

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 4 年 5 月 18 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16184

研究課題名(和文)乳房外Paget病の分子病理学的検討

研究課題名(英文)Molecular pathological examination of extramammary Paget's disease

研究代表者

川口 文(Aya, Kawaguchi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：30869087

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 1,700,000円

研究成果の概要(和文):私は乳房外Paget病に対して、臨床病理所見および免疫組織化学による予後不良因子の検索、真皮浸潤に関わる分子の遺伝子解析を行った。

:免疫組織化学による腫瘍微小環境の評価を行い、乳房外Paget病において、PD-L1、PD-L2発現が予後不良因子であり、乳房外Paget病においても、今後PD-L1/PD-L2が分子標的薬のtargetになる可能性が示唆され、論文発表に至った。

:真皮浸潤に関わる分子の遺伝子解析を行い、TFAP2B発現が真皮浸潤と関連し、予後不良因子であることを見出し、現在、論文執筆中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳房外Paget病の病因、浸潤・転移に関わる分子メカニズムなどの生物学的特性は明らかになっていない。また、国際的にコンセンサスが得られた病期分類が存在せず、ガイドラインで定まった治療法がないのが現状である。本研究では、乳房外Paget病に対して、臨床病理所見および免疫組織化学による予後不良因子の検索、真皮浸潤に関わる分子の遺伝子解析を行った。においては、腫瘍微小環境の評価を行い、予後不良因子を見出した。においては、真皮浸潤に関わる分子を同定した。今回の研究成果により、乳房外Paget病の分子病理学的特性を加味した病期分類や治療ガイドラインの構築が期待される。

研究成果の概要(英文):For extramammary Paget disease, I performed (1) search for poor prognosis factors by clinical pathological findings and immunohistochemistry, and (2) genetic analysis of molecules involved in dermal infiltration.

(1) We evaluated the tumor microenvironment by immunohistochemistry, and PD-L1 and PD-L2 expression are poor prognostic factors in extramammary Paget disease, and PD-L1 / PD-L2 will be used in extramammary Paget disease in the future. It was suggested that it could be the target of molecular-targeted drugs, and the paper was published.

(2) Genetic analysis of molecules involved in dermis infiltration was performed, and it was found that TFAP2B expression correlates with dermis infiltration and is a poor prognosis factor, and a paper is currently being written.

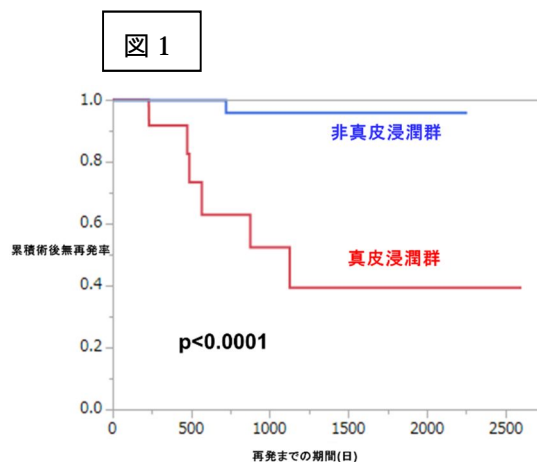
研究分野：皮膚科

キーワード：乳房外Paget病 PD-L1 PD-L2 TFAP2B

1. 研究開始当初の背景

乳房外 Paget 病には、悪性腫瘍であるにも関わらず国際的にコンセンサスが得られた病期分類が存在しない。本邦では TNM 分類の試案はあるものの、ガイドラインで定まった治療法がないのが現状である。乳房外 Paget 病に対して分子生物学的に検討した報告は少なく、**乳房外 Paget 病の生物学的特性を反映した病期分類あるいはガイドラインの作成には乳房外 Paget 病の分子病理学的検討が不可欠であり、乳房外 Paget 病の分子病理学的特性を明らかにすることは重要な研究課題であると考えた。**

先行して、当院での乳房外 Paget 病患者 47 例を対象に臨床病理学的因子について検討を行ったところ、対象における術後再発に関する単変量解析では、真皮浸潤(OR 21.96, $p=0.003$)が有意な因子として抽出され、多変量解析でも独立因子として抽出された(OR 16.66, $p=0.021$)。Kaplan-Meier 法では真皮浸潤群は非真皮浸潤群より、累積術後無再発率が低かった($p < 0.0001$)(図 1)。以上の結果より、**真皮浸潤が乳房外 Paget 病の強い予後不良因子であることが考察され、乳房外 Paget 病での浸潤に関わる分子及び腫瘍微小環境の解析を検討すべき課題と考え、本研究に至った。**



2. 研究の目的

本研究では、乳房外 Paget 病に対して、(1) 臨床病理所見および免疫組織化学による予後不良因子の検索、(2)真皮浸潤に関わる分子の遺伝子解析を行うことで、乳房外 Paget 病の生物学的特性を反映した病期分類あるいはガイドラインの作成へ応用するための分子病理学的な研究基盤の確立を目的とする。

