

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 12 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461716

研究課題名(和文)ケラトアkantoomaは良性腫瘍か：プロテオミクスを用いた不均質性の解明

研究課題名(英文)Is keratoacanthoma a benign neoplasm?: Retrieval of heterogeneity using proteomics.

研究代表者

安齋 眞一 (Ansai, Shin-ichi)

日本医科大学・医学部・教授

研究者番号：10159519

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ケラトアkantooma(KA)の構築をもつクレーター状上皮性腫瘍の多数例を用いて病理組織学的分類を行った。その中には、およそ20%程度クレーター状疣贅と診断すべき症例が含まれていた。全体の56.3%はKAと診断できる例であったが、KA内に悪性腫瘍を伴った例が10%強あり、それ以外のクレーター状の悪性腫瘍も約10%含まれていた。

Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein-3 (IMP3)は、有棘細胞癌(SCC)の約半数で陽性であったが、KAでは陰性であった。IMP3は皮膚SCCの新しい治療標的やKAとの鑑別に有用な分子マーカーと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We classified the tumors with crateriform silhouette like keratoacanthoma (KA) using large amounts of cases. Of these, there were about 20% cases that showed distinctive histopathological feature different from KA. Whereas 56.3% of the cases were KA, about 10% of those were KA with malignant transformation and about 10% of other crateriform malignant neoplasms were also contained.

Insulinlike growth factor 2 mRNA binding protein-3; (IMP3) was positive in about 50% of the cases with SCC, though none of KA was positive. IMP is thought to be new target for treatment and useful marker for differentiation between SCC and KA.

研究分野：皮膚病理組織学

キーワード：ケラトアkantooma 有棘細胞癌 クレーター状疣贅 IMP3 MAPK4

1. 研究開始当初の背景

ケラトカントーマ(keratoacanthoma, KA) は、臨床的には、「発症後急速に増大して半球状を呈し、中央に角栓をいれるクレーター状の結節としてみられ、やがて自然退縮する腫瘍」と定義され、わが国ではほとんどの教科書で良性腫瘍として扱われていた。しかし、実際の臨床の間では、KA と診断されたにもかかわらず、自然退縮せずに局所浸潤や転移を起こした例をしばしば経験する。実際、欧米では、KA を有棘細胞癌 (squamous cell carcinoma, SCC) の亜型とする考え方が一般的であった。しかし、この考え方も KA の一部が悪性化することがある、という臨床的経験に基づくものであり、科学的な裏付けがあるわけではない。申請者は「KA は良性病変 (疣贅や脂漏性角化症) と悪性病変 (上皮内および浸潤性有棘細胞癌) が混在する疾患群である」と考えるに至った。しかし、このような KA の不均質性 (heterogeneity) を説明する分子基盤は明らかにされていなかった。これまでに、他の癌で発現異常が見られる HRAS、p53、サイクリン、サイクリン依存性キナーゼ、Ki-67 などの発現が、免疫組織染色により検討されてきたが、KA と SCC の間に明確な差を見いだせなかった。そのため、発現量に差がありそうな蛋白質に見当をつけて比較検討する従来の方法論の限界を示していると考えた。

2. 研究の目的

上述のように、KA はわが国では自然退縮する良性腫瘍と考えられている。しかし、申請者が病理診断に関わった KA の全体構築をもつ病変を解析した結果、35% が悪性の有棘細胞癌であることが判明し、従来 KA とされてきた病変は良性病変と悪性病変が混在する疾患群である、と考えるに至った。しかし、形態的に類似した良性 KA と悪性 KA の違いを説明するには、発現量に差のありそうな蛋白質に見当をつけ、免疫組織染色で比較する従来の方法では限界がある。本研究は、プロテオミクス的手法を用い、良性 KA と悪性 KA の間で発現に差がある蛋白質を網羅的に調べることによって、KA の不均質性 (heterogeneity) の基盤を明らかにする。そのことによって、良性腫瘍とされてきた KA の概念の再考を促すとともに、実際の病理診断に活かすことを目的とする。

3. 研究の方法

当初は、まず、KA の構築をもつクレーター状上皮性腫瘍症例について、多数例を用いて病理組織学的再検討及び、再分類を行った。

それと平行して、KA 型 SCC と診断された例と通常型の SCC の FFPE 組織からタンパク質を抽出し、質量分析法にて、両群におけるタンパク質発現量を比較解析し、それらのバイオマーカー候補の探索を試みた。最初は、同定されたタンパク質のなかで、KA 型 SCC 群で発現が高値を示した mitogen-activated protein kinase 4 (MAPK4) について免疫組織化学的に、発現や局在を検討した。

さらに、その後は、MAPK4 発現やその他のがん関連タンパク質発現の制御にも関与する insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein (IGF2BP) に着目した。その中で、Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein-3 (IMP3) に注目し、KA と SCC における発現や局在について病理組織標本を用いて免疫組織化学的に解析すると共に、細胞生物学的に SCC 細胞株を用いて IMP3 の細胞機能に対する役割について解析した。

