

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08130

研究課題名（和文）肺癌組織系の違いによるNumbの肺癌増殖に対する機能について

研究課題名（英文）Numb has distinct roles in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma us

## 研究代表者

榊原 純（小西純）（sakakibara, jun）

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：50374278

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：NumbはNotchを抑制することが報告されているが肺癌のサブタイプ毎の機能については詳細なデータは乏しい。今回の報告で肺腺癌においてNumbは癌細胞の腫瘍の増殖や遊走、浸潤を抑制し、逆に扁平上皮癌において腫瘍増殖、遊走、浸潤を促進することが示された。肺癌切除組織においてNumb高発現群は低発現群と比較して腺癌では予後が良好であり扁平上皮癌において予後への影響は乏しかった。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌においてNumbの機能は腺癌と扁平上皮癌において違うことが示されたことからサブタイプ別に今後の治療を検討していく必要性が示された。腺癌においては腫瘍抑制的に機能しNumb高発現は予後良好であったことから腺癌においてNumbは予後予測因子となる可能性が示された。また扁平上皮癌においてはNumbは腫瘍増殖に機能しておりNumbを標的とした治療開発は今後の肺癌治療において学術的にも社会的にも意義があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：To investigate the role of Numb in tumorigenesis of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma, we firstly performed loss-of-function and gain-of-function assays. Moreover, Numb expression was investigated in surgically resected lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma tissues by immunohistochemistry and correlations with prognosis were analyzed. Numb suppressed the proliferation, migration, and invasion of adenocarcinoma cells. In contrast, Numb promoted the proliferation, migration, and invasion of squamous cell carcinoma cells. High Numb expression was associated with favorable prognosis in patients with lung adenocarcinoma, but not in those with squamous cell carcinoma. Collectively, our data demonstrate that Numb plays distinct roles in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. In lung adenocarcinoma, Numb impairs tumor growth, whereas in lung squamous cell carcinoma it may promote proliferation.

研究分野：肺癌

キーワード：肺腺癌 肺扁平上皮癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Numb は Notch を抑制し腫瘍増殖に関わることが報告されている。しかし非小細胞肺癌における Numb の機能については詳細なデータは乏しい。また非小細胞肺癌を大きく腺癌、扁平上皮癌に分類されるがサブタイプによる増殖能のちがいや、各種薬剤に対する治療効果の違いが報告されておりサブタイプ毎の解析は重要となっている。

### 2. 研究の目的

非小細胞肺癌のうち腺癌と扁平上皮癌のサブタイプ別の Numb 発現や予後との関連、また Numb の腫瘍増殖における機能について検討した。

### 3. 研究の方法

非小細胞肺癌細胞株のうち扁平上皮癌(H520, H1703)、腺癌(A549, PC9)細胞株を使用した。増殖能については MTT assay を用いた。浸潤能、遊走能については transwell chamber を用いて確認した。Notch シグナルの蛋白発現については western blot 法を用いた。Numb ノックダウンには siRNA を使用し over expression については Numb origene vector を用いた。外科切除検体の Numb 発現については免疫染色を行って予後や臨床病理学的因子との比較を行った。

### 4. 研究成果

Numb をノックダウンしたところ(図 1)、腺癌(A549, PC9)において腫瘍増殖、遊走、浸潤を増加した(図 2)。さらに Notch シグナル(図 3)や上皮肝葉間葉移行(EMT)を亢進した(図 4)。Numb を腺癌細胞株に強制発現させたところマウスモデルにおいて肺癌増殖は抑制された。一方扁平上皮癌(H520, H1703)で Numb をノックダウンすると(図 1)腫瘍増殖、遊走、浸潤能が低下した(図 2)。EMT や Notch の変化は認めなかった(図 3、図 4)。外科切除検体において Numb 高発現群は低発現群と比較して予後は良好であった(図 5)が、扁平上皮癌では特に予後への影響を認めなかった(図 6)。これらの結果から Numb は肺腺癌と肺扁平上皮癌において異なった機能を有していることが示唆された。Numb は腺癌において腫瘍増殖抑制的に機能し予後予測因子となる可能性があり、扁平上皮癌においては Numb を標的とした治療が肺癌治療における一つの選択肢となりうる可能性が示された。

