

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K15652

研究課題名（和文）肺腺癌の発癌進展における癌間質相互作用の網羅的解析

研究課題名（英文）Interactome analysis of the pulmonary adenocarcinoma.

研究代表者

吉本 多一郎 (Yoshimoto, Taichiro)

自治医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：20634166

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：多様を示すことで知られている肺腺癌は、予後良好な上皮型形質と予後不良な間葉型形質に大別できる。両者の形質を示す細胞株からそれぞれ作成したXenograftを用いてインターラクトーム解析を行った。これは癌細胞がヒト由来、間質細胞がマウス由来というXenograftの性質を応用したもので癌間質相互作用を網羅的、定量的に評価できる画期的な手法である。その結果抽出された分子を免疫組織化学的に解析したところ間質と癌がクリアーに染め分けできる分子もあった。予後不良な肺腺癌の進展に重要な癌間質相互作用の分子である可能性があり、今後は手術検体で臨床病理学的解析を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌は世界で最も致死的な癌である。その最多組織亜型である肺腺癌においては近年Driver mutationを標的とする分子標的治療薬が一定の成果を上げている。しかし薬剤耐性の出現などまだ課題も多く、癌細胞の単独異常を標的とする治療には限界がみえつつある。一方で免疫チェックポイント阻害剤に象徴される腫瘍微小環境を治療標的とした新しい治療法が注目を集めている。本研究は腫瘍微小環境の動的因子のひとつである癌間質相互作用に着目し、予後不良な間葉型肺腺癌の進展メカニズムの解明を試みたものである。結果として抽出された分子は今後の治療標的となる可能性があり、その社会的意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We analyzed cancer-stromal interaction of the pulmonary adenocarcinoma. We used Xenograft model for the interactome analysis. As a result, we found the significant molecule for the progression of poorly differentiated pulmonary adenocarcinoma. The molecule can be the target of therapy for the pulmonary adenocarcinoma in the near future.

研究分野：病理学

キーワード：肺腺癌 癌間質相互作用 インターラクトーム 上皮間葉転換

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺癌による死者数は全癌中最多であり、世界で最も致命的な癌とされている。特に肺腺癌は、肺癌の組織亜型の中では唯一増加傾向にある最多の亜型である。肺腺癌は多様な組織形態をとることが特徴的で、これを裏付けるように、ゲノムワイドな解析で判明した肺腺癌の Driver mutation も、KRAS, EGFR, MET, RET, ALK など多彩である。これらの Driver mutation を標的とした分子標的治療薬も一定の成果を上げたものの、薬剤耐性などの問題が残り、癌細胞の単純な遺伝子変異のみを治療標的とすることには限界が予測された。その一方、腫瘍微小環境に着目した免疫チェックポイント阻害剤が注目を集め、肺癌をはじめ様々な癌で治療薬として承認された。これらから、今後の肺腺癌治療のブレイクスルーは腫瘍微小環境の詳細な解明が足掛かりになることが予測された。

癌間質相互作用は近年注目されている腫瘍微小環境の動的な側面に注目した概念であり、ケモカインをはじめとする多くのリガンド/レセプター分子による癌間質相互作用が、肺癌、乳癌、膵癌、大腸癌、卵巣癌、前立腺癌、悪性黒色腫など多数の悪性腫瘍で重要な働きをしているとされている。今回、癌間質相互作用を簡便かつ網羅的に定量解析する手法(インターラクトーム解析)により肺腺癌の癌間質相互作用の解明を試みることにした。

2. 研究の目的

肺腺癌において、比較的予後が良好な上皮型形質を示す群と、予後の悪い間葉型形質を示す群の Xenograft model を用いたインターラクトーム解析を行うことで、癌間質相互作用を網羅的に定量解析する。これにより、上皮型形質と間葉型形質における癌間質相互作用の違いを明らかにすることで、肺腺癌の発癌進展に重要な癌間質相互作用を抽出し、新たな治療標的となる分子を同定することを目的とする。

3. 研究の方法

Xenograft を用いたインターラクトーム解析は、癌細胞がヒト由来、間質細胞がマウス由来という異種性に着目した発想から生まれた解析である。まず、Xenograft から total RNA を抽出する(この時点ではヒトとマウスの RNA が混在した状態)。この total RNA で次世代シーケンサー解析を行うと、ヒト由来のリードとマウス由来のリードはそれぞれ独立して定量化できる。すなわち、癌細胞由来のシグナルと、間質細胞由来のシグナルを独立して定量化可能となる。

高分化腺癌細胞株由来の Xenograft と低分化腺癌由来の Xenograft で異なる癌間質相互作用に働くリガンド/レセプターペアの分子を抽出する。それらをまず Xenograft で免疫組織化学的に検討し、その後手術検体(パラフィンブロック検体)を用いて免疫組織化学的解析を進め臨床病理学的因子との相関を検討する。

