Hippo シグナルによる卵巣および胎盤の機能調節

福井県立大学　看護福祉学部　看護学科
教授　水谷　哲也

公益財団法人山口内分泌疾患研究振興財団
内分泌に関する最新情報
2023 年 5 月

Hippo シグナルによる卵巣および胎盤の機能調節

福井県立大学　看護福祉学部　看護学科
教授　水谷 哲也

はじめに

Hippo シグナルは、細胞の増殖や器官サイズを制御するシグナル伝達系でショウジョウバエから哺乳類まで保存されている [1-3]。Hippo シグナルはリン酸化カスケードを介して、最終的に転写共役因子 Yes-associated protein (YAP)/transcriptional coactivator with PDZ-binding motif (TAZ)をリン酸化することでその活性を調節している。YAP/TAZ は核内で TEA domain transcription factor (TEAD) や SMAD などの転写因子と結合して標的遺伝子の転写を調節するが、YAP/TAZ がリン酸化されると核から細胞質へと移行し不活性化され、さらにタンパク質分解が促進される(図 1)。このように、Hippo シグナルは YAP/TAZ をリン酸化することで負に制御している。

我々は YAP/TAZ と TEAD が胎盤と卵巣におけるステロイドホルモン産生を含めた分化調節に重要な共通因子であることを明らかにしている [4, 5]。本稿では、YAP/TAZ による卵巣や胎盤の機能調節について、我々の知見も含めて概説する。

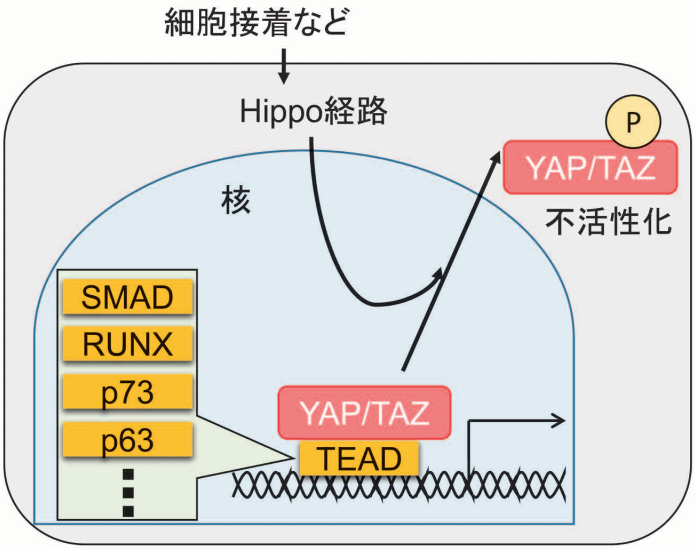

図 1　Hippo シグナルの概略
Hippo シグナルは、転写共役因子 YAP/TAZ の細胞内局在を変化させ、その活性を制御する。

Keywords : YAP, TAZ, TEAD, 卵巣, 胎盤

1，Hippo シグナルによる卵巣の機能調節

Hippo シグナルは、FSH 依存的および非依存的な顆粒膜細胞の増殖や分化に関与していることが明らかになっている。顆粒膜細胞における YAP の発現は、増殖中の顆粒膜細胞において核内で発現が認められる一方、非活性化型は主に黄体に認められる[6]。また、PMSG 処理したマウスの顆粒膜細胞に hCG 刺激を行うことで YAP の発現が顕著に低下することから[7]、FSH 非依存的なステージから排卵前卵胞まで発育する過程で YAP/TAZ が機能していると考えられる。実際に、一次卵胞や二次卵胞においても Hippo シグナル系がはたらいており、YAP/TAZ の活性化（Hippo シグナルの抑制）が卵胞の発育に重要であることが示されている[8]。卵胞を物理的に細断片化することで G-actin（globular actin）から F-actin（filamentous actin）への重合を促進させると初期卵胞の発育が促進されることから、卵巣機能不全患者に対する治療に応用されている[8, 9]。また、顆粒膜細胞特異的 YAP ノックアウトマウスでは、卵巣のサイズが小さくなりアポトーシスをおこす卵胞が増加し妊孕性が低下することが報告されている[6]。また、Hippo シグナル分子である large tumor suppressor kinases 1 and 2 の顆粒膜細胞特異的ノックアウトマウスでは、YAP/TAZ 活性の亢進によりセルトリ細胞や骨芽細胞様の細胞へと異常な分化を示すことから、YAP/TAZ が正常な卵巣の発育と分化に重要であると考えられる[10]。

