

がんの発症・進展におけるヒアルロン酸の「ジキルとハイド的」役割

1. 発表者：

畠山 昌則（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 微生物学分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆がんの発症・進展を抑える Hippo シグナルをヒアルロン酸（注1）がオン・オフ制御することを見出し、予後不良の乳がんにはヒアルロン酸が深く関与することを明らかにしました。
- ◆高分子量ヒアルロン酸が Hippo シグナルを活性化するのに対し、その分解産物である低分子量ヒアルロン酸は Hippo シグナルを不活化し発がんを促すことを見出しました。
- ◆分子サイズに応じてヒアルロン酸ががんに対し真逆の効果を惹起する機構を解明し、難治性乳がんにて代表されるがんの新規予防・治療法開発への道を拓きました。

3. 発表概要：

細胞外基質（注2）の主要構成成分であるヒアルロン酸は、組織の構造維持や水分保持などに深く関わっており、最近では、美容医療や整形外科領域でヒアルロン酸投与が行われています。今回、東京大学大学院医学系研究科の畠山昌則教授らの研究グループは、分子サイズの大きなヒアルロン酸（高分子量ヒアルロン酸）ががん抑制性の細胞内シグナル経路である Hippo シグナル経路（注3ならびに図1）を活性化する一方、高分子量ヒアルロン酸の分解によって生じる分子サイズの小さなヒアルロン酸（低分子量ヒアルロン酸）は Hippo シグナルの不活化を介してがんの発症・進展を逆に促すことを明らかにしました。さらに、予後不良な乳がんとして知られるトリプルネガティブ乳がん（注4）では高分子量ヒアルロン酸の分解酵素である HYAL2（注5）が過剰発現しており、高分子量ヒアルロン酸の分解産物である低分子量ヒアルロン酸が Hippo シグナルを抑制することでがんの悪性度増強に寄与することを見出しました。今後、ヒアルロン酸や HYAL2 を分子標的とすることで、トリプルネガティブ乳がん等への革新的な予防・治療法開発が期待されます。同時に、本研究は若返りや美容を謳ったヒアルロン酸の安易な使用に警鐘を鳴らすものです。

4. 発表内容：

私たちの体を構成する個々の細胞の隙間を埋める主要な細胞外基質であるヒアルロン酸は、分子量 100 万以上という高分子量ヒアルロン酸として細胞から合成・分泌されます。一方、炎症などを起こしている病的組織ではヒアルロン酸分解酵素 HYAL2 が誘導され、高分子量ヒアルロン酸は低分子量ヒアルロン酸に分解されてしまいます。ハダカデバネズミというユニークなネズミの仲間を用いた最近の研究から、ヒアルロン酸の分子サイズと老化、がん化との関連に大きな関心が寄せられています。通常のネズミの平均寿命が3年程度であるのに対し、ハダカデバネズミは30年にも及ぶ長い寿命を有しがんを発症することがほとんどありません。ハダカデバネズミが示す超長寿と強いがん抵抗性の一因として、このネズミ由来の細胞から産生される巨大なサイズのヒアルロン酸（分子量 500 万以上）が有する強力な“接触阻害”（注6）活性が注目されています。

ここ数年の研究から、接触阻害とがんの発症・進展を抑制する細胞内シグナルの一つである Hippo シグナルとの関連が示唆されてきました。Hippo シグナルは細胞が互いに密に接着する

結果活性化され、転写共役因子 YAP の細胞質から核内への移行を阻害することで細胞増殖を担う一群の遺伝子発現を阻止します (図 1 A)。多くのがん細胞において Hippo シグナルの破綻により YAP が構成的に核内に集積・活性化していることから (図 1 B)、Hippo シグナルはがんの有力な分子標的として期待されています。一方、接触阻害の誘導時に Hippo シグナルが活性化される機構、とりわけ細胞外基質分子が Hippo シグナルの活性化に果たす役割はこれまで不明のまま残されていました。

