

# DYING CODE ON LINE NEWSLETTER

細胞死を起点とする  
生体制御ネットワークの解明

ダイングコード・オンライン ニュースレター ● 領域事務局：東京薬科大学 生命科学部 免疫制御学研究室

## CONTENTS

### ① 領域代表者からの挨拶

#### 新学術領域発足にあたって

東京薬科大学生命科学部 田中 正人

### ② キックオフシンポジウムを終えて

#### ダイングコードへの道 ーキックオフシンポジウムを企画してー

東邦大学医学部生化学 中野 裕康

### ③ 若手研究者の海外学会発表記

#### International Symposium on Mechanisms of Innate Immunity, Cell Death and Inflammation に参加して

九州大学生体防御医学研究所  
免疫制御学分野 三宅 靖延

### 見聞録

東京大学大学院薬学系研究科  
遺伝学教室 劉 霆

### ④ 細胞死研究の歴史

#### 細胞死研究の潮流

金沢大学がん進展制御研究所  
免疫炎症制御研究分野 須田 貴司

### ⑤ 動物支援事業の紹介

#### マウス支援事業についての概要

熊本大学生命資源研究・支援センター  
技術開発分野 大村谷 昌樹

### ⑥ 今後の予定

## 新学術領域発足にあたって



東京薬科大学生命科学部

田中 正人

我々が提案する研究課題「細胞死を起点とした生体制御ネットワークの解明」が、本年度の新学術領域に採択され、5年間の研究活動がスタート致しました。細胞死分野の研究領域の立ち上げは、この分野に関わる研究者の悲願であり、多くの方々の長年にわたる献身的な努力が身を結んだことを大変うれしく思います。この場をお借りして、ご協力いただいた先生方に厚くお礼を申し上げます。

本領域の中心テーマは、細胞死に伴って起こる生体応答の解明です。生体の恒常性維持には、細胞の死が重要な役割を担っています。また、様々な疾患では組織傷害に伴って細胞死が誘導され、その結果、組織の機能不全が見られます。これまでの細胞死研究は、これらの細胞死がどのようにして起こるかという細胞死メカニズムの解明を中心に進められてきました。一方で、細胞死が起きた後に、どのような生体応答が起きるのか、それらの応答にどのような分子が関与しているかは未だ明らかになっていません。近年、死にゆく細胞が周囲の細胞にメッセージを発信し、生体応答を制御していることが明らかになりつつあります。本研究領域では、この死細胞からのメッセージをダイニングコードと名付け、その同定と生体内での意義を明らかにし、細胞死後の生体応答の包括的な理解に向けて研究を進めていきたいと考えています。

このダイニングコードの解析を進めていく上で、生体内でどのような細胞死が、いつ、どこで起きているのかを把握することは非常に重要です。近年、プログラム細胞死(分子によって制御される細胞死)には、アポトーシス

以外にも複数の様式があることが分かってきました。これらの非アポトーシス細胞死は、その一部の分子メカニズムが明らかになっているものの、生体内での生理的、病理的意義はほとんど明らかになっていません。本研究領域では、各細胞死様式固有のダイニングコードとその働きを明らかにすることで、最終的に生体内での多様な細胞死の存在意義を明らかにしていきたいと考えています。

領域では、細胞死のみならず、免疫、炎症、修復、再生、ヒト遺伝性疾患を専門とする研究者と、オミックス解析や分子イメージングのエキスパートを組織し、これら研究者間の有機的連携により研究領域全体の発展を目指します。さらに、来年度からの公募研究では、既存の枠にとらわれない意欲ある若手研究者の参加を期待しています。新しい局面を迎えた細胞死研究をさらに発展させるべく、領域メンバー一同、力を合わせて研究を進めていきたいと考えておりますので、ご支援の程、どうぞ宜しくお願い致します。

## ダイイングコードへの道 —キックオフシンポジウムを企画して—



東邦大学医学部生化学  
中野 裕康

まず領域略称の「ダイイングコード」とはダイイング（死につつある）とコード（暗号）を合成した造語で、映画のダビンチコードにヒントを得ています。11月13日に開催されたキックオフシンポジウムは156名という予想以上に大勢の人々に参加していただき、シンポジウムの準備をさせていただいた人間としてはほっとしております。これもひとえに特別講演をしていただきました長田先生をはじめ、座長の労をとっていただいた辻本先生、米原先生、三浦先生、一條先生の御陰とっております。また、会場の設定に尽力していただいた東大薬学部の山口先生や三浦先生の研究室および東大分子生物学研究所の宮島先生の研究室の大学院生の皆様に深謝致します。シンポジウムの当日は領域代表の田中先生の領域の概略説明の後に、8名の計画研究代表者（須田、中野、袖岡、山口、田中正、安友、

