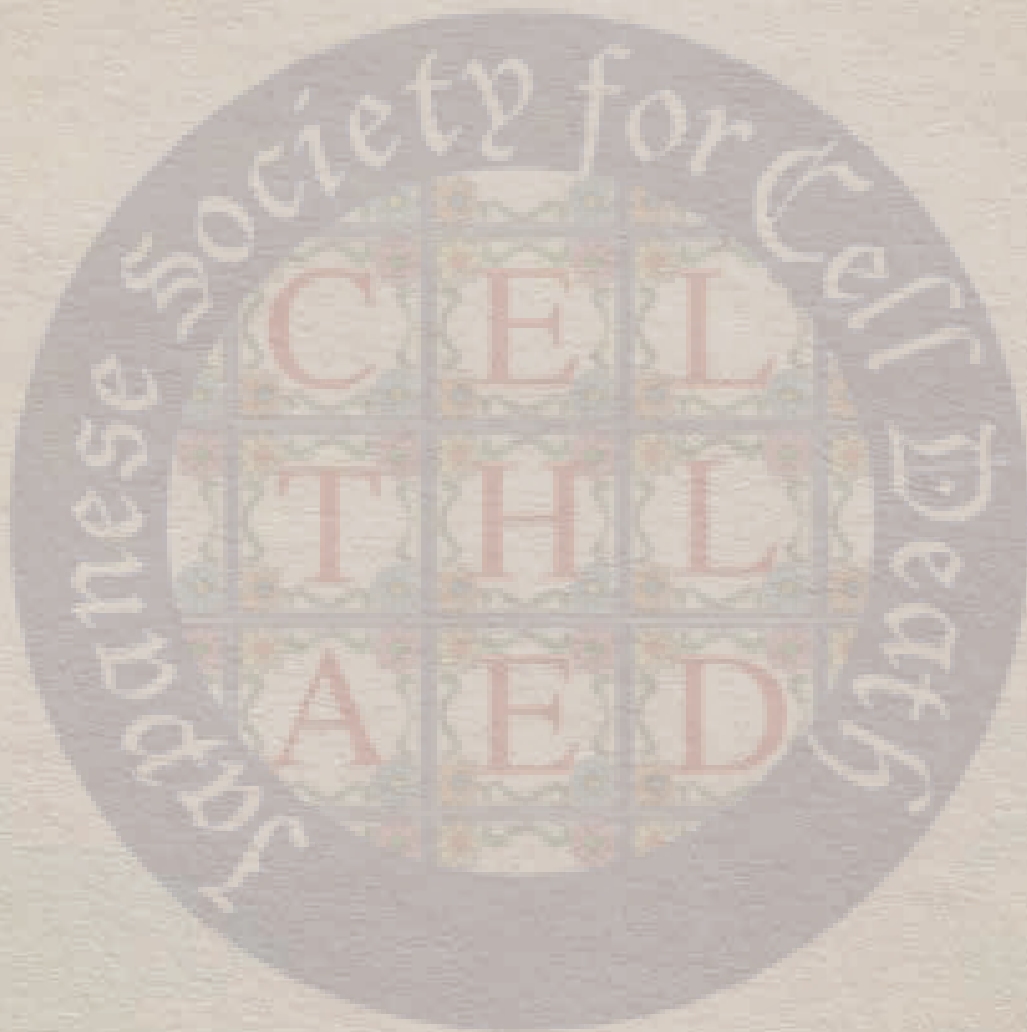


第29回日本Cell Death学会学術集会

The 29th Annual Meeting of The Japanese Society for Cell Death Research



日時

2021年7月26日(月)~27日(火)


会場

オンライン開催

会頭

鏑田 武志

(東京医科歯科大学)



私だけの 治療法をください。

同じ病気だとしても、
私たち患者はそれぞれ別の人間です。
病気の性格も、
薬の効き方も、みんな違う。
治し方は、人の数だけ
あるべきじゃないですか。

一人ひとりの遺伝子に基づく
「個別化医療」に貢献しています。

創造で、想像を超える。



すべての革新は患者さんのために

CHUGAI

中外製薬

Roche ロシュグループ

第 29 回

日本 Cell Death 学会学術集会

プログラム抄録集

- 【日 時】 2021年7月26日（月）～27日（火）
- 【会 場】 オンライン開催
- 【会 頭】 鏑田 武志（東京医科歯科大学）
- 【組織委員】 三浦 正幸（東京大学）
中野 裕康（東邦大学）
高橋 良輔（京都大学）
- 【事務局】 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 免疫疾患分野内
〒113-8510 東京都文京区湯島1-5-45
TEL : 03-5803-5835
E-mail : celldeath29.imm@mri.tmd.ac.jp

ご挨拶

昨年来世界は、COVID-19の流行というスペイン風邪流行以来の世界的な公衆衛生の危機に見舞われています。このため2020年に予定されていた第29回日本 Cell Death 学会学術集会が1年延期となり、もともと2021年の学術集会の会頭に決まっていた東京医科歯科大学の鏑田が、第29回日本 Cell Death 学会学術集会の会頭をつとめることになりました。



細胞死研究は、その黎明期のような万能感こそありませんが、着実にそのメカニズムや疾患における役割の解明が進んでいます。本学術集会では、このような研究の発展を背景に、「除去の細胞生物学」「細胞死と炎症・疾患」「フェロトーシス研究の最前線」の3つのシンポジウムをそれぞれ京大の鈴木淳先生、名古屋大の菅波孝祥先生、北里大の今井浩孝先生にオーガナイズ頂きました。若手の第一線の研究者を中心に、臨床部門の研究者や女性研究者も含め多様な研究者に発表頂きます。特別講演は、虚血再灌流傷害の制御での制御性T細胞の役割の解明などで優れた研究を展開されている慶應大の吉村昭彦先生と、細胞老化研究の第一人者である原英二先生にお願いしています。一般演題はオンライン開催の利点を生かし、全ての演題を一般口演として発表して頂きます。大学院生や若手研究者の優秀発表には、ベストプレゼンテーション賞を授与いたします。なお、コンピューター関係のスタッフは配置していませんので、トラブルがあった場合にはすぐに対応できない場合があります。あらかじめご了承ください。

COVID-19の流行により移動が制限された結果、研究者が交流を深め、研究におけるアイデアを交換することが難しくなっています。本学術集会もできるだけ対面で行いたいと準備を行なって参りましたが、会期中も緊急事態宣言が発令された状態となり、オンライン開催とせざるをえなくなりました。このような状況の中でも、本学術集会では専門性や背景の異なる研究者や大学院生が細胞死をキーワードとして少しでも交流を深め、アイデアを交換することで、創造的な研究が生まれる場にできればと考えています。有意義な学術集会となりますよう多くの皆さんの積極的なご参加をお願いいたします。なお、総会終了後にオンライン懇親会を開催いたしますので、是非交流にご活用ください。

第29回日本 Cell Death 学会学術集會会頭
東京医科歯科大学難治疾患研究所 鏑田武志

日程表

1日目 7月26日 (月)

9:00	
9:30	
10:00	開会のことば 9:50-10:00 10:00-12:00
10:30	シンポジウム I 「除去の細胞生物学」 座長：鈴木 淳 池田 史代
11:00	
11:30	
12:00	
12:30	
13:00	13:00-15:00
13:30	シンポジウム II 「細胞死と炎症・疾患」 座長：菅波 孝祥 七田 崇
14:00	
14:30	
15:00	
15:30	15:20-16:35
16:00	一般口演 I 座長：須田 貴司
16:30	
17:00	16:45-17:45
17:30	特別講演 I 演者：吉村 昭彦 座長：中野 裕康
18:00	

2日目 7月27日 (火)

9:00	9:00-11:00
9:30	
10:00	シンポジウム III 「フェロトーシス研究の最前線」 座長：今井 浩孝 闖 孝介
10:30	
11:00	11:10-12:10
11:30	特別講演 II 演者：原 英二 座長：椛島 健治
12:00	
12:30	
13:00	13:10-15:00
13:30	一般口演 II A会場 座長：刀祢 重信 清水 重臣
14:00	一般口演 II B会場 座長：瀬川 勝盛 齊藤 達哉
14:30	
15:00	15:10-15:40
15:30	総会
16:00	ベストプレゼンテーション賞発表と閉会のことば 16:00-17:30
16:30	オンライン懇親会
17:00	
17:30	
18:00	

参加者へのご案内

□受付

- ◆本学術集会についてのご問い合わせは以下にお願いします。

第29回日本 Cell Death 学会学術集会事務局 celldeath29.imm@mri.tmd.ac.jp

- ◆当日参加の際には、参加登録フォームにご記入の上、上記事務局までご連絡ください。参加費は以下の要領で後ほどお支払いください。
- ◆事前登録された方で、まだ参加費をお支払いでない場合は、以下の要領で参加費をお支払いください。

参加費	
一般（会員）	5,000円
一般（非会員）	10,000円
大学院生	2,000円
学部学生	無料

銀行名	ゆうちょ銀行
店名	一三八（イチサンハチ）
店番	138
預金種目	普通預金
記号	11310
番号	02657191
口座名義	第29回日本 Cell Death 学会学術集会組織委員会 (ダイニジュウキュウカイニホンセルデスガツカイガクジュツシュウカイソシキイインカイ)

□学術集会への参加方法

- ◆本学術集会はZoom meeting roomを用いて行います。あらかじめソフトのダウンロードなどの準備をお願いします。
- ◆Zoom meeting room の ID とパスコードは参加登録されている方にメールでお知らせします。1日目、2日目とオンライン懇親会で別の ID とパスコードを使用します。ID とパスコードは参加登録者以外には開示しないようにお願いします。
- ◆Zoom meeting room にログインする際には、本名でログインを行い、所属も記載してください。例：山田太郎（東大薬学）
- ◆発表内容の録音・録画はご遠慮ください。
- ◆発言される場合を除いて常にミュートをオンにし、また、通信の負荷を軽減するためにビデオはオフにしてください。発言される場合には、ビデオをオンにしてください。
- ◆質問の際には、チャットまたは挙手をお願いします。挙手の場合には座長の指示にしたがって、ミュートをオフにし、質問してください。
- ◆2日目の一般口演Ⅱは2つのブレイクアウトルームに分かれて行います。ブレイクアウトルームはセッション開始30分前に開場します。A会場またはB会場を選択してご参加ください。セッション中は自由に両会場間を移動できます。メインセッションからブレイクアウトルームへの移動は「ブレイクアウトルーム」をクリックしてください。また、A会場とB会場間の移動の際には、「詳細」→「ブレイクアウトルーム」とクリックしてください。メインセッションに戻る場合には「ルームを退出する」→「ブレイクアウトルームを退出」とクリックしてください。
- ◆コンピューター関係のスタッフは配置していませんので、トラブルがあった場合にはすぐに対応できない場合があります。あらかじめご了承ください。

発表者へのご案内

●発表者および座長の皆様へ

- ◆セッションが始まる前に必ず接続のテストをお願いします。
- ◆発表中はビデオオンをお願いします。
- ◆タイマーの表示を行いますが、不具合があった場合に備えご自身でも計時をお願いします。
- ◆発表および質疑応答の時間はプログラムでご確認ください。時間厳守をお願いします。
- ◆質疑応答の時間は十分にとっていますが、時間が足りない場合には、チャットでの質疑応答をご利用ください。

□ベストプレゼンテーション賞

本学術集会では、以下の要領でベストプレゼンテーション賞を授与します。

- ◆資格：40歳以下の一般口演の発表者でエントリーをしたもの
- ◆カテゴリー：大学院生とそれ以外の40歳以下の研究者（若手研究者）の2つのカテゴリーで選考を行います。
- ◆受賞者の人数：大学院生と若手研究者のそれぞれのカテゴリーで若干名
- ◆副賞：未定
- ◆発表：2日目総会終了後

