

Análisis comparativo de la localización y la fosforilación de YAP1 en los cánceres de piel distintos del melanoma

Autores:

Rafael S. Aguayo-Ortiz^{1,2}, Eloi Garí^{2,3}

Filiaciones:

¹Servicio de Dermatología, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida

²Laboratorio de Ciclo Celular, Institut de Recerca Biomèdica de Lleida (IRB Lleida), Lleida

³Departamento de Ciencias Básica Médicas, Facultad de Medicina, Universitat de Lleida, Lleida

Autor para correspondencia:

Rafael S. Aguayo-Ortiz

Correo electrónico: raortiz.lleida.ics@gencat.cat

Sr. Director:

Se ha descrito que YAP1 es un regulador esencial de la diferenciación cutánea normal, ya que actúa equilibrando los programas de proliferación y diferenciación^{1,2}. Tras la activación de la vía Hippo y otras vías previas, YAP1 se fosforila en serina 127 y permanece en el citoplasma al unirse a la proteína de armazón estratífina³. Este proceso da lugar a la inhibición de la proliferación y a la activación de la diferenciación celular. En cambio, en las células madre de la piel, YAP1 permanece sin fosforilar en el núcleo, lo que favorece la proliferación celular.

Varios estudios han demostrado que, en los tumores cutáneos, YAP1 se acumula en el núcleo en el carcinoma basocelular (CBC) y en el carcinoma epidermoide cutáneo (CEC), y al parecer esta característica desempeña un papel importante en la aparición de estos carcinomas queratinocíticos⁴⁻⁶.

En un estudio anterior, se observó que el CEC expresa niveles elevados de la citocina S100A9 (calgranulina B) y que el CBC no muestra expresión de S100A9⁷. La expresión de S100A9 se ha relacionado con la agresividad y el potencial metastásico⁸. En consonancia con esta observación, el CEC es, en general, más agresivo y metastásico que el CBC. Curiosamente, la expresión de S100A9 está regulada por la vía Hippo-YAP1 en el CEC⁸. La inactivación de la vía Hippo y la acumulación de YAP1 nuclear reprimen la expresión de S100A9. Por tanto, es posible que YAP1 se encuentre predominantemente en el citoplasma y sea retenida por la estratífina en el CEC para permitir la expresión de S100A9, lo que al parecer contradice la función nuclear de YAP1 en la promoción de la aparición del CEC.

Para comprender mejor el estado de YAP1 en los cánceres de piel distintos del melanoma más frecuentes, se analizó su expresión mediante inmunohistoquímica (IHQ) en muestras de CEC, CBC, carcinoma de células de Merkel (CCM), fibroxantoma atípico (FXA) y dermatofibrosarcoma protuberante (DFSP). En estas muestras, también se analizó la expresión de S100A9 y de la estratífina.

Se analizó la localización de YAP1 calculando la relación entre el citoplasma y el núcleo. Para ello, se midió la intensidad de la señal de YAP1 tanto en el citoplasma como en el núcleo. Las muestras de CEC (n = 19), CBC (n = 27) y FXA (n = 20) eran muy heterogéneas y presentaban células con tinción citoplasmática y nuclear en proporciones similares (figura 1). Las muestras de DFSP (n = 14) mostraron una tinción predominantemente nuclear. Por último, no se detectó expresión de YAP1 en las muestras de CCM (n = 9).

También se llevó a cabo un análisis inmunohistoquímico de la YAP1 fosforilada en serina 127 (YAP1-pS127) para evaluar la actividad de la vía Hippo. La intensidad de YAP1-pS127 se evaluó utilizando una puntuación histológica que variaba entre 0 y 300. Los resultados mostraron que el CBC (media: 252,78; n = 23) y el CEC (media: 246,36; n = 23) presentaban altos niveles de expresión de YAP1-pS127 (figura 2). Las muestras de FXA (media: 194; n = 22) mostraron niveles más bajos de YAP1-pS127, pero las muestras de DFSP (media: 116,92; n = 18) presentaron una notable reducción de la expresión de YAP1-pS127 (figura 2).

Por último, se analizó la expresión de la proteína S100A9, regulada por YAP1, y de la proteína de armazón de YAP1, la estratifina, en muestras de FXA (n = 20), DFSP (n = 14) y CCM (n = 8) (figura 3). No se detectó expresión ni de S100A9 ni de estratifina en estos tumores. Estas proteínas tampoco se expresan en muestras de CBC, pero están presentes en niveles elevados en muestras de CEC⁷.

