

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19392

研究課題名(和文) ドライバー遺伝子の痕跡が消失するがん発症機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of cancer development mechanism in which traces of driver genes disappear

研究代表者

仁科 博史 (Nishina, Hiroshi)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授

研究者番号：60212122

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：がん遺伝子・がん抑制遺伝子など発がんの原因となる遺伝子はドライバー遺伝子とよばれる。ドライバー遺伝子の変異によって、細胞は増殖能を獲得し、発がんに至る。一方、ドライバー遺伝子が見つからないがんも数多く存在する。本研究では、「ドライバー遺伝子の痕跡が消失するがん発症機構の解明」を研究目的とした。活性型の転写共役因子YAPをコードする遺伝子を、マウス肝臓に一過的に導入した。その結果、3ヶ月以降に肝がんが発症した。興味深いことに、肝がんを構成する細胞で、原因である活性化YAPの発現は観察されなかった。すなわち、本実験系は、「ドライバー遺伝子の痕跡が消失するがん発症」であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんゲノム解析の結果、ドライバー遺伝子変異が検出されないがんも存在することが報告されるが、その原因を探求している研究はほとんど無い。それ故、本研究は国内外を通じて、ユニークな研究であると考えられる。また、申請者は、マウスを用いた肝がん発症機構の研究にモザイク解析法を導入したこと、正常肝細胞がゲノム変異無しでがん化する可能性を見出したこともユニークな研究になっていると考えられる。本分子機構の解明は、初期段階の発がんにおける微小環境の役割解明に繋がること期待される。初期段階のがん発症の分子機構が解明されれば、がん予防を目指す先制医療の基盤的知見となる。

研究成果の概要(英文)：Genes that cause cancer such as oncogenes and tumor suppressor genes are called driver genes. The mutation in the driver genes cause the cells to acquire proliferative capacity and lead to cancer formation. On the other hand, there are many cancers whose driver genes cannot be found. The purpose of this study was "to elucidate the mechanism of cancer development in which traces of driver genes disappear." The gene encoding the active transcriptional cofactor YAP was transiently introduced into mouse livers. As a result, liver cancer developed after 3 months. Interestingly, no expression of causative activated YAP was observed in the liver cancers. Thus, this experimental system was considered to be "onset of cancer in which traces of the driver gene disappear."

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：がん遺伝子 ドライバー遺伝子 肝がん 肝細胞 YAP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がんは人類がその克服を挑戦し続けている難治性の疾患である。がんの特徴である細胞制御の欠損（増殖シグナルの持続，増殖抑制の回避，細胞死への抵抗，不死化した複製能の獲得，浸潤と転移の促進，血管新生の誘導）は、紫外線や化学物質などによる遺伝子の損傷が原因である（Cell 2011）。がん遺伝子・がん抑制遺伝子など発がんやがんの悪性化の原因となる遺伝子はドライバー遺伝子とよばれる。ドライバー遺伝子の変異（活性化や不活性化）によって、細胞は増殖能を獲得し、クローナルに増殖し、発がんに至る。それ故、国内外でがん種に応じたドライバー遺伝子の同定が盛んに行われており、低分子化合物や抗体医薬などの治療標的になると考えられている。一方、発がんやがんの悪性化への関与が考えられているものの、ドライバー遺伝子が見つからないがんも数多く存在する。

我々が着目している転写共役因子 YAP は強力な肝がん形成能を持ち、細胞増殖や浸潤、転移の促進、細胞死や薬剤への抵抗性獲得に関与することから、ドライバー遺伝子として機能していると考えられている。しかしながら、「YAP 遺伝子変異の報告は少ない」という矛盾が生じていた（Cell 2015）。そこで申請者は、ドライバー遺伝子が検出できないがん発症機構の解明に、YAP が解決の糸口となると考えた。YAP は強力な発がん能を有するので、遺伝子の変異が無くても一定期間一過的に活性化すれば、肝がん発症に必要十分であると考え、Hit-and-Run 仮説によるがん発症機構を予想した。Hit-and-Run 仮説とは、一度細胞に強力な発がん性刺激が加わると、最初に加わった発がん性刺激が消失した後でも細胞のがん化プロセスが維持・進行し、がん発症に至るという考えである（Cell 2014）。

