

学位論文抄録

The role of YAP1 in small cell lung cancer
(肺小細胞癌における YAP1 の役割)

齋 藤 陽 元

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

指導教員

折田 頼尚 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

Abstract of the Thesis

Background and Purpose: Yes-associated protein (YAP) and transcriptional coactivator with PDZ-binding motif (TAZ, also known as WWTR1) are core downstream effectors of the Hippo pathway, which is involved in diverse biological processes. The oncogenic effects of YAP and TAZ in non-small cell lung cancer (NSCLC) have recently been reported; however, their roles in SCLC remain unclear.

Methods: Immunohistochemistry (IHC) on lung cancer tissues and Western blotting (WB) on lung cancer cell lines were performed to examine the expression of YAP1. Genome editing using CRISPR/Cas9 was then used to knockout the YAP1 gene in the H69AR cell line. An RNA sequence analysis, gene ontology (GO) analysis, WB, cell counting assay, invasion assays, and xenograft studies were conducted on these cells to investigate the biological roles of YAP1.

Results: IHC revealed that insulinoma-associated protein 1 was expressed in most cases (28 out of 32 cases), while only four cases expressed YAP1. The knockout of YAP1 in H69AR cells, the SCLC-Y subtype, reduced cell proliferation and invasion capacity and restored drug sensitivity. Xenograft assays revealed that the knockout of YAP1 suppressed cell proliferation. Tumor tissues showed the expression of neuroendocrine markers and a low Ki-67 index.

Conclusions: In SCLC, YAP1 plays an important role in biological functions, such as cell proliferation, EMT, drug sensitivity, and neuroendocrine differentiation.

学位論文抄録

[背景と目的] 小細胞肺癌は肺癌全体の約 10～15%を占める癌であり、増殖速度が速く早期にリンパ節転移や遠隔転移を認める悪性度の高い腫瘍である。放射線治療や薬物療法に対する感受性が高いことが特徴ではあるが、再発後の治療反応性は低く、その予後は 10%未満と肺癌の中で最も悪い。本邦のみならず、世界的に根治的治療法の確立が最も重要な課題としてあげられている。Yes-associated protein (YAP)と transcriptional coactivator with PDZ-binding motif (TAZ, 別名 WWTR1)は、多様な生物学的プロセスに関与する Hippo 経路の重要な転写共役因子である。近年非小細胞肺癌における YAP と TAZ の発がん作用などが報告されているが、小細胞癌におけるそれらの役割についてはまだ報告が少ない。また近年提唱された小細胞肺癌の亜分類にも YAP は用いられているが、その小細胞肺癌に対する分子調節機構は未だ未解明な部分が多いため、解析を行うこととした。

[方法] 当院での小細胞肺癌の臨床検体を用いて免疫染色を、またヒト肺癌細胞株も用いてウェスタンブロッティングを行い、YAP1 の発現パターンを調べた。その後、CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集により、H69AR 細胞株の YAP1 遺伝子 knockout 株を作製した。さらに、YAP1 の生物学的役割を調べるために、この細胞株を用いて RNA-seq、GO 解析、Invasion assay、cell counting assay、薬剤耐性実験を行った。また、免疫不全マウスへの異種移植を行い、形成された腫瘍の評価、および免疫染色を行った。

[結果] 臨床検体の免疫染色では、ほとんどの症例(32 例中 28 例)で Insulinoma-associated protein 1 (INSM1)が発現していたが、YAP1 を発現していたのは 4 例のみであった。H69AR 細胞株で YAP1 を knockout すると、細胞の増殖と浸潤能が低下し、薬剤感受性が回復した。異種移植実験では、YAP1 の knockout が細胞の増殖を抑制することが明らかになった。YAP1-knockout の腫瘍組織では、免疫染色で神経内分泌マーカーの発現を認め、ki-67 の発現低下を示した。

[結論] 小細胞肺癌において、YAP1 は細胞増殖、EMT、薬剤感受性、神経内分泌系の分化などの生物学的機能に重要な役割を果たしている。