

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15788

研究課題名（和文）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

研究課題名（英文）Dissecting the mechanism of non-cell autonomous induction of cell death during cell competition

研究代表者

中村 麻衣（Nakamura, Mai）

京都大学・生命科学研究科・研究員

研究者番号：10820871

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：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研究代表者の予備的知見を基に、ショウジョウバエをモデル生物として用い、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の解析を行った。その結果、勝者と敗者のタンパク質合成能の差が細胞競合の原動力になっていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、細胞競合の誘導には勝者と敗者のタンパク質合成能の差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繋がると期待される。

研究成果の概要（英文）：Cell competition is a context-dependent cell elimination via cell-cell interaction, whereby cells with lower fitness losers are eliminated by neighboring cells with higher fitness winners. In this study, we used *Drosophila* as a model organism and analyzed the mechanism that winners induce cell death in neighboring loser cells based on the my preliminary findings that mitochondrial function of winner cells is required for elimination of neighboring losers. We found that protein synthesis level between losers and winners is driving force of cell competition.

研究分野：細胞生物学、遺伝学

キーワード：細胞競合 ショウジョウバエ 細胞非自律的細胞死

1. 研究開始当初の背景

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、敗者細胞の細胞死実行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「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。このメカニズムを明らかにするために、我々が最近構築した新規ショウジョウバエ細胞競合モデル系を用いて、大規模な遺伝学的スクリーニングを行った結果、興味深いことに、正常細胞（勝者細胞）においてマイルドなミトコンドリア機能障害が起こると、隣接する敗者細胞における細胞死が抑制されることがわかった。つまり、敗者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。本研究では、この発見を起点として、変異細胞（敗者細胞）が隣の細胞（勝者細胞）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することで、細胞競合の分子メカニズムの全貌解明に迫ることができると考えた。

2. 研究の目的

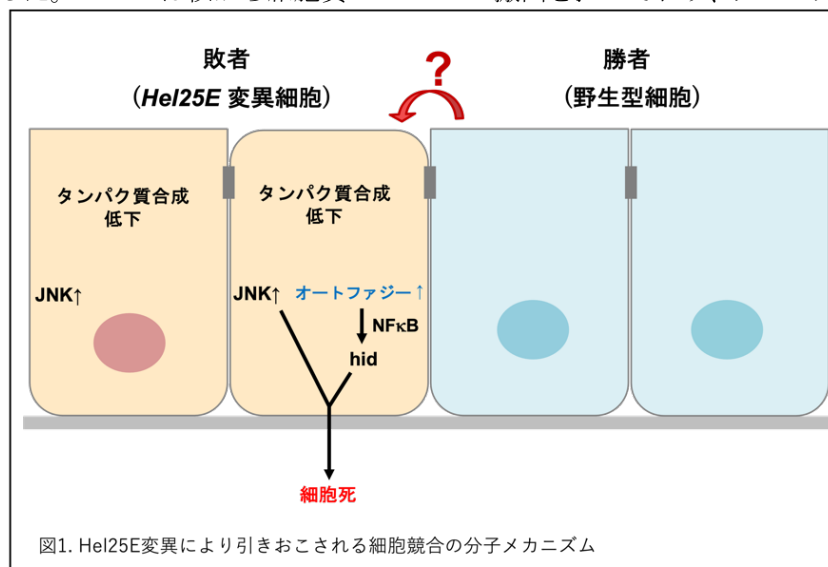
ショウジョウバエ上皮をモデル系として用い、細胞競合現象において、敗者細胞がなぜ勝者細胞に近接したときにのみ細胞死シグナルを活性化するのか、その「細胞非自律的」なメカニズムを遺伝学的解析によって理解することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

これまでの予備的解析で勝者細胞側（正常細胞）のミトコンドリア機能が敗者細胞（*He125E* 変異細胞）の排除に重要であることを見出している。本研究では、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 の酸性、（2）解糖系の亢進、（3）ATP 合成低下、（4）タンパク質合成能低下に着目し、これらを人為的に操作した際に敗者細胞のオートファジー、細胞死が抑制されるかどうかを指標として解析を行う。これらの解析を通じて、変異細胞が隣の細胞にどのように認識され細胞死シグナルを活性化するか明らかにする。

