

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：32206

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15876

研究課題名（和文）心臓圧負荷を起因とする心不全の病態でのYAPの役割の解明

研究課題名（英文）The investigation of the role of YAP in heart failure

研究代表者

池田 尚平（Shohei, Ikeda）

国際医療福祉大学・医学部・講師

研究者番号：40808581

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）：圧負荷応答でHippo欠乏・YAP（Yes-associated protein）の恒常活性化の役割を調査した。Hippo欠乏マウスは圧負荷でYAP活性化を起こし、apoptosis減少と細胞周期再入するにも拘らず、心不全増悪を起こした。機序としてYAP-TEAD1-OSM経路の活性化により、心筋の脱分化に起因することがわかった。さらにこの経路の各因子の抑制により心不全は軽減することを確認した。更に糖尿病モデルでもYAP-TEAD1-OSM経路活性化に基づく心筋脱分化を経て心不全が起きることが分かった。更に糖尿病性心筋症患者の心筋で心筋脱分化が起きていることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心臓でのYAPの活性化は生存維持や増殖活性を通じて、正に働くことが報告されるが、心臓のYAPの恒常活性化が心臓に与える影響が不明であった。今回の研究で心臓のYAPの恒常活性化が予想外に心不全増悪に働くことが分かった。機序としてYAP-TEAD1-OSM経路の活性化により心筋脱分化に起因する心不全が起きることが分かった。また同様の減少は糖尿病性心筋症でも起こることが分かった。今回の結果から心臓でのYAPの適正範囲の管理が心臓機能維持に重要であることが示唆されたこと、YAPの抑制が心機能保持・心不全治療に貢献する病態が存在することが示唆され、今後の循環器病に貢献しうる研究成果であったと考える。

研究成果の概要（英文）：In this study, I investigated the role of the Hippo deficiency and the persistent activation of YAP. Cardiac specific Hippo deficient mice showed the persistent activation of YAP in the heart. The mice showed the decrease of apoptosis and cell cycle re-entry related with YAP activation in the pressure-overload condition and finally showed severe heart failure. I found the mechanism was the cardiac dedifferentiation depended on the activation pathway of YAP-TEAD1-OSM. Furthermore I found the suppression of the pathway attenuated the heart failure. In addition, I found the cardiac activation of YAP in the model of diabetes. In the model, pressure overload induced severe heart failure accompanied cardiac dedifferentiation depended on the activation pathway of YAP-TEAD1-OSM. Finally, I found the cardiac dedifferentiation depended on the activation pathway of YAP-TEAD1-OSM in human diabetic cardiomyopathy.

研究分野：循環器病態学

キーワード：YAP 心不全 圧負荷 TEAD OSM 心筋脱分化 糖尿病性心筋症

1．研究開始当初の背景

Hippo 経路は、細胞増殖やアポトーシスの調節を介して、各種の臓器サイズを制御する、種を超えて保存される重要なシグナル伝達経路である。Hippo 経路の主要構成要素の核内転写補助因子である YAP (Yes-associated protein)は、転写因子の調節を介して、増殖、細胞成長、肥大、細胞死抑制など種々の役割を有する。最近の研究は、心臓の YAP の活性により、成体心臓の残された増殖能を活性化させることで、心筋傷害を起因とした心不全から保護作用を有し、その活性化が治療戦略となりうることを報告した。しかし、すべての心臓病で、YAP の活性が有益に作用するかには、まだ明確な答えはない。また、YAP の活性は他の各種臓器でがん形成に強く関わるので、YAP がどのように下流の転写因子を調整するかを病態ごとに解明することは非常に重要である。本研究では、心臓圧負荷誘発の心不全の病態に注目して YAP の役割を解明することを目的とする。

