様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　元 年　 ６ 月　 ３ 日現在

機関番号：１２６０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：１６Ｋ０９５７４

研究課題名（和文）細胞接着に関与し肺癌の予後を規定する膜貫通型タンパクの同定と機能解析

研究課題名（英文）Identification and functional analysis of transmembrane proteins involved in cell adhesion and determines lung cancer prognosis

研究代表者

鹿毛　秀宣（Kage, Hidenori）

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：８０５１３３９０

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,500,000円

研究成果の概要（和文）：インテグリン分子は、細胞表面に存在し、細胞外基質に結合する。本研究では、インテグリンα鎖の一つであるITGA11の肺癌における機能を解析した。まず肺癌検体の解析をし、ITGA11の発現量が多いと肺癌のステージが進行し、手術後に再発しやすいことを解明した。また、肺癌細胞にITGA11を強制発現すると、肺癌細胞の遊走能と浸潤能が亢進した。以上より、ITGA11は肺癌の治療標的となることを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究では、ITGA11の発現量が肺がんのステージや術後再発と関連があることを初めて見出した。肺がんが進行するにつれ、肺がん細胞はITGA11の発現量を高めることにより、遊走能や浸潤能を高め、がんの発生部位における進展や他臓器への転移をおこしやすくしていると推測できる。インテグリン分子は細胞膜の表面に顔を出しているため、本研究でITGA11は肺がんの有力な治療標的になりうることが分かった。

研究成果の概要（英文）：Integrins are a family of transmembrane proteins that bind extracellular matrix. We analyzed the role of integrin alpha 11 (ITGA11) in lung cancer. Analysis revealed that high expression of ITGA11 is associated with higher stage, and also with postoperative recurrence. Overexpression of ITGA11 in lung cancer cells did not result in higher proliferation of cells, but resulted in larger cells, increased cell migration, and increased invasion through extracellular matrix. Our results show that ITGA11 is a potential therapeutic target of lung cancer.

研究分野：肺癌

キーワード：インテグリン　ITGA11　肺癌　術後再発　遊走能　浸潤能

様　式　C－１９、F－１９－１、Z－１９、CK－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

本邦では肺が臓器別癌死亡者数の第一位である。チロシンキナーゼ阻害薬や免疫チェックポイント阻害薬は一定の成果を上げたものの、肺癌患者における生存率の向上は限定的であり、肺癌の新たな治療方法が引き続き望まれる。

膜タンパクはゲノムの全遺伝子のうち、20-30%を占めていると推定されている。膜貫通型タンパクの機能は受容体、分子輸送、酵素、細胞接着など、多彩であり、いずれもがん細胞の生存、増殖、浸潤、転移に関わる可能性を持つ。さらに、膜貫通型タンパクは細胞表面に露出しているため、抗体医薬の標的となり、創薬の可能性も合わせ持つ。

このうち、受容体や酵素の研究はチロシンキナーゼ阻害薬の成果により世界中で精力的に進められてきたが、EGFR や ALK など、すでに保険収載された異常遺伝子に匹敵する結果は得られていない。一方、細胞接着に関わるタンパクは微小環境との相互作用を通じてがんの進行に関わり、がんの進展機序を解明や抗体を用いた新たな治療開発にあたり有力な候補であるものの、多くは知られていない。本研究では膜貫通型タンパクに着目し細胞接着に関わるものを研究対象とした。

２．研究の目的

1. バイオインフォマティクスを用いて候補として挙げた 4 遺伝子のうち、当研究室で保存している肺癌患者検体で発現量が病期や予後と相関するものを同定する。
2. 同定した遺伝子に変異や多型が存在するかを確認する。
3. 同定した遺伝子の発現量の変化により機能や悪性度が変化するかを解析する。具体的には、増殖速度・遊走能・浸潤能などを解析する。

３．研究の方法

1. 当研究室の非小細胞肺癌検体を 80 検体用い、定量的 PCR を用いて測定した発現量が病期や予後と相関する遺伝子を ITGA11 と同定した。また、Kaplan-Meier 法を用いて、ITGA11 高発現群と低発現群で生存期間に差があるかを解析した。
2. 同定した遺伝子に変異や多型が存在するかを確認した。
3. レンチウイルスを用いて ITGA11 を H23 または H441 肺癌細胞株に強制発現し、その結果として癌細胞の細胞面積、増殖能、遊走能、浸潤能が変化するか解析した。コントロールは主に GFP を用いたが、蛍光色素が実験の妨げになる場合には blank ベクターを用いた。
4.

