

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860894

研究課題名(和文)ランゲルハンス細胞組織球症の病態解明と選択的治療へ向けた基礎的研究

研究課題名(英文)Study of pathophysiology and new treatment approach in Langerhans cell histiocytosis

研究代表者

本田 裕子 (HONDA, Yuko)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：10566409

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,100,000円

研究成果の概要(和文)：ランゲルハンス細胞組織球症(LCH)の骨病変発症の機序は依然不明であるが、骨病変を有するLCH患者では炎症性サイトカインが有意に高値であり、これらが骨芽細胞や間質細胞に働きreceptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL)発現を介して骨融解を促していると推測される。一方、RANKL/RANK系の遺伝子変異により骨病変を引き起こす先天性疾患があり、今回、骨病変を有するLCH患者に既知のRANKL/RANK系の遺伝子変異が認められるかどうかを検討した。寛解期においてはいずれの異常も認めなかったが、症例数が少なく、今後も検討を重ねる必要がある。

研究成果の概要(英文)：The expression of the receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL)/RANK/osteoprotegerin (OPG) system plays an important role in osteolytic lesion cases in patients who have a Langerhans cell histiocytosis. Here, we evaluated the gene mutations related to the congenital bone disease in children with LCH. In the result, we didn't find any mutations in these patients who had entered remission, however the number of patients were small, so further investigation is needed.

研究分野：小児血液腫瘍

キーワード：ランゲルハンス細胞組織球症 骨病変 RANKL RANK

1. 研究開始当初の背景

ランゲルハンス細胞組織球症 (LCH) は CD1a 陽性ランゲルハンス細胞の腫瘍性増殖性疾患で未だ病因不明であり、約 80% の症例で溶骨性骨病変を合併する。現在、多剤併用化学療法によりその生命予後は改善されたものの、約 30% の症例で再燃し、そのほとんどが骨病変である。骨病変を頻回再発するような難治性 LCH に対する有効な治療法はなく、LCH 治療の大きな課題である。

これまでの研究で、骨病変を有する患者では骨融解に作用する強力な炎症性サイトカインである IL-6、TNF が有意に高値であり、IL-6、TNF が骨芽細胞や間質細胞に働き、receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL) / RANK / osteoprotegerin (OPG) システムを介して骨融解を促していることが推測されているが、そのメカニズムはまだ明らかになっていない。

2. 研究の目的

LCH は骨髄を起源とする抗原提示細胞である CD1a 陽性ランゲルハンス細胞の腫瘍性増殖と考えられているが、未だ病因不明の増殖性疾患であり、約 80% の症例で溶骨性骨病変を合併する。集学的な多剤併用化学療法の結果により生命予後は改善されたものの、約 30% の症例で再燃し、そのほとんどが骨病変である。骨病変を頻回に再発する難治症例に対する有効な治療法の開発は LCH 治療の大きな課題の一つである。

これまでに RANKL/RANK 系の先天的な遺伝子変異により骨吸収や骨形成の均衡に異常をきたし、結果的に骨組織が病的状態に至る疾患として家族性広汎性骨融解症や広汎性骨格性高フォスファターゼ症、早期発症骨パジェット病、大理石病などがある。これらの疾患は遺伝子変異により RANK の恒常的活性化が生じ、骨融解が生じる。LCH 患者においても RANKL 発現が亢進していることがこれまでの研究で分かっているが、そのメカニズムはわかっておらず、これらの先天性骨疾患で認められる遺伝子異常を調べることで骨融解機序の発生メカニズムの解明につながると予想される。

また、本研究で明らかにされる LCH における RANKL/RANK system の意義と理解は骨病変のみならず、腫瘍発生のメカニズムの解明につながるとともに、将来的には再燃しやすい患者の選別に使用できる可能性がある。また、難治性骨病変を有する LCH 患者に対する選択的治療としての抗 RANKL 抗体療法の臨床治療試験へのステップアップとなることが期待される。

3. 研究の方法

LCH 患者の初診時、寛解時、再燃時の末梢血単核球および初診時の病理組織標本を用いて、RANKL 発現能、破骨細胞分化能、細胞内転写因子シグナルの解析を行い、頻回再発

例と再燃無し例とを比較する。また、医療上必要となる採血時に合わせて 2-5ml の採血を行い、末梢血から DNA を調整し、変異や欠損が疑われる遺伝子の各エクソンについて、直接シーケンス法を用いて既知の一塩基置換や欠損などの微小な遺伝子変異を同定する。

