

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 13 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791259

研究課題名（和文） 有棘細胞癌におけるTWISTの役割について

研究課題名（英文） The role of the TWIST in Squamous cell carcinoma

研究代表者

石井 貴之（ISHII TAKAYUKI）

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：90420330

研究成果の概要（和文）：

皮膚有棘細胞がんとTWIST・Snail・E-cadherin・HPVとの関連性を調べた。真皮内に浸潤した有棘細胞がんでは、TWIST・Snailの発現が亢進しており、E-cadherinについては逆に発現が減弱している傾向がみられた。HPVについては有棘細胞がんとの関連性は明らかでなかった。表皮内がんでは、TWIST・Snail・E-cadherinともに発現が亢進しており、浸潤がんと同様の結果だったが、E-cadherinについては正常表皮細胞膜も染色された。

研究成果の概要（英文）：

We examined the relationship between cutaneous Squamous cell carcinoma (cSCC) and TWIST, Snail, E-cadherin and Human papilloma virus (HPV). TWIST, Snail were over expressed in invasive cSCCs. On the other hand E-cadherin expressed low level in invasive cSCCs. We could not find the relationship between cSCCs and HPV. In cSCC insitu, these expression levels were same with invasive cases. Cell membranes of keratinocytes were also stained with E-cadherin.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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

1. 研究開始当初の背景

有棘細胞がんは表皮有棘層の細胞から生じる皮膚悪性腫瘍で、いわゆる皮膚がんの中では基底細胞がんに次いで症例数が多いとされている（人口10万人に2.5人）。更に、前癌

病変である日光角化症（紫外線暴露によって基底層を中心とした表皮細胞の一部が異型性を獲得した状態の腫瘍のことであり、近年、日光角化症を表皮内がんと同様に扱う考え方も存在する）を含めると皮膚悪性腫瘍の中で

は最多の皮膚悪性腫瘍となる。年齢別割合では70 歳以上の患者が60%を占め、近年の高齢化社会に伴い、症例数の増加がみられているも特徴である。

これらのうち、多くの症例は外科的切除で治療が見込める一方、1 割前後の症例では転移浸潤を生じ、それらの症例の予後は極めて不良である。また、時に局所破壊性に進行する有棘細胞がんも存在することが知られている。これらは同じ有棘細胞がんでありながらあまりにも異なった経過をたどる。

このような有棘細胞がんにおいて、発症の誘因として最も考えられている因子としては、紫外線が挙げられる。p53 に変異を及ぼし、皮膚がんの発症を促すことが分かっている。一方では、近年、ヒト乳頭腫ウイルスの関与も注目されている。有棘細胞がんの類縁疾患であるボージェンがんでは、ウイルス感染の関与が強く示唆されている報告も散見される。また、症例数は少ないものの熱傷瘢痕やエリテマトーデスなどの慢性炎症の繰り返しによって、病変内の一部に異型性が生じ、長期の経過をへて発がんする有棘細胞がんの症例の存在も知られている。

がん細胞の浸潤過程については近年、上皮間葉移行Epithelial-mesenchymal transition (EMT) が重要な過程として注目されている。これは上皮細胞が間葉系細胞に形態変化する現象であり、上皮マーカーの発現抑制と間葉マーカーの発現上昇が確認される。TWIST は、bHLH 型転写因子で、myogenin プロモーター上でヘテロ2 量体を形成するし、遺伝子発現を抑制する。近年、乳がんにおいては、転移・浸潤を調節する遺伝子としてTWIST の発現上昇が報告されており、TWIST はSnail とともにE-cadherinの発現抑制を介する事によって、EMT を制御する重要な因子ではないかと考えられている。

2. 研究の目的

皮膚有棘細胞がんにおけるTWIST の promotor 領域のメチル化およびTWIST およびSnail、E-cadherin の発現レベルを調べる。それらの結果と臨床的な転移・浸潤能の関係を解析する。また、発症母地の有無・転移の有無・局所浸潤性の有無による各遺伝子の発現に違いがあるかを検討し、予後規定因子としての役割を調べる。

