

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2330 号

Clinical application of E3 ubiquitin ligase, SKP2, as potential diagnostic tool and novel therapeutic target in small cell lung cancer

小細胞肺癌の診断ツールならびに新規治療において SKP2 を標的とした臨床応用の探索

松本 直久 (まつもと なおひさ)

博士 (医学)

#### 論文内容の要旨

小細胞肺癌は肺がんの 15%を占める極めて予後不良の悪性腫瘍であるが、15 年以上に渡って新規治療薬の開発に至っていない。従来の網羅的遺伝子解析では明確なドライバー変異は同定されず、分子標的治療の開発は皆無である。このため我々は新規治療標的の同定を目的とし、腫瘍がジェネティックもしくはエピジェネティックに起因する生存や増殖に必要な遺伝子を同定することが可能な Project Achilles を利用し治療標的を探索した。この解析の結果、小細胞肺癌の生存は SKP2/CKS1B に強く依存していることが明らかになった。興味深いことに、SKP2 と CKS1B は SCFSKP2 複合体の構成成分であり、この二つの蛋白から構成される結合部位に p27 が結合し、ユビキチン化修飾が行われる。そこで本研究では SKP2 に着目した。小細胞肺癌における SKP2 発現確認のため、72 例の手術検体から作成された TMA (tissue microarrays) を用いて免疫染色を行い、さらに代表的な神経内分泌マーカーである Chromogranin A、Synaptophysin の免疫染色と比較した。その結果、SKP2 は 95%以上の検体で染色され、さらに従来の免疫染色よりも SKP2 の感度が高い傾向があるという驚くべき結果が得られた。p27 の結合部位と競合的に拮抗する SKP2 阻害剤を用いて薬剤感受性試験を行い、非小細胞肺癌に比較して小細胞肺癌で感受性が高い事が明らかとなった。小細胞肺癌における SKP2 阻害剤への感受性が高くなる機序の解明のため、siRNA または shRNA によって SKP2 をノックダウン (KD) した細胞を用いてアポトーシスアッセイを行ったところ RB1 遺伝子変異陽性の細胞株においてアポトーシスの誘導がみられた、一方で RB1 野生型の細胞株ではアポトーシスの誘導がみられなかったが細胞増殖アッセイでは増殖が抑制され、また細胞の肥大・扁平化といった形態の変化がみられた。これらの細胞は  $\beta$ -ガラクトシダーゼ染色が陽性となり、細胞老化が誘導されていることが明らかとなった。小細胞肺癌において SKP2 の阻害は RB1 遺伝子変異の有無によりアポトーシスまたは細胞老化を誘導することにより細胞増殖を阻害していることが示唆された。以上より、小細胞肺癌において SKP2 は新たな有用な診断マーカーならびに治療標的となる可能性が示唆された。