

機関番号：12501

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20590336

研究課題名 (和文) 特発性肺線維症に発生する肺癌を、炎症、前癌状態から究明する

研究課題名 (和文) Analysis for carcinogenesis of lung cancer in idiopathic pulmonary fibrosis by inflammation and precancerous change

研究代表者

太田 聡 (OTA SATOSHI)

東京大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：90324342

研究成果の概要 (和文)：特発性肺線維症は、原因不明の間質性肺炎であり、肺癌を高率に合併する難治疾患である。背景に特発性間質性肺炎を有する、または有さない扁平上皮癌で発現の違いを検討し、発現亢進分子として、癌遺伝子 MYCN や骨格系蛋白である MYH11、機能がまだ未解析の ARMC4 などが、発現が減弱している分子として細胞骨格系蛋白を分解する MTSS-1 が検出された。MTSS-1 の発現をティッシュ マイクロアレイにて解析し、その発現の有無で短期的予後に違いはなかった。

研究成果の概要 (英文)：Idiopathic pulmonary fibrosis is the interstitial pneumonia of unknown cause and refractory lesion, with a high risk for lung cancer. To study the difference of squamous cell carcinoma with or without idiopathic pulmonary fibrosis, the transcriptome expression level of each squamous cell carcinoma sample were compared. Famous oncogene MYCN, cytoskeleton protein MYH11, unknown function protein ARMC4 were upregulated. One of downregulated protein was MTSS-1 which supposed to be the role as disassembling the actin fibers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：肺がん

1. 研究開始当初の背景

特発性肺線維症 (IPF: idiopathic pulmonary fibrosis) は、原因不明の特発性間質性肺炎 (UIP: usual interstitial pneumonia) であり、緩慢な経過を示すが予後不良な疾患である。さらに患者の予後因子としてきわめて重要な点は、肺癌危険因子であることである。疫学的研究から特発性肺線維症の患者は肺癌をおおよそ 8-14 倍高率に発生する。また、特発性肺線維症の患者の約 10%の死因が肺癌であり、喫煙がさらに特発性肺線維症患者の肺癌危険率を上げる。一般に中枢に扁平上皮癌が多く、末梢には腺癌が多いとされるが、特発性肺線維症・通常型間質性肺炎を背景とし末梢に生じる癌は、通常と異なり扁平上皮癌が約半数を占める。また形態学的解析から特発性肺線維症患者の肺の蜂窩肺部分には多くの扁平上皮化生領域が観察され、時に多発癌を発症する。通常末梢には存在しない扁平上皮細胞は、肺線維症などの際に見られる化生変化により生ずると考えられる。この化生変化が扁平上皮増殖病変の母地になる。さらには扁平上皮増殖性病変の組織学的変化は当初異形成が新生物の初期段階とされてきたが、最近のデータでは扁平上皮化生部で、p16INK4a のメチル化が起こるとされ、扁平上皮化生もごく初期の前癌病変と考えられるようになってきた。しかし、局面的に解きほぐされつつある病変の進行もその詳細な分子メカニズムの全貌は明らかではない。

また慢性炎症性疾患である特発性肺線維症・通常型間質性肺炎では様々な細胞より数多くの線維化を誘導する数多くのサイトカインが分泌されている。その代表的で最も重要な因子として TGF- β 1 が挙げられる。これらのサイトカインは、特発性肺線維症・通常型間質性肺炎において細胞外マトリックスの産生と維持に関与している。また TGF- β や血清は正常気管支上皮培養細胞を扁平上皮に分化させると報告されており、炎症における気管支上皮の化生モデル、特に扁平上皮化生モデルになり得るのではないかとの着想を得た。このことから特発性肺線維症・通常型間質性肺炎を背景とする扁平上皮癌に着目し解析することとした。

2. 研究の目的

特発性肺線維症 (IPF: idiopathic pulmonary fibrosis) は、原因不明の特発性間質性肺炎 (UIP: usual interstitial pneumonia) であり、肺癌を高率に合併する難治疾患である。炎症を背景に発生する腫瘍は、病態解明のためのモデル構築が難しいとされている。現在、発癌過程の初期変化として化生変化が注目

を浴びている。我々の確立した培養細胞の扁平上皮化生変化モデルは末梢型扁平上皮癌の初期変化のモデルと捉えることができる。この系を基盤とし、東京大学医学部附属病院で採取された肺癌症例を DNA chip にて遺伝子発現解析し、さらには免疫組織化学染色を用いた蛋白発現の検討をする。以上から特発性肺線維症・通常型間質性肺炎に合併する肺癌の発癌機序を炎症、前癌状態から究明することを目的とする。

