

器官サイズを調節する転写共役因子 YAP の活性制御

島 星治^{1,2}, 堅田 利明¹, 仁科 博史²

1. はじめに

組織における細胞の数の制御は、器官のサイズや組織の恒常性の維持に必須であり、この破綻は器官形成不全や発がんに至る。がん抑制シグナル伝達経路の一つである Hippo 経路は、細胞の増殖、生死、分化などを制御して組織における「細胞の数」を調節し、器官のサイズや組織の恒常性を維持している¹⁾。YAP (yes-associated protein) とそのパラログである TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif) は、Hippo 経路の中心的な役割を果たす転写共役因子である。YAP と TAZ はさまざまな遺伝子発現の誘導を介して細胞増殖を促進し細胞死を抑制することで Hippo 経路のエフェクターとして機能する。近年では多様な Hippo 経路の上流の制御機構が明らかにされ、細胞が接触する細胞外基質や隣接する細胞との接着といった細胞の接触状態の違いによって Hippo 経路の活性が巧妙に制御されていることが明らかになりつつある。本稿では、Hippo 経路の中心的役割を担う YAP の制御機構に焦点をあて、進展の目覚ましい本領域における最新の知見を哺乳動物に関するものを中心として概説するとともに、我々が最近明らかにした翻訳後修飾を介した YAP の新たな制御機構に関する研究成果を紹介する。

2. YAP による器官サイズと発がんの制御

器官のサイズは、構成する「細胞の数」と「個々の細胞の大きさ」によって規定されており、Hippo-YAP 経路は器官における「細胞数」の制御を担う(図 1)。一方、「個々の細胞の大きさ」は栄養状態を感知する mTOR 経路によ

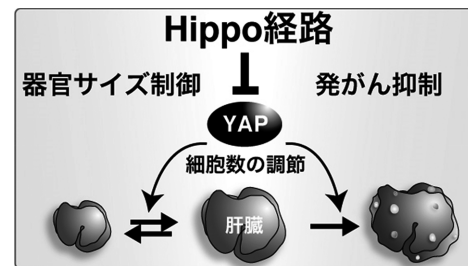


図 1 Hippo-YAP 経路による器官サイズ制御と発がん抑制

り制御されていることが知られているが、多くの場合、器官のサイズ制御は「細胞の数」に依存している¹⁾。肝臓や心臓などのいくつかの器官において YAP 依存的にサイズが制御されていることが示されており、特に肝臓においては顕著である。マウス肝臓の肝実質細胞において YAP を過剰発現させると、肝実質細胞の増殖が亢進し、通常は全体重の約 5% に維持されている肝臓重量比が約 25% にまで増大することが示されている²⁾。興味深いことに、肝臓が増大した後に YAP の発現誘導を中止すると、肝臓は元のサイズにまで戻る。これは、肝臓のサイズが YAP 依存的に可逆的に制御されていることを示唆している。さらに、長期間にわたって YAP の発現を誘導すると、肝細胞がんの発症に至る。肝細胞がんを含むヒトのさまざまな種類のがん症例において、YAP 遺伝子座を含むゲノム領域が増幅しており、YAP の発現量の増加や核内局在の亢進が報告されていることから、YAP はがん遺伝子産物であることが明らかとなっている^{3,4)}。

3. Hippo 経路によるリン酸化を介した YAP の機能抑制機構

哺乳動物の Hippo 経路の主要構成因子はショウジョウバエの Hippo のホモログである Mst1/2 (mammalian ste20-like kinase 1 と 2), Lats1/2 (large tumor suppressor 1 と 2), Sav (salvador), Mob1 (mps one binder 1), YAP と TAZ および TEAD1/2/3/4/である¹⁾(図 2A)。YAP と TAZ は転写共役因子であり、転写活性化ドメインを有するものの DNA 結合ドメインは持たない。このため、YAP は核内にさまざまな転写因子と結合することで各々の転写因子が標的

¹ 東京大学大学院薬学系研究科生理化学教室 (〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1)

² 東京医科歯科大学難治疾患研究所発生再生生物学分野
Regulations of YAP transcriptional co-activator
 Shoji Hata^{1,2}, Toshiaki Katada¹ and Hiroshi Nishina²
 (¹Laboratory of Physiological Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan; ²Department of Developmental and Regenerative Biology, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University)

