

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16192

研究課題名（和文）肺幹細胞の形質異常から見えてくる間質性肺炎合併肺癌における発癌機序

研究課題名（英文）Insights into the carcinogenic mechanisms of lung cancer with interstitial pneumonia based on abnormalities of lung stem cell

研究代表者

池尾 聡（Ikeo, Satoshi）

東京大学・生産技術研究所・特任助教

研究者番号：60918267

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、慢性炎症と発癌の関連性について、幹細胞学の観点から新たな発癌メカニズムを解明することを目的としている。これまでに、間質性肺炎と肺癌を合併した患者の症例報告、発癌メカニズム解明につながる幹細胞マーカーの策定、ヒトiPS細胞由来肺オルガノイドの作製体制の立ち上げ、RNA-seqなどの網羅的トランスクリプトーム解析体制の構築、肺癌に関する論文発表や学会発表など、多岐にわたる成果が得られている。これらの成果を基に、間質性肺炎合併肺癌患者における2型肺胞上皮細胞の異常や肺癌発生との関連を探究することで、慢性炎症から肺癌発症に至る分子生物学的機序の解明が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、慢性炎症から肺癌が発生するメカニズムを幹細胞の観点から解明しようとするものです。間質性肺炎と肺癌を併発した患者の症例報告や、幹細胞マーカーの選定、ヒトiPS細胞由来肺オルガノイド培養の立ち上げ、RNA-seqなどの遺伝子発現解析体制の構築などの成果が得られました。これらの成果は、慢性炎症から肺癌に至る分子レベルでの機序の理解を深め、新たな予防法や治療法の開発につながる可能性を秘めています。特に、間質性肺炎を合併した肺癌患者における肺の幹細胞の異常や、肺癌発生との関連を明らかにすることで、炎症を起点とした肺癌の早期診断・治療法の確立が期待できます。

研究成果の概要（英文）：This study aims to elucidate novel carcinogenic mechanisms underlying the relationship between chronic inflammation and cancer from the perspective of stem cell biology. To date, the research has yielded a wide range of findings, including a case report of the patient with co-occurring interstitial pneumonia and lung cancer, identification of stem cell markers crucial for understanding carcinogenic mechanisms, establishment of a human iPS cell-derived alveolar organoid culture, construction of a comprehensive transcriptome analysis framework using RNA-seq, and publication of papers and presentations at conferences related to lung cancer. Building upon these achievements, further investigation into the abnormalities of type 2 alveolar epithelial cells in patients with lung cancer with interstitial pneumonia is expected to unravel the molecular biological mechanisms driving the progression from chronic inflammation to lung cancer onset.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：幹細胞 肺癌 間質性肺炎

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

間質性肺炎は慢性炎症により肺胞壁が肥厚し、ガス交換能が低下する難治性呼吸器疾患である。間質性肺炎患者の10-20%に肺癌が合併することが知られており(日本呼吸器学会, 2017)、非間質性肺炎患者よりも高率に肺癌を合併するため、間質性肺炎患者特異的に発癌する機序が存在することが強く示唆される。肺癌を合併した間質性肺炎患者の生存期間中央値は、非合併患者の63.9か月と比較して、38.7か月と非常に短く、肺癌合併の有無が予後規定因子となっている(Tomassetti S, et al., Chest, 2015)。しかし、間質性肺炎合併肺癌患者では、手術や薬物などの肺癌治療によって間質性肺炎の急性増悪という致死率が50%に及ぶ重篤な合併症を来しうるなど、肺癌治療に難渋することが多い。そのため、間質性肺炎患者の肺癌発症予防へのアンメットメディカルニーズは極めて高い。

肺は検体採取が難しく、その細胞も培養皿上で容易にその形質を変化させてしまうため、研究が遅れていた。2013年にトランスジェニックマウスを用いた研究により、2型肺胞上皮細胞が自己複製能や1型肺胞上皮細胞への分化能を有しており、肺の組織幹細胞であることが明らかになった(Barkauskas CE, et al., J Clin Invest, 2013)。近年、ヒトiPS細胞から2型肺胞上皮細胞を含むヒトiPS細胞由来肺オルガノイドを分化誘導する報告がなされ、培養皿上で肺の細胞をその形質を維持しながら培養できるようになってきた。

