

平成 23 年 2 月 7 日現在

機関番号：12601
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790275
 研究課題名（和文）網羅的遺伝子発現解析を用いた前立腺癌における癌・間質相互作用の解明
 研究課題名（英文）Elucidation of epithelial-stromal interactions in prostate cancer using global gene expression analysis

研究代表者
 森川 鉄平（MORIKAWA TEPPEI）
 東京大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号：80451772

研究成果の概要（和文）：

前立腺癌間質特異的遺伝子としてペリオスチンに着目した。前立腺癌手術検体から組織マイクロアレイを作成し、免疫染色によってペリオスチンタンパクの局在を検討した。ペリオスチンタンパクは前立腺正常上皮細胞および癌細胞では発現はみられず、間質細胞のみで発現していることを確認した。ペリオスチン発現と臨床病理学的因子との間に明らかな相関は認められなかった。前立腺癌間質におけるペリオスチンの発現は新たな診断マーカーになりうることを示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We focused on periostin, which was specifically expressed by prostate cancer stromal cells. We examined the expression of periostin protein in surgically resected prostate cancers by immunohistochemistry using a tissue microarray. We confirmed that periostin was exclusively expressed by prostate cancer stromal cells, but not by normal or cancerous epithelial cells. There was no significant association between periostin expression and clinicopathological features. Periostin expression in the stroma of prostate cancer may be a potential diagnostic marker.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：前立腺癌，間質，ペリオスチン，組織マイクロアレイ

1. 研究開始当初の背景

癌の発生・進展には癌細胞そのものの分子異常のみではなく、癌細胞周囲の組織が構成する微小環境が大きな影響を与えていることが知られている。特に、近年、癌組織中に存在する間質細胞が癌の発生や増殖に重要な役割を果たすことが動物モデルの実験で証明され、注目されている。しかし、前立腺癌における癌間質細胞の意義についてはほとんど明らかになっていない。

2. 研究の目的

前立腺癌における癌・間質相互作用の解明を目指し、前立腺癌間質において特異的に発現している分子を同定し、その意義を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 手術によって得られた前立腺癌臨床凍結検体から、レーザーマイクロディセクション法によって、顕微鏡下で癌細胞・間質細胞を別々に採取、total RNAを抽出し、マイクロアレイ解析を試みた。

(2) 遺伝子発現データベース

(http://157.82.78.238/refexa/main_search.jsp、<https://www.oncomine.org/resource/login.html>)を用いたメタアナリシスにより、前立腺癌間質細胞で特異的に発現している遺伝子の同定を試みた。

(3) 前立腺癌組織マイクロアレイの作成
多数症例に対して同一条件で免疫組織化学的検討を行うため、東京大学医学部附属病院で手術された前立腺癌症例から組織マイクロアレイを作成した。各症例の腫瘍部あるいは正常部から各2箇所、直径2mmのコアを打ち抜き、新たなパラフィンブロックを作成した。

(4) 免疫組織化学的染色

作成した組織マイクロアレイのブロックから4μm厚の切片を作成し、免疫染色を行った。一次抗体として、ウザギポリクローナル抗ペリオスチン抗体 (Shimazaki M et al. J Exp Med. 2008;205(2):295-303)を用い、ポ

リマー法によって検出を行った。前立腺癌間質におけるペリオスチンの発現強度と各種臨床病理学的因子との相関を検討した。

4. 研究成果

(1) レーザーマイクロディセクション法によって、癌細胞・間質細胞を採取、total RNAを抽出した。しかし、Agilent 2100 バイオアナライザーによる解析の結果、間質細胞からはマイクロアレイ解析に耐えうる良質なRNAが得られなかった。

(2) 遺伝子発現データベースを用いたメタアナリシスにより、ペリオスチンに着目した。ペリオスチン遺伝子は下図のように、前立腺癌組織(癌間質細胞が含まれる)では発現がみられるにもかかわらず前立腺癌細胞株では発現が認められず、前立腺癌において間質特異的に発現していることが示唆された。