協賛企業

アレクシオンファーマ合同会社

中外製薬株式会社

日本メジフィジックス株式会社

50音順

ご協力いただきましたことを、心より感謝申し上げます。

プログラム

第1日目		2021年7月26日(月)
9:50-10:00	開会のことば	
10:00-12:00	シンポジウム I 「除去の細胞生物学」 座長：鈴木 淳(京都大学) 池田 史代(九州大学)	
S1-1	10:00-10:25	スクランブラーゼ Xkr4の活性制御機構 京都大学 高等研究院 物質-細胞統合システム拠点 圓岡 真宏
S1-2	10:25-10:45	細胞競合の敗者を決定づける分子メカニズム 京都大学 生命科学研究所 永田 理奈
S1-3	10:45-11:10	新規ユビキチンコードとその生理学的役割 九州大学 生体防御医学研究所 池田 史代
S1-4	11:10-11:35	傷ついたリソソームを除去するメカニズムとその生理学的意義 大阪大学 大学院生命機能研究科/大阪大学 大学院医学系研究科/大阪大学 高等共創研究院 中村 修平
S1-5	11:35-12:00	プロテアソームの機能制御と病態 東京大学 大学院薬学系研究科 村田 茂穂
12:00-13:00	昼休み	
13:00-15:00	シンポジウム II 「細胞死と炎症・疾患」 座長：菅波 孝祥(名古屋大学) 七田 崇(東京都医学総合研究所)	
S2-1	13:00-13:20	精緻な細胞間相互作用からみた腎臓病 京都大学 医学研究科腎臓内科学/京都大学 高等研究院ヒト生物学高等研究拠点 柳田 素子
S2-2	13:20-13:40	脳組織の虚血壊死に伴う炎症と修復の開始メカニズム 東京都医学総合研究所脳卒中ルネサンスプロジェクト/日本医療研究開発機構 AMED-CREST 七田 崇
S2-3	13:40-14:00	肝細胞の恒常性維持に関与する BH3-only タンパクの検討 大阪大学 大学院医学系研究科 消化器内科学 疋田 隼人
S2-4	14:00-14:20	NASH 発症における死細胞貪食・処理の病態生理的意義 名古屋大学 環境医学研究所メタボ栄養科学寄附研究部門/ 神奈川県立産業技術総合研究所「貼るだけ人工臓器」プロジェクト 伊藤 美智子
S2-5	14:20-14:40	細胞死を起点とした線維化研究 九州大学 薬学研究院疾患制御学分野 仲矢 道雄
S2-6	14:40-15:00	CD72による死細胞への B 細胞自己免疫応答の抑制 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 免疫疾患分野 赤津 ちづる
15:00-15:20	休憩	
15:20-16:35	一般口演 I 座長：須田 貴司(金沢大学)	
O1-1	15:20-15:35	ミトコンドリアマトリックスに存在するカスパーゼ活性の解析 東京大学 大学院薬学系研究科 篠田 夏樹
O1-2	15:35-15:50	NET 形成機構における MPO 依存的な脂質酸化の関与 東京薬科大学 大学院 生命科学研究所 免疫制御学研究室 徳弘 拓斗
O1-3	15:50-16:05	Tim4を介するカーボンナノチューブ認識機構 立命館大学 薬学部免疫微生物学研究室 中山 勝文
O1-4	16:05-16:20	FGF18は NASH における肝線維化に関与する 東邦大学 医学部生化学/東京理科大学 先進工学研究科生命システム工学専攻 小林 謙太
O1-5	16:20-16:35	うつ病モデルマウスにおける NETs 形成を介したフィブリン血栓形成機序の解明 京都府立医科大学 循環器腎臓内科 杉本 健
16:45-17:45	特別講演 I 脳内組織損傷後の自然免疫と獲得免疫 慶應義塾大学 医学部 微生物学免疫学教室 吉村 昭彦 座長：中野 裕康(東邦大学)	

プログラム

第2日目		2021年7月27日(火)	
9:00-11:00		シンポジウムⅢ「フェロトーシス研究の最前線」 座長：今井 浩孝（北里大学） 関 関 孝介（理化学研究所）	
S3-1	9:00-9:20	GPx4による制御されるフェロトーシスとリポキシトーシスの分子メカニズムの解析 北里大学 薬学部衛生化学 今井 浩孝	
S3-2	9:20-9:40	フェロトーシス誘発に関わる酸化脂質はどのような分子が、どこで生成しているのか？ 九州大学 大学院薬学研究院/AMED-CREST 山田 健一	
S3-3	9:40-10:00	酸化ストレス誘導性ネクローシスを制御する化合物の開発：フェロトーシスとの関連性 理化学研究所 開拓研究本部 袖岡有機合成化学研究室/ 理化学研究所 環境資源科学研究センター 触媒・融合研究グループ 関 関 孝介	
S3-4	10:00-10:20	非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）におけるフェロトーシスの関与 国際医療研究センター研究所/東京大学 定量生命科学研究所 田中 稔	
S3-5	10:20-10:40	冬眠する哺乳類シリアンハムスターのフェロトーシス様低温誘導性細胞死への耐性と そのビタミンE依存性 北海道大学 低温科学研究所 冬眠代謝生理発達分野 山口 良文	
S3-6	10:40-11:00	フェロトーシス抵抗性と発がん 名古屋大学 大学院医学系研究科生体反応病理学 豊國 伸哉	
11:10-12:10		特別講演Ⅱ 細胞老化の役割とその制御 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/ 大阪大学感染症総合教育研究拠点 原 英二 座長：花島 健治（京都大学）	
12:10-13:10		昼休み	
13:10-14:49		一般口演Ⅱ A会場 座長：刀 祢 重信（東京電機大学） 清水 重臣（東京医科歯科大学）	
O2A-1	13:10-13:21	Scribble欠損細胞からASK1-p38経路を介して分泌されるFGF21は細胞競合を誘導する 東京大学 大学院薬学系研究科細胞情報学教室 小川 基行	
O2A-2	13:21-13:32	排出器官での炎症が駆動する恒常性破綻 東京大学 薬学部 大井 綾乃	
O2A-3	13:32-13:43	停留精巣における細胞死の関与についてー器官培養法による解析 東京電機大学 理工学部 生命科学系 刀 祢 重信	
O2A-4	13:43-13:54	Identification of metabolic pathways involved in murine primitive streak formation 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 発生再生生物学分野 PU Jing	
O2A-5	13:54-14:05	軟骨形成過程におけるGPx4の機能解析とGPx4遺伝子変異 北里大学院 薬学部 太田 真優	
O2A-6	14:05-14:16	Analysis of tissue-specific ER stress-mediated apoptosis induction by using medaka fish Graduate school of science, Kyoto University Jin Byungseok	
O2A-7	14:16-14:27	Caspase 活性化阻害により表出する発生頑強性の個体差と生理的意義の探索 東京大学 大学院薬学系研究科遺伝学教室 榎 いずみ	
O2A-8	14:27-14:38	ストレスに応じた脂肪体トリプトファンキヌレニン代謝が司る組織恒常性制御機構の解明 東京大学 大学院薬学系研究科遺伝学教室 榎尾 宗志朗	
O2A-9	14:38-14:49	SMART Tg マウス由来細胞を用いたネクロトーシスのライブセルイメージング 東邦大学 医学部生化学講座 村井 晋	
13:10-15:00		一般口演Ⅱ B会場 座長：瀬川 勝盛（東京医科歯科大学） 齊藤 達哉（大阪大学）	
O2B-1	13:10-13:21	近接依存性標識法APEX2によるショウジョウバエ アポトーシス実行カスパーゼ近傍タンパク質の解析 東京大学 大学院薬学系研究科 小木曾 和志	
O2B-2	13:21-13:32	ショウジョウバエにおける老化依存的なカスパーゼ活性を制御するカスパーゼ近傍タンパク質の解析 東京大学 大学院薬学系研究科 村本 雅哉	
O2B-3	13:32-13:43	テロメラーゼ逆転写酵素 TERT のミトコンドリア局在による細胞死制御 東京大学 大学院理学系研究科生物科学専攻 江端 拓志	
O2B-4	13:43-13:54	局在型 mSCAT3を用いた細胞内局所的カスパーゼ活性の解析 東京大学 大学院薬学系研究科 平 雄介	
O2B-5	13:54-14:05	ネクローシスに応答した Toll シグナル経路活性化機構と生理的意義の解明 東京大学 大学院薬学系研究科遺伝学教室 中野 翔太郎	

プログラム

第2日目		2021年7月27日（火）
O2B-6	14:05-14:16	脳修復作用をもつアラミンの生成・作用機序の解明 東京都医学総合研究所 脳・神経科学研究分野 脳卒中ルネサンスプロジェクト 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 医歯学専攻 中村 朱里
O2B-7	14:16-14:27	KIF11を介した細胞死と自然免疫応答の制御 金沢大学 がん進展制御研究所 免疫炎症制御分野 木下 健
O2B-8	14:27-14:38	TRAIL 誘導性細胞死を亢進させる新規化合物の同定 東邦大学 医学部生化学講座生化学分野/ 東京理科大学 大学院先進工学研究科生命システム工学専攻免疫学研究室 仙波 愛望
O2B-9	14:38-14:49	無細胞タンパク質再構成系を用いた自己炎症疾患治療薬探索 愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 病理学部門/愛媛大学 大学院医学系研究科 解析病理学 増本 純也
O2B-10	14:49-15:00	抗炎症作用を有する新規化合物の腸炎制御剤としての活性評価 徳島大学 大学院 医歯薬 医用理工学 東 優一
	15:10-15:40	総会
	15:40-16:00	ベストプレゼンテーション賞発表と閉会のことば
	16:00-17:30	オンライン懇親会

L-1

脳内組織損傷後の自然免疫と獲得免疫

吉村 昭彦¹⁾、伊藤美菜子²⁾

- 1) 慶應義塾大学医学部・微生物学免疫学教室,
- 2) 九州大学生体防御医学研究所

脳血管障害（脳卒中）のなかでも、脳の血管が詰まるなど血流が減少することによって、酸素や栄養が不足して脳組織が壊死に至る脳梗塞は患者数が多いものの、有効な治療法は限られている。脳梗塞による組織破壊によって炎症が惹起され梗塞体積の増大や神経症状の悪化につながるものが古くより指摘されて来た。我々はマウス脳梗塞モデルを用いて、脳梗塞発症後の炎症プロセスを明らかにしてきた。その結果発症1日目には炎症性のマクロファージが梗塞部位に浸潤し、死細胞由来の物質（DAMPs）を認識して炎症性サイトカインを放出する（*Nature Med.* 2012; 18: 911-7.）。その後3日目に $\gamma\delta$ T細胞が浸潤しIL-17を放出して神経細胞死が亢進する（*Nature Med.* 2009; 15: 946-50）。それ以降はマクロファージが修復性に転換し炎症物質を除去、およそ1週間で炎症反応が収束する（*Nature Med.* 2017; 23: 723-32）というプロセスが明らかとなった。しかし、それ以降の慢性期の炎症や免疫細胞の役割についてはほとんど解析されていなかった。しかし我々は梗塞2週間後の慢性期には大量の制御性T細胞（Treg）が浸潤することを見出した。脳Tregはアンフィレグリン（Areg）を分泌してアストロサイトの活性化を制御し、結果的に神経症状の回復を助けていることを見出した（*Nature.* 2019; 565: 246-50）。このような組織に常在、ないし蓄積されるTregを組織Tregと呼び、組織の修復や恒常性維持に重要な役割を担っていることが知られるようになってきた（*Int Immunol.* 2019; 31: 361-369.）。脳に集積したTregは脳Tregと呼ぶべき特徴的な性質を獲得して、特にセロトニン受容体（Htr7）を発現しており、セロトニンによって増殖・活性化された。脳梗塞モデルマウスにセロトニンや脳内のセロトニンを増やす薬を投与したところ、脳Tregが増加し神経症状が改善された。今後、他の神経炎症においても脳Tregの意義の解明が進められるであろう。

E-mail: yoshimura@keio.jp

L-2

細胞老化の役割とその制御

○原 英二¹⁾²⁾³⁾

1) 大阪大学微生物病研究所 2)大阪大学免疫学フロンティア研究センター

3)大阪大学感染症総合教育研究拠点

私たちの身体を構成する細胞は、異常を感知すると増殖を停止する安全装置を備えている。細胞老化はこの安全装置の一つであり、細胞の異常増殖を抑えるがん抑制機構として生体の恒常性維持に寄与していると長い間考えられてきた。しかしその一方で、組織幹細胞に細胞老化が起こると、組織修復能が低下して個体老化を促進する可能性も指摘されてきた。また、最近の研究により細胞老化を起こした細胞（老化細胞）は単に細胞増殖を停止して大人しくしているだけではなく、炎症性サイトカイン、ケモカイン、増殖因子や細胞外マトリックス分解酵素など、炎症や発がんを引き起こす様々な分泌因子を高発現する SASP と呼ばれる現象を起こすことで加齢性疾患や生活習慣病の発症に関与していることも明らかになりつつある。我々は細胞老化には SASP に限らず様々な発がん促進作用があり、加齢や肥満に伴い体内に老化細胞が蓄積することが恒常性を破綻させ、がんを含めた様々な炎症性疾患の発症を促進することにつながると考えている。本講演では、細胞老化研究のこれまでの経緯と最近のトピックスを中心に細胞老化の恒常性維持に対する正と負の役割について紹介する。

