

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791133

研究課題名(和文)血管肉腫における哺乳類ラパマイシン標的タンパク質経路とオートファジー機構の関与

研究課題名(英文)The importance of mTOR pathway and autophagy mechanism in angiosarcoma survival

研究代表者

沼田 透効 (Numata, Yukikazu)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：30622980

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は今なお予後不良な疾患である血管肉腫の分子病態機構を調べることであり、そのなかでもmTOR経路とオートファジー機構の関与を調べることを主目的とする。平成24年度は、血管肉腫組織での関連分子の発現を免疫組織学的に検討したところ、正常血管内皮に比して強発現していることを確認し、特にオートファジー系経路が恒常的に活性化されていることが示唆された。血管肉腫細胞の培養系では、mTOR経路の阻害剤とオートファジー阻害剤を用いたところ、腫瘍細胞のアポトーシス誘導が確認できた。平成25年度は正常皮膚での両経路の発現を確認した。これらの結果は両経路の阻害が血管肉腫の新たな治療になる可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to check the molecular condition of a patient mechanism of angiosarcoma which has poor prognosis. Especially, I expect mTOR course and participation of the automatic fuzzy mechanism in that with a main purpose. After, in 2012, examining the expression of related molecules with the angiosarcoma tissue for immunohistology; in comparison with a normalcy blood vessel wall strong; confirmed that developed, and what was activated constantly particularly an automatic fuzzy system course was suggested. After using a repressor and the automatic fuzzy repressor of the mTOR course in the culture system of the angiosarcoma cell, I confirmed the apoptotic instruction of the neoplastic cell. I confirmed the expression of both courses with the normal skin in 2013. As for these results, the inhibition of both courses suggested the possibility of new treatment of angiosarcoma.

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：血管肉腫 mTOR経路 オートファジー

1. 研究開始当初の背景

皮膚血管肉腫の頻度は高くないが、臨床で急速に増大し、遠隔転移も多く観察される。進行性の性質のために生命予後は低く、5年生存率が20%以下とされ、今なお予後不良な疾患である。mTOR 抗体製剤の適応対象に血管肉腫はその他の悪性腫瘍とともに加えられたが、治療適応となった基礎的、臨床的背景はほとんど無く、血管肉腫そのものの分子機構に mTOR が如何に関与するかも全く不明である。

従って、血管肉腫の治療を主として行う皮膚科医の血管肉腫病態・治療法の研究が必要であると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、血管系悪性腫瘍の分子病態機構を調べることである。皮膚血管肉腫は、その頻度は高くないものの、その予後は決して良いものではなく、現状の血管肉腫の治療については限界を感じている。血管増生を促進する因子 mTOR 経路を標的とした治療薬が開発されているが、血管肉腫における mTOR 経路とそれに関連するオートファジー機構の分子生物学的意義は明確ではない。本申請研究期間には血管肉腫細胞の病態における mTOR 経路とオートファジー機構の関与を調べることを主目的とし、本研究は皮膚腫瘍中で最も予後の悪い疾患の一つに対する一助となる知見を与えることと、長期的にはより有効な治療方法の開発を目的とする。

