

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461697

研究課題名(和文) 悪性黒色腫における脈管増殖因子の発現と臨床予後の多施設共同による疫学的解析

研究課題名(英文) Correlation analysis between expression level of vascular growth factors and clinical prognosis in malignant melanoma in multicenter collaboration.

研究代表者

苅谷 嘉之(Kariya, Yoshiyuki)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70431559

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では悪性黒色腫の病理組織検体を用い各種脈管増殖因子群の発現を免疫染色により網羅的に解析し、臨床予後、他臓器転移などの多様な臨床情報を統計学的な解析をおこなった。HGF(肝細胞増殖因子)の発現と遠隔転移の有無に強い相関があることを見出した。悪性黒色腫患者の中で、遠隔転移群の原発巣では、非遠隔転移群と比較しHGFの発現が低い傾向が見られた。HGFはこれまでに、他の癌腫においても癌細胞の浸潤や転移などに大きく関与するタンパクであることが知られている。悪性黒色腫においても、遠隔転移に関連していると考えられ、予後予測因子、治療標的分子になりえる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the expression level of several vascular growth factors in melanoma tumor tissue samples by immunohistochemistry and statistically analyzed the correlation between the expression level and clinical factors including prognosis and distant metastasis. We discovered strong correlation between HGF(Hepatocyte growth factor) expression and the rate of distant metastasis. The primary tumor samples from patients with metastatic melanoma showed lower expression level of HGF. HGF has been reported to be associated with tumor invasion and metastasis in other type of cancers. Our investigation suggested that HGF play important role in melanoma tumor metastasis and can be a good candidate for prognosis-predicting factor or therapeutic target molecule.

研究分野：皮膚科学

キーワード：悪性黒色腫 皮膚腫瘍 血行転移 リンパ行転移 脈管増殖因子 予後

1. 研究開始当初の背景

皮膚悪性腫瘍の代表である悪性黒色腫は、血行性・リンパ行性転移の有無は疾患の予後の決定因子として非常に重要である。悪性黒色腫を治療する上で、個別の症例における血行性・リンパ行性転移の可能性を、初期の原発巣の段階で予測することが可能であれば、化学療法を含めた治療方針の最適化に大きく有用であり、悪性黒色腫の予後の改善が期待される。

腫瘍組織の転移には、それらの分化度、深達度、浸潤性、さらには最近解明されつつある上皮-間葉系転移現象などが関与するが、その背景には腫瘍組織自身が発現する接着分子、蛋白分解酵素、増殖因子、血管新生因子、ケモカインなどが関与することが近年明らかになってきている。

これら腫瘍組織の発現する蛋白と転移との関連を示した個別の報告は散見されるが、未だ皮膚腫瘍において網羅的に多症例について、転移への影響を解析し、その可能性を予測できる信頼度の高い因子の発見には至っていない。

悪性黒色腫を治療する上で、個別の症例における血行性・リンパ行性転移の可能性を、初期の原発巣の段階で予測することが可能であれば、1) 患者予後の推定、2) 化学療法を含めた治療方針の最適化、3) フォロアップ期間の重点観察臓器の決定などに大きく有用になると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、致死的な皮膚悪性腫瘍である悪性黒色腫の病理組織を用いた、国内多施設共同による後向きコホート研究である。これら皮膚悪性腫瘍の原発組織や転移組織における、血管・リンパ管の増殖因子群の発現を網羅的に解析し、これら因子群の発現パターンと臨床上的予後や他臓器転移の有無、その臓器親和性などの多様な臨床情報を、統計学的

に多因子解析する。並立して検索する脈管増殖因子の相対化した危険性を決定することで、皮膚腫瘍の初期段階より、患者の臨床予後や腫瘍の特性を予見しうる因子やその組み合わせを見いだすことを目的とする。

