

二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月6日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]

京都大学・医学研究科

[職・氏名]

教授・藤田恭之

[課題番号]

JPJSBP 120215703

1. 事業名 相手国: 英国 (振興会対応機関: The Royal Society) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 細胞競合の包括的理解を目指して

(英文) Toward the comprehensive understanding of cell competition

3. 共同研究実施期間 2021 年 4 月 1 日 ~ 2023 年 3 月 31 日 (2 年 0 ヶ月)【延長前】 年 月 日 ~ 年 月 日 (年 ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Imperial College London, National Heart and Lung Institute・

Associate Professor・Tristan Rodriguez

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		3800000 円
内訳	1年度目執行経費	1900000 円
	2年度目執行経費	1900000 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	10名
相手国側参加者等	4名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1 年度目	0	0	0 (0)
2 年度目	2	0	1 (0)
3 年度目			()

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。
受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

(研究交流の目的)

正常細胞層中にかん原性変異細胞や機能異常細胞が生じた時、正常細胞が隣接するそれらの異常な細胞の存在を認識し、積極的に排除する細胞競合 (cell competition) という現象が生じることが、最近の申請者らの研究によって明らかになってきた。また細胞競合は、がん化の超初期段階における変異細胞排除や胚発生における優良細胞の選別など、様々な現象に関わっていることも分かってきた。しかし、細胞競合を制御する分子メカニズムについてはまだ多くが謎として残されている。特に、正常細胞と変異細胞がどのように互いの違いを認識しているのかについては、全く明らかになっていない。

本研究では、哺乳類細胞培養系を用いてがんの超初期段階で起こる細胞競合を世界で初めて報告した藤田とマウスの胚発生初期段階で生じる細胞競合現象を発見した Rodriguez が、それぞれの実験系で得られたデータを共有・相互発展させることによって、異なる性質を持った細胞間認識に関わり細胞競合を制御する膜タンパク質の同定および機能解析を目指す。

日本—イギリス間の研究交流においては、日本、イギリス、それぞれの側から若手研究者(学生やポスドク)を相手側の研究室に派遣し、1-3ヶ月の研究プロジェクトを行う。この交換プログラムを通じて若手研究者がさまざまな実験テクニックや知識(日本側では哺乳類培養細胞系、イギリス側ではマウスモデル)を学ぶとともに、国際的センスや文化的差異を習得することが期待できる。また、日本側から派遣する2人の博士課程大学院生は、英語によるコミュニケーションの重要性とともに、自分のおこなっている研究が世界でどのように位置づけできるかを把握することができる。若手研究者の交流を進めることによって、日本—イギリス両国間の協力関係を深化・推進させていくとともに、世界的な視点を持った国際性豊かな若手研究者養成に努める。

(実施状況)

藤田はファージ抗体ディスプレイスクリーニングによって、正常細胞と変異細胞の混合培養条件下で特異的に集積するタンパク質の探索を行った。正常上皮細胞としては、イヌ腎尿管上皮由来の MDCK 細胞、変異細胞株としてテトラサイクリン誘導性がんタンパク質 RasV12 細胞を用いた。RasV12 変異細胞 (敗者)と正常細胞 (勝者)が互いの違いを認識し、その結果細胞競合が生じることは既に報告しており、細胞競合により、変異細胞が排除される現象に関わる分子を同定することを目的としている。ファージ抗体ディスプレイ法は、バクテリオファージのコートタンパク質遺伝子に、抗体の変領域遺伝子を組み込むことで、抗体をファージ表面に提示する手法である。ファージ抗体ライブラリの中から、細胞パニングにより、正常細胞と変異細胞の混合培養下の細胞に特異的に結合活性を持つファージクローンを単離、濃縮した。その結果、正常上皮細胞層から排除された Ras 変異細胞を特異的に認識する抗体を一つ同定することに成功した。上皮細胞層に留まっている変異細胞は認識しないことから、管腔側へ排除された後に変異細胞に生じる何らかの変化を認識していることが考えられた。さらに、同定した抗体を用いて免疫沈降法にて、抗体が直接認識するエピトープ分子を同定したところ、S100A10 というタンパク質であることが明らかとなった。さらに、S100A10 の結合タンパク質として知られている Annexin A2 も A100A10 と同様に、管腔側へ排除された変異細胞において顕著に集積が観察された。さらにタイムラプスを用いた細胞死についての詳細な解析によって、Annexin A2 と S100A10 の集積が管腔側へ排除された変異細胞における ROS への感受性を弱めることによって、アポトーシスを抑制することを見出した。これまで、どのようなメカニズムで管腔側へ逸脱した変異細胞が細胞死を免れるかについては、よく分かっていなかったが、今回の研究によって、細胞競合の敗者となった変異細胞の振る舞いを制御する分子メカニズムが明らか

になった。現在、Rodriguez 研究室において、今回藤田が見出した Annexin A2 と A100A10 の機能が細胞競合マウスモデルにおいても観察することができるか、について検証を始めている。

また、コロナウイルスの感染状況が収束しつつある状況から、2022 年度は研究者の相互派遣を行うことができた。日本側からは、藤田と博士課程大学院生の黒宮が Rodriguez 研究室を訪問した。藤田は、Rodriguez 博士と共同研究の打ち合わせをするとともに、細胞競合研究のイギリスおよびヨーロッパ各国における研究の進展などについて情報収集を行なった。黒宮は、約1ヶ月間滞在し、Rodriguez 研究室が樹立した細胞競合モデルマウスを用いて、胚発生の過程で生じる細胞競合現象解析の技術を習得した。さらに藤田は、英国の他の細胞競合研究グループ (Dr. Charras (University College London); Dr. Tada (University College London); Dr. Piddini (University of Bristol)) を訪問し、最新の研究成果について情報収集するとともに、日本—英国における細胞競合研究者ネットワークを強化した。英国側からは、博士課程大学院生の Shiyu Bian さんが藤田研究室を訪問し、藤田が独自に樹立した培養細胞系を用いて、細胞競合の解析技術の習得に努めた。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

本研究によって、Annexin A2 と S100A10 が管腔側に逸脱した変異細胞に集積することによって、変異細胞のアポトーシスを阻害することが明らかになった。これにより、変異細胞は管腔側で生存が可能となり、上皮の多層化構造の形成を誘起することができる。がん化の初期段階において、多層化形成が生じることはよく知られているが、それを引き起こす分子メカニズムについては、よく分かっていなかった。今回得られた研究成果は、これまでブラックボックスであったがん化の初期に生じるプロセスの解明につながることで期待できる。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学术交流することによって得られた成果)

今回の交流をきっかけに、藤田と Rodriguez 博士の研究室間での共同研究が始まり、データが蓄積しつつある現状から、今後の発展が大いに期待できる。また藤田は、Rodriguez 博士の研究室に加えて、英国の他の細胞競合研究グループ (Dr. Charras (University College London); Dr. Tada (University College London); Dr. Piddini (University of Bristol)) を訪問し、日本—英国における細胞競合研究者ネットワークを強化することができた。実際に、その後も合同研究発表会をオンラインで開催するなど、さらなる交流が促進されている。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

今回得られた研究成果は、前がん病変の本態解明につながるのみならず、将来的には、現在臨床診断・治療の対象外となっている前がん病変に対する新たな診断法や予防的治療法の確立につながることで大いに期待できる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

今回の日本—イギリス間の研究交流において、日本、イギリス、それぞれの側から若手研究者(博士課程大学院生)を相手側の研究室に派遣し、約1ヶ月の研究技術習得を行なった。この交換プログラムを通じて若手研究者がさまざまな実験テクニックや知識(日本側では哺乳類培養細胞系、イギリス側ではマウスモデル)を学ぶとともに、国際的センスや文化的差異を習得することができた。また、日本側から派遣する博士課程大学院生は、英語によるコミュニケーションの重要性とともに、自分のおこなっている研究が世界でどのように位置づけられるかを把握することができた。若手研究者の交流を進めることによって、日本—イギリス両国間の協力関係を深化・推進させていくとともに、世界的な視点を持った国際性豊かな若手研究者の養成に貢献することができたと考えている。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

すでに多くのデータを蓄積できていることから、今後の藤田と Tristan 博士との共同研究のさらなる発展が大いに期待できる。両グループはそれぞれ異なった特徴を有する細胞競合モデルシステムを確立しており、それらを互いに共有・供与することにより、それぞれのプロジェクトに深みと広がりをもたらすことができる。このように複数の実験系を用いて普遍的な細胞競合制御因子を同定する試みは世界的にもなく、独創性は高い。Rodriguez 博士とは、今後、細胞競合の新たな国際シンポジウムを共催することを検討しており、二人が核となって、世界の細胞競合研究のさらなる発展に寄与していきたいと考えている。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など

特記すべきものなし