

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390018

研究課題名(和文) マウスやメダカを用いた肝発生・再生および肝病態シグナルネットワークの解明

研究課題名(英文) Analysis of signaling pathways involved in liver development, regeneration and disease using mice and medaka

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) 14,300,000 円、(間接経費) 4,290,000 円

研究成果の概要(和文)：JNKシグナルは肝発生に必須であり、Hippoシグナルは肝臓のサイズを制御する。興味深いことに、我々は両者がクロストークすることを見出した。また興味深いことに、この過程には「細胞競合」という細胞の品質管理機構であるが関与している可能性を見出した。肝疾患を細胞レベルの品質管理という観点から治療する戦略の動物モデルとして、また、肝細胞がんの前駆/幹細胞を同定可能な実験系として期待される。

研究成果の概要(英文)：JNK signaling pathway is essential for liver development and Hippo signaling pathway regulates liver size. Interestingly, we found that there is a cross talk between JNK and Hippo signaling pathways. Furthermore, we found that active YAP downstream Hippo signal could form hepatocellular carcinoma and induce cell competition. These results indicate that the Hippo-YAP pathway acts as a stress sensor to eliminate unfit cells in order to safeguard organ size and protect against tumorigenesis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学

キーワード：肝臓 シグナル伝達 モデル生物 JNK Hippo 肝細胞がん 細胞競合 再生

1. 研究開始当初の背景

肝発生に必須な SAPK/JNK シグナル系が障害肝の再生シグナルとしても機能するのか、また、肝臓サイズを制御する Hippo シグナル系とのクロストークが存在するかが注目されていたが、その実体は不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、クロストークする“細胞の生死を制御する SAPK/JNK シグナル系”と“器官のサイズを制御する Hippo シグナル系”がマウスの肝再生や肝病態(繊維化や癌)に与える影響の解析に加え、既に単離済みの肝形成・肝機能不全メダカ変異体の解析を行い、胆汁の分泌、吸収栄養分の濾過と解毒、糖の貯蔵と血糖の調節などを行う必須の器官でありながら、未だ不明の点の多い肝発生・肝再生および肝疾患発症に関わるシグナルネットワークの解明を目的とした。

3. 研究の方法

肝臓での安定な発現を期待して、アルブミンプロモーターの下流に、メダカと保存性の高いヒトの野生型および 5SA 変異 YAP をコードする cDNA を挿入したベクターを利用した。hydrodynamic tail vein injection (HTVi) 法によって、4～8 週令のマウスに、上記発現ベクターを導入した。導入後、7 日以内の肝臓の様子と、3～6 ヶ月の肝臓に肝癌が形成されているか否かを検討した。

4. 研究成果

SAPK/JNK シグナル系と Hippo シグナル系がクロストークすることを見出した。また、圧力を利用したマウス尾静脈からの遺伝子導入法「HTVi 法」を用いて、Hippo シグナル系を破綻させた新たな肝病態モデルマウスを作出した。肝臓のサイズを制御する Hippo シグナル経路の標的分子 YAP を活性化すると、肝細胞がんが誘導されることを見出した。Hippo シグナル系が肝臓のサイズの制御を通じて、がん抑制に関わっていることを示す結果である。また興味深いことに、この過程には「細胞競合」という細胞の品質管理機構であるが関与している可能性を見出した。肝疾患を細胞レベルの品質管理という観点から治療する戦略の動物モデルとして、また、肝細胞がんの前駆/幹細胞を同定可能な実験系として期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1. Norie Arima, Yoshimi Uchida, Ruoxing Yu, Koh Nakayama and Hiroshi Nishina (2013)

Acetylcholine Receptors Regulate Gene Expression that Is Essential for Primitive Streak Formation in Murine Embryoid Bodies. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 435, 447-453.

2. Menno J. Oudhoff, Spencer A. Freeman, Amber L. Couzens, Frann Antignano, Ekaterina Kuznetsova, Paul H. Min, Jeffrey P. Northrop, Bernhard Lehnertz, Dalia Barsyte-Lovejoy, Masoud Vedadi, Cheryl H. Arrowsmith, Hiroshi Nishina, Michael R. Gold, Fabio M.V. Rossi, Anne-Claude Gingras, and Colby Zaph (2013) Control of the Hippo pathway by Set7-dependent methylation of Yap. *Dev. Cell* 26, 188-194. □□
3. Yoichi Asaoka, Shuji Terai, Isao Sakaida and Hiroshi Nishina (2013) [review] The expanding role of fish models in understanding non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Disease Models & Mechanisms* 6, 905-914.

