

尿路上皮癌における VASH1, VASH2 の発現とその機能解析

[1] 組織

代表者：大家 基嗣
(慶應義塾大学医学部泌尿器科学教室)
対応者：佐藤 靖史
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：小坂 威雄
(慶應義塾大学医学部泌尿器科学教室)
宮崎 保匡
(慶應義塾大学医学部泌尿器科学教室)

研究費：物件費 231,240円
旅費 68,760円

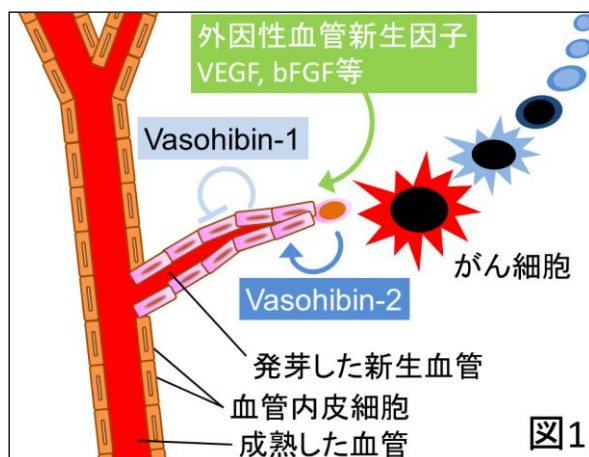
[2] 研究経過

癌による死亡の原因の多くは、癌の周囲臓器浸潤・転移に起因する臓器不全であり、尿路上皮癌においても、初回治療の後、数ヶ月から数年を経て、転移・局所再発といった形で生体を脅かす。尿路上皮癌は予後不良の癌であり、転移・浸潤に対してシスプラチンを中心とした抗癌化学治療が広く行われているが、奏効率は40~50%程度に留まり、転移すると5年生存率は10~40%以下といわれている。また、近年登場した分子標的薬においても尿路上皮癌に対する治療効果は、従来の抗癌剤を凌ぐ効果が得られないか、あるいは効果が得られても強い副作用のために臨床応用にまで至っていないのが現状である。治療薬の強い副作用や耐性の発現のため、より有効で副作用の少ない治療薬やより良い治療方法を行うためのバイオマーカーの発見の必要性が指摘されている。

近年、東北大学加齢医学研究所腫瘍制御研究部門腫瘍循環研究分野の佐藤靖史教授らにより、VEGFの刺激によって血管内皮細胞で発現する遺伝子の中から血管新生抑制因子として Vasohibin が同定された。

Vasohibin-1(VASH1)と Vasohibin-2(VASH2)の存在が同定され、VASH2は、VASH1と拮抗して血管新生を促進する作用があり、VASH2はVASH1の Homologue であることが同定された(図1)(Kimura H et al. Blood. 2009)。

我々は、一連のがん研究を通して、単一のがん細



胞自身の要因のみに基づく概念では、浸潤・転移能獲得のプロセスを理解するには不十分であり、がんを、がんを形成する間質や血管内皮などの細胞含む集団と相互作用して微小環境を織りなす「がん組織集団」として捉え直すことで、新たな治療戦略を練り直す必要性に迫られていると考えている。特に、腫瘍の血管新生をターゲットとした研究・新規治療薬の開発は近年その重要性を増しており、本共同研究は、血管新生の際に血管内皮細胞に発現する内因性血管新生抑制因子 VASH1 に着目し、尿路上皮癌における VASH1 の発現に関する病態解明と予後予測するバイオマーカーとなるか明らかにすることを目的としてまず研究を行った。

当院で診断、手術治療された限局性上部尿路上皮癌 (pTa-T3N0M0) 171 例を対象として、手術検体のパラフィン包埋切片を CD34 および VASH1 の免疫染色を行い、各種臨床的パラメータとの関連を検討した。生存率は Kaplan-Meier 法により算出し、有意差の検定は Log-rank test を用いた。Cox 比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行い、独立した危険因子を検討した。VASH1 の発現は、High Stage, High Grade の症例において有意に高い傾向 ($p < 0.05$) を認め、単変量解析を施行したところ、有意に術後再発 ($p = 0.017$) や病死 ($P = 0.042$) に関連することが明らかになった。多変量解析を施行したところ、VASH1 の高発現は、術後再発 ($P = 0.024$) や病死 ($P = 0.031$) に関連する独立した予後予測因子であることが明らかになった。上部尿路上皮癌において VASH1 の高発現は、術後再発の独立した危険因子であり、上部尿路上皮癌の進展への関与が示唆さ

