

# 菅原 和行 論文内容の要旨

## 主 論 文

Clinical Relevance of Survivin as a Biomarker in Neoplasms, Especially in Adult T-Cell Leukemias  
and Acute Leukemias

腫瘍における Survivin の Biomarker としての臨床的意義、特に ATL と急性白血病について  
菅原 和行、上村 明希子、原澤 仁美、長井 一浩、平潟 洋一、朝長 万左男、村田 健、  
早田 宏、中越 享、柴崎 信一、山田 恭暉、上平 憲

International Journal of Hematology・80 巻1号 52 58 2004 年

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻  
(指導教授:上平 憲 教授)

## 諸 言

Survivin(SVV)は、8つの inhibitor of apoptosis proteins(IAP)遺伝子 family の1つで、16.5kDa と最も小さく、通常、胎生期に高発現し成人期の組織では発現がほとんど無いと言う特異な蛋白である。一方、後天的には各種腫瘍にユビキタスに発現していることから、腫瘍のユニバーサルな診断、治療の分子標的として期待されている。

我々は以前の研究で、ATL 細胞における CD95/Fas 受容体を介する細胞内シグナルを抑制する蛋白として SVV を同定し、ATL の造腫瘍性や病態に深く関わっていることを報告してきた。本研究では、ATL を含む種々の造血器腫瘍で腫瘍細胞内の SVV mRNA と血清中の SVV 蛋白を測定し、その臨床的意義、測定の問題点、ユニバーサルな腫瘍マーカーとしての可能性などについて検討した。

## 対象と方法

1. 対象: 113 例の白血病患者 (ATL: 63 例、ALL: 13 例、AML: 20 例、CML 急性転化: 7 例、CLL: 10 例)、健常人対照 17 例、ATL 細胞 / 関連細胞株 7 株、肺癌細胞株 15 株、その他(SuDHL、K562)等を使用した。血漿 SVV 蛋白の定量的測定法は、健常人: 53 例、ATL: 34 例、固形癌患者: 50 例の血漿、細胞株培養上清: 13 株を対象とした。
2. HTLV-1 SBH 法: ATL、キャリアの区別は、HTLV-1 whole probe を用いた Southern blotting 法による HTLV-1 provirus の monoclonal integration の有無によった。
3. 定量 RT-PCR: 50 ng totalRNA 相当 cDNA から、SVV は Exon 2 と 3 の間を、HTLV-1 tax は pX gene を増幅し、各々の特異 probe を用いる LightCycler RT-PCR 法にて mRNA コピー数を定

量した。内部コントロールとして GAPDH にて標準化した。

4. SVV 蛋白定量: 血漿および培養上清の SVV 蛋白の定量は、ELISA 法にて測定した。

## 結 果

### 1. SVV mRNA 発現量のプロファイル

- ・SVV mRNA定量値は、normal PBMCが  $0.9 \pm 0.7 \times 10^3/50\text{ng total RNA}$  でATL、ALL、AML、CML、CLLではnormal PBMCの各々約 57 倍、30 倍、11 倍、20 倍、1.6 倍であった。
- ・Normal PBMCの + 2SDをCOVとするとATL、ALL、AML、CML、CLLの各々92%、92%、75%、85%、10%の症例が高値としてスクリーニングされた。造血器、非造血器細胞株は全例で著明高値であった。
- ・GAPDHで標準化した定量値では、ATL、ALL、AML、CML、CLLの各々98%、92%、25%、42%、10%の症例が陽性となり、特にAML,CML,CLLで偽陰性化ヘシフトする症例が顕著となった。

### 2. 血漿中の SVV 蛋白質レベル

- ・健常人の血清レベルから COV を 130 ng/ml とすると、ATL:61.8%、固形癌の 28.0%の患者で蛋白質レベルが高値を呈した。
- ・ATL において、血漿 SVV 蛋白量と ATL 細胞内 SVV mRNA 発現量とは相関しなかった。
- ・培養細胞の溶解物中の SVV 蛋白レベルは  $23 \mu\text{g} / 1 \times 10^6\text{cells}$  と高いが、培養上清中のそれは約 100pg / ml であった。

### 3. SVV 発現と HTLV-1 tax 間の相関関係

- ・SVV の発現量と HTLV-1 tax の発現量は相関しなかった。

## 考 察

定量 RT-PCR 法は、多くの造血器腫瘍の SVV mRNA の up-regulation を客観的に検出し、約 90%の急性白血病をスクリーニングできる事が示された。実際、normal PBMCs から得た COV を基準値とした場合、ATL と ALL の約 92%、AML と急性転化した CML の約 80%の症例はスクリーニング可能であった。逆に、基準値以下に極端に低下すると CML の慢性期や CLL の存在が予測された。

一方、Housekeeping gene (GAPDH) で標準化することにより、AML、CML、固形癌細胞株などで偽陰性化することが明らかになった。これは、腫瘍間で HKG 自身の発現量が異なることに依存していた (AML>CLL>solid tumor cell line>ATL)。

なお、血漿 SVV 蛋白の測定は必ずしも担癌状態を捉えられず、腫瘍細胞内 mRNA 検査の代理 marker とはならなかった。

以上、SVV mRNA の定量検査は造血器腫瘍の普遍的スクリーニング検査となる可能性が明らかにされたが、相互比較のための内部コントロールでの標準化に関して問題が残されていることも明らかとなった。