和文

1. 浅岡洋一：初期発生期における JNK シグナル伝達経路の多様な生理的役割：比較生理生化学 30: 59-67 (2013)
2. 山崎世和、仁科博史：脳における SAPK/JNK シグナルの役割：CLINICAL NEUROSCIENCE；中外医学社 31: 654-656 (2013)

[学会発表](計 21 件)

国際学会発表

1. Shoji Hata, Yutaka Hata and Hiroshi Nishina; A novel acetylation cycle of YAP is triggered to S<sub>N</sub>2 alkylating agentnts [Keystone Symposia on The Hippo Tumor Suppressor Network, Monterey USA, May 19-23, 2013]
2. Norio Miyamura and Hiroshi Nishina; A

- novel mouse model of oncogene yap-dependent abnormal hepatocyte disappearance [Keystone Symposia on The Hippo Tumor Suppressor Network, Monterey USA, May 19-23, 2013]
3. Menno J. Oudhoff et al.; Control of the Hippo pathway by Set7-dependent methylation of Yap [Keystone Symposia on The Hippo Tumor Suppressor Network, Monterey USA, May 19-23, 2013]
  4. Yoichi Asaoka et al.; Hippo signaling pathway-mediated three dimensional construction of the epithelial tubular structures. [1<sup>st</sup> International Meeting for Epithelial Tubulology, Sapporo, June 22-23, 2013]
  5. Hiroshi Nishina ; A novel mouse model of oncogene yap-dependent abnormal hepatocyte disappearance. [The 20th Annual Meeting of the Japanese Society for the Research of Hepatic Cells, Osaka, September 26-27, 2013]

#### 国内学会発表

1. 仁科博史 ; ストレス応答性 MKK の生化学・生理機能の解明 [新潟大学医歯学系分子細胞機能学セミナー; 2013年3月4日 / 新潟]
2. 内田好海他 ; 標的既知化合物ライブラリーを用いた中胚葉分化制御シグナルの探索 [第 133 回日本薬学会年会; 2013 年 3 月 27-30 日 / 横浜]
3. 有馬誉恵他 ; 心筋細胞分化におけるアセチルコリン受容体の機能解析 [第 133 回日本薬学会年会; 2013 年 3 月 27-30 日 / 横浜]
4. 仁科博史 ; 肝臓のサイズとがん発症を制御する Hippo シグナル伝達系 [日本生化学会関東支部例会; 2013 年 6 月 15 日 / 山梨]
5. 山崎世和他 ; ストレス応答性キナーゼ MKK7 の高次脳機能における役割 [第 12 回生命科学研究会 ; 2013 年 6 月 28-29 日 / 青森]
6. 仁科博史 ; 細胞の生死を制御する JNK シグナル伝達系の新規生理機能の解明 [第 22 回日本 Cell Death 学会; 2013 年 7 月 19-20 日 / 京都]
7. 畠星治他 ; DNA 損傷誘導性 YAP アセチル化修飾の同定 [第 22 回日本 Cell Death 学会; 2013 年 7 月 19-20 日 / 京都]
8. 仁科博史 ; Roles of Hippo signaling pathway in murine liver [第 86 回日本生化学会大会; 2013 年 9 月 11-13 日 / 横浜]
9. 有馬誉恵他 ; マウス初期胚におけるムスカリン性アセチルコリン受容体の機能解析 [第 12 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム; 2013 年 9 月 14-15 日 / 東京]
10. 畠星治他 ; がん遺伝子産物 YAP の新規翻訳後修飾アセチル化の同定と機能解析 [第 12 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム ; 2013 年 9 月 14-15 日 / 東京]
11. 平山順他 ; Study on a light signaling pathway for circadian entrainment in zebrafish [第 19 回小型魚類研究会 ; 2012 年 9 月 20-21 日 / 仙台]
12. 浅岡洋一他 ; Analysis of the Hippo-Yap signaling pathway controlling the retinal cell differentiation. [第 19 回小型魚類研究会; 2013 年 9 月 20-21 日 / 仙台]
13. 平山順他 ; Analysis of a light signaling pathway for circadian entrainment using *zCry1a* and *zPer2* knock out zebrafish [第 20 回日本時間生物学会学術大会; 2013 年 11 月 9-10 日 / 東大阪]
14. 平山順他 ; ゼブラフィッシュ初期胚における概日リズム形成の分子機構 [定量生物学の会 第 6 回年会 ; 2013 年 11 月 23-24 日 / 吹田]
15. 仁科博史 ; 異常肝細胞排除現象の発見と機構解明 [第 19 回日本肝臓医生物学研究学会 ; 2013 年 11 月 30 日 / 札幌]

16. 有馬誉恵他；マウス三胚葉形成における  
ムスカリン性アセチルコリン受容体の機  
能解析 [ 第 36 回日本分子生物学会年会；  
2013 年 12 月 3-6 日 / 神戸 ]

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
[http://www.tmd.ac.jp/mri/dbio/index.htm](http://www.tmd.ac.jp/mri/dbio/index.html)  
l

## 6. 研究組織

### (1) 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

### (2) 研究分担者

浅岡 洋一 (ASAOKA YOICHI)  
東京医科歯科大学難治疾患研究所・助教  
研究者番号：10436644