

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22424

研究課題名（和文）細胞競合の共通メカニズムの遺伝学的解析

研究課題名（英文）Genetic dissection of the common mechanism of cell competition

研究代表者

井垣 達史（Igaki, Tatsushi）

京都大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：00467648

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：生体内で隣り合う細胞が生存を争い、一方の細胞が細胞死を起こして組織から排除される現象が存在し、「細胞競合」と呼ばれている。本研究では、ショウジョウバエをモデル生物として用い、細胞競合を引き起こす遺伝子変異を網羅的に探索・同定し、それらの細胞競合の分子機構の解析を行った。その結果、細胞競合の実行においてオートファジーが重要な役割を果たしていることを見いだした。また、様々な遺伝子変異によって引き起こされる細胞競合が、共通して転写因子Xrp1を介して実行されることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、異なる原因によって引き起こされる細胞競合の実行に共通してオートファジーや転写因子Xrp1が重要な役割を果たすことが明らかになった。本研究の成果により、多細胞生物における細胞間コミュニケーションの仕組みの理解に近づくことができると期待される。また、本成果を基に細胞競合を人為的に制御できるようになれば、がんなどの細胞競合に関わる疾患に対する新たな治療戦略を構築できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Cell competition is a form of cell-cell interaction whereby cells with higher fitness eliminate neighboring less fit cells by inducing cell death. In this study, we used fruit fly *Drosophila* as a model organism and searched for gene mutations that cause cell competition and analyzed the underlying mechanisms. We found that autophagy plays a critical role in driving cell competition and discovered that a transcription factor Xrp1 plays a key role in many types of cell competition triggered by different gene mutations.

研究分野：細胞生物学、遺伝学

キーワード：細胞競合 細胞死 細胞間コミュニケーション

1. 研究開始当初の背景

生体内で隣り合う細胞間で相対的に増殖能・生存能に優る細胞（勝者）が劣る細胞（敗者）を排除する現象が存在し、「cell competition（細胞競合）」と呼ばれ近年注目されている。細胞競合は、傷害を受けた細胞や前がん細胞を組織から積極的に排除したり、幹細胞集団の中から優良幹細胞を選別したりするのに重要な役割を果たすと推測されているが、その生理的役割はいまだ不明である。これまでに、細胞競合を引き起こす因子として、リボソームタンパク質遺伝子のヘテロ変異や、細胞間でのがん遺伝子 Myc の発現差、apico-basal 極性の崩壊などが報告されてきた。研究代表者はこれまで、ショウジョウバエ上皮において apico-basal 極性が崩壊した細胞が正常細胞に近接すると細胞競合の敗者となって組織から排除される現象を見だし、そのメカニズムの大枠を明らかにしてきた。また、リボソームタンパク質遺伝子のヘテロ変異や Myc 発現量の差によって引き起こされる細胞競合のメカニズムについても、近年徐々に明らかになりつつある。一方で、ここ数年の細胞競合研究の進展によっていま顕在化してきたことは、異なる因子によって引き起こされる細胞競合が必ずしも共通のメカニズムによって実行されているわけではないという事実である。したがって、細胞競合の全貌を理解するためには、まず細胞競合現象を根本から見直し、その共通原理と多様性を明らかにすることが必須であると考えられた。