3. 研究の方法

対象：金沢大学附属病院皮膚科の外来または入院治療で外科的手術を受けた有棘細胞がんの症例

検討項目：

免疫組織化学染色：TWIST・Snail・E-cadherin・Human Papilloma virus の染色を行い、蛋白レベルでの発現を検討する。

Methylation-specific PCR：TWIST およびE-cadherin のpromotor 領域のメチル化の有無について検討する。

quantitative RT-PCR:TWIST・Snail・E-cadherin のmRNA の発現量を測定する。

これらの結果と臨床経過との関連：Stage・真皮浸潤の有無・転移の有無・原発部位と転移部位の違い・発症母地の違いとの関連性について検討する。

4. 研究成果

金沢大学皮膚科で外科的治療を行った有棘細胞がんの組織を用い、TWIST、Snail、E-cadherin、Human papilloma virus (HPV) について免疫染色を施行した。有棘細胞がんは、原発巣では浸潤がん表皮内がんとして分けて検討を行い、転移を生じた症例については転

移リンパ節についても検討した。

浸潤がんについて検討では、TWIST、Snailについて細胞膜および細胞質での発現の亢進がみられた。E-cadherinについては、細胞膜に染色され、浸潤している腫瘍細胞も染色されたが、同一切片内でもその染色程度にはばらつきがあった。HPVについては、免疫染色では1例も発現はみとめられなかった。HPVの染色については、従来ウイルス感染と発がんとの関連が示唆されているボーエン病（表皮内がん）で有棘細胞癌の類縁皮膚悪性腫瘍）から浸潤した有棘細胞がん（ボーエンがん）についても同様に検討したが、やはり全例で染色されることはなかった。

表皮内がんでは、TWIST、Snail、E-cadherinともに細胞膜と細胞質において発現の亢進がみられた。HPVについては、ボーエン病を含めて、全例で発現がみられなかった。表皮内癌のE-cadherinの発現は全例でみとめたが、正常表皮にもE-cadherinは細胞膜に均一に染色されていた。これは正常表皮におけるE-cadherinの発現によるものであるが、染色性については腫瘍細胞と健常表皮細胞とで差はみられなかった。

転移リンパ節についても同様に検討を行った。TWISTとSnailについてはやはり細胞膜および細胞質で発現が亢進していた。つまり、原発である表皮内がん・浸潤がん・転移リンパ節のいずれでもTWISTとSnailの発現は亢進していたこととなる。E-cadherinの発現も他の検討と同様にみとめたが、浸潤がんの症例と同様に染色性にばらつきがあった。HPVの発現はみられなかった。ボーエンがんの転移リンパ節についても染色を行ったが、やはりHPVの発現は明らかでなかった。

蛋白レベルの発現の検討をまとめると、有棘細胞がんにおいてTWISTとSnailの発現は亢進している。E-cadherinについては浸潤がん

で一部発現の減弱がみられた。これは転移リンパ節においても同様の傾向がみられた。蛋白レベルにおいてHPVと有棘細胞がんとの間に関連性はみとめなかった。

今後、TWISTとSnailおよびHPVについてはPCRを用いてRNAレベルの発現を検討する予定である。蛋白レベルでは、多くの症例で発現の亢進が確認できたわけであるが、前述の通りその発現量には程度差があり、RNAレベルでの検討によって結果のばらつきが想定される。それらの結果と腫瘍の浸潤度との間に関連性がないかが最も重要であると考ええる。他領域癌の過去の報告を踏まえると、EMTにおいてE-cadherinはその発現が弱まる可能性があり、今回の検討において一部染色性の減弱した症例が存在している。これらの症例では腫瘍細胞が浸潤・転移能を獲得しつつある状態にある可能性がある。このような症例において臨床経過を追跡し、転移および予後との関連がないかを今後も検討する予定である。特に有棘細胞がんはリンパ節転移を伴わない遠隔転移はまず生じないことが知られている。転移リンパ節と浸潤性病変についての関連性を検討する事は、転移浸潤能の解明に非常に重要である事は間違いない。

HPVについては全症例において発現がみられなかった。蛋白レベルでの証明が難しい可能性があり、RNAレベルにおいてHPVの存在を示唆できる可能性がある。特に婦人科領域で疾患ではHPV感染が示唆される癌が多数存在する。また、指はウイルス性疣贅が生じやすい部位であり、HPV感染と外陰部や指の腫瘍とは関連性が疑われている。このような部位の症例を中心にRNAレベルにおけるウイルスの発現を検討し、HPV感染と有棘細胞がんとの関係を証明出来ればと考える。

5. 主な発表論文等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 貴之 (ISHII TAKAYUKI)
金沢大学・医学系・協力研究員
研究者番号：90420330

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし