戦略的創造研究推進事業
発展研究（SORST）

研究終了報告書

研究課題
「モルフォジェネティック・アポトーシス
による恒常性維持」

研究期間：平成１５年１０月　１日～
平成１８年　９月３０日

山田(安達)　卓
(神戸大学、准教授)

１．研究実施の概要

＜背景＞

未分化な細胞塊が特殊化した組織・器官へと発展するための初期段階には、モルフォゲンと呼ばれる細胞外物質による刺激が必要である。モルフォゲンは未分化な組織内部の限定された場所で産生されて、それが組織全体へと拡散することによって作られる濃度勾配が、各細胞に適切な位置情報をもたらすと考えられている。我々はショウジョウバエをモデルとし、発生途上の上皮組織においてモルフォゲン・シグナルを撹乱して、一部の細胞を本来たどるべき運命とは異なる方向に向かわせた際に、周辺の正常細胞との相互作用によって異常の存在が認識され、アポトーシスが導かれることを発見した（図１）。例えば、本来緩やかなスロープを作るべきモルフォゲン活性勾配の中に急勾配の段差が生じると、段差の両側の細胞はそれを認識して、その細胞から順次遠方の細胞へと細胞死を導き、最終的に段差を作る有害細胞を完全に除去して、緩やかなモルフォゲン活性勾配を再生させる。この現象は、形態形成を進めてゆく過程において異常細胞の検出と除去に重要な役割を果たし、正常発生を保証することから、Morphogenetic Apoptosis と命名された。より一般的な意味のためには、以後「非自律的細胞死」と呼ぶ。

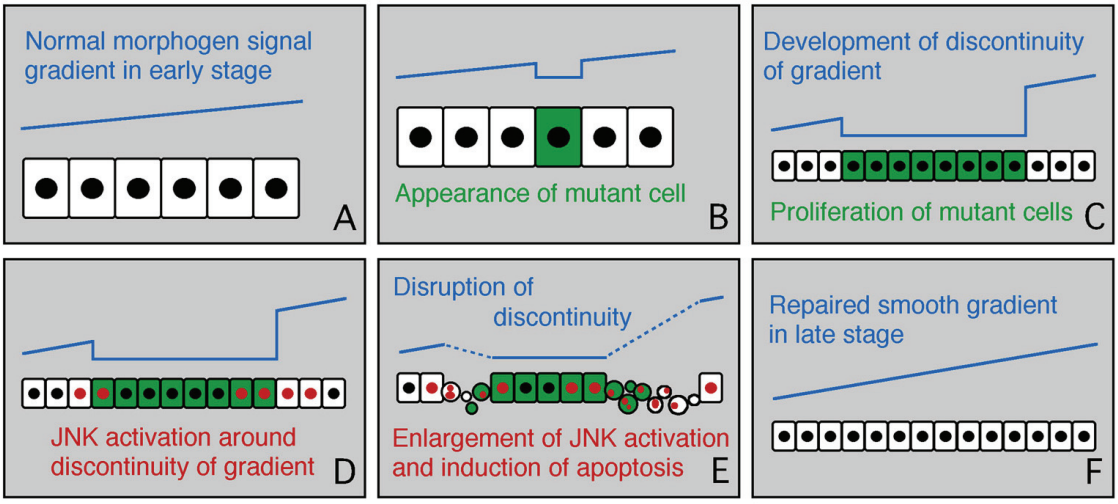


図1．モルフォジェネティック・アポトーシスの進行過程
（Adachi-Yamada & O'Connor（2002, 2004））

（A）初期の細胞群において形成され始めていると考えられるモルフォゲン・シグナル勾配（青）。
（B）モルフォゲン・シグナルの受容または伝達にかかわる因子の体細胞変異の発生（緑）。
（C）突然変異体クローンの増殖によって勾配の不連続が拡大する。
拡大の程度はクローンが組織全体のどこに位置しているかによって異なる。
（D）勾配の不連続を作る境界線の両側の細胞においてJNKが活性化する（赤）。
（E）JNK活性化によるアポトーシスが誘導され、境界線の両側にある細胞が死ぬ。
これは不連続線の発生をより内側の細胞に与えて、アポトーシスをより内部へ広げる。
（F）異常細胞が除かれた後、再びリガンドが拡散することによってなだらかな勾配が再生する。

＜基本構想＞

この現象は、類似の現象が全く報告されたことがなかったため、その普遍性や存在意義および作用メカニズムに関してさらなる検証が必要であった。そのために次の２つの研究を柱とする計画を進めた。

① 非自律的細胞死の生理的意義に関する研究
② 非自律的細胞死の作用機序に関する研究

①においては、主に二つの題材に着目した。その１つ目（❶）は環境汚染物質などの受容体の作用時に非自律的細胞死が作用するかどうか？という研究である。環境汚染物質が生物に影響を及ぼす事実は普遍的であり、それによって各種臓器に形態異常や細胞死がもたらされることもよく知られている。そこには形態形成シグナルの撹乱が関与しているはずである。そこで一つのモデルとしてダイオキシンの細胞死誘導能についての検証を行うこととした。なぜなら、ショウジョウバエにおいてもダイオキシン受容体とその補助因子 Arnt、またそれらの標的遺伝子上流のシス調節領域（XRE、Xenobiotic Responsive Element）への結合性など、多くの性質が哺乳類との間で保存され、十分な普遍性が期待できることに加え、ダイオキシン作用が起きる際には、全細胞が応答するのではなく、一部の過敏な細胞を中心として限られた領域内の細胞群がモザイク状に応答する習性があるとの過去の報告に着目したからである。これは Morphogen 活性勾配の不連続が導く Morphogenetic Apoptosis の出現環境と似ていることが期待できる。

２つ目の題材（❷）は、発がん初期に起きるアポトーシスが、周りの正常細胞からの作用によっても強化されるのではないか？という検証である。アポトーシスの不全ががんの悪性化につながる、という概念は既に確立されているが、その主たる根拠は、DNA 障害を検出する G1 チェックポイントがアポトーシス誘導に帰結する仕組みの存在に基づいており、そのため、このアポトーシスは自律的に行われるかのように予想されている。しかし、健常組織においてがん細胞が生まれた直後にアポトーシスを起こす姿は観察されていないため、その自律性については答えが得られていなかった。そこで我々は、G1 チェックポイントを突破して腫瘍化へ向かうがん細胞集団が、周辺の正常細胞からの作用によって再びアポトーシスへ仕向けられるチャンスがあるのではないか、と予想した。これを確かめるために、部位特異的組換え法（フリップアウト）などの遺伝的手法を用いて様々ながんを作り出し、どのように細胞死が誘導されてゆくのかという観察を進めた。

②については、主に３つの題材を扱った。❶特定の膜タンパク質に着目した非自律的細胞死に対する制御能力の検証、❷誘導型 RNAi による非自律的細胞死を制御する遺伝子のスクリーン、❸細胞および組織の形態や運動性の変化が周辺の細胞死を誘導するしくみの検証、という着眼点から研究を進めた。特に❷では、今後関連した多くの研究に対して貢献することが可能な、遺伝子と細胞死自律性との関係を俯瞰するデータベースを作成しつつある。

＜実施・研究成果＞

①　非自律的細胞死の生理的意義に関して

３年間の研究により、様々なケースにおいて確かに非自律的細胞死が生じることが明らかとなった。従って非自律的細胞死の存在意義は、単にモルフォゲン活性勾配のスロープ修復にとどまらず、ダイオキシン受容体が活性化した異常細胞や、RasやCasein kinase Ⅰの変異により増殖が活性化した異常細胞の検出除去など、広範に及ぶことが判明した。現在まで他の生物においてはこの現象が報告されていないが、おそらくは多くの多細胞高等動物に保存される、恒常性維持のための普遍的細胞応答であろうと期待している。一方ショウジョウバエでは、正常肢形成の過程においてもまた、非自律的細胞死が使われることが最近知られ始めた。

