

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：国際共同研究加速基金（帰国発展研究）

研究期間：2017～2022

課題番号：15K21775

研究課題名（和文）消化器癌と消化器再生における炎症の役割の解明

研究課題名（英文）Study on the role of inflammation in gastrointestinal cancer and regeneration

研究代表者

谷口 浩二（Taniguchi, Koji）

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：20627020

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 44,000,000円

研究成果の概要（和文）：大腸がんにおいてもSrc family-kinase (SFK)-YAP経路が腫瘍抑制遺伝子 adenomatous polyposis coli (APC)の欠損により誘導されることを明らかにした。ヒト大腸がんの組織マイクロアレイにおいて、約70%のサンプルでSFK, YAP, STAT3, Notchシグナルの同時活性化を認めた。またヒト大腸がんサンプルにおいて、正常大腸部に比べてがん部でのgp130の発現上昇を免疫染色で確認し、ヒト大腸がんでのgp130-SFK-YAP経路の重要性を明らかにした。さらにSFK阻害剤とJAK阻害剤の同時投与が大腸がん治療に有効である事を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

組織再生を促進するシグナルの多くは癌においても活性化している事が知られており、このシグナルが癌においても活性化していれば、癌の新しい治療標的になる可能性がある。今回の研究で、大腸がんにおいてもSrc family-kinase (SFK)-YAP経路が腫瘍抑制遺伝子 Adenomatous polyposis coli (APC)の欠損により誘導されることを明らかにしたので、このSFK-YAP経路が大腸がんにおけるがんの新規治療標的となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We found that the Src family-kinase (SFK)-YAP pathway is activated by deletion of the tumor suppressor gene adenomatous polyposis coli (APC) in colorectal cancer. Using a tissue microarray (TMA) of human colon cancer samples, we found co-activation of SFK, YAP, STAT3, and Notch signals in about 70% of the samples. We also confirmed the increased expression of gp130 in human colorectal cancer samples compared to normal colon samples. In addition, we revealed that co-administration of SFK inhibitor and JAK inhibitor is more effective than single-agent inhibition in the treatment of colorectal cancer. These data suggest the importance of the gp130-SFK-YAP pathway in colorectal cancer.

研究分野：実験病理学

キーワード：炎症 がん 組織再生

## 1. 研究開始当初の背景

多くの癌の発生や進展に慢性炎症が寄与している事がよく知られており、近年炎症が癌を促進するメカニズムが次第に明らかになってきている (Grivennikov et al. Cell 2010)。一方、組織傷害時には急性炎症が引き起こされ、炎症が創傷の治癒(再生)を促進している事が知られているが、そのメカニズムはよく分かっていない。炎症時には炎症性サイトカインであるインターロイキン-6 (IL-6)や腫瘍壊死因子(TNF)などが免疫細胞などにより大量に産生される事が報告されており、IL-6 ファミリーサイトカインは共通のサイトカイン受容体 gp130 を介して創傷の治癒を促進すると考えられている (Taniguchi and Karin, Semin Immunol 2014)。

研究代表者は、炎症性腸疾患や大腸癌で活性化している IL-6-gp130 シグナルを腸上皮細胞特異的に活性化させるため、gp130 の恒常的活性化型変異(炎症性肝腫瘍の患者から見つかった変異)を使って、腸上皮細胞特異的な gp130 トランスジェニックマウス (Villin-gp130 Tg マウス) を作製した。Villin-gp130 Tg マウスの表現型としては、腸が長く太くなり、増殖している未熟な腸上皮細胞の増加と分泌細胞(パネート細胞、杯細胞)の減少を認め、腸炎モデルで腸炎抵抗性を示した。IL-6-gp130 シグナルの下流では JAK-STAT3 シグナルが最も重要なシグナルと考えられているが、gp130 トランスジェニックマウスを STAT3 欠損マウスと掛け合わせても、増殖している腸上皮細胞の増加や分泌細胞の減少に影響を与えなかった。その表現型を引き起こすメカニズムとして、gp130 の下流で JAK-STAT3 シグナルに加え、Src family kinase (SFK)-YAP-Notch というシグナルが活性化している事を発見した (Taniguchi et al. Nature 2015)。Hippo-YAP シグナルは、比較的最近見つけられ注目されているシグナルで、胚性幹 (ES) 細胞、組織の再生や癌で非常に重要な働きをしていると考えられている。腸炎抵抗性においても、gp130 の下流で JAK-STAT3 シグナルに加え、SFK-YAP-Notch シグナルが重要な働きを果たしている事を明らかにし、SFK-YAP シグナルが炎症性腸疾患の一種であるクローン病患者の腸でも活性化している事を確認した。

腸炎や肝切除後に YAP が非常に強く活性化し、再生を促進することが報告されているが、どのように YAP が活性化されるかは明らかではなかった。研究代表者は、この論文で組織損傷に伴う炎症反応が起き、IL-6-gp130 シグナルを活性化した際に JAK-STAT3 シグナルに加えて、SFK-YAP-Notch シグナルが活性化し、腸の再生を促進することを初めて明らかにした(モデル図)。これは組織損傷時の「炎症」がどのように臓器の「再生」を引き起こすかという「炎症」と「再生」をつなぐひとつのメカニズムだと考えられる。再生を促進するシグナルの多くは癌においても活性化している事が知られており、このシグナルが癌においても活性化していれば、癌の新しい治療標的になる可能性がある。

