

平成 30 年 10 月 5 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26461601

研究課題名(和文) 神経芽細胞腫における NIPA 蛋白と MYCN 蛋白の相互作用についての研究

研究課題名(英文) Relationship between NIPA and MYCN

研究代表者

川口 裕之 (KAWAGUCHI, HIROYUKI)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・小児科学・准教授)

研究者番号：00313130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000 円

研究成果の概要(和文)：現時点で NIPA (ZC3HC1) 蛋白と MYCN 蛋白の間に機能的な関連を見出すことはできなかった。神経芽細胞腫の細胞株は NIPA の発現抑制に伴う増殖態度により増殖抑制群 (A群; SK-N-DZ, CHP-212, GOTO, SK-N-MC) と非増殖抑制群 (B群; SK-N-AS, KELLY, TGW, IMR-32, NB-39nu) に分けることができる。しかしそれぞれの群に共通した生物学的特性を特定することができなかった。NIPA の発現抑制により有意な発現の変動を示す遺伝子を 49 個同定したが、これらが神経芽細胞腫の発症に寄与することを証明することはできなかった。

研究成果の概要(英文)：No functional relevance between NIPA (ZC3HC1) protein and MYCN protein could be proved. Neuroblastoma cell lines could be divided into two groups: ones which show suppressed proliferation by silencing NIPA (group A; SK-N-DZ, CHP-212, GOTO, SK-N-MC), and ones which do not (group B; SK-N-AS, KELLY, TGW, IMR-32, NB-39nu). No common biological feature in these two groups could not be specified. Although 49 genes that show upregulation or down regulation with silencing were identified, no significant impact on pathogenesis of neuroblastoma could not identified.

研究分野：小児腫瘍学

キーワード：neuroblastoma NIPA (ZC3HC1) MYCN

### 1. 研究開始当初の背景

神経芽細胞腫は小児期の代表的な固形腫瘍であり、近年急速に病態生理が明らかにされているが、まだ未知の要素が非常に多い。

### 2. 研究の目的

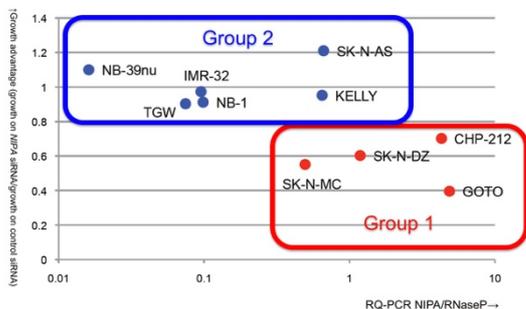
MYCN 増幅は神経芽細胞腫の予後不良因子である。C-MYC と MYCN は相同性が高く、NIPA (nuclear interaction partner of ALK) 蛋白は C-MYC による腫瘍細胞増殖に不可欠な機能を果たしているというデータが既に得られている。本研究では、NIPA 蛋白と MYCN 蛋白の相互作用について解析することで、神経芽細胞腫の病態生理についての新しい知見と、将来的な治療への応用のための基礎データを得ることを目的とする。

### 3. 研究の方法

- (1) 神経芽細胞腫細胞の増殖における NIPA の発現の寄与を評価する目的で、神経芽細胞腫細胞株について遺伝子操作により制御し、これによる増殖の程度・細胞死の様式・分化の有無などの表現型の変化を観察する
- (2) NIPA 蛋白と MYCN 蛋白の相互作用を検討する。複合体を形成する場合は結合部位を特定し、さらにそれぞれの欠失により細胞増殖の程度など表現型の変化を評価する
- (3) 以上で得られた知見を臨床検体において確認する

### 4. 研究成果

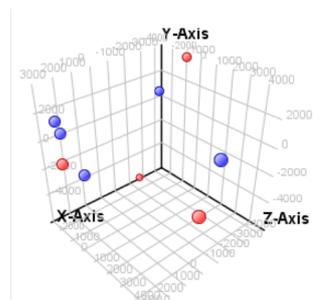
- (1) 現時点で NIPA (ZC3HC1) 蛋白と MYCN 蛋白の間に機能的な関連を見出すことはできなかった。