E-mail : ehara@biken.osaka-u.ac.jp

S1-1

スクランブラーゼ Xkr4 の活性制御機構

○圓岡 真宏¹⁾、Panpan Zhang¹⁾、鈴木 淳¹⁾

¹⁾ 京都大学 高等研究院 物質-細胞統合システム拠点

アポトーシスを起こした細胞膜上では、ホスファチジルセリン(PS)が“eat-me”シグナルとして細胞表面に提示される。我々はこれまでに、Xkrファミリータンパク質であるXkr4を、PS露出に関わるアポトーシス刺激依存的スクランブラーゼとして同定してきたが、その詳細な活性化メカニズムについては明らかではなかった。今回、我々はXkr4の活性が、カスパーゼによる切断に伴う二量体化形成と、活性化因子との相互作用による2段階で制御されることを明らかにした。Xkr4の活性化因子を特定するために、我々はCRISPR sgRNAライブラリーを用いて、アポトーシスを起こした死にゆく細胞からでも候補因子の同定を可能にするスクリーニング法、リバイバルスクリーニングを開発し、それを用いることで核内タンパク質XRCC4をXkr4の唯一の活性化候補因子として同定した。XRCC4は通常DNA修復複合体に含まれているが、アポトーシス刺激を受けるとカスパーゼによって切断され、そのC末端領域のみが細胞質に放出された。この断片は、二量体化したXkr4に直接相互作用して活性化することが明らかになった。これらの結果は、細胞死のシグナルが核内より放出され、細胞膜上の脂質の動態を直接制御するという新規のシグナル伝達経路の存在を示している。本大会では未発表データと共にXkr4の生理的役割についてあわせて議論したい。

E-mail : mmaruoka@icems.kyoto-u.ac.jp

S1-2

細胞競合の敗者を決定づける分子メカニズム

○永田理奈¹⁾、越智直孝¹⁾、中村麻衣¹⁾、井垣達吏¹⁾

¹⁾ 京都大学大学院 生命科学研究科

細胞競合とは、組織中で生体内環境への適応度が高い細胞（勝者）が低い細胞（敗者）を排除する現象であり、細胞集団のクオリティを最適化する恒常性維持機構として機能していると考えられる。我々はこれまで、勝者細胞に近接する敗者細胞でオートファジーが活性化し、その下流で NF κ B を介して細胞死遺伝子 *hid* が誘導されることで細胞死が起こることを見いだしてきた。しかし、どのようにして敗者細胞特異的にオートファジーが誘導されるのか、また勝者-敗者間のどのような性質の違いがオートファジーを誘導するのかわかっていなかった。そこで、ショウジョウバエを用いた遺伝学的スクリーニングを行い、細胞競合の敗者を決定づける分子メカニズムの探索を行った。その結果、敗者細胞のオートファジー誘導には勝者-敗者細胞間のタンパク質合成能の相対的な差が重要であることを見いだした。さらに、種々の細胞競合トリガーによって敗者細胞内でタンパク質合成が低下する分子メカニズムを明らかにした。一方、細胞競合を誘発した組織を用いて single-cell RNA-seq を行い、敗者細胞で特異的に発現上昇する遺伝子群を探索した。その結果、細胞間相互作用に直接関わる分子を同定することに成功した。以上の解析により明らかになった細胞競合メカニズムは、種々のトリガーにより引き起こされる細胞競合を共通して制御することがわかったため、細胞競合の普遍的なメカニズムである可能性が高いと考えられた。

E-mail : nagata.rina.5f@kyoto-u.ac.jp

S1-3

新規ユビキチンコードとその生理学的役割

○池田 史代¹⁾

¹⁾九州大学 生体防御医学研究所

基質のユビキチンによる翻訳後修飾（ユビキチン化）は、基質の活性や安定性、細胞内動態などを制御し、あらゆる生物学的効果に関わる。ユビキチン分子同士は異なる位置で連結し、様々な分子長の鎖をも形成することが可能であることから、その制御機構は複雑である。実際に、ユビキチン化は E1、E2、E3 の 3 段階の酵素活性により、標的基質の選択と、ユビキチン鎖の連結型や長さ（ユビキチンコード）が決定される。～600 種あるとされる E3 も、それらの活性の有無や分子学的な制御機構、生理的意義については不明なものが多い。

本研究では、炎症制御や細胞死に深くかかわる E3 複合体 LUBAC の構成因子 HOIL-1L に着眼した。LUBAC は直鎖型ユビキチン鎖を誘導するヒトにおける唯一のリガーゼ複合体である。LUBAC において HOIL-1L は直鎖型ユビキチン鎖形成の触媒活性中心を持たないことから、E3 リガーゼ部位(RBR)が同定されていながらも、その活性の有無については議論されてきた。さらに、HOIL-1L には直鎖型ユビキチン鎖を特異的に認識する部位(NZF)が同定されている。本研究では、ヒトにおける自己免疫疾患の制御にも関連する HOIL-1L の炎症制御機構を詳細に理解する目的で、NZF と RBR の各部位の変異体を用いることにより、酵素活性制御への影響、新規ユビキチンコードについての生化学的知見を得た。また、負染色と架橋質量分析による LUBAC の構造学的解析と、CRISPR 法による HOIL-1L ノックインマウスにおける炎症反応の解析から得られた結果について議論する。

E-mail : ikeda.fumiyo.375@m.kyushu-u.ac.jp

S1-4

傷ついたリソソームを除去するメカニズムとその生理学的意義

○中村修平¹⁾²⁾³⁾、吉森保¹⁾²⁾

¹⁾ 大阪大学 大学院生命機能研究科

²⁾ 大阪大学 大学院医学系研究科

³⁾ 大阪大学 高等共創研究院

細胞内外成分の分解を担う酸性オルガネラであるリソソームは、様々な要因によって損傷を受けることが知られている。傷ついたリソソームは酸性の内容物の漏出により酸化ストレス、炎症などを惹起し、細胞死を引き起こすため、細胞にとって非常に有害な存在となるが、細胞がこれにどのように対処しているかはあまりよく分かってない。我々は以前、細胞内分解システムとして知られるオートファジーが傷ついたリソソームを隔離・除去することで、リソソームならびに細胞の恒常性維持に寄与することを見出し、この選択的なオートファジーをリソファジーと名付けた(Maejima et al., *EMBO J*, 2013)。リソファジーがどのように制御されているのか、未だ不明な点が多いが、ごく最近我々はオートファジーやリソソーム生合成のマスター転写因子として知られる TFEB がリソソーム損傷時に活性化し、損傷リソソームの隔離・除去に必須な働きをすることを見出した(Nakamura et al., *Nat Cell Biol*, 2020)。また、この TFEB の働きがリソソーム損傷を伴う腎症の悪化を防いでいることを明らかにした。興味深いことに、この TFEB の活性化には、これまでオートファジーで働くことが知られていた LC3 タンパク質のオートファジー以外の機能が必要であることが分かり、LC3 の新たな機能の一端も見え始めている。本セミナーでは我々の最新の研究成果を中心に細胞が傷ついたリソソームを隔離・除去するメカニズムとその生理学的意義について紹介したい。

E-mail : shuhei.nakamura@fbs.osaka-u.ac.jp

S1-5

プロテアソームの機能制御と病態

○村田茂穂¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院薬学系研究科

細胞内のタンパク質は恒常的な生成・分解により、その量および質が緻密に制御されている。なかでもユビキチン・プロテアソーム系は多数の細胞内タンパク質の選択的・特異的な分解に関与し、細胞周期、DNA 修復、シグナル伝達、タンパク質品質管理など様々な生命現象の調節を担う。近年、プロテアソーム機能の増加あるいは低下が、がん、炎症、神経変性、老化をはじめとした様々なヒトの病態に関わっていることが知られ、プロテアソーム機能を制御する機構の理解は、これら疾患に対する新しい治療戦略を開発するうえで、重要な課題となっている。しかし、プロテアソーム機能がどのように制御されているのか、未だ不明な点が多い。我々は、ゲノムワイドスクリーニングより、プロテアソーム機能低下時にプロテアソームサブユニット群の転写を活性化させる因子 **DDI2**、プロテアソームの活性を維持する機構として **O-GlcNac** 化修飾など、新しいプロテアソーム機能制御機構を明らかにしつつある。プロテアソームの機能制御による生体調節機構および病態との関わりについて、我々の最近の仕事を中心に紹介したい。

E-mail : smurata@mol.f.u-tokyo.ac.jp

S2-1

精緻な細胞間相互作用からみた腎臓病

柳田素子¹⁾²⁾

¹⁾ 京都大学医学研究科腎臓内科学、²⁾ 京都大学高等研究院ヒト生物学高等研究拠点

腎臓には 30 種類を超える多彩な細胞群が存在し、協調的に働くことで体内恒常性が制御される一方、その破綻はさまざまな腎臓病を惹起する。多くの腎臓病では進行に伴い、「尿細管障害」と「線維化」が起こり、その程度は予後と相関する。私達は以前の解析で、線維芽細胞が形質転換することが線維化と腎性貧血の原因であること、その形質転換のきっかけは近傍に位置する近位尿細管の障害であることを見出してきた。近位尿細管は腎臓の機能単位であるネフロンの中でもっとも障害されやすい部位だが、障害後に修復しうる部位でもある。私達は系譜追跡実験の結果、生き残った近位尿細管が急激に増殖することで修復を担うこと、しかしながらその修復は完全ではなく、障害修復を繰り返すたびに近位尿細管が短縮することを見出した。一方で、形質転換した線維芽細胞はレチノイン酸合成能を獲得し、近位尿細管の修復を促進することから、線維芽細胞と近位尿細管の密接な関係性が明らかになった。私達は ATP imaging マウスを用いてエネルギー代謝の観点からもこの細胞間相互作用を可視化している。さらに、高齢個体の腎臓では、近位尿細管障害後に線維芽細胞が特徴的な機能を獲得し、腎臓内に 3 次リンパ組織が形成され、炎症が遷延することで修復が遅延することも報告した。本会では腎臓内の精緻な細胞間相互作用とその破綻が引き起こす病態について議論したい。

E-mail : motoy@kuhp.kyoto-u.ac.jp

S2-2

脳組織の虚血壊死に伴う炎症と修復の開始メカニズム

○七田 崇¹⁾²⁾

1) 東京都医学総合研究所脳卒中ルネサンスプロジェクト

2) 日本医療研究開発機構 AMED-CREST

我が国では健康寿命の延伸が主要な目標に掲げられており、寝たきりの原因の第1位である脳血管障害に対する治療薬開発が期待されている。脳梗塞では脳組織の虚血壊死に伴って、細胞内の分子が細胞外に放出される。これらの分子の中には、周囲の免疫細胞を活性化して炎症を惹起する因子が含まれており DAMPs (damage-associated molecular patterns) と総称されている。我々は最近、脳組織ライゼートの中から炎症を惹起する活性を有する画分を見出し、炎症誘導活性を持つ脳内の DAMPs として Peroxiredoxin、DJ-1 を同定した。これらのタンパク質は、脳細胞への虚血ストレスによって細胞内で発現が誘導され、細胞内では抗酸化作用により保護的に働く。一方で、脳細胞が虚血壊死に陥った場合には、これらのタンパク質が細胞外に放出され、周囲のマクロファージを Toll 様受容体依存的に活性化して炎症を惹起するものと考えられた。

脳梗塞後の炎症は発症1週間を経て次第に収束に至り、やがて死細胞の除去や栄養因子の産生が行われる修復期へ移行する。このプロセスにおいて、免疫細胞に作用して炎症を制御する脂質の動態が変化している。炎症を収束させて神経修復を誘導するための内在性メカニズムを、脳組織傷害に対する治療薬開発に応用する必要があると考えられる。

E-mail : shichita-tk@igakuken.or.jp

S2-3

肝細胞の恒常性維持に関与する BH3-only タンパクの検討

○疋田 隼人¹⁾、工藤慎之輔¹⁾、竹原徹郎¹⁾

¹⁾ 大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学

生理的な肝細胞では BH3-only タンパクである Bid および Bim が常に活性化しており、肝細胞特異的に Bcl-xL や Mcl-1 を欠損させたマウスでは、生理的条件下でも Bid や Bim の刺激を介した肝細胞アポトーシスが惹起されることを報告してきた。しかし、その他の BH3-only タンパクの関与は依然不明である。

肝細胞特異的な Bcl-xL 欠損 Mcl-1 ヘテロ欠損マウスは、肝臓の低形成を認めほとんどが肝不全のため生後 1 日以内に死亡したが、6 週齢まで成長したマウスの ALT は 1000 IU/l を超えていた。このマウスの Bid を欠損させると ALT は低下し、Bid/Bim を欠損させるとさらに ALT は低下した。Bid/Bim/Puma を欠損させるとさらに ALT は 32 IU/l にまで低下したが、Bak/Bax を欠損させたマウスの ALT より有意に高かった。

