

197. 細胞競合を介した上皮の恒常性維持機構の遺伝学的解析

大澤 志津江

京都大学 大学院生命科学研究科 システム機能学

Key words : 細胞競合, 極性崩壊細胞, ショウジョウバエ

緒言

多細胞生物の器官形成やその恒常性維持は、組織を構成する細胞同士の相互連絡を通じた細胞増殖と細胞死のバランスの調節によって成立する。近年、このような細胞間ネットワークを介した組織形成および恒常性維持機構に細胞競合と呼ばれる現象が重要な役割を果たしていることが分かってきた。細胞競合とは、組織中の隣り合う2つの細胞間で増殖能や生存能の競合が起こる現象であり、この競合の“勝者”が“敗者”を細胞死によって排除し、その場を占有する。これは、多細胞生物の器官構築過程で生じる「揺らぎ」を吸収することでそのロバストネスの向上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、幹細胞ニッチにおける優良幹細胞の選択、さらには肝幹細胞移植の際の肝再構築過程においても機能していると考えられている。しかしながら、その分子機構はほとんど不明である。その理由として、組織中で引き起こされる細胞競合を高感度で検出できるモデル系が存在しなかったことが挙げられる。本研究では、我々が最近樹立に成功した高感度細胞競合検出モデルを用い、“細胞非自律的”な遺伝学的スクリーニングを行うことで、「細胞競合を介した上皮の恒常性維持機構」の分子基盤を明らかにする。

方法

我々が最近樹立に成功した高感度細胞競合検出モデル系を用い、大規模な遺伝学的スクリーニングを実施し、細胞競合に異常をきたすショウジョウバエ変異体を単離した。具体的には、ショウジョウバエ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にGFP標識した *scrib* ホモ変異クローン（極性崩壊細胞クローン）をまず誘導した。通常、これら *scrib* 変異細胞の大多数は細胞競合によって組織から排除される。この系において、*scrib* 変異クローンに隣接する野生型クローン（正常細胞群）に対し、変異原化合物 EMS (Ethyl Methane Sulfonate) によるランダムな突然変異をホモ接合となるように導入した。この突然変異により、*scrib* 変異クローンの排除が異常となる個体を網羅的に単離した。単離した変異体のうち1変異体に関して解析を進めて責任遺伝子を同定し、その細胞競合における役割を解析した。

結果および考察

ショウジョウバエ上皮組織において、上皮細胞の頂底極性 (apico-basal 極性) が崩壊したがん原性の細胞が生じると、細胞競合を介して組織から排除される。我々はこれまでに、この細胞排除の分子機構を解析し、①極性崩壊細胞の細胞死には、JNK (c-Jun N-terminal Kinase) シグナルが重要な役割を果たすこと、および②正常細胞において細胞排除シグナル (細胞骨格系シグナル、飢餓シグナルなど) を破綻させると、極性崩壊細胞は細胞死を免れるだけでなく大過剰に増殖して腫瘍を形成し、個体を死に至らしめることを明らかにしてきた^{1,2)}。今回我々は、正常細胞が極性崩壊細胞を認識するメカニズムを明らかにするため、*scrib* 変異細胞 (極性崩壊細胞) を取り囲む正常細胞に対し、EMSにより突然変異を導入した7,490系統をスクリーニングした。その結果、*scrib* 変異細胞の排除が抑制された系統 *eld* (elimination-defective) 8系統、および排除が促進された系統 *sel* (super-eliminator) 7系統を単離した。本研究では、これら15系統のうち、最も興味深い表現型を示した *eld-4* 系統について、解析を進めることにした。

ショウジョウバエ複眼原基において *scrib* 変異細胞クローンを誘導すると、それら変異細胞群は細胞競合の敗者となり、細胞死を起こして組織から排除される。ところが、正常細胞群に *eld-4* 変異を導入すると、*scrib* 変異細胞群の排除が抑制された (図 1)。

