

令和元年6月24日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19718

研究課題名(和文) イトラコナゾールによるヘッジホッグ伝達経路阻害と獲得免疫の解析

研究課題名(英文) Analysis of hedgehog transmission pathway inhibition and acquired immunity by itraconazole

研究代表者

加来 洋 (KAKU, YO)

京都大学・医学研究科・特定病院助教

研究者番号：00769862

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)：本研究の目的である基底細胞癌と免疫細胞の相互作用を解析するため、二光子顕微鏡を用い基底細胞癌の切除検体を未染色で観察を行った。他の皮膚癌における免疫細胞との相互作用を比較するため、基底細胞の他に正常皮膚や日光角化症、ボーエン病、乳房外パジェット病も含め観察し条件検討を行った。表在性の基底細胞癌では、有棘細胞癌の細胞と比較して小型の細胞が腫瘍胞巣を形成し、メラニン顆粒と思われる蛍光の強い物質が胞巣内に散在していることが観察された。今後はCD3, CD4, CD8などの免疫染色を追加し、基底細胞がん細胞と免疫細胞の相互作用を解析し、イトラコナゾールが免疫細胞に与える影響について形態学的な解析を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

二光子顕微鏡を用いた観察により、これまでの皮膚切片による定点的な平面像のみならず空間的、時間的な評価により皮膚悪性腫瘍と皮膚免疫応答の観察することができた。今後、イトラコナゾール投与後の基底細胞癌の評価につながれば、医療の臨床の現場で、基底細胞癌治療への応用に直結する可能性がある点に意義がある。

研究成果の概要(英文)：In order to analyze the interaction between basal cell carcinoma and immune cell infiltrate, we observed unstained specimens of basal cell carcinoma with a two-photon microscope. In order to compare those in other skin cancers, we also examined normal skin, actinic keratosis, Bowen's disease and extramammary Paget's disease. In superficial basal cell carcinoma, the tumor nests were composed of smaller cells than squamous cell carcinoma, and a substance with strong fluorescence that seems to be melanin granules is scattered in the nests. From now on, immunostaining such as CD3, CD4 and CD8 will be added, and the interaction between basal cell carcinoma cells and immune cells will be analyzed, and morphological analysis will be conducted on the influence of itraconazole on immune cells.

研究分野：皮膚科学

キーワード：基底細胞癌 基底細胞母斑症候群 ヘッジホッグ イトラコナゾール

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、基底細胞癌の発症のメカニズムとしてヘッジホッグ経路の活性化が関与していることが報告されている。Vismodegibをはじめとするヘッジホッグ阻害薬の創薬により、局所進行例や多発例、転移例などの切除不能例に対する一定の有効性(奏効率30~60%)が報告されている。なおPTCH遺伝子変異を有する基底細胞母斑症候群(Nevoid basal cell carcinoma syndrome: NBCCS)の患者では無数の基底細胞癌が出現するが、100%の奏効率を有する。

ヘッジホッグ阻害薬の抗腫瘍効果の機序については、まだ未解明の部分も多い。単にヘッジホッグ経路のシグナル伝達を阻害することによるヘッジホッグ経路活性の低下、それによる腫瘍細胞増殖の阻害だけでなく、細胞障害性Tリンパ球の病変部への流入、獲得免疫の賦活化、そして局所でのケモカイン/サイトカインネットワークの変化による微小環境のダイナミックな変化も起こっていることを、大塚篤司(研究協力者)らが報告した。さらに近年、イトラコナゾールがヘッジホッグ伝達を阻害するという報告があり、実際一部の基底細胞癌に効果的であると報告された。

2. 研究の目的

今研究では、基底細胞癌に対する腫瘍免疫の機能においてイトラコナゾールがどのように働くか解明することを目指す。また、基底細胞母斑症候群患者における基底細胞癌へのイトラコナゾール内服療法が獲得免疫に果たす役割についても評価する。

3. 研究の方法

イトラコナゾールがin vitroで免疫細胞に与える影響を評価する。基底細胞癌モデルマウスを作成しイトラコナゾールの治療効果を検討する。さらに、1ヶ月間イトラコナゾールを内服したBCC患者から根治的手術を施行し、生検時と比較した病理組織学的解析を行う。基底細胞癌を発症しているNBCCSの患者に対しイトラコナゾールにて加療し、腫瘍径の評価、さらには腫瘍浸潤部位の免疫学的解析を行う。

4. 研究成果

本研究の目的である基底細胞癌と免疫細胞の相互作用を解析するため、二光子顕微鏡を用いて基底細胞癌を含む皮膚腫瘍の切除検体を未染色で観察を行った。切除後1時間から4時間以内の検体を使用した。他の皮膚がんにおける免疫細胞との相互作用を比較するため、基底細胞の他に正常皮膚や日光角化症、ボーエン病、乳房外パジェット病も含め観察し条件検討を行った。対物20倍レンズを使用し感圧した。日光角化症、ボーエン病を含む上皮内有棘細胞癌においては角層の肥厚と表皮角化さ脂肪の核の腫大や細胞の腫大が観察され、また密度の増加や配列の乱れと表皮の肥厚を確認することができた。乳房外パジェット病では、角層内では表皮から排出されたと思われるパジェット細胞の死細胞が角層内に観察

された。

基底細胞癌は、表在性の基底細胞癌では、有棘細胞癌の細胞と比較して小型の細胞が腫瘍胞巣を形成し、メラニン顆粒と思われる蛍光の強い物質が胞巣内に散在していることが観察された。

今後はCD3,CD4,CD8などの免疫染色を追加し、基底細胞がん細胞と免疫細胞の相互作用を解析し、イトラコナゾールが免疫細胞に与える影響について形態学的な解析を行う。

5．主な発表論文等

なし

〔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：

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：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 特になし

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名

ローマ字氏名：

所属研究機関名：京都大学部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：大塚篤司

ローマ字氏名：Atsushi Otsuka

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。