Se concluyó que, salvo en las muestras de CCM, el resto de los cánceres de piel distintos del melanoma estudiados mostraban una mezcla característica de células tumorales con acumulación de YAP1, ya fuera nuclear o citoplasmática. Entre estos tumores, las muestras de DFSP mostraron una mayor proporción de células con YAP1 nuclear y, de forma coherente, una expresión reducida de YAP1-pS127. Esta correlación respalda la solidez de estos datos.

La acumulación nuclear de YAP1 se ha relacionado con una mayor actividad proliferativa y agresividad tumoral⁴⁻⁶. Con todo, teniendo en cuenta la localización heterogénea de YAP1 en las muestras tumorales, pueden barajarse varios supuestos posibles. Por ejemplo, en las muestras de CEC, la proliferación podría verse potenciada a través de diferentes mecanismos, dependiendo de si YAP1 se localiza en el núcleo o en el citoplasma. Las células con YAP1 citoplasmática, que podrían mantenerse en el citoplasma gracias a la estratifina, podrían expresar S100A9 y, de este modo, estimular la proliferación⁸.

No parece que las muestras de CBC, DFSP y FXA expresen estratifina⁷ (este artículo). Este dato concuerda con las observaciones realizadas en muchos tumores epiteliales, en los cuales la estratifina se considera un supresor tumoral⁹. No obstante, también se observa una proporción considerable de YAP1 citoplasmática en los tumores de CBC y FXA. Por tanto, es posible que otras proteínas 14-3-3 mantengan la YAP1 fosforilada en estos tumores. En consonancia con esta hipótesis, estudios previos han demostrado que las proteínas 14-3-3ε, 14-3-3γ y 14-3-3ζ se expresan en los carcinomas cutáneos, pero no en los queratinocitos normales¹⁰.

En conclusión, estos datos indican que el estado de YAP1 es heterogéneo en los tumores cutáneos distintos del melanoma estudiados. En un mismo tumor, la agresividad puede

regularse mediante diferentes mecanismos, dependiendo de si YAP1 se localiza en el núcleo o en el citoplasma de poblaciones específicas de células tumorales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schlegelmilch K, Mohseni M, Kirak O, Pruszek J, Rodriguez JR, Zhou D, Kreger BT, Vasioukhin V, Avruch J, Brummelkamp TR, Camargo FD. Yap1 acts downstream of α -catenin to control epidermal proliferation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):782-95. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.031.
2. Zhang H, Pasolli HA, Fuchs E. Yes-associated protein (YAP) transcriptional coactivator functions in balancing growth and differentiation in skin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Feb 8;108(6):2270-5. doi: 10.1073/pnas.1019603108.
3. Sambandam SAT, Kasetti RB, Xue L, Dean DC, Lu Q, Li Q. 14-3-3 σ regulates keratinocyte proliferation and differentiation by modulating Yap1 cellular localization. *J Invest Dermatol*. 2015 Jun;135(6):1621-1628. doi: 10.1038/jid.2015.42.
4. Debaugnies M, Sánchez-Danés A, Rorive S, Raphaël M, Liagre M, Parent MA, Brisebarre A, Salmon I, Blanpain C. YAP and TAZ are essential for basal and squamous cell carcinoma initiation. *EMBO Rep*. 2018 Jul;19(7):e45809. doi: 10.15252/embr.201845809.
5. Maglic D, Schlegelmilch K, Dost AF, Panero R, Dill MT, Calogero RA, Camargo FD. YAP-TEAD signaling promotes basal cell carcinoma development via a c-JUN/AP1 axis. *EMBO J*. 2018 Sep 3;37(17):e98642. doi: 10.15252/emboj.201798642.
6. Vincent-Mistiaen Z, Elbediwy A, Vanyai H, Cotton J, Stamp G, Nye E, Spencer-Dene B, Thomas GJ, Mao J, Thompson B. YAP drives cutaneous squamous cell carcinoma formation and progression. *Elife*. 2018 Sep 20;7:e33304. doi: 10.7554/eLife.33304.
7. Matas-Nadal C, Bech-Serra JJ, Gatus S, Gomez X, Ribes-Santolaria M, Guasch-Vallés M, Pedraza N, Casanova JM, de la Torre Gómez C, Garí E, Aguayo-Ortiz RS. Biomarkers Found in the Tumor Interstitial Fluid may Help Explain the Differential Behavior Among Keratinocyte Carcinomas. *Mol Cell Proteomics*. 2023 Jun;22(6):100547. doi: 10.1016/j.mcpro.2023.100547.
8. Li Y, Kong F, Jin C, Hu E, Shao Q, Liu J, He D, Xiao X. The expression of S100A8/S100A9 is inducible and regulated by the Hippo/YAP pathway in

