

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860862

研究課題名(和文)乳房外パジェット病の悪性度に対するMUC5AC発現の関与の包括的検討

研究課題名(英文) Investigations for MUC5AC expression in extramammary Paget disease

研究代表者

秦 洋郎 (Hata, Hiroo)

北海道大学・医学研究科・助教

研究者番号：90399915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々は乳房外パジェット病の皮内病変、浸潤部、リンパ節からmicroarrayによる解析・比較を行って、MUCサブタイプの発現を検討した。その中でもMUC5ACは、発現の強度と病理学的深達度と予後不良の危険性には正の相関性があることが統計学的有意差を持って確認された。よって、乳房外パジェット病の進行にはMUC5ACの発現亢進が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Patients with in situ extramammary Paget's disease (EMPD) tend to have a good prognosis, although dermal invasion and metastasis are associated with significantly increased morbidity and mortality. No molecular markers that reflect invasiveness or progression have been established. We performed an initial microarray screening for in situ, invasive or metastatic lymph node lesions of EMPD, showing MUC-family overexpression. We analysed 44 specimens from 38 primary EMPD cases by immunohistochemical staining. We found that expressions of MUC5AC directly correlate with invasion and prognosis. MUC5AC expression was detected in 19 of 44 (43.2%) specimens. Invasive lesions and metastatic lymph nodes tended to express MUC5AC significantly higher than in situ lesions. Together, the degree of MUC5AC expression may correlate with the invasiveness and progression of EMPD, and may be a useful marker for identifying high-risk EMPD cases.

研究分野：皮膚腫瘍学

キーワード：皮膚腫瘍

1. 研究開始当初の背景

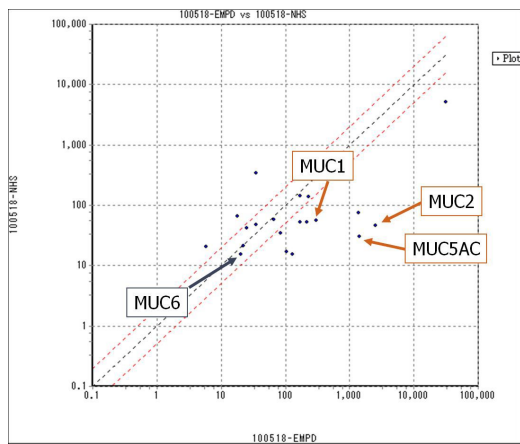
乳房外パジェット病の腫瘍の進展に關与する分子は解明されていなかった。そこで腫瘍原発巣・進展部の腫瘍組織のマイクロアレイ解析を用いて、それに関与する分子を同定すべく本研究を実施した。

2. 研究の目的

これまで乳房外パジェット病の浸潤能や転移能、あるいは生命予後との關連が確立されている免疫組織学的マーカーはなかったが、複数のムチンコア蛋白(MUC)サブタイプの発現を検討し、乳房外パジェット病における生物学的悪性度の指標となり得る免疫組織学的マーカーを見出した。本研究ではその知見に基づき遺伝子改変を導入した細胞株の作成を試み、さらに同細胞株をヌードマウスに移植した後治療実験を試みることを目的とする。

3. 研究の方法

マイクロアレイ解析によってムチンコアタンパクの発現上昇および mTOR 分子の RNA 発現上昇があり、これらの結果に基づいて臨床検体における免疫組織染色にてそれらのタンパクレベルでの発現を解析した。それらと臨床情報を合わせ、相関解析した。



乳房外パジェット病転移病変において MUC ファミリーの発現増加が認められた。

4. 研究成果

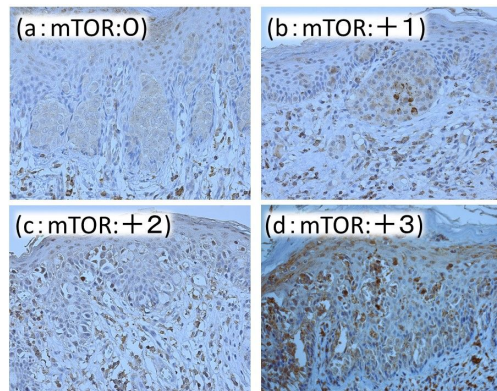
我々は皮内病変、浸潤部、転移の確認されたリンパ節のそれぞれの部位から microarray による解析・比較を行って、MUC サブタイプのうち、MUC5AC は、発現の強度と病理学的深達度と予後不良の危険性には正の相関性があることが統計学的有意差を持って確認され、報告した。一方、ムチンコア蛋白サブタイプ MUC1,2,そして 6 を用いた免疫染色では有意差は認めなかった。上皮内病変、浸潤部、リンパ節転移組織において MUC1 は陽性、MUC6 は陰性

