

論文内容の要旨

Protein expression patterns in cancer-associated fibroblasts and cells undergoing the epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancers.

(卵巣癌における癌関連線維芽細胞および上皮間葉転換関連蛋白の発現解析)

(深川大輔、菅井有、刑部光正、菅安寿子、永沢崇幸、板持広明、杉山徹)

(Oncotarget 9 巻 平成 30 年 5 月掲載)

I. 研究目的

卵巣癌 (ovarian cancer, OC) は女性生殖器に発生する悪性腫瘍における最も代表的な腫瘍である。OC は組織学的には、漿液性癌 (serous carcinoma, SC)、粘液性癌 (mucinous carcinoma, MC)、類内膜癌 (endometrioid carcinoma, EC) および明細胞癌 (clear cell carcinoma, CCC) の 4 つの主な組織型で構成される。これらの組織型の発生機序はそれぞれ異なっていると考えられており、その違いは診断・治療にも影響を与えていることが知られている。

近年癌浸潤部における癌胞巣とその周囲の間質で構成される微小環境が注目されており、癌の微小環境は癌の浸潤・転移に重要な役割を担っていることが指摘されている。癌関連線維芽細胞 (cancer-associated fibroblast, CAF) は、癌間質の主要な要素となっており、CAF に発現している蛋白が癌の浸潤・転移能に重要な影響を与えていることが明らかにされてきた。一方、上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) は、上皮細胞が間葉細胞に分化転換する現象を指しているが、EMT に関連している蛋白も癌の浸潤および転移において重要な役割を担っていることが指摘されている。

本研究では、SC、MC、EC および CCC の各組織型における CAF および EMT 関連蛋白の発現の違いを明らかにすることを目的とした。

II. 研究対象ならび方法

1. 対象

2008 年から 2015 年までに岩手医科大学産婦人科学講座で外科的に切除された 162 人の卵巣癌 (SC, 62 例; MC, 17 例; EC, 40 例; CCC, 43 例) を対象とした。

2. 免疫組織化学的染色

切除標本のホルマリン固定パラフィン包埋組織ブロックを使用した。一次抗体として CD10、Podoplanin、FAP、PDGFR α 、PDGFR β 、S100A4、 α -SMA、Slug、ZEB1 および TWIST を用いて免疫組織化学的染色を行った。

3. 各種蛋白発現評価
各組織切片を Aperio AT2 スキャナーで取り込み、バーチャルスライド化し、細胞質の染色性を Aperio Pixel Count v9、核の染色性を Aperio Nuclear v9 を用いて解析を行った。陽性細胞率を 5 段階でスコア化した。
4. 階層的クラスター解析
各種蛋白スコアを元に階層的クラスター解析を行った。
5. 統計解析
x2 乗検定、Bonferroni 法で補正をかけた Mann-Whitney U 検定を用いた。

III. 研究結果

1. CAF および EMT 関連蛋白発現スコアに基づいた階層的クラスター解析
CAF および EMT 関連蛋白の発現パターンの差異を評価するために、蛋白発現スコアに基づいて階層的クラスタリングを行ったところ、5 つの異なる subgroup に層別化された。
2. CAF および EMT 関連蛋白と各 subgroup との関連
Subgroup 1 は CD10, Podoplanin, α -SMA, Slug, ZEB1、Subgroup 2 は Podoplanin, PDGFR α , PDGFR β , α -SMA, Slug、Subgroup 3 は CD10、Subgroup 4 は α -SMA、Subgroup 5 は Podoplanin, α -SMA が高発現しており、各 subgroup を特徴づけていた。
3. 臨床病理学的所見と各 subgroup との関連
SC は Subgroup 1、Subgroup 5、MC は Subgroup 2、CCC は Subgroup 3 と有意に関連していた。SC は Subgroup 1 と Subgroup 5 の間で細分されたが、subgroup 間の臨床病理学的特徴に有意な差は認められなかった。subgroup 4 には特定の組織型は割り当てられなかった。進行期 III 期の頻度は、subgroup 1 と subgroup 4 の間で統計的に有意差があった。

IV. 結 語

本研究は、CAF および EMT 関連蛋白の発現パターンに基づいて、OC において 5 つの subgroup に区別化された。これらの subgroup は、SC、MC、EC および CCC の組織型と密接に関連していた。この所見は、卵巣癌の各組織型で異なった癌微小環境を形成することを示唆している。CAF 表現型と組織型が密接に関連していることを明らかにした最初の報告である。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 石田 高司 (内科学講座血液腫瘍内科分野)

副査 石田 和之 (病理診断学講座)

副査 利部 正裕 (産婦人科講座)

ヒトがんの進展、転移に、がん微小環境のがん関連線維芽細胞(CAF)、上皮間葉移行(EMT)の重要性が明らかになっている。(研究目的) 卵巣がん、各組織型(漿液性がん、粘液性がん、類内膜がん、明細胞がん)、における、病変組織部での CAF 及び EMT 関連蛋白の発現様式を明らかにすること。(研究方法) 卵巣がん 162 例の病変組織を用い、CAF 及び EMT 関連蛋白を免疫染色。各タンパクの染色性をスコア化し、結果を統合、階層的クラスタ解析を実施した。(研究結果) 卵巣がんは、CAF 及び EMT 関連蛋白の発現パターンに基づき 5 つのサブグループに分類

された。これらサブグループは、卵巣がん、各組織型(漿液性がん、粘液性がん、類内膜がん、明細胞がん)と密接に関連していた。この所見は、卵巣がんの各組織型で異なったがん微小環境を形成することを示唆する。本研究は、病変組織部での CAF 及び EMT 関連蛋白の発現様式が、各組織型で特徴的であることを示した最初の報告であった。

試験・諮問の結果の要旨

研究の科学的、臨床的、社会的意義について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考ええる。

また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正はないことを確認した。

参考論文

1) Chiba Y, Sato S, Itamochi H, Yoshino N, Fukagawa D, Kawamura H, Suga Y, Kojima-Chiba A, Muraki Y, Sugai T, Sugiyama T. Inhibition of Aurora Kinase A Synergistically Enhances Cytotoxicity in Ovarian Clear Cell Carcinoma Cell Lines Induced by Cisplatin: A Potential Treatment Strategy. *Int J Gynecol Cancer*. 2017 Oct;27(8):1666-1674.

2) Kanasugi T, Kikuchi A, Uesugi N, Fukagawa D, Chida H, Sasaki Y, Haba G, Isurugi C, Oyama R, Sugai T, Sugiyama T. Pentalogy of Cantrell in a monozygotic twin with a giant omphalocele firmly attached to the amniotic membrane: Successful prenatal diagnosis and cesarean delivery. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2018 Mar;58(2):73-74.