

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09575

研究課題名(和文)呼吸器疾患におけるHippoシグナル伝達の役割の検討

研究課題名(英文)A role of Hippo pathway in pulmonary diseases

研究代表者

三谷 明久(Mitani, Akihisa)

東京大学・保健・健康推進本部・助教

研究者番号：90739137

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、肺発生の異なるステージにて、TAZとそのホモログのYAPがそれぞれ重要な役割を担っていることを、肺上皮特異的なコンディショナルKOマウスを用いて示した。TAZコンディショナルKOマウスは、肺気腫様の表現型を示した。また、肺発生において、Shh-Fgf10シグナルがYAPの調節を受けることを見出した。

免疫組織染色によって、YAPコンディショナルKO肺における、Shhの発現低下およびFgf10の発現の増加を示した。他、器官培養により、YAPコンディショナルKO肺の表現型が、Shh投与により改善することを示した。また、細胞実験によりYAPがShhの発現を調節することも示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性閉塞性肺疾患(COPD)は、気道の慢性炎症と気道閉塞を主症状とする難治性の疾患である。気管支拡張薬を中心とした対照的な治療が中心であり、新しい治療ターゲットの発見が望まれる。

近年、COPDの病因として、肺発生の異常が注目を集めるようになってきた。我々はこれまでにTAZノックアウトマウスが、肺気腫様の表現型を持つことを示したが、本研究によって肺上皮特異的なコンディショナルKOマウスでも同様の表現型となることを示した。また、TAZやYAPの肺発生における役割についてより詳細な解析を行った。これらの発見は、肺発生やCOPDの病態の理解をより深めるものである。

研究成果の概要(英文)：We showed that TAZ and its homolog YAP are required in the different stages of lung development, using lung epithelial specific conditional knockout mice. TAZ conditional knockout mice had emphysema-like lung phenotype. We also revealed that Shh-Fgf10 pathway is regulated by YAP in lung development.

Immunohistochemistry showed the decreased expression of Shh and the increased expression of Fgf10 in YAP conditional knockout lungs, and organ culture revealed the administration of Shh improved their phenotype. In vitro studies also showed that the expression of Shh was stimulated by YAP.

研究分野：呼吸器科

キーワード：Hippo pathway TAZ YAP 肺発生 COPD

1. 研究開始当初の背景

転写コアクチベーターTAZ およびそのホモログである YAP は、Hippo pathway の重要なエフェクターである。我々はこれまでの研究にて、TAZ 欠損マウスが、肺胞期の発生異常をきたし、肺気腫様の表現型を呈することを示した。一方、YAP 欠損マウスは胎生致死であるが、Shh プロモーターを用いたコンディショナル KO マウスにて、気管支の分岐異常が認められることが報告されている。

