Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Expression of major heat shock proteins in prostate cancer:correlation with clinicopathological outcomes in patientsundergoing radical prostatectomy

倉橋, 俊史

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2007-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲3821
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1003821

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

【 122 】

氏　　名・（本　籍）	倉橋　俊史	（　兵庫県　）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）	
学　位　記　番　号	博い第1820号	
学位授与の　要　件	学位規則第５条第１項該当	
学位授与の　日　付	平成19年3月25日	

【 学位論文題目 】

Expression of major heat shock proteins in prostate cancer: correlation with clinicopathological outcomes in patients undergoing radical prostatectomy
（根治的前立腺全摘除施行症例における前立腺癌組織のHeat Shock Protein発現レベルの臨床病理学的意義）

審　査　委　員

主 査　教　授　横崎　宏
教　授　杉村　和朗
教　授　東　　健

【緒言】

Heat shock proteins (HSPs)は全ての生細胞に普遍的に存在する蛋白であり，その発現が熱刺激，栄養障害および酸化ストレス等の種々のストレスにより誘導される蛋白の総称である．HSPs は他の多くの蛋白と複合体を形成することにより，分子シャペロンとしての役割を遂行し，その分子量により，HSP 27，HSP 60，HSP 70 および HSP 90 等に分類されている．近年の報告では，HSPs が，アポートシスの阻害，免疫反応の制御および抗癌剤に対する抵抗性獲得等の機能を担うことにより，癌の進展に関与する重要な役割を果たしていることが明らかにされてきた．また，様々な癌種，特に上皮細胞由来の癌において，HSPs の発現レベルの亢進とともに予後が不良になることが報告されている．

前立腺癌においても，過剰発現した HSPs は前立腺癌の進展を助長する可能性が示唆されている．例えば，進行前立腺癌における HSP 27 および HSP 60 発現レベルと種々の臨床病理学的予後規定因子との有意な相関および前立腺癌治療における分子標的としての HSP 90 の有用性等が報告されている．我々の過去の研究においても，ホルモン抵抗性前立腺癌細胞における HSP 27 発現レベルを抑制することにより，その増殖は阻害され抗癌剤に対する感受性は増強することが示された．しかし，限局性前立腺癌における HSPs の発現様式およびその意義に関する報告は未だ認められない．今回我々は限局性前立腺癌との診断にて根治的前立腺全摘除術を施行した前立腺全摘標本における HSPs の発現レベルを評価し，その結果と各種臨床病理学的因子との関係を比較検討した．

【方法】

(1) 症例と手術検体

1997 年 1 月から 2003 年 12 月の間に，限局性前立腺癌との診断後，術前内分泌療法を施行せずに根治的前立腺全摘除術を施行した 172 症例を対象とした．172 症例の平均観察期間は 62 ヶ月，血清 PSA の平均値は 10.4 ng/mL，であった．前立腺全摘標本はホルマリン固定後，3mm 幅で細切し H-E 染色を施し，2002 年版 TNM 分類に基づく病理学的検索に供した．なお，原則として術後最初の 2 年は 3 ヶ月毎，2 年目以降は 6 ヶ月毎に血清 PSA 値を測定し，PSA 値が 0.2 ng/mL を超えた時点を生化学的再発と定義し，PSA 値が 0.4 ng/mL を超えるまでは追加治療を一切行なわなかった．

(2) 免疫組織化学染色

各症例毎に前立腺全摘標本のブロックから最大径の癌部を含むブロックを選択し，免疫染色用の薄切標本を作製した．これらの標本に抗ヒト HSP27，HSP70，HSP90 モノクローナル抗体（Novocastra Laboratory）および抗ヒト Ki-67 モノクローナル抗体（DAKO）を用いて免疫組織化学染色を施行した．なお，免疫染色は標準的な間接酵素抗体法にて施行した．また，同様の標本に対し ApopTag in situ apoptosis detection system (Oncor)を用いて TUNEL 染色を施行した．

上記の染色結果として，染色強度および染色範囲をいずれも 1～4 の 4 段階に分けて評価し，その積を染色スコアーと定義した．更に染色スコアーが 8 以上および 7 以下の症例を，それぞれ高発現および低発現と分類した．

【結果】

(1) 正常および癌組織におけるHSPs発現様式

癌部における HSP 27 および HSP 90 発現レベルは，正常前立腺組織におけるそれらより有意に亢進していたが，HSP 70 の発現レベルは正常および癌組織間で有意差を認めなかった．

