

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461591

研究課題名(和文)スーパーハイリスク神経芽腫における再発機構の解明

研究課題名(英文)Study of recurrence mechanism in super high-risk neuroblastoma

研究代表者

家原 知子 (Tomoko, Iehara)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20285266

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：スーパーハイリスク群神経芽腫腫瘍検体の初発腫瘍組織と転移再発腫瘍組織より、ゲノム解析を行った。初発時には存在しないCDKN2Aの欠失を転移再発組織において認めた。神経芽腫細胞株19種を用い、リアルタイムPCR法にて解析したところ、CDKN2A発現とRsf-1の発現に関連性は認めなかった。ただしMYCN増幅細胞株においてはRsf-1の発現が高い傾向にあった。次にRsf-1高発現である神経芽腫細胞株SH-SY5Yを使用し、Rsf-1ノックダウンを行い、SCA (Segmental chromosome Aberration)の変化を検討したがSCAの変化は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Genome analysis was performed from the initial tumor and metastatic recurrent tumor tissue of the super high-risk group neuroblastoma. Deletion of CDKN2A, which does not exist at the onset, was observed in metastatic recurrent tissues. We analyzed CDKN2A and Rsf-1 in 19 neuroblastoma cell lines by real-time PCR method, there is no correlation was found with expression of CDKN2A and expression of Rsf-1. However, expression of Rsf-1 tended to be higher in the MYCN-amplified cell line. Next, We analyzed Segmental chromosome Aberration (SCA), when Rsf-1 knockdown was performed using the neuroblastoma cell line SH-SY5Y with high expression of Rsf-1. We cannot observed any changes in SCA (Segmental chromosome Aberration) in this cell line.

研究分野：小児腫瘍学

キーワード：神経芽腫 スーパーハイリスク

1. 研究開始当初の背景

国際的な神経芽腫 (NB) の治療戦略は、ゲノム情報を含んだリスク分類に基づく治療法の開発へと移行しつつある (London WB, Iehara T, et al. *J Clin Oncol*. 2011)。特に、再発転移をきたし致命的転帰をとるスーパーハイリスク群は、初診時からのリスク分けとより強力な治療、分子標的治療などの集学的治療が望まれる。しかしながら、現時点ではスーパーハイリスク群を選別する分子機構の解明はなされていない。

2. 研究の目的

悪性腫瘍が持つ生物学的特性として、染色体の増幅や欠失、転座など染色体の構造異常を引き起こす染色体不安定性 (Chromosome instability: CIN) が注目されている。CIN によって惹起される部分的な染色体の増幅や欠失 (Segmental chromosome Aberration: SCA) が NB の発生や悪性化に関わることが明らかとなってきた (Iehara T, et al. *Cancer Lett*. 2002)。網羅的ゲノム解析を用いた検討より、再発 NB では、初発時に見られるゲノム異常 (SCA) に加え、さらなる SCA が加わり、悪性度を獲得している可能性が示唆されており (Schleiermacher G et al. *J Clin Oncol* 2010)、神経芽腫で SCA 蓄積の原因を探索する。

3. 研究の方法

1) スーパーハイリスク群の初発腫瘍組織と転移再発腫瘍組織を用いて、ゲノム解析を行い、転移再発時にゲノムの異常がどのように変化しているかを調べる。

2) NB における CDKN2A と Rsf-1 の発現および関連性の解明

3) Rsf-1 ノックダウンに伴う NB 細胞株での遺伝子発現プロファイルの検討。NB における Rsf-1 の発現異常が SCA 形成をもたらす、腫瘍増殖、分化の抑制を生じているかについて検討する。

4. 研究成果

当研究室所有のスーパーハイリスク群神経芽腫腫瘍検体の初発腫瘍組織と転移再発腫瘍組織より、ゲノム解析を行った。CDKN2A の欠失を転移再発組織において認め、これは初発時には存在しないものであった。CDKN2A 欠失の卵巣癌細胞において Rsf-1 高発現が染色体異常と不安定性をもたらすとの既知の報告 (Sheu J, et al. *F Biol Chem*. 2010) もあり、神経芽腫における CDKN2A 欠失と Rsf-1 発現に関連を検証した。当研究室所有の神経芽腫細胞株 19 種を用い RNA を抽出、リアルタイム PCR 法にて解析したところ、CDKN2A 発現と Rsf-1 の発現に明確な関連性は認めなかった。ただし NMYC 増幅を有する神経芽腫細胞株においては Rsf-1 の発現が高い傾向にあった。次に Rsf-1 高発現である神経芽腫細胞株 SH-SY5Y を使用し、

レンチウイルスを用い Rsf-1 ノックダウンを行い、SCA の変化を検討した。コントロール群と比べ、Rsf-1 ノックダウンした細胞株における SCA の変化は認めなかった。スーパーハイリスク群の選別するマーカーとして Rsf-1 は不適格であろうと結論づける。

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 10 件)

