

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08424

研究課題名(和文) Hippo-YAP経路による3次元腸管構築と感染・発がん・腸内細菌叢制御の解明

研究課題名(英文) 3D intestinal development and carcinogenesis by Hippo-YAP pathway

研究代表者

白井 睦訓 (MUTSUNORI, SHIRAI)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20196596

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：樹状細胞(野生型 vs YAP欠損)等抗原提示細胞とサルモネラ感染細胞における抗原のプロセッシングと抗原提示におけるYAP/TAZの役割を解明し、YAPとサイトカイン特にIL8の発現増加に密接な関係が見られた。野兔病菌感染症において野兔病菌が宿主の免疫を逃れる機構として代謝のリプロラミングが寄与していることが判明した(Journal of Experimental Medicine, in press)。その機序についてHippo経路やYAPの役割の解明を続けたが、研究期間の終了を迎えたため、今後の研究課題として研究を継続していきたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト難治性疾患の病態解明と治療戦略の開拓を目指して研究を進めることができた。また、長年にわたり難病として未解明であった野兔病菌感染症において野兔病菌が宿主の免疫を逃れる機構として代謝のリプロラミングが寄与していることが判明し、難治性感染症の解明に貢献できた。

研究成果の概要(英文)：Pathogenic roles of the altered metabolic programs against host immunity are poorly understood. Here, we show that a pathogenic strain *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* (FT) has five amino acid substitutions of *ribD* in the riboflavin (RF) synthetic pathway; *ribD* is a converting enzyme responsible for generating metabolites recognized by mucosal associated invariant T (MAIT) cells. Metabolites from a free-living strain *Francisella tularensis* subsp. *novicida* (FN) activated MAIT cells in a T cell receptor (TCR)-dependent manner, whereas introduction of FT-type *ribD* to the free-living strain FN attenuated the activity in both humans and mice. Intranasal infection mouse model showed that the FT-type *ribD*-expressing FN impaired Th1-type MAIT cell expansion and bacterial clearance resulting in shortened survival compared to the free-living strain FN. These results demonstrate that *Francisella tularensis* acquires pathogenicity by alteration of metabolic programs during evolution.

研究分野：感染症

キーワード：YAP Hippo MAIT cell *Francisella tularensis* *ribD*

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでに Hippo 経路が宿主-病原体の関係性へ影響を及ぼすシグナル伝達系を網羅的に探索するとともに、YAP が制御するシグナル伝達系分子の発現の網羅的な RNA-seq 解析を行った探索してきたが、この解明の意義は大きい。

2. 研究の目的

これまでに Hippo 経路が宿主-病原体の関係性へ影響を及ぼすシグナル伝達系を網羅的に探索するとともに、YAP が制御するシグナル伝達系分子の発現の網羅的な RNA-seq 解析を進め、ヒト難治性疾患の病態解明と治療戦略の開拓を目指す。

3. 研究の方法

重力耐性遺伝子 YAP がどのようなシグナル伝達系分子の発現を制御しているのか網羅的解析。

YAP 変異体で最も高度に発現上昇した遺伝子の機能の分子生物学的解析。

Hippo シグナル経路では、T 細胞の増殖への関与の分子生物学的解析。

4. 研究成果

これまでに Hippo 経路が宿主-病原体の関係性へ影響を及ぼすシグナル伝達系を網羅的に探索するとともに、YAP が制御するシグナル伝達系分子の発現の網羅的な RNA-seq 解析を行った探索の中で、これまでに重力耐性遺伝子 YAP がどのようなシグナル伝達系分子の発現を制御しているのか網羅的に明らかにするため、野生メダカ野生型胚と YAP 変異体胚の間で RNA-seq 解析を試みた結果、YAP 変異体で発現が上昇した遺伝子を 191 個、減少した遺伝子を 339 個見出していたが、YAP 変異体で最も高度に発現上昇した遺伝子は、微生物の抗原認識、提示する免疫系シグナル伝達分子であり、重力耐性遺伝子 YAP と免疫系遺伝子発現の間には密接な関連があることが解明できたので、その遺伝子の機能解析を進めている。明確な結論は次年度の成果とした。一方で、Hippo シグナル経路では、T 細胞の増殖への関与、MST1/2 の微生物感染に対する自然免疫や T 細胞接着や移動・ホーミングへの関与、TAZ の制御性 T 細胞 Treg と TH 17 細胞の分

