

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15534

研究課題名（和文）YAP/TAZを介した膵癌癌関連線維芽細胞の多様性獲得と癌進展機序の解明

研究課題名（英文）The elucidation of YAP/TAZ-mediated acquisition of diversity in pancreatic cancer cancer-associated fibroblasts and mechanisms of cancer progression

研究代表者

山尾 宣暢（Yamao, Takanobu）

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：70836337

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）：我々は膵がんにおける高血糖状態とYAP/TAZシグナルを軸とした腫瘍細胞進展のメカニズムを明らかにした。in vitro実験にて腫瘍細胞株における高血糖状態がYAP/TAZタンパクの発現を介して抗がん剤抵抗性を示すことを確認した。マウスを用いたヒト細胞株の皮下および同所移植実験にて高血糖状態が腫瘍サイズの増大をもたらすことを認めた。また、高血糖状態においてYAP/TAZ阻害剤を用いることで腫瘍細胞のみならず腫瘍細胞周囲の繊維化を抑制し、がん進展抑制に寄与する可能性が示された。以上より膵がんにおいて高血糖状態がYAP/TAZシグナルを介してがん進展制御に寄与することが解明された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界における死亡率第4位である膵がんは、根治切除後も再発率が高く予後不良であり、有効な化学療法や分子標的治療薬も限られている。近年、免疫チェックポイント阻害薬の開発は幅広い固形癌の治療成績向上に寄与してきたが膵がんにおいてはその適応は非常に限られている。YAP/TAZシグナルはがん細胞のみならずがん細胞周囲の微小環境においても浸潤・転移といった癌悪性度に寄与することが注目されており、今回我々が解明した高血糖状態におけるYAP/TAZシグナルを介したがん進展メカニズムは膵がんおよびがん微小環境をターゲットとした新規治療薬の開発に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We have elucidated the mechanism of tumor cell progression in pancreatic cancer based on hyperglycemia and YAP/TAZ signaling. First, in vitro experiments showed that hyperglycemia in tumor cell lines augments resistance to anticancer drugs via YAP/TAZ protein expression, and in vivo experiments showed that hyperglycemia induces an increase in tumor size by subcutaneous and orthotopic transplantation of human cell lines using mice. In addition, hyperglycemia was found to increase tumor size in mice. In addition, hyperglycemia activates not only tumor cells but also cancer-associated fibroblasts. At the same time, YAP/TAZ inhibitors suppress fibrosis and may contribute to the suppression of cancer progression in the pancreatic cancer microenvironment. These findings suggest that hyperglycemia regulates cancer progression via YAP/TAZ signaling in pancreatic cancer.

研究分野：肝胆膵がん

キーワード：高血糖 膵がん がん関連線維芽細胞（CAFs） YAP/TAZ がん微小環境 抗がん剤抵抗性

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで肝癌における yes-associated protein (YAP) /transcriptional coactivator with PDZ-binding motif (TAZ) 遺伝子の発現と癌進展についての研究成果を報告してきた (①、②)。これまでの研究で、Hippo 経路は細胞増殖制御とアポトーシスに関連しており、Hippo シグナル伝達経路の調節障害は、YAP/TAZ の過剰発現によって起こりうるということが解明されている。また、膵癌・胆管癌のがん関連線維芽細胞 (Cancer associated fibroblast: CAFs) における細胞膜タンパクである Caveolin-1 が膵癌微小環境において膵癌の浸潤に関与し (③、④)、さらには ECM 構築に関わる YAP 発現を調節していることが報告されている。YAP/TAZ は、Hippo 経路の下流エフェクターであり、膵癌を含む固形がんにおいて、がん化作用に極めて重要な役割を担っている。しかし、膵癌の進行における高血糖の生物学的役割と YAP/TAZ への生物学的影響はまだ不明な点が多い。

2. 研究の目的

Hippo-pathway (YAP/TAZ) と消化器がんに関する研究成果は年々増加しており世界規模で研究が行われている分野であるが、癌微小環境 (tumor microenvironment, TME) との関連については不明な点が多い。本研究は、高血糖が膵癌微小環境における YAP/TAZ シグナルの活性化を介して、解糖系表現型への代謝再プログラミングを促進することで膵癌の悪性を加速させるという仮説を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) *in vitro* 実験: 膵癌細胞株、CAF 細胞株において高血糖と YAP/TAZ 及び GLUT 1 遺伝子、タンパク発現の相関を検証した。さらには高血糖状態によるがん細胞の浸潤能、薬剤耐性などの機能的解析を検証する。

(2) *in vivo* 実験: human cell line による subcutaneous および orthotopic surgery にて高血糖マウスによる抗がん剤耐性解析、YAP/TAZ 阻害剤を用いた腫瘍サイズ解析及び病理組織学的治療効果を検証する。

