

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860153

研究課題名(和文)心筋増殖過程におけるHippoシグナル機能の解明

研究課題名(英文)Hippo signal analysis during cardiac precursor cells migration in zebrafish

研究代表者

福井 一 (Fukui, Hajime)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・研究員

研究者番号：80551506

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：心臓前駆細胞は左右側板中胚葉より発生・分化し、正中軸で融合したものが心臓原基となる。これまでに心臓前駆細胞移動にはスフィンゴシン1リン酸(S1P)とその受容体を介した経路が重要であることが知られていたが、どのようにこの移動を制御するのか不明であった。本研究から、hippoシグナル分子Yap1と下流で転写制御されるCtgfaがS1Pの下流で心臓前駆細胞を移動制御することを見出した。さらにこの制御機構は内胚葉細胞で機能し、内胚葉細胞の形態維持に働きかけることで、正常な前駆細胞移動に関与することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：To form the primary heart tube, bilateral cardiac precursor cells (CPCs) migrate toward the midline beneath the endoderm. Mutants of sphingosine 1-phosphate (S1P) signaling exhibit cardiac defect, whereas the cause of this defect in S1P signaling mutants remains unclear. Here, we show that S1P signaling regulates CPCs migration through Yap1 dependent endoderm survival. Moreover, the Yap1-Tead transcriptional target Ctgfa also regulates CPCs migration. Finally, we found that both Yap1 and Ctgfa cell-autonomously regulate the endodermal sheet maintenance and is essential for the proper endoderm formation required for CPC migration.

研究分野：発生生物学

キーワード：hippoシグナル スフィンゴシン1リン酸 ゼブラフィッシュ 心臓発生

## 1. 研究開始当初の背景

哺乳類の心臓では、胎生期には心筋細胞が分裂・増殖するが、生後間もなく心筋細胞が分裂を停止し、その後は個々の心筋細胞の増大により心臓全体が至適サイズに成長する。心筋細胞の胎生期の増殖、生後のサイズ増大の分子機構は未解明な点が多い。近年、Drosophila の研究から Hippo シグナルが細胞増殖と細胞死のバランスを制御し、器官の大きさを規定することが明らかになってきた (Pan D., Genes Dev, 2007)。Hippo シグナルはゼブラフィッシュや哺乳類でも保存されていることが明らかとなり、Hippo は Mst1/2、Warts は Lats1/2、Yorkie は Yap1/2 (Yes Associated Protein 1/2)、Scalloped は Tead1~4 が相同タンパク質として対応する。また、Hippo シグナルを制御する上流の受容体として、スフィンゴシン 1 リン酸受容体 (S1PR) の存在が明らかとなった (Yu FX et al., Cell, 2012)。S1PR2 の機能が抑制されると心臓前駆細胞の移動が正常におこらず、二股心臓の表現型を示すことが我々の研究から明らかになっている。

## 2. 研究の目的

心臓は左右側板中胚葉から正中軸へ移動することで発生過程が開始するが、この調節機構は十分に解明されていない。Hippo シグナルは S1PR の下流で機能するとされるが、その関与は不明である。本研究では、心臓発生過程での Hippo シグナルの重要性を検証し、如何なるメカニズムにより正常心臓発生を制御しているか明らかにすることを目的とする。

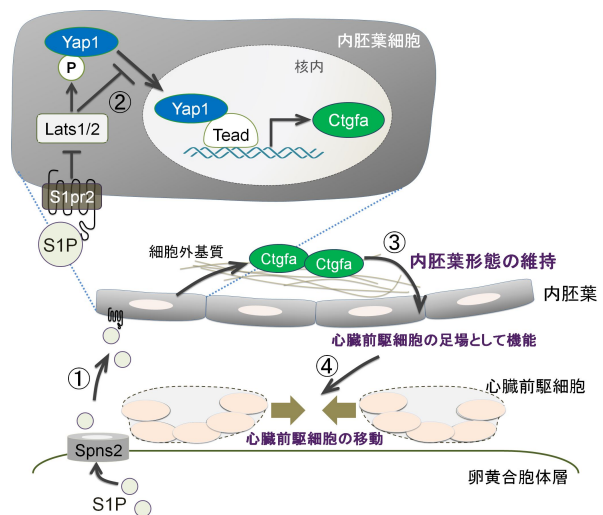
## 3. 研究の方法

まず、Yap1 が個体での機能を検討するために、アンチセンスオリゴモルフォリンの注入による Yap1 特異的機能抑制個体の解析を行った。Yap1 が個体のどの部位で機能するのか組織特異的プロモーターを用いた検討と、Yap/Tead 活性可視化トランスジェニックゼブラフィッシュを作製し、心筋細胞移動過程における Hippo シグナルの関与を時空間的に解明した。引き続き、Yap1-Tead により転写制御される因子を同定するため、cell sorter を用いた組織特異的細胞の回収と RNA sequence による網羅的発現解析を行った。網羅的解析の中で同定した分子が、心筋前駆細胞の移動制御に関与するか検証した。

