

肺癌の浸潤・転移における ペリオスチンの関与の解明

[1] 組織

代表者：佐藤 賢一
(宮城県立がんセンター研究所)

対応者：岡田 克典
(東北大学加齢医学研究科)

分担者：岡崎 敏昌
(宮城県立がんセンター研究所)

研究費：物件費 10万円 旅費 0円

[2] 研究経過

研究背景・目的

肺癌は現在本邦で男性の癌死第1位、女性でも第2位に挙げられ、男女計で第1位の疾患であり、いまだ増加傾向にある。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。

近年、癌の浸潤・転移に細胞外マトリックス(ECM)タンパクであるペリオスチン(PN)が関与することが報告されている。PNは当初、骨芽細胞に特異的に発現する遺伝子OSF-2としてクローニングされ、後に細胞接着に関与することからペリオスチンと改名された。PNはECMを構成する細胞、特に線維芽細胞などから分泌される。PNは癌だけでなく炎症や組織リモデリング、線維化などに関与していると多数報告されており、気管支喘息や肺線維症などの肺疾患にも関連している。肺癌においても間質における発現が予後不良と関連していることが示唆されている。しかし、PNが肺癌の進展にどのように関与しているかといった詳細な検討は未だない。本研究は肺癌の浸潤・転移へのPNの関与を明らかにして、肺癌に対する治療標的になるか検討することを目的とする。

研究打ち合わせ等の開催状況

加齢研呼吸器外科学 岡田教授とは定期的な会議

を持ち研究方針の打ち合わせを行った。加えて随時メールを用いて方針の討議を行い、研究を推進した。分担者の岡崎特任研究員とは同施設内で、密接に連絡を取り合った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

1. 肺癌におけるPN発現

肺癌手術症例を、検体の免疫染色によりPN高発現と低発現に分類したところ、PNの発現は性別、喫煙歴、腫瘍径、病理学的N因子、胸膜浸潤、脈管侵襲と関連があった。低発現群は高発現群よりも予後が良く(図1)、進行がんであっても低発現群は比較的予後良好であった。Cox比例ハザードモデルでの多変量解析では病理学的T因子、病理学的N因子およびPN発現が独立した予後因子であった。

PN発現は肺癌の予後因子であったので、次に肺癌において機能性を有するかを検討した。

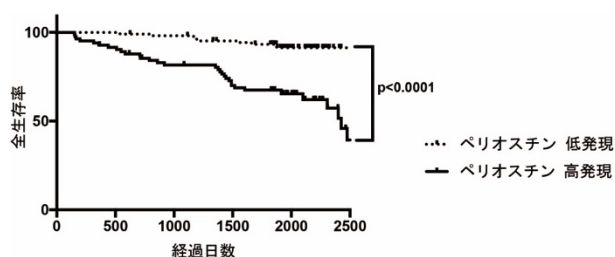


図1 PN発現による生存率

(Oncotarget (in press)より改変)

2. 肺癌における*in vivo*でのPN機能の解析

肺癌におけるPNの機能を検討するために、PNノックアウトマウス及びコントロールマウスにEx3LLを用いてマウスの左大腿に原発巣を作成し肺転移を起こさせる同系移植モデルを作成した。ノックアウトマウスにおいてEx3LLは原発巣・肺転移巣の双方において腫瘍増殖が抑えられた。転移の個数には差を認めなかった。またPNの有無でがん細胞が生着しやすいかを確かめるため、Ex3LLの尾静注による投与を

