

MATS 遺伝子による発生・発がん制御

九州大学 生体防御医学研究所 ゲノム腫瘍学分野
鈴木 聡

1. はじめに 緒言 目的 背景 序論

ショウジョウバエにおいては、Hippo経路にある各分子の変異体が劇的な器官サイズ変化をもたらすことから昨今注目され、これらの哺乳類相同分子も近年同定された。細胞表面のカドヘリン様分子による細胞接着によって、あるいは放射線、 H_2O_2 、熱ショック、薬剤ストレス刺激によって、MSTキナーゼに引続きLATS/NDRキナーゼが活性化し、最終的には転写共役因子のYAP/TAZをリン酸化する。YAP/TAZがリン酸化されるとその核局在が抑制されるとともにその蛋白質崩壊が加速されることによって、標的遺伝子の転写が負に制御され、細胞増殖が抑制されると考えられている。この様に転写共役因子のリン酸化によって細胞増殖に関与するシグナル伝達様式は、WNT経路に非常に類似する。さらにHippo経路分子にあるいくつかの遺伝子の改変マウス(NF2, RASSF1, LATS1, YAP)にがんの発症が報告されたこと、ヒトがん患者では早期からHippo経路分子の発現低下や遺伝子変異を認め、がんの進行とともにその異常頻度が増加すること等から、本経路はがんの発症・進展に重要であることは間違いなく、今後のがん治療の主要な標的経路になると期待されている。

しかしながらこれまでに作製されたHippo経路遺伝子の改変マウス(FAT1, FAT4, WW45, LATS2)の多くは胎生致死であったために、がんにおける各Hippo経路分子の役割の多くは未だ不明である。また哺乳類ではショウジョウバエと異なり相同分子が非常に数多く存在することから、Hippo経路の中からがん治療標的分子を選択するには、この経路にある各分子の全貌解明が必須である。

Hippo経路にあるMATSはLATSキナーゼのアダプター蛋白質で、MSTキナーゼによるLATSキナーゼの活性化を制御することが報告されており、(1)MATSの遺伝子欠損マウスはまだ作製されておらず個体レベルの機能解析は未だ報告がないこと、(2)MATSはLATSキナーゼのみならずNDRキナーゼの調節サブユニットとしても働きうるために最も広範にシグナルを伝達する最下流の分子であると考えられること、(3)高頻度な発現低下が広範囲なヒト悪性腫瘍に認められ、ゲノムレベルでの遺伝子変異例も報告されていること、(4)MATSには7つのアイソタイプが存在するが、ショウジョウバエのMATSに最も近いものはMATS1とMATS2であること等から、申請者は特にMATS1/2遺伝子に興味をもち研究を開始した。

本研究によって、MATS1/2遺伝子の生理作用やその破綻による腫瘍や腫瘍以外の疾患を明示することをその主な目的とする。

その他MATSを巡る現状としては、MATS1はヒト大腸がんや非小細胞性肺がんの2/3で遺伝子発現の減弱があり、この発現減弱は早期がんから顕著で、発現減弱の程度は腫瘍の進展・転移と相関すること、ヒトメラノーマや乳がん細胞株においてはDNA変異があること等が報告されている。生化学的には、細胞接触や種々のストレス刺激によってMSTキナーゼが活性化され、活性化されたMSTキナーゼは、MATSをリン酸化することによってはじめて、下流のLATSキナーゼやNDRキナーゼとも結合してリン酸化し、シグナルを下流に伝えることが報告されている。しかしながら、MATS1の個体レベルでの機能解析研究は未だ報告がない。一方、MATS1とアミノ酸レベルで95%相同なMATS2の機能や、MATS2のヒトがんとの相関については、細胞レベルの機能解析研究さえも全く研究がなされていないのが現状である。

2. 3. 方法と結果 研究成果

A. 発生におけるMATS1/MATS2の役割：

MATS1、MATS2の機能を明らかにするために、これら各分子の遺伝子欠損マウスをそれぞれ作製した。しかしながら、これら遺伝子欠損マウスは正常に発育し、いまのところ腫瘍形成等の表現型を見出せていない。MATS1とMATS2はそのアミノ酸の高い相同性から互いに機能を相補する可能性が示唆される。そこで今回申請者はMATS1/2のダブルホモ欠損マウスを作製したと

ころ、着床直後に胎生致死となった。また胚盤胞では GATA4/6 や PDGFR α の発現の顕著な低下をみることで、胚盤胞の *in vitro* 培養法では内部細胞塊の形成が顕著に障害されることから、原始内胚葉形成に障害のあることがわかり、これらの結果は ES 細胞の *in vitro* 分化法によっても再現できた。

B. 発がんにおける MATS1/MATS2 の役割 :

Mats1/Mats2 ダブルホモ欠損マウスが胎生早期に致死であったために、Mats1 ホモ/Mats2 ヘテロ欠損マウスや Mats1 ヘテロ/Mats2 ホモ欠損マウスなどの Mats1/Mats2 部分欠損マウスを経過観察すると、皮膚がん、骨肉腫、筋線維肉腫、唾液腺腫瘍、乳がん、肝がん、肺がんなどの腫瘍形成を早期から高頻度に発症した。これらの腫瘍の多くは転移性であり、また残された野生型アリルに LOH が認められた。その他これらのマウスには歯芽の伸長や骨梁数の増加、内耳有毛細胞の極性障害による平行障害なども認められた。

