

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791173

研究課題名(和文)新規遺伝子P I C T 1の皮膚腫瘍における予後決定因子としての役割解析

研究課題名(英文)Role as a prognostic factor of Pict-1 in Skin carcinogenesis

研究代表者

成田 多恵(井上多恵)(Narita, Tae)

自治医科大学・医学部・研究員

研究者番号：10301061

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：P I C T-1はPTENを安定化させ、p53の発現量を制御することにより発癌を制御する新規癌遺伝子である。我々は日光角化症が有棘細胞癌に移行する、しなことに注目し、日光角化症の長期観察症例の予後に関して治療への反応性、単発・多発、他の皮膚癌の合併の有無を調べ、予後に差のある症例を抽出した。イミキモド有効患者と無効患者、日光角化症から有棘細胞癌を発症した患者に関してPict-1、p53発現を免疫組織科学的に調べた。過去の報告とは異なりイミキモド有効患者で細胞質、核のPict-1発現が多く、無効例、有棘細胞癌で発現が少なくなった。表皮でなんらかの紫外線発癌の防御機構が働いている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Pict-1 stabilizes PTEN, regulates the MDM2-p53 pathway. High expression levels of Pict1 are associated poor prognosis of several cancers with wild-type TP53. Solar Keratosis develops squamous cell carcinoma(SCC) in skin, so we studied clinical prognosis of solar keratosis in human with topical imiquimod application. Some clinical parameters, e.g. solitary, multiple, CR, PD, SCC progression were investigated. Immunohistochemical expression of Pict-1 and p53(WT, mutant) revealed imiquimod effective solar keratosis(CR) with higher cytoplasmic and nuclear Pict-1. It decreases imiquimod resistant solar keratosis(PD) and SCC. Weak p53 expression with strong cytoplasmic Pict1 in CR case, and no p53 expression in PD case. Paradoxically, strong p53 expression of SCC, suggesting more mutant p53 in SCC. These result suggests some mechanisms of UV carcinogenesis prevention in epidermis might regulate Pict-1 and p53 expression.

研究分野：皮膚腫瘍、分子シグナル伝達

キーワード：PTEN Pict-1 p53 日光角化症 有棘細胞癌

1. 研究開始当初の背景

【PTEN を標的とする新規癌抑制遺伝子 PICT1】 PTEN は癌抑制遺伝子として多くの悪性腫瘍で DNA 変異が見られる。しかし実際には蛋白レベルでの発現低下～消失が多く報告されていることから、PTEN 蛋白質の発現制御機構の解明が必須である。PICT1 は PTEN と結合して PTEN 蛋白質を安定化すること、PICT1 は神経膠腫 glioma(特に乏突起膠細胞系神経膠腫 oligodendrogliomas)で高頻度に遺伝子欠損する 19q 領域 j に存在すること、PICT1 の発現は神経膠腫・神経芽腫 neuroblastoma などの脳腫瘍や卵巣腫瘍で低下していること等が近年報告されていた。このようなことから PICT1 は PTEN を標的とする新規癌抑制遺伝子候補であると現在考えられている。

【PICT1 は p53 を制御する】 佐々木ら(nature med. 2011) は PICT1 欠損マウスを作製し、PICT1 は核小体において RPL11 の局在を制御することにより、p53 を制御する分子であることを明らかにした。腫瘍細胞や PICT1 欠損マウスでは、PICT1 の発現低下は p53 発現量を増加、細胞増殖を抑制した。臨床的には大腸がんと食道がんでは PICT1 低発現群で有意に生存期間が延長することを明らかにし、PICT1 の発現低下は腫瘍抑制に作用することが予想された。

