

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2014～2015
課題番号：26860214
研究課題名(和文) 肺胞・気管支上皮におけるMOB1の機能解析

研究課題名(英文) Functions of MOB1 in murine lung

研究代表者

西尾 美希 (Nishio, Miki)

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号：10467897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Hippo経路は、細胞密度や細胞のサイズ、細胞外マトリックスの硬度など周囲環境からの機械的刺激を感知するユニークな経路であり、細胞分化や器官のサイズ、腫瘍の発症・進展制御に関与することから、近年注目を集めている。

本研究では、Hippo経路のコア分子の一つであるMOB1A/MOB1Bの肺胞・細気管支上皮特異的な完全二重欠損マウスを作製し、MOB1A/MOB1Bによる肺胞・細気管支の形成や腫瘍形成について解析し、MOB1A/MOB1Bが肺胞・細気管支の形成・機能維持に重要であることを見出した。また、MOB1A/MOB1Bは17型コラーゲン依存性に肺幹細胞維持に関与することを見出した。

研究成果の概要(英文)：Hippo signaling is activated when mechanical tension is imposed by the surrounding microenvironment such as high cell density, small cell size, and soft extracellular matrix. Dysregulation of this pathway leads to developmental abnormality, organomegaly, and tumorigenesis. To clarify the function of MOB1A/1B and Hippo pathway in normal lung development and the tumorigenesis, we generated mice deficient for MOB1A and MOB1B specifically in bronchioalveolar epithelial cells. Our results showed MOB1A/MOB1B is essential for normal alveolar cell maturation and surfactant homeostasis. In addition we showed that MOB1A/MOB1B controls adhesion of bronchiolar cells and BASCs to their niche by downstream Collagen17a1 dependent.

研究分野：病理病態医学

キーワード：Hippo経路 肺形成 腫瘍形成

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因の中でがんは最も多く、高齢者に至っては2人に1人ががんで死亡する。またがんの中でも、特に肺がんによる死亡率が最多であることから、肺がんの発症・進展機構の解明が急務である。

肺を構成する肺胞・気管支の形態形成・維持には、液性因子シグナル経路と細胞接触シグナル経路による制御が重要であり、これら両シグナルによって、細胞増殖、細胞死、幹細胞維持、コンタクトインヒビション(接触抑制)、細胞分化や極性形成などの事象が多層的に制御され、これらの破綻によって肺がんが起これると考えられる。

近年、接触抑制に重要なシグナル経路の1つとしてHippo経路が報告され、この経路は接触抑制の他にも、細胞増殖や細胞死、細胞未分化性、細胞遊走、平面極性、細胞競合などを制御することがわかってきた。また、Hippo経路のいくつかの遺伝子改変マウスにがん発症の報告があること、ヒトがん患者では高頻度にHippo経路分子の発現低下や遺伝子変異をみとめ、これらの有無が悪性度と相関することなどから、Hippo経路はがん抑制遺伝子としても注目され、今後のがん治療の標的経路として期待されている。しかしながら哺乳類Hippo経路には相同分子が極めて多いために、肺胞・細気管支の形成・維持にHippo経路上のどの分子が最も大切であるかを明らかにすることが急務である。さらにこれまでに作製されたHippo経路遺伝子欠損マウスはその多くが胎生早期に致死であったため、成体における肺胞・細気管支での各Hippo経路分子の生理機能やその破綻による病態の多くが未だ不明であった。

2. 研究の目的

MOB1AやMOB1BはHippo経路のコア分子で、LATSキナーゼ活性を著しく増強させるアダプター蛋白質である。MOB1Aはヒト非小細胞性肺がんの2/3の症例で顕著な発現低下を見ることから、肺がんの発症・進展に重要であると予想されているが、MOB1A/1Bの個体レベルでの肺における機能解析研究は未だなかった。そこで本研究では肺胞・細気管支上皮特異的なMOB1A/1B完全二重欠損マウスを作製・解析して、MOB1A/1Bによる肺胞・細気管支の形成・維持機構やその破綻による発がんの有無を解明することを試みた。

