炎症・がんにおける タンパク質脱リン酸化酵素 PP2A の役割

円城寺秀平, 大浜 剛

要約：古くから慢性炎症とがんの間には密接な関係があることが知られている。近年、その詳細な分子機構についても研究が進展し、炎症反応と発がん・がんの悪性化には共通の細胞内シグナルが関与して、複雑に相互作用していることが明らかになり、両者に共通の因子を標的にする抗がん戦略が考えられるようになった。我々は、炎症とがんの双方で重要な抑制因子として働く protein phosphatase 2A (PP2A) に注目している。PP2A は、細胞内の主要なセリン／スレオニン脱リン酸化酵素であり、多様なシグナル伝達を調節している。PP2A には I1PP2A (ANP32A), ENSA, Arpp19, CIP2A, PME-1, SET/I2PP2A 等の PP2A 阻害タンパク質が存在し、ほとんどのがんにおいて PP2A 阻害タンパク質の発現上昇による PP2A 活性の低下が認められる。PP2A 阻害タンパク質の中でも SET/I2PP2A は、炎症反応を増強する役割が報告されている。当シンポジウムにおいて我々は、炎症反応依存的な胃がん自然発症マウス *Gan* マウスにおいて SET 発現が上昇すること、ヒト胃がん患者において SET 発現の上昇が予後の悪さと相関関係を示すこと、SET 標的薬が胃がん細胞株に対して抗がん効果を示すこと等を報告した。本稿では、これまでに報告されている慢性炎症とがんの関係およびその分子機構、両者の抑制因子としての PP2A とその阻害タンパク質である SET について、最新の知見と共に紹介したい。

1. 慢性炎症

1) 慢性炎症と発がん

古くから慢性炎症とがんの間には密接な関係があることが知られてきた。これは、主に疫学的な調査から得られた知見であったが、近年では分子生物学的な研究からも多くの知見が得られており、慢性的な炎症反

応と発がん・がんの悪性化をつなぐ詳細な機構が明らかになってきた。現在、感染症を起因とするものも含めて、発生するがんの約 25% には慢性炎症が関与していると推定されており(1)、様々な臓器で慢性炎症とがんの関係性が指摘されている(2, 3) (表 1)。

特に消化器がんの発症については、慢性炎症の関与がよく知られている。例えば、慢性潰瘍性大腸炎やクローン病は、大腸がんのリスクを約 10 倍上昇させ(2)、ピロリ菌感染による慢性胃炎は、胃がんの発症リスクを約 75% も増加させる(4)。また、肝炎ウイルス感染による慢性肝炎は、肝臓がんの発症要因となり(5)、胃液による逆流性食道炎は、食道がんのリスクを約 30 倍にも増加させる(6)。さらに、膵炎により膵臓がんの発症リスクが約 15 倍も高くなる(7) など、慢性炎症は各臓器での発がんリスクを上昇させることが報告されている。

慢性炎症を起因とした発がんの多くにおいて、産生される炎症性サイトカインや細胞増殖因子が重要な役割を果たす(8)。免疫細胞や線維芽細胞、内皮細胞などの間質系細胞は、サイトカインの産生源であるとともに、自身もサイトカインによる曝露を受け、がん微小環境を構成するプレーヤーへと変化する。また、サイトカインは、直接細胞の形質転換やがんの悪性化を誘導する(9)。様々な炎症性サイトカインの中でも、tumor necrosis factor- α (TNF- α) と interleukin-6 (IL-6) は、特に発がんとの関係がよく理解されている。TNF- α は元々、高濃度で処置した際に腫瘍に対して抑制的に機能することからその名が付けられた(10)。この発見により、サイトカインによる炎症が、がん促進性に機能するという考えは長年認められなかった。しかしその後の研究から、TNF- α は活性酸素種 (ROS) や活性窒素種 (RNS) の発生を介して細胞に酸化ストレスを