４．研究成果

1) ITGA2、ITGA11、ITGB4、CLDN10b について mRNA の発現量を定量的 PCR で測定し、病期との関連を解析したところ、ITGA11 のみ病期が進行するに従い、ITGA11 mRNA 発現量が亢進していた（p=0.03）。

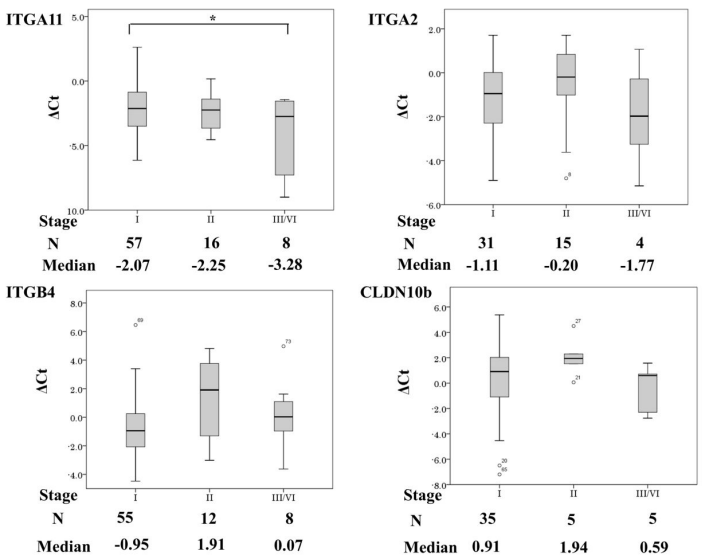

図１：各膜タンパクにおける病期と mRNA 発現量の関係

2) 肺癌において ITGA11 の変異や発現と相関する多型は存在しないことを確認した。
3) ITGA11 発現量と術後再発について解析した。Receiver operating curve（ROC）解析を用いて ITGA11 高発現群と低発現群とに分け、Kaplan-Meier 法で無再発生存期間を比較したところ、高発現群で有意に短かかった（p=0.04）。

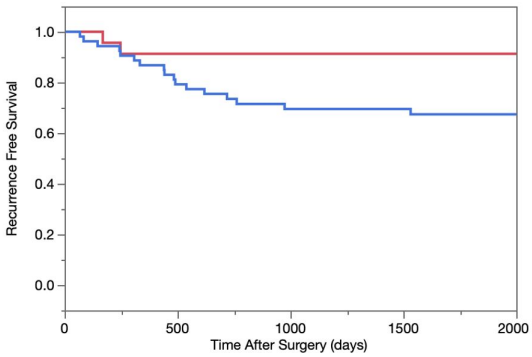

図 2-1 全症例において ITGA11 高発現群と低発現群の無再発生存期間を比較
　また、ステージ I のみで同様の比較をした場合でも、ITGA11 高発現群は有意に無再発生存期間が短かった（p=0.049）。

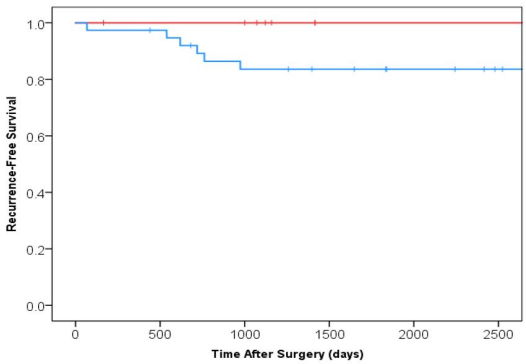

図 2-2：ステージ I に限定して ITGA11 高発現群と低発現群の無再発生存期間を比較した解析（Kaplan-Meier 法）
4) H23 肺癌細胞株に ITGA11 をレンチウイルスベクターを用いて強制発現すると、細胞の面積が増加した（p=0.02）。

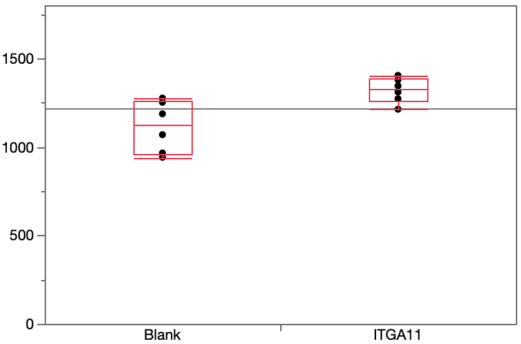

図 3：H23 肺癌細胞株に Blank ベクターまたは ITGA11 ベクターをレンチウイルスで強制発現した際の細胞面積の比較。
5) H23 と H441 の 2 つの肺癌細胞を用い、レンチウイルスベクターで GFP コントロールベクターまたは ITGA11 ベクターを強制発現して細胞の増殖能を解析したところ、差を認めなかった。また、この結果は通常のプラスチックの培養ディッシュ上でもコラーゲン上でも差はなかった。