3. 研究の方法

1) in vivo 研究

東京大学医学部附属病院で切除された肺癌の外科手術材料の核酸抽出を施行し、DNA チップ、特にエクソンアレイにて解析した。2005 年以降に採取された検体を順次抽出し、組織学的に明らかな通常型間質性肺炎パターンを示す扁平上皮癌 10 例と、臨床的背景もあわせ通常型間質性肺炎パターンなどの組織学的に間質性肺炎パターンを有さない扁平上皮癌 8 例を比較対象としてクラスタリング解析を施行した。

エクソンアレイは以前のプローブでは検出することのできなかつた alternative splicing form, truncated form を検出することが可能であり、最近のトピックスである融合遺伝子の発現解析も可能である。

2) 肺癌組織ティッシュアレイ作成と免疫組織学的手法を用いた発現解析

肺癌組織ティッシュアレイによる発現評価は、1999 年から 2008 年にかけて東京大学医学部附属病院にて採取された、肺癌扁平上皮癌と、対象として肺腺癌、肺小細胞癌、その他の肺腫瘍の腫瘍部のティッシュアレイを作製した。1) の in vivo 研究のエクソンアレイにて抽出されたタンパクに関して、可能な範囲で免疫染色による解析を臨床情報と併せて検討する。

4. 研究成果

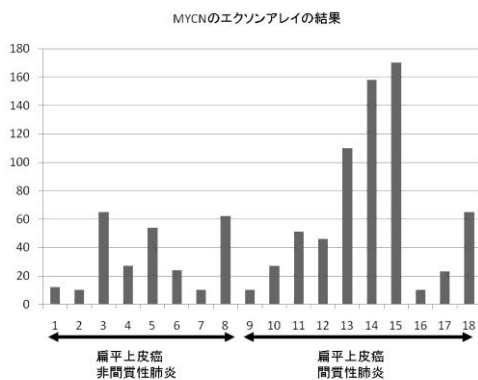
in vivo 研究

通常型間質性肺炎パターンを示す症例で発現の高い分子群として、炎症や、免疫に関与する分子が上位に上がる。またこのような炎症細胞浸潤が、初期的な扁平上皮化生を誘導すると、我々は報告して

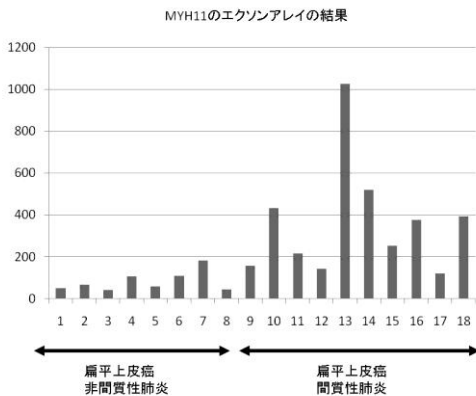
きたが、癌化と直接関与するデータはない。この通常型間質パターン領域においては通常炎症が強く、腫瘍由来より、周囲の炎症細胞浸潤由来と考えた。

Enrichment Score: 4.17				Count	P-Value	Benjamini
defense_response	RT	■	21	2.1E-9	1.1E-5	
inflammatory_response	RT	■	12	7.3E-6	1.9E-2	
response_to_wounding	RT	■	13	4.1E-5	7.0E-2	
response_to_external_stimulus	RT	■	13	1.6E-3	7.0E-1	
response_to_stress	RT	■	16	7.2E-3	9.6E-1	
locomotory_behavior	RT	■	6	1.2E-2	9.8E-1	
Enrichment Score: 3.11				Count	P-Value	Benjamini
immune_response	RT	■	15	2.2E-4	2.1E-1	
immune_system_process	RT	■	19	9.7E-4	5.7E-1	
response_to_stimulus	RT	■	35	2.1E-3	7.5E-1	
Enrichment Score: 2.12				Count	P-Value	Benjamini
signal_transduction	RT	■	40	3.1E-3	8.3E-1	
cell_communication	RT	■	41	9.1E-3	9.7E-1	
cell_surface_receptor_linked_signal_transduction	RT	■	22	1.6E-2	9.9E-1	

