

令和 2 年 6 月 6 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15650

研究課題名(和文)皮膚メラノサイト系腫瘍の悪性度診断における細胞内脂肪滴の重要性について

研究課題名(英文) Diagnostic significance of intracellular lipid droplets in grading cutaneous melanocytic tumor

研究代表者

藤本 正数 (Fujimoto, Masakazu)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：90573676

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚悪性黒色腫のパラフィン切片上で免疫組織化学的にアディポフィリン(ADP)蛋白が高発現している患者の予後は不良である事が分かった。ADPの免疫染色, mRNA in situ hybridization, Ki67 index には正の相関がある事が分かった。皮膚悪性黒色腫の培養細胞におけるADPの発現と細胞の増殖率には正の相関がある事が分かった。以上の結果より、ADPは皮膚悪性黒色腫の増殖において重要な役割を果たしている可能性が示され、新しい治療標的となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚悪性黒色腫のパラフィン切片上で免疫組織化学的にアディポフィリン(ADP)蛋白が高発現している患者の予後は不良である事が分かった。ADPの免疫染色, mRNA in situ hybridization, Ki67 index には正の相関がある事が分かった。皮膚悪性黒色腫の培養細胞におけるADPの発現と細胞の増殖率には正の相関がある事が分かった。以上の結果より、ADPが皮膚悪性黒色腫の増殖において重要な役割を果たしている可能性が示され、新しい治療標的となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We found that high adipophilin (ADP) expression was associated with poor metastasis-free survival, disease-specific survival, and overall survival rates of patients with cutaneous melanomas ($P < 0.05$). By linear regression analysis, ADP IHC was correlated with increasing ADP mRNA ISH H-scores and Ki67-LI scores in melanocytic lesions ($P < 0.01$). ADP IHC and ADP ISH H-scores and Ki67-LI scores were greater in pT3-4 melanomas than in pT1-2 melanomas. In cell-based assays, cells with increased ADP expression showed higher proliferation rates compared with those of low-ADP cells. Thus, ADP expression in malignant melanoma was significantly associated with high cell proliferation and poor clinical prognosis. Our results thus indicate a significant association between ADP and melanoma progression, and we propose that ADP may be a novel marker of aggressive cutaneous melanoma with a lipogenic phenotype.

研究分野：病理診断

キーワード：悪性黒色腫 脂肪滴 アディポフィリン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脂肪は細胞増殖の際の細胞膜合成に必須であり、悪性腫瘍では脂肪合成が亢進している事が知られているが、病理組織パラフィン切片標本では、その作製過程において有機溶剤を用いる為、脂肪の検索は不可能であった。しかし近年、細胞内脂肪滴を覆う蛋白質(アディポフィリン)を免疫染色で可視化し、光学顕微鏡下で細胞内脂肪滴を確認する事が可能となった。

2. 研究の目的

皮膚悪性黒色腫は最も悪性度の高い皮膚腫瘍の一つであり、腫瘍ステージの高い症例の5年生存率は50%未満である。皮膚悪性黒色腫においても脂質代謝が亢進している事が知られている事から、アディポフィリンの発現が悪性黒色腫細胞の増殖に関与している可能性があると考え、皮膚悪性黒色腫におけるアディポフィリンの臨床病理学的意義について解析した。

3. 研究の方法

皮膚悪性黒色腫90例のパラフィン切片を用いて、アディポフィリンの免疫染色を行い、その発現と患者の生存率との間に相関があるかどうかを解析した。次に、アディポフィリンの免疫染色結果と、アディポフィリンの mRNA in situ hybridization (ISH) と Ki67-labeling index (Ki67-LI) の相関の有無について、74例の皮膚悪性黒色腫、19例の転移性悪性黒色腫、29例の色素性母斑を含む tissue microarray (TMA) を用いて解析した。最後に、アディポフィリンの発現と細胞の増殖率の関連性について、皮膚悪性黒色腫の培養細胞を用いて解析した。

4. 研究成果

アディポフィリン蛋白が高発現した皮膚悪性黒色腫(図1)は、低発現群に比べて、無転移生存率、無病生存率、全生存率ともに低い事が分かった($p < 0.05$) (図2)。次にTMAを用いた解析で、アディポフィリンの免疫染色、ISH、Ki67-LIの間に正の相関がある事が分かった($p < 0.01$) (図3)。また、アディポフィリンの発現はpT3/4の方がpT1/2に比べて高い事が分かった。さらに、培養細胞を用いた実験では、皮膚悪性黒色腫細胞におけるアディポフィリンの発現と細胞の増殖率には正の相関がある事が分かった(図4)。以上、アディポフィリンの発現は皮膚悪性黒色腫の増殖および患者予後と相関している事が分かった。本研究で、アディポフィリンが悪性皮膚悪性黒色腫の増殖において重要な役割を果たしている可能性が示され、アディポフィリンが新しい治療標的となる可能性が示唆された。

