

ヒト肺がん腫瘍血管内皮細胞における PDGFR- β と EGFR の発現変化についての検討

2009 年 3 月修了

先端生命科学専攻 がん先端生命科学分野

学籍番号 076529 鈴木 丞

指導教員 落合 淳志 教授

キーワード：血管内皮細胞、PDGFR- β 、EGFR

【序論】

がん組織形成過程において、線維芽細胞、血管構成細胞、炎症細胞（リンパ球、単球など）などの間質細胞は、がん組織内に多数動員され、がん組織の形成に関わるとともに、がんの進展に促進的に働くことが知られている。動員されたこれらの細胞は、がん細胞との相互作用を介し、特異な構造的および生物学的性質を獲得する。

血管新生により誘導される腫瘍血管は、酸素や栄養を供給し、がんの増殖を助ける重要な組織構成成分である。近年、正常組織の血管と腫瘍組織の血管は、構造上の違いだけでなく、血管を構成する内皮細胞の性質も異なることが報告されている。CD137 や CD276 などは腫瘍血管内皮細胞特異的な発現亢進が確認され、Tumor endothelial markers (TEMs) として定義されている。Platelet - derived growth factor receptor - β (PDGFR - β) と epidermal growth factor receptor (EGFR) は、線維芽細胞や上皮細胞に発現している膜貫通型レセプターで、細胞内ドメインのチロシンキナーゼに対する阻害剤が、或る種のがんの分子標的薬として使用されている。また PDGFR - β と EGFR は、乳がん組織内の血管内皮細胞においても発現亢進していることが組織切片上示されており、腫瘍血管の標的分子となり得る可能性が考えられている。

本研究は、ヒト肺がん組織の腫瘍血管内皮細胞における PDGFR - β と EGFR の発現変化に着目し、その発現変化の分子機構、生理的な意義を検討することを目的とした。

【結果】

ヒト肺扁平上皮がん、腺がん組織における PDGFR - β と EGFR の発現 組織免疫染色による検討

ヒト肺腺がん組織 1) 肺胞上皮置換型、2) 乳管型、3) 管腔形成型、4) 充実胞巣型、とヒト肺扁平上皮がん組織の腫瘍部の血管内皮細胞と非腫瘍部の血管内皮細胞における PDGFR - β と EGFR の発現変化を組織免疫染色で評価した。PDGFR - β の陽性率は、腺がんのサブタイプである 1) 肺胞上皮置換型では非腫瘍部 $4.8 \pm 4.3\%$ 、腫瘍部 $32.6 \pm 8.6\%$ 、2) 乳管型では非腫瘍部 $8.1 \pm 25.8\%$ 、腫瘍部 $54.1 \pm 25.8\%$ 、3) 管腔形成型では非腫瘍部 $9.4 \pm 6.3\%$ 、腫瘍部 $28.2 \pm 10.7\%$ 、4) 充実胞巣型では非腫瘍部 $6.2 \pm 3.7\%$ 、腫瘍部 $43.6 \pm 21.3\%$ であった。扁平上皮がんでは非腫瘍部 $25.1 \pm 11.4\%$ 、腫瘍部 $62.7 \pm 16.6\%$ だった。各組織とも、非腫瘍部に比べ腫瘍部の血管内皮細胞で PDGFR - β の発現が有意に亢進していることが示された ($p < 0.01$) (Fig 1)。腺がんの 1) 肺胞上皮置換型と扁平上皮がん、また、腺がんの 3) 管腔形成型と扁平上皮がんの間で、腫瘍血管内皮における PDGFR - β の陽性率に有意な差を認めた ($p < 0.01$) (Fig 1)。EGFR については、今回の免疫染色では、発現が確認出来なかった。

ヒト肺組織から分離した血管内皮細胞における PDGFR - β と EGFR の発現 フローサイトメーターによる解析

腫瘍血管内皮細胞について機能解析を行うには、組織からの血管内皮細胞の単離・培養が必要と考えた。ヒト肺がん組織を酵素処理後、細胞を分離し、その中に含まれる血管内皮細胞における

