がん細胞のネクローシス/アポトーシス切替え制御機構の解明と新規制がん戦略

佐藤 聡

Novel Anticancer Strategy Targeting Switch Mechanisms in
Two Types of Cell Death: Necrosis and Apoptosis

Akira Sato

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science, 2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan.

(Received May 31, 2017)

Two types of cell death, necrosis and apoptosis, are defined in terms of cell death morphological features. We have been studying the mechanisms by which cell death processes are switched during the treatment of mouse tumor FM3A with anticancer, 5-fluoro-2'-deoxyuridine (FUdR): it induces original clone F28-7 to necrosis, but its sub-clone F28-7-A to apoptosis. We identified several such switch regulators of cell death: heat shock protein 90 (HSP90), lamin-B1, cytokeratin-19, and activating transcription factor 3 (ATF3), by using transcriptomic, proteomic analyses and siRNA screening. For example, the inhibition of HSP90 by its inhibitor geldanamycin in F28-7 caused a shift from necrosis to apoptosis. We also observed that the knockdown of lamin-B1, cytokeratin-19, or ATF3 expression in F28-7 resulted in a shift from necrosis to apoptosis. Recently, we used microRNA (miRNA, miR) microarray analyses to investigate the miRNA expression profiles in these sister cells. The miR-351 and miR-743a were expressed at higher levels in F28-7-A than in F28-7. Higher expression of miR-351 or miR-743a in F28-7, induced by transfecting the miR mimics, resulted in a switch of cell death mode: necrosis to apoptosis. Furthermore, transfection of an miR-351 inhibitor into F28-7-A resulted in morphological changes, and mode of cell death from apoptosis to necrosis. These findings suggest that the identified cell death regulators may have key roles in switching cell death mode. Possible mechanisms involving cell death regulators in the switch of necrosis or apoptosis are discussed. We propose a novel anticancer strategy targeting the switch regulators of necrosis or apoptosis.

Key words—necrosis; apoptosis; proteome analysis; transcriptome analysis; microRNA; cell death regulator

1. はじめに

細胞死の研究はがんの生存・増殖を理解するうえで極めて重要な研究課題となっている。細胞死は、その形態学的及び生化学的特徴などからネクローシスとアポトーシスに大別される。¹⁻³⁾ アポトーシスを起こした細胞は縮小し、アポトーシス小体と呼ばれる細胞断片を形成した後、生体内で食細胞によって貪食除去される。がん細胞は、抗がん剤や放射線治療により、アポトーシスを起こすことにより、退縮・消失する。このようなアポトーシス誘導が、多くの抗がん剤の作用機序となっている。一方、ネクローシス（壊死）は、細胞が膨張し、最終的に細胞

内容物が細胞外に漏出することで周辺細胞に炎症を惹起する。これは抗がん剤や放射線によるがん治療において副作用として認識されている。また、腫瘍内に存在する微小環境における壊死が起こる部位は、抗がん剤や放射線による治療に対して抵抗性であり、腫瘍組織からの出血・浮腫の原因となるため、ネクローシスの制御は臨床においても避けては通れない課題となっている。

筆者は、ある刺激に対して、細胞自身にネクローシスで死ぬのか、アポトーシスで死ぬのかを決定づける切替え機構が存在するのではないかと考え、同一薬剤を同一濃度作用させることによって、ネクローシスを起こす細胞とそれから自然に派生したアポトーシスを起こす亜株細胞を樹立した。この2種類の細胞株を用いて「細胞死切替え制御機構の解明」に関する研究を進めてきた。

本総説では、筆者のグループが樹立した2種類の

東京理科大学薬学部（〒278-8510 千葉県野田市山崎2641）

e-mail: akirasat@rs.tus.ac.jp

本総説は、平成28年度日本薬学会関東支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

Fig. 1. A) Chemical Structure of Anticancer 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUDR), B) Cell Death Morphological Changes Induced by FUDR in F28-7 and F28-7-A

FUDR induces necrosis in F28-7, but apoptosis in F28-7-A. Fig. 1(B) modified from Ref. 4). Kakutani *et al.* *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **247**, 773-779 (1998).