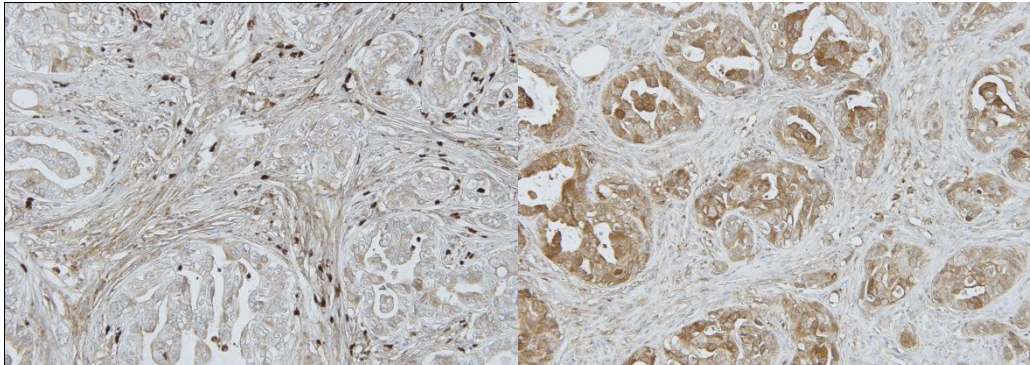
4. 研究成果

肺癌細胞株 11 株(上皮型形質: 9 株、間葉型形質: 2 株)を NODSCID マウスの皮下に注射し、Xenograft モデルを作成した。その結果、上皮型形質細胞株はマウスの間質を誘導し、乳頭状~腺管状の中~高分化型腺癌を形成するのに対し、間葉型形質細胞株はマウスの間質を誘導せず髄様の低分化腺癌を形成した。このことから、マウスとヒトという異種間でも癌間質相互作用が起こることが明らかになった。さらに、これらから total RNA を抽出しインターラクトーム解析を行った。その結果、11 細胞株においてヒト由来、マウス由来の配列に振り分け構築された、遺伝子発現プロファイルが得られた。これらを、既存の相互作用データベース(KEGG2010年のデータベース)と組み合わせることによって、細胞間で相互作用しているシグナル経路を

同定し、1150 個のインタラクトーム指標（リガンド/レセプターの組み合わせごとにシグナルの強さ、方向性を示す指標）が得られた。このうち、一定のシグナル強度以上を示した 117 個の候補に絞り込みを行った。この内訳は癌細胞から間質へ働く分子が 60 個、間質から癌細胞へ働く分子が 57 個であった。これらをさらに Kaplan Meier Plotter と公開データベース（Human protein atlas）を参考に、予後と相関している可能性のある分子の絞り込みを行った。その結果、癌細胞から間質へ働く分子のうち 11 個が予後不良と関係している可能性があった。また、間質から癌細胞へ働く分子のうち 13 個が予後不良と関係している可能性があった。

これらのリガンド/レセプターペアの分子を免疫組織化学的に検討した。

間質から癌細胞へ働くリガンド（X）/レセプター（XR）ペアの分子について、肺癌細胞株 Calu3 で作成した Xenograft モデルで免疫組織化学的検討を行った結果を示す（いずれも対物 20 倍）。



左図が（X）、右図（XR）の染色結果である。X が間質に、XR が癌細胞に明瞭に染色されていることがわかる。

今後はこの免疫組織化学的検討を実際の肺腺癌手術検体を用いてさらに検証を行い、予後不良と相関するリガンド/レセプターペアの同定を行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Taichiro Yoshimoto, Daisuke Matsubara, Manabu Soda, Toshihide Ueno, Yusuke Amano, Atsushi Kihara, Takashi Sakatani, Tomoyuki Nakano, Tomoki Shibano, Shunsuke Endo, Koichi Hagiwara, Masashi Fukayama, Kaori Denda-Nagai, Tatsuro Irimura, Hiroyuki Mano, Toshiro Niki.	4. 巻 110(9)
2. 論文標題 Mucin 21 is a key molecule involved in the incohesive growth pattern in lung adenocarcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer science	6. 最初と最後の頁 3006-3011
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14129	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Taichiro Yoshimoto, Daisuke Matsubara, and Toshiro Niki
2. 発表標題 Mutation of SWI/SNF complex genes is frequent in poorly differentiated, mesenchymal-like lung cancer without major driver mutation
3. 学会等名 IASLC 18TH World Conference On Lung Cancer .（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉本多一郎、金井義彦、中野智之、松原大祐、仁木利郎
2. 発表標題 低接着培養による浮遊肺癌細胞集塊のin vitroモデルの作成
3. 学会等名 第106回日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉本多一郎、金井義彦、松原大祐、仁木利郎
2. 発表標題 肺腺癌における低接着状態とGlucose transporter (Glut) の発現解析
3. 学会等名 第14回日本病理学会カンファレンス
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Taichiro Yoshimoto, Daisuke Matsubara, Daisuke Komura, Shumpei Ishikawa, and Toshiro Niki.
2. 発表標題 Exploration of long non-coding RNA involved in epithelial mesenchymal transition in non-small cell lung cancer.
3. 学会等名 第75回日本癌学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉本多一郎、金井義彦、松原大祐、仁木利郎
2. 発表標題 肺腺癌におけるGlucose transporter (Glut) の発現解析
3. 学会等名 第58回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉本多一郎、松原大祐、天野雄介、木原淳、遠藤俊輔、萩原弘一、間野博行、仁木利郎
2. 発表標題 Incohesive patternを示す肺腺癌の1例:免疫組織化学と網羅的遺伝子解析を含めた検討
3. 学会等名 第107回日本病理学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------