キーワード：慢性炎症、発がん、消化管、PP2A、SET/I2PP2A

山口大学 共同獣医学部 獣医薬理学研究室 (〒753-8511 山口県山口市吉田 1677-1)

E-mail: t.ohama@yamaguchi-u.ac.jp 原稿受領日：2017 年 1 月 17 日、依頼原稿

Title: The role of protein phosphatase 2A in inflammation and cancer Author: Shuhei Enjoji, Takashi Ohama

表1 がんとの関連が報告されている慢性炎症と感染因子

慢性炎症	がん種	要因
慢性潰瘍性大腸炎, クローン病	大腸がん	
慢性気管支炎, 珪肺症	肺がん	シリカ, 喫煙等
歯肉炎, 虫歯	口腔がん, 舌がん	
逆流性食道炎	食道がん	胃液, アルコール等
皮膚炎	メラノーマ	紫外線等
硬化性疥癬	外陰部扁平上皮がん	
睪炎, 遺伝性睪炎	睪臓がん	アルコール, タバコ等
唾液腺炎	唾液腺がん	
石綿症	中皮腫	アスベスト
慢性炎症	がん種	感染因子
肝吸虫感染, 胆管炎	胆管がん, 大腸がん	肝吸虫, 胆汁等
慢性胆嚢炎	胆嚢がん	細菌, 胆石等
胃炎	胃がん	ピロリ菌等
AIDS	リンパ腫	HIV 等
慢性子宮頸部炎	子宮頸部がん	パピローマウイルス等
慢性肝炎	肝臓がん	B 型, C 型肝炎ウイルス
単核球症	バーキットリンパ腫	EB ウイルス
膀胱炎	膀胱がん	尿路病原細菌

与え, DNA を傷害することで発がんプロモーターとしても機能すること(11), 転移などのがんの進行を促進すること(12), TNF- α ノックアウトマウスでは皮膚がんの発生が抑制されること(13) などが報告され, 現在ではがん促進因子としての TNF- α の機能が受け入れられている.

IL-6 も, 発がんを促進する典型的な炎症性サイトカインの一つであり, がん細胞の増殖, 抗アポトーシスに重要な因子である. 健康なヒトや良性腫瘍患者に比べて, 悪性腫瘍患者(乳がん, 前立腺がん, 肺がん, 大腸がん, 肝臓がん)の血液中や腫瘍組織では, IL-6 の mRNA とタンパク質発現が上昇しており, 予後の指標としても期待されている(14). 分泌された IL-6 は, 細胞膜の受容体に結合し, JAK/STAT シグナル, MAPK シグナル, PI3K/Akt シグナル等の活性化を引き起こす(15). IL-6 は, ヘルパー T 細胞の一種である Th17 細胞の分化誘導に必須の因子であり, さらに制御性 T 細胞への分化を抑制することで炎症反応を維持・増強させる. IL-6 ノックアウトマウスでは, がんの発生頻度が顕著に減少することからも(16), 慢性炎症と発がんにおける IL-6 の重要性が示唆される. その他にも, TGF- β , IL-10, IFN- γ など多くのサイトカインが, 発がんを促進することが報告されている(17-20). また, サイトカインだけではなく, 成長因子やフリーラジカル, matrix metalloproteinase (MMP), プロスタグランジンなどの産生と蓄積も発がん促進性に機能する

(21, 22) (図 1).

