

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591875

研究課題名（和文）：下垂体腺腫における腫瘍幹細胞の実態とその機能および分化に関する研究

研究課題名（英文）：Analysis of CD133 positive cells in pituitary adenoma

研究代表者：有田 和徳 (ARITA KAZUNORI)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授

研究者番号：90212646

研究成果の概要（和文）：

【はじめに】下垂体腺腫に CD133 陽性細胞が存在することを見出していたが、臨床サンプルを用いて解析してみると、CD133 陽性細胞は非機能性下垂体腺腫に多い傾向にあった。また、CD133 陽性細胞は CD34, Nestin, VEGFR2 に共陽性を示すも、GFAP, S100 に対して陰性であった。一方、Pit1, SF1, NeuroD1 の transcription factor は全てについて陰性であった。【結論】CD133/CD34/VEGFR2 陽性細胞は骨髄から動員される circulating endothelial progenitor cell の可能性があり腫瘍組織において新生血管に関与していると考えられていることより、われわれが発見した下垂体腺腫中の CD133 陽性細胞も新生血管に関与しているのではないかと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Stem-like cells in tumors are capable of self-renewal and pluri-differentiation; they are thought to play important roles in tumor initiation and maintenance. Stem-like cells in malignant glioma express CD133. We examined samples from human pituitary adenoma, a generally benign neoplasm, for CD133 expression using routine immunohistochemical and biochemical methods.

Our study of 70 pituitary adenomas (clinically nonfunctioning adenomas and growth hormone-, prolactin-, adrenocorticotrophic hormone-, and thyroid stimulating hormone producing adenomas) showed that 18 (25.7%) expressed CD133. This rate was higher in clinically non-functioning (33.3%) than functioning adenomas (12.0%) ($p=0.085$).

Real-time PCR assay revealed the expression of CD133 mRNA in samples immunohistochemically positive for CD133. Neither the patient age and gender, nor the tumor size or postoperative recurrence rate correlated with CD133 positivity. CD133⁺ cells ubiquitously coexpressed CD34, nestin, and VEGFR2 (KDL1). S-100 and GFAP were not coexpressed with CD133. Chromogranin A, Pit-1, SF-1, and NeuroD1 were immune-negative, indicating that CD133⁺ cells did not have the potential to differentiate into functional endocrine cells.

Our data suggest that the expression of CD133 in pituitary adenomas is related to immature

endothelial progenitor cells that may play a role in the neovascularization of pituitary adenomas. Further studies are needed to elucidate the significance of CD133⁺ cells with respect to neovascularization and their sustainable growth in pituitary adenomas.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：脳神経外科

科研費の分科・細目：

キーワード： pituitary adenoma, CD133, endothelial progenitor, angiogenesis, tumor stem cell

1. 研究開始当初の背景

われわれは下垂体腺腫に CD133 陽性細胞が存在することを見出したが、CD133 陽性細胞の存在意義については不明であった。

2. 研究の目的

下垂体腺腫に発現している CD133 陽性細胞の存在意義を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

臨床サンプルを用いたが、その内訳は非機能性腺腫 45 例、GH 産生腺腫 12 例、PRL 産生腺腫 9 例、ACTH 産生腺腫 3 例、TSH 産生腺腫 1 例である。これらについて多重免疫学的染色による解析を行った。

4. 研究成果

下垂体腺腫中の CD133 陽性細胞も CD133/CD34/VEGFR2 陽性細胞として下垂体腺腫に存在し、新生血管に関与しているのではないかと考えられた。

図－1

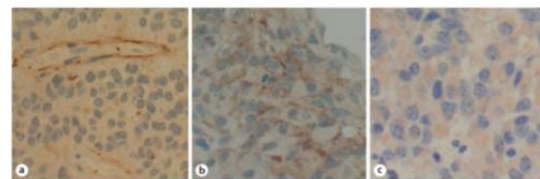


Fig. 1. Immunostaining for CD133 in pituitary adenoma cells. a A clinically nonfunctioning adenoma in a 59-year-old male. Immunoreactivity for CD133 was seen in cells exhibiting vessel formation. b Prolactinoma with CD133 mRNA in a 51-year-old male (see table 3). Note cluster formation of CD133-immunopositive cells exhibiting a membranous preference. c A nonfunctioning adenoma negative for CD133 mRNA in a 57-year-old male (see table 3). The cells were immunonegative for CD133.

結果のまとめ

下垂体腺腫に存在する CD133 陽性細胞は血管内皮に存在したり部分的に集簇して存在するようであった (図 1)。

CD133 陽性細胞は全下垂腺腫の 25%に存在していた。陽性群と陰性群に分けて比較してみたが年齢、男女比、増殖において差はなかった。しかしながら、非機能下垂体腺腫において陽性となる頻度がやや高い傾向があった。

(表 1)

