

2020年4月24日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学

国立大学法人熊本大学

国立大学法人茨城大学

細胞外マトリクスを介した新しいメカトランスダクション機構を発見 ～血管疾患への新たな治療法開発への期待～

研究成果のポイント

1. 血管平滑筋細胞は、心拍出に伴う周期的伸展刺激^{*1}を常に受けています。本研究では、マトリセルラータンパク質^{*2}Thrombospondin-1 (Thbs1) が、周期的伸展刺激によって誘導されるシグナル伝達経路(メカトランスダクション^{*3}機構)の重要因子であることを明らかにしました。
2. 周期的伸展刺激により分泌された Thbs1 が、細胞膜上の細胞接着分子 integrin $\alpha v \beta 1$ に結合して細胞接着斑分子^{*4}を活性化し、細胞骨格であるアクチンフィラメントの張力を制御することがわかりました。さらに、低分子量 G タンパク質 Rap2 を介して、転写調節制御因子 YAP^{*5}の核内移行(活性化)を制御することを明らかにしました。
3. Thbs1/integrin/YAP のシグナル伝達経路は、マウスの大動脈圧負荷応答や頸動脈狭窄による新生内膜形成といった血管リモデリング^{*6}時に重要な働きを担うことを明らかにしました。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA)の柳沢裕美教授、山城義人助教、国立大学法人熊本大学 大学院生命科学研究部微生物薬学分野の大槻純男教授、国立大学法人茨城大学 大学院理工学研究科マイクロ-ナノバイオメカニクス研究室の長山和亮教授らの研究グループは、メカニカルストレス応答の中心を担う、転写調節因子 YAP (Yes-associated protein)の核内移行(活性化)を、細胞外マトリクス Thbs1 が制御し、血管のメカトランスダクション機構において、重要な働きを担うことを明らかにしました。

血管壁は絶えず血圧や血流による血行力学的応力にさらされており、その制御機構の破綻が血管疾患の根本原因ではないかと注目されていますが、その制御メカニズムの詳細は明らかになっていないのが現状です。本研究グループはまず、ラット血管平滑筋細胞を用いて、周期的伸展刺激によって分泌されるタンパク質を網羅的に解析し、Thbs1 を同定しました。分泌された Thbs1 は細胞膜上の integrin $\alpha v \beta 1$ に結合し、接着斑の活性化やアクチンフィラメントの配向といった伸展刺激応答を制御することを見出しました。加えて、伸展刺激における YAP の核内移行は、Thbs1/integrin に依存し、Rap2 の不活性化を伴って制御されていること、さらに、Thbs1/integrin/YAP のシグナル伝達経路は、血管圧負荷や狭窄に伴う新生内膜形成時の血管リモデリングに重要な働きを示すことを明らかにしました。本研究は、メカニカルストレス応答に関与する細胞外マトリクスの役割とその制御が、様々な血管疾患の根本原因である可能性を示唆するものであり、今後、細胞外マトリクスを標的とした新たな治療法開発の展開が期待されます。

本研究成果は、2020年4月22日付 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 誌で先行公開されました。

*本研究は、日本学術振興会の科学研究費補助金(科研費):基盤研究 B(課題番号 17H04289:柳沢裕美)、および若手研究(課題番号 15K20898:山城義人)、などの支援によって実施されました。

研究の背景

血管壁は絶えずメカニカルストレス(血圧や血流による血行力学的応力)にさらされており、その制御機構の破綻が血管疾患の根本原因ではないかと注目されています。細胞が外力を感知し、応答する仕組み(メカニカルストレス応答)とそのシグナル伝達(メカトランスダクション)は、細胞接着斑を介して、細胞と細胞間を繋ぐ細胞内に伝搬されますが、その制御メカニズムの詳細は明らかになっていません。とりわけ、メカトランスダクションを制御する「細胞内」の分子の役割については多くの報告がありますが、「細胞外」の分子の役割についてはほとんど不明であるのが現状です。本研究グループはこれまでに、大動脈瘤において、メカニカルストレス応答異常と細胞骨格のリモデリングが瘤の形成に重要な役割を担っていること[1]、大動脈瘤病変で細胞外マトリクスである Thbs1 タンパク質が過剰に発現していること、また Thbs1 の抑制が大動脈瘤発症の抑止に効果的であることを示してきましたが[2]、血管のメカトランスダクション機構における細胞外マトリクスの役割と、血管疾患発症の分子メカニズムの詳細は明らかにされていませんでした。

