

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

The levels of serum soluble CD86 are correlated with the expression of CD86 variant 3 gene and are prognostic indicators in patients with myeloma

血清可溶性 CD86 濃度は CD86 variant 3 遺伝子発現と相関し、
多発性骨髄腫の予後指標となる

日本医科大学大学院医学研究科 血液内科学分野
研究生 木下 量介
Experimental Hematology, volume 121, 2023 掲載
DOI 10.1016/j.exphem.2023.01.006

本論文において申請者は、多発性骨髄腫（MM）における可溶性 CD86（sCD86）の発現性と臨床的意義、予後指標としての有用性および sCD86 の産生機序を明らかにすることを計画した。

MM は骨髄中の異常な形質細胞が増殖し、貧血、病的骨折などの溶骨病変、高カルシウム血症、腎機能障害などを引き起こす血液腫瘍である。MM はヘテロな疾患単位であり、治療戦略として正確に予後予測を行うことが重要である。これまで、MM の予後予測には、血清 LDH、 $\beta 2$ ミクログロブリンなどが用いられてきたが、血液腫瘍の患者血清で検出された種々の可溶性免疫関連分子も病勢進行および予後と関連することが報告されている。

B7 ファミリー分子である CD86 は膜貫通型糖蛋白であり、正常形質細胞よりも MM 患者の異常形質細胞に有意に高発現していることが知られている。また、腫瘍細胞における CD86 高発現は MM および急性骨髄性白血病における予後不良に関連していることが報告されている。そこで本研究では、MM 患者における sCD86 の発現性とその臨床的意義、さらには、sCD86 の産生機序について検討した。

103 名の初発 MM 患者（無症候性 18 名、症候性 85 名）から、血清および骨髄形質細胞における sCD86 濃度と細胞表面 CD86 発現を評価した。診断からの追跡期間中央値は 13 ヶ月（0-42 ヶ月）だった。

ELISA を用いて、正常コントロール 16 例、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症（MGUS）10 例、初発 MM 103 例の血清 sCD86 濃度を測定した。血清 sCD86 濃度は無症候性（中央値 0.22 ng/mL, range 0-3.22）および症候性 MM（中央値 1.70 ng/mL, range 0-15.28）で検出されたが、MGUS および正常コントロールではほとんど検出されなかった。MM 患者の中では、sCD86 濃度は無症候性と比較して症候性 MM で有意に高値だった。また、病

期進行に伴い上昇していた。

ROC 曲線から、sCD86 濃度 2.18 ng/mL をカットオフ値とし、血清 sCD86 濃度高値群(≥ 2.18 ng/mL, $n=38$)と低値群(< 2.18 ng/mL, $n=65$)に分けて臨床背景を比較した。sCD86 高値群は低値群と比較し、症候性 MM に進展しやすく ($p=0.0147$)、International Staging System (ISS)、Revised-ISS、Durie-Salmon は進行しており ($p=0.0137$, $p=0.0142$, $p=0.0011$)、骨病変は進行していた ($p=0.0051$)。また、高値群は低値群と比較し、骨髓中の形質細胞割合、補正カルシウム濃度、血清クレアチニン値、血清 $\beta 2$ ミクログロブリン値が有意に上昇しており、ヘマトクリット値、ヘモグロビン、血小板数は有意に減少していた。さらに、sCD86 高値群は有意に全生存期間 (OS) の短縮を認めた ($p=0.030$)。多変量解析では、血清 sCD86 高値 [$p=0.028$, HR 3.27 (95% CI; 1.73-9.43)], LDH 高値 [0.003, 4.96 (1.73-14.2)], アルブミン低値 [0.015, 4.51 (1.34-15.2)] の 3 つの独立した OS 不良因子が抽出された。

mRNA の選択的スプライシングを介した CD86 variant 3 (膜貫通ドメイン領域をコードする exon 6 欠失が特徴) の産生は sCD86 発生と関連があると報告されている。そこで、MM 患者の CD86 variant 3 の発現性を、CD86 mRNA の RT-PCR を用いて解析した。その結果、CD86 variant 3 mRNA は MM 患者で高発現だった。さらに、MM 患者の骨髓単核球から MM 細胞とその他の細胞に分けて variant 3 mRNA の発現性を検討したところ、variant 3 は MM 細胞において有意に高発現していた。次に、MM 患者の血清 sCD86 濃度と CD86 variant 3 発現性の関連性を検討した。血清 sCD86 濃度は CD86 variant 3 mRNA の発現性と有意に相関していた ($r=0.529$, $p=0.0225$)。また、variant 3 の PCR 産物は sCD86 高値群で検出され、real time RT-PCR でも同様だった。これらの所見から、sCD86 は CD86 variant 3 発現から産生されており、CD86 の細胞外ドメインの切断によるものではないことが示唆された。

本研究では、血清 sCD86 濃度は MM の病期進行とともに上昇し、sCD86 高値の MM 患者では病勢が進行しており OS が短いことを示した。sCD86 濃度は骨髓中の形質細胞割合および血清 $\beta 2$ ミクログロブリンと有意に相関していたが、LDH 高値やアルブミン低値と同様に、血清 sCD86 濃度高値は OS 不良の独立因子だった。骨髓検体と異なり、血清検体は採取が容易であり、sCD86 は簡便に測定可能なマーカーである。血清 sCD86 は初発 MM 患者の予後予測因子として有用と考えられる。血清 sCD86 と MM 病勢進行や免疫機構の関連性を解明するために、今後さらなる検討が必要である。

二次審査において、sCD86 の分泌経路はどのようになっているのか、sCD86 が CD86-CD28 経路を阻害して抗腫瘍免疫として機能するとは考えられないか、他疾患における sCD86 の検出はどうか、細胞株で CD86 variant 3 が発現しなかった理由はどのように考えられるか、等と広く質疑が行われ、いずれも適切な回答が行われた。また申請者は、初発 MM 患者における血清 sCD86 濃度の予後予測因子としての有用性を示した。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。