

令和 3 年 10 月 19 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15651

研究課題名(和文)腫瘍細胞は間質浸潤する際に機械的ストレスを受けlamin scarを生じる

研究課題名(英文)Tumor cells may suffer lamin scar during stromal invasion by mechanical stress.

研究代表者

割栢 健史(Warigaya, Kenji)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：30647425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：癌組織は正常と異なる形態(細胞異型)を示す。細胞異型に関する核膜蛋白のLaminにてLamin scarという現象が近年報告された。本研究では癌細胞が浸潤する際に形成されるLamin scarと細胞異型の関係を解明することを目的とし尿路上皮癌症例に対し免疫染色で浸潤病変のLaminの発現を評価したが多少の細胞膜内偏在は窺えるが有意差は得られなかった。そこで細胞異型に関する微小管に関わる微小管関連蛋白7に着目し同様に免疫染色で評価すると核極性、異型度、間質浸潤に関して発現に有意差がみられた。これらについて現在論文を投稿中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

尿路上皮癌は、予後の比較的良好な低悪性度症例群と、浸潤や転移を来し、予後不良の高悪性度症例群に分けられる。低悪性度症例の治療は経尿道的切除術などが主体であるのに対して、高悪性度症例の治療は深達度によってBCG/抗ガン剤療法や侵襲性の高い膀胱全摘術が行われる。この様に治療選択上、高異型度症例を正確に判定するが非常に重要であり、そのためには、癌細胞の細胞異型や浸潤を正確に評価することが必須となる。細胞異型や浸潤を正確に評価するためには、その形成機序を解明することが重要であり、本研究はこれを目的としている。

研究成果の概要(英文)：Cancer cells show abnormal morphology, which is so-called "atypia". Lamin is one component of nuclear envelope, and "lamin scar", a novel phenomenon, was reported in recent years. Lamin scar is said to result from cancer cell invasion, and we aimed to uncover the mechanism and the relationship to atypia. We immunohistochemically analyzed the expression of lamin in invasive urothelial carcinoma, but there were no significant changes in shape and distribution of lamin in invasive cancer cells. Therefore, we next try to another candidate protein "microtubule associated protein 7 (MAP7)", which is related to microtubule, a main component affecting cellular shape. In the same way, we immunohistochemically evaluated the expression of MAP7 in urothelial carcinoma, and there are significant changes related to nuclear polarity, grade, and invasion. Now, we are going to submit a paper, and analyze further its potentials in diagnostic aid and therapeutic predictive factor.

研究分野：病理診断

キーワード：微小管関連蛋白 浸潤 核極性 尿路上皮癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

尿路上皮癌は、臨床的予後の良い低悪性度症例群と、強い浸潤性や転移を来し、腫瘍死に至る高悪性度症例群に分けられる。低悪性度症例の治療は経尿道的切除術 (TUR) が主体であるのに対して、高悪性度症例の治療は深達度によって BCG / 抗ガン剤療法や膀胱全摘術が行われる。この様に、治療選択上、高異型度症例を正確に判定することが必要であり、そのためには、癌細胞の細胞異型を正確に評価することが必須となる。我々は、細胞異型を正確に評価するためには、細胞異型を形成する分子病理学的背景を理解することが重要であると考えている。我々は、細胞異型形成に重要な役割を果たす分子病理学的因子として、核膜蛋白 (lamin など) に注目している。近年、Lamin Scar という新たな現象が報告された (Denais et.al: Science 2016)。培養癌細胞が狭小部を通過する際に、細胞は圧迫による強い機械的ストレスを受け、これにより核膜は変形や崩壊をきたし、その後再生されるものの、再生後の培養癌細胞では、核内の核酸が細胞質内に漏れ出し、核膜では Lamin の凝集 (Lamin Scar) が生じているというものである。この現象は、一般的に浸潤癌において、より強い細胞異型が認められるという病理組織所見と合致するように思われ、我々は以下のように仮説を考えた。上皮内癌が間質へ浸潤する際に基底膜を含めた周囲間質の「狭小部位」を通過する際(間質浸潤)に、腫瘍細胞は機械的ストレスを受け、Lamin の凝集 (Lamin Scar) を生じる。加えてこれらの機械的ストレスが核膜蛋白や核酸の細胞質内流出を来す。上記の様な Lamin をはじめとした核膜蛋白の異常が、染色体不安定性を生み、さらに腫瘍の悪性度を増悪させる。この仮説を証明すべく膀胱尿路上皮癌手術症例にて免疫染色にて腫瘍細胞における Lamin 発現の強度や分布について差異がないか評価し、若干の細胞膜内偏在は窺えるものの有意とするだけの変化は証明しえなかった。そこで次の候補蛋白を検討し、細胞形態に關与する微小管に關わる蛋白の一つである microtubule associated protein7 (以下 MAP7) に着目し、膀胱尿路上皮癌手術症例にて細胞異型や浸潤での差異を免疫染色で検討した。

