



細胞死を起点とする生体制御ネットワークの解明

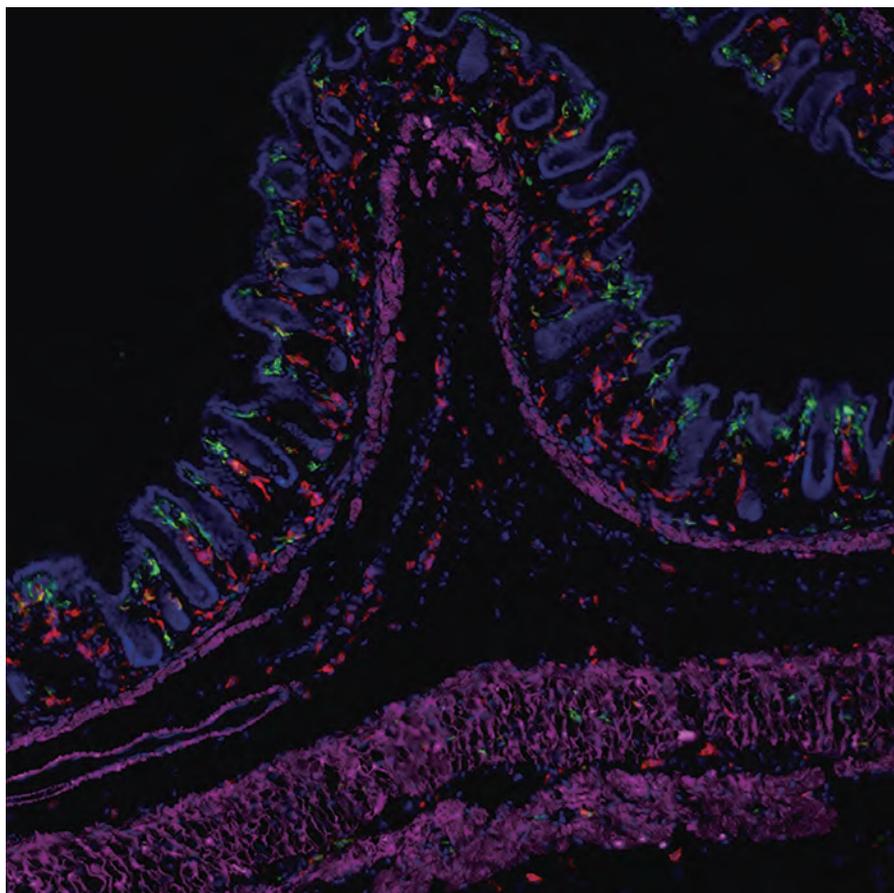
# NEWS LETTER DYING CODE

2016  
March

vol.2

新学術領域研究  
ダイニングコード：細胞死を起点とする  
生体制御ネットワークの解明  
ダイニングコード ニュースレター Vol.2  
発行日:2016年3月

ダイニングコード 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



“Dying Code” Regulates Various Biological Responses

## 領域代表挨拶

### 第2号ニュースレター発刊に寄せて

東京薬科大学・生命科学部 田中 正人 ..... 1

## 領域に期待すること

### 新学術領域「ダイニングコード」に期待すること

東京大学・大学院薬学系研究科 三浦 正幸 ..... 2

## 細胞死研究の歴史

### ネクロプトーシス—現状と今後解明すべき問題点について—

東邦大学・医学部 医学科 中野 裕康 ..... 3

## 班員紹介

計画班 A 01 ..... 5

公募班 A 01 ..... 10

計画班 A 02 ..... 18

公募班 A 02 ..... 22

## 領域内で得られた論文成果

### CD169マクロファージの産生する CCL8が炎症性単球を動員し、消化管の炎症を増悪する

東京薬科大学・生命科学部 浅野 謙一 ..... 35

## 国際化への取り組み

### JAMON Cell Death 2015

九州大学・生体防御医学研究所 山崎 晶 ..... 36

## 若手の発表支援

### JAMON Cell Death 2015

千葉大学・大学院医学研究院・医学部 武村 直紀 ..... 37

### Japan Australia meeting on Cell death に参加して

東京大学・大学院理学系研究科・生物科学専攻 白崎 善隆 ..... 38

### The 1st Asian Conference on Chemosensors and Imaging Probes

#### (Asian - ChIP 2015) に参加して

東京工業大学・資源科学研究所 佐藤 伸一 ..... 39

## 支援について

### 電子顕微鏡支援事業について

東京医科歯科大学・難治疾患研究所 荒川 聡子 ..... 40

### メタボローム解析支援事業についての概要

理化学研究所・環境資源科学研究センター／山形大学・農学部 及川 彰 ..... 41

## アウトリーチ活動

### 理化学研究所 和光地区一般公開におけるアウトリーチ活動

理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室 闌闌 孝介 ..... 42

## 今後の会議・学会予定

## 研究班員一覧

計画班 ..... 44

公募班 ..... 45

## 第2号ニューズレター発刊に寄せて

東京薬科大学・生命科学部 田中正人



新学術領域“ダイニングコード”は5年計画の2年目を迎えました。本年度からは公募班としてあらたに21の研究課題が採択となり、計画研究班と合わせて29班の体制となりました。新学術領域では、各班がそれぞれの研究課題を遂行するとともに、領域内での有機的な連携の構築が求められています。既に6月の班会議で活発な議論が行われ、いくつかの共同研究がスタートしていることと思いますが、今後多くの具体的な成果が示せるよう、共同研究のより一層の推進をお願い申し上げます。

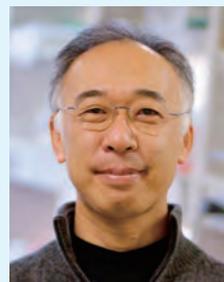
本領域の総括班では、遺伝子改変マウスの作製、抗体作製、電子顕微鏡観察、細胞死関連化合物の提供、低分子化合物のスクリーニング、メタボローム解析といった様々な研究支援を行っております。この研究支援は、単なるアウトソーシングではなく、総括班メンバーとの緊密な連携を意図して行われているものです。計画研究班だけでなく、公募研究班の方々にも積極的に利用していただき、個々の研究では達成できない、相乗的な成果が挙がることを期待しています。

本年度は、多くの学会・研究会のご協力により、班員が企画する細胞死関連のシンポジウムを複数開催することができました。この場をお借りして、関係者の方々に厚くお礼を申し上げます。さらに、10月には John Silke 博士をはじめとするオーストラリア Water and Eliza Hall Institute の細胞死研究者の多大な協力のもと、メルボルンで The 1st Japan Australia Meeting on Cell Death と題した国際シンポジウムを共催する事ができました。領域からは約20名の班員とともに、長田重一先生にもご参加をいただき、ご発表をしていただきました。2日間にわたりオーストラリアの多くの細胞死研究者と交流することができ、今後の細胞死研究分野における国際交流の礎を築くことができました。これに関連して、11月には新学術領域を対象とした科研費国際共同研究加速基金（国際活動支援班）に採択されました。この基金は、新学術領域の国際交流を支援することを目的としたものですが、本領域では、“日豪細胞死研究協議会を核とした細胞死研究国際コミュニティの形成”と題し、オーストラリアの細胞死研究者との交流、共同研究の推進を目指します。既に、いくつかの計画研究および公募班では、先の国際シンポジウムをきっかけとした、共同研究および交流が開始されており、今後は若手研究者の短期・長期の派遣および受入を予定しております。オーストラリアは、細胞死研究の一大中心地であり、我が国の研究者ともよいライバル関係、協力関係を長年続けてきた相手です。本基金の援助により、さらなる研究協力を推進し、国際的な細胞死研究の拠点を築きたいと考えております。5年目に予定されている国際シンポジウムも、日豪の研究者を中心とした企画を検討しているところです。

今後、細胞死研究分野では、アポトーシスの解析に加えて、ネクロプトーシス、パイロトーシス、フェロトーシスといった、新しい細胞死様式に関する研究が一層活発に行われ、さらなる発展が期待されます。本領域がこの分野の世界的な牽引者となる様、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、より一層のご協力、ご支援をお願い致します。

## 新学術領域「ダイニングコード」に期待すること

東京大学・大学院薬学系研究科・遺伝学教室 三浦正幸



アポトーシス研究が非常な盛り上がりを見せた1980年代後半から日本の研究者は細胞死研究に大きな貢献をしてきました。これまで長期に渡ってグループグラントの立ち上げに日本を代表する細胞死研究者の尽力がなされてきましたが、ここに田中正人先生を代表とする新学術領域「ダイニングコード」がスタートしたことを心より嬉しく思います。

今年の European Cell Death Organization (ECDO) conference はジュネーブ大学の J-C. Martinou 先生(Bcl-2の研究者)、B. Galliot 先生(ヒドラ再生の研究者)らが組織して行われましたが、そのキャッチフレーズは「Death pathways and beyond」でした。これは細胞死研究の今を上手く伝えるもので、アポトーシス研究をふまえその次を目指す「ダイニングコード」にも通じます。ECDO conference の懇親会前にジュネーブ大学にある Carl Christoph Vogt 教授の胸像を皆で訪問しました。細胞死という現象が論文に登場した初めはこの Vogt 教授の研究で、1842年に脊索の細胞死をサンバガエルの発生で発見したということでした(ニッケレン、「ミトコンドリアが進化を決めた」)。

脊索は脊椎動物の発生で一過性に出現する神経管の腹部に位置する中胚葉由来の構造で、胚の体軸を支える役割を果たします。この役割を終えると脊索は消失しますが、これは系統進化的に不要になった構造物の除去に関わる細胞死の働きによると考えられてきました。しかし脊索の働きは構造体としての働きに加え、モルフォゲンである sonic hedgehog を分泌し、近傍の神経管に位置情報を与えることが判り、モルフォゲンの発現と細胞死との関連が考えられるようになりました。その後、細胞死とモルフォゲンの発現がヒドラの再生に直接関係することを実験的に示したのは、前述ジュネーブ大学の B. Galliot さんで2009年のことです。

脊索の細胞死は構造そのものが失われる目立った現象ですが、殆どの細胞死は組織の中で散発的にしかおこりません。細胞死研究を難しくしているのは細胞死が見落とされやすい一過性の現象であることがあげられます。Vogt 教授の細胞死記載の後しばらくの間は、細胞死という現象は発生研究者にとって受け入れ難い現象でした。これは発生が次々におこる誘導現象によって新しい組織を作り出すプロセスであって、わざわざ作ったものを取り除くようなことはしないという考えがシュペーマン学派を中心として優勢であったという時代背景に加え、細胞死検出の難しさに原因があることは明らかです。細胞死という現象が受け入れられている現代においても生体での検出が難しい状況は発生や病態での細胞死研究のハードルになっています。しかし一方で、思わぬ所に細胞死がおこっていて大事な働きをしているかも知れないことがこの現象の魅了でもあり探究心をくすぐります。

アポトーシス研究が契機となって、その操作によって発生や疾患への関わりを調べることが可能になってきたと同時に、細胞死様式の多様性、細胞死の積極的な生体機能が浮かび上がってきました。この新たに出現した細胞死の姿は「ダイニングコード」と銘打った新学術領域がまさに対象とする研究です。多様な細胞死の実行メカニズムと、その積極的な生体機能の解明を目指した本領域の研究によって、細胞死の新しい検出法、操作法が開発され、これまで考えてもみなかった細胞死の働きが明らかにされるのではないかと期待が膨らみます。「ダイニングコード」細胞死探検隊の歩みが楽しみです。

# ネクロプトーシス

## —現状と今後解明すべき問題点について—

東邦大学・医学部 医学科・生化学講座 中野 裕康



### 1. はじめに

制御された細胞死としてネクロプトーシスへと至る大筋の分子メカニズムが明らかにされ、ネクロプトーシスとアポトーシスとの相互の関連も含めて多くの謎が解明されつつある。本稿では簡単にネクロプトーシス経路を説明し、さらに現時点でのネクロプトーシスに関して未解決の点について議論したい。

### 2. ネクロプトーシス誘導経路

ネクロプトーシスの本来の定義は、セリンスレオニンキナーゼであるReceptor-interacting protein kinase (RIPK) 1キナーゼの阻害剤である Necrostatin (Nec)-1により阻害されるネクローシス様の細胞死である<sup>1</sup>。しかし、現実的には RIPK1の下流に存在し、ネクロプトーシス誘導に関与する RIPK3や MLKL (詳細は以下を参照) に依存する細胞死 (時には RIPK1非依存性の場合もあるが) を総称して、ネクロプトーシスということも多い。TNF $\alpha$ が受容体に会合しても多くの細胞では細胞死が誘導されない。この場合には複合体Iと呼ばれる転写因子 NF- $\kappa$ B を活性化する複合体が細胞膜上で形成される。複合体Iの形成には直鎖型ユビキチン鎖や K63型ユビキチン鎖などにより様々なアダプター分子、キナーゼ分子、ユビキチン化酵素などが会合してくるが、詳細は NF- $\kappa$ B 活性化の総説を参照されたい。一方でタンパク質合成阻害剤であるシクロヘキシミド存在下で TNF $\alpha$  の刺激を加えた場合には、詳細は不明だが (おそらく cFLIP の発現が低下した結果)、TRADD/FADD/Caspase 8からなる複合体IIaが形成される<sup>2,3</sup> (図1)。一方で、IAP 阻害剤 (BV6など) や NF- $\kappa$ B の活性化が抑制された状況では、RIPK1/RIPK3/FADD/Caspase 8からなる複合体IIbが形成される。複合体IIaや複合体IIbが存在する状況で、さらに zVAD-fmk や cFLIPs などのカスパーゼ8が阻害されると、RIPK1/RIPK3/MLKL と呼ばれるネクロソームが形成され、その結果ネクロプトーシスが誘導されることが明らかにされている。複合体IIaと複合体IIbにより誘導されるアポトーシスの質的な相違は、複合体IIbは RIPK1のキナーゼ阻害剤である Nec-1で阻害できるが、複合体IIaは Nec-1によって阻害されないことである。両複合体ともにカス

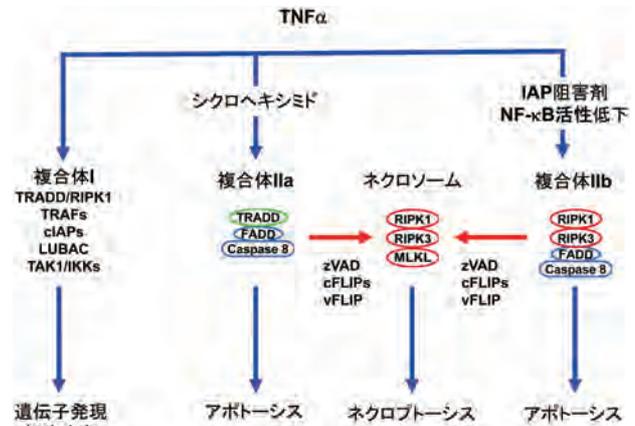


図1. TNF $\alpha$ により誘導される細胞死誘導経路。

多くの細胞では TNF $\alpha$ は細胞死を誘導せず、NF- $\kappa$ Bの活性化に関与する複合体Iを誘導する。TNF $\alpha$ 刺激はシクロヘキシミド存在化では複合体IIaを誘導し、IAP阻害剤やNF- $\kappa$ Bの活性化の障害された細胞では複合体IIbを誘導する。複合体IIaやIIbが zVAD-fmk や cFLIPs などの存在化ではネクロソームが形成される。複合体IIaやIIbはアポトーシスを誘導し、ネクロソームはネクロプトーシスを誘導する。

パーゼ阻害剤である zVAD-fmk 処理により、RIPK3の発現している細胞では、アポトーシスは抑制されるものの、ネクロプトーシスが誘導されることになる。例えば RIPK3の発現していない HeLa 細胞では TNF $\alpha$ +CHX 刺激、あるいは TNF $\alpha$ +BV6刺激による細胞死は、zVAD-fmk で完全に抑制される。しかし、RIPK3の発現している HT29細胞ではいずれの刺激においても zVAD-fmk を投与すると、ネクロプトーシスが誘導され、Nec-1を同時に投与することで、完全に細胞死が抑制される。この現象は、in vivoにおいてどのような状況で複合体IIaが形成され、あるいは複合体IIbが形成されるかについての結論は出ていないが、アポトーシス阻害剤を投与する上での副作用を考慮する点で非常に重要である。

一般的にアポトーシス経路はネクロプトーシス経路を阻害すると考えられ、ネクロプトーシスの誘導にはカスパーゼ阻害剤を併用することが多い。この理由としては Caspase 8と細胞死抑制因子であるlong formのcFLIPがヘテロダイマーを形成することで、ネクロプトーシス誘導に必須の分子である RIPK1や RIPK3、RIPK1を脱

ユビキチン化する酵素であるCylindromatosis (CYLD)の機能を切断することで、不活性化するのではないかと考えられている<sup>2</sup>。

### 3. ネクロプトーシスに関連して今後解明すべき問題点

#### 1) 酸化ストレスはネクロプトーシス誘導に必須か？

ネクロプトーシスという用語が使用されていないものの、最初にネクロプトーシスと思われる細胞死が明確に報告された論文の一つは、Vandenabeeleらの論文と考えられる<sup>4</sup>。L929と呼ばれるマウス線維肉腫をTNF $\alpha$ で刺激すると、ネクロトーシス様の細胞死が誘導された。その細胞死はbutylated hydroxyanisole (BHA)と呼ばれる抗酸化剤により抑制されたが、逆にカスパーゼ阻害剤でさらに促進することを彼らは報告した。我々は全く別のNF- $\kappa$ B欠損細胞を用いた実験から、酸化ストレス依存性に誘導されるネクロトーシス様細胞死を報告している<sup>5</sup>。つまりこれらの実験結果は酸化ストレス（少なくともBHAにより阻害される経路）がTNF $\alpha$ によるネクロプトーシスに必須であることを示している。しかし、その後HT29細胞をTNF $\alpha$ +zVAD-fmk+IAP阻害剤処理により誘導されるネクロプトーシスはBHAでは阻害されないことが報告され、現時点ではBHAでネクロプトーシスの阻害される細胞と阻害されない細胞の2種類が存在すると考えられる。ネクロプトーシスのさらなる理解にはBHAによる抑制効果を含む新たなモデルの構築が必要である。

#### 2) RIPK1のキナーゼ活性に依存しない細胞死抑制機能とは？

RIPK1はそれ自身でデスドメインを持っていることから、一過性に過剰発現させることで効率よくアポトーシスを誘導することが知られている。それにもかかわらず、RIPK1自身をノックアウトしたマウスおよび細胞ではアポトーシスが亢進する。ひと昔前まではRIPK1はTNF $\alpha$ により誘導されるNF- $\kappa$ Bの活性化に必須であることが示されていたが、ここ数年の研究から少なくとも複数の細胞ではNF- $\kappa$ Bの活性化には必要ないことが明らかとなっている。現在、なぜRIPK1自身をノックアウトするとアポトーシスが亢進するかについて様々な議論がなされているが、その理由として、メカニズムは不明だが、RIPK1の欠損によりcFLIPやTRAF2などの細胞死抑制分子がTNF $\alpha$ 刺激により早期に消失するという現象が指摘さ

れている<sup>6,7</sup>。今後そのメカニズムの解明が待たれる。

#### 3) ネクロプトーシス、フェロプトーシス、パイロトーシスにおける細胞膜傷害のメカニズムとその相違点について。

ネクロプトーシスは前述したようにMLKLと呼ばれる分子がリン酸化された結果多量体を形成し、細胞膜にポアを形成することで、細胞死が誘導される。一方で、カスパーゼ11依存性のパイロトーシスはGasdermin Dと呼ばれる分子がカスパーゼ11により切断され、その結果細胞膜に穴を開け、細胞死が誘導される<sup>7</sup>。さらにフェロプトーシスは細胞膜を構成するリン脂質の中の不飽和脂肪酸にヒドロペルオキシドが形成され生じると考えられるが、その最終的なエフェクター分子は明らかとなっていない<sup>8</sup>。このようにいずれのタイプの細胞死も細胞膜を最終的な標的にしており、これらの細胞膜傷害型の細胞死が誘導された結果生じる生体応答は、質的にどのように違いがあり、どれだけ異なった生体応答が誘導されるかについての解明が待たれる。

### 4. 終わりに

制御された細胞死であるネクロプトーシスが分子レベルで定義されて以降、非アポトーシス細胞死研究は飛躍的な進歩をとげつつある。アポトーシスはプログラムされた細胞死であり、かつ発生過程において非常に重要な役割を果たしていると考えられるが、アポトーシス実行因子の遺伝子欠損マウスの表現型は、様々な臓器の形成という観点からすると驚くほど軽度の表現型しか呈さない。事実上におけるミューラー管の消退は、アポトーシス不全マウスでも通常通りに起こる。このように発生過程におけるアポトーシス以外の細胞死研究は、今後の細胞死研究の大きな課題と考えられる。

#### 参考文献

- 1 Degtarev, A. *et al. Nat Chem Biol* 4, 313, (2008).
- 2 Pasparakis, M. *et al. Nature* 517, 311, (2015).
- 3 Nakano, H. *et al. Current Topics Microbiol Immunol* in Press, (2015).
- 4 Vercammen, D. *et al. J Exp Med* 187, 1477, (1998).
- 5 Sakon, S. *et al. EMBO J* 22, 3898, (2003).
- 6 Dannappel, M. *et al. Nature* 513, 90, (2014).
- 7 Kayagaki, N. *et al. Nature* 526, 666, (2015).
- 8 Yang, W. S. *et al. Trends Cell Biol*, (2015).

