

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461409

研究課題名(和文)新規バイオマーカーLR11の急性白血病および悪性リンパ腫における有用性の確立

研究課題名(英文)An establishment of serum soluble LR11, as a novel biomarker in patients with acute leukemia and malignant lymphoma

研究代表者

大和田 千桂子 (OHWADA, Chikako)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80436352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：LR11という新規I型膜タンパクが2大造血器悪性腫瘍である急性白血病と悪性リンパ腫の腫瘍細胞で高発現し、その可溶型が患者血清中で健常人より有意に高値となることを見出した。悪性リンパ腫最大の組織型であるびまん性大細胞性B細胞型リンパ腫においては、診断時の血清LR11値が多くの予後不良因子(年齢、血清LDH値、病期、骨髄浸潤など)と有意に関連し、従来の予後因子と組み合わせるとより強力な予測システムの確立が可能となることが示された。また、診断が極めて困難な血管内大細胞性B細胞型リンパ腫(IVLBCL)においては、極めて強力な診断マーカーとしての有用性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：LR11 is a novel identified type I membrane protein, which is highly expressed in two major hematological malignancies, acute leukemia and malignant lymphoma. Serum soluble LR11 levels were significantly elevated in newly diagnosed leukemia and lymphoma patients compared with normal controls. In regards with Diffuse Large B-cell Lymphoma (DLBCL), one of the most major type of malignant lymphoma, elevated sLR11 levels were associated with well-known prognostic factors reflecting patients' condition (PS and age) and tumor burden (serum LDH, clinical stage, and bone marrow invasion). While IPI, previously established prognostic scoring system, requires several clinical factors to calculate, serum sLR11 is a simple and powerful biomarker for predicting the high risk patients. And combination of sLR11 and IPI enables more accurate predictive system in DLBCL. Furthermore, serum sLR11 was found to be an useful diagnostic tool for distinguishing intravascular large B-cell lymphoma (IVLBCL).

研究分野：血液腫瘍学

キーワード：新規バイオマーカー 予後予測システム 悪性リンパ腫 急性白血病 LR11 びまん性大細胞性B細胞型リンパ腫 血管内大細胞性B細胞型リンパ腫

1. 研究開始当初の背景

再発治療抵抗性の急性白血病および悪性リンパ腫の予後は依然として厳しい。生存率の向上には再発および治療抵抗性を早期に的確に診断することが不可欠で、そのためには腫瘍細胞から産生され血中に遊離されるバイオマーカーの確立が極めて重要であるが、急性白血病および悪性リンパ腫においては、標準的なバイオマーカーはまだ確立されていない。

LR11(SORL1)は連携協力者らがクローニングした分子で、LDL 受容体ファミリーに属し、動脈硬化巢の未(脱)分化平滑筋細胞に高発現している。LR11 の細胞外ドメイン(可溶性 LR11、sLR11)はプロテアーゼにより細胞表面から分離され、細胞膜ウロキナーゼ受容体(uPAR)と結合してインテグリンを介し平滑筋細胞の細胞接着・遊走を亢進させる。sLR11 は血清検体で ELISA 法により定量測定することが可能で、動脈硬化症やアルツハイマー病において診断的有用性が確立されている。

造血細胞における LR11 の詳しい機能は不明である。しかしながらリガンドである uPAR およびインテグリンは白血病細胞に高発現し、接着能や化学療法抵抗性、ニッチへの接着に関与していることから、我々は LR11 が造血器悪性腫瘍の進展に重要な役割を担っていると推測した。

2. 研究の目的

急性白血病および悪性リンパ腫患者における LR11 の発現を解析し、血清 sLR11 値が診断および予後予測マーカーとして有用であることを示す。

3. 研究の方法

(1) 急性白血病および悪性リンパ腫における血

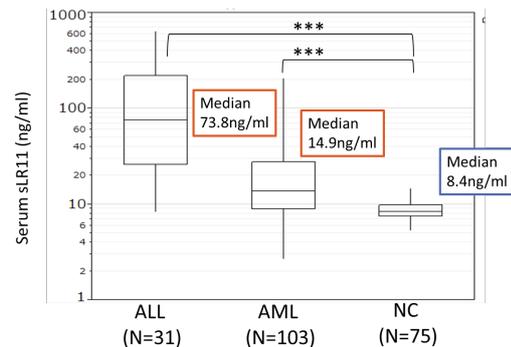
清 sLR11 値を測定し、診断における有用性を確立する。

- (2) 診断時血清 sLR11 値と診断時の臨床像を解析し、腫瘍量との相関を示す。
- (3) 診断時血清 sLR11 値と寛解後の比較を行い、治療により寛解後に正常化することを示す。
- (4) 診断時血清 sLR11 値と臨床経過を解析し、予後予測マーカーとしての有用性を示す。

