

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007 年～2008 年
 課題番号：19790728
 研究課題名(和文) アポトーシス関連分子およびサイトカインの包括的検討による小児悪性腫瘍の病態解析
 研究課題名(英文) Analysis of malignant tumor by inclusive examination of apoptosis-related molecule and cytokine in children
 研究代表者
 古賀 友紀 (KOGA YUHKI)
 九州大学・大学病院・助教
 研究者番号：60398071

研究成果の概要：

小児悪性腫瘍の細胞生物学的特徴や担癌患児自身における正常細胞がもつ抗腫瘍作用、および患児の予後との関連を検討し、これら多因子に加え従来から知られている予後因子を組み合わせることで解析することにより、新たな予後因子を解析した。ALL 初診時血清サイトカイン MIG、IL-6、TNF の 3 分子の発現の程度で 2 群に分けた検討において、leukemia free survival に有意差を認めたと、初発時骨髄におけるこれらの遺伝子発現とは相関はみられなかった。患者正常細胞(樹状細胞、T 細胞、単球・マクロファージ、NK 細胞、NKT 細胞)によるサイトカイン発現が予後を規定してい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	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,397,500
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：小児腫瘍

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学(7212)

キーワード：小児悪性腫瘍、白血病、予後不良因子、遺伝子

1. 研究開始当初の背景

小児悪性腫瘍に対しては、近年、外科療法・放射線療法・化学療法、また造血幹細胞移植術などの集学的治療が行われるようになった。さらに、これまでの研究により明らかになった小児悪性腫瘍の予後因子(発症年齢や特異的遺伝子転座など)により、リスクに応じた治療が行われ、その予後は過去数十年間でみると大きく改善した。しかしここ数年は、めざましい治癒率の改善は

みられず、治療不応例や再発例の多くは依然不幸な転帰をとっているのが現状である。行き詰まった小児悪性腫瘍の治癒率をさらに上昇させるためには、新たな予後予測因子の解明および分子標的治療などの新たな治療法の開発・改良が必要とされる。小児悪性腫瘍において、より正確な予後予測法を確立することが、最小限の副作用で最大限の効果が期待できる治療法を患児に提供することにつながる。

われわれはこれまでに、小児白血病における予後因子に関する研究として以下の(1)～(3)を行った。(1)『小児白血病における予後予測因子；マイクロアレイおよび定量 PCR による検討』(Pediatr Hematol Oncol 2006), (2)『白血病細胞におけるグルココルチコイドレセプター(GR) α および GR β mRNA の発現パターンとグルココルチコイド感受性』(Pediatr Blood Cancer 2005), (3)『乳児白血病細胞における Fas 低発現は予後不良因子である』(Leukemia 2004)。(1)ではマイクロアレイにより小児白血病の予後予測因子を見出し、定量 PCR によってそれを明らかにした。(2)では白血病細胞の GR α および GR β mRNA の発現パターンがグルココルチコイド感受性を規定する重要な因子であることを証明した。(3)では、乳児白血病における予後因子を見出し報告した。さらに、『好中球における TRAIL 発現とその抗腫瘍作用』(Cancer Res 2004)について研究し、マイクロアレイを用いて好中球に TRAIL が高発現していることを見出し、mRNA、蛋白レベルでその発現を確認し、好中球は TRAIL を介する抗腫瘍活性にも関与することを明らかにした。

今回は、小児悪性腫瘍の細胞生物学的特徴や担癌患児自身における正常細胞がもつ抗腫瘍作用、および患児の予後との関連を検討し、これら多因子に加え従来から知られている予後因子を組み合わせることで、新たな予後因子の解明を試みる。成人領域の悪性腫瘍あるいは小児悪性腫瘍の一部において、アポトーシス関連分子・血清サイトカイン・血管新生に関連する分子などはその病勢や予後と関連があることが示唆されているが、複数の分子を同時に解析して小児悪性腫瘍の予後との関連について解析を行った研究はこれまでにない。今回は、抗がん剤に対する感受性を含めた小児悪性腫瘍の細胞生物学的特徴に加え、患児の正常細胞による抗腫瘍作用など、それらの組み合わせにより予後因子に関する新たな知見が得られる可能性が高い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、小児悪性腫瘍の細胞生物学的特徴や担癌患児自身における正常細胞がもつ抗腫瘍作用、および患児の予後との関連を検討し、これら多因子に加え従来から知られている予後因子を組み合わせることで、新たな予後因子を解明することである。