# パイロトーシスの分子機構と役割

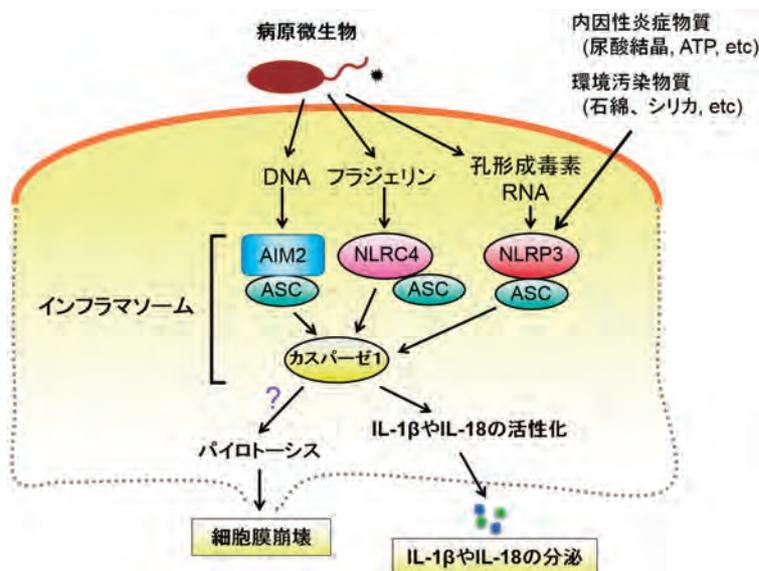
研究代表者：須田 貴司（金沢大学・がん進展制御研究所）



パイロトーシスは細菌やウイルスに感染したマクロファージなどで見られる細胞死である。見かけはネクロトーシスに似ているが、カスパーゼ1と呼ばれる細胞側の蛋白分解酵素の働きによるプログラム細胞死である。AIM2やNLRC4, NLRP3などの細胞質蛋白質が病原体成分や種々の内因性・外因性炎症物質に応答して多量体化すると、アダプター蛋白ASCを介してカスパーゼ1と結合し、インフラマソームと呼ばれる複合体が形成されてカスパーゼ1が活性化される（図）。カスパーゼ1はIL-1 $\beta$ やIL-18などの炎症性サイトカインを不活性な前駆体型から活性のある成熟型に転換する酵素でもあるため、パイロトーシスを起したマクロファージなどはこれらの炎症性サイトカインを放出する。また、パイロトーシスを起した細胞は細胞膜が早期に崩壊する為に、細胞内の様々な炎症誘導物質が放出される。このため、パイロトーシスは炎症誘導性プログラム細胞死といわれている。カスパーゼ11も類似の細胞死を誘導する。最近、これらのカスパーゼがガスダーミンDと呼ばれる細胞質蛋白質を切断する事で細胞死が誘導されることが示された。しかし、ガスダーミンD欠損マウスのマクロファージでもパイロトーシスが起きることから、ガスダーミンD非依存性のパイロトーシス誘導経路も存在すると考えられる。我々はshRNAライブラリーを用いてパイロトーシスシグナル伝達因子（PYSTs）の同定を試みている。この方法で我々が同定しPYST1と名付けた因子はカスパーゼ1と結合する。また、PYST1の既知の阻害剤がパイロトーシスを部分的に阻害することを見出した。これらのことから、PYST1はパイロトーシスの誘導に関わる蛋白である可能性が高いと判断し、解析を進めている。

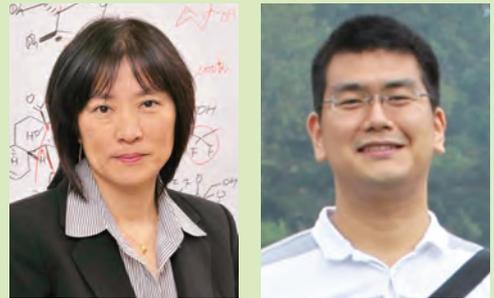
もう一つ精力的に進めている研究は、がん組織を舞台にした細胞死の様式の違いがもたらす生体応答への影響の研究である。我々はカスパーゼ1、カスパーゼ8、カスパーゼ9をそれぞれ誘導性に活性化しうる腫瘍細胞株を樹立した。予想通り、カスパーゼ1を活性化させるとパイロトーシス様の細胞死が誘導され、カスパーゼ8やカスパーゼ9を活性化させるとアポトーシスが誘導された。これらの腫瘍細胞株をマウスに移植して腫瘍を作らせ、腫瘍組織内で各カスパーゼを活性化させて腫瘍を退縮させた場合、細胞死の様式の違

いによって腫瘍免疫の強度に違いが現れるであろうか。また、親株のがん細胞と混合して移植し、一部のがん細胞のみに細胞死を誘導した場合に、生き残ったがん細胞の増殖や転移に違いが見られるであろうか。もし違いが現れたとしたら、その違いは死細胞が放出する生理活性物質（ダイニングコード）の違いで説明できるであろうか。この研究から、このような点を明らかにし、がん治療の観点からより適切な細胞死の誘導法を提案できれば良いと考えている。



# 細胞死制御化合物の開発と応用

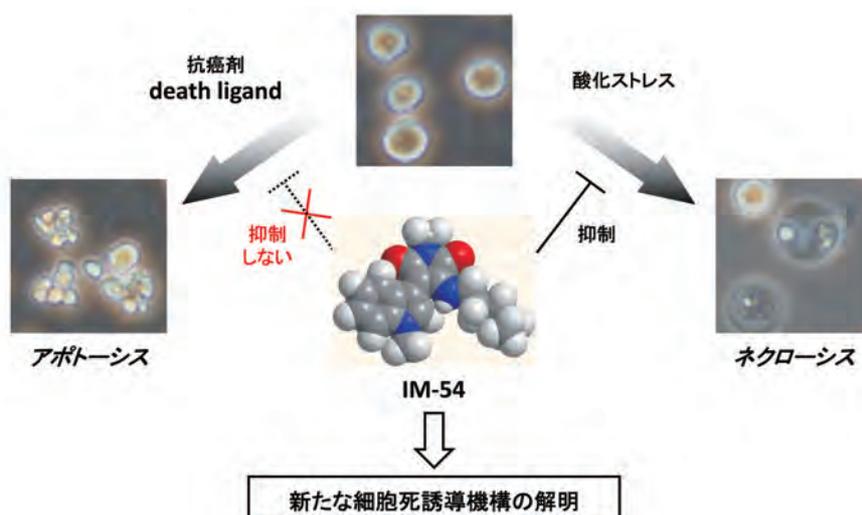
研究代表者：袖岡 幹子（理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室）  
 研究分担者：鬮鬮 孝介（理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室）



従来、生体における細胞死の多くはアポトーシスであると考えられて来た。しかし、最近になって、アポトーシス以外の多様な細胞死の存在が明らかとなっている。中でもネクローシスは外界からの傷害により誘導される偶発的な細胞死として考えられてきたが、最近細胞内の特定の因子により誘導されるメカニズムが見いだされ、「計画的ネクローシス」として生体内で重要な細胞死の一つとして認識されるようになった。しかしながら、その分子的な実体は多くは解明されてきたものの、未解明な部分も残されている。さらに、ネクローシス時に放出される分子群が他の細胞に与える影響は多岐に渡ると考えられ、その生理的・病理的な役割にはいまだ不明な点が多い。

このような背景で我々は、従来キナーゼの阻害剤として知られていたビスインドリルマレイミド (BM) 誘導体 BM-1がキナーゼとは異なる分子に作用して酸化ストレスにより誘導されるネクローシス様の細胞死を抑制することに着目し、新しい細胞死抑制化合物の設計・合成を行った。種々構造展開を行った結果、キナーゼ阻害活性を分離した新規細胞死抑制化合物インドリルマレイミド (IM) 誘導体 IM-54の開発に成功した。IM-54は抗癌剤により誘導されるアポトーシスや Fas リガンドにより誘導されるネクロプトーシスは抑制せず、過酸化水素や t-BuOOH などの酸化ストレスで誘導されるネクローシスを選択的に阻害する。さらに我々は IM-54を用いた評価系により本ネクローシスを選択的に誘導する化合物の探索を行い、種々構造変換を経て本ネクローシスを選択的に誘導できる細胞死誘導剤の開発にも成功している。さらに、これらネクローシス制御化合物の開発で得られた方法論を利用することで、様々な細胞死に対する抑制剤・誘導剤「細胞死制御化合物」の開発研究も進めている。

本研究課題では、これら細胞死制御化合物の開発を進めると同時に、得られた細胞死制御化合物に関してその蛍光プローブ化や結合蛋白質の精製などケミカルバイオロジー研究を進め、そのターゲット分子の同定と作用機序解明を目指す。さらにその過程で様々な細胞死の分子機構を明らかにすることを目的とする。また、細胞レベルでの解析だけではなく、動物レベルでの解析も可能な化合物群の開発も計画し、化合物の物性改善を狙った構造展開も行う。得られた化合物の活性を各種疾患モデルなどで検討し、化合物が制御する細胞死の生体内での生理的・病理的役割を明らかにすることも狙う。



# 計画的ネクローシス誘導マウスの樹立とその生体応答機構の解明

研究代表者：中野 裕康（東邦大学・医学部 医学科）



私たちはこれまで転写因子 NF- $\kappa$ B による細胞死抑制のメカニズムを解析する過程で、Cellular FLICE-inhibitory protein (cFLIP) と呼ばれるカスパーゼ 8 に構造的には類似しているものの、プロテアーゼ活性を持たない分子が、NF- $\kappa$ B による細胞死抑制の中心であるということを明らかにしてきました（EMBO J 2003, 2006）。さらに肝臓、皮膚、腸管上皮細胞特異的な cFLIP 遺伝子欠損マウスを作成することで、この遺伝子がこれらの組織を細胞死から防御することで、組織の恒常性維持に関与していることを明らかにしてきました（Sci Signal 2012）。

一方で、最近の研究から計画的細胞死（あるいは制御された細胞死）には、アポトーシスだけではなく、セリンキナーゼである RIPK1 や RIPK3、またアダプター分子である MLKL と呼ばれるタンパク質依存性に誘導される計画的ネクローシス（別名ネクロプトーシス）が存在することが明らかにされ、精力的に研究されています。cFLIP 遺伝子は選択的スプライシングにより cFLIP<sub>S</sub> と cFLIP<sub>L</sub> の 2 種類のタンパク質が産生されることはわかっていましたが、最近になり cFLIP<sub>L</sub> はアポトーシスもネクロプトーシスの両者を抑制するのに対して、cFLIP<sub>S</sub> はアポトーシスを抑制するものの、ネクロプトーシスを促進することが報告されました。この研究はあくまで in vitro における研究でしたので、in vivo においてネクロプトーシスが誘導された後の生体応答を解析する目的で、cFLIP<sub>S</sub> を発現するトランスジェニックマウスの樹立を試みました。全身性に cFLIP<sub>S</sub> を発現したマウスは胎生致死になる可能性があることから、cFLIP<sub>S</sub> を X 染色体の特定の遺伝子座にノックインするマウスを樹立することに成功しました（分担研究者 熊本大学 大村谷昌樹先生との共同研究）。予想通り♂の cFLIP<sub>S</sub> KI マウスは胎生致死となりましたが、♀の KI マウスは出生し、外見上は異常もなく、妊娠も可能であることが判明しました。胎児の解析から♂および♀ともに腸管上皮細胞（特に小腸）のアポトーシスおよびネクロプトーシスが亢進した結果、♂の KI マウスは胎生致死となっていること、一方で♀の KI マウスは細胞死の程度が軽いため生存し、出生すると考えられました。現在、腸管上皮細胞が死ぬ過程でどのような因子を放出し、個体の生存に対して有利に、あるいは不利に働いているかをトランスクリプトーム解析から二つの遺伝子に絞りこんでおります。またそれらの 2 遺伝子の欠損マウスもすでに樹立できており、現在

cFLIP<sub>S</sub> KI マウスと交配することで、マウスの表現型が増悪するのか、軽減するのかを検討中です。さらに、♂の cFLIP<sub>S</sub> KI マウスで見られた胎生致死がどのようにして実行されているのかを、Ripk3 KO マウス、キナーゼ欠損型 Ripk1 ノックインマウス、Mkl1 KO マウス、Casp8 KO マウスとの交配により遺伝学的に明らかにしていきたいと考えております。このような解析を通して、発生過程における死細胞からどのような因子が放出され、その後生体応答にどのような影響を及ぼしているかを明らかにしていきたいと考えております。

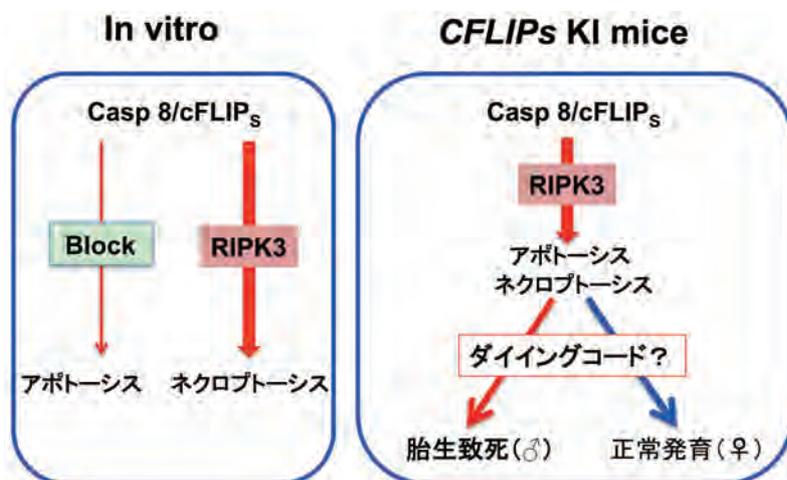


図 1. 細胞死に伴い放出されるダイニングコードが胎生致死の表現型を左右する因子である。

# 慢性膵炎発症過程における ネクロプトーシスの役割



研究分担者：大村谷 昌樹（熊本大学・生命資源研究・支援センター・技術開発分野）

## 慢性膵炎モデルマウスの開発

Serine protease inhibitor, Kazal type 1 (SPINK1) は膵臓から単離された膵内在性のトリプシンインヒビターで、2000年に遺伝性膵炎の原因遺伝子として当時、私が所属していた熊本大学第二外科（現消化器外科）から報告された。そこで、*SPINK1* 遺伝子のマウスホモログ遺伝子 *Spink3* のノックアウトマウスを作製し、解析を行った結果、*Spink3*<sup>-/-</sup> マウスは正常に生まれるが、出生直後に膵臓外分泌細胞（膵腺房細胞）に異常なオートファジー（自食作用）が誘導されること、その結果、1-2日後にはすべての膵腺房細胞が細胞死に陥り、生後すぐに膵外分泌機能不全によりマウスが死亡することを明らかにした。

そのため、*SPINK1* 遺伝子を *Spink3* 欠損マウスに cre-loxP システムを用いて置換し、*SPINK1* ノックインマウスを樹立した (*Spink3*<sup>SPINK1/SPINK1</sup>)。 *Spink3* ノックアウトマウスとの交配により *SPINK1* ヘテロノックインマウス (*Spink3*<sup>-/SPINK1</sup>) を作製し、その解析を行った結果、生後4週齢において、慢性膵炎を発症させることに成功した。このマウスの膵炎発症過程においても、やはりオートファジーに由来する巨大な空胞の出現と、オートファジーの選択的基質である p62タンパクの蓄積が見られた。つまり、SPINK の欠損、および発現低下はオートファジーの異常を引き起こすことで、膵炎を発症するという仮説を実証することが出来た。

さらにこの *Spink3*<sup>-/SPINK1</sup> マウスとプログラムされたネクローシス（ネクロプトーシス）の実行因子である receptor-interacting protein kinase 3 (RIPK3) を欠失させたマウス (*Spink3*<sup>-/SPINK1</sup>;*Ripk3*<sup>-/-</sup>) を作製したところ、慢性炎症が抑制され、膵炎の重症度が軽減した。このことは、膵炎発症過程で見られる、オートファジー不全による細胞死がネクロプトーシスであることを示唆しており、今後の膵炎の治療標的として、研究を進展させる計画である。

## 新しいゲノム編集 TALEN、CRISPR/Cas を用いた遺伝子改変マウス作製の技術開発

近年開発された標的ゲノム部位を特異的に変更する「ゲノム編集」技術 TALEN、CRISPR/Cas をマウス受精卵、ES 細胞に導入し、遺伝子改変マウスを短時間で作製する技術開発を行い、すでに約20系統の遺伝子改変マウスを作出している。今後も新しい技術を取り入れて、遺伝子改変動物作製の効率化を推進していく計画である。

## 遺伝性膵炎、オートファジー不全とネクロプトーシス



# 生体における多様な細胞死シグナルの可視化・検出系の開発

研究代表者：山口 良文（東京大学・大学院薬学系研究科）

研究分担者：荒川 聡子（東京医科歯科大学・難治疾患研究所）

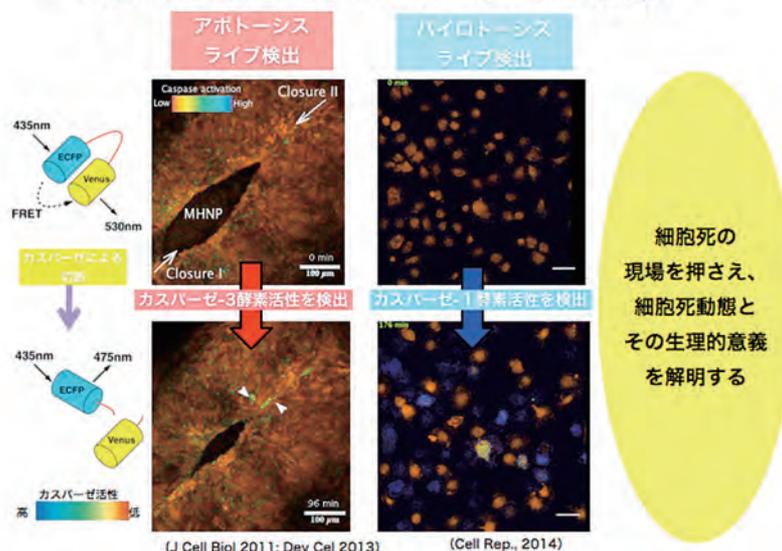


細胞死は、多数の細胞からなる多細胞生物体にとって不可避の現象です。しかし、生体内で死細胞がどのように生じ、周辺細胞に影響を与えるのか、未だ多くの点が不明です。細胞が生まれてから死ぬまで、細胞のライフサイクルを生体内で捉えることができれば、細胞死の生理的意義解明に非常に有用と考えられます。山口は、生体内で生じる細胞死を一細胞レベルでリアルタイムに可視化する蛍光タンパク質プローブを開発してきました。これまでに、発生過程で大量に生じるプログラム細胞死のうち主要なものであるアポトーシスの生体胚での可視化に成功しています。また、アポトーシスと同じくカスパーゼファミリー分子の活性化を伴う、パイロトーシスの可視化プローブの作成にも成功しました。これらのプローブを活用することにより、細胞死の細胞集団における意義や、死ぬ細胞の選別機構等を明らかにしたいと考えています。さらに、これらのプローブに加え細胞死変異体・新規動物モデル等を活用することで、発生発達過程や炎症・組織修復等の成体恒常性維持過程において、細胞死がどのように生じ周辺組織にいかなる影響を与えるのか、その生理的意義の解明を目指しています。

同時に、近年明らかになりつつある多種多様な細胞死の新規検出プローブの作成も、領域内外の各種細胞死の専門家と協力して行っていきます。この点で荒川は、種々の疾患や病態への応用を前提として、生体における細胞死やオートファジーの役割を明らかにする事を目標に研究を行っています。最近、新しい分子機構に基づくオートファジー機構“alternative macroautophagy”の存在を明らかにし(nature 2009)、この機構が胎仔期の赤血球分化過程においてミトコンドリアの除去に機能していることを見出しました(nature commun., 2014)。現在は、新規オートファジーの他に、オートファジー細胞死やアポトーシス以外の細胞死について、遺伝学や生化学的手法と電子顕微鏡による微細構造解析を組み合わせた生理機能解析やケミカルバイオロジーを用いた各細胞死の誘導による抗がん薬の開発を行っています。

以上一連の研究により、生体内におけるアポトーシス・パイロトーシス・新規細胞死の制御機構とその動態、及び生理的意義に迫ります。

## 多様な細胞死のシングルセルライブ検出法開発



# 脂肪肝再生過程での細胞死制御メカニズムの解明



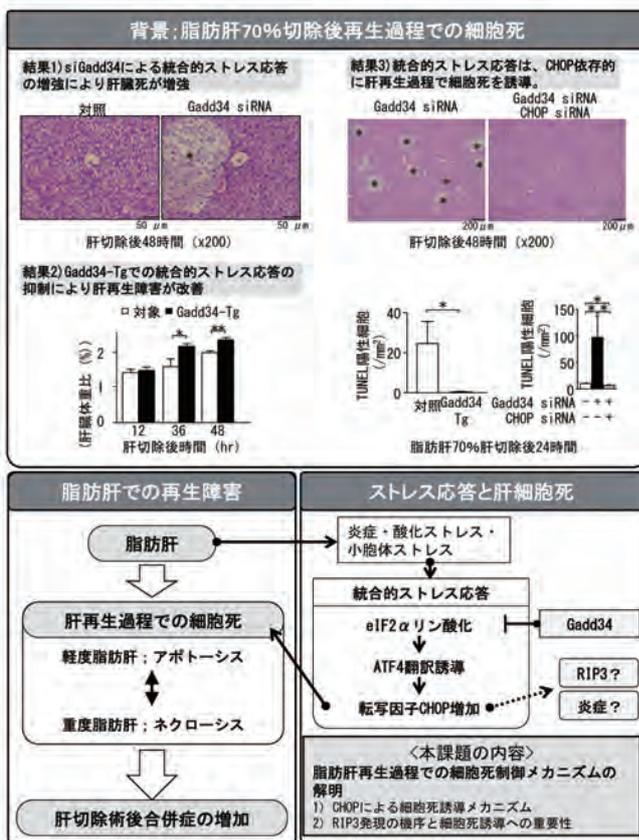
研究代表者：井上 啓（金沢大学・新学術創成研究機構栄養・代謝研究ユニット）

肝臓は強靱な再生能を持ち、70%肝臓切除後に10日ほどで、元の肝重量に再生する。しかし、脂肪肝では、肝臓の再生能は障害されることが知られている。このような脂肪肝の再生障害は、非アルコール性脂肪性肝疾患の進展や肝臓切除術後合併症の発症と密接に関与することが指摘されている。

肝臓の再生過程では、肝細胞増殖のみならず、細胞死も誘導される。脂肪肝再生障害は、再生過程における肝細胞死の亢進が主要病因であり、軽度脂肪肝（30%以下の肝細胞で脂肪滴）では肝再生過程にアポトーシスが亢進し、高度脂肪肝（60%以上の細胞で脂肪滴を見る）ではネクローシスが増加する。我々は、このような脂肪肝の再生過程での細胞死の誘導の違いが、肝細胞における統合的ストレス応答の多寡に依存する可能性を見出している。統合的ストレス応答とは、eIF2 $\alpha$ リン酸化を介した翻訳調節によるストレス応答であり、酸化ストレス・小胞体ストレス・炎症など様々なストレスに共通する生体応答として知られている。我々は、脂肪肝再生過程で、1) 統合的ストレス応答が増強すること、2) 統合的ストレスの軽減により脂肪肝再生過程でのアポトーシスが軽減し、肝再生障害が改善すること、3) 統合的ストレス応答の増強により、肝小葉内に散在するアポトーシスに加え、広範な壊死巣が出現することを明らかにしている（Hepatology, 2015）。また、統合的ストレス応答増強による肝細胞死の増加が転写因子CHOP 依存的であり、肝再生過程での壊死巣の出現と肝臓 TNF $\alpha$ ・RIP3発現が相関する事を見出している。本研究課題では、統合的

ストレス応答に伴う脂肪肝再生過程での細胞死制御メカニズムの解明を目的とし、1) CHOP による細胞死誘導のメカニズム、2) RIP3発現の機序と細胞死誘導における重要性について検討する。軽微な統合的ストレス応答を伴う軽度～中等度脂肪肝では、肝切除後の肝再生過程に肝小葉内に散在する孤発する細胞死を来すが、軽度脂肪肝での Gadd34ノックダウン・高度脂肪肝では、統合的ストレス応答の増強に伴い、肝再生過程において壊死層が出現する。そこで、本研究課題では、統合的ストレス応答の多寡に応じた条件のもとで肝切除下を行い、CHOPノックダウン、TNF $\alpha$  中和抗体、クッパー細胞除去、RIP3ノックダウンなどを併用することで、脂肪肝再生過程における肝細胞死および、その誘導メカニズム、さらには肝細胞増殖への作用を検討する。

本研究で、統合的ストレス応答の多寡により、多様な肝細胞死が選択されるという仕組みとその病態における役割を見出すことは、臓器・個体におけるダイニングコードの意義の解明や非アルコール性脂肪性肝炎や肝臓切除術後合併症の予防・治療へと繋がり、生命科学から臨床医学までの幅広い領域におよぶ新たな学際研究を創造しうるものと期待される。



# 心不全の原因となる脂質酸化依存的新規細胞死の分子メカニズムの解析

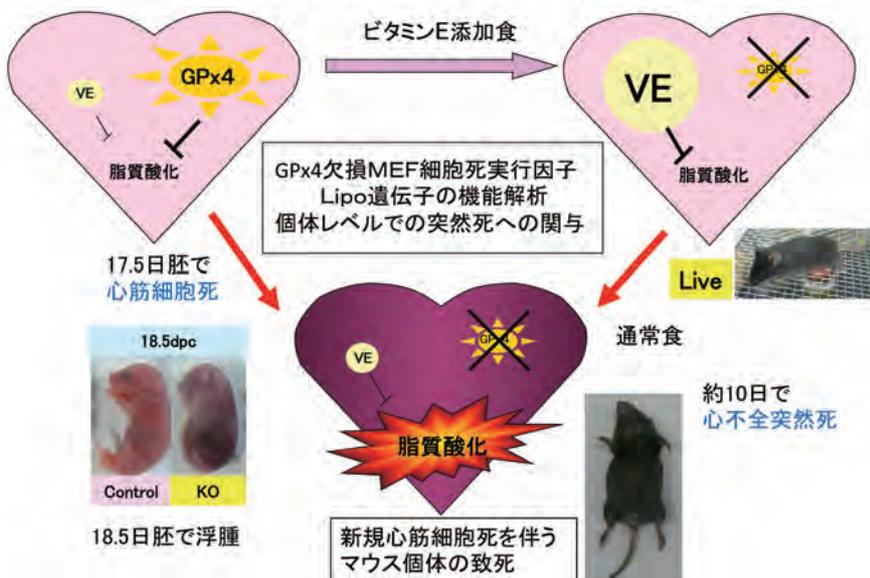


研究代表者：今井 浩孝（北里大学・薬学部）

我々は、これまでに酸化ストレスなどにより生体膜リン脂質に生成したリン脂質ヒドロペルオキシドをグルタチオン依存的に直接還元する酵素、リン脂質ヒドロペルオキシドグルタチオンペルオキシダーゼ(GPx4, PHGPx) の個体レベル、細胞レベルでの機能解析を行ってきた。GPx4を、全身、心臓、肝臓、精巣、網膜などの様々な組織で欠損させると、各組織の正常細胞において脂質酸化依存のカパーゼ非依存的な新規細胞死が誘導され、胎生致死、出産直後死、不妊症や失明など様々な疾患を引き起こすことを報告してきた (JBC. 284, 32522-32532, 2009, JBC. 287, 7675-7682, 2012)。特に心臓特異的 GPx4欠損マウスは胎生17.5日で心臓突然死がおき、個体死が誘導され生まれてこないが、母親にビタミンE 添加食を与えると、心臓突然死は完全に抑制され、正常に生育できる。またビタミンE 添加食で正常に生育した心臓特異的 GPx4欠損マウスを通常食にもどすと、約10日で心臓突然死により個体死が誘導される。この細胞死も脂質酸化依存的新規細胞死である。このように我々の正常細胞は、ビタミンE と GPx4による内在性の脂質酸化の抑制が生存に必須であり、この脂質酸化抑制のバランスの破綻は心不全などの疾患の原因となると考えられるが、この内在性の脂質酸化依存的新規細胞死の分子メカニズムはまだ明らかになっていない。一方で最近、抗がん剤エラスチンなどによる変異 Ras 依存的ながん細胞特異的な細胞死経路において鉄依存性の新規細胞死（フェロトーシス）が報告され (Cell 149, 1060-72, 2012)、GPx4による脂質酸化抑制機能がフェロトーシスの制御因子であることが報告された (Cell 156, 317-31, 2014)。しかし我々は、GPx4欠損による MEF 細胞死の詳細な検討から、GPx4欠損による細胞死が鉄非依存性の脂質酸化依存的新規細胞死であること、細胞死に至る時間経過が抗がん剤エラスチンなどと全く異なることからフェロトーシス様細胞死とよんでいる。本研究では、タモキシフェン誘導型 GPx4欠損 MEF 細胞株を用いた化合物ライブラリーや shRNA ライブラリーのスクリーニング解析から明らかになってきた GPx4欠損細胞死実行因子（Lipo 遺伝子）の機能解析や GPx4欠損による心不全モデルでの Lipo 遺伝子の突然死への寄与などの解析により、GPx4欠損

による脂質酸化依存的新規細胞死の分子メカニズムの全体像を明らかにし、抗がん剤によるフェロトーシスとの関連性や違いについて明らかにすることを目的としている。

## フェロトーシス様新規細胞死の分子メカニズムの解析



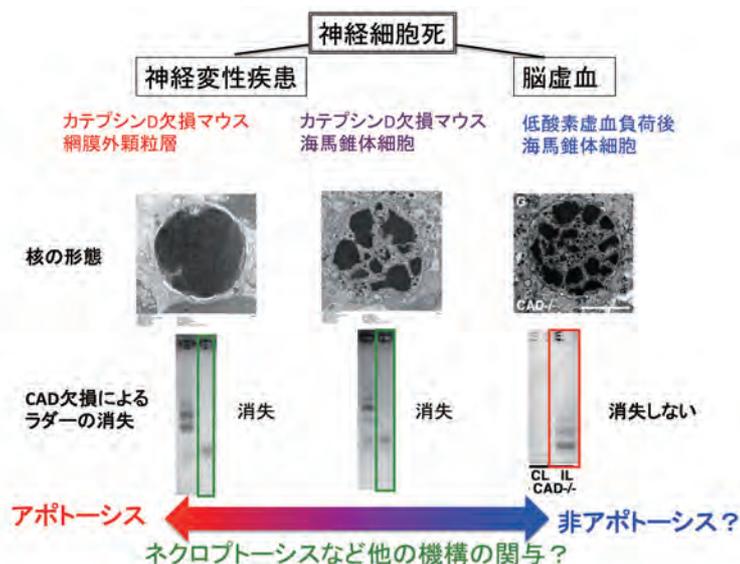
# in vivo の核の分解過程に 着目した新しい細胞死経路の探索

研究代表者：小池 正人（順天堂大学・大学院医学研究科）



私たちはこれまでに、小児の遺伝性の神経変性疾患である神経性セロイドリポスチン蓄積症のモデルマウスのカテプシン D 欠損マウスの中枢神経系・網膜の細胞死 (Nakanishi et al., J.Neurosci. 2001, Koike et al., Mol. Cell Neurosci. 2002)、新生児の低酸素脳症のモデルである新生仔マウスの低酸素-脳虚血負荷後の海馬の神経細胞死の系におけるオートファジーの関与について遺伝学的に検討して参りました (Koike et al., Am. J. Pathol. 2008, Xie et al., Autophagy in press)。核の変化を中心とした形態学的検討ではカテプシン D 欠損マウスの網膜外顆粒層の細胞死のみが典型的なアポトーシスの像を呈する一方、カテプシン D 欠損マウスのその他の神経細胞の細胞死、低酸素-脳虚血負荷後の海馬の神経細胞死では典型的なアポトーシスでは説明できない核の形態を示すことが分かりました。そこで核酸分解酵素 CAD の関与について遺伝学的に検討したところ、カテプシン D 欠損マウスの網膜外顆粒層、中枢神経系の細胞死は CAD 依存的な DNA の断片化を受け一方、低酸素-脳虚血負荷後の海馬の神経細胞死では CAD 非存在下でも DNA の断片化が認められ、核の形態も CAD の有無で変化を認めませんでした。このことは、虚血や神経変性疾患などの病的状態における神経細胞死は、アポトーシスだけでは説明できず多様であることを示しております。そこで、CAD 依存的な DNA の断片化の有無や、近年明らかになってきたネクロトーシスを制御するマウス利用などにより、虚血や神経変性疾患における神経細胞死の機構を明らかにしたいと考えております。

このように in vivo の細胞死の評価には超微形態学的解析が依然有用です。アポトーシスについては in vitro の系において経時的な変化がすでに詳細に記載されており、その結果をもとに評価できますが、ネクロトーシスをはじめとする新たな細胞死については、その経時的な形態的指標についての情報がアポトーシスと比べると少ないのが現状であり、この点についても詳細に検討したいと考えております。具体的には、通常の超微形態観察に加えて、本学において新たに導入した収束イオンビーム搭載型走査電子顕微鏡 (FIB/SEM) を利用して、電顕レベルの三次元立体再構築の系を立ち上げ、各種細胞死における細胞膜、オルガネラを中心とした経時的変化をもとに各々の細胞死を in vivo で同定するための形態学的指標を見出すことを目標とします。



# 活性化へム検出に立脚した 活性酸素誘導性細胞死の評価系開発

研究代表者：佐藤 伸一（東京工業大学・資源化学研究所）



天然のタンパク質は20種類のアミノ酸の組み合わせからなり、特定のタンパク質（抗体や酵素）に機能を持たせるという試みにおいては、タンパク質構造中の特定のアミノ酸残基と共有結合を形成させる手法は必要不可欠である。しかし、従来の精製タンパク質の修飾技術はリシン残基、システイン残基といった求核性のアミノ酸残基に対して求電子性の反応剤で修飾する方法がほとんどであり、利用可能な手法論のバリエーションに乏しい。

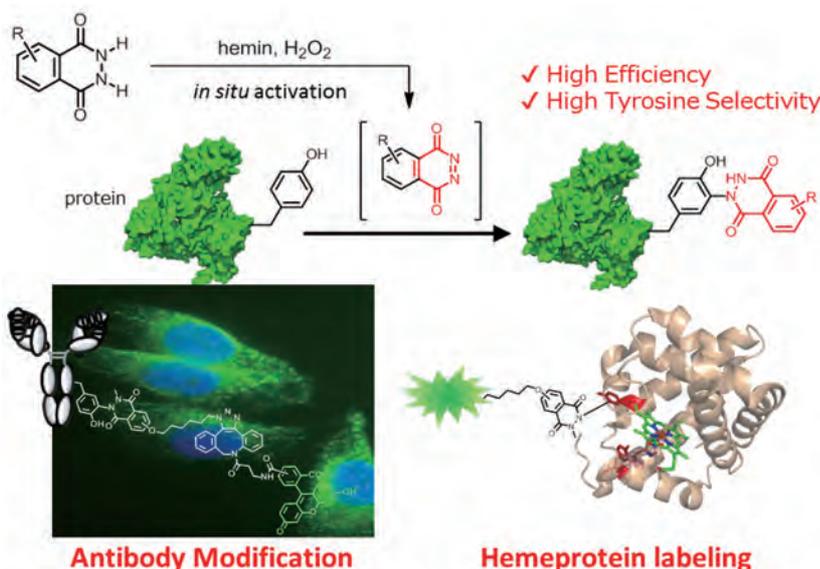
たとえば、生物学の実験で頻繁に用いられているHRP修飾抗体や蛍光プローブ結合抗体もほとんどの場合はタンパク質リシン残基場への共有結合形成に立脚している。実際に抗体医薬開発の分野においてはリシン残基修飾の問題点もいくつか指摘されているが、それに代わる手法論の開発が遅れているのが現状である。

従来の2電子的な反応剤とは別のアプローチとして、1電子的・ラジカル的な手法によりチロシン残基、トリプトファン残基といった芳香族アミノ酸残基の分子修飾法の開発が近年盛んに研究されている。そのような研究背景の中で、今回我々は、タンパク質やペプチドのチロシン残基と特異的に共有結合を形成するbioorthogonalな反応を見出した。チロシン残基はタンパク質表面にも露出するアミノ酸残基であり、タンパク質に任意の機能を付与させる足場としては良い標的であると考えられる。これまでいくつかのチロシン残基修飾法が報告されているが、精製タンパク質のチロシン残基に特異的かつ高い変換効率で共有結合を形成させることは困難な課題であり、信頼性の高いチロシン残基修飾法の開発が望まれる。

血液痕の判定法で用いられるルミノール反応の反応中間体が環状の diazodicarbonyl (CO-N=N-CO) 構造を持つことと、同様の構造を持つ分子がチロシン修飾法に用いられていること (Barbas, C. F. et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2010) に着目して、種々のルミノール誘導とチロシン残基との反応性を鉄ポルフィリン錯体 hemin と過酸化水素の存在下において評価した。その結果、ルミノール誘導体は従来法よりも高いチロシン残基選択性と高い変換効率を示すことを見出した (Sato, S. et al. *ACS Chem. Biol.* 2015)。

本反応は生体の酸化還元に関連が高いへムを特異的な触媒とするという点に着目し、新学術ダイニング

コード公募班員としての研究課題では、近年新しい細胞死分類の一つとして提唱されるフェロトーシス等の酸化ストレス誘導性の細胞死の制御機構解明を目標としている。すなわち、我々の開発するルミノール誘導体プローブによるへムタンパク質検出技術を細胞死誘導刺激時に活性化されるへムタンパク質群の網羅的解析、細胞死の新規評価系開発に活用することを目指している。

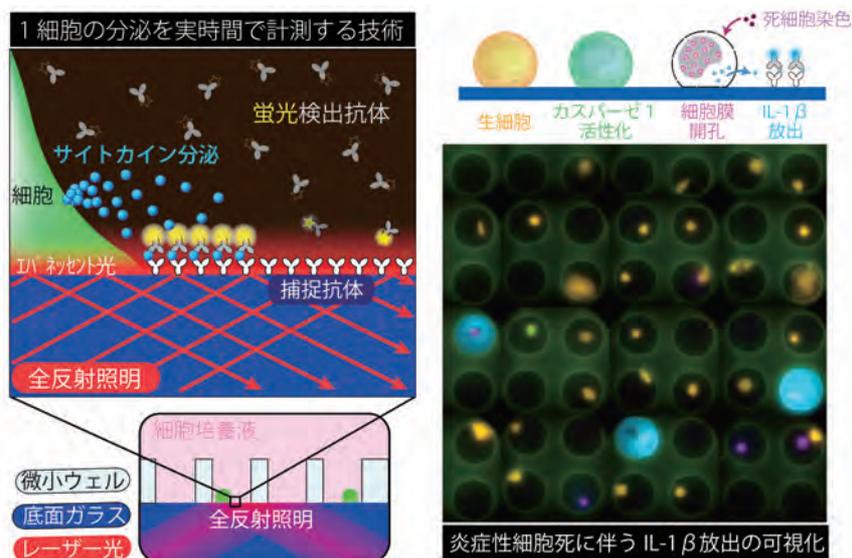


# 細胞死を起点とする ダイニングコード授受の 1細胞実時間イメージング

研究代表者：白崎 善隆（東京大学・大学院理学系研究科・生物科学専攻）



本領域が研究テーマとして据える「ダイニングコード」は、細胞死に伴って細胞から発せられる種々のタンパク質であり、周囲の細胞に何らかの情報を伝達する最期的手段です。私の研究では、この「ダイニングコード」そのものを観察することによって、放出されるメカニズムや放出された後の情報伝達を明らかにしたいと取り組んでいます。私はこれまで1細胞毎の分泌を全反射顕微鏡法により実時間イメージングする手法を開発しました。これを用いた研究により、単一種類の細胞からなる群の個々の細胞からの分泌は量・質・時間的に非常にばらつきを持つことがわかってきました。ダイニングコードの放出も例外ではないと考えられます。実際、ダイニングコードの一つであるIL-1 $\beta$ 放出の現場を直接観察したところ、刺激を受けた細胞がばらばらのタイミングで細胞死を迎え、その一部の死細胞から細胞死直後に瞬間的にかつ大量にIL-1 $\beta$ が放出されることを発見しました。このように、細胞死に伴うダイニングコード放出を1細胞解析することによって、多数の細胞集団の平均化された量では失われてしまう情報に光をあて、直接的に理解することを目指しています。さらに、本研究で用いる方法では、ダイニングコード放出のみならず他のライブセルイメージングと組み合わせることが可能です。細胞の死にゆく現場をダイニングコード放出ならびに他の細胞活性と共に経時観察し、ダイニングコード放出とその他の細胞活性の前後関係を明らかにすることができます。一例として、マウス腹腔マクロファージのインフラマソームの活性化による炎症性細胞死の過程においてCaspase-1の活性化、細胞膜透過性の亢進及びIL-1 $\beta$ 放出が数分のうちに連続して引き起こされる現象を発見しました（東京大学 薬学部 三浦先生、山口先生らとの共同研究）。本研究課題では、IL-1 $\beta$ のみならず、種々のダイニングコード放出の1細胞イメージングを行うことで、一細胞動態解析の立場からダイニングコード発信メカニズムの理解を試みたいと考えています。さらに、ダイニングコードは死にゆく細胞が周囲の細胞に与えるメッセージです。そのメッセージがどのように伝播して細胞集団の応答を規定しているのかを理解することは、基礎研究のみならず臨床研究の分野にとっても重要です。分泌の実時間イメージングを発展させ、細胞間相互作用を保った状態でのダイニングコード放出ならびに周囲の細胞の応答を同時イメージングし、ダイニングコードが起点となって生じる情報伝達の動態を明らかにしたいと考えています。



# 異常レベルに応じた選択的な細胞死誘導

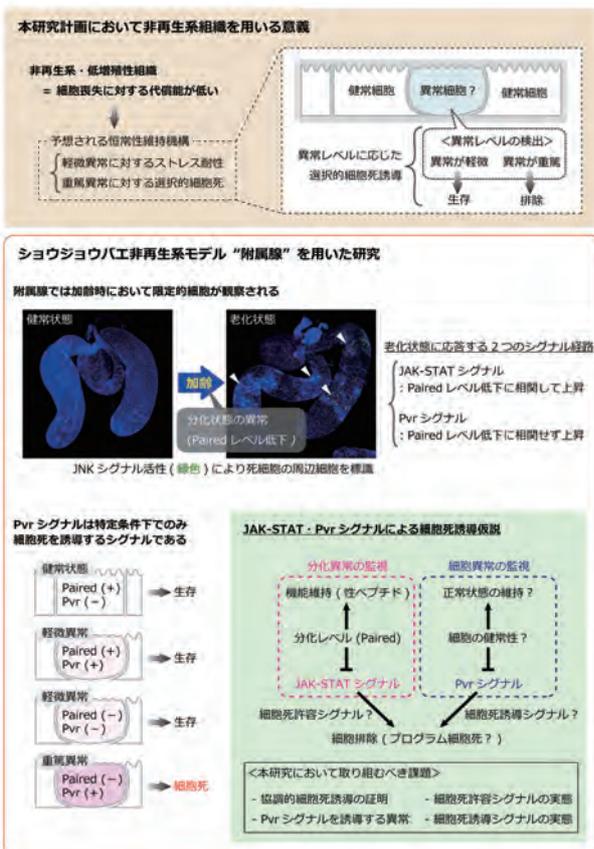


研究代表者：谷口 喜一郎 (学習院大学・理学部・生命科学科)