(3) 手術検体を用いて免疫組織化学染色を施行し、膵癌細胞における YAP/TAZ タンパク発現と膵癌術後の生存、再発予後との相関を検証する。

4. 研究成果

(1) *in vitro* 実験

腫瘍細胞株において高血糖状態が YAP /TAZ 遺伝子及びタンパクの発現を促進することを確認した (図1)。また、高血糖状態及び YAP /TAZ 過剰発現細胞株が GLUT1 タンパクの活性、PI3K シグナルを抑制することを確認した (図2)。続いて機能的解析にて、高血糖状態および YAP /TAZ 過剰発現細胞株は浸潤促進に寄与することを確認し、抗がん剤と YAP/TAZ 阻害剤

図1

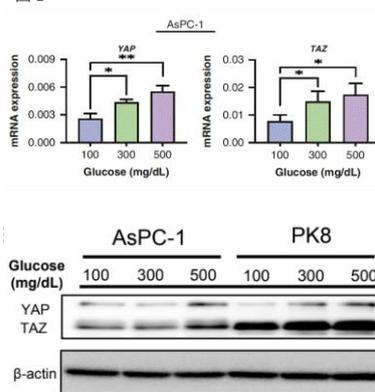
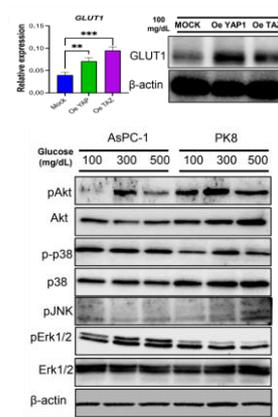
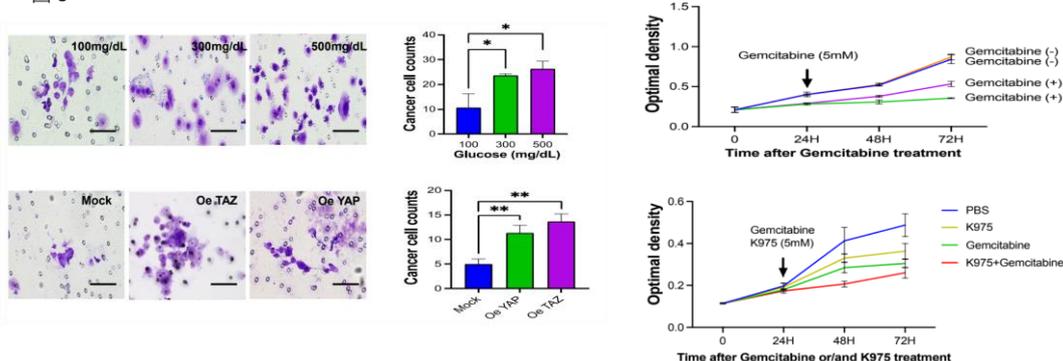


図2



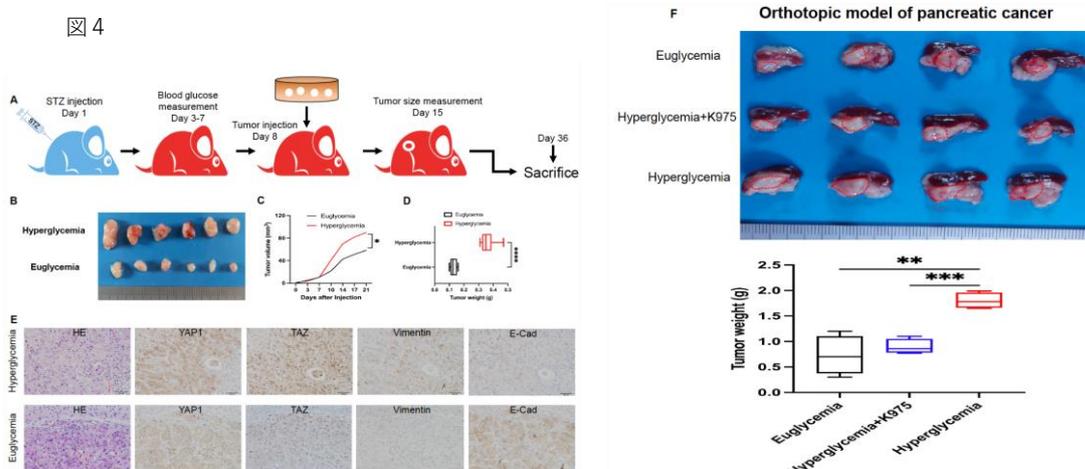
(K975) との併用で synergy effect をもたらすことが解明された (図3)。

