

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08533

研究課題名(和文) 肺癌においてWnt経路活性化により誘導されるLGR6の意義

研究課題名(英文) Significance of LGR6 expression induced by Wnt pathway activation in lung cancer

研究代表者

砂長 則明 (Sunaga, Noriaki)

群馬大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70400778

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：CTNNB1変異陽性非小細胞肺癌細胞株HCC15及びA427においてLGR6ノックダウンの有無による発現変動をmRNAシーケンス解析し、LGR6関連遺伝子とパスウェイを同定した。これらの遺伝子には腫瘍促進や癌幹細胞化との関連が示唆されるものが含まれていた。スフェロイド形成細胞と接着細胞の二相性増殖を示すA427においてLGR6はスフェロイドで高発現しており、スフェロイド細胞と接着細胞の発現プロファイルを比較するmRNAシーケンス解析で同定された遺伝子群には癌幹細胞化との関与が報告されているものも複数含まれていた。「特発性肺線維症シグナル伝達経路」が共通したLGR6関連パスウェイであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌ではEGFR遺伝子変異をはじめとする様々なドライバー遺伝子変異の発見や分子標的治療薬が開発されている。一方で、Wnt経路活性化を呈する肺癌に対する治療法やバイオマーカーの開発はすすんでいない。本研究において、Wnt経路活性化により誘導されるLGR6発現が肺癌の増殖能を亢進し、LGR6高発現が肺癌の予後不良マーカーであることを見出した上で、LGR6が様々な遺伝子発現や「特発性肺線維症シグナル伝達経路」をはじめとする経路を制御することで腫瘍の促進や癌幹細胞化に関与している可能性が示唆された。本研究結果が肺癌の新規治療法や予後予測バイオマーカーの開発への礎になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We identified LGR6-related pathways and genes by mRNA sequencing analysis comparing the transcripts of CTNNB1-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC) HCC15 and A427 cells with or without LGR6 knockdown. These genes include those that confer tumor progression and cancer cell stemness. In A427 cells, which exhibit biphasic growth pattern with sphere-forming and adherent cell components, LGR6 was highly expressed in the spheroids. mRNA sequencing analysis comparing the expression profiles of sphere-forming and adherent A427 cells uncovered several genes that have been associated with cancer cell stemness. Pathway analysis revealed that the common canonical pathway regulated by LGR6 in CTNNB1-mutated NSCLC cells and in sphere-forming A427 cells was "Pulmonary Fibrosis Idiopathic Signaling Pathway". These results highlight the therapeutic and prognostic significance of LGR6, potentially leading to the development of novel treatment strategies and biomarkers for lung cancer.

研究分野：医歯薬学

キーワード：肺癌

## 1. 研究開始当初の背景

肺癌は死亡率の高い固形癌であり、多くは進行期で発見される。肺癌は小細胞癌(SCLC)と非小細胞肺癌(NSCLC)に分類され、NSCLCが約85%を占める。分子標的治療薬の開発によりNSCLCの予後は改善傾向にあるが、殆どの患者が分子標的治療後に耐性を獲得して再発する(1)。近年、免疫チェックポイント阻害薬がNSCLCおよびSCLCの薬物療法として使用されるようになり、腫瘍におけるPD-L1発現率が治療効果を予測するバイオマーカーとして用いられているが、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を確実に予測するバイオマーカーは未だ確立されていない。以上のように、肺癌の予後向上のためには、進行肺癌に対する新規治療法やバイオマーカーの開発が急務である。

