

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：33303  
 研究種目：基盤研究(C) (一般)  
 研究期間：2018～2020  
 課題番号：18K07002  
 研究課題名(和文)肺扁平上皮癌・小細胞癌の革新的進展制御法の確立：細胞膜スフィンゴ脂質からの攻略  
  
 研究課題名(英文)Is sphingolipid of the cell membrane involved in invasion and metastasis of non-adenocarcinoma of the lung?  
  
 研究代表者  
 上田 善道 (UEDA, Yoshimichi)  
  
 金沢医科大学・医学部・教授  
  
 研究者番号：50271375  
 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)：細胞膜活性脂質sphingolipidの新規機能に着目した肺扁平上皮癌SCCに対する新規制御法確立を目標に、以下の研究成果を得た：SCCにおける sphingosine kinase (SK) 1の発現亢進、浸潤先進部での発現とEMT、浸潤関連分子発現との関連を認めた；末梢型 SCCにおける肺胸腔内進展部でのSK1、EMT、浸潤関連分子の発現低下を見いだした；SK1の発現と増殖活性や生命予後との有意な相関は認めなかった；S1P receptor 1～5の発現も生命予後との相関は認めなかった。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、肺腺癌と比べ分子標的治療の開発が停滞している肺扁平上皮癌・小細胞癌に対する浸潤・転移の新たな制御法の確立に向けた、細胞膜の主要構成分子である細胞膜活性脂質 sphingolipidの新規機能に着目した基礎的研究である。がん死の首座を占める肺癌の進展制御のための基礎データの集積が本研究の社会的意義である。

研究成果の概要(英文)：To establish a novel therapeutic strategy against invasion and metastasis of squamous cell carcinoma (SCC) of the lung, we investigated expression of sphingosine kinase (SK) 1 and its receptors (S1PR 1-5), which had been reported to show novel functions relating to the progression of cancer, and found the followings: 1. Overexpression of SK1 was demonstrated in squamous cell carcinoma tissue by western; 2. IHC study localized the expression of SK1 in the invasion front of SCC, showing association with the expression of molecules related to epithelial mesenchymal transition (EMT) and to invasion and metastasis; 3. Spreading through air space region showed reduction of SK1 as well as EMT- and invasion-related molecules; 4. The expression of SK1 as well as its receptors showed no correlation with prognosis of patients with SCC.

研究分野：人体病理

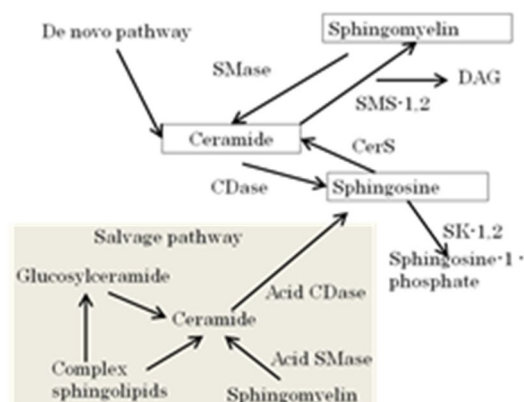
キーワード：肺扁平上皮癌 細胞膜スフィンゴ脂質 上皮間葉移行 sphingosin kinase 1 肺胸腔内進展 浸潤・転移

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Sphingolipid は細胞膜を構成する脂質の一種である。その代謝経路を図に示す。De novo pathway により ceramide が形成され、そこから sphingomyelin と sphingosine が産生される。Salvage pathway も存在し細胞は脂質成分を恒常的に、かつ、活発に合成している。従来、sphingolipid は細胞膜二重脂質層の単なる構成成分とみなされていたが、ceramide/sphingosine 系が pro-apoptotic と anti-apoptotic な機能分子として働くことが示された。



さらに最近、増殖因子刺激による Hela 細胞の浸潤能亢進における sphingosine のリン酸化とその細胞膜受容体 S1PR を介する ERM の活性化による細胞骨格の再構成や sphingosine のリン酸化が S1PR3 を介して ligand 非依存性に notch シグナルを活性化し cancer stem cell (CSC) を expansion させることが報告された。これらの情報から、「Sphingolipid が、機能分子群の細胞膜での再分配、セカンドシグナルの活性化・集積、細胞骨格の再構成などを介して、肺扁平上皮癌や小細胞癌の浸潤・転移に関わっているのではないか？」という仮説に至り、その検証が重要な研究課題となった。

