

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19592060  
 研究課題名（和文）ウィルムス腫瘍の新規血清腫瘍マーカーとしての Glypican 3 の有用性の検討  
 研究課題名（英文）Diagnostic value of Glypican 3 as a new serum tumor marker for Wilms tumor  
 研究代表者  
 木下 義晶（KINOSHITA YOSHIAKI）  
 九州大学・大学病院・助教  
 研究者番号：80345529

研究成果の概要：Glypican3(GPC3)は膜結合型 Glypican ファミリー6 種類のうちのひとつで 1997 年に Hsu らが HCC 組織において GPC3 の発現が有意に高いことが報告した。以後、卵巣癌、悪性中皮腫、乳癌、大腸癌などにおいても発現があることが報告された。小児固形悪性腫瘍に関してはいくつかの報告が散発的にあるが、その腫瘍マーカーとしての有用性までには言及されていない。今回我々はウィルムス腫瘍をはじめとする小児固形悪性腫瘍全般における GPC3 の発現を検討し、新規腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。方法は血清中の GPC3(sGPC3)、AFP(sAFP)、組織は免疫組織により GPC3(tGPC3)、AFP(tAFP)について検討した。34 例中 3 例が sGPC3(+)/sAFP(+)(肝芽腫 2 例、卵黄嚢癌 1 例)であった。一方 4 例が sGPC3(+)/sAFP(-)であった(未分化肉腫 1 例、神経芽腫 1 例、Wilms 腫瘍 1 例、Solid Pseudopapillary Tumor 1 例)。このうち、未分化肉腫の症例においては sGPC3 が治療効果に伴い、経時的に減少傾向を示した。これらの所見より GPC3 は AFP に類似した動態を示す癌胎児性蛋白であるが、GPC を特異的に発現する小児腫瘍が存在することが示され、sGPC3(+) かつ sAFP(-)を呈する腫瘍においては新規腫瘍マーカーとなる可能性が示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：小児外科

キーワード：小児腫瘍、ウィルムス腫瘍、腫瘍マーカー、Glypican3

## 1. 研究開始当初の背景

Glypican3(GPC3)は膜結合型 Glypican ファミリー6 種類のうちのひとつで 580 アミノ酸からなる 60kD のコア蛋白質にヘパラン硫酸プロテオグリカンの糖鎖修飾が加わった膜蛋

白質で、1997 年に Hsu らが HCC 組織において GPC3 の発現が有意に高いことが報告した。以後、卵巣癌、悪性中皮腫、乳癌、大腸癌などにおいても発現があることが報告された。2003 年に Nakatsura らが HCC においては AFP

に匹敵するマーカーとしての有用性を報告して以来いくつかの追試がなされている。小児固形悪性腫瘍に関してはいくつかの報告が散発的にあるが、その腫瘍マーカーとしての有用性までには言及されていない。一方、発生学の領域において Glypican3 は Simpson-Golabi-Behmel syndrome などの先天奇形症候群の原因遺伝子とする説、in vitro の研究で胎児組織に高発現するとの報告があり、AFP と同様に胎児期に発生する癌胎児性抗原の一種と考えられる説もある。

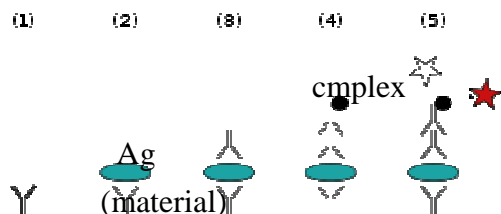
## 2. 研究の目的

小児固形悪性腫瘍の1つである Wilms 腫瘍は元来血清中の特異的な腫瘍マーカーがない。Wilms 腫瘍を中心とした小児固形悪性腫瘍全般における Glypican3 の発現を調べることにより特異的な腫瘍マーカーとしての有用性を検討する。またさらに遺伝子変異や欠失の有無、mRNA の発現量の定量を行うことにより、どのように oncogenesis にかかわっているかを検討する。さらに Glypican3 の癌胎児性抗原としての有用性、出生からの生理的減衰動態についても明らかにし、腫瘍発生との関連について考察する。

