
総 説

皮膚癌浸潤における podoplanin の役割

浅 井 純*

京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学

Role of Podoplanin in Skin Cancers

Jun Asai

Department of Dermatology,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

抄 録

Podoplanin は膜貫通型糖タンパクの一つであり、がん細胞や癌関連線維芽細胞 (cancer-associated fibroblasts: CAFs), 炎症性マクロファージといった細胞において発現がみられ、癌の浸潤増殖に関与することが近年の研究で明らかになってきている。皮膚がんでは、有棘細胞癌、基底細胞癌において腫瘍細胞自身が podoplanin を発現し、悪性黒色腫、乳房外パジェット病では腫瘍細胞周囲の CAFs や表皮細胞に podoplanin の発現がみられ、これらの podoplanin の発現は浸潤度や転移、予後と相関する。その機序として、Podoplanin が腫瘍細胞におけるクローナリティ、上皮間葉転換、浸潤、転移を促進させると考えられており、podoplanin をがんのバイオマーカーとして利用する試みやがん治療のターゲットとする試みが基礎研究として行われだしている。

キーワード：Podoplanin, 有棘細胞癌, 基底細胞癌, 悪性黒色腫, 乳房外パジェット病。

Abstract

Podoplanin is a transmembrane glycoprotein upregulated on tumor cells, cancer associated fibroblasts (CAFs) and inflammatory macrophages. Podoplanin plays a key role on cancer progression by increasing motility, epithelial mesenchymal transition, invasion, clonality, and metastasis of tumor cells. In skin cancers, podoplanin expression in tumor cells is observed in squamous cell carcinoma, and basal cell carcinoma, whereas that in peritumoral cells is observed in melanoma and extramammary Paget's disease. Podoplanin expressed in these cells is known to contribute to progression and metastasis of cancers. Therefore, podoplanin is thought to be one of the emerging biomarkers and therapeutic target for many types of cancer. This review describes recent advances in how podoplanin contribute to cancer progression on skin cancers.

平成31年2月21日受付 平成31年3月11日受理

*連絡先 浅井 純 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路ル梶井町465番地

jasai@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.128.05.313

Key Words: Podoplanin, Squamous cell carcinoma, Basal cell carcinoma, Melanoma, Extramammary Paget's disease.

はじめに

Podoplaninは、元々腎臓の上皮細胞である podocyte から発見されたタンパク質であり、C末端に膜貫通部位を有したI型膜貫通型タンパク質である(図1)¹⁾²⁾。細胞外にはPlatelet Aggregation-stimulating (PLAG) 領域と呼ばれる領域があり、血小板の持つCLEC-2との結合を介して血小板凝集を活性する作用を有する³⁾⁴⁾。Podoplaninはリンパ管内皮細胞にも発現がみられ、リンパ管内皮細胞の特異的のマーカースとして知られている⁵⁾。がん関連領域では、podoplaninを認識するD2-40という抗体により免疫組織学的検討を行い、がん細胞のリンパ管侵襲の有無を確認するために用いられる。また、がん細胞自体がpodoplaninを発現し、血小板上のCLEC-2との結合を介して血小板を活性、凝集させ、血行性転移の促進に寄与したり⁶⁾、細胞外マトリックスを溶解して間質を浸潤するinvadopodiaと呼ばれる現象の調節に働いたり⁷⁾、がん細胞の浸

潤や転移に直接関与している。悪性黒色腫を始めとする皮膚悪性腫瘍においても、リンパ管侵襲の有無を確認するためにD2-40染色を施行するが、我々の研究グループは、リンパ管内皮細胞や癌細胞以外にも様々な細胞がD2-40染色にて陽性を示すことを発見した⁸⁾⁹⁾。更には皮膚悪性腫瘍のみならず、尋常性乾癬や創傷治癒過程においてもリンパ管内皮細胞以外の細胞においてpodoplaninの発現がみられることが判明し、皮膚におけるpodoplaninが多様な病態に関与していることが明らかになってきている¹⁰⁾¹²⁾。

