

## 口腔がんにおける Vasohibin family の発現・機能解析

### [1] 組織

代表者：樋田 京子  
(北海道大学遺伝子病制御研究所)  
対応者：佐藤 靖史 (東北大学加齢医学研究所)  
分担者：樋田 泰浩 (北海道大学医学研究科)  
間石 奈湖  
(北海道大学遺伝子病制御研究所)  
鳥居ちさほ  
(北海道大学遺伝子病制御研究所)  
研究費：物件費 20 万円，旅費 10 万円

### [2] 研究経過

(本研究の目的) 血管新生が複雑で多様なメカニズムで制御されていることが近年報告され，治療経過の把握や治療方針の決定に有用なバイオマーカーの必要性は高まっている。本共同研究では，Vasohibin ファミリーの口腔癌における発現解析をおこない，腫瘍血管新生との関連，病期分類 stage などの臨床パラメータや予後との関連について明らかにし，Vasohibin の口腔癌バイオマーカーとしての可能性を探る。

(本研究の概要) 口腔がんは進行した場合、機能的、審美的にも著しい QOL の低下をもたらす。そのため、口腔がんの早期発見や治療方針の決定に有用なバイオマーカーが必要とされている。Vasohibin-1 (VASH1) は血管内皮増殖因子 VEGF-A によって血管内皮細胞において誘導される分子で、血管新生においてネガティブフィードバック調節機構を担う血管新生抑制因子として知られている。近年、乳がん、肝細胞がん、前立腺がん等、様々ながんにおいて VASH1 の発現と予後に関連があることが報告されている。

しかしながら，口腔扁平上皮癌における VASH1 の発現と予後との関連は不明である。そこで本共同研究では，これまで北海道大学病院歯科診療センターにおいて口腔癌手術を受けた患者を対象に，各症例のパラフィンブロックから組織切片を作成して，免疫組織染色を実施し，口腔扁平上皮癌における VASH1 の発現と臨床病理学的因子や予後との関連について解析を行った。

研究打ち合わせとして，加齢医学研究所対応者佐藤靖史教授と代表者 樋田は，平成 27 年度に開催された複数の学会会期中に研究の進捗と方針につ

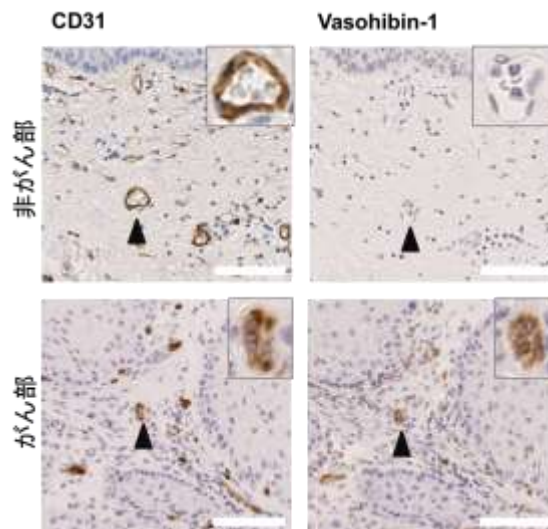
いてディスカッションを行った。分担者である間石、鳥居も平成 28 年 3 月 4 日、5 日に行われた第二回血管生物医学会若手研究会において、佐藤靖史教授と面談し、今後の研究方針について話し合った。

### [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。1995 年～2008 年に北海道大学病院で切除した口腔扁平上皮癌 33 症例をもちいて，CD31 と VASH1 の組織免疫染色を行った。腫瘍血管における VASH1 発現は，CD31 陽性血管における VASH1 陽性血管の割合から算出し，腫瘍組織全体における VASH1 の発現は，Image J により VASH1 陽性領域を算出した。各症例における VASH1 の発現と臨床病理学的因子および予後との関連について統計学的解析を行った。はじめに，非がん部の血管では VASH1 の発現が認められないのに対し，がん部の血管では VASH1 の発現が認められた。(図 1)

(図 1)