Bcl-xL および Mcl-1 遺伝子が flox 配列で挟まれた Bid/Bim/Puma 欠損マウスから初代培養肝細胞を単離し、SV40 にて不死化させて Dox 誘導性の Cre 発現遺伝子を挿入した細胞株を樹立した。Dox 投与にて Bcl-xL/Mcl-1 発現は低下し、培養上清中の Caspase3/7 は上昇した。この細胞株には Noxa、Bad、Bmf は発現していたが、BIK、HRK の発現は認めなかった。Noxa のノックダウンでは Caspase3/7 活性は抑制されたが、Bad、Bmf のノックダウンでは抑制されなかった。

生理的な肝細胞において Bak/Bax を活性化する BH3-only タンパクとして Bid、Bim に加えて Puma、Noxa の存在が示唆された。

E-mail : hikita@gh.med.osaka-u.ac.jp

S2-4

NASH 発症における死細胞貪食・処理の病態生理的意義

○伊藤美智子¹⁾²⁾、田中都³⁾、小川佳宏⁴⁾、菅波孝祥³⁾

¹⁾ 名古屋大学環境医学研究所メタボ栄養科学寄附研究部門

²⁾ 神奈川県立産業技術総合研究所「貼るだけ人工臓臓」プロジェクト

³⁾ 名古屋大学環境医学研究所分子代謝医学分野

⁴⁾ 九州大学大学院医学研究院病態制御内科学

予後良好な単純性脂肪肝では細胞障害性のない中性脂肪が蓄積するのに対し、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH: non-alcoholic steatohepatitis) ではコレステロールをはじめとする脂肪毒性を有する脂質の蓄積が肝細胞死をもたらすと考えられる。我々は、NASH の肝臓において細胞死に陥った肝細胞をマクロファージが取り囲んで貪食処理する病理学的構造 (Crown-like structure (CLS)) が NASH 発症の核となることを報告したが、CLS 内部にはコレステロール結晶が存在し、CLS 構成マクロファージではコレステロール含量の増加とリソソームストレス増強を見出している。コレステロールを包接する β -cyclodextrin (β CD) と線状高分子を組み合わせた β CD-polyrotaxane (PRX) は、細胞内コレステロールを排泄するよう設計されている。NASH を発症した NASH モデルマウスに対して β CD-PRX を 6 週間皮下持続投与したところ、肝重量低下と ALT 改善、肝線維化の抑制が認められた。肝コレステロール含量に有意な変化は認められなかったが、CLS 構成マクロファージのコレステロール含量が有意に低下した。コレステロールを包含する死細胞が貪食処理を受けることでマクロファージのリソソームストレスを増強し、NASH の病態形成に寄与すること明らかとなった。

E-mail : mito@riem.nagoya-u.ac.jp

S2-5

細胞死を起点とした線維化研究

○仲矢道雄¹⁾

¹⁾九州大学薬学研究院疾患制御学分野

組織が損傷すると多くの死細胞が生じる。死細胞部は、筋線維芽細胞によってコラーゲン等の細胞外マトリックス蛋白質が産生されて補填され、やがてもとの実質細胞に置き換わる。一方で、この創傷治癒過程が破綻したり、慢性的な炎症が起こったりすると、組織においてコラーゲン等が過剰に沈着する（線維化）。

線維化は、組織を硬くすること等により、各種組織の機能を大きく低下させる。従って線維化の制御は、心筋梗塞後の心臓や肺線維症、慢性腎不全、脂肪肝等、様々な病気において極めて重要な課題となっている。しかしながら、未だ決定的な線維化治療薬は無く、革新的な線維化治療法・薬の開発が望まれている。

筋線維芽細胞は、組織が正常な時には存在せず、炎症をきっかけにして、様々な細胞が分化する事により生じる。従って、筋線維芽細胞の分化を阻害すれば、線維化を抑制できる可能性がある。しかしながら、筋線維芽細胞の分化メカニズムについては未だ不明な点が多い。

そこで我々は、筋線維芽細胞の分化に関連する分子を探索した。特に、筋線維芽細胞への分化に伴って発現量が顕著に増加し、かつ、線維化を促進する分子に着目した。その結果、線維化を促進する分子を新たに見出すことができた。興味深いことに、この分子は、正常な心臓にはほとんど発現せず、線維化病態時の筋線維芽細胞に特異的に発現していた。本発表ではそれらの成果について紹介したい。

E-mail : nakaya@phar.kyushu-u.ac.jp

S2-6

CD72 による死細胞への B 細胞自己免疫応答の抑制

○赤津ちづる¹⁾、遠藤萌恵¹⁾、Quan-Zhen Li²⁾、沼本修孝³⁾、関根英治⁴⁾、藤田禎三⁵⁾、伊藤暢聡³⁾ 鏑田武志¹⁾

¹⁾ 東京医科歯科大・難治疾患研究所・免疫疾患分野

²⁾ Department of Immunology and Internal Medicine, UT Southwestern Medical Center, USA

³⁾ 東京医科歯科大・難治疾患研究所・分子構造情報学分野

⁴⁾ 福島県立医科大学・免疫学講座

⁵⁾ 福島県立総合衛生学院

生体内で不要となった細胞はアポトーシスなどを起こして死滅し、死細胞が適切に除去されることで組織の恒常性が保たれる。全身性エリテマトーデス (SLE) は、種々の核成分に対する自己抗体産生を特徴とする全身性自己免疫疾患で、患者ゲノムやマウスモデルの解析から、核酸、とりわけ RNA を認識する TLR7 などの核酸センサーが疾患発症に重要であるとされる。死細胞が正常に除去されないと SLE 様の自己免疫疾患を発症することが知られ、死細胞への免疫応答亢進と SLE 発症の関連が示唆される。CD72 は、主に B 細胞に発現する抑制性受容体で B 細胞抗原受容体 (BCR) シグナル伝達を抑制する。我々や他グループにより CD72 が SLE 発症を抑制することが示されている。さらに、SLE 特異的自己抗体の標的分子である RNA 関連自己抗原 Sm/RNP を CD72 が特異的に認識し、Sm/RNP が認識された際の BCR シグナル伝達を CD72 が抑制し、B 細胞の Sm/RNP への応答を阻害することを明らかにした。Sm/RNP は TLR7 により認識される DAMP であり、CD72 が死細胞由来の DAMP を認識して死細胞への B 細胞応答を抑制することが示された。さらに、CD72 のリガンドの探索により、リボソームと補体成分 C1q も CD72 により認識されることが示された。これらの分子への自己抗体は SLE 疾患活動性とも相関し、SLE 発症で重要な役割を果たす。さらに、C1q は、アポトーシス細胞に結合してその除去に関わることが知られ、C1q を欠損すると、重篤な SLE を発症する。CD72 がこれらの SLE 関連自己抗原を認識して死細胞への B 細胞応答を抑制し、SLE 発症を阻害することが示唆される。

E-mail : akatsu.imm@mri.tmd.ac.jp

S3-1

GPx4 による制御されるフェロトーシスとリポキシトーシスの 分子メカニズムの解析

○今井浩孝¹⁾

¹⁾ 北里大学薬学部衛生化学

GPx4 は生体膜リン脂質の酸化による生じ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還元する抗酸化酵素である。様々な組織特異的 GPx4 欠損マウスは正常細胞に細胞死を誘導する。我々は GPx4 欠損による鉄非依存性の細胞死をリポキシトーシスと名付け、shRNA ライブラリーのスクリーニングにより、細胞死実行因子 Lipo 遺伝子を同定した。一方、Stockwell らは抗がん剤のスクリーニングよりエラスチンや RSL 3 に代表される鉄依存性の脂質酸化依存的細胞死をフェロトーシスと名付けたが、RSL 3 が GPx4 を阻害することから、現在まで GPx4 欠損細胞死とフェロトーシスは同じ細胞死と考えられている。Lipo1~6 遺伝子のノックダウン (KD) は、リポキシトーシスを抑制するが、フェロトーシスは抑制できない。また Lipo-3 の阻害剤はリポキシトーシスのみを阻害し、フェロトーシスを見分けることができる。さらに我々は、大村記念天然化合物ライブラリーを用いて Lipo-3KD により細胞死を抑制できる化合物をスクリーニングしたところ、Lipo-3 依存的な細胞死を誘導できる化合物を見出した。さらにこの化合物は他の Lipo 遺伝子 KD により抑制できたが、鉄キレーターでは抑制できず、リポキシトーシスを誘導できる化合物であることを明らかにした。本シンポジウムでは、リポキシトーシスが関与する疾患も含めて紹介したい。

E-mail : imaih@pharm.kitasato-u.ac.jp

S3-2

フェロトーシス誘発に関わる酸化脂質はどのような分子が、 どこで生成しているのか？

○山田健一¹⁾²⁾

¹⁾九州大学大学院薬学研究院、²⁾AMED-CREST

近年、鉄依存的な脂質過酸化反応に制御される新規細胞死、フェロトーシスが報告された。しかしながら、フェロトーシスの誘導メカニズムは未だ不明な点が多く、酸化脂質の生成部位についても明確な解は得られていない。これまでに、蛍光プローブを用いた局在評価から、本細胞死進行過程に生じる酸化脂質の局在は、小胞体やミトコンドリア、形質膜などの細胞小器官がその候補とされている。しかしながら、同じ細胞でも検出プローブが異なれば生成部位が違ふ、あるいは同じ細胞でもフェロトーシス誘導剤が異なれば生成部位が違ふなど、統一した見解が得られていない。これは、これら検出プローブが、フェロトーシス誘導の原因となる酸化脂質を検出しているのか、あるいはフェロトーシス誘導の結果生じる酸化脂質を検出しているのか、区別できていないことが原因であろう。

一方で、近年我々が開発した蛍光プローブ **NBD-Pen** は、脂質過酸化反応の中間体である脂質ラジカルを高選択的に捕捉し蛍光発光する。また、このプローブを用いることで脂質ラジカルの構造解析も可能であった。さらに、最近では酸化脂質のノンターゲット分析にて、多くの酸化脂質の構造解析にも成功している。

そこで本シンポジウムでは、フェロトーシス誘導により生じる酸化脂質の構造解析、並びに酸化脂質の局在について、我々の最近の知見を紹介する。

E-mail : kenyamada@phar.kyushu-u.ac.jp

S3-3

酸化ストレス誘導性ネクロシスを制御する化合物の開発

: フェロトーシスとの関連性

○ 園園 孝介¹⁾²⁾

1) 理化学研究所 開拓研究本部 袖岡有機合成化学研究室

2) 理化学研究所 環境資源科学研究センター 触媒・融合研究グループ

これまで細胞死は生体内で不必要な細胞を除去するシステムとして、アポトーシスを中心に研究されてきた。しかしながら近年、アポトーシス以外にも様々なタイプの細胞死が重要な役割を果たすことが明らかとなっている。

このような背景で我々は、過酸化水素などの酸化ストレスで誘導されるネクロシスを抑制する Indolylmaleimide (IM) 誘導体を開発し、その動物疾患モデルへの適用を検討してきた。さらに最近様々な非アポトーシス型細胞死に対する効果を調べる中で、脂質過酸化物により誘導されるフェロトーシスとの関連性も明らかとなってきた。本講演ではこれらの研究の展開に関して発表する。

参考文献

1. K. Dodo, T. Shimizu, J. Sasamori, K. Aihara, N. Terayama, S. Nakao, K. Iuchi, M. Takahashi, M.; Sodeoka, ACS Med. Chem. Lett. **2018**, *9*, 182–187.
2. K. Dodo, E. Kuboki, T. Shimizu, R. Imamura, M. Magarisawa, M. Takahashi, T. Tokuhira, S. Yotsumoto, K. Asano, S. Nakao, N. Terayama, T. Suda, M. Tanaka, M. Sodeoka. ACS Med. Chem. Lett. **2019**, *10*, 1272–1278.