化制御は報告されているが、樹状細胞（野生型 vs YAP欠損）等抗原提示細胞とサルモネラ感染細胞における抗原のプロセッシングと抗原提示におけるYAP/TAZの役割を解明し、YAPとサイトカイン特にIL8の発現増加に密接な関係が見られた。特に注目している分子群はYAP欠損により極めて高度に発現上昇しているMHC classII protein complex、Antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC classIIなどMHC class II関連分子についても明らかにできてきた。抗原提示とYAPの関係解明は世界初の検証となるため特許の申請を準備している。当初から予想しているように、本研究で得られる成果は、抗原提示とYAPという新しい生物学的コンセプトを起点として、広範な生命科学領域の向上と強化につながる。

2021年度も、ヒト難治性疾患の病態解明と治療戦略の開拓を目指して研究を進め、野兔病菌感染症において野兔病菌が宿主の免疫を逃れる機構として代謝のリプログラミングが寄与していることが判明した（Journal of Experimental Medicine, in press）。すなわち、free-living 株 *Francisella tularensis* subsp. *novicida* (FN)由来の代謝産物は、T細胞レセプター依存性にMAIT細胞を活性化し、一方、*Francisella tularensis* subsp. *tularensis* (FT) -type ribD遺伝子をfree-living 株 FNに導入すると、人とマウスに置いてその活性を減弱した。経鼻感染させたマウスモデルでは、FT-type ribD-発現 FNはTh1-type MAIT細胞の拡大を阻害し、細菌の排除を阻害した結果、free-living strain FNに比べ生存期間を短くした。これらの結果は、*Francisella tularensis*が進化の間代謝プログラムを変換することで病原性を獲得したことを示している。その機序について Hippo経路やYAPの役割の解明を続けたが、研究期間の終了を迎えたため、今後の研究課題として研究を継続していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0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 Kim B, Jiang T, Bae JH, Yun HS, Jang SH, Kim JH, Kim JD, Hur JH, Shibata K, Kurokawa K, Jung Y, Peschel A, Bae T, Lee BL.	4. 巻 87
2. 論文標題 In Staphylococcus aureus, the Particulate State of the Cell Envelope Is Required for the Efficient Induction of Host Defense Responses.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Infect Immun. 87(12). pii: e00674-19, 2019.	6. 最初と最後の頁 674-9,
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/IAI.00674-19	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 -

1. 著者名 Braganza CD, Shibata K, Fujiwara A, Motozono C, Sonoda KH, Yamasaki S, Stocker BL, Timmer MSM.	4. 巻 17
2. 論文標題 The effect of MR1 ligand glyco-analogues on mucosal-associated invariant T (MAIT) cell activation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Org Biomol Chem.	6. 最初と最後の頁 8992-9000
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/c9ob01436e	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 -

1. 著者名 Braganza CD1, Motozono C2, Sonoda KH3, Yamasaki S4, Shibata K5, Timmer MSM1, Stocker BL	4. 巻 in press
2. 論文標題 Agonistic or antagonistic mucosal-associated invariant T (MAIT) cell activity is determined by the 6-alkylamino substituent on uracil MR1 ligands.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem Commun (Camb).	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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0件

〔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	浅岡 洋一 (YOICHI ASAOKA) (10436644)	山口大学・大学院医学系研究科・講師 (15501)	

6. 研究組織（つづき）

	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	清木 誠 (MAKOTO SEIKI) (50226619)	山口大学・大学院医学系研究科・教授 (15501)	
研究分担者	柴田 健輔 (KENSUKE SIBATA) (50529972)	山口大学・大学院医学系研究科・講師 (15501)	

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0件

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