

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 7 日現在

機関番号：14202

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890085

研究課題名（和文）

肺癌の早期診断マーカーの探索と分子標的治療への可能性の検討

研究課題名（英文）

Identification of biomarker and therapeutic target for lung cancer

研究代表者

高野 淳（TAKANO ATSUSHI）

滋賀医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：50582607

研究成果の概要（和文）：肺癌cDNA microarray解析結果から、肺癌で高度に発現し、正常臓器での発現が低い分泌蛋白LASEP3（Lung Cancer Associated Serum Protein3）を同定した。免疫組織染色による検討で、LASEP3は、非小細胞肺癌の組織で高発現を認め、また、予後不良因子であった。ELISA法により非小細胞肺癌患者LASEP3の血清濃度を検討したところ、LASEP3陽性率は61.8%であった。肺癌細胞株におけるLASEP3の発現をsiRNAで阻害したところ、有意に細胞増殖が抑制された。LASEP3は肺癌の有用な新規血清バイオマーカーであり、非小細胞肺癌の組織予後マーカー、治療標的分子候補であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Immunohistochemical analysis showed that LASEP3 was over-expressed in lung cancers. In addition, a high level of LASEP3 expression was associated with poor prognosis for NSCLC patients. The proportion of serum LASEP3-positive cases was 61.8% of NSCLCs, while 5.5% of healthy volunteers were falsely diagnosed. Furthermore, treatment of lung cancer cells with siRNAs against LASEP3 suppressed its expression and resulted in growth suppression of the lung cancer cells. We have identified LASEP3 as a potential target for the development of diagnostic and prognostic biomarkers for lung cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,150,000	345,000	1,495,000
2011年度	1,050,000	315,000	1,365,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科一般（含心身医学）

キーワード：肺癌、バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

肺癌は癌死の第1位を占めており、約70%が手術不可能な進行期肺癌で発見される。抗がん剤治療、放射線治療などが行われるが、予後不良な疾患である。肺癌による死亡が多い最大の原因は早期発見が困難なことで進行癌に有効な治療法が確立していないことである。実際、肺癌の中でも比較的治癒率が高いのは非小細胞肺癌の病期IA期のみで、病期が進むにつれて5年生存率は大幅に低下する。近年、分子腫瘍学の発展により開発された分子標的薬などにより肺癌の治療成績が向上しているが、その治療成績は十分であるとは言えない。そのため、新たな早期診断マーカーや新規治療標的分子による治療法の開発が必要である。我々はこれまで、新規診断マーカー、新規治療標的分子を開発することを目的として取得された約120症例の肺癌手術検体を用いたcDNAマイクロアレイの発現プロファイルより、肺癌で高頻度に発現上昇し、生命維持に重要な正常組織での発現が低い遺伝子に着目し研究を行い、腫瘍マーカー・治療標的分子の一部については報告してきた。

2. 研究の目的

新規血清学的・組織学的診断マーカーの同定
早期診断、予後診断、薬剤感受性診断を含めた血清マーカーとしての有用性を検討する。組織での染色と臨床病理学的因子を調べて、組織学的予後マーカーを探索する。

新規治療標的分子の開発

肺癌の増殖浸潤に関わるタンパクを抽出し、siRNA、抗体（シグナル伝達阻害、ADCC、CDC活性を利用）などを用いて、新規治療薬の開発を行う。

3. 研究の方法

①腫瘍マーカーの探索

腫瘍マーカー候補を抽出: がん患者の検体（がん患者組織、がん患者血清など）を用いて、ELISA、免疫組織染色、Western blotで検討。

再発マーカー、予後マーカー: 肺癌手術後に経時的に採取した血清中の濃度を検討

早期診断マーカー: 肺癌診断前後の採取した血清中の濃度を検討

→診断、再発、予後に関係する腫瘍マーカーの体系化を行う

早期の実用化: 複数の施設からの組織検体、血清を用いて腫瘍マーカーのvalidation studyを行う。

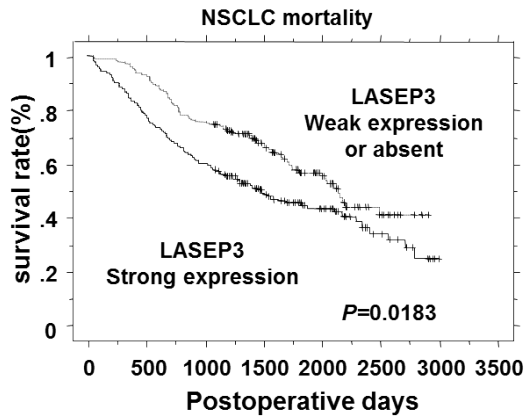
② 治療標的分子候補の探索

肺癌の増殖、浸潤に関わるタンパクを抽出: siRNA, Matrigel invasion assayにて検討。

治療薬の開発: in vitro, in vivoで抗体によるがん細胞の増殖抑制効果、ADCC, CDC活性の検討。siRNA薬の検討。

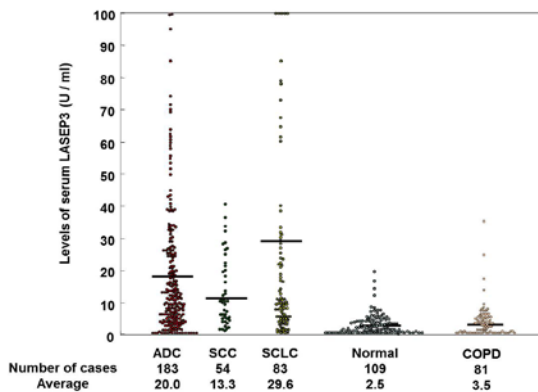
4. 研究成果

120症例の肺がんマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析により、非小細胞肺癌で高頻度に発現上昇し、正常臓器での発現が低い分泌蛋白LASEP3（Lung Cancer Associated Serum Protein3）を同定した。根治的腫瘍切除術を受けた非小細胞肺癌361症例と抗LASEP3抗体を用いた免疫組織染色による検討では、LASEP3は、非小細胞肺がんの54.8%（198/361例）で高レベルの発現を認めた。LASEP3強陽性は予後不良因子であった（ $P=0.0183$ ）。（図1）



