



|              |                                                                                                                                                       |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Pirfenidone plays a biphasic role in inhibition of epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer                                    |
| Author(s)    | 藤原, 綾子                                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学, 2017, 博士論文                                                                                                                                      |
| Version Type |                                                                                                                                                       |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/61640">https://hdl.handle.net/11094/61640</a>                                                                   |
| rights       |                                                                                                                                                       |
| Note         | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名<br>Name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 藤原 綾子                                                                                                                                                            |
| 論文題名<br>Title                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Pirfenidone plays a biphasic role in inhibition of epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer<br>(ビルフェニドンは非小細胞肺癌における上皮間葉移行 (EMT) を二相性に抑制する) |
| 論文内容の要旨                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                  |
| <p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>上皮間葉移行Epithelial-Mesenchymal Transition(EMT)とは、上皮細胞がその細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い、間葉系細胞へと変化するプロセスである。腫瘍細胞が転移能を獲得する際に、EMTが関与することが知られている。近年、特発性間質性肺炎治療薬である抗線維化剤pirfenidone (PFD) のII型肺胞上皮細胞に対するEMT抑制効果や、一部の悪性腫瘍細胞に対する抗腫瘍効果が報告された。そこで、非小細胞肺癌におけるPFDによるEMT抑制を介した抗腫瘍効果の有無について検討した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>方法：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>① 肺癌細胞株A549において、TGF-<math>\beta</math>1を用いてEMTを誘導し、PFDによるEMT抑制効果とその経路を検討した。</li> <li>② 肺癌細胞株A549において、抗癌剤carboplatin(CB)反復暴露による変化とPFD添加による影響を検討した。</li> <li>③ 免疫不全マウスの動物モデルにおいて、PFDによる肺癌細胞への抗腫瘍効果および抗癌剤との併用効果を検討した。</li> </ol> <p>成績：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>① A549をTGF-<math>\beta</math>1 (2ng/ml) で刺激すると細胞形態が敷石状から紡錘状に変化し、この変化はPFD添加 (500<math>\mu</math>g/ml) によって抑制された。Western blotおよびimmunofluorescenceで、TGF-<math>\beta</math>1刺激によって間葉系マーカーであるN-cadherin発現の増加と上皮系マーカーであるE-cadherin発現の低下を認め、PFDによって抑制された。TGF-<math>\beta</math>1刺激下のqRT-PCRでは、PFDによってN-cadherin発現が28.3%抑制され、E-cadherin発現は28.8%回復した。TGF-<math>\beta</math>1刺激による細胞遊走・浸潤能の増加はいずれもPFD添加で抑制された。また、PFDはTGF-<math>\beta</math>1刺激によるSmad2のリン酸化・核移行およびTGF-<math>\beta</math>レセプターIの発現を抑制した。</li> <li>② CBの反復暴露 (5<math>\mu</math>M→25<math>\mu</math>Mに漸増) によりA549の細胞形態変化と細胞間接着の低下を認め、PFD添加 (200<math>\mu</math>g/ml) によってこれらの変化が抑制された。qRT-PCRでは、CBによるTGF-<math>\beta</math>1およびN-cadherin発現の増加を認め、PFDによって各37.1/30.9%抑制された。また、CBはTGF-<math>\beta</math>1上清内濃度を増加させ、PFD添加によって抑制された。さらに、PFDはCBの細胞増殖抑制効果を濃度依存的に増強した (P=0.02、増殖抑制増強効果：7.2-18.1% &lt; PFD100<math>\mu</math>g/ml&gt;、19.1-23.6% &lt; PFD250<math>\mu</math>g/ml&gt;、40.3-50.5% &lt; PFD500<math>\mu</math>g/ml&gt;)。</li> <li>③ マウス皮下にA549を移植し、4週間後にコントロール群、PFD群、CB群、PFD+CB併用群の4群に分け、対象群にはCBの単回腹腔内投与と20日間のPFD腹腔内投与を行った。コントロール群に比べ治療群で腫瘍サイズの縮小傾向を認め、併用群では有意に腫瘍増殖を抑制した (P=0.04)。増殖マーカーKi67の免疫染色は全治療群で染色度が低下した。Ki67 labelling indexは併用群で最低値であり、コントロール群に比し36.8%低下した。EMTマーカーの免疫染色では、CB群でN-cadherin、FAP発現の増加およびE-cadherin発現の低下を認め、CBによるEMT誘導が示唆されたが、PFD併用で抑制された。</li> </ol> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>PFDは非小細胞肺癌においてTGF-<math>\beta</math>1により誘導されるEMT変化を抑制し、さらにTGF-<math>\beta</math>1産生を減少させることで、多面的に抗腫瘍効果を発揮する可能性が示唆された。</p> |                                                                                                                                                                  |

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

|         |     |        |        |
|---------|-----|--------|--------|
| (申請者氏名) |     | 藤原 彩子  |        |
| 論文審査担当者 | (職) | 氏 名    |        |
|         | 主 査 | 大阪大学教授 | 奥村 明之進 |
|         | 副 査 | 大阪大学教授 | 野々村 祝夫 |
|         | 副 査 | 大阪大学教授 | 奥山 宏臣  |

**論文審査の結果の要旨**

上皮間葉移行Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) とは上皮細胞がその細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い間葉系細胞へと変化するプロセスで、悪性腫瘍においては腫瘍細胞の浸潤・転移能の獲得や抗癌剤の耐性化に関与することが知られている。本研究では、非小細胞肺癌における抗線維化薬pirfenidone (PFD) のEMT抑制を介した抗腫瘍効果について検討されている。

肺腺癌細胞株A549にTGF- $\beta$ 1を用いてEMTを誘導し、PFDを作用させるとEMT変化が抑制された。この抑制過程にSmad2のリン酸化およびTGF- $\beta$ レセプター1の発現抑制が関与していることが示された。A549に抗癌剤carboplatin (CB) を継続暴露させるとEMTが誘導され、PFD併用により抑制された。また、マウスモデルでPFDをCBと併用することでCBの抗腫瘍効果が増強され、EMTマーカーの発現が抑制された。

これらにより、PFDは非小細胞肺癌においてEMT変化を抑制することで抗腫瘍効果を示す可能性が示唆された。本研究は今後の癌治療の進歩・トランスレーショナルリサーチへの貢献が期待できると考え、学位に値するものと認める。