

【背景】肺癌は世界で最も罹患率や死亡率が高い癌の一つである。肺癌は組織学的に小細胞肺癌と非小細胞肺癌に分けられ、非小細胞肺癌は肺癌の 80%を占めている。非小細胞肺癌の治療は、ここ 15 年で新規抗癌剤や分子標的薬の登場により飛躍的に進歩した。最近では免疫チェックポイント阻害薬の登場により、さらなる治療効果改善の期待がもたれている。しかし、長期的な効果や安全性の問題はまだ明らかにはなっていない。特に扁平上皮癌の治療進歩は腺癌と比較して遅く、肺扁平上皮癌治療のさらなる発展には、様々な機序による治療薬の検討や開発が必要である。

我々は抗老化遺伝子と知られている *Klotho* 遺伝子に注目した。*Klotho* 遺伝子はトランスジェニックマウスの中で挿入突然変異によって、老化と良く似た症状が出て来たマウスが見つかったことから発見された遺伝子である。この遺伝子の異常により、臓器の萎縮や血管の石灰化、骨粗鬆症、肺気腫、認知症等のヒトの老化と同じような症状が出現する。癌との関連も指摘されており、以前、我々は *Klotho* 発現が肺小細胞癌や肺大細胞神経内分泌癌に対して術後予後因子になることを報告した。

また、*Klotho* 遺伝子は上皮間葉置換を抑制することが報告されている。上皮間葉置換は細胞の極性や接着因子が消失する変化のことで、癌細胞においては浸潤や転移に関与する重要なメカニズムと言われている。*Klotho* 遺伝子は子宮頸癌の上皮間葉置換を抑制することが報告されているが、肺扁平上皮癌について *Klotho* 遺伝子と上皮間葉置換の関与については明らかにはなっていない。

以上のことから今回、肺扁平上皮癌について *Klotho* 発現について調べ、さらに上皮間葉置換との関係性について検討した。

【対象と方法】2007 年 4 月から 2008 年 12 月まで日本医科大学付属病院にて手術を行った肺扁平上皮癌 30 例と 2009 年 6 月から 2011 年 12 月まで東京医科大学付属病院にて光線力学療法を行った中心型早期肺癌 10 例の組織標本に免疫染色を行い、*Klotho* 発現の有無を調べた。次に *Klotho* 発現と上皮間葉置換の関連性について調べるために、GFP-*Klotho* 遺伝子を肺扁平上皮癌の細胞株である SQ5 に導入した。フローサイトメトリーを用いて GFP 陽性の細胞を選別し、上皮間葉置換関連蛋白質(E-cadherin、N-cadherin、vimentin、Snail)についてウェスタンブロッティングを用いて発現の変化を調べた。

【結果】*Klotho* 発現は正常気道上皮細胞では発現し、中心型早期肺癌については 10 例全例で認められたが、末梢発生の浸潤癌には 30 例中 4 例(13%)しか認められなかった。このことから *Klotho* 発現が肺扁平上皮癌の浸潤能に関与する可能性があることが示唆された。

また、GFP-*Klotho* 過剰発現した SQ5 細胞は、GFP のみ導入した SQ5 細胞と比較して間葉系マーカーである N-cadherin を完全に抑制していた。一方で *Klotho* 遺伝子の過剰発現は他の間葉系マーカーである vimentin や Snail、上皮系マーカーである E-cadherin に対

しては影響していなかった。

【考察】現在までに乳癌や子宮頸癌では、上皮内癌には Klotho 発現が認められるが、浸潤癌には認められないと報告されている。今回我々の肺扁平上皮癌での検討結果でも、同様の所見が認められた。このことから Klotho 発現の消失が癌の浸潤を促進する可能性があると考えた。

また、癌の浸潤・転移には上皮間葉置換が影響していると言われていたが、Klotho は上皮間葉置換にも関連すると報告されている。今までに報告された経路は Wnt シグナル経路、IGF-1 シグナル経路、TGF- $\beta$ 1 シグナル経路で、Klotho はそれぞれの経路を抑制することで、上皮間葉置換を抑制していると言われていた。我々の検討で、肺扁平上皮癌の細胞株である SQ5 に Klotho 発現させることで、N-cadherin 発現が抑制することを確認し、Klotho 発現が上皮間葉置換を抑制していることが示された。以上のことから、Klotho が癌の浸潤・転移に関わる上皮間葉置換を抑制してことが明らかになった。上皮間葉置換は癌の浸潤や転移だけでなく、癌幹細胞や抗癌剤や放射線治療の耐性獲得にも影響していると言われており、上皮間葉置換を制御する Klotho は今後、癌治療薬のターゲットになる可能性を持っている。

【結語】Klotho は肺扁平上皮癌において癌の浸潤に関与し、上皮間葉置換を制御している。