

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 11 月 8 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861123

研究課題名(和文)肺腺癌の悪性化進展メカニズムの解明

研究課題名(英文)Analysis of malignant progression of lung adenocarcinoma

研究代表者

山北 伊知子(YAMAKITA, ICHIKO)

広島大学・大学病院・医科診療医

研究者番号：70634088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：がんの浸潤を制御することはがんを克服する上で必須である。我々はguanylate binding protein 1 (GBP-1)を肺腺癌の浸潤に関わる候補分子として選択し、分析を行った。GBP-1はヒト肺腺癌組織で高発現を認め、上皮系細胞よりも間葉系細胞において高発現を認めた。細胞運動能の分析においてはGBP-1が肺腺癌細胞の運動能を促進することが判明した。加えて、肺腺癌患者の臨床病理学的検討においてGBP-1は脈管侵襲と正の相関が認められた。

本研究によりGBP-1は細胞の運動能を通して早期肺腺癌の浸潤を誘導することが解明された。このことは新たな肺腺癌の治療戦略の発展に貢献しうる。

研究成果の概要(英文)：Controlling invasiveness is a pivotal concept to conquer cancers. We selected guanylate binding protein 1 (GBP-1) as a candidate molecule involved in invasion of lung adenocarcinoma for further analyses. Human lung adenocarcinoma samples showed higher GBP-1 level, while higher expression of GBP-1 was detected in mesenchymal-like cells than epithelial-like cells. Then, cell motility assay provided the evidence of involvement of GBP-1 in promoting lung adenocarcinoma cell motility. In addition, clinicopathological findings including immunohistochemistry for GBP-1 of patients with lung adenocarcinoma revealed the positive association between GBP-1 expression and lymph-vascular invasion. In conclusion, GBP-1 induces invasiveness of early stage lung adenocarcinoma through promoting cell motility. And might contribute to the development of new therapeutic strategies for lung adenocarcinoma.

研究分野：肺癌

キーワード：小型肺腺癌 悪性化進展 浸潤

1. 研究開始当初の背景

我が国において肺癌は最も発生率、死亡率の高い癌のひとつである。肺癌の悪性化進展に関わる遺伝子の分析が数多く行われ、一部がすでに臨床応用されているがその治療効果はいまだ十分とは言い難い。

2. 研究の目的

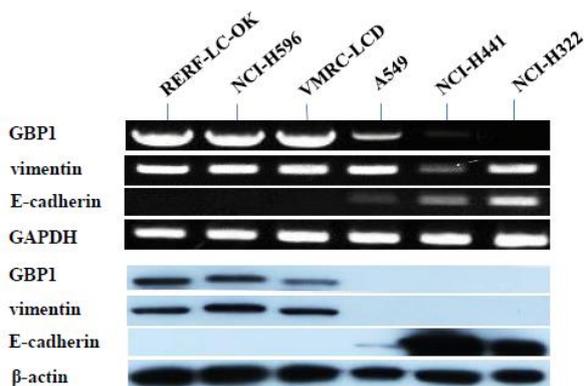
小型肺腺癌は近年増加傾向にあり、浸潤癌と非浸潤癌の混在型の頻度が高く、同一症例内で多段階に悪性化進展を生じるモデルとして有用である。

3. 研究の方法

高精度マイクロダイセクションと DNA マイクロアレイを用いた解析により、浸潤部に高発現を示す遺伝子、つまり浸潤・転移を促進させると考えられる候補遺伝子群のうち guanylate binding protein 1 (GBP-1) に着目し悪性化進展との関連性を調べた。

