

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：81303

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16432

研究課題名（和文）肺がんの強力な予後予測因子であるperiostinの分子機構の解明

研究課題名（英文）Role of periostin in lung cancer

研究代表者

高橋 莉恵（Takahashi, Rie）

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・共同研究員

研究者番号：00773954

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）：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。申請者らは、微小環境に発現しているペリオスチンが肺癌の悪性度を促進することを見いだした。ペリオスチンノックアウトに移植した肺癌は、有意に腫瘍形成量が原発巣でも転移巣でも低下した。リコンビナントペリオスチンによって肺癌細胞株の浸潤能が増加した。以上のことからペリオスチンは肺癌において腫瘍促進的に働くと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌におけるあたらしい予後不良因子を同定した。今後の肺癌治療開発における基礎データを得ることができた。

研究成果の概要（英文）：Tumor microenvironment is composed of cancer and stromal cells, and their relationship increased the tumor development. We elucidated that periostin, which is expressed in stromal cells, increased the tumor malignancy in lung cancer. Tumor formation in primary and metastatic lesions decreased in periostin knockout mice. Recombinant periostin increased the migration capacity of cancer cells. Collectively, periostin aids tumor development in lung cancer.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：肺癌

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。2017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52,430人、女性は21,408人が肺癌で命を失っている。肺癌全体の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。

Periostin(ペリオスチン)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、TGF β やBMP2に誘導され、細胞接着や増殖に重要な役割を果たしている。マイクロアレイによる網羅的解析によって正常組織にくらべ様々な癌組織に特異的に強く発現する分子として同定されてから、癌における役割が注目されるようになった。ペリオスチンの発現は癌細胞よりむしろ癌周囲の間質細胞に強く発現しており、この間質で発現するペリオスチンが癌細胞に作用して、癌進展に関与していることが示唆されている。本申請者が行った基礎検討では、肺癌においても癌細胞ではなく癌近傍の間質で強く発現していることがわかった。

最近、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。癌細胞の代謝や癌免疫が、癌間質相互作用によって影響を受けることがわかっている。

2. 研究の目的

本申請課題では、癌微小環境で高発現しているペリオスチンが癌の悪性度を制御しているという仮説を立て、これを検証する。

3. 研究の方法

倫理的配慮：本研究はヘルシンキ宣言に則り、宮城県立がんセンター倫理委員会の承認を経て実施された。また、動物実験に関しては宮城県立がんセンター動物委員会の承認を経て実施された。

症例：宮城県立がんセンターで手術を受けた症例を用いた。全ての患者からインフォームドコンセントを得た。

マウス：ペリオスチンノックアウトマウスは東京工業大学工藤明博士から分与された。

免疫染色：免疫染色はVentanaシステムを使用して実施した。

細胞株：マウスEx Lewis Lung Carcinoma (Ex3LL)はJapanese Collection of Research Bioresources Cell Bankから入手した。

フローサイトメトリー：肺癌とセインいが細胞を区別するために、CD326とCD140aで染色して同定した。

細胞増殖アッセイ：細胞増殖能はMTT試薬を用いて行った。

ウェスタンブロット：ウェスタンブロットはSDS loading bufferで細胞を溶解させて行った。

ELISA：上清中のペリオスチンの量はELISAを行って測定した。

Two-chamber assay：細胞の移動能は8- μ mのインサート内でEx3LL細胞を培養し、下段にリコンビナントペリオスチンを入れて24時間後にmembraneを通過したい細胞をカウントした。

統計検定：検定はGraphPad Prismを用いて実施した。

4. 研究成果

まず、ペリオスチンと患者予後の相関を調べるために、肺癌症例においてペリオスチンの免疫染色を行い、染色強度によってグループ分けを行った。その結果、ペリオスチン高発現症例は予後が悪いことが判明した。多変量解析を行うと、ペリオスチンはTNM分類とは独立した予後不良因子であることが判明した。

次に、間質のペリオスチンが癌の悪性度に影響を与えている可能性を考え、ペリオスチンノックアウトマウスにマウス肺癌細胞を移植し、移植部位および肺内をモニタリングして検討した。その結果、ペリオスチンノックアウトマウスでは原発巣の腫瘍体積が有意に減少し、肺内転移の数には差がないものの、肺内腫瘍体積はペリオスチンノックアウトマウスで有意に小さかった。同時に、ペリオスチンノックアウトマウス肺内の腫瘍はKi67 indexも低下した。

形成された腫瘍では、リン酸化ERKが低下していた。また、リコンビナントペリオスチンによって、細胞の浸潤能は亢進した。以上のことから、ペリオスチンは肺癌に対して腫瘍促進的に働

くと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Tamai Keiichi, Nakamura-Shima Mao, Shibuya-Takahashi Rie, Kanno Shin-Ichiro, Yasui Akira, Mochizuki Mai, Iwai Wataru, Wakui Yuta, Abue Makoto, Yamamoto Kuniharu, Miura Koh, Mizuma Masamichi, Unno Michiaki, Kawamura Sadafumi, Sato Ikuro, Yasuda Jun, Yamaguchi Kazunori, Sugamura Kazuo, Satoh Kennichi	4. 巻 10
2. 論文標題 BEX2 suppresses mitochondrial activity and is required for dormant cancer stem cell maintenance in intrahepatic cholangiocarcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21592
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-78539-0	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 Morita Shinkichi, Mochizuki Mai, Shibuya-Takahashi Rie, Nakamura-Shima Mao, Yamazaki Tomoko, Imai Takayuki, Asada Yukinori, Matsuura Kazuto, Kawamura Sadafumi, Yamaguchi Kazunori, Yasuda Jun, Sugamura Kazuo, Katori Yukio, Satoh Kennichi, Tamai Keiichi	4. 巻 39
2. 論文標題 Establishment of a Monoclonal Antibody That Recognizes Cysteine-Rich Domain 1 of Human CD271	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 6~11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/mab.2019.0040	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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------