



Hippo-TAZ signaling is the master regulator of the onset of triple negative basal-like breast cancers

曾山, 弘敏

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2022-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8408号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100477834>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Hippo-TAZ signaling is the master regulator of the onset of triple negative basal-like breast cancers

Basal-like 乳癌発症のドライバー経路としての Hippo-TAZ 経路

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

肝胆脾外科学

(指導教員：福本 巧 教授)

曾山 弘敏

【諸言】

乳癌は女性において最も頻度の高い腫瘍であり、特にトリプルネガティブの最多を占める Basal-like 乳癌(BLBC)は乳癌の中で最も予後不良で治療抵抗性である。BLBC の多くでは p53 の変異が報告されているものの、BLBC 発症のドライバー遺伝子はいまだわかつていな。また、BLBC は Luminal 細胞由来であることがわかっているものの、BLBC が Luminal 細胞の形質を失い Basal 細胞の性質を獲得する機構も未だ不明であった。

Hippo-TAZ/YAP1 経路は、器官のサイズ制御や細胞の増殖・分化に関わるほか、強力な癌抑制経路として作用することが知られている。Hippo コア複合体は MST、LATS の 2 つのキナーゼとそれぞれのアダプター分子である SAV1、MOB1 の 4 分子からなり、転写共役因子である TAZ や YAP1 の活性化を制御している。特に MOB1 は LATS/NDR キナーゼを介して、内因性の TAZ/YAP を抑制し、Hippo コア因子のハブとして作用する。乳腺の腫瘍化における Hippo 経路の役割は未だ不明な点が多いため、我々は、乳腺特異的 MOB1 欠損マウスを作製し、Hippo-TAZ 経路の乳腺腫瘍化における役割を検討した。

【方法】

Mob1a *fl/fl*, *Mob1b* *-/-* マウスと *PGR-Cre Tg* マウスを掛け合わせることで乳腺 Luminal 細胞特異的 MOB1 欠損マウス (*PGR-Cre Tg ; Mob1a* *fl/fl*, *Mob1b* *-/-*) を作製した。乳腺 Luminal 細胞特異的 MOB1 欠損マウスの乳腺を経時に HE 染色、免疫染色、qPCR にて正常マウス乳腺と比較検討を行った。またヒト Luminal 乳癌細胞株である MCF7 の DOX 誘導性にヒト活性型 TAZ(TAZ4SA)を過剰発現する細胞株を樹立し、活性型 TAZ 過剰発現による Luminal/Basal marker の発現変化を免疫染色、qPCR にて解析を行った。ヒト乳癌検体については 2000 年 1 月 1 日～2021 年 3 月 31 日までに九州大学病院別府病院外科、神戸市立医療センター中央市民病院、兵庫県立がんセンターにて乳癌と診断され切除手術をうけた上皮内癌 100 例、浸潤癌 50 例についてサブタイプ診断を行った後に TAZ/YAP1、p53 の免疫染色を行い TAZ/YAP1 の活性化および p53 変異について比較検討した。

【結果】

乳腺 Luminal 細胞特異的 MOB1 欠損マウスは、全例生後早期に乳癌を発症した。これらの腫瘍では Basal marker をタンパク質および RNA レベルで高発現しており、ヒトの BLBC に類似していた。さらにこのマウスでみられる腫瘍は、Luminal 細胞を起点として発癌するものの、次第に Luminal 細胞の形質を失い、Basal 細胞の表現型を獲得して BLBC となることが明らかとなった。また、この腫瘍は TAZ を欠損することで腫瘍化が抑制されたことから、YAP1 ではなく TAZ 依存性であることを見出した。

MCF7 に活性型 TAZ を過剰発現するとタンパク質および RNA レベルで Luminal marker の減少、Basal marker の上昇をみとめた。またヒト BLBC 前癌病変では、p53 の変異は少ないものの TAZ の活性化をみとめ、進行癌では高頻度の p53 の変異とより高い TAZ の活性

化をみとめた。

さらにマウスにおいても MOB1 と p53 の二重欠損マウスは、より腫瘍進展が加速した。

【考察】

これまでに、乳癌のリスク因子や乳癌で高頻度な変異が報告されている分子の多くは TAZ を活性化することがわかっている。これらのコンビネーションによって TAZ の活性が蓄積し、ある閾値を超えた時に BLBC が発症することが予想される。また BLBC の発症後に起ころる p53 の変異によってさらに癌が進展しやすくなると考えられる。

我々は Hippo-TAZ 経路が、BLBC 発症の鍵となるドライバー経路であることを初めて示した。また、BLBC の発症は TAZ 欠損によって抑制されることから、Hippo-TAZ 経路を標的とする薬剤が、BLBC に奏効する可能性が高い。我々のマウスは単一内因性シグナル経路の異常で乳癌を発症する最速モデルであり、このマウスは BLBC に対する新規治療薬の効果判定に非常に有用になると思われる。

【結論】

Hippo-TAZ 経路が、BLBC 発症の鍵となるドライバー経路であると考えられた。また BLBC の発症は TAZ 欠損によって抑制されることから、Hippo-TAZ 経路を標的とする薬剤が BLBC に奏効する可能性が高いと考えられた。

