

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 23 年 6 月 8 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2009～2011

課題番号：21687019

研究課題名（和文） 細胞競合を介した上皮の動的恒常性維持システムの解明

研究課題名（英文） Understanding epithelial dynamic homeostasis by cell competition

研究代表者

井垣 達吏（IGAKI TATSUSHI）

神戸大学・大学院医学研究科・特命准教授

研究者番号：00467648

研究成果の概要（和文）：がんのほとんどは上皮由来である。ショウジョウバエ上皮に腫瘍原性の極性崩壊細胞が生じると、組織はそれら異常細胞を認識し、「細胞競合」機構によって積極的に排除する。本研究では、このような細胞競合を介した上皮の動的恒常性維持システムの分子基盤を遺伝学的に解析した。その結果、正常な上皮細胞は極性崩壊細胞の出現にตอบสนองして JNK 経路を活性化し、これが細胞内アクチン骨格系の再編成を誘導することで食食能を亢進させ、隣接する極性崩壊細胞にエントーシス様の細胞死を誘導することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Most cancers arise from a single cell of origin in an epithelial sheet. Therefore, a newly emerged oncogenic cell in the epithelium has to confront anti-tumor selective pressures in the host tissue. However, the mechanisms by which surrounding normal tissue exerts anti-tumor effects against oncogenically transformed cells are poorly understood. Using the *Drosophila* genetics, we found that normal epithelial cells activate JNK-dependent engulfment pathway in response to the emergence of oncogenic polarity-deficient cells, thereby eliminating oncogenic neighbors through cell competition.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2010 年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2011 年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
年度			
年度			
総計	20,900,000	6,270,000	27,170,000

研究分野：遺伝学、発生生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：細胞競合、細胞間コミュニケーション、癌、ショウジョウバエ

1. 研究開始当初の背景

上皮組織に癌原性の異常細胞が生じると、組織はそれを積極的に認識・排除することによりその恒常性を保つと考えられる。研究代表者らは、このような異常細胞の排除システムがショウジョウバエ上皮組織に存在すること（Igaki *et al.*, *Curr. Biol.*, 2006）、およびこの排除

システムの実行には「細胞競合」を介した正常細胞と異常細胞との間の細胞間コミュニケーションが必須の役割を果たしていること（Igaki *et al.*, *Dev Cell*, 2009）を明らかにしてきた。細胞競合とは、組織中で隣り合う 2 つの細胞が互いの適応度を競合する現象であり、適応度が相対的に高い細胞が低い細胞を細胞

胞死によって排除してその場を占有する機構である。これは、多細胞生物の器官構築過程で生じる「揺らぎ」を吸収してその頑健性（ロバストネス）の保持に貢献するだけでなく、癌発生初期における癌前駆細胞の組織からの排除、成熟癌細胞の優勢的増殖、さらには幹細胞ニッチにおける優良幹細胞の選択などにおいても重要な役割を果たしていると考えられる。しかしながら、その分子機構はほとんど分かっていない。

2. 研究の目的

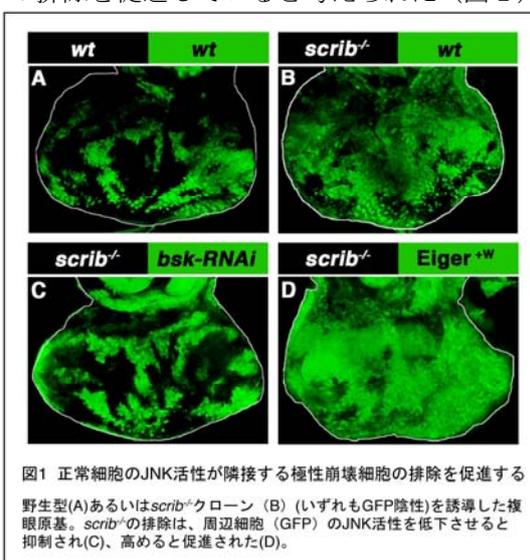
本研究では、研究代表者らが樹立したショウジョウバエ高感度細胞競合モデルを用い、“細胞非自律的”な遺伝学的解析とライブイメージング技術を組み合わせた独自の研究アプローチにより、細胞競合機構の分子基盤の解明に迫る。具体的には、ショウジョウバエ上皮に誘導した極性崩壊細胞（細胞競合の“敗者”）の認識・排除に関わる正常細胞側の遺伝子群を同定し、それらの細胞競合における役割とその分子機構を明らかにする。また、細胞競合現象の可視化システムを構築し、ライブイメージングにより極性崩壊細胞の上皮からの排除様式を明らかにする。さらに、これらの解析結果を統合し、上皮の動的恒常性維持システムの動作原理を見いだすことを目標とする。本研究構想は、ショウジョウバエの強力な遺伝学とその解析技術を駆使することによって初めて実現可能となるものであり、その遂行により上皮の動的恒常性維持システムの包括的理解を目指すものである。