Wnt/ $\beta$ -cateninシグナル伝達経路(以下Wnt経路とする)は生物の初期発生や、細胞の増殖・分化・運動などの機能制御を担っている。Wnt経路を構成する分子の異常は様々なヒト癌腫で認められ、癌の増殖や生存、上皮間葉移行、癌幹細胞化、腫瘍微小環境など様々な機能の制御に関わることで悪性形質の獲得や維持に重要な役割を果たしている。Wnt経路の主要構成因子である $\beta$ -cateninをコードする*CTNNB1*遺伝子はNSCLCの約2%で変異しており(2)、他の構成因子の異常に帰属するものも含め約半数のNSCLCにおいてWnt経路の恒常的な活性化が報告されている(3)。我々は、*CTNNB1*S45F変異陽性NSCLC細胞株HCC15において、Wnt経路の活性化により正に制御される遺伝子としてLeucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 6(LGR6)を同定した(4)。LGR6はNSCLCのみならずSCLCにおいても過剰発現しており、LGR6ノックダウンが肺癌細胞の増殖を抑制することや、肺腺癌手術症例のうち*EGFR*野生型およびリンパ管・脈管浸潤陽性群においてLGR6発現が有意に高く、*EGFR*野生型かつLGR6高発現の肺腺癌は予後が不良であることを見出した。さらに、*CTNNB1*T41A変異を有し、浮遊系と接着系の2相性の増殖形式を示すNSCLC細胞株A427において、浮遊系細胞成分のLGR6発現レベルが接着系細胞成分と比較して有意に上昇していたことから、幹細胞特性であるスフェロイド形成能の獲得にLGR6が寄与している可能性が考えられた。以上より、肺癌の悪性形質の獲得や維持にLGR6が重要な役割を果たしており、Wnt経路活性化により誘導されるLGR6発現による分子制御機構を探ることが新規の治療法や予後予測バイオマーカーの開発に繋がると考え、本研究を行なった。

## 2. 研究の目的

- (1) LGR6高発現かつ*CTNNB1*変異陽性NSCLC細胞株HCC15およびA427を用いて、siRNAsを介したLGR6ノックダウンによる遺伝子発現変動をmRNAシーケンス解析することにより、LGR6により制御される遺伝子群やパスウェイを同定し、肺癌細胞においてWnt経路活性化により誘導されるLGR6発現による分子制御機構を探索する。
- (2) LGR6高発現かつ*CTNNB1*変異陽性NSCLC細胞株A427の浮遊系細胞成分と接着系細胞成分の発現プロファイルをmRNAシーケンスにより比較解析し、肺癌のスフェロイド形成獲得に関与する分子制御機構を探索する。
- (3) *LGR6*関連遺伝子群の肺癌における発現と予後との関連性を調べる。

## 3. 研究の方法

- (1) 細胞株: NSCLC細胞株40株(H23、H157、H358、H441、H460、H661、H820、H838、H1299、H1373、H1395、H1437、H1648、H1650、H1666、H1755、H1792、H1819、H1975、H2009、H2030、H2087、H2122、H2347、H3255、HCC15、HCC44、HCC78、HCC95、HCC193、HCC515、HCC827、HCC2279、HCC2935、HCC4006、HCC4011、HCC4017、A427、PC9、SW1573)、SCLC細胞株23株(H187、H209、H345、H378、H524、H526、H740、H865、H889、H1045、H1092、H1184、H1238、H1339、H1607、H1618、H1672、H1963、H2107、H2141、H2171、H2227、HCC33)と、非癌コントロールとして不死化ヒト気道上皮細胞株HBEC3を使用した。肺癌細胞株は5%牛血清添加RPMI1640培地により培養し、HBEC3は牛下垂体抽出物50 $\mu$ g/mlとEGF5ng/ml添加K-SFM培地により培養した。培養細胞は80~90%コンフルエントの状態を回収した後にtotal RNAを抽出し、cDNAを合成した。
- (2) 遺伝子発現解析: 設計済みPrimer及びTaqman probe(Applied Biosystems社より購入)を用いてLightCycler 480システムにより定量リアルタイムPCRを行い、mRNA発現解析を行った。
- (3) RNA干渉法: LGR6を標的とした配列の異なる4つの設計済みのsiRNAsセット(siGENOME Set of 4, Dharmacon社より購入)を予備実験に使用し、その中でノックダウン効率が最も良好であった2つのLGR6 siRNAsを選択して、本実験に用いた。*Tax*遺伝子を標的としたsiRNAをネガティブコントロールsiRNAとして使用した(5)。Lipofectamine RNAiMAXトランスフェクション試薬により、10nMのsiRNAを細胞内へ導入し、48時間後に培養細胞を回収した後にtotal RNA抽出とcDNA合成を行なった。定量リアルタイムPCRにより遺伝子発現解析を行い、遺伝子ノックダウンを検証した。

- (4) mRNA シークエンス解析: 培養細胞から抽出した total RNA の品質は Agilent RNA6000 Pico Kit と Agilent 2100 Bioanalyzer を用いて RNA integrity number (RIN) により評価し、RIN>8.0 のサンプルを使用した (6)。KAPA mRNA HyperPrep Kit によりライブラリーを調整し、NextSeq 500 システムにより mRNA シークエンス解析を行った。Ingenuity Pathway Analysis (QIAGEN 社) を用いてパスウェイ解析を行った。
- (5) The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース解析: TCGA データベース (<http://www.cbioportal.org>) の Lung Adenocarcinoma (TCGA, Firehose Legacy) データセットを用いて、LGR6 関連遺伝子群の肺腺癌における発現と予後との関連性を調べた。