2. 研究の目的

我々は過去に染色体増幅やクロマチンの高次構造の観点から癌細胞の細胞異型の発生機序を解析し、microtubule organizing center (MTOC) や染色体不安定性が中心的役割を果たしていることを明らかにした (ACHC. 2012; Pathology Int. 2013; Virchows Arch. 2015)。本研究では、我々の研究成果をさらに推し進め、尿路上皮癌の核極性の形成機序、および浸潤における分子細胞学的変化の機序において、微小管及び微小管関連蛋白 7 (microtubule associated protein 7、以下 MAP7) が主たる役割を担っていることを明らかにする。

3. 研究の方法

膀胱尿路上皮癌手術症例を対象に MAP7 の免疫染色を施行し、以下のごとく評価を行う。

(1) ヒト尿路上皮癌の手術症例 (TUR 検体を含む) の抽出

和歌山県立医科大学附属病院における手術症例の組織標本について再度鏡検し、膀胱癌の T 分類および異型度に応じて、症例を抽出する。

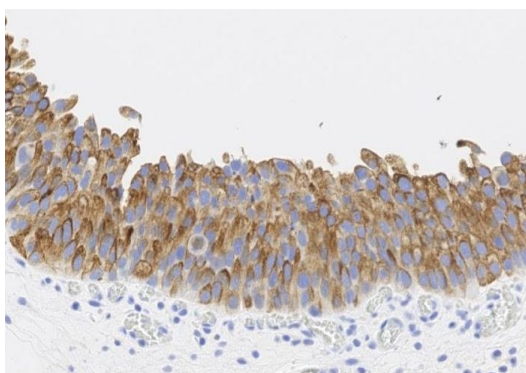
(2) 手術症例にて免疫組織化学染色による MAP7 の発現を評価

低異型度症例と高異型度症例における手術症例 (TUR 検体を含む) にて免疫組織化学染色にて MAP7 の発現を評価する。発現強度とその面積を積算したものを H-score とし、比較検討を行う。また非浸潤性尿路上皮癌にて MAP7 の apical side における限局 (crown sign) と高異型度/低異型度尿路上皮癌の関係を調べる。

4. 研究成果

結果 1

核の表層側に傘様に染色される所見がみられこれを Crown sign と名付けた。Crown sign は non-invasive urothelial carcinoma において low grade cases で半数以上にみられ、high grade cases ではごく一部の症例にみられるのみであった (35 症例中 1 症例のみ)。