2. 研究の目的

PTEN 結合分子 PICT1 は PTEN 蛋白質を安定化すること、神経膠腫において高頻度に遺伝子欠損する遺伝子領域に存在すること等が既に報告されており、PICT1 は PTEN を標的とする新規癌抑制遺伝子であると考えられている。佐々木ら(nature med. 2011) は PICT1 欠損マウスを作製し、PICT1 は核小体において RPL11 の局在を制御することにより、p53 を制御する分子であることを明らかにした。大腸がんと食道がんでは PICT1 低発現群で有意に生存期間が延長することを明らかにし、PICT1 の発現低下は腫瘍抑制に作用した。しかし各臓器における PICT1 の機能はまだ明らかにされていない点が多い。当該研究では皮膚における PICT1 の臨床的役割を解析することを目的とする。

申請者はこれまで角化細胞と色素細胞において PTEN の機能解析を行い、皮膚がんにおけるメカニズムを明ら

かにしてきた。既に皮膚がんでは PICT1 の発現低下がみられること、PICT1 ヘテロ欠損マウスでは DMBA/TPA 塗布による乳頭腫形成が抑制されたこと(右図)、ケラチノサイト特異的 PICT1 欠損マウスでは皮膚に重層障害を認めること等が見いだされており、PICT1 が皮膚がんの発生や皮膚の分化に何らかの役割を持っていることが示唆される。当該研究では皮膚における PICT1 の臨床的役割を解析することを目的とする

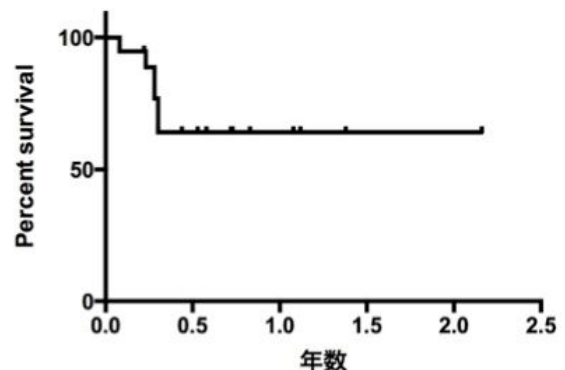
3. 研究の方法

われわれは皮膚癌のなかでもケラチノサイトの表皮内癌である日光角化症に着目し、ヒト病理標本における Pict-1 発現、Pict-1 を制御する p53 が日光角化症の治療成果、予後に与える影響を検討した。日光角化症の長期観察症例(～2年)を抽出し、イミキモドクリーム、5-FU 使用群、液体窒素治療群、手術群の長期予後、単発・多発、他の皮膚癌の合併、病理組織学的に表皮肥厚、毛包浸潤の有無等に関して検討した。

臨床的に抽出された各パラメータの差異による Pict-1, p53 発現パターンに関して免疫組織学的に検討した。

4. 研究成果

日光角化症の長期観察症例 19 例(～2年)に関して検討した結果、特にイミキモドクリーム外用群は治療終了3ヶ月後に完全消失(著効)率 83%、治療終了1年後に 75% であり、Kaplan-Meier 法では使用4ヶ月以内にイモキモドクリーム有効(完全消失)例と無効例に分かれた。



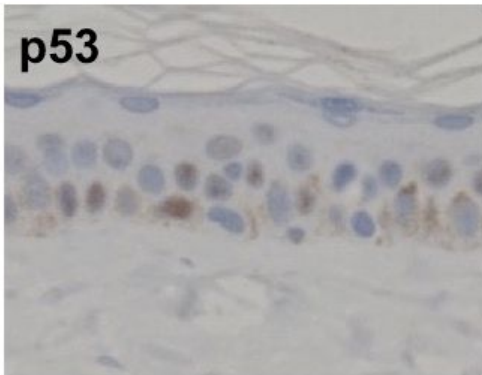
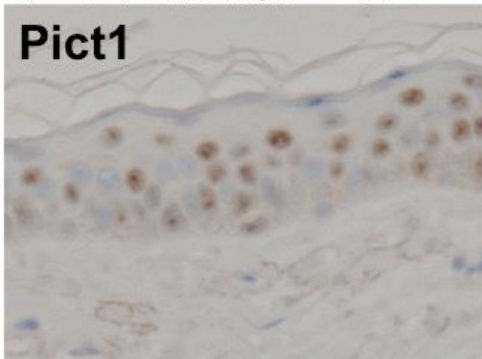
(図1) イミキモド有効/無効の生存曲線

