

令和 2 年 5 月 12 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11282

研究課題名(和文) 婦人科悪性腫瘍の進展におけるG₁₃の役割研究課題名(英文) The role of Ga₁₃ in the progression of gynecologic cancer

研究代表者

八木 裕史 (Yagi, Hiroshi)

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：70623552

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：Gタンパク共役受容体(GPCR)を介したシグナル伝達経路は癌の進展において重要な役割を果たしており、GPCRシグナルの制御には三量体Gタンパクの発現レベルや遺伝子異常が深く関与している。本研究では、三量体GタンパクのひとつであるGa₁₃の卵巣癌の進展における役割について解析を行った。卵巣癌細胞において高発現したGa₁₃は、Hippoシグナル経路の中心的分子であるLATS1のリン酸化、それに伴うタンパク分解を促進し、その結果、細胞の悪性形質獲得(上皮間葉転換)を誘導することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の治療薬の約35%がGPCRを標的としているが、それらの治療薬が標的としているのは、GPCR全体の約15%に過ぎない。また、ヒト癌組織で発現を認めるGPCRのうち140種以上についてはリガンド分子やその機能が不明であり、興味深いことにそれらの多くはGa₁₃とcouplingすることが報告されている。シグナル選択的なGPCRアンタゴニストや、GPCRシグナルを間接的に阻害するアロステリックタンパクなど、新たなコンセプトに基づく治療薬が開発されつつある現状を考慮すると、本研究の成果が癌に対する新たな治療法の開発につながることを期待でき、社会的意義は大きいものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：G-protein-coupled receptor (GPCRs) are seven transmembrane receptors, and form a largest family among cell surface molecules. GPCR signaling regulates diverse biological functions, and is involved in cancer progression. GPCRs signal through the activation of heterotrimeric G proteins. Among them, we have focused on the role of Ga₁₃ in the progression of human ovarian cancer. Ga₁₃ is highly expressed in human ovarian cancer tissues. In vitro study revealed that the activation of Ga₁₃ induces epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer cells through down-regulation of LATS1, a critical component of the Hippo signalling pathway. Our findings uncover novel mechanisms through which Ga₁₃ activation induces dysregulation of the Hippo signalling pathway, leading to aggressive cancer phenotypes, thereby identifying a potential target for preventing metastatic spread of ovarian cancer.

研究分野：シグナル伝達

キーワード：GPCR シグナル伝達 卵巣癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近い将来、本邦では男性の2人に1人、女性の3人に1人ががんで死亡することが報告されている。このように急増する悪性腫瘍の撲滅に向けて、発症予防や早期診断法の確立に加えて、癌の進展のメカニズムの解明に基づく新たな分子標的治療薬の開発に大きな期待が寄せられている。細胞膜7回貫通型のGタンパク共役受容体(GPCR)は、癌の進展の様々な過程で重要な役割を果たしている。近年の網羅的解析の結果、リガンド分子の過剰発現やGPCR自体の遺伝子変異だけでなく、細胞内の三量体Gタンパクの過剰発現や遺伝子変異によるGPCRシグナル伝達経路の活性化が癌細胞の増殖や転移を制御していることが明らかになってきた。

三量体GタンパクのひとつであるGa13は、乳癌、前立腺癌、口腔癌、卵巣癌など様々な癌腫において高発現していること、その高発現が臨床的予後と相関することが報告されているが、癌の進展におけるGa13の役割については十分明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、純粋なGa13シグナル経路を細胞内に再構築する実験系を用いて、そのシグナル伝達経路および制御する遺伝子群を解析し、婦人科癌の癌化および悪性形質獲得におけるGa13シグナルの役割を解明することである。

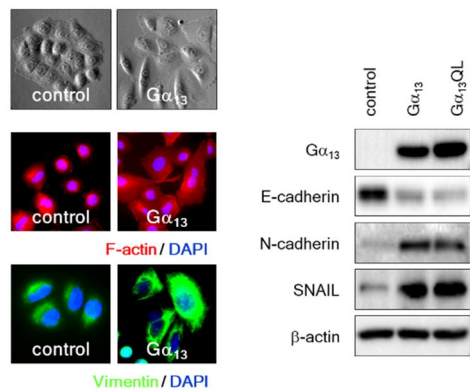
3. 研究の方法

Gai 特異的結合型GPCR 遺伝子変異体およびGa13 遺伝子変異体 (GiRASSL/Ga13i5) を安定発現した卵巣癌細胞株を用いて樹立し、解析を行った。Ga13 活性化により制御されるシグナル伝達経路 (Hippo 経路) の解析、タンパク発現変化の解析、それらが卵巣癌の悪性形質獲得におよぼす影響について解析した。

4. 研究成果

卵巣癌細胞株に、Ga13 野生型およびGa13 恒常的活性型遺伝子変異体(Ga13QL) を遺伝子導入し、細胞形態およびタンパク発現パターンの変化を観察した。図1に示すように、Ga13 発現細胞において、アクチンストレスファイバーの形成、間葉系細胞様の形態の変化を認めた。また、ウェスタンブロット法を用いて、Ga13、Ga13QL 発現に伴うタンパク発現パターンの変化について解析を行った。その結果、Ga13 およびGa13QL 発現細胞においては、Eカドヘリンの発現低下、Nカドヘリン、SNAIL の発現上昇を認め、上皮間葉転換(epithelial-mesenchymal transition; EMT)が誘導されていることが示唆された。