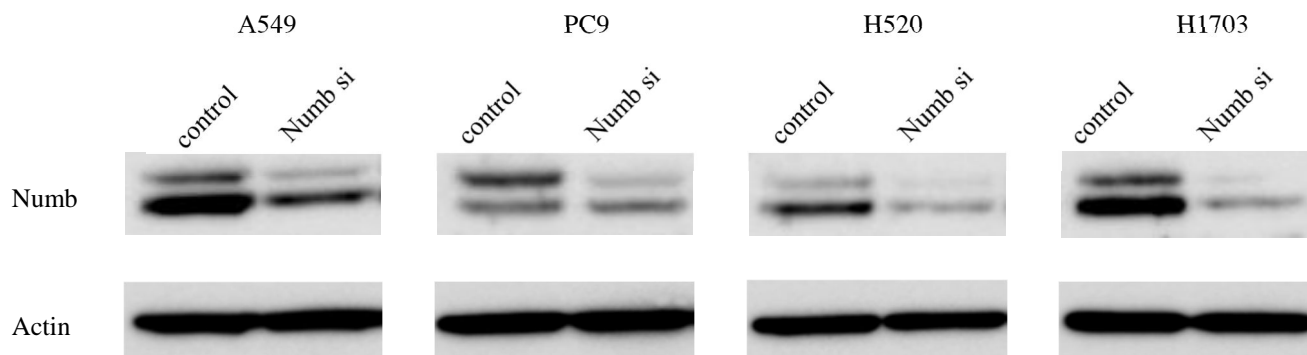


図 1: Numb siRNA により Numb 発現は低下した。

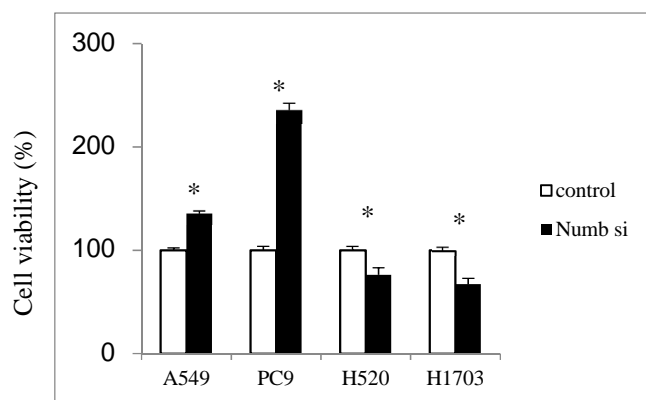


図 2A) Numb siRNA による Numb 発現低下で腺癌 (A549, PC9) において細胞増殖は増加した。逆に扁平上皮癌(H520, H1703)において細胞増殖能は低下した。

