

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02478

研究課題名（和文）がん抑制を司る新規細胞競合機構の解明

研究課題名（英文）A genetic approach for the regulation of cell competition.

研究代表者

菅田 浩司（Kanda, Hiroshi）

京都大学・生命科学研究科・准教授

研究者番号：60508597

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：多細胞生命が潜在的に危険な細胞を自律的に排除し自己を最適化する全く新しい恒常性維持機構である細胞競合の制御分子機構を解明する目的で、ショウジョウバエの遺伝学を応用したスクリーニング及び解析を行った。その結果、TNFシグナルによる制御機構を明らかにすることができた。また、多様な細胞競合を制御する共通の分子機構が存在する可能性を見出し、その中心的な制御分子を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果によって、がんを抑制する全く新しいタイプの細胞競合の制御機構の理解が大きく進展した。近年、細胞競合はがん原性細胞の排除や優良幹細胞の選別など、生体の恒常性維持に深く関わる可能性が指摘されている。従って、本研究成果は細胞生物学、発生生物学、がん生物学などの発展に貢献するのみならず、将来的には本研究で見出した分子機構を人為的に操作することで「正常細胞にがん原性細胞を攻撃させる」という新たながん治療戦略の開発などに貢献できると考えられる。

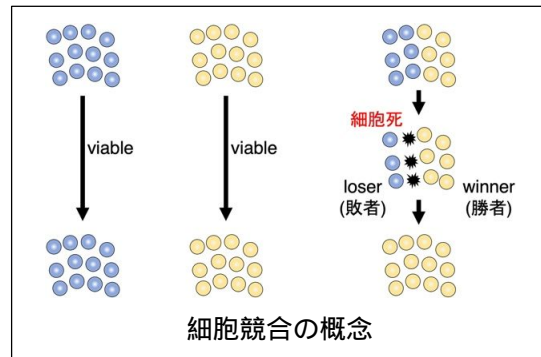
研究成果の概要（英文）：Cell competition is a context-dependent cell elimination whereby cells with higher fitness eliminate neighboring viable, less-fit cells by inducing apoptosis. In this study, we performed a large-scale in vivo screen to identify regulators of a novel type of tumor-suppressive cell competition, and identified several key regulators of it. We also found that a variety of cell competition could be regulated by small number of key regulators.

研究分野：細胞生物学、遺伝学

キーワード：ショウジョウバエ 細胞競合

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物の上皮など、均一な細胞の集団と捉えることができる組織においても、個々の細胞レベルでは遺伝子の発現状態や増殖速度などが異なる (Elowitz *et al. Science* 2002)。「均一な」細胞集団中に周囲の細胞とは性質や状態が異なる異質な細胞が生じた際、両者の境界領域において一方の細胞が細胞死を起こす現象が存在する。進化的に保存されたこの現象は細胞競合と呼ばれている。近年、ショウジョウバエやマウス、魚類などを用いた解析から、細胞競合は apico-basal 極性の崩壊したがん原性細胞や機能が低下した幹細胞、異数性細胞、モルフォゲン勾配を乱す細胞などを排除する際に実行されることが示された (Baker *Nature Rev Genet* 2020)。細胞競合は免疫系のように特殊な機能をもつ細胞ではなく、「普通の」細胞が異質な細胞を認識し排除する点でこれまでに類のない現象である。さらに、細胞競合時に誘導される細胞死は発生過程で観察されるアポトーシスなどのようにはあらかじめプログラムされたものではなく、細胞間の性質や状態の差などの状況に依存して実行されるため、細胞死誘導機構においてもこれまでにない現象である。すなわち細胞競合は多細胞生命が潜在的に危険な細胞を自律的に排除し自己を最適化する、進化的に保存された全く新しい恒常性維持機構である。しかし、細胞競合に関するほとんどの研究はいまだに極めて限定的なモデル系を用いて細胞競合の特定の特性のみに着目して行われているのが現状であり、細胞競合の生理的な意義や、細胞競合を制御する共通の分子機構の有無などの本質的な問いはほとんど未解明である。その大きな理由のひとつとして、これまで細胞競合を引き起こす細胞の状態や性質の変化を生体レベルでの大規模な探索によって見出し、その分子機構を解き明かす実験系が存在しなかった点が挙げられる。このような状況の中で申請者は、本研究の立案に先立ってショウジョウバエの成虫原基を用いて細胞競合の引き金 (トリガー) となる遺伝子変異を探索する大規模な *in vivo* スクリーニング (後述) を行い、得られた分子による細胞競合の制御機構を解析した結果、新しいタイプの細胞競合を見出した。



