

## 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 5月28日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592036

研究課題名（和文） 前立腺癌における HGF 関連因子の発現と浸潤・増殖機構に及ぼす影響

研究課題名（英文） Manifestation of the HGF-related factor and influence of the invasion and proliferation in prostate cancer.

研究代表者

布施 秀樹（FUSE HIDEKI）

富山大学・大学院医学薬学研究部（医学）・教授

研究者番号：40143292

研究成果の概要（和文）：HGF(hepatocyte growth factor)の活性化に関与していると考えられているhepatocyte growth factor activator(HGFA)の抑制因子の一つであるHGFA inhibitor type 1 (HAI-1)の前立腺癌における発現を検討した。免疫組織学的な検討でHAI-1は、前立腺腺上皮細胞で発現しており間質細胞には発現していなかった。生検組織を用いた検討で正常細胞の腺上皮や癌細胞の腺上皮で染色されたが一部の症例においては染色されない例も認めた。染色強度を陰性、弱陽性、陽性、強陽性に分類し病理組織学的因子別に比較検討を行った。生検で癌を認めなかった症例と癌を認めた症例を比較したところ癌症例で有意に発現強度は亢進していた。癌症例の検討では、その病期によって差は認めなかった。しかし去勢抵抗性となった症例では、未治療の転移性前立腺癌症例よりその発現強度が有意に低いことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We investigated manifestation in prostate cancer of hepatocyte growth factor activator(HGFA) inhibitor type 1(HAI-1). HAI-1 is inhibitor for HGFA. HAI-1 appeared in prostate epithelial cell, but did not appear in stromal cell by immunohistochemistry(IHC). Examination with prostate biopsy specimens, the HAI-1 expression was not observed for some case. We defined HAI-1 expression intensity as negative, weak, moderate and strong. We analyzed the relationship between HAI-1 expression and several clinicopathological factors. Expression of HAI-1 by IHC in patients with prostate cancer was significantly higher than those with negative for prostate biopsy. There were no significant differences in HAI-1 expression with respect to clinical stages or tumor grades. However castration resistance prostate cancer showed significantly lower HAI-1 expression than untreated metastatic prostate cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：腫瘍学

## 1. 研究開始当初の背景

HGF は、組織再生・修復に関与することに加え、癌-間質相互作用のメディエーターとして多くの癌細胞の浸潤・転移能を亢進させることが報告されている。我々も HGF が PC-3 や DU-145 細胞の浸潤能を亢進させ、さらに差容器所として細胞運動能の亢進、uPA や MMP-1,9 の賛成亢進や MT1-MMP の発現を亢進させることを報告してきた (Cancer Letters, 155:173-179, 2000, Oncology Rep., 10:1001-1006, 2003)。HGF は、非活性型で分泌され HGFA により活性型となる。HGFA は 2 種類のインヒビターである HAI-1 および HAI-2 によって特異的に制御されている。我々は、前立腺肥大症と前立腺癌患者の血中 HGF 関連因子の測定を行い HGFA と HAI-1 が有転移症例と再燃症例で有意に高値になることを明らかにした (Eur.Urology, 48:686-690, 2005, Prostate, 66:487-492, 2006)。

前立腺癌を含め多くの癌の進展や浸潤における HGF の意義が明らかになってきた。癌細胞周囲微小環境下において HGFA や HAI を含めた HGF の活性化機構は、癌細胞の浸潤・増殖に重要な役割を果たしている可能性がある。それゆえ正常前立腺細胞並びに前立腺癌細胞での HGFA や HAI の発現を確認することは重要である。

血中の HGF や c-Met を測定し、癌患者で高値になることは前立腺癌を含め多くの腫瘍で報告されているが、血中の HGFA と HAI を測定した報告は少ない。免疫組織学的には、正常の腎組織で HAI-1 と HAI-2 がともに発現していることと腎細胞癌で HGFA の発現が亢進していることが報告されている。前立腺癌組織では HAI-1 が発現していることが最近報告されたが、HGFA と HAI-2 についての報告はない。また *in vitro* において前立腺癌細胞株の浸潤能に対する HGFA と HAI の影響を調べた報告もない。

## 2. 研究の目的

本研究は樹立細胞株や前立腺組織における HGF 関連因子の発現の有無を確認するとともに、浸潤や増殖に対する影響についても評価する。さらに前立腺生検標本を用いた免疫組織学的な染色強度の違いによって前立腺癌の進展度や予後と関連するか検討することを目的とする

## 3. 研究の方法

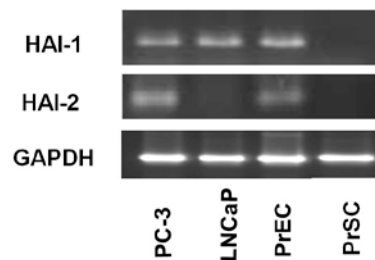
(1) 正常前立腺細胞と前立腺癌細胞の HAI-1 と HAI-2 の mRNA を RT-PCR、膜型 HAI-1 の発現を FACS 法にて測定した。

(2) 前立腺生検にて採取した前立腺組織 (パラフィン包埋切片) を用いて免疫組織学的に HAI-1 の発現を測定した。免疫染色の 1 次抗体は anti-human HAI-1 (Dilution 1:1,000; R&D System Inc., Minneapolis, MN)、2 次抗体は Histofine MAX-PO(G) (Nichirei Bioscience Inc., Tokyo, Japan) を用いた。本研究は、書面にて同意を得た症例の生検標本を用いて行った。