## 2. 研究の目的

大腸癌、肝癌などの消化器癌による死亡率は依然として高く、早期であれば内科的治療や外科的切除が可能であるが、進行癌や癌の再発の場合は主に化学療法が行われ、その効果は限定的である。免疫療法として抗 PD-1/PD-L1 抗体療法が注目されているが、メラノーマなどでは良好な結果が出ている一方、大腸癌ではあまり効果がない事が報告されている。慢性炎症が多くの癌の発生や進展(転移)に寄与している事がよく知られており、その中でも炎症性サイトカイン IL-6 が大きな役割を果たしている事が知られている。IL-6 シグナルのエフェクターとして JAK-STAT3 経路が有名であるが、最近、研究代表者は IL-6-gp130-SFK-YAP 経路を発見し、腸の再生に重要である事を報告した (Taniguchi et al. Nature 2015)。本研究では、消化器癌や再生における炎症および SFK-YAP 経路の役割を明らかにし、新規の治療標的・治療法を提唱する事を目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) SFK-YAP 経路の活性化メカニズム・役割の解明

多くの癌において、YAP が蓄積し活性化する事が報告されているが、上流の Hippo 経路分子の変異は非常に稀であり、ヒトの癌で YAP がどのように活性化されているかは癌の治療法を考える上でも非常に重要な課題である。予備実験において、マウス腸オルガノイドにおいて、SFK-YAP 経路が APC (adenomatous polyposis coli) 遺伝子(ヒト大腸癌で約 80-90%に変異が見られる)を欠損させる事で活性化する事、癌細胞株において抗癌剤治療や低酸素状態により活性化される事、マウスの部分肝切除モデルで活性化される事などを確認しているが、この経路がどのように活性化されるかは明らかではない。その活性化のメカニズムおよび役割を腸オルガノイドや初代肝細胞、癌細胞株を用いて、生化学的手法を用いて明らかにする。

## (2) 消化器癌における gp130-SFK-YAP 経路の役割の解明

さまざまなマウス大腸癌、肝臓癌モデルおよびヒト癌サンプルを用いて、大腸癌、肝臓癌における SFK-YAP 経路の役割を明らかにする。予備実験において、マウス大腸癌モデルの大腸腫瘍で STAT3 に加え、SFK, YAP および Notch シグナルが活性化している事を確認した。また予備実験として、ヒト大腸癌のサンプルにおいても、高率で STAT3 に加え、SFK, YAP および Notch シグナルが活性化している事を確認している。マウス大腸癌モデルマウスを Villin-gp130 Tg マウスと掛け合わせると癌化が促進される事を確認しており、gp130 の下流として STAT3 と YAP のどちらが癌化に重要かを STAT3 および YAP ノックアウトマウスと掛け合わせる事により確認する。さらに大腸癌モデルマウスを SFK 阻害剤と JAK 阻害剤(単独および同時投与)を用いて、治療を行い、治療効果を判定する。予備実験で *in vitro* において SFK 阻害剤と JAK 阻害剤の同時投与はより効果的である事を確認しており、SFK 阻害剤と JAK 阻害剤の同時投与が *in vivo* モデルにおいても、単独投与に比べて有効であることを確認する。

## 4. 研究成果

大腸がん細胞においても SFK-YAP シグナルが活性化しているのかの検討を行った。その結果、驚くべき事にがん抑制遺伝子 APC 遺伝子の欠損により、これまで知られていた Wnt 経路のエフェクター分子である  $\beta$ -catenin の活性化に加え、YAP の活性化と gp130 を含む IL-6 サイトカインシグナル経路分子の発現増加を認めた。gp130 を含む IL-6 サイトカインシグナル経路分子の発現増加は YAP 依存性であった。腸オルガノイドを使った実験により、APC 欠損により IL-6 ファミリーサイトカインへの反応性の上昇を認めた。つまり、APC 欠損により初期の弱い炎症に対してがんの進展に十分なシグナル伝達経路の活性化をがん細胞内に引き起こす事が出来る。

ヒト大腸がんサンプルの組織マイクロアレイ(TMA)を使用して、約70%のサンプルで SFK, YAP, STAT3, Notch シグナルの同時活性化を認めた。またヒト大腸がんサンプルにおいても、正常大腸部に比べてがん部での gp130 の発現上昇を免疫染色で確認した。

さらに SFK 阻害剤と JAK 阻害剤の同時投与が大腸がん治療に単剤阻害と比べより有効である事を明らかにした。

上記の研究結果からなぜ大腸がんにおいては、 $\beta$ -catenin の変異(5%前後)に比べ、APC の変異が 70-80%と著明に多いかを説明する事ができる。また炎症性腸疾患患者での大腸がんにおいては、なぜ APC の変異ががん化の初期に起きず、後期に起きるのかという事も説明する事ができる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hibino Sana, Kawazoe Tetsuro, Kasahara Hidenori, Itoh Shinji, Ishimoto Takatsugu, Sakata-Yanagimoto Mamiko, Taniguchi Koji	4. 巻 22
2. 論文標題 Inflammation-Induced Tumorigenesis and Metastasis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5421 ~ 5421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22115421	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nagai Nao, Kudo Yotaro, Aki Daisuke, Nakagawa Hayato, Taniguchi Koji	4. 巻 22
2. 論文標題 Immunomodulation by Inflammation during Liver and Gastrointestinal Tumorigenesis and Aging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2238 ~ 2238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22052238	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 谷口 浩二
2. 発表標題 大腸がんの炎症・免疫を標的とした治療開発
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口 浩二
2. 発表標題 サイトカインで活性化されるSFK-YAPシグナルの消化器がんでの役割の検討
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口 浩二
2. 発表標題 LIF-SFK-YAP経路はヒト食道扁平上皮がんの進展を促進する
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------