

乳癌の発生と進展における vasohibin2 発現の 意義に関する臨床病理学的検討

[1] 組織

代表者：森谷 卓也

(川崎医科大学 病理学2)

対応者：佐藤 靖史

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：紅林 淳一

(川崎医科大学 乳腺甲状腺外科学)

鹿股 直樹

(川崎医科大学 病理学2)

研究費：物件費 23,600円

旅費 76,400円

[2] 研究経過

Vasohibinは、東北大学加齢研腫瘍循環研究分野の佐藤靖史教授により見出された血管増殖抑制因子である。生理的状态や様々な疾患で、血管が増殖する際に、それを抑制するために血管内皮などから放出される物質である。一般に癌組織においては、正常組織に比して強く発現しすること、癌が増殖し続ける限り発現すること、悪性度が高く進行の早い癌で発現が強いことが明らかになってきた。これまでに肺癌、乳癌、子宮体癌、子宮頸癌、大腸癌などにおけるvasohibinの発現を、病理学的に観察し研究してきた。

一方、従来の研究対象としてきたvasohibin1のホモログであるvasohibin2が発見された、その機能については十分な解明には至っていない。最近、癌細胞の一部にvasohibin2が発現していることが確認されるようになり、基礎的研究の成果からより低分化の癌、言い換えると幹細胞に近い起源を有する癌に発現が高い可能性が指摘されている。このことは、近年注目を集めている癌幹細胞に関する研究や、治療不応性・予後不良な癌の特性を明らかにするための基礎研究として、大変重要である。そこで、今回は、過去の生検・手術例を用いて後ろ向きに病理組織学的検討を行い、乳癌組織におけるvasohibin2の発現の様子を観察し、臨床病理学的因子と比較検討した。

以下、研究活動状況の概要を記す。

予備検討ののち、川崎医科大学の規定に則り、本研究内容を倫理委員会に申請し、平成24年10月9日に研究開始可能な仮承認を、同11月12日に正式承認を得た

(川崎医科大学研究番号#1333；乳癌の個別化治療を推進するための病理組織学的検討)。ついで、川崎医科大学附属病院で過去に手術が施行された乳癌を抽出するとともに、当該症例の手術時病理標本を再検討し、臨床病理学的因子に関して再検討し、症例データベースを作成した。また、本研究に用いる代表パラフィンブロックの選定を行った。さらに、これらのブロックから新規に組織切片を作製し、免疫組織染色(抗vasohibin2抗体)の染色を実施した(図1)。

研究打ち合わせは、川崎医科大学所属の研究分担者とは学内において症例選定、染色条件の確認、染色結果の判定についてミーティングを行った。また、加齢医学研究所対応者の佐藤靖史教授とは、分担研究者の鹿股が、平成25年3月2日、仙台において打ち合わせを行い、進捗状況の報告と今後の研究内代に関する協議を行った。

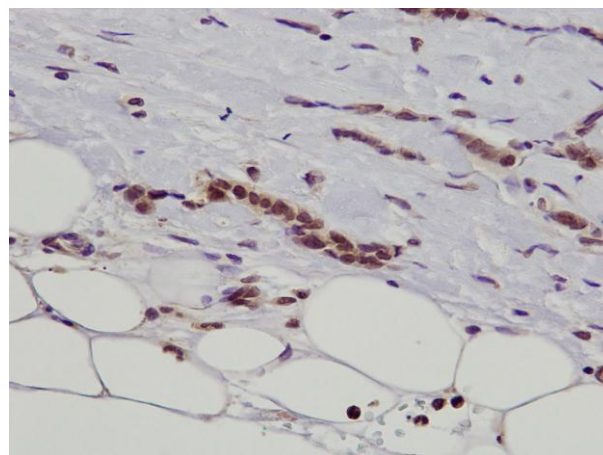


図1：浸潤性乳管癌における vasohibin2 発現

[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。

川崎医科大学乳腺甲状腺外科で手術が施行された乳癌27例を抽出した。このうち22例はTMA(tissue microarray)、5例は通常の切片を用いた。全例女性、年齢分布は30~82歳(中央値61歳)、TNM分類はpT1 7例、pT2 18例、pT3 2例、pN0 14例、pN1a 9例、pN2a 2例、pN3a、2例、全例M0であった。ホルマリン固定・パラフィン包埋材

