

令和 2 年 6 月 24 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15644

研究課題名(和文)メルケル細胞癌におけるエピゲノム異常の統合的解析

研究課題名(英文)Analysis of epigenomic abnormalities in Merkel cell carcinoma

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) 3,300,000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。本研究では、転写抑制性のヒストン修飾であるH3K27me3においてMCPyV陰性例はMCPyV陽性例に比べ有意な低下が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝子発現やクロマチン状態は、ヒストン修飾を始めとしたエピジェネティクスな制御を受ける。H3K27me3の修飾状態がMCPyV陽性MCCとMCPyV陰性MCCで異なることからMCPyV陽性MCCとMCPyV陰性MCCでの遺伝子発現の差異の原因の一つである可能性が示唆され、治療法の開発へとつながる研究基盤となることが期待される。

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, modification of H3K27me3 was significantly lower in MCPyV-negative MCCs than in MCPyV-positive MCCs.

研究分野：医歯薬学

キーワード：MCPyV SWI/SNF複合体 H3K27me3 Notch

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メルケル細胞癌 (MCC) は予後不良の皮膚の神経原発性悪性腫瘍である。高齢者の露光部、免疫力低下した者に好発する。2008 年に MCC からメルケル細胞ポリオーマウイルス (MCPyV) が発見された。MCPyV はポリオーマウイルス科アルファポリオーマウイルス属に分類されているウイルスであり、二本鎖環状 DNA ウィルスで、約 5.4kbp のゲノムを有している。早期遺伝子は細胞に感染後、ウィルスの複製に先立ち発現する領域であり、ウィルスの複製や細胞の腫瘍化に關与する Large T 抗原 (LT) と small T 抗原 (sT) がコードされている。後期遺伝子はウィルスのカプシドタンパクをコードしており、MCPyV では、VP1、VP2、VP3 が遺伝子上に見いだされる。

MCC は MCPyV 感染が認められる MCPyV 陽性 MCC と MCPyV 感染が認められない MCPyV 陰性 MCC とに分けられる。MCPyV はヒトに広く感染が認められる常在ウイルスであることが知られているが、MCC の発症は稀である。MCPyV 陽性 MCC と MCPyV 陰性 MCC では遺伝子変異の量など様々な点で生物学的な相違がある。MCPyV 感染による MCC の発癌への寄与が示されているが、MCC の発癌機序や治療法は十分に解明、確立されていない。

これまでに、MCC の約 80% で MCPyV が感染し予後因子となっていることや (図 1)、PI3K-Akt-mTOR、JAK-STAT 経路の発現異常等を明らかにした。遺伝子発現はヒストンバリエーションの選択、ヒストン修飾、クロマチン高次構造の変換に至る幅広い動的クロマチン構造により制御されている。MCC におけるこれらの制御に関しては十分に明らかとなっていない。