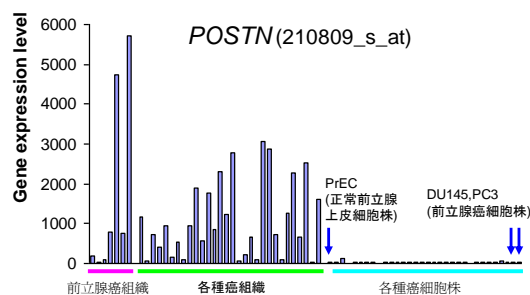


図1：各種癌組織、癌細胞株におけるペリオスチン遺伝子の発現

(3) 前立腺癌組織マイクロアレイを用いた免疫染色により、ペリオスチンタンパクは前立腺正常上皮細胞および癌細胞では発現しておらず、間質細胞のみで発現していることが明らかになった。ペリオスチン発現は特に癌細胞周囲の間質細胞で強く認められた。ペリオスチン発現は非癌部の正常上皮周囲の間質細胞では24例中1例(4%)のみで認められたが、癌細胞周囲の間質細胞では67例中49例(86%)において認められた。前立腺癌間質におけるペリオスチンの発現強度と、術前病期、グリソンスコア、前立腺被膜外浸潤、精嚢浸潤、リンパ節転移、術後生存率との間に有意な相関は認められなかった。すなわち、前立腺癌間質におけるペリ

オスチンの高発現は、発癌において早期から起こる変化であることが示唆された。さらに、ペリオスチン発現は、浸潤癌周囲の間質細胞のみならず、前癌病変である前立腺上皮内腫瘍の周囲の間質でも認められることがあった。

