

平成21年5月26日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591309
 研究課題名 (和文) 表皮角化細胞のエピジェネティクス制御とその機能異常
 研究課題名 (英文) The regulation and abnormalities of the epigenetics on epidermal keratinocytes
 研究代表者
 久保 宜明 (KUBO YOSHIAKI)
 徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授
 研究者番号：10260069

研究成果の概要：

表皮角化細胞由来の皮膚腫瘍においてエピジェネティックな異常として、線維芽細胞増殖因子受容体3 (FGFR3) の発現とセネッセンス細胞の有無を免疫組織学的手法にて検討した。FGFR3 は良性腫瘍である脂漏性角化症(SK) のみに高発現していた。また、セネッセンス細胞は、表皮内癌である日光角化症(AK) のみに高頻度に検出された。表皮角化細胞におけるFGFR3の活性化はSK一般に関与しており、表皮角化細胞における紫外線による多段階発癌機構において、脱セネッセンス機構が重要であることが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2007年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 2008年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：皮膚腫瘍学、表皮角化細胞

1. 研究開始当初の背景

一般に癌は、癌遺伝子の活性化や癌抑制遺伝子の不活性化が蓄積することによって生じると考えられている(多段階発癌機構)。研究代表者は今までに、表皮角化細胞由来の代表的な癌である有棘細胞癌(SCC)における多段階発癌機構には、表皮角化細胞に癌遺伝子 Ras 経路の活性化や癌抑制遺伝子 p53 経路や RB1/p16 経路の不活性化が関与することを明らかにしてきた。また、ジェネティックな変化のみならず、現在まで、SCC での腫瘍関連遺伝子プロモーター領域の高頻度の DNA メチル化や表皮内癌であるボーエン病でのヒ

ストン脱アセチル化酵素 SIRT1 の高発現などにより、エピジェネティクス制御の異常が表皮角化細胞の病態に深く関与していることを示してきた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、進行期 SCC に対する新規治療法の開発に向けて、SCC やその前駆症や前駆病変、良性腫瘍や露光部皮膚などにおいて、表皮角化細胞のエピジェネティクス制御の異常をさらに詳細に検討し、腫瘍マーカーへの応用の可能性やエピジェネティックな異常を標的とした薬剤や RNAi による腫瘍細胞

の増殖抑制やアポトーシス誘導を検討することである。

3. 研究の方法

癌遺伝子のジェネティックやエピジェネティックな活性化による細胞の腫瘍化に対する生体の防御機構としてセネッセンス（細胞老化）が知られている。近年、その制御機構にヒストンのリン酸化などの複数のエピジェネティックな制御機構が関与することが明らかになってきた。

表皮角化細胞の腫瘍化における癌遺伝子の1つの候補として線維芽細胞増殖因子受容体3 (FGFR3) を挙げ、皮膚癌である SCC や基底細胞癌(BCC)、表皮内癌であるボーエン病(BD)や日光角化症(AK)、表皮角化細胞由来の一般的な皮膚腫瘍である脂漏性角化症(SK)において、抗 FGFR3 抗体を用いて FGFR3 の活性化を、また、セネッセンスのマーカーである抗 γ -H2AX 抗体を用いてセネッセンス細胞の有無を免疫組織学的手法にて検討した。

4. 研究成果

(1) 皮膚腫瘍における FGFR3 の発現

FGFR3 蛋白は、毛包の内毛根鞘に発現しており (図 1 a)、ポジティブコントロールとした。



図 1 a

調べた腫瘍の中で SK のみが強発現の傾向があった。典型的な強発現の一例を示す (図 1 b)。SK 内のクローナルな病変では発現は減弱していた (図 1 c)。

SK31 例中 27 例 (87%) において免疫染色にて FGFR3 蛋白の中～高発現が認められ、表皮角化細胞の FGFR3 のエピジェネティックな活性化が SK の発症に関与していることが判明した。



図 1 b

脂漏性角化症 (SK)