4. 研究成果

- (1) 急性白血病の診断時 sLR11 値は健常人コントロールに比べて有意に高値であった。(急性骨髄性白血病(AML):  $23.2 \pm 26.3$  ng/ml, 急性リンパ性白血病(ALL):  $147.8 \pm 165.3$  ng/ml, 健常人コントロール(NC):  $8.8 \pm 1.8$  ng/ml,  $P < 0.0001$ , 図1)。

図 1. 急性白血病における診断時血清 sLR11

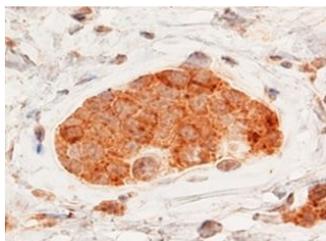


悪性リンパ腫においてもさまざまな病型において高値を示した(びまん性大細胞性 B 細胞型:  $20.9 \pm 27.1$  ng/ml, 濾胞性リンパ腫:  $18.1 \pm 16.6$  ng/ml, ホジキンリンパ腫:  $12.6 \pm 6.3$  ng/ml, 成人 T 細胞性白血病リンパ腫:  $103.8 \pm 153.6$  ng/ml)。

とくに血管内大細胞性 B 細胞型リンパ腫 (IVLBCL) では、患者血清 sLR11 値は他のリンパ腫病型と比べても著しく高値 ( $385.3 \pm 702.1$  ng/ml) であり、ROC 解析で AUC0.9 という高精度で急性白血病および他のリンパ腫病型との鑑別診断に有用であ

ることが示された。また、患者組織検体において、血管内に浸潤している腫瘍細胞に LR11 抗体が特異的に染色され、組織診断としての有用性も確認された(図 2)。

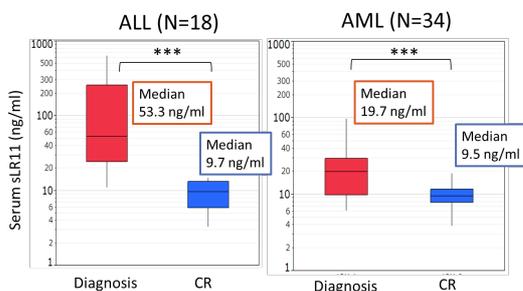
図 2. 皮膚組織血管内 IVLBCL 細胞(LR11 抗体による免疫染色)



(2) AML においては、腫瘍量を反映する末梢血芽球数と有意に相関した ( $R^2=0.52$ ,  $p=0.018$ )。また、びまん性大細胞性 B 細胞型リンパ腫 (DLBCL) では、血清 sLR11 値は既知の予後因子(年齢、血清 LDH 値、病期、骨髄浸潤など)と有意に関連した。

(3) ALL、AML いずれも診断時に有意に高値であった血清 sLR11 値は、治療により寛解した症例において健常人と同レベルに低下した(図 3)。

図 3. 急性白血病の診断時、寛解後 (CR) の血清 sLR11



また、びまん性大細胞性 B 細胞型 (DLBCL) リンパ腫においても、初発時高値であった血清 sLR11 値は治療後寛解により正常化した(診断時:  $17.0 \pm 16.4$  ng/ml, 寛解時:  $10.7 \pm 4.2$  ng/ml,  $P=0.02$ )。

(4) DLBCL において、診断時血清 sLR11 値が高い症例は有意に全生存率 (OS)、無進行生存率 (PFS) が低いことが示された(2 年全生存率: 高値群 52.2% vs. 低値群 89%、 $P<0.0001$ 、2 年無進行生存率: 高値群 50.9% vs. 低値群 84.7%、 $P<0.0001$ 、図 4)。また、従来確立されている国際予後スコア (IPI) と組み合わせることにより、2 年無進行生存率が 47% となる極めて高リスクな症例を抽出できることが示された(図 5)。

