

## O-25 肺がんにおける LKB1 遺伝子異常

松本 慎吾<sup>1,2</sup>・岩川 麗香<sup>2</sup>・高橋 健司<sup>2</sup>・河野 隆志<sup>2</sup>  
中西 幸浩<sup>3</sup>・蔦 幸治<sup>4</sup>・鈴木 健司<sup>5</sup>・中本 成紀<sup>1</sup>  
清水 英治<sup>1</sup>・横田 淳<sup>2</sup>

鳥取大学 医学部 分子制御内科<sup>1</sup>；国立がんセンター研究所 生物学部<sup>2</sup>；国立がんセンター研究所 病理部<sup>3</sup>；国立がんセンター中央病院 病理部<sup>4</sup>；国立がんセンター中央病院 肺外科<sup>5</sup>

Peutz-Jeghers 症候群の原因遺伝子である LKB1 遺伝子の体細胞性変異は散発性悪性腫瘍において極めて稀であるが，近年，肺腺がんで比較的高率にその遺伝子異常があると報告された。そこで，肺がんの細胞株や臨床検体を用いて肺がんにおける LKB1 遺伝子異常の頻度や意義について検討した。まず，肺がん細胞株 70 例で genomic PCR と direct sequencing あるいは multiplex PCR を用いて LKB1 遺伝子の変異やホモ欠失を探索したところ，21 例（30%）で LKB1 遺伝子異常が検出された（変異 9 例，ホモ欠失 13 例）。組織型別では，腺がん 13/31 例（42%），扁平上皮がん 3/11 例（27%），腺扁平上皮がん 1/2 例（50%），大細胞がん 3/7 例（43%），小細胞がん 1/19 例（5%）の頻度であった。次に，I 期肺腺がん 106 例と肺腺がん脳転移 25 例で LKB1 遺伝子変異を探索したところ，それぞれ 1 例（1%），3 例（12%）で検出された。さらに I-III 期肺腺がん 24 例の RNA を用いて，RT-PCR により LKB1 遺伝子の変異や欠失を探索したところ，3 例（13%）で変異が検出され，欠失は検出されなかった。また臨床検体における LKB1 遺伝子変異の有無と臨床病理学的因子との関連を解析したところ，変異は，全て喫煙者の腺がんが存在し，低分化腺がんでは有意に多かった。また，LKB1 遺伝子異常と EGFR，KRAS，p53 の各遺伝子変異との相関を解析したところ，肺がん細胞株において，LKB1 遺伝子異常は KRAS 変異を有する細胞に有意に多く検出された。以上より，LKB1 遺伝子異常は肺がんを高率に存在し，特に喫煙者の低分化腺がんの形成や進展に関わることが示唆された。

## O-26 肺癌における MET 遺伝子変異解析

小野里良<sup>1</sup>・高坂 貴行<sup>1</sup>・谷田部 恭<sup>2</sup>・光富 徹哉<sup>1</sup>  
愛知県がんセンター中央病院 胸部外科部<sup>1</sup>；愛知県がんセンター中央病院 遺伝子病理診断部<sup>2</sup>

【背景・目的】MET 遺伝子は 7q31 に存在する癌遺伝子であり，近年新たな分子標的として，また最近ゲフィチニブに対する獲得耐性との関連が報告され注目されつつある。肺癌における MET 遺伝子変異はほとんどが SEMA および Juxtamembrane domain に存在するとされており，体細胞変異の頻度は非小細胞肺癌の 1.6-3.6% とされている。特に Juxtamembrane domain の存在するエクソン 14 におけるスプライスバリエントは受容体活性化の調節に関わる部位であることが示されている。今まで日本人肺癌患者における MET 遺伝子変異についての報告はないため解析を施行した。【対象・方法】当院において手術施行した原発性肺癌 259 例（腺癌 210 例，扁平上皮癌 32 例，大細胞癌 10 例，小細胞癌 2 例，腺扁平上皮癌 5 例），および 16 例の肺癌細胞株（腺癌 6 例，扁平上皮癌 3 例，大細胞癌 3 例，小細胞癌 4 例）を対象とした。標本より抽出した RNA を使用し，Juxtamembrane domain が存在するエクソン 14 を挟み RT-PCR，ダイレクトシーケンスを施行し解析した。【結果】遺伝子変異は肺癌細胞株では認めず，手術症例では 259 例中 7 例（2.7%）に認め全例でエクソン 14 が欠失するスプライスバリエントであった。変異症例は全例腺癌であり，4 例は男性喫煙者，3 例は女性非喫煙者であった。これらでは EGFR，HER2，KRAS 遺伝子変異はいずれも認められなかった。【まとめ】MET 遺伝子変異は腺癌に特に多く EGFR，HER2，KRAS と排他的な関係にあり，MET 遺伝子変異は肺癌形成において重要な役割を果たす可能性があると考えられた。