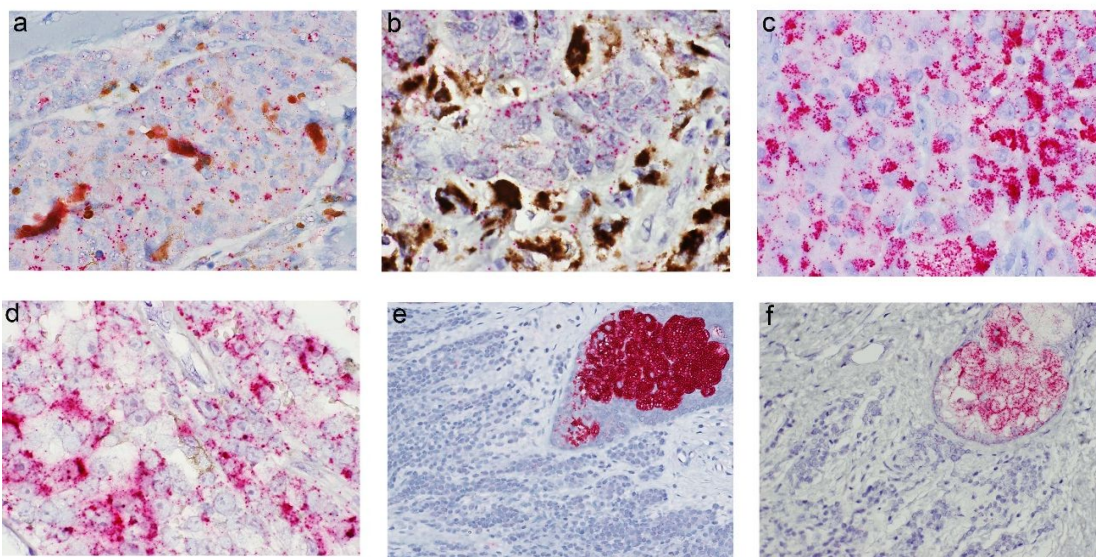


図1 アディポフィリン高発現の皮膚悪性黒色腫、(a)アディポフィリンの免疫染色(ADP-IHC)、(b)アディポフィリンのmRNA in situ hybridization(ADP-ISH)。アディポフィリン高発現の転移性悪性黒色腫、(c)ADP-IHC、(d)ADP-ISH。アディポフィリン低発現の色素性母斑(写真右上は皮脂腺)、(e)ADP-IHC、(f) ADP-ISH。

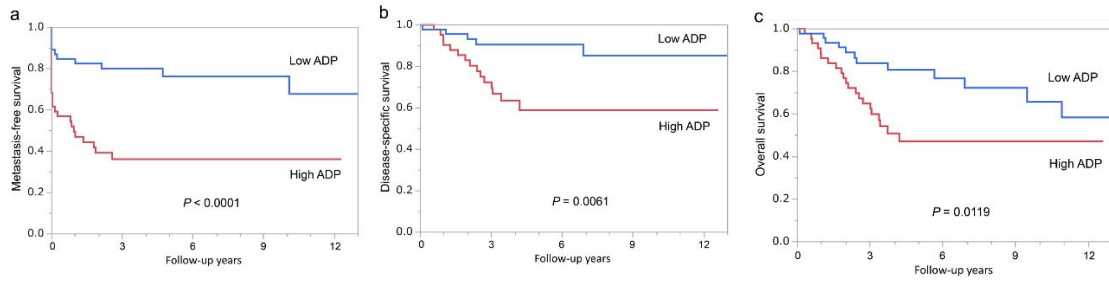


図2 アディポフィン高発現群(High ADP)と低発現群(Low ADP)のカプランマイヤー生存曲線。(a) 無転移生存率、(b)無病生存率、(c)全生存率。

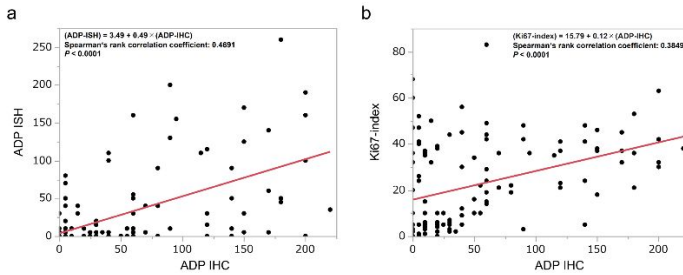


図3 Figure 3. アディポフィン in situ hybridization H-score (a) と Ki67-LI (b) 対アディポフィン免疫染色 H-score ($P < 0.0001$).

