

令和 4 年 4 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17745

研究課題名(和文) 特発性肺線維症の線維芽細胞が高分泌するPeriostinが肺癌へ与える影響の研究

研究課題名(英文) Periostin secreted by activated fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis promotes tumorigenesis of non-small cell lung cancer

研究代表者

大和 寛幸 (Yamato, Hiroyuki)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80836255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、特発性肺線維症(IPF)由来線維芽細胞(DIPF)から分泌されたPeriostin(Pn)の肺癌細胞への影響を解析し、肺癌治療の標的分子になりえるかを検討した。肺癌切除検体におけるPnの発現解析ではPnが癌間質に比べてIPFの間質(非癌部)に発現を認めた。DIPFからPnが多く分泌され、分泌されたPnによって肺癌細胞の増殖が亢進した。さらに、Pnを阻害することで、肺癌細胞の増殖が抑制されることが判明した。IPFにおいて活性化した線維芽細胞がPn分泌を介して肺癌の増殖に関与していることが示唆され、PnがIPF合併肺癌の新たな治療標的になりえることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

特発性肺線維症(IPF)合併肺癌(LC-IPF)は予後が不良なことは知られているが、その機序は明らかでない。本研究でIPFにおいて活性化した線維芽細胞がPeriostinという蛋白を分泌することで、肺癌の増殖に関与していることが示唆され、Periostinが特発性肺線維症合併肺癌の新たな治療標的になりえることが示された。

研究成果の概要(英文)：This study analyzed the effects of periostin (Pn) secreted from idiopathic pulmonary fibrosis (IPF)-derived fibroblasts (DIPF) on lung cancer cells and examined whether Pn could be a target molecule for lung cancer therapy. The expression analysis of Pn in resected lung cancer specimens showed that Pn was expressed in the interstitium of IPF (noncancerous area) compared to cancer interstitium, and that Pn secreted from DIPF increased the proliferation of lung cancer cells by the secreted Pn. Furthermore, inhibition of Pn suppressed the proliferation of lung cancer cells, suggesting that activated fibroblasts in IPF are involved in the proliferation of lung cancer cells via Pn secretion, and that Pn may be a new therapeutic target for lung cancer patients with IPF.

研究分野：肺癌

キーワード：特発性肺線維症合併肺癌 Periostin 肺癌

1. 研究開始当初の背景

特発性肺線維症(IPF)合併肺癌(LC-IPF)は、非合併肺癌に比して予後不良である。IPFで病的に活性化した線維芽細胞と肺癌との相互作用がIPF合併肺癌の悪性度を高めると考えられているが、その詳細なメカニズムは不明である。Periostinはインテグリンをリガンドとするタンパクであり、様々な癌腫で癌周囲間質において高発現している。さらに、IPFでは肺の線維化にPeriostinが関わっていることが知られている。今回、申請者らは、癌の悪性化と肺間質の線維化活性に関わるPeriostinが、IPF合併肺癌の悪性度を高めるという仮説を立てた。本研究は、臨床検体を用いた基礎研究を通じて、IPFの異常活性化した線維芽細胞から多く分泌されるPeriostinが、肺癌細胞に与える影響を明らかにすることを目的とした。IPF合併肺癌では、線維芽細胞が分泌するPeriostinが、癌周囲微小環境で癌進展に重要な役割をもつことが明らかとなれば、IPF合併肺癌に対して、Periostinを標的とした新しい治療薬開発につながる。

2. 研究の目的

IPF背景肺の線維芽細胞と肺癌細胞のPeriostinによる相互作用を解明し、LC-IPFの新規治療の可能性を模索する。

3. 研究の方法

- (1)LC-IPF 切除検体におけるPeriostinの発現解析
- (2)IPF由来線維芽細胞におけるPeriostin発現と腫瘍増殖能の解析
- (3)Periostin受容体発現制御による腫瘍増殖能の解析

4. 研究成果

(1-1)肺癌切除病理検体のPeriostinの免疫染色では、LC-IPF、LC-non-IPFそれぞれの肺癌と癌周囲の組織の間質でPeriostinが高発現しており、LC-IPFの癌周囲、特にIPF線維化病変でPeriostinの発現率が最も高値であった(図1)。

(1-2)肺癌切除検体から単離培養した線維芽細胞のPeriostin発現の検討ではIPF非合併肺癌(LC-non-IPF)から単離培養した群(n=5)よりLC-IPF群(n=7)で、qPCRでの遺伝子発現(図2)、培養上清(CM)での分泌(ELISA)共に高値であった(P<0.01)(図3)。