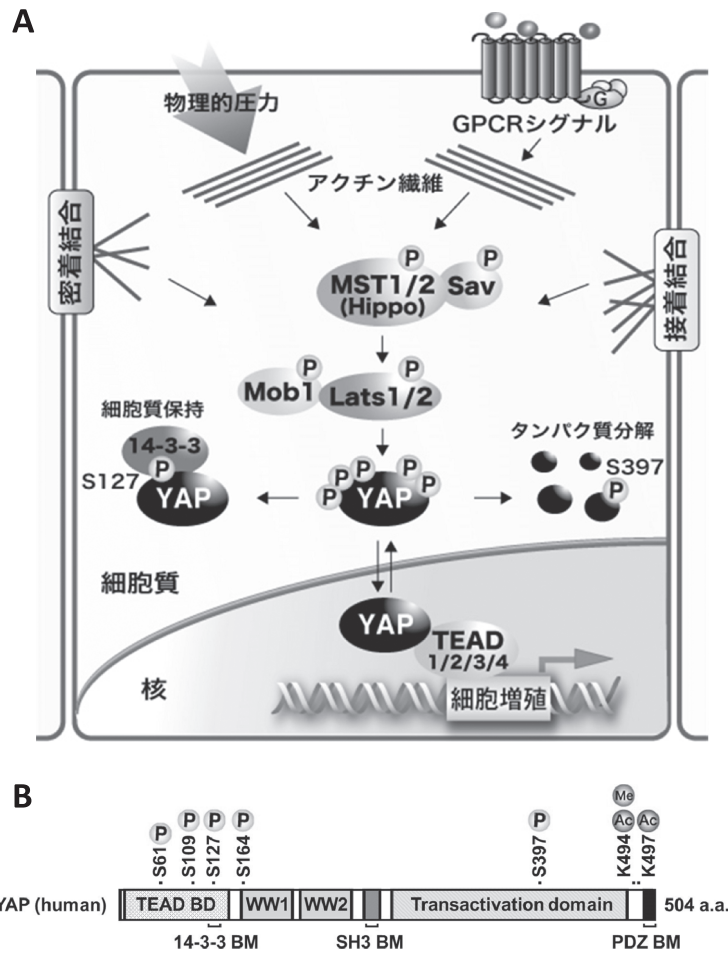


図2 Hippo 経路による YAP のリン酸化制御
 (A) Hippo 経路の模式図. (B) YAP のドメイン構造. Hippo 経路による 5 か所のリン酸化部位 (P) と新たに同定されたアセチル化 (Ac) およびモノメチル化部位 (Me).

とする遺伝子の発現を誘導する. 中でも, YAP の機能を主に介在する転写因子は TEAD であり, TEAD は細胞増殖の促進や細胞死の抑制に関与する遺伝子群の発現を担っている.

Hippo 経路においてシグナル伝達経路としての中核をなすのは, セリン/トレオニンキナーゼの Mst1/2 と Lats1/2 によるキナーゼカスケードである. Mst1/2 は Lats1/2 をリン酸化して活性化させる. 活性化された Lats1/2 は YAP の 5 か所のセリン残基をリン酸化する (図 2B). 127 番目のセリン残基がリン酸化されると, 14-3-3 タンパク質がこの部位に直接結合することにより YAP を細胞質に保持する⁴⁾. その結果, YAP の核内局在が抑制されて YAP 依存的な遺伝子発現が負に制御される. また, YAP の 397 番目のセリン残基が Lats1/2 によりリン酸化されると, ユビキチンリガーゼ複合体との相互作用が誘導され, YAP はユビキチン・プロテアソーム系依存的に分解される⁵⁾. このように, Hippo 経路はリン酸化を介して YAP の細胞内

局在と安定性を制御することで, YAP による細胞増殖や発がん性形質転換の誘導を抑制している.

Hippo 経路の主要構成因子は, ヒトから海綿動物に至る後生動物間において進化的にほぼ保存されている⁶⁾. 植物には保存されていないものの, 一部の単細胞真核生物にまで保存されている点は興味深い. Hippo 経路の起源は出芽酵母における分裂期脱出制御分子群 (Mitotic Exit Network) や分裂酵母における隔壁形成分子群 (Septation Initiation Network) にあると考えられており, 主要構成因子が保存されているだけでなく, シグナル伝達機構も類似している⁷⁾. YAP 自体は酵母に保存されていないものの, 非後生生物であるアメーバ型の真核単細胞生物 *Capsaspora owczarzaki* には保存されている⁸⁾. この YAP ホモログも組織サイズ制御能力を保持することがショウジョウバエを用いた解析により示されている. このため, Hippo-YAP 経路は進化的に広く保存された細胞の増殖制御機構であるとみなすことができる.

