

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390096

研究課題名（和文）EMT（上皮間葉転換）解析を通じた器官発生-癌転移のフロンティア研究

研究課題名（英文）Role of EMT and growth factor cascade in development and cancer.

研究代表者

山田 源 (YAMADA GEN)

熊本大学・発生医学研究所・教授

研究者番号：80174712

研究成果の概要（和文）：我々は、Wnt シグナル等を中心に、細胞増殖因子群の器官形成過程での機能について、コンディショナルマウス系を駆使して解析してきた。その結果、Wnt シグナルやBmp シグナルがクロストークする事が器官伸長、上皮系形成（生殖器、皮膚等）に必須である事が分かった。上皮系に起因する癌において、器官形成時に関与する細胞増殖因子系がどのような形で発癌、上皮間葉転換において組み入れられているのか解析を行なった。研究期間中に、我々中心の論文として Development2 報、Endocrinology4 報、Molecular Endocrinology1 報、COGD1 報を含む成果を挙げた。胎児後端部や皮膚において Wnt/ β カテニンシグナルとクロストークする信号系として、Bmp、及びヘッジホッグシグナルを同定した。また子宮内膜上皮においては、Wnt/ β カテニンシグナルの過剰により、子宮腺の過形成が起こる事、さらにその下流として Fox 遺伝子の発現が亢進すること等が分かった。以上、今後の発生医学-発癌の2領域を横断する研究に繋がる重要な基盤が創成された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the role of growth factor cascade and EMT (Epithelia Msenchyme Transition) during development and early oncogenic processes. During this research period, we published more than Development2、Endocrinology4、Molecular Endocrinology1、COGD1 papers. During skin development, we found abnormal Wnt/ β catein signaling leads to skin hyperplasia. The phenotype can be studied more in relation to BCC. In such pathological condition, integration of Bmp-hedgehog signal transduction was also incorporated. During cloaca development, we investigated the role of growth factor signals and we found abnormal hedgehog and Wnt/ β catein signal altered cloacal epithelial development. During the course of MD and female reproductive tract development, we investigated the role of Wnt/ β catein cascade. We also found abnormal gain-of-function of Wnt/b catein signal leads to uterine gland (UG) hyperplasia and found such dysregulation in human endometrial hyperplasia samples. Thus, our project suggested a link of development and pathogenesis in terms of growth factor cascade.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2009年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2010年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：上皮間葉転換、EMT、細胞増殖因子、癌、発生、Wnt

1. 研究開始当初の背景

我々は、Wnt シグナル等を中心に、細胞増殖因子群が器官形成過程において如何に機能しているかコンディショナルマウス系を駆使して解析した。その結果、Wnt シグナルやBmp シグナルがクロストークする事が器官伸長、上皮系形成（子宮内膜腺や前立腺、皮膚等）に必須である事が分かった。上皮系に起因する癌において、器官形成時の胎生中期、後期に関与する細胞増殖因子系シグナルがどのような形で発癌、上皮間葉転換において組み入れられているのか、その関与は殆ど分かっていない。特に細胞増殖因子群のクロストークを中心とした、器官発生学と細胞の増殖異常、癌の初期過程を総括する学際的視野は今まさに必要とされている。

2. 研究の目的

Wnt シグナルなどを中心に器官形成過程で関与する増殖因子カスケードが上皮系の分化、上皮の維持、あるいは上皮過形成、更に悪性化に向かってどのように関与するかについて解析を行なった。

3. 研究の方法

器官形成過程の上皮系として、総排泄腔、及び総排泄腔に起因する前立腺上皮、さらに雌における生殖系器官としてミューラー管 (MD) 上皮、また対照系として皮膚の上皮系、及び真皮を用いて各種のコンディショナル Cre ドライバーマウスを整備した。これらのマウスにより、Wnt/ β カテニンシグナルの増減、及びそれらにクロストークする細胞増殖因子系として Bmp (骨形成因子) シグナル系、さらにヘッジホッグシグナル系の変異体 (loss-of-function, gain-of-function) を用意した。子宮内膜においては、子宮内膜腺形成、特に発生末期から新生児期にかけて形成されるミューラー管上皮から子宮内膜、子宮腺症状を解析した。また前立腺上皮においてはクロアカ由来の上皮系に作用する Shh Cre ドライバー系統を用いて内胚葉系の上皮での細胞増殖因子シグナルを操作した。また、皮膚においてはケラチンなどの Cre ドライバー系を用いて上皮系の遺伝子操作を行なった。