慢性炎症と癌の関係は1856年に病理学者Virchowにより指摘されて以来研究が進み、現在では発癌の約20%に慢性炎症が関与しているとされている。食道における胃液、胃におけるピロリ菌、肝臓における肝炎ウイルス、子宮におけるパピローマウイルスなど、様々な臓器で慢性炎症から発癌につながる機序の解明が進んでいる。肺においても、慢性炎症が病態である間質性肺炎と肺癌が合併しやすく、慢性炎症からの発癌が推定されるが、間質性肺炎からの肺癌発症機序についてはこれまで明らかにされていない。さらに、肺幹細胞特異的遺伝子の異常が間質性肺炎や肺癌に関連するという報告が散見され、間質性肺炎からの肺癌の発症には肺組織幹細胞が深く関与していると推察されるが、そのメカニズムを解明した研究はない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、間質性肺炎患者の肺癌発症予防を目指して、肺の慢性炎症である間質性肺炎からの発癌機序を幹細胞学的視点から解明することである。

申請者は臨床医として様々な呼吸器疾患を経験する中で、間質性肺炎合併肺癌の治療の難しさに直面してきた。肺の組織幹細胞には肺サーファクタント遺伝子が特異的に発現する。この遺伝子群の一つであるサーファクタントプロテインAの生殖細胞系遺伝子異常の家系では間質性肺炎と肺癌の合併が多いという報告(van Moorsel, CH, et al., Am J Respir Crit Care Med, 2015)や、間質性肺炎合併肺癌の肺癌細胞に肺サーファクタント遺伝子群の体細胞変異が多いという報告(Honda T, et al., JCO Precision Oncology, 2018)など、近年、肺幹細胞特異的遺伝子の異常が間質性肺炎や肺癌に関連するという報告が国内外で散見される。以上より、申請者は肺幹細胞が間質性肺炎や肺癌の発症に強い関連を持ち、そのメカニズムを解明することで発症予防へつながるのではないかとこの着想に至った。

### 3. 研究の方法

ヒトiPS細胞から肺オルガノイドを分化誘導し、実験に用いた。具体的な評価方法としては、フローサイトメトリーや蛍光免疫染色を用いた。

また、疾患の統合的理解のため、肺癌や間質性肺炎の患者の臨床研究や症例報告を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) ヒトiPS細胞由来肺オルガノイドの作製体制の立ち上げ

このヒトiPS細胞由来肺オルガノイドには肺の組織幹細胞である2型肺胞上皮細胞が約20%含まれていることをフローサイトメーターで確認した(図1)。また、免疫染色で上皮細胞と線維芽細胞を同定した(図2)。そして、幹細胞学視点からの研究として、昨年度、染色評価に適した幹細胞マーカーとして策定したTTF-1やSOX9、SOX2について染色性を確認した。

加えて、RNA-seqなどの網羅的トランスクリプトーム解析の解析体制を構築した。

## (2) 間質性肺炎と肺癌についての臨床研究・症例報告

慢性炎症と発癌の関連というテーマから、肺炎と肺癌を合併した患者について症例報告を行った (Ikeo S, et al. Thoracic Cancer, 2023)。本症例では、薬剤性肺障害と呼ばれる間質性肺炎の一種の合併が疑われ、正確な機序は不明ではあるものの、何らかの肺胞上皮への細胞ダメージを来したと考えられる症例であった。

肺癌についての統合的理解を深めるため、肺癌患者における自己抗体について解析し、学会発表を行った (池尾, 他. 第 64 回日本肺癌学会学術集会)。PD-1/PD-L1 シグナルは肺癌微小環境において重要な経路の一つであり、抗 PD-1/PD-L1 抗体は肺癌治療のキードラッグである。しかし、肺癌患者血清中に治療前から存在する抗 PD-1 抗体と肺癌の臨床的関連は不明であった。本発表では、進行肺癌における治療前の血清抗 PD-1 抗体を間接 ELISA 法で測定し、抗 PD-1 抗体高値群に比して低値群で OS や PFS が長い傾向にあったことを示した。治療導入前の血清中抗 PD-1 抗体は進行肺癌のバイオマーカーとなる可能性が示された。

