

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09920

研究課題名(和文) 悪性リンパ腫における慢性炎症からの発がんの検討

研究課題名(英文) Analysis of carcinogenesis originated from chronic inflammation in malignant lymphoma

研究代表者

鶴見 寿 (Tsurumi, Hisashi)

岐阜大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：00313891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、TNF- $\alpha$ とは独立してTNFレセプターに結合するGP88(progranulin)の悪性リンパ腫における役割を検討した。岐阜大学医学部附属病院に入院した悪性リンパ腫症例の保存血清を用いて、血清GP88をELISA法にて測定し、異常高値群を抽出した。同時に診断時生検検体のparaffin切片材料を用いてGP88タンパク質発現を検討し、リンパ腫細胞に強発現している症例を確認した。悪性リンパ腫における血清GP88タンパク質過剰発現の予後因子としての有用性を検討し、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫症例において血清GP88高値症例は低値症例と比較して有意に予後不良であることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性リンパ腫の慢性炎症からの発がんは疫学的に証明されているが、その分子的機序については、本質的な発がんとは慢性炎症を線引きするような決定的な分子の発見には至っていない。本研究にて、TNF- $\alpha$ と結合を同じくするGP88が血液中で上昇している悪性リンパ腫は予後不良であることを明らかにした。GP88をターゲットとした悪性リンパ腫の、あらたな分子標的薬剤の開発に寄与するものと考えられる。さらには、同じくGP88高発現による難治性悪性腫瘍などへの応用も十分可能である。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of GP88 (progranulin), which binds to the TNF receptor in the patients with malignant lymphoma. Serum levels of GP88 was measured by the ELISA. GP88 protein expression was examined by immunohistochemistry. We found a case in which GP88 was strongly expressed in lymphoma cells. High levels of serum GP88 was a significantly poor prognosis factor in the patients with diffuse large B-cell lymphoma.

研究分野：血液内科学

キーワード：悪性リンパ腫 GP88 progranulin

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

癌と慢性炎症との間には、C型肝炎ウイルス感染と肝細胞癌、ピロリ菌感染と胃癌など関連性があることが知られてきた。主に疫学調査から研究されてきたが、近年分子レベルでの解明が進んでいる。癌の微小環境中では、まず炎症性サイトカインの代表格である TNF- $\alpha$  が分泌され、そこから派生するシグナル伝達が、発癌を促すことが知られている。GP88 (PGRN) は 88kDa の糖タンパクであり、慢性炎症が原因であるアルツハイマー病、やメタボリックシンドロームにおいて、インスリン抵抗性に関与していることが報告されている。乳癌患者の血清 GP88 が高値である事が報告され、ER(-)、PR(-)、HER-2(-)、治療抵抗性乳癌細胞に GP88 が高発現していること、肺癌、頭頸部癌に高発現している事も報告されている。我々は、以前より慢性関節リウマチ患者や、悪性リンパ腫患者における TNF レセプターの働きに関して検討していた。慢性炎症からの発癌という視点においては、近年 TNF  $\alpha$  よりも GP88 がより直接的に影響していると推測されているが、未だ造血管腫瘍における GP88 の影響に関しては報告がない。

### 2. 研究の目的

TNF- $\alpha$  とは独立して TNF レセプターに結合する GP88 の関与により、慢性炎症を母地に悪性リンパ腫が発症する機序、悪性化獲得のメカニズムを病理学的所見、臨床情報と関連づけて検討し、その制御方法を模索することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 臨床検体 (血清、病理組織標本) を用い、血清 GP88 の測定および免疫組織染色を行う。統計的解析により GP88 過剰発現群の抽出および GP88 過剰発現の臨床的意義に関して検討する。  
(2) cDNA、genomic DNA による GP88 遺伝子 (GPN) 発現、転写異常、蛋白合成異常の有無、差異を検討し、GP88 遺伝子発現、転写異常、蛋白合成異常の悪性リンパ腫病態への関与を明らかにする。  
(3) 発現ベクターを持って外来性に GP88 低発現である低悪性度リンパ腫由来細胞株 (FL-18 など) に正常 GP88 を過剰発現させることにより、増殖能力など生物学的悪性度に変化が現れるかを検討する。また、DNA マイクロアレイを用いて網羅的に発現に影響を受ける遺伝子群を検討する。

