

機関番号：32607

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790289

研究課題名 (和文) 前立腺癌発生部位からみた癌反応性間質のマイクロサテライト異常・DNA メチル化解析

研究課題名 (英文) Microsatellite instability and DNA promoter methylation of reactive stroma in prostatic carcinoma

研究代表者

柳澤 信之 (YANAGISAWA NOBUYUKI)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：80337914

研究成果の概要 (和文)：前立腺癌手術症例 226 例の癌反応性間質量(Reactive Stromal Grade, RSG)を 0～3 と分類したところ、(1)RSG0:22 例 (10%)、1:107 例(47%)、2:81 例(36%)、3:16 例(7%)となり、この比率は我々の別症例群の針生検を対象とした結果とほぼ一致した。(2)最も悪性度の高い癌巣 (Index cancer) は対応する 2 番目の癌巣(200 例)と比較すると有意に RSG が高値であった。(3)辺縁域(PZ)癌巣は移行域(TZ)癌巣よりも、また(4)尖部(Apex) 癌巣は基底部(Base)癌巣よりも各々有意に RSG が高値で、前立腺癌の解剖学的発生部位によって癌反応性間質量に差が見られた。

研究成果の概要 (英文)：Reactive stromal grades(RSGs) of 226 prostatic carcinomas were different between their localization in the prostatic gland. Compared with the low grade cancers( such as TZ cancers ), more aggressive cancers( PZ cancers ) showed high RSGs with significance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,700,000	510,000	2,210,000

研究分野：人体病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：病理学、前立腺癌、MSI、メチル化

## 1. 研究開始当初の背景

近年、癌の発生・進展における腫瘍細胞と間質の関係が注目されている。我々の研究室では大腸弧発癌・潰瘍性大腸炎関連癌、あるいは過形成性ポリープや腺腫といった非悪性腫瘍においても、腫瘍細胞のみならず間質細胞にも microsatellite instability(MSI)が見られることを報告してきた(Matsumoto N. *et al.*ら、*Br.J.Cancer*, 2003, *Cancer Res.*, 2003, *Gut*, 2006)。

一方、前立腺癌は本邦でも飛躍的に罹患数

が増加しており、もはや国民病といっても過言ではない状況になりつつある。前立腺癌では間質線維芽細胞・平滑筋細胞が筋線維芽細胞への異常分化・種々のサイトカイン異常分泌を介し上皮細胞につよく作用すると考えられ、反応性間質が癌の発癌・進展に積極的に関与している(Ayala G. *et al.*, ほか)。

## 2. 研究の目的

前立腺癌の腫瘍細胞・反応性間質両者の MSI・がん抑制遺伝子プロモーター領域のメ

チル化といった遺伝子異常を解剖学的腫瘍発生部位ごとに確認し、また非癌部・前癌病変部でも同様に解析することで、前立腺癌の発生部位間での分子病理学的特徴を初めて指摘し、間質細胞が前立腺癌の発癌・進展に積極的に関与していることを分子病理学的に証明する。

### 3. 研究の方法

当施設で約5年の間に外科的切除された前立腺癌症例約200例について、腫瘍の発生部位・癌反応性間質量等を検討した。その症例群から transitional zone(TZ)・peripheral zone(PZ)発生例を各々約30例(さらに前立腺尖部・体部・底部と細分化)、central zone(CZ)発生例を数例ずつ抽出。比較対照として膀胱癌など膀胱全摘術に付随して切除された、前立腺癌のない前立腺組織30例を使用。各々のホルマリン固定・パラフィン切片を用いて、(1)上記部位の癌細胞・反応性間質、また癌付随あるいは単独のPIN病変・正常上皮及びその近傍間質といった各目的細胞をLCMで回収、DNA抽出カラムを用いてDNAを抽出、各microsatellite markerで増幅し、ABI PRISM genetic analyzerによるMSI解析を行った。(2)抽出した各組織DNAにBisulfite処理を行い、DNAを回収した後、対象とした核蛋白の遺伝子プロモーター領域CpG siteのメチル化を解析。標的遺伝子としては前立腺癌においてメチレーション頻度が高いといわれているGSTP1・RARβ2・CD44・RASSF1Aのほか、Androgen Receptor・p16・MGMTを検索。

### 4. 研究成果

2003~09年の当院前立腺癌手術症例226例(45~75歳、65.0±5.7歳(average±SD))のIndex Cancer(IC)を対象として検討したところ、その主な占拠部位はPZ:147例(65%)、TZ:78例(34%)、CZ:1例(0.4%)で(図1)、Apex:128例(57%)、Mid:86例(38%)、Base:12例(5%)であった(図2)。