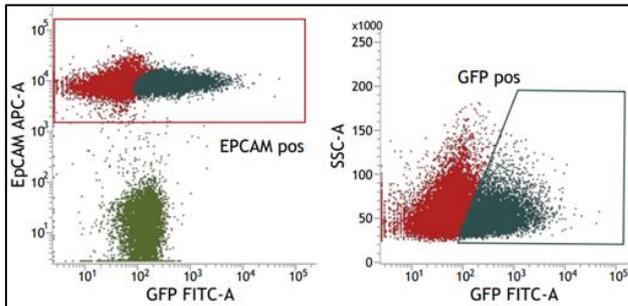


図1 ヒトiPS細胞由来肺オルガノイド解析  
GFP陽性が2型肺胞上皮細胞を示す。  
EPCAM陽性細胞のうち、20-30%がGFP陽性である。

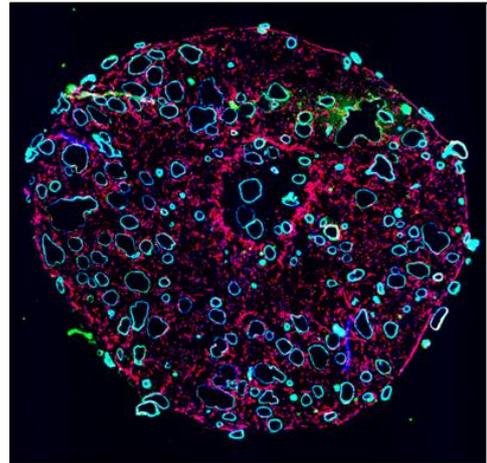


図2 ヒトiPS細胞由来肺オルガノイド  
緑：上皮細胞 (EPCAM陽性細胞)、  
赤：線維芽細胞 (Vimentin陽性細胞)、  
青：細胞核 (Hoechst 33342) を示す。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ikeo Satoshi, Yasuda Naoaki, Sakai Yuki, Hayashi Yasuyuki, Sokai Akihiko, Iwata Toshiyuki, Nishimura Takashi	4. 巻 14
2. 論文標題 Transient asymptomatic pulmonary opacities in a patient with MET exon 14 skipping non small cell lung cancer: A case report	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Thoracic Cancer	6. 最初と最後の頁 958 ~ 960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1759-7714.14831	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 -

1. 著者名 Nogami Naoyuki, Kubo Toshio, Bessho Akihiro, Sakugawa Makoto, Ikeo Satoshi, Yokoyama Toshihide, Seki Nobuhiko, Ochiai Ryosuke, Fujimoto Nobukazu, Murakami Shuji, Kaira Kyoichi, Harada Toshiyuki, Kishino Daizo, Takiguchi Yuichi, Shimokawa Tsuneo, Kiura Katsuyuki, Yamashita Natsumi, Okamoto Hiroaki	4. 巻
2. 論文標題 A single arm Phase I/II trial on the combination of carboplatin, nab-paclitaxel and avastin as first-line treatment for advanced non-squamous non-small cell lung cancer (TORG1424/OLCSG1402: CARNAVAL)	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyae044	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 池尾 聡, 他
2. 発表標題 ヒトiPS細胞を用いた呼吸器上皮細胞への分化誘導技術と細胞ファイバ技術を融合した新たな培養メソッドで切り開く肺再生研究の未来
3. 学会等名 第62回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoshi Ikeo, et al.
2. 発表標題 Integration of the Induction Method of Human Pluripotent Stem Cells into Respiratory Epithelial Cells and Core-Shell Hydrogel Microfiber Culture Technology
3. 学会等名 American Thoracic Society 2022 International Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池尾 聡, 他
2. 発表標題 当院で経験したMET exon14 skipping変異陽性非小細胞肺癌の検討
3. 学会等名 第63回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安田 直晃, 池尾 聡, 他
2. 発表標題 当院の非小細胞肺癌症例におけるマルチプレックス遺伝子パネル検査の実際とドライバー遺伝子検出率に関する検討
3. 学会等名 第63回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩田 敏之, ..., 池尾 聡, 他
2. 発表標題 当院における進行非小細胞肺癌に対するニボルマブ+イピリムマブを含む化学療法の有効性と安全性の検討
3. 学会等名 第64回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 池尾 聡, 他
2. 発表標題 進行肺癌患者における治療開始前血清中抗PD-1抗体価と臨床経過の関連：多施設共同前向き観察研究
3. 学会等名 第64回日本肺癌学会学術集会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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