②　非自律的細胞死の作用機序に関して

非自律的な細胞死誘導のためには何らかの細胞間相互作用が関与すると考えられるため、それを担うシグナル分子や細胞機能を探索した。❶まず、特定の物質として膜タンパク質ファミリーLRR に着目した。これに着目した経緯は、形態形成を制御することが知られる転写調節因子Spalt が異所的に働いた際に誘導される細胞死に、LRR ファミリーに含まれる Capricious (Caps)や Tartan (Trn)といった分子の消失が伴うという過去の報告がヒントとなっている。研究の結果、ダイオキシン受容体ホモログ Spineless が活性化した細胞では、LRR ファミリーの別のメンバーである新規タンパク質 Fish-lips の発現が消失しており、この消失が Spineless による非自律的細胞死誘導において重要であることが明らかとなった。また別のアプローチとして、❷細胞膜タンパク質を中心とした多くのタンパク質の中から、そのノックダウンが非自律的細胞死をひきおこすものをスクリーンし、2485 個のタンパク質の中から 49 個のタンパク質を同定するに至った。この中には、直接的に非自律的細胞死を制御するのではなく、細胞増殖や細胞分化等の異常をひき起こした結果、二次的に非自律的細胞死を誘引する分子が含まれることが想定できるので、より直接的な作用を担う分子の絞り込みを継続している。❸最後に、ストレス応答性シグナル分子 JNK が細胞異常から細胞死に至るまでの間に活性化することによって、細胞死のみならず細胞運動や細胞形態にも影響を与えることがわかった。研究者（海外）によっては、こうした運動性や形態の変化が細胞に局所的なテンションを増加させ、その力によって非自律的細胞死が起きる可能性を唱え、膜タンパク質等を介する非自律的細胞死誘導の考え方に対峙する説となっていた。そこで、メカニカル・ストレスが非自律的細胞死に与える影響を独自に検証した結果、それが非自律的細胞死を誘導する傾向は認められるものの、全ての非自律的細胞死を説明できるものではないことが明らかとなった。

発展研究の３年は以上のような経緯である。所期の目標に沿って進めることができたが、より詳細な分子メカニズムの探求が残されている他、哺乳類を用いた研究がその方面から全く上がってこなかったため、普遍性を未だ十分に語れない。今後にひき続く研究ではこれらを追求し、ヒトを含めた高等生物の異常細胞排除と恒常性維持のメカニズムとして、応用的価値を担えるテーマに位置付けられることを期待している。

２．研究構想

本研究の構想は以下の二つから成る。

①　非自律的細胞死の生理的意義に関する研究

「Morphogenetic Apoptosis」に代表される非自律的細胞死がどれほどの普遍性を持ち、様々な疾病の自然治癒や恒常性維持にどの程度の役割を果たしているのか、その活用範囲を把握する。❶環境汚染物質受容体の代表としてのダイオキシン受容体シグナルに対する細胞死応答、そして、❷がん細胞出現初期に起きる細胞死応答に着目する。

②　非自律的細胞死の作用機序に関する研究

いかなる分子メカニズムによって非自律的細胞死の反応が開始され終息してゆくのか、その反応経路を解明する。本項目については、当初、独自の遺伝子スクリーン法を確立してとりかかる予定であったが、その後世界的な研究進展状況が変化したことや、国内で実行可能なRNAi技術が発展したことなどから、❶LRRファミリーなどのあらかじめ限られたタンパク質に注目して集中的に解析するほか、❷誘導型RNAiを用いた発生区画特異的な遺伝子ノックダウンより原因遺伝子を探るスクリーニングを開始した。また❸モルフォゲン・シグナルが制御する細胞・組織の運動性や形態の変化が非自律的細胞死を助長する効果について検討する。

＜①-❶　ダイオキシン受容体シグナルに対する応答について＞

環境汚染物質作用のモデルとして、ダイオキシン受容体の作用に着目する。なぜなら、ショウジョウバエにおいてもダイオキシン受容体とその補助因子 Arnt、それからそれらが XRE（Xenobiotic Responsive Element）という標的遺伝子上流のシス調節領域へ結合する性質など、多くの特徴が哺乳類との間で保存されていて、十分な進化的普遍性が期待されたことに加え、ダイオキシン作用が起きる際には、組織の全細胞が応答するのではなく、一部の過敏な細胞を中心として限られた領域内の細胞群がモザイク状に応答する習性があるとの報告があったからである。これはMorphogen活性勾配の不連続が導くMorphogenetic Apoptosisの出現環境とよく似ていることが期待される。

初めに、ダイオキシン受容体ホモログSplinelessを組織内でモザイク状に活性化させ、アポトーシスが誘導されてゆく過程を観察した。その結果、非自律的細胞死が器官内の位置に依存して見出され、またその位置特異性が体節のアイデンティティーを決める様々な *Hox* 遺伝子を発現させて運命転換させた時にも共通して認められる普遍的性質であることが明らかとなった（Adachi-Yamada *et al.* 2005）。

この結果を受けて、Spineless が誘導する非自律的な細胞死の発生原因がモルフォゲン・シグナルの受容や伝達の変化に負っているかどうかを検証する必要が生じた。そのために、二つの長距離型モルフォゲンDppやWingless（Wg）のターゲット遺伝子である、*omb*（*optomotor-blind*）や *Fz-3*（*Dfrizzled-3*）の発現状況を観察したが、変化は認められなかった。一方で短距離型モルフォゲンであるHedgehog（Hh）の標的遺伝子には影響を与えることが見い出されたので、その原因の究明にフォーカスを当てた。その結果、*hh* 遺伝子自身の転写を活性化させてHhシグナルを増強することが明らかとなった。し

かし、この異所的なHhシグナルは細胞死を誘導するものではなく、また正常なHhシグナルとは異なり、Dppを誘導せずにむしろ抑制し、細胞死を抑制するなどの新知見が明らかとなった（下記の口頭発表6および9、投稿準備中)。さらにこの場合のHhの発現は正常なHh発現と異なり、Engrailed非依存的である。従って今後は、この特異な性質を見せる一般的ではないHhシグナルの意義を、アポトーシス制御の観点から理解したいと考えている。また、Hhによって抑制されるDppの役割は、おそらくHhの役割と拮抗するなど、なんらかの関係をもつものであると考えられるので、その役割にも注目したいと考えている。さらに、様々な器官転換をひき起こすマスター遺伝子や体節形成のためのホメオティック遺伝子など、運命決定に重要な役目を果たす遺伝子によって異常な発生運命をもたらした時にも、Spineless発現の際と共通して同様のHh誘導が起きるのかどうかについても明らかにしてゆきたい。

＜①-❷　発がん初期のアポトーシスについて＞

生体内におけるがんは、通常多段階の遺伝子異常に起因しているケースが多く、そのためがんの種類は症例ごとに異なると言われるほど多種多様である。そのうちのいくつかの典型例について、発がんモデルとして調べてゆきたいと考えているが、まず初めに、強力ながん遺伝子として知られるRasの活性化型（RasV12）に対するアポトーシス応答を調べることを計画した。

発生途上の上皮組織でRasV12をモザイク状に活性化させ、ストレス応答性シグナル因子JNK、およびアポトーシス実行因子Caspase-3の活性化が誘導されてゆく過程を観察した。その結果、RasV12発現に伴ってその細胞および隣接細胞（近距離）で非自律的JNK活性化が見られることがわかったが、RasV12発現細胞自身ではおそらくRasV12のもつ抗アポトーシス作用のためにCaspase-3の活性化は起きず、その周辺に位置する正常細胞集団（遠距離）において非自律的細胞死が活性化されることが明らかになった。前者の近距離のJNK活性化の誘導は、細胞増殖の活性化だけでは不十分で、さらにMAPKカスケードの活性化が必要であることが明らかとなった。また後者の遠距離におけるCaspase-3活性化にはTNF-αが働いて細胞死を誘導しているが、それは拡散したTNF-αの直接的な作用によるものではなく、RasV12細胞自身が非拡散性のTNF-αを発現して自律的にJNKを活性化し、それによってRasV12細胞集団が正常細胞集団の側へせり出すような形態変化を見せ、おそらくそのメカニカル・ストレスが細胞死の原因となっていることが明らかになった（下記の口頭発表 2)。この仕組みは極めて具体的に明らかとなったが、残念ながらがん細胞排除のしくみからは遠ざかってしまったので、第３年次以降では別の発ガン機構との関連に焦点を移した。

即ち、細胞死耐性がより低いCasein kinase Ⅰの変異に起因する増殖誘導を行った。その結果、growth advantageをもった細胞が積極的に細胞死に向かうことがわかり、つづいてモザイク解析を行ったところ、明瞭な非自律的細胞死を認めることができた。また上記のような上皮層の形態変化も伴っていることが明らかとなった（Adachi-Yamada *et al.* 印刷中)。今後はその詳細な分子機構の解明に迫りたい。