C. ケラチノサイト特異的な MATS1/ MATS2 ダブルホモ変異マウス :

MATS1/MATS2 部分欠損マウスの全例に皮膚腫瘍の形成を認めたことから、次に皮膚特異的な MATS1/MATS2 ダブルホモ欠損マウスを作製した。このマウスでは皮膚が肥厚し、毛髪は細く・短く・彎曲をみた。またマウスは口腔上皮の肥厚により栄養状態が悪化し、全例生後 4 週で死亡した。組織学的に第一毛髪周期をみると、catagen 期 (退行期) における皮膚上皮の退縮が顕著に抑制されていた。また不全角化も顕著で、K14, K5, Sox9, Lgr5, Sca1 などを発現する未分化ケラチノサイトが増加し、K10, Filaggrin などを発現する分化ケラチノサイトは減少した。その他通常 K15 は基底細胞に発現するが、K15 の分布が上皮内に無秩序に局在し平面極性が障害されていた。

細胞学的には 1 次・2 次コロニー形成を指標にした自己複製能亢進、Ku67 を指標にした細胞増殖の亢進、Tunnel 法を指標にした細胞死抵抗性をみた。さらに組織学的に単位長さあたりの基底細胞数の増加をみることで、細胞学的に飽和細胞密度の増加をみることから、細胞間の接触抑制が低下していることがわかった。生化学的には下流の LATS2 のリン酸化の減少の他に LATS1 は総蛋白量が激減することから LATS1 蛋白質の安定化にも関与していることがわかった。さらに YAP のリン酸化は抑制され、核移行が亢進していた。

D. ヒト皮膚腫瘍における MATS1/ MATS2 :

MATS1/MATS2 部分欠損マウスにみられた皮膚腫瘍は K17, K5, K15, AE13 陽性, K10, Trychohyalin 陰性で外毛根鞘由来であることがわかった。そこで外毛根鞘由来のヒト腫瘍における YAP の発現をみたところ、高頻度に核局在を認め活性化していた (大阪大学医学部板見智先生との共同研究)。また MATS1/MATS2 欠損によって毛包系腫瘍の発症に重要な Gli2 の発現が亢進していることも見出した。このように Hippo 経路は毛包系腫瘍の特に外毛根鞘由来の腫瘍の発症を制御していることを直接明らかにした。

4. 考察 まとめ

MATS1/MATS2 欠損マウスを作製して、(1)MATS1 と MATS2 は高い相同性を持ち、機能的に他をほぼ代償する、(2) MATS1/2 は初期発生に必須の分子である、(3) MATS1/2 によって下流の LATS のリン酸化のみならず、LATS1 に対しては蛋白質の安定化に作用する、(4) MATS1/2 は癌抑制遺伝子として作用し、種々の癌の発症に関与する、(5)ケラチノサイト特異的 MATS1/2 ダブルホモ欠損マウスを作製し、このマウスでは細胞増殖亢進、細胞死抵抗性、細胞接触抑制障害 (細胞飽和密度上昇) 未分化性の亢進をみ、上皮は著明に肥厚して、生後早期致死となる、(6) MATS1/2 は皮膚腫瘍の中でも毛包系の特に外毛根鞘由来の腫瘍の発症を制御することなどを明らかにした。

現在皮膚以外の組織における MATS1/2 の機能を検討中であり、LATS2, YAP などの機能も検討中である。

5. 発表論文、参考文献

これまでの研究成果は近く論文発表予定であり、参考論文としては以下のものがあげられる。

- (1) Lai ZC, Wei X, Shimizu T, Ramos E, Rohrbaugh M, Nikolaidis N, Ho LL, Li Y.

Control of cell proliferation and apoptosis by mob as tumor suppressor, mats.

Cell. 2005;120(5):675-85.

(2) Zhao B, Tumaneng K, Guan KL.

The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell self-renewal.

Nat Cell Biol. 2011;13(8):877-83.

(3) Halder G, Johnson RL.

Hippo signaling: growth control and beyond.

Development. 2011;138(1):9-22.

(4) Pan D.

The hippo signaling pathway in development and cancer.

Dev Cell. 2010;19(4):491-505.

(5) Saucedo LJ, Edgar BA.

Filling out the Hippo pathway.

Nat Rev Mol Cell Biol. 2007;8(8):613-21.

(6) Pan D.

Hippo signaling in organ size control.

Genes Dev. 2007;21(8):886-97.

(7) Harvey K, Tapon N.

The Salvador-Warts-Hippo pathway - an emerging tumour-suppressor network.

Nat Rev Cancer. 2007;7(3):182-91.

(8) Edgar BA.

From cell structure to transcription: Hippo forges a new path.

Cell. 2006;124(2):267-73.