

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：15501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22657

研究課題名(和文)臓器の恒常性維持と再生におけるYAP活性化の機械的制御機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanical regulation of YAP activation during maintaining organ homeostasis and regeneration

研究代表者

田尾 嘉誉(Tao, Hirotaka)

山口大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：30425417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、一細胞レベルでのYAP力学的恒常性維持の破綻として がんの発症・進展を理解し、その分子メカニズムの解明を目指した。そのため、次の三つの解析系の解析を進めた。1)YAP活性化の時空間的タンパク解析、2)生体の力学特性、力学応答とYAP活性化との関連性の定量的解析、3)YAP活性化細胞の種類と機能解析。本解析で用いるヒト標本採取については、現在までに30検体の大腸癌標本がすでに得られている。また、本CODEX機材・試薬は本学に搬入済みであり、解析に着手している。合わせて、2)、3)に該当する機材とYAPレポーターマウスの作製も進行中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究でのヒトおよびマウスのがん組織を用いたCODEX法による位置情報を保持した状況で多次元プロテオミクスデータ解析により、公開されている蓄積されたビッグデータと比較し、網羅的に解析することで、がん発症、進展過程における微小環境下で一見無秩序に混在するがん細胞群と自己免疫細胞群との空間的分布を数細胞レベルでのYAP活性細胞と隣接相関関係に法則性を見出す。加えて、力学的特性を合わせて解析することで、がん化しやすい微小環境の同定を行う。本研究は、将来的にはそのがん微小環境領域を作り出さない薬剤投与の検討を行う基盤となる研究である。

研究成果の概要(英文)：We aimed to understand the molecular mechanism of cancer progression as a disruption of YAP mechanical homeostasis at the single-cell level. We proceeded with the analysis of the following three projects: 1) spatio-temporal protein analysis of YAP activation, 2) quantitative analysis of the relationship between the mechanical properties of living organisms, mechanical responses, and YAP activation, and 3) analysis of the types and functions of YAP-activated cells. As for human specimen collection for this analysis, 30 colorectal cancer specimens have already been obtained to date. The CODEX equipment and reagents have already been delivered to the University and analysis has begun. In addition, the equipment for 2) and 3) and the creation of YAP reporter mice are in progress.

研究分野：発生生物学

キーワード：YAP

1 . 研究開始当初の背景

YAP の活性化は、三次元的臓器の構築、再生とがん進展に極めて重要な役割を果たす。本研究では、YAP(Yes-associated protein)が力学制御という他のシグナル系にない特徴を持つという独自の観点から新規性の高いシングルセルレベルでがん発症・進展する制御機構の解析を進め、国内外の研究をリードして行く。そのために私は、これまで解析困難であった“生体”での細胞外環境の力学測定、細胞の力学応答と、YAP 活性化の時空間的活性化動態解析技術を用いて解析を進める。更に、網羅的なシングルセル RNA 解析を用いて、がん進展の進行に伴う時空間的な YAP メカノホメオスタシス(YAP 力学的恒常性維持)の破綻の機能の理解をめざす独自性の高いアプローチである。生体内で時空間的に YAP メカノホメオスタシスを理解しようという発想は新規性の高いアプローチである。本研究の着眼点は、組織・臓器形成過程における生体内で生じる力と外的環境における力学的調和・恒常性がいかに組織・器官の維持に必要な不可欠であるかを明らかにすることである。

2 . 研究の目的

本研究では、一細胞レベル(スモールスケール)での YAP メカノホメオスタシスの破綻としてがんの発症・進展を理解し、その分子メカニズムの解明を目指す。また、がんの発症・進展はがん遺伝子の変異あるいは無秩序な細胞増殖・移動、および自己免疫制御因子群と拮抗的相互作用により異なる細胞集団の不均一性を示しながら進行している。そのことからがん微小環境下におけるがん細胞の細胞外環境の硬さへの細胞応答制御と YAP の活性化が、腫瘍形成(ラージスケール)のどの時期のどの細胞群で起こるかを生体内で時空間的に明らかにする。

3 . 研究の方法

1) YAP 活性化の時空間的解析 (CODEX 法) : YAP の時空間的活性化の解析: YAP の活性化と細胞外マトリックス構成因子および免疫細胞群とのタンパク発現の相関関係を“微小環境下の細胞集団”として分類化し、がん細胞の性質を明らかにする。そのために、40 以上の異なる抗体の時空間的発現様式を同一標本で同定・解析可能な CODEX 法を用いて、ヒトがん標本(大腸がん)およびマウス組織の切片上における解析を行う。

2) 生体の力学特性、力学応答と YAP 活性化との関連性の定量的解析 (3D magnetic tweezers 法) : がんの進展と硬さ(細胞外物理 学的環境の変化)の関連性を明らかにするために、ヒト標本上における多点同時力学的測定を行う。そのために、私のグループが以前に独自に樹立したマウス生体においての 3D magnetic tweezers 法 (Zhu, M., Tao, H. *et al.*, *Proc Natl Acad Sci*

USA, 2020; Zhu, M., Zhang, K., Tao, H. *et al.*, *Research (Washington)*, 2020) を用いて細胞外環境の力学特性測定に用いる。

3) YAP 活性化細胞の種類と機能解析(YAP-RFP reporter mouse の作製) : これまで YAP 活性化を可視化できるトランスジェニックマウス作成が困難であったため、生体における一細胞レベルでの時空間的活性化が不明であった。そのために YAP レポーターマウス作製を Dr. Bin Gu と共同研究進行中である。

4 . 研究成果

本研究では、一細胞レベルでの YAP 力学的恒常性維持の破綻として がんの発症・進展を理解し、その分子メカニズムの解明を目指した。そのため、次の三つの解析系の解析を進めた。1)YAP 活性化の時空間的タンパク解析、2)生体の力学特性、力学応答と YAP 活性化との関連性の定量的解析、3)YAP 活性化細胞の種類と機能解析。本解析で用いるヒト標本採取については、現在までに 30 検体の大腸癌標本がすでに得られている。また、本 CODEX 機材・試薬は本学に搬入済であり、解析に着手している。合わせて、2) 3) に該当する機材と YAP レポーターマウスの作製も進行中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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		
カナダ	The Hospital for Sick Children	University of Toronto	