2. 研究の目的

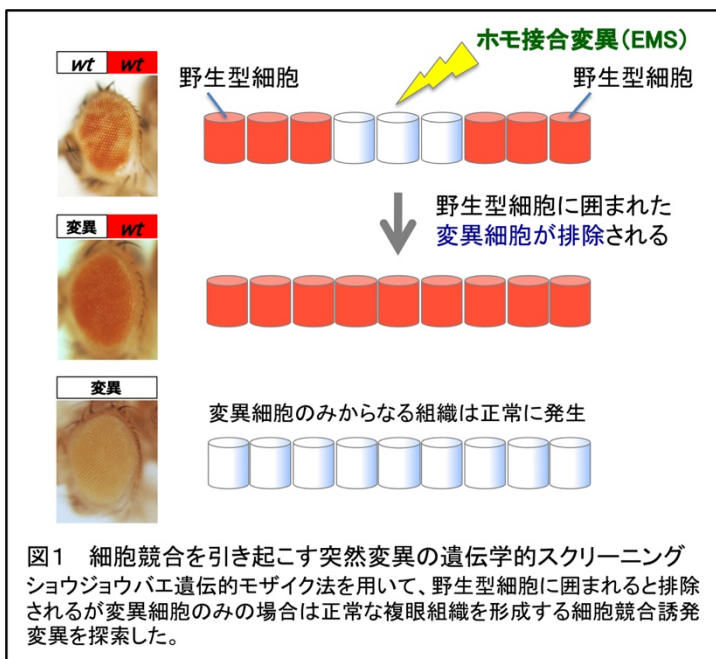
細胞競合現象の共通原理と多様性を明らかにするため、ショウジョウバエ上皮において細胞競合を引き起こしうる突然変異を網羅的に同定し、それらによって引き起こされる細胞競合のシグナル伝達メカニズムをモディファイヤースクリーニングおよび遺伝学的解析によって体系的に理解することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、まず (1) ショウジョウバエ遺伝学的スクリーニングにより「細胞競合を誘起する」突然変異を網羅的に単離・同定する。次に、(2) これらの細胞競合に関わる遺伝子群やシグナル伝達経路を遺伝学的に解析してその実行メカニズムを分類するとともに、(3) これらの細胞競合を正や負に制御する遺伝子群をモディファイヤー・スクリーニングにより同定・分類し、細胞競合機構の体系付けを行う。これらモディファイヤー遺伝子群の解析を通じて、細胞競合の共通原理と多様性を見いだす。

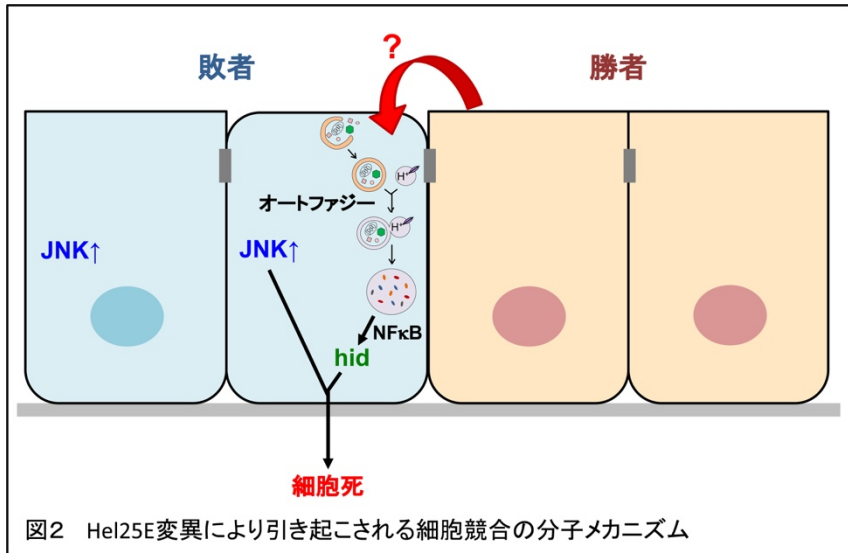
4. 研究成果

研究代表者らはこれまでに、細胞競合を引き起こす新たな遺伝子変異を探索するための新規遺伝学的スクリーニング系を構築した。具体的には、エチルメタンサルホン酸 (EMS) により突然変異を導入したショウジョウバエ変異系統を多数樹立し、遺伝的モザイク法を用いてショウジョウバエの複眼原基に EMS 誘導性のホモ接合変異をもつ体細胞クローンをモザイク状に誘導する。このとき、単独では生存可能な変異細胞クローンが、正常細胞に囲まれた場合にのみ組織から排除される（細胞競合の敗者となる）変異系統を探索する（図 1）。得られた変異系統について、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を行い、細胞競合誘発の責任遺伝子を同定する。これまでの研究代表者らの解析により、独立した 2 つの細胞競合誘発変異系統の責任遺伝子として、RNA ヘリカーゼをコードする He125E 遺伝子を同定した。He125E は核から細胞質への mRNA 搬出を担っており、タンパク質合成への関与が示唆されていた。実際に、He125E 変異細胞クローン内ではタンパク質合成能が低下していることがわかった。ここで、これまで細胞競合誘発変異として解析されてきた一連のリボソームタンパク質遺伝子のヘテロ変異細胞は、共通し