4. 研究成果

組織学的に LCH と診断され、2013 年 4 月から 2015 年 12 月までに当院に通院もしくは入院中の患者は計 8 例であった。なお、研究期間中の新規 LCH 患者は症例 1 の乳児例であったが、骨病変は合併していなかった。

LCH 発症時

症例	年齢	骨病変	他病変	治療
1	2M	なし	肺・皮膚	化学療法
2	1Y	大腿骨	なし	化学療法
3	3Y	腰椎・肋骨	なし	化学療法 BPs
4	6Y	側頭骨	なし	化学療法
5	7Y	胸椎	なし	化学療法
6	9Y	側頭骨	なし	化学療法
7	9Y	肋骨・頭蓋骨	なし	化学療法
8	14Y	頭蓋骨	なし	なし

今回、遺伝子検査を行った症例は 8 例であった。8 例中 7 例は初回化学療法で速やかに寛解に至っており、以後寛解を維持していた。また、残りの一例も骨病変単独であり、無治療で自然に病変は消失した。そのため、採取できた血清はすべて寛解時のものであった。

測定した遺伝子は下記の 3 種類でいずれも先天性の骨疾患の原因遺伝子として報告されているものである。

測定遺伝子

- ・ RANK 遺伝子 (遺伝子名 TNFRSF11B)

RANK の変異は、すべてシグナルペプチド (SP) 部分に認められており、これらの変異は RANK の恒常的活性化を誘導すると考えられている。家族性パジェット病、家族性広汎性骨溶解症、家族性広汎性骨性高フォスファターゼ血症の原因遺伝子と考えられている。

- ・ OPG 遺伝子 (遺伝子名 TNFRSF11B)

若年性骨パジェット病の原因遺伝子であり、OPG の欠損あるいは機能不全の OPG が発現することにより骨吸収が亢進した結果、骨形成も亢進すると考えられている。

- ・ RANKL 遺伝子 (遺伝子名 TNFSF11)

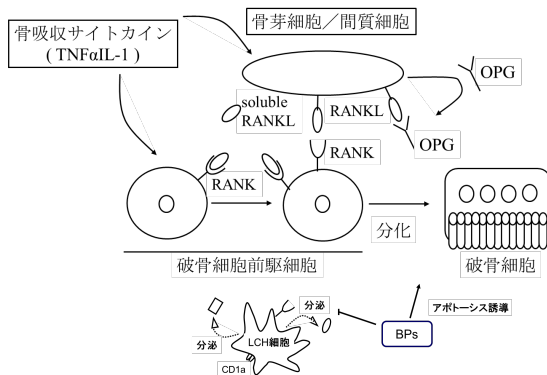
ヒト大理石骨病の原因遺伝子である。RANKL 遺伝子変異により破骨細胞が機能不全に陥り、大理石骨病が発症する。

検体採取時

症例	年齢	骨病変	他病変	治療
1	7M	なし	なし	なし
2	3Y	なし	なし	なし
3	12Y	なし	なし	なし
4	10Y	なし	なし	なし
5	10Y	なし	なし	なし
6	11Y	なし	なし	なし
7	16Y	なし	なし	なし
8	16Y	なし	なし	なし

それぞれの遺伝子変異について、直接シーケンシング法により測定したが、寛解期の検体ではいずれの遺伝子変異も認められなかった。

症例3に関しては、初回化学療法後に骨に再燃した。再燃後の治療としてビスフォスフォネート (BPs) を使用し、著効した。その後8年間再燃を認めていない。



日本小児血液学会雑誌 2005;19,187 一部改編

LCH 患者由来末梢血単核球の破骨細胞形成能は通常亢進しているが、この形成亢進はBPs 投与で抑制され、その投与前後で破骨細胞形成能の低下と溶骨性病変の改善が確認できたことを以前報告した。しかし、そのメカニズムについては、明らかになっていない。今回の研究期間中にはBPs を使用した例は認めず、新たな知見は得られなかった。

症例1に関しては皮膚・肺に病変を認めた多臓器型であった。皮膚生検でLCH と診断し、多剤併用化学療法を開始したが、後に疥癬の感染が判明した。発症初期から疥癬に罹患していたのか、それとも治療期間中に新たに疥癬に罹患したのかを判定するために、皮膚生検を再度検討したところ、角層に虫体、排泄物、疥癬トンネルを認め、はじめから疥癬が存在していたと判断した。追加で免疫染色を行ったところ、Langerin(CD207) 陰性、CD30 陽性の結果であった。