＜②-❶　LRRファミリーによる細胞死制御について＞

モルフォジェネティック・アポトーシスの制御因子を探る方法は、当初、部位特異的な体細胞組換え法によって異常クローンを誘発し、PiggyBacトランスポゾンのタギング変異導入によってモディファイヤー変異体を見つける独自の手法の確立を目指していたが、パイロット実験の結果、異常クローンの除去が不能になった個体の生存率があま

りに低いことからスクリーニングの実効性に大きな障壁が懸念されてきた。一方その後、下記のような海外からの研究成果が報告されてきたため、次項のスクリーニングと平行して、LRR ファミリーなどのあらかじめ限られたタンパク質に注目して、細胞死制御を集中的に解析することとした。

近年、LRR ファミリータンパク質に含まれる Capricious (Caps)や Tartan (Trn)が、異なる遺伝子発現をする細胞集団の識別やソーティングの際に働き、細胞死を制御できることが報告された。そこで新たなメンバーである Fish-lips (Fili)に着目し、その機能を変化させて、ダイオキシン受容体ホモログ Spineless の活性化によるアポトーシス誘導の初期過程のメカニズム解明を試みることとした。その結果、Fili は Spineless がひき起こす自律的な細胞死も非自律的な細胞死も、両方とも抑制できることが明らかになった (Adachi-Yamada *et al.* 2005)。しかし Fili はどのような原因による細胞死に対しても共通して抑制する作用があるわけではなく、Spineless 誘導性の細胞死に対して特に強い効果を見せる他、Fili 発現量の大きな不連続を長時間にわたって形成すると、その不連続線から両側へ細胞死が誘導されることなど、非自律的細胞死を制御する因子としてふさわしい性質も明らかになってきた。そこで今後は、この Fili がいかなる機能によって他の細胞と相互作用するのかについて、遺伝学的な上位性検定に基づきながら、より詳細なメカニズム解明を継続したい。

＜②-❷　誘導型 RNAi を用いたスクリーニングについて＞

翅原基において、特定の遺伝子の機能を失わせた細胞集団を誘導型 RNAi によって作成し、非自律的細胞死をひき起こすケースを免疫組織化学的に探索する。すなわち、翅原基の背側区画でのみで任意のショウジョウバエ遺伝子の RNAi を行うと、背腹区画境界線上の長い線を挟んで異常細胞群と正常細胞群が接することになり、もしも Morphogenetic Apoptosis 様の非自律的細胞死が誘発される場合には、その線に沿って両側に JNK 活性化が見られることになる。この実験をショウジョウバエの誘導型 RNAi 系統が作成された順に、順次行ってゆく。この研究に用いる誘導型 RNAi 系統は、国立遺伝学研究所の上田龍教授・東京大学の西郷薫教授らによって作成と収集が進められているものである。この検索を網羅的に進めて各遺伝子ノックダウンの見せる結果を把握することにより、非自律的細胞死を制御する遺伝子を探索するのみならず、非自律的細胞死のパターンをいくつかに分類して体系化することが可能になることが期待できる。

＜②-❸　細胞・組織の運動性とアポトーシスについて＞

研究の進捗途上で明確になってきた新事実の一つに、細胞の動きや細胞層の変形が原因となってひき起こされると考えられる非自律的細胞死がある。モルフォゲンは単に細胞の分化運命を規定するのみならず、細胞増殖や細胞運動、細胞骨格などを支配する性質があるので、モルフォゲン・シグナルを変化させると、これらの性質にも影響が現れる。その結果、モルフォゲン・シグナルの変化した細胞は、その場にとどまらずに移動していったり、上皮層全体として広範囲の形態変化をひき起こしたりすることがあり、それに伴って生じる分化細胞の異所的な配置やメカニカル・ストレスが、細胞死を助長している可能性がある。極論すると、異常細胞の排除は、それを目的とした積極的な細胞間相互作用に起因するのではなく、異常細胞発生に付随する運動性変化の結果、偶然にもたらされている場合がある可能性がある。この可能性の正否を明確にするために、細胞や組織の移動・運動をコントロールしながらモルフォゲンシグナルを変化させて、細胞死に対する効果を検証するほか、細胞形態や細胞運動のみを変化させて、細胞死の自律性を把握することを計画した。

３．研究内容

３．１

(1)実施の内容

＜①-❶　ダイオキシン受容体シグナルに対する応答について＞

「Morphogenetic apoptosis」のような非自律的細胞死がどれほどの普遍性を持っているのか、その活用範囲を把握することを目的とし、まず環境汚染物質作用の１モデルとして、ダイオキシン受容体ホモログ Spineless の活性化に対する細胞死応答を解析した。

初めに、部位特異的組換え法（FLP/FRT 法）によって Spineless を組織内（翅原基）でモザイク上に活性化させ、アポトーシスが誘導されてゆく過程を観察した。モザイク誘発後約 72 時間でクローンの多くが消失していたので、約 48 時間前後に、ストレス応答性タンパク質リン酸化酵素 JNK とアポトーシス実行因子 Caspase-3 の活性化がどのように分布しているのか、その動態を観察して、Morphogenetic apoptosis との異同を比較した。その結果、そのアポトーシス応答の自律性には器官内の位置に依存した違いがあり、将来翅の平面を作る領域（Wing blade）では JNK と Caspase-3 の自律的な活性化が認められたが、翅の基部を作る領域（Wing hinge）では Morphogenetic apoptosis 様の非自律的な活性化が顕著に認められた（図２）。

次に IAP（Inhibitor of Apoptosis Protein）や p35 などの存在下において、Spineless が活性化された細胞のアポトーシスを阻止し、それらがどのような組織として発達してゆくのか観察したところ、それは肢の先端部に近い形態を見せることがわかった。その結果に基づき、Spineless 作用のターゲット遺伝子として、肢の器官決定因子である *Distal-less*（*Dll*）を予想し、その遺伝子発現を検出したところ、Spineless の異所的活性化に従って、*Dll* が細胞自律的に発現誘導されることがわかった。その他の肢環節特異的発現を起こす遺伝子の発現も明瞭に誘導された（図３）。また、*Dll* の突然変異体が、Spineless 誘導性の細胞死を顕著に抑圧できることが明らかとなったので、この翅から肢への発生運命の転換が、細胞死の原因になっていることが強く示唆された（Adachi-Yamada *et al.* 2005）。

アポトーシスが異常組織の修復にどのくらい貢献しているのかを把握するために、IAP や p35 を発現させた場合とそうでない場合との間の修復度を比較したところ、発現させた場合にはアポトーシスを完全には防ぎ切れないものの、その進行を遅らせ、最終的な成虫の生存頻度／生活力を著しく低下させることが明らかとなった。従ってこのアポトーシスの誘導には、異常組織除去と恒常性維持を目的とする意義があると判断された。

Spineless が誘導するアポトーシスが、Morphogenetic apoptosis 様の非自律的な細胞死誘導を見せるならば、その発生原因がモルフォゲン・シグナルの受容や伝達の変化に負っているかどうかを検証する必要がある。そのために、二つの長距離型モルフォゲン Dpp や Wg のターゲット遺伝子である、*omb*（*optomotor-blind*）や *Fz-3*（*Dfrizzled-3*）の発現状況を観察した。その結果、これらの標的遺伝子群の発現には大きな変化が認められず、Morphogenetic apoptosis 様の非自律的な細胞死誘導はモルフォゲン・シグナルの受容や伝達の変化に必ずしも依存しないことが明らかとなった。前述のように、Spineless の異所的活性化は肢のような腹側付属肢への運命転換を導くので、翅の中に

できた肢細胞と周囲の正常な翅細胞における、それぞれの細胞表面の分子の間の相互作用が、非自律的な細胞死を誘導する原因になっていることが予測された。

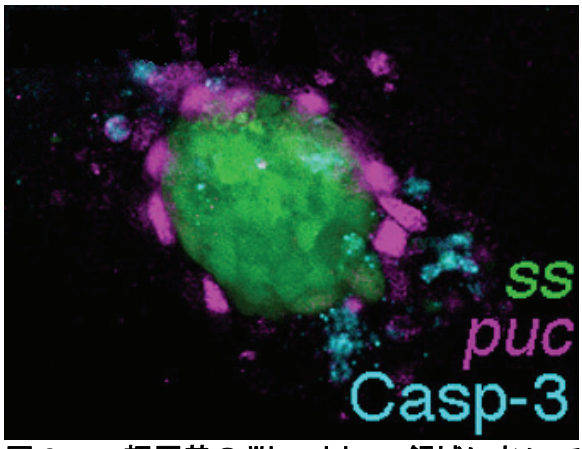


図２．　翅原基の Wing hinge 領域において、異所的に Spineless（*ss*）を発現する細胞集団（緑）が見せる、JNK（*puc*, マゼンタ）と Caspase-3（Casp-3, 水色）の非自律的な活性化（山田(安達)卓による実験。Adachi-Yamada *et al.* 2005)。

