

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07120

研究課題名(和文) ショウジョウバエを用いた臓器連関を介した腫瘍悪性化の遺伝学的解析

研究課題名(英文) Genetic analysis of tumor progression by inter-organ communication

研究代表者

谷口 喜一郎 (Kiichiro, Taniguchi)

京都大学・生命科学研究科・特定講師

研究者番号：20554174

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、化学受容器ヘテロ欠損個体に置いて生じるRasV12クローンの過剰増殖は、ニューロンにおける化学受容器欠損が引き起こす糖代謝異常が原因となって生じることを明らかにした。さらに、これら全身性の糖代謝異常は、RasV12クローンにおける解答系シグナルの亢進をもたらし、がん抑制シグナルであるHippoシグナルを抑制することで、過剰増殖を引き起こしていることが分かった。今後は、ニューロンにおける化学受容器の下流シグナルやRasV12クローンにおける全身性の糖代謝と解答系経路を結ぶ糖輸送体を明らかにしていくことが重要な課題といえる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発がんリスクの上昇・低下には全身性の多臓器連関が関与している可能性という事が、多くの統計データによって示唆されており、運動による発がんリスク低下や肥満による発がんリスク上昇などが代表例として挙げられる。一方で、多臓器連関によるがん制御の分子メカニズムについては未解明な点が多く、人為的介入によるがん予防・治療への課題は多い。本研究では、嗅覚・味覚のセンサーとして働く化学受容器の喪失が「ニューロンがん原発巣」の臓器連関を介してRas腫瘍の悪性化を引き起こすという、新たながん原性の臓器連関メカニズムを明らかにした。本研究成果は、がんリスクの遺伝的指標やがん治療・予防の新規標的として期待される。

研究成果の概要(英文)：We found that the haploid mutants of chemoreceptor genes, such as odorant receptor, gustatory receptor and ionotropic receptor drives the overgrowth of RasV12 clone in *Drosophila*. However, the mechanism which links the haploid mutation of chemoreceptor and the overgrowth of RasV12 clone has been unclear. Here, we demonstrated that the oncogenic overgrowth of RasV12 clones occurring in haploid mutants of chemoreceptor genes are responsible for the neuronal loss of chemoreceptor genes. The loss of chemoreceptors led to the defects in the resistance to the high-sugar diet, implying that the loss of chemoreceptors caused the defects in a systemic sugar metabolism. Importantly, the glycolysis pathway is required for the overgrowth of RasV12 clones generated in haploid mutants of chemoreceptor genes. We also found that the overgrowth of RasV12 clone was regulated through the suppression of the Hippo signaling pathway.

研究分野：細胞生物学

キーワード：がん遺伝子Ras 化学受容器 臓器連関 ショウジョウバエ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)ヒトのがんの多くはRas 遺伝子ファミリー (K-Ras、H-Ras、N-Ras) の機能獲得変異を生じており、例えばすい臓がんでは90%以上、大腸がんでは30%以上といった高頻度でK-Ras 変異が見つかっている。一方で、Ras 変異がんを克服する上での問題点として、Ras 阻害剤を含めて有効な薬剤標的がほとんど存在しないことが挙げられる (Kim, et. al., Cell, 2020; Mann, et. al., Pharmacol. Ther, 2016.)。そのため、新たな分子標的を探るべく、悪性化を引き起こす分子制御メカニズムの解明が望まれてきた。Ras 変異がんの悪性化の特徴として、Ras 変異のみでは良性腫瘍までの進行にとどまるが、プラス として遺伝子変異・細胞変異が生じると急激に悪性化することが挙げられる (Wodarcz & Natheke, Nat. Cell Biol., 2007)。すなわち、悪性化をもたらす“状況”を理解することがRas 変異型がんの克服における課題とされてきた。ショウジョウバエ RasV12 良性腫瘍モデルはこの理解に大きく貢献しており、上皮極性崩壊が腫瘍悪性化における重要なプロセスであることが、所属研究室を含む複数グループにより明らかにされた (Pagliarini & Xu, Science, 2003; Brumby & Richardson, EMBO J., 2003; Igaki, et. al., Curr. Biol, 2006.)。一方で、ヒトのRas 変異がん組織において上皮極性遺伝子変異はほとんどみられず、悪性化の起点となる原因は謎のままである。