＜FSH を介した Hippo シグナルの活性化＞

Hippo シグナルは、細胞接着の刺激により活性化され器官サイズが調節されることから発見されたシグナル伝達系である[1]。それ以外にも G プロテイン共役型受容体(Gαs)から cAMP/PKA 系より Hippo シグナル分子である Lats キナーゼを介して活性化されることが明らかになっている[11]。顆粒膜細胞においても FSH や cAMP 産生を促すフォルスコリンによって YAP のリン酸化が促進されることが報告されている[6, 12]。顆粒膜細胞では FSH の刺激により、PI3 キナーゼ、ERK1/2、p38MAP キナーゼ、EGF ファミリーを介したシグナル伝達系が活性化され、これらのシグナル伝達系により細胞の増殖や分化が調節される[13, 14]。近年、顆粒膜細胞における Hippo シグナル系の重要性が明らかにされており、上記のシグナル伝達系に加えて Hippo シグナルも FSH の下流因子の 1 つとして示され、さらにこれらのシグナル伝達系とのクロストークも解明されていくと考えられる。

＜Hippo シグナルによるステロイドホルモン産生調節＞

ステロイドホルモンはコレステロールを基質として、特異的な酵素により代謝されて産生される。これらの代謝酵素は、質的調節よりも量的調節が産生量に反映するため、代謝酵素や輸送体の遺伝子発現調節が重要になる。前胞状卵胞か

ら排卵前の卵胞では、2-cell/2-gonadotropin theory に則り、莢膜細胞では LH の刺激により、コレステロールからアンドロステンジオンまで代謝され、顆粒膜細胞では FSH の刺激によりアンドロステンジオンからエストラジオールへと代謝される。

これらの発現のマスター制御因子だと考えられているのが、NR5A ファミリーに属する steroidogenic factor 1 (SF-1)と liver receptor homolog 1(LRH-1)である。コレステロールの輸送体やステロイドホルモンの代謝酵素の多くは、プロモーター領域に NR5A ファミリーの結合領域が存在し、転写制御を受けている [15, 16]。これら以外にもコレステロール合成系の発現やエネルギー産生に関わる遺伝子も正の制御を受けており、ステロイドホルモン産生細胞を維持する上でも重要であることが示されている [17, 18]。また、顆粒膜細胞に FSH が作用すると NR5A ファミリーの活性を抑制する dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita critical region on the X-chromosome, gene 1 (DAX-1)の発現が低下すると共に、NR5A ファミリーの転写共役因子である peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α などを誘導されることで、FSH による NR5A ファミリーを介した標的遺伝子の誘導に関与している [19, 20]。

上述のように、Hippo シグナルは FSH によって活性化され、YAP/TAZ 活性を抑制する。我々は、卵巣顆粒膜細胞において YAP/TAZ および転写因子 TEAD が *CYP11A1*、*HSD3B2*、*CYP19A1* などのステロイドホルモン代謝酵素の遺伝子発現を負に制御していることを明らかにしている [4]。顆粒膜細胞への FSH 刺激は、卵胞の発育と分化を促進することが明らかになっているが、1 つのホルモンによって増殖と分化という相反する機能をどのように調節しているか不明であった。FSH 刺激では、まずサイクリン D2 を初めとする因子が誘導され [21]、増殖能が促進されるが時間経過と共に YAP/TAZ 活性や DAX-1 の発現低下によりステロイドホルモン産生を含む分化が促進されると推察された。

YAP/TAZ-TEAD がどのようなメカニズムでステロイドホルモン代謝酵素の発現を抑制しているか明らかにするため、YAP/TAZ-TEAD と SF-1 との相互作用について検討した。その結果、YAP/TAZ-TEAD は DAX-1 と異なり、SF-1 との相互作用が見られなかったことから、DAX-1 とは異なるメカニズムでステロイドホルモン代謝酵素の遺伝子発現を抑制していることが示された [4]。転写因子 TEAD は YAP/TAZ と相互作用することで遺伝子発現を正に制御することがよく知られている [22]。一方、脂肪細胞の分化をはじめ YAP/TAZ-TEAD が抑制的に作用することも報告されている [11]。今後、顆粒膜細胞において、YAP/TAZ-TEAD がどのように標的遺伝子の発現を抑制しているのか明らかにしていきたい。