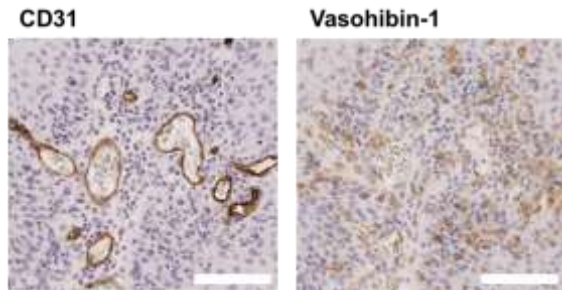


次に，口腔扁平上皮癌 33 症例における腫瘍血管の VASH1 発現と臨床病理学的因子との関連を解析したが，これらに相関はみられなかった。

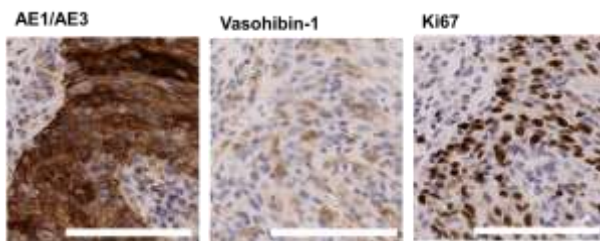
本解析において VASH1 は腫瘍血管内皮細胞以外の細胞にも染色された (図 2)。そこで，VASH1 陽性細胞の同定を試みた。VASH1 陽性細胞が腫瘍細胞であると仮説を立て，AE1/AE3 と Ki67 の組織免

疫染色を行った。その結果, AE1/AE3 陽性かつ Ki67 陽性腫瘍細胞に VASH1 が発現していることがわかった。(図 3)

(図 2)

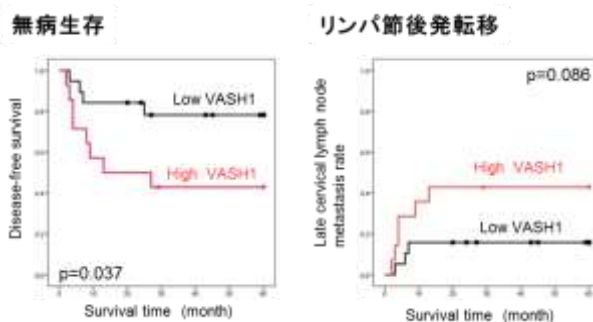


(図 3)



腫瘍組織全体における VASH1 の発現と臨床病理学的因子との相関解析を行った。腫瘍組織における VASH1 の発現は無病生存 (Disease-free survival) と有意に相関があり ( $p=0.037$ ), リンパ節後発転移 (Secondary cervical lymph node metastasis rate) とも相関傾向にあった。 ( $p=0.086$ ) (図 4)

(図 4)



### (3-2) 波及効果と発展性など

口腔がんにおける VASH1 高発現群と低発現群は Disease free survival に有意な差があり、Secondary cervical lymph node metastasis rate においても差がみられた。このことから、口腔がんにおいて Vasohibin-1 は予後予測因子として有用なバイオマーカーとなる可能性があることが示唆された。また、口腔がんにおいて腫瘍血管以外にも腫瘍細胞

で VASH1 が発現していることから、腫瘍細胞の分泌する VASH1 の役割についても解明が期待される。

### [4] 成果資料

(1) 鳥居ちさほ, 進藤正信, 秋山廣輔, 樋田泰浩, 大賀則孝, 間石奈湖, 大廣洋一, 小野貢伸, 戸塚靖則, 松野吉弘, 北川善政, 鄭 漢忠, 佐藤靖史, 樋田京子: 口腔がんにおける内因性血管新生抑制因子 Vasohibin-1 発現解析ならびに高転移性腫瘍分泌小胞 miRNA が腫瘍血管内皮細胞の薬剤耐性獲得に及ぼす影響解析, 平成 27 年度北海道歯学会秋季学術大会, 2015.12.27 (札幌) 口演 (一般)

(2) Chisaho Torii, Masanobu Shindoh, Yasuhiro Hida, Kosuke Akiyama, Noritaka Ohga, Nako Maishi, Yoichi Ohira, Mitsunobu Ono, Yasunori Totsuka, Yoshimasa Kitagawa, Kanchu Tei, Yasufumi Sato, Kyoko Hida: Vasohibin-1 as a novel prognostic factor for head and neck squamous cell carcinoma (投稿中)