

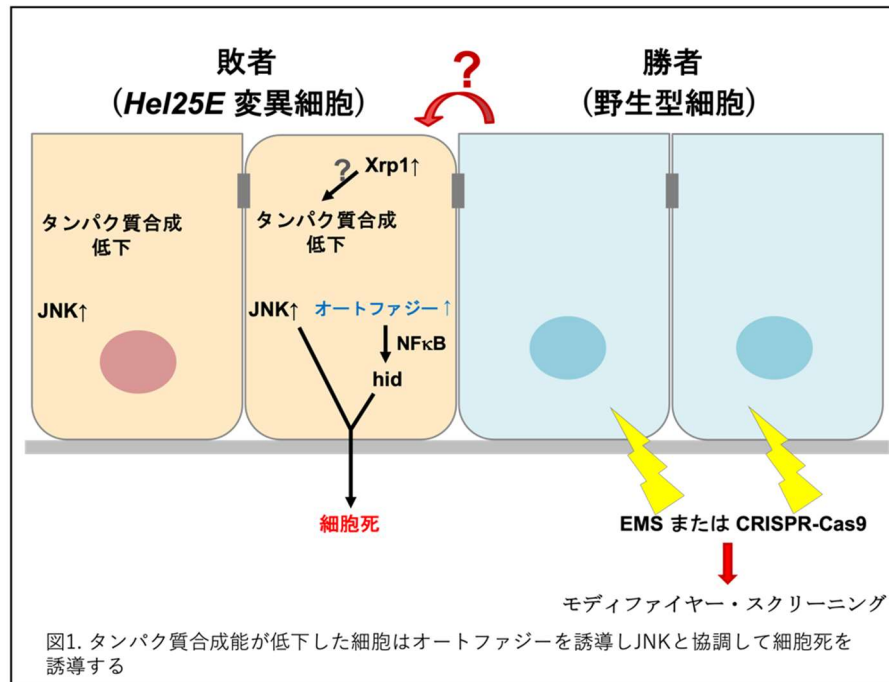
「細胞競合を駆動する細胞非自律的な細胞死誘導機構の解明」

京都大学大学院生命科学研究科

中村 麻衣

1 研究の背景と目的

細胞競合とは、組織中に生じた変異細胞や異常細胞が周囲の正常細胞との相互作用を介して排除される現象である。細胞競合により排除される「敗者細胞」は、単独では生存可能であるが、正常細胞（「勝者細胞」）に近接した場合にのみ細胞死を起こす。ここ 20 年ほどの間で細胞競合の分子機構の解析が大きく進んだ結果、細胞競合の敗者で発現誘導される細胞死に必須の転写因子 *Xrp1* や *NFκB*、またその下流で発現誘導される細胞死誘導因子 *hid* などが同定され、敗者細胞が細胞死を引き起こすメカニズムが明らかになりつつある。しかし一方で、敗者細胞はなぜ勝者細胞に近接したときにのみ細胞死シグナルを活性化するのか、すなわち勝者細胞が敗者細胞に対してどのようにして「細胞非自律的」な影響を及ぼすのかについてはいまだ不明である。我々は最近、タンパク質合成能が低下する *Hel25E* 遺伝子（RNA ヘリカーゼ遺伝子）の変異により引き起こされる新規ショウジョウバエ細胞競合モデル系を構築した（Nagata, Nakamura *et al.*, *Dev Cell*, 2019）。このモデルを用いて細胞競合の敗者の排除メカニズムを解析した結果、正常細胞（勝者）に隣接する *Hel25E* 変異細胞（敗者細胞）でオートファジーが活性化し、それにより *NFκB* 依存的に *hid* の発現が誘導され、これが *JNK* シグナルと協調することで細胞死が引き起こされることが明らかになった（Nagata, Nakamura *et al.*, *Dev Cell*, 2019）。そこで私は、この細胞競合系を用いて、勝者細胞（正常細胞）が隣接する敗者細胞（*Hel25E* 変異細胞）に細胞非自律的に細胞死を引き起こすために必要な因子を同定するための遺伝学的スクリーニング系を構築してこれを実施した（図1）。その結果、興味深いことに、正常細胞においてミトコンドリア機能障害が起こると隣接する *Hel25E* 変異細胞でオートファジーが誘導されなくなり、細胞競合が強く抑制されることがわかった。さらに、*Hel25E* 変異細胞は *Xrp1* を発現誘導することで細胞死を起こすこと、また勝者細胞でミトコンドリア機能障害が起こると敗者細胞での *Xrp1* 発現上昇が起こらなくなることがわかった。そこで本研究では、正常細胞に囲まれた変異細胞で *Xrp1* の発現上昇が誘導されるメカニズムの解析を起点として、変異細胞が隣の細胞によってどのように認識され細胞死シグナルを活性化するのかを明らかにし、細胞競合の分子メカニズムの全貌解明に迫る。



