

自己評価報告書

平成23年4月25日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20390103

研究課題名 (和文)

上皮間葉転換形質を示す肺癌における分子標的の同定とその診断・治療への展開

研究課題名 (英文)

Molecular targets for lung adenocarcinoma with epithelial-mesenchymal transition: identification and their application for diagnosis and therapy.

研究代表者 仁木 利郎 (NIKI TOSHIRO)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：90198424

研究分野：人体病理

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理

キーワード：肺癌、分子標的

1. 研究計画の概要

肺癌は本邦における悪性腫瘍の死亡数の第1位を占め、外科治療・化学療法の発達にもかかわらず、肺癌患者の5年生存率は未だ15%程度と予後不良である。このような難治性の癌に対する治療戦略として、近年、癌の増殖、浸潤、転移など悪性形質の分子レベルの理解に基づいた「分子標的療法」が大きな潮流となっている。肺癌の分子標的としては、上皮成長因子受容体 (以下 EGFR) 阻害剤が一定の効果をあげ現在注目されている。しかし EGFR 阻害剤に反応する症例は非小細胞肺癌の40-50%までであり、特に上皮間葉転換 (EMT, epithelial-mesenchymal transition) 形質を示す症例は EGFR 阻害剤に抵抗性を示すことが明らかとなっている。本研究では、このように未だ治療戦略のみえていない上皮間葉転換形質を示す非小細胞肺癌を研究対象とし、その分子標的を明らかにするとともに、今後の診断・治療戦略を立てる道筋をつけることを目的としている。

2. 研究の進捗状況

(1) 上皮間葉転換形質に関連した遺伝子の同定：非小細胞肺癌 18 株の遺伝子発現プロファイルから、E-cadherin と逆相関する遺伝子 50 を同定していたが、さらに非小細胞肺癌 22 株から遺伝子発現プロファイルを取得し、E-cadherin との逆相関性から遺伝子の絞り込みを行った。その結果、Vimentin, TCF8 (ZEB1) などのよく知られた EMT (epithelial-mesenchymal transition) のマーカーのほかに、CTGF, HOX6, KIAA1212 など、20 ほどの候補遺伝子が選出された。さらに切除肺腺癌での遺伝子発現から候補遺伝子の絞り込みを行っている。

(2) microRNA と転写因子の解析：非小細胞肺癌 40 株において E-cadherin の発現と相関あるいは逆相関する microRNA をいくつか同定した。このなかにはすでに報告されている mir-200 family のほか、まだ機能の明らかになっていない microRNA も含まれていた。核内転写因子 Zeb1, Snail の発現が E-cadherin と逆相関することも確認した。

(3) 化合物ライブラリーによるスクリーニング：上皮間葉転換形質を示す肺癌を含む非小細胞肺癌 40 株について、化合物ライブラリーによる分子標的治療薬のスクリーニングを行い、これまでにいくつか有望な lead compound をみいだしてきている。現在、細胞株の遺伝子発現プロファイルやゲノムワイドなコピー数のデータとの関連性から、薬剤感受性を予測するバイオマーカーの探索を行っている。

(4) 遺伝子異常との関連性：非小細胞肺癌 40 株について、主要癌遺伝子の変異解析、ゲノムワイドなコピー数解析を行った。EGFR 変異、KRAS 変異、MET 増幅については、EGFR 変異を 6 株、KRAS 変異を 11 株、MET 増幅を 3 株に認めた。EMT 形質を示す肺癌 14 株には EGFR 変異、MET 増幅は一例も認められなかった。同様の傾向は切除肺腺癌を用いた予備的解析でも確認された。上皮間葉転換形質を示す頻度が EGFR 変異の癌で相対的に低いことを示唆する興味ある結果であり、さらに詳細な検討を行っている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

理由：当初計画していた上皮間葉転換形質に関連した遺伝子の同定については、primary tumor での解析がやや遅れているが、その場

合を想定して行った microRNA, 化合物ライブラリーによるスクリーニングにて有望な結果を得ており、総じて順調に経過していると考えている。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 機能解析実験: E-cadherin-low の細胞株を用い、候補遺伝子に対する siRNA, shRNA レンチウイルスベクターによるノックダウン実験を行う。ノックダウンした細胞株について、親株あるいは対照ベクターを発現した細胞株との生物学的な特性の比較を行う。

