

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08743

研究課題名(和文) ランゲルハンス細胞組織球症 次世代シーケンサーを用いた新規バイオマーカーの解析

研究課題名(英文) Langerhans cell histiocytosis-Analysis of new biomarkers using NGS-

研究代表者

村上 一郎 (MURAKAMI, Ichiro)

高知大学・教育研究部医療学系連携医学部門・教授

研究者番号：80548701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000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) 亜型間血清RNA解析では、造血器系の分化に関連する転写因子KLF1、GATA-1、LYL1(Lymphoblastic leukemia associated hematopoiesis regulator 1)、 α 型インターフェロンによって誘導されるIFI27(Interferon alpha-inducible protein 27)に発現の差異が見出された。

これらは、腫瘍性疾患等で、差異が見出されており、腫瘍細胞の増殖、浸潤に関連している事が明らかとなっており、これらの遺伝子発現上昇は、LCH亜型間の差異と関連している可能性があると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ランゲルハンス細胞組織球症(以下 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、先天異常等の様々な関与について研究がなされて来たが、我々は、LCHは腫瘍性疾患の性格を背景に有する反応性疾患である可能性のあるデータを得てきている。LCHに関する検討は、当初、LCH組織を用いたが、その後、患者血清のDNA、タンパク質解析(質量分析計)と進め、今回の検討では、血清RNAを用い、LCH亜型間で差異がある事を見出した。

これらのデータから、治療戦略として、腫瘍性疾患だけでなく、反応性疾患としての性格部分をターゲットにしたものが有効な可能性があると思われる。

研究成果の概要(英文)：LCH may be a reactive disorder with underlying neoplastic potential of cells harboring BRAF mutations. RNA-Seq data of LCH patient serum have revealed that the level of KLF1, GATA-1, LYL1(Lymphoblastic leukemia associated hematopoiesis regulator 1), IFI27(Interferon alpha-inducible protein 27) distinguishes LCH subgroups. These RNAs are known to play important role in other neoplastic disorders.

研究分野：血液病理

キーワード：ランゲルハンス細胞組織球症 RNA-Seq

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

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、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(研究課題の核心をなす学術的「問い」) ウイルス感染、先天異常等の様々な関与について研究がなされて来た。

我々は、LCH は腫瘍性疾患の性格を背景に有する反応性疾患である可能性のあるデータを得てきている。

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、LCH 亜型間 (single system (SS)-LCH、multisystem (MS)-LCH ; LCH-RO(risk organ)+、LCH-RO-) に特異的な異常に関しては確定的なものがなかった。

一方、我々は、SHP-1、インターロイキン 17 レセプター、ITIH4 等の発現と LCH 亜型と相関する事を見出した。

フォスファターゼ SHP-1 は、悪性リンパ腫、白血病において機能を失っている (メチル化による発現低下) (Oka et al. American Journal of Pathology 2001) が、LCH においては過剰発現が見られている。LCH 亜型と SHP-1 についても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 して解析を進めて来た (2009 アメリカ組織球症協会グラント取得 (2009年12月 - 2010年12月))。

SHP-1 は、ランゲルハンス細胞では Toll-like receptor を介するインターフェロン発現に関与する事が知られており、LCH でも過剰発現しているインターフェロンとの関与が示唆された。また、ウイルス感染に関与する IL-17R に関して LCH 亜型との相関を見出し (Virchows Arch, 2013) LCH は *BRAF* 等の遺伝子異常を有する異常ランゲルハンス細胞が何らかのウイルスに過剰に反応した病態では? との仮説の基に皮膚常在ウイルスと見なされつつある MCPyV との関係を調べ、患者血清や病変部組織にウイルスの DNA が存在する症例がある事を見出した (Hum Pathol, 2014)。

2. 研究の目的

LCH 材料において、このようなアプローチによる研究はなされていない。血液 RNA だけでなく、多角的なコンファーマーションを得るよう、病理組織切片等の解析も含めて多角的なアプローチを目指している点も特色である。

LCH に関する我々の検討 (CGH、LOH、SHP - 1、IL-17R の発現異常、LCH 組織や血清における MCPyV-DNA 検出) や LCH における monoclonality の報告、*BRAF* mutation の報告から、LCH に関してさらなるシグナル伝達物質に異常が存在する事が予想される。この事は、平成 23 年度基盤研究 (C) 及び平成 26 年度基盤研究 (C) に於いて、得られた ITIH4 (Clin Proteomics, 2015) も IL-6 により発現増加する事が知られており、本研究に

より、シグナル伝達物質を中心とした LCH の新規バイオマーカー、ITIH4 とリンクする物質の発見、発症原因、治療応用に繋がるデータが得られると考えている。

3．研究の方法

次世代シーケンサー解析技術を用い、既に保存済みの患者血液 (PAXgene blood RNA kit にて保存) を検討する事で、今まで蓄積したデータを統合し、疾患原因解明、治療応用に有用なデータの獲得を目指す。

4．研究成果

LCH 亜型間では、造血器系の分化に関連する転写因子 KLF1、GATA-1、LYL1 (lymphoblastic leukemia associated hematopoiesis regulator 1)、 α 型インターフェロンによって誘導される IFI27 (Interferon alpha-inducible protein 27) に発現の差異が見出されたが、後者は近年、乳癌や扁平上皮癌、肝細胞癌、漿液性卵巣癌、膿胸関連リンパ腫等の腫瘍性疾患で、上方制御されることが見出されており、腫瘍細胞の増殖、浸潤に関連している事が明らかとなっている。従って、これらの遺伝子発現上昇は、LCH 亜型間の差異と関連している可能性があると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ichiro Murakami, Noriko Wada, Junko Nakashima, Mitsuko Iguchi, Makoto Toi, Yumiko Hashid, Tomonori Higuchi, Masanori Daibata, Michiko Matsushita, Takeshi Iwasaki, Satoshi Kuwamoto, Yasushi Horie, Keiko Nagata, Kazuhiko Hayashi, Takashi Oka, Tadashi Yoshino, et al.	4. 巻 16:49
2. 論文標題 Merkel cell polyomavirus and Langerhans cell neoplasm	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12964-018-0261-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 村上一郎	4. 巻 54 (5)
2. 論文標題 ランゲルハンス細胞組織球症：トリプルファクターモデルの提唱	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Japanese Journal of Pediatric Hematology/Oncology	6. 最初と最後の頁 320-328
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11412/jspho.54.320	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ランゲルハンス細胞組織球症発症仮説 http://www.kochi-ms.ac.jp/~ff_pth12/lodp/LCH1.htm http://www.kochi-ms.ac.jp/~ff_pth12/lodp/LCH2.htm http://www.kochi-ms.ac.jp/~ff_pth12/lodp/LCH3.htm
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----