2．研究の目的

心不全・循環器病の病態での **YAP** 恒常活性の役割の解明と、**YAP** を介した新規治療の開発を目的とする。

3．研究の方法

本研究では、主にマウスを用いた in vivo 実験を行った。本研究ではマウスに吸入麻酔下で挿管、人工呼吸器管理をして心臓圧負荷(Transverse aortic constriction, TAC：横行大動脈縮窄)手術を実施することで心臓圧負荷モデルを作成する。マウスとしては内因性 YAP の活性化マウスである心筋特異的 WW45 ノックアウトマウス(WW45cKO, WW45 cardiac-specific knockout) と対照群のマウスを用いて、2 群間で比較検査をする。WW45cKO マウスは、 α MHC (α -myosin heavy chain) プロモーターにより心筋特異的に Cre 酵素を発現するマウスと loxP 配列を持つ WW45 flox マウスを交配することで、Cre-loxP システムにて homozygous knockout マウスを作成する。プロトコールとして、術後の急性期から慢性期まで複数のタイムポイントでの検査を実施する。心臓での YAP の役割を調査するために、YAP の活性と心臓サイズ、心機能の関連を調査する。また YAP の活性化が圧負荷の病態で心保護作用があるかを調査する。具体的検査としては、心臓での YAP および他の Hippo 経路の主要構成要素の発現とその活性の経時的変化を Western blot 法や免疫染色などの方法で調査する。また、心臓サイズや重量などの検査に加えて、さらには心肥大や細胞増殖能、アポトーシスなどの経時的変化を免疫染色などで調査する。心機能分析として心臓超音波検査と心臓カテテル検査の実施により心臓機能の経時的変化を調査する他、生存分析も実施する。こうすることで、YAP の心臓での役割 (YAP 活性と心臓サイズや心機能の関連) を明らかにしたいと考えている。さらに、YAP と結合する下流の転写因子の解析を網羅的に行うことで下流の機序の解明をしたいと考えている。方法としては、マウスの心臓から RNA サンプルを作成して、RNA-sequence 解析を実施する。またクロマチン免疫沈降(ChIP)サンプルを作成して ChIP-PCR 解析を実施する。必要に応じて、ChIP-sequence 解析の実施を検討する。