## 3. 研究の方法

当科において経験されたウィルムス腫瘍をはじめとする小児固形悪性腫瘍全般を対象とした。研究の趣旨に対するインフォームドコンセントを行い、術前の血清と手術検体、また化学療法などにより経過が長期にわたる症例については経時的に血清を採取し、測定検体とした。血清中の GPC3(sGPC3)、測定した。GPC3 は GPC ELISA キット (BioMosaic 社) を用い ELISA 法により測定した (図 1)。組織は SAB 法による免疫組織により GPC3(tGPC3) を行い、また癌胎児性抗原としてすでに測定方法や減衰動態が明らかにされている AFP を対象とし、血清の AFP(sAFP) と組織中の蛋白発現 AFP(tAFP) について検討した。

図 1: ELISA (Sandwich 法) による GPC3 測定



## 4. 研究成果

ウィルムス腫瘍をはじめとする小児固形悪性腫瘍全般、計 34 症例の GPC3 の発現を検討した。方法は血清中の GPC3(sGPC3)、AFP(sAFP)、組織は免疫組織により GPC3(tGPC3)、AFP(tAFP) について検討した。結果は表 1 に示す。34 例中 4 例 (11.8%) は sGPC3(+)/tGPC3(+), 7 例 (20.6%) は sGPC3(+)/tGPC3(-)、5 例 (14.7%) は sGPC3(-)/tGPC3(+), 18 例 (52.9%) は sGPC3(-)/tGPC3(-) であった。年齢別の sGPC3 陽性率は、1 歳以下は 8 例中 5 例 (62.5%)、1 歳以上は 26 例中 7 例 (26.9%) であった。3 例が sGPC3(+)/sAFP(+)(肝芽腫 2 例、卵黄嚢癌 1 例) であった。一方 4 例が sGPC3(+)/sAFP(-) であった (未分化肉腫 1 例、神経芽腫 1 例、Wilms 腫瘍 1 例、Solid Pseudopapillary Tumor 1 例)。このうち、未分化肉腫の症例においては sGPC3 が治療効果に伴い、経時的に減少傾向を示した。これらの所見より GPC3 は AFP に類似した動態を示す癌胎児性蛋白であるが、GPC を特異的に発現する小児腫瘍が存在することが示され、sGPC3(+) かつ sAFP(-) を呈する腫瘍においては新規腫瘍マーカーとなる可能性が示唆された。

現在までに約 70 例の検体が集積しており、今後これらの解析を追加していくことによりさらに動態について詳細が明らかになるものと考えられる。また腫瘍性病変以外の生理学的な減衰についても今後詳しく検討する必要があると考えられる。

表 1: GPC3, AFP の解析結果

	年齢	血清GPC3(ng/ml)	免疫組織GPC3	血清AFP	免疫組織AFP
HB1	4m	11	2+	81480	2+
HB2	1y	1215	2+	484000	2+
HB3	1y	797	2+	304581	2+
HB4	3y	87	-	1000000	-
HB5	8y	127	2+	616000	2+
NB1	1y	325	-	3	-
NB2	4y	0	-	ND	-
NB3	1y	0	-	ND	-
NB4	4y	0	-	ND	-
NB5	1y	47	-	ND	-
RT1(WT)	11m	0	1+	14.7	-
RT2(WT)	2y	0	-	1.1	-
RT3(WT)	2y	3	-	11.3	-
RT4(WT)	6m	8	-	ND	-
RT5(WT)	5y	37	-	0.8	-
RT6(WT)	10m	347	-	8.5	-
RT7(WT)	2y	57	-	2.7	-
RT8(CCSK)	1y	0	-	5.7	-
RT9(CCSK)	2y	0	-	ND	-
RT10(MRTK)	2y	151	-	1.7	-
RT11(RCC)	12y	0	-	1	-
RT12(MA)	9y	0	-	1.2	-
RT13(CMN)	2y	67	-	2	-
GCT1(MT)	0d	427	-	38103	-
GCT2(MT)	0d	767	-	133715	-
GCT3(MT)	12y	87	-	0.8	-
GCT4(IMT)	0d	952	-	233252	1+
GCT5(IMT)	0d	1037	-	72946	1+
GCT6(YST)	12y	65	1+	32421	1+
GCT7(YST)	2y	425	2+	64	2+
Others1(US)	2y	334	2+	1.6	-
Others2(SPT)	12y	247	-	3.3	-
Others3(EWS)	1y	157	2+	5.7	-
Others4(GCT)	5y	0	-	4.2	-

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計12件)