代表的な炎症性皮膚疾患の一つである尋常性乾癬では、病変部の延長した表皮突起における表皮細胞にpodoplaninの発現がみられ、TGF- β 、IFN- γ 等を介して表皮細胞の増殖、尋常性乾癬の病態に関与することが報告されている¹¹⁾。また我々も皮膚創傷治癒において、再上皮化中の表皮細胞ではpodoplaninの発現がみられること、podoplaninが表皮細胞の増殖能や遊走能を促進し、再上皮化の過程で重要な役割を担って

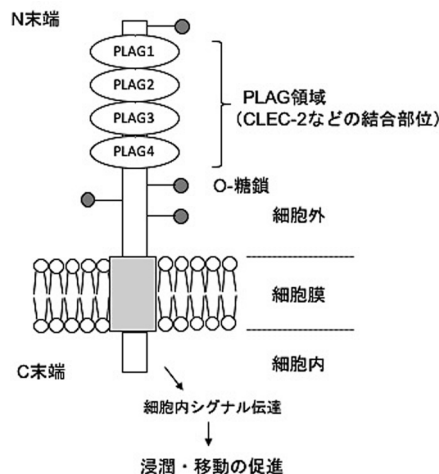


図1 Podoplaninの構造。PodoplaninはC末端に膜貫通部位を有したI型膜貫通型タンパク質である。細胞外のPLAG領域に血小板のCLEC-2が結合し、血小板凝集を促進する。

いることを明らかにしている¹²⁾。このように、podoplaninは様々な皮膚疾患において発現が亢進し、その病態に関与することが明らかになってきたが、本稿では特に皮膚悪性腫瘍における podoplanin について、特に癌の微小浸潤に関して今までに判明したこと、そして今後の課題等について解説する。

悪性黒色腫と podoplanin

悪性黒色腫はメラノサイトが癌化した腫瘍であり、皮膚悪性腫瘍の中で最も悪性度の高い腫瘍の一つである。発生初期は表皮内を水平方向に広がるが、ある時点で垂直方向に浸潤し、リンパ節転移を来すようになる。そこで我々は、悪性黒色腫において podoplanin の発現が予後因子となるのかどうか、京都府立医科大学附属病院皮膚科で2006年から2011年に経験した55例の皮膚原発悪性黒色腫の症例について解析し

た⁸⁾。まず、悪性黒色腫の腫瘍細胞のマーカーとして Melan-A 染色を、podoplanin のマーカーとして D2-40 染色を施行したところ、興味深いことに腫瘍細胞と腫瘍細胞の周囲の間質の細胞、いわゆる Cancer-associated fibroblasts (CAFs) の両方において podoplanin が陽性を示す症例があることが判明した⁸⁾ (図2)。そこで、まず腫瘍細胞において、podoplanin の発現のある群とない群で、生存率、tumor thickness、分裂像の数、センチネルリンパ節転移の有無等を比較検討したが、両群間に有意な差は認められなかった。しかしながら、CAFs における podoplanin の発現がある群とない群で同様に比較すると、Tumor thickness ($P < 0.001$)、潰瘍の有無 ($P = 0.0043$)、顕微鏡的衛星病巣の有無 ($P = 0.014$)、核分裂像の数 ($P < 0.01$)、センチネルリンパ節転移の有無 ($P = 0.016$)、リンパ管浸潤の有無 ($P = 0.0042$)、病期 ($P < 0.001$) について、両群

