

## TPX2 を介した肺腺癌の浸潤メカニズムを解明する

### 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	コバヤシアヤカ 小林 彩香
所属等	森ノ宮医療大学 保健医療学部 臨床検査学科 助教
プロフィール	平成 20 年 3 月に鳥取大学医学部保健学科検査技術科学専攻を卒業し、臨床検査技師の資格を取得。その後、大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻予防診断学研究室にて修士課程を修了。その後、近畿大学医学部附属病院 病院病理部、大阪大学医学部附属病院 病院病理部にて検査技師として勤務し、臨床経験を積みました。その間に、細胞検査士資格を取得。現在は森ノ宮医療大学で臨床検査技師を教育しながら、大阪大学大学院医学系研究科病態病理学教室にて肺癌の研究をしています。

### 1. 研究の概要

今回対象としている肺腺癌は肺癌の中で最も多い組織型である。浸潤前に発見できれば 5 年生存率は、ほぼ 100%である。本研究を通して、肺腺癌の浸潤や細胞形態に特異的に寄与するタンパク質やその分子間相互作用を明らかにし、メカニズムを解明できれば、新しい早期診断法、予後予測法、鑑別法が開発できる可能性がある。本研究では、肺腺癌との関係があると予想した TPX2 という蛋白について発現を解析し、肺腺癌における TPX2 が浸潤や細胞形態にどのように関わるかを解明する。また、肺癌以外の肺疾患において TPX2 発現を確認し、新しい早期診断法や予後予測、鑑別法への応用を目指し以下の点から研究を進めている。

#### 1) 組織型別の TPX2 発現

免疫組織化学染色による TPX2 の発現をスコア化する。肺腺癌を、非浸潤癌 (Lepidic) ・浸潤癌 (Aciner, Solid, Papillary) それぞれの組織型に分類し相関を解析した。

#### 2) 肺癌細胞株を用いた機能解析

肺癌細胞株は、複数種類ある。まず、その中から TPX2 発現のある細胞株を見つけるため、細胞株をセルブロックにしたものを免疫組織化学染色し確認した。今後、ウエスタンブロッティングでも発現を確認する。発現が確認された細胞株の中から一番発現が強い 1 種類を選定し、

①浸潤能 ②形態変化 ③アポトーシス耐性 ④運動能を調査する予定である。

### 2. 研究の動機、目的

わが国の肺癌死亡率は増加傾向にあり、その中でも腺癌は現在最も多い組織型である。非喫煙者でも発症し、明らかな原因は未だ不明である。分子標的薬が登場し治療成績は向上しているが、浸潤や転移があると死亡率が高く、治りにくい癌の 1 つとされている。しかし、浸潤前に発見できれば 5 年生存率は、100%近い。

現在、CT の発達により浸潤前の腺癌を発見できる割合が増加しているが、異型腺種様過形成などの前癌病変や限局性肺炎、感染症などとの鑑別が難しく良悪の判断が困難である。発見後、経過観察で増大傾向があれば癌を疑い治療するという手法がとられている。このため、時期を逸しないために長期間の経過観察が必要であり、いつまで観察するかの一見解も得られていない。

以上のことより、生存率を上げ不要な経過観察を避けるために、①腺癌を浸潤前に早期発見する②発見した病変が、浸潤癌へと進行しうるものかを予測することが求められている。そこで、