本研究グループは、まず、種々の細胞外基質分子を添加した正常乳腺上皮細胞における Hippo シグナルの活性化状態ならびに YAP の細胞内局在を観察しました。その結果、高分子量ヒアルロン酸が Hippo シグナルを特異的に活性化し、YAP の核内移行を阻止することがわかりました。さらに、高分子量ヒアルロン酸は細胞膜上でヒアルロン酸結合タンパク質 CD44 (注 7) をクラスター化することにより、Hippo シグナルを賦活化することを見出しました。そこで次に CD44 の細胞内領域に結合する分子の同定を試み、リン酸化酵素 PAR1b (注 8) を同定しました。この PAR1b は通常、Hippo シグナルの活性化分子 MST1/2 と複合体を形成することで同シグナルを抑制していることも判明しました。高分子量ヒアルロン酸は、CD44-PAR1b 複合体を誘導することにより PAR1b-MST1/2 複合体形成を阻害し Hippo シグナルを活性化させることが明らかになりました。一方、低分子量ヒアルロン酸は CD44 と結合するにも関わらず CD44 のクラスター化を誘導できず、逆に高分子量ヒアルロン酸による CD44 クラスター化を競合的に阻害することで Hippo シグナルを不活化してしまうことが判明しました。

ヒアルロン酸による Hippo シグナル制御の病態生理学的意義を検討するため、種々の乳がん細胞において、ヒアルロン酸分解酵素である HYAL2 の発現量、細胞周囲に蓄積するヒアルロン酸のサイズ、ならびに YAP の細胞内局在を検討しました。その結果、悪性度の高い乳がん細胞として知られるトリプルネガティブ乳がんにおいて、HYAL2 の高発現、高分子量ヒアルロン酸の消失と低分子量ヒアルロン酸の蓄積ならびに YAP の核内蓄積が認められ、高分子ヒアルロン酸による Hippo シグナルの活性化機構が破綻していることが明らかになりました。これらのトリプルネガティブ乳がん症例は臨床的にも予後がより不良であることも判明しました。さらに、マウスを用いた乳がんの移植実験から、HYAL2 の過剰発現による高分子ヒアルロン酸の分解促進が Hippo シグナルを不活化し造腫瘍性を著しく増強することも明らかになりました。これら一連の研究の要約を (図 2) に示します。

本研究は、ヒアルロン酸-CD44 を新たなリガンド-レセプター系 (注 9) とする Hippo シグナル制御機構の存在を明らかにしたものであり、ヒアルロン酸や HYAL2 を分子標的とする新たながんの予防・治療法開発につながることを期待されます。一方、本研究から、高分子量ヒアルロン酸はがん抑制的に働く善玉分子 (ジキル氏) として働く一方、その分解産物である低分子量ヒアルロン酸はがん促進的に働く悪玉分子 (ハイド博士) として機能することが判明しました。現在、精製ヒアルロン酸の注入は美容医療 (シワ取りや豊胸など) や整形外科 (関節内注射など) の分野で汎用されています。炎症などにより HYAL2 が発現している体内環境下では、高分子量ヒアルロン酸は容易に発がんを促す悪玉ヒアルロン酸 (低分子量ヒアルロン酸) に分解されてしまいます。今回の研究成果は、がんとの関連において、医療におけるヒアルロン酸の使用には十分な慎重さが要求されることを示しています。

5. 発表雑誌:

雑誌名: 「*Developmental Cell*」 (アメリカ東部夏時間 2019 年 5 月 9 日オンライン版)

論文タイトル:

High-Molecular-Weight Hyaluronan Is a Hippo Pathway Ligand That Directs Cell Density-Dependent Growth Inhibition via PAR1b

著者：Takuya Ooki, Naoko Murata-Kamiya, Atsushi Takahashi-Kanemitsu, Weida Wu, and Masanori Hatakeyama

DOI 番号：10.1016/j.devcel.2019.04.018

アブストラクト URL：

[https://www.cell.com/developmental-cell/fulltext/S1534-5807\(19\)30299-0](https://www.cell.com/developmental-cell/fulltext/S1534-5807(19)30299-0)

