

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07086

研究課題名(和文) 組織修復を担う補償的細胞肥大のメカニズム

研究課題名(英文) Mechanisms of Compensatory Cellular Hypertrophy

研究代表者

田守 洋一郎 (Tamori, Yoichiro)

国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター・助教

研究者番号：10717325

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、分裂後の成体上皮組織において一部の細胞が損傷等によって失われた場合、周辺細胞が細胞分裂ではなく核の多倍体化を伴う細胞肥大によって組織を修復する「補償的細胞肥大」という現象のメカニズムを研究した。本研究により、組織損傷時には、周辺細胞の細胞膜にかかる物理的な伸長ストレスがメカノセンサーとしての働きが知られているtransient receptor potential channel (TRPC) の一つを介して細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させ、これに反応してIIS経路活性が亢進することによりエンドサイクルが早まる、という補償的細胞肥大のメカニズムの全容が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Our previous study revealed that the local loss of cells resulting from tissue damage triggers sporadic cellular hypertrophy to repair the tissue. This ‘‘compensatory cellular hypertrophy’’ (CCH) is implemented by polyploidization through acceleration of the endocycle, a variant cell cycle composed of DNA synthesis and gap phases without mitosis. As a physiological model of CCH, we used the *Drosophila* ovarian stretched-follicle cells in which cellular stretch-induced extra endocycle and endogenous activation of the IIS are observed during their development. In this study, we found that a transient receptor potential channel (TRPC) is involved in both the physiological CCH and the damage-induced CCH in the follicle epithelia. Further functional analyses of the TRPC in the follicle cells led us to conclude that TRPC activation in response to mechanical stretching stress induces calcium incorporation, thereby activating IIS pathway to accelerate endocycling during CCH.

研究分野：発生生物学

キーワード：組織恒常性維持 細胞競合 組織修復 細胞成長 メカノトランスダクション ショウジョウバエ 上皮組織

## 1. 研究開始当初の背景

多細胞生物の器官や組織を構成する細胞社会は、ライフサイクルを通じて常に個体内外双方からの多様なストレスを受けており、これらのストレスは個々の細胞に損傷を及ぼしている。こういったストレスによる損傷は時として突然変異による異常細胞の出現や細胞死の原因となり、これら異常細胞の蓄積や広範囲の細胞死はガンを始めとした様々な病気や器官機能障害の危険性を高めることに繋がる。老化を含めたライフサイクルを通じて組織が恒常性を維持するには、こういった異常細胞や死細胞の適時の除去と、それに伴う細胞の損失を補うための正常な周辺細胞による穴埋めが必要不可欠である。

組織中に異常細胞が現れた時に、隣接する正常細胞がこれを認識して異常細胞に細胞死を促すことにより組織から除去する機構として細胞競合という現象が知られている。つまりこの現象は、細胞社会に悪影響を及ぼす可能性のある異常細胞の蓄積を防ぎ、体を構成する体細胞の質を最大限に維持することによって個体の適応度を高めるための細胞レベルでの組織恒常性維持機構であると言える。細胞競合において、正常細胞が隣接する異常細胞に細胞死を促し組織から除去した後、正常細胞は異常細胞の死によって失われる領域を補償的な細胞増殖によって穴埋めし占有する。これは補償的な細胞増殖として知られており、細胞競合だけでなく、損傷によって引き起こされるような細胞死においても周辺正常細胞に起こることが知られている。どちらの場合においても、この補償的な細胞増殖は、死細胞が除去された後の組織の統合性と組織全体のサイズを維持するための細胞レベルでの組織恒常性維持にとって必要不可欠な細胞の可塑的動態である。

この「細胞競合」と「補償的な細胞増殖」という一連の現象とそのメカニズムは基本的には発生中の組織や培養細胞のような増殖中の上皮組織や細胞でのみ研究されてきたものであり、これらの組織恒常性維持機構が成体における分裂増殖後の組織においても働いているかどうかについては全く調べられてこなかった。その中で、我々はショウジョウバエ成体の分裂増殖後の卵巣濾胞上皮細胞をモデルにして、以下の二つのことを証明した。