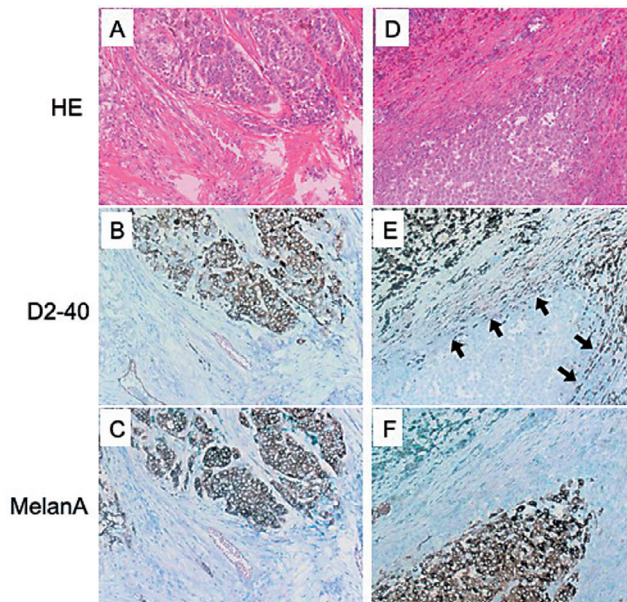


図2 悪性黒色腫における podoplanin の発現パターン。(A, B, C) 腫瘍細胞に podoplanin が発現するが、CAFs には発現がみられない症例。(A; HE 染色, B; D2-40 染色, C; MelanA 染色) (D, E, F) 腫瘍細胞には podoplanin の発現がみられないが CAFs に発現がみられる症例。これらの免疫染色ではギムザ染色の併用を行い、メラニン色素を緑色に染め分けている。矢印で示す褐色に染まる細胞群が CAFs である。(D; HE 染色, E; D2-40 染色, F; MelanA 染色)

*オンライン版はカラー掲載

間に有意な差を認め、CAFsにpodoplaninの発現がある場合ほど、腫瘍の局所浸潤 (tumor thicknessや顕微鏡的衛星病巣、核分裂像)、リンパ節転移 (センチネルリンパ節転移、リンパ管浸潤) ともに進行していることが明らかになった⁸⁾。また、疾患特異的生存率についてもCAFsにpodoplaninの発現を認めた群では発現を認めない群に対して有意に低下していた ($P=0.0148$) 以上のことより、悪性黒色腫では腫瘍細胞におけるpodoplaninの発現ではなく、腫瘍をとりまくCAFsにおけるpodoplaninの発現が予後因子となっていることが明らかとなった⁸⁾。

悪性黒色腫と同様にCAFsにおけるpodoplaninの発現が予後と相関することが、乳癌や肺腺癌等の悪性腫瘍においても報告されている¹³⁾¹⁴⁾。これらの報告では、podoplaninの発現するCAFsにおいてリンパ管新生を促進させるVEGF-Cの発現が亢進し、リンパ管侵襲を手助けしているのではといった考察がなされている。CAFsは主に線維芽細胞と筋線維芽細胞からなり、これらの細胞は既存の線維芽細胞の他に平滑筋細胞、内皮細胞、骨髄由来前駆細胞などの単一ではない

細胞群に由来すると考えられている。今後は、どのような状況においてCAFsにpodoplaninの発現がみられるのか、例えば腫瘍細胞からのサイトカインや腫瘍細胞とCAFsとの直接接触によるシグナル伝達によりpodoplaninが発現するようになるのか、もしくはCAFsの元となる細胞群によってpodoplaninの発現が規定されているのかなど検討し、podoplaninを介した腫瘍浸潤のメカニズムを解明することが課題である。

乳房外パジェット病とpodoplanin

乳房外パジェット病は皮膚のアポクリン腺由来の皮膚癌と考えられている¹⁵⁾。陰部や腋窩部といったアポクリン腺の多い部位に生じやすく、複数の部位に多発することがある。一般に進行は緩徐で、表皮内を水平方向に広がっていくが、ある時点で垂直方向へと浸潤し、転移を来すようになる。希少がんであり、手術療法以外に確立された治療法が存在しないため、一度転移を来すと著明に生命予後が悪くなる。

そこで、乳房外パジェット病の真皮への浸潤にpodoplaninが関与しているのかどうかを検討

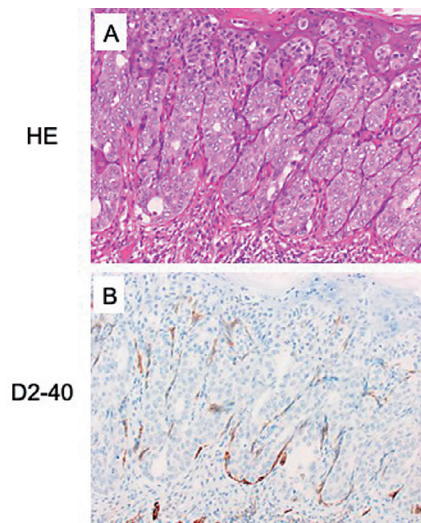


図3 乳房外パジェット病におけるpodoplaninの発現パターン。(A) 乳房外パジェット病、表皮内に淡明な腫瘍細胞を認める。(HE染色) (B) 腫瘍細胞にはpodoplaninの発現がみられないが、腫瘍周囲表皮細胞にpodoplaninの発現がみられる。(D2-40染色)