3. 研究の方法

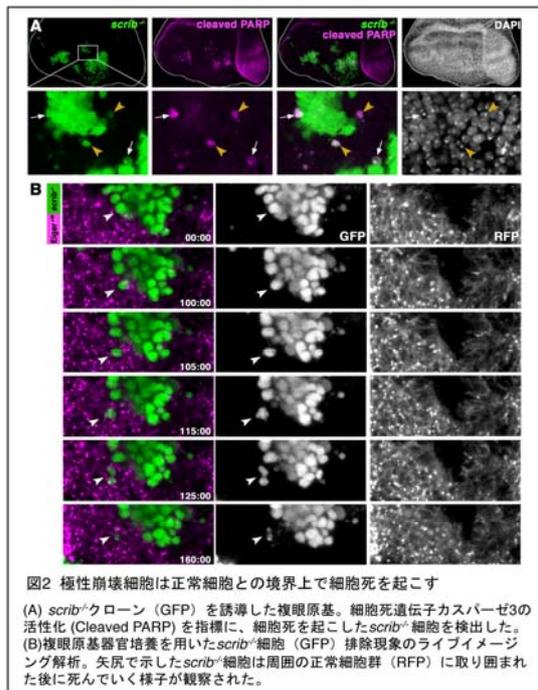
本研究では、まず（1）ショウジョウバエ極性崩壊細胞競合モデルを用いた“細胞非自律的”遺伝的解析を行い、上皮に誘導した極性崩壊細胞（細胞競合の“敗者”）の排除に必要な正常細胞側（細胞競合の“勝者”）の遺伝子群を同定する。具体的には、遺伝的モザイク法によりショウジョウバエ3齢幼虫の複眼成虫原基の上皮組織にGFP標識した *scrib* 変異クローン（極性崩壊細胞クローン）を誘導し、さらに *scrib* 変異クローンを取り巻く野生型細胞（正常細胞クローン）に対して様々な突然変異を導入して、これにより極性崩壊細胞の排除が正や負に制御される因子群を同定する。次に、（2）これら遺伝子群の生理機能と細胞競合における役割を遺伝学及びライブイメージング解析により明らかにする。さらに、（3）これらの解析結果を統合し、上皮の動的恒常性維持システムの動作原理の基本法則を見いだす。

4. 研究成果

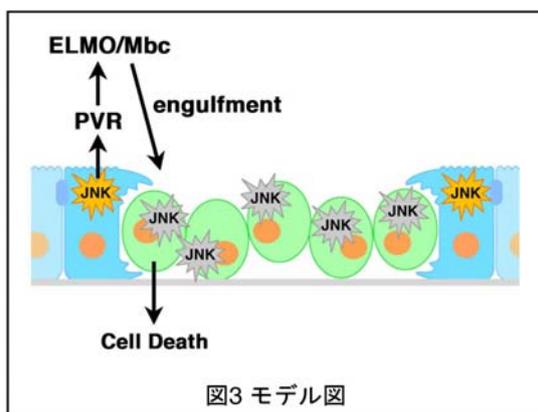
ショウジョウバエ上皮に極性崩壊細胞クローンが生じると、これらの変異細胞は周辺の正常細胞との細胞競合に敗れ、JNK 経路依存的な細胞死を起こして組織から排除される (Igaki *et al.*, *Dev Cell*, 2009)。この細胞競合の分子機構を解明するため、極性崩壊細胞を取り巻く正常細胞側の細胞変化を詳細に解析した。その結果、細胞競合の勝者となる正常細胞においても JNK 経路の活性化が起こっていることが分かった。そこで、正常細胞側においてのみ JNK 経路を阻害したところ、隣接する極性崩壊細胞クローンの排除が有意に抑制された。逆に、正常細胞側においてのみ JNK 経路の活性を高めると、隣接する極性崩壊細胞クローンの排除が有意に促進された。すなわち、正常上皮細胞は、JNK 経路を活性化することで隣の極性崩壊細胞の排除を促進していると考えられた (図1)。