## 4. 研究成果

心臓前駆細胞は左右側板中胚葉より発生・分化し、正中軸で融合したものが心臓原基となる。これまでに心臓前駆細胞移動にはスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) とその受容体を介した経路が重要であることが知られていたが、どのようにこの移動を制御するのが不明であった。

本研究から、Hippo シグナル分子 Yap1 と下流で転写制御される Ctgfa が S1P の下流で心臓前駆細胞を移動制御することを見出した。さらにこの制御機構は内胚葉細胞で機能し、内胚葉細胞の形態維持に働きかけることで、正常な前駆細胞移動に関与することが明らかとなった (下図)。



本知見は Hippo シグナル分子の新たな機能を見出したとともに、S1P-S1PR2 シグナルがどのようにして心臓前駆細胞移動を制御するのか、最初の報告から 15 年間不明であった機構を初めて明らかにすることができた研究である。

## 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 3 件)

Fukui H, Terai K, Nakajima H, Chiba A, Fukuhara S, and Mochizuki N.

S1P-Yap1 signaling regulates endoderm formation required for cardiac precursor cell migration in zebrafish.

*Dev. Cell*, 2014; 31; 128-36. 査読有

Fukuhara S, Fukui H, Wakayama Y, Ando K, Nakajima H, and Mochizuki N.

Looking back and moving forward: Recent advances in understanding of cardiovascular development by imaging of zebrafish.

*Dev Growth Differ.*, 2015: 57, 333-40. 査読有

Kashiwada T, Fukuhara S, Terai K, Tanaka T, Wakayama Y, Ando K, Nakajima H, Fukui H, Yuge S, Saito Y, Gemma A, and Mochizuki N.

$\beta$ -catenin-dependent transcription is central to Bmp-mediated formation of venous vessels.

*Development*, 2015: 142, 497-509. 査読有

〔学会発表〕(計 10 件)

Hajime Fukui, Shigetomo Fukuhara and Naoki Mochizuki S1P-Yap signaling regulates cardiogenesis by controlling precursor cell migration. Keystone symposia 2013. 5.19-23.

Hajime Fukui, Shigetomo Fukuhara and Naoki Mochizuki S1P-Yap signaling regulates cardiogenesis by controlling cardiac precursor cell migration. The 7th TAKAO International Symposium 2013. 7. 13-15.

Hajime Fukui, Shigetomo Fukuhara, Satoshi Kunimoto and Naoki Mochizuki S1P-Yap signaling regulates cardiogenesis by controlling cardiac precursor cell migration. 第 4 回 MCC II 2013.9.6-8.

Hajime Fukui, Kenta Terai, Shigetomo Fukuhara and Naoki Mochizuki S1P-Yap signaling regulates cardiac precursor cell migration by controlling endodermal cell survival. 第 36 回日本分子生物学会年会 2013. 12. 3-6.

福井一、寺井健太、福原茂朋、望月直樹 S1P-Yap シグナルは内胚葉における生存シグナル発現調節を介して心臓前駆細胞移動を制御する 第 43 回日本心脈管作動物質学会 2014. 2. 15-16.

Hajime Fukui, Kenta Terai, Shigetomo Fukuhara and Naoki Mochizuki S1P-Yap signaling regulates cardiac precursor cell migration by controlling endodermal cell survival. IVBM 2014 2014. 4. 14-17.

Hajime Fukui, Shigetomo Fukuhara and

Naoki Mochizuki S1P-Yap1 signaling regulates endoderm formation required for cardiac precursor cell migration in zebrafish. 第 5 回 MCC II 2014. 9. 5-6.

福井一 S1P-Yap1 シグナルによる心臓前駆細胞移動の制御メカニズム 関西血管生物研究会 2014 2014. 10.25.

Hajime Fukui, Shigetomo Fukuhara and Naoki Mochizuki S1P-Yap1 signaling regulates endoderm formation required for cardiac precursor cell migration in zebrafish. 第 37 回日本分子生物学会年会 2014.11. 25-27.

Hajime Fukui, Shigetomo Fukuhara and Naoki Mochizuki S1P-Yap1 signaling regulates endoderm formation required for cardiac precursor cell migration in zebrafish. European Zebrafish Meeting 2015 2015.6.29-7.3

〔図書〕(計 1 件)

福井一、望月直樹  
心臓発生における転写共役因子 Yap の機能  
医学のあゆみ (2014 年)

〔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 :  
出願年月日 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等  
ライフサイエンス新着論文レビュー掲載  
<http://first.lifesciencedb.jp/archives/9421>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

福井 一 (Fukui Hajime)  
国立循環器病研究センター・研究所・上級  
研究員  
研究者番号：80551506

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：