E-mail : dodo@riken.jp

S3-4

非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）におけるフェロトーシスの関与

○田中 稔¹⁾²⁾

¹⁾ 国際医療研究センター研究所

²⁾ 東京大学定量生命科学研究所

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は肝臓における生活習慣病の表現型とも言われ、飲酒を背景としない脂肪肝から何らかの要因で肝炎を発症し、やがては肝硬変・肝発癌に進展しうる疾患である。その発症機序には不明な点が多く残るが、脂肪を蓄積した肝細胞の死が引き金になっていると想定される。NASHの病態形成に関わる細胞死としては、これまでにアポトーシスやネクロプトーシスが報告されていたが、脂肪を蓄積した肝細胞がどのような細胞死様式で死んでいるのかについては不明であった。最近、我々はコリン欠乏エチオニン添加（CDE）食餌によるNASHモデルマウスを用いた解析から、脂肪肝形成後に起こるフェロトーシスが、のちの炎症反応の惹起に関与していることを初めて実験的に示した(*Cell Death Dis.* 2019)。その後の検討から、初代肝細胞に対して *in vitro* でフェロトーシスを誘導できる条件を見出しており、肝臓におけるフェロトーシスの実行メカニズムが明らかとなりつつある。

本シンポジウムではNASHとフェロトーシスとの関連性について、これまでに得られた *in vivo* 及び *in vitro* の研究結果から考察するとともに、その実行メカニズムについても未発表データを交えて議論したい。

E-mail : m-tanaka@ri.ncgm.go.jp

S3-5

冬眠する哺乳類シリアンハムスターの
フェロプトーシス様低温誘導性細胞死への耐性と
そのビタミン E 依存性

○山口 良文¹⁾、大塚玲桜¹⁾、姉川 大輔¹⁾²⁾、三浦正幸²⁾、曾根正光¹⁾

¹⁾ 北海道大学 低温科学研究所 冬眠代謝生理発達分野

²⁾ 東京大学 大学院薬学系研究科 遺伝学教室

冬眠は、長期にわたる寒冷・飢餓などの過酷な環境を、体に蓄えた脂肪や貯蔵食料で乗り切るため、熱産生を抑制し長時間の低体温状態となることでエネルギー節約する生存戦略である。リスやハムスターなどの一部の哺乳類が冬眠を行う「冬眠動物」であるのに対し、マウス、ラット、モルモットなど多くの医学研究に用いられる実験動物とヒトは長期間の低体温には耐えられない非冬眠動物である。冬眠機構の解明は、低体温療法や移植の際の臓器保存法の改良だけでなく、肥満・脂質異常症・糖尿病・冬期うつ症などの病態理解など、医学薬学への応用展開も期待される。私たちは冬眠動物の中でも実験的操作が比較的容易なシリアンハムスター（以後、ハム）を用いて、冬眠機構の解明を目指している。ハムは冬眠の際、体温が 10°C 以下まで低下した「深冬眠」状態で長期間生存する。こうした長時間の低温下では、ヒトやマウスの細胞はフェロプトーシス様の低温誘導性細胞死を生じる。これに対して、ハムをはじめ冬眠動物の細胞は、この低温誘導性細胞死への細胞自律的低温耐性を示すことが知られる。その分子機構に迫る解析の過程で、私たちはハムの初代培養肝細胞の低温耐性が、動物を飼育する餌中の高ビタミン E 量に依存することを見出した。一方、マウス由来の初代培養肝細胞は高ビタミン E 餌で飼育しても低温耐性が賦与されなかった。このとき、低温耐性の度合いと肝細胞中のビタミン E 類縁体 (α -Tocopherol : α T) 含有量との間にも相関があった。さらに冬眠中のハムでは血中 α T 濃度が上昇することも判明した。以上の結果は、ハムが冬眠時に経験する長時間の低体温やそこからの復温の際のストレスへの対抗策として、食餌由来の α T を有効活用することが示唆される。一方、ハム由来のがん細胞株も同じく低温耐性を示すものがあるが、培地中の α T 含有量はそれほど多くないことから、 α T には依存しない別の機構も存在すると予想される。こちらの機構解明のために現在行なっている機能的スクリーニングについても紹介したい。

E-mail : bunbun@lowtem.hokudai.ac.jp

S3-6

フェロトーシス抵抗性と発がん

○豊國 伸哉¹⁾

¹⁾ 名古屋大学大学院医学系研究科生体反応病理学

地球上のすべての生命体にとって鉄は必須金属であり、高等生物の生命は鉄・酸素・食物で紡がれている。発がんはがん遺伝子とがん抑制遺伝子のコンセプトの確立により論理的に理解できる。しかし日本では1981年以降、がんが死因第1位であり、しかも右肩上りである。私はがんの独走を私たちが酸素と鉄を使用していることの副作用と理解したいと考える。Wild typeのラットにFenton反応を起こすことでヒトがんのゲノム変化と酷似したがんが発生することはこの仮説を支持する。アスベストによる発がんも基本的には過剰鉄を介するものであり、ラットとヒトで類似したゲノム変化が見られることも注目し得る。食物に関してはカロリー制限の効用が唱道され、酸素に関しては環境の変更は困難である。最近2価鉄依存性で制御された壊死としてフェロトーシスという概念が提唱された。がんは、その発生経過からフェロトーシス抵抗性を有し、しかも鉄依存性があると考えられる。鉄は一旦、血液に入ってしまうと、体外への積極的な排泄経路は知られていない。となると、鉄の制御こそが今、がん予防に重要であろう。また、感染症や老化ともフェロトーシスは関係していることが明らかになりつつある。

参考文献： Stockwell BR, Toyokuni S, et al. Cell 171, 273, 2017; Toyokuni S. Free Radic Biol Med 133: 206, 2019; Toyokuni S et al. Cancer Sci 111, 2665, 2020; Toyokuni et al. Cancers 12, 3320, 2020

E-mail : toyokuni@med.nagoya-u.ac.jp

O1-1

ミトコンドリアマトリックスに存在するカスパーゼ活性の解析

○篠田夏樹¹⁾、三浦正幸¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院薬学系研究科

細胞死実行因子として有名なカスパーゼは、細胞死を超えて多くの生理機能を発揮する。ショウジョウバエを用いた研究から我々はこれまでに、同一のアミノ酸配列を切断するカスパーゼ Dcp-1 と Drice はタンパク質周辺微小環境が異なり、それぞれに固有の機能を担うことを示した。同様な機構がヒトにも存在することを考え、我々はヒトカスパーゼについて、近接依存性標識法 TurboID により、タンパク質周辺微小環境を解析した。その結果、驚くべきことに、一部のカスパーゼは選択的スプライシングによりミトコンドリアマトリックスに局在することを見出した。FRET を基盤としたカスパーゼ活性検出プローブ SCAT3 を応用し、ミトコンドリアマトリックスにおけるカスパーゼ活性検出系を構築した。その結果、定常状態においてミトコンドリアマトリックスに活性が存在すること、アポトーシス実行時に活性が変化しないこと、酸化ストレスにより活性が抑制されることを見出した。ミトコンドリアにはユビキチンプロテアソーム系及びオートファジー系が存在せず、プロテアーゼがプロテオームリモデリングに大きく寄与する。我々の研究結果は、カスパーゼがミトコンドリアマトリックスにおいて、酸化還元状態を感知することで、非細胞死性にプロテオームのリモデリングに寄与する可能性を示唆する。

E-mail : f-shinoda.natsuki@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

O1-2

NET 形成機構における MPO 依存的な脂質酸化の関与

○徳弘拓斗¹⁾ 田中正人¹⁾

¹⁾ 東京薬科大学 大学院 生命科学研究科 免疫制御学研究室

概要

好中球細胞外トラップ (NET) は好中球が起こす細胞死の 1 種であり、脱凝縮したクロマチン DNA が細胞外に放出される現象を指す。この NET 形成は、放出されたクロマチン DNA にミエロペルオキシダーゼ (MPO) や好中球エラスターゼ (NE) などの顆粒成分が付着することや、細胞膜や核膜の崩壊を伴うことを特徴とした細胞死である。さらにこの NET 形成は様々な疾患の病態に関与することが報告されており、NET 形成機序の解明は治療戦略を確立する上で非常に重要な情報となる。

NET 形成機序に関しては、活性酸素種 (ROS) の生成が NET 形成の引き金となっていることがよく知られているが、NET 形成中の ROS 産生の下流の細胞内シグナル伝達の詳細は不明である。我々は ROS の下流メカニズムを明らかにすることを目的として研究を行なった。

我々はリン脂質の過酸化が、*invitro* でホルボール 12-ミリステート 13-アセテート (PMA) または免疫複合体によって、*invivo* でリポ多糖 (LPS) によって誘発される NET 形成に重要な役割を果たすことを明らかにした。さらにこのリン脂質過酸化が、MPO の酵素活性に触媒されることを示し、形成された酸化脂質が NET 形成に寄与している可能性を示唆した。

この MPO 依存的な脂質酸化メカニズムは、ROS 発生後の NET 形成機序において重要な位置付けにあり、未解明の NET 形成機序の全体像を明瞭にするための機序になると考えている。

E-mail : s139076@toyaku.ac.jp

O1-3

Tim4 を介するカーボンナノチューブ認識機構

○中山勝文

立命館大学薬学部免疫微生物学研究室

マクロファージによる結晶微粒子やナノ粒子等の貪食と消化不良（frustrated phagocytosis）によりパイロトーシスと NLRP3 インフラマソーム活性化が誘導され慢性炎症が起きる。特にナノテクノロジーの代表的産物であるカーボンナノチューブ（CNTs）の一部は frustrated phagocytosis を介してアスベスト様の毒性を示すことが動物実験で明らかになり、現在国際的に大きな問題となっている。しかしながらマクロファージがどのように CNTs を認識するのかは不明である。本研究で我々は貪食受容体のスクリーニングにより Tim4 と Tim1 を CNT 受容体として同定した。興味深いことに Tim4 と Tim1 の細胞外 IgV ドメインには芳香族アミノ酸クラスターが存在し、そのクラスターと CNT 表面との芳香環相互作用により安定的な結合が維持されることが分子動力学シミュレーションにより示唆された。CRISPR-Cas9 システムにより新たに作製した Tim1/4 二重欠損マウスや抗 Tim4 中和モノクローナル抗体等を用いた実験から、マクロファージによる CNT 認識、炎症応答、および中皮腫初期段階に起きる肉芽腫形成に Tim4 が関与することが明らかになった。以上の結果は、Tim4 は CNT 受容体として機能し、CNT 毒性発現に関与することを示唆する。

E-mail : mnakayam@fc.ritsumei.ac.jp

O1-4

FGF18 は NASH における肝線維化に関与する

○小林謙太¹⁾²⁾、土屋勇一¹⁾、関崇生¹⁾、駒澤幸子¹⁾、西山千春²⁾、三上哲夫³⁾、今村亨⁴⁾、田中稔⁵⁾、中野裕康¹⁾

¹⁾東邦大学医学部生化学、²⁾ 東京理科大学先進工学研究科生命システム工学専攻、³⁾ 東邦大学医学部病理学、⁴⁾今村生命医学研究所、⁵⁾国立国際医療研究センター研究所細胞組織再生医学研究部

FGF18(Fibroblast Growth Factor 18)は、様々な細胞の増殖や分化誘導にかかわる成長因子であるが、正常な肝臓での発現は極めて低く、肝臓における生理的及び病理的な意義はよくわかっていない。我々はアポトーシス抑制タンパク質である cFLIP(Cellular FLICE-Inhibitory Protein)を肝細胞特異的に欠損させたマウス(*Cflar*^{LKO}マウス)に、コリン欠乏エチオニン添加(CDE)食を 4 週間投与し非アルコール性脂肪肝炎(NASH)を誘導したところ、コントロールマウスに比べて NASH が増悪し肝線維化が亢進することを見出した。また RNA-seq 解析から NASH の増悪に伴い、肝細胞で FGF18 の発現が上昇することを見出した。そこで NASH モデルマウスの肝臓において FGF18 が果たす役割を明らかにするため、肝細胞特異的 FGF18 欠損マウス(*Fgf18*^{LKO}マウス)および cFLIP/FGF18 二重欠損(*Cflar*^{LKO};*Fgf18*^{LKO})マウスを作製し、肝細胞における FGF18 の機能を検討した。*Fgf18*^{LKO}マウスに CDE 食を 4 週間投与したときの肝障害や線維化は、コントロールマウスと同程度であった。一方 *Cflar*^{LKO};*Fgf18*^{LKO}マウスに CDE 食を 4 週間投与したところ、血清 ALT の上昇は *Cflar*^{LKO}マウスと比べて軽減傾向にあった。続いて肝線維化の程度を調べるため、Picro Sirius Red 染色、Hydroxyproline Assay および qRT-PCR を行ったところ、*Cflar*^{LKO};*Fgf18*^{LKO}マウスでは *Cflar*^{LKO}マウスと比べて肝線維化が減少し、線維化関連遺伝子の発現低下が見られた。以上より、NASH の増悪時には肝細胞で FGF18 が発現して肝線維化を誘導することが示唆された。このことから、FGF18 が NASH における肝線維化の治療標的となる可能性がある。今後は FGF18 による肝線維化誘導のメカニズムについて解析する予定である。