3. 研究の方法

3 大学病院から収集した悪性黒色腫 120 余りの症例の未染色病理標本を VEGF-A/B/C/D, PlGF, angiopoietin 1/2, HGF, bFGF, TGF β , PDGF-B, IGF-1/2, Ephrin B2, CXCR4, CXCL12, SDF1 などの各因子の特異的抗体を用いた酵素抗体法により染色する。各因子の発現を全腫瘍細胞に対する発現細胞の割合、もしくは発現強度の比較により数値化する。

発現細胞の割合の高い群、もしくは発現強度の強い群において、観察項目、特に病期と予後、転移出現時期の統計的差異の有無等の多因子を網羅的に検討する。また逆に予後の悪い群、もしくは転移出現時期の早い群における、各因子の発現傾向を検討することで、各皮膚悪性腫瘍の予後を決定しうる因子を同定する。

各疾患の5年生存率を元にした統計学的見積もりより、予定調査症例数は、各腫瘍とも、100 症例以上の解析が必須と考えた。その臨床予後、治療成績が定まった患者群の参加が、より精度の高い疫学研究には必須であり、各施設の初期診断後、少なくとも5年以上の経過した全ての患者を対象とする。同一の手法・化学療法により治療した患者群で、それらの臨床情報が残っていることが前提であることより、各大学皮膚科での皮膚腫瘍の患者群は1995年1月から2005年12月までに、各研究参加施設において組織学的に悪性黒色腫の確定診断を受け、その後の経過が確認できる全ての患者を対象とする。

4. 研究成果

悪性黒色腫の原発巣腫瘍組織に対し、各種増

殖因子に対する特異抗体を用い免疫染色を行った。各標本について、各因子の発現を定量化するために、全腫瘍細胞にする免疫染色陽性細胞の割合、および染色強度を評価し数値化を行い集計した。収集した臨床情報の中から、治療方針決定および予後推定に重要と推測される項目を抽出し、単変量解析および多変量解析を行い、各種増殖因子の発現パターンとの関連の統計学的解析を行った。その中で、HGF（肝細胞増殖因子）の発現と遠隔転移の有無に強い相関があることを見出した。解析を行った全 102 症例の中で、遠隔臓器転移があった症例は 6 例であった。そのうち 5 例では HGF が低発現であり、HGF 高発現の症例は 1 例のみであった。明らかな有意差はなかったが、HGF 低発現群では、遠隔臓器転移をきたしやすい傾向がみられた。

HGF はこれまで、癌細胞の浸潤や転移などに大きく関与するタンパクであり、腫瘍増殖に対しては促進的に働くと考えられている。今回われわれの解析結果はこれまでの知見と逆説的であるが、一方で、HGF 低発現のぶどう膜悪性黒色腫は肝転移を来しやすいとの報告もある。今回の結果より HGF は悪性黒色腫の遠隔転移の予測因子となる可能性が示唆された。

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 19 件)

1. Hayashi K, Matori S, Kariya Y, Sonosaki T, Yamaguchi S, Hagiwara K, Uezato H, Takahashi K. Dermoscopic observation of acquired digital fibrokeratoma developed on the dorsum of the fourth left toe. J Dermatol. 査読有 2016 Jan; 43(1): 107-8.
DOI: 10.1111/1346-8138.13152.

2. Sonosaki T, Miyagi T, Yamaguchi S, Arakaki O, Yamamoto YI, Arakaki M, Nakamura S, Kinjo N, Uezato H, Takahashi K. Pediatric case of oral mucous pemphigus complicated by protein-losing gastroenteropathy. J Dermatol. 査読有 2016 43(11):1392-1394.
DOI: 10.1111/1346-8138.13417.