遺伝的に正常な組織であっても、ストレス等により、後天的に様々な異常を生じうる。異常細胞は、正常組織に不利益な動態を示す可能性があり、放置することは大きなリスクとなる。細胞死は、このようなリスクを未然に防ぐ仕組みの一つであり、異常に応答して積極的に細胞を排除するメカニズムである。一方で細胞死は、組織の喪失をとまなう防御機構であり、恒常性維持に対してある種のコストを生じる。そのため、細胞死誘導の感受性は、組織の再生/増殖能力に応じて最適化されており、細胞死誘導感受性の多様性をうみだす要因となっている。例えば、代謝サイクルが早く増殖能力の高い組織では、軽微な異常に対しても細胞死が誘導され、細胞の喪失は増殖細胞/幹細胞の代償性増殖により補填される。一方で、高度な分化レベルの維持等と引き替えに増殖能力が低下している組織では、細胞数の補填が困難であり、異常が重篤な場合にのみ限定的に細胞死誘導をおこなわれる傾向がある。このように、細胞死誘導は異常に対する単純な応答だけではなく、異常レベルが任意の閾値に達した細胞のみを選択的に排除する仕組みが不可欠といえる。しかしながら、異常レベルに応じた選択的な細胞死誘導の実体について不明な点が多い。

この問題に取り組むために、私は、増殖能を放棄した非再生系組織に注目した。非再生系組織では、細胞数の減少を回避するために、重篤な異常細胞のみを選択的に排除する機構が発達していると予想できる。私は、非再生系モデルとして、ショウジョウバエ生殖器官である付属腺を用いている。付属腺は、細胞死誘導に対する異常レベルの閾値が極めて高い組織である。これまでに、付属腺では加齢に伴い分化状態に異常（分化決定因子 Paired レベル低下）を生じると細胞死が誘導されることが明らかになった。さらに、Paired レベルの低下に相関して上昇するシグナルとして、JAK-STAT シグナル、Paired レベルの低下とは相関せず加齢に伴い上昇するシグナルとして Pvr シグナルを同定し、細胞死誘導におけるシグナルネットワークが明らかになりつつある。一方で、これら2つのシグナルによる細胞死誘導は単純ではなく、1) JAK-STAT シグナルは細胞死を促進するが誘導はしない、2) Pvr シグナルは Paired 低下条件でのみ細胞死を誘導する、といった興味深い結果が得られている。

これまでの結果を考慮すると、1) JAK-STAT は分化状態の監視機構として働き、分化異常細胞において“細胞死を許容”するシグナル、2) Pvr シグナルは加齢に伴う何らかの細胞異常において活性化し“許容状態”の細胞においてのみ細胞死を誘導するシグナル、という仮説を立てることができる。この仮説に基づけば、分化異常と細胞異常の両方を伴う、重篤な異常細胞のみを選択的に排除することが可能である。本研究では、これらの仮説を検証し、“細胞の異常レベルの認識と選択的な細胞死誘導メカニズム”の実態について明らかにしていく。



# CRISPR ゲノム編集法による Caspase-11 依存的パイロトーシスの解析

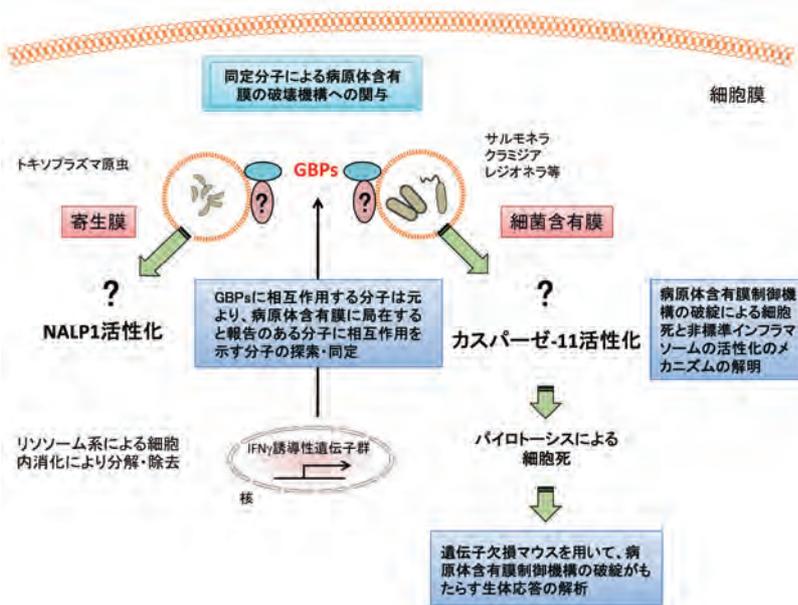


研究代表者：山本 雅裕 (大阪大学・微生物病研究所/  
大阪大学・免疫学フロンティア研究センター)

我々はこれまで、細胞内寄生虫であるトキソプラズマ原虫感染に対する生体防御機構と原虫の感染戦略について解析を行ってきました。トキソプラズマ原虫は、サルモネラやクラミジアなどのグラム陰性細菌と同様に、感染細胞内で自らを包み込む『寄生胞』と呼ばれる独自の膜構造体を形成する事により宿主からの攻撃を回避していますが、インターフェロンガンマ (IFN $\gamma$ ) 誘導性のタンパク質群が寄生胞の周辺に集積して『寄生胞』を破壊することにより、トキソプラズマの宿主回避機構を打破し、宿主の持つ病原体除去機構が作用できるようにしている事が近年明らかとなっています。特に、我々は IFN $\gamma$  誘導性の GTPase 群 (GBPs) が寄生胞膜上に集積し、寄生胞膜を破壊する重要な役割を担っている事を近年、証明しました (Yamamoto M, et al. *Immunity*, 2012年; Ohshima et al. *J Immunol.* 2014年)。

その一方で、サルモネラやクラミジアなどのグラム陰性の細胞内寄生細菌が細胞に感染すると、Caspase-11 依存的に『non-canonical インフラマソーム』の活性化とパイロトーシスが誘導されますが、現在世界中でこの non-canonical インフラマソームによるパイロトーシスの誘導機構の研究が活発に行われています。我々は海外のグループと共同で、トキソプラズマ原虫感染の際に寄生胞の破壊に関与していた GBPs がサルモネラやクラミジアなどの細菌が形成する膜に対しても作用するのではないかと考え解析を行い、GBPs は寄生胞膜と同様に『細菌含有膜』の破壊を引き起こし、さらに細胞質内に放出されたグラム陰性菌が刺激となって Caspase-11 依存的な non-canonical インフラマソームの活性化とそれに伴うパイロトーシスが引き起こされる事を証明しました (Meunier E, et al. *Nature*, 2014年; Pilla DM, et al. *PNAS*, 2014年)。しかし、GBPs による病原体含有膜破壊の詳細な制御機構や病原体含有膜破壊によって細胞質に放出された病原体による non-canonical インフラマソームの活性化とパイロトーシス誘導機構とその生理的意義については未解明な部分が多く、それらに関与する未同定の分子群が数多くあるものと推定されます。そこで本公募研究では non-canonical なパイロトーシスに着目し、その誘導に必須の過程である病原体含有膜破壊の制御機構の解明を軸として、病原体成分による Caspase-11 依存的なインフラマソーム活

性化機構と病原体含有膜制御機構の破綻に伴う生体応答について解析を行う事により、病原体含有膜が破綻した際に見られるパイロトーシスの全容解明を目指します。



# caspase-8と10それぞれが 阻害する二種類の新規細胞死の解析

研究代表者：米原 伸（京都大学・生命科学研究科）

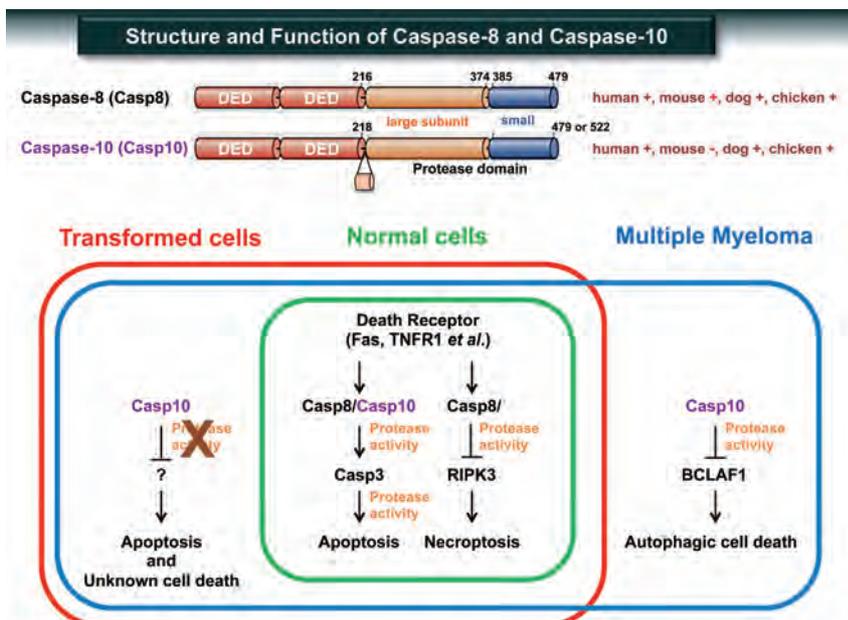


米原が発見・命名した細胞表面 Death Receptor Fas を介するアポトーシスでは、開始 caspase として caspase-8の活性化が必須です。一方、caspase-8はアポトーシスの誘導だけでなく、RIP キナーゼ (RIPK)1と RIPK3が媒介するネクロトーシスの抑制にも機能します。RIPK1は Tumor necrosis factor 刺激や Fas 刺激などによって活性化され、RIPK1が RIPK3を、RIPK3がネクローシス実行因子 MLKL をリン酸化して活性化することによって、ネクロトーシスの誘導されることが示されてきました。

我々は、マウス胎児線維芽細胞 (MEF) を *caspase-8* KO マウスから調製し、これに IFN- $\gamma$  を処理するとネクロトーシスとは異なる計画的ネクローシスが誘導されることを見いだしました。このネクローシスは RIPK3に依存するが RIPK1には依存せず、ホスファチジルセリン (PS) の細胞表面への露出が RIPK3に依存して細胞が死滅する前に観察されました。我々は、この新しい計画的ネクローシスの分子機構の解明を目指しています。具体的には、IFN- $\gamma$  が発現誘導する RIPK 3 活性化分子の同定と、PS が細胞表面へ露出する分子機構の解明を目的としています。また、caspase-8阻害剤存在下に IFN- $\gamma$  がワイルドタイプ MEF に誘導するネクロトーシスとの異同を分子レベルで明らかにすることを目指します。さらに、この新規計画的ネクローシスが抑制されたマウスを作製して解析することにより、その生理学的・病理学的意義を明らかにしようと考えています。

他方、齧歯類以外の脊椎動物では caspase-8と類似した構造を有する caspase-10が存在します。caspase-10は caspase-8と同時に Fas を介するアポトーシスに機能するとされていますが、マウスには存在しないために KO マウスを用いた本質的な機能解析が不可能です。一方、ヒト多発性骨髄腫由来細胞では caspase-10の発現を抑制するとオートファジー細胞死が誘導されると報告されました。我々は、多発性骨髄腫以外の種々のがん細胞株において caspase-10の発現抑制を誘導すると細胞死が誘導されるが、正常細胞株には細胞死は誘導されないことを見いだしました。この細胞死は caspase-9依存性のアポ

トーシスですが、caspase 阻害剤を加えると、アポトーシス、ネクロトーシスやオートファジー細胞死とは異なる新しい細胞死が誘導されました。そこで、caspase-10発現抑制でがん細胞特異的に誘導される細胞死の分子機構と、がん細胞特異性を支配する分子機構を明らかにすることを目的としています。

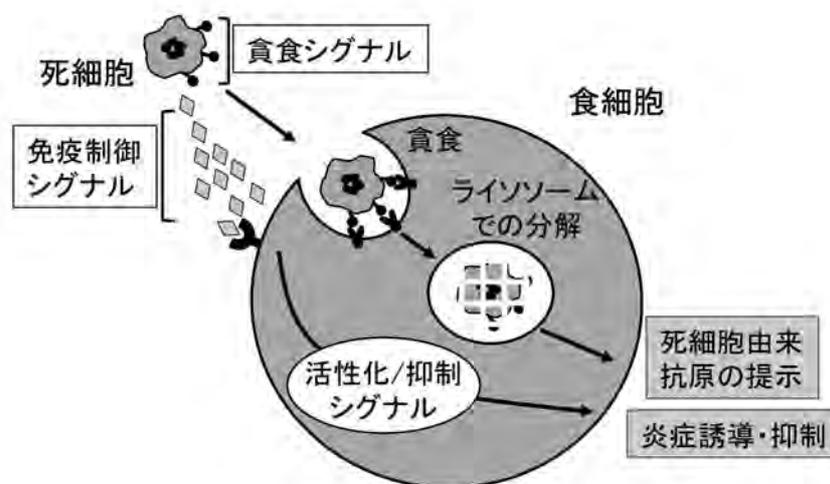


# 食細胞による死細胞の貪食機構とそれに伴う免疫制御機構の解明



研究代表者：田中 正人（東京薬科大学・生命科学部）

生体内で細胞死が起こると、その死骸はマクロファージ等の食細胞により速やかに認識され貪食される。これまで食細胞による死細胞貪食は、単に死骸を生体内から取り除くためのものと考えられてきた。しかし近年になって、死細胞を貪食した食細胞は、単にこれを分解するだけでなく、取り込んだ死細胞の性質に応じて、様々な免疫応答や炎症を誘導することが明らかになりつつある。我々はこれまでに、死細胞貪食に伴うがん免疫活性化モデルにおいて、リンパ節に局在する CD169陽性マクロファージが、重要な役割を担っていることをつきとめた。このマクロファージはリンパ節洞に局在し、同部位に到達した死細胞を選択的に貪食し免疫応答を誘導していることが分かった。特に CD11c 陽性の CD169陽性マクロファージは、死細胞抗原を CD8陽性 T 細胞にクロスプレゼンテーションし、細胞傷害性 T 細胞の活性化を誘導する細胞であることを明らかにした。さらに我々は、腸管の CD64陽性の腸管マクロファージの亜集団として、CD169陽性マクロファージが存在することをつきとめた。このマクロファージは、粘膜固有層の中でも腸上皮細胞近傍ではなく、筋層に近い部位に局在しており、腸上皮の傷害やそれに伴う腸内細菌の粘膜固有層への侵入を感知して CCL8ケモカインを産生することが分かった。CD169陽性マクロファージを誘導的に欠損したマウスや、抗 CCL8抗体を投与した野生型マウスでは、DSS 誘導腸炎の重症度が有意に改善することから、本マクロファージは腸炎発症の病理に深く関与していることが明らかになった。これらの知見より我々は、CD169陽性マクロファージが各器官において他の組織や外界との境界領域に局在し、死細胞貪食を行うと共に細胞死の様式に応じた免疫応答を誘導する細胞であると考えている。このような背景のもと本研究では、様々な死細胞が発信するシグナルによる CD169マクロファージの機能調節機構と、それに伴う免疫制御機構の解明を目指す。



死細胞貪食による免疫制御

# 肝幹細胞による肝再生を促進する ダイニングコードの解明

研究代表者：田中 稔 (国立国際医療研究センター研究所)

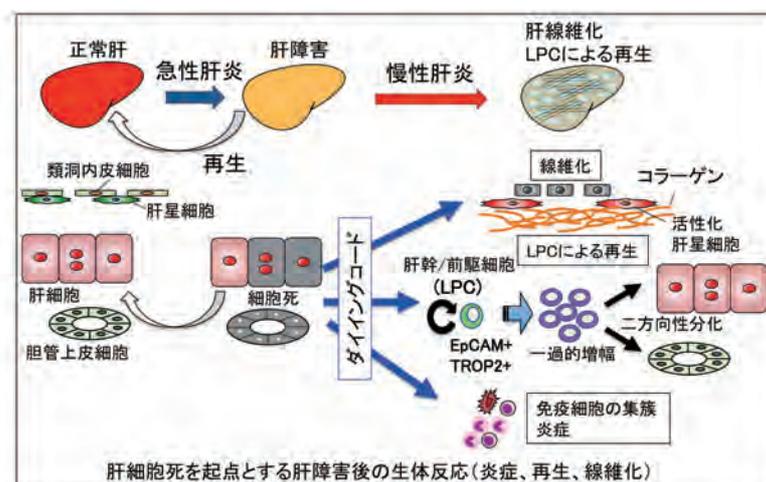


肝臓は様々な障害に対して高い再生能を有することが知られています。障害が一過的な急性肝障害であれば、広範な肝細胞死の後に、残存した肝細胞が速やかに肥大または分裂することで適切に再生されます。一方、肝障害が慢性化すると、細胞死と再生を繰り返し肝線維化に進行します。また、慢性肝障害では、肝幹/前駆細胞 (Liver stem/progenitor cell ; LPC) と呼ばれる未分化性を有する細胞が増殖し、肝細胞と胆管細胞の二方向性に分化することで肝再生に寄与することも知られています(図)。肝障害の起点には肝細胞死があることから、その死の様式や死細胞から放出される因子が、その後の周囲に及ぼす影響(ダイニングコード)となり、再生様式の選択や線維化に寄与していると考えられます。我々は、特に肝線維化とLPCによる肝再生に関わるダイニングコードに注目し、その実体を明らかにすることを目指して研究を進めています。

最近、我々は肝線維化に関わるダイニングコードとして、セマフォリン3e (Sema3e) を同定しました。マウス急性肝障害モデルにおいて、損傷を受けた肝細胞から一過的に放出される Sema3e は肝類洞内皮細胞を収縮させ、それを裏打ちする肝星細胞の活性化を支持します。活性化肝星細胞による一過的なコラーゲン産生は肝再生に寄与しますが、慢性肝障害で過剰に産生・蓄積されるコラーゲンは肝線維化の原因となります。Sema3e KO マウスを用いた慢性肝障害モデルでは肝線維化の有為な軽減が認められたことから、持続的な肝細胞死に伴う Sema3e の産生は肝線維化の増悪に関わることが明らかとなりました (AJP 2014)。

一方、我々はこれまでにマウス LPC マーカー分子として EpCAM と TROP2 を同定し、マウスの慢性障害肝からの LPC の単離に成功するとともに、その性状解析を行ってきました (Development 2009)。現在、TROP2-Cre ノックインマウスを作製し、細胞系譜追跡実験により生体内での LPC の動態を解析しています。また、LPC の二方向性分化に影響を及ぼすダイニングコードの一つを明らかにしつつあります。

近年、細胞死の様式は、従来のアポトーシス、ネクローシスといった分類から、計画的ネクローシスの発見により、多様であることが明らかとなってきています。ヒト肝疾患の病理組織ではピースミールネクローシスやブリッジングネクローシスなど“ネクローシス”とつく病理学的名称が多く用いられていますが、それらは上記の厳密な分類に基づくものではありません。肝細胞死の様式を特定することが治療戦略に活かされる時代が来ると信じ、我々は様々な肝疾患モデルにおける細胞死の様式をプロファイリングするとともに、肝臓の疾患や再生に関わる新規ダイニングコードの探索を続けています。



# 細胞死制御異常による ヒト遺伝性疾患の病態解明

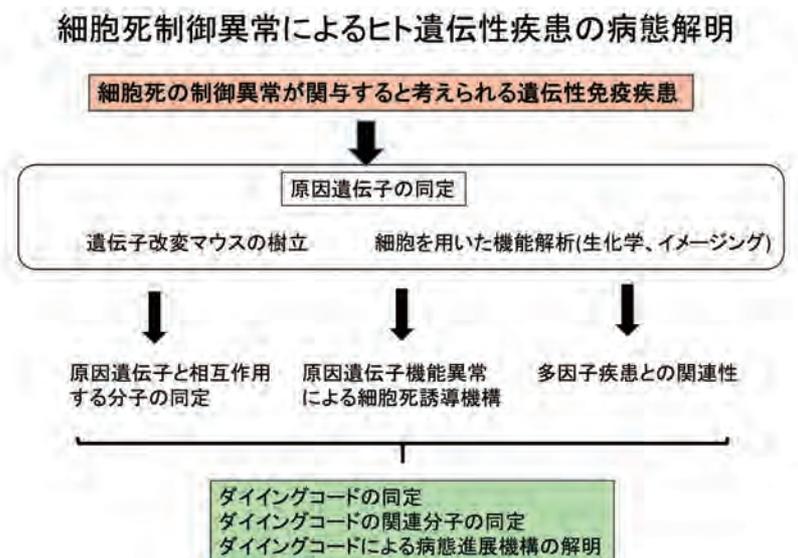
研究代表者：安友 康二（徳島大学・大学院医歯薬学研究部）



細胞死は生体の発生および恒常性の維持に必須の細胞機能である一方で、細胞死の機能異常は様々な疾病の進展に関与しているという知見が蓄積しつつある。しかし、実際にヒト疾患のどのような病態に細胞死の機能異常が関与し、生体恒常性の破綻に寄与しているかについての詳細は不明である。我々の研究グループでは、ヒト遺伝性疾患の病態に焦点を当てて細胞死の機能異常がどのようにヒト疾患の進展に寄与するかについて明らかにし、それに関わるダイニングコードを同定する事を研究目的としている。