行ったが、肺転移の個数に差を認めなかった。

3. In vitro での PN 機能の解析

線維芽細胞株に Ex3LL の培養上清を加えると PN の発現が上昇することが確認された。PPN⁺線維芽細胞または PN⁺線維芽細胞と Ex3LL を共培養すると、PN⁺線維芽細胞群の方が Ex3LL の増殖が認められた。Ex3LL にリコンビナント PN による刺激を加えると、増殖能と浸潤能がともに亢進した。またリコンビナント PN による刺激では Ex3LL の ERK のリン酸化が促進された。そこでマウス検体のリン酸化 ERK の免疫組織染色を行った。ペリオスチン⁺マウスの原発巣ではリン酸化 ERK が腫瘍辺縁部で発現しており、間質のペリオスチン陽性領域が近接していることが確認されたが、ペリオスチン⁻マウスの原発巣ではリン酸化 ERK の発現が弱かった。これらの結果から Ex3LL 細胞におけるペリオスチンの主な下流シグナルが ERK であることが示された。これらの結果から、PN は肺癌に進展に関わっていることが示唆され、肺癌の進展を阻害するための標的分子としての有望性が示された。

(Oncotarget (in press))

<今後の展望>

肺癌において PN は ERK を介して腫瘍促進作用を発揮したが、ERK の上流である Ras や Raf、MEK と PN が直接関わるという報告はまだない。PN の接着分子である Integrin を介したシグナル伝達の 1 つに FAK→Ras→Raf→MEK→ERK の報告があり、これが PN の下流シグナルの 1 つである可能性があるため、今後はどのシグナル蛋白に作用するかを同定する予定である。

また PN の阻害薬が開発されているので肺癌進展の抑制が得られるかを *in vitro*、*in vivo* の両面から進めていき、PN が実際に治療標的になりうるかを確認する予定である。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、申請者が積極的に他研究室との討論・機器利用を行うきっかけとなり、研究交流の展開に大きく寄与した。肺癌の予後因子となりうる PN の機能を解析したことは、標的薬の開発において重要な手がかりとなると考えられた。

[4] 成果資料

学会発表

(1) Toshimasa Okazaki, Keiichi Tamai, Rie Shibuya, Mao Nakamura, Mai Mochizuki, Kazunori Yamaguchi, Kennichi Satoh

Periostin promotes tumor progression in non-small cell lung cancer.

ポスター, 第76回日本癌学会学術総会, 2017.9

発表論文

[1] T. Okazaki, K. Tamai, R. Shibuya, M. Nakamura, M. Mochizuki, K. Yamaguchi, J. Abe, S. Takahashi, I. Sato, A. Kudo, Y. Okada, K. Satoh, Periostin is a negative prognostic factor and promotes cancer cell proliferation in non-small cell lung cancer, *Oncotarget in press*

[2] M. Yokoyama, N. Tanuma, R. Shibuya, T. Shiroki, M. Abue, K. Yamamoto, K. Miura, K. Yamaguchi, I. Sato, K. Tamai, K. Satoh, Pyruvate kinase type M2 contributes to the development of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the production of metabolites and reactive oxygen species, *Int J Oncol* (52) 881-891, 2018

[3] T. Shiroki, M. Yokoyama, N. Tanuma, R. Maejima, K. Tamai, K. Yamaguchi, T. Oikawa, T. Noguchi, K. Miura, T. Fujiya, H. Shima, I. Sato, N. Murata-Kamiya, M. Hatakeyama, K. Iijima, T. Shimosegawa, K. Satoh, The enhanced expression of PKM2 is involved in the gastric cancer development via regulating cancer specific metabolism, *Cancer Sci*, 2017

[4] K. Nasu, K. Yamaguchi, T. Takanashi, K. Tamai, I. Sato, S. Ine, O. Sasaki, K. Satoh, N. Tanaka, Y. Tanaka, T. Fukushima, H. Harigae, K. Sugamura, Crucial role of carbonic anhydrase IX in tumorigenicity of xenotransplanted adult T-cell leukemia-derived cells, *Cancer Sci* (108) 435-443, 2017

[5] H. Katayama, K. Tamai, R. Shibuya, M. Nakamura, M. Mochizuki, K. Yamaguchi, S. Kawamura, T. Tochigi, I. Sato, T. Okanishi, K. Sakurai, W. Fujibuchi, Y. Arai, K. Satoh, Long non-coding RNA HOTAIR promotes cell migration by upregulating insulin growth factor-binding protein 2 in renal cell carcinoma, *Sci Rep* (7) 12016, 2017