【NIPA expression and growth inhibition by NIPA silencing】

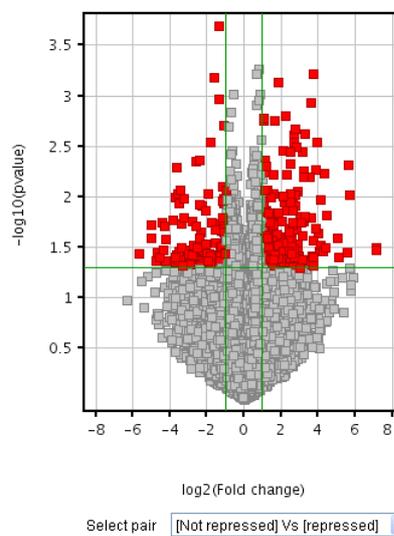
- (2) 神経芽細胞腫の細胞株は NIPA の発現抑制に伴う増殖態度により増殖抑制群

(A 群; SK-N-DZ, CHP-212, GOTO, SK-N-MC)と非増殖抑制群 (B 群; SK-N-AS, KELLY, TGW, IMR-32, NB-39nu) に分けることができる。しかしそれぞれの群に共通した生物学的特性を特定することができなかった。



【Principal component analysis on gene expression of group A and group B neuroblastoma cell lines】

- (3) NIPA の発現抑制により有意な発現の変動を示す遺伝子を 49 個同定したが、これらが神経芽細胞腫の発症に寄与することを証明することはできなかった。



【Volcano Plot on gene expression change with NIPA silencing】

Genes which showed more than two fold upregulating with NIPA silencing	Genes which showed more than two fold downregulating with NIPA silencing
CPE, GPR37, PLAC4, GCFC1-AS1, HLF, N4BP2L2, CACNA2D4, TPTE2P5, F10, CCDC169-SOHLH2//SOHLH2, WISP1, LOC728730, PLCL1, TRPM6, ELAVL4,	ATP1A2, CLSTN2, PERP, PSD4, FAM162A, HAP1, SERPINB7, FAM162A, ILDR2, ASPH, FAM162A, C14orf23, QKI, AK4//LOC100507855, PADI2, DDHD2, LMCD1,

RIT1, SLC22A1, STMN4, MAP4, KBTBD12, AQP4, MIR7-3HG, NEDD4L, FBXL21, ARAP2, ITGA1, RBMS3, LINC00424	CNPY1, MT1F, LOC100505573, GOLGA6L1//GOLGA6L6// LOC440243
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------

【Genes showing significant expression change with  
NIPA silencing】

## 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 17 件)

Rumi Taniguchi, Noritaka Furuya Hajime Nishimoto, Masaru Takamizawa, Hiroyuki Kawaguchi: Hemoglobin Seattle detection based on low capillary oxygen saturation: First reported case in Japan, *Pediatr Int.* 2018; 60(4):389-390. 査読有、オープンアクセス無  
doi: 10.1111/ped.

Kawaguchi H, Tamura Y, Suzuki S, Asano-Murakoshi T, Nonoyama S: Cytomegalovirus infection- and dasatinib-induced proteinuria in Ph+ALL. *Pediatr Int.* 2017; 59(6):740-741. 査読有、オープンアクセス無  
doi: 10.1111/ped.13251

Kobayashi K, Isobe K, Hanada R, Kawaguchi H, Iwata T, Kawamura M: CD66c (KOR-SA3544) antigen expression of leukemic blasts in pediatric acute myeloid leukemia with *TLS/FUS-ERG* fusion transcript, *Int J Lab Hematol Leuk Lymphoma*, 2017; 9(6): e147-e150. 査読有、オープンアクセス無  
doi: 10.1111/ijlh.12714.

Mitsui-Sekinaka K, Sekinaka Y, Ogura Y, Honda M, Ohyama R, Oyama C, Isobe K, Mori M, Arakawa Y, Koh K, Hanada R, Nonoyama S, Kawaguchi H: A pediatric case of acute megakaryocytic leukemia with double chimeric transcripts of CBFA2T3-GLIS2 and DHH-RHEBL1, *Leuk Lymphoma*. 2018; 59(6):1511-1513. 査読有、オープンアクセス無  
doi: 10.1080/10428194.