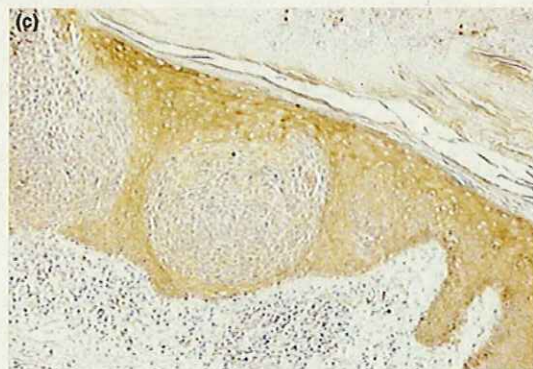


図 1 c

脂漏性角化症 (SK) 病変内のクローナル病変

BD や BCC では中～強発現した例はなく、SK や SCC では角化傾向の強い部分のみに高発現していた。BD と BCC の典型的な染色像を示す (図 1 d, e)。SCC の角化傾向の強い部分を示す (図 1 f)。



図 1 d

ボーエン病 (BD)

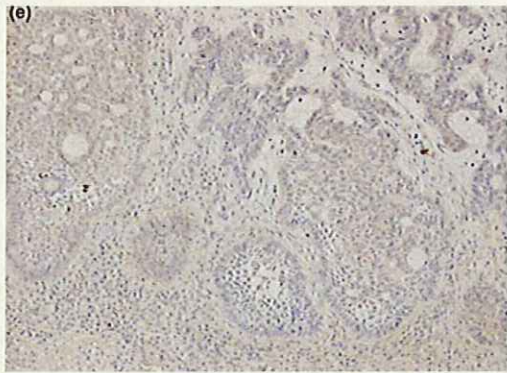


図 1 e
基底細胞癌 (BCC)

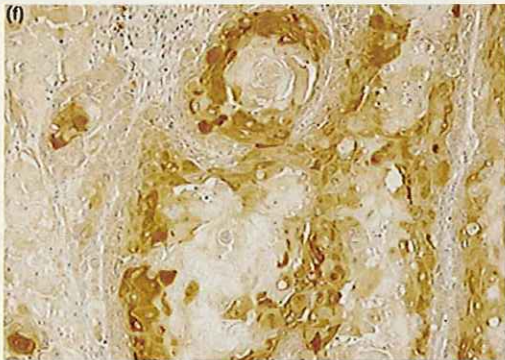


図 1 f
高分化型有棘細胞癌 (SCC)

SK31 例中 27 例 (87%) において免疫染色にて FGFR3 蛋白の高発現が認められ、表皮角化細胞の FGFR3 のエピジェネティックな活性化が SK の発症に一般的に関与していることが判明した (表 1)。SK の組織学的サブタイプ間では発現の頻度に明らかな差はなかった。

表 1

| Lesion | FGFR3 expression | | | | Total |
|-----------------------|------------------|-----|------|-------|-------|
| | (-) | (+) | (++) | (+++) | |
| Normal epidermis | 10 | 8 | 2 | 0 | 20 |
| Seborrhoeic keratosis | 2 | 2 | 12 | 15 | 31 |
| Acanthotic type | 2 | 2 | 8 | 10 | 22 |
| Hyperkeratotic type | 0 | 0 | 3 | 4 | 7 |
| Irritated type | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| AK | 5 | 2 | 2 | 1 | 10 |
| BD | 8 | 2 | 0 | 0 | 10 |
| BCC | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| SCC | 6 | 1 | 0 | 3 | 10 |

Seborrhoeic keratosis vs. normal epidermis: $P < 0.000005$; seborrhoeic keratosis vs. AK: $P < 0.005$; seborrhoeic keratosis vs. BD: $P < 0.000001$; seborrhoeic keratosis vs. BCC: $P < 0.000001$; seborrhoeic keratosis vs. SCC: $P < 0.005$. (-), $< 5\%$ positive cells; (+), 5–24%; (++) , 25–49%; (+++) , $\geq 50\%$; AK, actinic keratosis; BD, Bowen's disease; BCC, basal cell carcinoma; SCC, squamous cell carcinoma.

(2) 皮膚腫瘍におけるセネッセンス細胞
セネッセンスのマーカーである γ -H2AX が中～高発現している症例は、SCC20 例中 8 例、BCC20 例中 2 例、BD20 例中 3 例に対し、AK20 例中 17 例であった (表 2)。AK においてのみ高頻度にセネッセンスが認められ、他の皮膚腫瘍と比べ統計学的に有意な差があった。長年の日光暴露とセネッセンスの関連が考えられ、AK から SCC (invasive) への進展には何らかの脱セネッセンス機構が関与していることが示唆された。

また、SK30 例中 27 例 (90%) においてセネッセンス細胞は少数しか検出されず、FGFR3 のエピジェネティックな活性化とセネッセンスは、AK と同様に相関しないことがわかった