複数の疾患を対象とするが、その中の疾患の一つは、クリオピリン関連周期性発熱症候群（CAPS； Cryopyrin-associated periodic syndrome）である。CAPSは症状の違いにより、家族性寒冷自己炎症症候群（FCAS）、マックル・ウェルズ症候群（MWS）、新生児期発症多臓器系炎症性疾患（NOMID）に分類される。いずれの病態にも、IL-1 $\beta$  過剰産生と pyroptosis による細胞死の亢進が関与していると考えられている。これまで、CAPSの原因遺伝子としては NLRP3が知られていたが、我々の研究グループでは FCAS のもう一つの原因遺伝子として NLRC4を同定した。NLRC4は細胞内の細菌のセンサーとして機能することが知られている分子であるが、ヒト疾患との関連性は明らかではなかった。我々は、NLRC4のヘテロ missense 変異によって、NLRC4タンパクの重合が促進し、重合した NLRC4は procaspase1の切断を促し、活性化型 caspase1は IL-1 $\beta$  の分泌と pyroptosis を亢進させていることを見いだした。他のグループから、NLRC4の他の変異では炎症性腸疾患やマクロファージ活性化症候群が発症することが報告され、NLRC4の過剰活性化は多様な自己炎症性病態を引き起こすことが明らかになった。以上から、本研究では、NLRC4の活性機構の解明、NLRC4の活性化を修飾する分子の同定、NLRC4を阻害する方法論の開発を研究目的としている。また、NLRC4の活性化を促す内因性のリガンドの存在の有無についても検討する予定である。

CAPS 以外にも細胞死の機能異常がその病態進展に関与する遺伝性免疫疾患が存在しており、その病態進展に関与するダイニングコードを同定し、細胞死の機能異常とヒト疾病の病態との関連性を明らかにすることも研究目的としている。



# 細胞死に伴って放出される 内因性糖脂質アジュバント の同定

研究代表者：山崎 晶 (九州大学・生体防御医学研究所)  
研究分担者：宮本 智文 (九州大学・薬学部)



近年、自然免疫受容体としてのC型レクチン受容体が注目されてきているが、内因性リガンドの詳細は未だ不明な点が多い。我々は、ストレスに伴ってマクロファージ、樹状細胞、好中球、単球上に発現するC型レクチン受容体であるMincle (Macrophage inducible C-type lectin) が死細胞を認識する活性化受容体であることを見出ししてきた。

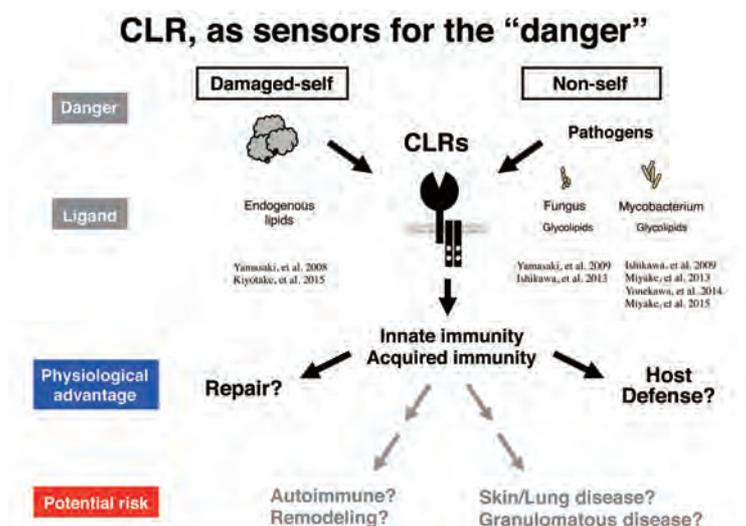
一方我々は、Mincle及びそのファミリー分子が非自己病原体を認識することを見出し、そのリガンドとして、トレハロースジミコール酸をはじめとしたアジュバント活性を有する糖脂質を同定してきている。同定された複数のリガンド糖脂質の類似性から、Mincleは主要な糖としてグルコース、マンノースを有し、脂肪酸鎖を有する両親媒性の糖脂質を認識することが判明した。結晶構造解析の結果、糖結合部位、脂肪酸結合部位も同定され、上記の構造活性相関を裏付ける結果となった。こうした知見は、Mincleが死細胞に起因する内因性の何らかの脂質を認識することで、損傷自己に対する免疫応答に寄与している可能性を示唆する。

そこで、死細胞、或いは死細胞上清から脂質画分を精製し、クロマトグラフィー分離後、各フラクションのリガンド活性を検討した結果、複数の陽性画分を検出した。更なる分離精製と構造決定の結果、いくつかの内因性脂質が同定された。これらの脂質は実際樹状細胞を活性化して抗原提示機能を亢進させ、獲得免疫応答を増強するアジュバント機能を有することも明らかとなった。

これらの結果から、Mincleが、通常正常な生体の細胞外環境には存在しないような脂質の存在を感知し、生体の危機を知らせ、免疫応答を発動させるセンサーとして働いている可能性が強く示唆された。

MincleをはじめとしたC型レクチン受容体は、遺伝子重複を繰り返してきたと考えられており、ヒト、マウスゲノム上で遺伝子クラスターを形成している。近年、これらの構造的に類似したC型レクチン受容体はそれぞれ少しずつ異なったりリガンドを認識し、それぞれ特有の細胞を活性化する自然免疫受容体として機能していることも判明してきた。我々は、この中のいくつかの受容体がやはり損傷自己を認識し得ることを見出しつつある。

本研究ではこうした知見に基づき、損傷自己を感知する受容体群の同定と、それらが誘導する生体応答の生理的、病理的意義を明らかにすることを目的とする。



# ネクロプトーシスにより発症する重症薬疹の機序解明



研究代表者：阿部 理一郎（新潟大学・医歯学総合研究科）

重症薬疹（Stevens-Johnson 症候群：SJS、中毒性表皮壊死症：TEN）は致死性の疾患であり、加えて重篤な後遺症を残す。病理学的に皮膚や角膜の広範な細胞死を特徴とし、そのため皮膚・角膜のびらん・潰瘍を来す。これまで重症薬疹の発症機序は不明であったが、最近我々は重症薬疹における細胞死はネクロプトーシスであり、annexin A1/formyl peptide receptor 1 (FPR1) の新規経路を介して起こることを明らかにした (Sci Transl Med 2014)。

本研究において、新規経路によるネクロプトーシスの詳細なメカニズムを解明するとともに、この経路をターゲットとしたネクロプトーシス阻害作用を持つ重症薬疹治療剤を開発することを目的とする。

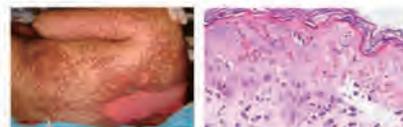
1) 重症薬疹における表皮細胞死のメカニズム解明：我々が同定した annexin A1/FPR1による細胞死の詳細なメカニズムの解析のため、FPR1を強発現させた表皮細胞株を用いて検討を行っている。また表皮細胞におけるFPR1発現増強は重症薬疹患者のみに見られた現象であったが、この機序についての解析ではFPR1のプロモーター領域検索などでも特異的な SNPs などみられていない。一方 annexin A1は単球から放出されるが、その産生の機序について、抗原特異的リンパ球から産生される液性因子により誘導されることを明らかにした。

2) FPR1に対するアンタゴニスト探索：G タンパク質共役受容体 (GPCR) の一つである FPR1に直接作用するシグナル阻害分子スクリーニングし、重症薬疹に対する治療薬の候補化合物の同定を行っている。現在、GPCR 刺激による G タンパク質およびβアレスチンシグナルを検出する系を構築した。この系を用いて化合物ライブラリーのスクリーニングを行い、数個の候補を絞り込んでいる。今後、同定された候補化合物の構造展開を行う。さらに重症薬疹モデルマウスにおいて改善効果を検討し、低毒性のリード化合物の同定を行う。あわせて FPR1を介するシグナル伝達系へのリードの作用機序解析も行う。

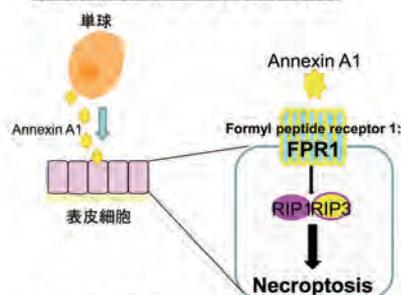
FPR1アンタゴニストはネクロプトーシスのシグナル因子の阻害剤に比し、疾患特異性があり、他のネクロプトーシス現象を抑制せず、副作用も少ないことが期待される。

## ネクロプトーシスにより発症する重症薬疹の機序解明

**Stevens-Johnson症候群(SJS)**  
**中毒性表皮壊死症(TEN)**  
 患者数：SJS 年間3～5千名、TEN年間1～2百名  
 致死率 (TEN)：約20%  
 臨床症状：粘膜疹、水疱、表皮剥離、びらん  
 後遺症：視力障害などの重篤な後遺症  
 病理組織：広範な表皮細胞死

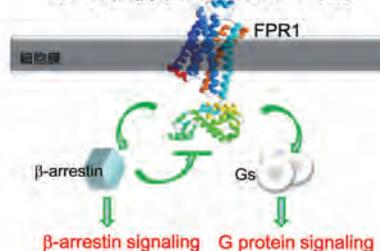


### 我々が解明した重症薬疹発症機序



Sci. Transl. Med. 2014, 6, 245ra95

### GPCRに属するFPR1のシグナル



どちらのシグナルも阻害する化合物の探索

# 肝細胞死に応答して肝臓の線維化および再生を誘導・制御する新規ストローマ細胞の解析

研究代表者：伊藤 暢（東京大学・分子細胞生物学研究所）



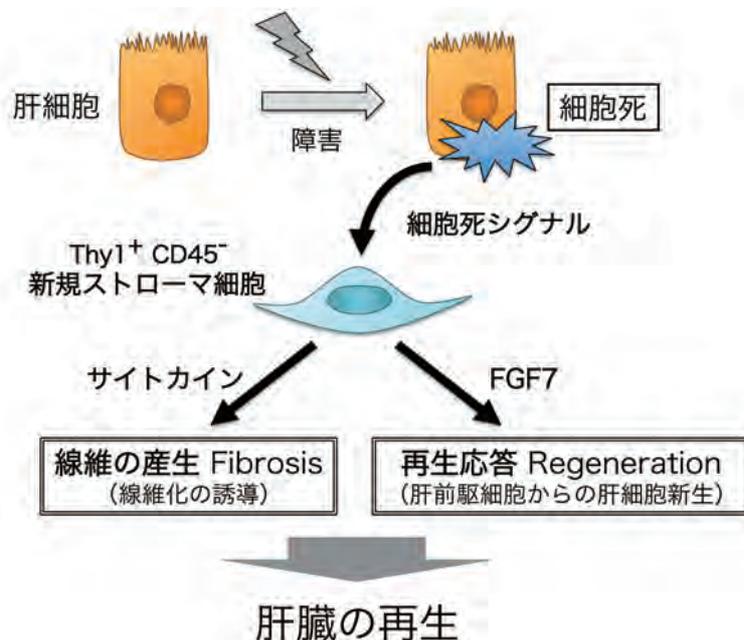
生体における代謝や解毒といった重要な機能を担う中心臓器である肝臓は、きわめて高い再生能力を有することでも良く知られています。障害を受けた肝臓の組織においては、実質細胞（肝細胞）の細胞死を起点としたシグナルによって、線維質の産生・蓄積による損傷部位での物理的な組織構築の保持と、肝前駆細胞からの分化による肝細胞の新生（再生応答）とが誘導され、これらによって組織の修復・再生が行われます。私達はこれまで、肝再生過程における肝前駆細胞の動態や、その制御メカニズムについての解析を行い、その制御にかかわる種々のシグナル伝達経路や、肝前駆細胞の存在部位である胆管系の3次元動態などを明らかにしてきました。そのような研究を進める中で、慢性肝障害モデルマウスにおいて、障害部位に集積するThy1陽性/CD45陰性の間葉系ストローマ細胞が、増殖因子Fibroblast growth factor 7 (FGF7)を産生することで肝前駆細胞の活性化を誘導し、再生応答にきわめて重要な役割を担うことを明らかにしてきました。一方で最近、これと同じ細胞集団が、肝線維化の誘導に重要な役割を担う分泌性サイトカインを高発現していることを新たに見いだしました。すなわち、肝細胞死により活性化され、FGF7産生による再生応答と、サイトカイン産生による線維化誘導とを共に担う、新規ストローマ細胞（Thy1陽性ストローマ細胞）の存在が明らかとなってきました。そこで本研究計画では、この細胞に注目し、以下の解析を行うことを計画しています：

## （1）Thy1陽性ストローマ細胞の、より厳密な同定・定義付け

Thy1陽性ストローマ細胞集団を分取し、遺伝子発現プロファイルや新規マーカー分子を同定することで、既存の肝内間葉系細胞（肝星細胞、門脈域線維芽細胞、中皮下細胞、等）との関連や類似点/相違点を明らかにします。

## （2）Thy1陽性ストローマ細胞の生理的重要性の検証

肝線維化を誘導するサイトカインの産生細胞として、Thy1陽性ストローマ細胞と肝細胞のいずれが重要



であるのかを、このサイトカインのノックアウトマウスと細胞種特異的なレスキュー系を組み合わせた実験等により検討します。

## （3）Thy1陽性ストローマ細胞の活性化を担うシグナル/メカニズムの解析

肝障害時に、肝細胞死を起点とする何らかのシグナルにより、Thy1陽性ストローマ細胞からのサイトカイン産生・分泌が誘導され、線維化が促進されると考えられます。Thy1陽性ストローマ細胞からのサイトカイン分泌機構と、これを誘導するシグナルの同定を行います。

これらの解析を進めることで、肝臓における細胞死を起点とした生体反応誘導の中軸をなす細胞システムと、これに基づく肝再生の原理の解明を目指します。

# 急性、慢性放射線腸障害におけるダイニングコードの解明

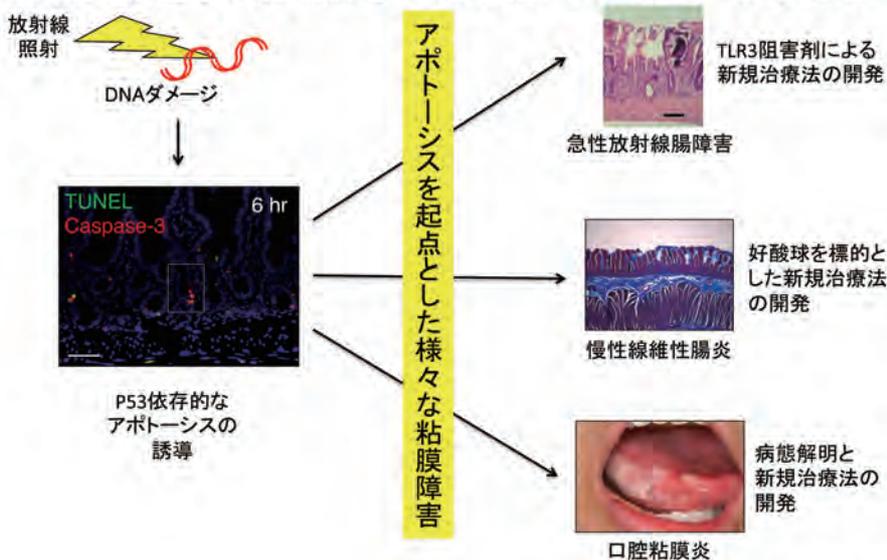


研究代表者：植松 智 (千葉大学・大学院医学研究院/  
東京大学・医科学研究所国際粘膜ワクチン開発研究センター)

本研究課題は、マウスの急性及び慢性の放射線腸炎モデルを用いて、DNAダメージによる p53 依存的な細胞死をトリガーとして誘導される絨毛破壊、線維化の誘導機構を「自然免疫」の観点から解析を行うことによって、放射線による腸管の恒常性破綻のメカニズムと病態形成における腸管自然免疫細胞群の役割を明らかにし、これまで有効な治療法がなかった放射線腸障害に対する全く新しい治療戦略の開発を目指すものである。我々は、TLR3 欠損マウスが急性放射線症候群に抵抗性を示す事を見出した。骨髄の放射線障害に関しては、変化が無かったが、TLR3 欠損マウスは致死率、下痢、体重減少といった急性放射線腸障害の症状が有意に軽度であった。放射線で誘導される陰窩の細胞死が TLR3 欠損マウスでは抑制されており、そのため生き残った陰窩から上皮が供給されたため絨毛構造は破綻せずに生存できることが明らかになった。興味深いことに、p53 による細胞死は TLR3 欠損マウスでは正常に起こっていた。p53 依存的に細胞死を起こした細胞から自己の RNA が漏出しており、それが TLR3 を介して広範な陰窩の細胞死を誘導していることが明らかになった。最近 TLR3-RNA 結合阻害剤 ((R)-2-(3-chloro-6-fluorobenzo [b] thiophene-2-carboxamido)-3-phenylpropanoic acid) が発売された。この阻害剤は、陰窩の細胞死を抑制し、致死率も改善した。従って、TLR3-RNA 結合阻害剤が、急性放射線腸障害の新しい治療標的となることを報告した (Takemura N, et al. *Nat Commun.* 2014 Mar 18 ; 5 : 3492.)。本研究課題では、急性放射線腸障害に関して、TLR3 を標的とした急性放射線腸障害の治療法の確立を行う。粘膜における急性放射線障害は腸管だけでなく口腔粘膜でも重篤な症状を呈する。頭頸部腫瘍に対する放射線照射後に、急性の放射線口腔粘膜炎症が頻発することが知られているが、その病態機構は良く分かっていない。放射線口腔粘膜炎症における自然免疫の役割を解析し、新規治療法の創出を図る。また、7 週齢の Balb/C のマウスに 15 Gy の  $\gamma$  線を腹部に限局照射することによって慢性腸炎を惹起し、ヒトの病態に類似した腸管の顕著な線維化を誘導出来る。このモデルにおいて、腸管の陰窩では、持続的、恒常的に細胞死が起こることを見出した。この細胞死がトリガーとなって、陰窩の上皮細胞に接する筋線維芽細胞が活性化され、好酸球やマクロファージを遊走させる

ことが分かった。恒常的な細胞死を契機とした、筋線維芽細胞と自然免疫細胞群との相互作用を解析し、これまで病態が全く分かっていなかった放射線照射後の線維化機構を明らかにする。

## 急性、慢性放射線腸障害におけるダイニングコードの解明

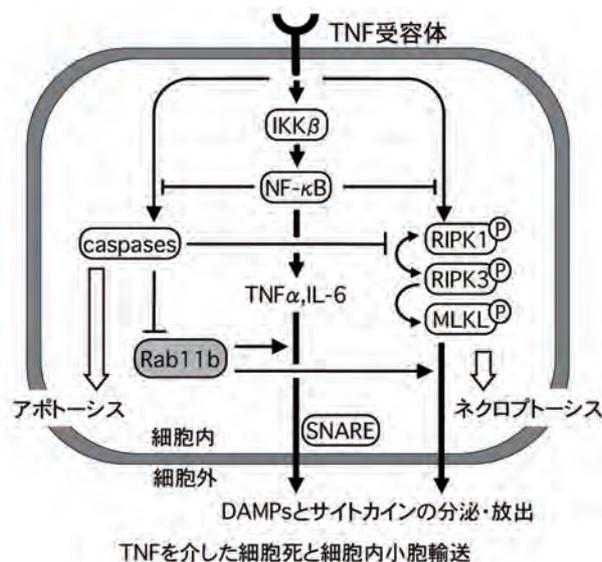


# 計画的細胞死に共役した細胞内小胞輸送の改変と細胞外シグナルの生成



研究代表者：鎌田 英明 (広島大学・大学院医歯薬保健学研究院)

炎症にともないアポトーシスやネクロプトーシスによる細胞死がひき起こされるが、この過程には活性酸素種 (ROS) の産生や、サイトカイン遺伝子の発現誘導、腫瘍壊死因子 (TNF $\alpha$ ) による細胞応答などが重要な役割をになう。TNF $\alpha$ は I $\kappa$ B キナーゼ (IKK $\beta$ ) を介して NF- $\kappa$ B を活性化するが、NF- $\kappa$ B が活性化されない細胞ではカスパーゼによるアポトーシスや、RIPK1、RIPK3、MLKL を介したネクロプトーシスが誘導されて、DAMPs やサイトカインの放出にいたる。さらにサイトカインの産生には NF- $\kappa$ B だけでなく、ROS を介した MAP キナーゼホスファターゼ (MKP) の抑制による MAP キナーゼの活性化が関与する。DAMPs やサイトカインの放出は低分子量 G タンパク質 Rab ファミリーや SNARE による細胞内小胞輸送系により制御されている。この一方で TNF $\alpha$ は Rab11と SNARE を介して分泌されるが、逆に IKK $\beta$ が小胞輸送を制御することも知られている。我々は Rab11b がアポトーシスの過程でカスパーゼにより分解されることや、ネクロプトーシスにともない RIPK3が Rab11b を介して細胞外に放出されるなどを見いだしてきた。TNF $\alpha$ のシグナル系は Rab11による細胞内小胞輸送との密接なクロストークのもとで細胞機能を制御しており、この応答が細胞死による細胞外シグナル生成に連関すると考えられた。Rab11b に関する遺伝子改変マウスを作成して、細胞死に共役した Rab11b の細胞内小胞輸送制御の炎症応答における意義について解析を進めている。さらに我々は TNF $\alpha$ により産生された ROS が MKP の抑制を介して細胞死を制御して肝臓の炎症や肝細胞がん (HCC) の発生に連関することや、IKK $\beta$ がキナーゼ活性非依存的なアダプター分子としての機能によりアポトーシスを制御することを解明してきた。IKK $\beta$ のアダプター分子機能を介した細胞死制御や、IKK $\beta$ と細胞内小胞輸送系制御の意義を明らかにするために肝細胞特異的な IKK $\beta$  遺伝子改変マウスを作成し、さらにこのマウスを用いて化学発がんモデルにより HCC と IKK $\beta$ との関係を解析した。このマウスでは IKK $\beta$ の遺伝子改変により慢性肝炎を発症して肝線維化が進行したが、P450遺伝子の発現抑制によりジエチルニトロサミンによる HCC の化学発がんが抑制されることが判明した。IKK $\beta$ から NF- $\kappa$ B にいたるシグナル伝達系と細胞内小胞輸送系のクロストークと炎症と発がんの連関の解析を進める予定である。