2 研究方法・研究内容

私はこれまでの予備的解析で、細胞競合の勝者細胞（正常細胞）が隣接する敗者細胞（*Hel25E* 変異細胞）に細胞非自律的に細胞死を引き起こすために必要な因子を同定するための遺伝学的スクリーニング系を構築し、これを実施した。具体的には、ショウジョウバエ遺伝的モザイク法を用いて、*Hel25E* 変異細胞クローンに隣接する勝者細胞にのみ変異原化合物 EMS 誘導性変異（4,000 変異系統）もしくは CRISPR-Cas9 誘導性変異（3,000 変異系統；国立遺伝学研究所 近藤周博士・齋藤都暁博士らとの共同研究）をホモ接合に誘導し、*Hel25E* 変異細胞クローンの排除が抑制される系統（サプレッサー系統）をスクリーニングした。その結果、驚くべきことに、単離された 24 系統のサプレッサーのうち 16 系統がミトコンドリア呼吸鎖の活性に必要な遺伝子の変異であることがわかった。つまり、*Hel25E* 変異細胞の排除には、隣接する勝者細胞のミトコンドリア機能が重要であると考えられた。例えば、*Hel25E* 変異細胞クローンの周囲にミトコンドリア呼吸鎖複合体 IV のコンポーネントである *COX11* の変異を誘導すると、*Hel25E* 変異細胞のオートファジーおよび排除が抑制された（図 2）。さらに、*Hel25E* 変異細胞は *Xrpl* を発現誘導することで細胞死を起こすこと、また隣接する勝者細胞でミトコンドリア機能障害が起こると敗者細胞での *Xrpl* 発現上昇が起こらなくなることがわかった。一方で、*Xrpl* の発現上昇メカニズムはいまだ不明である。そこで本研究では、まずはこのことを明らかにするために、ミトコンドリアの機能低下により引き起こされることが想定される現象である①活性酸素種 ROS の産生、②解糖系の亢進、③ATP 合成低下による AMPK 活性化に着目し、これらを人為的に操作した際に *Xrpl* の転写活性やタンパク質合成能に変化が起こるかどうかを解析する。そして、この解析により明らかになった分子メカニズムを *Hel25E* 変異による細胞競合モデルを用いて検証し、正常細胞に囲まれた変異細胞でいかにして *Xrpl* 発現上昇やオートファジー誘導が引き起こされるのかを明らかにする。これにより、変異細胞が隣接する正常細胞によってどのように認識され、敗者細胞として細胞死を起こして排除されるのかを明らかにする。これらの解析を通じて、タンパク質合成能依存型細胞競合の全貌解明に迫る。