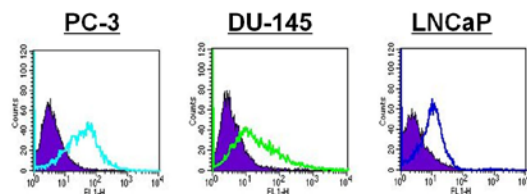
## 4. 研究成果

### (1) HAI-1 の前立腺癌細胞における発現

正常前立腺細胞並びに前立腺癌細胞での細胞表面に存在する膜型 HAI-1 発現を Flowcytometry で測定したところ正常前立腺上皮細胞と前立腺癌細胞の細胞表面に HAI-1 の発現を認め正常前立腺間質細胞には認めなかった。



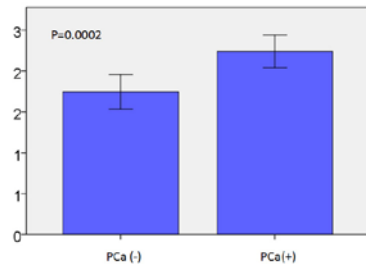
RT-PCR analysis of HAI-1 and HAI-2 mRNA in prostate cancer cells and normal prostate cells



Expression of transmembrane-form HAI-1 on the surface in prostate cancer cells

### (2) 前立腺生検によって得られた検体の免疫組織学的検討

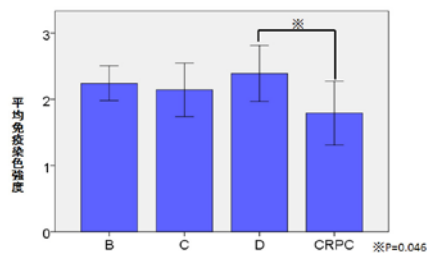
75 例の未治療前立腺癌患者 (stage B 29 例、stage C 28 例、stage D 18 例) と 51 例の前立腺癌陰性患者の生検検体を用いて免疫染色を行った。染色強度によって陰性 (score 0)、弱陽性 (score 1)、陽性 (score 2)、強陽性 (score 3) に分類し検討を行った。染色強度は、前立腺癌を認めなかった症例と比較し前立腺癌が陽性であった症例で有意に染色強度が高値であった。前立腺癌患者での検討では、臨床病期や病理組織学的な factor と関連がなかった。



前立腺生検標本におけるHAI-1染色強度

(3) 去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) の免疫組織学的検討

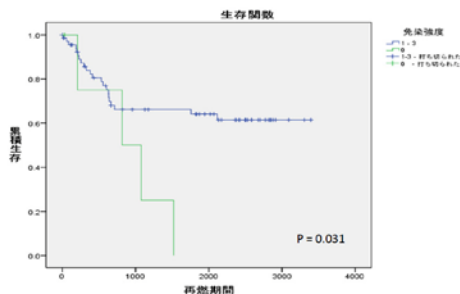
前立腺癌の診断でホルモン療法がおこなわれた後、治療抵抗性となった症例の前立腺組織の HAI-1 免疫染色を行ったところ、去勢抵抗性前立腺癌症例の HAI-1 染色強度は未治療の転移性前立腺癌者と比較して有意に染色強度が低かった。



前立腺癌臨床病期におけるHAI-1染色強度

(4) HAI-1 染色強度と PSA progression free survival

未治療前立腺癌の HAI-1 染色強度によって予後に差が出るか検討したところ染色陰性症例は陽性症例と比較して有意に PSA 再発や再燃が多く観察された。



PSA progression-free survival とHAI-1染色強度

(5) HGFA の抑制因子である HAI-1 の組織における染色強度が癌症例で高くなっている理

由や去勢抵抗性前立腺癌で低くなっている理由は明らかではないが、このセリンプロテアーゼが病勢の進行における HGF の活性化機構において重要な影響を有している可能性が示唆される結果であった。

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 2 件)

① Yasuda K., Morii A., Watanabe A., Fujiuchi Y., Komiya A., and Fuse H. : Expression of Hepatocyte Growth Factor Activator Inhibitor Type 1 (HAI-1) in Prostate Cancer. Urology, 78: S293-S294, 2011. 査読あり

② Yasuda K., Nagakawa O., Akashi T., Fujiuchi Y., Koizumi K., Komiya A., Saiki I., and Fuse H.: Serum active hepatocyte growth factor (AHGF) in benign prostatic disease and prostate cancer. The Prostate, 69: 346-351, 2009. 査読あり

[学会発表] (計 4 件)

① Yasuda K., Komiya A., and Fuse H.: Expression of Hepatocyte Growth Factor Activator Inhibitor Type 1 (HAI-1) in Prostate Cancer. 31<sup>th</sup> Congress of the Societe Internationale d'Urologie, 2011.10.16-10.20 Berlin.

② 保田賢司, 一松啓介, 藤内靖喜, 小宮顕, 布施秀樹: ヒト前立腺組織における HAI-1 の免疫組織学的検討. 第 99 回日本泌尿器科学会総会 2011. 4. 21-4. 24 名古屋

③ 保田賢司, 一松啓介, 藤内靖喜, 小宮顕, 布施秀樹: ヒト前立腺組織における HAI-1 の免疫組織学的検討. 第 15 回 BRM 2011. 3. 5 金沢

④ 保田賢司, 一松啓介, 藤内靖喜, 小宮顕, 布施秀樹: 前立腺癌における HAI-1 の発現について. 第 60 回日本泌尿器科学会中部総会 2010. 11. 30-12. 2. 名古屋

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/uro/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

布施 秀樹 (FUSE HIDEKI)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)・教授

研究者番号: 40143292

(2)研究分担者

保田 賢司 (YASUDA KENJI)

富山大学・大学病院・助教

研究者番号：20401854

(3)連携研究者

( )

研究者番号：