

成人 T 細胞性白血病/リンパ腫の NK 細胞免疫環境の解明

～免疫療法への貢献に期待～

ポイント

- ・ 難治性の悪性リンパ腫「成人 T 細胞性白血病/リンパ腫(ATLL)」の NK 細胞抵抗性を解明。
- ・ CRISPR-Cas9 スクリーニングによって ATLL の NK 細胞免疫に重要な遺伝子を同定。
- ・ ATLL を含む T 細胞性悪性リンパ腫の免疫療法の治療効果予測に期待。

概要

北海道大学大学院医学院の千葉雅尋医員と同大学院医学研究院の中川雅夫特任准教授らの研究グループは、同大学大学院薬学研究院（前仲勝実教授）と共同研究で、難治性 T 細胞性悪性リンパ腫「成人 T 細胞性白血病/リンパ腫(ATLL)」の NK 細胞免疫からの耐性機序を解明しました。

ATLL は human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV1) 感染者の一部に生じる、日本人での発症頻度が比較的高い T 細胞性の悪性リンパ腫です。ATLL は既存の治療に対する反応性が乏しい難治性の疾患で、新しい視点からの治療法の開発が求められています。

今回の研究では、新規ゲノム編集技術である CRISPR-Cas9^{*1} を用いて ATLL 細胞株内の約 20,000 種類の遺伝子を網羅的にノックアウトさせ、どの遺伝子が最も ATLL の NK 細胞免疫に重要な役割を担っているかを機能的にスクリーニングしました。その結果、ATLL 細胞の表面に発現する CD48 が NK 細胞からの攻撃に対する感受性に重要な役割を果たしていることを見出しました。さらに ATLL 細胞では正常なリンパ球と比較して CD48 の発現が低下していることを発見しました。これらの結果から ATLL 細胞は自身の CD48 の発現を低下させることで、NK 細胞からの免疫を回避し、悪性腫瘍の形質を獲得していると考えられました。

そして、ATLL 以外の T 細胞性の悪性リンパ腫においても、正常なリンパ球と比較して CD48 の発現量が低下しており、予後との関連も示すことができました。

このことから、ATLL 以外の T 細胞性の悪性リンパ腫においても CD48 の発現量が NK 細胞免疫からの逃避に重要な役割を担っていると考えられます。

今回の結果から、T 細胞性の悪性リンパ腫の CD48 発現が免疫療法の治療効果予測に繋がることが期待されます。

なお、本研究成果は、2022 年 8 月 3 日(水)公開の Blood 誌にオンライン掲載されました。

【背景】

成人 T 細胞性白血病/リンパ腫 (Adult T-cell leukemia/lymphoma; ATLL) は human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) 感染者の一部に発症する悪性リンパ腫で、既存の化学療法に対する効果が乏しい難治性の疾患です。次世代シーケンス^{*2}を用いたゲノム異常の網羅的解析によって、ATLL 細胞は T 細胞性免疫に関わる遺伝子変異を高頻度に有することが判明しています。一方、生体内の正常 NK 細胞はこれらの異常が起こった細胞を攻撃できることが知られています。このため、ATLL 細胞は NK 細胞免疫を回避する能力を有していることが予想されますが、その機序については解析が進んでいませんでした。

【研究手法】

研究グループは、ATLLにおけるNK細胞免疫に重要な働きを持つ遺伝子を同定するために、ゲノム編集技術CRISPR-Cas9をATLL細胞株に用いることで、一度に約20,000種類の遺伝子を網羅的にノックアウトさせ、ゲノムワイドな機能的スクリーニングを施行しました。具体的な方法として、19,114種類の遺伝子に対する単鎖ガイドRNA (sgRNA) をATLLの細胞株に導入しました。このATLLの細胞株にNK細胞株を加えたものと加えていないものを作成し、24時間から48時間培養しました。培養後にATLLの細胞株のゲノムDNAを抽出し、ゲノムDNA上のsgRNA配列をPCRで増幅、次世代シーケンサーで検出しました。計測されたsgRNA数から、NK細胞株を加えていないものとNK細胞株を加えたものとの比を計算し、どの遺伝子がATLLに対するNK細胞免疫に機能的に重要な役割を担っているかを検討しました。