3. 研究の方法

Surfactant protein-C(SP-C)-rTA/o-tet Cre TgマウスとMOB1A^{lox/lox}, MOB1B^{-/-}マウスを交配し、ドキシサイクリン投与依存性に肺胞・細気管支上皮特異的にMOB1A/1Bを二重完全欠損させるマウスを用いて、

(1) 胎生期からのドキシサイクリン投与による肺胞・細気管支上皮特異的MOB1A/1B完全二重欠損マウスの解析：準備実験から、胎

生期から肺胞・細気管支上皮特異的にMOB1A/1Bを完全二重欠損させると、出生後数時間で致死となることから、発生のどの段階で障害をうけているのか、どのような障害が致死の原因であるかを探る。

(2) 成体になってからのドキシサイクリン投与による肺胞・細気管支上皮特異的MOB1A/1B完全二重欠損マウス解析：胎生期からのMOB1A/1B完全二重欠損は致死であることから、成体になってからのドキシサイクリン投与によるMOB1A/1B完全二重欠損マウスで、MOB1A/1Bの生理的役割やMOB1A/1B欠損による腫瘍発症や腫瘍以外の病態発症の有無などを探る。

4. 研究成果

(1) 胎生期からのドキシサイクリン投与による肺胞・細気管支上皮特異的MOB1A/1B完全二重欠損マウスの解析：

胎生期からのMOB1A/1B完全二重欠損による肺形成障害と致死：胎生期からドキシサイクリンを投与して肺胞・細気管支上皮特異的にMOB1A/1Bを完全二重欠損させると、出生後1時間以内にチアノーゼを呈して約7割が致死となった(図1左)。組織学的には、胎生18.5日からMOB1A/1B完全二重欠損肺では肺胞中隔の過形成による気腔の減少と気管支上皮の過形成がみられ(図1中央)、NKX2.1陽性の肺胞上皮細胞でもNKX2.1陰性の間質細胞でも増殖が亢進していた(図1右)。

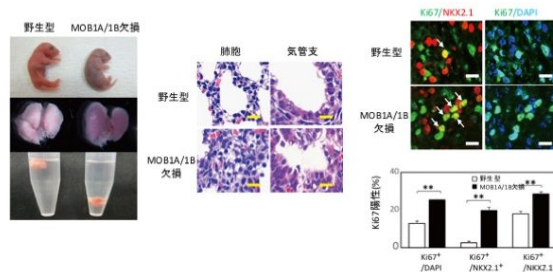


図1. MOB1A/1B完全二重欠損による肺形成障害と致死

型肺胞上皮細胞の分化障害：MOB1A/1B完全二重欠損肺胞上皮細胞では型肺胞上皮細胞の分化マーカーであるSP-B、SP-Cの発現低下、未分化マーカーであるN-MYC、Id2、SOX9の発現増加を認め(図2左)、電子顕微鏡像からも未分化な型肺胞上皮細胞の形態が観察された(図2右)。

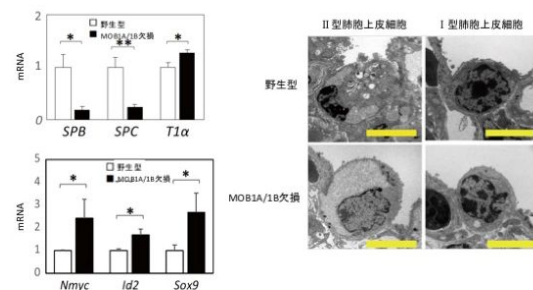


図2. II型肺胞上皮細胞の分化障害

これらのことから、胎生期から肺胞・細気管支上皮特異的に MOB1A/1B を完全二重欠損させると、未分化な肺胞上皮細胞の増加とそれに伴うサーファクタント蛋白質の産生低下によって気腔の発達障害が認められ、肺胞上皮細胞や間質細胞の増加による肺胞中隔の過形成によってガス交換が障害されることで、新生児呼吸促進症候群 (IRDS) 様の病態を呈して出生直後に致死となったと示唆された。