	Dll	*cut*	*hth*	*sal*	*dac*	*al*
blade clones	+	NE	-	-	+	-
hinge clones	NE	+	+	NE	NE	NE

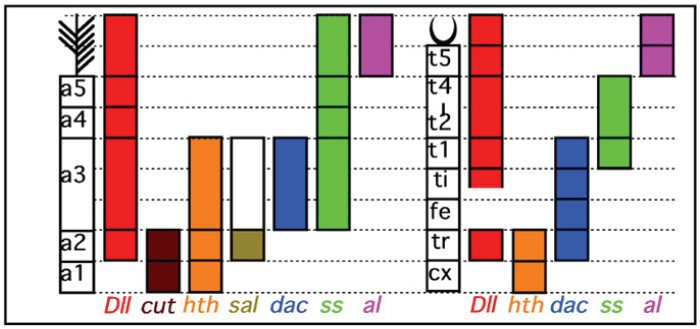


図３．　異所的に Spineless を発現する翅細胞が見せる、各種の肢および触角環節マーカーの遺伝子発現（山田(安達)卓および大学院生・春本敏之による実験。Adachi-Yamada *et al.* 2005)。＋は発現の上昇、－は発現の減少、NE（Not Expressed）は発現がないことを示す。Wing blade 領域における Spineless 強制発現細胞は肢環節 t1 の細胞に転換し、Wing hinge 領域における Spineless 強制発現細胞は肢あるいは触角に現存する環節に対応しないが、*hth* の発現上昇に基づき付属肢基部の細胞に転換することがわかった。

Spineless が誘導するアポトーシスが、Morphogenetic Apoptosis 様の非自律的な細胞死誘導を見せたので、その発生原因がモルフォゲン・シグナルの受容や伝達の変化に負っているかどうかを検証する必要があった。そのために、二つの長距離型モルフォゲン Dpp や Wg のターゲット遺伝子である、*omb*（*optomotor-blind*）や *Fz-3*（*Dfrizzled-3*）の発現状況を観察したが、変化は認められなかった。一方で短距離型モルフォゲンである Hedgehog（Hh)の標的遺伝子には影響を与え、その原因が Hh 自身の異所的転写活性化によることが明らかとなった（図４)。非常に特徴的な性質は、この場合の異所的な Hh の発現は正常な Hh 発現と異なり、Engrailed 非依存的なものである。またこの異所

的 Hh シグナルの機能に関して探究した結果、これが細胞死も細胞増殖を昂進することはないが細胞死耐性を与えるという予想外の結果がことが得られた。さらに、正常の翅原基では Hh シグナルは長距離拡散性の Dpp の転写を誘導する性質をもつが、Spineless が活性化した状況下での異所的 Hh は、むしろこれを抑制する傾向にあり、さらに Dpp シグナル自身も細胞死をむしろ誘導する性質があることがわかった。従って Hh シグナルの活性化は、部分的に Dpp の抑制を介して細胞死体制をもたらしていると考えられる（下記の口頭発表 6 および 9)。

このように Spineless 誘導性の細胞死とは言っても単純ではないが、なぜこのような複雑な仕組みが存在しているのかを明らかにするため、正常な発生において Spineless 誘導性の Engrailed 非依存的な Hh 発現部位を調査中であり、いくつかの候補が見つかっている（未発表)。

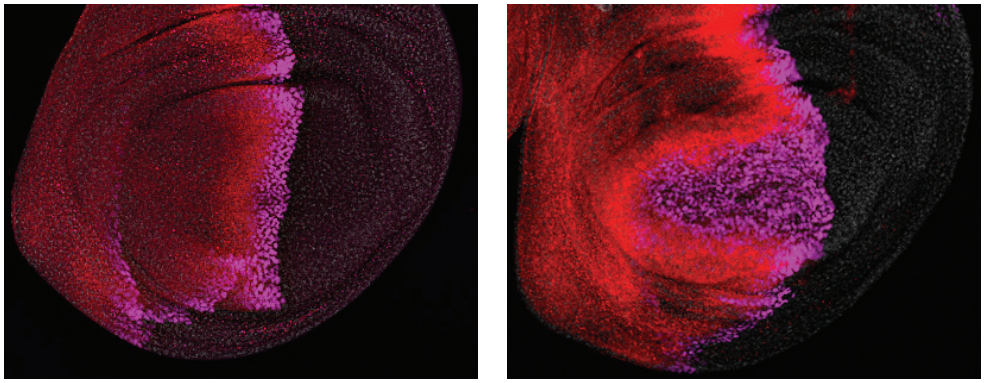


図４．　野生型（左）と Spineless を活性化した翅原基（右）における Hh シグナル（赤：Ci たんぱく質の蓄積。マゼンタ：*ptc* の転写。いずれも Hh シグナルに応答する。）（山田(安達)卓および竹村昌彦による実験。下記の口頭発表 6 および 9)

＜①-❷　発がん初期のアポトーシスについて＞

まず、部位特異的組換え法（FLP/FRT 法）によって、成虫原基など発生途上の組織で、活性型 Ras である RasV12 をモザイク上に活性化させ、ストレス性シグナル因子 JNK、およびアポトーシス実行因子 Caspase-3 の活性化が誘導されてゆく過程を、細胞自律性とステージに注目して観察した。哺乳類の培養細胞を用いた実験などでも、RasV12 が JNK を活性化するという報告が既にあったが、例えば個体の中でその応答がどのくらいの体積のがん組織から始まるのか、というステージ依存性については全くわかっていなかった。実験の結果、JNK の活性化は自律的および非自律的に誘導され、そのステージには大きなばらつきがあるが、最も若いステージでは４細胞期に（がん細胞発生ののち２回分裂した時点で）起きることが明らかとなった。しかし興味深いことに、Caspase-3 の活性化については Ras 活性化細胞から長距離を隔てた非自律的なものしか観察されなかった（下記の口頭発表 2、図５)。

次に、アポトーシスまたは JNK 活性化が、がん組織の除去にどのくらい貢献しているのかを知るために、Ras 活性化とともにドミナントネガティブ型 JNK、アクティブ型 JNK などを発現させ、その状況下での表現型の悪性度を、単なる Ras 活性化の場合と比較した。その結果、JNK 活性化が起きることによってガン組織の膨張が顕著となることがわかった。後述するように、これはこの時の JNK が自律的細胞死を誘導するものではなく、がん細胞の形態変化を促しているからで、後に国外の研究者によって示された事実と矛

盾しない。

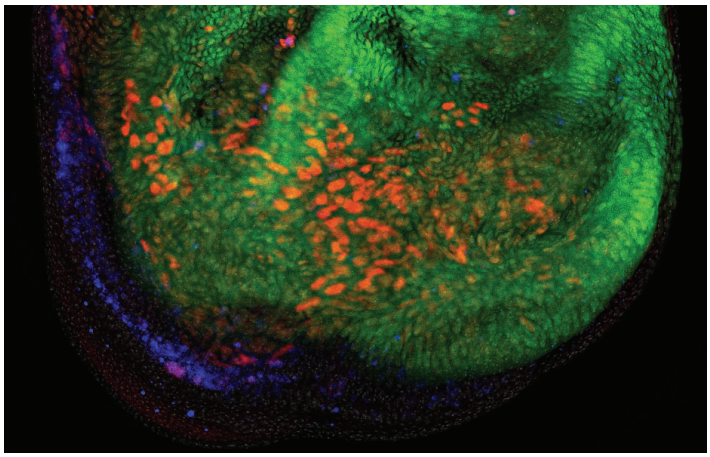


図５．RasV12 を背側区画（緑）で発現させたときの、自律的および非自律的（近距離）な JNK 活性化（赤）と非自律的（遠距離）な Caspase-3 活性化（青）。（大学院生・春本敏之による実験。下記の口頭発表 2）