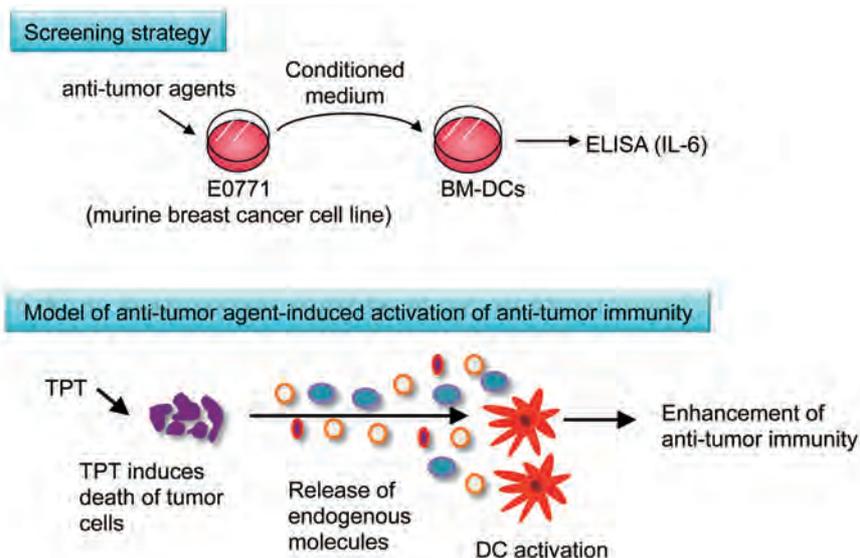
# 抗癌剤により死滅した癌細胞に対する自然免疫応答の解析

研究代表者：河合 太郎（奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科）



最近の研究から、自然免疫受容体は病原体のみならず細胞死に伴い放出される内在性因子にも応答し炎症反応を惹起することが明らかにされつつある。私達はこれまでウイルス RNA を模倣する合成核酸 poly I:C がマウス樹状細胞の一部に RIP-1キナーゼ活性依存的にネクロプトーシスを誘導することを見出した (Zou J, Immunity 38: 717, 2013)。さらに、ネクロプトーシス依存的に核内蛋白質 HMGB1が細胞外に漏洩すること、漏洩した HMGB1は poly (I:C) と複合体を形成し、生存している樹状細胞に作用しサイトカイン産生をさらに増強させ Th1細胞応答が効果的に誘導されることを見出した。これらのことは、一部の樹状細胞は自然免疫受容体を介して積極的にネクロプトーシスを誘導するシグナル伝達経路を保有していること、さらにこうした細胞死は免疫賦活化において重要な役割を果たすことを強く示唆している。ネクロプトーシスは、ウイルス感染においても誘導されることが知られており、ウイルス感染後の宿主細胞死は獲得免疫誘導において重要な役割を果たしていると考えられる。

このような知見から、私達は抗癌剤処理により死滅した癌細胞に由来する内在性因子が抗腫瘍免疫誘導において何らかの役割を果たしているのではないかと想定している。そこで、様々な抗癌剤を用いてスクリーニングを行ったところトポイソメラーゼⅠ阻害剤トポテカン (TPT) 処理により死滅した乳癌細胞株の培養上清中にマウス骨髄由来樹状細胞からの IL-6やⅠ型インターフェロンの発現、CD86の細胞表面への発現といった樹状細胞の活性化を誘導するものが含まれる知見を得た。また、この培養上清による刺激は樹状細胞の NF $\kappa$ B、IRF3、MAP キナーゼの活性化を誘導した。さらに、乳癌細胞株を移植したマウスに TPT を投与すると癌組織の縮小と共に組織内への CD8陽性 T 細胞の浸潤を認めたことから、生体レベルで抗腫瘍免疫が誘導されると考えられた。現在、TPT 刺激により癌細胞から放出される内在性因子ならびにそれらの認識に関わる自然免疫受容体の同定を目指している。予備的ではあるが、死滅した乳癌細胞株から放出された内在性の DNA が樹状細胞を STING 経路を介して活性化していることを示唆する知見を得ている。こうした内在性因子は効果的な腫瘍免疫誘導可能な免疫賦活剤としての利用が期待されるため、マウスモデルを用い新たな抗腫瘍免疫誘導法の確立にまで踏み込んでいきたい。



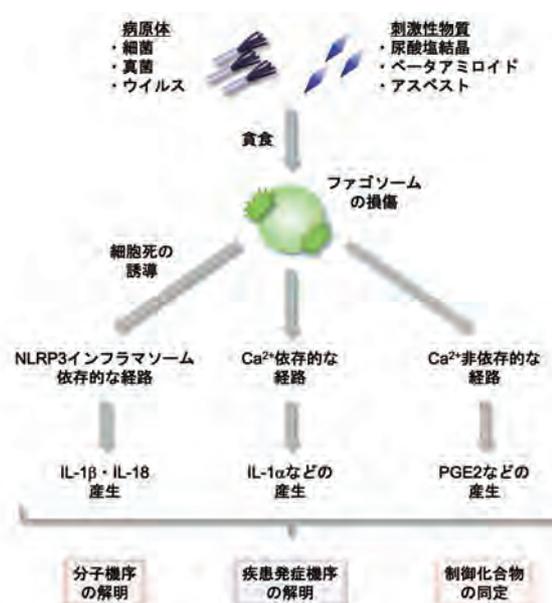
# 細胞死を介した免疫調節因子の放出機序とその意義の解明



研究代表者：齊藤 達哉（徳島大学・疾患酵素学研究センター）

自然免疫は病原体を感知してその排除を行う感染防御機構であるが、誤って活性化してしまうと過度な炎症により組織の損傷を惹起する。そのため、自然免疫の制御機構の破綻や誤った活性化は、感染症、自己免疫疾患、神経変性疾患、呼吸器疾患や代謝内分泌疾患など様々な疾患の発症につながる。よって、自然免疫の精緻な制御機構を理解し、自然免疫の活性が不足した際にはそれを補い、活性が過剰になった際にはそれを制限する手法を開発することが、種々の疾患の治療のために重要である。

自然免疫研究の発展は著しく、TLR や RLR などのパターン認識受容体による病原体の感知から転写因子 NF- $\kappa$ B や IRF3/IRF7の活性化に至るまでのシグナル伝達については、その詳細が明らかになりつつある。一方で、病原体や刺激性物質に暴露された自然免疫担当細胞において“細胞死に伴い活性化する免疫調節因子の放出機構”については、インフラマソームの研究が行われているものの、まだ研究がはじまったばかりである。これまでに我々は、細胞内クリアランス機構であるオートファジーがインフラマソームの活性化を負に制御すること、およびインフラマソーム、特に NLRP3インフラマソームの活性化に微小管が関わっていることなどを明らかにしてきた（*Nature* 2008；*Nature Immunology* 2013；*International Immunology* 2015）。しかしながら、NLRP3インフラマソームが病原体や刺激性物質に応じて活性化する機序については、不明な点が未だに残されている。そこで本研究では、NLRP3インフラマソームの活性化機序について、病原体や刺激性物質によるファゴソームの損傷に応じて誘導される細胞内シグナル伝達の観点から解析を行う。また、NLRP3インフラマソームの活性化を抑制する化合物の同定とその抑制作用機序の解明を目指す。さらに、近年明らかになったインフラマソーム非依存的に活性化する免疫調節因子の放出機構に着目した解析もあわせて行う。プロテオーム解析を中心に、病原体や刺激性物質による細胞死に伴いインフラマソーム非依存的に放出される免疫調節因子を同定し、その誘導機構の同定や病態生理的意義の解明を目指す。本研究は、感染症、自己免疫疾患、神経変性疾患、呼吸器疾患や代謝内分泌疾患など様々な疾患の発症機序の理解を深め、その治療法開発の基盤を整えることにつながると考えている。



# 成体脳の嗅球ニューロン再生における死細胞の貪食の役割

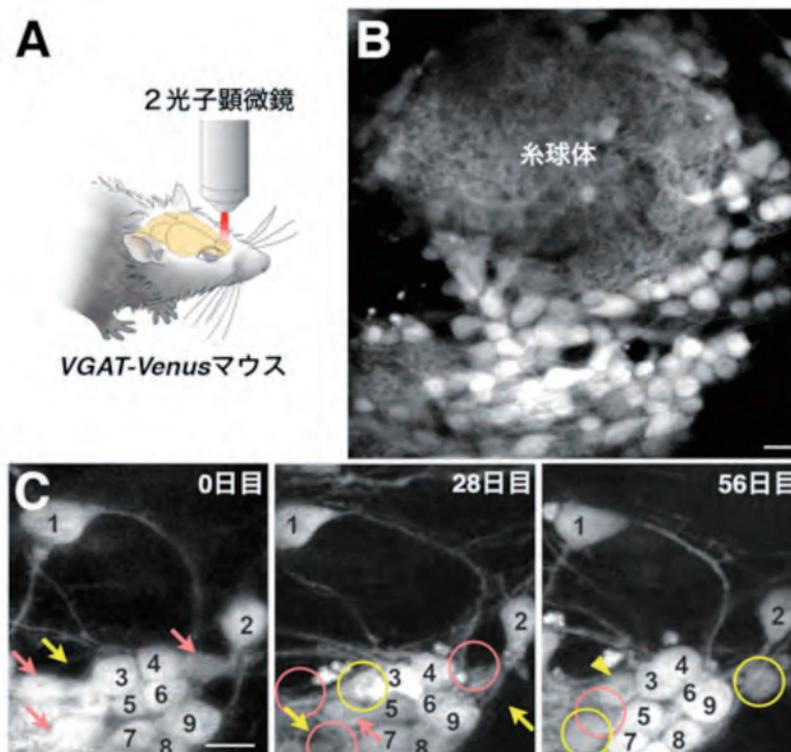


研究代表者：澤本 和延（名古屋市立大学・大学院医学研究科）

従来、成体脳のニューロンは、細胞死によって減少する一方と考えられてきたが、近年の研究により、神経幹細胞から継続的に新しいニューロンが産生され、脳内の特定の領域ではニューロンが入れ替わっていることが明らかになった。脳室下帯で産生されるニューロンは移動して嗅球へ到着し、その大部分は一ヶ月程度で細胞死によって除去される。ニューロンの細胞死が再生を誘導するしくみが存在するのではないかと想定されているものの、その具体的なメカニズムについては、ほとんど解明されていない。

我々は、成体脳の脳室下帯で産生される嗅球ニューロンの移動・成熟機構について研究し、移動方向の制御機構 (Science 2006)、アストロサイトにトンネルを形成させながら移動するメカニズム (Neuron 2010)、嗅球内の適切な細胞層で停止させるのに必要なブレーキング機構 (Nat Commun 2014) などを報告してきた。さらに二光子顕微鏡を用いて、嗅球において細胞が死ぬ場所に、同じ種類のニューロンが効率よく生着すること、そしてその効率は嗅覚入力によって高くなることを見出した (J Neurosci 2011)。

これらの結果から、ニューロンの細胞死によって何らかのメッセージ（ダイニングコード）が発信されて、その部位におけるニューロンの再生を促進していると考えられる。我々は、ミクログリアによる貪食作用が、嗅球内において死んだニューロンを除去し、新しいニューロンが再生する環境を整備する働きをしているのではないかとこの可能性を考えている。嗅球内で不要になったニューロンがどのようなメカニズムで除去され、ニューロンの再生を誘導し、神経回路の恒常性を維持するのかを明らかにすることによって、細胞死の存在意義の解明に貢献したい。



図：2光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンの長期生体イメージング法  
 A) 2光子顕微鏡を用いた長期生体イメージング法 B) 嗅球ニューロンの2光子顕微鏡写真 C) 2光子顕微鏡を用いた長期生体イメージングによるニューロンの細胞死および再生の検出。桃色矢印で標識された細胞は28日後に細胞死により消失している（桃色丸印）。黄色の矢印で示された場所には28日後に新生ニューロンが再生している（黄色丸印）。28日目に再生した新生ニューロンは、56日目にも同じ場所で生存している（黄色矢頭）。スケールバー：10  $\mu$ m (B, C)。J Neurosci, 31: 11587-11596, 2011.

# 脳虚血後の細胞死が誘導する 脳修復メカニズムの解明

研究代表者：七田 崇（慶應義塾大学・医学部）



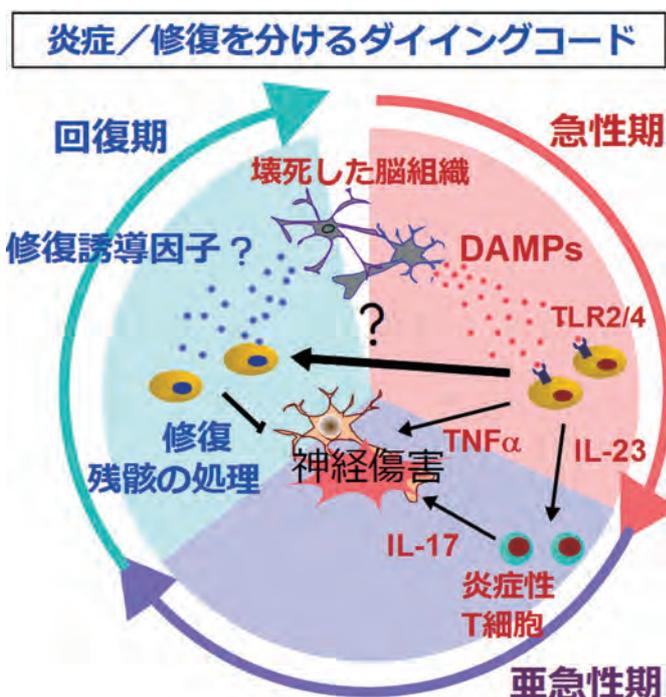
脳梗塞は、深刻な後遺症や寝たきりの主な原因となっている。脳組織を栄養する血管が高度に狭窄・閉塞すると脳血流が低下し、脳細胞は虚血壊死に至る。脳梗塞では大量の細胞死が起こり、ネクローシス、アポトーシス、オートファジー細胞死、パイロトーシスが関与する。細胞死に伴って脳内では内因性炎症惹起因子（DAMPs）が放出され、血液細胞の脳内浸潤・活性化が起こって炎症が惹起される。この炎症は脳梗塞患者の機能予後とも密接に関連すると考えられている。脳梗塞の治療法はまだ十分に確立されていないため、炎症を標的とした新たな治療法の開発が期待されている。本研究では脳梗塞によって起こる細胞死の詳細と炎症メカニズムを解明することによって、新規治療剤の開発につなげることを目的としている。

脳における DAMPs としては HMGB1 や Peroxiredoxin が知られている。HMGB1 は細胞死に伴って細胞外に放出され、脳血液関門の破綻を促進する。Peroxiredoxin は虚血ストレスによって脳細胞内で発現が誘導され、抗酸化作用によって細胞保護に働くタンパクである。しかし、脳細胞が虚血壊死に至ると Peroxiredoxin が細胞外に放出され、脳に浸潤した血液細胞の TLR2/4 を活性化して炎症性サイトカインの産生を誘導する。IL-23 や IL-1 $\beta$  は、IL-17 産生性  $\gamma\delta$ T 細胞を誘導することにより脳内の炎症を悪化させ、遷延化させる。脳梗塞への治療応用としては IL-23 抗体、IL-17 抗体の投与の他、FTY720（フィンゴリモド）の適応拡大が期待されている。FTY720 に関してはヒト脳梗塞患者における臨床治験も施行されており、後遺症の改善により社会復帰率の上昇が報告されている。

IL-1 $\beta$  は神経傷害性のサイトカインであり、主に脳に浸潤したマクロファージから産生される。マクロファージは DAMPs によって活性化され、さらにインフラマソームの活性化を経て IL-1 $\beta$  の産生に至る。NLRP3 インフラマソームの活性化は脳梗塞後の炎症を促進する働きがあり、イブルチニブ（Btk 阻害剤：

白血球治療薬）は NLRP3 インフラマソームの抑制によって脳梗塞治療剤となりえる。

脳梗塞後の細胞死は DAMPs の放出やインフラマソームの活性化を介して炎症を惹起する。一方で、炎症の抑制効果だけでなく、炎症の収束を早めて修復を促進する薬剤の開発が世界的に求められている。脳梗塞後の細胞死は炎症の収束メカニズムにも重要な役割を持つと考えられる。壊死した脳組織の修復や残骸の処理などは、炎症後の一般的な修復過程であると考えられているが、その誘導メカニズムは解明されていない。本研究は細胞死によって誘導される炎症と修復のメカニズム（ダイニングコード）を解明することによって、脳梗塞の新規治療剤の開発につなげたい。



# 粘膜上皮ダイニングコードによる炎症応答制御機構の解明



研究代表者：渋谷 彰（筑波大学・医学医療系・生命領域学祭研究センター）

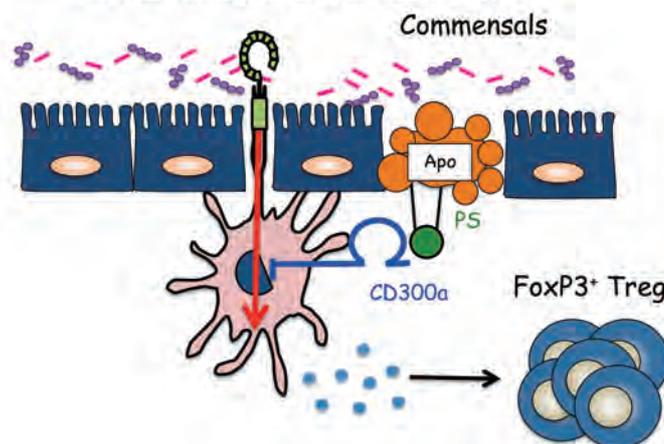
皮膚、腸管、気道などの粘膜上皮は、病原微生物、共生細菌などを含む外来異物に常に曝され、細胞死に陥っては新生を繰り返すターンオーバーの速い組織である。粘膜上皮の恒常性の維持は、外来異物の直接の侵入を拒み生体の危機を回避する意味で、生理学的、病理学的に重要である。粘膜組織には免疫細胞が集積し、病原微生物やアレルゲンをはじめとした異物の侵入に対し免疫細胞の活性化と炎症応答を誘導し生体防御を担う。一方、粘膜組織では、他の組織に比較して免疫応答を負に制御する制御性T細胞（Treg）がより多数存在することが知られ、過剰な炎症応答を収束し、粘膜組織の恒常性維持に大きな役割を担っていると考えられている。しかし、粘膜組織のTregの分化、増殖、活性化の制御機構については充分解明されていない。

我々は、骨髄球系細胞上に発現し、細胞内領域にITIM（immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif）を有する抑制性免疫受容体であるMAIR-I（CD300a）を同定した（Yotsumoto et al. *J Exp Med* 2003）。さらに我々は、CD300aがアポトーシスに伴って細胞膜上に発現するフォスファチジルセリン（Phosphatidylserine；PS）をリガンドとする新しいPS受容体であることを明らかにした（Nakahashi-Oda et al. *BBRC* 2012）。CD300aは炎症によって生成されるアポトーシス細胞を認識して骨髄球系細胞の活性化を抑制する事を示し、アポトーシス細胞がPSを介したダイニングコードを免疫細胞に伝達することによって炎症を制御するという新しい概念を提示した（Nakahashi-Oda et al. *J Exp Med* 2012）。

興味深いことに、CD300a遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと比較し、腸管、気道、皮膚の粘膜組織で制御性T細胞（Treg）が有意に増加していた。しかし無菌下で生育したCD300a遺伝子欠損マウスでは、Tregの増加は認められなかった。腸管、気道、皮膚の粘膜組織では、CD300aは樹状細胞やランゲルハンス細胞に発現することから、樹状細胞やランゲルハンス細胞が、粘膜上皮に存在する常在細菌叢を認識しTregの分化または増殖を促進する一方、これらに発現するCD300aがアポトーシスに陥った粘膜上皮のPSと結合してTregの分化/増殖シグナルを抑制していることが示唆された（図）。

本研究では、1）CD300aによるTregの分化、増殖の制御と粘膜組織恒常性維持の分子メカニズムを明らかにし、さらに、2）粘膜上皮アポトーシス細胞上のPSとCD300aとの結合を遮断し、制御性T細胞を増加させることによって、粘膜組織の恒常性の維持を目的とした創薬に向けた基盤研究を行う。

アポトーシス細胞—CD300a軸による粘膜組織における制御性T細胞の増殖の制御機構の解明



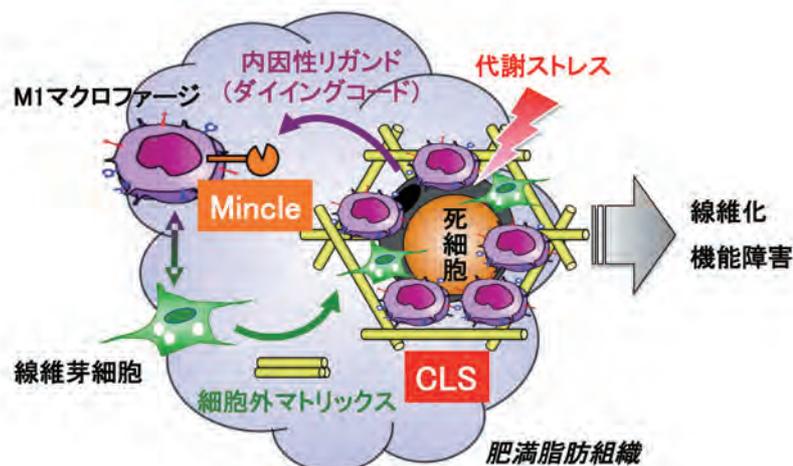
# 組織の修復と破壊を促進する ダイニングコードの解明

研究代表者：菅波 孝祥（名古屋大学・環境医学研究所）



最近、様々な生活習慣病の病態基盤として慢性炎症が注目されており、過栄養に伴う代謝ストレスが慢性炎症を惹起することが明らかになってきた。急性炎症では、炎症の原因が除去されると、破壊から修復へと転じて組織構築や機能の恒常性が回復するが、慢性炎症では、実質細胞と間質細胞の相互作用により組織の破壊と修復が遷延化し、組織リモデリングが生じて最終的には臓器機能不全に至る。即ち、細胞死を起点とする生体応答は、慢性炎症による生活習慣病の病態において中心的な役割を果たすと捉えることができる。例えば、代表的な自然免疫センサー Toll-like receptor 4 (TLR4) は、グラム陰性桿菌に由来するリポポリサッカライド（外来性リガンド）を認識して感染防御に働くのみならず、障害細胞や死細胞に由来する danger signal（内因性リガンド）をも認識し、様々な生活習慣病の病態形成に関わる。このような自然免疫センサーに対する内因性リガンドはダイニングコードの典型例と考えられるが、実際に内因性リガンドの同定に成功した例は未だ多くない。さらに、外来性リガンドと内因性リガンドによるシグナル伝達経路や生体応答の違いに関しては、全く分かっていない。

