

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 8 月 21 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790357

研究課題名(和文)甲状腺未分化癌におけるPodocalyxinの役割とその治療応用に関する解析

研究課題名(英文)Study about a role of podocalyxin and thyroid cancer and its clinical application.

## 研究代表者

安岡 弘直 (Yasuoka, Hironao)

和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：30405419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円、(間接経費) 570,000円

研究成果の概要(和文)：甲状腺未分化癌や他の癌腫におけるPODXLの役割を、悪性度増大、未分化転化の点で明らかにすることを試みた。甲状腺腫瘍で、PODXL、リン酸化ezrin発現は脱分化と関係していた。リン酸化ezrinは、一部の甲状腺癌の局所浸潤、リンパ節転移と関係があった。子宮体癌腺癌では、PODXLとリン酸化ezrin発現の相関がみられ、いずれも、悪性度マーカーとの関連、組織学的悪性度、進行期との関係がみられた。ヒト甲状腺癌培養細胞株のPODXL強制発現では形態変化は引き起こされなかったものの、増殖能増大、浸潤・運動能増大が引き起こされた。浸潤・増殖能増大をみたものでは、足突起の発達がみられた。

研究成果の概要(英文)：I tried to clarify a role of PODXL in thyroid anaplastic carcinoma and other carcinomas. In thyroid cancer, PODXL and phosphorylated ezrin expression were related to anaplastic transformation. also, it related with regional extension and lymph node metastases. In uterine endometrial adenocarcinomas, PODXL and phosphorylated ezrin expression related with the status of malignancy marker, a histological grade and clinical stage. Enforced expression of PODXL in several established human thyroid cancer cell lines, increasing of growth fractions and invasiveness and increasing of mortality were induced. PODXL and phosphorylated ezrin were coexpressed at foot process of the cultured cells.

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：podocalyxin 甲状腺癌 子宮体癌

### 1. 研究開始当初の背景

podocalyxin(以下 PODXL)は上皮細胞では微絨毛誘導, 極性形成に関与しており, 腫瘍では乳癌, 前立腺癌で悪性度増大に関わっていることが報告されている。これまで, 甲状腺腫瘍において未分化癌のみが PODXL を発現していることを報告した。PODXL は ezrin や cortactin のリン酸化にかかわるとされ, 増殖活性が高く, 浸潤能の強い甲状腺未分化癌の形質獲得に関与している可能性が推定された。

### 2. 研究の目的

podocalyxin(以下 PODXL)は CD34 関連シアルムチンで血管内皮細胞, 腎ポドサイト, 血小板で発現し, 上皮細胞においては微絨毛を形成, 極性形成に関与しており, 近年乳癌, 前立腺癌等で腫瘍悪性度の増大に関与していることが報告されている。我々は種々の甲状腺腫瘍多数症例を対象とした解析で PODXL が甲状腺未分化癌のみで発現していることを見出し, PODXL が甲状腺未分化癌の有用な診断マーカーになり得ることを報告した。(Yasuoka H, et.al, J Clin Pathol, 2008) 種々の甲状腺腫瘍細胞(腺腫様甲状腺, 濾胞腺腫, 濾胞癌, 乳頭癌, 髄様癌, 低分化癌, 扁平上皮癌, 未分化癌)では未分化癌細胞でのみ PODXL 発現が認められた。乳癌, 前立腺癌では PODXL 発現により ezrin のリン酸化が惹起され, 腫瘍浸潤能が亢進することが報告されている。腎ポドサイトでは PODXL は ezrin や cortactin 等の腫瘍悪性度, 腫瘍転移に関連する因子のリン酸化に関する報告があり, 甲状腺未分化癌においても同様の関連がある可能性がある。また, ezrin 等のリン酸化に癌遺伝子である src の関与も知られており, src 阻害剤が甲状腺未分化癌の治療に応用できる可能性がある。また, 甲状腺未分化癌発生に関わる未分化転化に PODXL が関与している可能性も考えられる。