(2)代表者は、ショウジョウバエ RasV12 良性腫瘍モデルを用いた遺伝学的スクリーニングを行い、全身性のヘテロ変異を導入したときに悪性化を引き起こす変異体を探索してきた。その結果、嗅覚・味覚受容体をコードする多数の化学受容器遺伝子ファミリー (Ionotropic receptor (Ir)/iGluR ホモログ:3 遺伝子・Gustatory receptor (Gr)/GPCR ホモログ:8 遺伝子・Odorant receptor (Or) /GPCR ホモログ:3 遺伝子) が最大の変異体グループとして浮上するという驚くべき結果が得られた (図1) (Taniguchi, et. al., 未発表)。さらなる解析の結果、RasV12 クローンにおける化学受容器のノックダウンは腫瘍悪性化を引き起こさないことが分かった。この結果は、何らかの遠隔組織を起点とする全身性シグナルを介した臓器連関がRas 変異がんの悪性化を引き起こすことを示唆している。

2. 研究の目的

ショウジョウバエ化学受容器群 (Ir・Gr・Or) は感覚神経などで機能する嗅覚 (フェロモン・危険物質など)・味覚 (甘味・苦味など) 受容体であり、神経伝達等を介して個体レベルでの行動・代謝応答に重要な役割を果たすと考えられている (Rimal & Lee, Insect Mol. Biol., 2018)。一方で、Ir・Gr・Or の機能は基本的には独立とされる。本研究では、臓器連関の起点となる責任臓器の特定と化学受容器欠損に伴い生じる全身性シグナルの同定を行う。さらに、全身性シグナルによる RasV12 腫瘍の悪性化メカニズムを明らかにすることで、がん悪性化をもたらす臓器連関の遺伝的制御ネットワークを明らかにする。

3. 研究の方法

(1)RasV12 良性腫瘍の悪性化を引き起こす臓器連関の起点となる臓器を同定するために、複眼上皮に RasV12 クローンを誘導する (QUAS/QF 発現系) と同時に、各種組織 (神経、腸、脂肪体) 特異的に Ir40a 遺伝子のノックダウン (UAS/Gal4 発現系) を行う。この時、RasV12 の過剰増殖を引き起こす、責任組織を同定する。

(2)全身性シグナル因子を明らかにするために、Ir40a・Gr28b・Or33a ヘテロ変異体における全身性の異常を同定する。さらに、同定因子に基づき、RasV12 クローンにおける全身性シグナルの需要メカニズムを明らかにする。Ir40a ヘテロ変異体において複眼上皮に RasV12 クローンを誘導し、さらに候補受容体・輸送体をノックダウンする。このときに、この時、RasV12 クローンクローンの過剰増殖を抑圧する受容体・輸送体を同定する。

(3)受容体・輸送体の下流における、RasV12 クローン内における腫瘍促進シグナルを同定する。同定受容体に基づく候補シグナルに加えて、既知のがん関連シグナル (JNK シグナル・Hippo シグナル・JAK-STAT シグナル等) を候補とする。Ir40a ヘテロ変異体において複眼上皮に RasV12 クローンを誘導し、さらに各種シグナルを人為的に抑制したときに、RasV12 クローンクローンの過剰増殖を抑圧するシグナル経路を同定する。

4. 研究成果

(1) eyFLP-QMARCM システムを用いて複眼上皮に RasV12 クローンを誘導すると良性腫瘍が形成される。この時、ニューロン特異的 Gal4 ドライバー: Neuron-driver (elav-Gal4)、腸特異的 Gal4 ドライバー: Gut-driver、脂肪体特異的 Gal4 ドライバー: Fat body-driver を用いて、組織特異的な Ir40a RNAi を行った。その結果、Neuron-driver を用いて Ir40a RNAi を行ったときのみ、Gal4 ドライバー無: no-driver と比較して顕著な過剰増殖が引き起こされた (図 1)。代表者は、Cas9-Ir40a_gRNA を用いた組織特異的ノックアウトにおいても同様の結果を得ている。この結果は、ニューロンにおける Ir40a 欠損が、臓器連関を介して RasV12 クローンの悪性化を引き起こしていることを示唆している。

