

【目的】 悪性新生物（癌）は日本人の死亡原因の30%以上を占めることから分かる通り、癌の治療法を開発することは非常に重要な課題である。Hippo-YAP経路は器官の大きさを規定するシグナルとして同定された経路であるが、癌においては転写共役因子 YAP の恒常的な活性化が過剰な細胞増殖、細胞死の抑制、浸潤能の亢進を誘導し、癌の悪性化の一因となる。

我々はこれまでに、YAP の活性化がリサイクリングエンドソームに局在する酸性リン脂質ホスファチジルセリンによって制御されることを明らかにしてきた (T. Matsudaira and K. Mukai et al., *Nat Commun*, 2017)。さらに最近、YAP 依存的に増殖する癌細胞の一つである MDA-MB-231 細胞においては、リサイクリングエンドソーム膜の細胞質側のホスファチジルセリン量を制御するタンパク質 ATP8A1 を発現抑制すると、YAP のリン酸化体が増加し、細胞増殖が著しく減弱するという予備の結果を得たが、その分子機構に関しては未解明のままである。そこで本研究では、乳癌細胞においてリサイクリングエンドソーム膜の細胞質側のホスファチジルセリンが Hippo-YAP 経路を制御する分子機構を明らかにすることで、癌細胞に対する新規創薬標的の提案を目指す。

【方法】 上述の通り ATP8A1 を発現抑制すると YAP のリン酸化体が増加したので、本研究ではホスファチジルセリン近傍タンパク質として同定された 11 個のセリンホスファターゼファミリー分子に着目した。この 11 遺伝子に関して、The Cancer Genome Atlas にて乳がん患者における発現量と予後の相関解析を行ったところ、PPP1R12A と PP1B においてのみ、高発現の乳がん患者群で予後が悪いという結果が得られた。PPP1R12A と PP1B が含まれる PP1 ファミリーのホスファターゼは、触媒サブユニットと調節サブユニットが複数のモチーフを介して結合し、ヘテロ二量体を形成している。触媒サブユニットには PP1A、PP1B、PP1C の 3 種類のみが存在する一方で、調節サブユニットは 100 種類以上存在し、触媒サブユニットの基質特異性を高めていることが知られている。そこで本研究では、PPP1R12A-PP1B 複合体が YAP の脱リン酸化に寄与するかを、PPP1R12A を MDA-MB-231 細胞で発現抑制し、YAP のリン酸化状態と細胞増殖を評価することで検証した。また、細胞内オルガネラ分布が観察しやすい COS-1 細胞を用いて PPP1R12A と PP1B の細胞内局在も検証した。

【結果】 MDA-MB-231 細胞で PPP1R12A を発現抑制したところ、細胞増殖が抑制され、YAP のリン酸化体が蓄積した。さらに、PPP1R12A 及び PP1B はすでに報告のある核や細胞質に加え、リサイクリングエンドソームに局在した。また、酸性リン脂質との相互作用に必要な C 末端側を欠損した PPP1R12A (1~667) はリサイクリングエンドソーム局在を失っていることを見出した。

細胞内膜リン脂質による YAP の活性化機構