E-mail : 8320516@ed.tus.ac.jp

O1-5

うつ病モデルマウスにおける NETs 形成を介したフィブリン血栓形成機序の解明

○杉本健、山田浩之、窪田浩志、若菜紀之、的場聖明
京都府立医科大学 循環器腎臓内科

うつ病は心血管病発症の独立した危険因子であるが、その機序は十分解明されていない。我々のグループはうつ病モデルマウスにおいて、好中球細胞外トラップ(NETs: neutrophil extracellular traps)形成(NETosis)が動脈硬化を増悪させることを初めて報告した。今回、うつ病モデルマウスにおける NETosis を介したフィブリン血栓形成機序について解析を行った。

CD-1 マウスを用いた social defeat stress を与えることにより、うつ病モデルマウス(C57BL/6J)を作製した。その後、頸動脈に 10%FeCl₃ を 3 分間塗布し血栓モデルを作製した。免疫染色での Fibrinogen/Fibrin 陽性領域はコントロール群に比し、うつ病モデル群で有意に増加していた(27.8% vs. 48.8%, $P < 0.01$)。また血栓内の Ly-6G 陽性細胞も有意に増加しており、そのほとんどが血管内腔面に集積していた(144/mm² vs. 878/mm², $P < 0.05$)。NETosis 阻害作用を有する DNase I を血栓モデル作製前に静脈内投与したところ、うつ病モデルマウス群の Fibrinogen/Fibrin 陽性領域はコントロール群と同等まで抑制された(25.7% vs. 22.3%, $P = ns$)。両群マウスの骨髄から CXCR2/Ly-6G 陽性の成熟好中球をソーティングし活性化血小板を添加した後の NETs 形成を解析したところ、うつ病マウスモデル群より採取した好中球では NETs 形成が有意に増強していた(12.5% vs. 20.7%, $P < 0.01$)。

以上より、うつ病モデルマウスでは血栓内の NETs 形成が増強されることによりフィブリン血栓形成が促進される可能性がある。NETosis がうつ病と関連する心血管イベント発症機序に深く関連していることが示唆された。

E-mail : sugimoto@koto.kpu-m.ac.jp

O2A-1

Scribble 欠損細胞から ASK1-p38 経路を介して分泌される FGF21 は 細胞競合を誘導する

○小川基行¹⁾、名黒功¹⁾、一條秀憲¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室

細胞競合とは、生体内で適応度の高い細胞が低い細胞を排除する現象である。イヌ腎上皮細胞株 MDCK 細胞においてテトラサイクリン (Tet) 依存的に Scribble がノックダウン (KD) される細胞 (*scrib*^{KD} 細胞) を正常細胞と混合して Tet を添加すると、*scrib*^{KD} 細胞が周囲の正常細胞に物理的に圧迫され、細胞死により排除される。しかし正常細胞による *scrib*^{KD} 細胞の認識・排除機構の詳細は不明であった。

scrib^{KD} 細胞に生じた細胞自律的な性質の変化が細胞競合を誘導すると考え解析を進めたところ、*scrib*^{KD} 細胞で線維芽細胞増殖因子 FGF21 が顕著に発現上昇していた。*scrib*^{KD} 細胞で FGF21 の KD や正常細胞で FGFR1 をノックアウトすると、競合による *scrib*^{KD} 細胞の減少が緩和された。また、FGF21 を過剰発現した MDCK 細胞を樹立して正常細胞と共培養させたところ、過剰発現細胞集団が正常細胞集団を誘引する様子が観察された。さらに、Scribble の KD で活性化する ASK1 および p38 の KD により FGF21 の発現誘導や競合による *scrib*^{KD} 細胞の減少が抑制された。以上より、ASK1-p38 経路を介して発現上昇した FGF21 が正常細胞を誘引することで、*scrib*^{KD} 細胞が物理的に圧迫され排除されることが示された (Ogawa et al., *Curr. Biol.*, 2021)。

E-mail : mogawa@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

O2A-2

排出器官での炎症が駆動する恒常性破綻

○大井綾乃¹⁾、三浦正幸¹⁾、小幡史明¹⁾²⁾

¹⁾ 東京大学薬学部、²⁾ 理化学研究所生命機能科学研究センター

生物の老化に伴ってあらゆる臓器の機能低下が起きる。中でも腎臓は体液恒常性の維持に働くため、機能低下の進行により老廃物が体内に蓄積し全身性の症状を引き起こす。老化に伴う慢性炎症が臓器の機能低下につながるということが知られているが、炎症の下流で起きる現象の詳細なメカニズムは明らかになっていない。そこで、寿命が短く遺伝学操作が容易なショウジョウバエを用いて、炎症による腎機能低下がもたらす全身的影響の記述とその原因の解明を行った。ショウジョウバエのマルピーギ管は哺乳類の尿細管に相当し、イオンや水を排出することで体液恒常性の維持に働く。遺伝学操作によりマルピーギ管特異的に炎症を誘導すると、排出される水分量の低下に加え、代謝変化や摂食量低下といった全身的な症状が現れた。この原因として、マルピーギ管細胞で誘導される細胞死の関与が示唆されている。マルピーギ管での炎症の下流で生じる現象について、現在までに考えられる仮説を議論したい。

E-mail : oi-ayano919@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

O2A-3

停留精巣における細胞死の関与について-器官培養法による解析

○刀祢重信、奥木健介、桑原奈月、矢野目夏海、伊藤拓真、山田魁人、高野温*
東京電機大学・理工・生命科学系、* 理化学研究所・開拓研究本部

多くの哺乳類では、腹腔内にあった精巣が精嚢に移動することで、精子形成阻害を免れて造精機能を獲得する。またヒトでは、停留精巣という疾患が知られ、何らかの原因で精巣が腹腔内にとどまるために精子ができない。これまでに、げっ歯類を用いて外科的に停留精巣のモデルが作製できることが報じられている。この停留精巣の原因として、37°Cにおくことでアポトーシスをおこすためであると考えられてきた。一方、正常な精子形成過程においても多くの細胞が細胞死をおこすことも知られている。

私達はマウスの生後4日の精巣を37°Cまたは34°Cで培養し、精子形成とアポトーシスの状態を解析したので報告する。

[材料と方法] Acrosin-EGFP ノックインマウスの生後4日目の精巣を Sato らの方法 (*Nature* **471**, 504-7) に従って、アガロース上で培養した。培養開始後、1週間おきに固定、TUNEL 法で調べた。

[結果] 1) 34°Cで培養した場合、3週目で GFP の蛍光を検出し、また精子頭部の形態をもつ細胞が見られた。37°Cの場合は、これらは検出できなかった。

2) 34°Cまたは37°Cで培養した両方の組織とも、TUNEL 陽性細胞の頻度は、数%程度であり、特定の時点で増加するという事はなかった。また、器官培養していない精巣組織でも同程度の TUNEL 陽性細胞が観察された。

3) 37°Cで培養した精巣を34°Cに移すと、34°Cに移して2週間で蛍光が観察された。これは、37°Cで細胞死が増加したのではなく、細胞周期が停止している可能性を示唆する。

E-mail : tone@mail.dendai.ac.jp

O2A-4

Identification of metabolic pathways involved in murine primitive streak formation

○ Jing Pu, Satoshi Kofuji, and Hiroshi Nishina

Department of Developmental and Regenerative Biology, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University

The primitive streak (PrS) differentiates into mesoderm and endoderm and initiates gastrulation. Failure of PrS formation causes embryonic death by embryonic day (E) 10 in mice. However, what metabolisms regulate PrS formation remains largely unknown. The purpose of this study is to identify metabolisms involved in PrS formation.

With a criteria of embryonic death by E10, 486 candidate genes were identified from KO mouse databases. To investigate PrS formation, the mouse embryoid body (EB) system, which recapitulates early embryogenesis, was used. EBs can differentiate into cardiomyocyte through PrS or neurons. After treatment with inhibitors of candidate genes, we found two genes encoding N-acylsphingosine amidohydrolase 1 (ASAH1) and UDP-glucose ceramide glucosyltransferase (UGCG). Their specific inhibitors inhibited EB differentiation into cardiomyocytes and induced the neurites. Since both ASAH1 and UGCG catalyze ceramide, we speculated ceramide as a key factor. Accordingly, addition of a cell-permeable C2 ceramide inhibited EB differentiation into cardiomyocytes and induced the neurites. In the metabolome analysis, phosphocholine/glycerophosphocholine (P/G) ratio, whose level was reported to be important for PrS formation, was decreased during PrS formation. However, this decrease was reversed by C2 ceramide. Together, these results indicate ceramide metabolism negatively regulates PrS formation.

E-mail : pujing.dbio@gmail.com

O2A-5

軟骨形成過程における GPx4 の機能解析と GPx 4 遺伝子変異

○太田 真優¹⁾、鶴田 佳保里¹⁾、王 铮²⁾、郭 龍²⁾、池川 志郎²⁾、今井 浩孝¹⁾

¹⁾ 北里大院・薬, ²⁾ 理化学研究所・生命医科学研究センター・骨関節疾患チーム

【目的】GPx4 は生体膜に生じた酸化リン脂質を還元する抗酸化酵素でリポキシトーシス制御因子である。我々は、骨形成に異常を持つヒト患者で複数の GPx 4 アミノ酸変異を見出したが、骨形成における GPx4 の機能は明らかではなかった。本研究では GPx 4 アミノ酸変異による GPx 4 の機能変化および軟骨特異的 GPx4 欠損マウス (KO マウス) を作成し、軟骨形成における GPx4 の役割について解析した。

【結果】ヒト骨疾患で見出した GPx 4 アミノ酸変異における GPx 4 活性と GPx 4 欠損細胞死に対する抑制効果をタモキシフェン誘導型 GPx 4 欠損 MEF 細胞を用いて解析した。GPx 4 アミノ酸変異は著しい GPx 4 活性低下を示し、GPx 4 欠損細胞死の抑制効果を消失した。軟骨特異的 GPx 4 KO マウスは生まれ難く、出生しても成長せず約 4 日で致死となった。骨幹端において増殖軟骨細胞に GPx 4 の高い発現がみられたが、KO マウスでは軟骨増殖細胞が減少し、成熟軟骨細胞が消失した。KO 軟骨組織では脂質酸化が亢進していた。また増殖軟骨細胞を単離初代培養し、タモキシフェン依存的に GPx 4 欠損させると、増殖軟骨細胞に細胞死が誘導された。さらに、阻害剤による細胞死の検討から、リポキシトーシスが誘導されていると考えられた。以上より、GPx 4 アミノ酸変異は GPx 4 活性低下による細胞死を介し骨軟骨異形症の発症原因となることを明らかにした。

E-mail : ml21108@st.kitasato-u.ac.jp

O2A-6

Analysis of tissue-specific ER stress-mediated apoptosis induction by using medaka fish

○Byungseok Jin¹⁾, Tokiro Ishikawa¹⁾, Satoshi Ninagawa¹⁾, Tetsuya Okada¹⁾, Kazutoshi Mori¹⁾
¹⁾ Graduate school of science, Kyoto university

Unfolded protein response (UPR) is activated to cope with the endoplasmic reticulum (ER) stress and restores the ER homeostasis. However, UPR activation also induces apoptosis signal under the chronic ER stress condition. Many studies have focused on the ER stress-mediated apoptosis mechanism, but it is not well established because of the global ER stress induction evoked by chemical inducers *in vitro*. To solve this problem, we employed medaka fish as a model organism and induced spontaneous ER stress by a genetic method *in vivo*.

Here, we found that increasing ER stress induction in the knockout medaka embryo of *Meigo* gene, encoding an ER-resident transmembrane protein, leading to prolonged ER stress and lethal aberrant phenotypes during development stages. Also, we generated apoptosis-visualized medaka for live imaging analysis and found the apoptosis signal is increased gradually after chronic ER stress induction in *Meigo* knockout medaka embryo. Next, we focused on abnormal heart phenotype, and found that constitutive UPR activation inhibits apoptosis induction on the heart and rescues the abnormal phenotype. Furthermore, different constitutive UPR activation contributes to rescue the abnormal phenotypes differently suggests a tissue-specific apoptosis mechanism.

Thus, the *Meigo* has a vital role in ER homeostasis in medaka embryonic development, and its deficient medaka shows an appropriate ER stress induction for analyzing the ER stress-induced apoptosis in physiological conditions. Now, we suggest a new approaching way to research ER stress-mediated apoptosis by using medaka fish and search for a key factor of tissue-specific apoptosis mechanism by next-generation sequencing analysis.