金沢大学の大島正伸教授らが樹立した胃がん自然発症マウス *Gan* マウスは, 慢性炎症を起因とした発がんモデルとして極めて有用である. *Gan* マウスは, 胃粘膜上皮細胞マーカーであるサイトケラチン 19 (K19) のプロモーターを用いて, 胃粘膜上皮細胞特異的に Wnt シグナルを活性化した *K19-Wnt1* マウスと, PGE₂ の産生を亢進させた *K19-C2mE* マウスを交配させることで作製される. *K19-Wnt1* マウスの胃粘膜上皮では, Wnt/ β -catenin 経路の活性化が認められるが, 前がん病変が発生するまでに留まる. *K19-C2mE* マウスにおいても, PGE₂ 産生により慢性的な胃炎が認められるが, 過形成病変までしか進行しない. しかし, 両者を掛け合わせた *Gan* マウス (*K19-Wnt1/C2mE* マウス) では, 生後 20 週までに 100% の確率で胃がんを発症する(23). *Gan* マウスの胃がん発症はマクロファージが産生する TNF- α に依存しており(24), 胃がんの発生において細胞に増殖性の変異が起こるだけでは足りず, 微小環境としての炎症反応が重要であると考えられる. また, *K19-Wnt1* マウスにピロリ菌を感染させることで慢性炎症を引き起こすと胃がんの発症が誘起され(25), *Gan* マウスを無菌状態 (germ-free) で飼育すると胃がんの発症が有意に減少する(24) ことから, 単に炎症促進性のシグナルが亢進するだけではなく, 細菌叢などの外部刺激も重要であると考えられる.

炎症反応はがん促進性に機能することが明らかに

図1 慢性炎症と発がんの相関図

なっているが、実際に炎症を抑制することで抗がん効果を得ることができるのだろうか。有力な証拠として、非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) であるアスピリンの長期服用者は発がんリスクが低下することが知られている。アスピリンの服用者は大腸がんのリスクが40%~50%低下し、さらに肺がん、食道がん、胃がんを予防する可能性があるとされている(26, 27)。NSAIDsはアラキドン酸からプロスタグランジンを合成する酵素であるシクロオキシゲナーゼ (COX-1, 2) を阻害することで抗炎症効果を得ているが、抗がん効果は特に、炎症反応で誘導される COX-2 を阻害することに基づくと考えられている。また、プロピオン酸系 NSAIDs であるフルビプロフェンは、大腸がんにおいて転移を抑制する作用があることが確認されている(28)。しかし、これらの NSAIDs は服用により胃腸管障害などの副作用があり、日常的な使用には適していない。そのため、より特異的な作用を持つ薬剤の開発が行われているが、現在がんに対する予防・治療が目的で使用されているものは存在しない。がんの予防・治療薬としての抗炎症薬の開発が待たれる。

2) 炎症とがんの相互作用

炎症反応の進行により引き起こされる細胞増殖や細胞生存、細胞遊走の増加、血管新生の増強などのプロセスは、がんの発生・進行においても認められるものであり、炎症反応とがんの進行は共通のプロセスを介している。そのため、一概に炎症反応が発がん・進行を促進させているというわけではなく、単に変異を起こしたがん細胞において活性化するシグナルが炎症反応を誘導している可能性も考えられる。実際に Ras, Myc, RET などの多くのがん促進性タンパク質は、サ

イトカインやケモカイン (IL-6, IL-8, IL-1 β , CCL2, CCL20) の産生を増強するシグナルも活性化することが報告されている(29)。がん細胞の遺伝的な変異により、しばしば MAPK シグナル, PI3K/Akt シグナル, JAK/STAT シグナル, NF- κ B シグナルなどの活性化が観察され、細胞増殖、細胞生存、遊走や浸潤、免疫細胞の活性化などに多くの影響を与えるが、これらのシグナルは TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6 などの炎症性サイトカインによっても活性化され、炎症反応を増強する。がんの発生と進行には、外的な要因として炎症反応に代表される微小環境、内的な要因としてがん細胞自身の遺伝的な変異によるがん原遺伝子の活性化とがん抑制遺伝子の不活性化が重要であるが、両者には相互作用が存在すると考えられる。すなわち、炎症による遺伝子変異と、遺伝子変異による炎症の誘起が相互に影響し合うことで、がんの発症や悪性化に寄与していると考えられる。両者に共通のシグナルを阻害することで、効果的な抗がん作用が期待できる。