1. Kinoshita Y, Tajiri T, Ieiri S, et al: A case of an inflammatory myofibroblastic tumor in the lung which expressed TPM3-ALK gene fusion. *Pediatr Surg Int* 23, 595-599, 2007
2. Suita S, Tajiri T, Kaneko M, et al: Implications of MYCN amplification in patients with stage 4 neuroblastoma who undergo intensive chemotherapy. *J Pediatr Surg* 42, 489-493, 2007
3. Suita S, Tajiri T, Higashi M, Tanaka S, Kinoshita Y, et al: Insights into infant neuroblastomas based on an analysis of neuroblastomas detected by mass screening at 6 months of age in Japan. *Eur J Pediatr Surg* 17, 23-28, 2007
4. Higashi M, Tajiri T, Kinoshita Y, et al: High expressions of neuronatin isoforms in favorable neuroblastoma. *J Pediatr Hematol/Oncol* 29, 551-556, 2007
5. Tajiri T, Higashi M, Souzaki R, Tatsuta K, Kinoshita Y, et al: Classification of neuroblastomas based on an analysis of the expression of genes related to the prognosis. *J Pediatr Surg* 42, 2046-2049, 2007
6. Tanaka S, Masumoto K, Taguchi T et al: Impact of deletion of envelope-related genes of recombinant Sendai viruses on immune responses following pulmonary gene transfer of neonatal mice. *Gene Ther* 14, 1017-1028, 2007
7. 木下義晶、田尻達郎、田口智章, 難治性神経芽腫における治療方針決定に外科的アプローチは必要か? *小児外科* 39, 114-118, 2007
8. 田尻達郎: 神経芽腫の治療の変遷と今後の展望. *日小児会誌* 111, 1515-1523,

2007

9. Kinoshita Y, Tajiri T, Souzaki R, et al: Diagnostic value of lectin reactive alpha-fetoprotein for neoinfantile hepatic tumors and malignant germ cell tumors: preliminary study. *J Pediatr Hematol Oncol* 30, 447-450, 2008
  10. 木下義晶、田尻達郎、増本幸二、田口智章: 馬蹄腎に発生した両側ウィルムス腫瘍. *日小泌尿会誌* 16, 218-222, 2008
  11. 田尻達郎、宗崎良太、木下義晶、田中 桜、田口智章: 進行神経芽腫治療に対する臓器温存手術と術後体外照射の意義. *小児外科* 40, 1047-1053, 2008
  12. Souzaki R, Tajiri T, Higashi M, Kinoshita Y, Tanaka S, Kohashi K, Tsuneyoshi M, Taguchi T: Clinical implications of a slight increase in the gene dosage of MYCN in neuroblastoma determined using quantitative PCR. *Pediatr Surg Int* 24, 1095-1100, 2008
- [学会発表](計7件)
1. 木下義晶 他, 小児固形悪性腫瘍に対するMDCTを用いた外科手術の工夫. 第107回日本外科学会. 2007年4月, 大阪市
  2. 木下義晶 他, 炎症性筋線維芽細胞性腫瘍、炎症性偽腫瘍の臨床病理学的検討. 第44回日本小児外科学会. 2007年5月, 東京都
  3. 木下義晶 他, 馬蹄腎に発生したWilms腫瘍の1例. 第16回日本小児泌尿器科学会, 2007年7月, 神戸市
  4. 木下義晶 他、ウィルムス腫瘍に対する診断時根治術、術前化学療法についての功罪. 第23回日本小児がん学会, 2007年12月, 仙台市
  5. 木下義晶 他, 悪性軟部腫瘍の治療戦略. 第108回日本外科学会, 2008年5月, 長崎市
  6. 木下義晶 他, Wilms腫瘍における術前化学療法のリスクとベネフィット. 第45回日本小児外科学会, 2008年5月, つくば市
  7. 木下義晶 他, 小児固形悪性腫瘍におけるGlypican3の発現の検討. 第23回日本小児がん学会, 2008年11月, 千葉市

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.kyushu-u.ac.jp/pedsurg/>

6．研究組織

(1)研究代表者

木下 義晶 (KINOSHITA YOSHIAKI)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：80345529

(2)研究分担者

田口 智章 (TAGUCHI TOMOAKI)

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：20197247

田尻 達郎 (TAJIRI TATSURO)

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号：80304806

宗崎 良太 (SOUZAKI RYOTA)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：10403990