(図1) 非小細胞肺癌組織での LASEP3 発現と予後との相関

ELISA 法による非小細胞肺癌患者血清における LASEP3 陽性率は 61.8% (160/259 例) (腺癌:63.6% 131/206 例、扁平上皮癌:54.7% 29/53 例)、健常者での偽陽性率は 5.5% (6/109 例)であった。(図 2)



(図 2) 肺癌患者血清中の LASEP3 濃度

LASEP3 と CEA を組み合わせると感度 79.5%、偽陽性率は 7.3%であった。さらに血清 LASEP3 は、小細胞肺癌、乳癌、子宮頸癌、大腸癌でも健常者と比べて有意に高値を示した。機能解析を目的として肺癌細胞株における LASEP3 の発現を siRNA で阻害したところ、有意に細胞増殖が抑制された。LASEP3 は非小細胞肺癌をはじめとして多臓器の癌の有用な新規血清バイオマーカーであり、非小細胞肺癌の組織予後マ

ーカーであると考えられた。

(まとめと今後の展望)

肺癌マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析により、肺癌の血清バイオマーカー、組織予後マーカー LASEP3 を同定した。LASEP3 は、肺癌の生存、増殖に重要であることが分かった。今後は、これまでの成果を基に、より効率的に肺癌を検出できるよう臨床応用を目指し解析を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

(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 4 件)

1. Masuda K, Takano A, Oshita H, Akiyama H, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y, Daigo Y. Chondrolectin is a novel diagnostic biomarker and a therapeutic target for lung cancer. Clin Cancer Res. 2011 Dec 15;17(24):7712-22. (査読有)
2. Nishino R, Takano A, Oshita H, Ishikawa N, Akiyama H, Ito H, Nakayama H, Miyagi Y, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y, Daigo Y. Identification of Epstein-Barr Virus-Induced Gene 3 as a Novel Serum and Tissue Biomarker and a Therapeutic Target for Lung Cancer. Clin Cancer Res. 17(19):6272-6286 · 2011 (査読有)
3. Tanaka S, Hattori N, Ishikawa N, Shoda H, Takano A, Nishino R, Okada M, Arihiro K, Inai K, Hamada H, Yokoyama A, Kohno N. Krebs von den Lungen-6 (KL-6) is a prognostic biomarker in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. Int J Cancer. Feb 23 2011. (査読有)
4. Sato N, Yamabuki T, Takano A, Koinuma J, Aragaki M, Masuda K, Ishikawa N, Kohno N, Ito H, Miyamoto M, Nakayama H, Miyagi Y, Tsuchiya E, Kondo S, Nakamura Y, Daigo Y. Wnt inhibitor Dickkopf-1 as a target for passive cancer immunotherapy. Cancer Res. 70 (13) :5326-36.2010 (査読有)

[学会発表] (計 7 件)

1. 高野 淳、中村 祐輔、醍醐 弥太郎
網羅的遺伝子発現情報解析による肺癌の新規バイオマーカーで治療標的分子である LASEP3 の同定と機能解析

第 56 回人類遺伝学会 2011.11.11, 千葉

2. 高野 淳、益田 健、宮城 洋平、土屋 永寿、河野 修興、中村 祐輔、醍醐 弥太郎
肺癌の血清診断バイオマーカーLASEP1の同定と抗体療法の開発
第 70 回日本癌学会
2011.10.5, 名古屋

3. Identification of LASEP3 as a new serological and prognostic biomarker for lung cancer. Atsushi Takano, Yusuke Nakamura, Yataro Daigo
第 9 回 臨床腫瘍学会 2011.7.22, 横浜

4. A. Takano, Y. Nakamura, Y. Daigo,
Identification of LASEP3 as a new serological and prognostic biomarker for lung cancer.
2011 ASCO Annual meeting 2011.6.6, Chicago, USA

5. 滋賀医科大学病院における緩和ケアチームの取り組みと大学病院における緩和ケアの考察

高野淳、小林遊、龍神慶、服部聖子、千葉幹夫、森田幸代、遠藤善裕、醍醐弥太郎
第 109 回日本内科学会総会, 2011.4.17, 東京

6. Atsushi Takano, Ken Masuda, Yohei Miyagi, Eiju Tsuchiya, Nobuoki Kohno, Yusuke Nakamura, Yataro Daigo,
Identification of a lung cancer growth factor, LASEP1 as a serological and prognostic biomarker and a therapeutic target
102nd AACR Annual meeting 2011.4.5, Orland, USA

7. 高野 淳、中村 祐輔、醍醐 弥太郎
肺癌の新規バイオマーカーで治療標的分子である LASEP1 の機能解析
第 69 回日本癌学会 2010.9.23, 横浜

〔図書〕(計 1 件)

高野淳、醍醐弥太郎、総合医学社、分子標的治療薬-最新の選び方・使い方-I I (Q 1 2 小分子化合物 2 エルロチニブ)、2011, 240 ページ、
がん分子標的治療薬の使い方 Q 1 2 小分子化合物 2 エルロチニブ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高野 淳 (TAKANO ATSUSHI)
滋賀医科大学・医学部・特任助教
研究者番号：50582607

(2) 連携研究者

醍醐 弥太郎 (DAIGO YATARO)
滋賀医科大学・医学部・特任教授
研究者番号：50582607