

令和元年5月31日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04689

研究課題名(和文) Vasohibin-2によるがん進展の機序解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of vasohibin-2 for cancer progression

研究代表者

佐藤 靖史 (Sato, Yasufumi)

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：50178779

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：Vasohibin-2 (VASH2)のがん進展における機能について研究した。まず、卵巣がん細胞を用いて解析した結果、VASH2はTGF- $\beta$ 1型受容体の発現を介してがん細胞の浸潤性・転移性を関与することを明らかにした。次に、膵がんに関し、膵がん自然発症マウス(KPCマウス)を用いて解析した結果、VASH2は膵がん細胞の転移能に大きく関与し、その機序として、膵がん細胞のチューブリンを脱チロシン化して膵がん細胞の運動性・浸潤性を亢進されることや、CXCR2リガンドやG-CSFなどの発現を誘導することで、骨髄由来免疫抑制細胞やM2マクロファージを集積させ、がん免疫を抑制することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、実施者が発見したVASH2が、がんの進展の中で、特にその転移において極めて重要な役割を果たしていることが明らかとなった。我が国の死亡原因のトップであり、なかでも最も悪性で難治性の膵がんは、早期の外科療法以外に確実な治療法のない状況は続いている。本研究成果は、こうした膵がんをはじめとした難治がんに対する新しい治療法をもたらすものである。

研究成果の概要(英文)：We first examined the role of VASH2 in ovarian cancer cells. Our analyses revealed that VASH2 was involved in the expression of TGF- $\beta$ 1 type I receptor, which influenced the TGF- $\beta$ -mediated epithelial-mesenchymal transition for cancer cell invasion. We then examined the role of VASH2 in pancreatic cancer by using KPC mice and cells isolated from them. Knockdown of Vash2 significantly decreased migration of KPC cells. When KPC mice were crossed with Vash2 deficient mice, metastasis was significantly decreased. Our analyses revealed that Vash2 increased tubulin detyrosination of KPC cells for their migration and invasion. We further revealed that Vash2 was involved in the expression of CXCR2 ligands and G-CSF, which were responsible for the recruitment of myeloid derived suppressor cells (MDSCs) and M2-macrophages for the evasion of tumor immunity.

研究分野：実験病理学

キーワード：VASH2 膵がん 転移 チューブリン脱チロシン化 骨髄由来免疫抑制細胞 M2マクロファージ がん免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

がんの発育・進展には、がん細胞自体のもつ特性と共に、これを取りまくがん間質が極めて重要である。がん間質では、腫瘍血管をはじめとして、線維芽細胞、炎症細胞、免疫担当細胞や、これに加えて結合組織が特徴的な微小環境を構築している。がんの増殖・浸潤・転移のしやすさは、がん細胞とがん微小環境との相互関係が深く関わっており、また、がんの進展に伴ってがん細胞が悪性化する時、がん微小環境もダイナミックに変化するという特徴を持っている。

代表研究者は、血管内皮細胞が自ら産生する血管新生抑制因子 Vasohibin-1 (VASH1) と、VASH1 とアミノ酸配列上 52.5% 相同で VASH1 とは拮抗的に血管新生を促進する VASH2 を単離・同定した。がん組織における解析から、VASH1 はがん間質の血管内皮細胞が主に産生し、遺伝子改変マウスの解析から血管新生抑制作用に基づいてがんの発育や転移を制御することが分かった。これに対して VASH2 はがん細胞が主に産生し、特にヒト卵巣がん細胞を用いた研究において、その作用を阻害することで顕著な抗腫瘍効果が得られることを見出した。さらに自然発がんモデルマウス (Apc<sup>min</sup> マウス、Gan マウス) と VASH2 遺伝子改変マウスとの交配実験から、がん間質においては腫瘍血管新生を促進して腫瘍血管を未熟な状態に維持するだけでなく、線維芽細胞 (特に  $\alpha$ SMA 陽性の cancer associated fibroblast, CAF) を増加させ、一方がん細胞に直接作用して、上皮間葉転換を惹起すると共にがんを未分化な状態に維持する可能性など、がん間質細胞とがん細胞の双方に対して多彩な作用を発揮してがん進展を促進していることが明らかとなりつつある。さらに膵がんに関する臨床グループとの国際疫学研究から、ヒト膵がんにおいて VASH2 の発現が高いほど予後不良であることも明らかとなってきた。このように、特に VASH2 のがん進展における重要性や治療標的としてのポテンシャルが注目されるが、VASH2 が如何にしてがん及びがん微小環境において作用するのか、その本態は不明のままである。

