

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：15101  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2014～2016  
課題番号：26860238  
研究課題名(和文)次世代シーケンサーによるポリオーマウイルス関連メルケル細胞癌の病態規定因子解明

研究課題名(英文) Analysis of pathogenesis using NGS in Merkel cell carcinoma associated polyomavirus

研究代表者  
松下 倫子 (Matsushita, Michiko)

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号：70642198

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚の神経原性悪性腫瘍であるメルケル細胞癌(MCC)は、高齢者に多く予後不良の難治がんであり、MCCの約80%でメルケル細胞ポリオーマウイルス(MCPyV)が検出され、MCCの発癌に寄与すると考えられている。本研究において、免疫組織化学染色にてMCPyV陰性MCCはMCPyV陽性MCCに比べCADM1の高発現、MALの低発現が示され、MCCにおいて予後不良との関連が示唆された。Hedgehog signal経路においては、SHHとGLI1の発現の増加と予後良好の関連が示唆され、また、MCCにおいてJAK-STAT経路の発現も認められた。以上の因子がMCCの発癌に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Merkel cell carcinoma (MCC) is a malignant neuroendocrine skin tumor that occurs most often in elderly patients. Approximately 80% of MCCs harbor Merkel cell polyomavirus (MCPyV), thought to be a carcinogenic agent. In this study, MCPyV-negative MCCs significantly expressed higher CADM1 and lower MAL than MCPyV-positive MCCs and related to unfavorable outcomes in MCCs. In hedgehog signaling pathway, increased SHH and GLI1 expression was associated with better prognosis. JAK-STAT signaling pathway was expressed in MCCs. Therefore, we suggest that these factors may play a important role in tumorigenesis of MCCs.

研究分野：医歯薬学

キーワード：メルケル細胞癌 MCPyV Immunohistochemistry CADM1 Hedgehog signal経路 JAK-STAT経路

1. 研究開始当初の背景

皮膚の神経原発性悪性腫瘍であるメルケル細胞癌 (MCC) は、高齢者に多い予後不良の難治がんであり、今後、高齢化が進む日本でも罹患者が急速に増加すると考えられ、新しい診断法、治療法の開発が期待される。これまでに、MCC と扁平上皮癌の合併症例では、メルケル細胞ポリオーマウイルス (MCPyV) は陰性であること、MCPyV 陽性、MCPyV 陰性 MCC において形態学的に有意に両者は異なること (Kuwamoto et al. Human Pathology, 2011、図 1) MCPyV 陰性 MCC では、陽性に比べ p53 変異が多いこと、MCC の予後に関して、MCPyV の感染の有無が関与すること (Higaki-Mori et al. Human Pathology, 2012、図 2) を証明してきた。しかしながら、MCC の発癌機序は十分に解明されておらず、治療法は、外科的切除、化学療法、放射線療法であるが、その選択における明確な指針はなく、現在、MCC において標準的な化学療法のレジメンはない状態である。