## O-27 Semaphorin 3 は Insulin-like growth factor binding protein-6 の発現を誘導して細胞増殖抑制機能を有する

小山 信之<sup>1</sup>・呼 群<sup>2</sup>・張 嘉玲<sup>2</sup>・蘇 秀蘭<sup>2</sup>  
金沢 実<sup>1</sup>・萩原 弘一<sup>1</sup>  
埼玉医科大学 呼吸器内科

【目的】癌抑制遺伝子 Semaphorin 3B（以下 SEMA3B）は Neuropilin に対して Vascular endothelial growth factor と競合的に結合し細胞増殖を抑制するが，構造の類似した他の Class 3 Semaphorin 分子とはその機能が異なるため，SEMA3B による新たな細胞増殖抑制機構の探索を行った。【方法】内因性 SEMA3B 発現のない NCI-H1299 肺癌細胞に SEMA3B を遺伝子導入してマイクロアレイによる網羅的発現解析を行い，SEMA3B により発現誘導された遺伝子群から Insulin-like growth factor binding protein-6（以下 IGFBP-6）を抽出した。IGFBP-6 による細胞増殖抑制を Cell proliferation assay および Colony formation assay にて確認した後 SEMA3B 発現 H1299 細胞において IGFBP-6 に対する siRNA を行い，Flow cytometry を用いて細胞周期を解析した。また SEMA3B の IGFBP-6 発現制御機構を解明するため，免疫組織化学法を用いて SEMA3F で報告された  $\beta$ -catenin の局在変化を SEMA3B において検証した。さらに 20 種類の肺腫瘍細胞株での IGFBP-6 mRNA 発現を解析した。【結果】IGFBP-6 強発現は細胞増殖を抑制した。H1299 細胞において SEMA3B 発現による sub G0/G1 相の減少は，IGFBP-6 に対する siRNA にて SEMA3B 発現のないレベルまで回復した。また H1299 細胞は SEMA3B の発現により  $\beta$ -catenin の非局在化を呈した。20 種類の肺腫瘍全てにおいて IGFBP-6 mRNA 発現低下がみられ，SEMA3B も同様の発現傾向が見られた。【考察】SEMA3B は  $\beta$ -catenin を介して IGFBP-6 発現を誘導することにより細胞増殖を抑制した。IGFBP-6 は多くの肺腫瘍細胞において発現低下がみられており，本経路が肺腫瘍抑制に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

## O-28 YAP1 は悪性胸膜中皮腫の増殖を促進し，NF2 腫瘍抑制遺伝子で機能阻害される

横山 俊彦<sup>1,2</sup>・長田 啓隆<sup>2</sup>・村上 秀樹<sup>2</sup>・立松 義朗<sup>2</sup>  
谷口 哲郎<sup>2,3</sup>・近藤 豊<sup>2</sup>・樋田 豊明<sup>4</sup>・長谷川好規<sup>5</sup>  
下方 薫<sup>6</sup>・関戸 好孝<sup>2</sup>

名古屋第一赤十字病院 呼吸器科<sup>1</sup>；愛知県がんセンター研究所 分子腫瘍学<sup>2</sup>；名古屋大学医学部附属病院 胸部外科<sup>3</sup>；愛知県がんセンター中央病院 呼吸器内科<sup>4</sup>；名古屋大学医学部附属病院 呼吸器内科<sup>5</sup>；中部大学 生命健康科学部 生命医科学科<sup>6</sup>

【目的】悪性胸膜中皮腫を対象とした Array CGH 解析にて染色体 11q22 増幅領域を同定し，YAP1，BIRC2/3 の過剰発現を確認した。この領域内の標的遺伝子候補であり，転写コアクチベーターをコードする YAP1 について中皮腫発症への関与を検討した。中皮腫で高頻度に変異が認められる NF2 腫瘍抑制遺伝子産物 Merlin の下流で YAP1 が機能することが示唆されているため，解析を加えた。【方法】細胞増殖等への作用を観察するため，2 種の YAP1-RNAi ベクター（sh1，sh2）を中皮腫細胞株へ，YAP1 発現ベクターを正常中皮腫細胞へ，それぞれ導入した。YAP1 セリン 127 のリン酸化が，YAP1 を細胞質内に留め，その機能を抑制すると考えられるので，Merlin との関連から検討した。【結果】2 種の YAP1-RNAi は共に中皮腫細胞の増殖を抑制し，特に効果の強い sh2 では細胞周期の停止と軽度のアポトーシス誘導が見られた。又，YAP1 導入は低血清下で正常中皮腫細胞の増殖を促進した。セリン 127 リン酸化に関しては，Merlin の強制発現により YAP1 のリン酸化が亢進し，核内から細胞質への細胞内局在移行が見られた。しかしリン酸化部位変異型 YAP1 では，この移行は見られなかった。【結論】染色体 11q22 増幅領域の標的候補遺伝子 YAP1 は，中皮腫の細胞増殖に関与しており，NF2 腫瘍抑制遺伝子産物 Merlin により制御されることが示唆された。