

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03982

研究課題名(和文)細胞の張力を制御するHippo-YAPシグナル伝達系の肝形成における役割の解明

研究課題名(英文)Analysis of Hippo-YAP signaling pathway that regulates cell tension in liver formation

研究代表者

仁科 博史(Nishina, Hiroshi)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授

研究者番号：60212122

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：肝臓を含む器官は、細胞増殖を介して、適切サイズに成長し、維持される。国内外を通じて、器官のサイズと品質を制御する分子機構の解明は重要課題である。我々はメダカ変異体の単離と解析から転写共役因子YAPが細胞張力を介して、3D器官形成に必須の役割を果たしていること、また、イヌ腎上皮細胞MDCKに活性化型YAPを発現させると、隣接細胞に圧力が誘導され、YAP発現細胞が頂端面に押し出されることを明らかにしている。本研究では、1)マウス肝臓においてはYAP依存的に障害肝細胞が排除されること、2)イヌ腎上皮細胞MDCKにおけるYAP依存的細胞排除にはプロスタグランジンE2が必須の役割を果たすことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

器官のサイズ制御と品質管理の分子機構の解明は、国内外を通じて重要で興味深い研究課題である。がん原遺伝子産物YAPが、細胞数の調節を介して器官サイズ制御に関与するという発見は多くの研究者に驚きをもって迎えられた。我々はYAPが細胞張力の調節を介して3D器官形成に関与することを見出した。また、異常細胞の排除の調節を介して器官の品質管理の制御にも関与することを示唆した。以上の研究成果は、器官のサイズと品質を制御する分子機構の一端を解明した学術的意義がある。また、再生医学の基盤研究として社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Organs including the liver are grown and maintained at an appropriate size through cell proliferation. Elucidation of the molecular mechanism that controls the size and quality of organs is an important issue both in Japan and abroad. From the isolation and analysis of medaka mutants, we showed that the transcriptional co-activator YAP plays an essential role in 3D organogenesis via cell tension, and that activated YAP-expressing canine kidney epithelial cells (MDCK) induces pressure on adjacent cells and extrusion of YAP-expressing cells to the apical surface. In this study, we found that 1) YAP-dependent elimination of impaired hepatocytes in mouse livers, and 2) an essential role of prostaglandin E2 in YAP-dependent MDCK elimination.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：肝臓 細胞張力 MDCK細胞 YAP サイズ 品質管理

1. 研究開始当初の背景

肝臓は、内胚葉由来の前腸の特定領域に幹細胞である肝芽細胞が発生し、細胞増殖と分化を経て、一定サイズの三次元(3D)器官に成長する。国内外を通じて、肝サイズや3D構造を制御する分子機構の解明が重要課題となっている。我々は、これら問題を解決する目的で、小型魚類メダカを用いた大規模な肝形成不全変異体のスクリーニングを行った。その結果、“上皮を含む組織が扁平になるヒラメ(*hirame*)”変異体が単離された(*Mech Dev* 2004)。本変異体の解析から、転写共役因子 YAP が細胞張力を介して 3D 器官形成に必須の役割を果たしていること(*Nature* 2015)が明らかになった。また、国外の研究グループは、マウス肝臓で YAP を過剰発現させたり、上流の Hippo シグナルを破綻させると、肝細胞は増殖し、肝臓は肥大し、肝細胞がんが発症することを報告した(Dong et al. *Cell* 2007; Lu et al. *PNAS* 2010)。一方、我々は、イヌ腎上皮細胞 MDCK に YAP を過剰発現させると、隣接細胞に圧力が誘導され、YAP 発現細胞が頂端面に押し出されること(細胞排除)を見出した(*Scientific Reports* 2016)。すなわち、Hippo-YAP シグナルは細胞増殖や細胞張力を介して、肝臓のサイズや 3D 構造を制御すること、異常細胞の排除を介して、品質管理の制御にも関与することが示唆された。しかしながら、Hippo-YAP シグナルを介した *in vivo* における細胞排除現象や、細胞張力を介した細胞排除の分子機構については未解明のままであった。

