

京都大学	博士（医科学）	氏名	森 祐輔
論文題目	Extracellular ATP facilitates cell extrusion from epithelial layers mediated by cell competition or apoptosis （細胞外ATPは上皮層からのがん原性変異細胞およびアポトーシス細胞の排除を促進する）		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>上皮組織には組織恒常性を維持するため、異常な細胞を排除する仕組みが備わっている。近年、上皮組織に生じた異常細胞が周囲の正常細胞によって管腔側へ押し出され排除される現象（cell extrusion）が報告されている。この cell extrusion 現象は、(1) 性質の異なる細胞間で生じる細胞競合現象を介したがん原性変異細胞の排除、あるいは (2) アポトーシス細胞の排除の 2 種類に主に分類される。これまでに、それぞれの種類の排除プロセスにおける分子機序は徐々に明らかとなってきた。しかし、正常細胞がどのように異常細胞を認識し排除するのか、さらには異なる種類の cell extrusion 現象が共通の分子機序によって制御されるのかについては、詳細に理解されていない。</p> <p>本研究では細胞培養系を用いて、正常上皮細胞（MDCK）と RasV12 変異体を発現する細胞（MDCK-pTR GFP-RasV12）を共培養し、細胞競合を介した正常細胞による Ras 変異細胞の認識・排除に関する因子の探索をまず行った。その結果、正常細胞で変異細胞を取り囲んだ場合において、活性酸素種（Reactive Oxygen Species: ROS）のレベルが変異細胞の周囲の正常細胞で上昇することが観察された。さらに抗酸化剤処理により、細胞層からの変異細胞の排除は抑制された。この結果は、ROS が正常細胞による変異細胞の排除を正に制御することを示唆している。さらに、ライブイメージングを用いて細胞動態を解析した結果、ROS は正常細胞の変異細胞へと向かう極性を有する細胞運動能を亢進し排除現象を誘導することが観察された。</p> <p>次に ROS 誘導機構を同定するために、様々な阻害剤の ROS に対する効果を検証した。その結果、ROS を誘発する因子として細胞外 ATP を同定した。加えて、正常細胞と比較し、変異細胞では培養上清中へと放出する ATP 量が有意に上昇していた。つづいて、細胞外 ATP に対する受容体として知られる、P2Y1 あるいは P2Y2 G タンパク質共役型受容体のノックダウン実験を行った。その結果、Ras 変異細胞から放出された ATP を正常細胞が P2Y1/P2Y2 受容体を介して受容し、ROS の誘導を介して Ras 変異細胞の排除を促進していることが示唆された。</p> <p>上記の現象が生体内に近い環境下でも観察されるかを、細胞競合モデルマウス（<i>villin/Cre<sup>ERT</sup>; LoxP-STOP-LoxP/HRas<sup>V12</sup>-IRES-eGFP</i>）から作製した小腸オルガノイドを用いて検証した。そして、マウス小腸オルガノイドにおいても細胞外 ATP を介した ROS 誘導が変異細胞の排除を促進することが観察された。</p> <p>最後に上記の現象が上皮層からのアポトーシス細胞の排除においても関与するかについて、アポトーシスを誘導するタンパク質である Caspase-8 を発現する細胞（MDCK-pTR GFP-Caspase-8）を用いて検証した。その結果、細胞外 ATP および ROS は正常細胞による Caspase-8 発現細胞の排除も正に制御することが観察された。</p> <p>以上の結果により、がん原性変異細胞およびアポトーシス細胞の cell extrusion を介した排除現象は細胞外 ATP および ROS を介して普遍的に制御されていることが示唆された。上皮細胞による異常な細胞の排除現象の解明は、上皮組織の恒常性維持の根本的な理解につながることを期待される。</p>			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>組織恒常性を維持するため、上皮組織に生じた異常な細胞は、正常細胞により管腔側へ押し出され排除されることが報告されている（cell extrusion 現象）。Cell extrusion 現象は、細胞競合を介したがん原性変異細胞の排除、およびアポトーシス細胞の排除の 2 種類に分類される。しかし、これらの異なる排除現象が共通の分子機序により制御されているかは明らかでなかった。</p> <p>当研究では、哺乳類上皮細胞培養系において、がん原性変異の RasV12 変異体を発現する細胞と正常細胞との相互作用により、活性酸素種（ROS）産生が上昇し、排除現象が誘導されることを示した。この ROS 産生は、変異細胞から放出される細胞外 ATP が正常細胞のシグナル伝達経路を活性化することで誘起されることを見出した。加えて、細胞競合モデルマウスから作製した腸管上皮オルガノイドにおいても、細胞外 ATP を介した ROS 誘導が変異細胞排除を促進することを示した。さらに、細胞外 ATP および ROS が変異細胞の排除のみならず、アポトーシス細胞の排除を制御することも明らかにした。当研究により、がん原性変異細胞およびアポトーシス細胞の排除が細胞外 ATP および ROS を介して普遍的に制御されることが示唆された。</p> <p>以上の研究は cell extrusion を介した上皮恒常性維持機構に関与する分子機序の解明に貢献し、細胞生物学研究の発展に寄与するところが大きい。</p> <p>したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 5 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
---

要旨公開可能日： 年 月 日以降