

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590426

研究課題名(和文)ランゲルハンス細胞組織球症の解析 - 質量分析装置を用いた新規バイオマーカーの探索 -

研究課題名(英文) Search for new biomarkers about Langerhans cell histiocytosis using mass spectrometry

研究代表者

村上 一郎 (MURAKAMI, Ichiro)

鳥取大学・医学部・准教授

研究者番号：80548701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：ランゲルハンス細胞組織球症(以下LCH)は、ランゲルハンス細胞の異常増殖が見られるが、反応性疾患か腫瘍性疾患か確定していない。我々は、BRAF変異等の腫瘍原性形質を有する異常ランゲルハンス細胞がメルケル細胞ポリオマウイルス(以下MCPyV)が関与している可能性を示唆するデータを得た(Murakami et al Human Pathol)。一方で、LCHにはシグナル伝達に関わる異常所見もあることから、シグナル伝達物質を中心に網羅的解析を進める研究計画を進めて来た。平成23年度採択課題における研究では、LCH患者血清の質量分析装置による解析から新規バイオマーカー候補として6つのピークを得た。

研究成果の概要(英文)：We proposed possibility that LCH has both neoplastic character and reactive character. As a trigger of the reactive origin we proposed the dermatropic Merkel cell polyomavirus (MCPyV) as a pathogenic agent. The lesional hyperreactivity may define the clinical courses of LCH. Though primary infection with MCPyV may play a significant pathogenic role in LCH, other mechanisms might also play important roles in LCH.

As clues to understand these mechanisms, we think serum biomarkers are important. LCH consists of two subtypes: single-system LCH (SS-LCH) with favorable prognosis and multisystem LCH (MS-LCH) with poor prognosis. LCH is also classified as either LCH developed in at least one high-risk organ (RO (+)) or LCH developed in organ without high-risk organ (LCH-RO (-)). As a preliminary analysis we already delineated 2 candidate biomarkers in sera which differentiate the LCH from controls, MS-LCH from SS-LCH, or LCH-RO (+) from LCH-RO (-), respectively.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：ランゲルハンス細胞組織球症

## 1. 研究開始当初の背景

1953年Lichtensteinは、好酸球性肉芽腫症、Hand Schüller Christian 病、Letterer Siwe 病の3疾患は、病変の部位・程度、罹患年齢に相違はあるものの、いずれも組織球の浸潤・増殖を共通の組織学的特徴とするとの理解から、これらを histiocytosis X という名称で総括する事を提唱した。その後、増殖している細胞は、樹状細胞の一種であるランゲルハンス細胞の性格を有している事が証明され、1987年に国際組織球学会により、ランゲルハンス細胞組織球症 Langerhans cell histiocytosis (以下 LCH) と呼ぶ事が提唱され、現在に到っている。

LCH の原因は確定しておらず、腫瘍性疾患なのか反応性疾患なのか未確定であり、ウイルス感染説、先天異常様々な関与について研究がなされている。

LCH の増殖ランゲルハンス細胞様細胞には monoclonality の存在、BRAF mutation の存在が報告されており、我々も、CGH を用いた 1p36 領域の異常、LOH に関して報告した (Murakami et al. Hum Pathol 2002)。これらの報告は腫瘍説を裏づけるデータと考えられるが、LCH2 亜型 (LCH-SS、LCH-MS) に特異的な異常に関しては確定的なものがない。

また、我々は LCH 患者より細胞株を樹立し、報告した (Gogusev, Murakami et al. Pediatr Blood Cancer 2005)。LCH 病変部から樹立された細胞株は殆ど無く、今後の解析に有用であると考えていた。

一方、連携研究者の岡を中心として、悪性リンパ腫、白血病についてフォスファターゼ SHP-1 が機能を失っている事 (メチル化による発現低下) を報告した (Oka et al. American Journal of Pathology 2001)。LCH も造血器系のランゲルハンス細胞の増殖性疾患であり、同様の発現低下があると考え、

免疫組織化学的に検索したが、意に反して過剰発現していた (コントロール: 皮膚病性リンパ節症)。LCH 亜型と SHP-1 に関する有意差のある相関関係があり、発症原因と関連があると考え、ランゲルハンス細胞様細胞株に SHP-1 を transfect して解析を進めた (2009 年アメリカ組織球症協会グラント取得 (2009 年 12 月 - 2010 年 12 月))。

