

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09177

研究課題名(和文) 難治性消化器癌のHippo pathway破綻による癌幹細胞能獲得の機構解明

研究課題名(英文) Biological roles of dysregulated Hippo pathway on cancer stem like function during the tumor progression of gastroenterological cancers

研究代表者

林 洋光 (Hayashi, Hiromitsu)

熊本大学・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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌では初期症状として膵管閉塞に伴う膵内分泌機能低下・高血糖を来することがよく知られているが、腫瘍環境としての高血糖は膵癌細胞株においてYAP/TAZの発現上昇を引き起こし嫌氣的解糖を促進することを同定した。また、高血糖は癌幹細胞マーカーでもあり抗がん剤抵抗性にも寄与するABCB1の発現を亢進させた。このABCB1の発現上昇はYAP/TAZの発現抑制もしくはYAP/TAZ阻害剤により抑えられ、抗がん剤抵抗性も改善することを同定した。以上のように難治性膵癌においては、YAP/TAZの発現上昇はABCB1といった癌幹細胞マーカーの発現を増加させ抗がん剤抵抗性に寄与することを明らかにした。

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/TAZの発現上昇はABCB1といった癌幹細胞マーカーの発現を増加させ抗がん剤抵抗性に寄与することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：ATP binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1) is an ATP-dependent drug efflux pump for xenobiotic compounds with broad substrate specificity. It is responsible for decreased drug accumulation in multidrug-resistant cells and often mediates the development of resistance to anticancer drugs. Thus, ABCB1 plays an important role in the chemoresistance of cancer cells, and is known as a cancer stem cell transcription factor. Hyperglycemia induced ABCB1 expression, and it was also upregulated by YAP/TAZ overexpression in pancreatic cancer cells. Conversely, knockdown of YAP or TAZ attenuated ABCB1 expression compared to controls. Indeed, pancreatic cancer cells cultured with hyperglycemia displayed accelerated chemoresistance response to gemcitabine and oxaliplatin. YAP/TAZ inhibitor successfully overcome the chemoresistance. These findings indicate that hyperglycemia promote chemoresistance by upregulating ABCB1 expression via YAP/TAZ overexpression in pancreatic cancer cells.

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

## 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性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

膵癌では初期症状として膵管閉塞に伴う膵内分泌機能低下・高血糖を来することがよく知られているが、腫瘍環境としての高血糖は膵癌細胞株においてYAP/TAZの発現上昇を引き起こし嫌氣的解糖を促進することを同定した。また、高血糖は癌幹細胞マーカーでもあり抗がん剤抵抗性にも寄与するABCB1の発現を亢進させた。このABCB1の発現上昇はYAP/TAZの発現抑制もしくはYAP/TAZ阻害剤により抑えられ、抗がん剤抵抗性も改善することを同定

した。膵癌切除検体における YAP/TAZ の免疫染色を行い、染色強度を評価すると YAP/TAZ 高発現群は低発現群に比べて有意に再発・全生存で予後不良であることも同定した。

以上のように難治癌膵癌においては、YAP/TAZ の発現上昇は ABCB1 といった癌幹細胞マーカーの発現を増加させ抗がん剤抵抗性に寄与しており、YAP/TAZ を阻害することが新しい癌治療につながる可能性が示唆された。

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 1件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Uchihara T, Miyake K, Yonemura A, Komohara Y, Itoyama R, Koiwa M, Yasuda T, Arima K, Harada K, Eto K, Hayashi H, Iwatsuki M, Iwagami S, Baba Y, Yoshida N, Yashiro M, Masuda M, Ajani Jaffer A, Tan Patrick, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 80
2. 論文標題 Extracellular Vesicles from Cancer-Associated Fibroblasts Containing Annexin A6 Induces FAK-YAP Activation by Stabilizing $\alpha$ 1 Integrin, Enhancing Drug Resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 3222 ~ 3235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-19-3803	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 該当する

1. 著者名 Hiromitsu Hayashi, Yuji Miyamoto, Takaaki Higashi, Yukiharu Hiyoshi, Takanobu Yamao, Norio Uemura, Kazuki Matsumura, Katsunori Imai, Yo-ichi Yamashita, Hideo Baba	4. 巻 12(9)
2. 論文標題 CD44 expression enhances chemoresistance and implies occult micrometastases after conversion hepatectomy for initially unresectable colorectal liver metastases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Transl Res	6. 最初と最後の頁 5955-5966
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Uemura Norio, Hayashi Hiromitsu, Baba Hideo	4. 巻 14
2. 論文標題 Statin as a therapeutic agent in gastroenterological cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Journal of Gastrointestinal Oncology	6. 最初と最後の頁 110 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4251/wjgo.v14.i1.110	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上村紀雄、林洋光、東孝暁、伊 東山瑠美、中尾陽佑、遊佐俊彦、今井克憲、山下洋市、近本亮、馬場秀夫
2. 発表標題 膵癌における スタチンのHippo-pathwayを介した抗腫瘍効果
3. 学会等名 第30回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上村紀雄、林洋光、松村和季、北村文優、伊東山 瑠美、中尾陽佑、山尾宣暢、東孝暁、山村 謙介、今井克憲、近本 亮、山下洋市、馬場秀夫
2. 発表標題 肝癌に対するStatin投 与によるYAP/TAZを介した抗腫瘍効果に関する検討
3. 学会等名 第53回制癌剤適応研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiromitsu Hayashi, Norio Uemura, Kazuki Matsumura, Zhao Liu, Hirohisa Satou, Yuta Shiraishi, Yuki Kitano, Katsunori Imai, Yo-ichi Yamashita, Hideo Baba
2. 発表標題 Clinical impact of statin intake and its biological mechanism via YAP/TAZ against hepatobiliary pancreatic cancers
3. 学会等名 日本肝胆膵外科学会
4. 発表年 2021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	山下 洋市  (Yamashita Yoichi)  (00404070)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・准教授   (17401)	
研究分担者	石本 崇胤  (Ishimoto Takatsugu)  (00594889)	熊本大学・病院・特任准教授   (17401)	
研究分担者	中川 茂樹  (Nakagawa Shigeki)  (10594872)	熊本大学・病院・特任助教   (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	今井 克憲  (Imai Katsunori)  (60555746)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・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