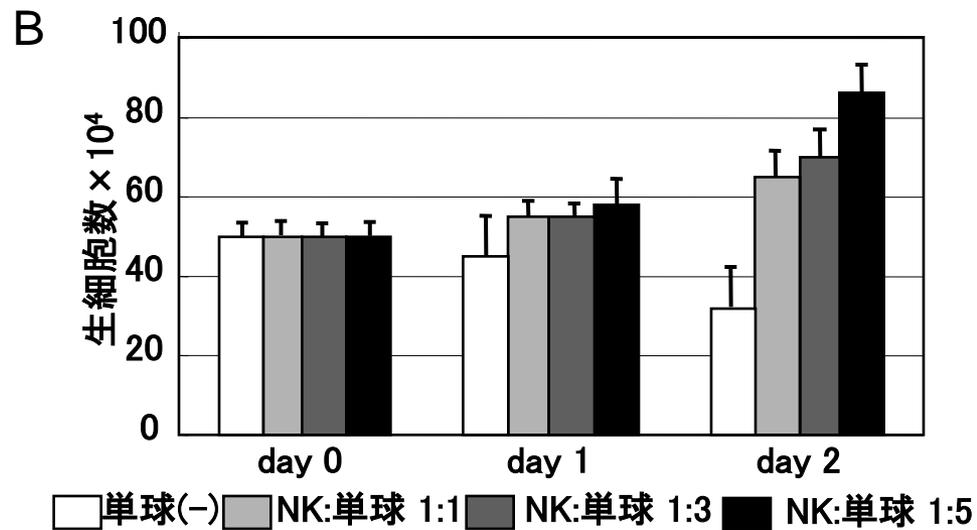
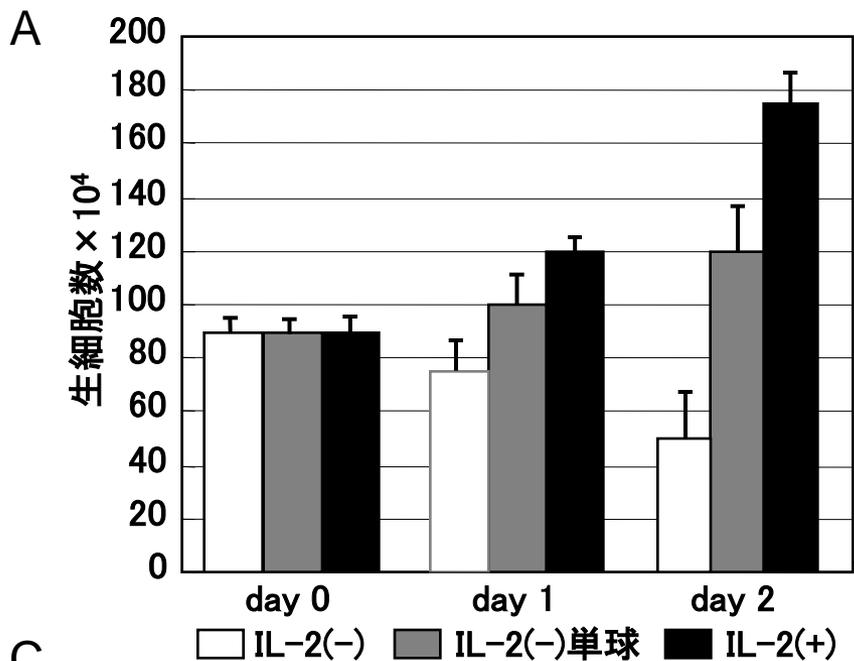


図3

