

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10803

研究課題名(和文) 肺癌術後再発biomarkerの探索とその臨床応用

研究課題名(英文) Searching for molecular markers of postoperative recurrence after surgery for lung cancer and its clinical application

研究代表者

浦本 秀隆 (URAMOTO, Hidetaka)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：90389445

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肺癌術後再発のbiomarkerを探索し、その臨床応用を目的とする。我々は以前、肺癌の高転移株の樹立と臨床検体を利用し、18分子を再発マーカーの候補として選択した。例えばTSHZ2染色陽性率が低下している症例は再発率が高い。In vitroにおいてTSHZ2の過剰発現により、肺癌細胞株の増殖能は低下した。実は微小環境においてPRDX4低発現とMIB-1の高標識率の組み合わせはStage I 肺腺癌の無病生存率の予測因子であった。さらにPRDX4発現が低下しているStage Iの肺腺癌症例は無再発生存率が低いことを見出していたが、PRDX4発現陽性はEGFR遺伝子変異がある症例に多い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

完全切除はすなわち、完治、つまり再発がない根治ということを意味する。しかし、実際には種々の固形腫瘍で一定の割合で再発する。しかも肺癌の術後再発率は決して低くはない。しかし、病理組織学的評価、腫瘍マーカーなどの臨床的パラメーターはそれなりの再発の予測になるが、それらをもってしても全貌を説明可能ではない。また現在、肺癌では再発率を少しでも減らすために、術後補助化学療法が施行されているが、その真の恩恵を得るのは約5%にすぎない。つまり、再発するであろう、かつ、その薬剤の効果を期待できる母集団に限定される。本研究はその再発するであろう集団の特定につながると思われる。

研究成果の概要(英文)：Surgery has reduced relapse, new tumors and deaths in patients with lung adenocarcinoma, but survival rate was still lower due to its characteristics of early metastasis and recurrence. We performed a microarray expression analysis using a combination of tumor tissues and cell lines based on recurrence or no-recurrence cases. We demonstrated the tumor-suppressive function of TSHZ2 in lung adenocarcinoma. TSHZ2 was found to be highly expressed in most lung adenocarcinoma cell lines and tumor tissues of lung adenocarcinoma patients. The overexpressed plasmids of TSHZ2 led to the dramatic inhibition of cell proliferation, colony formation ability, migration and apoptosis induction in lung adenocarcinoma cells. Notably, the high TSHZ2 expression patients with lung adenocarcinoma was inclined to have less EGFR mutations, but had preferable prognosis. Increased TSHZ2 could restrain EGFR and p-Erk1/2 expression, simultaneously activate p-SAPK/Jnk and p-P38 expression in vitro.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：肺癌 術後再発 TSHZ2 PRDX4 biomarker

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肺癌の死亡数は1960年以降年代とともに増加し、1998年には悪性腫瘍の中で第1位となった。現在行われている肺癌の治療としては外科治療、薬物療法、放射線治療などがある。薬物療法は従来の抗がん剤に加え、分子標的治療薬また免疫チェックポイント抗体が臨床応用され、その生存に対する効果やQOLも向上している。また放射線治療に関しても新たな治療機器の開発や重粒子線治療などその進歩は目覚ましい。一方、根治という観点からいえば、未だに外科療法、すなわち手術は治療のmainstayである。しかし、最大の問題は、肉眼的、組織学的に完全切除し得て、根治と判断した場合においても、術後再発することが少なくないという事象である。以前、我々が肺癌の生物学的悪性度の評価をして研究をしてきたが、完全切除後の予後不良因子は再発因子と必ずしも一致するわけではない。例えば、stage IA の同じような臨床背景の肺癌において同じ執刀医が同様の手術をした場合でも再発の有無が全く異なることがある。このような古くて新しい疑問を解くために研究を推進した(2012年度:日本呼吸器外科学会学会賞受賞)。具体的にはdysadherin、MACC1、IGF1R、TS、Ki67、PCNA やEMT (Epithelial-Mesenchymal Transition)関連分子やリンパ節のcyokeratin の分子異常と再発との関係を示した(Ono K, Uramoto H, et al. Anticancer Res. 2010;30:3273-8, Oka S, Uramoto H, et al. Anticancer Res. 2011;31:4277-82, Chikaishi Y, Uramoto H, et al. Anticancer Res. 2011;31:4451-6. Nakagawa M, Uramoto H, et al. Exp Ther Med. 2011 Jul;2:585-590, Chundong G, Uramoto H, et al. Anticancer Res. 2011;31:1141-5, Shimokawa H, Uramoto H, et al. J Thorac Cardiovasc Surg. 2011;141:895-8. Shimokawa H, Uramoto H, et al. Lung Cancer. 2011;72:360-4, Nakagawa M, Uramoto H, et al. Clin Lung Cancer. 2012;13:136-42. 2012年度:日本肺癌学会篠井・河合賞受賞)。しかし、これらの解析では統計学的な有意な差は見出したが、臨床的に有用とは言えなかった。したがって、既存の分子群の解析では限界があると感じ、新たに細胞株と臨床検体の双方を用い、さらにTissue microarray analysis (TMA)を用いた新規マーカーの発掘に取り組んだ。

### 2. 研究の目的

肺癌は極めて早期の小型肺癌を除いて完全切除し得てもなお、一定の割合で再発する。したがって本研究は臨床検体を用いて分子生物学的手法を駆使し、術後再発のbiomarkerを探索し、その臨床応用を目的とする。

### 3. 研究の方法

我々は以前、肺癌の高転移株の樹立に成功した。この細胞株の分子間の異常の差により93の分子を候補として検出した。また進行癌にもかかわらず、再発なき症例の検体と早期肺癌にもかかわらず、再発した症例を比較し、1947の遺伝子群をとらえた。さらにその双方の重なり解析から18分子が再発マーカーの候補として浮上した(Chikaishi Y, et al. Anticancer Res. 2016)。それらの分子を検証する。

#### 4 . 研究成果

まず、再発マーカーの候補の中からTSHZ2という分子に着目した。肺腺癌症117例についてTSHZ2免疫染色を行うと非癌部より癌部、非浸潤部より浸潤部でTSHZ2の染色性が低下する傾向にあった。またTSHZ2染色陽性率が低下している症例は再発率が高いという結果であり、我々の予想と逆であった。In vitroにおいてTSHZ2の過剰発現により、肺がん細胞株の増殖能、colony formation ability、migration、apoptosis inductionは低下した(投稿中)、さらにEGFR遺伝子変異がある症例ではTSHZ2染色陽性率が高い。実は微小環境における酸化ストレスに対する防御的役割を担うPRDX4低発現とMIB-1の高標識率の組み合わせはStage I 肺腺癌の無病生存率の予測因子であった(Shioya A, et al. Int J Med Sci. 2019)。さらにPRDX4発現が低下しているStage の肺腺癌症例は無再発生存率が低いことを見出していたが、PRDX4発現陽性はEGFR遺伝子変異がある症例に多い (Mizutani K, et al. Int J Med Sci. 2019)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Uramoto H	4. 巻 1
2. 論文標題 What is the best drug as a front-line treatment for EGFR activating mutation?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Precision Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/pcm.2018.09.07	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 該当する
1. 著者名 Guo X, Noguchi H, Ishii N, Homma T, Hamada T, Hiraki T, Zhang J, Matsuo K, Yokoyama S, Ishibashi H, Fukushige T, Kanekura T, Fujii J, Uramoto H, Tanimoto A, Yamada S.	4. 巻 30
2. 論文標題 The Association of Peroxiredoxin 4 with the Initiation and Progression of Hepatocellular Carcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Antioxid Redox Signal.	6. 最初と最後の頁 1271-1284.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/ars.2017.7426	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 該当する
1. 著者名 Wang KY, Yamada S, Izumi H, Tsukamoto M, Nakashima T, Tasaki T, Guo X, Uramoto H, Sasaguri Y, Kohno K.	4. 巻 13
2. 論文標題 Critical in vivo roles of WNT10A in wound healing by regulating collagen expression/synthesis in WNT10A-deficient mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0195156.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0195156	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 該当する
1. 著者名 Kumagai M, Guo X, Wang KY, Izumi H, Tsukamoto M, Nakashima T, Tasaki T, Kurose N, Uramoto H, Sasaguri Y, Kohno K, Yamada S.	4. 巻 16
2. 論文標題 Depletion of WNT10A Prevents Tumor Growth by Suppressing Microvessels and Collagen Expression.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 416-423
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7150/ijms.26997.	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 該当する

1. 著者名 Yamamoto Gou, Kikuchi Mari, Kobayashi Shiho, Arai Yoshiko, Fujiyoshi Kenji, Wakatsuki Tomokazu, Kakuta Miho, Yamane Yuki, Iijima Yoshihito, Mizutani Hideaki, Nakajima Yuki, Sudo Junko, Kinoshita Hiroyasu, Kurimoto Futoshi, Akiyama Hirohiko, Uramoto Hidetaka, Sakai Hiroshi, Akagi Yoshito, Akagi Kiwamu	4. 巻 50
2. 論文標題 Routine genetic testing of lung cancer specimens derived from surgery, bronchoscopy and fluid aspiration by next generation sequencing	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Oncol.	6. 最初と最後の頁 1579 ~ 1589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2017.3935	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchiya Naoko, Doai Mariko, Usuda Katsuo, Uramoto Hidetaka, Tonami Hisao	4. 巻 12
2. 論文標題 Non-small cell lung cancer: Whole-lesion histogram analysis of the apparent diffusion coefficient for assessment of tumor grade, lymphovascular invasion and pleural invasion	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 0172433 ~ 017243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0172433	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi Hajime, Sakakibara-Konishi Jun, Furuta Megumi, Yokouchi Hiroshi, Nishihara Hiroshi, Yamazaki Shigeo, Uramoto Hidetaka, et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Expression of Notch1 and Numb in small cell lung cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget.	6. 最初と最後の頁 10348-10358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.14411	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yokouchi Hiroshi, Nishihara Hiroshi, Harada Toshiyuki, Ishida Takashi, Yamazaki Shigeo, Kikuchi Hajime, Oizumi Satoshi, Uramoto Hidetaka, et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Immunohistochemical profiling of receptor tyrosine kinases, MED12, and TGF- $\beta$ RII of surgically resected small cell lung cancer, and the potential of c-kit as a prognostic marker	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget.	6. 最初と最後の頁 39711-39726
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.14410	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Gemmill Robert M., Nasarre Patrick, Nair-Menon Joyce, Cappuzzo Federico, Landi Lorenza, D'Incecco Armida, Uramoto Hidetaka, Yoshida Takeshi, Haura Eric B., Armeson Kent, Drabkin Harry A.	4. 巻 10
2. 論文標題 The neuropilin 2 isoform NRP2b uniquely supports TGF $\beta$ -mediated progression in lung cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Signal	6. 最初と最後の頁 0528 ~ 0528
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.aag0528	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Mizutani K, Guo X, Shioya A, Zhang J, Zheng J, Kurose N, Ishibashi H, Motono N, Uramoto H, Yamada S.	4. 巻 16
2. 論文標題 The impact of PRDX4 and the EGFR mutation status on cellular proliferation in lung adenocarcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Med Sci.	6. 最初と最後の頁 1199-1206.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijms.36071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Usuda K, Iwai S, Funasaki A, Sekimura A, Motono N, Matoba M, Doai M, Yamada S, Ueda Y, Uramoto H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Diffusion-Weighted Imaging Can Differentiate between Malignant and Benign Pleural Diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers (Basel).	6. 最初と最後の頁 E811
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11060811.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Motono N, Iwai S, Funasaki A, Sekimura A, Usuda K, Uramoto H.	4. 巻 43
2. 論文標題 What is the allowed volume threshold for chest tube removal after lobectomy: A randomized controlled trial.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Med Surg (Lond).	6. 最初と最後の頁 29-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amsu.2019.05.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekimura A, Funasaki A, Iwai S, Motono N, Usuda K, Uramoto H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Thoracoscopic small pulmonary nodule detection using computed tomography-guided cutaneous marking and pleural marking.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Thorac Dis	6. 最初と最後の頁 2745-2753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jtd.2019.06.68	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Uramoto H.
2. 発表標題 Salvage Thoracic Surgery for Primary Lung Cancer : Comparison with Induction therapy followed by surgery
3. 学会等名 第4回大連肺癌学会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 本野望, 岩井俊, 船崎愛可, 関村敦, 薄田勝男, 浦本秀隆
2. 発表標題 A prospective randomized control trial of volume threshold for chest tube removal after pulmonary resection
3. 学会等名 第71回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 本野望, 岩井俊, 船崎愛可, 関村敦, 薄田勝男, 浦本秀隆
2. 発表標題 肺腺癌の予後因子に関する検討; 亜型分類, SUVmax, EGFR遺伝子変異は独立した予後因子である
3. 学会等名 第59回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 薄田勝男、本野望、松井琢真、町田雄一郎、浦本秀隆
2. 発表標題 Diagnostic Performance of Whole-Body Diffusion-Weighted Imaging Compared to PET-CT Plus Brain MRI in Staging Clinically Resectable Lung Cancer
3. 学会等名 European Cancer Congress (ECCO)2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 浦本秀隆.
2. 発表標題 肺癌の集学的治療における呼吸器外科医の立ち位置と挑戦的手術
3. 学会等名 第5回臨床外科学会石川県支部学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 浦本秀隆.
2. 発表標題 肺癌領域においてこの10年で進歩はあったのか?: 胸部外科医の視点
3. 学会等名 関西胸部外科学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 本野望、船崎愛可、前田亮、関村敦、浦本秀隆
2. 発表標題 Sphingosine kinase1(SPHK1)promoters proliferation and survival in non-small cell lung cancer.
3. 学会等名 IASLC 18TH World conference on lung cancer (国際学会)
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 浦本秀隆
2. 発表標題 How we identify ideas for research in Personal replacement?: Searching for molecular markers of postoperative recurrence.
3. 学会等名 第72回日本胸部外科学会定期学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Yoshida, C. Nakashima, N. Matsumoto, K. Iwanaga, N. Ebi, A. Nishiyama, K. Yatera, S. Kuyama, M. Fukuda, S. Ushijima, H. Umeguchi, D. Harada, K. Kashiwabara, T. Suetsugu, N. Fujimoto, F. Tanaka, H. Uramoto, C. Yoshii, K. Nakatomi, N. Sueoka-Aragane
2. 発表標題 Prospective study for usefulness of plasma DNA on prediction of third generation EGFR tyrosine kinase inhibitors; The intermediate analysis of S-PLAT study.
3. 学会等名 ESMO（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuyuki Suzuki, Satoshi Shiono, Tohru Hasumi, Akira Sakurada, Muneo Minowa, Satomi Takahashi, Nobuyuki Sato, Hidetaka Uramoto, Hiroyuki Oizumi, Hajime Saito, Masayuki Chida, Yoshinori Okada.
2. 発表標題 Clinical significance of synchronous brain tumors in T1-2N0-1 non-small-cell lung cancers
3. 学会等名 ESTS（国際学会）
4. 発表年 2019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	薄田 勝男  (USUDA Katsuo)  (00324046)	金沢医科大学・医学部・教授    (33303)	

## 6. 研究組織（つづき）

	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	本野 望 (MOTONO Nozomu)  (30634901)	金沢医科大学・医学部・講師  (33303)	
研究分担者	上田 善道 (UEDA Yoshimichi)  (50271375)	金沢医科大学・医学部・教授  (33303)	
研究分担者	町田 雄一郎 (MACHIDA Yuichiro)  (50460366)	金沢医科大学・医学部・助教  (33303)	