#### 4. 研究成果

(1) *CTNNB1* 変異陽性 NSCLC 細胞において LGR6 により制御される遺伝子群とパスウェイの同定  
LGR6 高発現かつ *CTNNB1* 変異陽性 NSCLC 細胞株 HCC15 および A427 を用いて、mRNA シークエンス解析手法により LGR6 ノックダウンで発現変動する遺伝子群を同定した。LGR6 ノックダウンにより発現が低下する遺伝子すなわち LGR6 により正に制御されると想定される遺伝子 (Up-Regulated Genes [URGs])、または LGR6 ノックダウンにより発現が上昇する遺伝子すなわち LGR6 により負に制御されると想定される遺伝子 (Down-Regulated Genes [DRGs]) のうち、q-value <0.1 の遺伝子群は以下の通りであった:

HCC15

i) **URGs:** *UHMK1, ELL2, CPEB3, SMIM13*

ii) **DRGs:** *RPL36A-HNRNP2, ANKRD20A1, CKAP4, ZNF213*

上記遺伝子群のうち、*UHMK1* は肺腺癌を含む複数のヒト癌腫においてがん遺伝子である可能性が示されている (7)。*ZNF213* は乳癌において Hippo/YAP 経路を負に制御することで腫瘍抑制性に働くことが示唆されている (8)。

A427

i) **URGs:** *DNAAF4-CCPG1, LOC730091, DDAH1, TGIF2-RAB51F, GPR89C, SEPP1, CPEB3, ELL2, MICOS10-NBL1, KIAA0408, OSTM1, RINL, NAALADL2, HSPB6/HSP20, LOC100507424, HIPK3, CD72*

ii) **DRGs:** *GATSL1, CKAP4, SNX30, FKBP4, ANKRD20A2*

上記遺伝子群のうち、*DDAH1* は複数のヒト癌腫での過剰発現が報告されており、血管新生亢進による腫瘍促進性の役割が示唆されている (9)。*HSPB6/HSP20* は NSCLC の増殖や転移能を促進すると報告されている (10)。

さらに、HCC15 および A427 で共通して LGR6 により制御される遺伝子のうち、p-value <0.1 の遺伝子群は以下の通りであった:

**URGs:** *LINC00202-1, LRRC17, LIMS3-LOC440895, FGF21, C15orf26, BCAR4, WDR86-AS1, MMEL1, GCGR, SLC1A2, HLA-DPBI, SCN4A, SOX2-OT, FLJ35024, TAF7L, KLF8, NAALADL2, C1orf151-NBL1, LRRN4CL, CD72, CPEB3, GPR89C, SMIM13, LOC100507424, ELL2, DDAH1, NR4A3, UHMK1, OSTM1, HIPK3, SLC25A30, GNB4, KATNAL1, SLC36A1, SUZ12, LITAF, ASNS, GMFB, SNX18, PDHX, CAPRIN1, JHDM1D, LCOR, APAF1, TGM2, EXOC5, YOD1, PRKAA2, KPNA3, TFAM, NIPAI, CUL4B*

**DRGs:** *LONP1, MLLT1, SUPT6H, SEP15, FBXW5, C9orf69, RHEB, FKBP4, SNX30, CKAP4, ZNF213, ANKRD20A2, ANGPTL6, CORO7-PAM16*

上記遺伝子群のうち、G タンパク質 β サブユニットである GNB4 は、胃癌や尿路上皮癌における過剰発現や予後不良との関連性、食道癌において化学療法抵抗性の獲得に寄与することが報告されている (11-13)。*SUZ12* は抑制性クロマチン修飾 H3K27me3 に関わるポリコムタンパク複合体 PRC2 の構成分子であり、がん抑制遺伝子のエピジェネティックな不活性化や癌幹細胞化に関与することが示唆されている (14-16)。さらに、*SUZ12* は NSCLC を含む複数のヒト癌腫において過剰発現しており、がん遺伝子と考えられている (17)。*PRKAA2* は AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) α サブユニットであり、AMPK 経路は癌の治療標的候補と考えられている (18)。