2，Hippo シグナルによる胎盤の機能調節

胎盤における絨毛の細胞性栄養膜 (CT) 細胞は、ガス・栄養運搬や胎盤性ホルモン分泌を司る合胞体性栄養膜 (ST) 細胞や脱落膜へ浸潤する絨毛外性栄養膜 (EVT) 細胞に適切に分化することで胎盤機能が維持されている。

近年、これらの分化に対して、YAP/TAZ-TEAD が重要な役割を担っていることが報告されている[5, 23]。YAP/TAZ-TEAD 活性は CT 細胞の維持に必須であり、ST 細胞や EVT 細胞への分化には YAP/TAZ-TEAD 活性の低下が必要である。ST 細胞および EVT 細胞への分化能を有する栄養膜幹(TS)細胞を用いて、CT 細胞に発現する YAP/TAZ または TEAD をノックダウンすると ST 細胞特異的遺伝子の発現が誘導された。また、ST 細胞への分化誘導時、恒常性活性化型 YAP（YAP-5SA）を強制発現させると ST 細胞への分化が抑制された。この時、ST 細胞への分化に重要だと考えられる転写因子 *GCM1*、*OVOL1* および細胞融合に関与する *ERVW-1*（Syncytin1）の発現も同様に変化することから、YAP/TAZ-TEAD がこれらの発現を調節し ST 細胞への分化を支配していると考えられた[5]。

一方、YAP/TAZ や TEAD のノックダウンでは、EVT 細胞特異的遺伝子の発現誘導は限定的だった[5]。CT 細胞から EVT 細胞への分化に対して Notch シグナルの活性化や転写因子 ASCL2 が重要であることが報告されている[24, 25]。また、TS 細胞を用いた研究から、EVT 細胞への分化には TGF-SMAD 系の抑制も重要だと考えられる[26]。EVT 細胞への分化には、YAP/TAZ-TEAD の活性低下と共に Notch シグナル、ACSL2 および TGF-SMAD 系などが協調して作用することが重要だと推察された。近年、CT 細胞から EVT 細胞への分化に重要な因子として TEAD1 が同定された[27]。TEAD ファミリーには TEAD1 から TEAD4 が存在し相同性も高い[28]。CT 細胞から ST 細胞または EVT 細胞への分化には TEAD 活性の低下が必須であるにも関わらず、EVT 細胞への分化には TEAD1 が重要であることが示されたことから、相同性の高い TEAD ファミリーにおいて、アイソフォーム間で機能が異なると推測された。このように胎盤分化に対する YAP/TAZ-TEAD の重要性が明らかにされつつあり、今後の研究が期待される。

＜Hippo シグナルによるステロイドホルモン産生調節＞

CT 細胞から ST 細胞へ分化誘導すると細胞融合とステロイドホルモン産生が促進される。従来の研究より CT 細胞から ST 細胞への分化には cAMP/PKA の重要性が示されていたため、卵巣顆粒膜細胞と同様に cAMP/PKA により Hippo シグナルが活性化され YAP/TAZ 活性が低下し分化誘導されると考えられた。しかしながら、TS 細胞において、ST 細胞への分化誘導培地からフォルスコリンを除いた場合でも TEAD 活性の低下とステロイドホルモン代謝酵素の発現誘導が認められた[5]。CT 細胞の維持には Wnt シグナルを活性化する GSK3 阻害剤が必須

であり、ST 細胞への分化誘導では GSK 阻害剤を除く必要がある[26]。Wnt シグナルは YAP や TEAD の発現を誘導することが示されていることから[29, 30]、CT 細胞では Wnt シグナルが YAP/TAZ-TEAD 活性を維持させ、ST 細胞への分化誘導時には YAP/TAZ-TEAD 活性が低下すると考えられた[5]。このように、胎盤におけるステロイドホルモン産生は卵巣と同様 YAP/TAZ-TEAD 活性の低下が重要だが、その活性の調節は卵巣の場合とは異なるメカニズムで調節されていることが示された。