Kobayashi K, Yoshioka T, Miyauchi J, Nakazawa A, Kiyokawa N, Maihara T, Usami I: Role of monocyte chemoattractant protein-1 in liver fibrosis with transient myeloproliferative disorder in Down syndrome. *Hepatology Communications* 2018; 2:230-236、査読有、オープンアクセス有  
DOI: 10.1002/hep4.1150

Kobayashi K, Yoshioka T, Miyauchi J,

Nakazawa A, Yamazaki S, Ono H, Tatsuno M, Iijima K, Takahashi C, Okada Y, Teranishi K, Matsunaga T, Matsushima C, Inagaki M, Suehiro M, Suehiro S, Nishitani M, Kubota H, Iio J, Nishida Y, Katayama T, Takada N, Watanabe K, Yamamoto T, Yasumizu R, Matsuoka K, Ohki K, Kiyokawa N, Maihara T, Usami I: Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) as a potential therapeutic target and a noninvasive biomarker of liver fibrosis associated with transient myeloproliferative disorder in Down syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2017; 39: e285-e289、査読有、オープンアクセス有

DOI: 10.1097/MPH.0000000000000809

宮内 潤: ダウン症候群関連骨髄増殖性疾患と造血微小環境. 東京歯科大学会誌 2017; 117: 93-103、査読有、オープンアクセス無、  
DOI: なし

Miyauchi J, Yoshida F, Akatsuka S, Nakano M: Juvenile fibroadenoma with features of phyllodes tumor showing intraductal growth and prominent epithelial hyperplasia in an 11-year-old girl. *Human Pathology: Case Reports*, 2016; 4:18-22、査読有、オープンアクセス有  
DOI: org/10.1016/j.ehpc.2015.07.001

Hoshimoto S, Matsui J, Miyata R, Takigawa Y, Miyauchi J: Anaplastic carcinoma of the pancreas: Case report and literature review of reported cases in Japan. *World J Gastroenterol*, 2016; 22:8631-8637、査読有  
DOI: 10.3748/wjg.v22.i38.8631

Baba A, Yamazoe S, Dogru M, Ogawa M, Takamatsu K, Miyauchi J: Clear cell adenocarcinoma arising from adenomyotic cyst: a case report and literature review. *J Obstet Gynecol Res*, 2016; 42:217-223、査読有  
DOI: なし

Miyauchi J: (Editorial) Pediatric leukemia and hematopoietic microenvironment: Is spontaneous remission due to extrinsic or intrinsic mechanism? *Austin J Pathol Lab Med*, 2015; 2:1013, 2015、査読無  
DOI: なし

Kishikawa H, Kimura K, Ito A, Asahata K, Takarabe S, Kaida S, Miyauchi J, Miura S,

Nishida J: Predictors of gastric neoplasia in cases negative for Helicobacter pylori antibody and with normal pepsinogen. *Anticancer Res* 2015; 35:6765-6772、査読有  
DOI: なし PMID: 26637894

Nomura Y, Miyauchi J, Ota E, Yanai F, Miyashita T, Terui K, Ito E, Hirose S: Transient abnormal myelopoiesis of extremely immature infant followed by blast cell resurgence two months later: a case study. *Jap J Pediatr Hematol/Oncol*, 2015; 52:36-39、査読有  
DOI:なし

Kobayashi Y, Miyoshi T, Matsuyama T, Miyauchi J, Miyashita T, Ishibashi-Ueda H, Yoshimatsu J: Mirror syndrome associated with fetal transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome. *Pathol Int* ; 2015; 65: 443-445、査読有  
DOI: 10.1111/pin.12291

佐藤一道、中島 庸也、宮内 潤、野村 武史: 歯科医師が関わるチーム医療・多職種連携: 7. いびき無呼吸専門外来(カラーアトラス). 歯科学報, 2017; 117:25-26、査読有

浅原史卓、宮内 潤、橋本和彦:根治的切除が可能であった横行結腸 MANEC の1例. 日本大腸肛門病学会雑誌 2016; 69:436-440、査読有、  
DOI: なし

宮内 潤:若年性骨髄単球性白血病. 臨床検査 2015; 59: 990-997、査読無  
DOI: なし

[学会発表](計 件)

川口 裕之, 小倉 友美, 關中 佳奈子, 關中 悠仁, 野々山 恵章: ハイドロキシウレアにより良好にコントロールされている鎌状赤血球症の14歳女児. 第120回日本小児科学会学術集会 (2017年4月, 東京)

嶋 晴子、伊藤 淳平、一色 恭平、關中 悠仁、山崎 文登、小倉 友美、川口 裕之、嶋田 博之. 非定型 CML に対する臍帯血移植後のステロイド抵抗性腸管 GVHD に対し、経口ベクロメタゾンとヒト骨髄由来間葉系幹細胞が有効であった男児例. 第39回日本造血細胞移植学会総会 (2017年3月, 出雲市)

