

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 20日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791032

研究課題名（和文） TAMによる肝線維化とCCL2の関連

研究課題名（英文） Serum chemokine levels and liver fibrosis accompanying transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome.

研究代表者

金城 唯宗（KINJO TADAMUNE）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：70419539

研究成果の概要（和文）：ダウン症に合併する一過性骨髄異常増殖症（transient abnormal myelopoiesis, TAM）は、通常自然軽快する。しかし、一部に早期死亡例があり、その多くは肝線維症による肝不全が原因である。線維化をきたす病態として、種々の成長因子や高サイトカイン血症の関与が考えられている。そこで、今回TAMとケモカインおよびTGF-β1の関連を検討した。結果は、肝障害を呈する高危険因子群で有意に血清CCL2が高値であった。TAMの肝線維化にCCL2が関与していることが考えられた。

研究成果の概要（英文）：Transient abnormal myelopoiesis (TAM) occurs in infants with Down syndrome. While most TAM patients have a favorable clinical course, early death occurs in some patients. The main causes of death are organ failure, particularly hepatic failure due to hepatic fibrosis. The involvement of some growth factors and cytokines in the development of hepatic fibrosis was suspected. We investigated the association of circulating chemokines and TGF-β1 with TAM. Serum CCL2 levels were higher in infants with liver failure than in those without. CCL2 might affect the development of liver fibrosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、胎児・新生児医学

キーワード：ダウン症、TAM、肝線維化、ケモカイン、CCL2、TGF-β1

1. 研究開始当初の背景

一過性骨髄異常増殖症（transient abnormal myelopoiesis, TAM）は、Trisomy21の4～10%に発症し、その20～30%が4年以内に急性巨核球性白血病に進展する¹⁾。TAMは通常、3

か月以内に軽快するが、15～20%が早期死亡する¹⁾。死亡例の多くは肝線維症による肝不全である¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。線維化をきたす病態としては、PDGFやTGF-βなどの成長因子や高サイトカイン血症の関与が報告されているが、未

だ詳細不明である⁵⁾⁶⁾⁷⁾。近年、肝炎や肝線維症などの肝疾患とケモカインとの関連が報告されている⁸⁾。TAM とケモカインとの関連は明らかではない。今回、重症の TAM とケモカインの関連について検討した。

2. 研究の目的

TAM による肝線維化にケモカインが関連している可能性が考えられるが、この両者の関係についての報告はない。そこで、TAM による肝線維化とケモカインの関連を明らかにする。重症 TAM の問題点は肝線維化による肝不全であり、肝線維化は芽球が消失した後も進行する。化学療法の有効性が示唆されているが、線維化の進行抑制が重要であると考ええる。この研究が、肝線維化進行抑制の治療法への一助となり、生存率の向上に役立つと考える。

3. 研究の方法

(1) 対象

2003 年 1 月から 2010 年 4 月までに当院 NICU に入院した Down 症候群 29 例 (TAM 14 例、none-TAM 15 例) で、在胎 26 週 0 日で出生体重 360g の none-TAM1 例を除いた 28 例。

TAM の high risk として、これまでの危険因子の報告から、①在胎 37 週未満で出生した早産児、②経過中の白血球数 >10 万/ μ l 以上、③直接ビリルビン (DB) >5 mg/dl、④経過中の PT-INR >2 または出血傾向、⑤腹水の 5 項目を挙げ、3 項目以上を満たした症例を high risk group とした¹⁾²⁾³⁾。

High risk group は 5 例、low risk group は 9 例であった。

当院総合周産期母子医療センターで出生後、両親の同意を得て血清保存できた正常新生児 9 例を正常コントロールとした。男児 3 例、女児 6 例、帝王切開分娩 3 例、各中央値：在胎 38 週、出生体重 2985g、アプガースコア 1 分 9 点、5 分 9 点、臍帯動脈血 pH 7.307 であった。

(2) 方法

入院時血清で、CXCL8, CXCL9, CXCL10, CCL2 および CCL5 を cytometric bead array を用いて測定し、TGF- β 1 を ELISA で測定した。測定できたのは、high risk 5 例全例、low risk 9 例中 8 例、none-TAM 15 例中 10 例および正常新生児 9 例。