2. Protein phosphatase 2A (PP2A)

タンパク質のリン酸化と脱リン酸化は、細胞内のほぼすべてのシグナル伝達に用いられる翻訳後修飾であり、リン酸化を起こすキナーゼ (kinase) と脱リン酸化を起こすホスファターゼ (phosphatase) により可逆的に調節されている。がんをはじめとする多くの疾患において、キナーゼの過剰な活性化と、ホスファターゼの不活性化によるリン酸化の亢進が認められている。リン酸化の約98%はセリン・スレオニン残基に引き起こされ、その脱リン酸化はPPP (phosphoprotein phosphatase) ファミリー, PPM (metal-dependent

protein phosphatase) ファミリー, DxTxT ホスファターゼファミリーに分類されるセリン・スレオニンホスファターゼにより制御される。

PP2A は, PPP ファミリーのうち type2A protein phosphatase に属する進化的にも高く保存されたセリン・スレオニンホスファターゼであり, 細胞周期やアポトーシスをはじめとした広範な細胞内シグナルを制御する。PP2A は様々ながん促進シグナルを抑制する重要ながん抑制因子であり, 細胞のがん化には PP2A 活性の抑制が必須であることが報告されている (30)。多くのがんで認められる Ras の活性化変異は, MAPK や PI3K などの下流シグナルを活性化させるが, PP2A はこれら下流シグナルの ERK1/2, Akt を脱リン酸化することで不活性化する (31)。また, 大腸がんなどで多く見られる Wnt/ β -catenin シグナルの活性化においても, GSK3 β を脱リン酸化して活性化し, β -catenin の分解を促進することで Wnt/ β -catenin シグナルを抑制する (32)。さらに, がん促進性の転写因子である c-Myc は, PP2A に脱リン酸化されることでユビキチン・プロテアソーム系による分解が促進される (33)。アポトーシス経路においても, アポトーシス抑制性タンパク質である Bcl-2 を脱リン酸化することでその機能を阻害し (34), 反対にアポトーシス促進性のタンパク質である Bim や Bad に対しては, 脱リン酸化により活性や発現を上昇させることで細胞をアポトーシス誘導に導く (35, 36)。

PP2A はがん抑制因子としての機能だけではなく, 炎症性シグナルを阻害することで抗炎症因子として機能する。例えば, PP2A は TNF- α 処置により誘導される p38 MAPK などの MAPK シグナルや NF- κ B シグナルを阻害することで, MMP や IL-6, IL-8 などのサイトカインの産生を抑制する (37-39)。また, PP2A は LPS や IFN- γ により活性化される NF- κ B を直接脱リン酸化して抑制する (40) ことや, LPS 刺激により活性化される JNK の脱リン酸化を行うことで炎症反応を抑制する (41) こと, PP2A 阻害薬であるオカダ酸 (OA: okadaic acid) は, LPS 誘導性の IL-1 β 産生を増強することが報告されている (42)。さらに, 腎炎においては, PP2A は Akt の抑制を介して炎症反応を減弱させる (43) など, 炎症反応におけるサイトカインの産生を抑制することと, サイトカインにより活性化する細胞内シグナルを阻害することで, 炎症反応を効果的に抑制している。

炎症反応において主要な役割を果たす免疫系細胞の機能調節にも PP2A の役割が報告されている。PP2A は, 制御性 T 細胞の mTOR シグナル活性を抑制するこ

とで過剰な免疫反応を抑制している (44) ことや, エフェクター T 細胞の Akt のリン酸化を阻害して免疫機能を抑制する (45)。また, PP2A 阻害タンパク質の一つである CIP2A のノックアウトマウスでは免疫反応が抑制されており, リステリア感染に対する抵抗性が低下している (46) ことから, PP2A は免疫応答を抑制的に調節していると考えられる。

3. SET/I2PP2A

PP2A の活性を維持・上昇させることは, 生体の抗がん・抗炎症反応において極めて重要であり, 進行したがんや炎症では PP2A 活性が低下していることが多い。PP2A 活性の低下には, PP2A 自身の変異によるものもあるが, 多くの場合, CIP2A, PME-1, SET/I2PP2A 等の PP2A 阻害タンパク質の発現上昇などが原因になる。PP2A 阻害タンパク質は, PP2A に直接結合することでその活性を阻害し, 様々ながんにおいて発現の上昇や悪性度との相関が報告されている。炎症における PP2A 阻害タンパク質の役割についてはあまり研究が進んでいないが, その中でも SET は, 炎症反応における役割も報告されており (47, 48), 炎症とがんをつなぐ重要な因子であると考えられる。