(2) 成体になってからのドキシサイクリン投与による肺胞・細気管支上皮特異的 MOB1A/1B 完全二重欠損マウス解析：

成体からの MOB1A/1B 完全二重欠損肺でのウレタン誘発性肺腺がん形成障害：成体からドキシサイクリンを投与して肺胞・細気管支上皮特異的に MOB1A/1B を完全二重欠損させたマウスを長期観察しても肺腫瘍の自然発症はみられなかったため、ウレタン投与による肺腺がん形成を誘発したところ、予想に反して MOB1A/1B 完全二重欠損肺では肺腺がん形成が顕著に抑制されていた (図 3)。

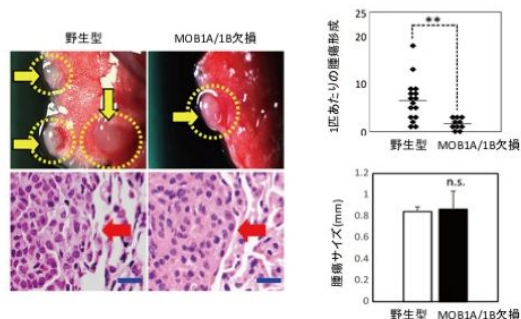


図3. MOB1A/1B完全二重欠損肺でのウレタン誘発性肺腺がん形成障害

細気管支上皮細胞の剥離、Collagen17a1 の発現低下と BASC の減少：MOB1A/1B 完全二重欠損肺では、細気管支上皮細胞が気管支内腔に剥離する組織像を認め、Collagen17a1 の発現が低下していた (図 4 左)。Collagen17a1 はケラチンサイトと基底膜との接着、メラノサイトと毛嚢ニッチとの接着に重要な、ヘミデスモソーム構成分子であることから、ヘミデスモソーム構造を電子顕微鏡により検討したところ MOB1A/1B 完全二重欠損細気管支ではヘミデスモソーム構造が障害されており、肺幹細胞 (BASC) の減少も認めた (図 4

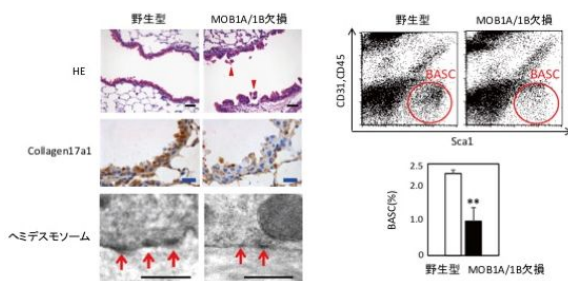


図4. 細気管支上皮細胞の剥離、Collagen17a1の発現低下とBASCの減少

右)。

Collagen17a1 欠損マウスとの共通性：Collagen17a1 欠損肺においても、細気管支上皮細胞の剥離、BASC の減少、ウレタン誘発性肺腺がん形成障害が観察され、MOB1A/1B 完全二重欠損肺にみられた表現型と類似していた。

これらのことから、成体になってから肺胞・細気管支上皮特異的に MOB1A/1B を完全二重欠損させると、Collagen17a1 の発現が顕著に低下することによって、ヘミデスモソーム構造形成が不良となり、細気管支上皮細胞の接着が障害されるため気管支内腔への剥離を生じ、これに伴って BASC が減少することにより、ウレタン誘発性肺腺がん形成が顕著に抑制されたと示唆された。