図1 Ga13の活性化は卵巣癌細胞の上皮間葉転換を促進する



Yagi et al. FASEB J 2019

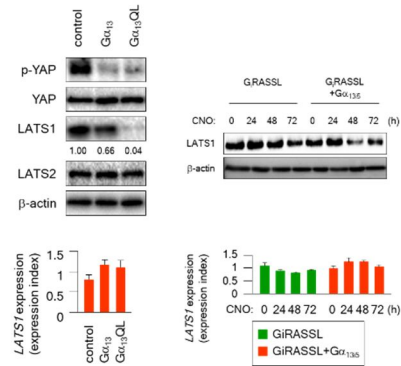
Ga13 の高発現およびそれに伴う活性化により EMT が誘導されるメカニズムについてさらに解析を行った。Ga13 の活性化により制御される細胞内シグナル伝達経路として、Hippo シグナル経路に注目し解析を行った。Hippo シグナル経路は、臓器のサイズを制御するシグナルとして知られているが、癌の進展において様々な役割を果たしていることが報告されている。卵巣癌細胞株を用いた解析の結果、Ga13 の活性化は LATS1 のリン酸化、それに引き続く LATS1 のタンパク分

解を誘導することが明らかとなった(図 2、図 4)。

また、ヒト卵巣癌組織を用いた解析の結果、卵巣癌組織では、正常卵巣組織と比較して、LATS1 のタンパク発現が低下していることが明らかとなった(図 3)。

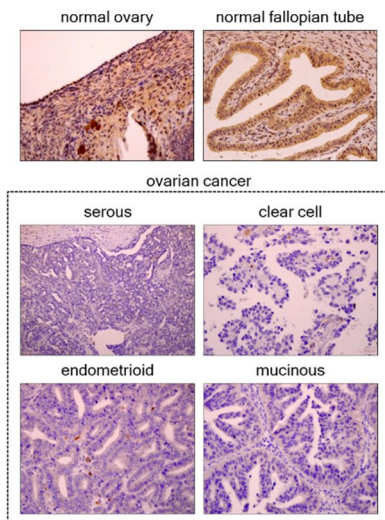
これらの結果から、Ga13 は卵巣癌組織において高発現しており、Hippo シグナル経路の中心的分子である LATS1 のリン酸化を促進することにより、LATS1 のタンパク分解を誘導していること、LATS1 の発現低下に伴う YAP の脱リン酸化、核内移行により EMT を促進する転写因子である SNAIL の発現が上昇し、EMT が誘導されることが示唆された。

図2 Ga13の活性化はLATS1のdown-regulationを誘導する



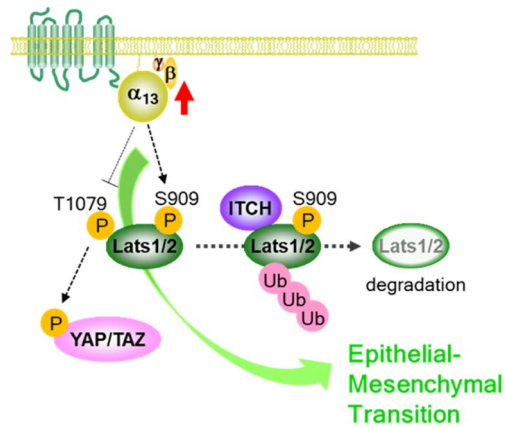
Yagi et al. FASEB J 2019

図3 ヒト卵巣癌組織においてLATS1の発現は低下している



Yagi et al. FASEB J 2019

図4 Ga13の活性化によるLATS1のdown-regulationは卵巣癌細胞の上皮間葉転換を誘導する



Yagi et al. FASEB J 2019

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 Yagi H, Onoyama I, Asanoma K, Hori E, Yasunaga M, Kodama K, Kijima M, Ohgami T, Kaneki E, Okugawa K, Yahata H, Kato K.	4. 巻 33
2. 論文標題 G 13-mediated LATS1 down-regulation contributes to epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FASSEB J	6. 最初と最後の頁 13683-13694
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ijc.32965.	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3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hiroshi Yagi, Keisuke Kodama, Masafumi Yasunaga, Tatsuhiro Ohgami, Ichiro Onoyama, Kazuo Asanoma, Kenzo Sonoda, Kiyoko Kato
2. 発表標題 GEP oncogene induces epithelial-mesenchymal transition through LATS1 degradation in ovarian cancer
3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Yagi, Ichiro Onoyama, Kazuo Asanoma, Keisuke Kodama, Kenzo Sonoda, Kiyoko Kato
2. 発表標題 GEP oncogene induces epithelial-mesenchymal transition through LATS1 degradation in ovarian cancer
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yagi H, Kodama K, Yasunaga M, Ohgami T, Onoyama I, Asanoma K, Sonoda K, Kato K
2. 発表標題 The pivotal role of LATS1 in ovarian cancer progression
3. 学会等名 第69回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2017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
--	---------------------------	-----------------------	----