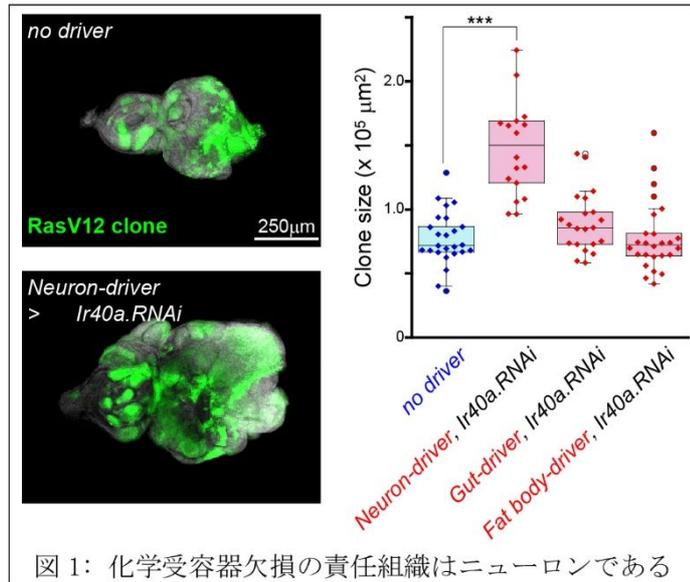


図 1: 化学受容器欠損の責任組織はニューロンである

(2) 化学受容器は、匂い、糖、苦み、アミノ酸といった化合物を受容・検出することで、全身性の代謝をコントロールすることが知られている。そのため、化学受容器欠損個体では、これら外界に対する応答性の代謝制御に異常が生じている可能性が予想される。そこで、代表的な全身性代謝である脂肪代謝・糖代謝・アミノ酸代謝に着目し、高脂質 (ココナッツオイル添加)、高糖質 (スクロース添加)、高タンパク質 (ドライイースト添加) に対する耐性を調べた。独立した化学受容器をコードする Or33a・Gr28b・Ir40a のヘテロ欠損は、通常餌に置いては発生遅延等の異常は示さない。一方で、高糖質餌 (High sugar: +0.5M sucrose) に置いて糖耐性実験を行ったところ、野生型 (コントロール) に置いて見られるマイルドな発生遅延が、Or33a・Gr28b・Ir40a のヘテロ欠損個体では顕著に悪化することが分かった (図 2)。この結果は、化学受容器欠損個体では、何らかの糖代謝異常が生じていることを意味している。

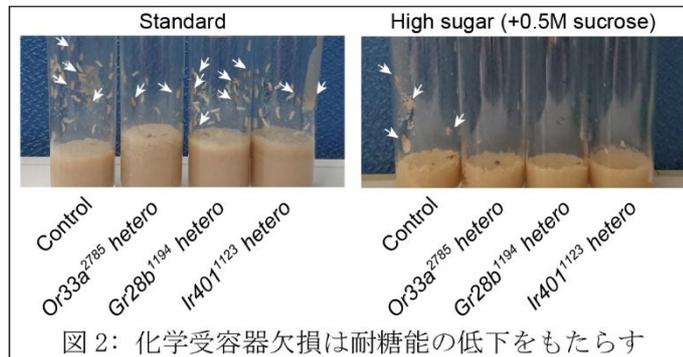


図 2: 化学受容器欠損は耐糖能の低下をもたらす

多くのがん細胞では解答系の亢進が生じており、ワーブルグ効果と呼ばれている。代表者は、化学受容器欠損では全身性の糖代謝異常を介して RasV12 クローンにおける解答系シグナルの亢進が生じているのではないかと予想した。期待通り、Ir40a のヘテロ欠損個体において誘導された RasV12 クローンにおいて、解答系経路における乳酸脱水素酵素 LDH をノックダウンした所、過剰増殖が顕著に抑圧された。一方で、全身性シグナルと RasV12 クローンを結ぶと期待された糖輸送体であるグルコーストランスポーター Glut1 のノックダウンでは、過剰増殖は抑圧されなかった (図 3)。