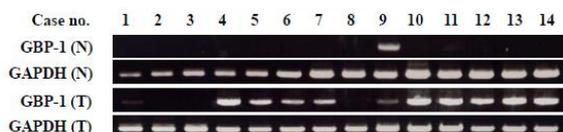
4. 研究成果

(1) ヒト肺腺癌細胞株における GBP-1 の発現



ヒト肺腺癌細胞株 (RERF-LC-OK, NCI-H596, VMRC-LCD, A549, NCI-H441, NCI-H322) を用いて候補遺伝子およびタンパク発現を確認した。EMT (上皮間葉転換; epithelial-mesenchymal transition) のマーカーである E-カドヘリンやビメンチンとの関連性を RT-PCR により調べたところ、E-カドヘリンの発現のある Epithelial-like な細胞株では候補遺伝子の発現が認められず、ビメンチンの発現のある Mesenchymal-like な細胞株では候補遺伝子の発現が認められた。ウェスタンブロット法の結果も同様であった。以上から、候補遺伝子が EMT と関連していることを遺伝子レベルと蛋白レベルの両方で証明した。

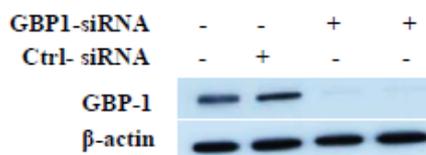
(2) 肺腺癌組織の凍結検体における GBP-1 の発現



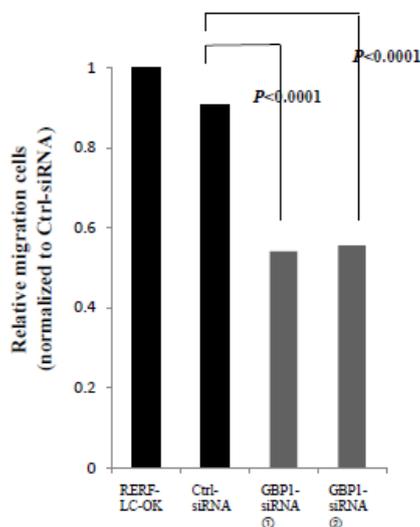
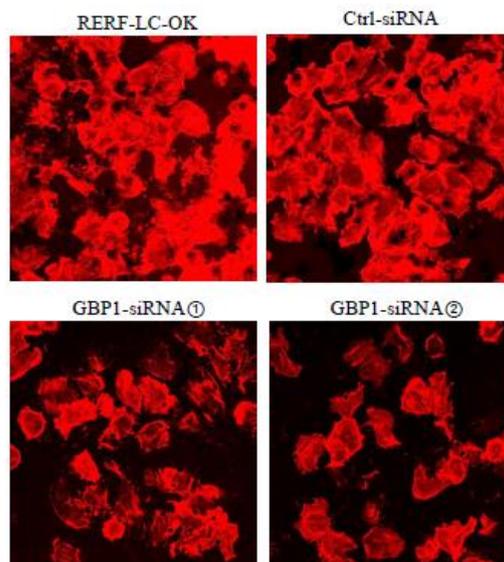
非浸潤癌よりも前の段階である正常肺と浸潤部を含む腫瘍全体の候補遺伝子の発現を RT-PCR 法で確認したところ、測定した 13 例全例で正常肺での遺伝子発現は認められず、13 例中 6 例の症例で高発現が認められた。本結果から正常肺との比較ではあるものの、候補遺伝子が肺腺癌の発生・進展に関与していることが推察された。