【研究成果】

上記スクリーニングから、CD48 の発現が減少した場合に ATLL 細胞は NK 細胞免疫から逃れることができることを見出しました。CD48 を欠損した ATLL 細胞は NK 細胞株のみならず、健常人の NK 細胞、さらには ATLL 患者の NK 細胞に対しても耐性を示しました。さらに、正常なリンパ球と比較して ATLL 細胞では CD48 の発現量が有意に低下したことも明らかにしました。CD48 発現が低下する機序を検討したところ、ATLL 細胞は STAT5B (Signal Transducers and Activator of Transcription 5B)^{*3} の機能の弱화에従い、CD48 の発現を低下させることを解明しました。このことから、ATLL 細胞は STAT5B を介して CD48 の発現量を低下させ、NK 細胞免疫から逃避していることを明らかにしました。

一方、ATLL 以外の T 細胞性悪性リンパ腫病型においても CD48 の発現量が低下しており、一部の T 細胞性の悪性リンパ腫病型においては CD48 の発現量と予後が関連していることも示しました。

【今後への期待】

本研究では CRISPR-Cas9 ライブラリースクリーニングを用いて、ATLL 細胞が CD48 発現を低下させることで NK 細胞免疫から逃避できることを明らかにしました。また、ATLL 以外の T 細胞性の悪性リンパ腫においても CD48 発現低下が NK 細胞免疫に重要である可能性も見出しました。免疫チェックポイント阻害薬などを用いた免疫療法は様々ながんにも用いられていますが、実際に治療が奏功する方は一部です。そのため、この免疫療法が有効であるかを事前に判断することが求められています。現在 T 細胞性の悪性リンパ腫においても免疫チェックポイント阻害薬などの免疫療法の開発が進められており、それらによる免疫療法による臨床試験が T 細胞性の悪性リンパ腫においても行われています。T 細胞性の悪性リンパ腫における CD48 の発現を調べることでこれらの免疫療法の効果が予測できる可能性があり、臨床応用への展開が期待されます。

【謝辞】

本研究は科学研究費（基盤研究 C(18K08313)・基盤研究 B(21H02775)）及び高松宮妃癌研究基金、先進医薬研究振興財団、武田科学振興財団の支援を受けて遂行されたものです。

論文情報

| | |
|-----|--|
| 論文名 | Genome-wide CRISPR screens identify CD48 defining susceptibility to NK cytotoxicity in peripheral T-cell lymphomas (CRISPR スクリーニングで T 細胞性の悪性リンパ腫の NK 細胞傷害を規定する遺伝子として CD48 を同定) |
| 著者名 | 千葉雅尋 ¹ 、下埜城嗣 ¹ 、石尾 崇 ¹ 、武井則雄 ² 、笠原耕平 ³ 、小笠原励起 ⁴ 、荒 隆英 ¹ 、後藤秀樹 ¹ 、泉山 康 ⁴ 、乙黒聡子 ⁵ 、Liyanage P. Perera ⁶ 、長谷川寛雄 ⁷ 、前田道之 ⁸ 、橋野聡 ⁹ 、前仲勝実 ^{5, 10} 、豊嶋崇徳 ¹ 、Thomas A. Waldmann ⁶ 、Yibin Yang ⁷ 、中川雅夫 ¹ （ ¹ 北海道大学大学院医学研究院血液内科学教室、 ² 北海道大学大学院医学研究院附属動物実験施設、 ³ 札幌北榆病院、 ⁴ 札幌愛育病院、 ⁵ 北海道大学大学院薬学研究院創薬科学研究教育センター、 ⁶ アメリカ国立衛生研究所、 ⁷ 長崎大学病院検査部、 ⁸ 京都大学ウイルス・再生医科学研究所、 ⁹ 北海道大学保健センター、 ¹⁰ 国際連携研究教育局 バイオサーフィス創薬グローバルステーション） |
| 雑誌名 | Blood（血液内科学の専門誌） |
| DOI | 10.1182/blood.2022015646 |
| 公表日 | 2022 年 8 月 3 日(水) (オンライン公開) |

お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院 内科系部門 内科学分野 血液内科学教室

/国際造血幹細胞移植医療学分野 特任准教授 中川雅夫（なかがわまさお）

T E L 011-706-7214 F A X 011-706-7823 メール nakagawam@med.hokudai.ac.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jip-press@jimuhokudai.ac.jp

