

## 研究テーマ

### 上皮の内在性癌抑制システムを司る細胞競合機構の解明

#### 1. 目的および方法

本研究は、上皮の内在性癌抑制システムを司る「細胞競合」の分子機構を、ショウジョウバエをモデル生物とした遺伝学的アプローチにより明らかにしていくものである。上皮組織に癌原性の極性崩壊細胞が生じると、組織はそれを積極的に排除することによりその恒常性を保つと考えられる。申請者はこれまでに、このような上皮の癌原性細胞排除システムがショウジョウバエ成虫原基の上皮に存在すること、また、この細胞排除システムの実行には細胞競合を介した正常細胞と癌原性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つの細胞がその分裂速度を競合する現象であり、分裂速度の速い細胞 (winner) が遅い細胞 (loser) を細胞死によって除去してその場を占有するものである。この機構は、組織中の細胞分裂速度を均一化させることにより組織構築過程のロバストネスの向上に寄与するだけでなく、上皮組織に生じた癌前駆細胞の増殖・細胞死の組織レベルでの制御に深く関与していると考えられている。しかしながら、細胞競合の分子機構についてはいまだ不明な点が多い。その理由として、組織中で引き起こされる細胞競合現象を高感度に検出する実験系が存在しなかったことが挙げられる。この状況を打開するために、申請者らはショウジョウバエ成虫原基の上皮を用いて、細胞競合を高感度に検出するモデル系を構築した。この新規細胞競合モデルは、進化的に保存されたapico-basal極性遺伝子 (*scribble (scrib)*、*discs large (dlg)*、*lethal giant larvae (lgl)*など) の突然変異により極性を失った癌原性細胞 (極性崩壊細胞) のクローンが、細胞競合を介して組織から排除されるという現象に着目したものである。このとき細胞競合機構を遺伝的に破綻させると、これら極性崩壊細胞クローンは組織からの排除を免れるだけでなく、強く増殖して組織に腫瘍を形成する。すなわち、本実験系は細胞競合現象の微細な変化を「腫瘍形成」という表現型によって極端に増幅する高感度細胞競合検出系であるといえる。本研究は、この新規モデル系を利用することにより、細胞間コミュニケーションを介した上皮の癌原性細胞排除システムを遺伝学的に解析し、このシステムを司る細胞競合の分子機構の包括的理解に迫るものである。

#### 2. 研究成果

申請者はこれまでに、①ショウジョウバエ成虫原基の上皮組織に生じた極性崩壊細胞クローンが細胞競合によって組織から排除されること、および②この細胞排除は c-Jun N-terminal kinase (JNK) 依存的な細胞死により引き起こされることを見いだしてきた。すなわち、癌原性の極性崩壊細胞は、その周囲を正常組織に取り囲まれると JNK シグナルを強く活性化して細胞死に至ることが明らかとなった。本研究ではまず、この JNK 依存的細胞死がどのようにして誘導されるのか、その上流メカニズムを解析した。ショウジョウバエにおいて JNK 依存的細胞死を引き起こす上流因子の一つとして、ショウジョウバエ腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor; TNF) Eiger が知られている。Eiger

