

2002年6月17日
独立行政法人 理化学研究所

進化的に獲得したと考えられてきた“細胞死因子”を無脊椎動物で発見

- 細胞死因子「TNFファミリー分子」の新たな生理機構解明へ -

理化学研究所（小林俊一理事長）は、ほ乳類が進化的に獲得したと考えられてきたアポトーシスを引き起こす代表的な誘導因子「TNFファミリー」を、無脊椎（せきつい）動物から同定することに世界で初めて成功しました。理研脳科学総合研究センター（伊藤正男所長）細胞修復機構研究チームの三浦正幸チームリーダー、井垣達吏日本学術振興会特別研究員（大阪大学・大学院生）らによる研究成果です。

多細胞生物における個体の発生過程においては、たくさんの細胞が細胞死（アポトーシス）を起こし、取り除かれることが知られています。アポトーシスの仕組みは、細胞（生物）の種類を問わず、カスパーゼと呼ばれるたんぱく質分解酵素の活性化と核のDNAの断片化を伴う共通したメカニズムが使われています。特にほ乳類では、「細胞死因子」と呼ばれる細胞死を誘導するたんぱく質が存在し、それらの主要メンバーが腫瘍壊死因子(TNF : tumor necrosis factor)ファミリーです。これらの細胞死因子は、進化の過程で獲得したものと考えられていましたが、今回、ショウジョウバエを用いた研究によって、初めて無脊椎動物でTNFファミリー分子の一つと考えられる「Eiger（アイガー）」が存在することを明らかにしました。

モデル動物として重要なショウジョウバエからTNFファミリー分子が見つかったことによって、脳など複雑な神経系を形成するのに必要不可欠な細胞死の研究が進展し、神経細胞の脱落によって生じる神経変性疾患の原因解明および治療に結びつくものと考えられます。さらにTNFファミリーを代表するTNFは、細胞死を誘導する以外にも、炎症反応や興奮性シナプスの維持など、さまざまな機能を持つ大変重要なタンパク質であり、TNFファミリー分子の新たな生理機能が明らかにされるものと期待されます。

本研究成果は、英国の学術専門誌『The EMBO Journal』（6月17日号）に掲載されます。

1. 背景

プログラム細胞死は、動物の体が作られていくさまざまな過程で見られます。生物の形作りの場面では、彫刻家が丸太にのみを振るうように余分な構造を削っていくメカニズムとしてきわめて重要な生命現象です。特に神経系においては、精緻（せいち）な神経回路を作るため、あらかじめたくさんの神経細胞を作っておき、その中から正確な神経回路（シナプス）形成に参加できたものを選択していく過程において機能していると考えられています。また、免疫系では、プログラム細胞死によって自己を攻撃する細胞のみを除去することにより、外敵から自己を守る仕組みが完成します。ほ乳類には、TNFやFasリガンドといった「細胞死因子」と呼ばれる細胞死を誘導するたんぱく質が存在します。これらの分子が、ある細胞の細胞表面にある「細胞死受容体」に結合すると、その細胞では細胞死プログラムが開始さ

れ細胞死が誘導されます。また、TNF は、ほかの受容体にも結合し、細胞死以外のさまざまな細胞変化を引き起こします (図 1)。

このような分子の存在は、ほ乳類に限られたものなのでしょうか。それとも無脊椎動物にも存在し、細胞死やその他の生理機能を発揮しているのでしょうか。TNF ファミリー分子の一つ TNF は、炎症や免疫反応、さらには腫瘍細胞の除去に関与するたんぱく質としてとてもよく研究された分子ですが、その機能は多岐にわたり、いまだにその生理機能の多くは謎です。しかも無脊椎動物では、哺乳類で見られるような炎症、免疫、腫瘍は観察されません。もし TNF ファミリー分子が無脊椎動物から発見され、その機能が研究されれば、TNF ファミリーの本来の機能を明らかにすることができるのではないかと期待されていました。