研究代表者らは既に、肥満の脂肪組織において、脂肪細胞から放出される飽和脂肪酸が TLR4 に対する内因性リガンドとしてマクロファージを活性化すること、その結果として生じる脂肪細胞とマクロファージのパラクリン調節機構の破綻により炎症反応の慢性化がもたらされることを証明した。Macrophage-inducible C-type lectin (Mincle) は、結核菌糖脂質 trehalose 6,6'-dimycolate (TDM) を認識する自然免疫センサーであるとともに、死細胞から放出される核内蛋白質 SAP130 をダイニングコードとして認識することが知られている。研究代表者らは最近、Mincle が肥満の脂肪組織マクロファージに高発現すること、Mincle 欠損マウスでは肥満に伴う脂肪組織線維化が抑制され、脂肪肝や全身の糖代謝が改善することを見出した (Nat. Commun. 5 : 4982, 2014 ; Diabetes 60 : 819-826, 2011)。肥満の脂肪組織では、代謝ストレスにより細胞死に陥った脂肪細胞を核としてマクロファージが集積する crown-like structure (CLS) が形成され、炎症の起点となる。Mincle は、CLS を構成する炎症促進性 M1 マクロファージ選択的に発現するため、脂肪細胞に由来する内因性リガンドが Mincle を介して脂肪組織線維化をもたらすと想定された (図)。一方、Mincle は、急性炎症モデルにおいて組織破壊促進的にも作用し得る (未発表データ)。本研究では、Mincle-内因性リガンド系による組織の破壊・修復バランスの制御機構を明らかにしたい。



# 網膜神経細胞死に起因する シグナルネットワークにおける 小胞体ストレス応答の重要性



研究代表者：宝田 美佳（金沢大学・医薬保健研究域医学系）

従来の神経細胞死の研究は多くが変性神経自身に焦点をあてており、傷害を受けた神経細胞が他の細胞とどのように関わり生体内でシグナルを派生させるかはあまり注目されてこなかった。特に、脳や脊髄は神経回路が複雑であるため、脳損傷や脳梗塞などの主要な神経傷害モデルにおいて、傷害神経から下流神経にも及ぶ階層的なシグナルネットワークの形成過程の解析は困難であり、その制御機構は殆ど明らかになっていない。本研究ではこれを克服するために単一の神経回路からなる神経変性モデル、マウス視神経挫滅モデルを用いて網膜および下流神経の存在する外側膝状体を解析し、網膜神経節細胞の変性に起因するシグナルネットワークの解明に取り組む。

また、中枢神経系病態において数多くの研究から小胞体ストレスの関与が明らかとされてきたが、これまでは神経細胞が小胞体ストレスの影響を受ける標的細胞と考えられてきた。一方で我々は、病態時においてグリア細胞の活性化が、小胞体ストレスにより顕著に阻害され神経障害を拡大させるという事実を、パーキンソン病モデル（Hashida et al., *PLoS One* 2012）および脳虚血モデル（Yoshikawa et al., *J. Neurochem.* 2014）において見出し、病態下の神経変性におよぼすグリア細胞の重要性を提唱してきた。

これまでに、視神経挫滅モデルの解析において、小胞体ストレスの亢進が傷害神経の神経細胞死を増悪すること、その際にグリア細胞からの保護的応答が減弱している結果を得ている。そこで本研究では、「神経細胞ダイニングコードに起因するシグナルネットワークにグリア細胞が重要である」という観点から、神経細胞保護に働くグリア細胞レスキューコードの制御機構としての小胞体ストレスに着目し、その分子機構を解明する。具体的には、①小胞体ストレス亢進条件下（小胞体ストレス応答の基幹転写因子 ATF6 $\alpha$  の欠損マウス）において視神経挫滅モデルを作製し、神経変性とグリア細胞活性化の表現型を視覚路において階層的に解析し、小胞体ストレス応答の重要性を明らかにする。また、②神経傷害後の小胞体ストレス応答が関与する、シグナルネットワーク形成の標的分子の同定を試みる。

これらの小胞体ストレスの視点からの解析により、*in vivo* における神経細胞死から始まるシグナル、およびグリア細胞を介する内在性の自己救済シグナルを明らかにすることで、緑内障をはじめ神経変性を伴う疾患の病態解明への貢献を目指す。



神経傷害に起因するシグナルネットワーク形成における  
小胞体ストレス応答の重要性を解明する

# 筋線維芽細胞による死細胞の貪食が組織の線維化に及ぼす影響の解析



研究代表者：仲矢 道雄（九州大学・大学院薬学研究院）

心筋梗塞が起こると、閉塞した動脈によって酸素や栄養が供給されていた心筋細胞が壊死する。これら壊死細胞からの内容物の流出は、炎症を誘導し、二次的な細胞死を引き起こす。従って、壊死した細胞は生体内で速やかに除去される必要がある。一方、壊死細胞からの内容物の流出は、好中球やマクロファージ、樹状細胞等、免疫系細胞の梗塞部位へのリクルートメントを引き起こす。これまで心筋梗塞時に生じる壊死細胞は、それら免疫系細胞によってのみ貪食されると考えられてきた。

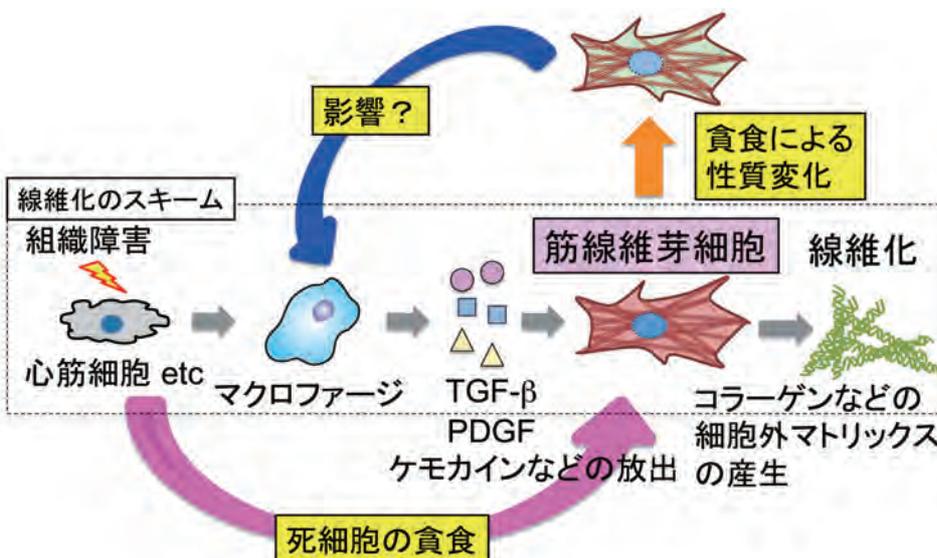
心筋梗塞時を含め、組織が損傷すると、損傷部位はコラーゲン等の細胞外マトリックスタンパク質によって補填される。これらコラーゲン等の細胞外マトリックスタンパク質を産生し、組織の線維化を実行するのが『筋線維芽細胞』と呼ばれる細胞群である。筋線維芽細胞は、組織が正常な時には存在せず、組織損傷時の炎症を契機にして種々の細胞が分化する事により生じる。心臓の疾患時においては、常在する線維芽細胞や骨髄由来細胞等、5種類の細胞が分化して alpha Smooth Muscle Actin ( $\alpha$ SMA)の発現によって特徴付けられる、筋線維芽細胞になる事が知られている。

我々は、心筋梗塞時の梗塞部位に出現する筋線維芽細胞が、組織の線維化のみならず、マクロファージと同様に死細胞を貪食し、梗塞部位の炎症を抑制するという、「貪食細胞」としての役割を果たす事を見出した。このことは、筋線維芽細胞が単なる線維化実行細胞としてだけでなく、積極的に死細胞からの情報（ダイニングコード）を認識し、炎症や線維化等の生体応答に関与する可能性を提示する。

そこで本研究では、組織傷害時の細胞死を起点とした組織の線維化における筋線維芽細胞の役割について、それら細胞群を「貪食細胞」して捉え直し、筋線維芽細胞の死細胞貪食による性質の変化およびその変化がマクロファージなど周辺細胞に及ぼす影響に焦点を当て、以下の研究を行う。

〈1〉心筋梗塞時に出現する筋線維芽細胞が死細胞を貪食することによってその「炎症」や「線維化」の性質あるいはその他の生理的機能、さらには他細胞とのやりとりによつてどのような影響がでるか *in vitro*, *in vivo* の両面から明らかにする。

〈2〉心臓以外の臓器（肝臓、肺）の組織損傷時に出現する筋線維芽細胞も死細胞の貪食能を持つのか、さらには、心筋梗塞時の筋線維芽細胞を用いて得られた種々の結果が肝臓、肺の筋線維芽細胞にも当てはまるのかについて検討する。



さらには、心筋梗塞時の筋線維芽細胞を用いて得られた種々の結果が肝臓、肺の筋線維芽細胞にも当てはまるのかについて検討する。

# 切断軸索からの ダイニングコード

研究代表者：久本 直毅（名古屋大学・大学院理学研究科）



神経細胞は軸索と呼ばれる長い神経繊維を介してシグナルを伝達している。外傷や手術によって軸索が切断されると、半身不随や麻痺などの運動障害や感覚障害が生じることがあり、そしてそれがしばしば治療不能であることは衆知の事実である。そのような切断を受けた軸索を修復し、機能的な状態にまで回復させる方法の探索は、患者の苦痛を緩和するだけでなく、介助削減や患者の社会復帰を通じて公共に益するものであり、社会的要請の高い課題である。切断を受けて2つに分かれた軸索は、近位側と遠位側とでそれぞれ異なる運命を辿る。細胞体と繋がっていない遠位側の軸索は、ワーラー変性と呼ばれる変性を起こして断片化し、最終的に消失する。一方、細胞体と繋がっている近位側の軸索は、一時的に退縮するものの消失はせず、その後成長円錐を形成して伸長することにより軸索を再生する。しかし、その再生機構の詳細については不明の部分が多い。

私は、線虫 *C. エレガンス* をモデル動物として、切断された神経軸索の再生を誘導するメカニズムについて研究を行っている。これまでの解析から、JNK 型 MAP キナーゼ経路が神経軸索再生において重要な役割を持つことを明らかにした。またゲノムワイドな RNAi スクリーニングにより、*C. エレガンス* の神経軸索再生を制御する因子を網羅的に同定しており、それらの因子による再生制御機構の詳細について解析を進めている。最近、上述のスクリーニングにより同定された新規因子のひとつである SVH-13が、脂質であるホスファチジルセリンに結合する活性を持つこと、そして切断神経の外部から神経軸索再生を正に制御していることを見出した。また SVH-13は、細胞接着分子であるインテグリンを介して低分子量 G タンパク質である CED-10を活性化し、それが MAP4K である MAX-2を介して JNK MAP キナーゼ経路を活性化することにより、神経軸索再生を正に制御していた。ホスファチジルセリンは、死細胞が貪食される際に死細胞から提示されるダイニングコードのひとつであり、またインテグリンー CED-10経路は死細胞を貪食する機構のひとつである。これらのことから、切断された神経軸索は死細胞のダイニングコードおよびその下流シグナルを流用することで神経軸索再生を制御していると考えられる。現在、SVH-13による神経軸索再生制御の詳細、および死細胞貪食経路との使い分けがどのように行われているかについて探索中である。

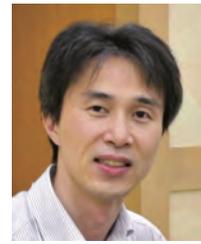


## CD169マクロファージの産生する CCL8が 炎症性単球を動員し、消化管の炎症を増悪する

Asano K, Takahashi N, Ushiki M, Monya M, Aihara F, Kuboki E, Moriyama S, Iida M, Kitamura H, Qiu CH, Watanabe T, Tanaka M.

Intestinal CD169(+) macrophages initiate mucosal inflammation by secreting CCL8 that recruits inflammatory monocytes.

Nat Commun 2015 Jul 21; 6 :7802.



東京薬科大学・生命科学部 免疫制御学研究室 浅野 謙一

### 研究の背景

組織マクロファージはそれが局在する臓器ごとに、由来も性質も異なる多様な亜集団で構成されています。2000年に Mills らが提唱した M1/M2 分類は、マクロファージを炎症促進型と抑制型に大別した簡明な分類方法として、これまで広く利用されてきました。しかしその後の研究で、生体内の組織マクロファージは必ずしも M1/M2 のどちらか一方に分類できないことが分かってきました。血管・リンパの周囲に局在する CD169 マクロファージや、腫瘍随伴マクロファージ (TAM) はその代表例です。

消化管は生体における最大のバリア臓器であり、絶えず外来抗原に暴露されています。粘膜の免疫システムは危険な非自己の侵入を監視する一方で、生体にとって有益な抗原に対しては過剰な免疫応答を惹起しないよう調節されています。武田らの研究によって、腸管マクロファージの腸内細菌に対する免疫応答は、IL-10 依存的に抑制されていることが明らかになりました。しかし粘膜固有層には複数の自然免疫細胞が混在しています。寛容を維持する亜集団の他にも、上皮傷害や腸内細菌の侵入に反応し、炎症を惹起する細胞の存在が示唆されますが、粘膜免疫の制御における個々の亜集団の役割はほとんど分かっていませんでした。

### 研究結果の概要

今回私たちは、消化管に、CD169 分子の発現レベルと粘膜固有層内での局在の異なる、2 種類のマクロファージが存在することを発見しました。CD169 陽性マクロファージを選択的に消失すると、他のマクロファージや樹状細胞が存在するにもかかわらず、デキストラン硫酸 (DSS) 誘導大腸炎の臨床症状がほぼ完全に抑制されました。

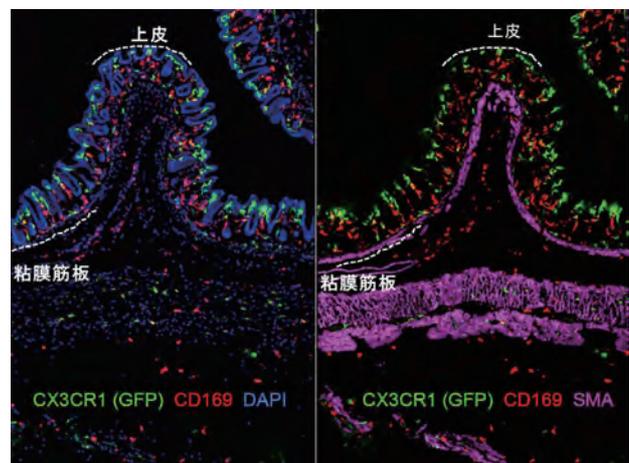
この研究を進める過程で私たちの作製したモノクローナル抗体 (クローン M7) は、感度よく CD169 分子を検出できます。この抗体により、CD169 陽性細胞が腸管常在マクロファージの約 30% を占め、腸内細菌と恒常的に接する腸上皮から離れた粘膜の深部に偏在することが分かりました (図)。CD169 陽性細胞特異的にかつ腸炎

発症時に強発現するサイトカイン、CCL8 を同定し、抗 CCL8 抗体投与が DSS 誘導大腸炎の症状を改善することを証明しました。

この研究により、感染性異物の排除と寛容の維持、という一見矛盾する粘膜免疫の機能が、性質の異なるマクロファージ亜集団によってバランスよく制御されていることが分子・細胞レベルで明らかになりました。

### 今後の展望

DSS 誘導大腸炎は、自然免疫の異常による疾患形成の理解には便利なモデルですが、再発と緩解を繰り返しながら徐々に増悪するヒトの炎症性腸疾患の病態を必ずしも反映しません。今回の基礎研究で得られた知見がヒト疾患の形成にどこまで関与するのか、また CD169 マクロファージを標的とした抗体療法がどれだけ実際の治療に寄与できるのか、とても知りたいと思っています。CD169 マクロファージは腸内細菌の他にも、腸上皮に由来する何らかの成分に反応して CCL8 を産生する可能性があります。そのような分子を粘膜炎症における「ダイニングコード」の候補分子の一つとしてクローニングしたいと考えています。



CX3CR1<sup>gfp</sup> マウスの大腸の凍結切片を GFP、CD169、SMA (右) に対する各抗体で染色し、蛍光顕微鏡で観察した。緑の CX3CR1 発現細胞が腸上皮直下に豊富なのにに対し、赤の CD169 発現細胞の局在は上皮から離れた粘膜筋板側に偏っている。

## JAMON Cell Death 2015

九州大学・生体防御医学研究所 山崎 晶



2015年10月21-23日に Walter+Eliza HALL Institute of Medical Research (WEHI) で開催された第1回日豪細胞死研究会/Japan Australia Meeting on Cell Death (JAMON Cell Death 2015)に参加した。WEHI 設立100周年イベントの一貫としても開催された本会(参加者160人)は、初日から最終日まで完璧なアレンジと hospitality で、John Silke をはじめとして Organizing committee のメンバーには心から御礼を申し上げたい。

Melbourne は、WEHI をはじめとして University of Melbourne, Peter MacCallum Cancer Centre と細胞死基礎研究では世界をリードする立場にある。さらに、WEHI は SYNthesis med chem 社と緊密な共同研究開発体制を敷き、様々な細胞死関連分子をターゲットとした低分子化合物を抗がん剤として開発中であり、いくつかは治験の経過も好調だと聞いた。これらの最新設備の研究機関と研究者が狭いエリアに集まり、ダウンタウンにも家にも近く、空港も近い、というストレスの少ない環境のためか、皆リラックスして Science を楽しんでいる雰囲気を感じた。にもかかわらず PI から若手まで、発表の内容は全てオリジナリティ、レベルともに高い内容で、飽きることがなかった。それに対して日本側もオーストラリアに決して劣らない発表で、極めて好評であった。また、領域メンバーの「まとも」なトークを通して聞く機会でもあり、相互理解が深まったのは

予想外の収穫であった。この会を通じて、領域の結束もまた少し深まったようにも思う。

最終日は市庁舎での closing reception が行われた。このような Scientific Meeting に市庁舎を使わせ、市の代表者がわざわざ opening remarks を述べるあたり、自治体が科学を尊重する文化が日本よりも根付いている印象を持った。WEHI の director である Doug Hilton が Shige (長田先生) を壇上に呼んで和やかな挨拶を終えたあと、領域を代表して田中正人先生がスピーチされた。スピーチ終わるまでは「I cannot drink」と言っていた田中先生が途中から変心して「I have to drink」と飲み始め、その勢いもあったのか、本当に素晴らしいスピーチで拍手が鳴り止まなかった。

最後に John のトークも聞きたかったと伝えたら「それはマナーに反するからね」とさわやかな笑顔で答え、米国人とは少し違う国民性も感じた。近年、e-mail や Skype のみでの交流が多くなってきているが、直接会って話し、飲み食いを共にし、人柄に触れて直接交流することで伝わるものもあることを改めて再認識した。近い将来、是非日本で第2回を開催し、今回構築した貴重な人的ネットワークを継続、発展させていけたらと切に思った。

最後に、本会の発案者の1人である中野先生、様々な調整にご尽力頂いた田中正人先生に心より敬意を表し、報告を終えたい。



## JAMON Cell Death 2015

千葉大学・大学院医学研究院・医学部 粘膜免疫学 武村 直紀



10月21日より、本研究領域とオーストラリア The Walter and Eliza Hall Institute との共催で、メルボルンにて開かれた Japan Australia Meeting ON CELL DEATH に参加した。私は専ら腸管の免疫機能を研究しており、今回のポスターセッションでは、放射線被曝して細胞死した小腸上皮細胞が、自然免疫機能を活性化して二次的な炎症を誘発し、組織損傷を増悪させることについて発表した。これまで私が参加していた学会は免疫学を主体としたものが多く、細胞死研究の観点から意見を頂くことは少なかったため、勉強することの多い貴重な機会であった。

参加された全ての方々を感じられたことであると思うが、非常に多く演題があるものの、進行の早さが丁度良く、また重鎮の先生方から新進気鋭の若手までが気さくに議論し合えることができる雰囲気醸し出され、細緻に至るまで配慮の行き届いた会であった。細胞の死に関する研究を参加者が実に生き生きと楽しむ様に、奇妙な対比を覚えた。数々たる演題の内容は非常に幅の広いものであり、形態形成や癌治療における細胞死の役割に関する旧来の概念に新たな展開を与える研究のほか、私にとって馴染みのある免疫学の分野では、組織炎症だけでなく宿