3. 園崎 哲, 大久保 優子, 大嶺 卓也, 宮城 拓也, 苅谷 嘉之, 山本 雄一, 高橋 健造, 上里 博. マンソン孤虫症の 3 例 PCR 法による原因寄生虫種の同定. 西日本皮膚科 査読有 78(5) 522-527, 2016.
DOI: 10.2336/nishinohonifu.78.522

4. 苅谷 嘉之, 山城 充士, 山口 さやか, 粟澤 剛, 眞鳥 繁隆, 高橋 健造, 上里 博. 下顎部に生じた Nanta 骨性母斑の 1 例 本邦報告例の集計. 西日本皮膚科 査読有 78(5) 494-499, 2016.
DOI: 10.2336/nishinohonifu.78.494

5. 苅谷 嘉之, 山口 さやか, 内海 大介, 高橋 健造, 上里 博. デスモグレイン 1 遺伝子の変異による線状掌蹠角化症の小児例. 日本小児皮膚科学会雑誌 査読有 35(2) 117-121 2016. <http://jspd.umin.jp/>

6. 苅谷 嘉之, 山口 さやか, 大久保 優子, 高橋 健造, 上里 博, 佐野 文子小児の手掌に生じた黒癬. 日本小児皮膚科学会雑誌 査読有 35(1) 41-46 2016.
<http://jspd.umin.jp/>

7. Nakamura I, Kariya Y, Okada E, Yasuda M, Matori S, Ishikawa O, Uezato H, Takahashi K. A Novel Chromosomal Translocation Associated With COL1A2-PDGFB Gene Fusion in Dermato-

- fibrosarcoma Protuberans: PDGF Expression as a New Diagnostic Tool. JAMA Dermatol. 査読有 2015 1;151(12):1330-1337. DOI: 10.1001/jamadermatol.2015.2389.
8. Yamaguchi S, Okubo Y, Katano A, Sano A, Uezato H, Takahashi K. Primary cutaneous mucormycosis caused by *Mucor irregularis* in an elderly person. J Dermatol. 査読有 2015 42(2):210-4. DOI: 10.1111/1346-8138.12736.
9. 栗澤 剛, 栗澤 遼子, 山口 さやか, 宮城 拓也, 苅谷 嘉之, 高橋 健造, 上里 博. 右鼻翼部に血管拡張性肉芽腫様結節が生じた医原性カポジ肉腫の1例. 西日本皮膚科 査読有 77 (5) 492-496, 2015. DOI: 10.2336/nishinohonifu.77.492
10. 崎枝 薫, 栗澤 剛, 林 健太郎, 苅谷 嘉之, 眞鳥 繁隆, 川畑 有香, 高橋 健造, 上里 博先天性異所爪の1例. 西日本皮膚科 査読有 77 (5) 473-478 2015. DOI: 10.2336/nishinohonifu.77.473
11. 栗澤 剛, 林 健太郎, 苅谷 嘉之, 眞鳥 繁隆, 新嘉喜 長, 高橋 健造, 上里 博. 下肢の皮膚外科手術における伝達麻酔の有用性 日本皮膚科学会雑誌 査読有 125 (7) 41409-41417 2015. DOI:10.14924/dermatol.125.1409
12. 粕谷 百合子, 大久保 優子, 眞鳥 繁隆, 苅谷 嘉之, 高橋 健造, 上里 博, 浜田 聡, 百名 伸之, 太田 孝男. 診断に難渋した T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma の小児例. Source: 日本小児皮膚科学会雑誌 査読有 34 (2) 137-142 2015. <http://jspd.umin.jp/>
13. 林 健太郎, 仲村 郁心, 眞鳥 繁隆, 栗澤 剛, 山本 雄一, 苅谷 嘉之, 高橋 健造, 上里 博. 先天性 Bednar 腫瘍の1例. 日本小児皮膚科学会雑誌 査読有 34(2) 131-135 2015. <http://jspd.umin.jp/>
14. Kasuya Y, Yamaguchi S, Yamamoto Y, Uezato H, Takahashi K. Glossal pigmentation caused by the simultaneous uptake of iron and tea. Eur J Dermatol. 2014 査読有 24(4):493-4. DOI: 10.1684/ejd.2014.2371.
15. Miyagi T, Yamaguchi S, Yamamoto Y, Ohira A, Yasumura R, Nakasone N, Uezato H, Takahashi K. Varicella zoster virus encephalopathy in a patient with psoriatic arthritis treated with anti-TNF agents. Eur J Dermatol. 2014 査読有 24(3):398-9. DOI:10.1684/ejd.2014.2331.
16. 白瀬 春奈, 山口 さやか, 平良 清人, 林 健太郎, 苅谷 嘉之, 山本 雄一, 高橋 健造, 上里 博. Neoplasm 芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍の2例. 西日本皮膚科 査読有 76(6) 577-582 2014. DOI: 10.2336/nishinohonifu.76.577
17. 片野 あずさ, 内海 大介, 大平 葵, 粕谷 百合子, 苅谷 嘉之, 崎枝 薫, 眞鳥 繁隆, 平良 清人, 高橋 健造, 上里 博. 右肩部に生じた巨大皮下皮様嚢腫の1例. 西日本皮膚科 査読有 76(5) 469-472 2014. DOI: 10.2336/nishinohonifu.76.469
18. 眞鳥 繁隆, 宮城 拓也, 花城 ふく子, 園崎 哲, 林 健太郎, 栗澤 剛, 苅谷 嘉之, 高橋 健造, 上里 博. Simple Needle Manometer 法で早期診断したハブ咬症による