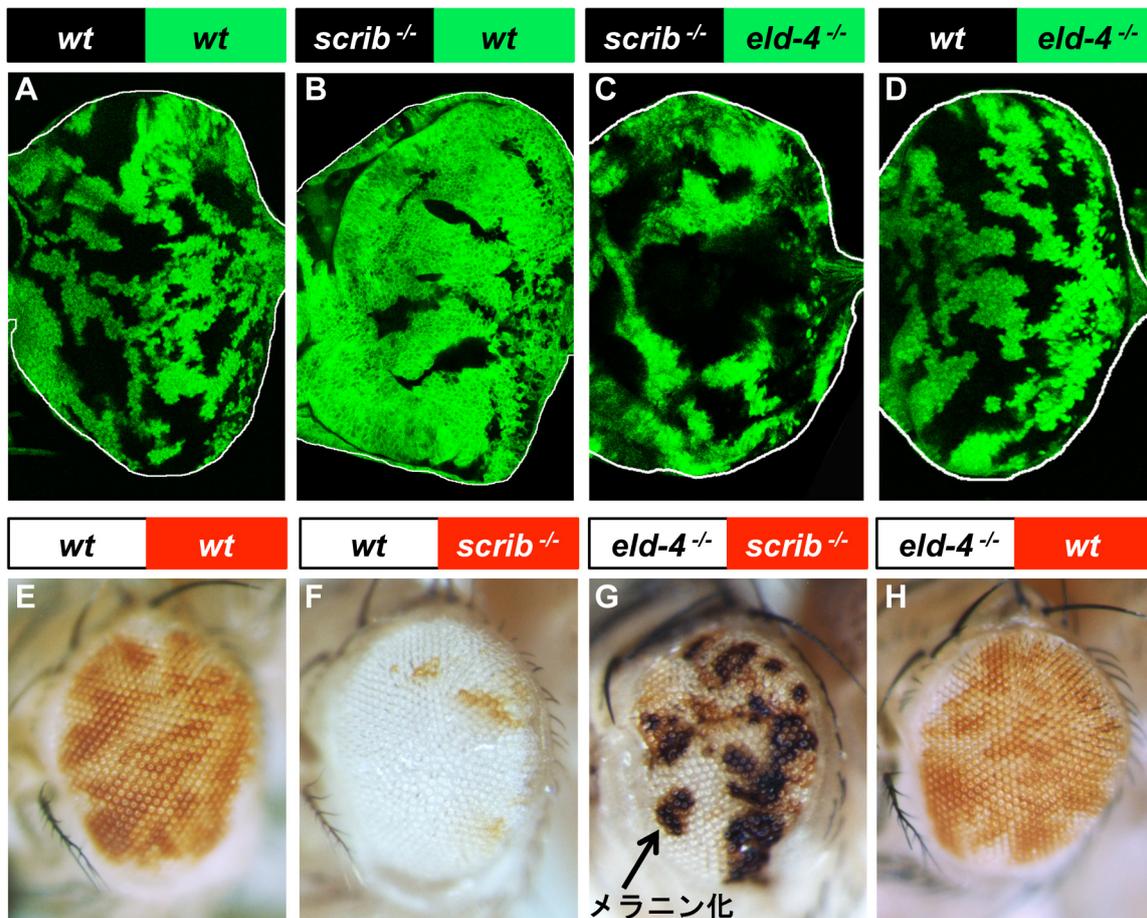


図 1. 正常細胞において *eld4*^{-/-} 変異が導入されると、極性崩壊細胞の排除が抑制された

(A-D) ショウジョウバエ複眼成虫原基において、GFP 陰性の野生型 (A、D) あるいは *scrib*^{-/-} 変異細胞群 (B、D) を誘導した。C、D においては、その周りの GFP 陽性細胞群に *eld4*^{-/-} 変異を導入した。(E-H) 赤の色素で標識した野生型細胞群 (E、H)、*scrib*^{-/-} 変異細胞群 (F、G) を持つショウジョウバエ成虫の複眼。C、D においては、その周りの細胞群 (白) に *eld4*^{-/-} 変異を導入した。*scrib*^{-/-} 変異細胞群が *eld4*^{-/-} 変異細胞群に取り囲まれると、細胞排除が抑制され、強いメラニン化が引き起こされる。

そこで *eld-4* について解析を進めた結果、細胞表面のリガンド様タンパク質をコードする遺伝子 *sas* (stranded at second) を、その責任遺伝子として同定した (図 2)。

