The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Wengen, a Member of the Drosophila Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily, Is Required for Eiger Signaling
Author(s)	菅田, 浩司
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45454
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【25】

氏　　名	菅　田　浩　司（かん だ ひろ し）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１９２５８　号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学　位　論　文　名	Wengen, a Member of the *Drosophila* Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily, Is Required for Eiger Signaling （ショウジョウバエ TNF レセプタースーパーファミリーである Wengen は Eiger が誘導する細胞死シグナルに必須である）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　八木　　健 （副査） 教　授　長田　重一　　教　授　辻本　賀英

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

発生過程での神経細胞死や神経変性疾患で見られるような個体レベルでの細胞死実行機構は、生体そのものを扱う困難さからほとんど明らかにされていない。また様々な神経変性疾患やそのモデル動物において、これまでに明らかにされてきた Caspase の活性化を介するシグナル伝達機構では説明できない未知の細胞死実行機構が存在することが明らかとなってきた。神経発生における細胞死の役割や各種神経変性疾患の治療法開発の為にも、個体レベルでの神経細胞死の分子メカニズムの解明が急務とされている。申請者らは、ショウジョウバエを用いて神経細胞死トリガー分子をスクリーニングする過程で、ショウジョウバエ Tumor Necrosis Factor（TNF）スーパーファミリー分子である Eiger の同定に成功した。TNF はショウジョウバエからヒトまで進化的に保存された分子であり、Eiger はゲノムに存在する唯一の TNF スーパーファミリー分子であることから、そのシグナル伝達機構を解析することにより、TNF による細胞死実行機構の生体レベルでの解明が期待できる。本研究は、強力な遺伝学が応用可能なショウジョウバエを用いて、Eiger が誘導する細胞死の分子機構を個体レベルで解析するものである。

【方法ならびに成績】

Eiger をショウジョウバエ複眼特異的に強制発現させると、JNK 経路の活性化及び過剰な細胞死を伴った複眼サイズの縮小が観察される。このトランスジェニックショウジョウバエと、ゲノムの一部が欠失した一連の系統を交配し、F1 の複眼形態を解析する。Eiger による細胞死実行に必要な遺伝子が欠失領域内に含まれる場合、F1 において複眼サイズの縮小は抑制されると考えられる。本スクリーニングによりゲノムの 80%以上の領域について解析を行った結果、22 の候補遺伝子領域を得た。本スクリーニングにより、ショウジョウバエ TNF receptor スーパーファミリー分子である Wengen の同定に成功した。*wengen* はショウジョウバエの全ての発生過程及び成体で発現が認められた。*in vivo* RNAi によって内因性 *wengen* の発現を抑制すると、Eiger によって誘導される複眼サイズの縮小は顕著に抑制された。また、ショウジョウバエ培養細胞に Eiger 及び Wengen を共発現させると、それぞれのスーパーファミリーに特異的な構造を介して結合することが明らかとなった。

wengen 以外のゲノム領域についても遺伝学的な手法により原因遺伝子領域を検索した結果、原因遺伝子候補とし

て複数のミトコンドリア関連分子を得た。これらのうち、ショウジョウバエチトクロムcアイソフォームの1つである Cytochrome-c-distal（Cyt-c-d）の発現を抑制することにより、Eiger によって誘導される複眼サイズの縮小が顕著に抑制された。また、ショウジョウバエ pro-apoptotic Bcl-2 ファミリー分子である Drob-1 はミトコンドリアを介して細胞死を誘導することが知られているが、Drob-1 の RNAi においても Eiger による複眼サイズの縮小は抑制された。遺伝学的解析の結果、Cyt-c-d 及び Drob-1 は Eiger が誘導する細胞死において JNK の活性化以降の経路に関与することが強く示唆された。これらの結果は、ショウジョウバエにおける細胞死においてミトコンドリアを介するシグナル伝達経路が存在することを示唆する初めての報告である。さらに、本スクリーニングから Eiger によるシグナル伝達機構には複数の細胞死関連分子が関与していることが明らかとなった。これらのうち、Head involution defective（Hid）は、Eiger シグナルにおいてミトコンドリアを介する経路とは異なる経路により細胞死のシグナル伝達を担っている事が明らかとなった。

【総括】

本研究により、無脊椎動物において extrinsic な細胞死伝達機構が存在することが始めて明らかとなり、遺伝学的な解析により、そのシグナル伝達機構のメインマシナリーの解明に成功した。Eiger シグナルに関するさらなる遺伝学的・生化学的解析により、進化的に保存された TNF シグナルの機能解明に貢献できるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者は未だに明らかにされていない神経細胞死の実行機構の解明を目指し、遺伝学が応用可能なショウジョウバエをモデル動物として研究を行った。その結果、細胞死実行分子のスクリーニングにおいて、ショウジョウバエ TNF スーパーファミリー分子である Eiger の同定及び解析に大きく貢献した。また、Eiger が誘導する細胞死の下流シグナル分子を探索するゲノムワイドなスクリーニングを立案・実行し、TNF receptor スーパーファミリー分子である Wengen の同定に成功した。Wengen を含め、スクリーニングにより得られた複数の分子の解析を行った結果、Eiger が誘導する JNK 依存的な細胞死において、その下流にミトコンドリアを介する経路が存在する可能性を示唆する知見を見出した。JNK による細胞死の制御メカニズムに関しては、細胞死促進的・抑制的双方の機能が報告されるなど、今だ詳細は明らかとなっていない。申請者が見出した前衛的な研究結果は、神経細胞死の研究に大きなインパクトを与えると考えられる。以上から、本研究は学位授与に値するものである。