

機関番号：12102
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20590362
 研究課題名(和文) 肺腺がんの発生及び悪性化における新規がん関連遺伝子 OCIAD2 の係わり
 研究課題名(英文) Contribution of new cancer related gene OCIAD2 to carcinogenesis
 and malignant alteration of pulmonary adenocarcinoma
 研究代表者
 南 優子 (MINAMI YUKO)
 筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授
 研究者番号：20466676

研究成果の概要(和文)：微小浸潤肺腺癌で高発現している遺伝子 OCIAD2 領域を含有する OCIAD2 領域を含有する 2 (OCIAD2) の蛋白特異的な合成ペプチドによるウサギポリクローナル抗体を作成し、小型肺腺癌 133 例、卵巣粘液性腫瘍 118 例を用い免疫染色を行った。肺癌では OCIAD2 の発現と予後の間に相関は見られなかったが、正常肺組織ではほとんど発現を見ないのに対し、多くの腫瘍細胞で発現がみられたため OCIAD2 の発現は腫瘍特異的と考えた。卵巣粘液性腫瘍では OCIAD2 の陽性率は腫瘍の組織型(悪性度)との間に有意な相関がみられ、組織学的に乳頭状増殖部位や間質浸潤部位に、強い陽性像が認められた。卵巣粘液癌では腹水や血清中に OCIAD2 の分泌があると予想されるので、その濃度測定系を作る目的で、卵巣粘液性腫瘍由来の細胞株をヌードマウスに移植し、その腫瘍を採取し OCIAD2 の発現を確認した。

研究成果の概要(英文)：Polyclonal antibody against the recombinant peptides of OCIAD2 domain containing 2 (OCIAD2) that was highly expressed in early invasive pulmonary adenocarcinoma was produced and we examined the expression of OCIAD2 in 133 small-sized lung adenocarcinomas and 118 mucinous ovarian carcinomas. There was no correlation between OCIAD2 expression and outcomes for lung adenocarcinoma. However, although almost all normal lung tissue was negative for OCIAD2, a number of tumour cells were stained by OCIAD2 antibody, therefore, OCIAD2 was thought to be lung adenocarcinoma specific cancer related antigen. On the other hand, OCIAD2 expression significantly correlated with malignant alteration in ovarian mucinous tumour. Histologically, OCIAD2 was strongly expressed in the papillary formation or the stromal invasion of tumour cells. It was expected that OCIAD2 might be secreted in the ascites or the serum of the patients with mucinous ovarian cancer. In order to construct the detection system for OCIAD2 in the ascites or the serum, we transplanted OCIAD2 positive ovarian tumour cell to the nude-mice, then made the genograft mice. The genograft tumour also revealed the OCIAD2 expression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：肺癌学、分子病理学、肺癌病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：(1)OCIAD2、(2)肺腺癌、(3)腫瘍マーカー、(4)新規予後関連遺伝子、(5)微小浸潤癌、(6)卵巣粘液性腫瘍、(7)担癌マウス

1. 研究開始当初の背景

肺癌は年間30万人の癌死亡者数の約2割を占め、予後の悪い癌の代表である。その肺癌の中でも最も頻度の高い組織型は肺腺癌であり、肺癌を征服するためには肺腺癌における発癌増悪の分子機構の解明が急務である。

一方肺腺癌を初めとして、肺癌の予後マーカーと呼ばれる蛋白は今までに多数報告されているが、追試によって予後マーカーとしての有意性が明らかになった蛋白は極めて少ない。そこで我々は、上皮内癌（細気管支肺胞上皮癌）から初期浸潤肺腺癌への時に特徴的に発現の亢進する遺伝子 OCIAD2 を同定した(Ishiyama T, Noguchi M et al. Cancer Science 2007 Jan;98(1):50-57)。