#### 2. 研究の目的

VASH1、VASH2 はいずれも代表研究者が発見したオリジナル分子であり、種を超えて良く保存されているが、血管の無い下等生物は単一の VASH 祖先遺伝子を持つのに対し、進化の過程で血管を有する脊椎動物から VASH1、VASH2 に別れたことが判明した。すなわち、VASH はもともと血管とは無関係の分子として生体に付与されたが、脊椎動物から血管系にも使われるようになったと考えられる。遺伝子配列上 VASH2 の方が VASH 祖先遺伝子により近く、VASH1 が血管内皮細胞に発現するのに対し、VASH2 は、精巣を除く正常組織では殆ど発現しないが、細胞のがん化に伴って発現上昇し、その高発現はあらゆるがんを確認される。これまで代表研究者は、VASH2 の腫瘍血管新生に対する作用に注目して研究を行って来たが、最近 VASH2 は腫瘍血管新生を促進するだけでなく、多彩な作用でがん進展を促進する可能性が示唆されているが、その作用には未知の部分が多い。そこで本研究では、**卵巣がん**と**膵がん**の2つのモデルについて VASH2 の作用機序を解明し、**がんにおける VASH2 の意義を明らかにすることを目的とした。**

#### 3. 研究の方法

(1) ヒト卵巣がん細胞を用いて、VASH2 の発現をノックダウンすることで、卵巣がん細胞の遊走性や浸潤性に対する影響を明らかにし、影響が見られる場合、VASH2 の作用を分細胞生物学的に解析した。

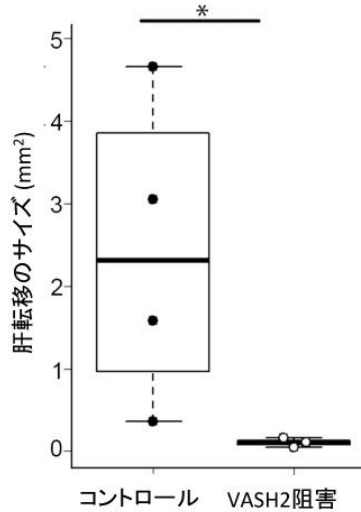
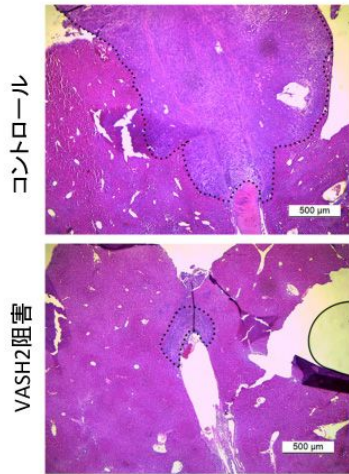
(2) 膵がんに対する VASH2 の機能を解明するために、ヒト膵がん近似の自然発がんマウスモデルである *PDX-1-Cre; LSL-Kras<sup>G12D</sup>; LSL-Trp53<sup>R172H</sup>* トランスジェニックマウス (以下 *KPC* マウス) と、*KPC* マウスから単離した膵がん細胞 (*KPC* 細胞) を導入した。*KPC* 細胞について、*Vash2* 発現をノックダウンし、細胞機能に与える影響を解析した。また *KPC* マウスと *Vash2* 遺伝子欠損マウスとの交配実験を行い、*Vash2* の個体レベルの機能を解析した。

#### 4. 研究成果

(1) VASH2 は、卵巣がん細胞の TGF- $\beta$  1 型受容体 ALK1 の発現を直接的に調節し、その下流において Smad2/3 の標的分子の転写活性を介して、上皮間葉転換を誘導して卵巣がん細胞の浸潤性・転移性を惹起することを明らかにした。