3. 研究の方法

小児悪性腫瘍における新たな予後因子を解明するため、小児悪性腫瘍の細胞生物学的特徴や担癌個体由来の正常細胞がもつ抗腫瘍作用および担癌個体におけるサイトカインレベルを検討した。そのため、初診時患者血清を用いて、サイトカイン・血管新生に関連する分子(IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF, IFN-, RANTES, MIP-1, MIP-1, MIG, MCP-1, IP-10, basic FGF, angiogenin, VEGF)をCBA法にて測定した。

対象：1994年～2008年までに当科にて加療を受けた小児 ALL 患者 48 例

血清：

SR 群 24 例 (うち 3 例再発)

HR 群 24 例 (うち 8 例再発)

cDNA：

SR 群 11 例 (うち 1 例再発)

HR 群 19 例 (うち 5 例再発)

方法：

BD Cytometric Bead Array System (CBA)による初発時血清中サイトカイン測定。

IL-8, RANTES, MIG, MCP-1, IP-10, IL-1, IL-6, IL-10, TNF, IL-12 計 10 項目

RT-PCR による初発時骨髄 cDNA 遺伝子定量。

MIG, IL-6, TNF 計 3 項目

解析：

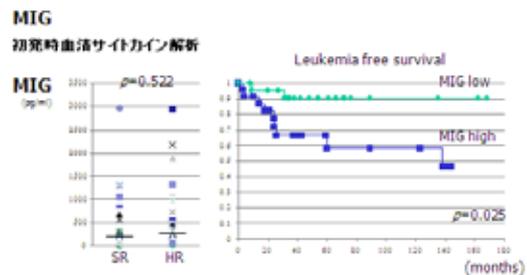
ALL SR と HR 患者における初発時血清中サイトカイン発現の比較。

(マンホイットニー)

発現の程度で2群に分け、leukemia free survivalを検討。

(ログランク検定)

