

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09059

研究課題名(和文) 膵癌におけるHippo pathwayと癌微小環境のinteractionの解明

研究課題名(英文) Interaction between Hippo pathway and cancer microenvironment in pancreatic cancer.

研究代表者

東 孝暁 (Higashi, Takaaki)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員

研究者番号：70594878

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍環境として高血糖状態に着目し膵癌腫瘍進展の検討をした。糖代謝異常は癌の悪性化に寄与することが知られている。本研究では高血糖状態はHippo pathway (YAP/TAZ) を介し、上皮間葉転換 (EMT) を誘導し腫瘍進展に関与することが明らかになった。In vitro、vivoにて高血糖状態はYAP/TAZ、GLUT1およびpAktの発現を介し、EMTが誘導されていた。同時に抗癌剤耐性能の獲得も確認された。YAP/TAZの発現抑制系では高血糖状態において同様の現象は確認されず、YAP/TAZが高血糖状態という腫瘍環境下におけるEMT誘導を介した腫瘍進展に大きな役割を果たしていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦において膵癌による死亡数は年々増加傾向にある。早期発見は非常に困難であり、発見時に約30%の症例は根治手術が不能な進行癌として診断される。また根治切除可能であっても、Stage I 膵癌の5年生存率は60%前後、全膵癌の5年相対生存率は約8%と非常に予後不良な疾患である。膵癌の予後を不良にしている要因の一つとして化学療法の奏効率の低さにある。癌幹細胞や腫瘍微小環境が化学療法感受性に影響を与えることは種々の癌種で広く知られている。本研究では膵癌におけるHippo pathwayおよび癌微小環境、特に糖代謝異常の役割を明らかにし、今後の膵癌治療戦略の一つとなりうる。

研究成果の概要(英文)：Hyperglycaemia is an initial symptom in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). Metabolic reprogramming in cancer can induce epithelial-mesenchymal transition (EMT). The biological impact of hyperglycaemia on malignant behaviour in PDAC was examined by in vitro and in vivo experiments. Hyperglycaemia promoted EMT by inducing metabolic reprogramming into a glycolytic phenotype YAP/TAZ overexpression, accompanied by GLUT1 overexpression and enhanced pAkt in PDAC. In addition, hyperglycaemia enhanced chemoresistance by upregulating ABCB1 expression and triggered PDAC switch into pure basal-like subtype with activated Hedgehog pathway through YAP/TAZ overexpression. Knockdown of YAP and/or TAZ or treatment with YAP/TAZ inhibitor abolished EMT, chemoresistance and a favourable tumor microenvironment even under hyperglycemic conditions in vitro and in vivo.

研究分野：肝胆膵外科、消化器癌治療

キーワード：癌微小環境 膵癌 Hippo pathway

1. 研究開始当初の背景

本邦において膵癌による死亡数は年々増加傾向にあり、2017年時点では第4位の死亡数となっている。膵癌のリスク因子として喫煙、アルコール、糖尿病、膵炎、膵癌の家族歴などが挙げられているが、早期発見することは困難であり、発見時に約30%の症例は根治手術が不能な進行癌として診断される(Gemenetzis, Ann Surg, 2019)。根治切除可能であっても、Stage I 膵癌の5年生存率は60%前後、全膵癌の5年相対生存率は約8%と非常に予後不良な疾患である。膵癌の予後の改善は喫緊の課題といえる。膵癌の予後を不良にしている要因の一つとして化学療法の奏効率の低さにある。癌幹細胞や腫瘍微小環境が化学療法感受性に影響を与えることは種々の癌種で広く知られている。Hippo pathway は膵癌においても化学療法抵抗性等の悪性メカニズムにおいて重要な役割を担っていることが報告されている(Ideno, Gastroenterology, 2018. Chen, J Cell Biochem, 2019)。

腫瘍組織には、癌細胞のみならず腫瘍血管や癌関連線維芽細胞(CAF)など様々な種類の細胞が存在し、癌微小環境が構成されている。癌微小環境は癌の増殖・進展に深く関わっており、新たな治療ターゲットとしても注目を集めている(Mizutani, Cancer Res, 2019. Shi, Nature, 2019)。我々は、CAFによる癌の増殖、進展メカニズムのひとつとして、CXCL12-CXCR4 signaling を介し転移、浸潤を促進することを報告してきた(Izumi, Int J Cancer, 2016. Miyata, Cancer Sci, 2019)。