コンパートメント症候群の1例. 西日本皮膚科 査読有 76(5) 454-458. 2014.

DOI: 10.2336/nishinohonhifu.76.454

19. 大久保 優子, 内海 大介, 苅谷 嘉之, 林 健太郎, 栗沢 剛, 眞鳥 繁隆, 高橋 健造, 上里 博. 筋緊張性ジストロフィーに合併し、有棘細胞癌が疑われた毛母腫の1例. 西日本皮膚科 査読有 76(4) 353-356 2014.

DOI: 10.2336/nishinohonhifu.76.353

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 苅谷嘉之. 【CPC】診断に苦慮した右下腿紅色腫瘍. 日本皮膚科学会第68回西部支部学術大会. 2016年11月19日~20日 米子コンベンションセンター(鳥取市)

2. 平橋文、佐久川裕行、山城充士、林健太郎、新嘉喜長、眞鳥繁隆、苅谷嘉之、山本雄一、高橋健造. 単純黒子との鑑別を要した悪性黒色腫の1例. 日本皮膚科学会第78回沖縄地方会. 2016年8月28日 沖縄県医師会館(沖縄県南風原町)

3. 栗澤 剛、苅谷嘉之、眞鳥繁隆、新嘉喜長、栗澤遼子、高橋健造、上里 博: 後頭部に生じた皮下型隆起性皮膚繊維肉腫の1例. 第32回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会. 2016年5月27日 かがしま県民交流センター(鹿児島市)

4. 苅谷嘉之, 崎枝薫, 佐久川裕行, 仲村郁心, 高橋健造, 上里博. 高齢者の顔面に生じた紅色結節の1例. 日本皮膚科学会第75回沖縄地方会, 2015年11月29日, 沖縄県医師会館(沖縄県南風原町)

5. 苅谷嘉之、栗澤 剛、林健太郎、崎枝 薫、眞鳥繁隆、高橋健造、上里博. 術中迅速診断における全断面評価のための新しい切り出

し方法についての検討. 第31回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会. 2015年7月3日~4日 大阪国際会議場(大阪府大阪市)

6. 苅谷嘉之, 山城充士, 高橋健造, 上里博. 下顎に生じたNanta骨母斑の1例. 日本皮膚科学会第73回沖縄地方会, 2015年2月8日, 沖縄県医師会館(沖縄県南風原町).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

苅谷 嘉之(KARIYA Yoshiyuki)

琉球大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号: 70431559

(2)研究分担者

高橋 健造(TAKAHASHI Kenzo)

琉球大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 80291425

(2)研究分担者

上里 博(UEZATO Hiroshi)

琉球大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 10137721