

齋藤陽元氏の学位論文審査の要旨

論文題目

The role of YAP1 in small cell lung cancer

(肺小細胞癌における YAP1 の役割)

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、その小細胞肺癌における YAP1 の生物学的意義は未知な部分が多いため、申請者らは本研究を行った。

熊本大学病院における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。

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。

審査では、YAP1 について (1) NOTCH 発現との関連性、(2) 活性化のメカニズム、(3) 正常細胞における役割、(4) 癌の悪性度や進行度に応じた発現状況、(5) 異なる抗がん剤を作用させた際の効果、(6) 研究成果の臨床応用を図る上での展望 (7) PD-L1 発現との関連性、(8) ノックアウト細胞作製時の問題点、(9) ノックアウト細胞の形態変化、(10) 過剰発現細胞を用いた実験の結果、などについて質疑がなされ、申請者からは概ね適切な回答がなされた。本研究は、YAP1 が細胞増殖、EMT、薬剤感受性、神経内分泌系の分化など小細胞肺癌の生物学的機能に重要な役割を果たし、臨床上の新たな治療標的になりうる可能性を示した点で学位授与に相応しいと判断された。

審査委員長

歯科口腔外科学担当教授

中山 泰樹