

公益財団法人 東京医科大学がん研究事業団 がん研究助成金研究報告書

平成 29年 6月 29日

公益財団法人

がん研究事業団理事長 殿

研究者 (職名)	氏名		所属施設			
	原田 和俊 (印) (准教授)	施設名	大学病院	所在地	西新宿	電話 03-3342-6111 内線 5824
研究課題	皮膚悪性腫瘍の発生におけるDNA変異導入酵素AID(Activation induced deaminase)の役割の解明					
研究目的	皮膚癌は高齢化社会となった日本において発症数が著しく増加している悪性腫瘍である。しかし、治療及び予防法を確立するために重要な発症メカニズムの解明は十分になされてはいない。一方、AID(Activation induced deaminase)は免疫グロブリンのクラススイッチ及び抗体遺伝子の多様性獲得において必須のDNA変異導入酵素である。通常はリンパ節の胚中心に限局的に発現しているが、慢性炎症では異所性に発現し、ゲノムへ変異を導入することで胃癌、大腸癌、頭頸部癌などを発症ことが報告されている。皮膚有棘細胞癌は皮膚エリテマトーデス、慢性潰瘍などを母地として発症することから慢性炎症が発症において重要な役割を演ずる。本研究では、皮膚の慢性炎症により異所性に発現したAIDが皮膚癌を発症させるという仮説を検証する。					
研究方法	1. 細胞培養液中に炎症性サイトカインであるTNF- α 、IL-17、TGF- β などを添加し表皮角化細胞株にAIDが発現するかどうかを検討する。また、AIDの発現は、mRNAレベル、タンパクレベルで解析する。 2. 皮膚有棘細胞癌の発生母地となる円板状エリテマトーデス、扁平苔癬、硬化性萎縮性苔癬における病変部の角化細胞に異所性AIDの発現が認められるかどうかを、免疫組織学的に検討する。 3. 異所性に発現したAIDが有棘細胞癌の悪性化に関与するかどうかを検討する。具体的には有棘細胞癌の切除標本におけるAIDの発現を免疫組織染色を用いて検討する。					
研究成果	1. 細胞培養液中に炎症性サイトカインであるTNF- α 、IL-17、IL-10、TGF- β などを添加しAIDのmRNAの発現を検討したところ、TNF- α のみで発現の上昇が確認された。さらに、この結果を確認するため、免疫蛍光染色、western blotを用いてTNF- α 添加後の培養表皮細胞におけるAIDの発現を検討したところ、表皮細胞における発現が確認された。 AIDの発現はTNF- α 受容体の下流に存在する転写因子NF- κ Bを介して調節されていることが解明されている。そこで、NF- κ Bのinhibitorを培養液中に添加し、AIDの発現を免疫組織染色及びwestern blot検討したところ、表皮細胞における発現が抑制されていることが確認された。このことから、TNF- α はNF- κ B依存的に表皮角化細胞に					

研究 成 果	<p>AIDを発現させることが解明された。</p> <p>2. 炎症性皮膚疾患であり、皮膚有棘細胞癌の発生源となる円板状エリテマトーデス、扁平苔癬、硬化性萎縮性苔癬では異所性にAIDが発現していることが免疫組織学的に確認された。さらに、有棘細胞癌の表皮内病変である、日光角化症、Bowen病においても、AIDの異所性発現が確認された。興味深いことに、持続的に真皮にリンパ球、表皮に好中球が浸潤する慢性炎症性角化症である乾癬では、AIDの発現が確認できなかった。乾癬は有棘細胞癌の発生源とはならないが、この結果はAIDが慢性炎症を発生源として有棘細胞癌の発症に関与するという、仮説を支持する結果と考えられる。</p> <p>3. 表皮角化細胞に発現したAIDが有棘細胞癌の悪性化に関与するかどうかを検討することを目的として有棘細胞癌の切除検体におけるAIDの発現を検討した。角化は有棘細胞癌の分化の指標となるため、角化傾向が少ないものは、未分化で悪性度が高いと考えられている。切除検体における分化の程度を角化を指標に有棘細胞癌を3段階に分類し、AIDの発現を検討したところ、高分化の有棘細胞癌におけるAIDの発現は低分化の検体に比べ優位に低かった。この結果からAIDは発癌に関与するのみではなく、有棘細胞癌の悪性化にも関与すると考えられた。</p>
今 後 の 予 定	<p>今回の研究では代表的な皮膚悪性腫瘍である有棘細胞癌と基底細胞癌におけるAIDの発現を検討したが、皮膚悪性腫瘍の中でも転移を引き起こしやすく、予後も悪い悪性黒色腫や発癌のメカニズムが不明のままである。AIDが悪性黒色腫の発症に関与するのかが検討する予定である。さらに、汗腺癌、脂腺癌などの皮膚附属器由来の希少な皮膚悪性腫瘍も発癌メカニズムは不明のままである。これらの悪性腫瘍におけるAIDの発現も今後、検討したいと考えている。</p> <p>一方、隆起性皮膚線維肉腫などの間葉系悪性腫瘍も皮膚疾患のなかで重要な位置を占めるが、これらの間葉系腫瘍はキメラ遺伝子が検出されることが解明されている。AIDはクラススイッチリコンビネーションを誘導する酵素であり、遺伝配列の欠失を引き起こす。キメラ遺伝子が出現するためには、大きな遺伝子配列の欠失が必要であり、AIDがキメラ遺伝子の出現に関与している可能性がある。間葉系悪性腫瘍の発生におけるAIDの関与も検討したい。</p> <p>また、これまで示したように、AIDは皮膚悪性腫瘍の発症や悪性化に関与しているが、AIDの発現を抑制することができれば、皮膚癌の発症を予防することが可能となる。そこで、培養細胞を用いて、AIDの発現を抑制する化学物質を探索し、AIDの発現を人為的に低下させる薬剤の開発を目指したいと考えている。</p>

様式第3号

公益財団法人 東京医科大学がん研究事業団 がん研究助成金収支決算報告書

平成 29年 6月 29日

公益財団法人

がん研究事業団理事長 殿

研究者所属施設名 東京医科大学病院

氏 名 原田 和俊

㊞

収 支 決 算 書

(単位 円)

交付を受けた助成金額		金		2,500,000		円	
支 出 内 訳	費 目	明 細	単 価 及 金 額		計 額		
	設備、備品費						
	消耗品費	GM-CSF 他	29,484円 他		2,494,417円		
	計				2,494,417円		
過 △ 不足額					5,583円		
備 考							

支 出 費 内 訳

区 分	金 額	根 拠
設備、備品費		
消 耗 品 費	¥29,484	GM-CSF
	¥67,478	Phospho-Stat3 XP Rabbit mAb
	¥47,520	β -Actin Antibody
	¥75,081	Anti NLRC4, Human (Rabbit)
	¥57,974	Anti BLMH, Human (Mouse Mono)
	¥9,504	Normal Rabbit IgG
	¥44,322	Anti Mouse CD16/CD32
	¥29,484	rh SCF, 細胞生物学用
	¥57,152	Recombinant Mouse IL-17
	¥579,312	2Ipc/JeldJ マウス
		他