浸潤がキーポイントになると考え本研究に着手するに至った。本研究では、腺癌における浸潤の分子機構を解明し新しい早期診断法や予後予測、鑑別法の開発を目指す。

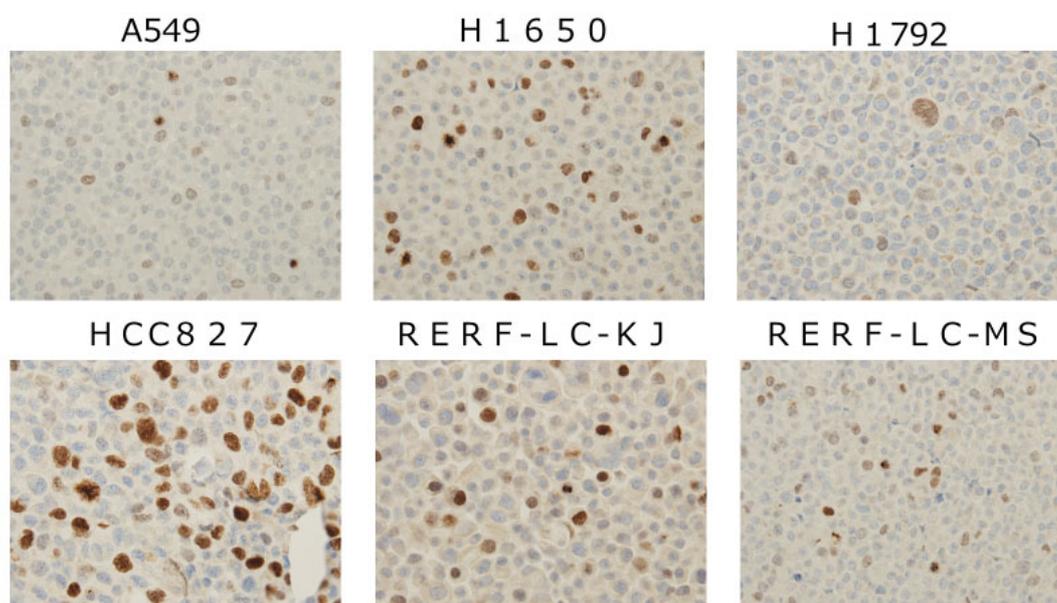
### 3. 研究の結果

#### 1) 組織型別のTPX2発現

肺腺癌80症例について免疫組織化学染色によるTPX2の発現をスコア化した。肺腺癌を、非浸潤癌 (Lepidic) ・浸潤癌 (Aciner、Solid、Papillary) それぞれの組織型に分類し相関を解析した。その結果、非浸潤癌 (Lepidic) と比較して浸潤癌のSolid type でTPX2の発現が有意に高かった。

#### 2) 肺癌細胞株を用いた機能解析

肺癌細胞株は、複数種類ある。今回6種類 (A549、H1650、H1792、HCC827、RERF-LC-KJ、RERF-LC-MS) の細胞株中から TPX2 発現のある細胞株を見つけるため、細胞株をセルブロックにしたものを免疫組織化学染色し確認した。各細胞株のTPX2発現の写真を以下に示す。その結果、H1650、HCC827の発現が強く、発現細胞数も多かった。この2種類の細胞株を用いて、機能解析を進めていく。



各細胞株のTPX2発現 (免疫組織化学染色法)

### 4. これからの展望

今回の研究結果を踏まえて、さらに以下の研究を進めていく予定である。

#### 1) 肺癌細胞株を用いた浸潤能の解析

ゲノム編集 (CRISPR-Cas9 システム) により TPX2 ノックアウト/ノックダウン 肺癌細胞株を作成する。その後、①Matrigel invasive assay により、浸潤能を比較する。浸潤に関連する②形態変化③アポトーシス耐性④運動能についても評価する。

#### 2) 網羅的遺伝子発現解析

TPX2 ノックアウト/ノックダウン 肺癌細胞株を用い RNA-Seq (または Microarray, 質量分析) にて網羅的遺伝子発現解析を行う。TPX2 ノックアウト/ノックダウンすることによって、発現に変化があった因子を同定する。

#### 3) スクリーニング

2)により同定した因子の肺腺癌手術組織における発現や、ノックアウト/ノックダウン細胞を作製し機能解析を行う。

このサイクルにより TPX2 に関連する因子も含め総合的に理解し、真に浸潤に関わる分子を明

らかにする。

今回、女性研究者奨励金をいただき、重要な実績となりました。本校のような小規模の私立大学は研究資金や設備が潤沢ではないため、今まで研究に必要な最低限の試薬や消耗品、機器をそろえるため何年もかけて少しずつ用意している状況でした。しかし今回、40万円もの奨励金をいただけたおかげで最小限の細胞培養用品を揃えることができました。研究をスムーズに進めることができます。研究者として、肺癌死亡率を下げ社会貢献することを目標にしています。また、現在大学教員として臨床検査技師の教育にも携わっております。学生に研究の奥深さを教えることにより、研究する人材が増え、よりよい医療に貢献してくれることを願っています。

## 5. 社会に対するメッセージ

平成30年4月から1年間の女性研究者奨励金をいただき、誠にありがとうございました。妊娠・出産のため、4～7月までの研究期間となってしまう申し訳ありません。平成30年7月14日～3月31日（7月23日出産）まで産休・育休を取らせていただきました。研究者にとって、ブランクを空けずに研究を少しずつでも進めていくことが重要だと思っています。しかし、女性研究者は妊娠や出産・子育てで研究を中断せざるを得ない時期があります。私は、その期間も少しずつ研究を進めたいと考えています。今回、女性研究者奨励金の採用が決まったときに、辞退すべきかどうかご相談させていただきましたが、ご厚意で奨励金をいただき心より感謝しています。いただいた奨励金で、研究に必要な基本的な試薬や消耗品を揃えさせていただきました。平成31年4月より、職場復帰させていただいており、産休・育休中の研究の遅れを少しずつ取り戻したいと考えております。

私は、研究だけでなく森ノ宮医療大学にて臨床検査技師の教育にも携わっております。臨床検査技師は、女性が多い傾向にあります。今後の教育指導の中で、女性が仕事をしながら子育てをし、研究もする姿を見せることで、よい影響を与えられるのではないかと考えています。将来的に、当校を卒業し研究に携わり、社会に貢献できる人材が増えていくことを願っています。

皆様からご支援をいただきました今回の研究は、肺癌死亡率を少しでも低下させたいとの思いから着手いたしました。肺癌は、分子標的薬が登場し治療成績は向上していますが、浸潤や転移があると死亡率が高く、治りにくい癌の1つです。しかし、浸潤前に発見できれば5年生存率は、100%近くになっており、早期発見ができるかどうか重要になっています。今後も研究を進め、人々が健康に過ごせるよう社会貢献していきたいと思っています。今後とも、ご支援の程よろしくお願いいたします。