LCH の皮膚病変と乳児疥癬は臨床所見、皮膚組織診が類似している点が多く、LCH を疑った際には疥癬を念頭に置き、ダーモスコピーや角質層の直接顕鏡を積極的に行うことが必要である。また、皮膚組織診では両者

の鑑別としてCD30 染色、Langerin(CD207)染色が有用である可能性があることが示唆された。そのため、今後新規発症例のLCH 症例に関してはCD30 染色を追加し、LCH と疥癬との鑑別に有効であるかを検討することを計画している。

LCH は希少疾患で、年間の発症率は60-70例である。LCH は、局所と全身性の大量のサイトカイン分泌を伴う炎症と腫瘍性の両者の特徴を示す疾患であり、その研究には活動期の検体が不可欠である。しかし、希少疾患であることから単施設での解析には限界があり、今回の研究期間中には新しい知見は得られなかった。しかし、成人領域ではLCH 病変組織においてRANKL が高発現しており、RANKL 阻害剤が有効である可能性が報告された(Makras P, et al. J Clin Endocrinol Metab. 2015 Feb;100(2):282-6.)

今後も引き続き、活動性LCH 患者の検体を蓄積し、骨病変の発症メカニズム、新規治療の開発につながる研究を継続する予定である。

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4件)

本田裕子、若年性骨髄単球性白血病(JMML)の急性転化、血液内科、査読無、Vol.70、No.3、2015、pp.397-40

Inagaki J, Moritake H, Nishikawa T, Hyakuna N, Okada M, Suenobu SI, Nagai K, Honda Y, Shimomura M, Fukano R, Noguchi M, Kurauchi K, Tanioka S, Okamura J. 査読有, Long-Term Morbidity and Mortality in Children with Chronic Graft-versus-Host Disease Classified by National Institutes of Health Consensus Criteria after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2015 Nov;21(11):1973-80

Yano M, Imamura T, Asai D, Kiyokawa N, Nakabayashi K, Matsumoto K, Deguchi T, Hashii Y, Honda Y, Hasegawa D, Sasahara Y, Ishii M, Kosaka Y, Kato K, Shima M, Hori H, Yumura-Yagi K, Hara J, Oda M, Horibe K, Ichikawa H, Sato A. 査読有. Identification of novel kinase fusion transcripts in paediatric B cell precursor acute lymphoblastic leukaemia with IKZF1 deletion. Br J Haematol. 2015 Dec;171(5):813-7

Yuko Honda, Masahiro Tsuchida, Yuji Zaike, Atsuko Masunaga, Ayami Yoshimi,

Seiji Kojima, Masafumi Ito, Akira Kikuchi, Tatsutoshi Nakahata, Atsushi Manabe. 査読有. Clinical characteristics of 15 children with juvenile myelomonocytic leukemia who developed blast crisis: MDS Committee of Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology (JSPHO), Br J Haematol. 2014 Jun;165(5):682-7.

〔学会発表〕(計4件)

五十嵐亮太、本田裕子、吉田卓也、白山理恵、楠原浩一・疥癬を合併した乳児期発症多臓器型ランゲルハンス細胞組織球症(LCH)の1例・第484回日本小児科学会福岡地方会、2015年4月11日、福岡メディカルホール(福岡県・福岡市)

五十嵐亮太、本田裕子、吉田拓矢、白山理恵、佐藤哲司・楠原浩一・疥癬を合併した乳児期発症多臓器型LCHの1例・第118回日本小児科学会学術集会、2015年4月17日~4月19日、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

本田裕子、白山理恵、樋口尚子、守田弘美、佐藤哲司、楠原浩一・Three Pediatric Cases of Erythroid Leukemia・第77回日本血液学会、2015年10月16日~18日、石川県立音楽堂(石川県・金沢市)

本田裕子、白山理恵、樋口尚子、守田弘美、佐藤哲司、楠原浩一・小児視神経膠腫に対する治療と予後 -Retrospective analysis of 8 patients with optic pathway/hypothalamic astrocytoma at a single institution-・第57回日本小児血液がん学会、2015年11月27日~29日、甲府富士屋ホテル(山梨県・甲府市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本田裕子 (HONDA Yuko)
産業医科大学・医学部・助教
研究者番号：10566409