甲状腺未分化癌, ならびに, 他の癌腫における PODXL の役割を, 悪性度増大, 未分化転化の点で明らかにし, PODXL を標的とする治療法への応用を検討する。

### 3. 研究の方法

a) ヒト組織を用いて PODXL, ezrin, リン酸化 ezrin 等の PODXL と関連する経路分子を免疫染色にて行い, 臨床病理学的に解析する。外科的切除ヒト甲状腺未分化癌パラフィン包埋標本を対象に免疫組織学的解析を行う。比較対象として, 腺腫様甲状腺, 濾胞腺腫, 濾胞癌, 乳頭癌, 髄様癌, 低分化癌, 扁平上皮癌を置く。PODXL との関連が示唆される ezrin, リン酸化 ezrin, cortactin, src, リン酸化 src の免疫染色を行い, PODXL 発現, 種々の臨床病理学的因子, p53, Ki-67 index, 生命予後との相関につき検討する。

b) ヒト甲状腺癌培養細胞株で PODXL 強制発現を行い, 増殖能, 浸潤転移能の変化を解析する。PODXL cDNA 組み換えレトロウイルスベクターを作製し, PODXL 陰性甲状腺未分化癌細胞で PODXL を強制発現, TTF-1, TSH 受容体, サイログロブリン, Na/I トランスポーター発現を定量的 RT-PCR 法, ウェスタンブロット法にて解析する。増殖能, 移動, 浸潤能の変化を合わせて MTT 法, invasion assay 等で検討する。PODXL 陽性甲状腺未分化癌細胞には siRNA もしくは中和抗体を用いて遺伝子発現抑制による同様の変化を解析する。src 阻害剤 AZD0530 転化実験を試みる。

### 4. 研究成果

a-1) 甲状腺腫瘍通常標本での免疫染色では, PODXL は甲状腺未分化癌特異的であった。ezrin, リン酸化 ezrin 発現は甲状腺癌症例に強くみられ, 分化形質発現の減弱との関連がみられた。乳頭癌症例では, ezrin, リン酸化 ezrin は乳頭癌局所浸潤, リンパ節転移と正の相関関係を有していた。未分化癌では

リン酸化 ezrin 発現が PODXL 陰性例でもみられ、また、PODXL とリン酸化 ezrin 発現の相関がみられた。

a-2) 子宮体癌腺癌では、PODXL 発現は、p53 や Ki-67 発現との相関がみられ、腫瘍グレード、臨床病期との相関がみられた。リン酸化 ezrin 発現も p53, Ki-67 発現ならびに臨床病期との発現を示した PODXL とリン酸化 ezrin との発現相関もみられた。

b) ヒト甲状腺癌培養細胞株の PODXL 強制発現では形態変化は引き起こされなかったものの増殖能増大、浸潤・運動能増大が引き起こされた。両者の増大をみるものはなく、増殖能もしくは浸潤・運動能いずれかの増大がみられた。浸潤・増殖能増大をみたものでは、足突起の発達がみられ、同部位にアクチン集簇、収束がみられ、PODXL 発現、リン酸化 ezrin 集簇がみられた。分化形質喪失、未分化転化に係わる分子検索を行うも、培養癌細胞の多くは元來分化形質を喪失していた

#### 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)

1) Yasuoka H, Tsujimoto M, Inagaki M, Kodama M, Tsuji H, Iwahashi Y, Mabuchi Y, Ino K, Sanke T, Nakamura Y.

Clinicopathological significance of podocalyxin and phosphorylated ezrin in uterine endometrioid adenocarcinoma. J Clin Pathol 査読有 65: 2012, 399-402 doi:10.1136/jclinpath-2011-200359

[学会発表](計 1件)

安岡弘直, 他 甲状腺乳頭癌における VEGF/Neuropilin-2 における癌浸潤, リンパ節転移制御. 第 101 回日本病理学会総会 2012年04月26日~2012年04月28日 東

京都

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

なし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

( 1 )

安岡 弘直 (Hironao YASUOKA)

和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号: 30405419

(2)研究分担者

( 0 )

研究者番号：

(3)連携研究者

( 0 )

研究者番号：