

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860908

研究課題名(和文) 有棘細胞癌における遺伝子変異誘導蛋白発現の検討と発症予防法の開発

研究課題名(英文) Expression of activation-induced cytidine deaminase in cutaneous squamous cell carcinoma

研究代表者

山口 卓(YAMAGUCHI, Takashi)

産業医科大学・医学部・産業医学修練医

研究者番号：40634374

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)：皮膚有棘細胞癌組織パラフィン切片を遺伝子変異誘導蛋白AID(activation-induced deaminase)に対する抗体を用いて免疫組織化学を行った。97名の有棘細胞癌患者の中AIDが発現しているのは49症例であった。経過観察中再発症例では8症例全例でAIDが発現していた。リンパ節転移、肺転移例ではそれぞれ14、2症例全例でAIDが発現していた。これらの結果から、AID発現皮膚有棘細胞癌症例は予後が悪い可能性が示唆され、今後皮膚有棘細胞癌の予後を占うマーカーの1つにAIDが用いられることが期待される。

研究成果の概要(英文)：To examine whether AID (activation-induced deaminase) is expressed in human squamous cell carcinoma (SCC), we performed an anti-AID immunostaining. Forty nine SCC tumors out of 97 cases were AID positive. All tumors in 8 cases with local recurrence expressed AID. All SCC specimens in 14 cases with lymph node metastasis and 2 cases with lung metastasis were positive for anti-AID immunostaining. Taken together, AID expression may be a prognostic marker for cutaneous SCC.

研究分野：皮膚科学

キーワード：有棘細胞癌 転移

1. 研究開始当初の背景

(1) 有棘細胞癌では表皮ケラチノサイトが癌化する。前駆病変には、光線角化症、熱傷瘢痕、慢性放射線皮膚炎、ポーエン病、慢性膿皮症、慢性円板状エリテマトーデス、栄養障害型表皮水疱症、尖圭コンジロームのほかパピローマウイルス感染によるポーエン様丘疹症などがある。また産業医学的には、コールタール、砒素などを取り扱う労働者、放射線作業従事者に有棘細胞癌が見られることがあり、コールタールや砒素が有棘細胞癌の発症原因に成り得ることを産業医科大学皮膚科より報告してきた。

(2) 有棘細胞癌では癌抑制遺伝子 *p53*、*p16* や癌遺伝子 *HRAS* などの遺伝子変異がみられ、癌の増殖や転移に大きな役割を果たしていると考えられている。紫外線照射が遺伝子変異に関与していることがこれまで報告されているが、紫外線による障害を受けない手掌や足底、体幹に有棘細胞癌が生じることもあり、紫外線のみでは遺伝子変異の原因は説明することは困難である。

(3) AID (activation-induced deaminase) は免疫グロブリン遺伝子のクラススイッチや体細胞遺伝子突然変異に必須な役割を果たす分子として 2000 年に発表された遺伝子変異を誘発する蛋白である(引用文献 1)。その後、AID が胃癌や肝臓癌にも高発現していることが明らかになり、発癌にも関与していることが示唆されるようになった。産業医科大学で成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (ATLL: adult T cell leukemia/lymphoma)、メルケル細胞癌、ポーエン様丘疹症、悪性黒色腫などで AID が高発現し、悪性化に関わっている可能性を示した(引用文献 2-5)。

2. 研究の目的

(1) 有棘細胞癌の AID の発現上昇と有棘細胞癌の前駆病変の有無、種類との相関関係があるかどうかを検討する。

(2) 有棘細胞癌の AID の発現上昇と有棘細胞

癌の局所再発との相関関係があるかどうかを検討する。

(3) 有棘細胞癌の AID の発現上昇と有棘細胞癌のリンパ節、他臓器への転移との相関関係があるかどうかを検討する。

3. 研究の方法

(1) 皮膚有棘細胞癌組織パラフィン切片を遺伝子変異誘導蛋白 AID(activation-induced deaminase) に対する抗体を用いて免疫組織化学を行った。抗体はインビトロゲン社よりマウス抗ヒト AID モノクローナル抗体(クローン ZA001)を購入した。パラフィン切片をキシレン、エタノールで脱パラフィン処理を行い、pH6.0 の抗原賦活用バッファー中で 15 分間オートクレーブし、抗原を賦活化した。リン酸緩衝生理食塩水 PBS(Phosphate buffered saline) で洗浄した後、過酸化水素水で 5 分間ブロッキングを行い、リン酸緩衝生理食塩水 PBS で洗浄した。50 倍希釈した抗ヒト AID モノクローナル抗体(クローン ZA001) と 37 度で 1 時間反応させた。リン酸緩衝生理食塩水 PBS で洗浄した後、シンプルステイン(ニチレイバイオサイエンス)を 30 分間反応させ、リン酸緩衝生理食塩水 PBS で洗浄した。蒸留水で 1 分間流水水洗し、マイヤーのヘマトキシリンで染色を行った後、流水水洗を 10 分間行い、封入を行った。

