

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月11日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009年度～2011年度

課題番号：21591680

研究課題名（和文） 乳癌転移に関与する細胞間質内 SHAP-HA 複合体と循環血液中腫瘍細胞との関係解析

研究課題名（英文） The role of the SHAP-HA complex and circulating tumor cells in the breast cancer metastasis

研究代表者

藤井 公人 (FUJII KIMIHITO)

愛知医科大学・医学部・講師

研究者番号：00524331

研究成果の概要（和文）：癌細胞周囲間質においては、ヒアルロンタン含有量の高いmatrixが形成されることにより、がん細胞が転移、遊走能を獲得する。ヒトにおいては、血清由来ヒアルロンタン関連蛋白（Serum-derived Hyaluronan Associated Proteins, SHAP）がヒアルロンタンと共有結合し（SHAP-HA複合体）、互いの構造やその維持に重要な役割をはたしている。SHAP-HA複合体の血中濃度は、乳癌の病期の進行に伴い上昇し、かつ、「Stage IVまたは再発」が最も高値であることより、転移にも関与することが示唆された。またSHAP-HA複合体は腫瘍周囲の細胞間質に存在し、悪性腫瘍の微小環境形成に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：During cancer progression, Hyaluronan (HA), which is a linear polymer of simply repeated *N*-acetyl glucosamine-glucuronic acid disaccharide units, assembles an extracellular matrix that is favorable for both motility and proliferation of cancer cells. Serum-derived hyaluronan-associated protein (SHAP), which forms covalent linkages with HA (SHAP-HA complex), stimulates to form tumor microenvironment which is formed by HA.

We firstly recognized the accumulation of both HA and SHAP in breast cancer specimen. Marked aggregation of both HA and SHAP was identified in the stroma around the cancer nest by immunohistochemical staining of the fixed specimen. Serum level of SHAP-HA complexes was elevated with the progression of the primary cancer staging. We concluded that SHAP modification of HA may have an important role in tumor proliferation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	200,000	60,000	260,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：①生体材料，②癌，③循環血液中腫瘍細胞，④SHAP-HA 複合体

1. 研究開始当初の背景

癌の転移における接着因子としてのCD44等の役割が解明されつつあるが、全てが細胞膜表面のマーカーに関する研究で終始している。しかし、転移においては癌細胞の転移・遊走能の獲得のため、ヒアルロンン含有量の高い細胞外 matrix が形成され微小環境形成に寄与する可能性が示唆されている。ヒトにおいては、血清由来ヒアルロンン関連蛋白質 (Serum-derived Hyaluronan Associated Proteins; SHAP)がヒアルロンンと共有結合し(SHAP-HA 複合体)、互いの構造やその維持に重要な役割をはたしている。我々は、この SHAP-HA 複合体に注目した。一方、循環血液中腫瘍細胞(circulating tumor cells; CTC)は癌の進行度と相関するとの報告もあり、転移微小環境との関係も検討すべきと考えられた。

2. 研究の目的

SHAP-HA 複合体と癌の伸展との関係を解明し、CTC との関係も同時に評価する。

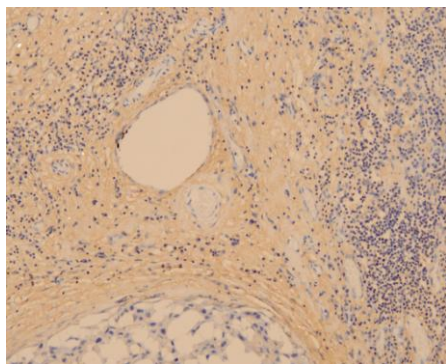
3. 研究の方法

の癌組織内の存在の評価およびその局在性を検討するため、免疫染色(ABC法)を行う。癌の進行度との関係の解明として、健常人を比較対象として、血中の SHAP-HA 複合体の濃度を測定する。この手法としては Sandwich ELISA 法を用いる。

CTC においては、その測定は外部委託とする。

4. 研究成果

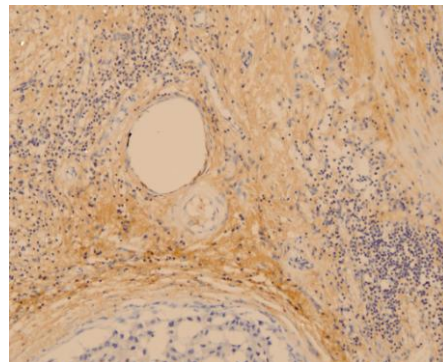
SHAP-HA 複合体の組織内での発現様式を提示する。



抗ヒアルロンン抗体を使用

上記免疫染色においては、ヒアルロンンは癌周囲の間質に均一に存在していることが確認出来た。

次に、SHAP-HA 複合体をその抗体を用いて免疫染色を行った。



癌の胞巣の周囲に局在している。

これらより、癌転移における微小環境形成への関係が示唆された。

次に、血中 SHAP-HA 複合体濃度を提示する。健常人との比較も行う。

	No of Pt	血中 log (SHAP-HA 複合体濃度)	P 値
健常人 (女性)	16	-0.131 ± 0.085	-
Stage I~III	39	0.104 ± 0.184	0.01
Stage IV または再発	34	0.428 ± 0.369	0.01

癌の進行に伴って SHAP-HA 複合体の血中濃度は上昇することが確認された。

CTC においては、予後との関係解析には症例も少なく、追跡調査機関が短く十分な結果は今後に得られる予定である。

まとめ

SHAP-HA 複合体の発現は、癌の進行との関係があると示唆された。

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 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

① Fujii K, Yoshida M, Yorozuya K,

Nakano S, Fukutomi T

The physiological activity of SHAP-HA complex in the stroma of breast cancer.
12th Milan Breast Cancer Conference
2010. 6. 14-20 Milan/Italy

②藤井公人, 高阪絢子, 毛利有佳子, 吉田美和, 萬谷京子, 中野正吾, 福富隆志

乳癌組織におけるヒアルロン酸および血清由来ヒアルロン酸関連蛋白の発現
第 110 回日本外科学会定期学術集会
2010. 4. 8 名古屋

③藤井公人, 高阪絢子, 毛利有佳子, 吉田美和, 萬谷京子, 中野正吾, 福富隆志

乳癌組織における血清由来ヒアルロン酸関連蛋白 (SHAP) の発現とその役割
第 18 回日本乳癌学会総会
2010. 6. 24 札幌

④藤井公人, 高阪絢子, 毛利有佳子, 吉田美和, 萬谷京子, 中野正吾, 福富隆志

乳癌組織間質におけるヒアルロン酸 (HA) および血清由来ヒアルロン酸関連蛋白 (SHAP) の発現とその役割
第 72 回日本臨床外科学会
2010. 11. 21 横浜

[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◇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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤井 公人 (FUJII KIMIHITO)
愛知医科大学・医学部・講師
研究者番号：00524331

(2) 研究分担者

中野 正吾 (NAKANO SHOGO)
愛知医科大学・医学部・准教授
研究者番号：20351108

萬谷 京子 (YOROZUYA KYOKO)
愛知医科大学・医学部・講師
研究者番号：90297359

福富 隆志 (FUKUTOMI TAKASHI)
愛知医科大学・医学部・教授
研究者番号：30165302

(3) 連携研究者

()

研究者番号：