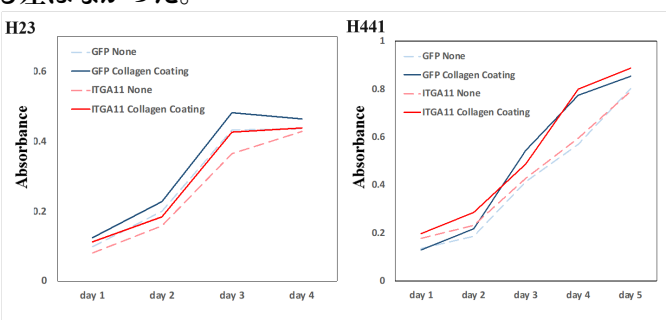

図 4：H23 または H441 に GFP コントロールベクターまたは ITGA11 を強制発現した際の増殖能の比較

6) H23 と H441 の 2 つの肺癌細胞を用い、レンチウイルスベクターで GFP コントロールベクターまたは ITGA11 ベクターを強制発現して細胞の遊走能を解析したところ、両細胞とも有意に亢進した（H23：p=0.004、H441：p=0.001）。また、この結果は通常のプラスチックの培養ディッシュ上でもコラーゲン上でも同様であった。

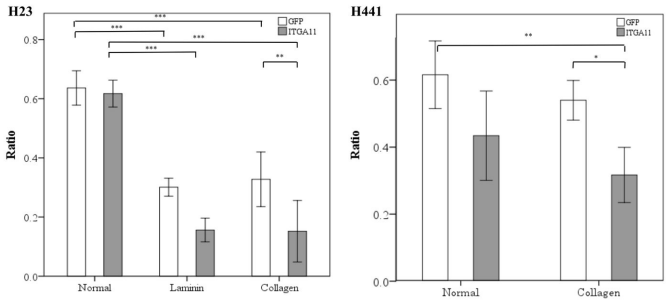

図 5：プラスチックの培養ディッシュ上またはコラーゲン上で H23 または H441 に GFP コントロールベクターまたは ITGA11 を強制発現した際の遊走能の比較。

7) H23 肺癌細胞株を用い、ITGA11 を強制発現して細胞の浸潤能を解析したところ、有意に亢進した（p=0.047）。

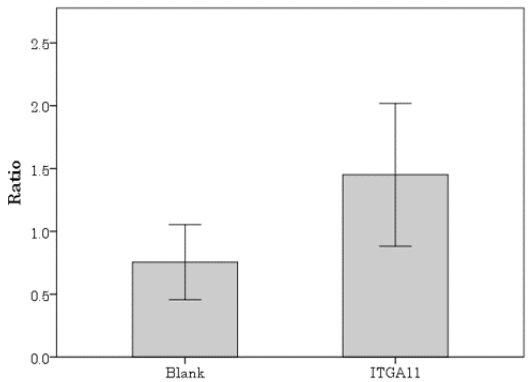

図 6：H23 に blank ベクターまたは ITGA11 を強制発現した際の浸潤能の比較。

結論

本研究により、非小細胞肺癌において ITGA11 高発現は肺癌細胞の遊走能と浸潤能の亢進により術後再発のリスクを高めることが示唆された。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 3 件）

① T Ando, H Kage, Y Matsumoto, K Zokumasu, T Yotsumoto, K Maemura, Y Amano, K Watanabe, J Nakajima, T Nagase, D Takai. 2nd Young investigator's Respiratory Symposium 2019 (English oral presentation).

② T Ando, H Kage, K Maemura, N Hiyama, T Sakatani, Y Amano, K Watanabe, J Nakajima, T Nagase, D Takai. High Expression of Integrin Alpha 11 Is Associated with Tumor Progression and Postoperative Recurrence. American Thoracic Society International Conference 2018 Thematic Poster Session.

③ T Ando, H Kage, K Maemura, N Hiyama, T Sakatani, Y Amano, K Watanabe, J Nakajima, T Nagase, D Takai. High Expression of Integrin Alpha 11 in Adenocarcinoma Is Associated with Tumor Progression and Postoperative Recurrence. Japanese Respiratory Society 2018 English Poster Discussion.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計　0　件）

○取得状況（計　0　件）

〔その他〕
ホームページ等

６．研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：
研究者番号（8 桁）：

(2)研究協力者
研究協力者氏名：安藤　孝浩
ローマ字氏名：Ando, Takahiro

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。