

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成31年度（2019年度）研究進捗評価用〕

平成28年度採択分
平成31年3月11日現在

細胞死を起点とした細胞外コミュニケーションの発動と生理機能

Mechanisms and physiological functions of intercellular communication by cell death

課題番号：16H06385

三浦 正幸 (MIURA, MASAYUKI)

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・教授



研究の概要

死細胞は周りに対して積極的に働きかけるシグナルセンターとしての役割をもつという新たな細胞死の働きが浮かび上がってきた。本研究は「細胞と全体を結ぶシグナル経路」の理解を、死細胞からのシグナル因子の放出と受容による組織応答の解明に焦点をあてた研究によって進め、このシグナル経路の生理機能を明らかにするものである。

研究分野：基礎医学、医化学一般

キーワード：細胞死、シグナルセンター、組織連関、カスパーゼ、ショウジョウバエ

1. 研究開始当初の背景

胎児期に身体をつくり、成体期にそれを維持していくには細胞死と増殖とのバランスが必要であり、このバランスの乱れが先天性奇形や様々な疾患の原因となる。このバランスの維持には、全身の個々の細胞がお互いに自分の状態を知らせ合い、また、全身の情報を受けて個々の細胞が適切に対応することが必要である。しかし、このような「細胞と全体を結ぶシグナル経路」に関する理解は未だ不十分である。細胞死は従来不要になった細胞の除去という消極的な役割で考えられていた。しかし申請者らの遺伝学、生体イメージングを中心とした独自の研究から細胞死は周りに対して積極的に働きかけるシグナルセンターとしての役割をもつという新たな働きが浮かび上がってきた。

2. 研究の目的

組織で細胞死がおこる際、局所での細胞間相互作用を超えて、組織内の離れた場所、さらには異なる組織間での相互作用を惹起する現象が知られてきた。局所の細胞死が体全体に作用することの端的な例として全身性創傷応答 (Systemic Wound Response: SWR) が挙げられるが、我々はこの現象が創傷に限らず様々な組織傷害時にも見られる (全身性創傷応答: Systemic Damage Response: SDR) ことを明らかにした。SDRの鍵は、傷害された組織の死細胞がいかにしてシグナル分子を放出し、一連の応答を引き起こすのかにある。SDRを理解するためには、死細胞からのシグナル因

子を同定し、その因子の分泌・放出機序を解明することが必要である。さらに、その因子を受容して応答する仕組みを理解すること、そして、応答細胞・組織から再び傷害細胞・組織へと働きかける因子の放出とその受容とを包括的に理解することが求められる。本研究は死細胞と、その周辺細胞や組織との相互作用を理解し、SDRによる生体恒常性機構を明らかにするものである。

3. 研究の方法

SDRに関わる死細胞からのシグナル因子の同定と分泌・放出機構、そして因子の受容による組織応答の解明に焦点をあて、死細胞と、その細胞を取り巻く細胞や組織との相互作用の実態を明らかにしようとするものである。具体的に行う研究は以下の三項目である。

テーマ1. Caspase-1 活性化によるパイロトーシスに伴ったIL-1bの非古典的分泌経路解明

テーマ2. アポトーシス細胞からの分泌とその生理機能

テーマ3. Caspase が関与しないネクロトーシスでの因子放出による新規自然免疫活性化機構

4. これまでの成果

テーマ1: パイロトーシスに伴って切断を受けるタンパク質に非古典的分泌経路に関わる分子があることを想定し、網羅的な探索をGeLMS/MS法により行った。切断を受ける分子の候補遺伝子をノックダウンによって機能的に絞り込んだ結果、複数のIL-1b分泌促進に関わる分子を得ることに成功した。また、

化合物ライブラリーのスクリーニングからインフラマソーム活性化に関わる新規分子を同定した。

テーマ2: ショウジョウバエ翅成虫原基傷害が脂肪体でのトリプトファン代謝を活性化し、その代謝産物が翅成虫原基の再生に関わるという新たなSDRを明らかにした。現在、この代謝産物が作用する受容体の同定を遺伝学的に進めている。

