



Title	Periostin secreted by activated fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis promotes tumorigenesis of non-small cell lung cancer
Author(s)	大和, 寛幸
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/87893
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

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 Name	大和 寛幸
論文題名 Title	Periostin secreted by activated fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis promotes tumorigenesis of non-small cell lung cancer (特発性肺線維症で活性化された線維芽細胞から分泌される Periostinが非小細胞肺癌の腫瘍形成を促進する)
論文内容の要旨 【Purpose】 Periostinは、Integrin分子を介して細胞の増殖を促進する細胞外マトリックスの蛋白であり、特発性肺線維症 (IPF) の主要病態である線維芽細胞の異常活性化に深く関与し、多くの癌腫では癌の増殖を促進し、予後不良に関連するとされている。IPFとは、肺実質における線維芽細胞の活性化を特徴とする慢性進行性の疾患であり、肺癌 (LC) 発症の危険因子であり、IPF合併肺癌 (LC-IPF) は、IPF非合併肺癌 (LC-non-IPF) よりも予後が悪い。IPFの病態がLCの悪性化に関係しているという報告もあるが、そのメカニズムの詳細は不明な点が多く、また臨床現場ではLC-IPFに対する治療はIPFの急性増悪のリスクがあるため手術以外の選択肢が無く、LC-IPFに対する新たな治療法の開発は急務である。今回、IPFと癌進展に関連するPeriostinに着目し、IPFの活性化した線維芽細胞におけるPeriostinの発現が、LC-IPFの腫瘍進行に関与していることを仮説とし、IPF背景肺の線維芽細胞と肺癌細胞のPeriostinによる相互作用を解明し、IPF合併肺癌の新規治療の可能性を模索することを目的とした。 【Methods/Results】 <u>1. LC-IPF切除検体におけるPeriostinの発現解析: 1-1. 肺癌切除病理検体のPeriostin分布の検討:</u> 肺癌切除病理検体のPeriostinの免疫染色では、LC-IPF、LC-non-IPFそれぞれの肺癌と癌周囲の組織の間質でPeriostinが高発現しており、LC-IPFの癌周囲、特にIPF線維化病変でPeriostinの発現率が最も高値であった。 <u>1-2. 肺癌切除検体から単離培養した線維芽細胞のPeriostin発現の検討:</u> LC-non-IPFから単離培養した群 (n=5) よりLC-IPF群 (n=7) で、qPCRでの遺伝子発現、培養上清 (CM) での分泌 (ELISA) 共に高値であった。 <u>2. IPF由来線維芽細胞におけるPeriostin発現と腫瘍増殖能の解析: 2-1. Recombinant human Periostin (rh-Periostin) の肺癌細胞株 (A549, NCI-H520) の増殖への影響の検討:</u> 2次元 (D) 培養下にrh-Periostin刺激で肺癌細胞株の増殖亢進を認めた。次に、生体内により近い環境としてマトリゲルを使用した3D培養し、癌細胞が形成するsphereの大きさで増殖を評価したところ、rh-Periostin刺激で増殖亢進を認めた。 <u>2-2. 線維芽細胞株のCMを用いて肺癌細胞株の増殖シグナル (Erk, Akt) と細胞増殖への影響の検討:</u> 2D培養ではIPF由来線維芽細胞 (DIPF) のCM (iCM) では、正常肺由来線維芽細胞 (NHLF) のCMより肺癌細胞株の増殖が亢進し、Western Blotでの増殖シグナルの評価でもiCMでリン酸化が亢進されていた。3D培養でも同様にiCMで肺癌細胞株の増殖が亢進した。 <u>2-3. iCMにPeriostin中和抗体 (OC-20) 添加による肺癌細胞株の増殖、増殖シグナルへの影響の検討:</u> iCMで亢進した肺癌細胞株の増殖は、OC-20添加で抑制され、増殖シグナルのリン酸化も同様に抑制された。 <u>2-4. 肺癌細胞株と線維芽細胞株の共接種マウスモデルで腫瘍増殖能の検討:</u> 肺癌細胞株とDIPFまたはNHLFをヌードマウスの皮下に共接種し (各群n=6)、28日後に犠牲死させ、腫瘍重量とPeriostin発現を免疫染色で評価した。腫瘍重量はNHLF群に比してDIPF群でより重量が重く、Periostinの腫瘍内発現はDIPF群で高かった。また、増殖指標となるKi-67 IndexもDIPF群で高かった。 <u>3. Periostin受容体発現制御による腫瘍増殖能の解析: 3-1. Periostinの受容体のintegrin $\beta 3$ (ITB3) をKnockdownした肺癌細胞株 (ITB3-depleted-A549 (NCI-H520)) のiCMによる増殖への影響の検討:</u> 非哺乳類のRNAをKnockdownした肺癌細胞株をMock-A549 (NCI-H520) とし、3D培養を行った。Mock群はiCMで増殖亢進を認めたのに対し、ITB3-depleted群ではiCMによる増殖が抑制された。 <u>3-2. ITB3-depleted-A549 (NCI-H520) とDIPFの共接種マウスモデルで腫瘍増殖能の検討:</u> ITB3-depleted-A549 (NCI-H520) のみかDIPFと混合したものをそれぞれヌードマウスの皮下に注入し (各群n=5)、28日目に犠牲死させ、腫瘍重量とKi-67を免疫染色で評価した。腫瘍重量とKi-67は共にMock群ではDIPFの有無で有意差はあるが、ITB3-depleted群ではDIPFの有無で有意差が無かった。 【Conclusion】 IPF背景肺における活性化した線維芽細胞がPeriostin分泌を介し肺癌の悪性度を高めており、PeriostinがLC-IPFの病態に合わせた新たな治療標的になりうる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大和 寛幸	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 新谷 康
	副 査 大阪大学教授 島津 研三
	副 査 大阪大学教授 江口 英利

論文審査の結果の要旨

特発性肺線維症 (IPF) 合併肺癌 (LC-IPF) は予後が不良なことは知られているが、その機序は明らかでない。本研究は、IPF由来線維芽細胞 (DIPF) から分泌されたPeriostin (Pn) の肺癌細胞への影響を解析し、肺癌治療の標的分子になりえるかを検討した。肺癌切除検体におけるPnの発現解析ではPnが癌間質に比べてIPFの間質 (非癌部) に発現を認めた。DIPFからPnが多く分泌され、分泌されたPnによって肺癌細胞の増殖が亢進した。さらに、Pnを阻害することで、肺癌細胞の増殖が抑制されることがin vitro, in vivoの実験において判明した。つまり、IPFにおいて活性化した線維芽細胞がPn分泌を介して肺癌の増殖に関与していることが示唆され、PnがLC-IPFの新たな治療標的になりえることをScientific reportsで発表し、この業績が学位の授与に値すると考えられる。