図 4. DLBCL の診断時血清 sLR11 値と予後

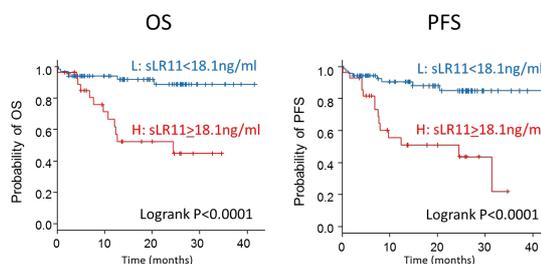
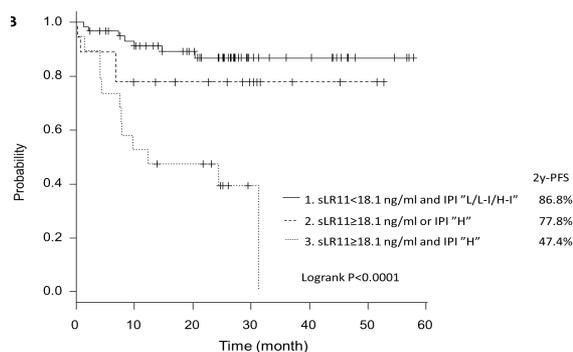


図 5. DLBCL における診断時 sLR11 値と IPI の組み合わせによる無進行生存率 (L: 低リスク、L-I: 低中間リスク、H-I: 高中間リスク、H: 高リスク)



## 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)

Ohwada C, Yamazaki A, Kawaguchi T, Sugita Y, Takeuchi M, Shimizu N, Sakaida E, Takeda Y, Tsukamoto S, Muto T, Jiang

M, Higashi M, Yokote K, Tamaru J, Bujo H, Nakaseko C. Serum soluble LR11, a novel tumor derived biomarker associated with the outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma. Leuk Lymphoma. 2015;56(10):2982-5. (査読有)

Kawaguchi T, Ohwada C, Takeuchi M, Shimizu N, Sakaida E, Takeda Y, Sakai S, Tsukamoto S, Yamazaki A, Sugita Y, Higashi M, Fujikawa K, Matsue K, Yokote K, Tamaru J, Bujo H, Nakaseko C. Potential utility of serum soluble LR11 as a diagnostic biomarker for intravascular large B-cell lymphoma. Leuk Lymphoma. 2014; 55(10):2391-4. (査読有)

Fujimura K, Ebinuma H, Fukamachi I, Ohwada C, Kawaguchi T, Shimizu N, Takeuchi M, Sakaida E, Jiang M, Nakaseko C, Bujo H. Circulating LR11 is a novel soluble-receptor marker for early-stage clinical conditions in patients with non-Hodgkin's lymphoma. Clin Chim Acta. 2014; 430: 48-54. (査読有)

Kawaguchi T, Ohwada C, Takeuchi M, Shimizu N, Sakaida E, Takeda Y, Sakai S, Tsukamoto S, Yamazaki A, Sugita Y, Jiang M, Higashi M, Yokote K, Tamaru J, Bujo H, Nakaseko C. LR11: a novel biomarker identified in follicular lymphoma. Brit J Haematol. 2013; 163(2): 277-80. (査読有)

[学会発表] (計 3 件)

大和田千桂子、武内正博、堺田恵美子、武城英明、中世古知昭ら。Serum soluble LR11, a novel tumor-derived circulating molecule in acute leukemia. 新規バイオマ

ーカー、可溶型 LR11 の急性白血病における有用性。第 77 回日本血液学会総会、2015 年 10 月 16 日、ホテル金沢(石川県・金沢市)

竹田勇輔、大和田千桂子、武内正博、堺田恵美子、武城英明、中世古知昭ら。Serum Soluble LR11, a Novel Tumor-Derived Biomarker in Diffuse Large B-cell Lymphoma: A Multicenter Prospective Analysis. 新規バイオマーカー、可溶型 LR11 のびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫における有用性。第 77 回日本血液学会総会、2015 年 10 月 16 日、ホテル金沢(石川県・金沢市)

大和田千桂子、武内正博、堺田恵美子、武城英明、中世古知昭ら。血清可溶型 LR11(sLR11)の Intravascular large B-cell lymphoma (IVLBCL) に対する診断有用性。第 111 回日本内科学会総会、2014 年 4 月 11 日、東京国際フォーラム(東京都・千代田区)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

大和田 千桂子 (OHWADA, Chikako)  
千葉大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号:80436352

### (2)研究分担者

中世古 知昭 (NAKASEKO, Chiaki)  
千葉大学・大学院医学研究院・准教授  
研究者番号:30323398

武内 正博 (TAKEUCHI, Masahiro)  
千葉大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号:50466702

堺田 恵美子 (SAKAIDA, Emiko)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 60422218

(3)連携研究者

武城 英明 (BUJO, Hideaki)

東邦大学医療センター佐倉病院 教授

研究者番号: 80291300