は、ショウジョウバエ成虫原基において過剰発現させると JNK 依存的細胞死を誘導する細胞死リガンドであるが、*eiger*を欠損した突然変異体では細胞死の異常が観察されないことから、Eiger-JNK 細胞死シグナルは正常発生過程においては必須ではないと考えられていた。今回申請者らは、この Eiger-JNK 細胞死シグナルが、上皮に生じた癌原性の極性崩壊細胞を排除するのに必須であることを見出し、さらにその細胞死誘導機構を明らかにした。まず、*eiger*を欠損した変異個体において *scrib* 変異クローン（極性崩壊細胞クローン）を誘導したところ、*scrib* 変異細胞において JNK 活性化は起こらず、これらの細胞クローンは細胞死を免れて高い増殖能を発揮し腫瘍を形成した。一方、Eiger の細胞内局在を解析したところ、Eiger は正常細胞内では細胞膜に局在するのに対し、*scrib* 変異クローン内ではその大部分が初期エンドソームに局在することが分かった。また、極性崩壊細胞における JNK 活性化のシグナルは、Eiger が局在するエンドソームにおいて強く観察された。これらの結果は、Eiger が *scrib* 変異細胞においてその局在を細胞膜からエンドソームへと移行し、それにより JNK 依存的な細胞死シグナルをエンドソームで活性化させている可能性を示唆するものであった。そこで、*scrib* 変異細胞におけるエンドサイトーシス活性を調べた結果、*scrib* 変異クローン内ではエンドサイトーシス活性自体が亢進していることが分かった。さらに、この *scrib* 変異クローン内におけるエンドサイトーシスの亢進が、Eiger-JNK シグナルの活性化の引き金になっていることが明らかとなった。以上の結果から、*scrib* 変異細胞ではエンドサイトーシス活性が亢進し、これが Eiger のエンドソームへの移行を促進して JNK シグナルの活性化を引き起こし細胞死に至ると考えられた (Igaki *et al.*, *Dev Cell*, 2009)。この現象は、*scrib* 変異クローンのみならず別の極性遺伝子である *dlg* の変異クローンにおいても同様に観察されたことから、癌原性の極性崩壊細胞の出現に応答して機能する普遍的な癌抑制システムであると考えられた (Igaki, *Apoptosis*, 2009)。

以上の解析から、正常組織に取り囲まれた極性崩壊細胞が JNK 依存的細胞死を引き起こす分子機構が明らかとなった。そこで次に、極性崩壊細胞を取り囲む正常組織の役割について解析を進めた。ショウジョウバエ成虫原基に *scrib* 変異クローンを誘導し、JNK シグナルの活性化パターンを詳細に観察した結果、JNK シグナルは極性崩壊細胞のみならず、それらに隣接する正常細胞側においても活性化していることが分かった。そこで、この正常細胞側における JNK シグナルの役割を調べるために、極性崩壊細胞を取り巻く正常細胞においてのみ JNK 活性を抑制したところ、これにより極性崩壊細胞の排除は抑制された。逆に、正常細胞側の JNK 活性を増強させると、極性崩壊細胞の排除は亢進した。すなわち、周囲の正常細胞の JNK 活性化は、極性崩壊細胞の排除に促進的に働いていることが分かった。さらに申請者らは、このときの JNK シグナルの下流分子を同定し、このシグナル経路が貪食能を活性化することで隣接する極性崩壊細胞を貪食することにより細胞排除を促進していることを明らかにした (Ohsawa *et al.*, *submitted*) (図 1)。

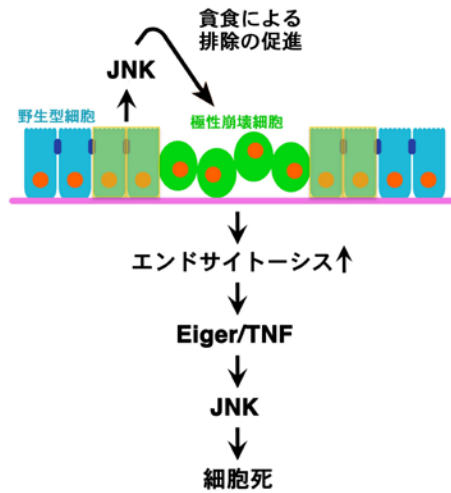


図 1. 上皮の内在性癌抑制システム

### 3. 考察

以上の結果は、正常細胞と極性崩壊細胞との間で起こる細胞競合が、両者における JNK シグナル伝達のアウトプット変換により駆動されていることを示唆するものである。すなわち、正常な上皮に癌原性の極性崩壊細胞が出現すると、組織は癌原性細胞とそれに隣接する正常細胞において JNK シグナルを活性化させるが、そのアウトプットは両者の間で異なり、癌原性細胞においては細胞死シグナルとして、隣接する正常細胞においては貪食シグナルとして機能することが明らかになった。このような JNK シグナルのアウトプット変換機構が、上皮の内在性癌抑制機構の発現に重要な役割を果たしていると考えられる。

### 4. 発表論文

**Igaki T**

“Correcting developmental errors by apoptosis: lessons from *Drosophila* JNK signaling”

*Apoptosis*. 14, 1021-1028 (2009) (Invited review)

**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*.”

*Developmental Cell*. 16, 458-465 (2009)