

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461606

研究課題名(和文)ケモカインの解析によるランゲルハンス細胞組織球症の病態解明

研究課題名(英文)Elucidation of the pathophysiology of Langerhans cell histiocytosis by chemokine analysis

研究代表者

森本 哲 (Morimoto, Akira)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：30326227

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：LCH群と対照群を比較すると血清中IL-9・IL-10・IL-15・MIFが、LCHのMS群とSS群ではM-CSF・CCL2が、MS型のリスク臓器浸潤(RO)陽性群とRO陰性群ではIL-18・オステオポンチン(OPN)が有意に高値であった。

OPNは未熟樹状細胞から破骨細胞様巨細胞への分化に必須因子であることが確認された。

OPNの遺伝子多型(rs9138、rs4754、rs11730582、rs1126772、rs1126616)のアレル頻度は、LCH患者48例と対照者、診断時年齢2歳未満と2歳以上、MS型とSS型、MS-RO(+)とMS-RO(-)の間で、いずれも有意な差はなかった。

研究成果の概要(英文)：The serum levels of IL-9, IL-10, IL-15 and MIF in patients with Langerhans cell histiocytosis (LCH) were significantly high compared to those in Control. The serum levels of M-CSF and CCL 2 in patients with multisystem (MS) type LCH were significantly high compared to those in patients with single-system (SS) type LCH, while the serum levels of IL-18 and osteopontin (OPN) in patients with risk organ involvement (RO) positive MS type LCH were significantly high compared to those in patients with RO negative MS type LCH.

OPN was revealed to be essential for differentiation from immature dendritic cells to osteoclast-like giant cells.

In 48 LCH patients, OPN gene polymorphisms (rs9138, rs4754, rs11730582, rs1126772, rs1126616) were analyzed. No significant difference was identified in allele frequencies of these sites between LCH patients and controls, patients diagnosed under 2-years-old and over 2-years-old, patients with MS type and SS type, patients with MS-RO (+) and MS-RO (-).

研究分野：小児血液学

キーワード：ランゲルハンス細胞組織球症 ケモカイン osteopontin 破骨細胞様巨細胞 遺伝子多型

## 1. 研究開始当初の背景

LCHは、骨髄由来のLCH細胞が様々な臓器に浸潤し、炎症を惹起し、組織破壊を起こす病態不明の疾患である。浸潤臓器によりMS型とSS型に分類されるが、両者の病像と予後は全く異なる。MS型は、主に1歳前後に発症し、化学療法が必須であり5-10%が死亡し、造血幹細胞移植が必要になる例もある。一方、SS型は、MS型に比し、発症年齢は高く、無治療で軽快する例もあり生存率はほぼ100%である。SS型が、MS型に進展することは極めて稀であることから、両者には異なる遺伝的背景が存在する可能性がある。

ケモカインとその受容体は、炎症のある局所に、免疫細胞を誘引し活性化するという重要な働きを担っている。近年、炎症性疾患、癌の増殖・転移に重要な役割を果たしていることが明らかとなり、治療標的として多くの臨床試験が進んでいる (Schall TJ. 2011)。またケモカインおよびケモカイン受容体の機能亢進型多型と疾患の重症度との関連が、クローン病、関節リウマチ等の炎症性疾患で明らかになってきた (Mackay CR. 2008)。

LCH病変部位では、主にLCH細胞とT細胞によって、CCL5、CCL17、CCL20、CCL22等のケモカインが産生され、CCR1、CCR6、CCR7等のケモカインレセプターも発現していることが報告され (Allen CE. 2010, Fleming MD. 2003, Anells NE. 2003)、LCH細胞とT細胞は相互刺激していると考えられる。しかしMS型とSS型を分けてケモカインを検討した報告はない。

これらのことから、MS型の病変では、CCL2、CXCL1、CXCL8、CXCL9等のケモカイン産生が、SS型に比べて有意に高く、炎症性ケモカインストームが生じ、それがMS型とSS型の臨床像の違いとなる、この発現の違いは、ケモカインの遺伝子多型によって規定されている、と仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

MS型ではSS型に比べ、病変部位でのケモカイン産生の亢進があり、ケモカインストームが生じ、これが多臓器への進展と予後不良に関連していること、その背景にこれらのタンパクをコードする遺伝子の多型が存在するという仮説を検証し、MS型LCHの治療にケモカイン阻害薬を導入するための基礎データを得る。

