

# ナノバイオ医薬創成科学講座

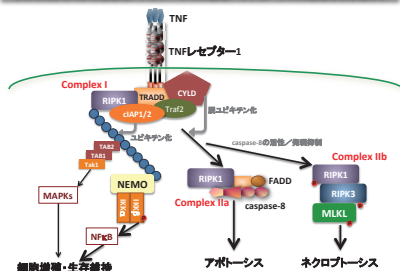
客員教授：米原 伸



## 研究概要

細胞死は個体の発生や恒常性の維持に必要な不可欠な現象であり、遺伝子の作用でプログラムされた（計画的）細胞死はアポトーシスとされてきました。しかし、アポトーシスが caspase の活性化によって引き起こされるのが分かった結果、アポトーシスではない新しいプログラム細胞死の存在が示されています。例えば、米原が発見・命名した細胞表面 Death Receptor Fas を介する外因性経路のアポトーシスでは caspase-8 の活性化が必須ですが、caspase-8 はアポトーシスの誘導だけでなく計画的ネクローシス（ネクロトーシス）の抑制にも機能します。具体的には、RIP キナーゼ（RIPK）1 は TNF 刺激や Fas 刺激などによって活性化され、活性化 RIPK1 は RIPK3 を、RIPK3 はネクローシス実行因子 MLKL をリン酸化して活性化し、活性化 MLKL が細胞膜や細胞内小器官の膜を破壊してネクローシスが誘導されます。ネクロトーシスを初めとする多様な計画的細胞死の存在が知られるようになった結果、様々な生命現象を解読し、疾患・病態の原因を解明するためには、アポトーシス実行の分子機構だけでなく、計画的ネクローシスを含む非アポトーシスの分子機構を解明し、さらにその生理的・病理的意義を解明する研究が必要と考え、我々は次のような研究を行っています。

TNF はレセプターの下流で三種類の異なるシグナル伝達複合体を形成し、それぞれが NF- $\kappa$ B の活性化、アポトーシスの誘導、ネクローシスの誘導を引き起こす

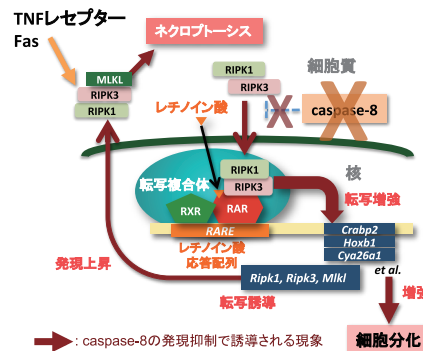


1) caspase-8 の活性阻害下にインターフェロン $\gamma$  が誘導するネクロトーシスの実体と誘導機構の研究：インターフェロン $\gamma$  がネクロトーシスを誘導することを見だし、その実行分子 MLKL の活性化に RIPK1 を必要としない系の存在すること、MLKL が膜破壊だけでなく通常は細胞膜の内側だけに存在するホスファチジルセリンを細胞膜の外側に露出させることを見だしています。従来はアポトーシスのマーカーとされ、アポトーシス細胞がマクロファージに貪食される“eat me”シグナルとされてきたホスファチジルセリンの露出がネクロトーシスの実行分子である MLKL でも引き起こされるのです。

2) ネクロトーシス誘導シグナルとレチノイン酸シグナルのクロストーク：アポトーシス誘導に関わりネクロトーシスの誘導を阻害する caspase-8 は、細胞分化を制御するレチノイン酸シグナルの過剰な増強をも抑制していることを見だしました。caspase-8 非存在下では、レチノイン酸シグナルが劇的に亢進し、その結果、MLKL や RIPK3 の発現上昇を介してネクロトーシスを亢進させます。caspase-8 非存在下では、RIPK1 と 3 が核内に移行してレチノイン酸レセプター（RAR）と会合して転写活性を増強させます。レチノイン酸の細胞分化誘導やがん化抑制活性が caspase-8 や RIPK1 によってネクロトーシスと共に制御されているのです。

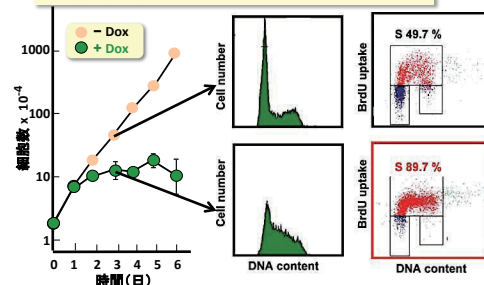
## 主要論文

- Yonehara S, Ishii A, and Yonehara M. A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor. *J Exp Med*, 169, 1747-1756, 1989.
- Imai Y, Kimura T, Murakami A, Yajima N, Sakamaki K, and Yonehara S. The CED-4-homologous protein FLASH is involved in Fas-mediated activation of caspase-8 during apoptosis. *Nature*, 398, 777-785, 1999.
- Kiriya M, Kobayashi Y, Saito M, Ishikawa F, and Yonehara S. Interaction of FLASH with arsenite resistance protein 2 is involved in cell cycle progression at S phase. *Mol Cell Biol*, 29, 4742-4756, 2009.
- Minamida Y, Someda M, and Shin Yonehara. FLASH/casp8ap2 is indispensable for early embryogenesis but dispensable for proliferation and differentiation of ES cells. *PLoS One*, 9(9): e108032, 2014.



3) FLASH のがん細胞特異的な細胞の増殖維持機能と細胞死抑制機能の研究：Fas を介するアポトーシス誘導機構に必要な分子として、caspase-8 と会合可能な FLASH という分子を同定しました。そして、我々が確立した薬剤処理によって特定遺伝子の発現抑制を誘導する系を用いて FLASH の発現抑制を誘導すると、がん細胞特異的に細胞周期 S 期進行の停止と細胞死の誘導が認められました。また、FLASH はカノニカルヒストン mRNA の切断による成熟に必要な不可欠な分子であることも分かりました。そこで、FLASH の発現抑制がカノニカルヒストンの発現抑制とノンカノニカルヒストンの発現誘導を介して細胞の増殖停止と細胞死の誘導を引き起こすと考え、具体的なヒストンバリエーションの同定と機能解析を行っています。また、がん細胞の増殖停止と細胞死を誘導する FLASH の機能阻害を創薬に結びつける研究も行っています。

## Doxycyclin (Dox) 処理で FLASH 特異的な shRNA の発現が誘導される



4) がん細胞特異的な細胞死の誘導：薬剤処理によって特定遺伝子の発現抑制を誘導する系を我々は確立し、様々な遺伝子に適用して、ヒト細胞に細胞死を誘導する系を探索してきました。その中で、がん細胞特異的に細胞死を誘導する系として、SMC2 と CAPRIN1 の発現抑制系を見だしています。コンデンシン複合体の一員である SMC2 の発現抑制では、がん細胞特異的に細胞死が誘導され、これはアポトーシスと非アポトーシス細胞死が共存しています。また、CAPRIN1 の発現抑制では、全ての細胞で細胞増殖が抑制されるが、接着性がん細胞特異的に細胞死が誘導されました。この細胞死は全く新しい非アポトーシス細胞死であり、基質から細胞が無理やり引きはがされて誘導されることから、アブラトーシス (abruptosis) と命名しました。そして、これらの新しい細胞死の分子機構と生理・病理機能の解析を進めています。