

# 審査の結果の要旨

氏名 中島 誠

本研究において、CD30 リガンド (CD30L) との結合によって生じる CD30 シグナルは Trogocytosis を介して惹起され、一過性の刺激応答と制御応答を連続して生じさせる動的なメカニズムであることを明らかにした。さらに成人 T 細胞白血病 (ATL) の進展における CD30 発現の意義を示している。

本論文は 2 つの章に分けて、CD30 の生物学的重要性を展開させている。

第 1 章の副題は、”Trogocytosis による CD30L-CD30 複合体の細胞内移行機構の解析”である。CD30L により刺激された CD30 発現細胞は、細胞増殖、細胞生存、サイトカインの分泌、細胞死など、細胞の種類や分化段階に依存して様々なシグナルに対する応答を示す。近年、抗 CD30 モノクローナル抗体に抗細胞増殖剤を結合させた抗体医薬としてブレンツキシマブ・ベドチン (BV) が開発され、CD30 発現リンパ腫に対して高い奏功率が得られている。CD30 への BV の結合は、CD30-BV 複合体の細胞内輸送を誘導し、その結果、細胞毒性効果を発揮する。一方で、CD30L は細胞膜型リガンドであるために、この過程が CD30L を介した CD30 のシグナル伝達を模倣しているかどうか不明である。このことを検証するために、申請者は、CD30 と CD30L に蛍光タグを付けて可視化し、それらが結合した後の局在を追跡した。タイムラプスイメージングと共焦点顕微鏡による局在解析の結果から、CD30 と CD30L の結合により、互いの細胞表面で CD30 と CD30L のクラスターが出現し、多数の CD30L-CD30 複合体が形成され、CD30 発現細胞側へ複合体は取り込まれ、それらはリソソームで分解されることが示された。レセプターとリガンドの結合を介して、相手の細胞膜の一部ごと、その複合体を細胞内へ取り込む現象を、Trogocytosis と呼ぶ。細胞膜染色プローブを用いた検証と、CD30 と CD30L に無関係な膜タンパク質の細胞間移行の検証により、CD30 と CD30L の結合は Trogocytosis を生じさせることが明らかとなった。細胞内移行に関する各種阻害剤の検討により、CD30L-CD30 複合体の細胞内移行はアクチン重合の作用により生じることが示され、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  流入量の測定と TRAF2 の局在から、CD30L-CD30 複合体の細胞内移行とシグナル伝達は同期することが示された。またこの機構はホジキンリンパ腫における内在性 CD30 においても同様に作動した。以上の結果から、CD30 と CD30L の結合は、アクチン重合に依存した Trogocytosis による CD30L-CD30 複合体の細胞内移行、シグナロソームの発生、シグナル伝達の活性化を惹起し、最終的に複合体はリソソームで分解制御されることが明らかとなった。

第 2 章の副題は、”HTLV-1 キャリアにおいて CD30 は ATL の病型進行と多分葉核リンパ球を特徴付ける”である。申請者は HTLV-1 感染細胞における CD30 発現の臨床病理学

的重要性について検証した。臨床検体を用いた本研究結果から、CD25 と CD4 を合わせて発現している CD30 陽性細胞は高頻度にウイルス感染しており、ATL の病型の進行に伴い、増加傾向にあることが確認された。これら CD30+CD25+CD4+細胞は、"Flower Cell"と呼ばれる異常リンパ球様形態を呈し、細胞周期活性の表現型を示し、一部に多倍数体細胞を含んでいた。HTLV-1 感染細胞株への CD30L を介した CD30 刺激は、多分葉核化、細胞周期活性の促進、多倍数体化を惹起し、これらの細胞は高頻度に不完全な細胞質分裂を引き起こしていた。これらの結果から CD30 の発現は、ATL の病型進行に関連があると同時に、多分葉核の特徴、染色体異常細胞の出現、細胞増殖活性に関連することを示唆している。

2つの章から、Trogocytosis による CD30 シグナルの一過性の刺激応答とそれに続く制御応答は、HTLV-1 感染細胞および ATL 細胞の細胞増殖活性を一過性にコントロールし、同時に不完全な細胞質分裂を介した染色体異常を惹起してしまうため、ATL における多段階の腫瘍化機構に関連する可能性が示唆された。以上の考察から、CD30 発現細胞の除去を可能とする CD30 抗体医薬は、ATL 発症前後の治療に貢献しうると考えられる。

本論文第 1 章は、渡邊真理子、内丸薫、堀江良一との共同研究であり、第 2 章は、矢持忠徳、渡邊真理子、内丸薫、宇都宮與、東原正明、渡邊俊樹、堀江良一との共同研究であるが、共に論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与は十分であると判断する。

したがって、博士（医科学）の学位を授与できると認める。

以上 1663 字