## 2. 研究の目的

LCH が腫瘍性疾患なのか反応性疾患なのか確定するために様々な解析を進める。その中で血清の質量分析を進め、ニューバイオマーカーの発見等を目指すのが本研究の目的であった。

## 3. 研究の方法

本研究では、血清の質量分析計による解析等を進めた。

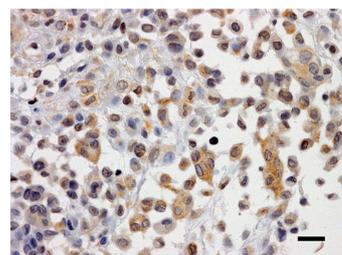
一方で、LCH の反応性疾患としての側面に関与している可能性を考え、メルケル細胞ポリオーマウイルスと LCH 及びランゲルハンス細胞肉腫組織を用いて定量 PCR 及び免疫組織化学的検索にて検討した。これは本研究の予備実験的側面を有していた。

## 4. 研究成果

(1) メルケル細胞ポリオーマウイルスと LCH に関係がある事を示した。

腫瘍原性形質を有する異常ランゲルハンス細胞が、メルケル細胞ポリオーマウイルスに過剰反応を示している可能性が示唆されると考えている。

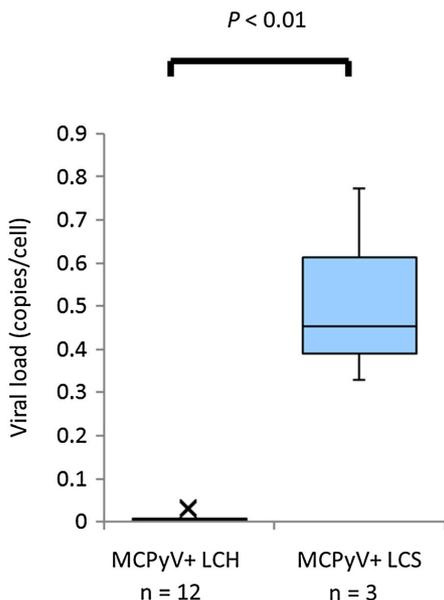
以下の図は、メルケル細胞ポリオーマウイルスの LT に対する抗体を用いた免疫組織化学的検討結果である (Hum Pathol. 2014 Jan; 45(1): 119-26.)



( 2 )メルケル細胞ポリオーマウイルスとランゲルハンス細胞肉腫に関係がある事を示した。

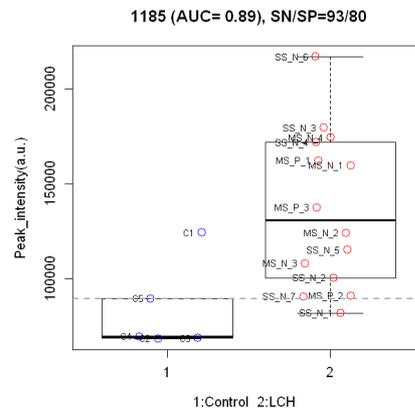
メルケル細胞ポリオーマウイルスは、メルケル細胞に感染するのであれば、メルケル細胞の存在部位より表層に近い部分に存在する抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞にも感染し、メルケル細胞癌に類似したメカニズムにより腫瘍化した疾患としてランゲルハンス細胞肉腫があるのではとの仮説の下に検討し、その可能性を有する症例がある事を示した。

以下の図は、メルケル細胞ポリオーマウイルスの LT に対する定量 PCR の結果であり、LCH、ランゲルハンス細胞肉腫 (LCS) 共にウイルスの LT が検出されたが、viral load が有意差を示している事を示している ( Infect Agent Cancer. 2014 May 6;9:15. )



( 3 ) LCH 患者血清を質量分析計にて検討した結果、LCH 患者血清とコントロール血清、SS-LCH患者血清とMS-LCH患者血清間、LCH-RO (+)患者血清と LCH-RO (-)患者血清間に於いて、夫々有意なピークを検出した(以下はLCH患者血清とコントロール血清の比較で有意

差を示すピークの一例である )



### 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 4 件 )

( 1 ) Murakami I, Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Kato M, Horie Y, Hayashi K, Gogusev J, Jaubert F, Nakamoto S, Yamakawa M, Nakamine H, Takata K, Oka T, Yoshino T. High viral load of Merkel cell polyomavirus DNA sequences in Langerhans cell sarcoma tissues. Infect Agent Cancer. 査読有 2014 May 6;9:15.

