

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07393

研究課題名(和文)ランゲルハンス細胞組織球症 NGSを用いたsmall RNAの網羅的解析

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

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) 3,300,000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、腫瘍性疾患なのか反応性疾患なのか未確定であり(令和2(2020)年度科学研究費助成事業(基金)[20K07393]「ランゲルハンス細胞組織球症 NGSを用いたsmall RNAの解析」)の研究の核心をなす「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(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))を得た。現在では、LCHは炎症性骨髄腫瘍として認知されるようになって来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Based on these data, it is suggested that therapeutic strategies should target not only neoplastic disease but also reactive disease.

研究成果の概要(英文)：The cause of Langerhans cell histiocytosis (LCH) is uncertain, whether it is neoplastic or reactive disease (KAKENHI 20K07393). Various involvements such as viral infections, congenital anomalies, etc. have been investigated (Hum Pathol, 2014). We obtained data suggesting that LCH may be a reactive disease with neoplastic characteristics, and analyzed LCH patient sera by mass spectrometry, followed by RNA-Seq using LCH patient sera. LCH is now recognized as an inflammatory myeloid neoplasm.

研究分野：Pathology

キーワード：Histiocytosis RNA-Seq mRNA ncRNA

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

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(令和2(2020)年度科学研究費助成事業(基金)[20K07393]「ランゲルハンス細胞組織球症—NGSを用いた small RNA の解析—」の研究課題の核心をなす学術的「問い」として研究) 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(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))を得、LCH患者血清を用いた質量分析器による解析(平成23年度基盤研究(C)及び平成26年度基盤研究(C))、LCH患者血清を用いた RNA-Seq(対象に small RNA を含まない HiSeq)(平成29年度基盤研究(C))と継続してきた。現在では、LCHは炎症性骨髄腫瘍として認知されるようになって来た。

### 2. 研究の目的

LCHは炎症性骨髄腫瘍として認知されて来ているが、亜型間の差異を規定する因子に関しては不明のままであり、本研究では亜型間の差異に関わるファクターの検出を目的としている。

### 3. 研究の方法

LCH患者血清を用いた RNA-Seq(対象に small RNA を含まない HiSeq)(平成29年度基盤研究(C))に加え、新たに LCH患者血清を用いた RNA-Seq( small RNA を対象とした NovaSeq)解析を進めた。

### 4. 研究成果

LCH患者血清を用いた RNA-Seq(対象に small RNA を含まない HiSeq)(平成29年度基盤研究(C))に於ける研究実績として、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)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、膵臓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が、更に異なる解析方法(Subio platform)にて再解析した。

異なる2群(MS vs SS)間で2倍以上の発現量の変化したものは、SSで発現量増加した mRNA : HLA-DQA2、HLA-DQB2、ALPL、CTSW、HLA-G、FCGR3B、CCNJL、MYOM2、RAB4B-EGLN2、ADM ; MSで発現量の増加した mRNA : MPO、DEFA4、HBZ、DEFA1B、AZU1、DEFA1、TUBB2B、CTSG、TUBB2A、ELANE、CAMP、ASPM等が認められた(Student's T-test)。

HLA-DQA2

major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 2 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4943]

HLA-DQB2

major histocompatibility complex, class II, DQ beta 2 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4945]

ALPL

alkaline phosphatase, biomineralization associated [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:438]

CTSW

cathepsin W [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:2546]

HLA-G

major histocompatibility complex, class I, G [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4964]

FCGR3B

Fc fragment of IgG receptor IIIb [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:3620]

CCNJL

cyclin J like [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:25876]

MYOM2

myomesin 2 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:7614]

RAB4B-EGLN2

RAB4B-EGLN2 readthrough (NMD candidate) [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:44465]

ADM

adrenomedullin [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:259]

MPO myeloperoxidase [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:7218]

DEFA4 defensin alpha 4 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:2763]

HBZ hemoglobin subunit zeta [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4835]

DEFA1B defensin alpha 1B [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:33596]

AZU1 azurocidin 1 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:913]

DEFA1 defensin alpha 1 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:2761]

TUBB2B tubulin beta 2B class IIb [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:30829]

CTSG cathepsin G [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:2532]

TUBB2A tubulin beta 2A class IIa [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:12412]

ELANE elastase, neutrophil expressed [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:3309]

CAMP cathelicidin antimicrobial peptide [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:1472]

ASPM abnormal spindle microtubule assembly [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:19048]

RNA-Seq (small RNA を対象とした NovaSeq) 解析では、異なる 2 群 (MS vs SS) 間で 2 倍以上の発現量の変化したものは、SS で発現量増加した ncRNA : ENST00000629772.1、ENST00000587312.1、hsa-miR-4508、hsa-let-7b-5p、ENST00000577421.1、hsa-miR-483-3p ; MS で発現量の増加した ncRNA : hsa-miR-4772-3p、hsa-miR-181a-3p、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-7977 であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Ichiro Murakami, Yumiko Hashida, Tomonori Higuchi, Masanori Daibata
2. 発表標題 RNA-seq profiling in peripheral blood cells of patients with Langerhans cell histiocytosis
3. 学会等名 第67回日本病理学会秋期特別総会
4. 発表年 2021年

〔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 <a href="http://www.kochi-u.ac.jp/kms/ff_pth12/lodp/LCH1.htm">http://www.kochi-u.ac.jp/kms/ff_pth12/lodp/LCH1.htm</a> ランゲルハンス細胞組織球症発症仮説 <a href="http://www.kochi-u.ac.jp/kms/ff_pth12/lodp/LCH1.htm">http://www.kochi-u.ac.jp/kms/ff_pth12/lodp/LCH1.htm</a>
--

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------