SK の典型的な染色像を示す (図 2 a)。

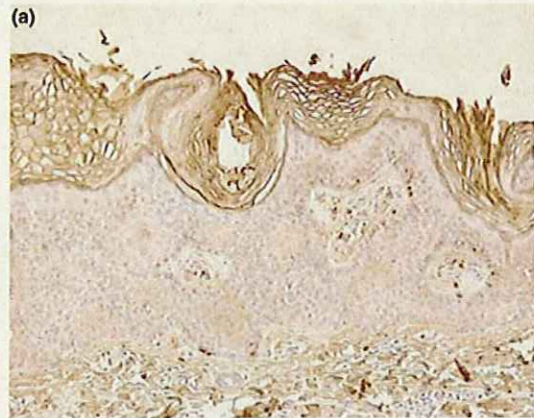


図 2 a
脂漏性角化症 (SK)

AK の典型的な染色像を示す (図 2 b)。

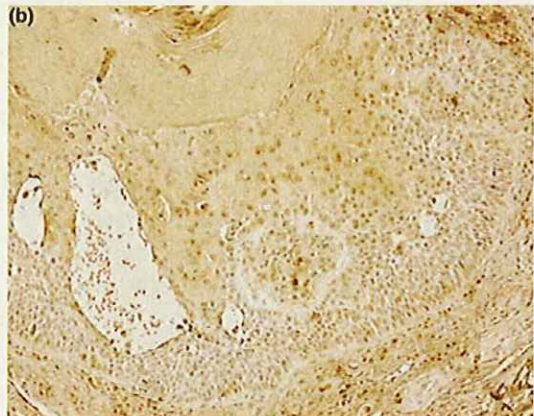


図 2 b
日光角化症 (AK)

表 2

| Lesion | γ-H2AX expression | | | | Total |
|-----------------------|-------------------|-----|------|-------|-------|
| | (-) | (+) | (++) | (+++) | |
| Normal epidermis | 19 | 1 | 0 | 0 | 20 |
| Seborrhoeic keratosis | 25 | 2 | 0 | 3 | 30 |
| AK | 1 | 4 | 2 | 15 | 22 |
| BD | 10 | 7 | 2 | 1 | 20 |
| BCC | 12 | 6 | 2 | 0 | 20 |
| SCC | 9 | 3 | 3 | 5 | 20 |

Seborrhoeic keratosis vs. AK: $P < 0.00005$; seborrhoeic keratosis vs. BD: $P < 0.05$; seborrhoeic keratosis vs. BCC: $P < 0.05$; seborrhoeic keratosis vs. SCC: $P < 0.05$; AK vs. BD: $P < 0.0005$; AK vs. BCC: $P < 0.00005$; AK vs. SCC: $P < 0.001$.
 (-), < 5% positive cells; (+), 5-24%; (++) , 25-49%; (+++) , ≥ 50%; AK, actinic keratosis; BD, Bowen's disease; BCC, basal cell carcinoma; SCC, squamous cell carcinoma.

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1件)

Hida Y, Kubo Y, Arase S: Activation of fibroblast growth factor receptor 3 and oncogene-induced senescence in skin tumours. Br J Dermatol 160, 1258-1263, 2009, 査読有

[学会発表] (計2件)

1. 飛田泰斗史、久保宜明、荒瀬誠治：皮膚腫瘍における線維芽細胞増殖因子 (FGF) シグナル経路について、第 32 回日本研究皮膚科学会、2007年4月19日、横浜
2. Hida Y, Kubo Y, Arase S: Oncogene-induced senescence in skin tumors. International Investigative Dermatology 2008, May 14-17, 2008, Kyoto

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保 宜明 (KUBO YOSHIAKI)
 徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授
 研究者番号：10260069

2) 研究分担者

大谷 直子 (Ohtani Naoko)
 徳島大学・ゲノム機能研究センター・准教授
 研究者番号：50275195
 2007年4月～2008年3月

飛田 泰斗史 (HIDA YASUTOSHI)
 徳島大学・医学部・歯学部附属病院・助教
 研究者番号：90380039
 2007年4月～2008年3月

(3) 連携研究者

大谷 直子 (Ohtani Naoko)
 財団法人癌研究会・癌研究所・主任研究員
 研究者番号：50275195
 2008年4月～2009年3月

飛田 泰斗史 (HIDA YASUTOSHI)
 徳島大学・医学部・歯学部附属病院・助教
 研究者番号：90380039
 2008年4月～2009年3月