図1

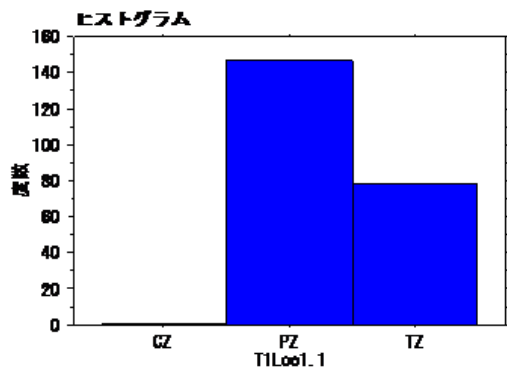
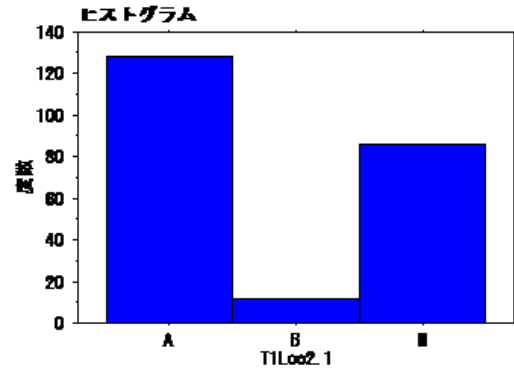
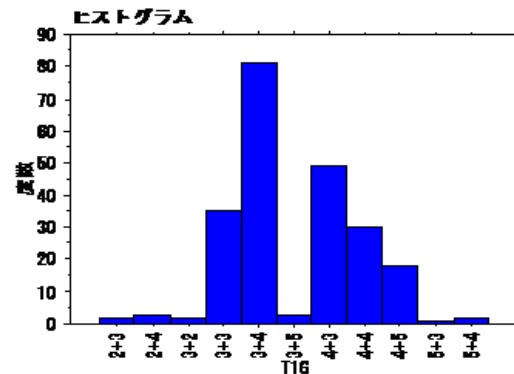
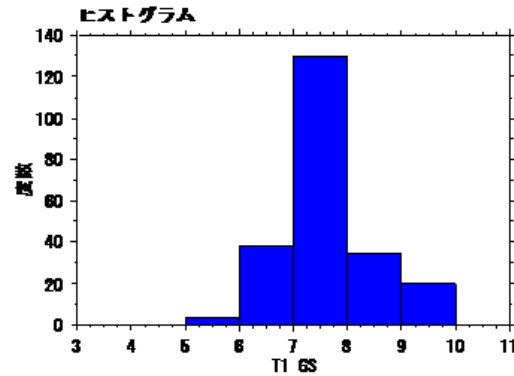


図2



Gleason Score(GS)は3+4が81例(36%)、4+3:49例(22%)とGS=7が約6割を占めた(図3)。

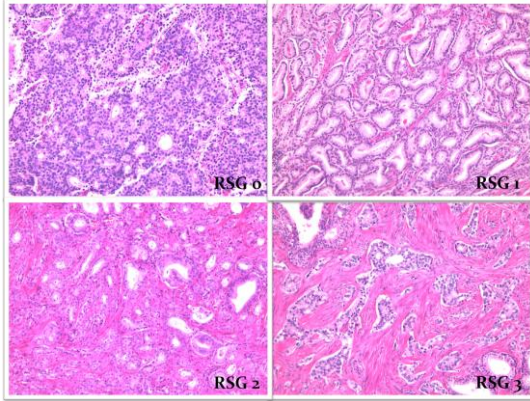
図3



手術材料のHE染色・Masson染色標本を用いて癌反応性間質量(Reactive Stromal Grade, RSG)を0~3と4段階に分類した(次ページ図4)。

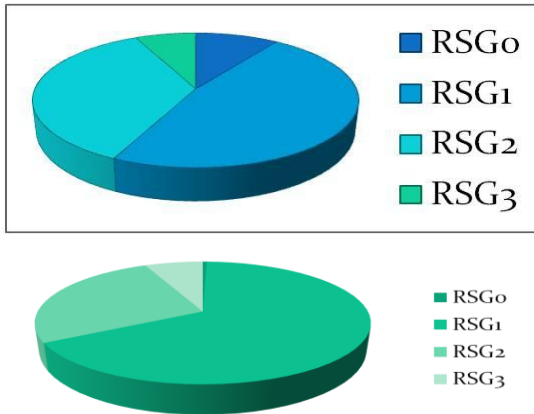
- RSG0 : 癌反応性間質量が0~5%
- RSG1 : 6~15%
- RSG2 : 16~50%
- RSG3 : 51~100%

