高等動物細胞の生存・増殖・分化調節

石 崎 泰 樹¹

単細胞生物とは異なり、高等動物を構成する細胞は個体全体からの調節を受けている。それは自らを直接取り巻く細胞群からの paracrine 的調節、及び神経系・内分泌系を介した neuroendocrine 的調節の二つのレベルでの調節であり、細胞は自らが持つプログラムの実行に際してこれらの調節の影響を大きく受ける。すなわち細胞は生存するか死ぬか、分裂するかしないか、ある特定の細胞種に分化するかしないか、等の決定に際して細胞外からのシグナルという形で個体全体から制御されている。私は 1991 年～1994 年のイギリス留学以降、細胞生物学の手法を用いて高等動物細胞の生存・増殖・分化調節機構の解析に取り組んでいる。

ロンドン大学において Martin Raff 教授の下で細胞の生存調節に関する研究を開始した。発生期においてニューロンの数がどのようにして決められているのかに関しては不明の点が多いが、ニューロンの生存調節が大きな役割を果たしていることは、神経栄養因子仮説の正しさがほぼ実証された現在、明らかである。神経栄養因子仮説では、「ニューロンは過剰に産生され、標的細胞と適切なシナプス結合を形成することに成功したもののみが標的細胞から神経栄養因子を得て生存し、その他のものは死滅する」とされ、正常発生の過程で、標的細胞とシナプス結合を形成した直後に、多くの種類のニューロンで、その過半数が死んでしまうことが示されている。Raff 教授はこのような生存調節機構がより普遍的に存在しているのではないかと考え、「全ての高等動物細胞は他の細胞から持続的に生存シグナルを受け取っていないとアポトーシスにより自殺するようにプログラムされているのではないか」という仮説を立てた。私は先ずこの仮説の検証を、水晶体上皮細胞と軟骨細胞を用いて行った。水晶体も軟骨もただ一種類の細胞から構成されているので、この仮説の例外の最有力候補と考えられたからである。その結果、これらの細胞はその生存に他の種類の細胞からの生存シグナルは必要としないが、同じ種類の他の細胞からの自己分泌性のシグナルを必要とし、それが

得られない場合、アポトーシスで自殺することを明らかにした。¹⁻³ 帰国後も様々な細胞の生存調節の検討を続け、腫瘍細胞の中には生存に関して他の細胞からのシグナルに対する依存性が低下しているものがあることを明らかにした。⁴ これまでのところ正常細胞に関しては Raff 教授の仮説の例外は見つかっていないので、正常な高等動物細胞はこのような生存調節を受けている可能性が高いと思われる。また水晶体上皮細胞から水晶体繊維への分化にアポトーシスの分子機構において中心的な役割を果たしている caspases が関与していることを明らかにした。⁵ これは正常な分化過程にアポトーシスの分子機構が用いられていることを世界に先駆けて示した報告である。さらにアポトーシスで細胞が死ぬときの特徴の一つである細胞容積の減少に容積調節性イオンチャネルが関与していること、この容積調節性イオンチャネルの活性化を阻害することによりアポトーシスの進行を抑制することができることも明らかにした。⁶

現在はニューロン前駆細胞の生存調節機構及び増殖調節機構の検討を行っている。上述したように発生期におけるニューロンの数の制御において、ニューロンの生存調節が大きな役割を果たしていることは疑い得ないが、これと並んで、最終分化を遂げる前のニューロン前駆細胞

1 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学大学院医学系研究科分子細胞機能学
平成15年3月4日 受付

論文別刷請求先 〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学大学院医学系研究科分子細胞機能学 石崎泰樹

胞の生存調節も大きな役割を果たしていると思われる。実際発生期の小脳において多数の小脳顆粒細胞・前駆細胞が細胞死を起こしていることを見出した。またこれらの細胞の低細胞密度培養系での生存率が高細胞密度培養系での生存率に比べて顕著に低いことから、これらの細胞の生存に自己分泌性の液性因子ないし細胞間接触が必要であることが明らかになったので、現在この解析を進めている。ニューロン前駆細胞の増殖調節も発生期におけるニューロンの数の制御において大きな役割を果たしていると考えられるが、これまでニューロン前駆細胞の増殖調節は殆ど注目されなかった。とくにニューロン前駆細胞が増殖を停止し最終分化を開始する機構に関しては、これまで国内国外を問わず全くこれまで研究がなされていなかった。私はこの問題に着目しこれまでに、小脳顆粒細胞・前駆細胞の大部分は増殖を重ねるにつれて核内に Cdk 阻害因子 p27/Kip1 を蓄積していくこと、p27/Kip1 のレベルが高くなると増殖刺激因子が存在してもはや分裂せず最終分化を開始すること、さらに p27/Kip1 ノックアウトマウスでは小脳が野生型マウスに比べて大きくその小脳から調製した前駆細胞は野生型マウス小脳から調製した前駆細胞に比べて増殖能が高いことを明らかにした。⁷ このことから小脳顆粒細胞・前駆細胞には自らの増殖を停止させる細胞内機構が存在し、p27 がその機構の一部をなしていることが示唆された。現在この前駆細胞において増殖に伴って p27/Kip1 が蓄積してくる機構の解明を目指している。またこの前駆細胞の可塑性も検討している。一般に中枢神経系では神経幹細胞がニューロン前駆細胞ないしグリア前駆細胞にコミットした後、それぞれが一定期間増殖して数を増やしてからニューロンないしグリア細胞に分化すると考えられており、小脳顆粒細胞・前駆細胞はこれまでニューロンにしか分化できないニューロン前駆細胞と考えられてきたが、グリア細胞に分化する能力が失われているのか

どうかの検討は未だなされていないからである。将来的には、神経幹細胞の生存調節機構・増殖調節機構の解明、神経幹細胞からニューロン前駆細胞・グリア前駆細胞への決定調節機構の解明を目指す方向へと研究を展開していきたいと考えている。

文 献

1. Ishizaki, Y, Voyvodic, JT, Burne, JF, et al. Control of lens epithelial cell survival. *J Cell Biol* 1993; 121: 899-908.
2. Raff, MC, Barres, BA, Burne, JF, et al. Programmed cell death and the control of cell survival: lessons from the nervous system. 1993; *Science* 262: 695-700.
3. Ishizaki, Y, Burne, JF, and Raff, MC. Autocrine signals enable chondrocytes to survive in culture. *J Cell Biol* 1994; 126: 1069-1077.
4. Ishizaki, Y, Cheng, L, Mudge, AW, et al. Programmed cell death by default in embryonic cells, fibroblasts, and cancer cells. *Mol Biol Cell* 1995; 6: 1443-1458.
5. Ishizaki, Y, Jacobson, MD, and Raff, MC. A role for caspases in lens fiber differentiation. *J Cell Biol* 1998; 140: 153-158.
6. Maeno, E, Ishizaki, Y, Kaneseki, T, et al. Normotonic cell shrinkage because of disordered volume regulation is an early prerequisite to apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9487-9492.
7. Miyazawa, K, Himi, T, Garcia, V, et al. A role for p27/Kip1 in the control of cerebellar granule cell precursor proliferation. *J Neurosci* 2000; 20: 5756-5763.