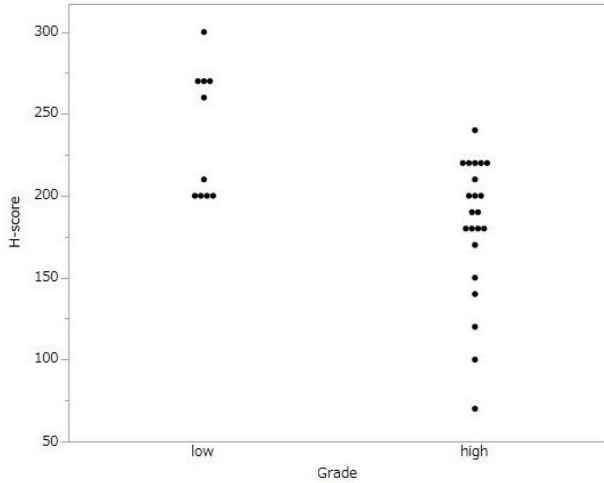


(左図) Non-invasive papillary urothelial carcinoma, low grade では apical side における MAP7 の限局 (Crown sign) が高頻度に見られる (倍率 400 倍)

		Crown sign	
		-	+
Grade	Low	4	6
	High	34	1

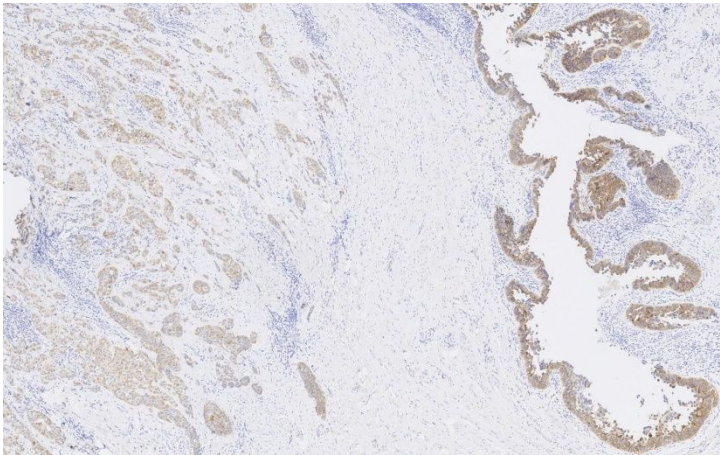
結果 2

H-score で MAP7 を評価： Non-invasive urothelial carcinoma にて high grade case は low grade case に比較し H-score が有意に低かった。

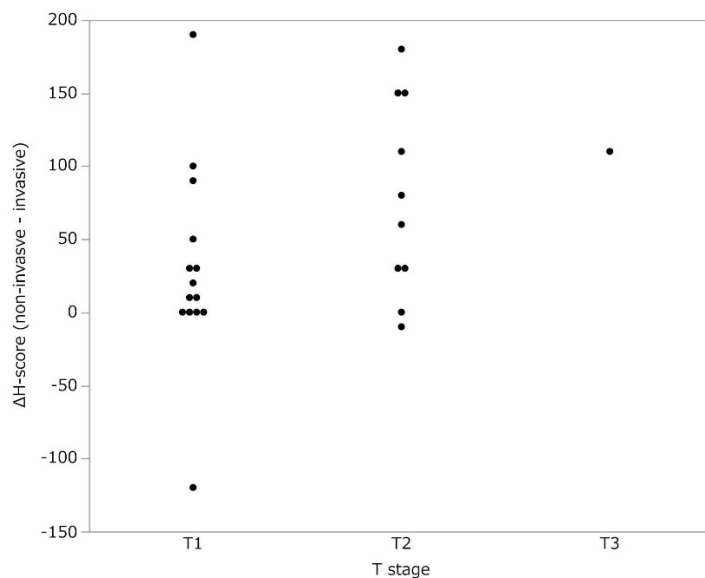


結果 3

H-score で MAP7 を評価：同一検体の non-invasive lesion と invasive lesion の H-score の差を $H\text{-score}(\text{non-invasive component} - \text{invasive component})$ とした。Invasive urothelial carcinoma において大部分の症例において H-score は 0 よりも大きかった (non-invasive component に比較し invasive component は H-score が低下した)。



(左図) 右側の non-invasive component に比較し左側の invasive component にて MAP7 の intensity が減弱している



(左図) 72% (18/25) にて H-score が 0 より大きかった

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------