おわりに

Hippo シグナルによる YAP/TAZ-TEAD の活性調節は、卵巣および胎盤の増殖や分化を調節する上で重要であることが明らかになってきている(図 2)。即ち、YAP/TAZ-TEAD 活性により増殖が促進されると同時に分化が抑制され、この活性低下により分化が誘導されることが示された。胎盤では、YAP/TAZ-TEAD の活性低下により CT 細胞からステロイドホルモン産生が促進する ST 細胞へと誘導される。卵巣顆粒膜細胞においても YAP/TAZ-TEAD 活性の低下によりステロイドホルモン産生が促進されることから、YAP/TAZ-TEAD は卵巣と胎盤に共通するステロイドホルモン産生調節因子であることが示された。今後、さらに解析を進めて、卵巣と胎盤に共通するステロイドホルモン産生調節メカニズムを明らかにしていきたい。

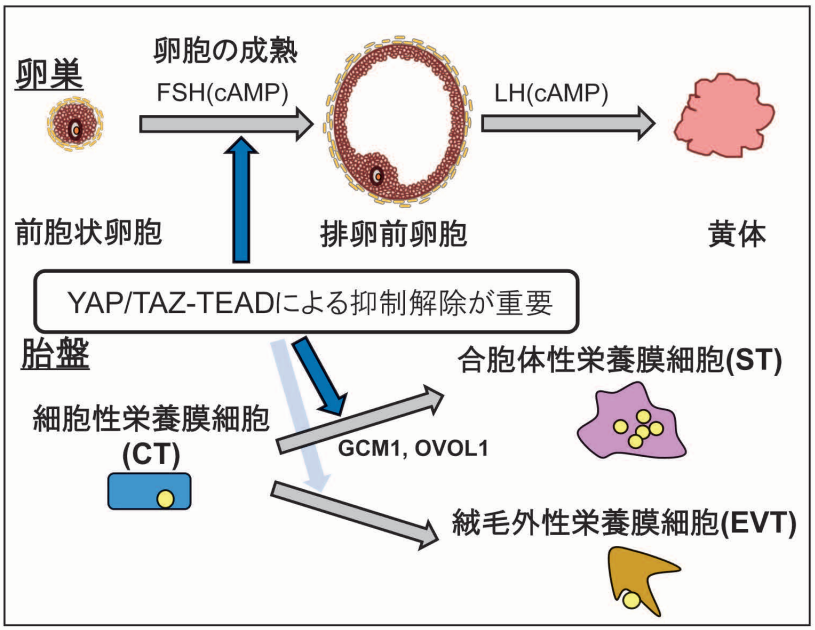

図 2　卵巣と胎盤における YAP/TAZ-TEAD の役割

【参考文献】

1. Pan, D.: Hippo signaling in organ size control. ***Genes Dev.***, 21, 886–897 (2007)
2. Halder, G., Johnson, R.L.: Hippo signaling: growth control and beyond. ***Development***, 138, 9–22 (2011)
3. Hergovich, A.: Mammalian Hippo signalling: a kinase network regulated by protein-protein interactions. ***Biochem. Soc. Trans.***, 40, 124–128 (2012)
4. Mizutani, T., Orisaka, M., Kawabe, S., Morichika, R., Uesaka, M., Yoshida, Y.: YAP/TAZ-TEAD is a novel transcriptional regulator of genes encoding steroidogenic enzymes in rat granulosa cells and KGN cells. ***Mol Cell Endocrinol*** 559: 111808 (2023)
5. Mizutani, T., Orisaka, M., Miyazaki, Y., Morichika, R., Uesaka, M., Miyamoto, K., Yoshida, Y.: Inhibition of YAP/TAZ-TEAD activity induces cytotrophoblast differentiation into syncytiotrophoblast in human trophoblast. ***Mol Hum Reprod*** 28: gaac032 (2022)
6. Lv, X., He, C., Huang, C., Wang, H., Hua, G., Wang, Z., Zhou, J., Chen, X., Ma, B., Timm, B. K., Maclin, V., Dong, J., Rueda, Bo. R., Davis, J. S., Wang, C.: Timely expression and activation of YAP1 in granulosa cells is essential for ovarian follicle development. ***FASEB J*** 33: 10049–10064 (2019)
7. Ji, S-Y., Liu, X-M., Li, B-T., Zhang, Y-L., Liu, H-B., Zhang, Y-C., Chen, Z-J., Liu, J., Fan, H-Y.: The polycystic ovary syndrome-associated gene Yap1 is regulated by gonadotropins and sex steroid hormones in hyperandrogenism-induced oligo-ovulation in mouse. ***Mol Hum Reprod***, 23, 698–707 (2017)
8. Kawamura, K., Cheng, Y., Suzuki, N., Deguchi, M., Sato, Y., Takae, S., Ho, C., Kawamura, N., Tamura, M., Hashimoto, S., Sugishita, Y., Morimoto, Y., Hosoi, Y., Yoshioka, N., Ishizuka, B., Hsueh, A. J.: Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. ***Proc Natl Acad Sci USA***, 110, 17474–17479 (2013)
9. Kawamura, K., Ishizuka, B., Hsueh, A.J.W.: Drug-free in-vitro activation of follicles for infertility treatment in poor ovarian response patients with decreased ovarian reserve. ***Reprod Biomed*** Online (2019)
10. Tsoi, M., Morin, M., Rico, C., Johnson, R. L., Paquet, M., Gévry, N., Boerboom, D.: Lats1 and Lats2 are required for ovarian granulosa cell fate maintenance. ***FASEB J***, 33, 10819–10832 (2019)
11. Yu, F-X., Zhang, Y., Park, H. W., Jewell, J. L., Chen, Q., Deng, Y., Pan, D., Taylor, S. S., Lai, Z-C., Guan, K-L.: Protein kinase A activates the Hippo pathway to modulate cell proliferation and differentiation. ***Genes Dev***, 27, 1223–1232 (2013)