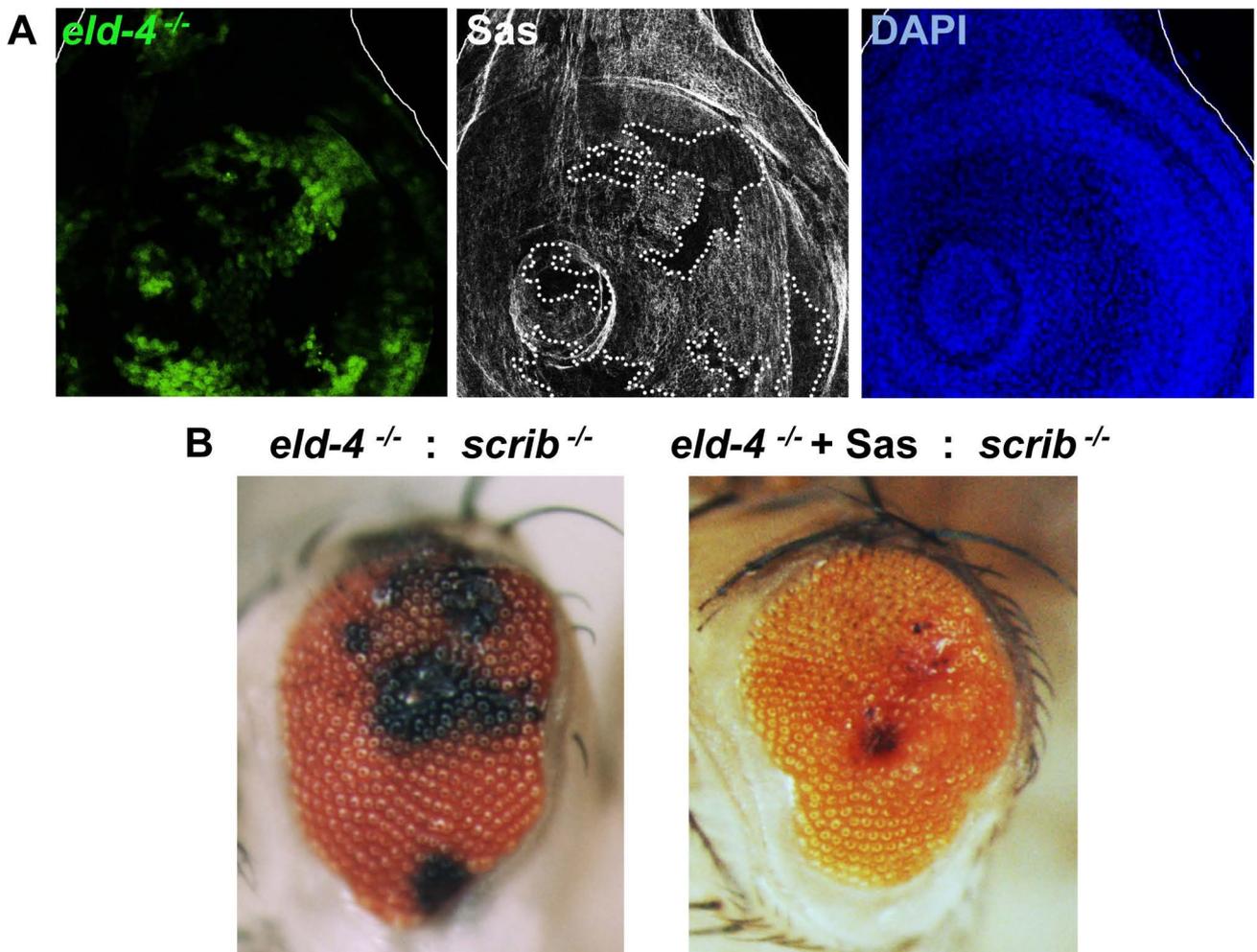


図2. *eld4*^{-/-}変異細胞の責任遺伝子はリガンド様タンパク質をコードする遺伝子 *Sas* である
 (A) GFP で標識した *eld4*^{-/-}変異細胞群を誘導した複眼成虫原基を *Sas* 抗体で染色した。*eld4*^{-/-}変異細胞群では *Sas* の発現が完全に消失していた。(B) *scrib*^{-/-}変異細胞群を持つショウジョウバエ成虫原基。*scrib*^{-/-}変異細胞群がその周囲を *eld4*^{-/-}変異細胞群に取り囲まれると、その排除が抑制されるが (左)、*eld4*^{-/-}変異細胞群に *Sas* を発現させると、細胞排除がレスキューされた。