E-mail : bjin@upr.biophys.kyoto-u.ac.jp

O2A-7

Caspase 活性化阻害により表出する発生頑強性の個体差と

生理的意義の探索

○榎いずみ¹⁾、檜尾宗志朗¹⁾、三浦正幸¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室

発生の過程において生物は、遺伝的背景、環境変動、確率ノイズに起因する攪乱を受ける。このような体内外からの攪乱にも関わらず、種として正常な発生を維持できるのは、発生頑強性という性質が備わっているためである。しかしながら、攪乱の大きさや攪乱に対する緩衝能力次第で、表現型に揺らぎが生じうる。ショウジョウバエの背中に存在する感覚大剛毛は野生型では通常4本であるが、Caspase 活性化因子である *dapaf-1* 変異体では、大剛毛を4本より多く持つ個体が野生型より高い割合で生じる。Caspase 活性化阻害により大剛毛数の増加が見られるのは、直接的には幼虫期におけるプロニューラルクラスター内でのCaspase の非アポトーシス的機能によるものである。しかし、大剛毛数が増加している個体はプロニューラルクラスター以外でもCaspase が司る発生頑強性を介した緩衝機能が低下していることも考えられるが、Caspase 活性化阻害により増加する大剛毛数の揺らぎが、どのような環境応答や生理的機能の違いを個体レベルで示すのかは明らかになっていない。そこで、*dapaf-1* 変異体の大剛毛数を発生頑強性の指標とし、大剛毛数を変化させる幼虫期環境の探索や、大剛毛数の異なる成虫の遺伝子発現解析に基づく生理状態の違いを解析したので、ここで議論する。

E-mail : izueno244@gmail.com

O2A-8

ストレスに応じた脂肪体トリプトファン-キヌレニン代謝が司る

組織恒常性制御機構の解明

○榎尾宗志朗¹⁾、三浦正幸¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室

組織修復は個体が損傷した際に発動される生体防御システムであり、傷害部位からの壊疽や感染、臓器の機能不全、ひいては個体死を防ぐ上で不可欠な恒常性維持機構である。近年離れた組織による遠隔的な修復制御機構が明らかとなってきたが、組織自律的な分子機構の解析と比較して、組織非自律的な因子や体内環境についての理解は依然として立ち後れている。

ショウジョウバエにおける組織修復の系および代謝産物の解析と遺伝学とを組み合わせることによって、全身性の代謝制御がどのように組織修復に寄与するのか、その分子機構の解明を目指した。その結果、哺乳類の肝臓と白色脂肪組織に相当する脂肪体のトリプトファン-キヌレニン(Trp-Kyn)代謝が上皮組織である翅成虫原基の傷害によって変化し、体液中のキヌレン酸が修復に必要なことが明らかとなった。

幼虫期の組織修復においては Trp-Kyn 代謝は不可欠である一方、成虫期に Trp-Kyn 代謝を抑制すると長寿になることに加え、酸化ストレスや低温ストレスなどの種々のストレスに対して耐性を持つことが分かり、Trp-Kyn 代謝の働きは個体の発生や成長段階において大きく異なることが示唆された。Trp-Kyn 代謝の幼若期と成長期でのストレスに対する異なる生理機能と、そのベースにあると考えられる脂肪体のリモデリングおよび代謝経路の調節機構に関して議論を試みる。

E-mail : fkashio@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

O2A-9

SMART Tg マウス由来細胞を用いたネクロプトーシスの

ライブセルイメージング

○村井晋¹⁾、隅山健太²⁾、森脇健太¹⁾、高倉加奈子³⁾、山口良文⁴⁾、駒澤幸子¹⁾、寺井健太³⁾、三浦正幸⁴⁾、松田道行³⁾、中野裕康¹⁾

¹⁾ 東邦大・医・生化、²⁾ 理研 BDR、³⁾ 京大院・医・病態生物医学、⁴⁾ 北大・低温科学研、⁵⁾ 東大院・薬・遺伝学

ネクロプトーシスは、RIPK3 と呼ばれるセリンスレオニンキナーゼにより MLKL がリン酸化されて多量体化し、細胞膜に移動して pore を形成することで実行される。我々はネクロプトーシスをライブセルでイメージングする目的で、SMART (Sensor for MLKL activation by RIPK3 based on FRET) と命名した FRET バイオセンサーを開発した。これまでに培養細胞に SMART を導入して FRET 解析することで、ネクロプトーシスをライブセルでイメージングできることを報告してきた (Murai, Nat Commun 2018)。今回我々はさらにネクロプトーシスを in vivo でモニタリングするため、Tol2 システムを用いて SMART を全身性に発現するトランスジェニックマウス (SMART Tg マウス) を作製した。in vivo での解析に先行してまず SMART Tg マウスから初代培養細胞を調製して FRET 解析を行なった。SMART Tg マウス由来の腹腔マクロファージにネクロプトーシスを誘導したところ、細胞膜傷害に先行して FRET/CFP 比の上昇が認められた一方で、パイロトーシス誘導時には FRET/CFP 比の上昇は認められなかった。また SMART Tg; *Mlkl*^{-/-} マウスや SMART Tg; *Ripk3*^{-/-} マウス由来の腹腔マクロファージではネクロプトーシス刺激による FRET/CFP の上昇は起こらなかったことから、培養細胞と同様に初代培養細胞においても SMART がネクロプトーシスを特異的にモニターできることが示唆された。また SMART Tg マウス由来の MEFs では MLKL の発現が低かったためネクロプトーシスが誘導されなかった。そこでインターフェロン β によって MLKL の発現を誘導したところ、ネクロプトーシス誘導に伴い FRET/CFP 比の上昇が観察された。これらの結果から SMART Tg マウス由来の初代培養細胞でもネクロプトーシスがモニタリングできることが明らかとなった。今後 SMART Tg マウスを使用して in vivo での FRET 解析を行う予定である。

E-mail : mryshin@med.toho-u.ac.jp

O2B-1

近接依存性標識法 APEX2 によるショウジョウバエ アポトーシス実行カスパーゼ近傍タンパク質の解析

○小木曾和志¹⁾、篠田夏樹¹⁾、三浦正幸¹⁾

¹⁾東京大学大学院薬学系研究科

カスパーゼは、活性部位にシステイン残基をもつアスパラギン酸特異的プロテアーゼであり、多細胞生物の間で高度に保存されている。活性化されたカスパーゼは、様々な基質タンパク質を切断することでアポトーシスの進行において重要な役割を果たすことが知られている。また、カスパーゼは細胞死以外の生理機能にも関与していることが明らかになっている。例えば、カスパーゼは細胞の移動、増殖、分化に必要とされている。しかし、特に非細胞死性の機能の発揮に際して、カスパーゼが細胞のどこで活性化され、どのような基質を切断するのかについては不明な点が多い。我々はショウジョウバエのアポトーシス実行カスパーゼ **Drice** に蛍光タグを融合し、ショウジョウバエ胚由来の培養細胞株である S2 細胞に導入することでアポトーシス誘導による局在の変化を解析した。その結果、**Drice** が定常状態において細胞質に多く局在すること、細胞質で一部液滴様の構造をとること、アポトーシス時に細胞質から核に移行することを見出した。また近接依存性標識法 APEX2 により、**Drice** 周辺微小環境を解析した。**Drice::APEX2** と **APEX2** をそれぞれ S2 細胞に導入し比較することで、**Drice** の近傍タンパク質を同定した。その結果興味深いことに、**Drice** の近傍に存在するタンパク質として、小胞体内腔やミトコンドリアマトリックスに存在するタンパク質が多数同定された。我々の研究結果は、カスパーゼが細胞質のみでなく、特定のオルガネラの内部に存在することを示唆する。

E-mail : k-ogiso@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

O2B-2

ショウジョウバエにおける老化依存的なカスパーゼ活性を制御する

カスパーゼ近傍タンパク質の解析

○村本雅哉¹⁾、花輪望未¹⁾、篠田夏樹¹⁾、三浦正幸¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院薬学系研究科

カスパーゼは細胞死実行因子として知られるシステインプロテアーゼである。ショウジョウバエの特定の嗅覚受容体神経において、我々は以前、老化依存的にカスパーゼが活性化し、神経細胞死を引き起こすことを示した。カスパーゼは、カスパーゼ相互作用タンパク質によって活性化されうる。例えば、eIF3のサブユニットとして知られるTango7は、アダプタータンパク質としてカスパーゼを細胞膜に局在させることで、細胞内の一部でのみ活性化させることが報告されている。そこで我々は、老化依存的にカスパーゼ活性を制御する機構の解明を、カスパーゼ近傍タンパク質の解析により目指した。まず、老化依存的なカスパーゼ活性は、ショウジョウバエにおける実行カスパーゼであるDriceのノックダウンによって失われることから、Driceがカスパーゼの活性化に必要であることを示した。そこで、我々は、近傍タンパク質を無差別にビオチン化するTurboIDを、DriceのC末端に融合したノックインした系統を作出した。我々は、ビオチン化タンパク質をNeutravidinで精製し、Driceの近傍タンパク質を質量分析により網羅的に同定した。GO解析から、細胞膜に局在する多くのタンパク質が同定された。さらに、同定された一部の近傍タンパク質の遺伝学的操作によって、カスパーゼの老化依存的な活性化パターンが変化することを見出した。我々の結果は、カスパーゼの近傍タンパク質が老化依存的な活性化制御に関与することを示唆している。

E-mail : muramoto-masaya092@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

O2B-3

テロメラーゼ逆転写酵素 TERT のミトコンドリア局在による細胞死制御

○江端拓志¹⁾、島知弘¹⁾、白崎義隆²⁾、上村想太郎¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

²⁾ 東京大学大学院薬学系研究科

テロメラーゼ逆転写酵素 TERT は染色体末端に存在し、テロメア領域を伸長するタンパク質として発見された。近年、TERT はテロメア領域の存在しないミトコンドリアにも局在することが報告され、既知のテロメア伸長機能以外の機能を有することが予想されている。これまで、TERT のミトコンドリア局在と細胞死との関連が複数報告されているものの、TERT はアポトーシスを促進するという仮説と抑制するという仮説とで議論が分かれている。私たちは議論の分かれる原因として、これまで行われてきた細胞死計測法に問題があるのではないかと考え、生細胞観察により細胞死に至る様子を直接可視化することで議論に決着がつけられると考えた。TERT のミトコンドリア輸送変異体、核外輸送変異体を用いて生細胞観察を行ったところ、変異体 TERT 発現細胞では野生型 TERT 発現細胞に比べ、過酸化水素刺激に対する抵抗性が上昇することが確認された。この抵抗性の変化と TERT の局在との関連を調べるため、蛍光タンパク質を TERT に付加し、細胞死と TERT の局在を同時に可視化することに現在取り組んでいる。

E-mail : hiroshiebata@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

O2B-4

局在型 mSCAT3 を用いた細胞内局所的カスパーゼ活性の解析

○平雄介¹⁾、篠田夏樹¹⁾、三浦正幸¹⁾¹⁾ 東京大学大学院薬学系研究科

細胞死実行因子カスパーゼは、種々の非細胞死性の機能を有することが知られている。非細胞死性の機能の発揮には、一過的で、局所的かつ弱いカスパーゼの活性化が重要であると考えられている。しかし、実際の細胞内でいつ、どこで、どの程度カスパーゼが活性化するのは、高い時空間分解能を有し、定量的なカスパーゼ活性検出プローブが存在しないことから、知られていない。そこで我々は、細胞死を起こさずにカスパーゼが活性化する制御機構の理解に向け、細胞内局所におけるカスパーゼ活性検出を目指した。カスパーゼ活性検出プローブ SCAT3 は、カスパーゼによる切断依存的な FRET 消失を利用するため、高い時間分解能での解析に有用である。我々はまず、アクチン繊維、ミトコンドリア外膜、小胞体膜、細胞膜に SCAT3 を局在化させることで、高い空間分解能でのカスパーゼ活性の検出を試みた。しかし、SCAT3 の二量体化によるオルガネラ膜凝集が生じ、正常に機能しなかった。そこで、前述の問題を解決すべく、A206K 変異を各蛍光タンパク質に導入した単量体型 SCAT3 (mSCAT3) を作出した。アクチン繊維、ミトコンドリア局在型 mSCAT3 を HeLa 細胞に共発現したところ、局所ごとにカスパーゼ活性の異なる細胞が確認された。また、興味深いことにカスパーゼ活性阻害剤 QVD-OPh 処理後、細胞移動速度の向上が見られた。これらの研究結果はカスパーゼ活性の細胞内局所的制御機構が存在し、非細胞死性の機能の発揮に重要であることを示唆する。