12. Puri, P., Little-Ihrig, L., Chandran, U., Law, N. C., Hunzicker-Dunn, M., Zeleznik, A. J.: Protein Kinase A: A Master Kinase of Granulosa Cell Differentiation. ***Sci Rep***, 6(1), 28132 (2016)
13. Donaubauer, E. M., Hunzicker-Dunn, M. E.: Extracellular Signal-regulated Kinase (ERK)-dependent Phosphorylation of Y-Box-binding Protein 1 (YB-1) Enhances Gene Expression in Granulosa Cells in Response to Follicle-stimulating Hormone (FSH). ***J Biol Chem***, 291(23), 12145–12160 (2016)
14. Law, N. C., Donaubauer, E. M., Zeleznik, A. J., Hunzicker-Dunn, M.: How Protein Kinase A Activates Canonical Tyrosine Kinase Signaling Pathways To Promote Granulosa Cell Differentiation. ***Endocrinology***, 158, 2043–2051 (2017)
15. Bianco, S., Bellefleur, A-M., Beaulieu, É., Beauparlant, C. J., Bertolin, K., Droit, A., Schoonjans, K., Murphy, B. D., Gévry, N.: The Ovulatory Signal Precipitates LRH-1 Transcriptional Switching Mediated by Differential Chromatin Accessibility. ***Cell Rep***, 28, 2443-2454.e4 (2019)
16. Morohashi, K., Omura, T.: Ad4BP/SF‐1, a transcription factor essential for the transcription of steroidogenic cytochrome P450 genes and for the establishment of the reproductive function. ***FASEB J***, 10, 1569‐1577 (1996)
17. Baba, T., Otake, H., Sato, T., Miyabayashi, K., Shishido, Y., Wang, C.Y., Shima, Y., Kimura, H., Yagi, M., Ishihara, Y., Hino, S., Ogawa, H., Nakao, M., Yamazaki, T., Kang, D., Ohkawa, Y., Suyama, M., Chung, B.C., Morohashi, K.: Glycolytic genes are targets of the nuclear receptor Ad4BP/SF-1. ***Nat Commun***, 5, 3634 (2014)
18. Baba, T., Otake, H., Inoue, M., Sato, T., Ishihara, Y., Moon, J.Y., Tsuchiya, M., Miyabayashi, K., Ogawa, H., Shima, Y., Wang, L., Sato, R., Yamazaki, T., Suyama, M., Nomura, M., Choi, M.H., Ohkawa, Y., Morohashi, K.I.: Ad4BP/SF-1 regulates cholesterol synthesis to boost the production of steroids. ***Commun Biol***, 1, 18 (2018)
19. Suzuki, T., Kasahara, M., Yoshioka, H., Morohashi, K., Umesono, K.: LXXLL-Related Motifs in Dax-1 Have Target Specificity for the Orphan Nuclear Receptors Ad4BP/SF-1 and LRH-1. ***Mol Cell Biol***, 23, 238–249 (2003)
20. Yazawa, T., Inaoka, Y., Okada, R., Mizutani, T., Yamazaki, Y., Usami, Y., Kuribayashi, M., Orisaka, M., Umezawa, A., Miyamoto, K.: PPAR-γ Coactivator-1α Regulates Progesterone Production in Ovarian Granulosa Cells with SF-1 and LRH-1. ***Mol Endocrinol***, 24, 485–496 (2010)
21. Sicinski, P., Donaher, J. L., Geng, Y., Parker, S. B., Gardner, H., Park, M. Y., Robker, R. L., Richards, J. S., McGinnis, L. K., Biggers, J. D., Eppig, J. J., Bronson, R. T., Elledge, S. J., Weinberg, R. A.: Cyclin D2 is an FSH-responsive gene involved in gonadal cell proliferation and oncogenesis. ***Nature***, 384, 470–474 (1996)