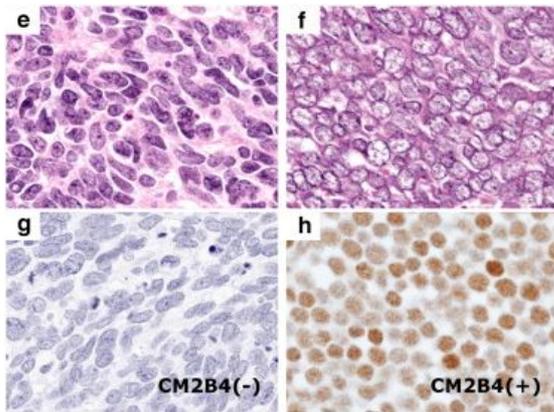


図 1 : MCPyV 陰性 MCC (e) と MCPyV 陽性 MCC (f) では、形態学的に有意に両者は異なっている。

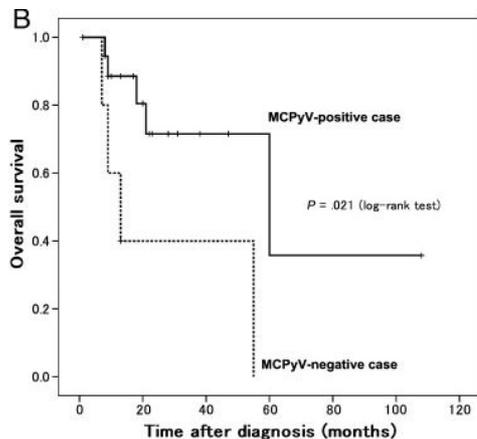


図 2 :MCPyV 陽性 MCC のほうが MCPyV 陰性 MCC に比べ、予後良好である。

2. 研究の目的

MCPyV 感染の有無で選択的に発現する新規分子の同定を行うことは、MCC 発症の解明に有用であるだけでなく、同定分子を標的として MCC に対する診断・治療の開発に臨床応用できる可能性が高い。MCPyV 感染が影響を及ぼしている予後規定因子を明らかにし、将来的な MCC の診断・治療に役立てることを目的としている。

3. 研究の方法

MCC において次世代シーケンサーによる解析。MCPyV 陽性 MCC、MCPyV 陰性 MCC における接着分子である CADM1、遺伝子改変酵素である AID、Hedgehog signal 経路、JAK-STAT 経路の活性化を免疫組織化学染色により評価を行い、予後を含めた臨床病理学的因子の解析を行った (解析には SPSS software を用いた)。

4. 研究成果

(1) MCC において次世代シーケンサーによる解析を行った所、MCPyV の有無での明瞭な差を認めなかった。

(2) CADM1、MAL に関して

接着分子である CADM1、MAL を免疫組織化学染色にて解析したところ、MCPyV 陰性 MCC は MCPyV 陽性 MCC に比べ、CADM1 の高発現、MAL の低発現が見られた。また、MCC において CADM1 の高発現、MAL の低発現と予後不良との関連が示唆された (図 3)。

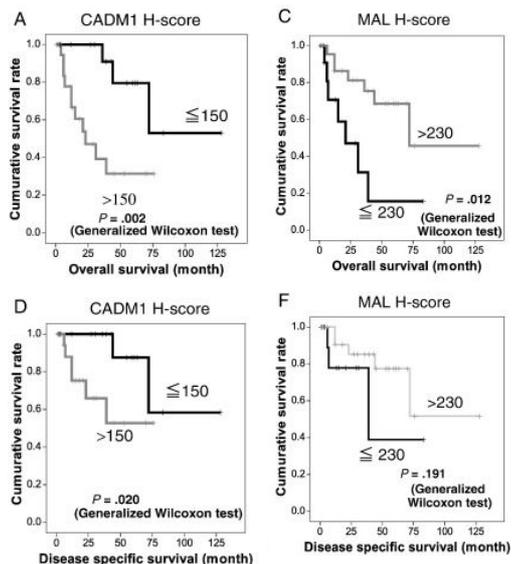


図 3 : CADM1、MAL における Kaplan-Meier 解析。

(3) AID (Activation-induced deaminase) に関して  
免疫組織化学染色にて AID および AID に関与する NF- $\kappa$ B、Pax5 の発現を検討した所、MCPyV 陽性 MCC に比べ、MCPyV 陰性 MCC において、AID が高発現していた。

(4) Hedgehog signal 経路に関して  
29 例の MCPyV 陽性 MCC、21 例の MCPyV 陰性 MCC を用い、SHH、IHH、PTCH1、SMO、GLI1、GLI2、GLI3 を免疫組織化学染色にて発現を検討した所、MCPyV 陽性 MCC で SHH の発現が有意に多く見られた。また、SHH、GLI1 は MCC において予後因子となる可能性が示唆された(図 4-1、図 4-2)。