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 微生物学分野

教授 畠山 昌則（はたけやま まさのり）

TEL：03-5841-3404 FAX：03-5841-3406

E-mail：mhata@m.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

注1：ヒアルロン酸

N-アセチルグルコサミンと D-グルクロン酸からなる二糖単位が直鎖上に数千回連結して形成されるムコ多糖類の一種。

注2：細胞外基質

細胞と細胞の間を埋め、細胞の形の支持や、細胞の接着に関与する分子。

注3：Hippo（ヒッポ）シグナル経路

ショウジョウバエからヒトに至るまで高度に保存されている細胞内シグナル伝達経路であり、ショウジョウバエにおけるその活性化変異が細胞の過増殖に起因する「カバ

（**Hippopotamus**）の皮膚」様の表現型を示すことから **Hippo** シグナル経路と命名されました。この経路の中核を担う2種類のリン酸化酵素 **MST1/2** ならびに **LATS1/2** は細胞密度の増大などによりカスケード状に活性化されます。活性化された **LATS1/2** は転写共役因子 **YAP** をリン酸化することで細胞質から核内への **YAP** の移行を阻害し、**YAP** の支配下にある細胞増殖を担う一群の遺伝子発現を阻止します。**Hippo** シグナルは臓器・器官のサイズ制御に中心的な役割を担うとともに、がんの発症や進展を抑制する細胞内シグナルの一つと考えられています。

注4：トリプルネガティブ乳がん

乳がんは、女性ホルモンを受容するレセプター（エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体）を持つ「ルミナル乳がん」、**HER2** という細胞増殖に関わる分子を過剰に有する「**HER2** 陽性乳がん」、女性ホルモン受容体と **HER2** を持たない「トリプルネガティブ乳がん」の3型に大きく分類されます。このうち「ルミナル乳がん」はホルモン療法、「**HER2** 陽性乳がん」は分子標的治療が効く場合が多いのに対し、「トリプルネガティブ乳がん」では特異的な治療法が無く、予後が悪いことが知られています。また、トリプルネガティブ乳がんは、若くして発症するケースが多いことも知られています。

注5：HYAL2（ヒアルロニダーゼ2）

ヒアルロン酸を分解する酵素のひとつ。細胞外に存在するサイズの大きいヒアルロン酸（高分子量ヒアルロン酸：分子量100万以上）を、サイズのより小さいヒアルロン酸（低分子量ヒアルロン酸）に分解します。

注6：接触阻害（早期接触阻害）

接触阻害とは、細胞同士が密に接着することで増殖が抑制される現象であり、正常細胞において見られる細胞密度依存的な増殖抑制機構です。早期接触阻害は通常の接触阻害よりも早い段階（細胞がまだほとんど互いに接触していない段階）で起きる細胞の増殖抑制を指し、ハダカデバネズミを用いた研究から超高分子量ヒアルロン酸によって誘導される現象と考えられています。

注7：CD44

ヒトを含む哺乳動物細胞の細胞膜に存在するタンパク質。ヒアルロン酸結合タンパク質として知られ、細胞と細胞外基質との結合に関与する。細胞外基質としてのヒアルロン酸と結合する細胞外ドメイン、単一の膜通過ドメインならびに細胞内ドメインから構成される。CD44の機能は細胞の接着以外にも多岐にわたることが知られています。

注8：PAR1b

タンパク質中の「セリン」ならびに、「スレオニン」というアミノ酸をリン酸化する酵素。細胞の極性（細胞の頭側と足側の向きを決めること）形成や、タンパク質の輸送の道となる微小管を制御することが知られています。

注9：リガンド-レセプター系

リガンドとはある物質に対して特異的に結合する物質のことを示します。多くの場合、細胞表面に存在するレセプター（受容体）に特異的に結合する物質を指すため、両者を併せてリガンド-レセプター系と称します。例えば、インスリンはインスリンレセプター（受容体）のリガンドであり、両者はインスリン-インスリンレセプター系を構成します。