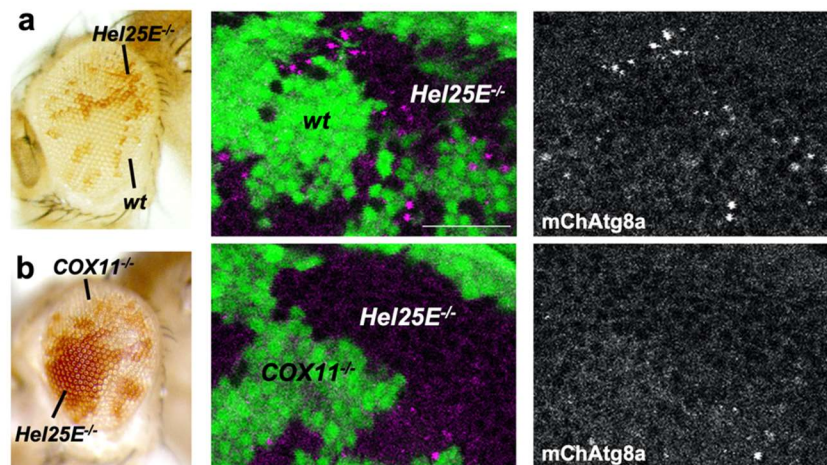


図2. *COX11*変異を*Hel25E*変異細胞の周囲に誘導すると細胞競合およびオートファジーが抑制される

*Hel25E*変異細胞クローンは野生型細胞に囲まれるとオートファジーを活性化して排除される (a)。しかし、*COX11*変異を*Hel25E*変異細胞クローンの周囲に誘導すると*Hel25E*変異細胞のオートファジーおよび排除が抑制される (b)。

3 研究成果

「細胞競合」とは細胞間コミュニケーションを介した新たな細胞排除現象であり、組織中の不良細胞やがん原性細胞の排除など様々な生命現象に関わることが示されつつある。しかし、細胞競合の敗者細胞が勝者細胞に近接したときにのみ細胞死を引き起こすメカニズムは未だ不明である。本研究では、細胞競合の勝者細胞におけるミトコンドリア機能が敗者細胞の排除に重要であるという予備的知見を基に、勝者細胞がどのようにして敗者細胞に非自立的細胞死を引き起こすのか解析を行った。

RNA ヘリカーゼ遺伝子である *Hel25E* 遺伝子の変異細胞ではグローバルにタンパク質合成が低下し、正常細胞と隣り合った変異細胞においてオートファジーが活性化し、JNK シグナルと協調することで細胞死を引き起こし組織中から排除される (Nagata, Nakamura et al., *Dev Cell*, 2019)。このとき、正常細胞のミトコンドリアの機能を低下させると、オートファジーが抑制され細胞死も抑制された。このことから、*Hel25E* 変異細胞の排除には正常細胞のミトコンドリア機能が関わっていることが考えられたので、次にミトコンドリアのどういった機能が関わっているか調べた。そこで着目したのが、細胞競合の重要な特徴であるタンパク質合成の低下である。*Hel25E* 変異細胞ではタンパク質合成が低下することがわかっているが、ミトコンドリアの機能低下によってもタンパク質合成が低下することから、タンパク質合成能の相対的な差が細胞競合の駆動に必要である可能性を考え、ミトコンドリア機能低下の代わりに強制的にタンパク質合成を阻害したときに *Hel25E* 変異細胞のオートファジーや細胞死が抑制されるか解析を行った。具体的には、翻訳に関わる 4E-BP の過剰発現と S6K の knock down を *Hel25E* 変異細胞の周りで行いタンパク質合成を阻害した。その結果、*Hel25E* 変異細胞におけるオートファジーおよび細胞死が抑制された (図 3)。以上のことから、勝者細胞と敗者細胞とのタンパク質合成の相対的な差が細胞競合を駆動するのに重要である可能性が示唆された。今後はタンパク質合成の差がどのようにしてオートファジーを誘導するのか解析を行う必要がある。現在は、ミトコンドリアの重要な機能であり、タンパク質合成に必要な不可欠な ATP 産生の関わりについても解析中である。また、敗者細