(2) 癌組織におけるHSPsの発現レベルと各種臨床病理学的因子との関係

前立腺癌組織における HSP 27 発現レベルは，病理学的病期，Gleason score，リンパ節転移，切除断端陽性率および腫瘍容積等の主要な予後規定因子と有意に相関した．しかし，HSP 70 および HSP 90 発現レベルは，上記の主な予後規定因子と相関しなかった．

また，Ki-67 免疫染色で評価した細胞増殖活性は HSP27 発現レベルと有意に相関したが，HSP 70 および HSP 90 発現レベルとの相関は欠いた．一方，TUNEL 染色の結果は，いずれの HSPs 発現レベルとも相関しなかった．

(3) 予後規定因子としての癌組織におけるHSPsの発現レベルの意義

本研究の観察期間中に 172 例中 34 例 (19.8%) に生化学的再発を認めた．HSP 27 高発現症例の生化学的非再発率は，低発現症例のそれに比し有意に不良であったが，HSP 70 および HSP 90 に関しては，いずれも高発現症例および低発現症例との間で生化学的非再発率に有意差を認めなかった．また，HSPs 発現レベルを含む種々の因子を多変量解析に供すると，切除断端陽性およびリンパ節転移のみが生化学的再発の独立した予知因子であった．

【考察】

HSPs は様々なタイプの癌において，抗癌剤および放射線療法等の既存の治療に対する抵抗性の獲得に重要な役割を果たしていることが明らかにされている．前立腺癌においても，特にホルモン抵抗性前立腺癌での HSPs の高発現および HSPs の治療標的としての有用性等が報告されている．しかし，根治療法の対象となり得るような早期前立腺癌症例における HSPs の意義に関しては未だ報告がないため，今回我々は前立腺全摘術を施行した 172 症例の限局性前立腺癌における HSP 27，HSP 70 および HSP 90 の発現レベルを免疫組織化学的に評価し，その結果と各種臨床病理学的因子との関連を解析した．

今回の検討では HSP 27，HSP 70 および HSP 90 はいずれも，ほぼ全例の前立腺癌にその発現を認め，HSP 27 および HSP 90 の癌部における発現は正常前立腺に比し有意に亢進していた．しかし，HSP 70 および HSP 90 の発現レベルは

他の主要な予後規定因子との相関は認めなかったが，HSP 27 の発現レベルは Gleason score，リンパ節転移，切除断端陽性率および腫瘍容積等と有意な相関を示した．更に HSP 27 の発現レベルは細胞増殖活性とも有意に相関した．上記の結果は，早期前立腺癌においても，その生物学的悪性度亢進に HSP 27 が何らかの役割を果たしている可能性を強く示唆するものである．

早期前立腺癌の予後に対する HSPs 発現レベルの影響を解析した報告は過去に認められない．今回の我々の検討では，HSP 70 および HSP 90 の発現レベルは生化学的再発と関連を有さなかったが，HSP 27 高発現症例の生化学的非再発率は低発現症例のそれに比し有意に不良であった．多変量解析では HSP 27 発現レベルは生化学的再発の独立した予知因子とはなり得なかったが，上記の結果は HSP 27 が早期前立腺癌の新たな分子マーカーとして有用である可能性を示唆している．過去の報告では進行性前立腺癌の予後と HSP 27 発現レベルは独立したより緊密な相関を認めていたが，これは進行性前立腺癌に対する主な治療手段であるホルモン療法による HSP 27 発現誘導等による修飾の影響が関与しているものと推察される．

以上の結果より，早期前立腺癌の進展における HSPs，中でも HSP 27 の関与が強く示唆された．また，HSP 27 発現レベルは根治的前立腺全摘除術後の有用な予後予測因子となり得る可能性があるものと考えられた．我々は既にアンチセンスオリゴや siRNA を用いて HSP 27 の発現を阻害することによる前立腺癌に対する分子標的療法の有効性を報告してきたが，今回の結果より同療法を早期前立腺癌に対しても術前補助療法等として応用する可能性を今後の検討課題の一つとして考慮する予定である．

論文審査の結果の要旨

受付番号	甲第１８３５号	氏　名	倉橋　俊史
論文題目 Title of Dissertation	Expression of major heat shock proteins in prostate cancer: correlation with clinicopathological outcomes in patients undergoing radical prostatectomy 根治的前立腺全摘除施行症例における前立腺癌組織の Heat Shock Protein 発現レベルの臨床病理学的意義		
審査委員 Examiner	主　査 Chief Examiner 横崎　宏 副　査 Vice-examiner 杉村和朗 副　査 Vice-examiner 東　建		
審査終了日	平成 19 年 2月 21 日		