図1. 肺癌切除病理検体のPeriostinの免疫染色の定量評価

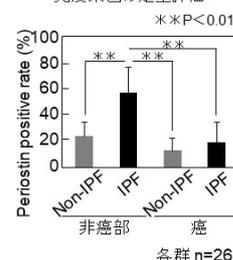


図2. 肺癌切除検体から初代培養した線維芽細胞qPCR

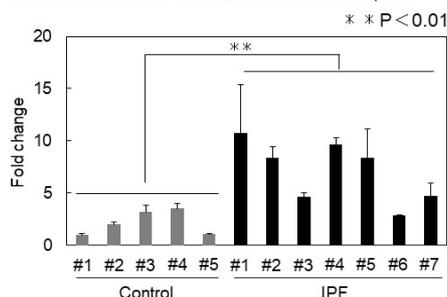
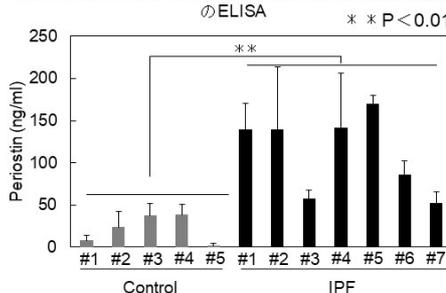


図3. 肺癌切除検体から初代培養した線維芽細胞の培養上清のELISA



(2-1) Recombinant human Periostin (rh-Periostin)の肺癌細胞株(A549, NCI-H520)の増殖への影響の検討では、肺癌細胞株(A549, NCI-H520)は2次元、3次元培養共にrh-Periostin刺激で肺癌細胞株の増殖亢進を認めた(P<0.01)。

(2-2) 線維芽細胞株のCMを用いて肺癌細胞株の増殖シグナル(Erk, Akt)と細胞増殖への影響の検討で、2次元培養においてDIPFのCMで、NHLFのCMより肺癌細胞株の増殖が亢進し(P<0.05)、Western BlotでのErk, Aktの評価でもDIPFのCMでリン酸化が亢進されていた。3次元培養でも同様に増殖が亢進した(P<0.01)。

(2-3)DIPFのCMにPeriostin中和抗体(OC-20)添加による肺癌細胞株の増殖、増殖シグナルへの影響の検討ではDIPFのCMで亢進した肺癌細胞株の増殖は、OC-20添加で抑制され(P<0.01)、増殖シグナルのリン酸化も同様に抑制された。

(2-4)肺癌細胞株と線維芽細胞株の共接種マウスモデルで腫瘍増殖能の検討では肺癌細胞株とDIPFまたはNHLFをヌードマウスの皮下に共接種し(各群n=6)、28日後に犠牲死させ、腫瘍重量とPeriostin発現を免疫染色で評価した。腫瘍重量はNHLF群に比してDIPF群でより重量が重く(P<0.05)、Periostinの腫瘍内発現はDIPF群で高かった。また、増殖指標となるKi-67 IndexもDIPF群で高かった(P<0.01)。

(3-1)Periostinの受容体のintegrin 3(ITB3)をKnockdownした肺癌細胞株(ITB3-depleted-A549(NCI-H520))のDIPFのCMによる増殖への影響の検討をした。非哺乳類のRNA

を Knockdown した肺癌細胞株を Mock-A549(NCI-H520)とし、3次元培養を行った。Mock 群は DIPF の CM で増殖亢進を認めた($P < 0.01$)のに対し、ITB3-depleted 群では DIPF の CM による増殖が抑制された($P < 0.01$)。

(3-2) ITB3-depleted-A549(NCI-H520)と DIPF の共接種マウスモデルで腫瘍増生能の検討として ITB3-depleted-A549(NCI-H520)のみか DIPF と混合したものをそれぞれヌードマウスの皮下に注入し(各群 $n=5$)、28 日目に犠牲死させ、腫瘍重量と Ki-67 を免疫染色で評価した。腫瘍重量と Ki-67 は共に Mock 群では DIPF の有無で有意差($P < 0.01$)はあるが、ITB3-depleted 群では DIPF の有無で有意差が無かった。

<引用文献>

Hiroyuki Yamato, Kenji Kimura, Eriko Fukui, Takashi Kanou, Naoko Ose, Soichiro Funaki, Masato Minami, and Yasushi Shintani; Periostin secreted by activated fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis promotes tumorigenesis of non-small cell lung cancer non-small cell lung cancer.; Sci.Rep. 2021 Oct 26;11(1):21114.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大和 寛幸
2. 発表標題 特発性肺線維症合併肺癌の悪性化とPeriostin(POSTN)との関連
3. 学会等名 第73回日本胸部外科学会 定期学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大和 寛幸
2. 発表標題 特発性肺線維症合併肺癌の悪性化とPeriostin(POSTN)との関連
3. 学会等名 第64回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大和 寛幸
2. 発表標題 Periostin(POSTN)は特発性肺線維症合併肺癌の悪性化に関わる
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大和 寛幸
2. 発表標題 特発性肺線維症(IPF)合併肺癌の悪性化とPeriostin(POSTN)との関連
3. 学会等名 第38回日本呼吸器外科学会総会
4. 発表年 2021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
---------	---------