主防御においてまで細胞死が重要な起点となっていることについて議論されていた。別のものとしては、新規イメージング技術の開発も見受けられ、今後は細胞死の形態、発生の場所や時期について、in vitro はおろか in vivo でも事細かに解析できる時代になるうとしているように思えた。このような技術によって、ことのほか疾病状態へと至る過程が長期的な慢性炎症や癌の発生における細胞死の役割について新たな知見が得られそうだと思っていた矢先、すでに日本の諸先生方により解析のメスが入り始めていることに、細胞死研究の進展の早さと自分の不勉強さを思い知らされた。会の内容が重厚であったと言う間に時が過ぎ、せっかくのオーストラリアをほとんど観光することなく帰国してしまったが、国内外を問わず多くの方々と知り合うことができ、後日に日本免疫学会で再会して親交を深めることもできた。新たに築けた繋がりが、今回の学会参加で得た何よりの財産であったと思う。

最後に、私の所属する研究室長の植松智教授より今回の貴重な勉強の機会をお与え頂いたこと、また本研究領域より海外派遣として多大なる旅費支援を頂いたことに、この場で改めて深く感謝を申し上げたい。

## Japan Australia meeting on Cell death に参加して

東京大学・大学院理学系研究科・生物科学専攻 上村研究室 白崎 善隆



私は本新学術領域研究の海外派遣支援により、平成27年10月21日から23日の3日間に渡って、オーストラリア連邦ビクトリア州メルボルンのThe Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research (WEHI)において開催されたJapan Australia meeting on Cell deathに参加いたしました。本研究会は本領域研究とWEHIを中心に主催され、細胞死研究をリードする多くの研究者の最先端の研究内容を聴講できる有意義な会議でした。これまで生物物理学とマイクロフルイディクスを中心に研究を行ってきた私にとっては、これほどまでに細胞死、特にインフラマソームやIL-1 $\beta$ 分泌の関わる話題が豊富な国際会議は初めての経験でした。本研究会では、私はこれまでに開発を行ってきた実時間1細胞分泌イメージングを用いた細胞死に伴うIL-1 $\beta$ 分泌の可視化について発表しました。IL-1 $\beta$ は分泌機構の詳細が明らかになっていないことから、実時間1細胞分泌イメージング技術を評価するのに適した題材であるといった観点から研究を進めて来ましたが、本研究会で発表することで、細胞死研究においてIL-1 $\beta$ の分泌と細胞死の関係の詳細を明らかにすることが非常に重要であることを改め

て実感しました。というのも、私たちが見出した単球や腹腔マクロファージからの細胞死（細胞死染色で示される細胞膜の開孔）に伴うIL-1 $\beta$ の一過的大量放出とは異なり、Dr. Kate SchroderやDr. James Vinceのグループらは好中球やマウス胎児繊維芽細胞から生きたままIL-1 $\beta$ 分泌が見られる事を発表されており、お互いに有意義なディスカッションが出来たのではないかと思います。

本研究会は発表内容もさる事ながら、俳句や細胞死を模した日豪国のイラスト、Jam タルトなど随所に洒落の効いた工夫が織り込まれており、細胞死研究を楽しく盛り立てて行こうという気概を感じました。このような素晴らしい研究会で、生涯初のベストポスター賞を受賞出来た事を誇りに思うとともに、今回得る事が出来た知識や繋がりをもとに、今後も本学術領域研究に貢献出来るよう精進したいと思います。最後に、本研究会への参加をご支援頂き、このような貴重な機会を与えてくださった新学術領域研究ダイニングコードの皆様に感謝致します。

## The 1st Asian Conference on Chemosensors and Imaging Probes (Asian-ChIP 2015) に参加して



東京工業大学・資源科学研究所 佐藤 伸一

11月16～18日に韓国ソウルで開かれた the 1st Asian Conference on Chemosensors and Imaging Probes (Asian-ChIP 2015) に参加してまいりました。韓国、中国をはじめ、日本、インド、台湾、タイ、シンガポール、イスラエルといったアジアの国からの多くのイメージング研究者が集まり、口頭発表63演題、ポスター発表70演題といった規模の学会でした。イメージングの研究分野の中でも、低分子プローブ、蛍光ナノパーティクル、蛍光タンパク質タグ、化学・生物発光と幅広い分野の第一線の研究を行っている多くの研究者（多くは化学者）が集まり、第一回目の企画の国際学会でありましたが、内容的にも非常にレベルの高い学会でありました。

学会を通して、個人的にこの分野のホットなトピックと感じたことは、(1) 低分子プローブどうしのアグリゲーションを利用したプローブ開発、(2) 目的の生体内シグナル、酵素活性測定のための蛍光 Trun-ON プローブ分子設計、(3) 2光子励起プローブ、(4) in vivo での近赤外蛍光プローブ等でありました。細胞死関連の研究としては、マクロファージ産生 HClO の近赤外プローブ、カスパーゼファミリーの活性をリアルタイムに測定する蛍光プローブの in vivo への応用も活発に研究されている様子でありました。また、各オルガネラに選

択性を持たせた蛍光プローブも多くの研究グループで精力的に研究されており、フェロトキシ関連ではリソソーム膜の過酸化を選択的に検出するプローブの開発は興味深く聴講しました。

私のポスター発表では、現在行っておりますヘムタンパク質のイメージング技術と細胞死シグナル解析への展開について発表し、活発な議論ができたと感じております。幸運なことに今回 Poster Presentation Award を受賞することができました。また、学会で知り合えた韓国の研究グループとはヘムタンパク質解析の共同研究へと話が進展し、大変有意義な学会参加となりました。懇親の場でも各国のプローブ開発研究者と繋がりを持てたことも大きな成果でありました。

学会会場は韓国金浦空港から一駅の Digital Media City という近代的な街並みの都市でありましたが、少し歩くと昔ながらの活気のある飲み屋街があり、夜の韓国の町も満喫できました。キンキンチャリチャリに冷えたマッコリが格別でありました。

最後になりましたが、本学会の参加をご支援くださいました新学術ダイニングコード総括班海外派遣助成、領域研究者の皆様には感謝申し上げます。

## 電子顕微鏡支援事業について

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・病態細胞生物学 荒川 聡子



総括班支援として、透過型電子顕微鏡を用いた微細構造解析を行っております。

電子顕微鏡は汎用的な透過型電子顕微鏡（日本電子 JEOL1010, 100kV）を用いています。培養細胞やマウスの各組織の観察が可能です。電子顕微鏡観察は、原則として共同研究として行います。

以下に、解析の手順と試料調製法についてご案内いたします。

### 1. 申し込み方法について

ホームページ「ダイニングコード」領域内情報の「電子顕微鏡観察について」のリンクにある申し込み用紙に記載し、依頼をお願いします。申込書は、田中正人領域代表と荒川の両方に、メールでお送りください。

### 2. サンプル調整について

- (1) 固定は支援者（荒川）が行います。サンプルは、コントロールを含め4サンプルまでとします。
- (2) 固定法は、培養細胞やマウスでは一般的な化学固定法を用います。酵母など、細胞壁のある細胞の場合は急速凍結置換法を行います。

#### (3) 培養細胞の場合

サンプルを宅急便にて送付、あるいは、支援者の研究室に御持参ください。接着細胞の場合、12wellのプレートに直径15-18mmのカバーガラスを敷き、培養してください。カバーガラスにコラーゲンコート等の処理をすることは問題ありません。また、細胞死の観察では、死んだ「あと」ではなく、死にゆく「前」の段階で細胞を固定しますので、細胞が全体の5-6割程度生きている状態を固定時間の目安にしてください。実験条件や操作の都合上ご自身の研究室、あるいは依頼者の研究室にて培養を行いたい場合、ご相談ください。場合によって出張固定します。

#### (4) 成体マウスの場合

遺伝子改変マウス等、依頼者の研究施設より持ち出しができない場合は、支援者が出張固定いたします。基本

的に、灌流により一次固定を行い、二次固定は支援者の研究室にて行います。

#### (5) 胎仔・新生仔マウスの場合

日程や実験条件をご相談ください。出張固定いたします。genotypingの結果を支援者まで当日のうちにお知らせください。その結果をみてから二次固定を支援者の研究室で同日中に行います。

#### (6) 酵母細胞や単細胞微生物の場合

細胞壁のある細胞の場合、急速凍結置換法を用いて固定します。持ち出しできない細胞の場合、依頼者の研究室にて固定操作を行います。液体窒素、ドライアイスのご用意をお願いします。細胞は軽く遠心した状態で50 $\mu$ Lあれば大丈夫です。

#### (7) その他の生物の場合

支援者に魚類、線虫、昆虫等の観察経験はありませんが、それでもよろしければご相談ください。

#### (8) 共焦点顕微鏡等の観察部位の電子顕微鏡観察 (CLEM) の場合

生細胞を共焦点撮影後に電顕用の固定をすることはできませんので、前もってこちらの指定するカバーガラス、固定液を用いて共焦点顕微鏡での観察が可能かご確認いただいてから、依頼をお受けすることになります。また、観察したい細胞内の構造の大きさやその多寡により、必ずしも共焦点顕微鏡写真と電顕写真のMergeが成功するとは限りませんので、あらかじめご了承ください。

### 3. データについて

電子顕微鏡撮影が終わりましたらご連絡します。できれば支援者の研究室までいらしていただき、結果についてご報告したいと思いますので、よろしくおねがいします。また、電子顕微鏡写真の撮影はフィルムで行いますが、依頼者にはデジタルデータでお渡しすることになります。

## メタボローム解析支援事業についての概要

理化学研究所・環境資源科学研究センター/山形大学・農学部 及川 彰



総括班支援の一つとしてメタボローム解析プラットフォームを用意しています。本領域における研究対象である様々な死細胞に含まれる、あるいは死細胞から放出される低分子化合物を網羅的に調べます。メタボローム解析は、対象サンプルの種類を限定しないため、様々な状態の細胞だけでなく培養液の分析も可能です。

本プラットフォームで用いているキャピラリー電気泳動質量分析装置(CE-MS)は、イオン性化合物の分離・検出に優れています。検出可能な化合物には、アミノ酸や糖リン酸、有機酸、ヌクレオチ(シ)ドなど多くの一次代謝物が含まれ、解糖系やクエン酸回路、ペントースリン酸回路などエネルギー生産に重要な代謝経路に存在する化合物を多くカバーしています。加えて、生物活性の報告されているポリアミンや一部の胆汁酸なども同時に検出することが可能で、一度の分析で多くの情報を得ることができます。

サンプルの依頼からデータの返信までの手順は以下の通りです。

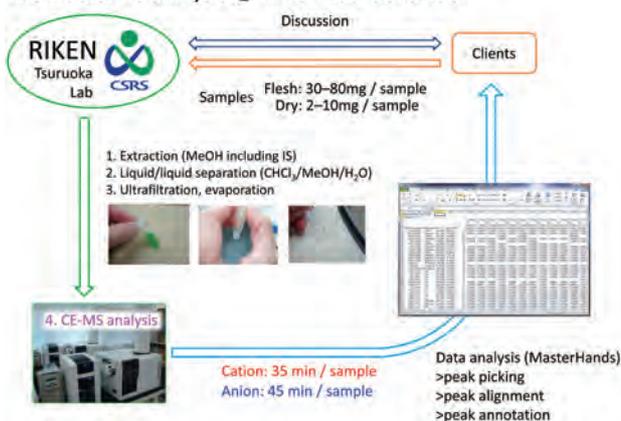
- ①あらかじめサンプルの内容や数について打合せが必要です。その際、対象化合物や分析期日などがあれば相談に応じます。また、これまでに分析したことの無い対象がサンプルの場合、分析に必要な量などが分かりませんので、まずは予備試験を行います。
- ②次に、適量に秤量していただいた本番のサンプルを送っていただくことになります。サンプルには単純な数字を振っていただき、そのサンプル番号とサンプル内容(新鮮重、細胞数など)の対応表をエクセル表で作っていただき、メール添付で送っていただきます。培養細胞の場合は、1%マンニトール溶液で何度か洗浄していただいた細胞を遠心分離でペレット状にしたものを、凍結して送っていただくことが多いです。凍結乾燥が可能な場合は凍結乾燥して抱いても構いません。

ん。動物臓器などにつきましては、標量後、指定のチューブに入れていただき送っていただきます。血液(血清)や培養液はそのまま凍結して送っていただいで結構です。

- ③理研で抽出・前処理、およびCE-MS解析を行います。さらに、得られたデータに代謝物名を充てるなどの処理を行った後、csvファイルでデータをお送りします。
- ④メタボロームデータの統計解析などが必要でしたら、直接打合せなどを行い対応いたします。

メタボローム解析は、細胞の種類や状態の違いにおけるバイオマーカーの探索に適しています。未知(アノテーションの付かない)ピークも含め、サンプル間での差をとり、有意な含量の違いを示した代謝物を特定することが期待できます。また、細胞の成長または死滅段階におけるタイムコースや、化合物処理の容量応答(dose response)などを詳細に調べることによって、それぞれの表現型と生体内の代謝状態の関係が把握できる可能性があります。当然、“良い”データが出ないこともあります。実験自体はそれほど複雑なものでもありませんので、お試してみてくださいは如何でしょうか?!

### Metabolomic analysis @ RIKEN Tsuruoka Lab



## 理化学研究所 和光地区一般公開における アウトリーチ活動

理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室 闔 孝介



理化学研究所では普段研究現場を見ることのできない一般の方に、研究所で行われている研究活動を理解していただくこと、またそれをきっかけに科学技術に興味を持ってもらうことを目的として、全国に点在する各支所（和光、横浜、神戸、筑波、仙台、播磨、大阪）それぞれで一般公開を行っている。和光地区では例年4月中下旬の土曜日に行っており、毎年多くの来場者で賑わう（平成24年7600名、平成25年8483名、平成26年11281名）。アンケートによると来場者のうち3割以上が10代であり、高校生を中心とした層が多数参加する会となっている。

私が所属する袖岡有機合成化学研究室では、この一般公開で毎年一般向けの展示と最近の研究内容の発表・説明を行っている。本年度は4月18日（土）に行われ、研究発表の一つとして本新学術領域が対象とする細胞死研究に関して、領域で作成したパンフレットを配布しながら、ポスターを用いて説明を行った（写真）。「アポトーシス」に関しては比較的知っている方も多かったが、他

の細胞死になると全く知らないという方が多く、細胞死にいろいろなタイプがあることなどは大変興味深く聞いていただけた。また、死んだ細胞が周りの細胞に情報発信を行うという話は、予想外であり驚かれる方も多かった。本概念の説明においてダイニングコードというネーミングは、一般の方には非常にキャッチーでわかりやすい言葉であったように感じる。

本年度の和光地区一般公開の来場者数は7064名であり、そのうち本ブースへの来場者は小中学生から一般の方、大学院生やポスドクなど実際に研究現場にいる人まで幅広く、最終的におよそ200名程度であった。細胞死と疾患の関連性や細胞死の阻害剤が新しい創薬につながる可能性など、今後の展開を期待される方も多く、本研究領域に対する一般の方々の興味・関心の高さがうかがえる。今後もこの一般公開で細胞死研究の重要性を発信できるように努めたい。



## 今後の会議・学会予定

### 日本薬学会第136年会

2016年3月26日(土)～29日(火)

パシフィコ横浜

### 新学術領域 ダイニングコード 第二回班会議

2016年5月20日(金)～21日(土) 金沢

ガーデンホテル金沢

### Cell Death and its Translational Ramification

2016年6月2日(木)～4日(土)

The Kingsley Hotel, Victoria Cross, Cork, Ireland

<http://www.celldeath-apoptosis.org>

### The International Congress of Immunology 2016

2016年8月21日(日)～26日(金)

Melbourne, Australia

### 第25回日本 Cell Death 学会

2016年9月9日(金)～10日(土)

品川区立総合区民会館

### 第89回日本生化学学会大会

2016年9月25日(日)～27日(火) 仙台

<http://www.aeplan.co.jp/jbs2016/>

### 第45回日本免疫学会学術集会

2016年12月5日(月)～7日(水) 沖縄

## 総括班

研究代表者	田中 正人	東京薬科大学・生命科学部
研究分担者	荒川 聡子	東京医科歯科大学・難治疾患研究所
	大村谷昌樹	熊本大学・生命資源研究支援センター
	須田 貴司	金沢大学・がん進展制御研究所
	袖岡 幹子	理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室
	田中 稔	国立国際医療研究センター研究所
	中野 裕康	東邦大学・医学部
	安友 康二	徳島大学・大学院医歯薬学研究部
	山口 良文	東京大学・大学院薬学系研究科
連携研究者	山崎 晶	九州大学・生体防御医学研究所
	及川 彰	独立行政法人理化学研究所・環境資源科学研究センター
班友	内山 安男	順天堂大学・大学院医学研究科
	清水 重臣	東京医科歯科大学・難治疾患研究所
研究評価者	辻本 賀英	大阪府立成人病センター研究所
	長田 重一	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター
	三浦 正幸	東京大学・大学院薬学研究科

## 計画研究班 A 01

研究課題名	研究代表者/分担者	所属・役職
パイロトーシスの分子機構と役割	(代表) 須田 貴司	金沢大学・がん進展制御研究所
細胞死制御化合物の開発と応用	(代表) 袖岡 幹子	理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室
	(分担) 鬨 孝介	理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室
計画的ネクローシス誘導マウスの樹立とその生体応答機構の解明	(代表) 中野 裕康	東邦大学・医学部 医学科
	(分担) 大村谷昌樹	熊本大学・生命資源研究・支援センター・技術開発分野
生体における多様な細胞死シグナルの可視化・検出系の開発	(代表) 山口 良文	東京大学・大学院薬学系研究科
	(分担) 荒川 聡子	東京医科歯科大学・難治疾患研究所

## A 02

研究課題名	研究代表者/分担者	所属・役職
食細胞による死細胞の貪食機構とそれに伴う免疫制御機構の解明	(代表) 田中 正人	東京薬科大学・生命科学部
肝幹細胞による肝再生を促進するダイニングコードの解明	(代表) 田中 稔	国立国際医療研究センター研究所
細胞死制御異常によるヒト遺伝性疾患の病態解明	(代表) 安友 康二	徳島大学・大学院医歯薬学研究部
細胞死に伴って放出される内因性糖脂質アジュバントの同定	(代表) 山崎 晶	九州大学・生体防御医学研究所
	(分担) 宮本 智文	九州大学・薬学部

## 公募研究班 A01

研究課題名	研究代表者/分担者	所属・役職
脂肪肝再生過程での細胞死制御メカニズムの 解明	(代表) 井上 啓	金沢大学・新学術創成研究機構栄養・ 代謝研究ユニット
心不全の原因となる脂質酸化依存的フェロ トーシス様新規細胞死の分子メカニズムの解析	(代表) 今井 浩孝	北里大学・薬学部
in vivo の核の分解過程に着目した新しい 細胞死経路の探索	(代表) 小池 正人	順天堂大学・大学院医学研究科
活性化ヘム検出に立脚した活性酸素誘導性 細胞死の評価系開発	(代表) 佐藤 伸一	東京工業大学・資源化学研究所
細胞死を起点とするダイニングコード授受の 1細胞実時間イメージング	(代表) 白崎 善隆	東京大学・大学院理学系研究科・生物科学専攻
異常レベルに応じた選択的な細胞死誘導	(代表) 谷口喜一郎	学習院大学・理学部・生命科学科
CRISPR ゲノム編集法による Caspase-11 依存的パイロトーシスの解析	(代表) 山本 雅裕	大阪大学・微生物病研究所/大阪大学・免疫 学フロンティア研究センター
caspase-8と10それぞれが阻害する 二種類の新規細胞死の解析	(代表) 米原 伸	京都大学・生命科学研究科

## A02

研究課題名	研究代表者/分担者	所属・役職
ネクロプトーシスにより発症する重症薬疹の 機序解明	(代表) 阿部理一郎	新潟大学・医歯学総合研究科
肝細胞死に応答して肝臓の線維化および再生 を誘導・制御する新規ストローマ細胞の解析	(代表) 伊藤 暢	東京大学・分子細胞生物学研究所
急性、慢性放射線腸障害における ダイニングコードの解明	(代表) 植松 智	千葉大学・大学院医学研究院/東京大学・医 科学研究所国際粘膜ワクチン開発研究セン ター
計画的細胞死に共役した細胞内小胞輸送の 改変と細胞外シグナルの生成	(代表) 鎌田 英明	広島大学・大学院医歯薬保健学研究院
抗癌剤により死滅した癌細胞に対する 自然免疫応答の解析	(代表) 河合 太郎	奈良先端科学技術大学院大学・ バイオサイエンス研究科
細胞死を介した免疫調節因子の放出機序と その意義の解明	(代表) 齊藤 達哉	徳島大学・疾患酵素学研究センター
成体脳の嗅球ニューロン再生に おける死細胞の貪食の役割	(代表) 澤本 和延	名古屋市立大学・大学院医学研究科
脳虚血後の細胞死が誘導する脳修復 メカニズムの解明	(代表) 七田 崇	慶應義塾大学・医学部
粘膜上皮ダイニングコードによる 炎症応答制御機構の解明	(代表) 渋谷 彰	筑波大学・医学医療系・ 生命領域学祭研究センター
組織の修復と破壊を促進する ダイニングコードの解明	(代表) 菅波 孝祥	名古屋大学・環境医学研究所
網膜神経細胞死に起因するシグナルネット ワークにおける小胞体ストレス応答の重要性	(代表) 宝田 美佳	金沢大学・医薬保健研究域医学系
筋線維芽細胞による死細胞の貪食が組織の 線維化に及ぼす影響の解析	(代表) 仲矢 道雄	九州大学・大学院薬学研究院
切断軸索からのダイニングコード	(代表) 久本 直毅	名古屋大学・大学院理学研究科



細胞死を起点とする生体制御ネットワークの解明

## **DYING CODE NEWSLETTER**

ダイイングコード ニュースレター

第2号 (2016年3月発行)

編集人 徳島大学 大学院医歯薬学研究部 教授 安友 康二

発行人 東京薬科大学 生命科学部 教授 田中 正人

発行所 東京薬科大学 生命科学部 免疫制御学研究室

〒192-0392 東京都八王子市堀之内1432-1

Phone : (042) 676-5968

印刷 株式会社 教育出版センター

領域ホームページ <http://www.dying-code.jp>