

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16688

研究課題名(和文) 微小乳頭型膀胱癌を用いたMUC1がPD-L1へ及ぼす影響

研究課題名(英文) Associations between MUC1 and PD-L1 in micropapillary variant of bladder cancer

研究代表者

品川 友親 (Shinagawa, Tomochika)

福井大学・学術研究院医学系部門・特別研究員

研究者番号：00610453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では微小乳頭型膀胱癌、腎癌の標本を用いて、糖鎖抗原であるシアリルルイスx(sLeX)、シアリルルイスa(sLeA)の発現解析および細胞接着因子に着目した機能解析を行った。微小乳頭型膀胱癌での検討は症例蓄積に難渋し、主に腎癌での検討を行った。手術標本での検討では腎癌の細胞膜上にsLeXとsLeAの発現を認めた。またsLeX/sLeAと細胞接着因子E-selectinとの結合能をE-selectin-IgMキメラ蛋白を用いて解析したところ、陽性例では癌の浸潤や転移と有意に関連していた。糖鎖発現や細胞接着因子に着目した本研究の結果は腎癌の新たな予後予測因子となり得る。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌組織の糖鎖発現は腫瘍微小環境で癌が浸潤、転移をきたす機序として注目されている。本研究では当初目標とした微小乳頭型膀胱癌での検討は不十分となったが、平行して行った腎癌の検討では、癌細胞における糖鎖(sLeX/sLeA)発現の有無や細胞接着因子であるE-selectinとの結合能評価を行い、腎癌の浸潤、転移との関連性を明らかにした。とくにE-selectin-IgMキメラ蛋白を用いた病理学的評価は、腎癌の新たな予後因子として有用であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed expression and functional analysis of carbohydrate antigen, Sialyl-Lewis x (sLeX) and Sialyl-Lewis a (sLeA), focusing on cell adhesion factors using specimens of the micropapillary variant of bladder cancer and renal cancer. Analysis for bladder cancer has not been completed due to the small number of cases. Analysis using surgical specimens of renal cancer revealed that sLeX/sLeA was expressed on the plasma membrane of cancer cells. Moreover, in in situ analysis, these sLeX/sLeA-positive ccRCC tissues were decorated with E-selectin-IgM chimeric proteins. Membrane expression of functional E-selectin ligand carbohydrates, as detected by the E-selectin-IgM chimera, correlated more significantly with poor prognosis of patients. Expression of E-selectin-IgM-binding functional E-selectin ligand carbohydrates can serve as a reliable and potentially superior prognostic biomarker of patients with ccRCC.

研究分野：尿路性器癌

キーワード：糖鎖発現 微小乳頭型膀胱癌 腎癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 癌細胞の糖鎖発現と血管内皮細胞の細胞接着因子は、腫瘍微小環境における癌の浸潤や転移のメカニズムとして注目されている。研究代表者らは膀胱癌での糖鎖発現を検討し、糖鎖の一種であるシアリルルイス X (sLeX) とシアリルルイス A (sLeA) の発現の有無が膀胱癌の悪性度や浸潤、転移の有無と関連することを明らかにした。また、sLeX/sLeA の作用機序に細胞接着因子である E-selectin や MUC1 が関与することも明らかにした¹⁾。

(2) 膀胱癌のバリエーションの一種である微小乳頭型膀胱癌は非常に悪性度が高く、既存の抗癌治療にも抵抗性を示すことが多い。そこで微小乳頭型膀胱癌での糖鎖発現および新規癌免疫療法のターゲットである PD-L1 との関連性を解析することで、治療抵抗性獲得の機序解明や新規治療ターゲット発見の一助となるのではないかと考えた。

(3) 一方、泌尿器科では腎癌研究も膀胱癌研究と同様に重要である。腎癌での糖鎖発現については不明な点が多く、膀胱癌での手法をもとに腎癌での糖鎖発現解析を行うことで、腎癌の診断や治療の新たな視点を得られるものと考えた。

2. 研究の目的

(1) 微小乳頭型膀胱癌での sLeX/sLeA の発現や細胞接着因子の発現解析を行い、高悪性度膀胱癌の治療抵抗性獲得機序解明や新規治療ターゲットの発見を目指す。

(2) 腎癌でも同様の検討を行い、糖鎖発現解析が腎癌の診断や治療に寄与するかどうかを検討する。

3. 研究の方法

(1) 微小乳頭型膀胱癌、腎癌のいずれも手術標本を用いて sLeX/sLeA の免疫染色を行い、発現の有無や発現部位、強度を解析する。抗体は sLeX/sLeA のいずれも認識する HECA-452 を使用。

(2) 微小乳頭型膀胱癌では MUC1 の発現も併せて解析する。

(3) 腎癌では E-selectin 結合能の有無を E-selectin-IgM キメラ蛋白での in situ binding assay を行い解析する。