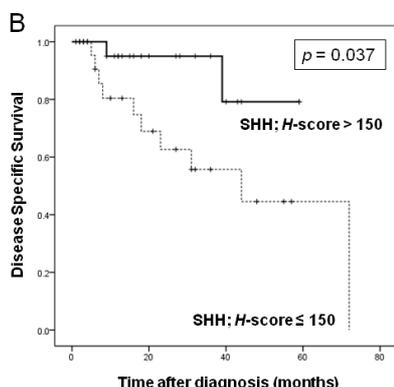


図 4-1 : SHH における Kaplan-Meier 解析。

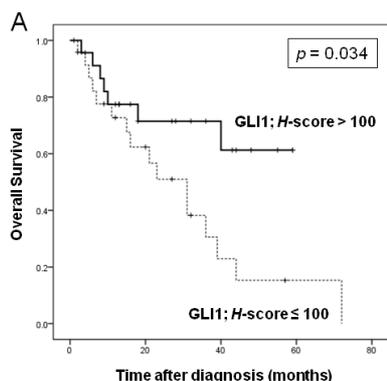


図 4-2 : GLI1 における Kaplan-Meier 解析。

(4) JAK-STAT 経路に関して  
免疫組織化学染色にて、p-JAK2、p-STAT3 の発現が MCC において確認された。

今回の研究内容は論文、または学会にて発表を行った。ドイツで発表を行った JAK-STAT 経路に関する研究内容は皮膚病理部門において the Best Poster Prize の候補となった。今回の研究結果を念頭におき、今後も MCC における発癌機序の解明、MCC の診断・治療に役立てる研究を続けていきたい。

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)

Iwasaki T, Matsushita M, Nonaka D, Nagata K, Kato M, Kuwamoto S, Murakami I, Hayashi K: Lower expression of CADM1 and higher expression of MAL in Merkel cell carcinomas are associated with Merkel cell polyomavirus infection and better prognosis. Hum Pathol. (査読有) 48:1-8, 2016.

Iwasaki T, Matsushita M, Nonaka D, Murakami I, Hayashi K: Comment on 'Cytokeratin 20-negative Merkel cell carcinoma is infrequently associated with the Merkel cell polyomavirus'. Mod Pathol. (査読有) 29(1):89-90, 2016.

Iwasaki T, Matsushita M, Nonaka D, Kato M, Nagata K, Murakami I, Hayashi K: Phosphohistone-H3 (PHH3) is prognostic relevant in Merkel cell carcinomas but Merkel cell polyomavirus is a more powerful prognostic factor than AJCC clinical stage, PHH3, Ki-67 or mitotic indices. Pathol Int. (査読有) 65(8):404-9, 2015.

[学会発表](計 13 件)

Matsushita M, Iwasaki T, Nonaka D, Kuwamoto S, Nagata K, Kato M, Kitamura Y, Hayash K: The relations of JAK-STAT signaling expressions to MCPyV-infection and outcome in Merkel cell carcinomas. XXXI International Congress of the International Academy of Pathology and 28th Congress of the European Society of Pathology, 2016 年,9 月 28 日, Cologne (Germany).

松下倫子、岩崎健、野中大輔、桑本聡史、長田佳子、加藤雅子、北村幸郷、林一彦：  
メルケル細胞癌における JAK-STAT 経路活性化と MCPyV および予後との関係  
第 105 回日本病理学会総会、2016 年 5 月 12 日、仙台国際センター(宮城県、仙台市)

黒見晃行、松下倫子、岩崎健、野中大輔、桑本聡史、長田佳子、加藤雅子、北村幸郷、林一彦：  
メルケル細胞癌における Hedgehog signal 発現と MCPyV 感染および予後との関連  
第 105 回日本病理学会総会、2016 年 5 月 12 日、仙台国際センター(宮城県、仙台市)

Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Nonaka D, Nagata K, Murakami I, Kato M, Kitamura Y, Hayashi K:  
*Activation-induced deaminase (AID) gene expressions in Merkel cell carcinomas by immunohistochemical and molecular analysis.*  
27th European Congress of Pathology, 2015年9月8日, Belgrade (Serbia).

松下倫子、岩崎健、桑本聡史、野中大輔、村上一郎、加藤雅子、長田佳子、北村幸郷、林一彦：  
メルケル細胞癌の発癌における活性化誘導シチジンデアミナーゼ発現関与の検討  
第104回日本病理学会総会、2015年4月30日、名古屋国際会議場（愛知県、名古屋市）

〔図書〕(計 1 件)

松下倫子、他、篠原出版新社、細胞診断マニュアル -細胞像の見方と診断へのアプローチ-、2014年、(314) 280-281。

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

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 0 件)

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〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松下 倫子 (MATSUSHITA MICHIKO)  
鳥取大学・医学部・助教  
研究者番号：70642198