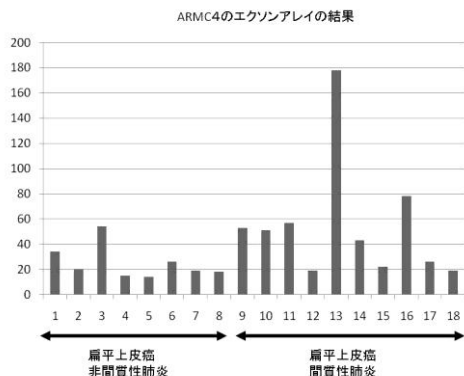
データの解析では、
1) MYCN 癌遺伝子



他に2) ダイニンやミオシン関連などのモーター蛋白関連分子や



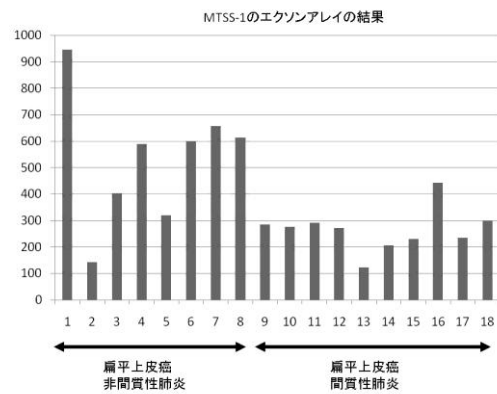
3) ARMC4 など分子機能はまだ未解明で



はあるが、気管支上皮に高発現し繊毛形成に重要と考えられる分子群などが上位に上がっている。

通常間質性肺炎を背景とする場合、気管支上皮化生や扁平上皮化生を起こし、これらの化生上皮由来の腫瘍が発生すると考えられている。骨格系蛋白質はその機能では、浸潤転移などに関与している可能性も考慮され、悪性度の指標になる可能性がある。ただし、腫瘍細胞の増殖にどのように関わっているか、また初期的な癌化そのものの原因であるかは疑問である。

UIP pattern を背景に有する肺扁平上皮癌で発現が低下している分子として metastasis suppressor 1 (MTSS1) などが検出された。



この分子は当初膀胱尿路上皮癌のうち、非転移性腫瘍由来の細胞株で発現しているが、転移性膀胱尿路上皮癌では発現が低下している分子として報告されている。同様に、前立腺癌や乳癌でも同様の報告がある。この分子はアクチンなどの細胞骨格を分解する機能を有し、腫瘍細胞を動的に調整する分子と考えられる。転移は、患者の予後や腫瘍の悪性度の指標として重要な因子である。免疫染色にて組織マイクロアレイを染色試行し、解析した。組織マイクロアレイを解析した症例はその免疫染色の発現に関してはほぼ同様であった。短期間の予後を含めた解析では、MTSS1 発現の有無で明らかな違いは見られなかった。過去の症例にさかのぼり、長期予後について今後この分子に注目し、解析する予定である。

また間質性肺炎の扁平上皮癌の癌化メカニズムには、扁平上皮化生が初期的な現象として重要であることを我々は報告している。分子レベルでの通常型腺

癌と扁平上皮癌で癌胎児抗原である GPC3 の発現が異なり、高頻度に扁平上皮癌に発現する。GPC3 の発現と同様の挙動を示す分子として細胞接着デスモソームを構成する重要なタンパクである、Desmoglein3(DSG3) や Plakophilin1 (PKP1)、細胞骨格タンパクである Cytokeratin 5, Cytokeratin 13, Cytokeratin 15 が見いだされた。これらの蛋白は、細胞接着や骨格系蛋白であり、前述の様に、腫瘍化との直接的な関係は難しいと考えられる。

機能的な分子は今回の検討でははっきりと挙がるものは少なかったが、MYCN や MTSS-1 は長期予後を含め検討していく予定である。

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 7 件)

- 1) Li CP, Goto A, Watanabe A, Murata K, Ota S, Niki T, Aburatani H, Fukayama M. AKR1B10 in usual interstitial pneumonia: expression in squamous metaplasia in association with smoking and lung cancer. Pathol. Res. Pract. 2008;204(5):295-304. 査読有

6. 研究組織

(1) 研究代表者

太田 聡 (SATOSHI OTA)
東京大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：90324342

(2) 研究分担者

深山 正久 (FUKAYAMA MASASHI)
東京大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：70281293

石川 俊平 (ISHIKAWA SHUNPEI)
東京大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：50418638

(3) 連携研究者

なし