

平成 21年 5月 27 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19590343

研究課題名（和文）

癌浸潤部における HMGB1 蛋白の細胞内局在とその機能的意義に関する病理学的解析

研究課題名（英文）

Pathological analysis of intracellular localization and functional analysis of HMGB1 proteins in invasive cancer cells

研究代表者：原田 大

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：90372507

研究成果の概要：

核内 DNA 結合蛋白である HMGB1 は、近年種々の腫瘍においても発現が報告されているが、その意義や機能については不明である。我々は過去の大腸癌研究を通じて、着床関連蛋白トロフィニンが予後不良の大腸癌に発現し、さらにそのトロフィニン陽性大腸癌においては HMGB1 も高率に共発現していることを発見した。さらに、癌の表層部分では核にのみ発現する HMGB1 が浸潤部においては細胞質にも発現していることを見出した。このことを踏まえ、本研究では HMGB1 の細胞内局在パターンと癌の生物学的悪性度や予後との関連について解析することを目的とした。まず進行大腸癌 50 例を対象にホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて HMGB1 抗体を用いた免疫染色を施行し、浸潤性大腸癌の 96% に HMGB1 の発現があり、38% においては浸潤部においては核および細胞質の両者に HMGB1 が発現することを確認した。次いで胃・肺・乳腺・前立腺の各臓器の浸潤癌 20-30 例に対して同様の免疫染色を施行し、それぞれ順に 90%、75%、80%、70% の陽性率を得た。特に乳癌においては浸潤部において強く HMGB1 が発現していたために、乳癌の症例数を二百に増やして同様の検討を行い乳癌の予後因子とされる核グレード、腫瘍径、乳癌組織型、増殖能等と HMGB1 との発現を比較検討したが、これらの HMGB1 発現と乳癌の予後因子とされる核グレード、腫瘍径、乳癌組織型、増殖能等との相関は見出すことができなかった。また、浸潤部における HMGB1 の細胞質内発現は多くの癌において観察されたが、陽性細胞の分布が腫瘍内で不均一となる症例が多く、残念ながら厳密な意義付けが難しい結果となった。これらの観察を通じて毛細血管増生の著しい部位あるいはその近傍において腫瘍細胞の HMGB1 の発現が多く見られる傾向が伺えたため、腫瘍の血管増生・血管新生と HMGB1 発現との関連について検討を加えたが、これについては期間内に十分な結果を得ることが出来ず、今後の課題となった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：人体病理学

キーワード：腫瘍

1. 研究開始当初の背景

HMGB1 は核内に存在する DNA 結合蛋白で、転写調節や抗アポトーシス作用を有すると考えられている。また、HMGB1 は壊死細胞から放出され、あるいは活性化マクロファージや樹状細胞から能動的に分泌され、サイトカイン様物質として炎症反応のメディエーターとしても作用するとされている。さらに近年になって、種々の悪性腫瘍における HMGB1 の発現が報告されるようになった。だが、現時点では腫瘍における HMGB1 発現の意義やその機能については不明と言え、その細胞内局在についてもほとんど解析されていない。

2. 研究の目的

我々は過去の大腸癌研究において、着床関連蛋白トロフィニンが大腸癌細胞に発現すること、そのような癌が予後不良であることを見出し、さらにそのトロフィニン陽性大腸癌においては、HMGB1 も高率に共発現しているらしいことを発見した。さらに、一部の癌症例において、癌の表層部分では核にのみ発現する HMGB1 が、浸潤部においては HMGB1 が（核のみならず）細胞質にも発現していることを見出した。本研究では HMGB1 の細胞内局在パターンと癌の生物学的悪性度や予後との関連について解析することを目的とした。

3. 研究の方法

初年度は、進行大腸癌 50 例を対象に、ホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて HMGB1 抗体を用いた免疫染色を施行し、HMGB1 の陽性頻度（陽性率）およびその発現形式を検討した。次いで大腸以外の臓器として、胃・肺・乳腺・前立腺の各臓器の浸潤癌 20-30 例に対して同様の免疫染色を施行し、それぞれの HMGB1 の陽性率および発現形式を検討した。二年目は、初年度のデータをもとに乳癌の症例数を二百例と増やして同様の免疫染色を行い、各々の症例について乳癌の予後因子とされる核グレード、腫瘍径、乳癌組織型、増殖能等と HMGB1 の発現を比較検討し、その関連を探った。

4. 研究成果

浸潤性大腸癌の 96% に HMGB1 の発現が見られ、さらに全体の 38% においては、表層部では核にのみ発現するのに対し浸潤部においては

核および細胞質の両者に発現することを確認した。また、HMGB1 の発現は、胃癌の 90%、肺癌の 75%、乳癌の 80%、前立腺癌の 70% においても確認され、特に乳癌においては浸潤部において非常に強く HMGB1 が発現していた。さらにこの結果を踏まえて対象を乳癌に絞り症例数を 200 例に増やして再度検討したところ、全体の 85% において HMGB1 発現が確認された。しかしながら、これらの HMGB1 発現と乳癌の予後因子とされる核グレード、腫瘍径、乳癌組織型、増殖能等との相関は見出すことができなかった。また浸潤部における HMGB1 の細胞質内発現は多くの癌において観察されたが、陽性細胞の分布が腫瘍内で不均一となる症例が多く、残念ながら厳密な意義付けが難しいものとなった。これらの観察を通じて、毛細血管増生の著しい部位あるいはその近傍において腫瘍細胞の HMGB1 の発現が多く見られる傾向が伺えたため、腫瘍の血管増生・血管新生と HMGB1 発現との関連について検討を加えたが、期間内に十分な結果を得ることが出来ず今後の課題となった。

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）

Harada O, Suga T, Suzuki T, Nakamoto K, Kobayashi M, Nomiyama T, Nadano D, Ohyama C, Fukuda MN, Nakayama J. The role of trophinin, an adhesion molecule unique to human trophoblasts, in progression of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2007 Sep 1;121(5):1072-8.

〔学会発表〕（計 1 件）

粗大石灰化を呈した乳腺腫瘍：第 57 回東京乳腺研究会 2008 年 11 月 29 日東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日本医科大学・医学部・助教
原田 大

(2) 研究分担者

信州大学・医学部・講師
増本 純也

(3) 連携研究者