( 2 ) Murakami I, Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Kato M, Horie Y, Hayashi K, Imamura T, Morimoto A, Imashuku S, Gogusev J, Jaubert F, Takata K, Oka T, Yoshino T. Merkel cell polyomavirus DNA sequences in peripheral blood and tissues from patients with Langerhans cell histiocytosis. Hum Pathol. 査読有 2014 Jan;45(1):119-26. doi: 10.1016/j.humpath.2013.05.028. PubMed PMID: 24321520.

( 3 ) Murakami I, Morimoto A, Oka T, Kuwamoto S, Kato M, Horie Y, Hayashi K, Gogusev J, Jaubert F, Imashuku S, Al-Kadar LA, Takata K, Yoshino T. IL-17A receptor expression differs between subclasses of

Langerhans cell histiocytosis, which might settle the IL-17A controversy. Virchows Arch. 査読有 2013 Feb;462(2):219-28. doi: 10.1007/s00428-012-1360-6. Epub 2012 Dec 27. PubMed PMID: 23269323.

(4) Murakami I, Oka T, Kuwamoto S, Kato M, Hayashi K, Gogusev J, Imamura T, Morimoto A, Imashuku S, Yoshino T. Tyrosine phosphatase SHP-1 is expressed higher in multisystem than in single-system Langerhans cell histiocytosis by immunohistochemistry. Virchows Arch. 査読有 2011 Aug;459(2):227-34. doi: 10.1007/s00428-011-1090-1. Epub 2011 May 22. PubMed PMID: 21604205.

〔学会発表〕(計 8 件)

メルケル細胞ポリオーマウイルス解析に依るランゲルハンス細胞肉腫の疾患モデル 村上一郎、松下倫子、岩崎 健、桑本聡史、加藤雅子、堀江 靖、林 一彦、前田 智治、中本 周、山川光徳、中峯寛和、高田尚良、岡 剛史、吉野 正  
第 103 回日本病理学会総会 広島 2014 4/24 - 26

網羅的遺伝子発現解析、メルケル細胞ポリオーマウイルス解析に依るランゲルハンス細胞組織球症の疾患モデル 村上一郎、松下倫子、岩崎 健、桑本聡史、加藤雅子、堀江 靖、林 一彦、岡 剛史、吉野 正  
第 102 回日本病理学会総会 札幌 2013 6/6 - 8

ランゲルハンス細胞組織球症 (LCH) における IL-17RA の検討 村上一郎、岡 剛史、桑本聡史、加藤雅子、

林 一彦、吉野 正  
第 101 回日本病理学会総会 東京 2012 4/26 - 28

ランゲルハンス細胞組織球症 (LCH) におけるメルケル細胞ポリオーマウイルス (MCPyV) 感染の検討 松下倫子、村上一郎、岩崎 健、桑本聡史、加藤雅子、北村幸郷、林 一彦  
第 101 回日本病理学会総会 東京 2012 4/26 - 28

メルケル細胞癌：他の皮膚腫瘍との合併腫瘍に対する組織学的検討および文献的考察 桑本聡史、檜垣裕美、加藤雅子、村上一郎、堀江 靖、林 一彦  
第 100 回日本病理学会総会 横浜 2011 4/28 - 30

Merkel cell polyomavirus の剖検症例における感染の検討 松下倫子、岩崎 健、桑本聡史、檜垣裕美、加藤雅子、村上一郎、北村幸郷、林 一彦  
第 100 回日本病理学会総会 横浜 2011 4/28 - 30

HE 染色による Merkel cell carcinoma の形態的特徴から Merkel cell polyomavirus の感染の予測はどの程度可能か？ 岩崎 健、松下倫子、桑本聡史、檜垣裕美、加藤雅子、村上一郎、堀江 靖、林 一彦  
第 100 回日本病理学会総会 横浜 2011 4/28 - 30

PTPN6 (SHP-1) 遺伝子導入 Langerhans cell 様細胞株 (ELD-1) に関する検討 村上一郎、岡 剛史、桑本聡史、加藤雅子、堀江 靖、林 一彦、佐藤妃映、高橋聖之、吉野 正  
第 100 回日本病理学会総会 横浜 2011 4/28 - 30

〔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  
鳥取大学医学部医学科分子病理学分野  
<http://www.med.tottori-u.ac.jp/molepath/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

村上一郎 (MURAKAMI Ichiro)  
鳥取大学・医学部・准教授  
研究者番号：80548701

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

岡 剛史 (OKA Takashi)  
岡山大学・  
医薬薬学総合研究科・助教  
研究者番号：50160651