### 4. 研究成果

未治療のリンパ系腫瘍患者 254 人の治療前の保存血清を調べて、GP88 濃度を ELISA 法を用いて測定した。

悪性リンパ腫患者の血清 GP88 濃度の中央値は 91.3 ng / ml であり、健常人と比較し高値であった (中央値、57.7 ng / ml) ( $p < 0.0001$ )。下記は、病理診断別の GP88 の測定値である。急性リンパ性白血病 (8 例)、慢性リンパ性白血病 (5 例)、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (134 例)、末梢 T 細胞リンパ腫 (34 例)、低悪性度 B 細胞リンパ腫 (53 例)、NK 細胞リンパ腫 (11 例)、ホジキンリンパ腫 (7 例) を検討した。

Table 1  
The serum GP88 level according to the histological type of lymphoid malignancy.

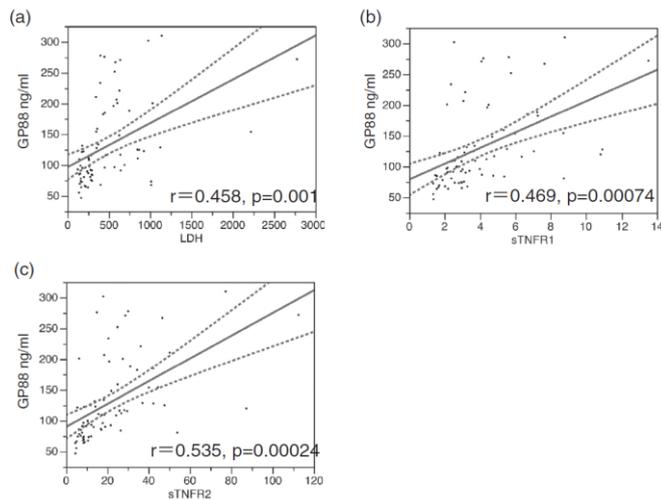
Type of malignancy	No.	Median	Mean	S.D.	Min	Max	p value (vs. control)
Control	34	57.65	58.28	9.82	40.6	91.8	
Acute lymphoblastic leukemia	8	109.56	114.8	38.28	66.272	175.41	$p = 0.0006$
Chronic lymphocytic leukemia	5	240.16	250.03	133.21	98.4	397.8	$p = 0.0153$
Diffuse large B cell lymphoma	134	99.6	136.5	84.19	45.84	522.8	$p < 0.0001$
Peripheral T cell lymphoma	34	85.35	96.57	55.56	0	261.99	$p = 0.0014$
Low grade B cell lymphoma	53	74.48	83.25	38.39	44.7	259.9	$p < 0.0001$
NK cell Lymphoma	11	100	104.74	50.96	38.9	231.18	$p = 0.0129$
Hodgkin's lymphoma	7	72.64	77.05	31.17	47.23	139.84	N.S.

次に、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) の患者における GP88 の意義を検討した。DLBCL 患者において、年齢、LDH、PS、IPI と GP88 は関連が見られた。