4. 細胞の接触状態を感知するアクチン細胞骨格による YAP の活性制御

生体器官において血球系以外の細胞は隣接する細胞や周囲の細胞外基質と常に接触した状態にある。細胞による接触状態の感知は組織の恒常性維持に重要であり、その重要性は、非腫瘍性培養細胞株が接触阻害 (contact inhibition) という高細胞密度時にみられる増殖停止機構を有することからも示唆される。Hippo 経路は細胞間の接触によって活性化され、接触阻害の分子機構として機能することが示されている⁴⁾。特に、上皮細胞はさまざまな細胞間結合によって隣接した細胞と強固に接着している。上皮細胞間結合やそれによって形成される上皮細胞極性の維持は、細胞の腫瘍抑制機構の一つであり、それらが崩壊した細胞では YAP が活性化していることが示されている¹⁾。興味深いことに、Hippo 経路の上流制御因子として同定されている多くの分子が、密着結合、接着結合、頂端極性複合体の構成因子として知られている。

細胞は隣接した細胞に加えて細胞外基質にも接触しており、このような接触による外的な物理的圧力を感知して、増殖や遊走といったさまざまな細胞の挙動を制御している。アクチンなどの細胞内骨格がこのような物理的圧力の感知を担っているが、そのシグナルが YAP および TAZ を介して核内での遺伝子発現誘導に至ることが近年明らかになった⁹⁾。接触する細胞外基質の剛性が高いときや細胞の形態が広がっている場合には、接着斑を介して細胞内のアクチン線維の張力が高まり、YAP および TAZ の活性化を誘導する。アクチン線維から YAP の活性化に至る分子機構は未解明な点が多いが、Hippo 経路依存的な機構と非依存的な機構が報告されている。興味深いことに、物理的圧力に加えて、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) シグナル伝達経路といった、アクチン線維の形成やストレスファイバーの形成を誘導する刺激も YAP の活性化を誘導することが報告された¹⁰⁾。また、上皮細胞における接着結合の細胞質側にはアクチン線維が集積しており、密着結合によって形成される上皮細胞極性にはアクチン細胞骨格が必要である。これらのことから、細胞の接触状態に依存したアクチン細胞骨格の変化に反応して YAP の活性化状態を制御し、細胞は増殖や遊走、分化といった細胞機能を発揮していると考えられる。

5. アセチル化とメチル化による YAP の新たな制御機構

1) アセチル化による YAP の制御

上記のように、細胞質における YAP の制御機構は詳細

に解析されているが、YAP が機能する核内での制御機構については不明な点が多い。我々はこの点に着目し、YAP の核内移行を誘導する刺激を利用して核内における YAP の制御機構を探索し、YAP が新たにアセチル化されることを見いだした¹¹⁾。解析の結果、① YAP の C 末端近傍の 2 か所のリシン残基 (K494 と K497) がアセチル化修飾を受けること、② YAP のアセチル化が核内に局在するアセチル化酵素 CBP/p300 によって担われていること、③脱アセチル化を担う酵素は SIRT1 であること、④アセチル化部位の変異により YAP の転写活性化能が変化することを見いだした (図 3A)。CBP/p300 は YAP と同様に転写共役因子として機能することが知られており、また、SIRT1 もエピジェネティックな制御を介して遺伝子発現を調節することが知られている。このため、これらの酵素は YAP のアセチル化状態を制御して、YAP による遺伝子発現誘