3. 研究の方法

乳房外 Paget 病に対して外科的切除された症例 47 例を対象に、臨床病理学的検討、遺伝子解析を進め、得られたデータと臨床背景で統計解析を行い、**乳房外 Paget 病の腫瘍特性の分子病理学的解析を進める。**

(1) 乳房外 Paget 病の真皮浸潤に関わる分子の遺伝子解析

(2) 乳房外 Paget 病における免疫組織化学による腫瘍微小環境の評価

遺伝子解析

乳房外 Paget 病における真皮浸潤に関わる分子の遺伝子解析を行う。

典型的な乳房外 Paget 病の非浸潤群と浸潤群を 3 例ずつ選定し、遺伝子解析の対象とする。対象の非浸潤群 3 例それぞれの非腫瘍部と非浸潤部、浸潤群 3 例の浸潤部から遺伝子を抽出する。症例の選定は 2 名の病理専門医とともに実施する。

それぞれのパラフィン包埋ブロックから 5 μ m の薄切標本作製し、それぞれの腫瘍部、非腫瘍部をスクレーピング法で採取する。

採取した組織より、RNeasy®FFPE (QIAGEN 社)を使用し、RNA を抽出する。

抽出した RNA を、Clariom D Assay, Human(Affymetrix)を用いて浸潤部、非浸潤部、非腫瘍部の遺伝子発現量を網羅的に解析する。腫瘍部においては遺伝子解析で発現に差がある遺伝子に注目し、そのコードする分子をターゲットとして対象症例の免疫組織化学を行う。

免疫組織化学の発現頻度、分布、強度などの評価に関しては、研究者を含む 2 名で独立的に評価を行い、臨床病理学的項目(年齢、性別、部位、症状を自覚してから初診までの期間、血中 CEA 値、血中 CA19-9 値、術前所属リンパ節転移、手術断端、脈管侵襲、浸潤の有無、再発など)との相関を検討する。

<免疫組織化学

PD-L1、PD-L2、CD8 免疫組織化学を行い、乳房外 Paget 病の腫瘍微小環境について免疫病理学的に検討する。

近年、様々な悪性腫瘍で免疫学的な微小環境について検討され、nivolumab (ヒト PD-1 モノクローナル抗体)をはじめとする免疫チェックポイント阻害剤がその治療に用いられている。しかし、**乳房外 Paget 病では免疫学的な腫瘍微小環境について検討した報告は少ない。**そこで乳房外 Paget 病における免疫チェックポイントリガンドである Programmed death ligand-1 (PD-

L1)/Programed death ligand-2 (PD-L2)および腫瘍間質 CD8 陽性 T 細胞の発現と、予後を含む臨床病理所見との関連性について検討する。免疫組織化学の発現頻度、分布、強度などの評価に関しては、研究者を含む 2 名で独立的に評価を行い、臨床病理学的項目(年齢、性別、部位、症状を自覚してから初診までの期間、血中 CEA 値、血中 CA19-9 値、術前所属リンパ節転移、手術断端、脈管侵襲、浸潤の有無、再発など)との相関を検討する。

4 . 研究成果

(1) 乳房外 Paget 病の真皮浸潤に関わる分子の遺伝子解析

Transcription factor activating enhancer-binding protein 2B(TFAP2B)発現が真皮浸潤と相関し、予後不良因子であることを見出した。現在、論文を執筆中 で、近日中に投稿予定である。

(2) 乳房外 Paget 病における免疫組織化学による腫瘍微小環境の評価

乳房外 Paget 病において、PD-L1、PD-L2 発現が予後不良因子であり、乳房外 Paget 病においても、今後 PD-L1/PD-L2 が分子標的薬の target になる可能性が示唆された。また、PD-L1/PD-L2 および腫瘍浸潤 CD8 リンパ球の発現レベルを組み合わせることで、乳房外 Paget 病患者の予後を詳細に予測できる可能性があることを見出し、論文発表に至った。

掲載論文 : Kawaguchi A, Akiba J, Kondo R, Sadashima E, Ogasawara S, Naito Y, et al. Programmed Death-Ligand 1 and Programmed Death-Ligand 2 Expression Can Affect Prognosis in Extramammary Paget's Disease. Anticancer research. 2021;41(1):219-26. Epub 2021/01/10. doi: 10.21873/anticancerres.14768. PubMed PMID: 33419816.

今回の研究成果により、乳房外 Paget 病の分子病理学的特性を加味した病期分類や治療ガイドラインの構築が期待される

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 KAWAGUCHI AYA、AKIBA JUN、KONDO REIICHIRO、SADASHIMA EIJI、OGASAWARA SACHIKO、NAITO YOSHIKI、KUSANO HIRONORI、SANADA SAKIKO、MUTO IKKO、NAKAMA TAKEKUNI、YANO HIROHISA	4 . 巻 41
2 . 論文標題 Programmed Death-Ligand 1 and Programmed Death-Ligand 2 Expression Can Affect Prognosis in Extramammary Paget ' s Disease	5 . 発行年 2021年
3 . 雑誌名 Anticancer Research	6 . 最初と最後の頁 219 ~ 226
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.14768	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------