神戸大学大学院医学(系)研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第3199号	氏名	曾山 弘敏
論文題目 Title of Dissertation			Basal-like 乳癌発症のドライバー経路としての Hippo-TAZ 経路 Hippo-TAZ signaling is the master regulator of the onset of triple negative basal-like breast cancers
審査委員 Examiner			主査 Chief Examiner 11回 亮 副査 Vice-examiner 辨/加也 副査 Vice-examiner 青井貴之
(要旨は1,000字～2,000字程度)			

【諸言】

乳癌は女性において最も頻度の高い腫瘍であり、特にトリプルネガティブの最多を占める Basal-like 乳癌(BLBC)は乳癌の中で最も予後不良で治療抵抗性である。BLBC の多くでは p53 の変異が報告されているものの、BLBC 発症のドライバー遺伝子はいまだわかっていない。また、BLBC は Luminal 細胞由来であることがわかっているものの、BLBC が Luminal 細胞の形質を失い Basal 細胞の性質を獲得する機構も未だ不明であった。

Hippo-TAZ/YAP1 経路は、器官のサイズ制御や細胞の増殖・分化に関わるほか、強力な癌抑制経路として作用することが知られている。Hippo コア複合体は MST、LATS の 2 つのキナーゼとそれぞれのアダプター分子である SAV1、MOB1 の 4 分子からなり、転写共役因子である TAZ や YAP1 の活性化を制御している。特に MOB1 は LATS/NDR キナーゼを介して、内因性の TAZ/YAP を抑制し、Hippo コア因子のハブとして作用する。乳腺の腫瘍化における Hippo 経路の役割は未だ不明な点が多いため、我々は、乳腺特異的 MOB1 欠損マウスを作製し、Hippo-TAZ 経路の乳腺腫瘍化における役割を検討した。

【方法】

Mob1a flox/flox, Mob1b -/- マウスと PGR-Cre Tg マウスを掛け合わせることで乳腺 Luminal 細胞特異的 MOB1 欠損マウス (PGR-Cre Tg ; *Mob1a flox/flox, Mob1b -/-*) を作製した。乳腺 Luminal 細胞特異的 MOB1 欠損マウスの乳腺を経時的に HE 染色、免疫染色、qPCR にて正常マウス乳腺と比較検討を行った。またヒト Luminal 乳癌細胞株である MCF7 の DOX 誘導性にヒト活性型 TAZ(TAZ4SA)を過剰発現する細胞株を樹立し、活性型 TAZ 過剰発現による Luminal/Basal marker の発現変化を免疫染色、qPCR にて解析を行った。ヒト乳癌検体については 2000 年 1 月 1 日～2021 年 3 月 31 日までに九州大学病院別府病院外科、神戸市立医療センター中央市民病院、兵庫県立がんセンターにて乳癌と診断され切除手術をうけた上皮内癌 100 例、浸潤癌 50 例についてサブタイプ診断を行った後に TAZ/YAP1、p53 の免疫染色を行い TAZ/YAP1 の活性化および p53 変異について比較検討した。

【結果】

乳腺 Luminal⁺細胞特異的 MOB1 欠損マウスは、全例生後早期に乳癌を発症した。これらの腫瘍では Basal marker をタンパク質および RNA レベルで高発現しており、ヒトの BLBC に類似していた。さらにこのマウスでみられる腫瘍は、Luminal 細胞を起点として発癌するものの、次第に Luminal 細胞の形質を失い、Basal 細胞の表現型を獲得して BLBC となることが明らかとなった。また、この腫瘍は TAZ を欠損することで腫瘍化が抑制されたことから、YAP1 ではなく TAZ 依存性であることを見出した。

MCF7 に活性型 TAZ を過剰発現するとタンパク質および RNA レベルで Luminal marker の減少、Basal marker の上昇をみとめた。またヒト BLBC 前癌病変では、p53 の変異は少ないものの TAZ の活性化をみとめ、進行癌では高頻度の p53 の変異とより高い TAZ の活性化をみとめた。

さらにマウスにおいても MOB1 と p53 の二重欠損マウスは、より腫瘍進展が加速した。

【考察】

これまでに、乳癌のリスク因子や乳癌で高頻度な変異が報告されている分子の多くは TAZ を活性化することがわかっている。これらのコンビネーションによって TAZ の活性が蓄積し、ある閾値を超えた時に BLBC が発症することが予想される。また BLBC の発症後に起こる p53 の変異によってさらに癌が進展しやすくなると考えられる。

我々は Hippo-TAZ 経路が、BLBC 発症の鍵となるドライバー経路であることを初めて示した。また、BLBC の発症は TAZ 欠損によって抑制されることから、Hippo-TAZ 経路を標的とする薬剤が、BLBC に奏効する可能性が高い。我々のマウスは単一内因性シグナル経路の異常で乳癌を発症する最速モデルであり、このマウスは BLBC に対する新規治療薬の効果判定に非常に有用になると思われる。

【総括】

本研究は、Hippo-TAZ 経路の乳腺腫瘍化における役割について調べた研究であるが、今までドライバー経路が不明であったBLBCを单一遺伝子欠損で発症する世界最速のマウスマルクを発明し、Hippo-TAZ 経路が BLBC 発症の鍵であるドライバー経路であることを明らかにした報告である。Hippo-TAZ 経路を標的とする薬剤が、治療が難しい BLBC の新規の抗がん剤に成り得るとした点で価値ある業績と認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。