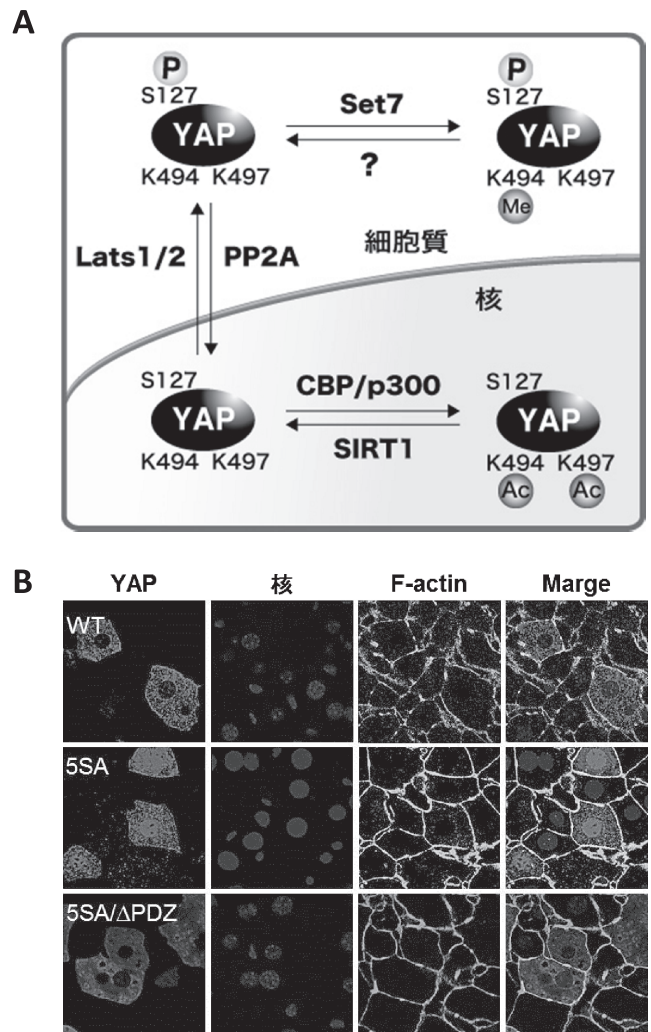


図3 YAP の翻訳後修飾と細胞内局在制御 (A) YAP のリン酸化、アセチル化、モノメチル化修飾と触媒酵素。 (B) 野生型 YAP (上段) と変異型 YAP (中、下段) のマウス肝細胞内局在。

導を調節している可能性が考えられる。

2) モノメチル化による YAP の制御

YAP のアセチル化部位の一つである K494 は、ショウジョウバエからヒトに至るまで進化上高度に保存されているアミノ酸残基である。我々は Zaph らのグループとの共同研究により、YAP の K494 が新たにモノメチル化されることを明らかにした (図 3A)¹²⁾。解析の結果、①メチル化酵素 Set7 が YAP のモノメチル化および培養線維芽細胞での細胞質への局在化に必要であること、② Set7 を欠損したマウスの腸管上皮において前駆細胞の増加を伴う形態異常が生じること、③この前駆細胞では YAP の核内局在が亢進し下流遺伝子群の発現が亢進することを見いだした。培養線維芽細胞において Set7 は主に細胞質に局在していることから、YAP のモノメチル化は細胞質で生じており、YAP を細胞質に保持するために機能していることが示唆される。また、Set7 欠損マウスで観察される表現型は Hippo 経路の破綻によって生じる表現型と類似している。これらの結果は、リン酸化修飾に加えて、モノメチル化修飾による YAP の機能制御も個体の組織恒常性維持において重要な役割を担っていることを示唆している。

3) アセチル化/モノメチル化部位の近傍に存在する PDZ-binding motif の機能

YAP のアセチル化/モノメチル化部位である K494 の C 末端側の数アミノ酸近傍に、PDZ-BM (PDZ-binding motif) が存在する。我々は最近、この PDZ-BM が生体マウス肝臓の肝実質細胞において、YAP の核内局在に必須であることを見いだした¹³⁾ (図 3B)。野生型の YAP (WT) は肝実質細胞において細胞質に局在するが、Hippo 経路によるリン酸化部位をアラニン残基に変異させた YAP (5SA) は核内に強く局在する。しかし、PDZ-BM を欠失した YAP (5SA/ΔPDZ) は核内に局在することはできない。YAP の細胞内局在を制御する分子の一つとして PDZ ドメインを有する ZO2 (zonula occludens 2) が報告されている¹⁴⁾。このため、YAP のアセチル化/モノメチル化は近傍の PDZ-BM の機能に影響を与え、ZO2 などの PDZ ドメイン含有タンパク質との相互作用を変化させることで YAP の細胞内局在を制御している可能性が考えられる。

リシン残基はアセチル化修飾とメチル化修飾を同時に受けることができないことから、リシン残基の修飾状態の変化はタンパク質の機能を切り替えるスイッチとして働く可能性がある。これまでに、ヒストン H3 の K9 がアセチル化とトリメチル化の修飾を受け、これらの修飾がクロマチン構造の変換のスイッチの役割を果たすことが知られている¹⁵⁾。それゆえ、YAP における K494 のアセチル化とモノメチル化も YAP の機能を制御するスイッチとして働き、

転写活性化能の調節や細胞内局在制御を担う可能性が考えられる。

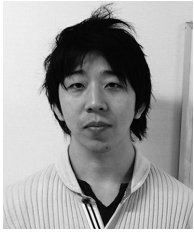
6. おわりに

器官のサイズ制御機構は長い間不明であったが、近年の研究の進展により、器官サイズを制御する細胞内の分子機構 (Hippo-YAP 経路) の実態と、個々の細胞が置かれている状況 (情報) を細胞内へ伝達する分子機構 (アクチン細胞骨格による接触情報の感知) が明らかとなりつつある。このような知見を基盤として、器官サイズ制御機構においてまだ不明な点の多い、器官レベルと細胞レベルの二つの階層間の隔たりを埋める分子機構の解明が期待される。