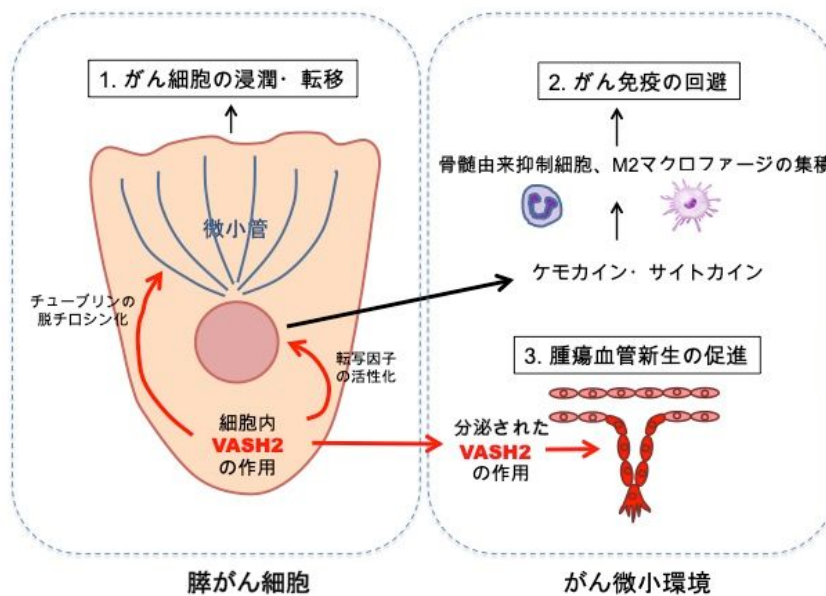
(2) *KPC* マウスから単離した膵がん細胞を用いた研究した。その結果、VASH2 発現をノックダウンすることで膵がん細胞の転移能は顕著に抑制され、そのことは *KPC* マウスと *Vash2* 遺伝子欠損マウスとの交配実験によって個体レベルでも再現された。

## 肝転移



また、その際の VASH2 の機能として、VASH2 の tubulin carboxypeptidase 活性によって膵がん細胞のチューブリンを脱チロシン化して膵がん細胞の運動性・浸潤性を亢進させることや、CXCR2 リガンドのケモカインや G-CSF などのサイトカインの発現を誘導することで、骨髄由来免疫抑制細胞や M2 マクロファージを腫瘍内に集積させ、がん免疫を抑制するなど多彩な作用で膵がんの進展を促進することを明らかにした。

	小腸	肝臓	肺	副腎	腹膜	横隔膜	腹水
KPC	9/14	9/14	5/14	9/14	6/14	5/14	9/14
Vash2 <sup>LacZ/+</sup> KPC	5/9	2/9	0/9	3/9	3/9	2/9	4/9
Vash2 <sup>LacZ/LacZ</sup> KPC	3/12	3/12	0/12	1/12	1/12	2/12	1/12



## 5 . 主な発表論文等

Norita R, Suzuki Y, Furutani Y, Takahashi K, Yoshimatsu Y, Podyma-Inoue KA, Watabe T, and Sato Y. Vasohibin-2 is required for epithelial-mesenchymal transition of ovarian

cancer cells by modulating TGF- $\beta$  signaling. Cancer Sci. 108: 419-426, 2017.

Iida-Norita R, Kawamura M, Suzuki Y, Hamada S, Masamune A, Furukawa T, Sato Y. Vasohibin-2 plays an essential role in metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma. Cancer Sci. 2019 [Epub ahead of print].

〔学会発表〕(計 2件)

乗田理恵、鈴木康弘、堀江佐知子、佐藤靖史：Vasohibin2 は卵巣癌において上皮間葉転換を調節する。第74回日本癌学会学術総会。名古屋，2015，10。

川村美夏帆、飯田理恵、鈴木康弘、濱田晋、正宗淳、古川徹、佐藤靖史：Vasohibin-2 は膵癌の浸潤・転移において重要な役割を果たす。第77回日本癌学会学術総会。大阪，2018，9。

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：鈴木康弘

ローマ字氏名： Yasuhiro Suzuki

所属研究機関名：東北大学

部局名：加齢医学研究所

職名：助教

研究者番号(8桁): 60332277