病理組織学的に HE 標本において有効例と無効例、表皮肥厚や毛包浸潤の有無に関して検討したが、特に有意な相関はなかった。

そこで、イミキモド有効例と無効例の日光角化症、無効例に発症した有棘細胞癌に関して Pict-1 と p53 の発現パターンに関して免疫組織学的に検討した。

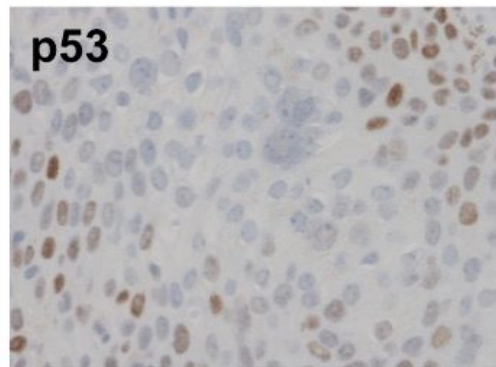
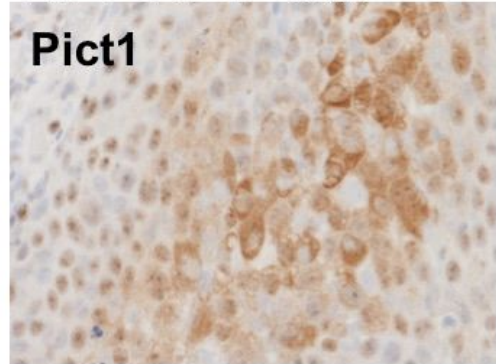
(図 2) 露光部健常皮膚の Pict1, p53 発現 (x400)

健常皮膚(露光部)

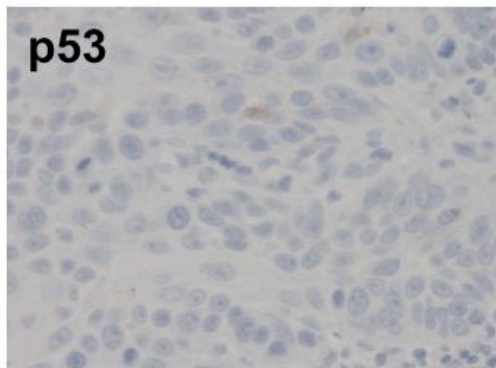
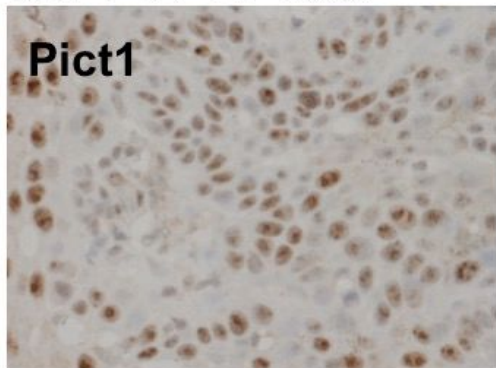


(図 3) 日光角化症(AK)イミキモド有効例、無効例と有棘細胞癌(SCC)イミキモド無効例の Pict1, p53 発現 (x400)

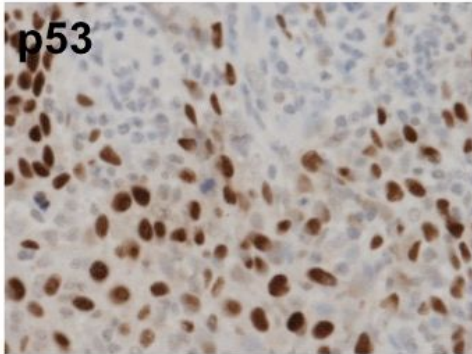
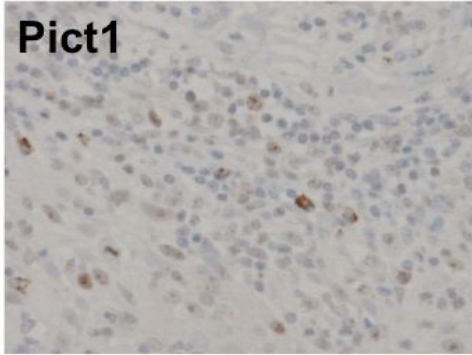
AK イミキモド有効



