

119. 遺伝的不均質による腫瘍悪性化の基本原則

榎本 将人

京都大学 大学院生命科学研究科 システム機能学分野

Key words : Src, JNK, がん, Hippo 経路, 細胞間相互作用

緒言

がんは、一部の正常細胞に複数の遺伝子変異が蓄積することによって細胞自律的に発生・進展すると考えられている。しかしながら、近年ヒトのがん組織は複数の異なる細胞集団によって構成されていることがわかりつつあり、これらの細胞集団は互いに相互作用することによって細胞非自律的にがん発生・進展を促していると考えられている。たとえば、上皮組織において上皮がん細胞は周辺の正常細胞、線維芽細胞やマクロファージなどの免疫細胞といった細胞と相互作用し、増殖能や浸潤・転移といった悪性能を獲得・促進することが示されつつある。この事実は、異なる遺伝子変異や性質をもった遺伝的に不均質な細胞集団の相互作用ががんの発生・進展に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。本研究では、ショウジョウバエ遺伝的モザイク法を駆使することで、細胞間相互作用を介したがん進展制御の遺伝学的解析を行った。

方法、結果および考察

がん遺伝子 *Src* はがんの悪性化に比例してその遺伝子発現や分子活性が上昇することが知られているものの¹⁾、これまで *Src* 活性化がどのようにがん進展を促進しているのか、そのメカニズムは不明であった。これまでに我々は、ショウジョウバエ遺伝的モザイク法(組織中に突然変異やがん遺伝子などを過剰発現する細胞集団をモザイク上に誘導する手法)を駆使することで、*Src* 活性化細胞を正常細胞と隣接させたとき、*Src* 活性化細胞クローンは c-Jun N-terminal kinase (JNK) シグナル誘導性の細胞死によって組織から排除されつつ、JNK が Hippo 経路の標的因子 Yorkie (Yki) 活性を周辺細胞に伝搬することで細胞非自律的な増殖を促すことを明らかにしてきた²⁾。そこで、JNK シグナルによる細胞自律的・非自律的な腫瘍形成能がどのように制御されているのかを解析した。*Src* 活性化細胞はがん抑制経路である Hippo 経路の破綻を引き起こすにも関わらずその細胞増殖能が低いことから、まず JNK シグナルと Hippo 経路との遺伝学的相互作用について解析した。具体的には、Hippo 経路のコンポーネントの変異細胞クローンをショウジョウバエの複眼原基に誘導し、JNK シグナルの活性化が Hippo 経路の破綻による腫瘍形成を抑制できるかを解析した。その結果、JNK シグナルは *hippo* (*hpo*) 変異細胞クローンの増殖能を抑制できる一方で、Hpo の下流因子である *warts* (*wts*: 哺乳類 *Lats1/2* ホモログ) を欠損した変異細胞クローンではその増殖能を抑制できないことがわかった³⁾ (図 1)。