2. 研究の目的

この研究では、TAZ と YAP の上皮特異的 KO マウスを用いて、肺発生におけるこれらの遺伝子を比較することを目的とする。

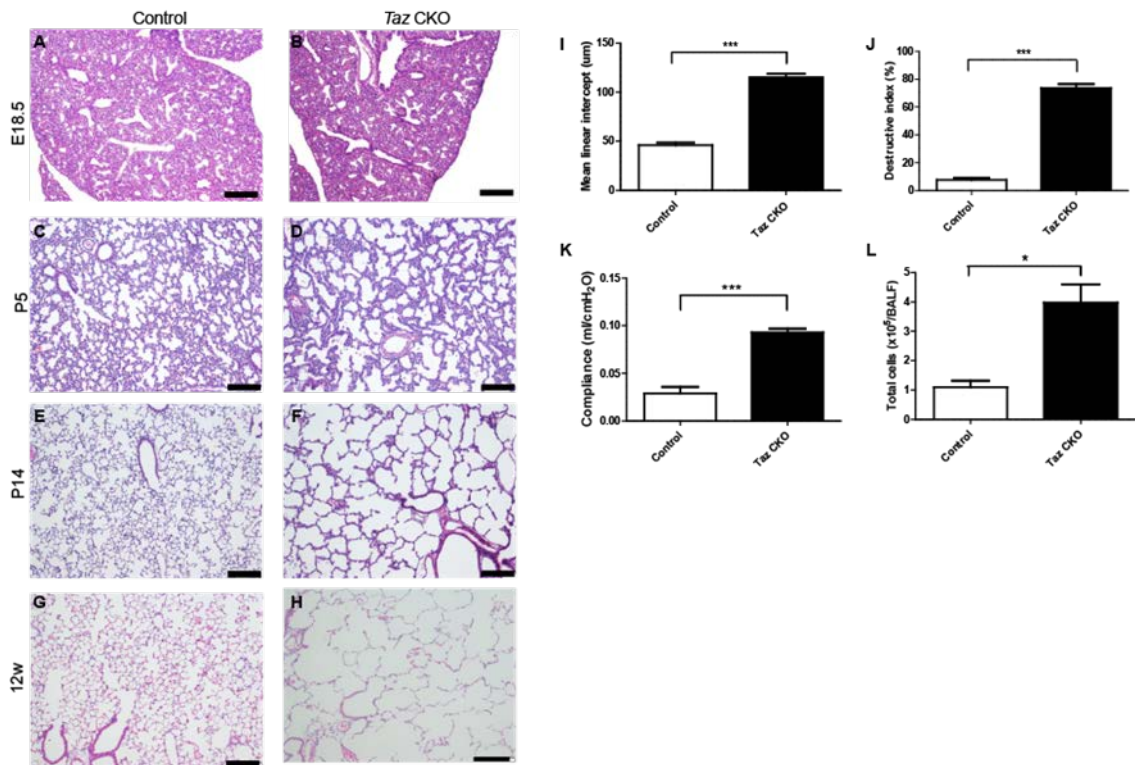
3. 研究の方法

SPC プロモーター下に Cre リコンビナーゼを発現させる SPC-Cre マウスを、TAZ-flox マウスおよび YAP-flox マウスと掛け合わせるにより、TAZ と YAP の肺上皮特異的コンディショナル KO マウスを作成した。マウス肺は、病理学的、生理学的に解析した。

4. 研究成果

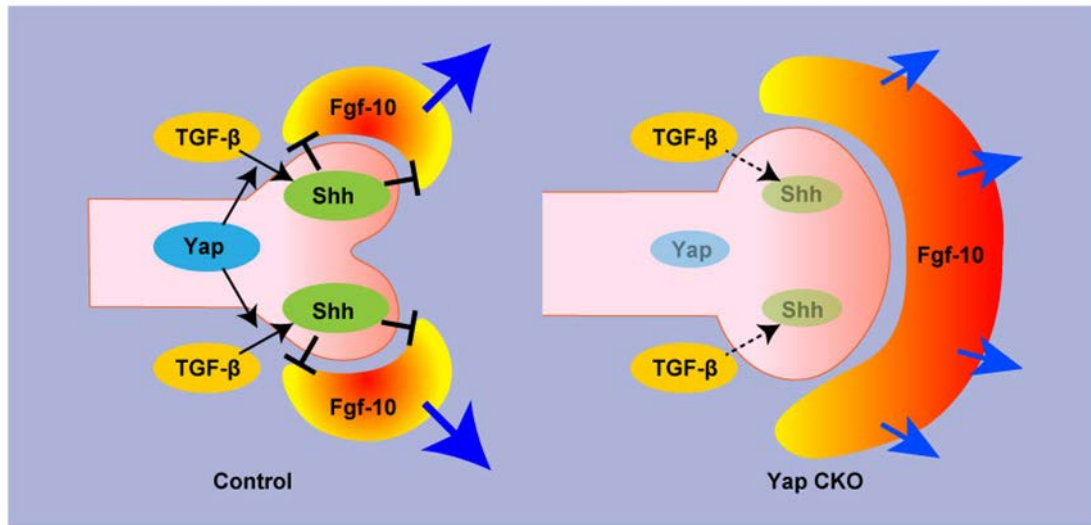
(1) 肺上皮における TAZ の発現は、肺胞形成に必須である。

肺上皮特異的 TAZ コンディショナル KO マウスは、TAZ 欠損マウスと同様に、生後の肺胞期から、肺胞形成の異常をきたした。12 週のマウス肺は、病理学的に気腔の開大を認め、BALF 中の炎症細胞が増加していた。生理学的検査では、コンプライアンスの増加を認めた。これらは、ヒトの肺気腫に類似した表現型であり、このマウスは、新たな COPD モデルマウスと位置付けることができる。



(4) YAP は Shh の発現を調節することで気管分岐に寄与する。

Shh と Fgf10 のフィードバックループは、気管の分岐に重要な役割を担う。免疫組織染色によって、YAP コンディショナル KO 肺における、Shh の発現低下および Fgf10 の発現の増加が示された。また、A549 細胞などを用いた細胞実験により YAP を過剰発現、ノックダウンし、YAP が Shh の発現を調節することも示した。さらに、器官培養により、YAP コンディショナル KO 肺の表現型が、Shh 投与により改善することを示した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hideaki Isago, Akihisa Mitani, Yu Mikami, Masafumi Horie, Hirokazu Urushiyama, Ryuji Hamamoto, Yasuhiro Terasaki, Takahide Nagase	4. 巻 62(2)
2. 論文標題 Epithelial Expression of YAP and TAZ Is Sequentially Required in Lung Development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Respir Cell Mol Biol .	6. 最初と最後の頁 256-266
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1165/rcmb.2019-02180C	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 H. Isago, A. Mitani, Y. Mikami, H. Urushiyama, H. Tamiya, S. Noguchi, A. Saito, T. Jo, Y. Yamauchi, G. Tanaka, and T. Nagase
2. 発表標題 Hippo pathway effectors Taz and Yap functioning at different stages of lung development
3. 学会等名 APSR 2017 Congress（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	漆山 博和 (Urushiyama Hirokazu) (20725303)	東京大学・医学部附属病院・助教 (12601)	
研究分担者	寺崎 泰弘 (Terasaki Yasuhiro) (50332870)	日本医科大学・医学部・准教授 (32666)	
研究分担者	田中 剛 (Tanaka Goh) (50456133)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	

6. 研究組織 (つづき)

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	田宮 浩之 (Tamiya Hiroyuki) (50722071)	東京大学・医学部附属病院・助教 (12601)	