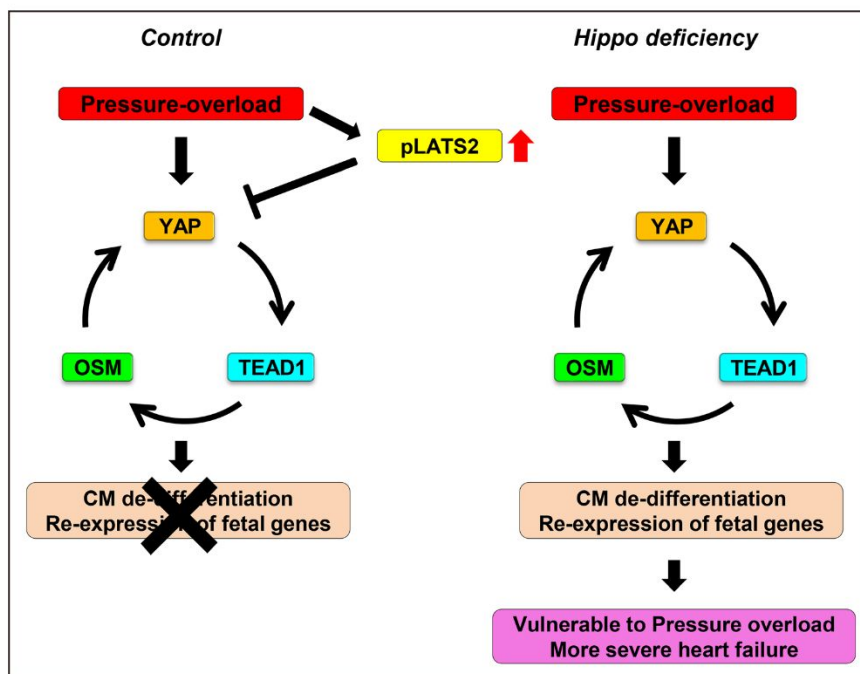
4．研究成果

本研究は順調に研究結果を出すことに成功したと考える。

代表的な成果を示す。圧負荷応答で **Hippo** 欠乏・**YAP** (Yes-associated protein) の恒常活性化の役割を調査した。**Hippo** 欠乏マウスは **YAP** 活性化を起こしているが、圧負荷により恒常活性化があることが確認できた。対照マウスでは慢性期には **YAP** 活性が低下した。**YAP** の恒常活性化があるにもかかわらず、**Hippo** 欠乏マウスは重篤な心不全を示した。同マウスの病態の解明のため **RNA** シークエンス解析を実施したところ、**YAP-TEAD** の活性化に基づく心筋脱分化が起こっていることが分かった。さらに **OSM** の活性化もあり、脱分化形成に貢献していることが分かった。**CHIP** 解析により、**OSM** が **YAP-TEAD** の下流のターゲットであり、結合して作用することが分かった。(参考図)

YAP、**TEAD1**、**OSM** それぞれの因子の抑制が、心筋脱分化を抑制して、同モデルの心不全が抑制され心保護に作用することが分かった。**Hippo** 欠乏の圧負荷では **YAP**、**TEAD1**、**OSM** が負のループを形成して、心筋脱分化を経て心不全が起こることが分かった。更に糖尿病モデルの心筋細胞でも同様の **YAP** 活性化を確認し、圧負荷により、心不全の増悪が **YAP-TEAD1-OSM** 経路活性化に基づく心筋脱分化を経て起きることが分かった。更に糖尿病性心筋症・心不全患者の心筋でも **YAP**、**TEAD1**、**OSM** が負のループを形成して、その結果として心筋脱分化が起きていることが分かった。さらに、糖尿病に基づく狭心症、特に無症候性心筋虚血の病態で **YAP-TEAD1-OSM** 経路活性化に基づく病態形成があることが分かり、同疾患患者の血清で **OSM** の上昇があることが分かった。さらに **OSM** の測定が糖尿病に基づく狭心症、無症候性心筋虚血のバイオマーカーと成ることも分かった。

(参考図)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ikeda S, Mizushima W, Sciarretta S, Abdellatif M, Zhai P, Mukai R, Fefelova N, Oka S, Nakamura M, Del Re DP, Farrance I, Park JY, Tian B, Xie LH, Kumar M, Hsu CP, Sadayappan S, Shimokawa H, Lim DS, Sadoshima J	4. 巻 18
2. 論文標題 Hippo deficiency leads to cardiac dysfunction accompanied by cardiomyocyte dedifferentiation during pressure overload	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ Res.	6. 最初と最後の頁 292-305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/CIRCRESAHA.118.314048	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 Ikeda S, Mukai R, Mizushima W, Zhai P, Oka SI, Nakamura M, Del Re DP, Sciarretta S, Hsu CP, Shimokawa H, Sadoshima J	4. 巻 4
2. 論文標題 Yes-Associated Protein (YAP) Facilitates Pressure Overload-Induced Dysfunction in the Diabetic Heart	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JACC Basic Transl Sci.	6. 最初と最後の頁 611-622
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jacbts.2019.05.006	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 Ikeda S, Sato K, Takeda M, Miki K, Aizawa K, Takada T, Fukuda K, Shiba N	4. 巻 35
2. 論文標題 Oncostatin M is a novel biomarker for coronary artery disease ? A possibility as a screening tool of silent myocardial ischemia for diabetes mellitus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Cardiol Heart Vasc.	6. 最初と最後の頁 100829-100829
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijcha.2021.100829	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 Ikeda S, Nah J, Shirakabe A, Zhai P, Oka SI, Sciarretta S, Guan KL, Shimokawa H, Sadoshima J	4. 巻 131
2. 論文標題 YAP plays a crucial role in the development of cardiomyopathy in lysosomal storage diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Invest.	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/JCI143173	査読の有無 無
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 Ikeda S, Sato K, Miki K, Takeda M, Shiba N
2. 発表標題 Oncostatin M is a potential diagnostic biomarker for silent myocardial ischemia associated with patients with diabetes mellitus
3. 学会等名 第85回日本循環器学会（国際学会）
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計1件

国際研究集会 Scientific Sessions - American Heart Association (AHA) 2018 in Chicago, Illinois	開催年 2018年～2018年
--	--------------------

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------