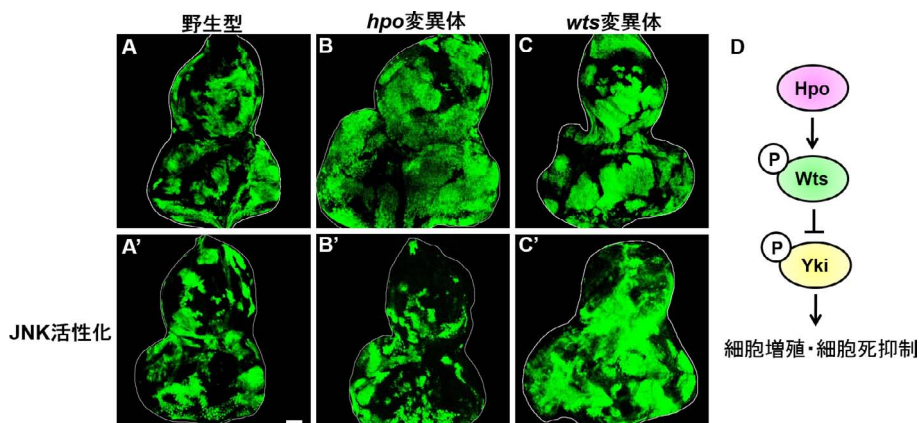


図1. JNK シグナルによる Hippo 経路の制御

GFP で標識した野生型細胞 (A)、*hpo* 変異細胞 (B) および *wts* 変異細胞 (C) のクローンを誘導した複眼原基 (下段 A' -C' は、これらの細胞クローン内で JNK シグナルの活性化を誘導)。JNK シグナルは *hpo* 変異体細胞クローンの増殖能を抑制する一方で、Hpo の下流因子である *wts* 変異細胞クローンの増殖は抑制できなかった。Hippo 経路は、Hpo-Wts-Yki のリン酸化カスケードによって細胞増殖・細胞死を制御するがん抑制経路 (D)。Scale bar: 50 μ m.

これらの結果によって JNK シグナルによる Src 活性化細胞の増殖抑制には Wts が必要であることが示唆されたことから、JNK と Wts の相互作用を生化学的に解析した。その結果、JNK シグナルは Wts の活性化を引き起こし、それによって Wts の標的因子 Yorkie (Yki) のリン酸化 (セリン 168: Wts によるリン酸化によって Yki の核内移行を阻害) が著しく上昇することがわかった³⁾。このことから、JNK シグナルは Wts の活性化を介して Yki 活性を抑制することによって細胞増殖・細胞死を制御していることが明らかとなった。

一方で、Epidermal growth factor receptor (EGFR) が活性化している細胞クローンは JNK シグナルを活性化しているにも関わらず Yki の活性化を引き起こし、それによって腫瘍形成を促進していることを見出した³⁾ (図2)。

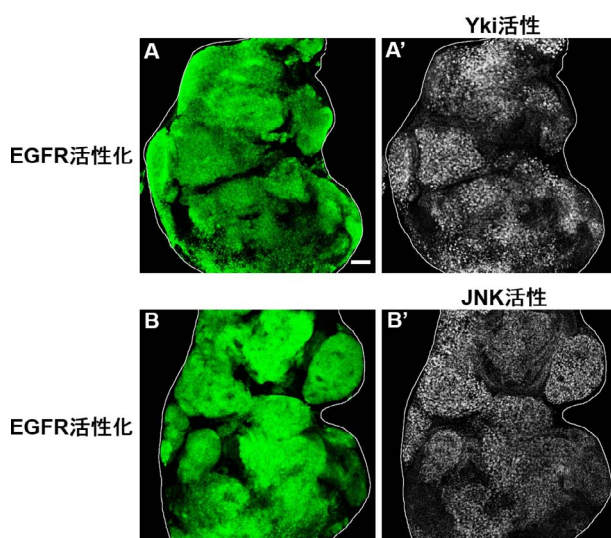


図2. EGFR 活性化細胞クローンにおける Yki と JNK シグナルの活性化

EGFR 活性化細胞クローンを誘導した複眼原基 (A および B)。EGFR の活性化細胞内で Yki の活性化 (A') と JNK シグナルの活性化 (B') が認められた。Yki 活性と JNK 活性はそれぞれ *ex-lacZ* レポーターと *msn-lacZ* レポーターを用いて検出。Scale bar: 50 μ m.

このことは、EGFR 活性化細胞内においては JNK シグナルによる Yki 活性の抑制作用が機能していないことを示唆している。そこで、そのメカニズムを解析したところ EGFR 活性化細胞において活性化している Ras シグナルが JNK 依存的な細胞増殖の抑制作用を促進作用へとスイッチしていることがわかった。具体的には、JNK シグナルと Ras シグナルは協調して LIM ドメインタンパク質 Ajuba を介したアクチンフィラメントの動態変化を引き起こし、それによって Wts を不活性化することで腫瘍形成を促進することがわかった³⁾ (図 3)。

