

令和 2 年 3 月 25 日

若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 201980339

氏名 長島 俊太

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。
なお、下記記載の内容については相違ありません。

記

1. 派遣先：都市名 ニュージャージー州 (国名 アメリカ合衆国)
2. 研究課題名 (和文) : TAZ/YAP1 の活性化剤・阻害剤が心筋細胞に与える影響の解析
3. 派遣期間：令和 1 年 12 月 1 日 ~ 令和 2 年 2 月 29 日 (91 日間)
4. 受入機関名・部局名：ラトガース ニュージャージー医科大学 細胞生物学および分子医療学科
5. 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

<背景と目的> 転写共役因子 Transcriptional Coactivator with PDZ-binding Motif/Yes Associated Protein1 (TAZ/YAP1) は器官のサイズを決定するシグナル Hippo pathway で制御される。ヒトの Hippo pathway は Large Tumor Suppressor kinase1/2 (LATS1/2) を中核として、腫瘍抑制シグナルとして働く。上皮細胞では細胞が十分に増殖し接触阻害が起こるとき、あるいは、DNA が損傷され細胞周期を止める必要が生じるときに、LATS1/2 が活性化し TAZ/YAP1 をリン酸化する。リン酸化された TAZ/YAP1 は細胞核から細胞質に移行し分解される。ヒトガンでは Hippo pathway の機能不全により、細胞核内の TAZ/YAP1 が増え、TAZ/YAP1 により細胞増殖促進、細胞死抑制に関わる遺伝子転写が高まり、接触阻害やチェックポイントが作動しなくなり、上皮間葉化が起こり悪性化する。従って、TAZ/YAP1 阻害剤はがんの悪性を防ぎ臨床予後を改善すると期待される。一方、TAZ/YAP1 は組織幹細胞の機能を維持し組織障害時の再生修復に寄与する。心臓でも TAZ/YAP1 は心筋保護に必要で、Hippo pathway の活性化は心筋に障害的に作用する。すなわち、TAZ/YAP1 活性化剤は心筋梗塞治療などに有用と考えられるが、TAZ/YAP1 阻害剤は心臓毒性を示す可能性が懸念される。私はがん治療、再生医療に資する薬剤の開発を目指して、TAZ の細胞内局在変化を利用したスクリーニングで阻害剤を、TAZ 依存的な転写活性を測定するレポーターを用いたスクリーニングで活性化剤を探索し、複数の候補化合物を獲得し、その一部は既に論文発表している。今回は、その中で Ethacridine (TAZ/YAP1 活性化剤)、IBS015181 (TAZ/YAP1 阻害剤) を用いて、それぞれが心筋細胞に対してどのように作用する

か解析し、TAZ/YAP1 活性化剤の心臓治療薬としての可能性と、TAZ/YAP1 阻害剤の心筋細胞に対する毒性を示す可能性を検討することを旨とした。

<結果>まず TAZ/YAP1 の細胞内局在を指標として、Ethacridine、IBS015181 が心筋細胞でも、それぞれ TAZ/YAP1 の活性化剤、阻害剤として働くことを確認した。この時点で、IBS015181 が著しく細胞死を惹起することが観察され、TAZ/YAP1 阻害剤をがん治療に用いるに際しては心筋毒性に注意する必要があることが確認された。以降の実験では Ethacridine のみを対象とした。

派遣先では、心筋細胞では YAP1 が転写因子 FoxO1 と共役し抗酸化作用をもつ Catalase、Manganase Superoxide Dismutase(MnSOD)の発現を高める機能をもつこと、しかし、虚血再灌流時には Hippo pathway が活性化して YAP1 と FoxO1 の共役が抑制され酸化ストレスに対する抵抗性が下がることを報告している。そこで、「Ethacridine が心筋細胞において YAP1 と FoxO1 の共役を増強し、Catalase、MnSOD の発現を高め、酸化ストレスに対する抵抗性を強める」という仮説のもとに実験を行った。まず、FoxO1 結合領域をもつレポーターと Catalase のプロモーター領域をもつレポーターの活性に対する Ethacridine の影響を検討した。どちらのレポーターに対しても、Ethacridine はその活性を高める傾向を示したが統計的有意差は得られなかった。しかし、MnSOD の発現は mRNA レベル、蛋白レベル共に顕著に増強した。すなわち、Ethacridine は心筋保護的に作用する可能性があることが確認された。

6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

上記のように、*in vitro* の実験結果は、Ethacridine が心筋保護に有用である可能性を示唆する。このことを *in vivo* で検証する必要があるが、今回は滞在期間が短く、動物実験資格を取得できず達成できなかった。当該実験は、虚血/再灌流モデルマウスを作成できる派遣先の研究室でしか行えない実験なので、できれば来年度以降、再訪し検討したいと考えている。また、Ethacridine の作用機序として、Ethacridine が TAZ/YAP1 の脱リン酸化を起こすことは、既に明らかにしているが、Ethacridine の直接の分子標的は不明である。私は今回は解析対象としなかった別の TAZ/YAP1 阻害剤の標的同一に成功しているので (論文執筆中)、その経験をもとに Ethacridine の標的を決定し、*in vivo* の実験結果と合わせ、派遣先の指導者と相談して成果発表につなげたいと考えている。

7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

TAZ 阻害剤、活性化剤が心筋に及ぼす作用を検証したいと考え渡米し、所期の目標を達成することができた。TAZ/YAP1 阻害剤をがん治療に使用する際に、心臓に係る有害事象に注意する必要があることを示唆する結果を得たことは意味が大きいと考えている。派遣先では、臨床応用に直結する研究が盛んに行われていた。派遣元とは全く異なる環境から刺激を受け、医学研究者としての今後の方向性を改めて考えさせられた。技術的には、心筋細胞を扱う実験、心臓に関する研究分野に特有の動物実験手法を経験、見学し、知見を増やすことができた。その過程で日本人以外の研究者と日常的に交流したのみならず、派遣先に留学中の日本人研究者から、日本と異なるアメリカの研究事情 (研究室の選び方、研究費の申請方法、ポスドク後の job hunting の方法) を聞くことができ、大学院修了後に予定している海外でのポスドク生活に向けて有意義な情報を得ることができた。今回こうした貴重な経験を与えて下さった本制度、そして、派遣先の研究室の方々をはじめとする皆様にこの場をお借りして感謝いたします。