表一

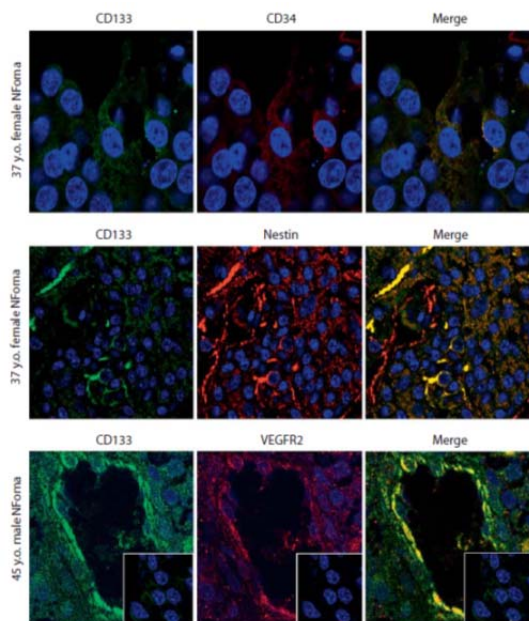
	CD133+ cases	CD133- cases
Number	18 (25.7%)	52 (64.3%)
Mean age \pm SD, years	57.7 \pm 16.0	51.5 \pm 16.2
Male:female	8:10	27:25
Mean tumor size \pm SD, mm	25.2 \pm 8.7*	22.8 \pm 8.4*
MIB-1 index, %	<1.0	<1.0
Recurrence rate (%)	1/18 (5.6)	3/52 (5.8)
Subtype		
NFoma	15/45 (33.3%)**	30/45 (66.7%)
Functioning adenoma	3/25 (12.0%)**	22/25 (88.0%)
GHoma	2/12 (16.7%)	10/12 (83.3%)
PRLoma	1/9 (11.1%)	8/9 (88.9%)
ACTHoma	0/3	3/3 (100%)
TSHoma	0/1	1/1 (100%)

NFoma = Clinically nonfunctioning adenoma; GHoma = growth hormone-producing adenoma; PRLoma = prolactin-producing adenoma; ACTHoma = adrenocorticotrophic hormone-producing adenoma; TSHoma = thyroid stimulating hormone-producing adenoma; SD = standard deviation.

* p = 0.16 (Mann-Whitney test); ** p = 0.085 (Fisher's test).

下垂体腺腫における CD133 陽性細胞は、血管新生にかかわっているのではないかという仮説のもとに多重免疫染色をおこなった。その結果、下垂体腺腫に発現している CD133 陽性細胞は CD34 陽性、nestin 陽性、VEGFR2 陽性であり、CD133 陽性細胞が endothelial progenitor として下垂体腺腫に存在していることがうかがえた。(図一2)

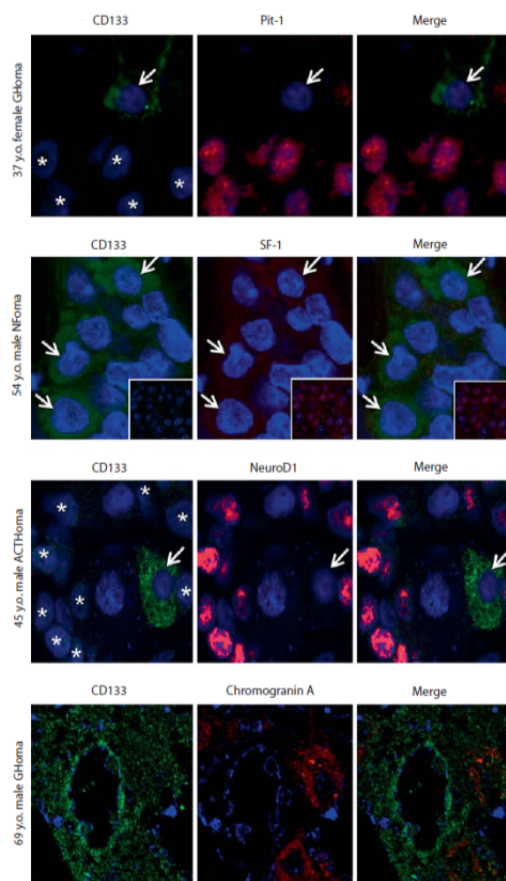
図一2



次いで、下垂体腺腫に発現する CD133 陽性細胞と内分泌細胞への分化について解析した。下垂体腺腫に発現する CD133 陽性細胞は下垂体における内分泌細胞への分化を制御する転写因子(今回の実験では Pit1, SF-1, NeuroD1 について解析)は陰性であった。また、chromograninA による染色も行ったが陰性であり神経内分泌細胞への分化能もないことがうかがえた。

このことから、下垂体腺腫に発現している CD133 陽性細胞は内分泌細胞への分化能は有していないのではないと思われた(図一3)。

図一3



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計1件）

① Yunoue S, Arita K, Kawano H, Uchida H, Tokimura H, Hirano H.

Identification of CD133+ cells in pituitary adenomas. 査読有
Neuroendocrinology. 2011;94(4):302-12.
Epub
2011 Sep 8.

〔学会発表〕（計1件）

下垂体腺腫における CD133 陽性細胞～その同定と存在意義
湯之上俊二、藤尾信吾、羽生未佳、ユーリズバクティアル、平野宏文、時村洋、有田和徳
2011年11月24日 第15回内分泌病理学会
都道府県会館（東京）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有田 和徳 (ARITA KAZUNORI)
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号：90212646

(2) 研究分担者

湯之上 俊二 (YUNOUE SYUNJI)
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号：20404478
平野 宏文 (HIRANO HIROFUMI)
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号：00264416
高野幸路 (TAKANO KOUJI)
東京大学・大学病院・助教
研究者番号：20236243