

令和4年1月

# 長谷川隆 学位論文審査要旨

主査 藤原義之  
副主査 梅北善久  
同 磯本一

## 主論文

Photosensitizer verteporfin inhibits the growth of YAP- and TAZ-dominant gastric cancer cells by suppressing the anti-apoptotic protein Survivin in a light-independent manner

(光感受性物質ベルテポルフィンは光非依存性に抗アポトーシス蛋白質サバイビンを抑制することでYAPおよびTAZ優位な胃癌細胞の増殖を阻害する)

(著者：長谷川隆、杉原誉明、星野由樹、樽本亮平、松木由佳子、神田努、高田知朗、永原天和、的野智光、磯本一)

令和3年 ONCOLOGY LETTERS 22巻 703

## 参考論文

1. Next-generation laser-based photodynamic endoscopic diagnosis using 5-aminolevulinic acid for early gastric adenocarcinoma and gastric adenoma  
(早期胃癌・腺腫に対する5-アミノレブリン酸を用いた次世代の光線力学内視鏡診断)

(著者：坂口琢紀、木下英人、池淵雄一郎、神田努、山下太郎、菓裕貴、藤井政至、枝野未来、長谷川隆、斧山巧、吉田亮、河口剛一郎、八島一夫、磯本一)

令和2年 Annals of Gastroenterology 33巻 257頁～264頁

# 学位論文要旨

Photosensitizer verteporfin inhibits the growth of YAP- and TAZ-dominant gastric cancer cells by suppressing the anti-apoptotic protein Survivin in a light-independent manner

(光感受性物質ベルテポルフィンは光非依存性に抗アポトーシス蛋白質サバイビンを抑制することでYAPおよびTAZ優位な胃癌細胞の増殖を阻害する)

胃癌において転写調節因子Yes-associated protein (YAP) 高発現は予後不良と報告されている。更に印環細胞癌はYAPのパラログであるtranscriptional coactivator with PDZ-binding motif (TAZ) 陽性と報告され遺伝的特性が異なる可能性が示唆される。更にYAP/TAZは、癌細胞が血管のような形態 (血管擬態、vascular mimicry) をとることで悪性化に関与しているとも報告されている。既に、加齢黄斑変性症治療薬として臨床応用されているverteporfin (VP) は、光線力学療法 (PDT) の光感受性物質としてのみならず、近年YAP阻害剤としての作用が明らかになってきた。本研究では異なる遺伝子発現特性を有す胃癌細胞株に対するVPの光非依存的な治療効果を検証した。

## 方法

4種類の胃癌細胞株 (Kato-III、NUGC-4、MKN-45、MKN-74) のうち、YAP優位・TAZ優位の胃癌細胞株を1種類ずつ選択した。それぞれの細胞株に対し、異なる濃度 (10、15、20  $\mu\text{M}$ ) と時間 (24、48、72時間) のVP投与を行い、MTSアッセイを実施した。更に、コロニー形成はクリスタルバイオレット染色で検討し、遺伝子発現 (connective tissue growth factor、CTGF; cysteine-rich angiogenic inducer 61、CYR61; Survivin) と蛋白発現 (YAP/TAZ、CTGF、Survivin) も検討した。細胞死はAnnexinV+SYTOX green染色を用いて評価した。vascular mimicryに対する効果はtube formation assayで評価した。作用機序の検討はsiRNAを用いてYAP/TAZ遺伝子のノックダウンにて行った。

## 結果

4種類の細胞株のうち、MKN-74 (中分化型、YAP優位発現)、MKN-45 (低分化型、TAZ優位発現) を選択した。MKN-45およびMKN-74はいずれの細胞株においても濃度依存的かつ時間依存的に腫瘍増殖抑制効果を示した。低分化型TAZ優位胃癌細胞株であるMKN-45が中分

化型YAP優位胃癌細胞株であるMKN-74よりもVPの取り込みが早く、感受性が高かった。各細胞でYAPとTAZはVP投与後2時間で核内から細胞質へ局在を変え、YAPとTAZの蛋白発現は12時間でほぼ消失した。更に、その下流の抗アポトーシス蛋白質Survivinの発現の低下を介して、アポトーシス誘導を認めた。両細胞共に濃度依存性に細胞死の増加を認めた。tube formation assayでは、VPはvascular mimicryを抑制する事も確認された。遺伝子のノックダウンによる検討ではYAPとTAZを同時に抑制した場合にのみ、Survivinを抑制し、Casepase3/7の誘導により、増殖抑制効果が認められた。

## 考 察

今回の研究でVPの有するYAP/TAZ同時抑制の効果が、Survivinを介してアポトーシスを誘導し、腫瘍増殖抑制かつvascular mimicry抑制に関わる事が明らかになった。

YAPとTAZの役割の違いについてはまだ不明な点が多いが、癌細胞の種類によってその発現に差がある（YAP優位・TAZ優位）事が知られている。更には、TAZの発現量はYAPの発現増加により抑制されると報告されており、相互に補完しあっている可能性が示唆される。今回の検討により、VPはYAPとTAZを同時抑制する特徴を有する事で、その相互補完作用を阻害し、腫瘍増殖抑制効果を発揮する事を明らかにし得た。更に、vascular mimicryに関しても、胃癌の予後不良因子として報告されている。これまでに、VPはYAP阻害によりvascular mimicryを抑制するとの報告があり、今回の検討により胃癌細胞株でもその抑制効果が確認された。このことから、VPは予後不良の胃癌細胞に対する有効な治療薬となり得ると考えられた。

## 結 論

VPはYAPとTAZの同時抑制効果を有し、抗アポトーシス蛋白質Survivinを介して、異なる遺伝的特性を有す胃癌細胞株に増殖抑制効果かつvascular mimicryの抑制効果を発揮した。既に臨床応用されているVPは新たな胃癌の治療薬の有力な候補と考えられる。