以上より、本研究によって MOB1A/1B は肺形成、特に発生後期に重要であること、また MOB1A/1B は肺腫瘍の発症・形成に予想に反して抑制的に働くことを見出した。今後は腫瘍形成抑制機構や腫瘍以外の肺疾患 (肺の線維化や喘息炎症) に対する MOB1 の機能を解明していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7件)

Nishio M, Sugimachi K, Goto H, Wang J, Morikawa T, Miyachi Y, Takano Y, Hikasa H, Itoh T, Suzuki SO, Kurihara H, Aishima S, Leask A, Sasaki T, Nakano T, Nishina H, Nishikawa Y, Sekido Y, Nakao K, Shin-Ya K, Mimori K, Suzuki A
Dysregulated YAP1/TAZ and TGF-signaling mediate hepatocarcinogenesis in Mob1a/1b-deficient mice.

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE USA

2016(査読あり), 113(1):E71-80.

doi: 10.1073/pnas.1517188113.

Hayashi K, Momoi Y, Tanuma N, Kishimoto A, Ogoh H, Kato H, Suzuki M, Sakamoto Y, Inoue Y, Nomura M, Kiyonar H, Sakayori M, Fukamachi K, Kakugawa Y, Yamashita Y, Ito S, Sato I, Suzuki A, Nishio M, Sukanuma M, Watanabe T, Shima H

Abrogation of protein phosphatase 6 promotes skin carcinogenesis induced by DMBA

ONCOGENE(査読あり)

2015, 34(35):4647-55.

doi: 10.1038/onc.2014.398.

Maehama T, Kawahara K, Nishio M, Suzuki A, Hanada K

Nucleolar stress induces ubiquitination-independent proteasomal degradation of PICT1

JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY (査読あり)

2014, 289(30): 20802-12
[http://www.jbc.org/content/289/30/20802
.long](http://www.jbc.org/content/289/30/20802.long)

〔学会発表〕(計 11件)

西尾美希、後藤裕樹、大坪孝平、藤庸子、
宮地洋祐、日笠弘基、杉町圭史、三森功士、
鈴木 聡

マウス肝臓における MOB1 の機能解析
**BMB2015 (第 87 回日本生化学会・第 37 回日
本分子生物学会合同総会) ワークショップ**
2015 年 12 月 神戸

鈴木 聡、西尾美希、後藤裕樹、大坪孝平、
藤 庸子、宮地洋祐、日笠弘基、三森功士
MOB1 による生体制御
第 24 回日本 Cell Death 学会学術集会 シン
ポジウム

2015 年 7 月 大阪

Suzuki A, Nishio M, Toh Y, Otsubo K
Mob1a/1b control cell differentiation and
cancer suppression in mice.

第 73 回日本癌学会学術総会 シンポジウム
2014 年 9 月 横浜

〔図書〕(計 3件)

Nishio M, Goto H, Suzuki M, Fujimoto A,
Mimori K, Suzuki A

The Hippo Signaling Pathway: A Candidate
New Drug Target for Malignant Tumors
INNOVATIVE MEDICINE: Basic Research and
Development (edited by Nakao K),
Springer 2015

後藤裕樹、西尾美希、加藤稚子、前濱朝彦、
鈴木 聡

機械的刺激によるHippo-YAZ/TAZ経路の活性化、
生理作用、腫瘍進展メカニズムと意義
(特集:細胞の社会学—細胞間で繰り広げら
れる協調と競争)

生体の科学 67(2), 127-131, 2016

後藤裕樹、西尾美希、杉町圭史、三森功士、
鈴木 聡

Hippo 経路と腫瘍 - Hippo 経路変異によるがん
モデルマウス -

医学のあゆみ 251(5), 428-435, 2014

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/hassei
/Home.html](http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/hassei/Home.html)

6. 研究組織

(1)研究代表者

西尾 美希(NISHIO,miki)

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号:10467897

(2)連携研究者

鈴木 聡(SUZUKI, akira)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号:10311565

大坪 孝平(OOTSUBO, kohei)

九州大学・呼吸器科・大学院生