(3) 機能解析

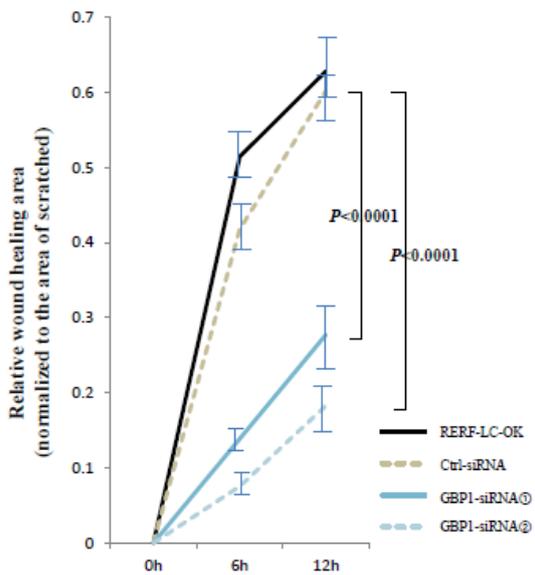
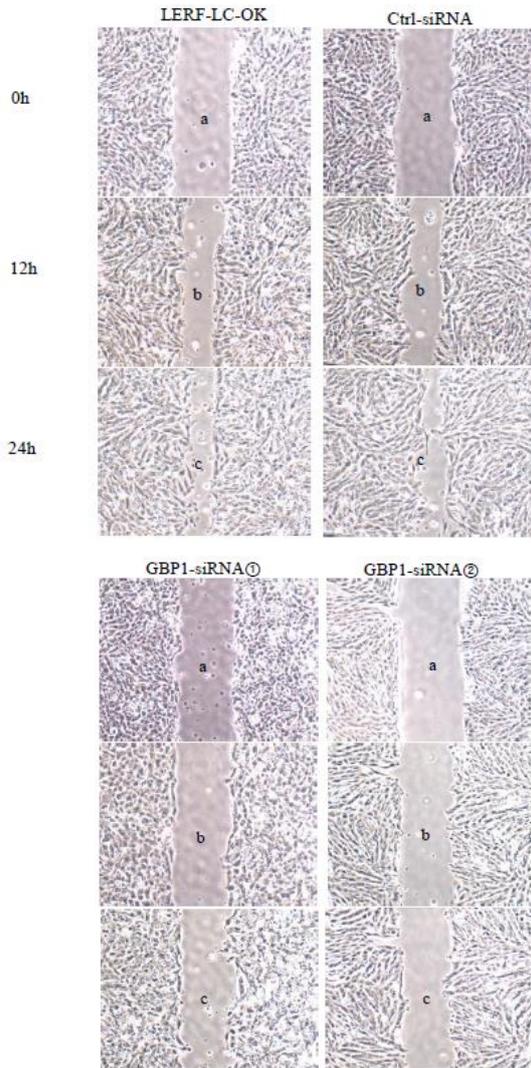
前述の Mesenchymal-like な性質をもつ



細胞株である RERF-LC-OK を用いて機能解析をするためにノックダウンを行った。ウェスタンブロット法によりノックダウンの確認を行った。



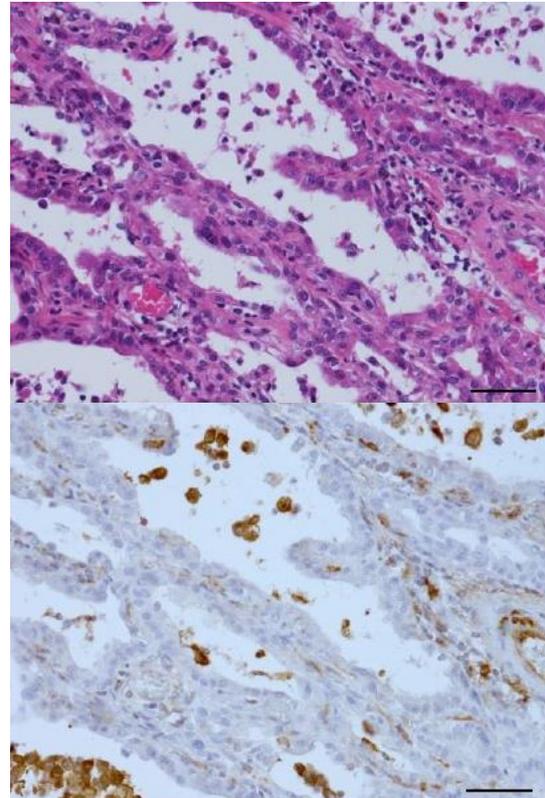
マイグレーションアッセイの結果、GBP-1をノックダウンした RERF-LC-OK 細胞では遊走能が低下することが判明した。