2. 研究の目的

申請者らは最近、ショウジョウバエを用いた遺伝学的なスクリーニング及び得られた遺伝子の解析から、上皮組織に対する適応度が低い細胞を組織から未然に排除する際のメカニズムとして全く新しいタイプの細胞競合を見出した。申請者が見出した細胞競合は複数の点においてこれまでに報告されている細胞競合とは異なる分子機構で駆動する可能性があることがわかった。さらに、申請者らが見出したタイプの細胞競合で排除される細胞が、がんを高頻度に認められる RasV12 変異を獲得すると細胞競合による排除を受けなくなり、過剰な増殖を伴って浸潤・転移する悪性腫瘍を形成することがわかった (未発表)。従って申請者らが見出した細胞競合はがんを抑制する機能を有すると考えられた。これらの背景から、申請者らが見出した細胞競合の分子機構の全容を解明できれば、細胞生物学、発生生物学、がん生物学など、関連する研究分野に極めて新しい発展をもたらす可能性があると考えられる。本研究では、申請者らが見出したこの新しいタイプの細胞競合の分子基盤を明らかにし、がん抑制を司る細胞競合機構に関する新たな概念の確立を目指した。

3. 研究の方法

本研究では以下の方法に従って実験を進めた。着目する遺伝子の機能欠失型変異体系統を用いて、複眼特異的に細胞競合を誘導するテスター系統を作製した。次に、細胞競合を制御する分子実体を捉える目的で、テスター系統と染色体の一部が欠失した一連のライブラリ系統とを

交配し次世代の個体で細胞競合に関連する表現型を解析した。これによって細胞競合を抑制または促進する欠失系統の生体レベルでの探索（ドミナント・モディファイヤースクリーニング）を行った。細胞競合が抑制される場合には、染色体欠失領域内には細胞競合の実行に必要な遺伝子が含まれていたと考えられる。ライブラリ系統は約 200 系統を解析することでゲノムの約 35% の領域について解析を行った。目的の表現型を誘導する系統を得た際には欠失領域が部分的に重複する別の染色体欠失系統を用いて同様の解析を行うことで原因遺伝子領域の絞り込みを行い、最終的には原因遺伝子領域に含まれる個々の遺伝子の機能欠失型変異体系統及び RNAi を誘導する系統を用いた解析から原因遺伝子の特定を行った。得られた一連の分子による細胞競合の制御機構、及び、これらの分子と既知の細胞競合制御分子との遺伝学的な相互作用を解析することで、制御機構の全容解明を試みた。さらに、研究で得た遺伝子の機能欠失型変異体系統を作製し解析を行うことで、この細胞競合が実行される生理的・病理的な意義の解明を試みた。

4. 研究成果

申請者は近年、化学変異源である EMS で変異導入したショウジョウバエ系統を用いて複眼原基に遺伝子変異をホモに有する細胞の体細胞クローンを誘導し、クローン面積や細胞死を解析することで細胞競合を誘導する変異体系統のスクリーニングを行った。その結果、12,496 系統の変異体系統から、細胞競合を誘導し得る 61 系統を得ることに成功した。次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析、及び遺伝学的な解析の結果、これらの変異体系統の原因遺伝子には共通の機能を有する膜タンパク質をコードする遺伝子が複数含まれていることを見出した。そこで、遺伝子のひとつについて機能欠失型変異体系統を用いて細胞競合との関連を解析した結果、変異細胞は腫瘍壊死因子 (TNF) シグナルに依存的な細胞競合によって排除されることを見出した。これまでに apico-basal 極性が崩壊したがん原性細胞が TNF シグナルに依存的な細胞競合で排除される例が知られているが、申請者が着目した遺伝子の変異細胞で apico-basal 極性に異常はみられなかった。また、変異細胞内でがん遺伝子である Ras の活性化型 (RasV12) を強制発現させると悪性腫瘍を形成することから、この遺伝子はがん抑制遺伝子として機能すると考えられた。この遺伝子変異が誘導する細胞競合の下流制御因子を同定するために、染色体の一部が欠失した一連のライブラリ系統を用いて表現型のドミナント・モディファイヤースクリーニングを行った。その結果、細胞競合を抑制する系統、亢進する系統をいずれも複数得ることに成功した。責任遺伝子領域の絞り込みを行ったのちに遺伝子変異体系統や RNAi 系統を用いて原因遺伝子の探索を行った結果、特定の細胞機能を制御する複数の遺伝子を得ることに成功した。また、本研究課題の研究期間中である 2022 年には細胞競合の制御において TNF シグナルの活性制御が重要であることが海外のグループから報告された (de Vreede *et al.* *Science* 2022)。そこで、申請者が着目している遺伝子の変異が誘導する細胞競合と上記のシグナル伝達機構との遺伝学的な相互作用の解析も併せて行った。今後は、細胞競合時における TNF 及びその受容体の細胞内局在の変化、及び上流制御メカニズムに焦点を当てて解析を進める。