8. 添付資料：

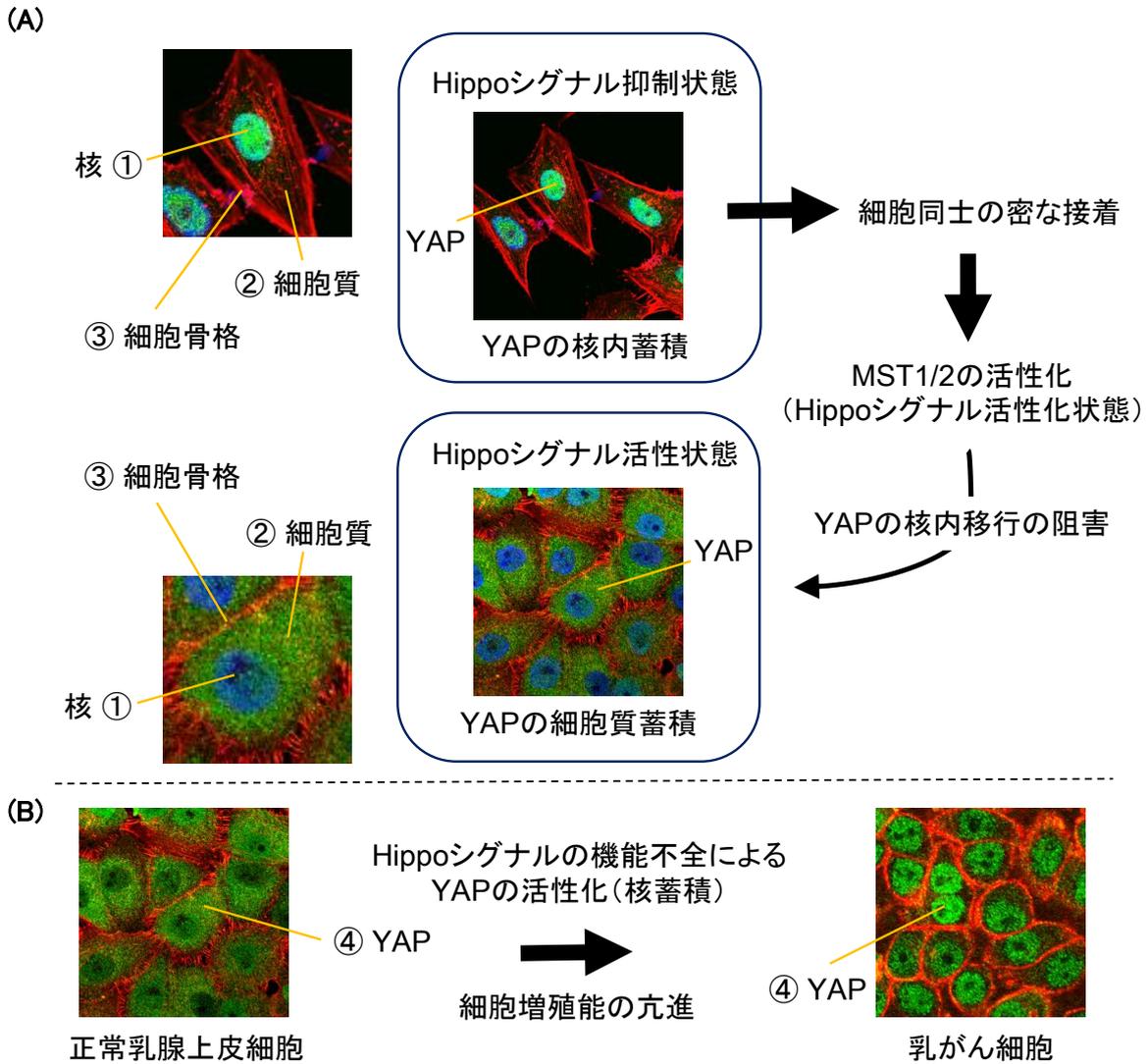


図1. Hippo シグナルの活性化機構ならびに、がん細胞における Hippo シグナルの機能不全
 (A) Hippo シグナルが抑制されている状態では、YAP（緑色）が青色①で示される核内に蓄積している。この時 YAP は細胞の増殖に必要な遺伝子の活性化に働いている。一方、細胞同士の密な接着は Hippo シグナル活性化の中核となる酵素 MST1 ならびに MST2 を活性化させる。Hippo シグナルの活性化により、核内移行が阻害された YAP は細胞質②に蓄積し細胞の増殖が抑制される。赤色③は各々の細胞の辺縁を示す。
 (B) 高密度の状態にある正常乳腺上皮細胞（左のイメージ）では Hippo シグナルが活性化され、緑色④で示す YAP の細胞質蓄積が観察される。一方、乳がん細胞（右のイメージ）では、高密度培養下にも関わらず緑色④で示す YAP が核内に蓄積していることから、このがん細胞では Hippo シグナルが正常に機能していないことが推察される。