2. 研究の目的

本研究では、細胞張力を介する MDCK 細胞排除と同様の現象がマウス肝臓(*in vivo*)でも観察されるか、また、MDCK 細胞排除を物理的力シグナルを誘導する因子の同定とそのシグナル経路の解明を目的にした。

3. 研究の方法

方法 1: 活性型 YAP をコードする環状プラスミドを作製後、Hydrodynamic tail vein injection (HTVi) という水圧を利用した分子導入法を用いて、本プラスミドを中心静脈域付近の肝細胞内にモザイク状に導入した。活性型 YAP が導入された肝細胞の動態を追跡した。

方法 2: 既に作製済みの活性型 YAP 発現 MDCK 細胞または親株 MDCK 細胞に、標的既知の化合物ライブラリーを添加し、細胞排除を阻害する薬剤の同定を行なった。その後、同定した薬剤の特性を考え、薬理実験や生化学実験を行った。

4

. 研究成果

肝臓を含む器官は、細胞増殖を介して、適切サイズに成長し、維持される。国内外を通じて、器官のサイズと品質を制御する分子機構の解明は重要課題である。我々はメダカ変異体の単離と解析から転写共役因子 YAP が細胞張力を介して、3D 器官形成に必須の役割を果たしていること、また、イヌ腎上皮細胞 MDCK に活性型 YAP を発現させると、隣接細胞に圧力が誘導され、YAP 発現細胞が頂端面に押し出されることを明らかにしている。本研究では、1) マウス肝臓においては YAP 依存的に障害肝細胞が排除されること(*Nature Communications* 2017; *Cancers* 2018)、2) イヌ腎上皮細胞 MDCK における YAP 依存的細胞排