パスウェイ解析の結果、HCC15 および A427 細胞株において LGR6 と関連性の高い canonical pathway は以下の通りであった:

HCC15: Regulation Of The Epithelial Mesenchymal Transition By Growth Factors Pathway, Pulmonary Fibrosis Idiopathic Signaling Pathway, Protein Kinase A Signaling, Serine Biosynthesis, Chronic Myeloid Leukemia Signaling

A427: AMPK Signaling, Epithelial Adherens Junction Signaling, Pulmonary Fibrosis Idiopathic Signaling Pathway, Tumor Microenvironment Pathway, Osteoarthritis Pathway

HCC15 および A427 細胞において共通して同定された canonical pathway のうち、LGR6 との関連性が比較的高いものは「Pulmonary Fibrosis Idiopathic Signaling Pathway」、「G-Protein Coupled Receptor Signaling」、「Cardiac Hypertrophy Signaling (Enhanced)」、「Estrogen Receptor Signaling」であった。

(2) *CTNNB1* 変異陽性 NSCLC 細胞株 A427 の浮遊系と接着系の細胞成分間で発現変動する遺伝

### 子群および関連パスウェイの同定

LGR6 高発現かつ *CTNNB1* 変異陽性 NSCLC 細胞株 A427 を浮遊系細胞と接着系細胞に分離して培養した後に検体を回収し、mRNA シークエンス解析により浮遊系と接着系の細胞成分間で遺伝子発現プロファイルと比較した。有意に発現変動する遺伝子群の中に、幹細胞特性であるスフェロイド形成能の獲得に寄与している遺伝子が含まれている可能性が考えられる。A427 細胞の浮遊系細胞成分で発現上昇している遺伝子 (Spheroid-Associated Genes [SAGs])、または接着系細胞成分で発現上昇している遺伝子 (Adherence-Associated Genes [AAGs]) のうち、q-value が 0.1 未満かつ m.value: log<sub>2</sub> (発現比) が ±2 以上の遺伝子は以下の通りであった:

**SAGs:** *FAM156B, EIF3CL, TMX2-CTNND1, TMEM256-PLSCR3, STUM, ZNF625-ZNF20, MMP1, CASS4, RPS10-NUDT3, UBE2F-SCLY, ST8SIA1, HSFY1, ZNF816-ZNF321P, CPA4, SPANXA2, SRPX2, PAPP, ARHGAP19-SLIT1, SLC35F3, CPVL, SOX11, SKAP1, CLMP, IL32, HKDC1, SERPINE1, TMEM200A, LCN2, KPRP, C8orf4, CCND2, KRTAP2-3, LAMC2, ANXA3, TSPAN1, CNTN1, VGLL2, SPRR2D, TICAM2, MUM1L1, MYEOV, FOS, KRT81, CITED4, C8orf44-SGK3, KRT80, LBH, SGK223, EGR1*

**AAGs:** *CT45A4, DYX1C1-CCPG1, LOC100132062, LOC100132287, FSBP, ANKRD20A1, JMJD7-PLA2G4B, HSFY2, ATP6V1G2-DDX39B, EPHA3, MPPED2, ID4, TNFSF10, PCDHB16, NTN3, DSCI*

上記遺伝子群のうち、癌幹細胞化との関与が過去に報告されている遺伝子として、*MMP1, CPA4, SRPX2* が含まれていた (19-21)。

A427 細胞の浮遊系と接着系細胞成分間での発現変動遺伝子群と関連性の高い canonical pathway、すなわち A427 のスフェロイド形成能獲得に関与すると想定されるパスウェイは以下の通りであった:

Osteoarthritis Pathway, Wound Healing Signaling Pathway, Pulmonary Fibrosis Idiopathic Signaling Pathway, Hepatic Fibrosis Signaling Pathway, Axonal Guidance Signaling

上記のうち、「Pulmonary Fibrosis Idiopathic Signaling Pathway」が、*CTNNB1* 変異陽性 NSCLC 細胞株 HCC15 および A427 細胞株において同定された LGR6 関連パスウェイと共通していた。