### 2. 研究の目的

肺癌は本邦におけるがん死の首座を占める最重要疾患である。肺腺癌ではドライバー遺伝子変異による活性化チロシンキナーゼに対する分子標的治療が導入され、生命予後の格段の延長が得られている。一方、扁平上皮癌ならびに小細胞癌など非肺腺癌に対する分子標的治療の開発は停滞しており、浸潤・転移に関わる分子機構の解明とそれに基づいた新規治療法の開発は現代医療の重要課題の一つである。がんの生物学的事象の多くは細胞膜で生じている。今回、細胞膜活性脂質 sphingolipid の新規機能に着目した浸潤・転移制御法の確立を目標に、ヒト肺扁平上皮癌と小細胞癌組織における sphingosine kinase 1 の発現と腫瘍進展における意義を明らかにする。

### 3. 研究の方法

外科的切除肺扁平上皮癌組織における sphingosine kinase 1 ならびにその受容体 sphingosine-1-phosphate receptor (S1PR)1~5 の発現を western blot 法と免疫組織化学的に解析し、がん細胞の増殖活性、epithelial mesenchymal transition (EMT)ならびに浸潤・転移関連分子の発現との関連や生命予後を含めた臨床病理学的因子との相関を解析した。

### 4. 研究成果

(1) 外科的切除された肺扁平上皮癌組織ならびに非腫瘍性肺組織を用いた western blot 法による比較検討から、非腫瘍性肺組織と比較し肺扁平上皮癌組織における sphingosine kinase 1 の発現亢進が示された。

(2) 肺扁平上皮癌多数症例のホルマリン固定・パラフィン包埋切片を用いた免疫染色法による解析では、扁平上皮癌浸潤性発育部、特に間質の fibroblastic reaction を伴う腫瘍

浸潤先進部扁平上皮癌細胞での高発現が示された。

(3) 免疫染色法を用いた連続切片による sphingosin kinase 1 とがんの増殖、EMT ならびに浸潤・転移関連因子の発現との比較検討から、sphingosin kinase 1 発現は、Ki67 labeling index を指標とする増殖活性との関連は認めず、E-cadherin の発現喪失、vimentin の発現亢進など EMT 関連分子との関連が示された。さらに、aquaporin 1、MT-MMP1、MMP-2 などの浸潤・転移関連分子の発現との関連も示された。

(4) 最近注目されている末梢型肺扁平上皮癌における腫瘍辺縁部での肺実質肺胞腔(気腔)内進展 spread through air spaces 部での sphingosin kinase 1 の有意な発現低下と EMT 関連ならびに浸潤・転移関連分子の発現低下を見出した。

(5) 外科切除された肺扁平上皮癌 40 症例での検討では、sphingosin kinase 1 の発現と TNM 分類、腫瘍細胞の分化度、脈管侵襲や生命予後を含めたいずれの臨床病理学的因子との有意な相関は得られなかった。

(6) 肺扁平上皮癌組織における sphingosin kinase 1 の受容体である sphingosine-1-phosphate receptor (S1PR)1~5 の発現に関する免疫染色での検討でも、増殖活性、TNM 分類、腫瘍細胞の分化度、脈管侵襲や生命予後を含めたいずれの臨床病理学的因子との有意な相関は得られなかった。

(7) 肺扁平上皮癌での sphingosin kinase 1 の進展と生命予後に関する negative study の結果を受け、我々のグループが報告した頭頸部原発扁平上皮癌進展における sphingosin kinase 1 の関与に関し (Kato K et al. 2018)、関東逡信病院の多数症例からなる第 2 コホートでの検証と浸潤・転移関連分子との関係の研究を新たに開始した。

(8) 肺小細胞癌の手術例は少なく、現在まで検討は進んでいない。

(9) 研究計画では、sphingosin kinase 1 に加え、sphingomyelin 関係の検討や培養腫瘍細胞を用いたそれら分子の修飾による詳細な分子機構の解明も計画したが、未だ有意な成果は得られておらず、継続して研究を進めたい。

#### <引用文献>

Koichiro Kato, Miyako Shimazaki, Takao Kato, Natsuki Segami, Yoshimichi Ueda\*: Expression of sphingosine Kinase-1 is associated with invasiveness and poor prognosis of oral squamous cell carcinoma. Anticancer Res 38:1361-8, 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究協力者	島崎 都  (SHIMASAKI Miyako)		

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