- squamous cell carcinomas. BMC Cancer. 2019 Jun 17;19(1):597. doi: 10.1186/s12885-019-5784-0.
9. Hammond NL, Headon DJ, Dixon MJ. The cell cycle regulator protein 14-3-3 σ is essential for hair follicle integrity and epidermal homeostasis. J Invest Dermatol. 2012 Jun;132(6):1543-53. doi: 10.1038/jid.2012.27.
 10. Holmes TR, Al-Matouq J, Holmes M, Nicola L, Rudd JC, Lovas S, Hansen LA. Targeting 14-3-3 ϵ -CDC25A interactions to trigger apoptotic cell death in skin cancer. Oncotarget. 2020 Sep 1;11(35):3267-3278. doi: 10.18632/oncotarget.27700.

Figura 1. Expresión de YAP1 en cánceres de piel distintos del melanoma. CBC (A), CEC (B), FXA (C), DFSP (D) y CCM (E) (40 $\times$). La puntuación histológica se calculó en función de la intensidad de la tinción mediante una escala de 0 a 3 (0 = ausencia de tinción, 1 = tinción débil, 2 = tinción moderada, 3 = tinción intensa). La significación estadística se evaluó mediante la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

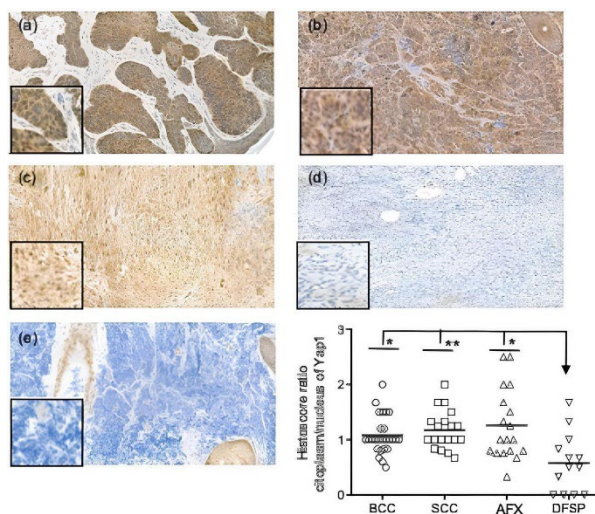


Figura 2. Expresión de YAP1 fosforilado en cánceres de piel distintos del melanoma. Inmunotinción en busca de YAP1-pS127 en CBC (A), CEC (B), FXA (C) y DFSP (D) (40×). La cuantificación se realizó mediante una puntuación histológica (Hscore) que tiene en cuenta la intensidad de la tinción y el porcentaje de células positivas, según la fórmula: $Hscore = 1 \times (\% \text{ de tinción débil}) + 2 \times (\% \text{ de tinción moderada}) + 3 \times (\% \text{ de tinción intensa})$. El Hscore varía entre 0 y 300. La significación estadística se evaluó mediante la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn (***) $p < 0,001$; ns: no significativo).

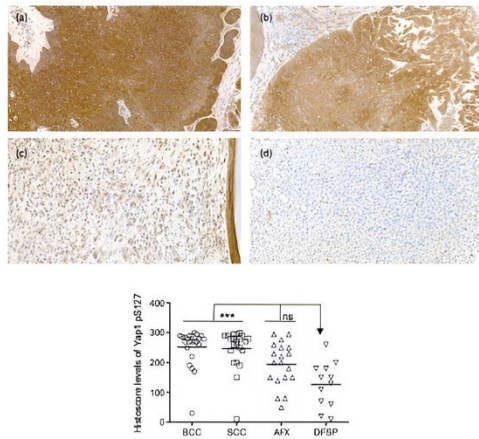


Figura 3. Expresión de S100A9 y estratífina en cánceres de piel distintos del melanoma. Inmunohistoquímica de S100A9 en FXA (A), DFSP (B), CCM (C), CEC (D) y CBC (E) (10×). Inmunohistoquímica de la estratífina en FXA (F), DFSP (G), CCM (H), CEC (I) y CBC (J) (10×). (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

