

令和元年6月6日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10578

研究課題名(和文) 消化器癌におけるHippo-pathwayを介した癌幹細胞性獲得機構の解明

研究課題名(英文) Biological significance of Hippo-pathway in gastrointestinal cancer

研究代表者

林 洋光 (HAYASHI, Hiromitsu)

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80625773

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞癌株、大腸癌細胞株や食道癌細胞株において、腫瘍抑制シグナルHippo pathwayの構成成分YAPとTAZの発現検討を行い、肝細胞癌株ではTAZ優位、大腸癌株と食道癌株ではYAP優位で発現していた。消化器癌においても癌腫においてはHippo pathwayの役割が異なることが示唆された。肝細胞癌においてTAZからYAPへのシフトは癌幹細胞能獲得に寄与することを同定した。大腸癌細胞株および食道癌細胞株でYAPのsiRNAを行うと、肝細胞癌のようなTAZへのシフトは認めなかった。細胞増殖能は有意に低下し、YAPは大腸癌および食道癌における細胞増殖能に深く関与することを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト固形癌では腫瘍抑制シグナル伝達系Hippo pathwayの破綻による転写因子YAP/TAZの発現上昇が高頻度に認められており、近年発がんおよび癌進展におけるHippo pathwayの破綻が注目される。Hippo pathwayの破綻はYAPとTAZの発現上昇を引き起こすが、YAPとTAZの生物学的機能の差異は不明な点が多かった。本研究によりYAPとTAZは癌腫に応じて発現パターンが異なり、発現パターンに応じた癌進展を引き起こしている可能性が示唆された。YAPはTAZ発現低下時に相補的に発現上昇し、癌治療においてYAPとTAZともに治療ターゲットにすることが効果的であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：There are different expression patterns of YAP/TAZ in gastrointestinal cancers including hepatocellular carcinoma, colon cancer, and esophageal cancer. While TAZ is a major profile in a hepatocellular carcinoma, YAP is a major profile in colon cancer and esophageal cancer. The downregulation of YAP by si-RNA reduces the ability of cell growth in colon cancer and esophageal cancer cells. In a hepatocellular carcinoma, a shift from TAZ into YAP provide an ability of cancer stem-like phenotype.

研究分野：消化器癌、Hippo pathway、癌幹細胞

キーワード：消化器癌 Hippo pathway 癌幹細胞 YAP TAZ

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

1. 研究開始当初の背景

癌は全死因の第1位で約3割を占め、特に固形癌である消化器癌は抗がん剤や治療に対する抵抗性が高く部位別癌死因の約半数を占める。最近では生活習慣病患者の増加とともに大腸癌や肝癌などの発癌増加が指摘されており、さらなる消化器癌進展の機構解明ひいては新規治療戦略の構築が必要である。近年、癌組織内における多様性 (heterogeneity) が、抗がん剤や治療に対する抵抗性の原因として注目されている。正常組織の heterogeneity は、自己複製能と多分化能 (非対称性分裂) を示す幹細胞が担っているが、癌においても幹細胞性を示す細胞群が内在し、癌の heterogeneity を生む根源となることが報告され、効果的な癌治療標的として期待されている。本研究で着目する Hippo pathway は最近同定された腫瘍抑制シグナル伝達系で、細胞間の contact inhibition を担って器官サイズをコントロールし、ノックアウトマウスや transgenic mouse におけるシグナル異常は、肝細胞癌の発生や肝肥大を引き起こすことが知られている。Cell-cell contact inhibition の破綻は増殖する癌細胞の Hallmark とも表される特徴であり、ヒト固形癌では高頻度に転写因子 YAP/TAZ の発現上昇が認められている。YAP/TAZ は癌進展に寄与し、癌幹細胞様の性質獲得への関与も示唆されているが、そのメカニズムや臨床的特性は不明な点が多い。

2. 研究の目的

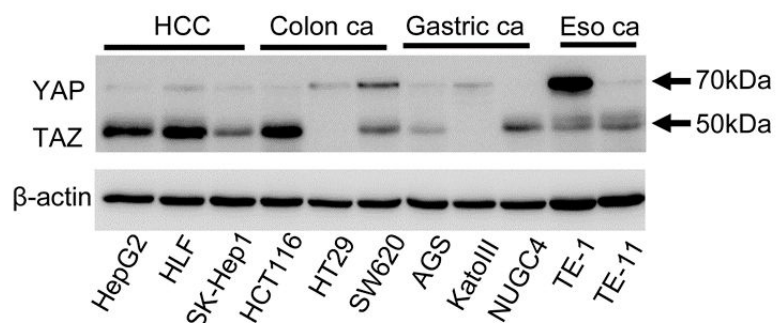
「腫瘍抑制シグナル Hippo pathway の構成成分 YAP と TAZ の発現変化 (TAZ > YAP もしくは TAZ < YAP) が癌細胞の増殖能や抗がん剤抵抗性・腫瘍形成能という生物学的特性を制御し、肝細胞癌のみならず消化器癌における癌幹細胞様の性質獲得に関与する」という仮説を立てた。本研究の最終目標は、Hippo pathway の構成成分 YAP/TAZ による癌幹細胞性の制御機構を分子生物学的に紐解き、臨床的特性と照らし合わせることで、癌幹細胞をターゲットにした新しい消化器癌治療法を確立する。