- 1) Yu, F.X. & Guan, K.L. (2013) *Genes Dev.*, 27, 355-371.
- 2) Dong, J., Feldmann, G., Huang, J., Wu, S., Zhang, N., Comerford, S.A., Gayyed, M.F., Anders, R.A., Maitra, A., & Pan, D. (2007) *Cell*, 130, 1120-1133.
- 3) Zender, L., Spector, M.S., Xue, W., Flemming, P., Cordon-Cardo, C., Silke, J., Fan, S.T., Luk, J.M., Wigler, M., Hannon, G.J., Mu, D., Lucito, R., Powers, S., & Lowe, S.W. (2006) *Cell*, 125, 1253-1267.
- 4) Zhao, B., Wei, X., Li, W., Udan, R.S., Yang, Q., Kim, J., Xie, J., Ikenoue, T., Yu, J., Li, L., Zheng, P., Ye, K., Chinnaiyan, A., Halder, G., Lai, Z.C., & Guan, K.L. (2007) *Genes Dev.*, 21, 2747-2761.
- 5) Zhao, B., Li, L., Tumaneng, K., Wang, C.Y., & Guan, K.L. (2010) *Genes Dev.*, 24, 72-85.
- 6) Hilman, D. & Gat, U. (2011) *Mol. Biol. Evol.*, 28, 2403-2417.
- 7) Hergovich, A. & Hemmings, B.A. (2012) *Semin. Cell Dev. Biol.*, 23, 794-802.
- 8) Sebe-Pedros, A., Zheng, Y., Ruiz-Trillo, I., & Pan, D. (2012) *Cell Rep.*, 1, 13-20.
- 9) Dupont, S., Morsut, L., Aragona, M., Enzo, E., Giulitti, S., Cordenonsi, M., Zanconato, F., Le Digabel, J., Forcato, M., Bicciato, S., Elvassore, N., & Piccolo, S. (2010) *Nature*, 474, 179-183.
- 10) Yu, F.X., Zhao, B., Panupinthu, N., Jewell, J.L., Lian, I., Wang, L.H., Zhao, J., Yuan, H., Tumaneng, K., Li, H., Fu, X. D., Mills, G.B., & Guan, K.L. (2012) *Cell*, 150, 780-791.
- 11) Hata, S., Hirayama, J., Kajihito, H., Nakagawa, K., Hata, Y., Katada, T., Furutani-Seiki, M., & Nishina, H. (2012) *J. Biol. Chem.*, 287, 22089-22098.
- 12) Oudhoff, M.J., Freeman, S.A., Couzens, A.L., Antignano, F., Kuznetsova, E., Min, P.H., Northrop, J.P., Lehnertz, B., Barsyte-Lovejoy, D., Vedadi, M., Arrowsmith, C.H., Nishina, H., Gold, M.R., Rossi, F.M., Gingras, A.C., & Zaph, C. (2013) *Dev. Cell*, 26, 188-194.
- 13) Shimomura, T., Miyamura, N., Hata, S., Miura, R., Hirayama, J., & Nishina, H. (2014) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 443, 917-923.
- 14) Oka, T., Remue, E., Meerschaert, K., Vanloo, B., Boucherie, C., Gfeller, D., Bader, G.D., Sidhu, S.S., Vandekerckhove, J., Gettemans, J., & Sudol, M. (2010) *Biochem. J.*, 432, 461-472.
- 15) Sims, R.J., 3rd, Nishioka, K., & Reinberg, D. (2003) *Trends Genet.*, 19, 629-639.

著者寸描

● 畠 星治 (はた しょうじ)



日本学術振興会特別研究員 (PD), 東京大学大学院薬学系研究科生理化学教室所属。理学博士。

■略歴 1983年埼玉県に生る。2006年東京薬科大学生命科学部卒業。11年東京医科歯科大学大学院生命情報科学部博士課程修了。08~11年日本学術振興会特別研究員 (DC1)。11~13年東京医科歯科大学難治疾患研究所特任助教。13年より現職。

■研究テーマと抱負 腫瘍抑制機構の解明を Hippo 経路の観点から行っている。14年3月からドイツ・ハイデルベルク大学 Elmar Schiebel 研究室との共同研究のため、長期の渡独。ドイツ留学を楽しみたい。

■ウェブサイト <http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~seiri/>

■趣味 料理, ソフトテニス。