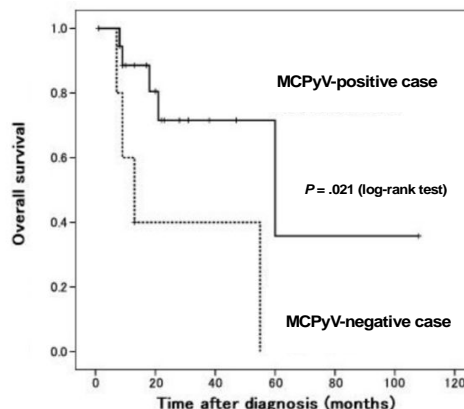


図 1 MCPyV の感染の有無と予後

2. 研究の目的

MCC においてエピゲノム異常に着目し、MCC の病態の解明、治療標的因子の探索を行うことである。

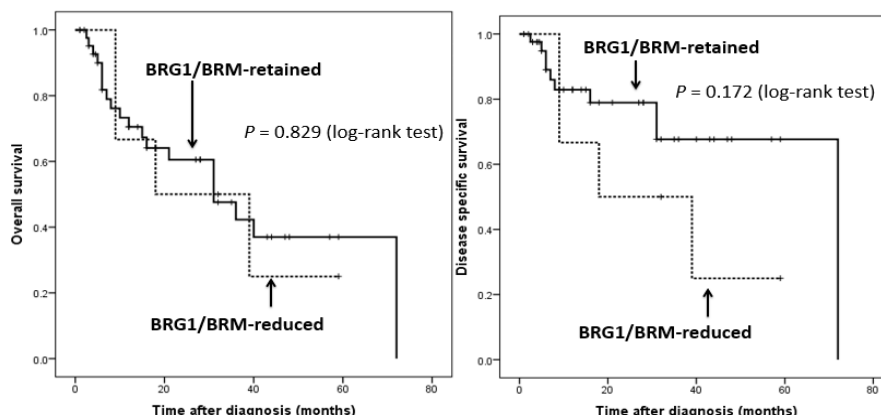
3. 研究の方法

MCPyV 陽性 MCC および MCPyV 陰性 MCC を用い、クロマチン構造の改変に關わる蛋白群である SWI/SNF 複合体、転写抑制性のヒストン修飾である H3K27me3、また Notch 経路に着目し免疫組織化学的解析後、予後 (SPSS を使用) を含めた臨床病理学的因子の解析を行った。

4. 研究成果

(1) MCPyV 陽性 MCC および MCPyV 陰性 MCC を用い、INI1、BRG1、BRM、ARID1A の抗体を用い、SWI/SNF 複合体の免疫組織化学的発現の検討を行った。MCC component における発現減弱例は INI1 : 0/50、BRG1 : 5/50、BRM : 2/50、ARID1A : 0/50 であった。BRG1 および BRM の発現減弱例は MCPyV 陽性 MCC にくらべ、MCPyV 陰性 MCC に多かったが有意差は認められなかった。また、OS、DSS とともに予後との関連性は示されなかった (図 2)。MCC と SWI/SNF 複合体との関連性は示唆されなかったものの、Squamous cell carcinoma (SCC) 合併 MCC の SCC 領域のみで BRG1 減弱を示す例があり、MCC 成分との間の遺伝子的差異が示唆された。

図 2 BRG1/BRM の発現と予後 (OS と DSS)



(2) MCPyV 陰性 MCC は MCPyV 陽性 MCC に比べ遺伝子変異が多いことが報告されている。転写抑制性のヒストン修飾である H3K27me3 の有無と MCPyV 感染、予後に関して免疫組織化学的解析を行った。それぞれ、MCPyV 陽性と MCPyV 陰性間の比較、MCPyV 陽性と MCPyV 陰性 (合併扁平上皮癌なし)、MCPyV 陽性と MCPyV 陰性 (合併扁平上皮癌あり)、MCPyV 陰性 (合併扁平上皮癌なし) と MCPyV 陰性 (合併扁平上皮癌あり)、Pure MCC histology (MCPyV 陽性および MCPyV 陰性) と MCPyV 陰性 (合併扁平上皮癌あり) で比較したところ、MCPyV 陰性例は MCPyV 陽性例に比べ有意な低下が認められた。また、合併扁平上皮癌のある陰性例は合併癌のない陰性例に比べ有意に低下していた (Table 1)。予後に関して、OS、DSS とともに H3K27me3 の修飾と予後に関連性は認められなかった。MCPyV や合併癌の有無で H3K27me3 の修飾状態が異なることは、MCPyV の有無による遺伝子発現の差異の要因の一つになる可能性を示唆していると考えられる。

Table 1. H3K27me3 免疫染色と MCPyV の有無、組織型との関係

	H3K27me3 H-score (mean ± SD)	P-value ^a
MCPyV-positive MCCs (n=20)	93.2 ± 56.4	0.002*
MCPyV-negative MCCs (n=21)	40.0 ± 52.9	
MCPyV-positive MCCs (n=20)	93.2 ± 56.4	0.744
Pure MCPyV-negative MCCs (n=6)	85.8 ± 59.6	
MCPyV-positive MCCs (n=20)	93.2 ± 56.4	< 0.001*
Combined MCPyV-negative MCC component (n=15)	21.6 ± 38.3	
Pure MCPyV-negative MCCs (n=6)	85.8 ± 59.6	0.036*
Combined MCPyV-negative MCC component (n=15)	21.6 ± 38.3	
Pure MCC histology (MCPyV-positive and MCPyV-negative) (n=26)	91.5 ± 56.0	< 0.001*
Combined MCPyV-negative MCC component (n=15)	21.6 ± 38.3	

a, Mann-Whitney U test; *, statistically significant

(3) MCPyV 陽性 MCC、MCPyV 陰性 MCC に対して Notch1、Notch2、Notch3、JAG1 抗体を使用し、Notch 経路に関して免疫組織化学的に検索したところ Notch1、Notch2 の発現に有意な差は認められなかった (図 3)。Notch3 の高発現は MCPyV 陰性 MCC に比べ MCPyV 陽性 MCC で有意に認められ、JAG1 の高発現は MCPyV 陽性 MCC に比べ、MCPyV 陰性 MCC で有意に認められた (図 3)。予後に関して、Notch3 の高発現が予後良好 (OS) の傾向を示した (図 4)。