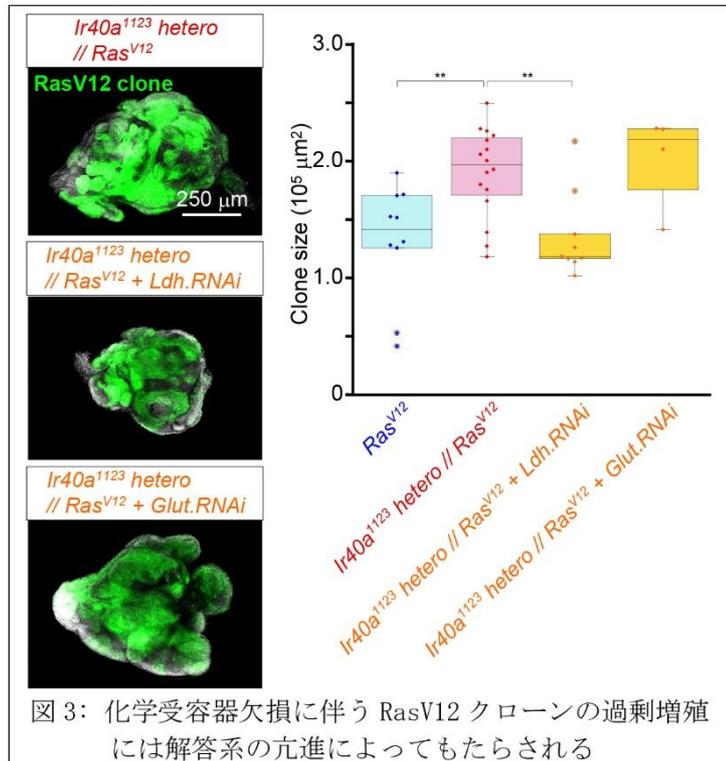


図 3: 化学受容器欠損に伴う RasV12 クローンの過剰増殖には解答系の亢進によってもたらされる

以上の結果から、化学受容器は全身性の糖代謝を介して RasV12 クローンにおける糖代謝亢進することで、がん悪性化を促進していることが示唆された。一方で、RasV12 がどのように全身性シグナルを受け取っているのかについては、さらなる検証が必要である。

(3) RasV12 クローンにおいて過剰増殖を引き起こすがん関連シグナルを明らかにするべく、既知の候補シグナルについて検証を行った。がん関連シグナル経路である、JNK シグナル経路、Hippo シグナル経路 (Yorkie/YAP 活性)、JAK-STAT シグナル経路について調べたところ、Ir40a ヘテロ変異体において誘導された RasV12 クローンに置いては、がん抑制シグナルである Hippo シグナルの顕著な低下 (Yorkie 活性化) がみられた。そこで、RasV12 クローン内で Yorkie のノックダウンを行ったところ、Ir40a ヘテロ変異体が引き起こす過剰増殖が顕著に抑圧された (図 4)。

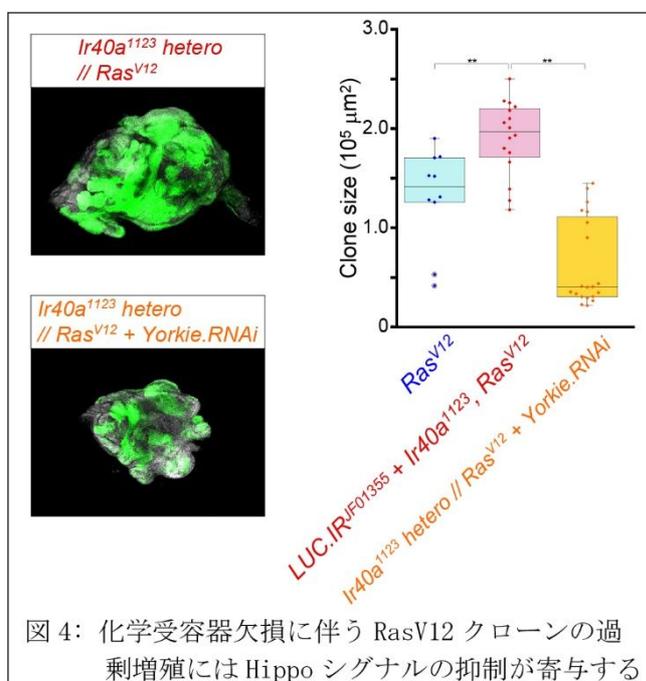


図 4: 化学受容器欠損に伴う RasV12 クローンの過剰増殖には Hippo シグナルの抑制が寄与する

(4) 本研究により、化学受容器ヘテロ欠損個体に置いて生じる RasV12 腫瘍の悪性化は、ニューロンにおける化学受容器欠損が引き起こす糖代謝異常が原因となって生じることが分かった。これら全身性の糖代謝異常は、RasV12 腫瘍における解答系シグナルの亢進をもたらし、がん抑制シグナルである Hippo シグナルを抑制することで、過剰増殖を引き起こしていることが分かった。一方で、全身性シグナルと RasV12 腫瘍での解答系を結ぶ、輸送体・受容体についてはさらなる検証が必要である。また、ニューロンにおける化学受容器欠損が、いかにして全身性の糖代謝異常を引き起こしているのかについても、今後の課題といえる。