## 3. 研究の方法

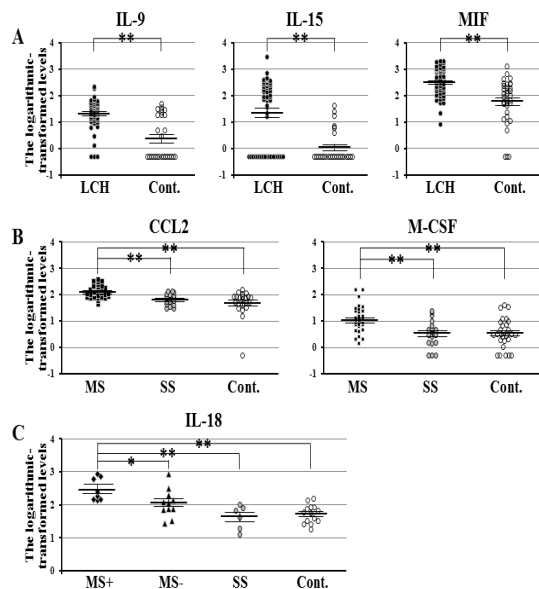
LCH患者血清中のケモカインの濃度を測定し、SS型に比しMS型で有意に上昇している炎症性ケモカインを同定する。

MS型で有意に上昇している炎症性ケモカインの遺伝子多型を調べ、MS型とSS型の間にアレル頻度に差があるかを検討する

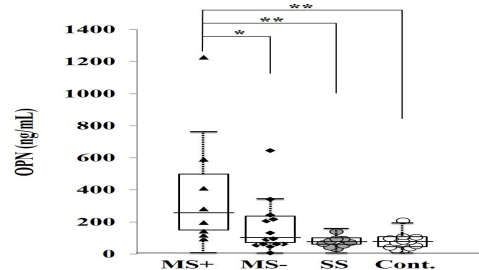
## 4. 研究成果

(1) 血清中サイトカイン/ケモカインを LCH

群と対照群を比較すると IL-9・IL-10・IL-15・MIF が、LCHのMS群とSS群を比較するとM-CSF・CCL2が、MS型のリスク臓器浸潤(RO)陽性群とRO陰性群を比較するとIL-18・オステオポンチン(OPN)が有意に高値であった。

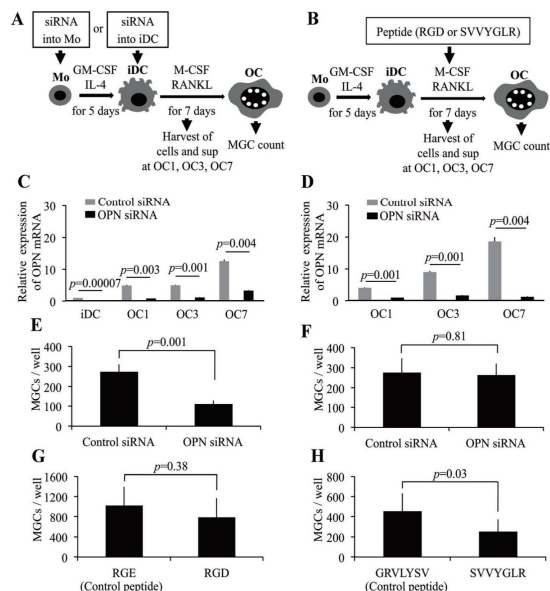


Morimoto A, et al. Cytokine. 2017 (in press)



Oh Y, et al. Cytokine. 2014

(2) OPNは未熟樹状細胞から破骨細胞様巨細胞への分化に必須であることが確認された。



Oh Y, et al. J Cell Biochem. 2014

(3) 48 例で OPN の遺伝子多型(rs9138, rs4754, rs11730582, rs1126772, rs1126616)を解析した。LCH 患者と対照者、診断時年齢 2 歳未満と 2 歳以上、MS 型と SS 型、MS-RO(+)と MS-RO(-)の間で、いずれもアレル頻度に有意な差はなかった。