*オンライン版はカラー掲載

した⁹⁾。京都府立医科大学附属病院皮膚科で2006年から2015年に経験した37例の乳房外パジェット病の症例について解析した。podoplaninのマーカーとしてD2-40染色を施行したところ、腫瘍細胞は37例全てで陰性であったが、25症例(67.6%)で腫瘍周囲のケラチノサイトにおいてpodoplaninの発現を認めた(図3)。上皮内癌(18例中9例;50%)と比較して浸潤癌(19例中16例;84.2%)において有意にpodoplanin陽性の割合が高く($p < 0.05$)、腫瘍周囲ケラチノサイトにおけるpodoplaninの発現が乳房外パジェット病の真皮浸潤に関与していることが示唆された⁹⁾。

そのメカニズムを解明するため、ヒト皮膚表皮細胞由来のcell lineの一つであるHaCaT細胞にpodoplanin siRNAを遺伝子導入し、TGF- β 刺激を加えてinvadopodia assayを行ったところ、TGF- β 刺激によりpodoplaninを強発現させたHaCaTではinvadopodiaが認められたことに対し、siRNAを用いてpodoplaninの発現を低下させたHaCaTでは有意にinvadopodiaが抑制され

た($P < 0.05$)⁹⁾。本研究により、がん細胞のみならずがん以外の細胞においてもinvadopodiaもしくはその類似した現象を起こすことができることが示され、また腫瘍周囲の細胞が腫瘍細胞の浸潤を手助けしていることを明らかにした⁹⁾。

ま と め

Podoplaninは様々ながん細胞で発現がみられ、癌の浸潤やリンパ節転移を促進させる働きがあることが明らかになっている。しかし、悪性黒色腫や乳房外パジェット病といった皮膚がんにおいては、腫瘍周囲のがん細胞ではない細胞にpodoplaninが発現し、がんの浸潤、転移の手助けをしていることが明らかになった。これらのがんではがん周囲細胞のpodoplaninを制御することで浸潤や転移を抑制することができる可能性があり、今後のさらなる研究、開発が待たれる。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Rishi AK, Joyce-Brady M, Fisher J, Dobbs LG, Floros J, VanderSpek J, Brody JS, Williams MC. Cloning, characterization, and development expression of a rat lung alveolar type I cell gene in embryonic endodermal and neural derivatives. *Dev Biol*, 167: 294-306, 1995.
- 2) Breiteneder-Geleff S, Soleiman A, Horvat R, Amann G, Kowalski H, Kerjaschki D. [Podoplanin—a specific marker for lymphatic endothelium expressed in angiosarcoma]. *Verh Dtsch Ges Pathol*, 83: 270-275, 1999.
- 3) Suzuki-Inoue K, Fuller GL, Garcia A, Eble JA, Pohlmann S, Inoue O, Gartner TK, Hughan SC, Pearce AC, Laing GD, Theakston RD, Schweighoffer E, Zitzmann N, Morita T, Tybulewicz VL, Ozaki Y, Watson SP. A novel Syk-dependent mechanism of platelet activation by the C-type lectin receptor CLEC-2. *Blood*, 107: 542-549, 2006.
- 4) Suzuki-Inoue K, Kato Y, Inoue O, Kaneko MK, Mishima K, Yatomi Y, Yamazaki Y, Narimatsu H, Ozaki Y. Involvement of the snake toxin receptor CLEC-2, in podoplanin-mediated platelet activation, by cancer cells. *J Biol Chem*, 282: 25993-26001, 2007.
- 5) Weninger W, Partanen TA, Breiteneder-Geleff S, Mayer C, Kowalski H, Mildner M, Pammer J, Sturzl M, Kerjaschki D, Alitalo K, Tschachler E. Expression of vascular endothelial growth factor receptor-3 and podoplanin suggests a lymphatic endothelial cell origin of Kaposi's sarcoma tumor cells. *Lab Invest*, 79: 243-251, 1999.
- 6) Kato Y, Kaneko MK, Kunita A, Ito H, Kameyama A, Ogasawara S, Matsuura N, Hasegawa Y, Suzuki-Inoue K, Inoue O, Ozaki Y, Narimatsu H. Molecular analysis of the pathophysiological binding of the platelet aggregation-inducing factor podoplanin to the C-type lectin-like receptor CLEC-2. *Cancer Sci*, 99: 54-61, 2008.
- 7) Martin-Villar E, Scholl FG, Gamallo C, Yurrita MM, Munoz-Guerra M, Cruces J, Quintanilla M. Characterization of human PA2.26 antigen (T1alpha-2, podoplanin), a small membrane mucin induced in oral