E-mail : taira-yusuke398@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

O2B-5

ネクローシスに応答した Toll シグナル経路活性化機構と 生理的意義の解明

○中野翔太郎¹⁾、樫尾宗志朗¹⁾、三浦正幸¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室

ネクローシスに伴い細胞外へと曝露される **damage-associated molecular patterns: DAMPs** は細胞や組織の傷害を伝えるシグナル分子として働き、非感染性の自然免疫応答とそれに伴う様々な疾患を誘発する。哺乳動物を中心に非感染性の自然免疫活性化機構の解析が進められてきたが、生体防御機構として自然免疫のみを有する無脊椎動物での理解は立ち遅れているのが現状である。

非感染性の自然免疫応答の未解明領域を開拓するべく、本研究室では羽化後ショウジョウバエの翅上皮細胞で起こるアポトーシスを遺伝学的操作により阻害し、ネクローシスと非感染性の自然免疫 Toll 経路の活性化を誘導する系を確立してきた。感染時の Toll 活性化には、体液中でのセリンプロテアーゼカスケードの活性化と Toll リガンドである Spätzle (Spz) の切断が必要である。これまでにネクローシス誘導個体での Toll 活性化には、Spz の切断及び感染時と共通のセリンプロテアーゼが必要であることを明らかにした。さらにネクローシス誘導下で Toll 経路を抑制した個体群では生存率が急速に低下した。この結果は、ネクローシス誘導個体において、Toll 経路が個体の生存を保護する重要な生理機能を有する可能性を示唆している。本発表では詳細な解析の経過及び今後の展望について議論していく。

E-mail : tubo1213@gmail.com

O2B-6

脳修復作用をもつアラミンの生成・作用機序の解明

○中村朱里¹⁾²⁾、酒井誠一郎¹⁾、村上誠³⁾、七田崇¹⁾⁴⁾

1) 東京都医学総合研究所 脳・神経科学研究分野 脳卒中ルネサンスプロジェクト

2) 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 医歯学専攻

3) 東京大学大学院 医学系研究科 疾患生命工学センター

4) 日本医療研究開発機構 AMED-CREST 適応・修復領域

脳梗塞では、脳細胞の虚血壊死が起点となって炎症が誘導されるが、次第に炎症は収束に至り脳組織は修復される。細胞死に伴って壊死組織から生成され、炎症や修復のトリガーとなる分子群はアラミン (alarmin) と総称されるが、これまでに炎症惹起に働く分子群は多く同定されているのに対して、脳組織を修復する作用をもつ分子群はほとんど知られていない。

脳梗塞巣に含まれる脂質の動態を網羅的に解析したところ、不飽和脂肪酸の量が大きく増減することが判明した。不飽和脂肪酸を遊離させる約 30 種類のホスホリパーゼ A2 (PLA2) サブタイプをスクリーニングした結果、脳梗塞後の炎症を修復へと転換させる PLA2 サブタイプの同定に成功した。この PLA2 サブタイプは、主に壊死組織中のホスファチジルセリンを基質として、脳修復的な作用を持つ ω -6 不飽和脂肪酸やその代謝物を生成し、脳梗塞巣周囲の神経細胞における Peptidyl arginine deiminase (Padi) の発現を誘導していた。神経細胞における Padi の発現は神経修復的な作用を持ち、脳梗塞後の機能回復に重要であった。神経細胞に Padi の発現を誘導する ω -6 不飽和脂肪酸の代謝物を、脳梗塞モデルマウスに経口投与したところ神経症状の改善が観察された。したがって、脳修復的な脂質を食事で摂取し、脳梗塞後の機能回復を促進させる、脳機能回復食の開発が可能であると考えられる。

E-mail : nakamura-ak@igakuken.or.jp

O2B-7

KIF11 を介した細胞死と自然免疫応答の制御

○木下健、土屋晃介、須田貴司
金沢大学 がん進展制御研究所 免疫炎症制御分野

NLRC4 などの細胞内パターン認識受容体は病原体成分などに応答してインフラマソームと呼ばれる複合体を形成し、カスパーゼ 1 の活性化とそれによる IL-1 β などの成熟やパイロトーシスを誘導する。我々は以前、NLRC4 と NOD2 のキメラ分子を細胞に発現させ、ムラミルジペプチド(NOD2 リガンド)でカスパーゼ 1 の活性化やパイロトーシスを誘導する実験系を構築した。この実験系でパイロトーシス抑制作用を指標に shRNA ライブラリーをスクリーニングし、モーター蛋白 KIF11 がこの応答に寄与することを見出した。さらに、KIF11 に対する siRNA や阻害剤が NLRC4 刺激で誘導される IL-1 β 分泌および細胞死を抑制すること、KIF11 が NLRC4 と結合することを確認した。KIF11 と NLRC4 の結合は NLR ファミリーに共通の NOD ドメインを介していたことから、KIF11 と他の NLR ファミリー分子との結合を検討したところ、KIF11 は多数の NLR 分子と結合することを見出した。また、NOD2 刺激で誘導される炎症性サイトカイン遺伝子の発現誘導、および NLRP3 刺激で誘導されるカスパーゼ 1 活性化や IL-1 β 分泌も KIF11 の阻害で抑制される事をヒト及びマウスマクロファージを用いて確認した。以上より、KIF11 が複数の NLR 経路に共通する新規の自然免疫システム制御ポイントを構成する可能性が示唆された。

E-mail : tkino@staff.kanazawa-u.ac.jp

O2B-8

TRAIL 誘導性細胞死を亢進させる新規化合物の同定

○仙波愛望¹⁾²⁾、高松真二³⁾、西山千春²⁾、三善英知³⁾、中野裕康¹⁾、森脇健太¹⁾

¹⁾ 東邦大学医学部生化学講座生化学分野、²⁾ 東京理科大学大学院先進工学研究科生命システム工学専攻免疫学研究室、³⁾ 大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学講座分子生化学教室

TRAIL は、デスリガンドファミリーに属するサイトカインであり、TRAIL 受容体に結合してアポトーシスやネクロプトーシスを引き起こす。TRAIL 誘導性細胞死は、細胞傷害性リンパ球によるがん細胞の排除に寄与しており、近年開発が進められているがん免疫療法の効果を規定する重要な要素の一つとされている。また、同じくデスリガンドファミリーに属する TNF や Fas リガンドと異なり、TRAIL はがん細胞に比較的特異的に細胞死を誘導するため、多くの製薬企業が TRAIL 受容体を標的としたがん治療薬の開発を進めている。TRAIL 受容体標的薬のこれまでの臨床試験において、単剤または他の既存薬剤との併用で一定の治療効果が認められる一方で、十分な治療効果が見られない患者もおり、未だ臨床応用には至っていない。そこで、がん治療の新規併用療法の確立に向けて、TRAIL 誘導性がん細胞死を亢進させる新規化合物を同定することを目的として研究を行った。約 25,000 個の化合物を用いてスクリーニングを行い、TRAIL 誘導性細胞死を亢進させる 5 種類の化合物を同定した。中でも最も強い効果を示す化合物は、10 nM という低濃度で複数の大腸がん細胞株において TRAIL 誘導性細胞死を顕著に亢進させた。本研究での知見ががん免疫療法や TRAIL 受容体標的薬によるがん治療の効果を増強させる新たな併用療法の開発につながることを期待される。

E-mail : 8321530@ed.tus.ac.jp (仙波愛望)、kenta.moriwaki@med.toho-u.ac.jp (森脇健太)

O2B-9

無細胞タンパク質再構成系を用いた自己炎症疾患治療薬探索

1) 増本 純也

1) 愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・病理学部門

2) 愛媛大学・大学院医学系研究科・解析病理学

NLRP3 インフラマソームは、病原体などを認識する NLRP3、アダプター分子の ASC とタンパク質分解酵素である Caspase-1 からなる細胞内タンパク質複合体である。それぞれ、Death domain (DD)スーパーファミリー(DDSF)に分類される Pyrin domain (PYD)、Caspase recruitment domain (CARD)を介して結合し、IL-1 β 前駆体を切断する。NLRP3 の機能獲得型の遺伝的変異は自己炎症疾患の原因となる。

そこで私たちは、NLRP3 と ASC の結合を直接阻害する分子標的薬の探索を目的として、無細胞 NLRP3 インフラマソーム再構成系を用いて、東大創薬機構から提供された化合物ライブラリーをスクリーニングした。

そのうちのひとつの化合物 KN3014 は、LPS で刺激したヒト末梢血単核球の pyroptosis の指標である ASC-speck 形成と IL-1 β 産生を抑制した。さらに NLRP3 遺伝子の機能獲得型変異によって IL-1 β 産生が亢進している自己炎症疾患である Muckle-Wells 症候群患者の末梢血単核球からの IL-1 β 産生を抑制した。

今回、無細胞タンパク質再構成系を用いて、自己炎症疾患の分子標的薬候補を選定することができた。さらに、新たな自己炎症疾患の標的候補を見出すための DDSF 含有タンパク質の網羅的無細胞再構成系についても紹介したい。

E-mail : masumoto@m.ehime-u.ac.jp

O2B-10

抗炎症作用を有する新規化合物の腸炎制御剤としての活性評価

○東 優一¹⁾、森田 明典¹⁾、西山 祐一¹⁾、村田 貴嗣²⁾、酒井 杏樹²⁾、金井 昭教³⁾、谷本 大河¹⁾、坂井 卓磨¹⁾、中田 健也⁴⁾、武村 直紀⁵⁾、齊藤 達哉⁵⁾、稲葉 俊哉³⁾、椎名 勇²⁾

¹⁾ 徳島大院・医歯薬・医用理工学、²⁾ 東理大・理・応用化学、³⁾ 広島大・原爆放射線医科学研究所、⁴⁾ 島根大・学術研究院環境システム科学、⁵⁾ 大阪大院・薬・生体応答制御学

炎症性腸疾患の1つである潰瘍性大腸炎の原因は、未だ完全には解明されていないが、炎症性免疫応答の促進が病態に関与していると考えられている。我々はこれまでに新規化合物 STA（特許出願予定のため仮称）が、マウス腹部照射試験における放射線性腸炎を抑制することを発見した。また、腹部照射マウス空腸粘膜の mRNA-Seq 解析において、STA 投与マウスでは自然免疫応答関連遺伝子の大半が発現低下していたことから、STA には自然免疫担当細胞に対する何らかの抑制作用があるものと考えられた。

本研究では、潰瘍性大腸炎モデルとしてデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘導大腸炎モデルマウスを用い、放射線性腸炎だけでなく潰瘍性大腸炎にも有効な腸炎制御剤として化合物 STA が作用するか、体重、大腸長、糞便スコア、病理組織学的観察により検討した。その結果、C57BL/6N マウスに化合物 STA を腹腔内投与した場合、体重減少において有意な抑制効果が認められた。一方、炎症性サイトカインの産生に関わる *Casp1/Casp4(11)* 欠損マウスでは、化合物 STA による DSS 誘導大腸炎の改善が認められなかったことから、化合物 STA による DSS 誘導大腸炎に対する保護作用は Caspase-1/-4(11) 依存的であると考えられた。

現在、C57BL/6N マウスにおける体重以外の指標について解析を進めており、その結果を報告する予定である。

E-mail : c202122005@tokushima-u.ac.jp.com / y.higashi.radiation@gmail.com

MGとNMOSDの患者さんのために アレクシオンファーマだからこそできること

「MGやNMOSDで苦しむ患者さんにご家族の切なる声に応えたい」

その思いを原動力に、私たちは日々

新たな希望となる治療薬を届けるために全力で取り組んでいます。

MG:重症筋無力症 NMOSD:視神経脊髄炎スペクトラム障害



アレクシオンファーマ合同会社

〒150-0013
東京都渋谷区恵比寿一丁目18番14号
恵比寿ファーストスクエア

NU006-2003
2020年3月作成



放射性医薬品・局所脳血流診断薬 薬価基準収載

処方箋医薬品^(注) **パービューザミン®注**

放射性医薬品基準塩酸N-イソプロビル-4-ヨードアンフェタミン^(123I)注射液

注)注意—医師等の処方箋により使用すること

放射性医薬品・脳疾患診断薬 薬価基準収載

処方箋医薬品^(注) **ダットスキャン®静注**

放射性医薬品基準イオフルパン^(123I)注射液

注)注意—医師等の処方箋により使用すること

効能・効果、用法・用量、警告・禁忌を含む使用上の注意等は添付文書をご参照ください。 ® 登録商標

資料請求先

日本メジフィジックス株式会社

〒136-0075 東京都江東区新砂3丁目4番10号

製品に関するお問い合わせ先 0120-07-6941

弊社ホームページの“医療関係者専用情報”サイトで
SPECT検査について紹介しています。

<https://www.nmp.co.jp> 2020年12月作成