1. 分裂増殖後の成体上皮組織においても、細胞競合によって正常細胞が隣接する異常細胞を除去することができる。
2. 分裂増殖後の成体上皮組織において、細胞競合によって異常細胞が除去される際、正常細胞は補償的な“増殖”ではなく細胞の“肥大成長”によって失われた部分を穴埋めし、組織の統合性とサイズを補償している。

この正常細胞の肥大成長は、アポトーシス

経路を活性化する上流遺伝子 Reaper の強制発現によって誘導される散在的な細胞死によっても周辺正常細胞に観察されることから、我々はこの現象を「補償的な細胞肥大」(CCH: Compensatory Cellular Hypertrophy) と名付けた。この CCH が起こるメカニズムについて、我々は以下のことを証明していた。

1. CCH はエンドサイクルの亢進による核の倍数体化が伴っている。
2. この倍数性の増加はインスリン様成長シグナル (IIS) 経路の活性化に依存している。
3. この分裂増殖後の組織における CCH は死細胞からのシグナル分子ではなく、局所的な組織容積の減少が引き金となり、周辺細胞に散在的に誘導される。

## 2. 研究の目的

上記の背景に基づき、本研究は、局所的な細胞の消失、つまり組織容積の減少がいかんして周辺細胞に IIS 経路の活性化を促し散在的な細胞肥大を誘導するのか、という問いに対し、局所的な組織容積の減少が周辺細胞に伸張をもたらす、この物理的的刺激としての膜伸張がメカノトランスダクションにより IIS 経路の活性化を促す、という仮説の証明を目指した。

## 3. 研究の方法

(1) ショウジョウバエ卵巣濾胞上皮伸展細胞をモデルとしたスクリーニング。

CCH のメカニズムは、局所的な組織容積の減少により残存細胞にかかる物理的伸張が IIS 経路の活性亢進を促し、核の倍数体化による細胞肥大が起こるものと考えられたため、このメカノトランスダクションに関わる分子を同定するためのモデルシステムとして、ショウジョウバエの伸展濾胞細胞を用いた。まずこれまでに他のシステムで機械的刺激受容への関与が示唆されている約 40 種類の遺伝子の中から CCH に関与しているものの同定を試みた。このスクリーニングには、伸展濾胞細胞特異的ドライバ (A90-Gal4) による RNAi (UAS-RNAi) の発現導入を用いて、各々の遺伝子のノックダウンが伸展濾胞細胞の核体積及び IIS 経路活性に与える影響を解析した。第一回目の予備的スクリーニングでは、この内約 10 種類の RNAi が伸展濾胞細胞の核体積倍化を抑制することを確認していたので、さらに、この中から伸展濾胞細胞で IIS 経路活性を抑制するものを、IIS 経路活性レポーターを用いて同定を試みた。また、第二スクリーニングにおいては、実際に DNA 量の倍化が抑制されていることを確認する為、各 RNAi によって処理した伸展濾胞細胞の DNA 量の解析を行った。

(2) スクリーニングで得られた候補遺伝子

に対する、実際の CCH 条件化における各々の機能解析。

分裂後濾胞上皮での細胞競合において観察される周辺正常細胞の CCH において、上記スクリーニングで同定された候補遺伝子が実際にメカノセンサーとして機能しているかどうかを、我々が独自に開発したモザイクシステム (*FRT ptc-Gal4*: 細胞競合下において周辺正常細胞でのみ RNAi を強制発現できる) を用いて、各々の遺伝子のノックダウンによる CCH (DNA 量、IIS 活性) に対する効果を評価した。