- squamous cell carcinomas. *Int J Cancer*, 113: 899-910, 2005.
- 8) Kan S, Konishi E, Arita T, Ikemoto C, Takenaka H, Yanagisawa A, Katoh N, Asai J. Podoplanin expression in cancer-associated fibroblasts predicts aggressive behavior in melanoma. *J Cutan Pathol*, 41: 561-567, 2014.
 - 9) Cho Z, Konishi E, Kanemaru M, Isohisa T, Arita T, Kawai M, Tsutsumi M, Mizutani H, Takenaka H, Ozawa T, Tsuruta D, Katoh N, Asai J. Podoplanin expression in peritumoral keratinocytes predicts aggressive behavior in extramammary Paget's disease. *J Dermatol Sci*, 87: 29-35, 2017.
 - 10) Honma M, Fujii M, Iinuma S, Minami-Hori M, Takahashi H, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Podoplanin expression is inversely correlated with granular layer/filaggrin formation in psoriatic epidermis. *J Dermatol*, 40: 296-297, 2013.
 - 11) Honma M, Minami-Hori M, Takahashi H, Iizuka H. Podoplanin expression in wound and hyperproliferative psoriatic epidermis: regulation by TGF-beta and STAT-3 activating cytokines, IFN-gamma, IL-6, and IL-22. *J Dermatol Sci*, 65: 134-140, 2012.
 - 12) Asai J, Hirakawa S, Sakabe J, Kishida T, Wada M, Nakamura N, Takenaka H, Mazda O, Urano T, Suzuki-Inoue K, Tokura Y, Katoh N. Platelets Regulate the Migration of Keratinocytes via Podoplanin/CLEC-2 Signaling during Cutaneous Wound Healing in Mice. *Am J Pathol*, 186: 101-108, 2016.
 - 13) Hoshino A, Ishii G, Ito T, Aoyagi K, Ohtaki Y, Nagai K, Sasaki H, Ochiai A. Podoplanin-positive fibroblasts enhance lung adenocarcinoma tumor formation: podoplanin in fibroblast functions for tumor progression. *Cancer Res*, 71: 4769-4779, 2011.
 - 14) Schoppmann SF, Berghoff A, Dinhof C, Jakesz R, Gnant M, Dubsy P, Jesch B, Heinzl H, Birner P. Podoplanin-expressing cancer-associated fibroblasts are associated with poor prognosis in invasive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 134: 237-244, 2012.
 - 15) Balducci L, Crawford ED, Smith GF, Lambuth B, McGehee R, Hardy C. Extramammary Paget's disease: an annotated review. *Cancer Invest*, 6: 293-303, 1988.

著者プロフィール



浅井 純 Jun Asai

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学・講師

略 歴：2001年3月 京都府立医科大学 卒業

2001年4月 京都府立医科大学附属病院研修医 皮膚科勤務

2003年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科博士課程入学

2004年4月 アメリカ合衆国, ボストン, タフツ大学 Research fellow

2006年6月 医学博士(京都府立医科大学大学院医学研究科 甲第1134号)

2006年7月 京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚病態制御学助手

2007年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学助教(改称)

2009年4月 京都府立与謝の海病院皮膚科医長

2010年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学助教

2012年4月 同学内講師

2016年4月～現職

専門分野：皮膚腫瘍, 皮膚外科

主な業績：(*; corresponding author)