TAM の臨床データとして、ヒアルロン酸 (HA) と KL-6 の入院時 (ad) と経過中の最高値 (max) についても検討した。

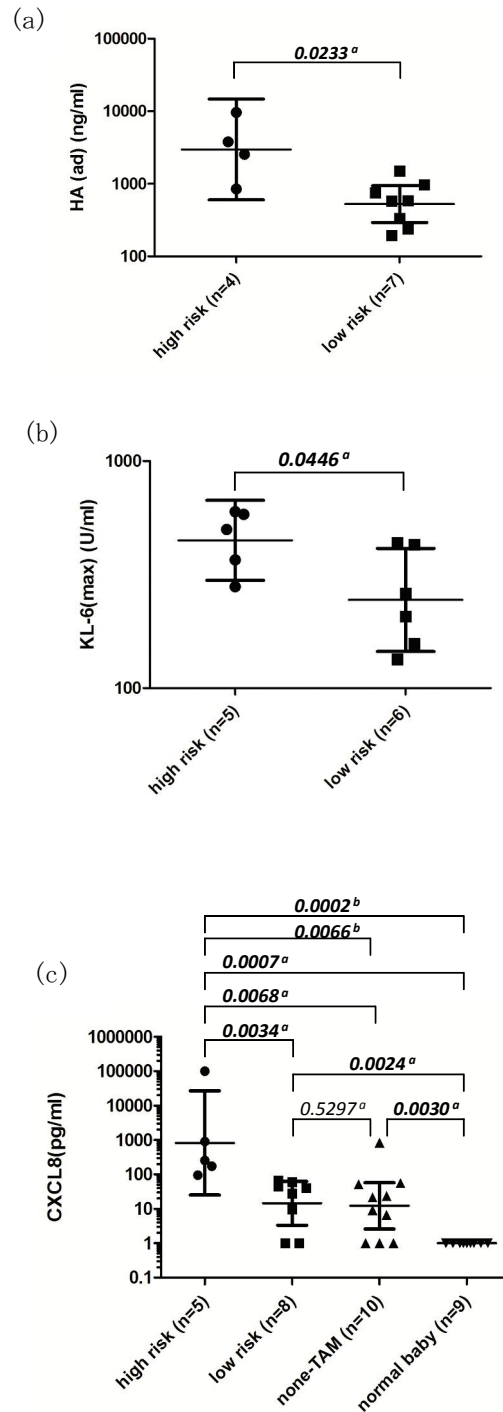
(3) 統計解析

ノンパラメトリック手法を用いた。対応のない 2 群間の検討は Mann-Whitney の U 検定、3 群間および 4 群間は Kruskal-Wallis の検定

を用いた。相関は Spearman の順位相関を行った。多変量解析は重回帰分析をおこなった。

4. 研究成果

TAM 症例において臨床データの HA(ad) と KL-6(max) が high risk group で有意に高値であった。ケモカインの検討では、Down 症例において high risk group、low risk group および none TAM group の 3 群間での Kruskal-Wallis の検定で有意差がみられたのは、CCL2 と CXCL8 であった (図 1(a)~(d))。



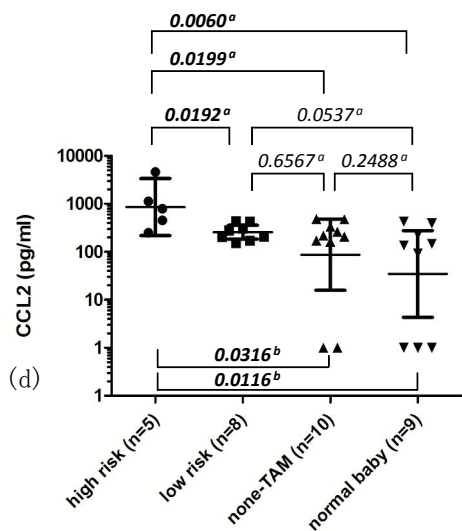


図1 HA(ad)、KL-6(max)、CXCL8 および CCL2 の比較
a. Mann-Whitney の検定,
b. Kruskal-Wallis の検定

