

## 大瀧 容一

留学先：University of Texas Southwestern Medical Center John D. Minna Lab

研究テーマ：エクソソームを介した肺小細胞癌転移メカニズムの解明

### 研究テーマ 1: エクソソームを介した肺小細胞癌転移メカニズムの解明

#### 研究の目的

小細胞肺癌(SCLC)については従来の殺細胞性抗がん剤以外に新規治療法はなく、その予後は著しく不良である。SCLCの転移メカニズムの解明と転移の抑制が予後改善への大きな命題である。近年の研究で、exosomeには癌細胞から分泌されるさまざまな内容物が含まれ、癌の進展・転移に関与すると報告されているが、高転移能を有するSCLCにおけるexosomeの役割は不明である。今回、SCLCと非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株を用いてSCLCのexosomeを介した転移メカニズムについて解明することを目的とした。

#### 研究経過

・小細胞肺癌株(H82, H526)からexosomeの抽出を確立した。電子顕微鏡により形態を確認し、exosomeの表面マーカー(CD9, CD63)が発現していることをwestern blot法で確認した。

特に、本研究ではまず、The deubiquitinating enzyme ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCHL1)に着目した研究を行った。UCHL-1は神経内分泌腫瘍由来で産生され、潜在的ながん遺伝子であることが知られているが、詳細は明らかになっていない。UCHL-1は肺小細胞癌を含めた肺神経内分泌癌で高発現しており、UCHL-1が高発現している症例では有意に予後が不良であることがわかった。小細胞肺癌株から産生されるexosomeにもUCHL-1が、非小細胞癌やcontrolと比較して高く含まれていることがわかった。<sup>1</sup> 今後は小細胞肺癌における転移のメカニズムとの関連を明らかにしていく。

### 研究テーマ 2: 肺癌におけるFOXM1の機能解析と標的治療法の開発

#### 研究の目的

FOXM1(Forkhead Box M1)はForkhead familyに属する転写因子であり、39種類の約18000例のがん症例を解析した横断的生存解析で、そのmRNA発現が最も予後不良に関与する遺伝子であることが報告された。<sup>2</sup> FOXM1の主な機能は細胞周期の調節(G1/S, G2/Mの移行)であるが、他にがんの転移、浸潤、血管新生、腫瘍新生、anti-apoptosis, DNA損傷修復、薬剤耐性などに関与していると報告されている。腫瘍ごとに異なる機能やシグナル経路を有することが報告されているが、肺癌においては、その発現意義、上流・下流シグナルとの関連は十分に明らかとなっておらず、それらの解明は新規治療法に結び付くものとして期待される。

#### 研究経過

まず、肺癌切除検体で FOXM1 タンパクを免疫組織化学により発現を確認し、高発現が非小細胞肺癌の予後因子であることを明らかにした。次に、肺癌細胞株における FOXM1 を western blot 法で評価し、発現を確認した。レンチウイルスベクターを用いた short hairpin RNA(shRNA)-FOXM1 と shRNA-Non target control plasmid を遺伝子導入し、FOXM1 の抑制による増殖効果を in vitro 実験で確認した。Control に比較して、FOXM1 抑制した細胞株では増殖が有意に抑制された。また、この結果は多くの細胞株で確認された一方、抑制効果が乏しい株も存在した。in vivo 実験においても、同様にマウス皮下腫瘍モデルにおいて、FOXM1 の抑制で腫瘍の増大能が低下することを確認した。FOXM1 抑制による下流遺伝子発現解析 (RNAseq) を行い、今後さらに FOXM1 発現の、腫瘍増殖抑制効果に参与する下流遺伝子との関連について検討を行う予定である。

(参考文献)

1. Shimada Y, Kudo Y, Otaki Y, Minna JD, Ikeda N, et al. Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 has prognostic relevance and is a therapeutic target for high-grade neuroendocrine lung cancers. *Cancer Science* 2020;111(2):610-620.
- 2 Gentles AJ, Newman AM, Liu CL, et al. The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers. *Nature Medicine* 2015;21(8):938-45.