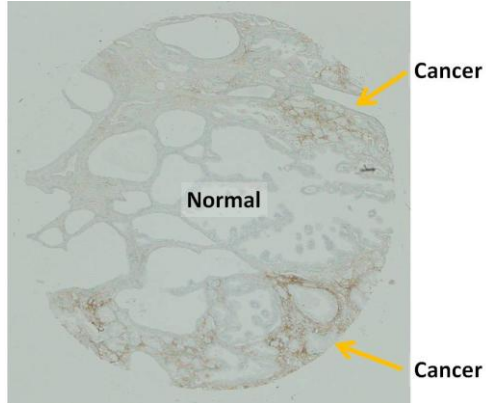


図2：組織マイクロアレイを用いた、前立腺癌組織におけるペリオスチン発現の検討。癌周囲の間質細胞のみにペリオスチン発現が認められる（矢印）。

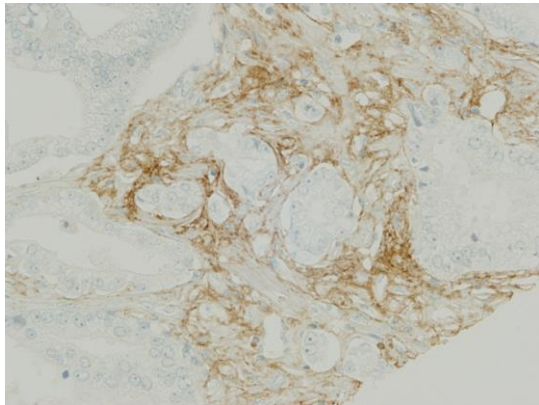


図3：癌周囲の間質細胞に強いペリオスチン発現が認められる。癌細胞にはペリオスチン発現は認められない。

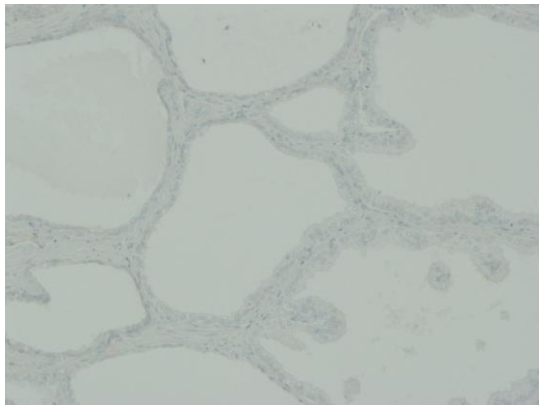


図4：正常前立腺上皮細胞、その周囲の間質細胞にはペリオスチン発現は認められない。

(4) 以上のことから、ペリオスチンは前立腺癌組織において間質細胞特異的に発現しており、前立腺癌発癌の早期において、パラクライン作用を介した上皮間質相互作用に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、ペリオスチンは前立腺癌の新たな診断マーカーとしての有用性も期待される。前立腺癌間質細胞から分泌されるペリオスチンが前立腺癌細胞に与える影響の詳細なメカニズムの検討が今後の課題である。

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8件)

- ① Matsubara D, Morikawa T, Goto A, Nakajima J, Fukayama M, Niki T. Subepithelial myofibroblast in lung adenocarcinoma: a histological indicator of excellent prognosis. *Mod Pathol.* 2009;22(6):776-85. 査読有
- ② Hino R, Uozaki H, Murakami N, Ushiku T, Shinozaki A, Ishikawa S, Morikawa T, Nakaya T, Sakatani T, Takada K, Fukayama M. Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of PTEN gene in gastric carcinoma. *Cancer Res.* 2009;69(7):2766-74. 査読有
- ③ Morikawa T, Toyoshima T, Fukayama M. Lymphoepithelioma-like carcinoma of the ureter. *The Internet Journal of Pathology.* 2009;9(2). 査読有
- ④ Shinozaki A, Ushiku T, Morikawa T, Hino R, Sakatani T, Uozaki H, Fukayama M. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a distinct carcinoma of gastric phenotype by claudin expression profiling. *J Histochem Cytochem.* 2009;57(8):775-85. 査読有
- ⑤ Morikawa T, Nishimatsu H, Kadono T, Homma Y, Fukayama M. Urinary bladder metastasis from extramammary Paget's disease in a patient with a past history of colon and gastric cancers. *Pathol Int.* 2010;60(2):145-6. 査読有
- ⑥ Morikawa T, Goto A, Nishimatsu H, Fukayama M. Metastatic Small Intestinal Cancer of the Urinary Bladder. *Case Rep Oncol.* 2010;3(3):334-338. 査読有
- ⑦ Morikawa T, Hino R, Uozaki H, Maeda D, Ushiku T, Shinozaki A, Sakatani T, Fukayama M. Expression of ribonucleotide reductase M2 subunit in gastric cancer and effects of RRM2 inhibition in vitro. *Hum Pathol.* 2010;41(12):1742-8. 査読有
- ⑧ Morikawa T, Maeda D, Kume H, Homma Y,

Fukayama M. Ribonucleotide Reductase M2 Subunit is a Novel Diagnostic Marker and a Potential Therapeutic Target in Bladder Cancer. *Histopathology.* 2010;57(6):885-92. 査読有

[学会発表] (計2件)

- ① Morikawa T, Ishikawa S, Uozaki H, Ushiku T, Shintani Y, Hino R, Sakatani T, Aburatani H, Fukayama M. Global Gene Expression Analysis of Epstein-Barr Virus-Associated Gastric Carcinoma. 27th International Congress of the International Academy of Pathology, 2008/10/12-17, Athens, Greece.
- ② Nagata M, Sakurai-Yageta M, Yamada D, Ito A, Kume H, Morikawa T, Murakami Y, and Homma Y. DISRUPTION OF CDM4-4.1B CASCADE OF CELL ADHESION IN RENAL CLEAR CELL CARCINOMA. American Urological Association 2010 Annual Meeting. 2010/5/29-6/3, San Francisco, USA.

[図書] (計2件)

- ① 北村唯一 編、中外医学社、泌尿器科 専門医にきく最新の臨床、2008、158-161
- ② 深山正久 編、文光堂、がんプロフェSSIONナル養成講座 腫瘍病理学、2008、188-207

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森川 鉄平 (MORIKAWA TEPPEI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80451772

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし