

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：81303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10805

研究課題名(和文) ニッチに発現するPeriostinを標的とした肺癌幹細胞に対する治療法の確立

研究課題名(英文) A new targeting therapy against periostin in lung cancer

研究代表者

中川 隆行 (Nakagawa, Takayuki)

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター(研究所)・がん幹細胞研究部・特任研究員

研究者番号：10626261

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：肺癌における癌幹細胞の研究をするにあたって、次の2点に着目した。1. ニッチに発現するperiostinが肺癌に与える影響 2. 下咽頭癌幹細胞マーカーCD271が、肺扁平上皮癌に与える影響。研究の結果、periostin/CD271いずれも肺癌細胞に対して増殖能を亢進させ、癌の悪性度を増加させることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
本研究成果によって、肺癌の新たな治療標的が明らかになった。今後さらに検討を続けることで、肺癌幹細胞特異的な治療薬の開発につなげていく。

研究成果の概要(英文)：To clarify the role of cancer stem cell in lung cancer, we focus on the following points: 1. The role of periostin, localizes to stroma, in lung cancer 2. The role of CD271, which we reported as a cancer stem cell-marker, in lung cancer. In conclusion, both periostin and CD271 promote the proliferation in lung cancer.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：肺癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本邦において、肺癌は最も死亡数の多い癌である。2014年の厚生労働省の人口動態調査死亡統計によると、男性は52,505人、女性は20,891人が肺癌で命を失っている。2015年予測死亡数は男性55,300人、女性21,900人とされ、肺癌発症の原因の1つとされる喫煙率が減少傾向にあるにもかかわらず現在でも肺癌は増加傾向にある。全体の5年生存率は44%とされているが、IA期が79%と良好であるのに対し、IIA期が47%、IIIA期が29%、IV期が6%と進行に伴い大きな差が生まれる。早期発見できれば良好な治療成績が期待できる反面、大部分は進行した状態で発見されその治療成績は芳しくないというのが現状である。従って、肺癌患者の予後を飛躍的に延長させるためには、転移、再発や抗がん剤耐性といった癌の悪性化形質に対する治療戦略を練る必要がある。

癌組織は多様な性質を持った不均一な細胞集団から構成されている。起源の癌組織を再構築できなくわずかな細胞群の存在が示唆され、癌幹細胞(Cancer Stem Cell, CSC)と呼ばれている。

CSCは、微小環境(ニッチ)からの刺激を受けるまでは細胞周期の静止期に存在するため、増殖期にある細胞を標的とする抗癌剤や放射線に耐性を示すと考えられている。また、CSCが1個でもあれば癌組織を再構成できることから、腫瘍の再発や転移の発生源と考えられており、癌幹細胞を消失させることなく癌組織を撲滅すること不可能である。

癌細胞は酸素が充分にある状態でも、酸化的リン酸化ではなく解糖系によってエネルギーを得ることがWarburg効果として古くから知られている。しかし、最近CSCは、通常の癌細胞とは異なり、解糖系ではなく酸化的リン酸化によってエネルギーを得ている可能性が示唆され始めた。一方、癌細胞と癌細胞周囲の微小環境が相互的に作用して癌の進展を促進することが癌間質相互作用として認識されている。つい最近膀胱癌組織において、癌細胞からのシグナルによって誘導されるオートファジーにより間質細胞が非必須アミノ酸であるアラニンを放出し、膀胱癌細胞がそのアラニンを酸化的リン酸化のエネルギー源として利用することで、細胞増殖を亢進させることが示された(Nature 2016)。つまり、間質細胞によって分泌される代謝物がエネルギー代謝系を変化させ癌進展に関与している。非CSCがCSCの特性を得るようになることも考えられる。しかし、肺癌においても同様なことが言えるかは不明である。

Periostin (POSTN)はosteoblastic factorとして同定され、骨、歯牙、血管形成に重要な役割を果たす分泌蛋白であり、POSTNが乳癌原発巣周囲と肺転移巣の筋線維芽細胞に強く発現し、POSTN KOマウスとMMTV-PyMT自然肺転移乳癌マウスを交配させたマウスでは肺転移が著しく減少することが示された(Nature 2011)。さらに、POSTN KOマウスとの交配で生じた原発部位よりCD90で分離した癌幹細胞分画はsphere形成能が消失していることが示され、その後、肝臓の微小環境におけるPOSTN発現が膀胱癌の肝転移に必須であることも明らかとなっている(Nat Cell Biol 2016)から、POSTNは癌間質で発現し癌幹細胞の性質を維持する分子であることが強く示唆されている。しかし、肺癌におけるPOSTNの役割は不明である。

私たちはこれまで癌幹細胞の研究を続けており、CD271分子が下咽頭癌における癌幹細胞マーカーであることを報告してきた。研究の進展の結果、CD271は扁平上皮癌に高発現する分子であることがわかり、肺扁平上皮癌においてもなんらかの役割があることが示唆された。