山崎、田中稔、以上敬称略）の発表とそれについての熱心な討論がかわされました。また長田先生の特別講演では、本当に重要な研究はまさに小説を読むよりも面白いということを再度認識させていただきました。長田先生の研究には毎回圧倒されますが、少しでもその研究のレベルに迫れるようにこの領域のメンバー全員で頑張っていきたいと決意を新たに致しました。シンポジウムの後の懇親会では米原先生、長田先生、内山先生、太田先生、三浦先生から励ましのお言葉をいただきました。その後懇親会は2次会、3次会まで続き非常に盛り上がったと思っております。

せっかくの機会ですので、この領域立ち上げにいたるいきさつを簡単に説明させていただきます。ご存知の方も多と思われるかもしれませんが日本の細胞死研究はこれまでに国際的に多大の貢献をしてきたにもかかわらず、タン



パク質分解などの研究領域と異なり、特定領域の時代を含めても一度も組織立った領域の構築は行われてきませんでした。そこで、自分たちの研究費の安定的な確保と細胞死研究の領域の立ち上げを目指して有志が集まったのが7年前の京都大学でした。当初の予定では1年目にヒアリングまで行き、2年目での本採択を目指したものの最初の2年間はヒアリングにすら選ばれませんでした。3年目ようやくヒアリングに採択され面接にいったものの、ヒアリングに初めて採択されたということでメンバーの気持ちに油断が生じてしまい不採択でした。その後はヒアリングには採択されるものの、最終採択にはいたらないという事が4年続きました。



その当時は前年度の審査委員に指摘された欠点を修正するために、メンバー数名を変更し領域計画を修正していました。そうすると次年度にはまた別の欠点を指摘されるという事の繰り返しでした。当時の状況を例えるならば、電気のない暗い部屋で大きさのわからない絨毯を部屋の四隅に合うようにしきつめようとしている事に似ていました。私たちは部屋の大きさよりも絨毯は大きいだらうと思っていました。しかし、もし部屋の大きさよりも絨毯が小さいのであれば(つまり私たちの領域計画やこれまでの研究実績が新学術領域の採択にいたる基準以下であれば)、部屋に隙間なく絨毯をしこうするのは永遠に無理です。私たちの試行錯誤の間に私たちよりも後から領域を立ち上げようとした人たちが次々と採

択されて行きました。もしかしたら細胞死に関する領域は少なくとも現在参加しているメンバーの実力では、ヒアリングまでは行っても最終採択にはならないレベルかもしれないと悩みました。領域を立ち上げた人たちからは「3年連続で落ちてでも同じ領域を立ち上げようとしているのは、先生たちのグループしかいない」と言われたこともありました。今から思うとここまでこの領域の立ち上げに執着してこれたのは、領域代表の田中正人先生をはじめとして、領域の立ち上げを支援していただいた諸先生方の御陰とっております。今年の審査委員の方の中には、7年間も継続して領域の立ち上げを企画しているグループだから、いいかげんに採択してあげようという意見があったのかもしれませんが。今回の経験から個人的には「折れない心」と「忘れることの大切さ」(つまり何度失敗しても落胆せずに、落胆したことを忘れて自分の信じる事に邁進すること)を再度認識する事ができました。

今後はこの領域の活動を通して、細胞死研究にたずさわる若手研究者の育成や、日本の細胞死研究をさらに発展させるために微力ながら貢献できたらと思っておりますので、よろしくお願ひ致します。



## International Symposium on Mechanisms of Innate Immunity, Cell Death and Inflammation に参加して



九州大学生体防御医学研究所  
免疫制御学分野

三宅 靖延

ベルギーのアントワープで開催されたInternational Symposium on Mechanisms of Innate Immunity, Cell Death and Inflammationに参加してきました。当シンポジウムは、ベルギー国内の大学を中心とした若手研究者の教育・育成支援プログラムFlemish Training Network Life Sciencesの一貫として行なわれたため、多くの学生は参加費が免除されており、近隣諸国を含め多くの若手研究者が参加していました。また、当シンポジウムは細胞死、特にネクロプトーシスの研究で著名なアントワープ大学のPeter Vandenabeele教授を中心として企画運営されたため、細胞死のメカニズム、細胞死に関連した炎症、疾患に関する発表が多く、新学術領域“ダイニングコード”のコンセプトと極めて近いシンポジウムだと感じました。また、いい意味でaggressiveな議論が展開され、熱いシンポジウムでした。特に、今年Natureに連報で発表された腸間上皮細胞特異的RIPK1欠損マウスのフェノタイプの違いをめぐって発表グループであるPeter一派とManolis一派が、激しいながらも建設的な議論を繰り返していたのは印象的でした。私自身は、死細胞や結核菌を認識するC型レクチン受容体Mincleのタンパク質レベルでの安定性が、Mincleの相同分子であるMCLにより担われているという内容の発表

を行ないました。MCL欠損マウスではMincleの発現が減弱し、逆にMCL過剰発現マウスではMincleの発現が亢進します。それによりMincleの結核菌リガンドに対する反応性が、MCL欠損マウスでは減弱し、MCL過剰発現マウスでは亢進しており、MCLがMincleの発現制御を介して機能的な制御をしていることを明らかにしました。当シンポジウムの性質上、Mincleの死細胞認識におけるMCLの役割に関する質問を多く受けました。現在のところ、MCLに関する研究はMincleの結核菌認識に対する影響しか検討していないため、今後は死細胞認識に対する影響も検討する必要があると感じました。最後になりましたが、本シンポジウムへの参加をご支援くださいました新学術領域ダイニングコードのメンバーの皆様に感謝致します。

## 見聞録



東京大学大学院薬学系研究科  
遺伝学教室

劉 堯

私は、新学術領域若手海外派遣のプログラムにより平成26年9月24日から平成26年9月28日まで、ベルギー・ゲント・ゲント大学で開催されたThe International Symposium on Mechanisms of Innate Immunity, Cell Death and Inflammation (ICDI symposium)に参加し、「Live-imaging of caspase-1 activation reveals an all-or-none response of inflammasome signaling」という題目で口頭発表を行った。本シンポジウムは、主催者であり近年注目を集めているプログラムされたネクロトーシス (necroptosis)の発見に大きく貢献したDr. Peter Vandenabeeleをはじめ、多くの細胞死研究の権威が参加した非常に「濃厚な」会であった。

システインプロテアーゼであるcaspase-1は、マクロファージなどの免疫細胞内で様々なストレスに応答するinflammasomeと呼ばれるタンパク質複合体内で活性化される。活性化したcaspase-1は、IL-1 $\beta$ やIL-18といった炎症性サイトカインの成熟・分泌、あるいは炎症性細胞死を誘導する。IL-1 $\beta$ は感染防御や組織傷害に対する免疫応答で重要な役割を果たすが、その異常な分泌は自己炎症疾患やがん、糖尿病など多くの慢性炎症疾患の病態に関与することが知られている。これまでの研究では、技術的な限界により多くの細胞や組織を用いた集団としての反応を検出するに留まっていたため、単一細胞レベルで inflammasome-caspase-1経路がどのように制御されるかはほとんどわかっていなかった。私たちは、caspase-1の活性化をリアルタイムにかつ単一細胞レベルで検出するプローブを用いたライ

ブイメージングによってこの問題に取り組んだ。口頭発表では、ライブイメージング結果を中心に、caspase-1活性化が単一細胞レベルでは全か無かのデジタルな様式で制御されること、そしてこの活性化によりIL-1 $\beta$ 分泌もデジタルに引き起こされることをtake home messageとして発表した。発表後は多くの質問やアドバイスを頂くことができ、インパクトの大きい発表ができたのではないかと考えている。また、多くの最先端の研究発表を拝聴することで、自分の視野を広げることが出来たため非常に有意義なシンポジウムであった。

今回のシンポジウム参加は、私自身初の海外渡航であり不安だらけであったが、大きなトラブルもなく無事に帰国することができ正直ホッとしている。ゲントは、中世ヨーロッパの建築物と花に溢れ、ゆったりとした雰囲気漂う非常に素敵な都市だった。中心地であるレイエ川兩岸には特徴的なギルドハウスが建ち並び、夜になると至る所がライトアップされ、幻想的な風景が広がる。食事はパンが中心で(ヨーロッパではどこでもそうでしょうが)、白米好きの私としては少し物足りないと感じたが、郷土料理であるワートルゾーイ(鶏肉あるいは魚介をつかい、ジャガイモなどの野菜と一緒に煮込んだあっさりシチューのようなもの)は非常においしかった。また、宿泊した民宿のオーナーさんは、非常にフレンドリーでまた宿泊したいと思えるような素敵な方だった。

最後に、このように貴重な機会を与えて頂いた新学術領域若手海外派遣プログラムの支援に感謝申し上げます。

## 細胞死研究の潮流

本新学術領域では、死細胞が発する生体制御シグナル=ダイニングコードとその機能に関する研究を縦軸に、多様な細胞の死に方に関する研究を横軸にして研究が展開される。細胞死研究の歴史の中では、当然、細胞の死に方の研究が先行してきた。ダイニングコードの研究としてはアポトーシス細胞が他の細胞による貪食を誘発するために発するeat-me signalやネクローシス細胞が放出する炎症誘導シグナルAlarminの研究、最近では死細胞が周囲の細胞の代償性増殖を促すシグナルの研究などが挙げられる。しかし、与えられたスペースでこれらの研究の全てについて言及するのは難しいので、今回は細胞の死に方に関する研究についてこれまでの流れを振り返ってみる。それでも、重要な研究を網羅することは難しく、極一部の研究にしか言及できないことをお許しいただきたい。

我々の体は一個の受精卵に始まり、成人では総数約60兆個といわれる上皮細胞、筋細胞、神経細胞、血液細胞など多種多様な細胞から構成されている。したがって、細胞の増殖や分化が極めて重要な生命現象であることは明らかである。当然、細胞は生きて、増殖して、分化するように作られていると考えられていた。逆に、細胞の死は非生理的な現象と考えられ、長く生命科学の研究対象とならなかった。

細胞死が生理的な現象として最初に注目されたのは、恐らく個体発生の過程で特定の時期に特定の細



金沢大学がん進展制御研究所  
免疫炎症制御研究分野

須田 貴司

胞が遺伝的にプログラムされた様式で死ぬ現象、すなわちプログラム細胞死(注1)の発見によるものだろう。1842年には既にVogtによってオタマジャクシの発生過程で見られるプログラム細胞死が観察されていた。しかし、プログラム細胞死が研究の対象として認識されるのは、カイコの変態のときに見られるエクダイソン依存性の細胞死に関する1964年のLockshin & Williamsの研究を待つことになる。1965年には、Kerrにより電子顕微鏡を用いたラット虚血肝傷害におけるshrinkage necrosis(今で言うアポトーシス)の観察がなされ、1972年にはKerr, Currie, Wyllieらによってアポトーシスのコンセプトが確立された。

1976年からSulstonとHorvitzらによる線虫を用いたアポトーシスの遺伝学的な解析に関する論文が登場する。この研究は、1993~4年の線虫のカスパーゼCed-3やBcl-2ファミリー蛋白Ced-9の同定へとつながり、アポトーシス、特に内因性経路の分子機構の解明の一つの潮流となっていく。特に後者は、ヒトのB細胞リンパ腫のがん遺伝子産物として辻本らにより発見されたBcl-2がアポトーシス抑制因子であることが既に報告されていたため、ヒトと線虫のアポトーシスの基本的な分子機構が共通であることを示した。そして、一連の研究がSulston, Horvitzと線虫をモデル生物として確立したBrennerに2002年のノーベル生理学医学賞をもたらしたことは記憶に新しい。

一方、1989年に米原らは細胞死を誘導する“奇妙”なモノクローナル抗体(抗Fas抗体)を樹立した。1991年には長田らはこの抗体が認識する抗原、すなわちFasの遺伝子をクローニングし、この分子がTNF受容体に似た細胞表面蛋白であり、抗Fas抗体がFasに結合することによって誘導される細胞死はアポトーシスであることが示された。同じ頃、TNFもアポトーシスを誘導しうることが見出されている。TNF受容体との類似性から、Fasは何らかのアポトーシス誘導因子(デス因子)に対する受容体(デス受容体)であることが予想されたが、長田研で著者らはFasリガンドの精製とクローニングに成功した。これらの発見をきっかけに、脊椎動物にのみ存在する第二のアポトーシス経路、すなわちデス因子-デス受容体を介するアポトーシスの外因性経路が明らかにされていくことになる。

昆虫の変態のときに見られるプログラム細胞死はアポトーシスとは異なり、オートファジーを伴う細胞死であることが知られていたが、1990年代にアポトーシス研究が隆盛となったことで、昆虫細胞を研究材料に用いない研究者の間では、一時はプログラム細胞死とアポトーシスがほぼ同義語のように扱われていた。しかし2000年代に入り、アポトーシス研究の勢いが一段落してくると、非アポトーシス様プログラム細胞死に光があてられるようになってきた。中でも、細菌感染によるマクロファージのプログラム細胞死として発見されたパイロトーシスやTNFなどのデス因子で誘導されるカスパーゼ非依存性細胞死として発見されたネクロトーシスは、分子機構や生理的・病理的役割の解明が進みつつあり、近年注目を集めている。他にも様々な非アポトーシス様プログラム細胞死が提唱されているが、それらの多くは未だ分子機構や生理的・病理的役割の解明が不十分で、今

後の研究の発展が期待されている。

注1 最近では、「細胞の自爆プログラムの発動による細胞死」という程度の広い意味でプログラム細胞死という用語が用いられている。本文でも後半ではこの用語を広い意味で用いている。



## マウス支援事業についての概要



熊本大学生命資源研究・支援センター  
技術開発分野

大村谷 昌樹

総括班支援の一つに遺伝子改変マウスの作製と凍結胚の保存、供給があります。これは、本領域内で用いる遺伝子改変マウスの新規作製を支援し、班員が保有するマウス情報を共有することで、共同研究を迅速に展開し、有機的連携を深めることが目的です。

熊本大学生命資源研究・支援センターは主に遺伝子改変マウスの作製と凍結胚の保存、供給を中心に活動を行っています。

### 1. マウスバンクについて

班員が保有する細胞死に関連するマウスの情報を共有し、希望するマウスがいる場合、速やかにマウス個体、もしくは凍結胚を供給するシステムです。熊本大学には公開、非公開のバンクがあり(<http://card.medic.kumamoto-u.ac.jp/>)、前者はすでに論文に公表されているマウス、等が該当します。それに対し、非公開バンクは、いわゆるプライベートバンクであり、まだ公表されていないマウス、等が対象です。凍結胚の作製および保存費用は有償ですが、総括班の予算から負担することになっています。

リストにあるマウスを依頼されますと(場合によってはマウス作製者とまずMTAを交わしていただきます)、マウス個体、もしくは凍結胚を熊本大学から供給いたします。ただし、供給に関する費用は依頼者にご負担いただきます。マウスのリストは領域HPに掲載しておりますので、ご参照下さい。

### 2. 遺伝子改変マウスの作製

もう一つの支援として、遺伝子改変マウスの作製を行っています。これまでの相同組換えを用いた遺伝子

改変マウスの作製は約1~2年を要していましたが、近年のゲノム編集技術、特にCRISPR/Casの登場によって、全身KOマウス、ノックインマウスが短時間に効率よく作製できるようになりました。また、私たちは現在、floxマウスの作製にも取り組んでいます。

①全身KOマウス: 依頼者と標的配列を決定すれば、あとはマウスの作製まで行います。ES細胞、または受精卵にベクターを導入し、マウスを作製しますので、ESを介する場合はES細胞由来のDNA、受精卵を介する場合は産子の尻尾由来のDNAからスクリーニングを(依頼者が)行って下さい。

②ノックインマウス: ES細胞を介した相同組換え法+CRISPR/Casで行います。ターゲティングベクターの作製は依頼者に行っていただきますが、CRISPR/Casを用いることで、相同領域は約1kbで多くの場合、相同組換えが起きることを確認しています。必要なカセットはご相談下さい。

③コンディショナルノックアウトマウス: 現在、私たちも取り組んでいるところですが、基本的に、上記②のノックインマウス作製と同じ方法で行っています。こちらも必要なベクター等についてはご相談下さい。

基本的には、ベクターの作製とスクリーニングは依頼者をお願いしておりますが、これまでにご経験がない方もおられますので、その際にご相談いただきたいと思います。



## 今後の予定

### 領域関連の行事

第一回領域班会議(熱海)

2015年6月27～28日

WEHI/Dying code symposium (Australia)

2015年10月21～23日

若手ワークショップ

2016年1～3月頃開催予定

---

### 細胞死関連の会議

15th International Conference Tumor Necrosis Factor  
(Ghent, Belgium)

2015年5月20～23日

第24回日本Cell Death学会学術集会(大阪大学会館)

2015年7月11～12日