2. 研究の目的

申請者は「多くのドライバー遺伝子は遺伝子変異による恒常的活性化あるいは不活性化が必要であるが、YAP の場合は、遺伝子変異が無くても一定期間一過的に活性化すれば、肝がん発症に必要十分である」という仮説を立てた。本研究では、この仮説を検証することを目的にした。

3. 研究の方法

申請者は、活性型 YAP をコードする複製開始点を含まない環状プラスミドを作製した。本プラスミドは、ゲノム DNA に挿入されず、また、DNA 分解酵素に晒されるため、細胞内で安定に存在できない（YAP の一過的活性化）。次に Hydrodynamic tail vein injection (HTVi) という水圧を利用した分子導入法を用いて、本プラスミドを中心静脈域付近の肝細胞内にモザイク状に導入した。これによって、活性型 YAP の一過的発現を検証でき、かつ活性型 YAP 発現細胞を追跡可能となった。

4. 研究成果

申請者は、これまでに以下の結果を得ている。1) プラスミド導入後、活性型 YAP は 2 日目の発現誘導をピークにして 7 日目には発現が消失した。2) 活性型 YAP 発現誘導 3 ヶ月後には、肝がんが形成された。3) 肝がんの組織切片を解析したところ、活性型 YAP の発現は検出されなかった。4) 肝がんのゲノム DNA を解析した結果、YAP 遺

伝子に変異は無かった。以上の結果は、YAPの一過的活性化は肝がんの誘導に必要十分であること、YAPはHit-and-Runの分子機構で発がんに至ることを示唆した。また、5)興味深いことに、肝がんを構成する細胞は、活性型YAPを一過的に発現した肝細胞由来ではなく、隣接した正常肝細胞由来であることを示唆する結果を得た。活性化YAPを導入されなかった細胞ががん化したので、ドライバー遺伝子の痕跡が検出できなかったことは当然である。以上のように、YAP遺伝子はドライバー遺伝子として働きながらも、その痕跡は残さないがん発症に関与することが強く示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ishihara Erika, Nagaoka Yuya, Okuno Toshiaki, Kofuji Satoshi, Ishigami Yuasa Mari, Kagechika Hiroyuki, Kamimura Kenya, Terai Shuji, Yokomizo Takehiko, Sugimoto Yukihiko, Fujita Yasuyuki, Suzuki Akira, Nishina Hiroshi	4. 巻 25
2. 論文標題 Prostaglandin E ₂ and its receptor EP2 trigger signaling that contributes to YAP mediated cell competition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 197 ~ 214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12750	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 Ishihara Erika, Nishina Hiroshi	4. 巻 10
2. 論文標題 The Hippo-YAP Pathway Regulates 3D Organ Formation and Homeostasis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 122 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers10040122	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6件（うち招待講演 4件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 仁科博史
2. 発表標題 肝臓の形成と維持機構
3. 学会等名 市原明先生追悼シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仁科 博史
2. 発表標題 脊椎動物の3D器官形成と維持
3. 学会等名 国立医薬品食品衛生研究所（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Nishina
2. 発表標題 The Hippo-YAP Pathway Regulates liver size and homeostasis
3. 学会等名 The Cold Spring Harbor Asia conference on Liver, Biology, Diseases & Cancer (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石原えりか、仁科 博史
2. 発表標題 Elucidation of the molecular mechanism underlying active YAP-induced apical extrusion in mammalian cells
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Nishina
2. 発表標題 YAP acts as a stress sensor that induces elimination of injured hepatocytes
3. 学会等名 FASEB Fundamental Biology and Pathophysiology of the Liver (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Nishina
2. 発表標題 Active Yes-associated protein (YAP) induces mammalian cell extrusion in vitro and in vivo
3. 学会等名 9th Xiamen Winter Symposium, Xiamen,China (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Norio Miyamrua and Hiroshi Nishina et al.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Academic Press, London	5. 総ページ数 382
3. 書名 Stem Cells and Cancer in Hepatology:	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----