また、本項目の冒頭で述べた EMS を用いたスクリーニングでは細胞競合を誘導する 61 系統を得たことから、生理的・病理的環境下において多様なトリガーが細胞競合を誘導し得ると考えられる。そこで、多様な細胞競合を制御する共通の分子機構の有無を解析する目的で、これら 61 の遺伝子変異が誘導する細胞競合と、これまでに報告されている細胞競合の制御分子との遺伝学的な相互作用の解析を行った。その結果、61 系統のうち約 89% がストレスキナーゼである JNK、及び b-Zip 型転写因子である Xrp1 のいずれかまたは双方に依存的なメカニズムによって細胞競合を誘導することを見出した。この結果は、多様な細胞競合を制御する共通のメカニズムが存在する可能性を強く示唆している (Matsumoto and Kanda* *et al.* 投稿準備中、*共責任著者)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計29件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Hiroshi Kanda, Ryo Matsumoto, Aya Kawasaki, Mai Nakamura, Rina Nagata, Xinyue Huang, Ayumu Okumura, Naotaka Ochi, Yoji Noguchi, Naoki Wakasa, Ryosuke Nakano, and Tatsushi Igaki
2. 発表標題 A genetic screen and characterization of triggers of cell competition.
3. 学会等名 64th Annual Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菅田浩司、川崎あや、近藤周、齋藤都暁、小林朋絵、松山誠、井垣達吏
2. 発表標題 リボソームタンパク質による細胞競合制御の遺伝学的解析
3. 学会等名 第10回細胞競合コロキウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅田浩司、川崎あや、近藤周、齋藤都暁、小林朋絵、松山誠、井垣達吏
2. 発表標題 リボソームタンパク質による細胞競合制御の遺伝学的解析
3. 学会等名 第2回多細胞生命自律性班会議
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西山 真生、菅田 浩司、井垣 達吏
2. 発表標題 Ras/scrib細胞は細胞競合のloserとしてふるまう
3. 学会等名 第2回多細胞生命自律性班会議
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅田浩司、川崎あや、近藤周、齋藤都暁、小林朋絵、松山誠、井垣 達吏
2. 発表標題 リボソームタンパク質による細胞競合制御の遺伝学的解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川崎あや、菅田浩司、小林朋絵、松山誠、井垣達吏
2. 発表標題 小胞体ストレスが誘導する細胞競合の遺伝学的解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Aya Kawasaki, Hiroshi Kanda, Tomoe Kobayashi, Makoto Matsuyama, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 Genetic analysis of ER stress-induced cell competition
3. 学会等名 第15回日本ショウジョウバエ研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroshi Kanda, Aya Kawasaki, Shu Kondo, Kuniaki Saito, Tomoe Kobayashi, Makoto Matsuyama, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 Regulation of cell competition by the ribosome
3. 学会等名 第15回日本ショウジョウバエ研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川崎あや、菅田浩司、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合を駆動する分子機構の遺伝学的解析
3. 学会等名 第74回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松本涼、菅田浩司、川崎あや、中村麻衣、永田理奈、越智直孝、黄新月、奥村歩、若狭直樹、野口耀司、中野史洋助、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合の共通メカニズムと生理的トリガーの遺伝学的探索
3. 学会等名 第74回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅田浩司、川崎あや、奥村歩、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合を誘導する細胞内変化を司る分子機構の遺伝学的解析
3. 学会等名 第74回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅田浩司、川崎あや、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合を駆動する分子基盤の遺伝学的解析
3. 学会等名 第9回細胞競合コロキウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroshi Kanda, Ryo Matsumoto, Aya Kawasaki, Mai Nakamura, Rina Nagata, Xinyue Huang, Ayumu Okumura, Naotaka Ochi, Yoji Noguchi, Naoki Wakasa, Ryosuke Nakano, and Tatsushi Igaki
2. 発表標題 A genetic screen and characterization of triggers of cell competition.
3. 学会等名 Japan and Australia Meeting on Cell Death 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西山真生、菅田浩司、井垣達吏
2. 発表標題 細胞競合を介したRas/scrib 腫瘍制御機構の遺伝学的解析