4. 研究成果

われわれの病理組織学的クライテリアを用いて、多数例のクレーター状上皮性腫瘍 (KA の全体構築をもつ腫瘍群) の臨床病理学的検討を行った結果、その中には、およそ 20% 程度 KA とは鑑別すべきクレーター状疣贅と診断すべき症例が含まれていることを明らかにした。また、全体の 56.3% は KA と診断できる例であったが、KA 内に悪性腫瘍を伴った例が 10% 強あり、それ以外のクレーター状を呈する悪性腫瘍が 10% 程度含まれていることをあきらかにした。特に 70 歳以上の高齢者においては 24.3% が悪性腫瘍をともなっており、さらに高齢者の顔面に至っては、28% もの症例で悪性腫瘍が見られた。

また、MAPK4 については、KA 型 SCC 群、SCC 群両群において、非浸潤部に比べ、浸潤部において MAPK4 の染色強度が有意に高値を示した。さらに、MAPK4 強陽性領域と Ki67 強陽性領域が同一の領域に認められることより、MAPK4 が細胞増殖や浸潤に関与する可能性が示唆された。但し、MAPK4 については、KA 型病変と通常型の SCC の鑑別においてはその有用性が確認できなかった。

IGF2BP3 は SCC の半数の症例で陽性であり、特に腫瘍蜂巣で細胞質にびまん性の陽性像が観察された。さらに SCC 細胞株で高発現している事も確認された (IGF2BP3 mRNA 発現レベルの相対値が正常皮膚 : SCC 細胞株 = 1 : 2000 に相当)。さらに、免疫組織学的解析から、IMP3 は正常皮膚では顆粒層と内毛根鞘に発現しており、SCC 症例では約 67% で IMP3 陽性であった。一方、KA 症例では全症例において IMP3 は陰性であった。

また、SCC 症例では IMP3 陽性症例の方が IMP3 陰性症例に比べて Ki-67 labeling index 値が高値を示した。さらに細胞生物学的解析から IMP3 が SCC の細胞増殖、細胞遊走・浸潤などを制御することが明らかとなった。これらの結果から IMP3 は皮膚 SCC の細胞増殖や細胞浸潤などの生物学的特徴に重要な役割を担っており、新しい治療標的や KA との鑑別に有用な分子マーカーと考えられた。

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 4 件)

Kanzaki A, Kudo M, Ansai S, Peng WX, Ishino K, Yamamoto T, Wada R, Fujii T, Teduka K, Kawahara K, Kawamoto Y, Kitamura T, Kawana S, Saeki H, Naito Z: Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein-3 as a marker for distinguishing between cutaneous squamous cell carcinoma and keratoacanthoma. Int J Oncol 2016;48:1007-1015. doi: 10.3892/ijo.2016.3323.

Ogita A, Ansai S, Misago N, Anan T, Fukumoto T, Saeki H: A clinicopathologic study of crateriform verruca: crateriform epithelial lesions histopathologically distinct from keratoacanthoma. J Dermatol, doi: 10.1111/1346-8138.13331. Epub ahead of print

Ogita A, Ansai S, Misago N, Anan T, Fukumoto T, Saeki H: Histopathological diagnosis of epithelial crateriform tumors: keratoacanthoma and other epithelial crateriform tumors. J Dermatol, doi: 10.1111/1346-8138.13390. Epub ahead of print

安齋眞一: 有棘細胞癌、日光角化症、Bowen 病、ケラトアカントーマの診断と治療 皮膚科臨床アセット 17 皮膚悪性腫瘍 古江増隆、山崎直也 編 中山書店 東京 2014:222-227

〔学会発表〕(計 3 件)

荻田あづさ、安齋眞一、三砂範幸、阿南隆、福本隆也、木村鉄宣、佐伯秀久: クレーター状上皮性腫瘍の病理組織学的診断: ケラトアカントーマと他のクレーター状腫瘍、第 31 回日本皮膚病理組織学会学術大会 2015 年 6 月 20 日、東京)

紺野 亜希子、工藤 光洋、安齋 眞一、山本 哲志、藤井 雄文、手塚 潔、彭 為霞、川名 誠司、内藤 善哉: FFPE 切片を用いたケラトアカントーマのプロテオーム解析、第 72 回 日本癌学会学術総会 (2013 年 10 月 3 日-5 日、横浜)

紺野 亜希子、工藤 光洋、山本 哲志、藤井 雄文、手塚 潔、彭 為霞、安齋 眞一、川名 誠司、内藤 善哉: ケラトアカントーマのホルマリン固定パラフィン包埋組織によるプロテオーム解析、第 102 回 日本病理学会総会 (2013 年 6 月 6 日-8 日、札幌)

〔図書〕(計 1 件)

実践! 皮膚病理道場: バーチャルスライドでみる皮膚腫瘍、土田哲也、山元修、安齋眞一編、医学書院、東京、2015.

〔産業財産権〕
出願状況 (計 件)

なし

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 件)

なし

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安齋 眞一 (ANSAI Shin-ichi)
日本医科大学・医学部・教授
研究者番号: 10159519

(2) 研究分担者

内藤 善哉 (NAITO Zenya)
日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号： 20237184

工藤 光洋 (KUDO Mitsuhiro)
日本医科大学・医学部・講師
研究者番号： 20256978

(3)連携研究者
()

研究者番号：