2. 研究手法と成果

細胞死研究の進展には、モデル動物である線虫が大きな役割を果たしました。線虫では、すべての細胞死が遺伝的にプログラムされているため、遺伝学を駆使して細胞死実行カスケードを明らかにすることが可能です。しかし、ほ乳類やほかの多細胞動物での細胞死の多くは、周りの細胞との相互作用によって決定され、実行されていると考えられており、線虫の細胞死をモデルとして利用するには限界があります。そこで私たちは、遺伝学的な研究が可能で、かつほ乳類での細胞死の特徴を備えたモデル動物としてショウジョウバエを研究に用いました。ショウジョウバエのさまざまな組織に内在する任意の遺伝子を過剰に発現させ、その表現型をもとに目的の遺伝子をスクリーニングする方法が、東京都立大学理学研究科の相垣敏郎助教授らによって考案されています。研究チームでは、相垣助教授と共同でこの方法を用いてショウジョウバエの複眼に任意の遺伝子を過剰に発現させ、複眼がつぶれる系統を選別しました (図 2)。細胞死が誘導されればその組織は失われると考えられるため、この系統中には、細胞死を誘導する遺伝子を過剰に発現しているものが含まれているはずですが、今回、この大規模なスクリーニングによって同定された遺伝子が、無脊椎動物では初めての TNF ファミリー遺伝子「Eiger (アイガー)」です (図 3)。

Eiger には、たんぱく質の C 末端側に 3 両体形成に必要なモチーフがあり、N 末端側には膜貫通領域を持っていることから、TNF ファミリーとの間に高い共通性を持っています。Eiger をショウジョウバエ複眼の原基に発現させると、アポトーシスが誘導されます。その結果として成虫の複眼は、つぶれてしまいます。細胞死に関与すると考えられる他の遺伝子に変異を持ったショウジョウバエ個体とかけ合わせることで、Eiger の機能に関与する遺伝的なカスケードを推測することができます。この実験の結果、Eiger による細胞死には細胞がストレスにさらされたときに活性化するキナーゼ^{*1}(JNK)が関与していることが明らかになりました (図 4)。また、実際に Eiger を複眼で発現させると JNK の活性化がみられました。さらに、Eiger の遺伝子に変異を持ったショウジョウバエを作出したところ、複眼での JNK の活性が低下していることが分かりました。

Eiger を複眼で発現させるとアポトーシスに似た細胞死が観察されます。線虫から哺乳類までアポトーシスに共通したメディエーター^{*2}として、タンパク質分解酵素の一種であるカスパーゼが関与することが知られています。そこで、カスパーゼ活性を抑制する遺伝子を同時に発現させましたが、Eiger による複眼の縮小を直す

ことはできませんでした。このことから、**Eiger**による細胞死は、カスパーゼに依存しない新しいシグナルカスケードを使って実行されていると考えられます。

3. 今後の展開

TNFファミリーは、さまざまな疾患に関与するなど、多くの機能を有するタンパク質です。細胞死研究においては細胞死因子として有名で、線虫の自殺型細胞死に対し、哺乳類でよく見られる他殺型細胞死の引き金を引く分子として詳しく研究されてきました。今回、無脊椎動物であるショウジョウバエから、このファミリー分子が発見されたことによって、細胞死因子による細胞死が進化的に保存されていることが初めて示されました。**Eiger**は、神経系の組織で多く発現されているため、遺伝学的研究に適したショウジョウバエを用いてTNFファミリー分子の神経系での新たな生理機能や細胞死シグナルの研究が発展するものと考えられます。

さらに細胞死の分子機構は、カスパーゼに依存するシグナル伝達として理解され、研究されてきました。しかし、最近になってカスパーゼに依存しない細胞死の存在が明らかになり、神経変性疾患などにおける細胞死ではむしろ後者のシグナルが重要なのではないかと考えられるようになってきています。例えば、神経細胞が変性し、脱落する神経変性疾患の一つ「ポリグルタミン病」は、カスパーゼ非依存的細胞死と深い関わりがあることが知られています。**Eiger**は、カスパーゼに依存しない細胞死を誘導します。**Eiger**の発見によって、これまで研究が遅れていたカスパーゼ非依存的細胞死の遺伝学的な研究を展開できるものと期待されます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター

細胞修復機構研究チーム チームリーダー 三浦 正幸

Tel : 048-467-6945 / Fax : 048-467-6946

脳科学研究推進部 田中 朗彦

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室

嶋田 庸嗣

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

<補足説明>

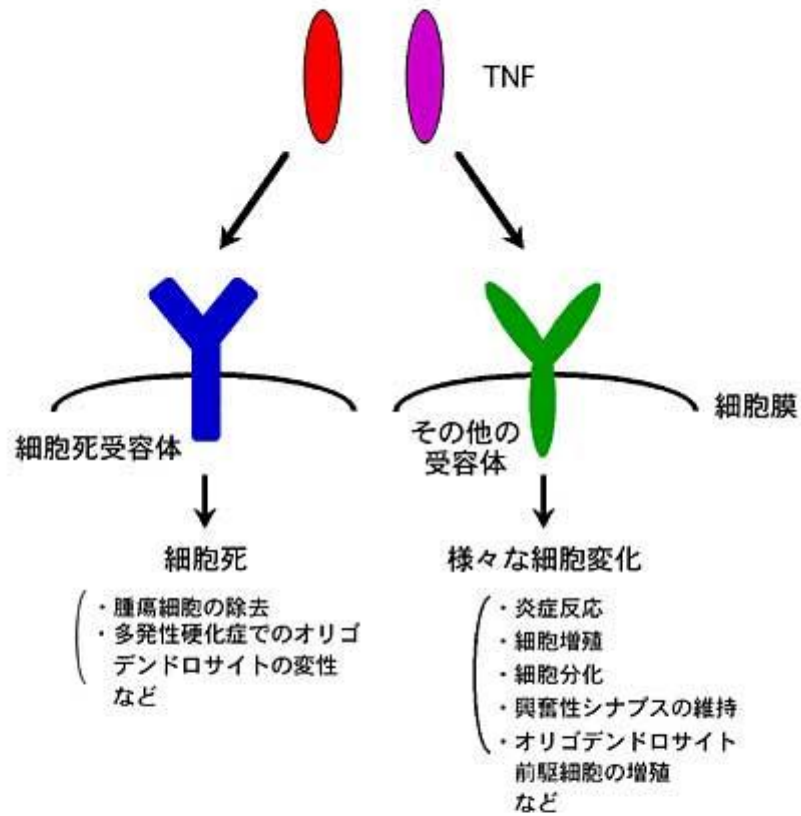
※1 キナーゼ

タンパク質リン酸化酵素のこと。細胞内のシグナル伝達はタンパク質のリン酸化を介して行われることが多く知られている。

※2 メディエーター

細胞死などの生命現象の実行を仲介する分子を示す用語として用いている。

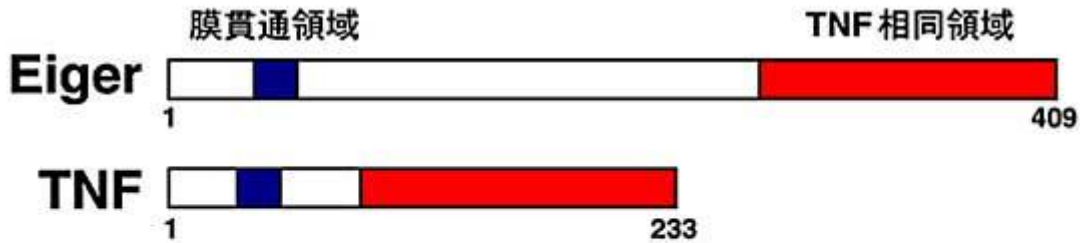
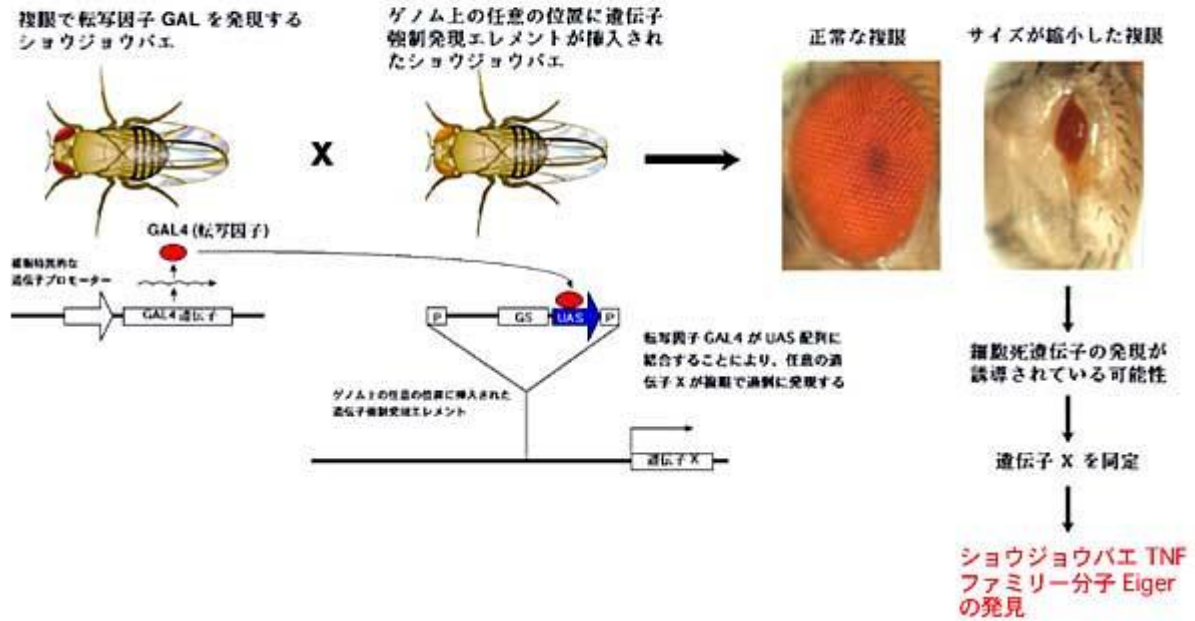
図1 TNFファミリー分子の機能