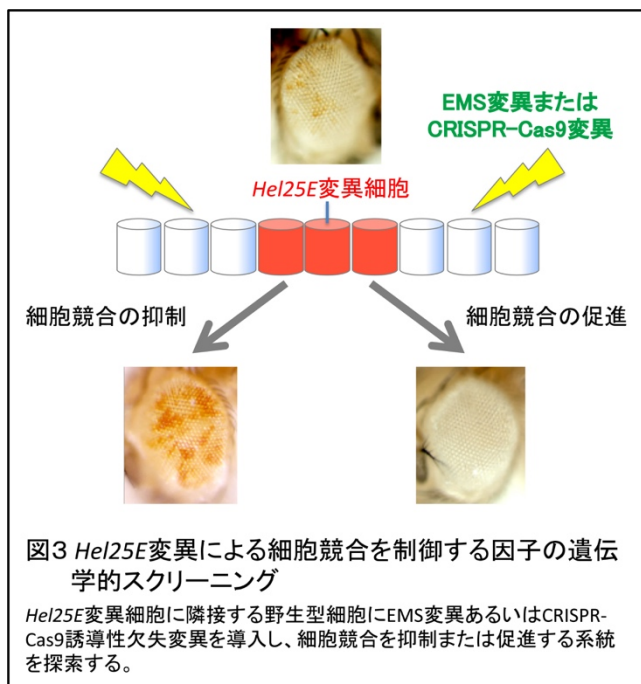
てグローバルなタンパク質合成の低下を引き起こすことが知られていた。すなわち、He125E 変異による細胞競合も、これまで多くの研究がなされてきたリボソームタンパク質遺伝子変異細胞による細胞競合同様のメカニズムで引き起こされる可能性が高いと考えられた。

そこでまず、He125E 変異細胞が引き起こす細胞競合の分子メカニズムを明らかにするため、一連のショウジョウバエ染色体欠失系統ライブラリーを用いたモディファイヤースクリーニングを行い、この細胞競合を制御する遺伝子群を探索した。その結果、驚くべきことにオートファジー関連遺伝子の機能が He125E 変異細胞内で抑制されると細胞競合が強く抑制されることがわかった。すなわち、敗者細胞の排除にオートファジーが必要であると考えられた。さらなる遺伝学的解析の結果、正常細胞（勝者）に近接する He125E 変異細胞（敗者）においてオートファジー活性が上昇し、この活性が NFκB の活性化を介して細胞死遺伝子 hid の発現を誘導することがわかった。さらに、He125E 変異細胞はストレスキナーゼ JNK を活性化しており、この JNK 活性化と hid 発現誘導が協調することで、正常細胞に近接する He125E 変異細胞が特異的に細胞死を起こすことが明らかになった (Nagata et al., Dev Cell, 2019) (図 2)。



さらに、細胞競合を引き起こす遺伝子変異の遺伝学的スクリーニング (図 1) を大規模に展開し、約 12,500 のショウジョウバエ突然変異系統を樹立して、その中から 87 の細胞競合誘発変異を同定することに成功した。これら 87 系統について、これまでに細胞競合への関与が報告されている分子群 (JNK、オートファジー関連遺伝子、転写因子 Xrp1、カスパーゼ) の依存性を検証した結果、その半数以上が Xrp1 依存的に細胞競合を起こすという興味深いことがわかった。つまり、様々な遺伝子変異によって引き起こされる細胞競合現象の多くが、Xrp1 というたった 1 つの転写因子に収束することが示唆された。現在、これらの変異系統について各種シグナル伝達経路の依存性を検証しており、細胞競合メカニズムがいくつかのカテゴリーに分類されることが見えつつある。今後のさらなる解析により、細胞競合現象を体系的に捉えることが可能になると考えられる。