次に、極性崩壊細胞の排除現象のダイナミクスを、複眼原基器官培養を用いたライブイメージングにより解析した。Caspaseの活性化を指標に死につつある細胞の空間的パターンを解析した結果、ほとんどの極性崩壊細胞は正常細胞クローンとの境界上で細胞死を起こすことが分かった。さらに、これら死につつある極性崩壊細胞は、一旦正常細胞クローン側に取り込まれた後に細胞が断片化して細胞死を起こしていることが分かった。これらの結果は、極性崩壊細胞は隣接する正常細胞によって貪食されることで細胞死を起こしていることを示唆するものであった (図2)。実際に、極性崩壊細胞が正常細胞によって貪食されていることが Lysotracker染色により確認された。



そこで次に、正常細胞側において JNK 経路の下流で働く分子を探索した。その結果、JNK 経路の下流で PVR (ショウジョウバエ PDGF/VEGF 受容体ホモログ) が発現誘導され、これが細胞貪食において細胞内アクチン骨格系の再編成を制御する因子 ELMO/Mbc の機能を介して貪食能を亢進させることが明らかとなった。すなわち、正常な上皮細胞は極性崩壊細胞の出現に応答して JNK-PVR シグナルを活性化し、これが ELMO/Mbc を介して貪食能の亢進を誘導することで、隣接する極性崩壊細胞を飲み込んでエントロシス様の細胞死を引き起こすと考えられた (図



3) (Ohsawa *et al.*, *Dev Cell*, 2011)。
 本研究は、細胞競合における勝者の役割の一端を分子レベルで解明し、さらには細胞競合過程を世界で初めてライブで捉えることに成功したという点で、当該研究領域に大きなインパクトを与えるものとなった。今後は、

正常細胞と極性崩壊細胞が出会った際にどのようにして細胞排除システムがオンとなるのか、その最上流シグナルを解析することで、細胞競合機構の全容解明を目指す。

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 14 件)

1. Ohsawa S, Sugimura K, Takino K, Igaki T
 “Imaging Cell Competition in *Drosophila* imaginal discs”
Methods in Enzymology 506, 407-413, 2012
 (査読あり)

2. 井垣達吏
 「死細胞による生体恒常性の維持機構」
実験医学 30 571-577 (2012) 羊土社

3. 井垣達吏
 概論「細胞競合-細胞社会を監視する新たなルール」
実験医学 29 1342-1349 (2011) 羊土社
 (※当該号の企画・編集を行った。)
 (査読なし)

4. 大澤志津江、井垣達吏
 「細胞競合が駆動する上皮の内在性がん抑制」
実験医学 29 1374-1386 (2011) 羊土社
 (査読なし)

5. 井垣達吏
 1枚の写真館「TNFのプロトタイプを追って」
細胞工学 30 463 (2011) 秀潤社 (査読なし)

6. 大澤志津江、井垣達吏
 「JNK を介した貪食機構による腫瘍原性をもつ細胞の排除」
ライフサイエンス新着論文レビュー
 (2011) (査読なし)

7. Ohsawa S, Sugimura K, Takino K, Xu T, Miyawaki A, Igaki T
 “Elimination of oncogenic neighbors by JNK-mediated engulfment in *Drosophila*”
Developmental Cell, 15, 315-328 (2011)
 (査読あり)

8. Kanda H, Igaki T, Okano H, Miura M
 “Conserved metabolic energy production pathways govern Eiger/TNF-induced non-apoptotic cell death”
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 108, 18977-18982, 2011 (査読あり)

9. Enomoto M, Igaki T

“Deciphering tumor-suppressor signaling in flies: genetic link between Scribble/Dlg/Lgl and the Hippo pathway”
J. Genet. Genom. 38, 461-470, 2011
(Invited review) (査読あり)

10. Ohsawa S, Hamada S, Kuida K, Yoshida H, Igaki T, Miura M
“Maturation of the olfactory sensory neurons by Apaf-1/caspase-9-mediated caspase activity”
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 107, 13366-13371 (2010)
(査読あり)

11. Igaki T, Kanda H, Okano H, Xu T, Miura M
“Eiger and Wengen: The *Drosophila* orthologs of TNF/TNFR”
Adv. Exp. Med. Biol., 691, 45-50, 2010
(査読なし)

12. 井垣達吏
「TNF-JNK 経路による上皮の内在性がん抑制システム」
生化学 (社) 日本生化学会 82 (9) 837-841 (2010) (査読あり)

13. 大澤志津江、井垣達吏
「状況依存的細胞死シグナル制御による上皮のがん抑制」
実験医学 28 129-134 (2010) (査読なし)

14. Igaki T
“Correcting developmental errors by apoptosis: lessons from *Drosophila* JNK signaling”
Apoptosis 14, 1021-1028 (2009)
(Invited review) (査読あり)

[学会発表] (計 34 件)