AK イミキモド無効



SCC イミキモド無効

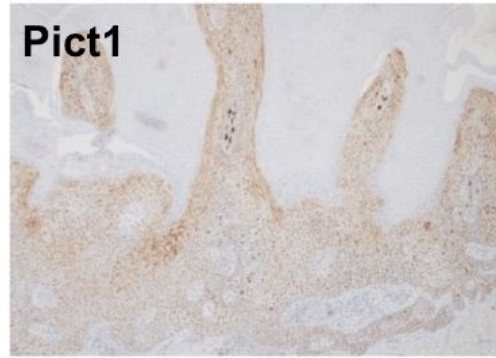


日光角化症では、イミキモド有効例では表皮上層の細胞質、核内に Pict1 陽性、Pict1 陽性部位と反転して p53 陽性細胞がみられた。イミキモド無効例では主に核内の Pict1 発現が強く、同部位の p53 発現は消失していた。

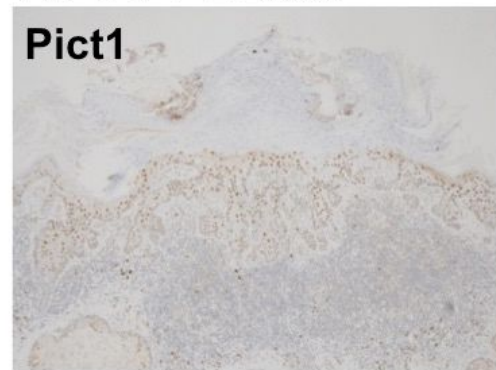
有棘細胞癌(イミキモド無効例)では Pict1 核内発現が弱い反面、p53 発現は非常に強かった。本研究で用いた抗 p53 抗体は wild type p53 と mutated p53 の両方を認識する。(図3)

(図4) 表皮の Pict1 発現 (x40)

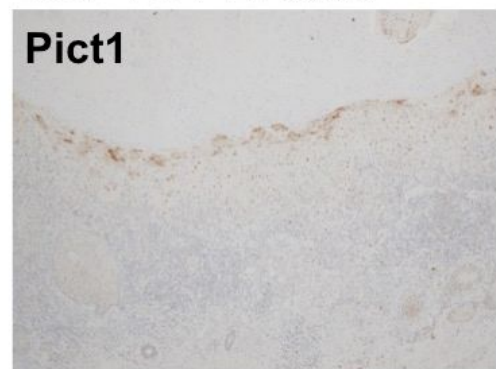
AK イミキモド有効



AK イミキモド無効



SCC イミキモド無効



本研究では治療有効な日光角化症が細胞質、核に Pict1 発現が多く、治療抵抗性の日光角化症、有棘細胞癌に進展すると核の Pict1 発現が少なくなるという結果であった。(図4) これまで佐々木ら (Sasaki M and Kawahara K et al. *nature med.* 17. 944. 2011) は p53 変異のない大腸がんや食道がんにおいて Pict1 の発現減少は予後良好となること、岡村ら (Okamura K et al. *Oncoscience.* 1. 375. 1014) は p53 変異のない非肺小細胞癌で細胞質の Pict1 の発現増強とリンパ節浸潤への有意な相関を報告している。本研究では p53 変異の有無の検討にはまだ至っていないが、日光角化症と有棘細胞癌の発症には紫外線暴露による癌抑制遺伝子 p53 変異が