3. 学会等名 第11回細胞競合コロキウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroshi Kanda, Aya Kawasaki, Shu Kondo, Kuniaki Saito, Tomoe Kobayashi, Makoto Matsuyama, and Tatsushi Igaki
2. 発表標題 Regulation of cell competition by ribosome.
3. 学会等名 3rd Reearch Networking Salon
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masaki Nishiyama, Hiroshi Kanda, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 The cell fate of Ras/scrib clone is regulated by cell number
3. 学会等名 3rd Reearch Networking Salon
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mai Sakaguchi, Hiroshi Kanda, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 A genetic screen for key regulators of cell competition.
3. 学会等名 3rd Reearch Networking Salon
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryo Matsumoto, Hiroshi Kanda, Aya Kawasaki, Mai Nakamura, Rina Nagata, Naotaka Ochi, Ayumu Okumura, Xinyue Huang, Naoki Wakasa, Yohji Noguchi, Ryosuke Nakano, Tomoe Kobayashi, Makoto Matsuyama, Tatsushi Igaki
2. 発表標題 A genetic screen for core mechanism and physiological triggers of cell competition
3. 学会等名 3rd Reearch Networking Salon
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菅田浩司、川崎あや、近藤周、齋藤都暁、小林朋絵、松山誠、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合はリボソームタンパク質 RpS27A によって制御される
3. 学会等名 多細胞生命自律性第3回領域班会議
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松本涼、菅田浩司、川崎あや、中村麻衣、永田理奈、越智直孝、黄新月、奥村歩、若狭直樹、野口耀司、中野史洋助、小林朋絵、松山誠、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合のコアメカニズムと生理的トリガーの遺伝学的探索
3. 学会等名 多細胞生命自律性第3回領域班会議
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川崎あや、菅田浩司、永田理奈、小林 朋絵、松山 誠、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合を駆動する分子機構の遺伝学的解析
3. 学会等名 多細胞生命自律性第3回領域班会議
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西山真生、菅田浩司、井垣達史
2. 発表標題 Ras/scrib 腫瘍の細胞数依存的な運命制御機構の解析
3. 学会等名 多細胞生命自律性第3回領域班会議
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菅田浩司、川崎あや、近藤周、齋藤都暁、小林朋絵、松山誠、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合をトリガーする細胞状態センサーの探索
3. 学会等名 第31回日本Cell Death学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松本涼、菅田浩司、川崎あや、中村麻衣、永田理奈、越智直孝、黄新月、奥村歩、若狭直樹、野口耀司、中野史洋介、小林朋絵、松山誠、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合の共通メカニズムと生理的トリガーの遺伝学的探索
3. 学会等名 第75回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川崎あや、菅田浩司、永田理奈、小林朋絵、松山誠、井垣達史
2. 発表標題 細胞競合を駆動する分子機構の遺伝学的解析
3. 学会等名 第75回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菅田浩司、川崎あや、近藤周、齋藤都暁、小林朋絵、松山誠、井垣達史
2. 発表標題 リボソームタンパク質による細胞競合制御の遺伝学的解析
3. 学会等名 第10回細胞競合コロキウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西山真生、菅田浩司、井垣達史
2. 発表標題 細胞数依存的なRas/scr ib腫瘍の運命制御機構
3. 学会等名 第10回細胞競合コロキウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 黄新月、松本涼、川崎あや、奥村歩、中村麻衣、越智直孝、野口耀司、菅田浩司、井垣達史
2. 発表標題 多様なトリガーにより引き起こされる細胞競合の共通メカニズムの解析
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菅田浩司
2. 発表標題 A genetic approach for the molecular basis of cell competition
3. 学会等名 第22回生命科学研究科シンポジウム
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
研究協力者	井垣 達史 (Igaki Tatsushi)	京都大学・生命科学研究科・教授 (14301)	

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
---------	---------