1. Ohsawa S, Sato Y, Enomoto M, Nakamura M, Betsumiya A, Igaki T
“Non-autonomous tumor progression driven by mitochondrial dysfunction”
The 53rd *Drosophila* Research Conference (ポスター発表)、2012 年 3 月 7 日～11 日、シカゴ (アメリカ合衆国)

2. 井垣達吏
「細胞競合による上皮の恒常性維持とがん制御」
第 8 回宮崎サイエンスキャンプ(口頭発表)、2012 年 2 月 19 日、宮崎シーガイア (宮崎)

3. Igaki T
“Dissecting tumor suppression and metastasis by *Drosophila* genetics”

The 21st Hot Spring Harbor Symposium jointly with 8th Global COE International Symposium “Cell Migration in Biology and Medicine” (口頭発表) 2012 年 1 月 23 日、九州大学 (福岡)

4. 榎本将人、井垣達吏
“Src, a novel super-competitor in *Drosophila*”
第 34 回日本分子生物学会年会 (口頭発表)、2011 年 12 月 13 日、パシフィコ横浜 (神奈川県)

5. 佐藤好隆、大澤志津江、中村麻衣、別宮綾、井垣達吏
「細胞非自律的な腫瘍悪性化機構の遺伝学的解析」
第 70 回日本癌学会学術総会(口頭発表)、2011 年 10 月 3 日、名古屋国際会議場 (名古屋)

6. Ohsawa S, Sato Y, Enomoto M, Nakamura M, Betsumiya A, Igaki T
“Non-autonomous tumor progression driven by Ras activation and mitochondrial dysfunction”
“Cellular Development: Biology at the interface” (ポスター発表)、2011 年 9 月 29 日～10 月 1 日、理研 発生・再生総合研究センター (兵庫)

7. Enomoto M, Igaki T
“Src activation triggers non-cell autonomous apoptosis through endocytic activation of TNF-JNK signaling”
“Cellular Development: Biology at the interface” (ポスター発表)、2011 年 9 月 29 日～10 月 1 日、理研 発生・再生総合研究センター (兵庫)

8. 大澤志津江、佐藤好隆、榎本将人、中村麻衣、別宮綾、井垣達吏
「細胞間コミュニケーションを介した腫瘍悪性化の遺伝学的解析」
第 23 回高遠シンポジウム (ポスター発表)、2011 年 8 月 25 日～26 日、高遠さくらホテル (長野)

9. 榎本将人、井垣達吏
「がん遺伝子 Src が引き起こす細胞競合の分子機構」
第 23 回高遠シンポジウム (ポスター発表)、2011 年 8 月 25 日～26 日、高遠さくらホテル (長野)

10. 井垣達吏
「細胞競合による以上細胞排除機構」
第 23 回高遠シンポジウム (口頭発表)、2011 年 8 月 25 日、高遠さくらホテル (長野)

11. 井垣達吏、榎本将人
「がん遺伝子 Src による細胞間コミュニケーションを介した細胞死制御」
第 20 回日本 Cell Death 学会学術集会（口頭発表）、2011 年 7 月 30 日、東京大学（東京）
12. 大澤志津江、佐藤好隆、中村麻衣、別宮綾、井垣達吏
「細胞間コミュニケーションを介した腫瘍悪性化機構の遺伝学的解析」
第 20 回日本 Cell Death 学会学術集会（ポスター発表）、2011 年 7 月 29 日～30 日、東京大学（東京）
13. Igaki T
“Epithelial intrinsic tumor suppression driven by cell competition”
第 63 回日本細胞生物学会大会（※オーガナイザー）（口頭発表）、2011 年 6 月 27 日、北海道大学（北海道）
14. Ohsawa S, Sugimura K, Takino K, Xu T, Miyawaki A, Igaki T
“Elimination of oncogenic neighbors by JNK-mediated engulfment in *Drosophila*”
1st Asia-Pacific *Drosophila* Research Conference (APDRC)（ポスター発表）2011 年 5 月 22 日～25 日（台湾・台北）
15. Igaki T, Nakamura M, Sato Y, Betsumiya A, Ohsawa S
“Genetic dissection of tumor growth and progression through cell-cell communications”
1st Asia-Pacific *Drosophila* Research Conference（口頭発表）、2011 年 5 月 22 日、台北（台湾）
16. Ohsawa S, Sugimura K, Takino K, Xu T, Miyawaki A, Igaki T
“Elimination of oncogenic neighbors by TNF-JNK-mediated engulfment in *Drosophila*”
13th International TNF conference (TNF2011) 2011 年 5 月 15 日～18 日（淡路）
17. Igaki T
“Epithelial intrinsic tumor suppression by Eiger/TNF signaling in *Drosophila*”
13th International TNF Conference (TNF2011)（口頭発表）、2011 年 5 月 16 日、淡路島（神戸）
18. Igaki T
“Epithelial intrinsic tumor suppression driven by cell competition”
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本