1. A NOXA/MCL-1 Imbalance Underlies Chemoresistance of Malignant Rhabdoid Tumor Cells. Miyachi M, Iehara T, Hosoi H et al. (他 6 人、責任著者) *J Cell Physiol*. 231(9):1932-40. 2016
2. Neoadjuvant Treatment With Cyclooxygenase-2 Inhibitor and Prednisolone Allows Conservative Surgery for Inflammatory Myofibroblastic Tumor of the Bladder. Miyachi M, Iehara T, Hosoi H, et al. (他 6 人、責任著者) *J Pediatr Hematol Oncol*. 2016
3. Serum-Based Quantification of MYCN Gene Amplification in Young Patients with Neuroblastoma: Potential Utility as a Surrogate Biomarker for Neuroblastoma. Yagyu S, Iehara T, et al. (他 12 人、筆頭著者) *PLoS One*. 11(8): e0161039. 2016
4. Residual tumor in cases of intermediate-risk neuroblastoma did not influence the prognosis. Iehara T, Yagyu S, Miyachi M, Hosoi H et al. (他 5 人、筆頭著者) *Jpn J Clin Oncol*. 46(7):661-6. 2016
5. MEK inhibitors as a novel therapy for neuroblastoma: Their in vitro effects and predicting their efficacy. Iehara T, Hosoi H, et al. (他 7 人、6 番

- 目) *J Pediatr Surg*. 2016 Sep 16
6. Integrated genetic and epigenetic analysis defines novel molecular subgroups in rhabdomyosarcoma. Miyachi M, Hosoi H, et al. (他 29 人、14 番目) *Nat Commun*. 6:7557. 2015
 7. FN1: a novel fusion partner of ALK in an inflammatory myofibroblastic tumor. Miyachi M, Iehara T, Hosoi H, et al. (他 5 人、責任著者) *Pediatr Blood Cancer*. 62(5):909-11. 2015
 8. Mortality and morbidity in primarily resected hepatoblastomas in Japan: Experience of the JPLT (Japanese Study Group for Pediatric Liver Tumor) trials. Iehara T, et al. (他 12 人、7 番目) *J Pediatr Surg*. 2015 Dec;50(12):2098-1012014
 9. Cell-cycle dependent expression of a translocation-mediated fusion oncogene mediates checkpoint adaptation in rhabdomyosarcoma. Kikuchi K, et al. (他 9 人、筆頭著者) *PLoS Genet*. 10(1):e1004107. 2014
 10. Identification of COL3A1 and RAB2A as novel translocation partner genes of PLAG1 in lipoblastoma. Miyachi M, Iehara T, Hosoi H, et al. (他 5 人、責任著者) *Genes Chromosomes Cancer*. 53(7):606-11. 2014

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 辻 桂嗣, 家原 知子, 柳生 茂希, 勝見 良樹, 田村 真一, 杉本 徹, 細井 創. レチノイン酸関連遺伝子発現比による神経芽腫患者予後予測 (Expression of retinoid acid related

genes in neuroblastoma can predict the patient prognosis) .第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 2014年11月28日-30日; 岡山

2. 金 聖和、福井慶介、坂井宏平、東 真弓、文野誠久、青井重善、木村幸績、坂井宏平、古川泰三、菊地 顕、家原知子、細井 創、酒井敏行、田尻達郎. 新規神経芽腫治療薬としてのMEK阻害剤のin-vitroでの治療効果検討. 第57回小児血液・がん学会学術集会. 2015年11月27日~29日; 甲府
3. 柳生茂希, 宮地充, 土屋邦彦, 家原知子, 文野誠久, 田尻達郎, 小野滋, 細井創. 著明な高血圧を認めたカテコラミン産生性神経芽腫の3例. 第58回日本小児血液・がん学会学術集会. 2016年12月15日~17日; 東京.

〔図書〕(計 8 件)

1. 家原知子. 小児がん. がん治療認定医教育セミナーテキスト第8版; 201-207. 一般社団法人日本がん治療認定医機構教育委員会, 2014.
2. 家原知子. 血液・腫瘍 神経芽腫. 小児科診療 77 巻増刊 489-492. 診断と治療社. 2014.
3. 家原知子. 神経芽腫. 今日の小児治療指針第16版 572-573. 医学書院 2015.
4. 家原知子. 神経芽腫. 小児血液・腫瘍学, 532-535. 診断と治療社 2015.
5. 家原知子. 小児がん. がん治療認定医教育セミナーテキスト第9版; 202-209. 一般社団法人日本がん治療認定医機構教育委員会, 2015.
6. 家原知子. 小児がん. がん治療認定医教育セミナーテキスト第10版; 209-216. 一般社団法人日本がん治療認定医機構教育委員会, 2016.
7. 家原知子. 血液・腫瘍性疾患 神経芽腫. 983-986. 小児疾患診療のための病

態生理 3 改訂第 5 版. 小児内科 48 巻増刊、2016

8. 家原知子. 神経芽腫.小児がん診療ガイドライン 2016 年版.日本小児血液がん学会.2016

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件):

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

家原知子 (Tomoko Iehara)
京都府立医科大学・医学研究科・准教授
研究者番号：20285266

(2)研究分担者

細井 創 (Hajime Hosoi)
京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号：20238744

栞原康通 (Yasumichi Kuwahara)
京都府立医科大学・医学研究科・講師
研究者番号：30590327

菊地 颯 (Ken Kikuchi)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：40453104

宮地 充 (Mitsuru Miyachi)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：40584983

(3)連携研究者

(4)研究協力