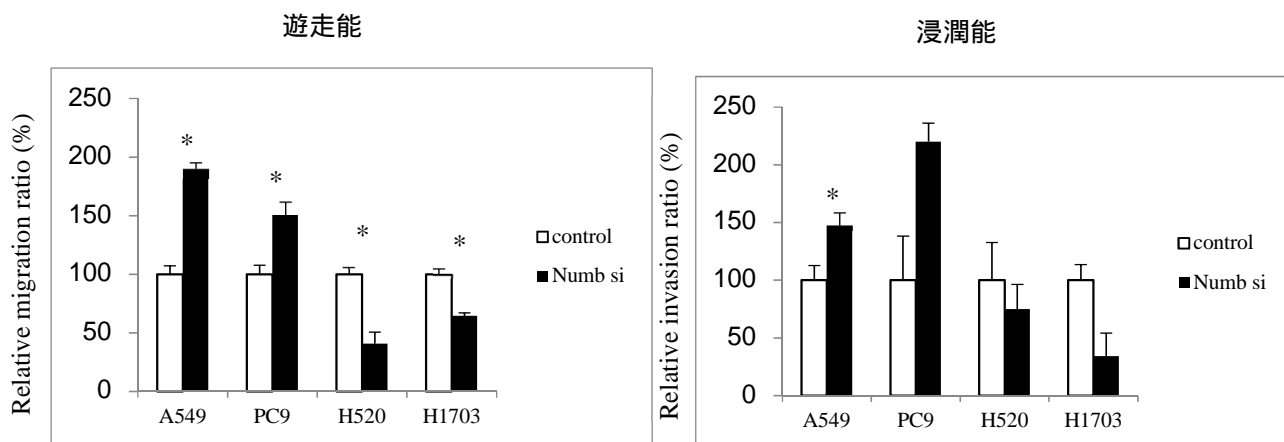


図 2B) Numb siRNA による Numb 発現低下で腺癌において遊走能、浸潤能は増加した。逆に扁平上皮癌において遊走能、浸潤能は低下した。

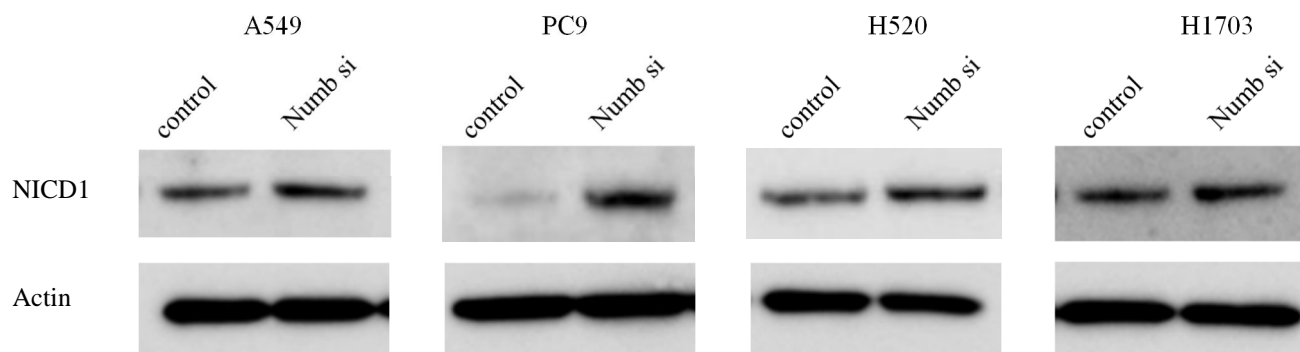


図 3: Numb siRNA による Numb 発現低下で腺癌では NICD1(Notch Intracellular Domain)は低下した。扁平上皮癌では NICD の発現の変化はなかった。

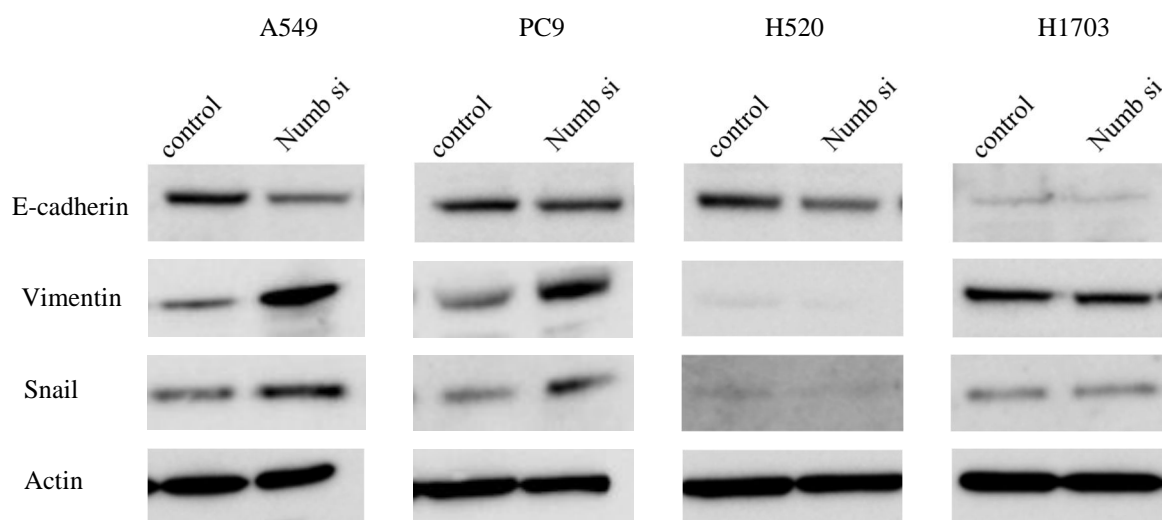


図 4: Numb 発現の抑制により腺癌において E-cadherin 発現の低下、Vimentin, Snail の発現が亢進した。扁平上皮癌においては発現の変化を認めなかった。