4. 研究成果

研究プロジェクト期間中に、我々中心のパブリケーションとして Development2 報、Endocrinology4 報、Molecular Endocrinology1 報、COGD1 報を含む成果を挙げる事が出来た。

皮膚において Wnt/ β カテニンシグナルとクロストークする信号系として、Bmp、及びヘッジホッグシグナルを同定した。

Wnt/ β カテニンシグナル入力の上乗れにより、皮膚の上乗れ形成や毛包過形成が生じる事、また Bmp シグナルとヘッジホッグシグナルのクロストークが判明した。この皮膚での過形成病態は今後更に第二の事象が起こった際に、BCC など皮膚病変に至るかという興味ある問題を提示した。クロアカ上皮においてはヘッジホッグシグナル、及び Bmp シグナル双方が重要である事が判明した。我々の先行結果を受け世界的に、ニューヨーク等のグループにより、Bmp7 を中心とした Bmp シグナルと Wnt シグナルのクロストークが確認され、現在も研究がさらに進行している。

前立腺上皮では、細胞増殖信号シグナルの Bmp 信号系の操作により、前立腺上皮が過形成となる事が判明した。前立腺上皮の過形成に伴い、aged mouse において前立腺分泌も低下する事が分かった。同時に核形態異常も見出されており、今後更に他の信号伝達系とのクロスを見る事により、実際前立腺癌の発症に至る過程を検討することが期待される。

子宮内膜上皮においては、Wnt/ β カテニンシグナルの上乗れにより、子宮腺の過形成が起こる事、さらにその過形成が形成された際 Wnt/ β カテニンシグナルの下流として Fox 遺伝子の発現が亢進することが分かった。Fox 遺伝子は一部の内胚葉癌等で関与が示されており、こういった細胞増殖因子のクロストークとの関連が女性生殖器においても今後注目される。以上の様に、発生-発癌の 2 領域を横断する研究に繋がる重要な研究基盤が創成された。

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 18 件)