除にはプロスタグランジンE2が必須の役割を果たすこと (*Genes to Cells* 2020)、を見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 16件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Ishihara Erika, Nagaoka Yuya, Okuno Toshiaki, Kofuji Satoshi, Ishigami Yuasa Mari, Kagechika Hiroyuki, Kamimura Kenya, Terai Shuji, Yokomizo Takehiko, Sugimoto Yukihiko, Fujita Yasuyuki, Suzuki Akira, Nishina Hiroshi | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 Prostaglandin E ₂ and its receptor EP2 trigger signaling that contributes to YAP mediated cell competition | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Genes to Cells | 6. 最初と最後の頁 197 ~ 214 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12750 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Omori Hirofumi, Nishio Miki, Masuda Muneyuki, Miyachi Yosuke, Ueda Fumihito, Nakano Takafumi, Sato Kuniaki, Mimori Koshi, Taguchi Kenichi, Hikasa Hiroki, Nishina Hiroshi, Tashiro Hironori, Kiyono Tohru, Mak Tak Wah, Nakao Kazuwa, Nakagawa Takashi, Maehama Tomohiko, Suzuki Akira | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 YAP1 is a potent driver of the onset and progression of oral squamous cell carcinoma | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Science Advances | 6. 最初と最後の頁 3324 ~ 3324 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aay3324 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Kamimura Kenya, Yokoo Takeshi, Abe Hiroyuki, Sakai Norihiro, Nagoya Takuro, Kobayashi Yuji, Ohtsuka Masato, Miura Hiromi, Sakamaki Akira, Kamimura Hiroteru, Miyamura Norio, Nishina Hiroshi, Terai Shuji | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Effect of Diphtheria Toxin-Based Gene Therapy for Hepatocellular Carcinoma | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Cancers | 6. 最初と最後の頁 472 ~ 472 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12020472 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------------|
| 1. 著者名 Kodaka Manami, Mao Fengju, Arimoto-Matsuzaki Kyoko, Kitamura Masami, Xu Xiaoyin, Yang Zeyu, Nakagawa Kentaro, Maruyama Junichi, Ishii Kana, Akazawa Chihiro, Oyaizu Takuya, Yamamoto Naoki, Ishigami-Yuasa Mari, Tsuamoto Nozomi, Ito Shigeru, Kagechika Hiroyuki, Nishina Hiroshi, Hata Yutaka | 4. 巻 15 |
| 2. 論文標題 Characterization of a novel compound that promotes myogenesis via Akt and transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (TAZ) in mouse C2C12 cells | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 PLOS ONE | 6. 最初と最後の頁 0231265 ~ 0231265 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0231265 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Nishio Miki, Miyachi Yousuke, Otani Junji, Tane Shoji, Omori Hirofumi, Ueda Fumihito, Togashi Hideru, Sasaki Takehiko, Mak Tak Wah, Nakao Kazuwa, Fujita Yasuyuki, Nishina Hiroshi, Maehama Tomohiko, Suzuki Akira | 4. 巻 33 |
| 2. 論文標題 Hippo pathway controls cell adhesion and context dependent cell competition to influence skin engraftment efficiency | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The FASEB Journal | 6. 最初と最後の頁 5548 ~ 5560 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201802005R | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Goto Hiroki, Nishio Miki, To Yoko, Oishi Tatsuya, Miyachi Yosuke, Maehama Tomohiko, Nishina Hiroshi, Akiyama Haruhiko, Mak Tak Wah, Makii Yuma, Saito Taku, Yasoda Akihiro, Tsumaki Noriyuki, Suzuki Akira | 4. 巻 145 |
| 2. 論文標題 Loss of Mob1a/b in mice results in chondrodysplasia due to YAP1/TAZ-TEAD-dependent repression of SOX9 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Development | 6. 最初と最後の頁 159244 ~ 159244 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.159244 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Ishihara Erika, Nishina Hiroshi | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 The Hippo-YAP Pathway Regulates 3D Organ Formation and Homeostasis | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Cancers | 6. 最初と最後の頁 122 ~ 122 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers10040122 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Miyamura Norio, Nishina Hiroshi | 4. 巻 17 |
| 2. 論文標題 YAP regulates liver size and function | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Cell Cycle | 6. 最初と最後の頁 267 ~ 268 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15384101.2017.1407390 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 Miyamura Norio, Hata Shoji, Itoh Tohru, Tanaka Minoru, Nishio Miki, Itoh Michiko, Ogawa Yoshihiro, Terai Shuji, Sakaida Isao, Suzuki Akira, Miyajima Atsushi, Nishina Hiroshi | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Erratum: YAP determines the cell fate of injured mouse hepatocytes in vivo | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 16017 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms16146 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Yamasaki Tokiwa, Deki-Arima Norie, Kaneko Asahito, Miyamura Norio, Iwatsuki Mamiko, Matsuoka Masato, Fujimori-Tonou Noriko, Okamoto-Uchida Yoshimi, Hirayama Jun, Marth Jamey D., Yamanashi Yuji, Kawasaki Hiroshi, Yamanaka Koji, Penninger Josef M., Shibata Shigenobu, Nishina Hiroshi | 4. 巻 7 |
| 2. 論文標題 Age-dependent motor dysfunction due to neuron-specific disruption of stress-activated protein kinase MKK7 | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 7348 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-07845-x | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Matsudaira Tatsuyuki, Mukai Kojiro, Noguchi Taishin, Hasegawa Junya, Hatta Tomohisa, Iemura Shun-ichiro, Natsume Tohru, Miyamura Norio, Nishina Hiroshi, Nakayama Jun, Semba Kentaro, Tomita Takuya, Murata Shigeo, Arai Hiroyuki, Taguchi Tomohiko | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Endosomal phosphatidylserine is critical for the YAP signalling pathway in proliferating cells | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 1246 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-017-01255-3 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Otsubo K, Goto H, Nishio M, Kawamura K, Yanagi S, Nishie W, Sasaki T, Maehama T, Nishina H, Mimori K, Nakano T, Shimizu H, Mak T W, Nakao K, Nakanishi Y, Suzuki A | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 MOB1-YAP1/TAZ-NKX2.1 axis controls bronchioalveolar cell differentiation, adhesion and tumour formation | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Oncogene | 6. 最初と最後の頁 4201 ~ 4211 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/onc.2017.58 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Mori Seiichiro, Takeuchi Takamasa, Ishii Yoshiyuki, Yugawa Takashi, Kiyono Tohru, Nishina Hiroshi, Kukimoto Iwao | 4. 巻 91 |
| 2. 論文標題 Human Papillomavirus 16 E6 Upregulates APOBEC3B via the TEAD Transcription Factor | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Virology | 6. 最初と最後の頁 e02413 ~ 16 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.02413-16 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Negishi Jun, Omori Yuka, Shindo Mami, Takanashi Hayate, Musha Shiori, Nagayama Suminori, Hirayama Jun, Nishina Hiroshi, Nakakura Takashi, Mogi Chihiro, Sato Koichi, Okajima Fumikazu, Mochimaru Yuta, Tomura Hideaki | 4. 巻 37 |
| 2. 論文標題 Manganese and cobalt activate zebrafish ovarian cancer G-protein-coupled receptor 1 but not GPR4 | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Receptors and Signal Transduction | 6. 最初と最後の頁 401 ~ 408 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10799893.2017.1298130 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Maruyama Junichi, Inami Kazutoshi, Michishita Fumiyoshi, Jiang Xinliang, Iwasa Hiroaki, Nakagawa Kentaro, Ishigami-Yuasa Mari, Kagechika Hiroyuki, Miyamura Norio, Hirayama Jun, Nishina Hiroshi, Nogawa Daichi, Yamamoto Kouhei, Hata Yutaka | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 Novel YAP1 Activator, Identified by Transcription-Based Functional Screen, Limits Multiple Myeloma Growth | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Molecular Cancer Research | 6. 最初と最後の頁 197 ~ 211 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1541-7786.MCR-17-0382 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 Asaoka Yoichi、Nishina Hiroshi、Furutani-Seiki Makoto | 4. 巻 59 |
| 2. 論文標題 YAP is essential for 3D organogenesis withstanding gravity | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation | 6. 最初と最後の頁 52~58 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12338 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