4. 研究成果

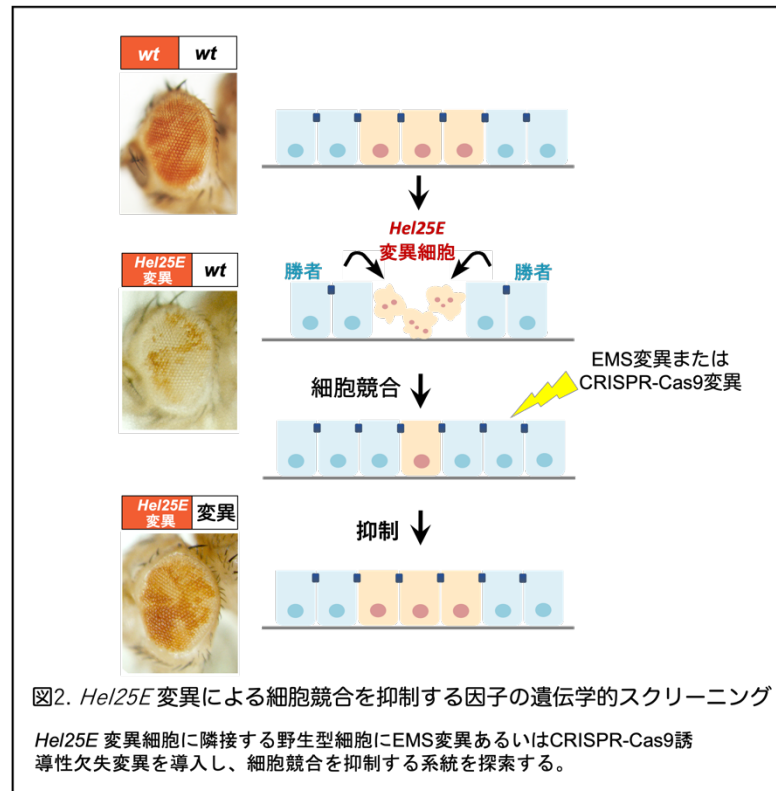
研究代表者はこれまでに、ショウジョウバエ複眼の上皮組織をモデル系として、細胞競合を引き起こす新たな遺伝子変異を探索してきた。具体的には、エチルメタンスルホン酸（EMS）による突然変異を導入したショウジョウバエ変異系統を 2,500 系統樹立し、ショウジョウバエ遺伝的モザイク法を用いてショウジョウバエの複眼原基に EMS 誘導性のホモ接合変異をもつ体細胞クローンをモザイク状に誘導し、これらのクローンが正常細胞に囲まれた場合にのみ組織中から排除される 57 の変異系統を単離することに成功した。得られた変異系統について、次世代シーケンサーを用いて全ゲノム解析を行い、細胞競合を誘発する責任遺伝子を同定した。研究代表者らのこれまでの解析により、得られた変異系統のうち 2 系統が RNA ヘリカーゼ遺伝子に突然変異をもつことを見いだした。*He125E* は核から細胞質への mRNA の搬出を担っており、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。すなわち、これまで見いだ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（*Minute* 変異）以外で初めて、グローバルなタンパク質合成の低下により細胞競合を引き起こす変異を同定した。すなわち、*He125E* 変異による細胞競合も、*Minute* 変異による細胞競合と同様の



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てモディファイヤースクリーニングを行い、*He125E* 変異による細胞競合を抑制する系統を探索した。その結果、驚くべきことに *He125E* 変異細胞内でオートファジーが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、敗者細胞の排除には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）に隣接する *He125E* 変異細胞（敗者）でオートファジーが活性化すると、その活性が NFkB 依存的に細胞死遺伝子 *hid* が発現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である JNK を活性化しており、これが *hid* と協調することで正常細胞に近接する *He125E* 変異細胞において細胞死が引き起こされることが明らかとなった (Nagata, Nakamura *et al.*, *Dev Cell*, 2019) (図 1)。

さらに、*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、勝者細胞に隣接する敗者細胞で特異的に起こるオートファジー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、上記のモデルを用いて、細胞競合の勝者細胞（正常細胞）が隣接する敗者細胞（*He125E* 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、*He125E* 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、*He125E* 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 (図 2)。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複合体あるいはそれに関わる因子をコードしていることがわかった。つまり、*He125E* 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の機能が重要であると考えられた。例えば、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 の変異は単独では組織成長に影響を及ぼさないが、*He125E* 変異細胞と隣り合うように COX11 のホモ接合変異を導入すると、近接する *He125E* 変異細胞クローン（敗者細胞）の排除が強く抑制され、このとき正常細胞（勝者細胞）に近接する敗者細胞で通常活性化するオートファジーが抑制され細胞死も抑制された。

そこで、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 の酸性、(2) 解糖系の亢進、(3) ATP 合成低下、(4) タンパク質合成能低下に着目し、これらを *He125E* 変異細胞が隣接する勝者細胞（正常細胞）で人為的に操作した際に敗者細胞のオートファジーおよび細胞死が抑制されるかどうかを指標として解析を行った。その結果、勝者細胞側のタンパク質合成能が低下すると *He125E* 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ることがわかった。具体的には、ミトコンドリアの機能低下によってタンパク質合成が低下する代わりに、翻訳に関わる Thor (4E-BP のホモログ: 翻訳開始因子の eIF4E に結合することで翻訳を阻害) の過剰発現と S6K (mTOR にリン酸化されると翻訳に関わる多数の基質タンパク質をリン酸化) の knockdown を *He125E* 変異細胞に隣接する勝者細胞側で同時に発現させタンパク質合成を阻害した。これにより、*He125E* 変異細胞で通常活性化するオートファジーが抑制され、細胞死も抑制された。*He125E* 変異細胞においてもタンパク質合成が低下することから、勝者細胞と敗者細胞のタンパク質合成能の差が細胞競合に重要な役割を果たしていると考えられた。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は、共通してタンパク質合成能が低下することが知られているため、勝者と敗者のタンパク質合成能の差が生じる

ことによって細胞競合が引き起こされるメカニズムを解析することによって、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2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ochi N, Nakamura M, Nagata R, Wakasa N, Nakano R and Igaki T.	4. 巻 12
2. 論文標題 Cell competition is driven by Xrp1-mediated phosphorylation of eukaryotic initiation factor 2α	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pgen.1009958	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 Cong B, Nakamura M, Sando Y, Kondo T, Ohsawa S and Igaki T.	4. 巻 11
2. 論文標題 JNK and Yorkie drive tumor malignancy by inducing L-amino acid transporter 1 in Drosophila	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pgen.1009893	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4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

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72回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakamura M, Li J, Kondo S, Saito K, Igaki T
2. 発表標題 Identification of a novel inducer of tumor-suppressive cell competition in Drosophila
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakamura M, Li J, Kondo S, Saito K, Igaki T
2. 発表標題 Identification and characterization of a novel type of cell competition in Drosophila
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 中村麻衣、近藤 周、齋藤 都暁、井垣 達史
2. 発表標題 細胞競合において細胞間の質の差を決定する因子の探索と解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021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
---------	---------