

がん組織での浸潤・転移能(Rac 活性)の検出に初めて成功

～がんのリンパ節転移の予測に期待～

ポイント

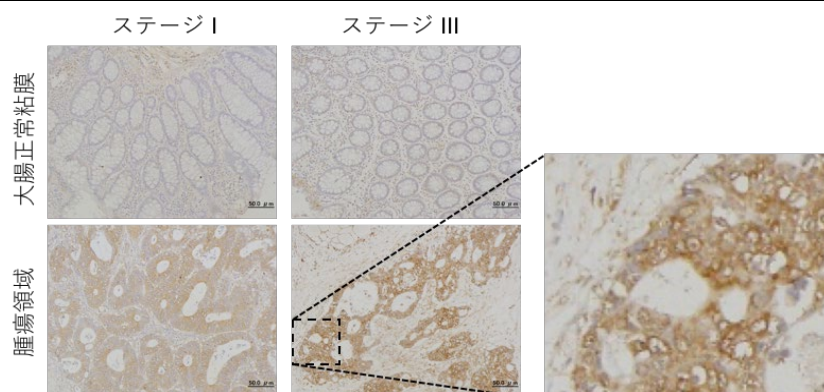
- ・電界非接触攪拌技術を用いて、がん細胞が動く時に重要な Rac/Cdc42 の活性化を検出。
- ・大腸がん患者から摘出した手術検体（がん組織）で、がん細胞の浸潤能・転移能の評価に成功。
- ・がん細胞のリンパ節転移の予測に期待。

概要

北海道大学大学院医学研究院腫瘍病理学教室/同大学創成研究機構化学反応創成研究拠点（WPI-ICReDD）の田中伸哉教授らの研究グループは、大腸癌患者から摘出された癌組織を用いて、患者それぞれの癌細胞が、どのくらい動く力を持っているのかを組織切片上で評価することに、世界で初めて成功しました。癌細胞が動く力（運動能・浸潤能）は、低分子量 G タンパク質の Rac や Cdc42^{*1} によって制御されており、これらの分子が活性化されているほど癌細胞はよく動き、血管やリンパ管の中に侵入して転移しやすくなります。本研究では、外科手術によって摘出された大腸癌組織切片上（FFPE 検体^{*2}）で、活性化 Rac/Cdc42 に特異的に結合するプローブ溶液を、近年開発された電界非接触攪拌技術^{*3}を用いて極めて高速に攪拌させることにより、迅速且つ特異的に Rac/Cdc42 活性を検出することに成功しました。

本研究により、細胞の Rac/Cdc42 活性は、①大腸の正常粘膜よりも腫瘍領域で有意に高いこと、②癌細胞のステージが上がるほど、Rac/Cdc42 の活性が上昇すること、③特に癌細胞が周りの正常組織に浸潤していく先端部（invasive front）で高いことがわかりました。さらに、④Rac1/Cdc42 活性が高い症例は、リンパ管浸潤をしやすい傾向があることがわかりました。この技術は、大腸癌のみならず、乳癌や脳腫瘍でも有用であり、がん患者の術後のフォローアップ、更には Rac 阻害剤のコンパニオン診断において重要な情報を提供できると期待されます。

本技術は、迅速免疫染色研究会（R-IHC研究会）によって開発された技術を基盤としてさらに開発されたものであり、2021年6月4日に特許（特許第6712810号）を取得しました。なお、本研究成果は、2022年2月2日（水）公開のScientific Reports誌に掲載されました。



大腸癌組織での Rac/Cdc42 の活性化。茶色が濃いほど Rac/Cdc42 の活性化が高いことを示す。大腸癌細胞は正常粘膜に比べて Rac/Cdc42 の活性化が高く、さらにステージ III の癌細胞はステージ I の癌細胞より活性化が高い。

【背景】

現在、我が国では2人に1人が癌に罹患し、3人に1人が癌で死亡します。癌による死亡原因の一つは、癌細胞が高い運動能・浸潤能を獲得することにより、血管やリンパ管内に侵入し、癌の転移を引き起こすためです。細胞の運動能・浸潤能は、低分子量 G タンパク質 Rho ファミリーの Rac や Cdc42 の活性化 (GTP 結合フォームの量) を調べることによって評価できますが、これまで、生検や外科手術で摘出され病理診断用に提出されたがん組織標本 (FFPE 検体) では、これら进行评估することは不可能でした。田中教授らの研究グループは、電界非接触攪拌技術と活性化 Rac/Cdc42 に特異的に結合するプローブ (図1) を組み合わせることで、癌組織切片上で、癌細胞の運動能・浸潤能を迅速且つ特異的に評価することに成功しました。

【研究手法】

外科手術により摘出された大腸がん組織 (病理診断用に提出された FFPE 検体) の切片上で、活性化 Rac/Cdc42 と特異的に結合するプローブ (GST-PAK プローブ) を、電界非接触攪拌技術 (図2) を用いて反応させました。その後、GST に対する抗体を反応させ、通常の免疫組織化学染色と同様のステップで活性化 Rac/Cdc42 を可視化しました。