図 3 MCPyV 陽性 MCC、MCPyV 陰性 MCC における免疫染色の代表例

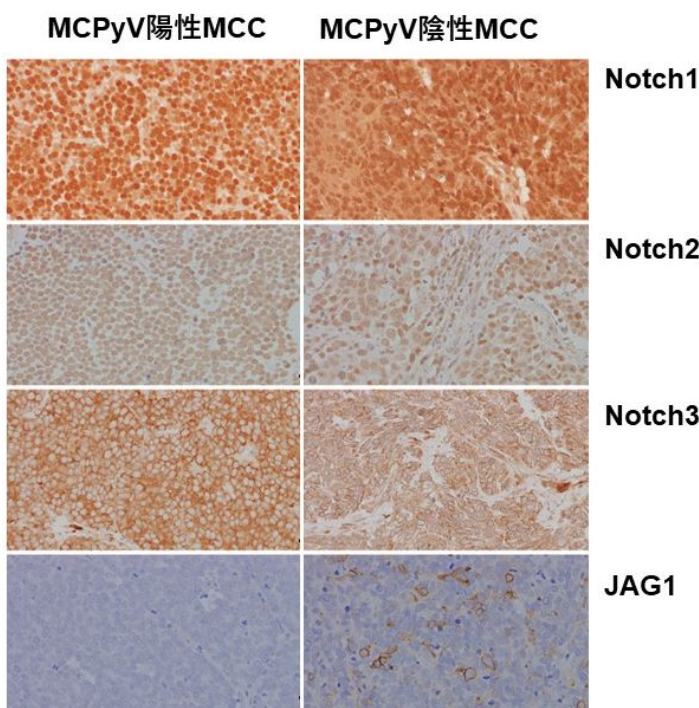
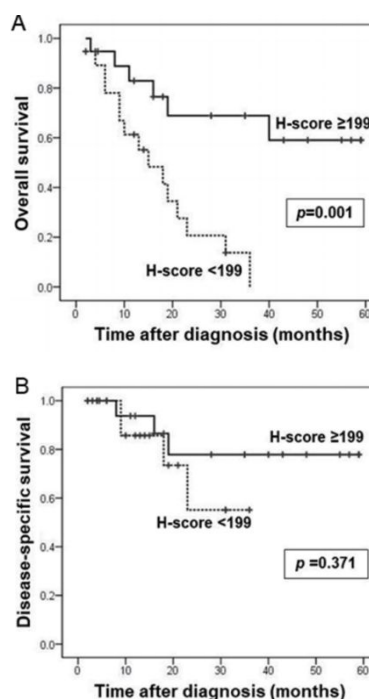


図 4 Notch3 の発現と予後 (OS と DSS)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Wardhani LO, Matsushita M, Kuwamoto S, Nonaka D, Nagata K, Kato M, Kitamura Y, Hayashi K	4. 巻 39
2. 論文標題 Expression of Notch 3 and Jagged 1 Is Associated With Merkel Cell Polyomavirus Status and Prognosis in Merkel Cell Carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 319-329
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.13114.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Matsushita M, Iwasaki T, Kuwamoto S, Lusi Oka Wardhani, Nonaka D, Nagata K, Kato M, Kitamura Y, Hayashi K.
2. 発表標題 The histone modification H3K27me3 is reduced in MCPyV-negative Merkel cell carcinomas.
3. 学会等名 30th European Congress of Pathology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松下倫子、岩崎健、桑本聡史、野中大輔、長田佳子、加藤雅子、北村幸郷、林一彦
2. 発表標題 メルケル細胞ポリオマウイルス陰性のメルケル細胞癌では、ヒストンH3K27me3修飾が低下する
3. 学会等名 第107回日本病理学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matsushita M, et al.
2. 発表標題 Altered expression of SWI/SNF complex and its significance in Merkel cell carcinoma.
3. 学会等名 29th European Congress of Pathology (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----