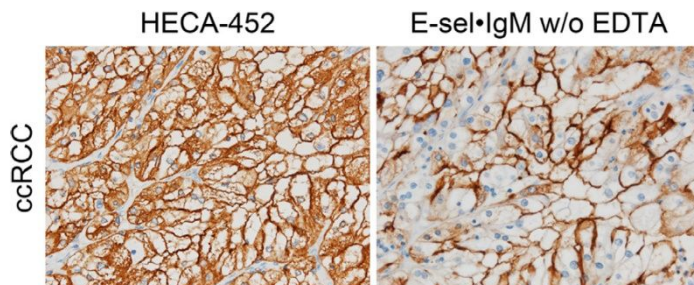
(4) 臨床病理学的情報と照らし合わせ、sLeX/sLeA や細胞接着因子の発現が浸潤転移の予測因子となり得るか解析する。

4. 研究成果

(1、2) 微小乳頭型膀胱癌 11 例の手術標本を用いて免疫染色を行った。sLeX/sLeA と MUC1 はともに細胞表面のとくに間質側に発現を認めた。しかし、症例を 11 例以上蓄積することができず、現時点では統計解析には不十分であると判断した。症例の蓄積など研究は継続中である。

腎癌では淡明細胞型腎細胞癌に対して行われた根治的腎摘除術、腎部分切除術のホルマリン固定パラフィン包埋標本 (全 117 例) を使用した。まず sLeX/sLeA の発現を免疫染色にて解析した。抗体は sLeX/sLeA のいずれも認識するモノクローナル抗体 HECA-452 を使用。HER-2 の病理判定基準に準じ sLeX/sLeA の発現強度を解析すると、発現陰性が 86 例、陽性が 31 例であった。陽性例ではいずれも腫瘍細胞の細胞膜に発現していた。

(3) sLeX/sLeA と E-selectin との結合能を、E-selectin-IgM キメラ蛋白を用いて in situ binding assay にて解析した。結果、全 117 例中、陰性 70 例、陽性 47 例であった。図 1 に陽性例の発現状況を示す。



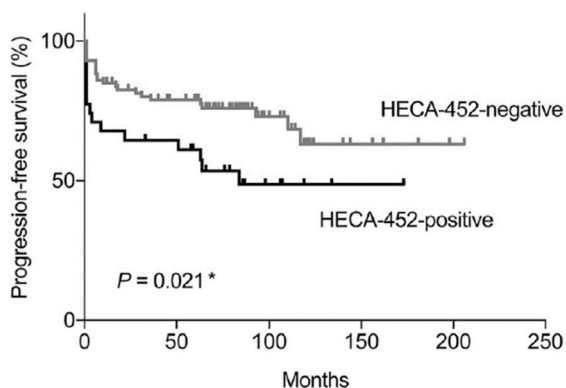
(図 1) 淡明細胞型腎細胞癌(ccRCC)での染色例

左: HECA-452 モノクローナル抗体を使用、右: E-selectin-IgM キメラ蛋白を使用

(4) HECA-452 抗体を用いた sLeX/sLeA の免疫染色結果、E-selectin-IgM キメラ蛋白を用いた in situ binding assay の結果と臨床病理学的情報を照らし合わせた。

sLeX/sLeA 陽性 (HECA-452 陽性) 例は陰性例に比べて、無増悪生存期間の中央値が有意に短かった (陰性群: 148 ヶ月、陽性群: 96 ヶ月、 $P = 0.021$ 、図 2)。binding assay 陽性例は癌の深達度、血管浸潤、リンパ節転移の有無と有意に関連していた。

E-selectin は血管内皮細胞に発現し、本来は白血球の内皮細胞への接着に関与する。本研究の結果は、腎細胞癌が sLeX/sLeA の発現と血管内皮細胞上の E-selectin への結合を介して浸潤や転移をきたす可能性を示唆する。また、E-selectin-IgM キメラ蛋白を用いた in situ binding assay は淡明細胞型腎細胞癌の新たな予後予測因子となり得る。



(図 2) HECA-452 発現の有無による無増悪生存率の比較

< 引用文献 >

Tomochika Shinagawa, Hitomi Hoshino, Minekatsu Taga, Yasuhiro Sakai, Yoshiaki Imamura, Osamu Yokoyama, Motohiro Kobayashi, Urol Oncol. 2017;35:606.e17-606.e23. doi: 10.1016/j.urolonc.2017.06.004.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Makoto Tanio, Akifumi Muramoto, Hitomi Hoshino, Masataka Murahashi, Yoshiaki Imamura, Osamu Yokoyama, Motohiro Kobayashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Expression of functional E-selectin ligands on the plasma membrane of carcinoma cells correlates with poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.urolonc.2021.02.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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
研究協力者	谷尾 信 (Tanio Makoto)	福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・医員 (13401)	
研究協力者	横山 修 (Yokoyama Osamu)	福井大学・学術研究院医学系部門・教授 (13401)	

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
---------	---------