膵癌においてもCXCL12-CXCR4 signaling は浸潤を促進すると報告されている(Demir, Proc Natl Acad Sci, 2017)。膵癌は腫瘍内間質を多く含む特徴があり、癌微小環境はその悪性化に重要な役割を担っていると考えられている。

2. 研究の目的

本研究では膵癌におけるHippo pathway および癌微小環境、特にCXCL12-CXCR4 signaling の役割を明らかにし、癌の増殖、進展に関わる経路を制御する可能性のある薬剤を明らかにすることを目的とする

3. 研究の方法

膵癌の細胞増殖、進展、および長期予後におけるHippo pathway やCXCL12-CXCR4 signaling の役割の解明

- ・当科で保有する膵癌細胞株8株を用いてYAP/TAZの発現をqPCR、Western blotにより定量化し、強発現、低発現株を選別する。過剰発現やknock downの手法により細胞増殖や浸潤能の変化を確認する。

- ・膵癌切除検体の免疫染色を行い、YAP/TAZ、CXCL12発現量を定量化し、膵癌予後との関連を明らかにする。

Hippo pathway とCXCL12-CXCR4 signaling のcross talkの解明および、癌微小環境との関連

- ・膵癌細胞株をCXCL12 recombinantにより刺激し、YAP/TAZの発現が誘導されるか、細胞増殖能、浸潤能などの表現型に影響を及ぼすか確認する。

- ・膵癌細胞株をCAF condition mediumにより培養し、YAP/TAZ、CXCL12の発現量の変化を確認するとともに、表現型の変化を確認する。

- ・CXCR4 antagonist やスタチンによりYAP/TAZ発現量の変化、増殖能・浸潤能とった表現型変化の抑制を確認する。

- 新規分子標的薬の開発や、既知の分子標的薬の新たな predictive marker の検索
- ・ 膵癌切除組織検体を用い、次世代シーケンサーにより遺伝子変異解析を行い、KRAS や TP53 などの既知の遺伝子変異の発現頻度を確認するとともに、新たな治療ターゲットとなりうる遺伝子変異を検索する。
 - ・ Ex-vivo による体外培養法により分子標的薬の新たな predictive marker の検索を行う。

4 . 研究成果

当初の研究背景から変更点はあるものの、本研究では腫瘍環境として高血糖状態に着眼し膵癌腫瘍進展について検討した。糖代謝異常は癌の悪性化に寄与することが知られている。本研究では高血糖状態は Hippo pathway (YAP/TAZ) を介し、上皮間葉転換 (EMT) を誘導し腫瘍進展に関与することが明らかになった。

In vitro、vivo にて高血糖状態は YAP/TAZ、GLUT1 および pAkt の発現を介し、EMT が誘導されていた。同時に抗癌剤耐性能の獲得も確認された。YAP/TAZ の発現抑制系では高血糖状態において同様の現象は確認されず、YAP/TAZ が高血糖状態という腫瘍環境下における EMT 誘導を介した腫瘍進展に大きな役割を果たしていると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Liu Zhao, Hayashi Hiromitsu, Matsumura Kazuki, Ogata Yoko, Sato Hiroki, Shiraishi Yuta, Uemura Norio, Miyata Tatsunori, Higashi Takaaki, Nakagawa Shigeki, Mima Kosuke, Imai Katsunori, Baba Hideo	4. 巻 128
2. 論文標題 Hyperglycaemia induces metabolic reprogramming into a glycolytic phenotype and promotes epithelial-mesenchymal transitions via YAP/TAZ-Hedgehog signalling axis in pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 844 ~ 856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-022-02106-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮田辰徳、林洋光、松本高史、上村将太、金光紘介、足立優樹、塚本雅代、中川茂樹、美馬浩介、新田英利、馬場秀夫
2. 発表標題 肝細胞癌の特性に応じた治療戦略開発の必要性 - 当科における1027例の初回肝切除経験を踏まえて -
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023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
研究分担者	高森 啓史 (Takamori Hiroshi) (90363514)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員 (17401)	
研究分担者	林 洋光 (Hayashi Hiromitsu) (80625773)	熊本大学・病院・講師 (17401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	山村 謙介 (Yamamura Kensuke) (10816507)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・特定研究員 (17401)	
研究分担者	中川 茂樹 (Nakagawa Shigeki) (10594872)	熊本大学・病院・特任助教 (17401)	
研究分担者	宮田 辰徳 (Miyata Tatsunori) (80594887)	熊本大学・病院・特任助教 (17401)	

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