

消化器の再生・発癌のメカニズムの解明

慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室

谷口 浩二

[背景]

大腸癌、膵臓癌などの消化器癌による死亡率は依然として高く、早期であれば内科的治療や外科的切除が可能であるが、進行癌や癌の再発の場合は主に化学療法が行われ、その効果は限定的である。免疫療法として免疫チェックポイント阻害剤（抗PD-1/PD-L1抗体療法）が注目されているが、メラノーマなどでは良好な結果が出ている一方、多くの大腸癌ではあまり効果がない事が報告されている。慢性炎症が多くの癌の発生や進展（転移）に寄与している事がよく知られており、その中でも炎症性サイトカインIL-6が大きな役割を果たしている事が知られている^{1,2)}。

IL-6シグナルのエフェクターとしてJAK-STAT3経路が有名であるが、最近、我々はSrc-YAP経路を発見し、腸の再生に重要である事を報告した³⁾。我々は、炎症性腸疾患や大腸癌で活性化しているIL-6-gp130シグナルを腸上皮細胞特異的に活性化させるため、gp130の恒常的活性型変異（炎症性肝腫瘍の患者から発見された変異）を用いて、腸上皮細胞特異的なgp130トランスジェニックマウス（Villin-gp130 Tgマウス）を作製した。Villin-gp130 Tgマウスの表現型としては、腸が長く太くなり、増殖している未熟な腸上皮細胞の増加と分泌細胞（パネート細胞、杯細胞）の減少を認め、腸炎モデルで腸炎抵抗性を示した。その表現型を引き起こすメカニズムとして、gp130の下流でJAK-STAT3シグナルに加え、Src-YAP-Notchというシグナルが活性化している事を発見した。腸炎抵抗性においても、gp130の下流でJAK-STAT3シグナルに加え、Src-YAP-Notchシグナルが重要な働きを果たしている事を明らかにし、Src-YAPシグナルが炎症性腸疾患の一種であるクローン病患者の腸でも活性化している事を確認した。我々が発見したIL-6-gp130-Src-YAP経路は、「炎症」と「再生」をつなぐ新規シグナル伝達経路であると考えられる。しかし、これらの経路の消化器癌における重要性は検討されていない。

[目的]

再生を促進するシグナルの多くは癌においても活性化している事が知られており、このシグナルが癌においても活性化していれば、癌の新しい治療標的になる可能性がある。本研究では、消化器癌や消化器再生における炎症およびSrc-YAP経路の役割を明らかにし、新規の癌治療標的・治療法を発見する事を目的として研究を行った。

[方法]

本研究では、消化器癌（大腸癌、膵臓癌、食道癌など）や消化器の再生における炎症および我々が発見したSrc-YAP経路（炎症により活性化される新規経路）の役割を明らかにし、新規の治療標的・治療法を提唱する事を目的とし、研究計画、1. 消化器癌における Src-YAP経路の活性化メカニズム・役割の解明、2. 消化器再生におけるSrc-YAP経路の役割の解明、を作成した。研究方法としては主に細胞（腸オルガノイド、癌細胞株など）やマウスを用いて実験を行った。

1. 消化器癌におけるSrc-YAP経路の活性化メカニズム・役割の解明

マウス腸オルガノイドやヒト食道癌細胞株（TE-1, TE-5, TE-8, TE-11）、ヒト膵臓癌細胞株（Panc-1とMiaPaCa-2）を用いて、Src-YAP経路やJAK-STAT3経路が活性化しているかをウエスタンブロット法にて検討した。また食道癌細胞株や膵臓癌細胞株の増殖に対するSrc阻害剤とJAK阻害剤の効果をMTT assayで検討した。具体的には、上記細胞株を96 wellプレートへ播種し、生細胞数測定試薬SF（ナカライ）を使用し、細胞の増殖速度を比較検討した。Src阻害剤としてAZD0530（Selleck）とDasatinib（LC laboratories）、JAK阻害剤としてAZD1480（Selleck）を使用した。

2 消化器再生におけるSrc-YAP経路の役割の解明

セルレイン誘発急性膵炎モデルを用いて、Src-YAP経路の活性化（セルレイン投与後0, 1, 3, 6, 12, 24, 72, 168時間のタイムコース）を検討した。8週齢のC57BL/6マウス（メス）にセルレイン（Sigma）50ug/kgを1時間ごとに7回腹腔内注射で投与し、急性膵炎を誘導した。回収したサンプルを用い、ウエスタンブロット法と免疫組織化学染色法にて、Src-YAP経路やJAK-STAT3経路の活性化を検討した。