## 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 18 件)

1. Morimoto A, Oh Y, Nakamura S, Shioda Y, Hayase T, Imamura T, Kudo K, Imashuku S. Inflammatory serum cytokines and chemokines increase associated with the disease extent in pediatric Langerhans cell histiocytosis. Cytokine 2017 (in press)
2. Imashuku S, Shioda Y, Morimoto A. CNS-directed Prophylactic Approach to Langerhans Cell Histiocytosis. J Pediatr Hematol Oncol. 2017; 39: 321-322.
3. Morimoto A, Shioda Y, Imamura T, Kudo K, Kawaguchi H, Sakashita K, Yasui M, Koga Y, Kobayashi R, Ishii E, Fujimoto J, Horibe K, Bessho F, Tsunematsu Y, Imashuku S. Intensified and prolonged therapy comprising cytarabine, vincristine and prednisolone improves outcome in patients with multisystem Langerhans cell histiocytosis: results of the Japan Langerhans Cell Histiocytosis Study Group-02 Protocol Study. Int J Hematol. 2016; 104: 99-109.
4. Imashuku S, Fujita N, Shioda Y, Noma H, Seto S, Minato T, Sakashita K, Ito N, Kobayashi R, Morimoto A. Follow-up of pediatric patients treated by IVIG for Langerhans cell histiocytosis (LCH)-related neurodegenerative CNS disease. Int J Hematol. 2015; 101: 191-197.
5. Murakami I, Oh Y, Morimoto A, Sano H, Kanzaki S, Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Kato M, Nagata K, Hayashi K, Imashuku S, Gogusev J, Jaubert F, Oka T, Yoshino T. Acute-phase ITIH4 levels distinguish multi-system from single-system Langerhans cell histiocytosis via plasma peptidomics. Clin Proteomics. 2015; 12: 16.
6. Murakami I, Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Kato M, Nagata K, Horie Y, Hayashi K, Imamura T, Morimoto A, Imashuku S, Gogusev J, Jaubert F, Takata K, Oka T, Yoshino T. Interleukin-1 loop model for pathogenesis of Langerhans cell histiocytosis. Cell Commun Signal. 2015; 13: 13.
7. Yokokawa Y, Taki T, Chinen Y, Kobayashi S, Nagoshi H, Akiyama M, Morimoto A, Ida H, Taniwaki M. Unique Clonal Relationship Between T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia and Subsequent Langerhans Cell Histiocytosis with TCR Rearrangement and NOTCH1 Mutation. Genes Chromosomes Cancer. 2015; 54: 409-417.
8. Morimoto A, Oh Y, Shioda Y, Kudo K, Imamura T. Recent advances in Langerhans Cell Histiocytosis. Pediatr Int. 2014; 56: 451-461.
9. Murakami I, Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Kato M, Horie Y, Hayashi K, Imamura T, Morimoto A, Imashuku S, Gogusev J, Jaubert F, Takata K, Oka T, Yoshino T. Merkel cell polyomavirus DNA sequences in peripheral blood and tissues from patients with Langerhans cell histiocytosis. Hum Pathol. 2014; 45: 119-126.
10. Oh Y, Oh I, Morimoto J, Uede T, Morimoto A. Osteopontin has a crucial role in osteoclast-like multinucleated giant cell formation. J Cell Biochem. 2014; 115: 585-595.
11. Oh Y, Morimoto A, Shioda Y, Imamura T, Kudo K, Imashuku S. High serum osteopontin levels in pediatric patients with high risk Langerhans cell histiocytosis. Cytokine. 2014; 70: 194-197.
12. Imashuku S, Shimazaki C, Tojo A, Imamura T, Morimoto A. Management of adult Langerhans cell histiocytosis based on the characteristic clinical features. World J Hematol 2013; 2: 89-98.
13. 森本 哲, 翁 由紀子, 川原勇太, 早瀬 朋美. ランゲルハンス細胞組織球症. 小児内科 2016; 48 増刊 小児疾患診療のための病態生理 3 改訂 5 版: 974-978.
14. 森本 哲, 川原勇太, 早瀬 朋美, 翁 由紀子. ランゲルハンス細胞組織球症. 日本臨牀 2016; 別冊 新領域別症候群シリーズ No 35 免疫症候群 (第 2 版) II - その他の免疫疾患を含めて - : 782-786.
15. 島田 茉莉, 西野 宏, 今田 浩生, 森本 哲. 症例をどうみるか 右頬部腫瘍を主訴としたランゲルハンス細胞組織球症の 1 症例. JOHNS 2015; 31: 815-819.
16. 翁 由紀子, 森本 哲. ランゲルハンス細胞組織球症. 小児外科 2013; 45: 1135-1138.
17. 森本 哲. ランゲルハンス細胞組織球症. 小児科 2014; 55: 1769-1774.
18. 森本 哲, 塩田曜子, 工藤寿子, 今村俊彦. ランゲルハンス細胞組織球症. に対する化学療法の適応と有効性. 血液内科 2015; 71: 535-541

〔学会発表〕(計 10 件)