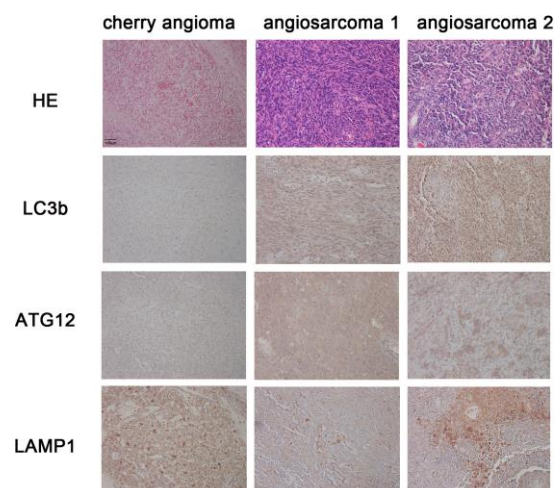
3. 研究の方法

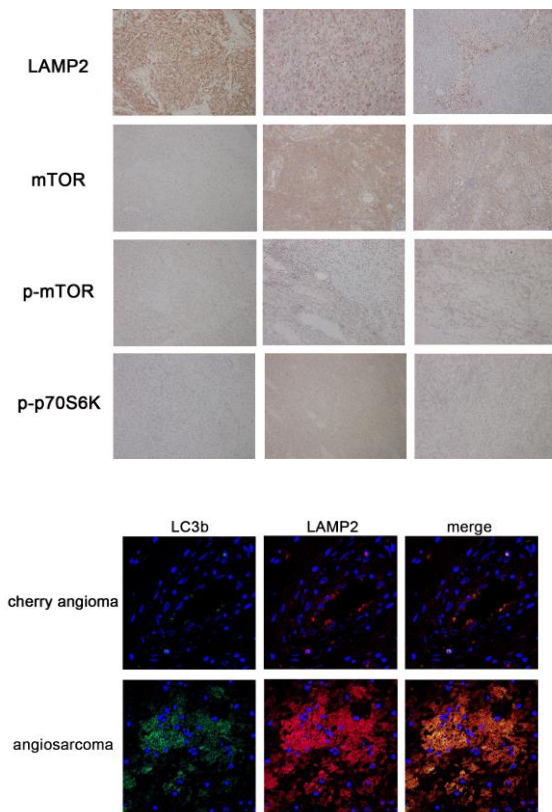
本研究期間においては、血管肉腫細胞での mTOR 経路とオートファジー機構関連分子の発現とその分子生物学的意義を検証することに主眼を置く。そのために以下の項目を計画する。

- (1) 血管肉腫組織における mTOR 経路とオートファジー機構関連分子の発現確認。
- (2) 血管内皮細胞を用いた mTOR 経路とオートファジー機構関連分子の強発現・抑制による細胞動向の検討。
- (3) 血管肉腫細胞株の樹立。
- (4) 血管肉腫細胞 invitro 培養系・組織 exvivo 培養系を用いて、mTOR 経路とオートファジー機構関連分子の抑制の影響を検討する。

4. 研究成果

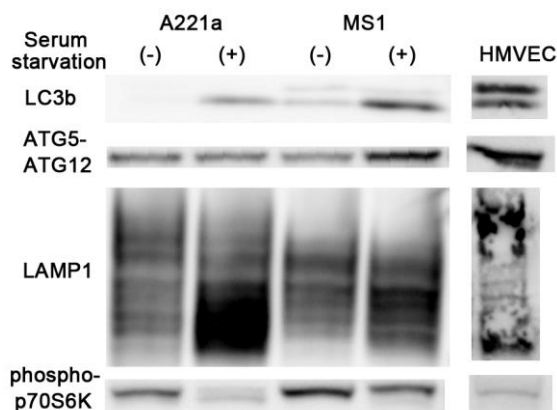
平成 24 年度は、血管肉腫組織でのオートファジー関連分子 (LC3b, ATG12, LAMP) および mTOR 関連分子 (mTOR, p-p70s6K) の発現を免疫組織学的に検討したところ、良性血管腫に比して強発現していることを確認し、特にオートファジー系経路が恒常的に活性化されていることが示唆された。また蛍光免疫染色でも同様の傾向が示され、さらに LC3b と LAMP2 の発現が一致することから、LAMP の上位シグナルに LC3b があることが示唆された。



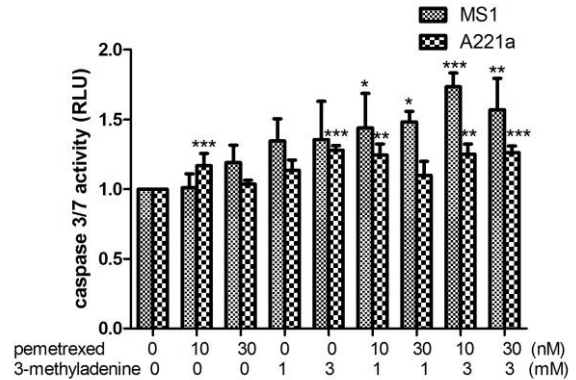


血管肉腫細胞の培養系では、培養時に FBS を通常より減少させたところ、ウェスタンブロットでオートファジー関連分子である LC3b タンパク量の増加を認めた。

この状態で mTOR 経路の阻害剤 (pemetrexed) とオートファジー阻害剤 (3-methyladenine) を用いたところ、腫瘍細胞のアポトーシス誘導が確認できた。



平成 25 年度は正常皮膚での両経路の発現を確認した。これらの結果は両経路の阻害が血管肉腫の新たな治療になる可能性を示唆した。



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 10 件)