れ、研究成果として論文発表した（成果資料1）。年度はさらに前立腺癌の手術検体でも同様の検討を行い、VASH1の発現は癌の予後を予測するバイオマーカーとなるか検討を行った。

当院で診断され、根治的前立腺全摘除術が施行された限局性前立腺癌（pT1-T3N0M0）167例を対象として対象として、手術検体のパラフィン包埋切片をCD34およびVASH1の免疫染色を行い、各種臨床的パラメータ（年齢、術前PSA値、Gleason Score、pT stage）との関連を検討した。PSA非再発生存率はKaplan-Meier法により算出し、有意差の検定はLog-rank testを用いた。Cox比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行い、術後PSA再発に関する独立した危険因子を検討した。

以下、研究活動状況の概要を記す。

平成24年9月21日札幌にて行われた第71回日本癌学会学術総会で研究成果のポスター発表を行った。また、学会開催期間中に佐藤教授と今後の研究の打ち合わせを行った。

平成25年1月30日東京にて佐藤教授と打ち合わせを行い、進捗状況の報告と今後の研究内容に関する協議を行った。

平成25年3月2日から3月3日にかけて宮城県刈田郡蔵王にて第8回Vasohibin研究会が開催されたが、この際に「前立腺癌におけるVasohibin-1発現に関する予後因子として検討」という演題にて研究成果を発表した。また、この際、学外研究者との交流を行い、佐藤教授と今後の研究計画についての打ち合わせを実施した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、VASH1の発現は、High Gleason Score, High pT stageの症例において有意に高い傾向（ $p < 0.05$ ）を認めた。

第2に、術後PSA再発の観点から単変量解析を施行したところ、術前PSA値、pT stage、微小血管密度（MVD）と同様に、VASH1の高発現は、有意に（ $p < 0.001$ ）術後PSA再発に関連することが明らかになった。

第3に、VASH1のPSA再発に関する予後因子としての意義を明らかにするために、Cox比例ハザードによる多変量解析を施行した。その結果、pT stage（ $p < 0.001$ ）と共に、VASH1の高発現（ $P = 0.007$ ）は、術後PSA再発に関連する独立した予後予測因子であることが明らかになった。

この平成23年度の研究結果を踏まえて、平成24年第4に、さらにPSA非再発生存解析を進めたところ、pT3以上かつVASH1の発現が高い症例は、最も予後が不良であった。

前立腺癌においてもVASH1の高発現は、術後PSA再発の独立した危険因子であり、癌の進展への関与が示唆され、研究成果として論文が発表される予定である（成果資料2）。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、これまでの他臓器の癌における研究と同様に免疫染色と臨床データを用いて解析を行った研究であり、すでに検討されている他臓器の癌との比較を行うことで尿路上皮癌や前立腺癌におけるVasohibinの発現の特徴とその病態解明につながるものと期待される。本共同研究によって、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、血管新生をターゲットとした泌尿器科癌の病態解明、予後因子について検討を行う臨床研究プロジェクトにも発展しつつある。

本共同研究で明らかになったVASH1の予後因子としての研究成果は、上部尿路上皮癌や前立腺癌の進展予知に有用なバイオマーカーの開発という新しい研究領域の開拓（萌芽的研究の発見）に結びつき、腫瘍における血管内皮の異質性、つまりVASH1を発現している血管内皮細胞をターゲットとした新規治療方法の開発の可能性への今後の発展が期待される。

[4] 成果資料

(1) The prognostic significance of vasohibin-1 expression in patients with upper urinary tract urothelial carcinoma. Yasumasa Miyazaki, Takeo Kosaka, Shuji Mikami, Eiji Kikuchi, Nobuyuki Tanaka, Takahiro Maeda, Masaru Ishida, Akira Miyajima, Ken Nakagawa, Yasunori Okada, Yasufumi Sato, Mototsugu Oya. Clinical Cancer Research. 2012. August. 1;18(15):4145-53.

(2) The prognostic significance of vasohibin-1 expression in patients with prostate cancer. Takeo Kosaka, Yasumasa Miyazaki, Akira Miyajima, Shuji Mikami, Yuichiro Hayashi, Nobuyuki Tanaka, Hirohiko Nagata, Eiji Kikuchi, Ken Nakagawa, Yasunori Okada, Yasufumi Sato, Mototsugu Oya. British Journal of Cancer. 2013. March. (Accepted)