SET は, 乳がん, 膵臓がん, 大腸がん, 慢性骨髄性白血病など多くのがん種で発現上昇が報告されている。また, SET は PP2A 活性を抑制することで, ERK, NF- κ B, STAT のリン酸化を促進してナチュラルキラー細胞の IFN- γ 産生を亢進させる (47) ことや, LPS 刺激によるマクロファージの炎症反応を増強させる役割も持つ (48)。このことは, 抗炎症作用が知られていたアポリポプロテイン E の模倣ペプチドが, SET に特異的に結合していることから明らかになった。このペプチドは, SET と結合することで PP2A との結合を阻害し, PP2A 活性を回復させる。このペプチドをもとに作製された SET 標的薬は, リンパ腫, 膵臓がん, 乳がんなどで PP2A 活性を回復させ, 抗がん効果を発揮することが報告されている (49)。さらに SET 阻害作用が知られている Fingolimod (FTY720) が PP2A を介して, 細胞傷害性 T 細胞の IL-2 と IFN- γ の産生を抑制することも報告されている (50)。我々も, 当シンポジウムにおいて, 炎症依存的な胃癌自然発症マウス *Gan* マウスにおいて SET 発現が上昇すること, ヒト胃癌患者において SET 発現の上昇が予後の悪さと相関関係を示すこと, SET 標的薬が胃癌細胞株に対して抗がん効果を示すこと等を報告した。がんで SET 発現が上昇する詳細な分子機構は明らかになっていないが, 近年, 転写因子である runt-related transcription factor 1

図2 SET を介した炎症反応増強メカニズム仮説

(RUNX1) が SET 発現に関与することが報告された (51). RUNX1 は, 造血系細胞の分化に必須の因子である (52) が, マクロファージにおいて RUNX1 の活性化は IL-1 β と IL-6 産生を上昇させ, 炎症反応を増強することが知られている (53). さらに, RUNX1 は STAT6 により直接活性化されることが明らかになっている (54). STAT6 は IL-4 や IL-13 により活性化される (55) ことから, 炎症性刺激により活性化された RUNX1 が SET の発現を上昇させることで PP2A を阻害し, さらに炎症反応を増強させるメカニズムが考えられる (図 2). 実際, SET と RUNX1 の mRNA 発現量は, 野生型マウスや *K19-Wnt1* マウスと比較して, 慢性的な胃炎が認められる *K19-C2mE* マウスと胃がんを発症した *Gan* マウスで上昇している (*Gan* マウス遺伝子データベース <http://www.ganmouse.net>). 以上のように, PP2A/SET は, 抗がん・抗炎症という 2 つの視点から, 抗がん戦略における有望な標的であると考えられる。