【参考図】

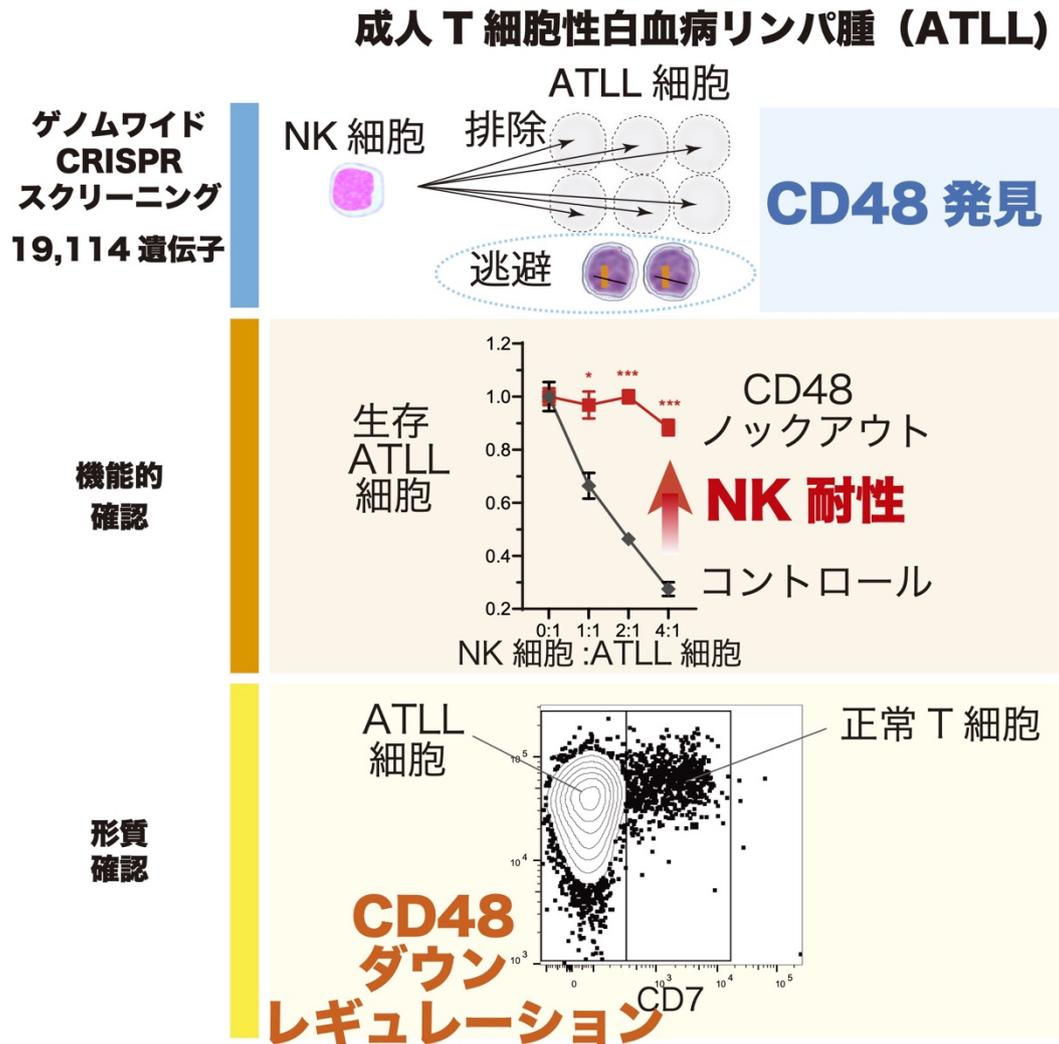


図 1. ATLL における CD48 発現と NK 細胞抵抗性の概要 (作成: 中川雅夫)

【用語解説】

- *1 CRISPR-Cas9 … DNA の二本鎖を切断することで、ゲノム配列の任意の遺伝子を欠損、挿入する遺伝子改変技術のこと。
- *2 次世代シーケンス … 大量の DNA 配列を解析する技術のこと
- *3 STAT5B (Signal Transducers and Activator of Transcription 5B) … リン酸化されることで、核内に移行して、標的とする遺伝子を活性化する転写因子のこと。