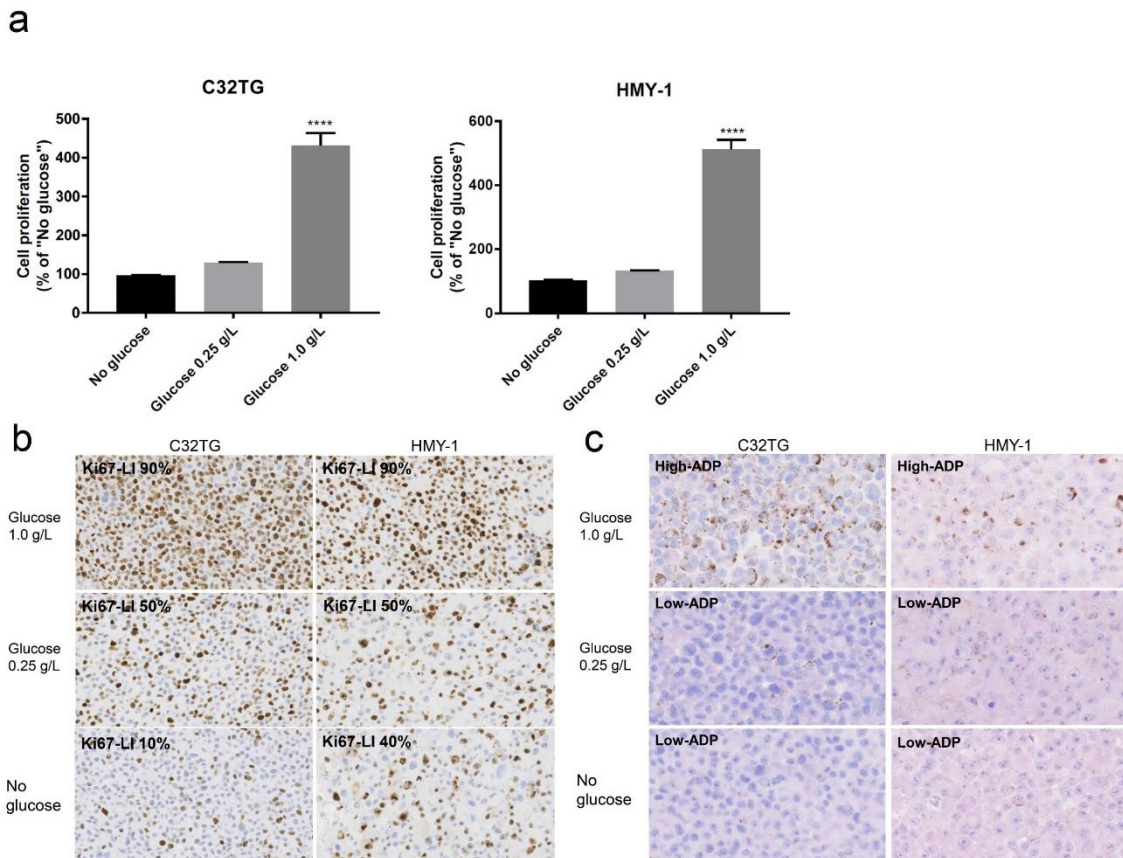


図4 アディポフィンの発現とメラノーマ細胞の増殖の関係。(a) C32TG と HMY-1 メラノーマ細胞を異なるグルコース濃度で72時間培養し、増殖を WST assay で解析した。メラノーマ細胞の増殖は、グルコース濃度(g/L) 0, 0.25, and 1.0の順で増加した。グルコース濃度1.0 g/Lでの増殖は、他の濃度での増殖よりも有意に高かった($P < 0.05$)。 (b)メラノーマ細胞を異なるグルコース濃度で培養し、Ki67の免疫染色を施行したところ、Ki67-LIは高グルコース濃度で培養した細胞の方が高かった。(c) アディポフィンの免疫染色の発現はグルコース濃度1.0 g/Lで培養した時が最も高かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Masakazu Fujimoto, Ibu Matsuzaki, Kazuchika Nishitsuji, Yuki Yamamoto, Daisuke Murakami, Takanori Yoshikawa, Ayaka Fukui, Yuuki Mori, Masaru Nishino, Yuichi Takahashi, Yoshifumi Iwahashi, Kenji Warigaya, Fumiyoshi Kojima, Masatoshi Jinnin, Shin-Ichi Murata	4. 巻 100
2. 論文標題 Adipophilin expression in cutaneous malignant melanoma is associated with high proliferation and poor clinical prognosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Laboratory investigation	6. 最初と最後の頁 727-737
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41374-019-0358-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Masakazu Fujimoto, Ibu Matsuzaki, Kazuchika Nishitsuji, Fumiyoshi Kojima, Shin-ichi Murata
2. 発表標題 Adipophilin expression in cutaneous malignant melanoma is associated with high proliferation and poor clinical prognosis
3. 学会等名 USCAP（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----