著者の利益相反: 開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Balkwill FR, et al. *Semin Cancer Biol.* 2012;22:33-40.
- 2) Coussens LM, et al. *Nature.* 2002;420:860-867.
- 3) Multhoff G, et al. *Front Immunol.* 2012. doi: org/10.3389/fimmu.2011.00098.
- 4) Eiró N, et al. *World J Gastrointest Surg.* 2012;4:62-72.
- 5) Salem ML, et al. *J Adv Res.* 2016;7:243-253.
- 6) Wild CP, et al. *Nat Rev Cancer.* 2003;3:676-684.
- 7) Lowenfels AB, et al. *N Engl J Med.* 1993;328:1433-1437.
- 8) Dvorak HF. *N Engl J Med.* 1986;315:1650-1659.
- 9) Zamarron BF, et al. *Int J Biol Sci.* 2011;7:651-658.
- 10) Havell EA, et al. *J Exp Med.* 1988;167:1067-1085.
- 11) Balkwill F. *Cancer Metastasis Rev.* 2006;25:409-416.
- 12) Hong H, et al. *BMC Cancer.* 2016;16:240.
- 13) Moore RJ, et al. *Nat Med.* 1999;5:828-831.
- 14) Heikkilä K, et al. *Eur J Cancer.* 2006;44:937-945.
- 15) Kishimoto T. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:1-21.
- 16) Grivennikov S, et al. *Cancer Cell.* 2009;15:103-113.
- 17) Feagins LA. *Inflamm Bowel Dis.* 2010;16:1963-1968.
- 18) Lech-Maranda E, et al. *Eur Cytokine Netw.* 2006;17:60-66.
- 19) Osawa E, et al. *Int J Cancer.* 2006;118:2232-2236.
- 20) Backlund MG, et al. *Oncology.* 2005;69:28-32.
- 21) Grivennikov SI, et al. *Cell.* 2010;140:883-899.
- 22) Hussain SP, et al. *Int J Cancer.* 2007;121:2373-2380.
- 23) Oshima H, et al. *Gastroenterology.* 2006;131:1086-1095.
- 24) Oshima H, et al. *Gastroenterology.* 2011;140:596-607.
- 25) Oguma K, et al. *Future Oncol.* 2010;6:515-526.
- 26) Baron JA, et al. *Annu Rev Med.* 2000;51:511-523.
- 27) Garcia-Rodríguez LA, et al. *Epidemiology.* 2001;12:88-93.
- 28) Mamytbeková A, et al. *Neoplasma.* 1986;33:417-421.
- 29) Mantovani A, et al. *Nature.* 2008;454:436-444.
- 30) Hahn WC, et al. *Mol Cell Biol.* 2002;22:2111-2123.
- 31) Millward TA, et al. *Trends Biochem Sci.* 1999;24:186-191.
- 32) Jeon K-I, et al. *FEBS J.* 2010;277:5026-5039.
- 33) Yeh E, et al. *Nat Cell Biol.* 2004;6:308-318.
- 34) Deng X, et al. *Blood.* 2009;113:422-428.
- 35) Puthalakath H, et al. *Cell.* 2007;129:1337-1349.
- 36) Chiang C-W, et al. *Mol Cell Biol.* 2003;23:6350-6362.
- 37) Rahman MM, et al. *Sci Rep.* 2015;5:10063.
- 38) Cornell TT, et al. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2009;296:L849-L856.
- 39) Geraghty P, et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190:1229-1242.
- 40) Hsieh C-Y, et al. *J Cell Mol Med.* 2014;18:1278-1289.
- 41) Shanley TP, et al. *J Immunol.* 2001;166:966-972.
- 42) Boudreau RTM, et al. *J Biol Chem.* 2002;277:5322-5329.
- 43) Zhang Y, et al. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2016;310:F128-F134.
- 44) Apostolidis SA, et al. *Nat Immunol.* 2016;17:556-564.
- 45) Eil R, et al. *Nature.* 2016;537:539-543.
- 46) Côme C, et al. *PLoS One.* 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0152996.
- 47) Trotta R, et al. *J Exp Med.* 2007;204:2397-2405.
- 48) Christensen DJ, et al. *J Immunol.* 2011;186:2535-2542.
- 49) Fujiwara N, et al. *J Vet Med Sci.* 2013;75:349-354.
- 50) Ottenlinger F, et al. *Eur J Immunol.* 2016;46:941-951.
- 51) Pippa R, et al. *Oncotarget.* 2016. doi: 10.18632/oncotarget.9840.
- 52) Okuda T, et al. *Cell.* 1996;84:321-330.
- 53) Luo M-C, et al. *J Biol Chem.* 2016;291:22011-22020.
- 54) O'Shea JJ, et al. *ResearchGate.* 2011;11:239-250.
- 55) Wurster AL, et al. *Oncogene.* 2000;19:2577-2584.