危険因子数と、臨床データ及び入院時ケモカインの検討では、HA(ad), HA(max), KL-6(max), CXCL8, CCL2 および CXCL10 の間で正の相関が得られた (HA(ad): $p=0.0146$, 相関係数 [CC]=0.772, HA(max): $p=0.0112$, CC=0.733, KL-6(max): $p=0.0346$, CC=0.668, CXCL8: $p=0.0037$, CC=0.839, CCL2: $p=0.0065$, CC=0.789, CXCL10: $p=0.0124$, CC=0.722)。

TGF- β 1 はダウン症候群の3群間で特に有意差はみられず、正常新生児を含めた4群間でも差はなかった。しかし、TAM 症例において TGF- β 1 は CCL2 と正の相関があった ($p=0.012$, CC=0.725, 図2)。

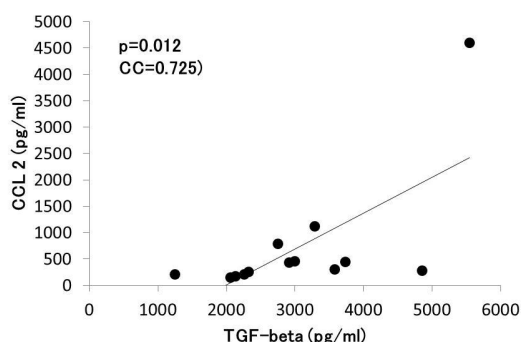


図2. TAM症例におけるCCL2とTGF- β の相関

TAM 症例において、CXCL8, CCL2 および CXCL10 の間では CXCL8 と CCL2, CCL2 と CXCL10 に正の相関があった。HA(ad)、KL-6(max) および CCL2 は各々有意な相関はなく、これらを独立変数として、重回帰解析をおこなった。CCL2 は high risk との関連性が考えられた (表1)。

表1. High risk群とlow risk群の2群による重回帰分析結果

	p value ($R^2=0.841$)
HA (ad)	0.0940
KL-6 (max)	0.0642
CCL2	0.0324

TAM の早期死亡の主な原因としては、肝線維化による肝不全である¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。今回、危険因子5項目中の③から⑤の3項目は、肝不全症状であり、high risk 群は肝不全症状を呈している。CCL2 と肝線維化の関連は報告されている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。今回の検討から、CCL2 は TAM における肝線維化に関連していることが考えられた。

【参考文献】

1. Malinge S, et al. Insights into the manifestations, outcomes, and mechanisms of leukemogenesis in Down syndrome. *Blood*. 2009;113:2619-2628.
2. Muramatsu H, et al. Risk factors for early death in neonates with Down syndrome and transient leukaemia. *Br J Haematol* 2008;142:610-615.
3. Klusmann JH, et al. Treatment and prognostic impact of transient leukemia in neonates with Down syndrome. *Blood*. 2008;111:2991-2998.
4. Massey GV, et al. A prospective study of the natural history of transient leukemia (TL) in neonates with Down syndrome (DS): Children's Oncology Group (COG) study POG-9481. *Blood*. 2006;107:4606-4613.
5. Hattori H, et al. High expression of platelet-derived growth factor and transforming growth factor- β 1 in blast cells from patient with Down syndrome suffering from transient myeloproliferative disorder and organ fibrosis. *Br J Haematol*. 2001;115:472-475.
6. Ogawa J, et al. Platelet-derived growth factor may be associated with fibrosis in a Down syndrome patient with transient myeloproliferative disorder. *Eur J Haematol*. 2008.
7. Shimada A, et al. Pro-inflammatory cytokinemia is frequently found in Down syndrome patients with hematological disorders. *Leukemia Research*. 2007;31:1199-1203.
8. Oo YH, et al. The role of chemokines in

the recruitment of lymphocytes to the liver. Dig Dis. 2010;28:31-44.

9. Kruglov EA, et al. Secretion of MCP-1/CCL2 by bile duct epithelia induces myofibroblastic transdifferentiation of portal fibroblasts. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2006;290:G765-771.

10. Seki E, et al. CCR2 promotes hepatic fibrosis in mice. Hepatology 2009;50:185-197.

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金城 唯宗 (KINJO TADAMUNE)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号 : 70419539