1. Morimoto A, Shioda Y, Imamura T, Tsunematsu Y, Imashuku S. The association between organ involvements and survival in children with Langerhans cell histiocytosis; the results of JLSG-96/02 study. 32th Annual Meeting of the Histiocyte Society. Dublin, Ireland, 2016.
2. Murakami I, Nakashima J, Hashida Y, Daibata M, Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Kato M, Nagata K, Hayashi K, Oka T, Yoshino T, Imamura T, Morimoto A, Imashuku S, Gogusev J, Jaubert F. Ecology of Merkel cell polyomavirus in healthy skin shows a close agreement with interleukin-1 loop model in Langerhans cell histiocytosis. 32th Annual Meeting of the Histiocyte Society. Dublin, Ireland, 2016.
3. Morimoto A, Shioda Y, Imamura T, Kudo K, Ishii E, Horibe K, Bessho F, Tsunematsu Y, Imashuku S. Intensified and prolonged therapy did not improve the outcome in Langerhans cell histiocytosis with single-system multifocal bone lesions; Results of JLSG-02 protocol study. 31th Annual Meeting of the Histiocyte Society. Athens Greece, 2015.
4. Shioda Y, Tanaka R, Fujita N, Noma H, Seto S, Minato T, Sakashita K, Ito N, Kobayashi R, Imamura T, Morimoto A, Imashuku S. Long-term (>3 years) IVIG treatment in an attempt to prevent the progression of CNS neurodegenerative disease in patients with LCH. 31th Annual Meeting of the Histiocyte Society. Athens Greece, 2015.
5. Morimoto A, Oh Y, Shioda Y, Imamura T, Kudo K, Imashuku S. Analysis of serum osteopontin levels in pediatric patients with Langerhans cell histiocytosis. 29th Annual Meeting of the Histiocyte Society. Washington USA, 2013.
7. Shioda Y, Morimoto A, Imamura T, Kudo K, Imashuku S. Analysis of permanent consequences in pediatric patients with Langerhans cell histiocytosis: data of the JLSG-96 and JLSG-02 studies in Japan. 29th Annual Meeting of the Histiocyte Society. Washington USA, 2013.
8. 森本 哲. 組織球症の病態解明の進歩. 第 57 回日本小児血液・がん学会学術集会, 山梨, 2015.
9. Oh Y, Morimoto A, Shioda Y, Imamura T, Kudo K, Imashuku S. High serum osteopontin levels in pediatric patients of Langerhans cell histiocytosis with risk organ involvement. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会, 福岡, 2013.

10. Shioda Y, Morimoto A, Imamura T, Kudo K, Ishii E, Fujimoto J, Horibe K, Bessho F, Tsunematsu Y, Imashuku S. Analysis of permanent consequences in pediatric patients with Langerhans cell histiocytosis: Data of the JLSG-96 and JLSG-02 studies in Japan. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会, 福岡, 2013.

〔図書〕(計 5 件)

1. 森本 哲. ランゲルハンス細胞組織球症. 日本小児科学会 (監), 小児慢性特定疾病診断の手引き, 東京, 診断と治療社, 2016: pp47-48
2. 森本 哲, 塩田曜子. ランゲルハンス細胞組織球症. 日本小児血液・がん学会(編), 小児白血病・リンパ腫診療ガイドライン (2016 年版), 東京, 金原出版, 2016: pp 111-120.
3. 森本 哲. Langerhans 細胞組織球症. 永井良三 (監), 血液科研修ノート, 東京, 診断と治療社, 2016: pp 451-453.
4. 森本 哲. ランゲルハンス細胞組織球症. 金澤 一郎 / 永井 良三 (編), 今日の診断指針 (第 7 版), 東京, 医学書院, 2015: p1932-1933
5. 森本 哲. 組織球症 ランゲルハンス細胞組織球症. 日本小児血液・がん学会(編), 小児血液・腫瘍学, 東京, 診断と治療社, 2015: p507-510

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

森本 哲 (MORIMOTO, Akira)  
自治医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 30326227

### (2) 研究分担者

川原勇太 (KAWAHARA, Yuta)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 10570385

塩田曜子 (SHIODA, Yoko)  
国立成育医療研究センター・小児がんセンター・医員  
研究者番号: 30307532

早瀬朋美 (HAYASE, Tomomi)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 50433587

新島(松本) 瞳 (NIIJIMA, Hitomi)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 70598937

八木正樹 (YAGI, Masaki)  
自治医科大学・医学部・臨床助教  
研究者番号: 60570398  
(平成 26 年度まで)

翁 由紀子 (OH, Yukiko)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号： 30438650  
(平成 27 年度より)