- 生化学会大会 合同大会（※オーガナイザー）（口頭発表）、2010 年 12 月 10 日、神戸ポートアイランド（神戸）
19. Enomoto M, Sato Y, Nakamura M, Ohsawa S, Igaki T
“RNA processing defects cooperate with oncogenic Ras to stimulate non-cell autonomous tumor growth in *Drosophila*”
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会（ポスター発表）、2010 年 12 月 9 日、神戸ポートアイランド（神戸）
20. Takino K, Ohsawa S, Igaki T
“Analyzing cell competition during normal development in *Drosophila*”
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会（ポスター発表）、2010 年 12 月 9 日、神戸ポートアイランド（神戸）
21. Kizawa D, Ohsawa S, Takino K, Enomoto M, Igaki T
“Genetic screen for genes that regulate cell competition”
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会（ポスター発表）、2010 年 12 月 9 日、神戸ポートアイランド（神戸）
22. Nakamura M, Ohsawa S, Sato Y, Nagao A, Igaki T
“Genetic screen in *Drosophila* for tumor growth and malignancy”
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会（口頭発表）、2010 年 12 月 9 日、神戸ポートアイランド（神戸）
23. Kanemoto Y, Ohsawa S, Igaki T
“Genetic analysis of tumor progression caused by dysregulation of the endocytic machinery”
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会（口頭発表）、2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド（神戸）
24. Ohsawa S, Sugimura K, Takino K, Xu T, Miyawaki A, Igaki T
“Genetic analysis of cell-elimination that regulates intrinsic tumor suppression and epithelial maintenance in *Drosophila*”
The 16th International Conference of the ISD（ポスター発表）、2010 年 11 月 15 日～18 日、奈良県新公会堂（奈良）

25. Igaki T, Kanemoto Y, Ohsawa S
“Genetic analysis of tumor progression caused by dysregulation of the endocytic machinery”

The 16th International Conference of the ISD (ポスター発表)、2010年11月15日～18日、奈良県新公会堂 (奈良)

26. Igaki T

“Dissecting tumor progression and metastasis by *Drosophila* genetics”

第69回日本癌学会学術総会・シンポジウム、大阪、2010年9月24日

27. Takino K, Ohsawa S, Igaki T

「細胞競合の分子機構の遺伝学的解析」

発生生物学会夏季シンポジウム2010

(口頭発表)、2010年8月26日、八王子(東京)

28. 井垣達吏

「ショウジョウバエにおける異常細胞の除去とエントローシス」

第19回日本Cell Death学会・Cell Death学会設立記念シンポジウム、名古屋、2010年7月31日

29. Igaki T

“Intrinsic tumor suppression by endocytic regulation of JNK signaling”

The 30th International Symposium on Cancer in Sapporo, “*Membrane Traffic and Cancer*” ・シンポジウム (口頭発表)、2010年6月29日、札幌(北海道)

30. Ohsawa S, Takino K, Igaki T

“Genetic analysis of cell-elimination that regulates intrinsic tumor suppression and epithelial maintenance in *Drosophila*”

第43回日本発生生物学会年会 (ポスター発表)、2010年6月21日～23日、国立京都国際会議場 (京都)

31. Takino K, Ohsawa S, Igaki T

“A non-cell autonomous genetic screen for identifying regulators of cell competition”

第43回日本発生生物学会年会 (ポスター発表)、2010年6月21日～23日、国立京都国際会議場 (京都)

32. 井垣達吏、佐藤好隆、大澤志津江

「腫瘍形成・悪性化機構への遺伝学的アプローチ」

第62回日本細胞生物学会大会・ミニシンポジウム (※オーガナイザー) (口頭発表)、大

阪、2010年5月20日

33. Igaki T

“Intrinsic tumor suppression by endocytic regulation of JNK signaling”

51st Drosophila Research Conference (口頭発表)、2010年4月10日、ワシントンDC (アメリカ)

34. Ohsawa S, Sugimura K, Takino K, Xu T, Miyawaki A, Igaki T

“Elimination of oncogenic neighbors by JNK-mediated super-competition”

51st Drosophila Research Conference (口頭発表)、2010年4月9日、ワシントンDC (アメリカ)

[図書] (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/igalab/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井垣 達吏 (IGAKI TATSUSHI)

神戸大学・大学院医学研究科・特命准教授

研究者番号: 00467648