[結果]

1. 消化器癌におけるSrc-YAP経路の活性化メカニズム・役割の解明

腸オルガノイドにおいて、Src-YAP経路とJAK-STAT3経路の同時活性化が癌抑制遺伝子APC（adenomatous polyposis coli）の欠損により起こる事がわかった⁴）。さらにヒト食道癌細胞株や膵臓癌細胞株において、SrcとSTAT3の活性化とYAPの発現を認めた。Panc-1におけるYAPの発現はSrcに依存的であった。また膵臓癌細胞株でSrcとSTAT3の活性化をSrc阻害剤（AZD0530およびDasatinib）とJAK阻害剤（AZD1480）でそれぞれ抑制すると細胞増殖が抑制された。さらにその抑制効果はSrc阻害剤とJAK阻害剤の併用により増強した。また食道癌細胞株における阻害剤実験においても同様の結果が得られた。

2 消化器再生におけるSrc-YAP経路の役割の解明

セルレイン投与により誘導された膵炎の膵臓サンプルにおいて、投与後早期からのSTAT3やSrcの活性化と後期からのYAPの発現上昇をウエスタンブロット法で確認した。またセルレイン投与後のYAPの発現上昇・活性化を免疫組織化学染色法で確認した。

[考察]

IL-6シグナルのエフェクターとしてJAK-STAT3経路が有名であるが、最近、我々は新たなエフェクターとしてSrc-YAP経路を発見し、腸の再生に重要であることを報告した³⁾。しかし、これらのシグナル伝達経路の癌での役割や他臓器の再生での役割は検討されていなかった。

そこで今回の研究では、消化器癌と消化器再生における炎症、Src-YAP経路とJAK-STAT3経路の活性化機構と役割を明らかにする事を目的とし研究を行った。まず腸オルガノイドにおいて癌抑制遺伝子APCの欠損によりSrc-YAP経路とJAK-STAT3経路が活性化される事を見出した。さらにヒト膵臓癌細胞株や食道癌細胞株においても両経路は活性化していた。Src-YAP経路とJAK-STAT3経路は独立したシグナル経路であり、定常状態ではほとんど活性化されておらず、癌や組織再生時に強く活性化が誘導される事がこれまでの研究から分かっている^{3), 4)}。そのため、癌におけるよい治療標的と考え、Src阻害剤とJAK阻害剤の同時投与が単独投与よりも癌治療に有効ではないかとの仮説を立てた。実際、膵臓癌細胞株や食道癌細胞株の実験でSrc阻害剤とJAK阻害剤の同時投与は単独投与に比べてより効果的に腫瘍を抑制することを確認した。

また急性膵炎・膵再生のマウスモデルであるセルレイン誘発膵炎モデルにおいても、セルレイン投与によるSrc-YAP経路やJAK-STAT3経路の活性化を認め、これらのシグナル伝達経路が腸の再生のみならず膵臓の再生に寄与している可能性が示唆された。

以上の結果より、Src-YAP経路は様々な種類の消化器癌や再生に重要な役割を果たしており、消化器癌の新しい治療標的となる可能性が示唆された。

[おわりに]

Src阻害剤とJAK阻害剤はすでに一部が治療薬として他の疾患に承認されたり、治療が行われたりしている。そのため、今回の実験結果はヒトへの臨床応用も早期に行うことが可能と考えられる。Src-YAP経路とJAK-STAT3経路は化学療法抵抗性にも関与していることが知られており、通常の化学療法に加えて、Src阻害剤とJAK阻害剤を同時に投与する治療法が癌の治療により有効な可能性がある。

本研究を支援して下さった公益財団法人アステラス病態代謝研究会の関係者の皆様に厚くお礼申し上げます。

[引用文献]

- 1) Taniguchi K, Karin M. : IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer. *Semin Immunol.* ;26(1):54-74. 2014
- 2) Taniguchi K, Karin M. : NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol.* ;18(5):309-324. 2018
- 3) Taniguchi K, Wu LW, Grivennikov SI, et al. : A gp130-Src-YAP module links inflammation to epithelial regeneration. *Nature.* 5;519(7541):57-62. 2015
- 4) Taniguchi K, Moroishi T, de Jong PR, et al. : YAP-IL-6ST autoregulatory loop activated on APC loss controls colonic tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 14;114(7):1643-1648. 2017