【研究成果】

細胞の Rac/Cdc42 活性は、① 大腸癌患者様の大腸の正常粘膜よりもがんの領域で有意に高いこと、②ステージ 0, I の癌細胞よりも、ステージ II, III の癌細胞で有意に上昇すること、③ 癌細胞が周囲の正常組織に浸潤していく先端部 (invasive front) で特に高いことがわかりました (図3)。さらに、④ Rac1/Cdc42 活性が高い症例は、リンパ管浸潤と正の相関を示すことがわかりました。

【今後への期待】

本技術は、大腸癌に限らず、あらゆるがん (固形がん, 肉腫, 血液腫瘍) の浸潤・転移能の評価に有用であり、がん患者様の将来起こりうる癌転移を予め予測することが可能となると期待されます。また、Rac 阻害剤の臨床応用において、コンパニオン診断として適用症例の選別に威力を発揮すると考えます。尚、本技術は、がん細胞が増える際に重要な Ras の活性化や、他の低分子量 G タンパク質の活性化状態を評価する為にも有用であると期待されます。

論文情報

論文名	Novel rapid immunohistochemistry using an alternating current electric field identifies Rac and Cdc42 activation in human colon cancer FFPE tissues (電界非接触攪拌技術によるヒト大腸癌 FFPE 組織における Rac/Cdc42 活性化の検出)
著者名	津田真寿美 ^{1,2} , 堀尾瑠奈 ¹ , 王 磊 ^{1,2} , 竹浪智子 ¹ , 森谷 純 ¹ , 鈴鹿 淳 ¹ , 杉野弘和 ¹ , 種井善一 ¹ , 谷野美智枝 ^{1,3} , 田中伸哉 ^{1,2} (¹ 北海道大学大学院医学研究院腫瘍病理学教室, ² 北海道大学創成研究機構化学反応創成研究拠点, ³ 旭川医科大学病院病理部)
雑誌名	Scientific Reports (自然科学, 医学, 心理学, 工学の全ての領域の専門誌)
DOI	s41598-022-05892-7
公表日	日本時間2022年2月2日 (水) 午後7時 (英国時間2022年2月2日 (水) 午前10時) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院/同大学創成研究機構化学反応創成研究拠点 (WPI-ICReDD)

教授 田中伸哉 (たなかしんや)

T E L 011-706-5052 F A X 011-706-5902 メール tanaka@med.hokudai.ac.jp

U R L <http://patho2.med.hokudai.ac.jp>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

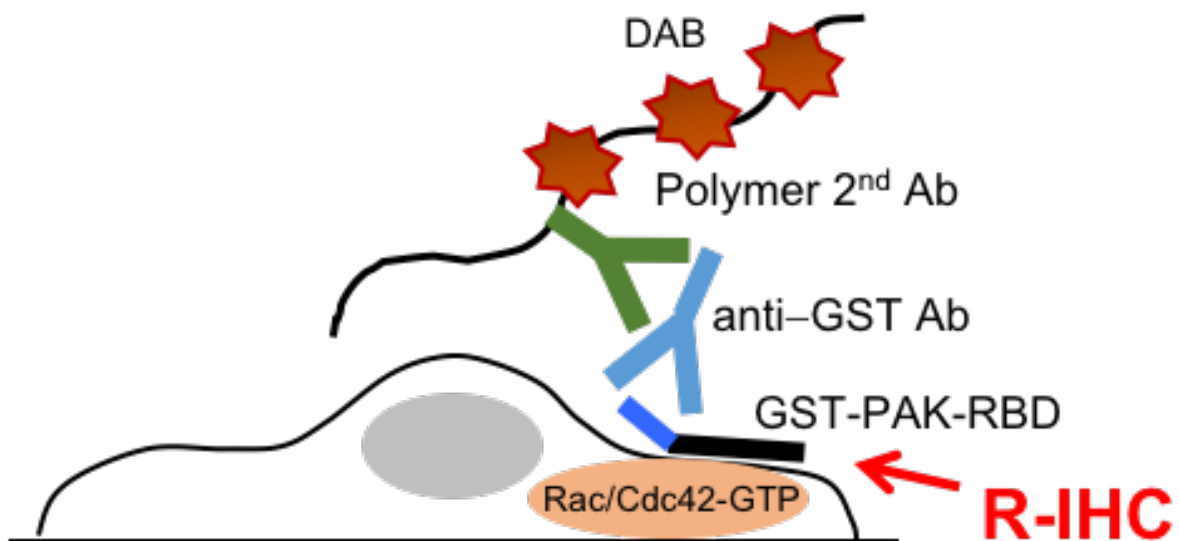


図 1. 癌組織切片上で活性化 Rac/Cdc42 を検出する原理。GTP 結合型の活性化 Rac/Cdc42 (Rac/Cdc42-GTP) に特異的に結合するプローブ (GST-PAK-RBD) を反応させる時に電界非接触攪拌技術を用いる。