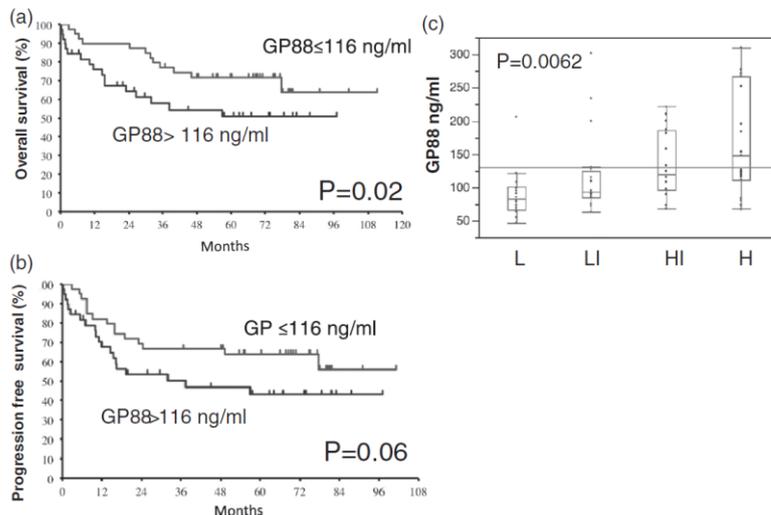
**Table 2**  
The characteristic of DLBCL patients.

		Total	Group of low serum GP88	Group of high serum GP88		Medians of serum GP88	p-Value	
No.		77						
Age	Median	69 y.o.	65 y.o.	72 y.o.	p = 0.0111			
	24-80 y.o		24-82	26-88				
	≤ 40					100.9	0.0475	
	> 40 to ≤ 60					92.2		
Gender	> 60 to < 75				109.2			
	≥ 75				127.6			
	Female	34	16	23	N.S.	118.9	N.S.	
	Male	43	18	20		108.8		
Staging	Limited	32	20	12	N.S.	95.6	N.S.	
	Advanced	45	19	26		119.6		
Serum LDH	Normal	21	18	3	p = 0.0001	80.8	0.0009	
	> Normal	56	21	34		122.6		
Serum LDH normalized	Normal	21	18	3	p = 0.0001	80.8	0.0003	
	> 1 to ≤ 3	41	18	23		198.6		
	> 3	15	3	12		200.6		
	≥ 75					121.1		
No. of extra LN	< 2	49	28	21	N.S.	99	N.S.	
	≥ 2	28	11	17		109.3		
Disease in bone marrow, CNS, liver/GI tract or lung	No	50	25	25	N.S.	108.3	N.S.	
	Yes	27	14	13		96.5		
Performance status (PS)	< 2	39	36	23	p = 0.0007	96.5	p = 0.0011	
	≥ 2	38	3	15		154		
IPI	L/LI	38	27	11	p = 0.0003	L	83.4	p = 0.001
	HI/H	39	12	27		LI	92.7	
						HI	120.3	
						H	148.4	
NCCN IPI	L	7	5	2	p = 0.0004	91.2	p = 0.0007	
	LI	24	19	5		90.5		
	HI	33	13	20		116.8		
	H	13	2	11		153.8		

また、血清 GP88 と TNFR1、TNFR2 との正の相関を認めた。



血清 GP88 濃度に基づいて層別化。血清 GP88 濃度が ≤ 116 および > 116 ng / ml の場合、5-y OS 率はそれぞれ 70% および 50% であった (p = 0.02)。つまり、GP88 は予後予測因子としても有用であった。



**Fig. 4.** Overall survival curves (OS) (a) and progression-free survival (PFS) curves (b) in DLBCL patients according to the serum GP88 level. The serum GP88 levels according to the International Prognostic Index (c) are also shown.

実際、GP88 の発現が腫瘍細胞にあるかどうかを、免疫組織染色を用いて検討したところ、DLBCL の腫瘍細胞に GP88 の発現を確認した。また、腫瘍組織中のマクロファージにも GP88 の発現を認める症例も確認した。

