

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791893

研究課題名（和文） 分解型ガレクチン-3による甲状腺腫瘍の診断

研究課題名（英文） Differential diagnosis of thyroid tumor by cleaved galectin-3

研究代表者

竹中 幸則（TAKENAKA YUKINORI）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40598398

研究成果の概要（和文）：

甲状腺癌の摘出標本に対して、全長のガレクチン-3を認識する抗体、ガレクチン-3のC末端を認識する抗体を用いて免疫染色を行った。ガレクチン-3は甲状腺乳頭癌ではどの検体でも瀰漫性に発現していた。濾胞癌ではガレクチン-3の発現は検体により大きく異なっており、散在性に発現していた検体、瀰漫性に発現していた検体があった。ガレクチン-3のC末端を認識する抗体を用いた免疫染色では再現性のある結果が得られず、条件を最適化中である。分解型ガレクチン-3を検出するELISAの系の開発も目指しているが、条件の最適化を行っている。現状では分解型ガレクチン-3の検出が安定して行えていないため、非分解型ガレクチン-3の発現程度を指標にした臨床的検討を行う予定である。具体的には、検体によりガレクチン-3の発現程度が大きく異なる濾胞癌を対象にガレクチン-3の発現程度と予後についての相関を症例数を増やして検討予定である。

研究成果の概要（英文）：

We performed immunohistochemistry of surgical specimens of thyroid cancer with antibody against intact galectin-3 and antibody against cleaved galectin-3. Intact galectin-3 was diffusely expressed in any thyroid papillary cancer specimens. In contrast, galectin-3 expression in follicular cancer specimens varied depending on the specimens. Immunohistochemistry with anti-cleaved galectin-3 antibody have been unsuccessful so far, and we are now working on it. Also, we are working on the establishment of cleaved galectin-3 detection system with ELISA.

With respect to clinical study, we are investigating the association between galectin-3 expression and prognosis of follicular cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3300000	990000	4290000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：甲状腺癌

1. 研究開始当初の背景

甲状腺癌は、4つの種類の癌（乳頭癌、濾胞癌、髄様癌、未分化癌）に分けられる。これらの癌のうち、乳頭癌、髄様癌、未分化癌は穿刺吸引細胞診により容易に術前診断が可能である。しかし、濾胞癌と良性腫瘍である濾胞腺腫の鑑別は細胞診では不可能である。なぜなら、濾胞癌の診断には組織学的に被膜浸潤、脈管浸潤が認められることが必要だからである。そのため、細胞診にて濾胞性腫瘍との診断がなされた場合、急速な増大や、腫瘍径が4cm以上といった臨床的な基準で外科的治療の決定がなされる場合が多い。このような外科的治療の適応は、本来は不必要な良性腫瘍（濾胞腺腫）に対する手術、濾胞癌に対する治療の遅れという結果を招いている。

ガレクチン-3は β ガラクトシド結合たん白であり、さまざまな種類の悪性腫瘍で高発現していることが知られている。甲状腺組織においては、正常甲状腺組織や良性腫瘍である濾胞腺腫ではほとんどその発現が認められないものの、濾胞癌、乳頭癌といった甲状腺濾胞細胞由来の癌ではほぼ例外なく高発現していることが明らかにされている (Bartolazzi A, et al. *Lancet* 357:1644-50,

2001)。このことを利用し甲状腺穿刺吸引細胞診検体中のガレクチン-3を測定することにより甲状腺腫瘍の良悪性の術前診断を行う試みがなされ、乳頭癌は術前診断が可能であったが、濾胞癌の診断は不可能であった (Inohara H, et al. *Biochem Biophys Res Commun.* 376: 605-10, 2008)。また、免疫組織化学的に濾胞性腫瘍でのガレクチン-3の発現を検討したところ、ガレクチン-3の発現量は脈管浸潤や被膜浸潤の程度と相関しているものの、濾胞腺腫と濾胞癌の鑑別はできなかった (Ito Y, et al. *Pathology* 37: 296-8, 2005)。

マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) は細胞外基質を分解する酵素であり、癌の浸潤、転移と密接に関与している。MMPは甲状腺癌において高発現していることが知られており、濾胞癌においては濾胞腺腫より有意に高発現していることが知られている。しかし、癌組織におけるMMPは活性型あるいは不活性化型で存在し、癌の浸潤と真に相関するのは活性化型MMPである。ある種のMMPはガレクチン-3を分解することが知られており、乳癌組織を用いた研究では分解されたガレクチン-3は活性型MMPの代理マーカーであることが知られている (Nangia-Makker P,

et al. *Cancer Res.* 67: 11760-8, 2007)。

ガレクチン-3、MMP ともに、濾胞癌のマーカーとなりうるものの、その感度、特異度は低い。また、その他にも濾胞癌のマーカーとなりうる物質はいくつか知られているが、いずれも感度、特異度が低く、臨床的に有用なマーカーとはなり得ていない。

2. 研究の目的

MMP によって分解されたガレクチン-3 が甲状腺濾胞癌の特異的なマーカーになりうることを考え、以下の研究を行う。

- ・甲状腺腫瘍組織におけるガレクチン-3、分解型ガレクチン-3、MMP、活性化型 MMP の発現、分布を明らかにする。

- ・分解型ガレクチン-3 が甲状腺腫瘍の良悪性の鑑別、特に濾胞腺腫と濾胞癌の鑑別に有用であるかどうかを明らかにする。

- ・術前穿刺吸引細胞診検体での分解型ガレクチン-3 を ELISA を用いて測定する方法を確立する。

- ・ガレクチン-3、分解型ガレクチン-3、MMP、活性化型 MMP の発現程度と予後の相関につき明らかにする。

3. 研究の方法

- ・甲状腺腫瘍組織におけるガレクチン-3、分解型ガレクチン-3、MMP、活性化型 MMP の発現、分布を免疫組織化学染色、in situ ザイモグラフィを用いて明らかにする。

- ・穿刺吸引細胞診検体での分解型ガレクチン-3 の濃度を簡易に測定する方法を確立する。

- ・ガレクチン-3、分解型ガレクチン-3、MMP、活性化型 MMP の発現程度と予後につい

て検討を行う。

申請者はこれまでにガレクチン-3 の甲状腺癌における機能、ガレクチン-3 による甲状腺腫瘍の良悪性の鑑別に関する研究を行ってきた。本研究では、今まで研究の進んでいない分解型ガレクチン-3 の甲状腺における発現を明らかにし、それを指標にした甲状腺腫瘍の良悪性の鑑別を目指す。

4. 研究成果

甲状腺癌の摘出標本に対して、全長のガレクチン-3 を認識する抗体、ガレクチン-3 の C 末端を認識する抗体を用いて免疫染色を行った。ガレクチン-3 は甲状腺乳頭癌ではどの検体でも瀰漫性に発現していた。濾胞癌ではガレクチン-3 の発現は検体により大きく異なっており、散在性に発現していた検体、瀰漫性に発現していた検体があった。ガレクチン-3 の C 末端を認識する抗体を用いた免疫染色では再現性のある結果が得られず、条件を最適化中である。分解型ガレクチン-3 を検出する ELISA の系の開発も目指しているが、条件の最適化を行っている。

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)

リン酸化ガレクチン-3 の癌細胞における役割(総説) Author: 竹中 幸則(大阪大学 大学院医学系研究科耳鼻咽喉科頭頸部外科学), 猪原 秀典 耳鼻咽喉科免疫アレルギー (0913-0691)28巻4号 Page273-277(2010.12)

[

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹中 幸則 (TAKENAKA YUKINORI)

大阪大学 医学系研究科 助教

研究者番号 : 40598398