



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	皮膚有棘細胞癌におけるFAM83Hの機能解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	得地, 景子
Description	配架番号 : 2772
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15454号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89996
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	TOKUCHI_Keiko_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 得地 景子

学 位 論 文 題 名

皮膚有棘細胞癌における FAM83H の機能解析

(Functional analysis of FAM83H in cutaneous squamous cell carcinoma)

【背景と目的】

皮膚悪性腫瘍の多くは、紫外線が発生要因の一つであるため、高齢化やオゾン層の破壊の進行とともに今後の発症増加が予測され、さらなる診断方法や新薬の開発、治療レジメンの開発など、臨床的・基礎的な研究開発が望まれている。皮膚有棘細胞癌（Squamous cell carcinoma, 以下 SCC と略す）は、世界で 2 番目に多い皮膚悪性腫瘍であり、主に慢性的に日光にさらされる高齢者の皮膚に好発する。人種別に見ると、紫外線の影響を反映して、白人における発症率がアジア系と比較して高いが、本邦でも急速な人口動態の高齢化に伴い、その発症率は年々上昇している。早期の症例で、外科的切除により治療ができた場合には予後良好であるが、進行すると miserable な外観を呈して、本人や家族の Quality of Life（以下、QOL と略す）が損なわれるだけでなく、リンパ節や他臓器に転移した場合は、非常に予後不良である。しかし、転移率は 1～3%と低いためか確立された化学療法に乏しく、小さな症例シリーズや臨床試験に基づき、施設ごとに様々な治療が行われているのが現状である。そのため、進行期の皮膚 SCC に対して有効性が期待できる新たな治療法の確立が望まれている。

最近、我々の研究グループは、TRIM 29 (tripartite motif-containing protein 29, 以下 TRIM29 と略す) が扁平上皮において高発現していること、またケラチン・FAM83H と結合しケラチンの分布を調節することで細胞遊走を調整すること、皮膚 SCC では TRIM29 発現が抑制され浸潤能・転移能を獲得していることを見出した (Yanagi et al., 2018)。FAM83H は、family with sequence similarity83 の一つで、その変異により常染色体優性低石灰化エナメル質形成不全症を引き起こすことから、エナメル質形成に必須のタンパク質であるが (Kim et al., 2008)、近年の研究により様々な腫瘍形成に関与することが示唆されている。また、悪性腫瘍における FAM83H の発現レベルは、その組織・細胞によってさまざまであると予測される。

現在のところ、皮膚悪性腫瘍（とくに SCC）における FAM83H の機能や役割についての検討はされておらず、また正常な表皮角化細胞における機能も明確ではない。本研究課題の目的は、表皮角化細胞および皮膚 SCC 細胞における FAM83H に注目し、この分子の皮膚腫瘍における発現、細胞内局在、結合分子の同定、ケラチンやデスモゾーム関連分子との関係などを検討することによって、FAM83H の未知の分子機能を明らかにするとともに、FAM83H が、皮膚 SCC の予後予測分子や新規治療ターゲットになり得るかを検討することである。

【対象と方法】

Human protein atlas などの public database を検索することにより FAM83H の臓器ごとの発現を調べた。臨床検体として、SCC51 検体について FAM83H の免疫組織化学染色を行い、FAM83H の発現量と病期や分化度、予後などの臨床情報との相関について解析を行った。TRIM29 とケラチンの免疫組織化学染色も行い、FAM83H の発現との相関を評価した。

ヒト不死化ケラチノサイトである HaCaT 細胞株、頭頸部 SCC 細胞である SAS 細胞株、皮膚 SCC 細胞である DJM1 細胞株に対して、shRNA ベクターを用いて FAM83H ノックダウン細胞を作製し、in vitro および in vivo での細胞増殖能や遊走能、浸潤能および転移能などについて解析をおこなった。pQCXI-puro vector による FAM83H 過剰発現細胞を作製し、in vitro での遊走能・浸潤能を評価した。

また、分子機構を解明するために免疫沈降法や免疫蛍光染色法を行った。さらに、電子顕微鏡を用いて FAM83H ノックダウン細胞の超微細形態学的解析を行った。

【結果】

データベースの検索により、FAM83H は、皮膚などの重層上皮にて高発現することが分かった。臨床検体の解析では、皮膚 SCC における FAM83H の発現レベルは、正常皮膚に比べて低下しており、浸潤部では、表皮内病変や微小浸潤部と比較してさらに低下していた。mRNA レベルで皮膚 SCC での FAM83H 発現が低下していることを確認した。FAM83H の発現レベルと腫瘍の分化度との間に相関を認め、腫瘍が低分化になるほど、FAM83H の発現が低下していた。細胞増殖能の解析では、FAM83H ノックダウン細胞群とコントロールとで、細胞増殖能に有意差はなかった。しかし、細胞遊走能と浸潤能は、FAM83H ノックダウン群で、コントロールと比較して有意に亢進した。また、ヌードマウスに異種移植した Xenograft モデルの解析では、FAM83H ノックダウン細胞はコントロールに比べて肺への転移が有意に亢進した。細胞の免疫染色では、FAM83H ノックダウンにより、正常では細胞質内にびまん性に分布しているケラチン線維が核周囲に凝集した。免疫沈降法により、FAM83H が TRIM29 およびケラチンと複合体を形成していることや、FAM83H のノックダウンによりケラチンの可溶性が変化することが明らかとなった。電子顕微鏡による解析では、FAM83H ノックダウンによりケラチン線維の太さ・数がコントロールと比較して有意に減少した。臨床検体について、TRIM29 およびケラチンの免疫組織化学染色も行ったところ、FAM83H と TRIM29 の発現レベルには正の相関を認めた。また、FAM83H の発現が低下している部分では、ケラチンが核周囲に凝集しており、免疫染色の結果と一致した。

【考察】

本研究により、皮膚 SCC 細胞において FAM83H の発現が低下すると、通常では細胞質にびまん性に分布しているケラチン線維が核周囲に凝集することが明らかになった。ケラチン線維が核周囲に凝集すると、細胞の遊走・浸潤が亢進することは先行研究で認められているため (Beil et al., 2003; Rolli et al., 2010)、FAM83H はケラチンの分布を調節することで、皮膚 SCC 細胞の遊走・浸潤・転移に関与していると考ええる。

【結論】

FAM83H は皮膚 SCC において細胞遊走や細胞浸潤を制御する分子として機能しており、皮膚 SCC における新規治療ターゲット分子候補となりうる。