Sas は通常、上皮細胞の apical 側に局在する。ところが興味深いことに、極性崩壊細胞と隣接した正常な上皮細胞においては、*Sas* が lateral 膜にも局在することが明らかになった。このことは、正常細胞において発現している *Sas* が極性崩壊細胞の認識に関与している可能性を示唆している。そこで、この *Sas* と結合する極性崩壊細胞側の受容体を同定する RNAi スクリーニングを行った。具体的には、*Sas* と結合し得る受容体、すなわち、*Sas* の細胞外領域に存在するタンパク質相互作用に重要なドメイン (Von Willebrand factor, type C: VWC と Fibronectin type-3: FN3) に結合し得るタンパク質をコードする遺伝子として当時アノテーションされていた 32 個の遺伝子に対する RNAi をそれぞれ *scrib* 変異細胞内に発現させてその発現を抑制し、それにより *scrib* 変異細胞の排除が抑制されるものを単離した。その結果、進化的に保存されたがん抑制遺伝子 *Ptp10D* (Protein tyrosine phosphatase 10D: 受容体型チロシンホスファターゼ) の発現を *scrib* 変異細胞内で抑制した際に、細胞排除が抑制されることが分かった (図3)。

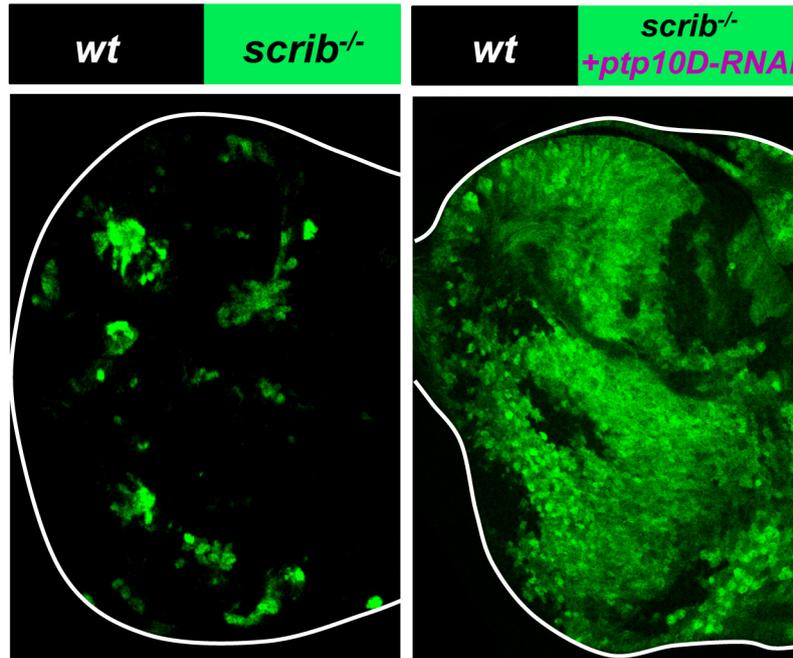


図3. *scrib*^{-/-}変異細胞内で *ptp10D* の発現を抑制すると、細胞排除が抑制された
 複眼成虫原基において、GFP で標識した *scrib*^{-/-}変異細胞群を誘導した。左では、*scrib*^{-/-} 変異細胞内で *ptp10D* に対する *RNAi* を発現させた。

さらに興味深いことに、*scrib* 変異細胞内の PTP10D は正常細胞との境界上で lateral 膜に局在していることがわかった。すなわち、上皮における細胞競合を介したがん抑制機構において、正常細胞と極性崩壊細胞の境界上における Sas と PTP10D の相互作用が、極性崩壊細胞の認識・排除を担っていると考えられた。本研究成果は、自己-非自己を認識する免疫システムと類似のシステムが上皮組織においても存在し、これにより上皮の組織レベルのがん抑制を実現していることを示唆している。現在、同定した Sas-PTP10D システムが細胞排除を駆動する分子機構について解析を進めている。

文 献

- 1) Igaki T, Pastor-Pareja JC, Aonuma H, Miura M, Xu T. Intrinsic tumor suppression and epithelial maintenance by endocytic activation of Eiger/TNF signaling in *Drosophila*. *Dev Cell*. 2009 Mar;16(3):458-65. doi: 10.1016/j.devcel.2009.01.002. PubMed PMID: 19289090
- 2) Ohsawa S, Sugimura K, Takino K, Xu T, Miyawaki A, Igaki T. Elimination of oncogenic neighbors by JNK-mediated engulfment in *Drosophila*. *Dev Cell*. 2011 Mar 15;20(3):315-28. doi: 10.1016/j.devcel.2011.02.007. PubMed PMID: 21397843