

課題番号 38

前立腺癌における 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)

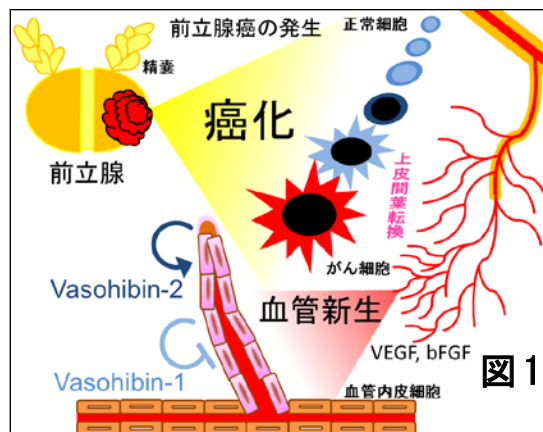
小林 裕章

(慶應義塾大学医学部泌尿器科学教室)

研究費：物件費30万円，旅費0万円

[2] 研究経過

血管新生阻害剤の臨床応用は他癌に先駆けて泌尿器科で開始されたが薬剤耐性が問題となっている。耐性獲得機序からも**血管内皮細胞の異質性**が重要であり、腫瘍進展における血管新生の制御機構や薬剤耐性獲得機序を解明することは、副作用や耐性出現を克服した新たな癌治療方法、次世代の新規血管新生阻害薬の開発につながると考えている。その中で我々は、活性化した血管内皮細胞で発現する遺伝子群の中から同定された Vasohibin-1(VASH1)と Vasohibin-2(VASH2)に着目して、平成23年より共同研究を開始した。特に VASH1 は外因性に投与すると血管内皮やリンパ管細胞の遊走能や増殖能を抑制する極めてユニークな蛋白質であり、血管・リンパ管新生は癌の遠隔転移、リンパ節転移に関与するため、Vasohibin の機能の解明は転移のメカニズムを解明し、「**がん血管の異質性**」を標的にした新たな治療につながる可能性がある(図1)。我々はすでに尿路上皮癌と前立腺癌において、VASH1 の高発現が再発や癌特異的生存率における予後因子として重要であることを報告してきた。当初、尿路上皮癌において VASH1 の発現に関する病態解明と予後予測の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開始した。その結果、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)。次に、前立腺癌の手術検体でも同様の検討を行い、VASH1 が予後を予測するバイオマーカーとなるか検討を行った。その結果、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発表した(成果資料2)。

VASH1 の発現の重要性を報告してきたが VASH2 を含め、その発現制御については未だに未解明である。本研究は VASH1, VASH2 の発現の意義とその制御機構を解明し、その調節因子を内包する癌微小環境を明らかにすることで、新しい予後診断方法やがん血管の異質性を標的とした治療薬への臨床応用に展開するための分子基盤の確立を目的として、さらなる研究を開始した。平成28年度は、前立腺癌における VASH1, VASH2 免疫染色の検討、細胞株、担癌マウスモデルを用いた検討を行った。また腎細胞癌における VASH1 の発現についても免疫染色による検討を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。アメリカ泌尿器科学会総会(AUA2016)に演題採択され、平成28年5月10日に San Diego で研究成果を発表した。平成28年10月22日に横浜で行われた第54回癌治療学会学術集会で研究成果を発表した。平成29年2月4日～5日に蔵王にて行われた第12回 Vasohibin 研究会に参加して研究成果を発表した。また、学外研究者との交流を行い、佐藤教授と打ち合わせを行って、進捗状況報告と今後の研究の協議を行った。

今後、鹿児島にて行われる第105回日本泌尿器科学会総会にて総会賞応募演題として採択され、平成29年4月21日に研究成果を発表予定である。また、血管内皮細胞での研究成果が、アメリカ泌尿器科学会総会(AUA2017)に演題採択され、平成29年5月15日に Boston で研究成果を発表予定である。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