今回、無脊椎動物から初めて TNF ファミリー分子が発見された

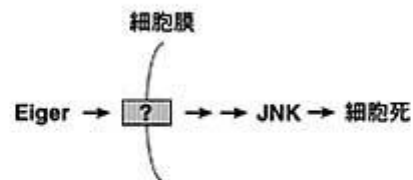
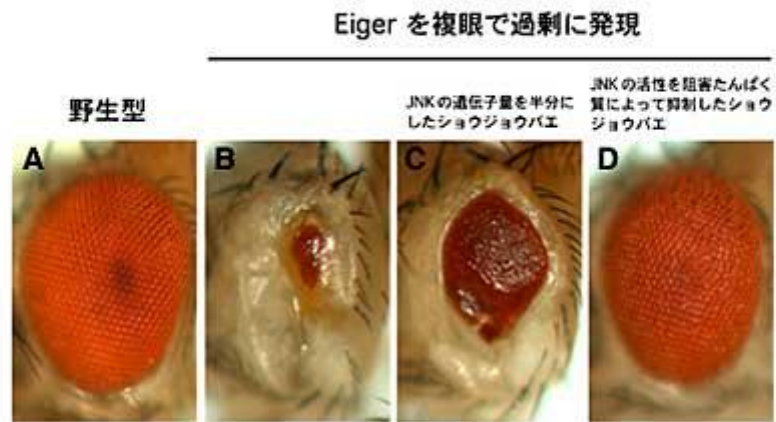
進化的に保存された分子機能の解明につながる発見

図2 ショウジョウバエ遺伝学的スクリーニングによる
TNF ファミリー分子 Eiger の同定



Eiger は 409 個、TNF は 233 個のアミノ酸からなるたんぱく質である。
両者はともに、N 末端側に膜貫通領域を、C 末端側に TNF 相同領域をもつ。

図4 Eiger はストレスキナーゼ (JNK) を介して細胞死を誘導する



Eiger をショウジョウバエ複眼で過剰発現させると、野生型 (A) に比べて複眼サイズが顕著に減少した (B)。このサイズの減少は、JNK の遺伝子量を半分にすることで強く抑制された (C)。また、JNK の阻害たんぱく質によって、完全に抑制された (D)。

図5 本研究の疾患への応用

Eiger による細胞死には、アポトーシスのメディエーターであるカスパーゼが関与しない

多くの神経変性疾患は、カスパーゼ非依存的な細胞死によって起こっていると予想されている

Eiger による細胞死の機構の解明が、神経変性メカニズムの理解につながる