

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	永田 理奈
論文題目	細胞競合の分子機構の遺伝学的解析		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞競合とは、組織中で近接する細胞間の相互作用によって一方の細胞に細胞死が引き起こされる現象である。細胞競合は、がん原性の変異細胞が組織から排除されたり、幹細胞集団の中から不良幹細胞が排除されたりする現象に関与することが示されつつあり、細胞集団のクオリティを最適化する新たな恒常性維持機構として注目されている。これまでに、細胞競合を引き起こす遺伝子変異や細胞変化がいくつか報告されてきたが、異なるトリガーによって引き起こされる細胞競合に共通するメカニズムが存在するのかどうかはよくわかっていなかった。また、細胞競合により排除される細胞で特異的に起こる細胞変化やシグナル伝達変化についてもほとんど不明であった。本研究で申請者は、まず新規細胞競合誘発ショウジョウバエモデル (RNA ヘリカーゼ <i>Hel25E</i> 遺伝子変異による細胞競合モデル) を確立し、これを用いた遺伝学的スクリーニングを行った。その結果、細胞競合を抑制する遺伝子変異としてリソソームに存在するプロトンポンプ V-ATPase のコンポーネントの機能欠失変異を多数同定した。V-ATPase はリソソームの酸性化を担っており、その活性はオートファジーに必須である。申請者は、正常細胞クローンに近接する <i>Hel25E</i> 変異細胞 (排除される細胞) において特異的にオートファジー活性が上昇しており、このオートファジーを抑制すると変異細胞クローンの排除が抑制されることを見いだした。さらに、オートファジーの活性上昇は NFκB を介して細胞死誘導遺伝子 <i>hid</i> の発現を誘導することを見いだした。一方、<i>Hel25E</i> 変異細胞集団ではストレスシグナルである JNK 経路が活性化しており、この JNK 活性化と <i>hid</i> の発現上昇が起こるクローン境界の変異細胞で細胞死が起こることがわかった。このオートファジーを介した細胞死誘導機構は、リボソームタンパク質遺伝子変異細胞や <i>mahjong/VprBP</i> 遺伝子変異細胞が正常細胞に近接した際に排除される細胞競合においても同様に機能していることがわかった。</p> <p>一方、がん原性の変異細胞が近接する正常細胞を駆逐する細胞競合現象 (がん促進型細胞競合) が存在し、例えばがん抑制経路 Hippo 経路の変異細胞 (転写共役因子 Yki/YAP の活性化を介して過剰増殖・腫瘍化する) は近接する正常細胞に細胞死を誘導する。しかし、Hippo 経路変異細胞が周囲の正常細胞にどのようにして細胞死を誘導するのか、またこの細胞死が腫瘍形成にどのような役割を果たすのかはわかっていなかった。申請者はこれらを明らかにするため、ショウジョウバエ遺伝学的スクリーニングを行った結果、Hippo 経路変異細胞に近接する正常細胞 (排除される細胞) でオートファジー依存的に <i>hid</i> が発現誘導されるという、<i>Hel25E</i> 変異細胞やリボソームタンパク質遺伝子変異細胞が排除されるのと同様の細胞死誘導シグナルが機能していることがわかった。また、この正常細胞の細胞死が、Hippo 経路変異細胞の腫瘍化に必要であることもわかった。さらなる解析により、Hippo 経路変異細胞内では Yki の活性化により発現誘導される microRNA <i>bantam</i> を介して TOR シグナルが活性化することでタンパク質合成量が上昇し、これにより近接細胞に細胞非自律的にオートファジーが誘導されることがわかった。一方、上述の <i>Hel25E</i> 変異細胞やリボソームタンパク質遺伝子変異細胞は正常細胞に比べてタンパク質合成量が低いこともわかり、細胞間のタンパク質合成能の差がオートファジー誘導に必要であることが示唆された。</p> <p>以上の結果から、組織中で種々のストレスによりタンパク質合成能が低下した細胞が排除されたり、がん原性の変異細胞が周囲の正常細胞を駆逐して腫瘍化したりするプロセスにおいて、本研究で見いだした細胞非自律的オートファジーを介した細胞競合機構が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

細胞競合現象は、単独では生存可能な変異細胞が正常細胞に近接すると組織から排除される現象としてショウジョウバエ上皮で見いだされた。ここ10年ほどで細胞競合の分子機構の研究が進展した結果、細胞競合現象は大きく3つに分けられることが見えてきた。すなわち、①がん原性の変異細胞が正常細胞に近接すると排除される(がん抑制型)、②がん原性の変異細胞が近接する正常細胞を排除する(がん促進型)、および③単独では生存可能な機能低下細胞が正常細胞に近接すると排除される(細胞集団最適化型)の3種類である。申請者が所属する研究室ではこれまで、がん抑制型の細胞競合現象の分子機構を明らかにしてきた。しかし、がん促進型や細胞集団最適化型の細胞競合の分子機構については不明な点が多かった。そこで申請者はまず、細胞集団最適化型の細胞競合の分子機構を解析するため、遺伝学的スクリーニングに適用可能な新たな細胞競合モデルの構築を目指した。その結果、RNAヘリカーゼ*Hel25E*遺伝子に変異をもつ細胞が正常細胞に近接すると細胞競合によって排除されることを見いだした。そして、このモデルを用いてショウジョウバエ遺伝学的スクリーニング系を樹立した。本スクリーニングにより、細胞競合を抑制するサプレッサー変異を多数同定し、その責任遺伝子としてV-ATPaseのコンポーネントをコードする遺伝子を同定した。V-ATPaseはオートファジーに必須の分子であり、*Hel25E*変異細胞内でオートファジーを抑制すると細胞競合が起こらなくなった。さらに、正常細胞に近接する*Hel25E*変異細胞でオートファジー活性が亢進し、これによりNFκBが活性化して細胞死誘導遺伝子*hid*が発現誘導されることがわかった。また、*Hel25E*変異細胞内ではJNK経路も活性化しており、JNK活性化と*hid*の発現上昇が同時に起こることで細胞死が引き起こされることが見いだされた。さらなる解析により、このオートファジーを介した細胞死誘導は細胞集団最適化型の様々な細胞競合現象に共通して働く機構であることもわかった。

一方申請者は、がん促進型細胞競合現象の解析も進めた。具体的には、がん抑制経路Hippo経路に変異をもつ細胞が近接する正常細胞を駆逐する細胞競合モデルを用い、この細胞競合を抑制するサプレッサー系を探索した。その結果、上記スクリーニングと同様にV-ATPaseやNFκBがサプレッサーの責任遺伝子として同定され、その細胞死誘導機構も上記機構と同様であることがわかった。すなわち、これまで分子機構がほとんど不明であったがん促進型および細胞集団最適化型の細胞競合が、いずれもオートファジーを介した細胞死誘導という共通のメカニズムによって駆動されることを世界で初めて見いだした。今後、このような細胞間相互作用を介した細胞非自律的なオートファジー誘導メカニズムを明らかにできれば、細胞競合の全貌を本質的に理解することが可能になると思われる。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、細胞生物学・遺伝学や細胞間コミュニケーションの研究分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見や概念が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。さらに、令和3年2月8日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日