1. Krishnan H, Rayes J, Miyashita T, Ishii G, Retzbach EP, Sheehan SA, Takemoto A, Chang YW, Yoneda K, Asai J, Jensen L, Chalise L, Natsume A, Goldberg GS. Podoplanin - an emerging cancer biomarker and therapeutic target. *Cancer Sci*, 2018 Mar 25.
2. Cho Z, Konishi E, Kanemaru M, Isohisa T, Arita T, Kawai M, Tsutsumi M, Mizutani H, Takenaka H, Ozawa T, Tsuruta D, Katoh N, Asai J*. Podoplanin expression in peritumoral keratinocytes predicts aggressive behavior in extramammary Paget's disease. *J Dermatol Sci*, **87**: 29-35, 2017.
3. Asai J*. What's new in the histogenesis of granulomatous skin disease? *J Dermatol*, **44**: 297-303, 2017.
4. Asai J*, Hirakawa S, Sakabe J, Kishida T, Wada M, Nakamura N, Takenaka H, Mazda O, Urano T, Suzuki-Inoue K, Tokura Y, Katoh N. Platelets regulate the migration of keratinocytes via podoplanin/CLEC-2 signaling during cutaneous wound healing in mice. *Am J Pathol*, **186**: 101-108, 2016.
5. Asai J*, Ohyama M. Human papillomavirus and cutaneous squamous cell carcinoma - does ethnicity matter? *Br J Dermatol*, **171**: 689, 2014.
6. Kan S, Konishi E, Arita T, Ikemoto C, Takenaka H, Yanagisawa A, Katoh N, Asai J*. Podoplanin expression in cancer-associated fibroblasts predicts aggressive behavior in melanoma. *J Cutan Pathol*, **41**: 561-567, 2014.
7. Asai J*, Harada Y, Beika M, Takenaka H, Katoh N, Takamatsu T. Photodynamic diagnosis of metastatic lymph nodes using 5-aminolevulinic acid in mouse squamous cell carcinoma. *J Dermatol Sci*, **74**: 171-173, 2014.
8. Hagura A, Asai J (co-first author)*, Maruyama K, Takenaka H, Kinoshita S, Katoh N. The VEGF-C/VEGFR3 signaling pathway contributes to resolving chronic skin inflammation by activating lymphatic vessel function. *J Dermatol Sci*, **73**: 135-141, 2014.
9. Asai J*, Takenaka H, Hirakawa S, Sakabe J, Hagura A, Kishimoto S, Maruyama K, Kajiya K, Kinoshita S, Tokura Y, and Katoh N. Topical simvastatin accelerates wound healing in diabetes by enhancing angiogenesis and lymphangiogenesis. *Am J Pathol*, **181**: 2217-2224, 2012.
10. Maruyama K, Asai J (co-first author), Ii M, Thorne T, Losordo DW, D' Amore PA. Decreased macrophage number and activation lead to reduced lymphatic vessel formation and contribute to impaired diabetic wound healing. *Am J Pathol*, **170**: 1178-1191, 2007.
11. Asai J, Takenaka H, Kusano KF, Ii M, Luedemann C, Curry C, Eaton E, Iwakura A, Tsutsumi Y, Hamada H, Kishimoto S, Thorne T, Kishore R, Losordo DW. Topical sonic hedgehog gene therapy accelerates wound healing in diabetes by enhancing endothelial progenitor cell-mediated microvascular remodeling. *Circulation*, **113**: 2413-2424, 2006.
12. Asai J*, Takenaka H, Katoh N, Kishimoto S. Dibutyryl cAMP Influences Endothelial Progenitor Cell Recruitment during Wound Neovascularization. *J Invest Dermatol*, **126**: 1159-1167, 2006.
13. Wilson BD, Ii M, Park KW, Suli A, Sorensen LK, Larrieu-Lahargue F, Urness LD, Suh W, Asai J, Kock GA, Thorne T, Silver M, Thomas KR, Chien CB, Losordo DW, Li DY. Netrins promote developmental and therapeutic angiogenesis. *Science*, **313**: 640-644, 2006.
14. Kusano KF, Pola R, Murayama T, Curry C, Kawamoto A, Iwakura A, Shintani S, Ii M, Asai J, Tkebuchava T, Thorne T, Takenaka H, Aikawa R, Goukassian D, Samson P, Hamada H, Yoon SY, Silver M, Eaton E, Ma H, Heyd L, Kearney M, Munger W, Porter JA, Kishore R, Losordo DW. Sonic hedgehog myocardial gene therapy: tissue repair through transient reconstitution of embryonic signaling. *Nat Med*, **11**: 1197-1204, 2005.