### 2. 研究の目的

本課題では、POSTNの肺癌における役割を検討する。また、肺癌における他の癌幹細胞マーカーを検討する。

### 3. 研究の方法

POSTNの研究:

POSTN ノックアウトマウス(POSTN<sup>-/-</sup>)は、東工大 工藤明教授から分与された。

臨床検体は宮城県立がんセンターで 2009-2011 年の間に手術を実施した 189 例を対象とした。

#### CD271 の研究

肺癌細胞株は当院の手術検体から新たに樹立した。

臨床検体は宮城県立がんセンターで 2004-2013 年の間に手術を実施した 110 例を対象とした。

#### 4. 研究成果

ペリオスチンの発現と臨床情報との関係を解析するために、まず肺癌 189 例の手術検体を用いて、POSTN の免疫染色を行った。染色強度を基準として、POSTN 低発現症例(106 例)と高発現症例(83 例)に分類した。患者予後を比較したところ、ペリオスチン低発現症例は有意に予後が良好であることがわかった。多変量解析の結果、POSTN は胸膜浸潤とリンパ節転移とに有意に相関関係があることがわかった。POSTN の肺癌に対する影響を検討するために、POSTN<sup>-/-</sup>にマウス肺腫瘍 Ex3LL 細胞を移植し、腫瘍形成を検討した。マウス大腿の筋組織に Ex3LL 細胞を注入し、原発巣を形成させた。移植後 4 週後には肺に転移巣を形成していることがわかった。腫瘍体積を計測したところ、原発巣・転移巣いずれも POSTN<sup>-/-</sup>マウスでは POSTN<sup>+/+</sup>マウスと比べて腫瘍体積が小さいことが判明した。POSTN によって肺癌細胞の増殖能が増加していると考えられたので、次に Ex3LL 細胞を POSTN 存在下で培養し、増殖能を検討した。その結果、recombinant POSTN を添加すると Ex3LL 細胞の増殖は有意に亢進することが判明した。また、POSTN<sup>-/-</sup>マウスと POSTN<sup>+/+</sup>マウスそれぞれから cancer-associated fibroblasts (CAF) を樹立し、Ex3LL 細胞と共培養したところ、POSTN<sup>+/+</sup>CAF と共培養すると有意に Ex3LL 細胞の増殖能が増大することがわかった。細胞内シグナルを検討すると、POSTN 刺激によって pERK が増加することが分かった。以上のことから、POSTN は肺癌細胞に対して増殖を亢進させ、悪性度を増加させると考えられた。

肺癌における癌幹細胞を検討するにあたって、私たちが以前から研究を続けている CD271 分子に着目した。肺癌における CD271 の分布を免疫染色で検討したところ、肺扁平上皮癌において高発現していることが分かった。興味深いことに、肺腺癌においてはほぼ全ての症例で CD271 発現を認めなかった。肺癌における CD271 の機能を検討したところ、CD271 をノックダウンすると肺癌細胞の増殖能は著しく抑制されることが判明した。細胞内シグナルを検討すると、CD271 ノックダウンによって pERK が減少することが分かった。以上のことから、CD271 は肺癌細胞に対して増殖を亢進させる機能があることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mochizuki Mai, Nakamura Mao, Sibuya Rie, Okazaki Toshimasa, Abe Jiro, Nakagawa Takayuki, Takahashi Satomi, Yamazaki Tomoko, Imai Takayuki, Takano Atsushi, Ito Hiroyuki, Yokose Tomoyuki, Miyagi Yohei, Daigo Yataro, Sato Ikuro, Satoh Kennichi, Sugamura Kazuo, Yamaguchi Kazunori, Tamai Keiichi	4. 巻 99
2. 論文標題 CD271 is a negative prognostic factor and essential for cell proliferation in lung squamous cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 1349 ~ 1362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-019-0246-5	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 -

1. 著者名 Okazaki Toshimasa, Tamai Keiichi, Shibuya Rie, Nakamura Mao, Mochizuki Mai, Yamaguchi Kazunori, Abe Jiro, Takahashi Satomi, Sato Ikuro, Kudo Akira, Okada Yoshinori, Satoh Kennichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Periostin is a negative prognostic factor and promotes cancer cell proliferation in non-small cell lung cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 31187 ~ 31199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.25435	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中川 隆行
2. 発表標題 嚢胞性病変を伴ったリンパ濾胞性胸腺過形成の一例
3. 学会等名 日本臨床外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川 隆行, 下田 清美, 平松 美也子, 吉田 勤, 荒井 他嘉司, 白石 裕治
2. 発表標題 肺Mycobacterium abscessus症に対する肺切除23例の検討
3. 学会等名 日本呼吸器外科学会
4. 発表年 2018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	佐藤 賢一  (Sato Kennichi)  (10282055)	地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター (研究所)・がん幹細胞研究部・部長  (81303)	
研究 分担者	玉井 恵一  (Tamai Keiichi)  (40509262)	地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター (研究所)・がん幹細胞研究部・部長  (81303)	