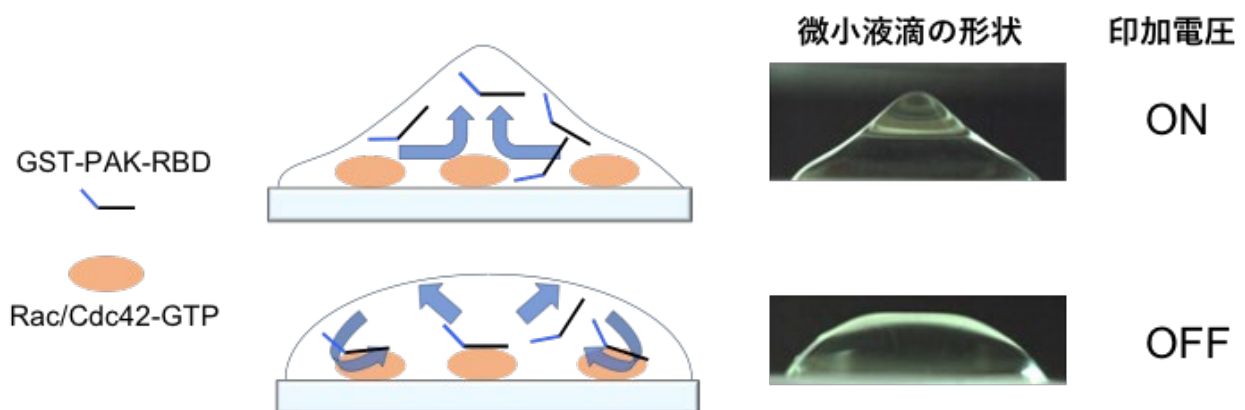


図 2. 電界非接触攪拌技術による微小液滴の形状変化。低周波の電圧を繰り返し与え、GST-PAK-RBD プローブが入った液を高速でかき混ぜることで、癌細胞内の活性化 Rac/Cdc42 (Rac/Cdc42-GTP) に GST-PAK-RBD プローブを迅速且つ特異的に結合させることに成功した。

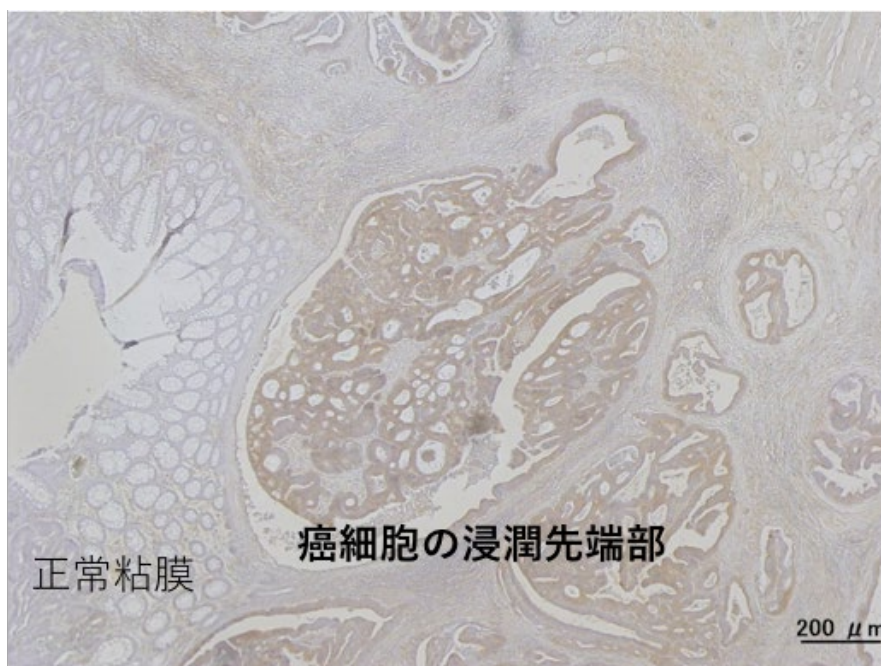


図 3. 癌細胞が浸潤する先端部では特に Rac/Cdc42 の活性が高い。

【用語解説】

- * 1 Rac/Cdc42 … 低分子量 G タンパク質 Rho ファミリーの主要メンバー。Rac や Cdc42 に GTP(グアノシン三リン酸)が結合すると活性化, GDP (グアノシン二リン酸) が結合すると不活性化になる。活性化 Rac/Cdc42 は, がん細胞の運動能・浸潤能を亢進させる。
- * 2 FFPE 検体 … Formalin-fixed paraffin-embedded の略。通常の病理診断に用いられる検体。患者から摘出された組織は, ホルマリンで固定されパラフィンに包埋された後, 約 3 μ m の厚さに薄切され, 病理診断用に染色される。
- * 3 電界非接触攪拌技術 … 静置した液を上下の電極で挟んで低周波電圧を印加することにより, 水分子そのものを励振させ, スターラーなどの攪拌子を接触せずに液滴を活発に攪拌する技術。