

## 自己評価報告書

平成23年 3月31日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20790982

研究課題名（和文） 肺がんにおけるカルボキシペプチダーゼMの発現と予後の研究

研究課題名（英文） Study of Carboxypeptidase M expression profiles in patients with lung cancer and in animal models.

## 研究代表者

藤原 直之（FUJIWARA NAOYUKI）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：80451912

研究分野：胸部外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 胸部外科学

キーワード：CPM/カルボキシペプチダーゼM/肺がん/肺胞上皮細胞

## 1. 研究計画の概要

肺がんの病理学的診断に有用なマーカータンパクを確立することが本研究の目的である。カルボキシペプチダーゼM (Carboxypeptidase M, CPM)は次の理由でその候補と考えられた。すなわち、Epidermal growth factor (EGF)はEpidermal growth factor receptor (EGFR)を活性化させ、下流のシグナル伝達を活性化させて肺がんを進展させると考えられているが、カルボキシペプチダーゼMはこのカスケードの上流でEGFを制御するため、肺がんの進展度との相関が高いと推測した。

以上を明らかにするため、カルボキシペプチダーゼMの発現量と局在を、ヒトの肺がん組織標本、ラットの肺がんモデルを使用して、免疫組織化学的および生化学的に検討した。またヒトでは臨床的な各因子との相関を統計学的に解析する予定である。

## 2. 研究の進捗状況

(1)ヒト肺がん標本におけるCPMの発現量と局在を検討するため、市販の抗ヒトCPM抗体を使用して免疫組織化学の条件検討を行った。結果は肺がん組織から陽性所見が得られたが、正常組織からは陽性所見を得られず、I型肺胞上皮細胞またはII型肺胞上皮細胞に局在するといういままでの知見と矛盾することとなり、新たにポリクローナル抗体の作製を開始した。抗原部位解析や立体構造解析を行い適切なペプチド配列を選択、合成を開始した。

(2)ラット肺がんモデルを作製するため、ラ

ットにN-ニトロソビス(2-オキシプロピル)アミン(BHP)を12週間経口投与し、それからさらに12週間後に安楽死させた。結果はBHPを投与したすべてのラットに腺癌様の肺腫瘍が複数個ずつ形成された。この方法は安定してラットに肺がんを作製できることが確認された。

(3)ラット肺がん標本におけるCPMの発現量と局在を検討するため、(2)で作製したラット肺がん標本に対して、抗ラットCPM抗体で免疫組織化学およびウェスタンブロッティングを行った。結果は正常組織部分ではCPMはII型肺胞上皮細胞に局在していた。腫瘍組織部分では異型度が低い部分に強く発現する傾向があった。ウェスタンブロッティングで発現量が正常組織よりも腫瘍組織で増加していることが示された。以上よりCPMはII型肺胞上皮細胞に局在することが確認され、II型肺胞上皮細胞由来の肺がんについては発癌や増殖などに関与があると考えられた。

## 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。ラット肺がんモデルが確立でき、それを用いたCPMの免疫組織学的および生化学的検討は完了した。ヒト肺がんを用いた検討はポリクローナル抗体の評価が完了してから可能となる予定。

## 4. 今後の研究の推進方策

ヒト肺正常組織および肺がん組織に対するポリクローナル抗体を作製し、免疫組織科学的に評価を行う。蓄積された病理組織標本を用いて免疫染色を行い、臨床データを併せて

予後など各因子との相関を統計学的に解析する。

5. 代表的な研究成果

(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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

- (1) Naoyuki Fujiwara, Katsuo Kojima, Hirokuni Arai, Jiro Kumagai, Yutaka Hata: Localization of Carboxypeptidase M in BHP-induced rat lung adenocarcinomas. 13<sup>th</sup> World Conference on Lung Cancer, San Francisco, California, USA, 2009, July 31-August 4
- (2) 藤原直之、小島勝雄、荒井裕国、熊谷二郎、畑裕 ラット肺癌モデルを使用したカルボキシペプチダーゼ M の局在の検討 2009 年 6 月第 49 回日本呼吸器学会学術講演会 東京