

学位論文抄録

SPP1 Derived from Macrophages Is Associated with a Worse Clinical Course and
Chemo-Resistance in Lung Adenocarcinoma
(マクロファージ由来の SPP1 は肺腺癌において予後不良、抗癌剤耐性に関与する)

松原 恵理

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻呼吸器外科学

指導教員

鈴木 実 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻呼吸器外科・乳腺外科学

菰原 義弘 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻細胞病理学

Abstract of the Thesis

Background and Purpose: Secreted phosphoprotein 1 (SPP1), also called Osteopontin, is a multifunctional secreted phosphorylated glycoprotein. SPP1 is expressed in cancer cells, and many studies have demonstrated that a high level of SPP1 is correlated with a poor prognosis in various cancers. Although SPP1 is also expressed in macrophages, there have been no studies distinguishing the SPP1 expression in cancer cells and tumor-associated macrophages (TAMs). In this study, we tried to evaluate the SPP1 expression in cancer cells and TAMs separately in patients with non-small cell lung cancer by double immunohistochemistry.

Methods: The samples were prepared from 228 patients with lung adenocarcinoma and 103 patients with lung squamous cell carcinoma underwent surgery between 2008 and 2013 at Kumamoto University Hospital. Since SPP1 might be positive in both the cancer cells and TAMs, a double-IHC of SPP1 and Iba-1 was performed to examine the SPP1 expression on cancer cells. To examine the SPP1 expression on TAMs, the double-IHC of SPP1 and PU.1 was performed. Additionally, we investigated the expression mechanisms related to SPP1 on macrophages and chemoresistance by TAMs-derived SPP1 in vitro.

Results: In adenocarcinoma, especially EGFR-wild-type cases, high SPP1 expression in TAMs were found to predict a poor prognosis, whereas the SPP1 in cancer cells were not correlated with the prognosis. Next, the SPP1 expression in macrophages, THP-1, and several lung cancer cell lines was examined by qRT-PCR. SPP1 was more highly expressed in macrophages and THP-1 than in lung cancer cell lines. Subsequently, we showed GM-CSF enhanced SPP1 expression. We examined whether recombinant SPP1 would influence the growth of cancer cells treated with anti-cancer drug, and revealed that SPP1 potentially contributes to chemoresistance in lung cancer. Furthermore, B-cell-specific Moloney leukemia virus insertion site 1 (BMI1) was suggested to be one of the factors involved in chemoresistance in vitro.

Conclusions: SPP1 expression in TAMs was associated with a poor clinical course in lung adenocarcinoma patients, and the protumor function of TAMs-derived SPP1 is potentially related to the chemoresistance of cancer cells.

学位論文抄録

[目的] Secreted phosphoprotein 1 (SPP1) はオステオポンチン (Osteopontin) と呼ばれ、リン酸化糖蛋白質の一種である。ヒトの多くの組織や細胞に存在し、創傷治癒、骨のホメオスタシス、細胞外マトリックス機能など重要な役割を果たしている。SPP1 は癌細胞にも発現する因子であり、各種癌で SPP1 高発現群は生存率が低いと報告されている。SPP1 がマクロファージから産生されることは最近注目されているが、癌組織における SPP1 発現を厳密に癌細胞・マクロファージと区別して解析を行った研究はない。今回、肺癌の検体を用いて、癌細胞およびマクロファージにおける SPP1 発現の意義を解析した。

[方法] 対象は 2008～2013 年までに当科で肺切除術を施行した腺癌 228 例、扁平上皮癌 103 例とした。SPP1 は癌細胞とマクロファージの両方に陽性となりうるので、癌細胞における SPP1 はマクロファージを除外するため Iba-1 (汎マクロファージマーカー) を加えた二重染色を行い、マクロファージにおける SPP1 は PU.1 (マクロファージ核に陽性) を加えた二重染色を行い、それぞれ評価を行った。更に、培養実験を行い、マクロファージにおける SPP1 発現のメカニズム、SPP1 の抗癌剤耐性への関与に関して検討をおこなった。

[結果] 肺腺癌において癌細胞における SPP1 発現は予後と関連しなかったが、マクロファージにおける SPP1 発現は予後と関連することが分かった。特に、EGFR 遺伝子野生型症例において予後との相関が顕著であった。次に、マクロファージ、THP-1、肺癌細胞株 10 種における SPP1 発現を PCR で評価したところ、肺癌細胞株では発現量に種間で差がみられたものの、マクロファージと THP-1 では SPP1 が高発現していた。更にマクロファージにおける SPP1 発現メカニズムに関して検討したところ、GM-CSF を介したマクロファージの分化が強く関与していることが示唆された。次に、抗癌剤投与下肺癌細胞株にマクロファージの培養上清、もしくは SPP1 を添加したところ、2次元、3次元培養ともに細胞生存率が高く、マクロファージ由来 SPP1 が抗癌剤耐性に関与していることが示唆された。更に、B-cell-specific Moloney leukemia virus insertion site 1 (BMI1) が抗癌剤耐性に関与していることを示した。

[結論] マクロファージにおける SPP1 発現は肺腺癌において予後不良因子であり、特に SPP1 は肺腺癌細胞の抗癌剤耐性に関与することが示唆された。