22. Hansen, C. G., Moroishi, T., Guan, K-L.: YAP and TAZ: a nexus for Hippo signaling and beyond. ***Trends Cell Biol***, 25, 499–513 (2015)
23. Meinhardt, G., Haider, S., Kunihs, V., Saleh, L., Pollheimer, J., Fiala, C., Hetey, S., Feher, Z., Szilagyi, A., Than, N.G., Knöfler, M.: Pivotal role of the transcriptional co-activator YAP in trophoblast stemness of the developing human placenta. ***Proc Natl Acad Sci U S A***, 117, 13562–13570 (2020)
24. Haider, S., Meinhardt, G., Saleh, L., Fiala, C., Pollheimer, J., Knöfler, M.: Notch1 controls development of the extravillous trophoblast lineage in the human placenta. ***Proc Natl Acad Sci U S A***, 113, E7710–E7719 (2016)
25. Varberg, K.M., Iqbal, K., Muto, M., Simon, M.E., Scott, R.L., Kozai, K., Choudhury, R.H., Aplin, J.D., Biswell, R., Gibson, M., Okae, H., Arima, T., Vivian, J.L., Grundberg, E., Soares, M.J.: ASCL2 reciprocally controls key trophoblast lineage decisions during hemochorial placenta development. ***Proc Natl Acad Sci U S A***, 118, e2016517118 (2021)
26. Okae, H., Toh, H., Sato, T., Hiura, H., Takahashi, S., Shirane, K., Kabayama, Y., Suyama, M., Sasaki, H., Arima, T.: Derivation of human trophoblast stem cells. ***Cell Stem Cell***, 22, 50–63.e6 (2018)
27. Dong, C., Fu, S., Karvas, R.M., Chew, B., Fischer, L.A., Xing, X., Harrison, J.K., Popli, P., Kommagani, R., Wang, T., Zhang, B., Theunissen, T.W.: A genome-wide CRISPR-Cas9 knockout screen identifies essential and growth-restricting genes in human trophoblast stem cells. ***Nat Commun***, 13, 2548 (2022)
28. Lin, K. C., Park, H. W., Guan, K-L.: Regulation of the Hippo Pathway Transcription Factor TEAD. ***Trends Biochem Sci***, 42, 862–872 (2017)
29. Guillermin, O., Angelis, N., Sidor, C.M., Ridgway, R., Baulies, A., Kucharska, A., Antas, P., Rose, M.R., Cordero, J., Sansom, O., Li, V.S.W., Thompson, B.J.: Wnt and Src signals converge on YAP-TEAD to drive intestinal regeneration. ***EMBO J***, 40, e105770 (2021)
30. Konsavage, W.M., Kyler, S.L., Rennoll, S.A., Jin, G., Yochum, G.S.: Wnt/β-catenin signaling regulates yesassociated protein (YAP) gene expression in colorectal carcinoma cells. ***J Biol Chem***, 287, 11730–11739 (2012)

Hippo シグナルによる卵巣および胎盤の機能調節

2023 年 5 月 10 日発行

公益財団法人山口内分泌疾患研究振興財団
〒105-0014　東京都港区芝 2 丁目 28 - 11
E－Mail　：office@yamaguchi-endocrine.org