

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：11301  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2018～2020  
課題番号：18K06622  
研究課題名(和文) 癌抑制キナーゼSTK11によるデスレセプターシグナルのバランス制御機構の全容解明  
  
研究課題名(英文) Elucidation of balancing mechanisms of death receptor signaling mediated by STK11  
  
研究代表者  
野口 拓也 (Noguchi, Takuya)  
  
東北大学・薬学研究科・准教授  
  
研究者番号：20431893  
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)：Fasによるアポトーシス誘導機構は、ミトコンドリア外膜透過を必要とするか否かにより、「内部経路」と「外部経路」の2種類に大別される。本研究により、STK11は抗アポトーシス因子XIAPの分解を促進することにより外部経路を活性化することが判明した。また、内部経路のシグナルが十分に伝達される状況下では、STK11はPARP依存的なAIFの核移行を促進し、パータトスと呼ばれるプログラム細胞死を誘導することで内部経路シグナルの増強を図っていることが明らかとなった。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、細胞死促進因子として我々が独自に同定したSTK11が、状況依存的に別々の機構を活性化することでFas誘導性アポトーシスの感受性を亢進させていることが明らかとなった。癌抑制遺伝子としてのSTK11の新たな腫瘍抑制機構の発見は、癌研究領域での学術的意義が高い。また、STK11を介したアポトーシスシグナルSTK11によるFasシグナル制御機構を明らかにすることは、癌抑制遺伝子として注目されているSTK11を標的とした治療薬の有効性を担保する強力な科学的裏付けとなり、その治療薬開発に具体性と確実性をもたらす。

研究成果の概要(英文)：Fas-induced apoptosis is mediated by two pathways, "internal pathway" and "external pathway", depending on whether or not mitochondrial outer membrane permeation is required. This study revealed that STK11 activates the external pathway by promoting the degradation of the anti-apoptotic factor XIAP. In addition, under the condition that the signal of the internal pathway is sufficiently transmitted, STK11 promotes PARP-dependent nuclear translocation of AIF and induces programmed cell death called parthanatos to enhance the activation of the internal pathway.

研究分野：細胞生物学

キーワード：アポトーシス STK11 キナーゼ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

プログラム細胞死の一つであるアポトーシスは不要・有害な細胞を除去する機構であり、個体・生命の維持に必須の細胞応答である。アポトーシスの制御異常は様々な疾患に深く関与することから、その誘導機構の分子レベルでの解析が盛んに行われてきた。

Fas リガンドや TNF- $\alpha$  などのデスリガンドはデスレセプターと結合することで、多様なアポトーシス誘導因子等で構成されるアポトーシス誘導複合体 (DISC: death-inducing signaling complex) を形成し、Caspase-8 の活性化を介してアポトーシスを誘導する。また、最近の研究で、デスレセプター下流では DISC の他に、アダプター分子 FADD を中心とした FADDosome と呼ばれる新たな複合体が形成され、生存シグナルである NF- $\kappa$ B 経路の活性化を誘導することが判明した。すなわち、デスレセプターを介したアポトーシスの感受性(アポトーシスが誘起されるか否か)は生と死のシグナルバランスによって制御されており、このアポトーシス感受性のバランス制御機構は細胞の運命決定に極めて重要だが、実際にこの分子レベルでの制御機構は良く分かっていない。

### 2. 研究の目的

申請者は、Fas 誘導性アポトーシスのバランス制御に寄与する責任キナーゼを探索するために、キナーゼ特異的な siRNA ライブラリーを用いた RNAi スクリーニングを行った。複数の候補キナーゼの中で、興味深いことに、非常に重要な癌抑制遺伝子として知られる STK11/LKB1 (Serine-threonine kinase 11 / Liver kinase B1) を同定したことから、本研究では、デスレセプターシグナルにおける STK11 の機能的役割とアポトーシス感受性のバランス制御機構の全容を明らかにし、STK11 が有する腫瘍抑制能を説明できる新たな分子メカニズムの解明を目指す。