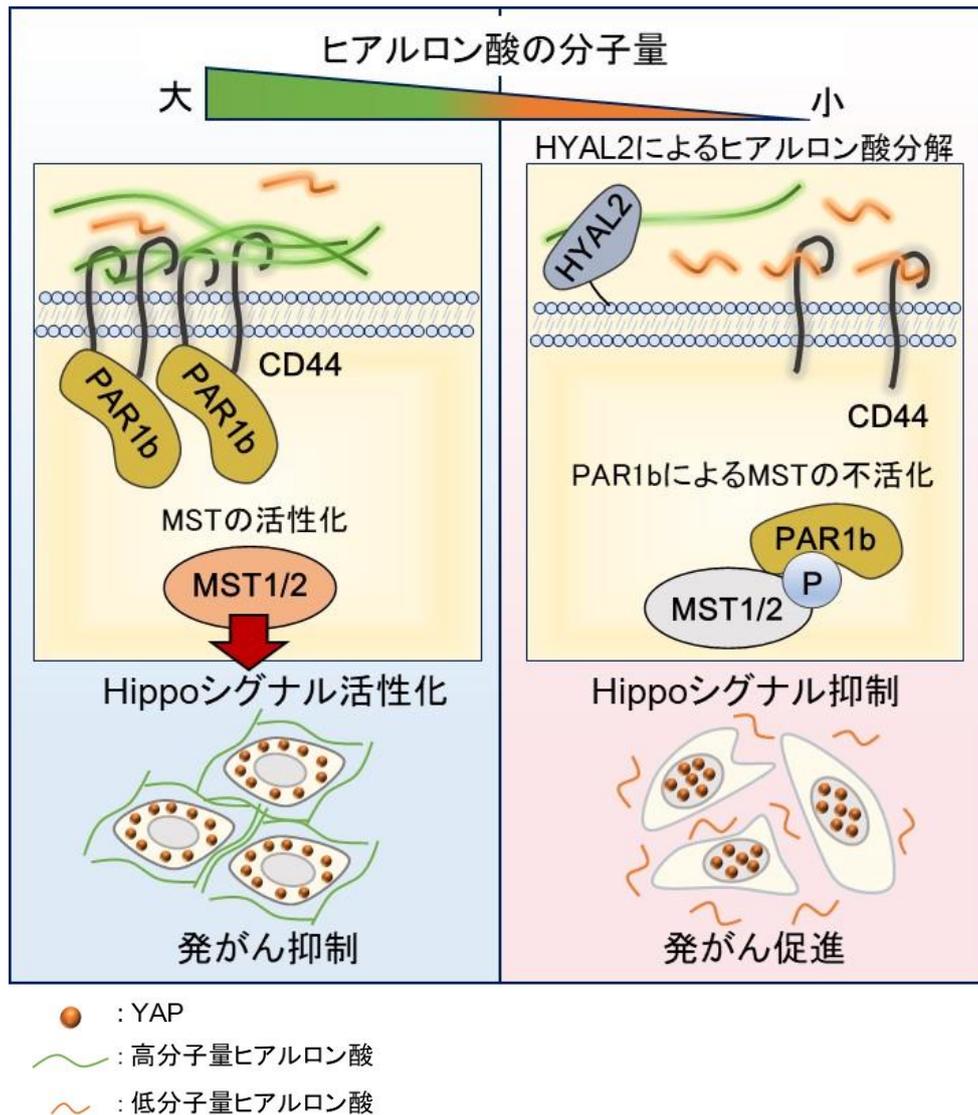


図2. 本研究が明らかにした分子機構の要約図

高分子量ヒアルロン酸は、ヒアルロン酸結合タンパク質として知られる CD44 の細胞外側に結合することで CD44 のクラスター化（架橋）を促し。その結果、細胞の内側では、CD44 と PAR1b の複合体形成が促されます。CD44 と PAR1b の結合は、Hippo シグナルの中核を担う酵素分子 MST1/2 と結合する PAR1b を減少させます。その結果、自由になった MST1/2（活性型）が増えることで、Hippo シグナルが活性化します。Hippo シグナルの活性化は、YAP の核内移行を阻害することで細胞の増殖を抑制するため、がんの発症・進展に対して抑制的に機能します（図2左）。

一方、ヒアルロン酸分解酵素である HYAL2 が過剰に存在する状態では、高分子量ヒアルロン酸が分解され、低分子量ヒアルロン酸のみが蓄積する環境に変わります。この環境では、こう分子量ヒアルロン酸による CD44 のクラスター化（架橋）が起こらないために、PAR1b により MST1/2 が抑制された状態が持続します。その結果、Hippo シグナルが活性化されず、核内に移行した YAP によりがんの発症・進展が促されます（図2右）。