- Hagiwara A, Fujimura T, Furudate S, Kambayashi Y, Numata Y, Haga T, Aiba S. Generalized granulomatous dermatitis accompanied by myelodysplastic syndrome. *Acta Derm Venereol.*、査読有、94 巻、2014 年、223-224、DOI: 10.2340/00015555-1656.
- Mayama H, Fujimura T, Asano M, Kambayashi Y, Numata Y, Aiba S. Squamous cell carcinoma arising from keratitis-ichthyosis-deafness syndrome. *Acta Derm Venereol.*、査読有、93 巻、2013 年、583-584、DOI: 10.2340/00015555-1535.
- Furudate S, Fujimura T, Kambayashi Y, Tsukada A, Numata Y, Aiba S. Multiple low-grade fibromyxoid sarcoma on the upper arms with atypical histological presentation. *Case Rep Dermatol.*、査読有、5 巻、2013 年、152-155、DOI:

- 10.1159/000351791.
- ④ 古舘禎騎、沼田透効、塚田 全、渡辺みか、泉 美貴、相場節也、小児に生じた衛星病変を伴う青色母斑の1例、皮膚科の臨床、査読有、55巻、2013年、585-588、<http://ci.nii.ac.jp/naid/40019690831>
- ⑤ Shimada R, Fujimura T, Kambayashi Y, Ohtani T, Nasu M, Numata Y, Haga T, Hashimoto A, Aiba S.、CD163+adult xanthogranuloma arising from Merkel cell carcinoma treated with local radiotherapy. Acta Derm Venereol.、査読有、92巻、2012年、631-632、DOI: 10.2340/00015555-1356.
- ⑥ Ishibashi M, Numata Y, Tagami H, Aiba S. Successful treatment of cutaneous botryomycosis with a combination of minocycline and topical heat therapy. Case Rep Dermatol.、査読有、4巻、2012年、114-118、DOI: 10.1159/000338798.
- ⑦ Furudate S, Sasai S, Numata Y, Fujimura T, Aiba S.、Phaeohyphomycosis Caused by Phaeoacremonium rubrigenum in an Immunosuppressive Patient: A Case Report and Review of the Literature. Case Rep Dermatol.、査読有、4巻、2012年、119-124、DOI: 10.1159/000339622.
- ⑧ Furudate S, Fujimura T, Tsukada A, Numata Y, Kambayashi Y, Aiba S.、Profiles of tumor-infiltrating lymphocytes in a case of trichilemmal carcinoma with spontaneous regression. Case Rep Dermatol.、査読有、4巻、2012年、215-221、DOI: 10.1159/000343881.
- ⑨ Tsukada A, Fujimura T, Furudate S, Kambayashi Y, Numata Y, Haga T, Hashimoto A, Aiba S.、Cutaneous squamous cell carcinoma developing from recessive dystrophic epidermolysis bullosa: a case report and an immunohistochemical study. Case Rep Dermatol.、査読有、4巻、2012年、197-201、DOI: 10.1159/000343082.
- ⑩ 沼田透効、笹井 収、足底にみられた melanoma *in situ*の早期病変、皮膚病診療、査読無、43巻、2012年、575-578、<http://www.jamas.or.jp/user/database/Search/detail/scode/J01268>
- [学会発表] (計 5件)
- ① 沼田透効、東條玄一、高橋隼也、相場節也、多発性の脂漏性角化症に対するいぼ剥ぎ法の応用、第28回日本皮膚外科学会学術大会、2013年7月13日～2013年7月14日、大津市
- ② 沼田透効、相場節也、蕁麻疹・血管浮腫における頸部側面X線像を用いた気道浮腫の病型分類、第112回日本皮膚科学会総会、2013年06月14日～2013年06月16日、横浜市
- ③ 沼田透効、那須めい、相場節也、惣宇利正善、一瀬白帝、後出血を繰り返し、後天性血友病13が疑われた鼻背の基底細胞上皮腫の1例、第76回日本皮膚科学会東部支部学術大会、2012年09月29日～2012年09月30日、札幌市
- ④ 古舘禎騎、沼田透効、塚田 全、菊地克子、相場節也、黒木 茂、サイトメガロウイルス(CMV)およびEpstein-Barrウイルス(EBV)の再活性化を伴った Drug-induced hypersensitivity syndrome(DIHS)の1例、三県合同地方会第359回例会、2012年09月09日、山形市
- ⑤ 沼田透効、笹井 収、松永 純、相場節也、Horizontal Square Buried Suture(HSBS)の応用例、第27回日本皮膚外科学会総会、2012年09月01日～2012年09月02日、盛岡市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

沼田 透効 (Numata, Yukikazu)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：30622980

(2) 研究分担者

高橋 隼也 (Takahashi, Toshiya)

東北大学・大学病院・医員

研究者番号：30712195

(3) 連携研究者

山崎 研志 (Yamasaki, Kenshi)

東北大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：30622980