

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了時報告書

皮膚扁平上皮癌におけるエストロゲンの役割

研究代表者 阿部 佳子 (総合医療センター 病理部)

研究分担者 新井 栄一*

緒 言

エストロゲンは乳癌のみならず卵巣癌、前立腺癌、直腸癌などにおいて癌化や増殖に関与することが知られている。皮膚においてエストロゲンは、創傷治癒や加齢に伴う変化に関与することが知られているが、皮膚癌に対する関与がいかなるものかは興味深い。

真皮に存在する線維芽細胞はアロマターゼというエストロゲン産生酵素を発現することが知られており、創傷治癒の過程のみならず、癌の浸潤の背景に局所のエストロゲン供給源となる能性が考えられる。また、過度の日光照射は皮膚扁平上皮癌発症を導く要因のひとつであるが、病理学的に年余にわたる日光照射の影響は真皮の弾性線維の変性(solar elastosis)という現象に現れる。これは、真皮の線維芽細胞の変化を介してエストロゲン環境の変化を引き起こしている可能性が想起される。

これまでに、皮膚扁平上皮癌および上皮内癌(Bowen病および日光角化症)の臨床検体に対する免疫染色により、エストロゲン受容体($ER\alpha$, $ER\beta$), アンドロゲン受容体, アロマターゼの発現の違いを、正常皮膚(剖検症例から採取)との比較により行ってきた(図1)。その結果、エストロゲン受容体の発現は、 $ER\alpha$ の発現が浸潤癌である皮膚扁平上皮癌において、上皮内癌より有意に高いことがわかった。また、真皮におけるアロマターゼの発現は、浸潤癌と日光角化症で同程度に認められるのに対して、Bowen病(solar elastosisが見られない症例)では認められなかった(以上は東北大学倫理委員会承認2008-503に基づいて行い、2010年USCAP(Washington DC)にて発表)。

以上より、皮膚扁平上皮癌の浸潤にエストロゲンが関与する可能性があると考え、培養細胞による実験を試みた。

材料と方法

培養細胞：ヒト皮膚扁平上皮癌由来培養株細胞株(HSC-1, HSRRBより購入)とヒト乳癌由来培養株細胞株(MCF-7)は20% FBS (GIBCO社)と1% Penicillin-Streptomycin (GIBCO社)を添加したRPMI培地(GIBCO社)中にて、37℃, 5% CO₂下において培養した。

RT-PCR：上記培養細胞よりmRNAを抽出しRT-PCRによりエストロゲン受容体($ER\alpha$, $ER\beta$), アンドロゲン受容体(AR), アロマターゼに対するmRNAの半定量的に測定した。Primerは表1の通りで2step PCR (95℃ 3秒 60℃ 30秒)を40 cycle 施行した。Inner controlはGAPDHを用いた。

結 果

今回対象としたmRNAの発現が報告されているMCF7をpositive controlと考えてHSC-1におけるmRNAの発現の有無を検討した。HSC-1における各mRNAの量は図2に示すごとく、 $ER\alpha$ がCYP19A-1, $ER\beta$ に比して多く見られた。しかしながら、 $ER\alpha$ の量はMCF-7と比較すると約1/100の量であった。なお、ARは非常に少なかった。

考 察

エストロゲン受容体は $ER\alpha$ と $ER\beta$ のisoformがあり、癌が発症する臓器により異なる発現頻度を呈する。乳癌で治療方法を検討する目的などで検索されるのは $ER\alpha$ であるが、肺癌や直腸癌で高頻度に見られるエストロゲン受容体は $ER\beta$ である。また、癌の増殖や増殖抑制は、 $ER\alpha$ と $ER\beta$ の発現のバランスによるということも提唱されている。過去に行った皮膚癌に対する免疫染色で、 $ER\beta$ は正常、上皮内癌、扁平上皮癌のいずれにおいても陽性所見が得られた。扁平上皮癌では、ほとんど認められないものから高率に発現するものまでばらつきがあり、今回用いた培養細胞でほとんど認められないとしても不思議はない。