研究内容と成果

本研究ではまず、ラット血管平滑筋細胞を用いて周期的伸展刺激(20% strain, 1.0Hz, 20 時間)において分泌されるタンパク質を網羅的に解析し、Thrombospondin-1 (Thbs1)を含む、85 種類のタンパク質を同定しました。Thbs1 が大動脈瘤病変で過剰に発現している先行研究の結果から、Thbs1 の役割に注目し、Thbs1 が伸展刺激後に細胞辺縁部の細胞接着斑に局在することを観察しました(図 1)。次いで、伸展刺激により分泌された Thbs1 が、細胞-細胞外マトリクスの接着を制御する integrin $\alpha v \beta 1$ に結合することを、免疫染色、免疫沈降、近接ライゲーションアッセイを用いて明らかにしました。ゲノム編集により Thbs1 を欠損した細胞では、伸展刺激応答における接着斑の活性化が誘導されず、細胞骨格を形成するアクチンフィラメントの配向が崩れ、細胞張力が減少していることを、免疫染色、原子間力顕微鏡を用いた測定から明らかにしました。細胞の数や器官のサイズは Hippo-YAP 経路というシグナル伝達経路によって制御されています。遺伝子発現解析(RNA-seq)の結果、細胞増殖に関わる転写調節因子 YAP の標的遺伝子の発現が、Thbs1 欠損細胞では伸展刺激後も抑制されること、伸展刺激による YAP の核内移行(活性化)には Thbs1 が必要であることを見出しました(図 2)。また、YAP の核内移行は、Thbs1 の integrin $\alpha v \beta 1$ への結合と、低分子量 G タンパク質 Rap2 の不活性化を伴って、Hippo 経路依存的に制御されていることがわかりました。さらに、マウスを用いた解析において、Thbs1 欠損マウスは、横行大動脈縮窄術(TAC)による圧負荷により、血管の破裂・解離を引き起こす一方、頸動脈狭窄術による新生内膜の形成時に、新生内膜細胞の増殖を抑制することを明らかにしました。

これらの結果から、細胞のメカニカルストレス応答の中心を担う、転写調節因子 YAP の活性化を、細胞外マトリクス Thbs1 が制御することがわかりました。さらに、Thbs1 が制御する YAP 活性化のシグナル伝達経路は、血管壁の圧負荷応答や、狭窄に伴う新生内膜形成時の血管リモデリングに重要な働きを示すことを明らかにしました(図 3)。

今後の展開

今後、Thbs1 のみならず、他の細胞外マトリクスについても、そのメカトランスダクションへの関与と血管疾患への関与が明らかになると期待できます。また、細胞外マトリクスを標的とした新たな治療法開発の展開が期待されます。

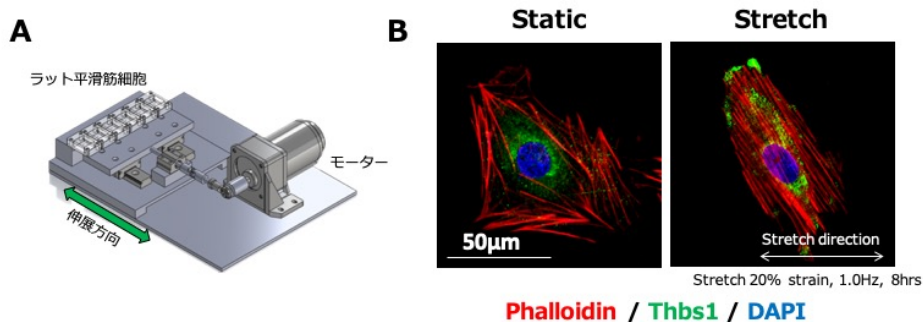


図1. 周期的伸展刺激後のThbs1の局在。 A) 細胞伸展装置（筑波大学医学工作室制作）
 B) Static（伸展なし）条件下では、核の周辺部に局在するのに対して、Stretch後は、細胞辺縁部へ局在が変化する。

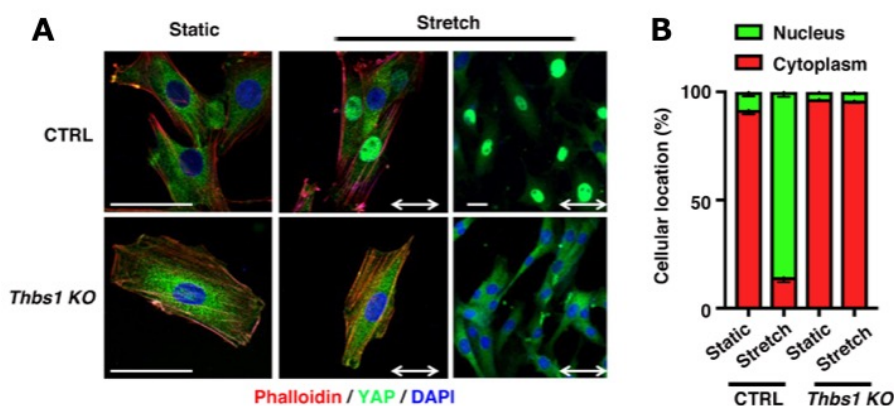


図2. 周期的伸展刺激後のYAPの局在。 A) 野生型の細胞では、伸展後（Stretch）にYAPが核内移行するのに対して、Thbs1欠損細胞（Thbs1KO）では、YAPは細胞質に留まったままである。 B) 細胞質（Cytoplasm）と核内（Nucleus）のYAPの割合。