板橋 寿和, 康 勝好, 大澤 一郎, 本田護,

川上 領太, 柳 将人, 佐々木 康二, 渡邊 健太郎, 青木 孝浩, 磯部 清孝, 森 麻希子, 荒川 ゆうき, 川口 裕之, 花田 良二. 小児再発難治性急性骨髄性白血病に対する分割ゲムツズマブオゾガマイシン投与の有効性と安全性. 第58回小児血液・がん学会 (2016年12月, 東京)

小倉 友美, 川口 裕之, 關中 佳奈子, 本田護, 關中 悠人, 磯部 清孝, 小山 千草, 荒川 ゆうき, 康 勝好, 野々山 恵章. デジタルPCRによるMRD解析を行った急性骨髄性白血病の2例. 第119回日本小児科学会学術集会 (2016年5月, 札幌)

Kanako Sekinaka, Yujin Sekinaka, Yumi Ogura, Mamoru Honda, Junya Take, Shigeaki Nonoyama, Hiroyuki Kawaguchi. Antitumorigenic effects of azacitidine via up-regulation of *CDHI* transcription in childhood AML, 第78回日本血液学会学術集会 (2016年10月, 横浜市)

關中悠仁、關中-三井 佳奈子、川口 裕之. 小児 aCML 症例の分子生物学的検討. 第75回日本癌学会学術総会, (2016年10月, 横浜)

川口 裕之、小倉 友美、關中 悠仁、三井-關中 佳奈子、野々山 恵章、宮内 潤. NIPA (Nuclear interacting partner gene with ALK) の転写抑制による小児固形腫瘍細胞株の増殖態度の変化の検討. 第57回小児血液・がん学会 (2015年11月, 甲府市)

關中 佳奈子、原 勇介、川口 裕之、關中 悠仁、小倉 友美、小山 千草、荒川 ゆうき、康 勝好、林 泰秀、野々山 恵章. デジタル PCR による MRD 解析を行った *CBFA2T3-GLIS2/DHH-THEB1* 陽性 AMkL の1例. 第57回小児血液・がん学会 (2015年11月, 甲府市)

關中悠仁、川口 裕之、本田護、關中-三井 佳奈子、小倉 友美、宮内潤、野々山 恵章. 経過中にヘモグロビン F 上昇を認めた ML-DS の2症例. 第57回小児血液・がん学会 (2015年11月, 甲府市)

小倉 友美、川口 裕之、關中 悠仁、關中 佳奈子、野々山 恵章. 次世代シーケンサーを用いた血小板異常症の迅速遺伝子診断法の確立. 第57回小児血液・がん学会 (2015年11月, 甲府市)

Nio Yano, Toshihiko Imamura, Kentarou Ohki, Daosuke Asai, Takao Deguchi, Tyoshiko Hashii, Hironobu Takahashi, Rie Kanai, Shuhei Yajima, Yoshiyuki Kosaka, Hiroyuki Kawaguchi, Atsushi Kikuta, Atsuhiko Sato. Intragenic

amplification of PAX5 in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. 第57回小児血液・がん学会(2015年11月, 甲府市)

宮内 潤: ダウン症候群関連骨髄増殖性疾患の自然経過と造血微小環境. 第6回東京骨髄病理研究会(2015年8月, 東京)

川口裕之、田村義輝、吉井公浩、鈴木秀一、川村陽一、浅野貴子、関根孝司、野々山恵章. ダサチニブによる高度蛋白尿を認めた Ph 染色体陽性急性リンパ性白血病の1例. 第118回日本小児科学会(2015年4月, 大阪)

宮内 潤: 組織球肉腫と微小浸潤性扁平上皮癌の成分からなる稀な食道癌肉腫の1例. 第104回日本病理学会総会(2015年4月, 名古屋市)

[図書](計1件)

井上 健、大喜多肇、小田義直、中澤温子、中山雅弘、浜崎 豊、平戸純子、藤本純一郎、北條 洋、堀江 弘、宮内 潤、森川征彦、横山繁昭: 胚細胞腫瘍およびその他の臓器特異的希少腫瘍. 小児腫瘍組織カラーアトラス(第7巻)、金原出版、2017年、総ページ数114、ISBN 978-4-307-17071-0

[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

川口 裕之(防衛医科大学校小児科学講座・

准教授)

Kawaguchi Hiroyuki

研究者番号:00313130

(2)研究分担者

宮内 順(東京歯科大学市川総合病院検査科病理・教授)

Miyauchi Jun

研究者番号: 20146707

(3)連携研究者

( )

研究者番号:

(4)研究協力者

( )