かつてからヒトを含めた哺乳動物細胞において、分泌拡散性のアポトーシス因子 TNF-α（Tumor Necrosis Factor-α）が、Ras などに起因するがん細胞の除去に効果的であることが、知られてきた。この TNF-α のショウジョウバエ突然変異体 *eiger*（*egr*)が、東大の三浦正幸教授のグループによって発見されたので、これを用いて、Ras のひき起こす非自律的細胞死において TNF-α が働く作用が自然状態で起きているかどうかを、遺伝学的に検証した。その結果、*egr* は確かに働いて非自律的な Caspase-3 活性化を制御しているが、それは拡散した Egr（*egr* の産生タンパク質）による直接的な作用によるものではなく、非拡散性の Egr によって自律的に JNK を活性化した Ras 活性化細胞が、細胞形態を変化させることによって外側へ張り出し、おそらくそのメカニカル・ストレスが原因で非自律的な細胞死が起きることが明らかになった。予想外であったことは、この時の Egr は Ras 活性化細胞を全く除去することができないことである。これは活性化型 Ras が導く強い細胞死耐性によるものと考えられる。（下記の口頭発表 2)。

一般的な Morphogenetic apoptosis をひき起こす過程では、異常組織は周辺の正常細胞とは異なるアフィニティを確立し、異常細胞集団の形状が円形にソーティングアウトされることが知られている。従って、非自律的 JNK 活性化が誘発される一つの原因が、細胞接着因子の変化による新たなアフィニティ形成にある可能性が考えられる。そこで、翅原基において Ras が転写誘導する細胞接着因子、E-cadherin の突然変異体クローンの中で Ras を活性化させ、非自律的細胞死誘導に対する効果を検討した。しかしこの結果、E-cadherin の突然変異によっても Ras 活性化クローンのアフィニティや非自律的細胞死を抑制することはできず、E-cadherin が正常な場合と変わらない程度の非自律的 JNK 活性化が認められた（下記の口頭発表 2)。ただ、このことは直ちに E-cadherin の関与を否定するものではなく、逆に E-cadherin を発現しないクローンが、周囲とは異なる独自のアフィニティを確立して、非自律的細胞死を誘導している可能性が考えられる。これを含めて、今後さらなるアフィニティ形成要因について検討を試みる必要がある。

上記の経緯で見つかった非拡散性 Egr の機能は、それはそれとして興味深い現象であったが、研究の主たる目的であるがん細胞の除去メカニズムからは離れるので、さらに別

の growth advantage を与える変異として、Casein Kinase 1（CK1）に焦点を移すこととした。CK1δ/εのショウジョウバエ・ホモログ Discs overgrown（dco）の突然変異体は翅原基や肢原基の過剰成長をひき起こす。その性質は上皮細胞の極性が保たれたまま growth advantage を獲得している hyperplasia であり、がん化の初期に相当すると考えられる。正常な組織の中に *dco* 突然変異体の細胞集団を作ると、ある程度増殖が進んだ段階から JNK 依存的アポトーシスが始まり取り除かれることがわかった（図６）。その際には変異細胞集団と正常細胞集団との境界線付近から JNK 活性化が始まるので、Morphogenetic Apoptosis とほぼ同様の進行過程をたどると考えられた。そこで、Dpp シグナルや Wg シグナルのレベルが、変異細胞集団において大きく変化しているかどうかを調べたが、それを認めることはできなかった。従って、モルフォゲン活性に依存しない、増殖率の違いを反映した非自律的細胞死が誘導されているものと考えられた（Adachi-Yamada *et al.* 印刷中）。

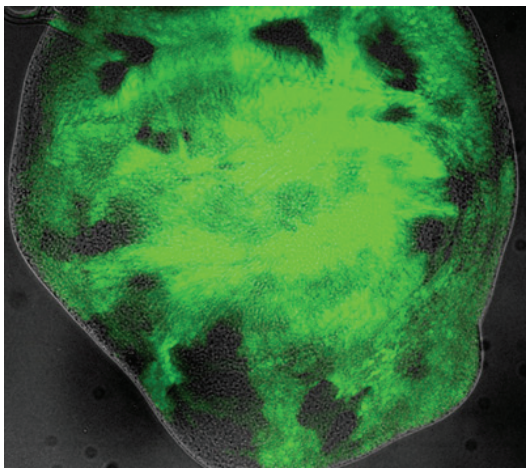


図６．*dco* 変異による増殖細胞群（緑色背景の中の黒色細胞群）が翅原基中央部から除去された様子（大学院生・春本敏之による実験。Adachi-Yamada *et al.* 印刷中）

＜②-❶　LRR ファミリーによる細胞死制御について＞

ダイオキシン受容体ホモログ Spineless 誘導性の細胞死を制御する細胞膜上の因子に関して調べ、アポトーシス誘導の初期過程のメカニズム解明を試みた。Capricious（Caps）や Tartan（Trn）などの LRR ファミリー膜タンパク質は、翅原基における遠距離型モルフォゲン Dpp のターゲットである spalt を異所的に誘導した時に発現が抑制され、同時にひき起こされてくる細胞死は、Caps や Trn の発現抑制を回復させた時には抑圧されることが知られていた。従って Caps や Trn は、spalt を発現をする細胞集団の識別やソーティング（仕分け）の際に働き、最終的に異常細胞の細胞死を制御できることが予測されていた。そこでその考えを応用し、新規に発見した LRR ファミリータンパク質 Fish-lips（Fili）の発現が、Spineless によって誘導される *Dll* と相補的であったことから、これが Spineless 活性化による細胞死の制御を行えるかどうかを検証した。その結果、新規に発見された LRR ファミリータンパク質 Fili の発現が Spineless の活性化によって失われ、その発現を復帰させてやると、Spineless 誘導性のアポトーシスが抑制されることが判明した（Adachi-Yamada *et al.* 2005）。そこで、Spineless が活性化して Fili が失われ、外側の正常細胞集団との Communication が途切れると、細胞がアポトーシスへ向かうアイデアが提唱された。

しかしこの結果は、Fili を介した細胞間相互作用を意味するのではなく、Fili が単にアポトーシス抑制効果を持っていることを示しているだけかも知れない。そこで様々な対照実験を導入することにより、Fili が Spineless 誘導性細胞死において特異的な抑制効果を見せることを確実に証明した。例えば、spalt が異所的発現した際の細胞死においてFiliを共発現させてみても、細胞死抑制は起きなかった。また、CapsをSpinelessと共発現させても Spineless 誘導性の細胞死抑制は起きなかった。さらに、Fili を単独で過剰発現させたところ、元々Fili が発現していない領域においてのみ、発現部位の境界線をはさんで非自律的な JNK が活性化され、細胞死が誘導された（図７）。従って、細胞集団の中で Fili 発現の ON/OFF が生まれてしまうと、細胞間の Communication が途切れておそらくサバイバルシグナルが伝達されなくなったことにより、JNK 活性化へ向かうことが示された。これらは先行していた Caps や Trn の研究においても明らかにされなかった成果である。さらにその細胞死の前に接着性の違いからソーティングが起こり、Fili を発現する細胞集団が丸く孤立することも示された（Adachi-Yamada *et al.* 2005）。

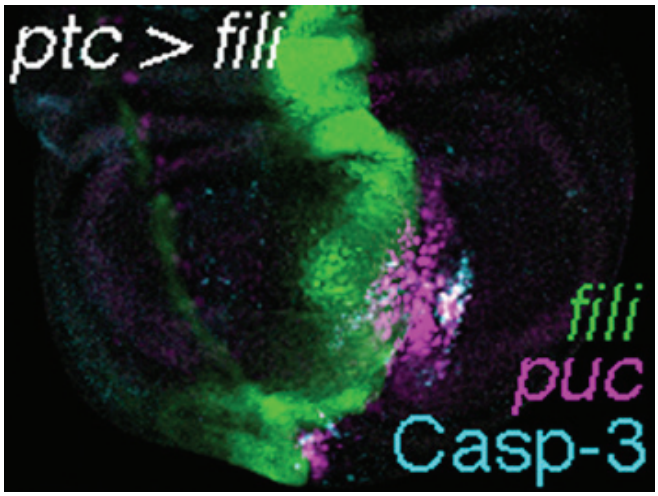


図７．　異所的に *fili*（緑）を発現した翅原基が見せる非自律的な JNK 活性化（マゼンタ）と Caspase-3 活性化（水色）（山田（安達）卓による実験。Adachi-Yamada *et al.* 2005）