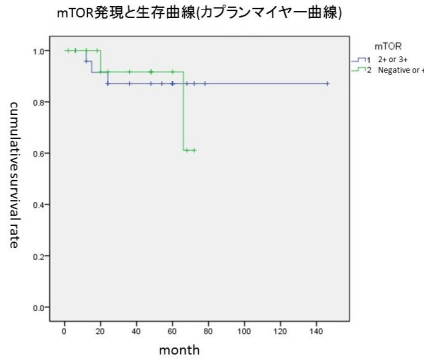
であった。MUC2 においては、発現の強度と病理学的深達度と予後不良の危険性には統計学的に有意な相関性は確認できなかったが、MUC5AC は、発現の強度と病理学的深達度と予後不良の危険性には正の相関性があることが統計学的有意差を持って確認された ( Hata H, et al. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2014 )。

MUC5AC	<i>in situ</i>	invasive	LN
-	16	2	1
+	2	0	0
2+	4	1	1
3+	6	8	3
	28	11	5

MUC5AC の発現強度と病理学的深達度の検討

さらに、本研究に先駆けて EMPD の上皮内病変、浸潤部、転移の確認されたリンパ節のそれぞれの部位から DNA microarray による網羅的に解析・比較を行っているが、DNA の発現の差異のある gene symbol を調べ、およそ 50000 種類を同定した。そのうち、正常皮膚に比べて病変部で 2 倍以上の増強のあるものを 200 種類、一方、2 分の 1 以下の減少を示すものを 7000 種類有ることを確認した。MUC 以外の gene symbol についても再検討を行い、腫瘍の浸潤性や生命予後などをさらに厳密に反映する免疫組織学的マーカーの検索をした。このうち mTOR の免疫染色による発現強度の検討が予後と関連していることを見出し、報告した ( J Eur Acad Dermatol Venereol, 2016. )。





なお、本研究では当遺伝子改変細胞株の樹立を計画していたが、乳房外パジェット病病変からの初代培養細胞の樹立が困難であったため、断念した。

### 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6件)

1. Hata H, Kitamura S, Inamura Y, Keisuke Imafuku, Homma E, Natsuga K, Abe R, and Shimizu H: mTOR expression correlates with invasiveness and progression of extramammary Paget's disease.

J Eur Acad Dermatol Venereol 30: 1238-9, 2016.

doi: 10.1111/jdv.13168

査読有

2. Hata H, Natsuga K, Kitamura S, Imafuku K, Yamaguchi Y, Ebihara Y, Shichinohe T, Hirano S, Shimizu H: Concomitant neoplasms in skin and stomach unveil the role of type IV collagen and E-cadherin in MUC5AC expression in vivo.

Br J Dermatol, 174: 395-7, 2016.

doi: 10.1111/bjd.14084

査読有

3. Hata H, Abe R, Suto A, Homma E, Fujita Y, Aoyagi S, Shimizu H:

MMP13 can be a useful differentiating marker between squamous cell carcinoma and benign hyperkeratotic lesions in recessive dystrophic epidermolysis bullosa.

Br J Dermatol 172: 769-73, 2015.

doi: 10.1111/bjd.13302

査読有

4. Hata H, Aoyagi S, Homma E, Shimizu H: Lessons from 28 cases of reconstruction by lenticular island pedicle flap at a single

institution

J Eur Acad Dermatol Venereol 29: 1015-1018, 2015.

doi: 10.1111/jdv.12575

査読有

5. Hata H, Abe R, Hoshina D, Saito N, Homma E, Aoyagi S, Shimizu H:

MUC5AC expression correlates with invasiveness and progression of extramammary Paget's disease.

J Eur Acad Dermatol Venereol 28: 727-32, 2014.

doi: 10.1111/jdv.12156

査読有

6. Aoyagi S, Hata H, Homma E, Shimizu H:

Technique for histological control of surgical margins in lip cancer.

J Dermatol 41: 316-8, 2014.

doi: 10.1111/1346-8138.12424.

査読有

〔学会発表〕(計1件)

1. Hata H, Aoyagi S, Homma E, Shimizu H:

The 3rd Eastern Asia Dermatology Congress Che-ju do, Korea. 2014年9月24日~26日

〔図書〕(計0件)

〔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〕

ホームページ等  
北海道大学皮膚科  
<http://www.derm-hokudai.jp/jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秦 洋郎 (Hata Hiroo)  
北海道大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号：90399915

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )