

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成19年度採択分

平成22年4月8日現在

研究課題名（和文）細胞死学の創成：非アポトーシス型細胞死を
中心としたバイオロジー

研究課題名（英文）Integrated study of cell death: Biology
focusing on multiple mechanisms of mammalian cell death.

研究代表者 辻本 賀英 (Tsuji moto Yoshihide)
大阪大学・大学院医学系研究科・教授



推薦の観点：哺乳動物の細胞死の理解には、アポトーシスに加え非アポトーシス型細胞死の理解が必須であり、本研究グループはこの考え方をいち早く提唱したグループの一つであり、またそれらの着実な解析も遂行してきた。

研究の概要：哺乳動物においてプログラム細胞死は、発生期の形態形成や成体組織での新旧細胞の交代など多岐の生命現象に関わっている。また細胞死制御の破綻は、種々の疾患発症の原因にもなっている。これまでの細胞死研究はアポトーシスを中心に行われてきたが、特に近年になり、アポトーシスはプログラム細胞死メカニズムの一つに過ぎないことが示唆され、細胞には複数の非アポトーシス型の細胞死機構が存在することも示され始めている。そこで、哺乳動物における種々の細胞死を包括的に理解するために、本研究では、培養細胞系を利用したアポトーシス機構と非アポトーシス型細胞死機構の解析、およびマウス個体におけるプログラム細胞死機構と病的細胞死機構の解析を行った。その結果、個体内で起こるプログラム細胞死に非アポトーシス型細胞死機構が重要な役割を演じているという成果を始め、以下に記載したような多くの重要な成果を得た。

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：プログラム細胞死, アポトーシス, ネクローシス, オートファジー

1. 研究開始当初の背景

プログラム細胞死は、細胞自身に備わっている機構によって規定される自発的な細胞死であり、形態形成や組織の恒常性の維持など多岐の生命現象に関わっている。また細胞死制御の破綻は、種々の疾患発症の原因になることから、細胞死機構の総合的な理解は基礎研究にとどまらず医学の分野においても注目されている。歴史的にはこの分野はアポトーシス研究として始まり現在成熟期に向かいつつある。しかし近年になり、アポトーシスはプログラム細胞死メカニズムの一つに過ぎないことが示唆され、細胞には複数の非アポトーシス型の細胞死機構が存在することも示され始め、細胞死研究は大きな新しい発展の兆しを見せていた。一方、細胞死制御破綻に起因する疾患を考えても、関与している細胞死機構についての情報は極めて乏しい状況であった。

2. 研究の目的

背景に記載したように、哺乳動物において発

生期の形態形成や成体組織での細胞交代などに関わる生理的プログラム細胞死と疾病の原因となる病的細胞死の機序を理解するには、アポトーシス研究に加え、他の細胞死機構をも含めた細胞の持つ死のメカニズムの全貌を明らかにする必要がある。その目的達成に向け、本研究では、培養細胞系を利用したアポトーシス機構と非アポトーシス型細胞死機構の解析を行うとともにマウス個体におけるプログラム細胞死と病的細胞死の詳細な解析を目指した。

3. 研究の方法

培養細胞系において、アポトーシスあるいは非アポトーシス型細胞死を誘導できる系を確立し、それらの分子機構を分子細胞生物学的手法により詳細に解析した。また、マウス生体内で起こる形態形成や組織での細胞交代のためのプログラム細胞死を器官培養系なども利用し解析した。

4. これまでの成果

培養細胞を用いた系では、アポトーシス刺激

で惹起されたシグナルが如何にしてミトコンドリアが関与する経路に集約されるかを小胞体ストレスや酸化ストレスにより誘導されるアポトーシス系で詳細な解析を行い一定の成果を得た。また、新規の機構による細胞死系も含め幾つかの非アポトーシス型細胞死系での解析を行うことにより、複数の細胞死機構系でシグナル伝達経路の新規の部分明らかにすると同時に、関与する因子が全く不明であった複数の系でそれぞれの非アポトーシス型細胞死を抑制できる化合物を同定し、これらの細胞死機構の詳細な解析の糸口を作った。また、オートファジー依存的細胞死機構の解析の一つの発展成果として、新規のオートファジー機構を発見し、分子細胞生物学的解析を行うと同時に、赤血球の成熟に関わるなど生物学的意義に関しても重要な情報を得た。