PDGFR- β と EGFR の発現について、フローサイトメーターで解析を行った。非腫瘍部由来の血管内皮細胞における PDGFR- β の陽性率は、 $19.6 \pm 21.3\%$ であった。一方、腫瘍部由来の血管内皮細胞における陽性率は、 $50.2 \pm 30.4\%$ であり、腫瘍血管内皮細胞で有意な発現亢進を認めた ($p < 0.01$) (Fig 2 上図)。また、EGFR の陽性率は、非腫瘍部由来の血管内皮細胞で $23.4 \pm 31.1\%$ 、腫瘍部由来の血管内皮細胞で $31.9 \pm 35.3\%$ であり、有意な発現亢進を認めることは出来なかった ($p = 0.52$) (Fig 2 下図)。

ヒト肺組織からの血管内皮細胞の単離・培養

ヒト肺組織からの血管内皮細胞の単離・培養を試みた。非腫瘍部組織から CD31 陽性細胞を microbeads 法で単離し、増殖した細胞について、血管内皮細胞の特徴的な性質である管形成能と血管内皮細胞マーカーの発現を解析した。単離・培養した CD31 陽性細胞は、管形成能を示した。また、血管内皮細胞マーカーである VE-Cadherin と VEGFR-2 の発現を確認することが出来た (Fig 3)。腫瘍組織からも同様の方法で血管内皮細胞の単離・培養を 12 例試みたが、現時点ではまだ成功していない。

【考察】

今回の検討によって、ヒト肺がん組織の腫瘍血管内皮細胞で、PDGFR- β の発現が亢進していることが示された。加えて組織免疫染色の結果は、腫瘍血管における内皮細胞の PDGFR- β 陽性率は、組織型の間でも異なるということを示した。腫瘍血管内皮に対する標的分子を検索する際は、正常血管内皮細胞と腫瘍血管内皮細胞の比較だけでなく、腫瘍組織型毎に腫瘍血管内皮を比較していくことも重要になると考えている。今後の課題は、今回明らかになった PDGFR- β 発現亢進の生理的な意味を明らかにすることである。正常組織からの血管内皮細胞の単離・培養は成功したが、腫瘍組織からの単離・培養は困難であった。腫瘍組織由来の血管内皮細胞の機能解析を行うためにも、さらに効率の良い細胞単離法・培養法の開発が必要である。

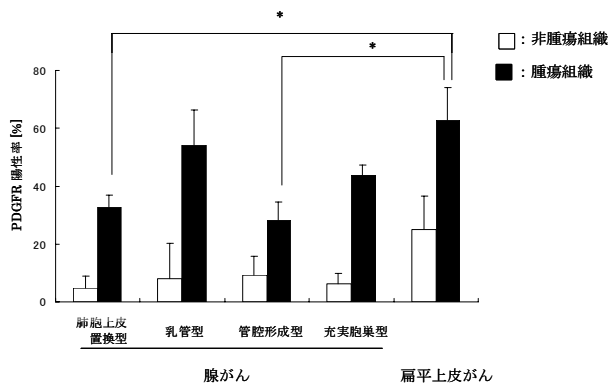


Figure 1. ヒト肺がん組織の腫瘍血管内皮細胞での PDGFR- β 陽性率組織免疫染色での評価を数値化したグラフ

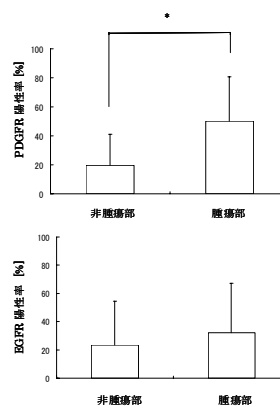


Figure 2. 非腫瘍部、腫瘍部から回収した血管内皮細胞での PDGFR- β (上図) と EGFR (下図) の発現フローサイトメトリーによる解析

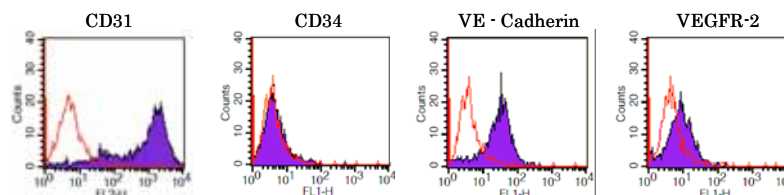


Figure 3.

- ・組織から単離した CD31 陽性細胞での血管内皮細胞マーカーの発現 (上図)
- ・CD31 陽性細胞の形態 (写真左) ・管形成能 (写真右) スケールバー: 250 μm