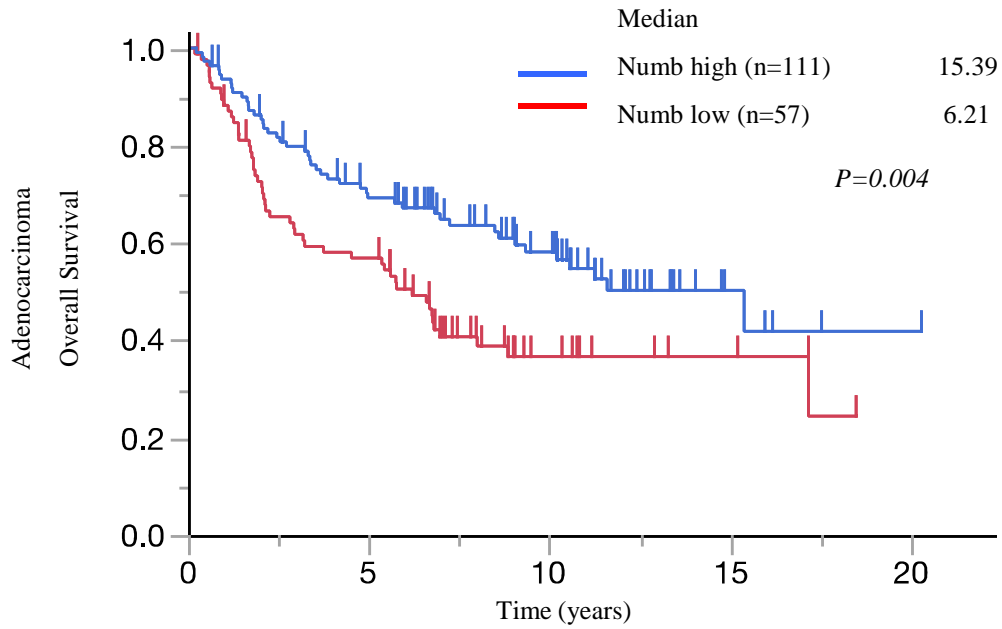


図 5: 腺癌において Numb 高発現群は低発現群と比較して予後が良好であった。

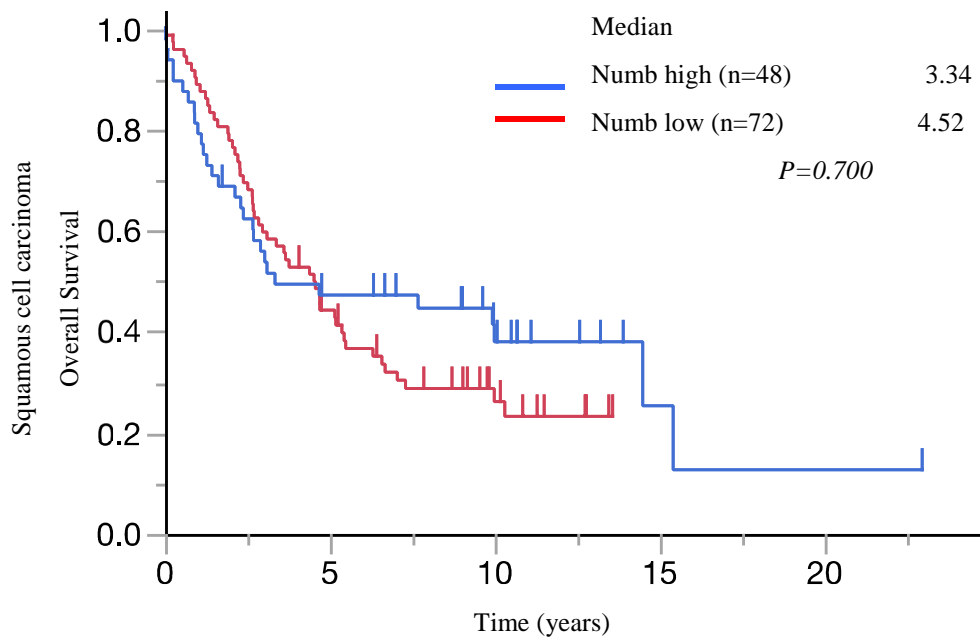


図 6: 扁平上皮癌において Numb 発現と予後に相関を認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Furuta M, Kikuchi H, Shoji T, Takashima Y, Kikuchi E, Kikuchi J, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Sakakibara-Konishi J.	4. 巻 110
2. 論文標題 DLL3 regulates the migration and invasion of small cell lung cancer by modulating Snail.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1599-1608
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.13997	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi H, Sakakibara-Konishi J, Furuta M, Kikuchi E, Kikuchi J, Oizumi S, Hida Y, Kaga K, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Nishimura M	4. 巻 9
2. 論文標題 Numb has distinct function in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 29379-29391
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.25585	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Megumi Furuta, Jun Sakakibara-Konishi, Hajime Kikuchi,
2. 発表標題 Analysis of DLL3 and ASCL1 in surgically resected small cell lung cancer (HOT1702)
3. 学会等名 AACR（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 峯村 浩之、古田 恵、榊原 純
2. 発表標題 小細胞肺癌切除検体におけるDLL3、ASCL1に関する検討
3. 学会等名 日本呼吸器学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masao Harada, Megumi Furuta, Jun Sakakibara-Konishi
2. 発表標題 Analysis of DLL3 and ASCL1 in surgically resected small cell lung cancer (HOT1702)
3. 学会等名 日本臨床腫瘍学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Megumi Furuta <sup>1</sup> , Jun Sakakibara-Konishi <sup>1</sup> , Tetsuaki Shoji <sup>1</sup> , Yuta Takashima <sup>1</sup> , Hajime Kikuchi <sup>1</sup> , Eiki Kikuchi <sup>1</sup> , Junko Kikuchi <sup>1</sup> , Ichiro Kinoshita <sup>2</sup> , Hirotohi Dosaka-Akita <sup>2</sup> , Masaharu Nishimura <sup>1</sup>
2. 発表標題 DLL3 regulates migration and invasion of Small Cell Lung Cancer
3. 学会等名 AACR (国際学会)
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
研究分担者	木下 一郎  (Kinoshita Ichiro)  (40343008)	北海道大学・大学病院・教授    (10101)	

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
---------	---------