病的細胞死の解析では、低酸素・低グルコースで誘導される細胞死機構に iPLA₂ β が関与することを示してきたが、iPLA₂ β を欠損したマウスの解析から、このマウスがヒトの遺伝性幼児性神経軸索変性症(INAD)のモデルになっていることを発見した。

マウス個体を用いたプログラム細胞死解析では、特に発生期の形態形成(胎盤)と組織の恒常性維持(小腸上皮)に関わるプログラム細胞死を解析し、両系において非アポトーシス型のプログラム細胞死機構が重要な役割を演じていることを明らかにした。小腸系では非アポトーシス型プログラム細胞死を含むプロセスを再現できる器官培養系の確立にも成功し、さらにこのプログラム細胞死を抑制する化合物を同定した。また、個体内で起こる細胞死を可視化する方法も開発した。このように、哺乳動物が有する複数の細胞死機構の解析において、順調かつ大きな進捗を果たした。

5. 今後の計画

少なくとも2つの異なった生理的な場所で、プログラム細胞死に非アポトーシス型細胞死機構が重要な寄与をしているという成果は、プログラム細胞死は概ねアポトーシスで進行するというこれまでのドグマ的な考え方に修正の必要性を喚起するものであり、その重要性から今後は、培養細胞株とマウス個体および組織培養系を用いた非アポトーシス型細胞死機構のメカニズムの解明に焦点を絞った解析を行う。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者は点線)

(1) Ideguchi, K., Shimizu, S., Okumura,

M., Tsujimoto, Y. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition is not involved in neurodegeneration in mnd2 mutant mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* in press

(2) Aikawa, T., Shinzawa, K., Tanaka, N., Tsujimoto, Y. Noxa is necessary for hydrogen peroxide-induced caspase-dependent cell death. *FEBS Letter*, in press

(3) Shimizu, S., Konishi, A., Nishida, Y., Mizuta, T., Nishina, H., Yamamoto, A., Tsujimoto, Y. Involvement of JNK in the regulation of autophagic cell death. *Oncogene* 29: 2070-2082, 2010

(4) Mouri, A., Noda, Y., Shimizu, S., Tsujimoto, Y., Nabeshima, T. The role of cyclophilin D in learning and memory. *Hippocampus*, 20: 293-304, 2010

(5) Nishida, Y., Arakawa, S., Fujitani, K., Yamaguchi, H., Mizuta, T., Kanaseki, T., Komatsu, M., Otsu, K., Tsujimoto, Y., Shimizu, S. Discovery of ATG5/ATG7 independent alternate macroautophagy. *Nature* 461: 654-658, 2009

(6) Yamagata, H., Shimizu, S., Nishida, Y., Watanabe, Y., Craigen, W. J., Tsujimoto, Y. Requirement of voltage-dependent anion channel 2 for pro-apoptotic activity of Bax. *Oncogene* 28: 3563-3572, 2009

(7) Aoto, M., Shinzawa, K., Suzuki, Y., Ohkubo, N., Mitsuda, N., Tsujimoto, Y. Essential role of p38 MAPK in caspase-independent, iPLA₂-dependent cell death under hypoxia/low glucose conditions. *FEBS letter* 583: 1611-1618, 2009

(8) Shinzawa, K., Sumi, H., Ikawa, M., Matsuoka, Y., Okabe, M., Sakoda, S., Tsujimoto, Y. Neuroaxonal dystrophy caused by group VIA phospholipase A₂ deficiency in mice: a model of human neurodegenerative disease. *J. Neurosci.* 28: 2212-2220, 2008

(9) Mizuta, K., Shimizu, S., Matsuoka, Y., Nakagawa, T., Tsujimoto, Y. A Bax/Bak-independent mechanism of cytochrome c release. *J. Biol. Chem.* 282: 16623-16630, 2007

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gene/www/index.html>