<引用文献>

1. Brumby, A. M. and Richardson, H. E. (2003). scribble mutants cooperate with oncogenic Ras or Notch to cause neoplastic overgrowth in Drosophila. *EMBO J* 22, 5769-5779.
2. Pagliarini, R. A. and Xu, T. (2003). A genetic screen in Drosophila for metastatic behavior. *Science* 302, 1227-1231.
3. Kim, I. A., Bae, S. S., Fernandes, A., Wu, J., Muschel, R. J., McKenna, W. G., Birnbaum, M. J. and Bernhard, E. J. (2005). Selective inhibition of Ras, phosphoinositide 3 kinase, and Akt isoforms increases the radiosensitivity of human carcinoma cell lines. *Cancer Res* 65, 7902-7910.
4. Igaki, T., Pagliarini, R. A. and Xu, T. (2006). Loss of cell polarity drives tumor growth and invasion through JNK activation in Drosophila. *Curr Biol* 16, 1139-1146.
5. Wodarz, A. and Nathke, I. (2007). Cell polarity in development and cancer. *Nat Cell Biol* 9, 1016-1024.
6. Mann, K. M., Ying, H., Juan, J., Jenkins, N. A. and Copeland, N. G. (2016). KRAS-related proteins in pancreatic cancer. *Pharmacol Ther* 168, 29-42.
7. Rimal, S. and Lee, Y. (2018). The multidimensional ionotropic receptors of Drosophila melanogaster. *Insect Mol Biol* 27, 1-7.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yi-Ting Lai, Takeshi Sasamura, Junpei Kuroda, Reo Maeda, Mitsutoshi Nakamura, Ryo Hatori, Tomoki Ishibashi, Kiichiro Taniguchi, Masashi Ooike, Tomohiro Taguchi, Naotaka Nakazawa, Shunya Hozumi, Takashi Okumura, Toshiro Aigaki, Mikiko Inaki, Kenji Matsuno	4. 巻 150
2. 論文標題 The Drosophila AWP1 ortholog Doctor No regulates JAK/STAT signaling for left-right asymmetry in the gut by promoting receptor endocytosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev201224
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dev.201224	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 Kiichiro Taniguchi, Tatsushi Igaki	4. 巻 19
2. 論文標題 Sas-Ptp10D shapes germ-line stem cell niche by facilitating JNK-mediated apoptosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLoS genetics	6. 最初と最後の頁 e1010684
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pgen.1010684	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 Daiki Kitamura, Kiichiro Taniguchi, Mai Nakamura, Tatsushi Igaki	4. 巻 49
2. 論文標題 In vivo evidence for homeostatic regulation of ribosomal protein levels in Drosophila	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 11-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1247/csf.23088	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7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 谷口喜一郎, 福本果歩, 榎本将人, 中村麻衣, 大澤志津江, 井垣達吏
2. 発表標題 統合的ストレス応答は細胞間相互作用を介した腫瘍悪性化を駆動する
3. 学会等名 第74回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kiichiro Taniguchi, Kaho Fukumoto, Tomoe Kobayashi, Makoto Matsuyama, Shizue Ohsawa, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 Integrated stress response drives non-autonomous progression of Ras-activated tumors
3. 学会等名 15th Japan Drosophila Research Conference
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kiichiro Taniguchi, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 Cell competition effector Sas-Ptp10D facilitates apoptosis for the proper shaping of germ-line stem cell niche
3. 学会等名 第54回日本発生生物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口喜一郎, 福本果歩, 榎本将人, 中村麻衣, 大澤志津江, 井垣達史
2. 発表標題 統合的ストレス応答はRas誘導性腫瘍に細胞非自律的な増殖促進作用を惹起する
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kiichiro Taniguchi, Masato Enomoto, Kaho Fukumoto, Mai Nakamura Shu Kondo, Kuniaki Saito, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 Integrated stress response creates the tumor microenvironment in Ras-activated tumors
3. 学会等名 14th Japan Drosophila Research Conference
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口喜一郎, 福本果歩, 小林朋絵, 松山誠, 大澤志津江, 井垣達吏
2. 発表標題 統合的ストレス応答は腫瘍内不均一性を介したがん進展を駆動する
3. 学会等名 第75回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kiichiro Taniguchi, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 Cell competition effector Sas-Ptp10D shapes germ-line stem cell niche
3. 学会等名 the 6th Asia Pacific Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

井垣研究室 システム機能学分野 京都大学 https://igakilab.lif.kyoto-u.ac.jp/

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
---------	---------