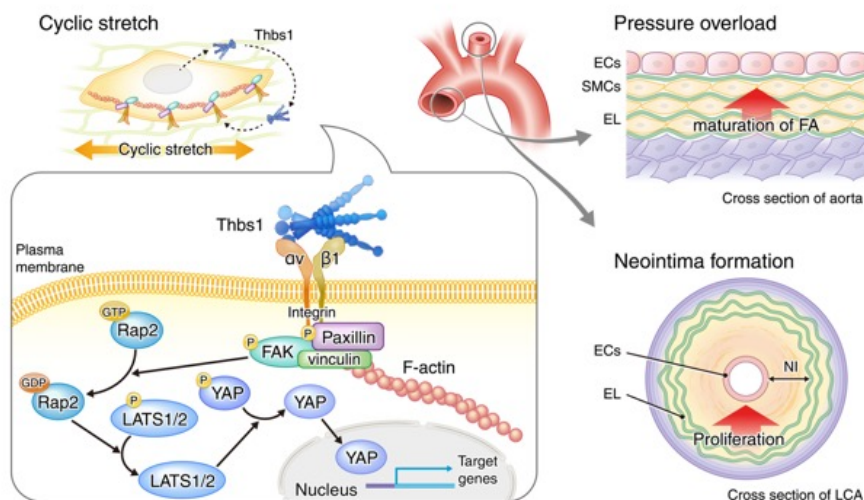


図3. Thbs1を介したYAP制御の概略。 分泌されたThbs1はintegrin $\alpha\text{v}\beta\text{1}$ へ結合し、細胞接着斑を活性化する。Thbs1/ integrin $\alpha\text{v}\beta\text{1}$ の結合は、Rap2の不活性化とHippo経路のLATS1/2の脱リン酸化を伴って、YAPの核内移行を制御する（左図）。Thbs1/integrin/YAPのシグナル伝達経路は、血管圧負荷における応答と、狭窄に伴う新生内膜形成時の血管リモデリングにおける役割を担う（右図）。

用語解説

*1 周期的伸展刺激

メカニカルストレスの一つである、伸展張力。生理条件では、5-10%の伸展率。本実験では、高い伸展率(20%)のもと、伸展頻度は心臓の鼓動に合わせ、毎秒1回(60回/分:1Hz)に設定した。

*2 マトリセラータンパク質(細胞外マトリクスタンパク質)

細胞の周りや細胞と細胞の間に存在する細胞外マトリクス的一种で、それ自身はマトリクスの構造を担っていないタンパク質。細胞とマトリクス間の相互作用を仲介し、細胞間シグナル伝達やマトリクス形成調節などを担う。

*3 メカトランスダクション

細胞が力刺激を感知し、細胞内シグナルへと変換すること。これにより、細胞の増殖、分化、運動などを制御する。

*4 細胞接着斑分子

細胞-基質間の接着を制御するタンパク質の総称。

*5 YAP (Yes-associated protein)

メカニカルストレス応答の中心を担う転写調節因子。DNAに直接結合する転写制御因子と基本転写因子の間を架橋する。器官サイズを規定するHippo経路の標的としても注目されている。

*6 血管リモデリング

種々の刺激に対する、血管を構成する内皮細胞・平滑筋細胞・線維芽細胞や細胞外マトリクスの変化を伴った、血管の構造及び機能変化。

参考文献

- [1] Yamashiro et al. *Sci. Signal.* 8.399:ra105, (2015)
- [2] Yamashiro et al. *Circ. Res.* 123(6):660-672 (2018)

掲載論文

- 【題名】 Matrix mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP in the vascular remodeling (トロンボスポンジン1を介した血管のメカトランスダクション機構の解明)
- 【著者】 Yoshito Yamashiro, Bui Quoc Thang, Karina Ramirez, Seung Jae Shin, Tomohiro Kohata, Shigeaki Ohata, Tram Anh Vu Nguyen, Sumio Ohtsuki, Kazuaki Nagayama, and Hiromi Yanagisawa
- 【掲載誌】 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, DOI: 10.1073/pnas.1919702117)

問い合わせ先

【研究に関すること】

柳沢 裕美 (やなぎさわ ひろみ)

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA) 教授

<http://sagymouse.tara.tsukuba.ac.jp/>

山城 義人 (やましろ よしと)

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA) 助教

【取材・報道に関すること】

筑波大学 広報室

Tel: 029-853-2040

Email: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

熊本大学 総務部総務課広報戦略室

Tel: 096-342-3269

Email: sos-koho@jimu.kumamoto-u.ac.jp

茨城大学 広報室

Tel: 029-228-8008

Email: koho-prg@ml.ibaraki.ac.jp