図4



(1)RSG0:22例(10%)、1:107例(47%)、2:81例(36%)、3:16例(7%) (図5) となり、この比率は我々の別症例群の針生検を対象とした結果(Yanagisawa N. *et al.*, *Hum.Pathol.*, 2008)とほぼ一致した。

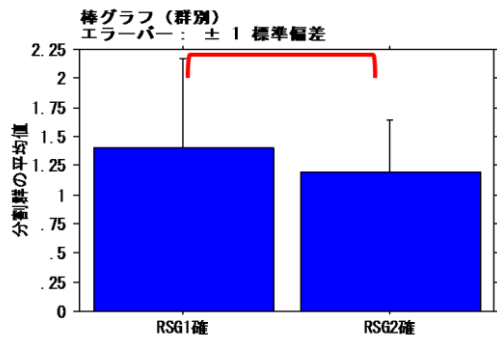
図5



参考：針生検材料の RSG(*Hum.Pathol.*, 2008)

(2)IC は 2nd cancer(200例)と比較すると有意に RSG が高値であった( $p=0.0006$ 、図6)。

図6



RSG1: RSG of IC, RSG2: RSG of 2<sup>nd</sup> cancer

(3)PZ cancer は TZ cancer よりも (図7)、

また(4)Apex cancer は Base cancer よりも (図8) 各々有意に RSG が高値であった ( $p=0.0016, 0.0399$ )。

図7

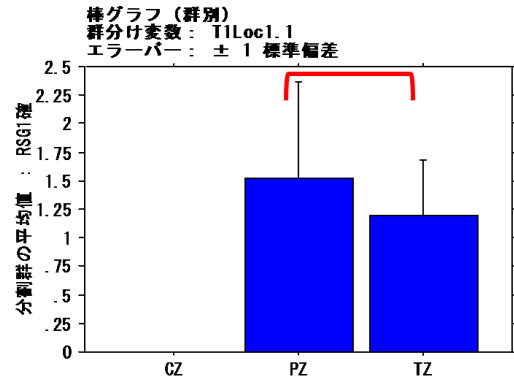
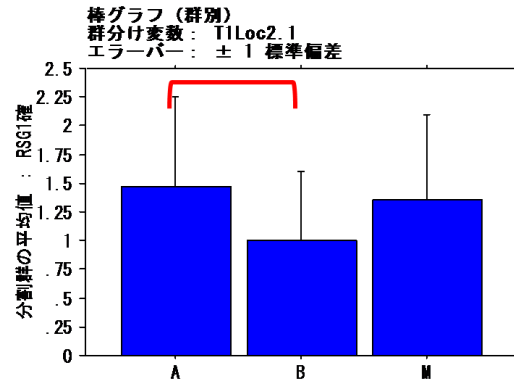


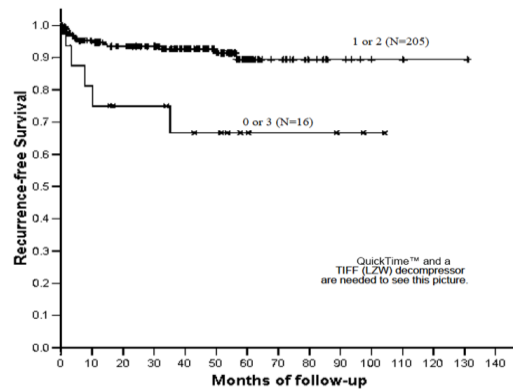
図8



A: apex cancer, B: base cancer, M: mid cancer

今回の症例群について RSG と PSA 再発との関連性を検討中であるが、針生検 (図9) と同様な結果が期待される。

図9



以上のように前立腺癌の解剖学的発生部位に着目した論文はいまだ少ない。さらにはヒト前立腺癌の反応性間質との関連を調べ

た研究報告は皆無である。現在、引き続き分子病理学的解析をすすめている。

#### 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1件)

Yanagisawa N., Li R., Rowley D., Hao L., Kadman D., Miles B.J., Wheeler T.M. and Ayala G.E.: Stromogenic prostatic carcinoma pattern (carcinomas with reactive stromal grade 3) in needle biopsies predicts biochemical recurrence-free survival in patients after radical prostatectomy. *Hum Pathol.*, 39(2): 282~291, 2008. 査読有

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

柳澤 信之 (YANAGISAWA NOBUYUKI)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：80337914

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし