

令和 5 年 5 月 16 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08679

研究課題名(和文) 悪性黒色腫におけるHedgehogシグナル伝達経路の活性化が示す臨床的意義の検討

研究課題名(英文) Analysis of the clinical influence of Hegehog signaling activation in melanoma.

研究代表者

種瀬 啓士 (Tanese, Keiji)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・非常勤講師

研究者番号：70464815

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：悪性黒色腫に対しては近年種々の治療選択肢が得られているが、根治に至る症例は決して多くない。したがって、腫瘍が有する既存の治療標的とは異なる分子生物学的な特性を明らかにする必要がある。そこでHedgehogシグナル伝達経路(以下、HHシグナル)に注目し、その活性化を病理組織標本の免疫染色によって示す手段として、転写因子であるGLI1が核内に移行した染色像を得ることができる抗体を基底細胞癌組織を用いた検討で発見した。その抗体を用いて悪性黒色腫の腫瘍180例で検討したところ、30検体(16.7%)で腫瘍細胞のみならず周囲間質においても同シグナルが活性化していることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性黒色腫ではMAPKシグナル伝達経路やAKTシグナル伝達経路、Wnt-カテニンシグナル伝達経路が主なシグナル伝達経路として報告されており、これらを標的とした治療が社会実装もしくは開発段階にあるが、これらの治療をもってしても腫瘍が消退しない症例が少なからず存在する。本検討の結果、悪性黒色腫の一部の症例ではHHシグナルが活性化していることが確認でき、既知の悪性黒色腫で活性化しているシグナル伝達経路以外のシグナル伝達経路を標的とした治療開発が必要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although various treatment options for malignant melanoma have become available in recent years, the number of cases that are cured is not large. Therefore, it is necessary to elucidate the molecular biological characteristics of the tumor that are different from those of existing therapeutic targets. We focused on the Hedgehog signaling pathway (HH signaling) and explored immunostaining methods to demonstrate that the HH signaling is activated in histopathological specimens. As a result, we found an antibody that can produce stained images of GLI1, a transcription factor of the Hedgehog signaling pathway, in the nucleus by using basal cell carcinoma tissues. Using this antibody in 180 malignant melanoma tumors, 30 samples (16.7%) showed activation of this signal not only in the tumor cells but also in the surrounding stroma.

研究分野：悪性腫瘍

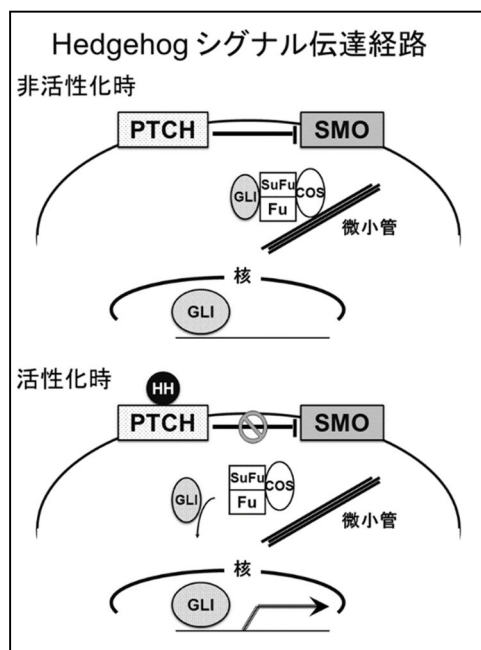
キーワード：悪性黒色腫 Hedgehogシグナル伝達経路

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

悪性黒色腫に対しては RAS-MEK-ERK1/2 MAPK シグナル伝達経路 (MAPK シグナル) の構成因子である BRAF の変異を標的とした治療 (Flaherty KT, et al. *N Engl J Med* 363;2010:809) 抗腫瘍免疫を回避する蛋白質である PD-1 (Topalian SL, et al. *N Engl J Med* 366;2012:2443) CTLA-4 (Hodi FS, et al. *N Engl J Med* 363;2010:711-23) を標的とした治療が承認されている。しかし、これらは半数以上の症例に対しては無効であり、有効であっても効果が一時的な症例も少なからず存在する。このような症例では既知のものとは異なる病態機序が腫瘍形成の役割を担っていると想定できるが、申請者は発生・形態形成に関わるシグナル伝達経路の一つである HH シグナルに注目して研究を進めている。