(2) 皮膚有棘細胞癌組織における AID 発現を顕微鏡下で観察し、AID の発現上昇と有棘細胞癌の前駆病変の有無、種類、局所再発、リンパ節、他臓器への転移との相関関係について解析した。

4. 研究成果

(1) 皮膚有棘細胞癌組織パラフィン切片を遺伝子変異誘導蛋白 AID(activation-induced deaminase) に対する抗体を用いて免疫組織化学を行った。97 名の有棘細胞癌患者の中 AID が発現しているのは 49 症例であった。

(2)97名の有棘細胞癌患者の中経過観察中再発症例は8症例あり、8症例全例でAIDが発現していた。

(3) 97名の有棘細胞癌患者の中、リンパ節転移、肺転移例はそれぞれ14、2症例であり、全例でAIDが発現していた。これらの結果から、AID発現皮膚有棘細胞癌症例は予後が悪い可能性が示唆され、今後皮膚有棘細胞癌の予後を占うマーカーの1つにAIDが用いられることが期待される。

引用文献

① Muramatsu M et al. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell*, Vol.102, No.5, 2000, pp. 553-563

② Yamaguchi T, Nakamura M. Expression of activation-induced cytidine deaminase in Bowenoid papulosis. *Eur J Dermatol*, Vol.23, No.5, 2013, pp. 729-730

③ Okura R, Yoshioka H, Yoshioka M, Hiromasa K, Nishio D, Nakamura M. Expression of AID in malignant melanoma with BRAF^{V600E} mutation. *Exp Dermatol*, Vol.23, No.5, 2013, pp. 347-348

Nakamura M, Sugita K, Sawada Y, Yoshiki R, Hino R, Tokura Y. High levels of activation-induced cytidine deaminase expression in adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Br J Dermatol*, Vol.165, No.2, 2011, pp. 437-439

Watabe R, Nakamura M. Expression of activation-induced cytidine deaminase in adult Merkel cell carcinoma with lymph-node metastasis. *Eur J Dermatol*, Vol.23, No.4, 2013, pp. 539-540

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3件)

1. Omoto D, Yamaguchi T, Haruyama S, Kabashima-Kubo R, Yoshioka M, Nishio D, Nakamura M. Is Wnt5a overexpression sufficient for generating a psoriasis-like phenotype in transgenic mice? *Exp Dermatol*, 査読有, Vol.24, No.3, 2015, pp. 729-730

DOI: 10.1111/exd.12617

2. Inoue A, Yamaguchi T, Saito N, Omoto D, Ohmori S, Haruyama S, Sawada Y, Yoshioka M, Nishio D, Nakamura M. Excessive hair growth around local beta-interferon injection sites for malignant melanoma. *J Dermatol*, 査読有, Vol.43, No.4, 2016, pp. 453-454

DOI: 10.1111/1346-8138.13224

3. Mashima E, Inoue A, Sakuragi Y, Yamaguchi T, Sasaki N, Hara Y, Omoto D, Ohmori S, Haruyama S, Sawada Y, Yoshioka M, Nishio D, Nakamura M. Nivolumab in the treatment of malignant melanoma: review of the literature. *Onco Targets Ther*, 査読有, Vol.6, No.8, 2015, pp. 2045-2051

DOI: 10.2147/OTT.S62102

〔学会発表〕(計4件)

1. Nakamura M, Omoto D, Yamaguchi T, Haruyama S, Kabashima-Kubo R, Yoshioka M, Nishio D, Expression of AID in malignant melanoma with BRAFV600E mutation, FEBS EMBO 2014, 2014年9月2日,パリ(フランス)

2. Omoto D, Yamaguchi T, Haruyama S, Kabashima-Kubo R, Yoshioka M, Nishio D, Nakamura M, Expression of AID in malignant melanoma with BRAFV600E mutation, The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, 2014年12月13日, ホテル阪急エキスポパーク(大阪府吹田市)

3. Nakamura M, Mashima E, Sakuragi Y, Saito N, Yamaguchi T, Watabe R, Yoshioka H,

Omoto D, Hiromasa K, Haruyama S, Kubo R, Yoshioka M, Nishio D, Expression of AID in malignant melanoma with BRAFV600E mutation, 23rd World Congress of Dermatology, 2015年6月12日,バンクーバー(カナダ)

4. 山口 卓、渡部 怜子、山本 佳世、尾本 大輔、吉岡 学、中村 元信、原発巣が自然消褪した進行期悪性黒色腫の1例、第31回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会、2015年7月4日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

山口 卓 (YAMAGUCHI, Takashi)

産業医科大学 医学部 産業医学修練医

研究者番号 40634374