料から脱パラフィンした後、Tris-EDTA pH9 バッファー (Dako)で温浴(95° 40 分)で賦活操作後、抗 vasohibin2 抗体(1 μg/ml に希釈)を 4°C一昼夜反応させた。2 次抗体は EnVision キットを使用し、DAB で発色させた。

Vasohibin2 の発現は癌細胞の細胞質に認められた。各症例における陽性率は5~100%と幅があり、中央値 40%、平均 44.6%であった(図 2)。これを、発現の程度により高低の二群に分けて解析した。その結果、vasohibin-2 高発現は乳癌の組織学的異型度(図 3)、HER2 陽性(表 1)と正の相関を、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体の発現とは負の相関を認め(表 2)、それぞれ統計学的に有意であった(p=0.0231, 0.0025, 0.0147, 0.00265)。

次に、乳癌の内因性サブタイプ別にも有意差があり、luminal A およびB型で発現性が低く、HER2 型およびトリプルネガティブ乳癌では発現が高い傾向がみられた(p=0.04)(表 3, 図 3)。但し、幹細胞マーカーとも目されるALDH1 との関連は明らかではなかった。

図 2 vasohibin2 陽性細胞率の分布

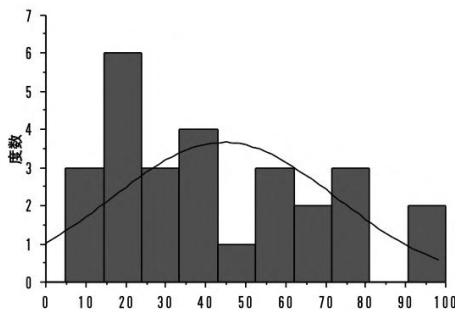


図 3 vasohibin2 発現と組織学的異型度 (mSBR : 組織学的異型度分類 VASH2: vasohibin2)

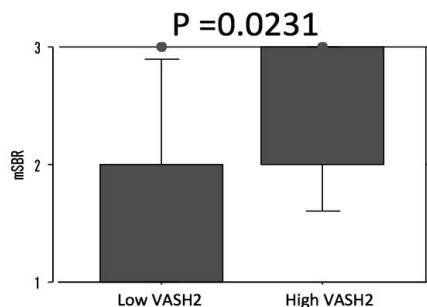


表 1 vasohibin2 と HER2 発現の相関

VASH2	HER2-	HER2+
低発現	15	1
高発現	6	5

P=0.0265

表 2 vasohibin2 とホルモン受容体発現の相関

VASH2	ER-	ER+	PgR-	PgR+
低発現	1	15	3	13
高発現	7	4	8	3

ER (エストロゲン受容体) : p=0.0025

PgR (プロゲステロン受容体) : p=0.0147

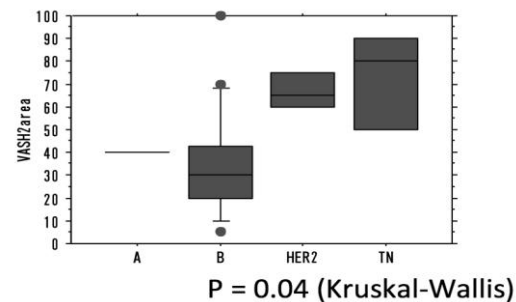
表 3 乳癌内因性サブタイプ vasohibin2 発現

(上段はタイプ分類の定義概要を、下段は検討結果を示している)

	LuminalA	LuminalB	HER2	Triple negative
ER/PgR	+	+	-	-
HER2	-	+	+	-
VASH2				
高発現	2	13	0	1
低発現	0	4	4	3

P=0.0106

図 3 内因性サブタイプ別の vasohibin2 陽性細胞率



(横軸の A, B は luminal を略した. TN: triple negative, VASH2: vasohibin2)

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究の成果からは、やや少数例であっても vasohibin2 の発現性に有意差を得ており、症例を増やすとともに、他のパラメーターも追加してその意義に関する研究を進める予定である。また、早期癌や前癌病変における発現性を明らかにし、癌の発育進展のメカニズムを探る足がかりの一つとしても期待が持たれる。

[4] 成果資料

(1) Takahashi Y, Koyanagi T, Suzuki Y, Saga Y, Kanomata N, Moriya T, Suzuki M, Sato Y.

Vasohibin-2 expressed in human serous ovarian adenocarcinoma accelerates tumor growth by promoting angiogenesis. Mol. Cancer Res. 2012 Sep;10(9):1135-46.