HH シグナルは膜蛋白質の Patched (PTCH) および Smoothed (SMO) リガンド蛋白質の Hedgehog (HH) 転写因子 glioma-associated oncogene (GLI) を含む細胞内コンプレックスより構成されるシグナル伝達経路である。この中では SMO がシグナルを活性化させる機能を有するが、通常は PTCH がそれを抑制している。ここにリガンドの HH が PTCH に結合すると PTCH の抑制が解除されてシグナルが活性化し、細胞内コンプレックスより GLI が核内に移行することで転写が促進される (Varjosalo M, Taipale J. *Genes Dev* 2008;22:2454) (図 1)。GLI には GLI1、GLI2 および GLI3 の三種の転写因子が存在するが、GLI1 が最も転写促進的に働く (Ruiz i Altaba A. *Cell* 1997;90:193)。本シグナルは当初、皮膚の基底細胞癌の 9 割以上の症例で活性化していることから注目されたが (Epstein EH. *Nat Rev Cancer* 2008;8:743) 他の悪性腫瘍においても活性化が示唆されており、悪性黒色腫においてもその活性化を示唆する報告が認められる (Fattahi S, et al. *J Cell Physiol.* 2018;233:5726)。



2. 研究の目的

悪性黒色腫における HH シグナルの活性化については複数の報告が成されているものの (Faião-Flores F, et al. *Oncogene.* 2017;36:1849、等) 患者検体におけるその活性化の評価は正確にはなされておらず、予後や治療反応性、悪性黒色腫において高頻度に活性化が認められている MAPK や PI3-AKT 等のシグナル伝達経路活性との相関性も評価されていない。また、腫瘍細胞と間様系細胞の両者における HH シグナルの活性化が腫瘍組織全体にもたらす影響も不明である。そこで、被検者腫瘍検体における免疫染色での GLI1 蛋白質の評価を行うこととした。

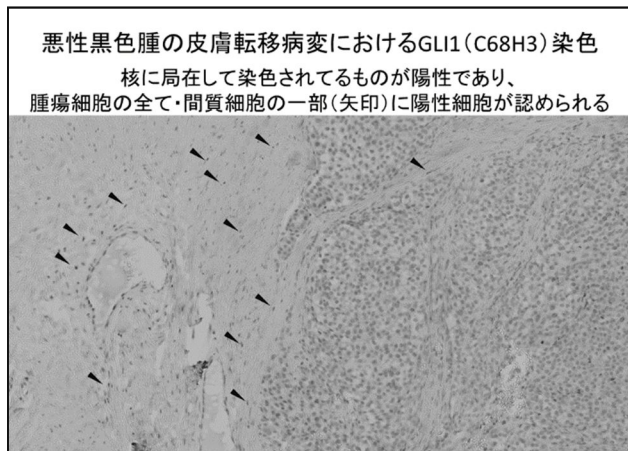
3. 研究の方法

病理組織における HH シグナルの活性化を確認する手段としては、組織標本の免疫染色によって核内に移行した GLI1 蛋白質の染色像を得ることが重要であるが、これまでホルマリン固定パラフィン包埋された組織標本において核内に移行した GLI1 を適切に反映した染色像が得られる抗 GLI1 抗体の存在が報告されていなかった。しかし、申請者は基底細胞癌組織をコントロールとして種々の抗 GLI1 抗体のスクリーニングを行い、ホルマリン固定パラフィン包埋標本における GLI1 蛋白質の局在を適切に反映する免疫染色に適した抗体 GLI (C68H3) を発見し報告している (Tanese K, et al. *J Dermatol.* 2018;45:1181)。同抗体を用いて悪性黒色腫の検体 180 例の染色を施行した。

4. 研究成果

GLI (C68H3) 抗体を用いて悪性黒色腫の腫瘍 180 例で検討したところ、30 検体 (16.7%) で腫瘍細胞のみならず周囲間質においても陽性に染色され、同シグナルが腫瘍細胞のみならず腫瘍の微小周囲環境において活性化していることが示唆された。

悪性黒色腫では MAPK シグナル伝達経路や AKT シグナル伝達経路、Wnt- β カテニンシグナル伝達経路が主なシグナル伝達経路として報告されており、これらを標的とした治療が社会実装もしくは開発段階にあるが、これらの治療をもってしても腫瘍が消退しない症例が少なからず存在する。本検討の結果、悪性黒色腫の一部の症例では HH シグナルが活性化していることが確認でき、既知の悪性黒色腫で活性化しているシグナル伝達経路以外のシグナル伝達経路を標的とした治療開発が必要であることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------