[学会発表] 計11件(うち招待講演 10件/うち国際学会 4件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Hiroshi Nishina |
| 2. 発表標題 The Hippo-YAP Pathway Regulates liver size and homeostasis |
| 3. 学会等名 The Cold Spring Harbor Asia conference on Liver, Biology, Diseases & Cancer (招待講演)(国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名 仁科博史 |
| 2. 発表標題 肝臓の形成と維持機構 |
| 3. 学会等名 市原明先生追悼シンポジウム(招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 仁科博史 |
| 2. 発表標題 脊椎動物の3D器官形成と維持 |
| 3. 学会等名 AMED老化JP主催シンポジウム(招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名 仁科 博史 |
| 2. 発表標題 脊椎動物の3D器官形成と維持 |
| 3. 学会等名 国立医薬品食品衛生研究所 (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-------------------------------|
| 1. 発表者名 仁科 博史 |
| 2. 発表標題 高次神経活動を制御するJNKシグナル |
| 3. 学会等名 第92回日本生化学大会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hiroshi Nishina |
| 2. 発表標題 YAP acts as a stress sensor that induces elimination of injured hepatocytes |
| 3. 学会等名 FASEB Fundamental Biology and Pathophysiology of the Liver (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hiroshi Nishina |
| 2. 発表標題 Active Yes-associated protein (YAP) induces mammalian cell extrusion in vitro and in vivo |
| 3. 学会等名 9th Xiamen Winter Symposium, Xiamen, China (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 仁科博史 |
| 2. 発表標題 脊椎動物の3D器官構築と維持 |
| 3. 学会等名 第29回加藤記念研究助成特別講演（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名 仁科博史 |
| 2. 発表標題 異常肝細胞排除による品質管理機構の解明 |
| 3. 学会等名 第25回肝細胞研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Hiroshi Nishina |
| 2. 発表標題 The Hippo-YAP pathway regulates 3D liver formation and homeostasis |
| 3. 学会等名 86th LGS seminar（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hiroshi Nishina |
| 2. 発表標題 YAP determines the cell fate of injured mouse hepatocytes in vivo |
| 3. 学会等名 The 2017 Cold Spring Harboe Asia Conference（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Norio Miyamura, Hiroshi NISHINA et al | 4. 発行年 2028年 |
| 2. 出版社 Academic Press | 5. 総ページ数 382 |
| 3. 書名 Stem Cells and Cancer in Hepatology | |

〔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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|