

20. 肺腺癌から神経内分泌癌への形質転換現象に関わる分子メカニズム

獨協医科大学

¹⁾ 病理学, ²⁾ 内科学 (呼吸器・アレルギー)

正和明哲^{1,2)}, 矢澤華子¹⁾, 柏木維人¹⁾, 石井 順¹⁾, 宮澤公輔¹⁾, 清水泰夫²⁾, 仁保誠治²⁾, 矢澤卓也¹⁾

【目的】RB1 及び TP53 不活化状態が肺神経内分泌癌の発生に重要であることが、動物実験及びチロシンキナーゼ阻害剤治療肺腺癌症例における神経内分泌癌発生の事実から明らかになっている。しかし RB1/TP53 不活化状態にある腺癌細胞がどのような過程で神経内分泌癌に形質転換するかについては全く明らかになっていない。肺癌細胞が神経内分泌表現型を獲得するメカニズムを解明することは、今後肺神経内分泌癌に対する効果的な治療戦略を確立し、患者の予後を改善していくためには極めて重要である。

【方法】Wild type の RB1 および TP53, REST を発現する腺癌細胞株 A549 に対し、CRISPR-Cas9 システムを用いて、RB1, TP53, REST の遺伝子編集を行った。次に網羅的遺伝子発現解析により RB1, TP53 遺伝子編集に伴う遺伝子の発現変化を確認した。次に Lentivirus を用いた proneural 転写因子 ASCL, POU3F4 の遺伝子導入を行い、qRT-PCR 法を用いた神経内分泌マーカーや proneural 転写因子の発現誘導状態について検討した。最後に、NOD-SCID マウス皮下腫瘍を用いた病理組織像を解析し、形質転換を確認した。

【結果と考察】RB1/TP53 不活化腺癌細胞には、神経細胞において高発現している 60 以上の遺伝子と、EMT 関連遺伝子の発現が誘導されたが、神経転写因子や神経内分泌マーカーの発現誘導は起こらなかった。また RB1/TP53 に加え、REST を不活性化させた状態では、クロモグラニン A, シナプトフィジンの誘導は惹起されるものの、CD56 誘導は見られず、神経内分泌癌への形質転換には至らなかった。しかし、RB1/TP53/REST を不活化した状態で proneural 転写因子である ASCL1 および POU3F4 を共発現させることにより、CD56 のみならず他の proneural 転写因子 NEUROD1, INSM1 も誘導され、神経内分泌癌細胞への完全な形質転換が惹起された。

【結論】肺腺癌から神経内分泌癌への形質転換現象には、RB1, TP53, REST の同時不活性化と、ASCL1 および POU3F4 の共発現が不可欠である。

21. 肺腺癌細胞への腸上皮マーカー CDX2 遺伝子導入に伴う形質変化

獨協医科大学

¹⁾ 病理診断学, ²⁾ 病理学

小野崎聖人¹⁾, 矢澤華子²⁾, 柏木維人²⁾, 石井 順²⁾, 平松千恵²⁾, 野田修平¹⁾, 野沢友美¹⁾, 石田和之¹⁾, 矢澤卓也²⁾

【目的】肺腺癌には、粘液産生型、腸型、胎児型などの亜型がある。腸型は肺腺癌の約 0.4%、胎児型は約 0.5% と稀な組織型である。腸型肺腺癌では腸型上皮への分化に関与する転写因子である CDX2 が、胎児型肺腺癌では幹細胞の多能性維持と分化に関与する転写因子である SALL4 が高頻度に発現している。そして SALL4 のプロモーター領域内には CDX2 が結合可能な塩基配列がある。しかしそれらの発現が肺癌細胞に及ぼす影響については明らかになっていない。そこで我々は、種々の肺癌培養細胞に CDX2 遺伝子を強制発現させることにより惹起される細胞分化の変化について解析し、腸型肺腺癌および胎児型肺腺癌の発生メカニズムについて明らかにすることを目的とした。

【方法】CDX2 を発現するレトロウイルスベクターを肺腺癌細胞株 (A549, PC9, H1975) に導入した。樹立した CDX2 遺伝子導入株を用いて、腸型肺腺癌に発現するマーカー (CK7, CK20, MUC2) などの発現状態について、リアルタイム PCR 法にて解析した。SALL4 プロモーター解析については、長短 2 種類の SALL4 プロモーター断片を各 CDX2 強制発現細胞株に一過性に導入しルシフェラーゼ活性の測定を行うとともに、CDX2 分子の SALL4 プロモーターへの結合の有無については抗 CDX2 抗体によるクロマチン免疫沈降により検索した。

【結果】CDX2 強制発現により H1975 で CK7 発現が減弱し、PC9 では CK20 の発現が亢進した。いずれの細胞でも SALL4 の発現が亢進した。また、CDX2 は SALL4 プロモーター遠位側の putative CDX2 binding site に結合し、SALL4 を誘導していた。

【考察】肺腺癌細胞株への CDX2 導入により腸型腺癌細胞への分化誘導が惹起されている可能性、および、腸型肺腺癌と胎児型肺腺癌に何らかの関連性がある可能性が示唆された。

【結論】CDX2 は肺腺癌細胞の腸管分化を誘導する可能性がある。