### (3) LGR6 関連遺伝子群の肺癌における発現と予後との関連性

LGR6 高発現かつ *CTNNB1* 変異陽性 NSCLC 細胞株 HCC15 および A427 において、LGR6 により共通して制御される遺伝子群のうち、過去の報告で腫瘍促進的な機能を有することが示唆される *GNB4, SUZ12, PRKAA2* に着目した。これらの遺伝子の HCC15 および A427 における発現レベルはヒト気道上皮細胞株と比べて高発現していた。HCC15 および A427 において、siRNA を介した LGR6 ノックダウンによる遺伝子発現変動を定量リアルタイム PCR により検証した。コントロール siRNA 処理時の発現レベルと比較したとき、HCC15 では *GNB4* が 14~25%、*SUZ12* が 16~19%、*PRKAA2* が 26~44% のレベルまで、A427 では *GNB4* が 53~58%、*SUZ12* が 53~56%、*PRKAA2* が 47~72% のレベルまで、各遺伝子発現が LGR6 ノックダウンにより有意に発現低下していた。肺癌細胞株を用いた定量リアルタイム PCR による遺伝子発現解析では、HBEC3 よりも高発現を示す NSCLC 細胞株の割合は、*GNB4* が 35%、*SUZ12* が 95%、*PRKAA2* が 95% であった。一方、HBEC3 よりも高発現を示す SCLC 細胞株の割合は、*GNB4* が 39%、*SUZ12* が 100%、*PRKAA2* が 96% であった。さらに、LGR6 高発現かつ *APC* 変異陽性を有する NSCLC 細胞株 HCC2935 において、*SUZ12* および *PRKAA2* の過剰発現が認められた。

肺腺癌における *CTNNB1* 変異 (exon 3 missense mutations) または *APC* 変異 (homodeletions/truncating mutations/splice mutations) の有無別の *GNB4, SUZ12, PRKAA2* 遺伝子発現の差異を、TCGA データベースを用いて比較解析した。その結果、*PRKAA2* のみ *CTNNB1* 変異または *APC* 変異陽性群における発現レベルが変異陰性群と比較して有意に高いことがわかった。さらに、*PRKAA2* 高発現群における無病生存期間および全生存期間は *PRKAA2* 低発現群と比較して有意に短かった。

### (4) LGR6 による VEGFA 発現制御と腫瘍血管新生への関与の可能性

LGR6 高発現かつ *CTNNB1* 変異陽性 NSCLC 細胞株 HCC15 において同定された LGR6 関連遺伝子群に血管内皮増殖因子 A (*VEGFA*) が含まれていた。HCC15 細胞において、siRNA を介した LGR6 ノックダウンによる遺伝子発現変動を定量リアルタイム PCR により評価したところ、*VEGFA* 発現レベルはコントロール siRNA 処理時の発現レベルと比較して 20~32% のレベルまで有意に低下していることが確認された。一方で、*CTNNB1* 変異陽性 NSCLC 細胞株 A427 では、LGR6 ノックダウンによる *VEGFA* 発現の有意な低下は認められなかった。さらに、NSCLC 細胞株を用いたリアルタイム定量 PCR による mRNA 発現解析の結果、*VEGFA* 発現は *IL-8* 発現と有意に相関しており、肺腺癌の TCGA データベース解析においても *VEGFA* 発現と *IL-8* 発現の有意な相関が確認された。興味深いことに、*APC* 変異陽性 NSCLC 細胞株 HCC2935 においても *VEGFA* と *IL-8* は共に過剰発現を示していた。*VEGFA* や *IL-8* は腫瘍血管新生において重要な役割を果たすことが知られているが (22, 23)、Wnt 経路活性化を有する一部の NSCLC では、LGR6 が *VEGFA* や *IL-8* の発現制御に寄与することで腫瘍血管新生にも関与している可能性が示唆された。