(3) メカノセンサー候補遺伝子の機能がどのように IIS 経路活性化に関与するかについての解析。

上記の機能解析において、CCH への関与を確認したメカノセンサー候補遺伝子が実際どのような生理学的機能を持っていて、細胞競合や組織修復のプロセスでどのようにして IIS 経路の活性亢進を促すのかを調べるために、様々な遺伝学的、細胞学的解析、他の関連遺伝子との機能的関係の解析等を行った。

#### 4. 研究成果

(1) メカノトランスダクションに関わる分子を同定するため、ショウジョウバエの伸展濾胞細胞を用いたスクリーニングにおいて、以前の第一スクリーニングにおいて効果が確認されていた数種類の RNAi 系統から、さらに伸展濾胞細胞における核の多倍体化抑制に対してより再現性の高い RNAi 系統 2 種類を同定することに成功した。この RNAi は、神経系細胞においてメカノセンサーとしての働きがすでに知られている transient receptor potential channel (TRP チャンネル) の遺伝子の一つに対する RNAi であることを同定した。この TRP チャンネルの上皮細胞での機能ははまだ報告されていない。

(2) 実際のショウジョウバエ濾胞上皮組織で補償的細胞肥大が起こることを確認している細胞競合条件下において、この TRP チャンネルの機能を解析するために、通常の細胞競合条件下では補償的な細胞肥大を起こす周辺細胞で、この TRP チャンネルを RNAi によってノックダウンしたところ、核の多倍体化を伴う細胞肥大が阻害されることを確認することができた。

(3) この TRP チャンネルは、細胞膜に局在し機械刺激に応答してカルシウムイオンの流入を制御していることが報告されているため、卵巣濾胞上皮において、カルシウムセンサーである GCaMP を用いたカルシウムイメージングを行ったところ、内在的な伸張ストレスを受けている伸展濾胞細胞での細胞内カルシウム濃度が他の濾胞上皮細胞に比べて恒常的に高いことが明らかになった。さらにこの

伸展濾胞細胞で TRP チャンネルの発現を阻害すると、細胞内カルシウムイオンレベルの低下だけでなく、通常この細胞では高い活性を示す IIS 経路の活性が低下することも確認された。また、実際に補償的細胞肥大が起こる細胞競合条件下において、この TRP チャンネルの発現を阻害したところ、核の多倍体化が起こらなくなることも確認することができた。以上の結果は、この TRP チャンネルが上皮細胞における補償的細胞肥大において、メカノセンサーとしてカルシウムイオン濃度を介した IIS 経路の活性調節に重要な役割を果たしている可能性が非常に高いことを示している。

この TRP チャンネルの機能阻害によって、ショウジョウバエ卵巣の伸展濾胞細胞における細胞内カルシウム濃度が低下すること、そして核の多倍体化が抑えられることを確認した一方で、これらの影響として伸展濾胞細胞の細胞数が増加することを発見した。ところが、この TRP チャンネルの機能阻害による伸展濾胞細胞数の増加に細胞分裂が関わっていなかったことから、伸展濾胞細胞の多倍体化と肥大が抑制されることによって、伸展濾胞細胞の隣接する領域に存在する柱状濾胞上皮細胞が伸展濾胞細胞側に引っ張られ、分化運命を転換したものと考えられた。また、TRP チャンネルによって制御される細胞内カルシウム濃度と IIS 経路活性をつなぐ分子の候補として、複数のカルシウム結合タンパクを同定することに成功した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

(1) Tamori Y., Suzuki E., Deng W.-M. Epithelial tumors originate in tumor hotspots, a tissue-intrinsic microenvironment. *PLoS Biology*, 14, e1002537, 2016, 査読有.  
DOI: 10.1371/journal.pbio.1002537.

(2) Tamori, Y. and Deng, W.-M. Tissue-intrinsic tumor hotspots: terror for tumorigenesis. *Trends in Cancer*, 3, 259-268, 2017, 査読有.

(3) 田守 洋一郎 細胞競合における補償的組織修復. *生体の科学* Vol. 67, No. 2 特集「細胞の社会学-細胞間で繰り広げられる協調と競争」, 2016, 査読無.