OCIAD2 は、OCIAD1 と OCIA domain family を形成している。OCIAD1 は卵巣癌患者の腹水を用いた卵巣癌の cDNA 発現ライブラリーの免疫スクリーニングによって同定された免疫反応性を持つ癌特異的蛋白である。OCIAD2 は OCIAD1 と相同性を持つ新規蛋白で、その機能解析は、国内外を通じ、ほとんどなされていない。OCIAD2 を発現する初期浸潤癌は、非発現初期浸潤癌より有意に予後が良い。また OCIAD2 はリンパ球の一部の細胞膜にも陽性であり、何らかの新規 CD 抗原を表現している可能性が高い。CD 抗原は細胞の接着、増殖に関わることが多いので、OCIAD2 もこのような機能を有する蛋白である可能性がある。

2. 研究の目的

- (1)免疫組織染色法で、OCIAD2 の発現を解析し組織学的特徴との関連および予後との関連をさらに詳細に検討する。
- (2)in vitro の系を利用して、OCIAD2 の機能解析を行う。
- (3)免疫組織化学染色にて OCIAD2 陽性のリンパ球の特徴を明らかにするとともに、OCIAD2 陽性リンパ腫細胞株を用いて、機能解析を行う。
- (4)OCIAD2 が高発現している培養細胞株を用い、ヌードマウスで腫瘍を作製し、血清の OCIAD2 の値を測定する。予後と関連する新たな血清マーカーとしての可能性を明らかにし、治療開始前に治療選択の参考になる補助診断法を確立する。

(5) OCIAD2 でモノクローナル抗体を作成し、生検材料などの小さな組織でも判定が可能な、治療選択の参考になる補助診断法を確立する。

3. 研究の方法

- (1) OCIAD2 蛋白特異的な合成ペプチドによるポリクローナル抗体を作成する。
- (2)外科的に切除された小型肺腺癌および卵巣粘液腫瘍の検体を用いて、抗 OCIAD2 抗体で免疫組織化学染色を行い、組織学的特徴、免疫染色の結果及び予後との関連を解析する。
- (3) 担癌マウスの血液中に腫瘍由来の RNA の存在を予測し、ヒト肺腺癌の培養細胞株、および卵巣粘液性腺癌の培養細胞株を用い同様に免疫組織化学染色を行い、OCIAD2 が高発現している細胞株を複数選択する。
- (4)これらの細胞株を、ヌードマウスに同所移植し、腫瘍形成実験を行い、担癌マウス実験系を確立する。
- (5)作製したヌードマウス実験系を利用した担癌マウスの血液、皮下腫瘍を採取する。
- (6)皮下腫瘍の凍結切片を作製し、この腫瘍より抽出した RNA にて RT-PCR を行い OCIAD2 の発現を確認する。
- (7)移植した腫瘍の組織ホルマリン固定標本を用いた免疫染色にてタンパクレベルでも OCIAD2 の発現を確認する。
- (8) 精製タンパクをマウスに免疫してモノクローナル抗体作成を行う。
- (9)作製したマウスモノクローナル抗体と既に作製したポリクローナル抗体を用いて、ELISA 法の系を確立し、血清および体腔液中の OCIAD2 値を測定するとともにヒトへの応用を検討する。

4. 研究成果

- (1) OCIAD2 蛋白特異的な合成ペプチドによるウサギポリクローナル抗体を作成した。
- (2) OCIAD2 リコンビナントタンパクをマウスに免疫し、モノクローナル抗体を複数作製した。
- (3)小型肺腺癌において OCIAD2 の発現は腫瘍特異的であることを見いだした。
- (4) 卵巣粘液腫瘍において OCIAD2 の陽性率

は腫瘍の組織型(悪性度)との間に有意な相関を見いだした。

(5)境界悪性腫瘍および粘液腺癌においては、組織学的に上皮が平坦な部分よりも、強い乳頭状増殖を示す部位や間質浸潤を示す部位に、OCIAD2のより強い陽性を示す事を見いだした。

(6)一方血液中には腫瘍形成のみられたマウスおよび腫瘍形成のみられなかったマウスとコントロールマウスの全てのマウスでOCIAD2の発現を認めた。

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6件)