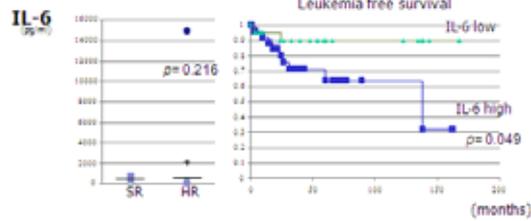
4. 研究成果



ピアソンの相関係数の検定
血清サイトカイン vs 骨髄細胞cDNA p=0.51

初発時骨髄細胞cDNAにおけるMIG遺伝子定量
ALL SR vs HR p= 0.15
Leukemia free survival p=0.92

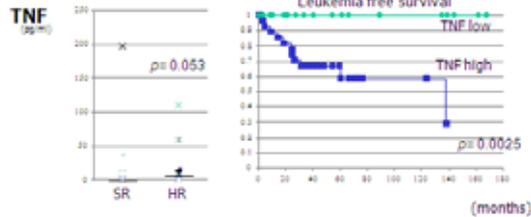
IL-6
初発時血清サイトカイン解析



ピアソンの相関係数の検定
血清サイトカインvs骨髄細胞cDNA p=0.76

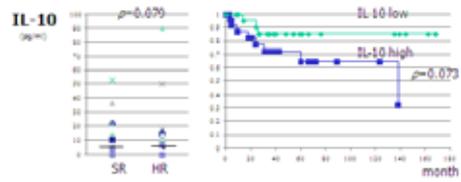
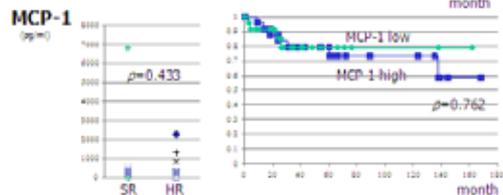
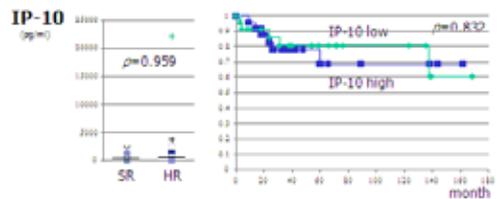
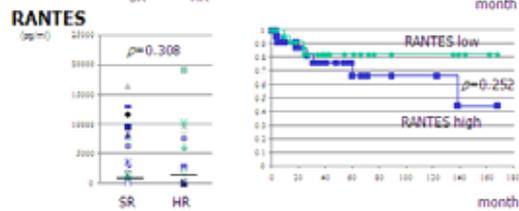
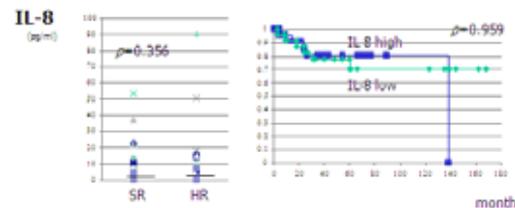
初発時骨髄細胞cDNAにおけるIL-6遺伝子定量
ALL SR vs HR p= 0.83
Leukemia free survival p=0.66

TNF
初発時血清サイトカイン解析



ピアソンの相関係数の検定
血清サイトカインvs骨髄細胞cDNA p=0.99

初発時骨髄細胞cDNAにおけるIL-6遺伝子定量
ALL SR vs HR p= 0.75
Leukemia free survival p=0.32



ALL 初診時血清サイトカイン MIG、IL-6、TNF の3分子の発現の程度で2群に分けた検討において、leukemia free survival に有意差を認めたと、初発時骨髄におけるこれらの遺伝子発現とは相関はみられなかった。患者正常細胞（樹状細胞、T細胞、単球・マクロファージ、NK細胞、NKT細胞）によるサイトカイン発現が予後を規定している可能性が示唆された。これらの結果についてはまとめて論文準備中である。

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5件)

1. Koga Y, Matsuzaki A, (他10名、1番目) Long-term survival after autologous peripheral blood stem cell transplantation in two patients with malignant rhabdoid tumor of the kidney, *Pediatr Blood Cancer*. 52:888-90, 2009
2. Koga Y, Matsuzaki A, (他7名、1番目) Treatment-related acute myelomonocytic leukemia with t(11;19) in a child following chemotherapy for hepatoblastoma, *Pediatr Blood Cancer*, 50:943-4, 2008
3. Koga Y, Matsuzaki A, (他4名、1番目) Expression of cytokine-associated genes in dendritic cells (DCs): comparison between adult peripheral blood- and umbilical cord blood-derived DCs by cDNA microarray, *Immunol Lett*, 15;116:55-63, 2008
4. Hattori H, Koga Y. (他7名、4番目) Regulatory polymorphisms of multidrug resistance 1 (MDR1) gene are associated with the development of childhood acute lymphoblastic leukemia, *Leuk Res*. 31:1633-40, 2007

5. Suminoe A, Koga Y. (他 5 名、4 番目)
Expression of matrix metalloproteinase (MMP) and tissue inhibitor of MMP (TIMP) genes in blasts of infant acute lymphoblastic leukemia with organ involvement, Leukemia Res. 31:1437-40, 2007

6 . 研究組織

(1)研究代表者

古賀友紀 (KOGA YUHKI)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：60398071

(2)研究分担者

なし ()
研究者番号：

(3)連携研究者

なし ()
研究者番号：