また、正常、上皮内癌、扁平上皮癌の間で $ER\beta$ 発

*総合医療センター 病理部

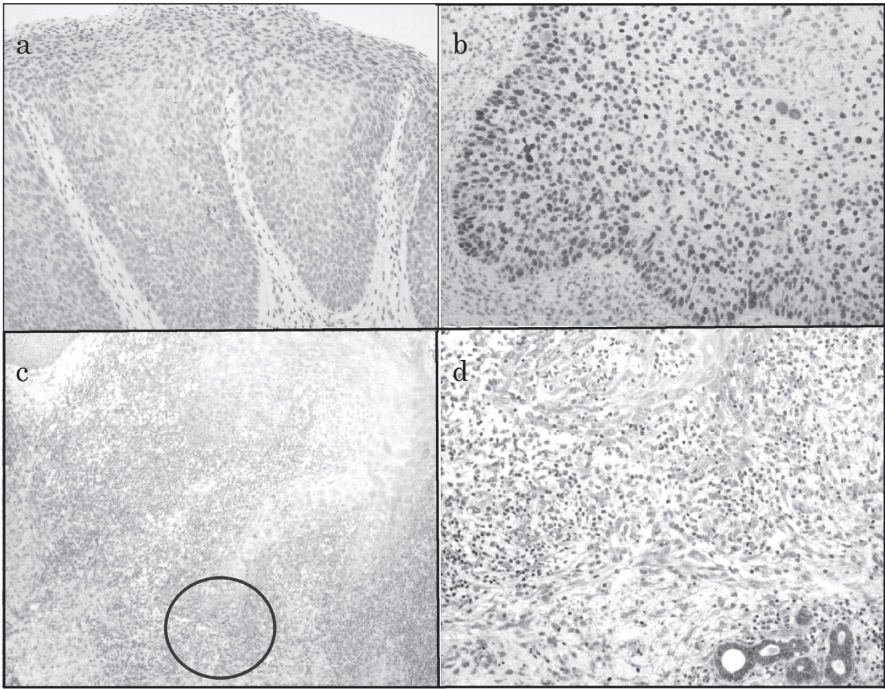


図 1. 皮膚上皮内癌および扁平上皮癌における免疫染色. Bowen 病ではER α 陰性 (a) に対して, 扁平上皮癌ではER α 陽性 (b). 扁平上皮癌に対するaromatase の染色では (c: 弱拡大), 真皮にaromatase 陽性細胞が見られる (d: cの青丸部分の強拡大).

表 1.

遺伝子名		Primer
CYP19A1(Aromatase)	Forward	5'-CCT TCT GCG TCG TGT CAT GCT-3'
	Reverse	5'-GGA GAG CTT GCC ATG CAT CAA-3'
ESR1(ER)	Forward	5'-AGA CAC TTT GAT CCA CCT GA-3'
	Reverse	5'-CAA GGA ATG CGA TGA AGT AG-3'
ER β	Forward	5'-CCT GGC TAA CCT CCT GAT GC-3'
	Reverse	5'-ACC CCG TGA TGG AGG ACT T-3'
AR	Forward	5'-CCT CTC TCA AGA GTT TGG AT-3'
	Reverse	5'-TCG AGT TCC TTG ATG TAG TTC-3'

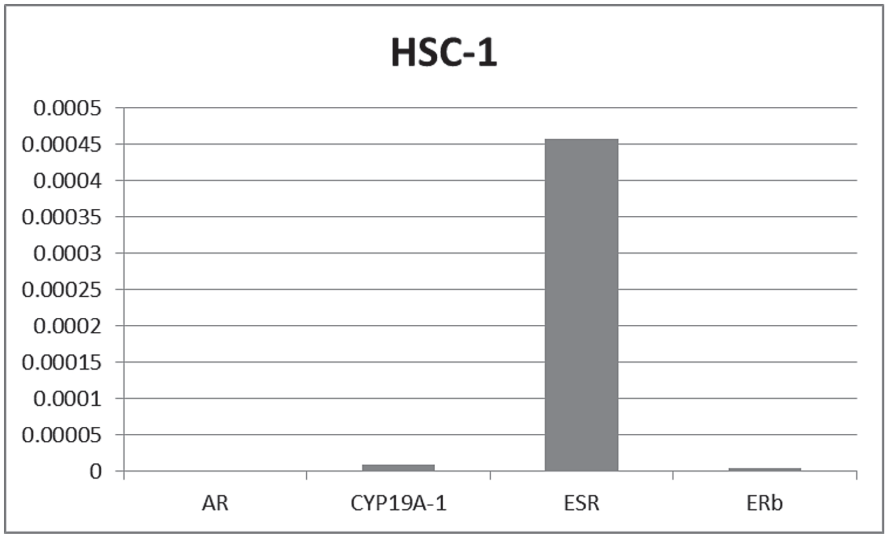


図 2. ヒト皮膚扁平上皮癌の培養細胞株におけるRT-PCRの結果.

現頻度に有意な差異は認められておらず、緒言にも述べたごとく皮膚扁平上皮癌の進展におけるエストロゲンの影響はER α を介して起こる可能性が高い。本研究では、HSC-1にER α のmRNAが認められ、以後のエストロゲン作用を見る実験に使用できる可能性が確認された。現在、受容体タンパクの発現について確認中であり、今後エストロゲン滴下による浸潤能、増殖能の変化についての実験を行う予定である。

参考文献

- 1) Schweikert HU, Milewich L and Wilson JD. Aromatization of androstenedione by cultured human fibroblasts. J Clin Endocrinol Metabol 1976;43(4):785-95.
- 2) Mills SJ, Ashworth JJ, Gilliver SC, et al. The sex steroid precursor DHEA accelerates cutaneous wound healing via the estrogen receptors 2005;125(5):1053-62.

研究成果リスト

英文論文

- 1) Inoue T, Miki Y, Abe K, et al. The role of estrogen-metabolizing enzymes and estrogen receptors in human epidermis. Mol Cell Endocrinol 2011;344(1-2):35-40.
- 2) 伊藤路子, 青木見佳子, 黒澤真澄, 新井栄一, 川名誠司. Primary cutaneous CD4 + small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphomaの1例. 臨床皮膚科 2011;65(13):1085-8.
- 3) 新井栄一, 山田和哉, 中塚貴志, 広藤亜樹子, 土田哲也, 清水道生. 臀部の巨大粉瘤から生じた有棘細胞癌. 日本皮膚病理組織学会会誌 2011;27(1):9-12.
- 4) 広藤亜樹子, 中村晃一郎, 滝口光次郎, 倉持朗, 土田哲也, 新井栄一, 他. 下腹部に生じた keratoacanthomatous SCCの1例. 日本皮膚病理組織学会会誌 2011;27(2):33-40.
- 5) Arai E, Jin L, Nagata K, Shimizu M. In: Mandi Murph, editors. Melanoma in the clinic: diagnosis, management and complications of malignancy. 1st ed, Croatia: In Tech; 2011.p.15-22.