### 3. 研究の方法および研究成果

Fas によるアポトーシス誘導機構は、ミトコンドリア外膜透過を必要とするか否かにより、「内部経路」と「外部経路」の2種類に大別される。「内部経路」では、活性化型 Caspase-8 が Bcl-2 ファミリータンパク質の BID を切断することで切断型 BID (tBID) が産生される。tBID はアポトーシス促進性 Bcl-2 ファミリータンパク質を制御し、ミトコンドリア外膜の透過性を亢進させる。これによりミトコンドリアから細胞質に放出されたアポトーシス促進性タンパク質によって Caspase-3 が活性化し、アポトーシスが誘導される。一方、「外部経路」では、ミトコンドリア経路を介さずに、Caspase-8 が Caspase-3 を直接活性化し、アポトーシスが誘導される。本研究により、STK11 は抗アポトーシス因子 XIAP の分解を促進することにより外部経路を活性化することが判明した。さらに、内部経路のシグナルが十分に伝達される状況下では、STK11 は PARP 依存的な AIF の核移行を促進し、パータトスと呼ばれるプログラム細胞死を誘導することで内部経路シグナルの増強を図っていることが明らかとなった。

#### STK11 による外部経路を介したアポトーシス制御機構の解明

内部経路を活性化できない BID 欠損 HeLa 細胞に STK11 を安定発現すると、Fas 誘導性アポトーシスへの感受性が顕著に回復することが明らかとなっていた。内部経路を活性化できない細胞が Fas 誘導性アポトーシス抵抗性を示す原因は、抗アポトーシス因子 XIAP であると過去に報告されていたため、XIAP に着目して解析を行った。その結果、BID 欠損 HeLa 細胞に STK11 を安定発現した細胞株では、Fas リガンド処置依存的な XIAP の減少が認められた。この減少は、プロテアソーム阻害剤 MG-132 の共処置により抑制され、ユビキチンリガーゼ活性を欠損した変異体

XIAPでは認められなかったことから、STK11はFasリガンド処置依存的なXIAPの自己分解を促進していることが示唆された。さらに、抗XIAP抗体を用いた免疫沈降により、Fasリガンド処置依存的にXIAPとSTK11が結合することが明らかとなった。XIAPとの結合配列を欠損させたSTK11は、XIAPとの結合不全を生じ、BID欠損細胞におけるFasリガンド処置依存的なXIAPの減少およびアポトーシス誘導を促進しなかった。したがって、内部経路不全細胞株であるBID欠損細胞において、STK11はXIAPとの結合を介した分解促進により、Fas誘導性アポトーシスを促進することが示された。