以下に示す研究成果を得た。

①低リスク前立腺癌に対する治療は手術や放射線療法等の根治療法とともに Active Surveillance が選択肢の1つであるが、適応患者を選定する基準の最適化に関する議論がなされている。前立腺針生検検体における VASH1 の発現レベルが癌全体の悪性度を予測する因子となり得るか検討した。腹腔鏡下前立腺全摘術を施行した症例のうち、前立腺針生検を当院で施行し、病理診断が Gleason Score (GS) 3+3=6 以下、陽性コア数3本以下、各コアの腫瘍占拠率50%以下であった低リスク限局性前立腺癌104例を対象として免疫染色によってCD34の発現を微小血管密度、VASH1の発現をVASH1 densityとして評価した。全摘標本にてGS 3+4=7以上にupgradeした症例(Upgrade群)は61例で、PSA再発は8例に認められた。Upgrade群ではNon-upgrade群に対してVASH1が有意に高発現していた。また、多発腫瘍は単発腫瘍と比べて、正常域でVASH1が高発現しており(p=0.004)、前立腺全体の血管新生亢進が示唆され、VASH1発現は、限局性前立腺癌のリスク再分類における新規癌微小環境マーカーとして有用であることが示唆された(論文投稿中)。

②116例の腎細胞癌(淡明細胞癌)、10例の転移性腎細胞癌、9例のsunitinib治療後の転移性腎細胞癌の手術検体に対してCD34、VASH1の免疫染色を行い、各種臨床パラメータとの関連を検討した。多変量解析においてVASH1高発現は全生存率に対する独立した予後因子であった。また、Sunitinib治療後の症例では、CD34(微小血管密度)は著しく減少していたが、VASH1 densityは著しく増加していた。VASH1は血管内皮細胞のSunitinib治療への薬剤耐性に関与する可能性が示唆され、腎細胞癌(淡明細胞癌)における予後を予測するバイオマーカーであることが明らかとなり、研究成果として論文発表した(成果資料5)。

③血管内皮細胞株(HUVEC)におけるVASH1、VASH2の発現をウェスタンブロット、細胞蛍光免疫染色にて検討した。VASH1は血管内皮細胞に発現していたが、前立腺癌細胞株では殆ど発現していなかった。VASH2は血管内皮細胞と前立腺癌細胞株(DU145)で強く発現を認めた。強く発現を認めたHUVECやDU145に抗VASH2抗体を投与したところ細胞増殖抑制効果を認めた。マウス皮下腫瘍モデルを作成し、抗VASH2抗体を投与したところ、皮下腫瘍の著しい腫瘍体積縮小を認めた。現在、VASH2を標的とした腫瘍治療効果の発現メカニズ

ムの解析を進めている。

(3-2)波及効果と発展性など

本共同研究は、前立腺癌におけるVasohibin発現の病態解明につながると期待され、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、血管新生を標的とした泌尿器科癌の病態解明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Vasohibinの研究成果は、尿路上皮癌、前立腺癌、腎細胞癌という泌尿器科3大がん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、VASH2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. May 28;108(10):2123-9.

(3) 前立腺癌における新規血管新生関連マーカーの発現の検討。 小坂 威雄, 宮崎 保匡, 宮嶋 哲, 三上 修治, 安水 洋太, 菊地 栄次, 中川 健, 岡田 保典, 佐藤 靖史, 大家 基嗣. 泌尿器外科 27 巻 8 号 Page1203-1206(2014.08)

(4) 前立腺癌における微小環境 特に血管新生に着目して。 小坂 威雄, 宮崎 保匡, 宮嶋 哲, 大家 基嗣. 排尿障害プラクティス 22 巻 3 号 Page261-267(2014.09)

(5) Increased vasohibin-1 expression is associated with metastasis and poor prognosis of renal cell carcinoma patients. Shuji Mikami, Mototsugu Oya, Takeo Kosaka, Ryuichi Mizuno, Yasumasa Miyazaki, Yasufumi Sato, Yasunori Okada. Laboratory Investigation. 2017 Mar 13. doi: 10.1038/labinvest.2017.26.