一方、上記の He125E 変異による細胞競合の解析で見いだした分子メカニズムにおいて、勝者細胞に近接する敗者細胞で特異的に起こるオートファジーの誘導機構を明らかにすることができれば、細胞競合の分子機構の最も重要な部分が明らかになると考えられた。そこで、このオートファジー誘導に関わる因子のモディファイヤースクリーニングを実施した。具体的には、遺伝的モザイク法を用いて、He125E 変異細胞クローンに隣接する勝者細胞のみに変異原化合物 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) をホモ接合に導入し、He125E 変異細胞クローンの排除が抑制 (サプレッサー) または促進 (エンハンサー) される系統をスクリーニングした (図 3)。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 17 系統がミトコンドリア呼吸鎖の機能に必要な遺伝子の変異であることがわかった。そしてこのとき、敗者細胞でのオートファジー誘導が抑制されていることがわ



かった。つまり、He125E 変異細胞のオートファジー誘導とそれによる細胞排除には、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。現在、勝者細胞のミトコンドリア機能がどのように敗者細胞のオートファジー誘導に関わるのかを解析している。今後、このメカニズムを明らかにすることで、細胞競合の共通原理の理解に迫ることができると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kanda H, Igaki T.	4. 巻 111
2. 論文標題 Mechanism of tumor-suppressive cell competition in flies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3409-3415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14575	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sanaki Y, Nagata R, Kizawa D, Leopold P, Igaki T.	4. 巻 53
2. 論文標題 Hyperinsulinemia drives epithelial tumorigenesis by abrogating cell competition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Developmental Cell	6. 最初と最後の頁 379-389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2020.04.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Iida C, Ohsawa S, Taniguchi K, Yamamoto M, Morata G, Igaki T.	4. 巻 9
2. 論文標題 JNK-mediated Slit-Robo signaling facilitates epithelial wound repair by extruding dying cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-56137-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Nagata R, Nakamura M, Sanaki Y, Igaki T.	4. 巻 51
2. 論文標題 Cell competition is driven by autophagy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Developmental Cell	6. 最初と最後の頁 99-112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2019.08.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 永田理奈、赤井菜々美、近藤周、齋藤都暁、大澤志津江、井垣達吏
2. 発表標題 Yorkie drives tumorigenesis by non-autonomous induction of autophagy-mediated cell death
3. 学会等名 62nd Annual Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永田理奈、赤井菜々美、大澤志津江、井垣達吏
2. 発表標題 Cell competition regulates tissue growth and tumorigenesis via non-autonomous induction of autophagy
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井垣達吏
2. 発表標題 細胞競合による上皮の恒常性維持と腫瘍増殖制御
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井垣達吏
2. 発表標題 細胞競合による上皮恒常性維持とがん制御
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会 (シンポジウム) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永田理奈、中村麻衣、佐奈喜祐哉、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合はオートファジーにより駆動される
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会(ワークショップ)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村麻衣、近藤周、齋藤都暁、井垣達史
2. 発表標題 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析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会(ワークショップ)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井垣達史
2. 発表標題 細胞競合によるがん制御
3. 学会等名 第5回生体調節研究所内分泌代謝シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Igaki T
2. 発表標題 Tumor suppression and epithelial maintenance by cell competition
3. 学会等名 26th European Drosophila Reserch Conference(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakamura M, Kondo S, Saito K, Igaki T
2. 発表標題 Dissecting the mechanism of non-cell autonomous cell death by cell competition
3. 学会等名 26th European Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nagata R, Nakamura M, Sanaki Y, Igaki T
2. 発表標題 Cell competition is driven by autophagy
3. 学会等名 26th European Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井垣達史
2. 発表標題 細胞競合を駆動する細胞死誘導機構
3. 学会等名 第28回日本Cell Death学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村麻衣、近藤周、齋藤都暁、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合における細胞非自律的な細胞死誘導機構の解析
3. 学会等名 第28回日本Cell Death学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永田理奈、中村麻衣、佐奈喜祐哉、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合はオートファジーを介した細胞死遺伝子誘導により駆動される
3. 学会等名 第28回日本Cell Death学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永田理奈、中村麻衣、佐奈喜祐哉、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合はオートファジーを介した細胞死遺伝子誘導により駆動される Cell competition is triggered by local induction of autophagy
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井垣達史
2. 発表標題 細胞競合による上皮の恒常性維持機構
3. 学会等名 第17回幹細胞シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nagata R, Nakamura M, Sanaki Y, Igaki T
2. 発表標題 Cell competition in the growing epithelial progenitors is driven by autophagy
3. 学会等名 第17回幹細胞シンポジウム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------