1. Miyagawa S. and *Yamada G. (著者11名中11番目) The role of Sonic hedgehog-Gli2 pathway in the masculinization of external genitalia. **Endocrinology**, in press (査読有)
2. Omori, A. and Yamada, G. (著者 10 名中 10 番目) Epithelial Bmp (Bone morphogenetic protein) signaling for bulbourethral gland development: A mouse model for congenital cystic dilation. **Congenit Anom (Kyoto)**, in press (査読有)
3. Ogino, Y. and Yamada, G. (著者6名中6番目) Essential functions of androgen signaling emerged through the developmental analysis of vertebrate sex characteristics. **Evol. Dev.**, in press (査読有)
4. Murashima, A. and Yamada, G. (著者 13 名中 13 番目) Essential Roles of Androgen Signaling in Wolffian Duct Stabilization and Epididymal Cell Differentiation. **Endocrinology**. 152(4):1640-51, 2011 (Faculty of 1000 Medicine) (査読有)
5. Matsumaru, D. and Yamada, G. (著者 7 名中 7 番目) Genetic analysis of Hedgehog signaling in ventral body wall development and the onset of omphalocele formation. **PLoS One**. 2011 Jan 20;6(1):e16260. (査読有)
6. Villacorte, M. and Yamada, G. (著者8名中8番目) Antagonistic crosstalk of Wnt/beta-catenin/Bmp signaling within the Apical Ectodermal Ridge (AER) regulates interdigit formation. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 391:1653-1657, 2010 (査読有)
7. 原田理代、山田源. 外生殖器・内生殖器 発生過程における Wnt シグナルの役割. **医学の歩み**. vol. 233. 1008-1014, 2010 (査読無)
8. 宮川信一、原田理代、原口竜摩、鈴木堅太郎、中原千彰、松丸大輔、金子武人中潟直己、山田源. Hedgehog, Wnt, FGF の三大増殖因子の相互作用: 器官が伸長する (大きくなる) ためにどのようなリレーが必要か. **細胞工学** Vol. 29 No. 2(188-189), 2010 (査読無)
9. Miyagawa S. and *Yamada G. (著者 15 名中 15 番目) Dosage-dependent hedgehog signals integrated with Wnt/beta-catenin signaling regulate external genitalia formation as an appendicular program. **Development** 136, 3969-78, 2009. (査読有)
10. Suzuki K. and *Yamada G. (著者13名中13番目) Embryonic hair follicle fate change by augmented β -catenin through Shh and Bmp signaling. **Development** 136, 367-372, 2009. (査読有) (査読有)
11. Suzuki K. and *Yamada G. (著者5名中5番目) New horizons at the caudal embryos: coordinated urogenital/reproductive organ formation by growth factor signaling. **Curr Opin Genet Dev**. 19, 491-6 2009. (査読有) Faculty of 1000 Medicine "Must Read" (査読有)
12. Ogino Y. and *Yamada G. (著者4名中4番目) Evolutionary history and functional characterization of androgen receptor genes in jawed vertebrates. **Endocrinology** 150, 5415-27, 2009. (査読有)
13. Miyagawa S. and *Yamada G. (著者11名中11番目) Genetic interactions of the Androgen and Wnt/ β -catenin Pathways for the Masculinization of External Genitalia. **Mol. Endocrinol.** 23, 871-80, 2009. (査読有)
14. 鈴木堅太郎、山口裕史、ヴィラコルテマイラ、秋山真志、清水宏、中潟直己、山田源. 皮膚バイオロジーから見えてきた増殖因子シグナルクロストークによる細胞系譜制御; 皮膚発生から生殖系発生メカニズムの解明に向けて. **細胞工学** 2009年3月号 272-3頁 (査読無)
15. Nishida H. and *Yamada G. (著者10名中10番目) Positive regulation of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) gene expression through the interaction between Dlx and GATA-4 for testicular steroidogenesis. **Endocrinology**. 149, 2090-2097, 2008. (査読有)
16. Suzuki, K., Haraguchi, R., Ogata, T., Barbieri, O., Alegria, O., Vieux-Rochas, M., Nakagata, N., Ito, M., Mills, A., Kurita, T., Levi, G. and Yamada, G. Abnormal urethra formation in mouse models of Split-hand/split-foot malformation