＜②-❷　誘導型 RNAi を用いたスクリーニングについて＞

非自律的細胞死をひき起こす分子メカニズムを探るため、それを導く遺伝子の直接的な探索を行った。すなわち、翅原基の背側区画のみで任意のショウジョウバエ遺伝子の RNAi を行うと、背腹区画境界線上の長い線を挟んでノックダウン細胞群と正常細胞群が接することになり、もしも Morphogenetic Apoptosis 様の非自律的細胞死が誘発される場合には、その線に沿った JNK 活性化が見られることになる。このスクリーニングを多数のショウジョウバエ RNAi 系統を扱って行い、非自律的細胞死を制御する遺伝子を探索した。この研究は、RNAi 系統の供給源である国立遺伝学研究所・上田龍教授および東京大学・西郷薫教授との共同研究で行われ、現在までに供給可能な 2485 遺伝子のスクリーンを終了した。その結果、計 49 個の遺伝子（およそ 50 個の遺伝子のうちひとつ）は、顕著な非自律的 JNK 活性化パターンを示した（未発表）。さらに、JNK や Caspase-3 の活性化パターンから、非自律的細胞死はいくつかのタイプに分類することができると考えられたので、それらの体系化を進めてデータベースを構築し、ほぼ完成している（図８）。このほか、興味深い遺伝子、特に細胞間相互作用を担うと予測される膜タンパク

質の機能解析を進める。

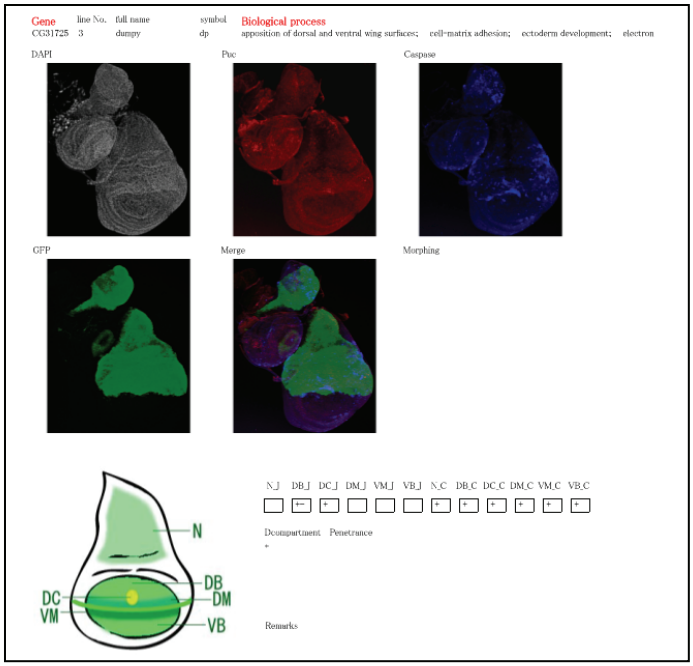


図８．　誘導型 RNA i によるアポトーシスの自律性を示すデータベース（技術員・羽原興子による実験）
（2485 ページのうちの１ページを例示したもの）

＜②-❸　細胞・組織の運動性とアポトーシスについて＞

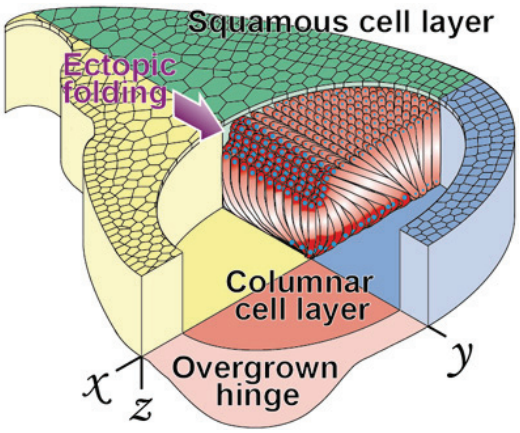


図９．　Dpp シグナルの標的遺伝子 *omb* の突然変異体における翅原基円柱上皮細胞層の陥入（紫色矢印）。（大学院生・梅森慎による実験。下記の論文発表 4、口頭発表 8）
（赤は F-actin、青は Tubulin の集積を示し、その周辺で細胞死の頻度が高くなる。）

最近新たに明らかとなってきた新事実の一つに、細胞の動きや細胞層の変形（図９）が原因となってひき起こされると考えられる細胞死がある。モルフォゲンは単に細胞の分化運命を規定するのみならず、2 次的に細胞増殖や細胞運動、細胞骨格などを支配する性質があるので、モルフォゲン・シグナルを変化させると、これらの性質にも影響が現れる。その結果、モルフォゲン・シグナルの変化した細胞は、その場にとどまらずに移動していったり、上皮層全体として局部的な形態変化をひき起こしたりすることがあり、

それに伴って生じる分化細胞の異所的な配置やメカニカル・ストレスが、細胞死を助長している可能性がある。つまり極論すると、異常細胞の排除をひき起こす非自律的細胞死は、それを目的とした積極的な細胞間相互作用に起因するのではなく、異常細胞発生に付随する運動性変化の結果として、偶然にもたらされている場合がある可能性がある。実際、長距離型モルフォゲン Dpp の受容体 Tkv の突然変異体や、標的遺伝子 *omb* の突然変異体では、細胞死が見られる領域の周辺に細胞層の変形も併発していることが多い。そこで、モルフォゲン・シグナルを正常なままに細胞層の変形だけ誘導してみると、若干の非自律的細胞死が誘導された。また *omb* 突然変異によってモルフォゲン・シグナルが変化した状態ながら細胞層の変形が起きないようにすると細胞死誘導量は若干減少する（Umemori *et al.* 印刷中、および下記の口頭発表 8）。こうした細胞の移動や細胞層の変形が、異常細胞排除のための細胞死にどの程度貢献しているのかについて、さらなる検証を進めている最中である。

また別の例として、上述した Casein Kinase 1（CK1）δ／ε のショウジョウバエ・ホモログ Discs overgrown（dco）の突然変異体は翅原基や肢原基の過剰成長をひき起こす。その性質は上皮細胞の極性が保たれたまま growth advantage を獲得している hyperplasia であり、がん化の初期に相当すると考えられる。そこで、正常な組織の中に *dco* 突然変異体の細胞集団を作ると、ある程度増殖が進んだ段階から JNK 依存的アポトーシスが始まり取り除かれることがわかった。その際には変異細胞集団と正常細胞集団との境界線付近から JNK 活性化が始まることが観察されたので、Morphogenetic Apoptosis とほぼ同様の進行過程をたどると考えられた。そこで、Dpp シグナルや Wg シグナルのレベルが、変異細胞集団において大きく変化しているかどうかを調べたが、それを認めることはできなかった。従って、モルフォゲン活性に依存しない、増殖率の違いを反映した非自律的細胞死が誘導されているものと考えられた（Adachi-Yamada *et al.* 印刷中）。

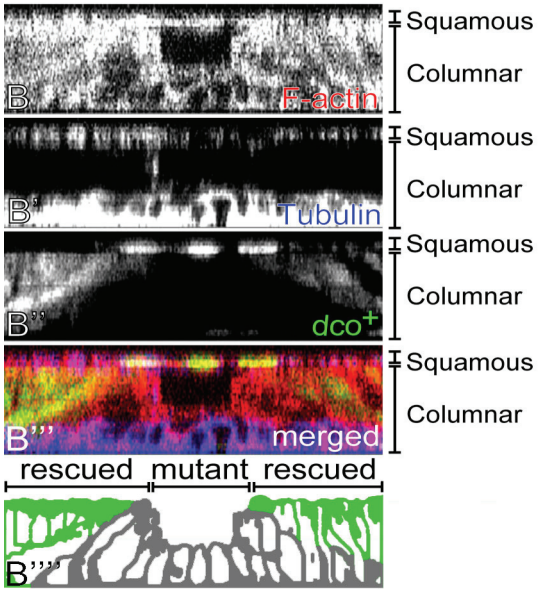


図１０．　レーザー共焦点画像による成虫原基の再構成断面図。野生型細胞集団（rescued, *dco*⁺, 緑）の中に作られた *dco*³/*dco*² 突然変異体細胞集団（mutant, 黒）は、シスト状構造を作って基底側への落ち込む。その周辺で細胞死が頻発する（大学院生・前田紘輔による実験。Adachi-Yamada *et al.* 印刷中）。
（赤＝F-actin、青＝Tubulin、Squamous＝単層扁平上皮、Columnar＝単層円柱上皮）