3. 研究の方法

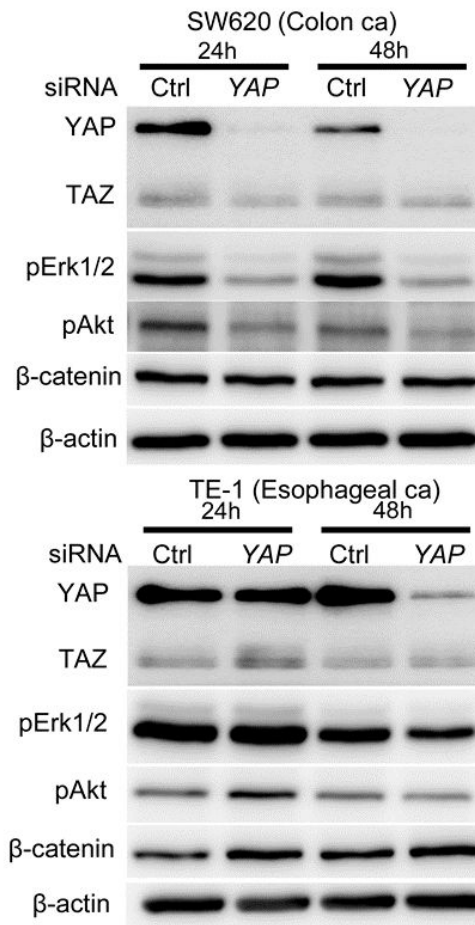
- 1) 消化器癌細胞株を用いた in vitro, in vivo における癌幹細胞性獲得機構における細胞内シグナル変化や浸潤・転移能の変化を明らかにする。
- 2) Tumor microenvironment (低酸素、cancer-associated fibroblast や細胞接着) による癌幹細胞性獲得 (TAZ dominant から YAP dominant への発現変化) の役割について明らかにする。
- 3) 1), 2) で同定した癌幹細胞性獲得における細胞内変化および腫瘍環境の生物学的意義について、当科保有の生体試料 (frozen section, paraffin section) を用いた臨床的意義に関して検討する (生体内での腫瘍環境と YAP の局在 動態の変化についても臨床サンプルを用いて検索を進める)。
- 4) YAP 発現亢進による癌幹細胞能獲得を阻害する薬剤について基礎的検討を行い臨床応用への基礎を築く。

4. 研究成果

2016年4月の熊本地震による実験施設および多くの試薬が被害を被ったため、予定していた実験の再スケジュールリングを要したが、実験の再開に伴い高コレステロール治療薬として広く用いられているスタチンが Hippo pathway の構成成分である TAZ の発現を抑制する実験



結果を得た。また、肝細胞癌株(HLF, SKHEP1)、大腸癌細胞株(SW620)や食道癌細胞株(TE-1)において、腫瘍抑制シグナル Hippo pathway の構成成分 YAP と TAZ の発現検討を行ったところ、肝細胞癌株においては、TAZ 優位で発現していたのに対して大腸癌株や食道癌株においては YAP 優位 (YAP>TAZ) で発現していた。この結果は非常に興味深く、消化器癌においても肝細胞癌と大腸癌、食道癌においては腫瘍抑制シグナル Hippo pathway の役割が異なる可能性が示唆された。大腸癌細胞株および食道癌細胞株で YAP の siRNA を行い、TAZ/YAP の発現変化を検討したが、YAP の発現低下は siRNA で得られていたが compensate な TAZ の発現上昇は認められなかった。細胞増殖能は YAP の siRNA により有意に低下しており、YAP は大腸癌および食道癌における細胞増殖能に深く関与していることを同定した。現在、難治性消化器癌である膵癌を含め、YAP/TAZ の発現抑制並びに過剰発現株を作成し、TAZ/YAP の発現変化が癌幹細胞能獲得に寄与するメカニズムの解明を行っており。またスタチンによる TAZ/YAP 発現抑制を介した抗腫瘍効果を確認した。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 林 洋光、東 孝暁、横山奈穂美、甲斐田剛圭、新田英利、橋本大輔、近本 亮、別府 透、高森啓史、馬場秀夫: Hippo-pathway を介した癌幹細胞性獲得機構の解明と治療への応用、第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016
2. 林 洋光、高森啓史、馬場秀夫: 肝細胞癌における Hippo pathway を介した癌幹細胞性獲得機構の解明と治療への応用、第 102 回日本消化器病学会総会、2016
3. 林 洋光、黒木秀幸、東 孝暁、武山秀晶、岡部弘尚、今井克憲、山下洋市、高森啓史、馬場秀夫: 肝再生および肝萎縮におけるトロノボスポンディン 1 の役割解明と臨床応用への探索、第 117 回日本外科学会定期学術集会、2017
4. Hiromitsu Hayashi、Hirohisa Okabe, Yoshiaki Ikuta, Shinichi Akaboshi, Katsuhisa Ogawa, Nobuyuki Ozaki, Kenichi Ogata, Toru Beppu, Hideo Baba, Hiroshi Takamori: Right hemihepatectomy with an anterior approach for advanced hepatocellular carcinoma (Vp3), 第 6 回アジア太平洋肝胆膵学会・第 29 回日本肝胆膵外科学会学術集会、2017

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：美馬 浩介
ローマ字氏名：MIMA Kosuke
所属研究機関名：熊本大学
部局名：医学部附属病院
職名：非常勤診療医師
研究者番号（8桁）：00546559

研究分担者氏名：中川 茂樹
ローマ字氏名：NAKAGAWA Shigeki
所属研究機関名：熊本大学
部局名：医学部附属病院
職名：特任助教
研究者番号（8桁）：10594872

研究分担者氏名：今井 克憲
ローマ字氏名：IMAI Katsunori
所属研究機関名：熊本大学
部局名：大学院生命科学研究部（医）
職名：助教
研究者番号（8桁）：60555746

研究分担者氏名：東 孝暁
ローマ字氏名：HIGASHI Takaaki
所属研究機関名：熊本大学
部局名：医学部附属病院
職名：非常勤診療医師
研究者番号（8桁）：70594878

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。