

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 26 日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592274

研究課題名（和文）新規癌胎児抗原 glypican3 の小児固形腫瘍における組織発現と血中動態の解析

研究課題名（英文）Expression of glypican3 on pediatric malignant tumor cells and analysis of serum glypican3 level in pediatric patients with malignant tumors

研究代表者 金森 豊（KANAMORI YUTAKA）

独立行政法人国立成育医療研究センター・外科・医長

研究者番号：20221187

研究成果の概要（和文）：小児悪性腫瘍における glypican3 の発現を組織学的に検討した。小児悪性固形腫瘍 83 例について検討した結果、神経芽腫 27 例には発現は見られなかった。腎芽腫 8 例ではすべて発現がみられた。横紋筋肉腫 9 例では 1 例のみ発現が認められた。胚細胞性腫瘍 40 例では、卵黄嚢腫瘍と未熟奇形腫 8 例で発現が認められた。この結果から、腎芽腫と卵黄嚢腫瘍では glypican3 が腫瘍マーカーとして有用である可能性が示された。血中 glypican3 の濃度については測定系が確立できずに今後の課題とした。

研究成果の概要（英文）：Glypican 3 (GPC3) expression was investigated on the pediatric tumor cells, including neuroblastoma, nephroblastoma, rhabdomyosarcoma, germ cell tumors, and hepatoblastoma by immunohistochemistry. Neuroblastoma and rhabdomyosarcoma were negative for GPC3 but all nephroblastoma express GPC3 in varying degree. Hepatoblastoma and yolk-sac tumors and some immature teratoma also express GPC3. Serum GPC3 value could not be evaluated because there is no good system for measuring it now.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1600,000	480,000	2080,000
2010 年度	1300,000	390,000	1690,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3400,000	1020,000	4420,000

研究分野：小児外科

科研費の分科・細目：

キーワード：glypican3、癌胎児抗原、胚細胞性腫瘍

1. 研究開始当初の背景

Glypican3 は新しく見出された癌胎児抗原であるが、これが肝細胞がんで高率に発現していることから肝細胞がんでの新しい腫瘍マーカーとあして有用ではないかという報告が出ていた。そこで小児悪性固形腫瘍における同抗原の発現を調べることにより小児腫瘍における新しい癌抗原、腫瘍マーカーの発

見につながる可能性を検討することを目的として本研究は開始された。

2. 研究の目的

小児固形腫瘍は進行が早く、早期発見・早期診断に役立つような信頼性のある腫瘍マーカーが望まれている。現在、小児固形腫瘍においては AFP や hCG 等の腫瘍マーカーが悪性成分

を含む所見とされているが、感受性、特異性ともまだ十分とは言えない。Glypican3 (GPC3)は近年主に成人の肝腫瘍などで研究が進められている腫瘍特異的抗原であり、精巣腫瘍や肝芽腫など一部の小児固形腫瘍における発現も報告されている。そこでGPC3について、各種小児固形腫瘍の組織において検索し、組織学的診断に有用なマーカーであるかを検討する。また、組織上で発現がみられる腫瘍においては血清中でのGPC3値の測定を行い、新しい腫瘍マーカーとして使用できるかどうかの検討を行う。

3. 研究の方法

最初に、1990年1月から2009年3月までに摘出・採取され当科で保管中の検体(腫瘍組織・血液検体)を用いてGPC3の発現を調べる。当科ホームページ上で本研究の目的及び概要を公開した上で、腫瘍組織を用いて、免疫染色によりGPC3発現を調べる。同時にHematoxylin-Eosin染色を行って組織学的にGPC3発現がどのような腫瘍細胞に見られるかを確認する。また肝芽腫や一部の胚細胞腫瘍のようなAFP陽性腫瘍においては、同時にAFP染色も行っており、GPC3との染色性を比較する。免疫組織染色においてGPC3発現が見られた腫瘍に対しては、採取した血清を用いて、すでに開発されたELISAシステムを用いてGPC3血中濃度を測定する。ここまでの研究において、GPC3発現が認められた腫瘍については、2009年4月以降に新たに診断された腫瘍に対して、文書にて説明し、同意を得た後、同様の手順で腫瘍組織・血液検体を用いてGPC3の発現を調べる。

4. 研究成果

(1) 対象：当科で経験した小児腫瘍92例についてまず組織におけるglypican3発現を検討した。腫瘍の内訳は、神経芽腫27例、腎芽腫7例、腎明細胞肉腫1例、横紋筋肉腫9例、胚細胞性腫瘍40例、肝芽腫8例。結果：神経芽腫では発現している症例は1例もなかった。腎芽腫では7例すべてが発現していた。また腎細胞肉腫でも発現がみられた。腎芽腫では組織型は、腎芽細胞型6例と、胎児横紋筋型1例であったが、いずれの腫瘍においても発言がみられ組織型による差はない可能性が示唆された。また発現細胞は、腎芽細胞と上皮系細胞が主で、間葉系細胞での発現は稀であった。発現頻度では、10-50%発現している腫瘍が5例、5-10%発現している腫瘍が3例で比較的多くの細胞が発現していると考えられた。横紋筋肉腫では9例中1例に発現が見られたがこの症例がかなり古い症例で診断に疑問があることから今後の検討が必要と判断

した。胚細胞性腫瘍では、5例の卵黄嚢腫瘍ではいずれも発現が見られた(そのうち2例は混合型腫瘍の卵黄嚢成分に発現が見られた)が、成熟奇形腫では発現は見られなかった。未熟奇形腫4例中3例で発現が見られた。肝芽腫ではすべての腫瘍で発現が見られた。

(2) 腫瘍患児の血中 glypican3 濃度の測定 当科にこれまでに保存されていた固形腫瘍患児の術前血清と、新規に採取した腫瘍患児の術前術後血清を測定対象として、市販の glypican3 測定 ELISA キットを用いて測定を行った。しかし、キットのロットが変わった際に測定値が大きくなるのが同じ検体での比較試験で判明したためこのキットの使用には問題があると判断、使用を中止した。現在ではこれに変わる市販測定キットは存在せず、国内共同研究者に測定を依頼するべく検討中である。

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 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

1、小高哲郎、金森豊、太田聡、他 当科における胚細胞性腫瘍40例の検討—癌胎児抗原 GPC3 及び AFP の発現を中心に— 第25回日本小児がん学会学術集会、東京、2009

2、小高哲郎、太田聡、金森豊、他 小児腫瘍における癌胎児抗原 glypican-3 (GPC3) の組織発現と術前後における血中濃度の測定の検討 第26回日本小児がん学会学術集会、大阪、2010

3、Kodaka T, Ohta S, Kanamori Y, et al Oncofetal protein glypican 3 as a biomarker of pediatric germ cell tumors: An immunohistochemical comparison with alpha-fetoprotein. XXIII International symposium on paediatric surgical research, Tokyo, 2010

4、Kodaka T, Ohta S, Kanamori Y, et al An oncofetal protein-Glypican 3- can be a tumor marker for pediatric renal tumors, including Wilms tumor and clear cell saecommas of the kidney, 42nd Congress of the International Society of Paediatric Oncology, Boston, 2010

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金森 豊 (KANAMORI YUTAKA)
独立行政法人国立成育医療研究センター・外科・医長
研究者番号：20221187

(2) 研究分担者

小高 哲郎 (KODAKA TETSURO)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80442961

太田 聡 (OTA SATOSHI)
東京大学・医学系研究科・講師
研究者番号：90324342

(3) 連携研究者