関わるとされている。今後の課題として、光老化皮膚、日光角化症、有棘細胞癌の紫外線発癌段階で生じる p53 変異の有無と Pict1 発現パターンの変化を検討し、紫外線発癌とその修復機構、発癌機構を解明し、日光角化症の予後因子を解明できることに期待する。

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)

- (1) <臨床例> 尋常性乾癬のアダリムマブ投与中に生じた逆説的反応 査読有
成田多恵、塚原理恵子、出光俊郎
皮膚病診療 36. 413-416, 2015.
- (2) Your Diagnosis. 限局性全身性強皮症 (limited cutaneous SSc: lcSSc)
井上多恵、出光俊郎 査読無
Visual Dermatology 14. 2015.
- (3) 診断学 07. 膿疱をみたとき
成田多恵、出光俊郎 査読無
Visual Dermatology. Vol13. 2014.
- (4) 【体幹の皮膚病-非炎症性】<臨床例> 融合性細網状乳頭腫症 査読有
塚原理恵子、出光俊郎、成田多恵

〔学会発表〕(計 4 件)

- (1) Can Pict-1 be a useful prognostic marker for skin cancers? Tae Inoue-Narita, 日本研究皮膚科学会 第 4 回きさらぎ塾. 2013 年 2 月 7 日~10 日. ホテル日航アリビラ (沖縄県中頭郡)
- (2) 日光角化症に対するイミキモド 5% クリーム (ベセルナクリーム[®]) 使用の予後に関する検討 2014 年 7 月 17 日. ベセルナクリーム研究会 浦和パインズホテル (さいたま市)
- (3) 皮疹を契機に診断されたが皮膚病変の制御が困難な血管内大細胞型 B 細胞リンパ腫の 1 例, 成田多恵、塚原理恵子、星野茂、出光俊郎. 2014 年 9 月 4 日、5 日、第 78 回日本皮膚科学会東部支部学術大会、ホテル青森 (青森市)
- (4) きれいな傷あとのための創傷治癒の知識. 成田多恵. 2014 年 7 月 13 日. 第 32 回日本美容皮膚科学会 日本皮膚科学会認定美容皮膚科・レーザー指導専門医講習会、東京ベイ舞浜ホテルクラブリゾート (浦安市)
- (5) ロドデノール配合化粧品の関与が疑われた白斑黒皮症の一例. 塚原理恵子、成田多恵、出光俊郎. 2014 年 7 月 11 日~13 日. 第 32 回日本美容皮膚科学会、東京ベイ舞浜ホテルクラブリゾート (浦安市)
- (6) Sezary 症候群様症状を呈した末梢性 T 細胞リンパ腫の一例. 塚原理恵子、成田多恵、佐藤博之、出光俊郎. 2014 年 5 月 30 日~6 月 1 日、第 133 回日本皮膚科学会総会、国立京都国際会館 (京都市)

(7) Dsg1 陽性の口腔内扁平苔癬の 1 例. 成田多恵、小山尚俊、山田朋子、神谷浩二、青山裕美、出光俊郎. Dsg1 陽性の口腔内扁平対戦の 1 例. 2012 年 10 月 16~17 日、第 34 回水疱症研究会、ホテルニューキャッスル (弘前市)

(8) Handyscope, iPhone, iPad を用いたダーモスコピー、トリコスコピーの試み. 成田多恵、飯田絵理、出光俊郎. 2013 年 8 月 28 日、第 39 回皮膚かたち研究会学術大会、慈恵医科大学講堂 (東京都)

〔図書〕(計 2 件)

- (1) 内科で出会う 見た目で探す皮膚疾患アトラス 用土社 出光俊郎編. 2012.
- (2) 内科で役立つ 一発診断から迫る皮膚疾患の鑑別診断 用土社 出光俊郎 編. 2013

〔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 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
成田多恵 (井上多恵) (NARITA, Tae)
自治医科大学 副手
研究者番号: 10301061
- (2) 研究分担者 ()
研究者番号:
- (3) 連携研究者 ()