(1): Sakashita S, Li D, Nashima N, Minami Y, Furuya S, Morishita Y, Tachibana K, Sato Y, Noguchi M. Overexpression of immunoglobulin (CD79a) binding protein1 (IGBP-1) in small lung adenocarcinomas and its clinicopathological significance. *Pathol Int.* 2011;61(3):130-7 査読有

(2): Shiba-Ishii A, Kano J, Morishita Y, Sato Y, Minami Y, Noguchi M. High expression of stratifin is a universal abnormality during the course of malignant progression of early-stage lung adenocarcinoma. *Int J Cancer.* 2011 Jan 4. [Epub ahead of print] 査読有

(3): Kobayashi H, Minami Y, Anami Y, Kondou Y, Iijima T, Kano J, Morishita Y, Tsuta K, Hayashi S, Noguchi M. Expression of the GA733 gene family and its relationship to prognosis in pulmonary adenocarcinoma. *Virchows Arch.* 2010;457(1):69-76 査読有

(4): Nakazato Y, Minami Y, Kobayashi H, Satomi K, Anami Y, Tsuta K, Tanaka R, Okada M, Goya T, Noguchi M. Nuclear grading of primary pulmonary adenocarcinomas: correlation between nuclear size and prognosis. *Cancer.* 2010 ;116(8):2011-9. 査読有

(5): Ishii A, Suzuki M, Satomi K, Kobayashi H, Sakashita S, Kano J, Pei Y, Minami Y,

Ishikawa S, Noguchi M. Increased cytoplasmic S100A6 expression is associated with pulmonary adenocarcinoma progression. *Pathol Int.* 2009 ;59(9):623-30. 査読有

(6): Anami Y, Iijima T, Suzuki K, Yokota J, Minami Y, Kobayashi H, Satomi K, Nakazato Y, Okada M, Noguchi M. Bronchioloalveolar carcinoma (lepidic growth) component is a more useful prognostic factor than lymph node metastasis. *J Thorac Oncol.* 2009;4(8):951-8. 査読有

[学会発表] (計2件)

(1): 永田千草, 小林弘美, 南優子, 森下由紀雄, 野口雅之, 卵巣粘液性腫瘍におけるOCIAD2の発現解析(Increase expression of OCIAD2 during stepwise progression of ovarian mucinous tumor), 第68回日本癌学会総会、横浜、2009年10月1日-3日

(2): 石井綾, 加野准子, 南優子, 小林弘美, 中里宜正, 野口雅之, 小型肺腺癌における予後良好群と不良群間の発現遺伝子プロファイルの比較解析(Comparison of the expression profiles between small lung adenocarcinomas showing favorable and unfavorable prognoses), 第67回日本癌学会総会、名古屋、2008年10月28日-30日

[図書] (計4件)

(1): 橘啓盛, 南優子, 野口雅之【肺癌 急速な変貌を遂げている肺癌診療の最新知識とその活用】セミナー/肺癌診療の最新知識とその活用 肺癌病理組織分類のupdate 有用な治療指針をめざして, *Medical Practice*, 2010;27(7):1139-1141 査読無

(2): 南優子, 野口雅之【臨床糖鎖バイオマーカーの開発 糖鎖機能の解明とその応用】臨床編 臨床的立場からの糖鎖関連バイオマーカーの可能性 肺癌の腫瘍マーカー 臨床的側面から: 遺伝子医学 *MOOK* 2008;11:Page270-272 査読無

(3): 小林弘美, 南優子, 野口雅之【肺癌基礎・臨床研究のアップデート】臨床研究 診断 組織診断 肺腺癌の病理と今後の展

望, 日本臨床;66(6) : Page359-363, 2008

査読無

(4): 坂下信悟, 南優子, 野口雅之【肺癌
UPDATE 研究と臨床の最前線】病理と診断
前癌病変と非浸潤癌, 医学のあゆ
み;224(13):Page1025-1029, 2008 査読無

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南 優子 (MINAMI YUKO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
准教授

研究者番号 : 20466676

(2) 研究分担者

野口 雅之 (Noguchi Masayuki)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
教授

研究者番号 : 00198582