

Ascl1-induced Wnt11 regulates neuroendocrine differentiation, cell proliferation, and E-cadherin expression in small-cell lung cancer and Wnt11 regulates small-cell lung cancer biology

Ascl1によって発現が誘導されたWnt11は、小細胞肺癌において神経内分泌分化や腫瘍細胞の増殖、E-カドヘリンの発現制御を行い、Wnt11は小細胞肺癌の生態を制御する

[目的] bHLH型転写因子であるASCL1は、これまで示した様にヒト小細胞肺癌ではoncogeneでかつ神経内分泌分化を誘導する。一方、ASCL1はWnt signalにも影響を与えることが知られているが、未だその詳細に関しては不明な点が多い。また、Wnt signal pathwayの異常は様々な臓器の発癌とも大きな関わりがあり、肺での腫瘍発生においても重要であることを示す報告が蓄積しつつある。肺癌では組織型毎に特異的なWnt ligandの発現増幅が起こっていることが報告されており、Wnt11の発現亢進も報告されているが、その意義は充分には解明されていない。今回の研究では小細胞肺癌におけるWnt11の機能解析を行い、小細胞肺癌の発癌メカニズムの解明、および治療への応用の可能性を見出すことを目的とした。

[方法] 肺癌切除組織のパラフィン切片を用いて免疫組織化学染色でASCL1とWNT11の発現頻度を解析した。Public datasetを用いて、小細胞肺癌におけるASCL1とWNT11の発現の相関関係を検証した。また、ASCL1やWNT11遺伝子を導入した肺癌細胞株を作成し、それらの遺伝子の肺癌における機能解析を行った。更に、ASCL1のWNT11に対する発現調節機構を解明する為に、ChIP-seqを行った。ヒト小細胞肺癌株でsiRNA実験を行い、ASCL1やWNT11の発現抑制実験を行った。Canonical Wnt pathway inhibitor (IWR1-endo)を用いて、ヒト小細胞肺癌株でWnt signal阻害実験も行った。

[結果] 肺癌切除組織のパラフィン切片を用いて免疫組織化学染色でASCL1とWNT11の発現頻度を解析した結果、小細胞肺癌ではいずれの蛋白も発現頻度が高く、更にpublic datasetの解析結果では、両者の発現には強い正の相関関係が認められた。ASCL1遺伝子を導入した肺神経内分泌腫瘍細胞株を作成した結果、ASCL1にはWNT11の発現を誘導する機能があることが分かった。また、WNT11遺伝子の上流約10kb付近にASCL1が結合するピークをChIP-seqで検出した。従って、ASCL1がWNT11の発現を制御する機構の一つとして、同領域はWNT11が発現する為のエンハンサー領域と考え、ChIP-qPCR assayでlysine H3K27 acetylationを検定し、小細胞肺癌では集積が高度であることを示した。また、ヒト小細胞肺癌株でsiRNA実験を行いASCL1やWNT11の発現抑制実験を行った結果、WNT11はASCL1と強調しながら神経内分泌分化やカドヘリンの発現制御、並びに腫瘍細胞の増殖やアポトーシスにも影響を与えることが分かった。Canonical Wnt pathway inhibitor (IWR1-endo)を用いたヒト小細胞肺癌株でのWnt signal阻害実験ではこれらの所見は得られなかった。また、WNT11遺伝子を導入したヒト小細胞肺癌株では腫瘍細胞の増殖は正に制御されたが、神経内分泌分化やカドヘリンの発現には影響を与えなかった。

[考察] ASCL1は小細胞肺癌においては神経内分泌分化やカドヘリンの発現、腫瘍細胞の増殖に強い影響を与えた一方で、WNT11は腫瘍細胞の増殖には正の影響を与えたが、神経内分泌分化やカドヘリンの発現に影響は与えなかった。しかし、ASCL1はWNT11の発現を正に制御していることが示され、小細胞肺癌においてはASCL1に依存した細胞環境が、WNT11が神経内分泌分化やカドヘリンの発現制御など、ユニークな分子機能を発揮する為に必要である可能性が示唆された。

[結論] ASCL1-WNT11 axisは腫瘍細胞の増殖や形質に強く関わっており、小細胞肺癌の重要な治療標的やバイオマーカーとなる可能性があることが示唆された。