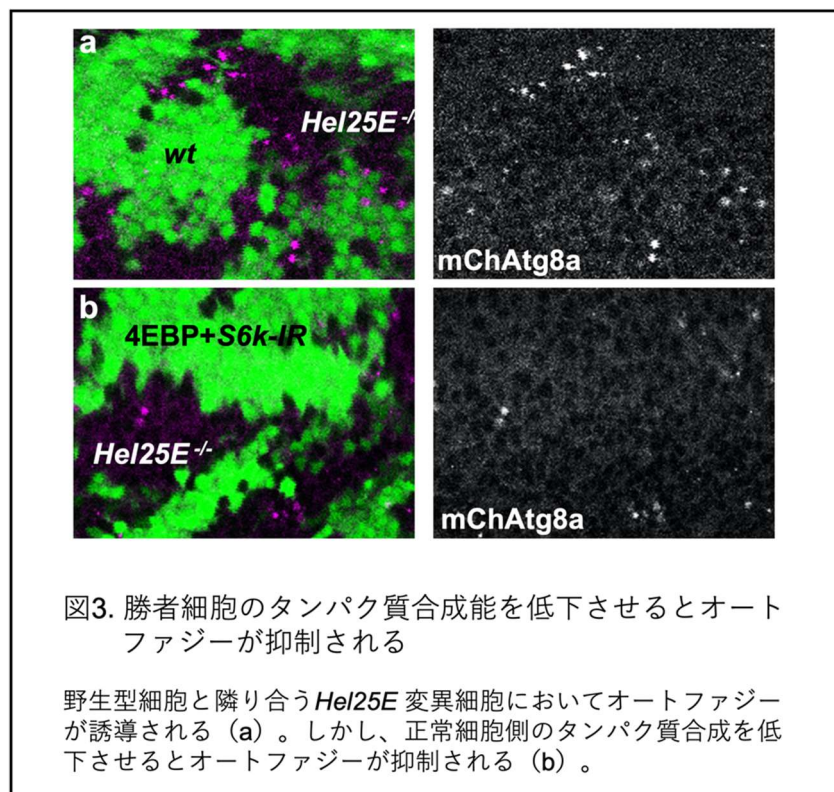


図3. 勝者細胞のタンパク質合成能を低下させるとオートファジーが抑制される

野生型細胞と隣り合う *Hel25E* 変異細胞においてオートファジーが誘導される (a)。しかし、正常細胞側のタンパク質合成を低下させるとオートファジーが抑制される (b)。

胞の細胞死誘導に必須の転写因子 Xrp1 誘導のメカニズムについても明らかにすることが重要である。

4 生活や産業への貢献および波及効果

近年、細胞競合はその生物学的重要性が広く認識されつつあり、器官発生や組織再生のみならず、がんをはじめとする様々な疾患においても重要な役割を果たすと推察されている。がん抑制型細胞競合の分子機構が明らかになりつつある一方で、タンパク質合成能依存型細胞競合のメカニズムについてはこれまで論争が絶えず、いまだほとんど不明であった。したがって、本研究の遂行によって明らかになるタンパク質合成能依存型細胞競合のメカニズムは、細胞競合研究を大きく進展させるだけでなく、機構未知の様々な生命現象の理解にも大きく貢献するものと期待される。本研究の成果は、医学・細胞生物学・発生生物学に新たな展開をもたらすだけでなく、関連する様々な学問分野に新しい視点と研究スタイルを提供するものと期待される。

ショウジョウバエの生殖細胞や放射線照射時のマウス造血幹細胞では、ニッチを巡って幹細胞同士が細胞競合を起こすことが報告されており、細胞競合研究は幹細胞制御とそれを標的とした次世代医療の基盤構築という点でも大きく注目され始めている。現在、本研究のような生体レベルでの細胞競合現象の網羅的かつ体系的解析を行えるのはショウジョウバエを用いた系において他になく、世界的にもユニークな本研究は、当該分野の発展を強力に推進するものと考えられる。