（要旨は　１０００字～２０００字程度）

Heat shock proteins (HSPs)は全ての生細胞に普遍的に存在する蛋白であり、その発現が熱刺激、栄養障害および酸化ストレス等の種々のストレスにより誘導される蛋白の総称である。HSPs は他の多くの蛋白と複合体を形成することにより、分子シャペロンとして働き、分子量により、HSP 27、HSP60、HSP 70 および HSP 90 等に分類されている。近年、HSPs がアポートシスの阻害、免疫反応の制御および抗癌剤に対する抵抗性獲得等の機能を担うことで、癌の進展に関与する重要な役割を果たしていることが明らかにされてきた。また、様々な悪性腫瘍、特に癌腫において、HSPs の発現レベルの亢進とともに予後が不良になることが報告されている。前立腺癌においても、過剰発現した HSPs は前立腺癌の進展を助長する可能性が示唆されている。申請者らは、ホルモン抵抗性前立腺癌細胞における HSP 27 発現レベルを抑制することにより、その増殖は阻害され抗癌剤に対する感受性は増強することを示してきたが、限局性前立腺癌における HSPs の発現様式とその意義に関する報告は未だ認められない。本研究では、限局性前立腺癌と診断され根治的前立腺全摘除術を施行した前立腺全摘標本における HSPs の発現レベルを評価し、その結果と各種臨床病理学的因子との関係を比較検討した。

1997 年 1 月から 2003 年 12 月の間に、限局性前立腺癌との診断後、術前内分泌療法を行わずに根治的前立腺全摘除術を施行した 172 症例を対象とした。これらの平均観察期間は 62 ヶ月、血清 PSA の平均値は 10.4 ng/mL、であった。前立腺全摘標本はホルマリン固定後、3mm 幅で細切し H&E 染色を施し、2002 年版 TNM 分類に基づく病理学的検索に供した。なお、原則として術後最初の 2 年は 3 ヶ月毎、2 年目以降は 6 ヶ月毎に血清 PSA 値を測定し、PSA 値が 0.2 ng/mL を超えた時点を生化学的再発と定義し、PSA 値が 0.4 ng/mL を超えるまでは追加治療を一切行なわなかった。症例毎に前立腺全摘標本から最大径の癌部を含むブロックを選択し、抗ヒト HSP27、HSP70、HSP90 モノクローナル抗体および抗ヒト Ki-67 モノクローナル抗体を用いて間接酵素抗体法にて免疫組織化学染色を施行した。また、同様の標本に対し TUNEL 染色を施行した。上記の染色結果として、染色強度および染色範囲をいずれも 1～4 の 4 段階に分けて評価し、その積を染色スコアーと定義した。更に染色スコアーが 8 以上および 7 以下の症例を、それぞれ高発現および低発現と分類した。

得られた結果は以下のごとくである。癌部における HSP 27 および HSP 90 発現レベルは、正常前立腺組織におけるそれらより有意に亢進していたが、HSP 70 の発現レベルは正常および癌組織間で有意差を認めなかった。次に、前立腺癌組織における HSP 27 発現レベルは、病理学的病期、Gleason score、リンパ節転移、切除断端陽性率および腫瘍容積等の主要な予後規定因子と有意に相関した。しかし、HSP 70 および HSP 90 発現レベルは、上記の主な予後規定因子と相関しなかった。また、Ki-67 免疫染色で評価した細胞増殖活性は HSP27 発現レベルと有意に相関したが、HSP 70 および HSP 90 発現レベルとの相関は欠いた。一方、TUNEL 染色の結果は、いずれの HSPs 発現レベルとも相関しなかった。本研究の観察期間中に 172 例中 34 例（19.8%）に生化学的再発を認めた。HSP 27 高発現症例の生化学的非再発率は、低発現症例のそれに比し有意に不良であったが、HSP 70 および HSP 90 に関しては、いずれも高発現症例および低発現症例との間で生化学的非再発率に有意差を認めなかった。また、HSPs 発現レベルを含む種々の因子を多変量解析に供すると、切除断端陽性およびリンパ節転移のみが生化学的再発の独立した予知因子であった。以上の結果より、早期前立腺癌の進展における HSPs、中でも HSP 27 の関与が強く示唆された。また、HSP 27 発現レベルは根治的前立腺全摘除術後の有用な予後予測因子となり得る可能性があるものと考えられた。

本研究は、前立腺癌における HSPs の発現について多数臨床検体を用いて解析したものであるが、従来殆ど行われていなかった限局性前立腺癌における HSPs 発現の臨床病理学的意義を明らかにしたものとして、価値ある集積と認める。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があるものと認める。