

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07632

研究課題名（和文）インテグリン分子を標的とした非小細胞肺癌の新規治療の開発

研究課題名（英文）Development of novel therapy targeting integrins in non-small cell lung cancer

研究代表者

鹿毛 秀宣（Kage, Hidenori）

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：80513390

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）：東京大学医学部附属病院における非小細胞肺癌切除検体およびTCGAデータベースの非小細胞肺癌症例を解析し、ITGA2、ITGA5それぞれの高発現群で術後再発を多く認め、全生存期間の短縮を認めた。レンチウイルスベクターを用いて肺癌細胞株にITGA2、ITGA5をそれぞれ強制発現し、細胞外基質への接着能と遊走能の亢進を認め、阻害薬により亢進が抑制された。ITGA5を高発現する肺癌細胞株にITGA5 siRNAと阻害薬を添加し、接着能、遊走能、増殖能の低下を認め、Ki-67の発現低下を認めた。以上より、非小細胞肺癌においてITGA2、ITGA5は悪性度に寄与すること、治療標的になりうることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行・再発の非小細胞肺癌に対する治療は、分子標的薬と免疫チェックポイント阻害薬を中心に確実に進歩している。しかし、多くの肺癌患者にとって効果は不十分であり、新たな治療標的の開発が必要である。本研究により、インテグリン 2 と 5 はそれぞれ非小細胞肺癌の進展に寄与することが分かり、また少なくとも細胞レベルでは阻害薬が悪性度を抑えることが分かった。非小細胞肺癌に対する新規治療薬の開発に向けて有力な標的が見つかったため、今後は、さらに治療開発を進めることと、非小細胞肺癌以外のがん種におけるインテグリン分子の意義の解明が望ましい。

研究成果の概要（英文）：We analyzed non-small cell lung cancer (NSCLC) specimens resected at the University of Tokyo Hospital and NSCLC cases in the TCGA database and found that postoperative recurrence was more frequent and overall survival was shorter in the ITGA2 and ITGA5 high-expressing groups, respectively. Overexpression of ITGA2 or ITGA5 in NSCLC cell lines using lentiviral vectors resulted in enhanced adhesion and migration, which were suppressed by inhibitors. Suppression of ITGA5 through siRNA or inhibitors in high-expressing NSCLC cell lines resulted in suppression of adhesion, migration, and proliferation with decreased expression of Ki-67. These results indicate that in NSCLC, ITGA2 and ITGA5 contribute to its malignant properties and are potential therapeutic targets.

研究分野：肺癌

キーワード：非小細胞肺癌 インテグリン 治療標的 阻害薬

## 1. 研究開始当初の背景

日本人の死因としては悪性腫瘍が約 1/4 を占めて最も多く、肺癌は悪性腫瘍の約 1/5 を占めてがん種として最も多い。肺癌はさらに 15-20%が小細胞癌、80-85%が非小細胞癌であり、非小細胞癌の 5 年生存率は 27%ときわめて低い。進行・再発の非小細胞肺癌に対する治療は、細胞障害性の抗癌剤に加えて分子標的薬と免疫チェックポイント阻害薬を中心に進歩しているものの、効果は不十分で、新たな治療標的の開発が必要である。分子標的薬は EGFR 遺伝子変異が発見されてから肺癌を中心に次々と治療標的となる遺伝子変異が発見されたが、近年は頭打ちとなっている。また、免疫チェックポイント阻害薬は PD-1/PD-L1 阻害薬が一部の患者で著効をしているが、その他のがん免疫関連分子の抑制あるいは活性化による治療効果は限定的である。以上より、肺癌ならびにすべての固形がんにおいて新規治療の開発が必須である。インテグリン分子は、18 のサブユニットと 18 のサブユニットがあり、異なるサブユニットが二量体を形成して細胞同士や細胞と細胞外基質との相互作用を担う。このような機能より、インテグリン分子はがん細胞の浸潤・転移に関わる可能性が示唆されており、肺癌の治療標的となる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、インテグリン分子が非小細胞肺癌の治療標的となるか明らかにすることであり、具体的には以下の 3 つの目的を設定した。

- 非小細胞肺癌において発現と生存期間が相関するインテグリン分子を同定する
  - で同定したインテグリン遺伝子を強制発現あるいは発現抑制することで肺癌細胞株の悪性度が変化するか解析する
  - で同定したインテグリン分子を抑制による抗腫瘍効果を確認する