その場合の原因の一つとして、上皮層の平坦性が失われた結果として生まれるメカニカ

ル・ストレスが細胞死を誘発する仕組みが考えられた。即ち、*dco* 突然変異体の細胞集団は、細胞のアピカル側を向かい合わせた特有の集合構造を作ることがあきらかとなり（図 10)、これは従来知られた Dpp 受容体 Tkv の突然変異体細胞集団が見せる「シスト」と同様の形態的特徴である。シスト形成はメカニカル・ストレスによって周囲に細胞死を誘導すると考えられている。一方、Dpp 受容体の突然変異体細胞集団のシストは Tublin の強い低下と F-actin の弱い増加を伴うことが報告されているが、この dco 突然変異体の細胞集団では、Tublin の弱い増加と F-actin の強い増加を伴い、両者は異なる分子メカニズムによることがわかった（Adachi-Yamada *et al.* 印刷中)。

こうしたがん細胞集団の特異的形態形成が、その細胞死に影響を与えるかどうかを知るために、がん細胞集団の外側に分布する正常細胞集団における非自律的活性化 JNK だけを不活化する実験を試みた。非自律的に正常細胞側で活性化した JNK は、直接的にがん細胞の除去に効くとは考えられず、実際 Dpp シグナル勾配の不連続に伴うモルフォジェネティック・アポトーシスでは、正常細胞側の JNK 活性は異常細胞除去にあまり寄与しない。しかしながら実験の結果、正常細胞における JNK の不活性化は、がん細胞の除去に効果をもつという意外な結末になった。考えられる 1 つ原因として、上皮の平坦性が回復したことが挙げられる。がん細胞集団と正常細胞集団の境界線をはさんで両側に認められる JNK 活性化のうち、外側半分を消失させることにより JNK 活性化細胞の数は半減し、シスト形成はより起こりにくくなる。これが細胞死の頻度を軽減させたと考えられるが、また別の考え方として、JNK を活性化した細胞は周辺の細胞にも細胞死シグナルを伝播するという可能性も残されている（Adachi-Yamada *et al.* 印刷中)。

以上の経過によって、上皮の平坦性を損なう細胞骨格の変化は、様々な場合があり得るが、それらはいずれも非自律的細胞死誘導に、究極的なものではないにせよ、ある程度の影響を与えるものと考えられた。

(2)得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

本来、正常な生体内に存在する分化細胞が異所的に現れたとき、この細胞自体に異常な機能は内包されていないので、これを除去するには細胞間相互作用によって異所性を認識させ、非自律的に細胞死を誘導するより他に方法がないのではないか？と思われる。しかしこうした合理性にもかかわらず、このタイプの細胞死誘導に関する研究は長く取り残されており、その普遍性やメカニズムは未だよく知られない。

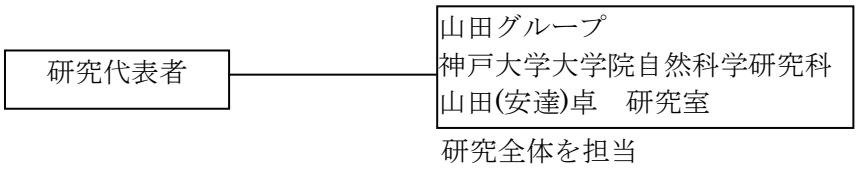
この中にあって、この５年のうちに国外の研究者から２つの興味深い報告があった。1 つは異所的 Spalt 産生細胞が細胞死するにあたって、Spalt と相補的に発現する LRR（Caps や Trn）が関与するという報告である（Milan *et al.* 2002, Dev.Cell 2, 797-805)。この報告は我々が新たな LRR である Fili に着目するきっかけとなり、重要であったが、この報告ではただ細胞の存否を見ているだけで、JNK や Caspase-3 の活性を全く見ておらず、また LRR 単独の操作における細胞死誘導には成功していなかったために、解釈の非常に難しい内容であった。これに対して我々の Spineless 誘導性の細胞死に関する研究では、Fili の消失によって JNK 活性化が非自律的に生じることを可視化し、それは Fili 単独の操作によっても見ることができて、論理を明快に示せたと思う。もう 1 つの重要な国外からの研究成果は、Tkv 突然変異体細胞集団のシスト形成により、上皮の平坦性が変化することが細胞死を導く可能性を指摘した

報告（Gibson and Perrimon 2005, Science 307, 1785-1789）で、この正否を論ずるにはまだ多くの検証の余地が残されている。しかし、今までに試した少数の実験からも、シスト形成には十分な細胞死をひき起こす能力はないと判断され、これだけで非自律的細胞死を説明するのは無理があり、また非自律的 JNK 活性化は平坦性を保った扁平上皮細胞にも認められることから（未発表）、やはり細胞間相互作用が非自律的細胞死誘導の主役である、と我々は考えている。

我々のこれまでの研究結果から、上記の様々な異常細胞発生時において JNK 活性化が確かに非自律的に生じ、アポトーシスを導くことが明らかとなった。つまり Morphogenetic Apoptosis の存在意義は、単にモルフォゲン活性勾配のスロープ修復にとどまらず、環境汚染物質に曝露された細胞や発癌初期における変異細胞などの検出と排除においても、重要な役割を果たすことが証明できた。現在、他の生物においてはモザイク解析が簡便に行えない理由のために、この現象が報告されていないが、おそらくはヒトを含めた全ての多細胞高等動物に保存される、恒常性維持のための普遍的細胞応答であろうと期待している。今後にひき続く研究ではこれらを追求し、ヒトを含めた高等生物の異常細胞排除と恒常性維持のメカニズムとして、応用的価値を担えるテーマに位置付けられることを願っている。

４．研究実施体制

(1)体制



(2)メンバー表

山田(安達)グループ

氏　名	所　属	役　職	研究項目	参加時期
羽原興子	科学技術振興機構	技術員	非自律的細胞死をひき起こすRNAi系統のスクリーン	平成１６年４月～ 平成１８年９月 （２年半）
春本敏之	神戸大学 大学院総合人間科学研究科	大学院生 マスターコース	活性化型Rasによる非自律的細胞死のメカニズムに関する研究	平成１５年１０月 ～平成１７年３月 （１年半）
梅森慎	神戸大学 大学院総合人間科学研究科	大学院生 マスターコース	*omb*変異体における拡大性の細胞死のメカニズムに関する研究	平成１７年４月～ 平成１８年９月 （１年半）
岡部敦吏	神戸大学 大学院総合人間科学研究科	大学院生 マスターコース	*dco*変異体における癌化と細胞死との関係解明	平成１８年４月～ 平成１８年９月 （半年）
前田紘輔	神戸大学 大学院総合人間科学研究科	大学院生 マスターコース	*dco*変異による癌化に起因する上皮の平坦性破綻のメカニズム	平成１８年４月～ 平成１８年９月 （半年）
田上歩	神戸大学 大学院総合人間科学研究科	大学院生 マスターコース	異常Dppシグナルによる細胞移動と細胞死との関係解明	平成１８年４月～ 平成１８年９月 （半年）
竹村昌彦	神戸大学 大学院総合人間科学研究科	大学院生 マスターコース	器官転換と細胞死、および異所的ヘッジホッグシグナルの関係	平成１８年４月～ 平成１８年９月 （半年）

５．研究期間中の主な活動

(1)ワークショップ・シンポジウム等

なし

(2)招聘した研究者等

なし

６．主な研究成果

(1)論文発表　（国内１件、海外３件）

1) Adachi-Yamada, T. and O'Connor, M.B.; Mechanisms for removal of developmentally abnormal cells: Cell competition and morphogenetic apoptosis. ***J. Biochem.***, 136, 13-17 (2004).

2) Adachi-Yamada, T., Harumoto, T., Sakurai, K., Ueda, R., Saigo, K., O'Connor, M.B. and Nakato, H.: Wing-to-leg homeosis by Spineless causes apoptosis regulated by Fish-lips, a novel Leucine-Rich Repeat transmembrane protein. ***Mol.Cell.Biol.***, 25, 3140- 3150 (2005).

3) Adachi-Yamada, T., Harumoto, T., Okabe, A., Takemura, M., Maeda, K., Umemori, M., Tagami, A. and Shimoda, M.: Overgrowth-induced apoptosis by *dco*^{3}, a *Drosophila* mutant allele for Casein Kinase Iδ/ε. in ***New Developments in Cell Apoptosis Research***, Nova Science Publishers (in press).