#### STK11による内部経路を介したアポトーシス制御機構の解明

内部経路を介してFas誘導性アポトーシスを実行する野生型HeLa細胞においても、STK11によるFas誘導性アポトーシス促進機能が認められるため、STK11が内部経路を活性化していることが考えられた。内部経路の活性化に必須とされる、Fasリガンド処置依存的なミトコンドリア外膜透過亢進の程度は、STK11の有無により変化しなかったことから、STK11がミトコンドリア外膜透過の下流で細胞死を促進すると考えた。ミトコンドリア外膜透過により、ミトコンドリアから細胞質に遊離する細胞死促進因子のうち、cytochrome c、Smac、AIFの3種類について、Fas誘導性アポトーシス誘導への関与をノックダウンによる実験で検証した。その結果、STK11はAIF依存的にFas誘導性アポトーシスを促進することが明らかとなった。AIFはプログラム細胞死パータナトスの実行因子であり、DNA修復因子PARPの活性化依存的にヌクレアーゼとともに核へ移行して、DNAの断片化を行う。解析の結果、STK11発現細胞では、Fasリガンド処置依存的にAIFが核へ移行することが示された。Fasリガンド処置依存的なAIFの核移行は、PARP阻害剤の共処置やPARP発現抑制により抑制されたことから、STK11発現細胞ではFasリガンド処置依存的にパータナトスが誘導されていることが示された。また、多機能分子p62の発現抑制によっても、Fasリガンド処置依存的なAIFの核移行が抑制されることを見出した。STK11はFasリガンド処置時に認められるAIFの細胞質放出に影響を与えなかったことから、STK11はp62依存的にAIFの核移行を促進することにより、Fas誘導性パータナトス経路を活性化することが判明した。さらに、癌組織で認められる癌変異体STK11を安定発現した細胞株を用いた解析から、一部の癌変異体STK11はFasリガンド処置依存的なAIFの核移行促進能すなわちパータナトス誘導能が欠損していることが示された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Yusuke Hirata, Aya Inoue, Saki Suzuki, Miki Takahashi, Ryosuke Matsui, Nozomu Kono, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa	4. 巻 10
2. 論文標題 trans-Fatty acids facilitate DNA damage-induced apoptosis through the mitochondrial JNK-Sab-ROS positive feedback loop	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-59636-6	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 Mayuka Yamada, Midori Suzuki, Takuya Noguchi, Takumi Yokosawa, Yuto Sekiguchi, Natsumi Mutoh, Takashi Toyama, Yusuke Hirata, Gi-Wook Hwang, Atsushi Matsuzawa	4. 巻 3
2. 論文標題 The Antibiotic Cefotaxime Works as Both an Activator of Nrf2 and an Inducer of HSP70 in Mammalian Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BPB reports	6. 最初と最後の頁 16-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpbreports.3.1_16	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 Mei Tsuchida, Takumi Yokosawa, Takuya Noguchi, Tatsuya Shimada, Mayuka Yamada, Yuto Sekiguchi, Yusuke Hirata, Atsushi Matsuzawa	4. 巻 45
2. 論文標題 Pro-apoptotic functions of TRAF2 in p53-mediated apoptosis induced by cisplatin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 219-226
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2131/jts.45.219	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 T Yokosawa, M Yamada, T Noguchi, S Suzuki, Y Hirata, A Matsuzawa	4. 巻 72
2. 論文標題 Pro-caspase-3 protects cells from polymyxin B-induced cytotoxicity by preventing ROS accumulation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of antibiotics	6. 最初と最後の頁 848-852
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41429-019-0216-6	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 Yuto Sekiguchi, Mayuka Yamada, Takuya Noguchi, Chise Noomote, Mei Tsuchida, Yuki Kudoh, Yusuke Hirata, Atsushi Matsuzawa	4. 巻 44
2. 論文標題 The anti-cancer drug gefitinib accelerates Fas-mediated apoptosis by enhancing caspase-8 activation in cancer cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 435-440
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.44.435	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 Noguchi Takuya, Suzuki Midori, Mutoh Natsumi, Hirata Yusuke, Tsuchida Mei, Miyagawa Sayoko, Hwang Gi-Wook, Aoki Junken, Matsuzawa Atsushi	4. 巻 9
2. 論文標題 Nuclear-accumulated SQSTM1/p62-based ALIS act as microdomains sensing cellular stresses and triggering oxidative stress-induced parthanatos	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 1193-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-018-1245-y	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 Noguchi Takuya, Sekiguchi Yuto, Kudoh Yuki, Naganuma Rio, Kagi Tomohiro, Nishidate Akiko, Maeda Kazuhiro, Ishii Chizuru, Toyama Takashi, Hirata Yusuke, Hwang Gi-Wook, Matsuzawa Atsushi	4. 巻 12
2. 論文標題 Gefitinib initiates sterile inflammation by promoting IL-1 and HMGB1 release via two distinct mechanisms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-020-03335-7	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 Kudoh Yuki, Noguchi Takuya, Ishii Chizuru, Maeda Kazuhiro, Nishidate Akiko, Hirata Yusuke, Matsuzawa Atsushi	4. 巻 1
2. 論文標題 Antibiotic Vancomycin Promotes the Gene Expression of NOD-Like Receptor Families in Macrophages	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BPB Reports	6. 最初と最後の頁 6~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpbreports.1.1_6	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3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 土田芽衣 平田祐介 野口拓也 松沢厚
2. 発表標題 多様な翻訳後修飾とそのクロストークを介したリン酸化シグナルの新たな制御機構
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野口拓也 松沢厚
2. 発表標題 ALIS (aggresome-like induced structures) as an oxidative stress barometer
3. 学会等名 第47回 日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土田芽衣 平田祐介 野口拓也 松沢厚
2. 発表標題 STK11/LKB1によるFas誘導性アポトーシス制御機構の解析
3. 学会等名 第46回 日本毒性学会学術年会
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
---------	---------