- type 1 and type 4. *Eur. J. Hum. Genet.*, 16:36-44, 2008 (査読有)
17. Ohta S. and *Yamada G. (著者7名中7番目) Gene transduction by Sonoporation. *Dev. Growth. Differ.*, 50, 517-520, 2008. (査読有)
 18. EMT研究がいま面白い. 山田源 監修. 細胞工学 2008年4月号(27:4:314-367) (査読無)
- [学会発表] (計18件)
1. 山田源: 前立腺癌発生の基盤を考える; 前立腺発生過程から細胞増殖因子の機能まで. 第20回泌尿器科分子・細胞研究会イブニングセミナー. ホテルグリーンパーク津、2011.3.11
 2. Gen Yamada: Essence of urogenital/reproductive organ formation; mutant mouse analysis in the field of molecular developmental biology. 6th Asian Pacific Organization for Cell Biology Congress. EDSA Shangri-La, Mandaluyong City, Philippines, 2011.2.26
 3. 山田源 (コーディネーター/座長): 千里ライフサイエンスセミナー「極性制御を介する細胞からの組織構築とその以上による病態」、千里ライフサイエンスセンタービル、大阪市、2011.1.21
 4. 山田源: Bmpシグナルカスケード(骨形成因子)の四肢及び上皮形成における機能. 第6回 Bone Forum in Hanno. 2011.1.13、ヘリテージ飯能、飯能市
 5. 山田源 (シンポジスト): ミュータントマウス解析を駆使した生殖器形成プログラムの解明; 遺伝子カスケードから病態モデルまで. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2010). 2010.12.11、パシフィコ横浜、横浜市
 6. Gen Yamada. Integrated growth factor signaling regulates urogenital/reproductive organ formation; a general hint to think about organ development. The 4th AFLAS Congress meeting. Taipei International Convention Center, Taipei, Taiwan. 2010.11.10.
 7. 山田源 (シンポジスト): ミュータントマウス解析を駆使した生殖器形成プログラムの解明; 遺伝子カスケードから病態モデルまで. 関西生殖発生毒性フォーラム. 2010.10.16、武田薬品工業(株)大阪工場、大阪市
 8. 山田源 (特別講演): 上皮形成機構の解析; 子宮腺発生における細胞増殖因子シグナルの働き. 第18回日本胎盤学会. 2010.10.1、ホテル日航熊本、熊本市
 9. Gen Yamada. Signaling pathways for external genitalia development., Gordon Research Conferences, Reproductive Tract Biology. Proctor Academy, Andover, USA. 2010.8.16
 10. 山田源 (シンポジスト): 生殖器官発生の解明 Regulation of sexual dimorphism: Coordinated urogenital/reproductive organ formation. 第28回内分泌代謝学サマーセミナー. 2010.7.9、ハウステンボス、佐世保市
 11. Gen Yamada. Reproductive organ formation., Developmental Mechanism and Disease-joint meeting of Dev. Dyn. and SIBCB, Shanghai Institute for Biological Sciences, Shanghai, China, 2010.6.18
 12. Gen Yamada, Shinichi Miyagawa, Shigeaki Kato, Kentaro Suzuki. A model for the development of sexual dimorphism; Wnt signal mediated external genitalia masculinization. ICE2010, Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan. 2010.3.27
 13. Gen Yamada. Regulated Bmp signals are required for caudal embryogenesis; the coordination of our body plan. Session 5: Development I at BMP2009, Seminaris CampusHotel, Berlin, Germany. 2009.9.8
 14. Gen Yamada. Integration of growth factor cascades to regulate organogenesis; Coordinated urogenital/reproductive organ formation. Theme 3: Cell fate determination., the 21st international congress of Biochemistry and Molecular Biology. Shanghai International Convention Center, Shanghai, China. 2009.8.3
 15. 世話人/座長 小崎健次郎、山田源 (各シンポジスト: 丹羽 仁史、桑 昭苑) 「iPS細胞を含めた幹細胞の活用」先天異常学会第49回学術集会、鹿児島県市民文化ホール、鹿児島、2009.6.25

16. 世話人/座長 山田源、若松 義雄 (各シンポジスト: 若松義雄、伊藤靖浩、宮園浩平、雑賀司珠也) : S10 器官形成におけるEMTとMET. 第114回日本解剖学会総会・全国学術集会、2009. 3. 29、岡山理科大学、岡山市
17. Gen Yamamda. New frontier in conditional gene knock out mouse analysis: the role of wnt/beta-catenin signals in reproductive organ and skin formation. The 14th Symposium of Cell and Molecular microtechnique Branch of China Zoological Society. Hanlin Hyatt Hotel, Harbin, China, 2009. 1. 9
18. 世話人/座長 金井克晃、山田源 (各シンポジスト: Neil A. Bhowmick、Shigeaki Kato、Toshiaki Nose、Yuko Katoh-Fukui、Yoshiakira Kanai) : Workshop 6: Reproduction & gametology. 41st Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists (Jointly sponsored by the International Society of Developmental Biologists), Tokushima Arts Foundation for Culture, Tokushima, 2008. 5. 30

[その他]

ホームページ等

http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/divisions/organ_formation/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 源 (YAMADA GEN)

熊本大学・発生医学研究所・教授

研究者番号 : 80174712