(4) 田守 洋一郎 細胞競合における勝利者の成長-置き換えと埋め合わせ. *医学の歩み* Vol. 257, No. 4 特集「細胞競合の基本原則とその破綻」, 2016, 査読無.

[学会発表] (計 15 件)  
口頭発表

(1) Tamori, Y. *JSPS Symposium "Cell Competition in Development and Cancer"*, London, UK. "Mechanical compensation in cell competition and organ proportioning." 2018.

(2) Tamori, Y. *Society for Developmental Biology 76<sup>th</sup> Annual Meeting*, Minneapolis, MN. "Mechanical stretch-induced cell cycle modification in epithelial morphogenesis." 2017.

(3) Tamori, Y. *2<sup>nd</sup> International Symposium on Cell Competition*, Sapporo, Japan. "How do winners kill losers in cell competition?" 2017.

(4) Tamori, Y. *The Allied Genetics 2016*, Orlando, FL. "Mechanical stretch-induced polyploidization in compensatory cellular hypertrophy." 2016.

(5) Tamori, Y. *Molecular Biology Society of Japan 38<sup>th</sup> Annual Meeting*, Kobe, Japan. "Tissue repair through cell competition and tension-induced cellular hypertrophy." 2015.

(6) Tamori, Y. *1<sup>st</sup> International Symposium on Cell Competition*, Kyoto, Japan. "Competition and compensation in postmitotic epithelia." 2015.

#### ポスター発表

(7) Morimoto, K., Suzuki, E., Deng, W.-M. and Tamori, Y. Mechanical stress-induced cell cycle modification in epithelial morphogenesis. *59<sup>th</sup> Annual Drosophila Research Conference*, Philadelphia, PA. 2018.

(8) Tamori, Y. Mechanical stress-induced cell-cycle modification in epithelial morphogenesis. *Barcelona BioMed Conferences, Morphogenetic Engineering*, Barcelona, Spain. 2017.

(9) Morimoto, K., Suzuki, E., Deng, W.-M. and Tamori, Y. Mechanical stress-induced cell-cycle modification in organ proportioning. *The Champalimaud Research Symposium "Physiology: from development to disease"*, Lisbon, Portugal. 2017.

(10) Morimoto, K., Suzuki, E., Deng, W.-M. and Tamori, Y. Maintenance of tissue homeostasis by mechanical stress sensing. *58<sup>th</sup> Annual Drosophila Research Conference*, San Diego, CA. 2017.

(11) Row, S., Tamori, Y., Lo, P.-K., Raul, P. and Deng, W.-M. Delineating the

mechanism of compensatory cellular hypertrophy in follicular epithelium. *58<sup>th</sup> Annual Drosophila Research Conference*, San Diego, CA. 2017.

(12) Morimoto, K., Suzuki, E., Deng, W.-M. and Tamori, Y. Plastic modification of cell cycle program by mechanical stress. *Molecular Biology Society of Japan 39<sup>th</sup> Annual Meeting*, Yokohama, Japan. 2016.

(13) Morimoto, K., Suzuki, E., Deng, W.-M. and Tamori, Y. Mechanotransduction mechanisms in compensatory cellular hypertrophy. *The 12<sup>th</sup> Japanese Drosophila Research Conference*, Tokyo, Japan. 2016.

(14) Morimoto, K., Suzuki, E., Deng, W.-M. and Tamori, Y. Mechanotransduction mechanisms in compensatory cellular hypertrophy. *The Allied Genetics 2016*, Orlando, FL. 2016.

(15) Row, S., Lo, P.-K., Jia, D., Tamori, Y. and Deng, W.-M. Delineating the mechanism of postmitotic cell competition. *56<sup>th</sup> Annual Drosophila Research Conference*, Chicago, IL. 2015.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.morphomeostasis.com/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田守 洋一郎 (TAMORI, Yoichiro)

国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター・助教

研究者番号 : 10717325