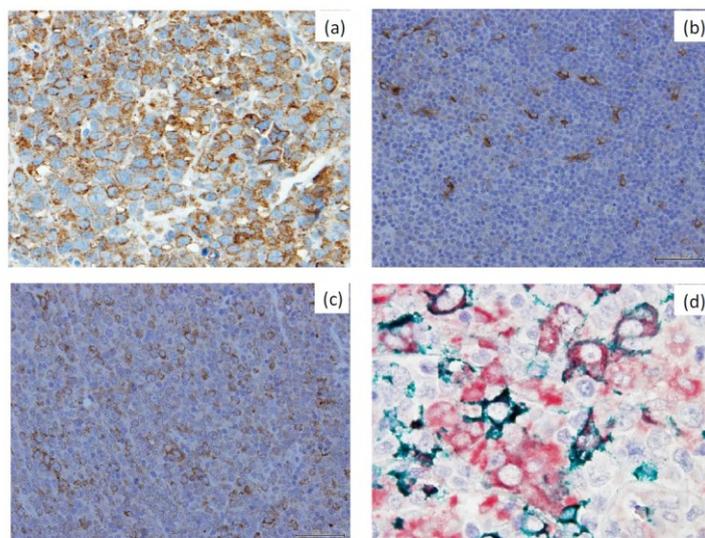


Fig. 6. Immunohistochemical analyses of the lymphoid malignancies. A DLBCL case was positive for GP88 (a), while follicular lymphoma (FL) cells were negative for GP88 (b). CD5 + DLBCL cells were weakly positive (c). A double staining analysis between GP88 (red) and CD163 (green) showed double staining in activated macrophages, and partial single staining of lymphoid cells for GP88. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

GP88 の発現は、これまで乳癌および非小細胞性肺癌患者の予後不良と関連していると報告されていた。また肝細胞癌と骨髄腫細胞も GP88 陽性であることがわかっていた。本研究では、悪性リンパ腫細胞が GP88 陽性であり、TNFR との相関があることを明らかにした。これらの結果は、GP88 が標的臓器のないさまざまな悪性細胞で発現していることを示している。したがって、GP88 は、慢性炎症におけるその役割または微小環境における相互作用を介して腫瘍形成に関連する重要な分子である可能性がある。また、本研究は、血清 GP88 濃度が DLBCL 患者の予後不良因子であることを示した。今後、GP88 の悪性リンパ腫における分子メカニズムを検討することで、抗 GP88 抗体治療の有用性が明らかになる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamamoto Y, Goto N, Takemura M, Yamasuge W, Yabe K, Takami T, Miyazaki T, Takeuchi T, Shiraki M, Shimizu M, Adachi S, Saito K, Shibata Y, Nakamura N, Hara T, Serrero G, Saito K, Tsurumi H.	4. 巻 473
2. 論文標題 Association between increased serum GP88 (progranulin) concentrations and prognosis in patients with malignant lymphomas.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin Chim Acta	6. 最初と最後の頁 139-146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cca.2017.07.024.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ninomiya Soranobu, Nakamura Nobuhiko, Nakamura Hiroshi, Mizutani Taku, Kaneda Yuto, Yamaguchi Kimihiro, Matsumoto Takuro, Kitagawa Junichi, Kanemura Nobuhiro, Shiraki Makoto, Hara Takeshi, Shimizu Masahito, Tsurumi Hisashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Low Levels of Serum Tryptophan Underlie Skeletal Muscle Atrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 978 ~ 978
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.3390/nu12040978	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hara T, Shibata Y, Mabuchi R, Matsumoto T, Nakamura N, Nakamura H, Ninomiya S, Kitagawa J, Kanemura N, Fukuno K, Tsurumi H.
2. 発表標題 Indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) as a prognostic factor of hematological malignancies.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	原 武志  (Hara Takeshi)  (10456501)	岐阜大学・大学院医学系研究科・非常勤講師    (13701)	
研究分担者	齋藤 邦明  (Saito Kuniaki)  (80262765)	藤田医科大学・保健学研究科・教授    (33916)	
研究分担者	後藤 尚絵  (Goto Naoe)  (80444280)	岐阜大学・大学院医学系研究科・非常勤講師    (13701)	