(2) 分子標的についての実験: これまでのスクリーニングで見出した分子標的薬剤について、増殖抑制効果の分子機構を明らかにするとともに、in vivo における増殖抑制効果を検討する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Matsubara D, Niki T (6th of 6) et al. Molecular predictors of sensitivity to the MET inhibitor PHA665752 in lung carcinoma cells. *J Thorac Oncol* 2010;5:1317-1324. (査読あり)
- ② Matsubara D, Niki T (6th of 6) et al. Co-activation of epidermal growth factor receptor and c-MET defines a distinct subset of lung adenocarcinomas. *Am J Pathol* 2010;177:2191-2204. (査読あり)
- ③ Matsubara D, Niki T (6th of 6) et al. Subepithelial myofibroblast in lung adenocarcinoma: a histologic indicator of excellent prognosis. *Mod Pathol* 2009;22:776-85. (査読あり)

[学会発表] (計 11 件)

- ① Matsubara D, Niki T (6th of 6) et al. Classification of lung carcinoma cell lines by integrated information of EGFR and MET abnormalities and gene expression pattern correlated with response to chemotherapy and molecular targeted therapy. Annual Meeting of American Association for Cancer Research (poster presentation), Washington D. C, 2010.
- ② 松原大祐, 仁木利郎 (4th of 4) ほか. 分化マーカー, c-MET, ならびに EMT 形質の発現による肺腺癌の分類と薬剤感受性との関連性. 第 99 回日本病理学会総会, 東京, ポスター発表, 2010 年 4 月 27-29 日.
- ③ 松原大祐, 仁木利郎 (4th of 4) ほか. 3 次元培養下の肺腺癌細胞株の集塊形成と遺伝子変異の関連性について. 第 99 回日本

病理学会総会, 東京, ポスター発表, 2010 年 4 月 27-29 日.

- ④ 松原大祐, 仁木利郎 (4th of 4) ほか. EGFR, MET の活性化に基づく肺腺癌分類: 予後因子, 薬剤感受性との関連について. 第 51 回日本肺癌学会総会, 広島国際会議場, 口演発表, 2010 年 11 月 3 日-4 日.
- ⑤ Matsubara D, Niki T (4th of 4) et al. Lung adenocarcinomas show genetic-morphologic correlations in three dimensional culture. 69th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (poster presentation), Osaka, 2010.
- ⑥ Matsubara D, Niki T (4th of 4) et al. Predictors of sensitivities to MET inhibitor PHA665752 in lung adenocarcinoma cell lines. Annual Meeting of American Association for Cancer Research (poster presentation), Denver, 2009.
- ⑦ Matsubara D, Niki T (6th of 6) et al. Predictors of sensitivities to MET inhibitor PHA665752 in lung adenocarcinoma cell lines. 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (poster presentation), Yokohama, 2009.
- ⑧ 松原大祐, 仁木利郎 (4th of 4) ほか. 分子標的セレクション: 肺腺癌における MET 阻害剤に対する感受性と MET, EGFR, KRAS の遺伝子異常、リン酸化について. 第 50 回日本肺癌学会総会, 新宿京王プラザホテル, 口演発表, 2009 年 11 月 12 日-13 日.
- ⑨ 松原大祐, 仁木利郎 (4th of 4) ほか. 分化マーカー (TTF-1, MUC1, CK7), MET, ならびに EMT (上皮間葉転換) 形質の発現による肺腺癌の分類. 第 50 回日本肺癌学会総会, 新宿京王プラザホテル, ポスター発表, 2009 年 11 月 12 日-13 日.
- ⑩ 松原大祐, 仁木利郎 (4th of 4) ほか. 3 次元培養での肺腺癌細胞の形態と遺伝子変異の相関について. 第 50 回日本肺癌学会総会, 新宿京王プラザホテル, ポスター発表, 2009 年 11 月 12 日-13 日.
- ⑪ Matsubara D, Niki T (4th of 4) et al. Classification of lung adenocarcinoma cell lines by gene expression profiles: relationships to EGFR mutation and MET amplification. Annual Meeting of American Association for Cancer Research (poster presentation), San Diego, 2008.

[その他]

ホームページ

<http://www.jichi.ac.jp/pathol/>