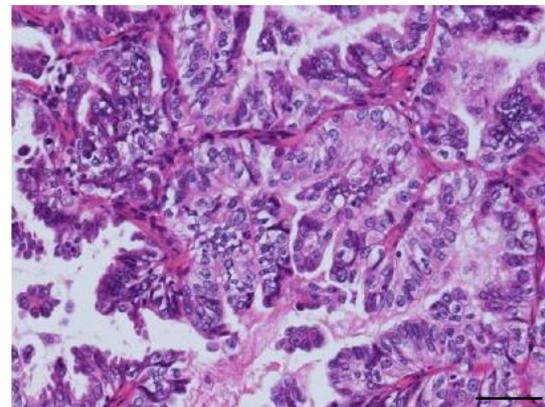
また、ウンドヒーリングアッセイの結果も同様に、GBP-1をノックダウンした RERF-LC-OK 細胞では遊走能が低下することが判明した。

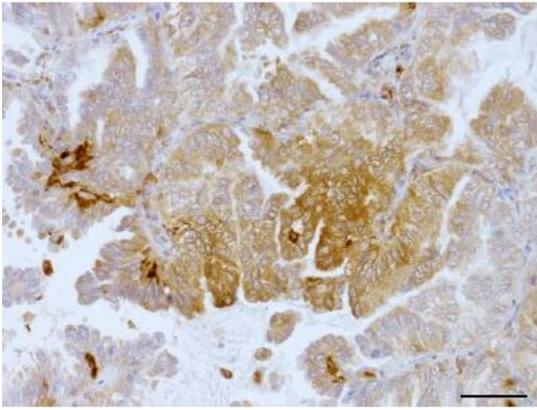
以上から、GBP-1が肺腺癌の運動能を促進する結果が得られた。

(4) 肺腺癌組織のパラフィン包埋切片における GBP-1 の発現

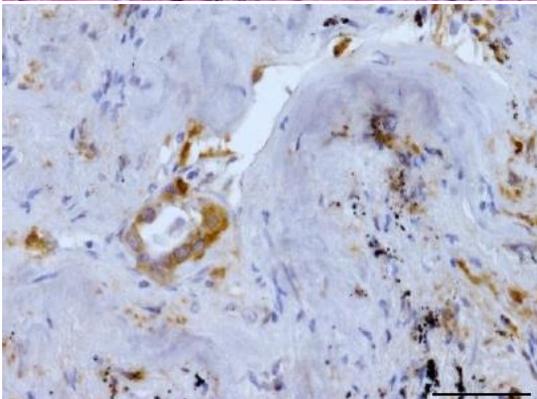
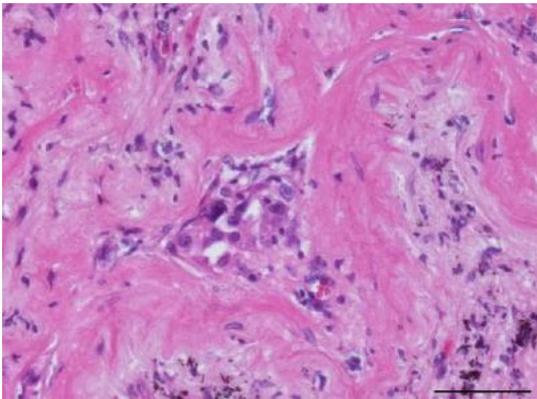


肺腺癌組織のパラフィン包埋切片を用いて免疫組織学的染色を行ったところ、非浸潤部では GBP-1 の発現は 80 例全例で認めなかった。





一方で、80 例中 10 例に浸潤部での GBP-1 高発現を認めた。



さらに特記すべきこととして、脈管侵襲と GBP-1 との関連性を認めた。

以上の結果から、GBP-1 は細胞運動能の促進を通じて小型肺腺癌の浸潤を誘導することが証明された。このことは肺腺癌のさらなる治療戦略の開発に貢献し得る。

## 5. 主な発表論文等

(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 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山北 伊知子 (YAMAKITA ICHIKO)

広島大学 大学病院 医科診療医

研究者番号：70634088