<引用文献>

1. Sunaga N, Miura Y, Kasahara N, Sakurai R. Targeting Oncogenic KRAS in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021;13:5956.
2. Sequist LV, Heist RS, Shaw AT, Fidias P, Rosovsky R, Temel JS, et al. Implementing multiplexed genotyping of non-small-cell lung cancers into routine clinical practice. *Ann Oncol*. 2011;22:2616-24.
3. Yang J, Chen J, He J, Li J, Shi J, Cho WC, et al. Wnt signaling as potential therapeutic target in lung cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2016;20:999-1015.
4. Sunaga N, Miura Y, Kaira K, Tsukagoshi Y, Sakurai R, Hisada T. LGR6 overexpression induced by constitutive activation of the Wnt signaling pathway in NSCLC cells. *Cancer Sci*. 2018;109:895, Abstr P-2073.
5. Sunaga N, Miura Y, Tsukagoshi Y, Kasahara N, Masuda T, Sakurai R, et al. Dual inhibition of MEK and p38 impairs tumor growth in KRAS-mutated non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*. 2019;17:3569-75.
6. Ohtaki Y, Kawabata-Iwakawa R, Nobusawa S, Goto Y, Shimizu K, Yajima T, et al. Molecular and expressional characterization of tumor heterogeneity in pulmonary carcinosarcoma. *Mol Carcinog*. 2022;61:924-32.
7. Li Y, Wang S, Jin K, Jin W, Si L, Zhang H, et al. UHMK1 promotes lung adenocarcinoma oncogenesis by regulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Thorac Cancer*. 2023;14:1077-88.
8. Liu Y, Su P, Zhao W, Li X, Yang X, Fan J, et al. ZNF213 negatively controls triple negative breast cancer progression via Hippo/YAP signaling. *Cancer Sci*. 2021;112:2714-27.
9. Parveen SMA, Natani S, Sruthi KK, Khilar P, Ummanni R. HIF-1alpha and Nrf2 regulates hypoxia induced overexpression of DDAH1 through promoter activation in prostate cancer. *Int J Biochem Cell Biol*. 2022;147:106232.
10. Chen S, Huang H, Yao J, Pan L, Ma H. Heat shock protein B6 potently increases non-small cell lung cancer growth. *Mol Med Rep*. 2014;10:677-82.
11. Liu B, Chen L, Huang H, Huang H, Jin H, Fu C. Prognostic and Immunological Value of GNB4 in Gastric Cancer by Analyzing TCGA Database. *Dis Markers*. 2022;2022:7803642.
12. Chen TJ, Dehghanian SZ, Chan TC, He HL, Li WS, Abdollahi S, et al. High G protein subunit beta 4 protein level is correlated to poor prognosis of urothelial carcinoma. *Med Mol Morphol*. 2021;54:356-67.
13. Xie F, Zhang D, Qian X, Wei H, Zhou L, Ding C, et al. Analysis of cancer-promoting genes related to chemotherapy resistance in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Transl Med*. 2022;10:92.
14. Yamagishi M, Hori M, Fujikawa D, Ohsugi T, Honma D, Adachi N, et al. Targeting Excessive EZH1 and EZH2 Activities for Abnormal Histone Methylation and Transcription Network in Malignant Lymphomas. *Cell Rep*. 2019;29:2321-37 e7.
15. Glinisky GV. "Stemness" genomics law governs clinical behavior of human cancer: implications for decision making in disease management. *J Clin Oncol*. 2008;26:2846-53.
16. Kondo Y. Targeting histone methyltransferase EZH2 as cancer treatment. *J Biochem*. 2014;156:249-57.
17. Wu Y, Hu H, Zhang W, Li Z, Diao P, Wang D, et al. SUZ12 is a novel putative oncogene promoting tumorigenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cell Mol Med*. 2018;22:3582-94.
18. Hsu CC, Peng D, Cai Z, Lin HK. AMPK signaling and its targeting in cancer progression and treatment. *Semin Cancer Biol*. 2022;85:52-68.
19. Zhu S, Yang N, Niu C, Wang W, Wang X, Bai J, et al. The miR-145-MMP1 axis is a critical regulator for imiquimod-induced cancer stemness and chemoresistance. *Pharmacol Res*. 2022;179:106196.
20. Zhang H, Hao C, Wang H, Shang H, Li Z. Carboxypeptidase A4 promotes proliferation and stem cell characteristics of hepatocellular carcinoma. *Int J Exp Pathol*. 2019;100:133-8.
21. Zhang M, Li X, Fan Z, Zhao J, Liu S, Zhang M, et al. High SRPX2 protein expression predicts unfavorable clinical outcome in patients with prostate cancer. *Onco Targets Ther*. 2018;11:3149-57.
22. Claesson-Welsh L, Welsh M. VEGFA and tumour angiogenesis. *J Intern Med*. 2013;273:114-27.
23. Alfaro C, Sanmamed MF, Rodriguez-Ruiz ME, Teijeira A, Onate C, Gonzalez A, et al. Interleukin-8 in cancer pathogenesis, treatment and follow-up. *Cancer Treat Rev*. 2017;60:24-31.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sunaga Noriaki, Miura Yosuke, Kasahara Norimitsu, Sakurai Reiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Targeting Oncogenic KRAS in Non-Small-Cell Lung Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 5956 ~ 5956
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13235956	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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
---------	---------