## 3. 研究の方法

方法は以下の通りである：

- ・ 東京大学医学部附属病院における非小細胞肺癌切除検体より RNA を抽出して定量的 PCR を用いてインテグリン分子の発現量を測定した。TCGA データベースの非小細胞肺癌症例を解析し、RNA シークエンスのリード数を用いてインテグリン分子の発現量を測定した。インテグリンの高発現群、低発現群に分類し、臨床データと統合して、無再発生存期間と全生存期間が異なるか比較した。
- ・ 切除検体の定量的 PCR データと免疫染色の結果が相関するか確認をした。
- ・ 非小細胞肺癌細胞株を解析対象のインテグリン分子のリガンドとして知られる細胞外基質上で培養した。解析対象のインテグリン遺伝子をクローニングし、レンチウイルスベクターを用いてインテグリン遺伝子を低発現する細胞株に導入し、強制発現株を作成した。siRNA と阻害薬を準備し、インテグリン分子を強制発現した細胞株、あるいは元々高発現する細胞株に添加し、抑制系を確立した。
- ・ 上記の強制発現系と抑制系を用いて、増殖能、細胞形態の変化、接着能、遊走能、浸潤能を解析した。
- ・ 増殖能に変化を認める場合は Ki-67 とアポトーシスアッセイを行った。

#### 4 . 研究成果

ITGA2、ITGA5 に分けて研究成果を記載する：

##### 【ITGA2】

- ・ 非小細胞肺癌切除検体では、ITGA2 高発現群で術後再発を多く認め、TCGA データベースでは全生存期間の短縮を認めた。
- ・ 切除検体の定量的 PCR データと免疫染色の結果は相関を認めた ( $r = -0.65$ )。
- ・ 肺癌細胞株に ITGA2 を強制発現したところ、増殖能に変化を認めず、細胞径の増大を認め、コラーゲンへの接着能と遊走能の亢進を認め、ITGA2 阻害薬 (E7820) により亢進が抑制された。浸潤能に変化を認めなかった。
- ・ The 25th Congress of the Asian Pacific Society of Respirology で学会発表し、Jpn J Clin Oncol 2023;53(1):63-73 に論文発表した。

##### 【ITGA5】

- ・ 非小細胞肺癌切除検体では、ITGA2 高発現群で術後再発を多く認め、TCGA データベースでは全生存期間の短縮を認めた。
- ・ 切除検体の定量的 PCR データと免疫染色の結果は関連する傾向にあったが、が完全に一致するものではなく、腫瘍の発現に加えて微小環境における発現も見られた。
- ・ 肺癌細胞株に ITGA5 を強制発現したところ、増殖能に変化を認めず、細胞径の増大を認め、フィブロネクチンへの接着能と遊走能の亢進を認め、ITGA5 阻害薬 (GLPG0187) により亢進が抑制された。浸潤能に変化を認めなかった。
- ・ ITGA5 を高発現する肺癌細胞株に ITGA5 siRNA または GLPG0187 を添加したところ、接着能、遊走能、増殖能の低下を認めた。siRNA、GLPG0187 の添加により Ki-67 の発現低下を認め、アポトーシスに変化を認めなかった。
- ・ ITGA5 の結果は、第 82 回日本癌学会学術総会で発表し、現在論文投稿準備中である。

以上より、非小細胞肺癌において ITGA2、ITGA5 は悪性度に寄与することと、治療標的になりうることを示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Matsumoto Yoko, Kage Hidenori, Morota Mizuki, Zokumasu Koichi, Ando Takahiro, Maemura Keita, Watanabe Kousuke, Kawakami Masanori, Hinata Munetoshi, Ushiku Tetsuo, Nakajima Jun, Nagase Takahide	4. 巻 53
2. 論文標題 Integrin alpha 2 is associated with tumor progression and postoperative recurrence in non-small cell lung cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 63～73
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jjco/hyac148	査読の有無 無
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 1件）

1. 発表者名 Matsumoto Y, Kage H, Morota M, Zokumasu K, Ando T, Maemura K, Watanabe K, Kawakami M, Hinata M, Ushiku T, Nakajima J, Nagase T
2. 発表標題 Integrin alpha 2 in non-small cell lung cancer is associated with tumor progression and postoperative recurrence
3. 学会等名 The 25th Congress of the Asian Pacific Society of Respirology（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 何美玲、松本容子、安藤孝浩、シーチェン、飯田崇博、中川夏樹、徳永将勝、前村啓太、渡邊広祐、川上正敬、織田克利、鹿毛秀宣
2. 発表標題 非小細胞肺癌におけるインテグリンα5の発現と機能の解析
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023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
研究協力者	安藤 孝浩  (Ando Takahiro)  (30882542)	東京大学医学部附属病院     (12601)	

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