図3



(2) *in vivo* 実験

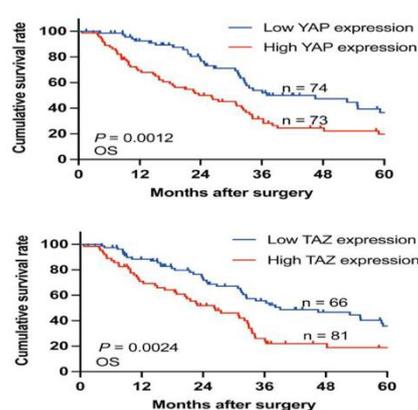
ヒト細胞株による subcutaneous および orthotopic surgery にて *in vitro* 実験結果を検証した。高血糖状態の担癌マウスでは腫瘍サイズが有意に増大し、YAP/TAZ 阻害剤 (K975) による腫瘍サイズ抑制を確認した。腫瘍内における病理組織学所見では YAP /TAZ、Vimentin の発現増強及び E-cadherin の発現低下を認めた (図 4)。高血糖状態は腫瘍細胞のみならず α SMA を増大し CAFs を活性化する一方、YAP/TAZ 阻害剤 (K975) を用いることで繊維化を抑制し、膵癌 TME において癌進展抑制に寄与することが示された。



(3) 手術検体を用いた免疫組織化学染色
膵癌細胞における YAP/TAZ タンパク発現と膵癌術後の生存、再発予後との相関性を検証した。YAP、TAZ の高発現群はそれぞれ生存、再発共に予後不良であった。また、YAP/TAZ 高発現群は有意に HbA1c 高値であった (図 5)。

以上より膵癌において YAP/TAZ メカニズムの解明は癌細胞のみならず腫瘍微小環境においても新たな治療方法獲得に向けた translational research となることが示された。これらの研究成果は 2022 年 12 月に Br J Cancer に publish された。

図 5



<引用文献>

- Higashi T et al, miR-9-3p plays a tumour-suppressor role by targeting TAZ (WWTR1) in hepatocellular carcinoma cells, Br J Cancer. 2015 Jul 14;113(2):252-8. doi: 10.1038/bjc.2015.170. Epub 2015 Jun 30.
- Hayashi H et al, An Imbalance in TAZ and YAP Expression in Hepatocellular Carcinoma Confers Cancer Stem Cell-like Behaviors Contributing to Disease Progression, Cancer Res. 2015 Nov 15;75(22):4985-97. doi: 10.1158/0008-5472.CCR-15-0291. Epub 2015 Sep 29.
- Yamao T et al, Cellular Senescence, Represented by Expression of Caveolin-1, in Cancer-Associated Fibroblasts Promotes Tumor Invasion in Pancreatic Cancer, Ann Surg Oncol. 2019 May;26(5):1552-1559. doi: 10.1245/s10434-019-07266-2. Epub 2019 Feb 25.
- Lan C et al, Cancer-associated fibroblast senescence and its relation with tumour-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expressions in intrahepatic cholangiocarcinoma, Br J Cancer. 2022 Feb;126(2):219-227. doi: 10.1038/s41416-021-01569-6. Epub 2021 Oct 6.

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 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 -

1. 著者名 Lan Chuan, Kitano Yuki, Yamashita Yo-ichi, Yamao Takano, Kajiyama Kiyoshi, Yoshizumi Tomoharu, Fukuzawa Kengo, Sugimachi Keishi, Ikeda Yasuharu, Takamori Hiroshi, Miyanari Nobutomo, Hirota Masahiko, Baba Hideo	4. 巻 126
2. 論文標題 Cancer-associated fibroblast senescence and its relation with tumour-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expressions in intrahepatic cholangiocarcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 219 ~ 227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-021-01569-6	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 Zhao Liu, Hiromitsu Hayashi, Kazuki Matsumura, Yoko Ogata, Hiroki Sato, Yuta Shiraishi, Norio Uemura, Tatsunori Miyata, Takaaki Higashi, Shigeki Nakagawa, Kosuke Mima, Katsunori Imai, and Hideo Baba
2. 発表標題 Hyperglycemia induces metabolic reprogramming and promotes epithelial-mesenchymal transitions in pancreatic cancer: An in vitro and in vivo experiment
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柳昭、林洋光、佐藤寛紀、白石裕太、松村和季、上村紀雄、馬場秀夫
2. 発表標題 Hyperglycemia promotes epithelial mesenchymal transition in pancreatic cancer via YAP1/TAZ mediated metabolic changes
3. 学会等名 第 33 回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 林 洋光、松村和季、北村文優、甲斐田剛佳、中川茂樹、美馬浩介、今井克憲、山下洋市、馬場秀夫
2. 発表標題 Hyperglycemia promotes epithelial mesenchymal transition in pancreatic cancer via YAP1/TAZ mediated metabolic changes
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
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
---------------------------	-----------------------	----

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