

## 公益財団法人 東京医科大学がん研究事業団 がん研究助成金研究報告書

平成30年 6月 18日

公益財団法人

がん研究事業団理事長 殿

研究者 (職名)	氏名	所 属 施 設					
	嶋田 善久 (印) ( 助教 )	施設名	東京医科大学 呼吸器・甲状腺外 科学分野	所在地	新宿区西新宿6-7-1	電話	03-3342-6111
研究課題	血清由来exosomeを用いた肺小細胞がん転移機構の解析とUCHL1阻害剤の応用						
研究目的	<p>肺がん全体の15%を占める小細胞がん(SCLC)は非小細胞がん(NSCLC)と比較し急速進行性であり、プラチナ製剤併用療法に対する感受性は高いが、短期間で再発・増悪する。</p> <p>SCLC遺伝子変異としてTP53/RB1不活化、MYC増幅などが特徴的であるが、数十%で脱ユビキチン化酵素UCHL1の発現を認めるとされる。一方がん細胞から放出されるexosomeが浸潤、転移などに関与するという報告は多く、液状検体由来の有力なバイオマーカーとして注目されている。本研究の目的はSCLC細胞株、血液由来exosome、腫瘍標本を用いてUCHL1発現を調べること、exosome由来small RNA シーケンスによってSCLCの転移・浸潤に関与する因子及びUCHL1発現関連因子を探索すること、またそれらと臨床病理学的因子との関連性及び白金製剤+UCHL1阻害剤併用療法の効果について検討することである。</p>						
研究方法	<p>① 数種類のSCLC細胞株においてTP53/RB1/MYC/UCHL1の蛋白発現及びmRNA発現解析を行う。</p> <p>② SCLCの一次治療薬であるCDDP/ETP/CPT-11とそれらの併用療法及びUCHL1阻害剤(Degrasyn, LDN57444)によるSCLC細胞株に対する薬剤感受性試験を行う。</p> <p>③ SCLC細胞親株、NSCLC細胞株の培養液よりexosomeを抽出し、電子顕微鏡、NanoSight、exosomeマーカーの蛋白発現解析などを行う。</p> <p>④ 完全切除/限局性/進展性SCLC、LCNEC、NSCLC患者からの液状検体(血液)を用いてexosomeを抽出する。</p> <p>⑤ SCLC切除例でUCHL1発現(IHC/mRNA)を解析し臨床病理学的因子との関連性を調べる。</p>						
研究成果	<p>まずSCLC細胞株(H526, H69, H82)、NSCLC細胞株(A549, H1299, HCC827, PC9)、肺線維芽細胞株(HPF)を用いて、TP53/RB1/MYC/UCHL1/E-cadherin/Vimentinについて蛋白発現解析を行った。SCLC細胞株ではいずれもTP53陰性、RB1陰性、UCHL1陽性であった。一方NSCLC細胞株では間葉系細胞株(H1299, A549)でUCHL1高発現を認め、上皮間葉系転換に関連する因子とUCHL1発現との間に関連性を認めた。</p> <p>各種細胞株及び患者血清、正常人血清よりexosomeを抽出した。Exosomeは全て直径90-140nm程度であり、有意に高悪性肺癌細胞株、SCLC患者由来のもので絶対数が高値であった。UCHL1高発現を認める親株細胞由来のexosomeを用いて、ddPCRによるUCHL1mRNA発現解析を行ったところ、高値であった。</p>						



様式第3号

公益財団法人 東京医科大学がん研究事業団 がん研究助成金収支決算報告書

平成 30年 6月 18日

公益財団法人

がん研究事業団理事長 殿

研究者所属施設名 東京医科大学 呼吸器・甲状腺外科学分野

氏 名 嶋田 善久 (印)

収 支 決 算 書

(単位 円)

交付を受けた助成金額		金 3,000,000円		
費 目	明 細	単 価 及 金 額	計 額	
支 出 内 訳	設備、備品費	なし	0円	0円
	消 耗 品 費	未染標本作成費 実験消耗品費 参考図書費 解析受託費	98,232円 992,418円 7,578円 1,901,772円	3,000,000円
	計			3,000,000円
	過 △ 不 足 額		0円	
備 考				

支 出 費 内 訳

区 分	金 額	根 拠
設備、備品費		
消 耗 品 費	98,232円	未染標本作成①43,320円 ②38,000円 ③4,930円
		④366円 ⑤11,616円
	975,870円	実験消耗品 ①46,494円 ②338,472円 ③71,118円
		④164,592円 ⑤53,784円 ⑥53,784円
		⑦92,124円 ⑧101,610円 ⑨2,000円
		⑩53,892円 ⑪6,448円 ⑫8,100円
	3,688円	参考図書費 ①3,890円 ②3,688円
	1,901,772円	解析代 ①345,708円 ②1,556,064円