4) Umemori, M., Takemura, M., Maeda, K., Ohba, K. and Adachi-Yamada, T.; *Drosophila* T-box transcription factor Optomotor-blind prevents pathological folding and local overgrowth in wing epithelium through confining Hh signal. ***Dev. Biol.*** (in press).

(2)口頭発表

①招待、口頭講演　（国内０件、海外０件）

②ポスター発表　（国内９件、海外４件）

以下、口頭発表１３件のうち内容の重複する４件を除いた９件。

1) 大庭圭介[1], 春本敏之[2], 山田(安達)卓[1,2,3,4]
（神戸大・[1]発達・自然環境論, [2]大学院総合人間・自然環境論, [3]大学院自然科学・地球惑星システム科学, [4]科技団・さきがけ研究21・発展継続研究）
「モルフォゲンDppのシグナルレベルの異常が誘導する細胞死のメカニズム」
第26回日本分子生物学会年会　　於　神戸国際会議場ほか
平成15年12月10日

2) Harumoto, T.[1] and Adachi-Yamada, T.[1, 2, 3]
([1]Dept. Sciences for Natural Environment, Graduate School of Human Development, [2]Graduate School of Science and Technology, [3]PRESTO and SORST, Japan Science and Technology Agency (JST), Kobe Univ., Kobe 657-8501, Japan.)
「Distance-dependent variation of apoptotic responses caused by activated Ras in *Drosophila* wing.」
キーストン・シンポジウム　　於　アメリカ・スノーバード
平成16年1月8日

3) 梅森慎[1], 大庭圭介[1], 春本敏之[2], 山田(安達)卓[1,2,3,4]
（神戸大・[1]発達, [2]大学院総合人間, [3]大学院自然科学, [4]科技団・発展継続研究）
「ショウジョウバエにおけるモルフォゲンDppの標的遺伝子 *optomotor-blind*

の突然変異体が見せる翅の形成異常について」
第27回日本分子生物学会年会　　於　神戸国際会議場ほか
平成16年12月10日

4) Adachi-Yamada, T.[1,2], Harumoto, T.[1], Sakurai, K.[3], Ueda, R.[4], Saigo, K.[5], O'Connor, M.B.[6, 7] and Nakato, H.[3, 6]
[1]Grad. Sch. Sci. Technol., Kobe University, Kobe, JAPAN; [2]SORST, Japan Science and Technology Agency; [3]Dept. Biol., Fac. Sci., Tokyo Metropolitan University, Hachioji, JAPAN; [4]Genetic Strains Research Center, Natl. Inst. Genetics, Mishima, JAPAN; [5]Dept. Biophys. Biochem., Grad. Sch. Sci., University of Tokyo, Tokyo, JAPAN; [6]Dept. Genet. Cell Biol. Dev., University of Minnesota, Minneapolis, USA; [7]Howard Hughes Medical Institute.
「Cell-cell communication mediated by LRR protein Fish-lips suppresses removal of ectopic ventral appendage cells」
46th Annual Drosophila Research Conference　　於　アメリカ・サンディエゴ
平成17年3月31日～4月2日

5) Umemori, M.[1] and Adachi-Yamada, T.[1,2,3,]
[1]Grad. Sch. Human, Kobe Univ., [2] Grad. Sch. Sci. Tech., Kobe Univ., [3]JST, SORST
「Relationship between Wg signal and Omb in the Drosophila wing」
ショウジョウバエ研究会第7回研究集会　　於　淡路国際会議場
平成17年7月7日～9日

6) Adachi-Yamada, T.[1,2], Takemura, M.[1], and Umemori, M.[1]
[1] Faculty of Human Development, Kobe Univ., Kobe, Japan. [2] SORST, JST, Japan.
「Spineless-induced homeotic transformation elicits ectopic Hedgehog signal by interacting with Vestigial」
15th Int. Soc. Dev. Biologists Congress 2005　　於　ｵｰｽﾄﾗﾘｱ・シドニー
平成17年9月3日～7日

7) [1]田上 歩, [1]梅森 慎, [2]高橋 邦明, [2]上田 龍, [3]西郷 薫, [1,4]山田(安達)卓
([1]神戸大・発達/院総合人間/院自然科学, [2]遺伝研, [3]東大院理, [4]科技振発展継続)
「ショウジョウバエ翅原基においてDppが制御する細胞死の経時的変化について」
第28回日本分子生物学会年会　　於　福岡ヤフードームほか
平成17年12月7日～10日

8) [1]梅森　慎, [2]大庭圭介, [1,2,3,4]山田(安達)卓
([1]神戸大院総合人間, [2]神戸大発達, [3]神戸大院自然科学, [4]科技振発展継続)
「Mutation of *optomotor-blind* ectopically induces JNK-dependent folding and Hh-dependent overgrowth in *Drosophila* wing disc epithelium」
第29回日本分子生物学会（京都）（兼・第20回国際生化学・分子生物学会議）
平成18年6月23日

9) [1]竹村昌彦, [2]中嶋真矢, [1]梅森　慎, [1,2,3,4]山田(安達)卓
([1]神戸大院総合人間, [2]神戸大発達, [3]神戸大院自然科学, [4]科技振発展継続)
「Ectopic *spineless* induces Hedgehog signal in *Drosophila* wing」
第29回日本分子生物学会（京都）（兼・第20回国際生化学・分子生物学会議）
平成18年6月23日

(3)特許出願（国内0件、海外0件）

(4)新聞報道等　なし

(5)その他特記事項　　なし

７．結び

当初の目標であった「①　Morphogenetic Apoptosisの生理的意義」および「②　Morphogenetic Apoptosisの作用機序」のうち、①に関しては満足な結果を示すことができたと考えています。即ち非自律的細胞死は、モルフォゲン・シグナルの活性勾配不連続を修正するためだけに用いられるのではなく、様々な種類の異常細胞、例えばダイオキシン受容体ホモログであるSpinelessにより分化異常を起こした細胞集団や、RasやCasein kinase I の異常によって過剰増殖を起こし始めた初期のがん細胞集団などにおいても観察され、これが様々なタイプの異常細胞除去に付随する普遍的メカニズムの１つであることが示されました。これに対して②の目標については、Spineless活性化細胞集団の除去にLRRタンパク質Fish-lipsの消失が関与することが示されたことまでは順調でしたが、問題はSpinelessからFish-lipsへ移行した・・・と言う事も可能で、より深遠かつ完結した分子メカニズムを研究期間中に掘り下げることができればなお良かったと思っています。このような観点から自己評価は５段階評価の３と付けておきたいと思います。

私は６年前に研究室をスタートし、以後、助手やポスドク、Dr.コース在籍者等がいない環境でありながら、発展研究終了までポスドク採用を認められなかったことは残念でした。研究が通過点である学生よりも、生業であるポスドクであれば、そこに注ぐエネルギーや執着心は自ずと異なるはずで、せめて１人いれば成果はより豊かなものになったと思いますし、確実で重要なテーマを授けられたはず、と残念な気持ちが続きました。なぜ「さきがけ」から継続する発展研究ではポスドクを採用できないのか？　その慣例には再考の余地があると思われます。

仕事場がある神戸大学発達科学部は主体が文系の学部であり、研究開始当初、周囲に同様な研究を進める人もいなければ共同利用機器もない、この手の研究にとってはリスクの大きそうな場所でした。しかしそのような環境にありながら、さきがけと発展研究で多くの設備備品を調達して頂き、潤沢な研究材料を供給して頂けたことは、今日充実した研究室を作り上げることができた最大の要因であり、紛れもなくありがたいことでした。少々大袈裟に言えばそれは奇跡のようなもので、実際問題としてさきがけ→発展研究がなければ、私の研究は当然終わっていた・・・と思います。また私のみならず、運命の導きで偶然この研究室に配属した学生たちにとっても、思いもよらぬ先端設備の出迎えを受け、研究の世界に開眼する稀有な体験ができたと思います。充実した環境に支えられる研究がこれらの学生達を刺激したことは間違いなく、少し皮肉めいたことですが発展研究終了と入れ替わるように、３名ものDr.コース進学希望者が現れました。これらの学生の成長も発展研究の賜物と受け止め、次の進展を目指したい、と大いに期しております。

２００６年度の研究室メンバー：
後列左から、岡部（M1），皆越（B4），竹村（M1），寒河江（B4），羽原（技術員）
前列左から、田上（M1），前田（M1），山田（安達・研究代表者），梅森（M2）