ショウジョウバエ成虫の中腸には腸幹細胞があり、腸上皮が飢餓や薬剤で傷害されるとIL-6様サイトカインUpd3が分泌され、幹細胞からの再生が促される。Upd3が幹細胞の分裂を促すには餌に含まれるメチオニンから作られるSアデノシルメチオニン(SAM)を用いた翻訳伸長因子eEF2の特殊メチル化修飾であるジフタミド化が必要であった。飢餓時には腸上皮でのSAMの低下はUpd3の発現を上げる。一方、腸幹細胞ではSAM低下によって翻訳活性が低下することで分裂は停止した。しかし、再摂食によってメチオニンが供給されると速やかに腸幹細胞の分裂開始が可能になった。以上より栄養吸収組織である腸構成細胞の維持においては、SAMの量的な変化が腸上皮と腸幹細胞とで異なる経路を活性化して制御するという巧妙な仕組みが明らかになった(Obata et al., 2018)。

左右の翅成虫原基は蛹期に正中線で融合し成虫の胸部が形成される。この領域を傷害すると傷の周辺でカスパーゼが活性化し修復速度を制御していた。死細胞周辺での細胞死を誘導しないカスパーゼ活性化が修復に積極的に関わるが、その仕組みの一つとしてカスパーゼの下流で活性酸素種の産生があることを見出した(Fujisawa et al., 2019)。

シグナルセンターは神経管閉鎖によって融合する正中線に形成され、そこで多くの細胞死が観察される。しかし細胞死のトリガーは不明であり、その手がかりを得るために神経管閉鎖時の代謝分析を行なった。今回、神経管閉鎖時に代謝の劇的な変換が起こること、さらに神経管の融合する部位で、エネルギー産生系が解糖系とTCAサイクルの両方を亢進している特徴的な状態にあることがわかり、このスイッチ機構の一つとしてヘテロクロニック遺伝子Lin28aの関与を明らかにした(Miyazawa et al., 2017)。神経管閉鎖後にもアポトーシスが観察されるが、そこではMMPの発現分泌によって組織の上皮融合後の組織再編を促す新たな役割を見出した(Shinotsuka et al., 2019)。

テーマ3: 無脊椎動物ではDAMPsがいかに自然免疫を活性化するのかは未だ未解明の大きな問題である。我々は、Tollの活性化にはそのリガンドSpzの切断による成熟が必要であるが、既存の感染時に働くSpz切断プロテアーゼは関与しないことを見出した。

5. 今後の計画

探索的な研究も含め代表的な3つの細胞死の様式(パイロトーシス、アポトーシス、ネクロトーシス)によって惹起される生体応答の解明を同時進行で進めていった。今後は、ショウジョウバエ、マウスで得られた分子の詳細な機能を明らかにしながら、進化的に保存された分子については種を超えたメカニズムの解明を目指していく。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

1. Kashio, S., and *Miura, M.: Tolling of a bell at a neuron's death. *Dev. Cell* 48, 427-428, 2019.
- 2.* Tsuda-Sakurai, K., and *Miura, M.: The Hidden Nature of Protein Translational Control by Diphthamide – the secrets under the leather. *J. Biochem.* 165, 1-8, 2019.
3. Fujisawa, Y., Kosakamoto, H., Chihara, T., and *Miura, M.: Non-apoptotic function of *Drosophila* caspase activation in epithelial thorax closure and wound healing. *Development* 146, dev169037, 2019.
4. Murai, S., Yamaguchi, Y., Shirasaki, Y., Yamagishi, M., Shindo, R., Hildebrand, J.M., Miura, R., Nakabayashi, O., Totsuka, M., Tomida, T., Adachi-Akahane, S., Uemura, S., Silke, J., Yagita, H., Miura, M., and *Nakano, H.: A FRET biosensor for necroptosis uncovers two different modes of the release of DAMPs. *Nature Comm.* 9, 4457, 2018.
5. Shinotsuka, N., *Yamaguchi, Y., Nakazato, K., Matsumoto, Y., Mochizuki, A., and *Miura, M.: Caspases and matrix metalloproteases facilitate collective behavior of non-neural ectoderm after hindbrain neuropore closure. *BMC Develop. Biol.*, 18: 17, 2018.
6. Obata, F., Tsuda-Sakurai, K., Yamazaki, T., Nishio, R., Nishimura, K., Kimura, M., Funakoshi, M., and *Miura, M. Nutritional control of stem cell division through S-adenosylmethionine in *Drosophila* intestine. *Dev. Cell* 44, 741-751, 2018.
7. Miyazawa, H., *Yamaguchi, Y., Sugiura, Y., Honda, K., Kondo, K., Matsuda, F., Yamamoto, T., Suematsu, M., and *Miura, M.: Rewiring of embryonic glucose metabolism via suppression of PFK-1 and aldolase during mouse chorioallantoic branching. *Development* 144, 63-73, 2017.
7. ホームページ等
<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~genetics/index.html>