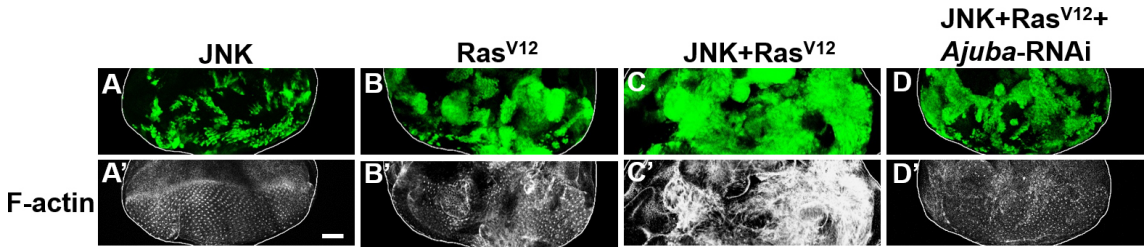


図 3. JNK シグナルと Ras シグナルの協調による Ajuba を介したアクチンフィラメントの動態制御
 JNK 活性化細胞クローン (A)、Ras 活性化細胞クローン (B)、JNK+Ras 活性化細胞クローン (C)、Ajuba をノックダウンした JNK+Ras 活性化細胞クローン (D)。JNK シグナルと Ras シグナルは Ajuba を介してアクチンフィラメント (F-actin) の動態変化を誘導し Wts の不活性化を引き起こす。F-actin は phalloidin 染色によって検出。Scale bar: 50 μm.

これらの結果は、Ras シグナルが JNK のもつ細胞増殖と細胞死という相反する 2つの作用をスイッチすることを示しており、Ras 活性が JNK シグナルの腫瘍形成・抑制の誘導に重要な因子であることがわかった。これら一連の結果から、Src 活性化細胞は JNK 依存的に細胞増殖抑制・細胞死を誘導されつつもその細胞非自律的作用によって周辺細胞の増殖を促しがん化を誘導する「がんニッチ細胞」ともいべき細胞機能を発揮する一方で⁴⁾、EGFR 活性化細胞や Ras 活性化細胞において JNK シグナルは細胞自律的に腫瘍形成を促すことがわかった (図 4)。

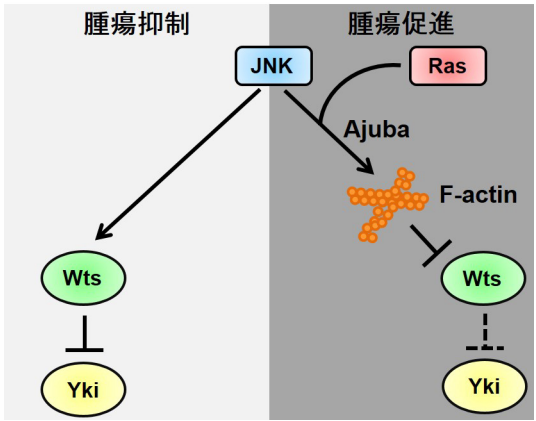


図 4. JNK シグナルの腫瘍形成の促進と抑制のスイッチ機構

このような、Ras シグナルを介した JNK シグナルのスイッチ機構が遺伝的不均質ながん組織においてがん発生・悪性化に寄与している可能性が考えられる。

共同研究者

本研究の共同研究者は、京都大学大学院生命科学研究科の井垣達吏博士、大澤志津江博士、竹本大策氏および木澤大輔氏である。

文 献

- 1) Yeatman T.J. A renaissance for SRC. *Nat. Rev. Cancer.*, 2004; 4 (6): 470-480. PubMed PMID: 15170449
- 2) Enomoto M, Igaki T. Src controls tumorigenesis via JNK-dependent of the Hippo pathway regulation in *Drosophila*. *EMBO Rep.*, 2013; 14 (1): 65-72. PubMed PMID: 23196366
- 3) Enomoto M, Kizawa D, Ohsawa S, Igaki, T. JNK signaling is converted from anti- pro-tumor pathway by Ras-mediated switch of Warts activity. *Dev. Biol.*, 2015; 403 (2): 162-171. PubMed PMID: 25967126
- 4) Enomoto M, Vaughen J, Igaki, T. Non-autonomous overgrowth by oncogenic niche cells: Cellular cooperation and competition in tumorigenesis. *Cancer Sci.*, 2015; 106 (12): 1651-1658. PubMed PMID: 26362609