細胞死切替えのモデル細胞の特徴、細胞死切替え制御因子の探索とその機能解析、そして、この切替え制御因子を標的とした制がん戦略について概説する。

2. ネクロシスとアポトーシスの細胞死切替えモデル細胞の特徴

筆者は、同一濃度 (1 μ M) の抗がん剤 5-fluoro-2'-deoxyuridine [FUDR, Fig. 1(A)] を作用させるとネクロシスを起こす細胞株 (マウス乳がん由来 FM3A 細胞 F28-7) と、その細胞から自然に派生したアポトーシスを起こす亜株 (F28-7-A) を樹立した。⁴⁾ FUDR は、thymidylate synthase を阻害することで DNA 合成を抑制する抗がん剤であり、^{5,6)} F28-7 細胞と F28-7-A 細胞における 50% of effective concentration (EC₅₀) はいずれも 1 nM であった。^{4,7)} FM3A 細胞に FUDR を作用させるとネクロシスを起こすが、継代培養を続けていたところ FUDR 作用によりアポトーシスを起こす形質の異なる細胞が出現したためクローニングを行い、ネクロシスを起こす F28-7 細胞とアポトーシスを起こす F28-7-A 細胞の 2 細胞亜株を樹立した。⁴⁾ Figure 1(B) に FUDR 作用後の F28-7 細胞と F28-7-A 細胞の細胞死の形態を示す。F28-7 細胞では、FUDR 作用によってネクロシスに特徴的な核と細胞の膨張がみられた。一方、F28-7-A 細胞では FUDR によりアポトーシス小体が観察された。また、アポトーシスに特有のオリゴヌクレオソーム単位の DNA の断片化も検出された。さらに、ミトコンドリアからの cytochrome c の放出も確認された。以上のことか

ら、FUDR 作用によって F28-7 細胞はネクロシスを、F28-7-A 細胞はアポトーシスを起こしていることが明らかとなった。このように、人為的に遺伝子を導入しないで 1 つの細胞からネクロシス又は、アポトーシスを起こすユニークな細胞株を樹立している例は極めて稀である。Table 1 にこれら 2 細胞亜株におけるネクロシスとアポトーシスの細胞死の特徴をまとめた。これらの細胞株が樹立されたことは、ネクロシス/アポトーシスの細胞死切替え機構が存在することを示唆するものである。また、この 2 つの亜株を利用することによって、細胞がある刺激に対して、ネクロシスを起こすか、アポトーシスを起こすかの経路を決定づける因子の探索、及びその細胞死切替え制御機構の解析が可能となった。

3. ネクロシスとアポトーシスの切替え制御因子の探索とその機能解析

筆者は、この細胞死切替えモデル細胞を用いて、ネクロシスとアポトーシスの切替えに関与する制御因子の探索とその機能解析を行った。細胞死制御因子の探索は、これら細胞株で mRNA、タンパク

佐藤 聡

東京理科大学薬学部薬学科・講師、博士(薬学)。平成 20 年 3 月岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士後期課程修了。同年 4 月岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・助教、平成 25 年 9 月国立がん研究センター研究所・研究員、平成 26 年 4 月東京理科大学薬学部薬学科・助教、平成 29 年 4 月より現職。

Table 1. The Biological and Morphological Features of FUDR-induced Cell Death

	F28-7 cells	F28-7-A cells
FUDR (EC ₅₀ , nM)	1	1
Cell-death mode	necrosis	apoptosis
Cell death morphological features	swelling (cell and organelles)	membrane blebbing, shrinking (cell and organelles)
DNA fragmentation	chromosome size (100–200 kbp)	oligonucleosome size
Mitochondrial events		
Membrane potential	Down	Down
Cytochrome c release	–	+
Cell-death markers		
Cleaved caspase-3 (17 kDa)	+	+
Cleaved PARP (89 kDa)	+	+
HMGB1 release (extracellular)	+	–

質レベルで発現量の異なる因子（細胞死を制御する候補因子）をトランスクリプトーム、プロテオーム解析手法を用いて網羅的に同定した。次に、同定した候補因子の機能解析として、候補因子に特異的な small interfering RNA (siRNA) を用いてノックダウンし、FUDR 作用後の細胞死の表現型を調べた。これら細胞株の薬剤非作用時と、FUDR 作用後 4, 8, 16 時間のマイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析から、ネクローシスとアポトーシスの誘導時に発現パターンの大きく異なる遺伝子の 1 つとして転写因子の activating transcription factor 3 (*Atf3*) を同定した。⁸⁾ また、タンパク質レベルの探索は、二次元電気泳動法と matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS/MS) 及び、nano liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) を用いたプロテオーム解析を行った。これら細胞株の薬剤非作用時及び、FUDR 作用後 16 時間のプロテオーム解析から核膜タンパク質である lamin-B1、細胞骨格タンパク質である cytokeratin-19 を同定した。⁹⁾ トランスクリプトーム解析とプロテオーム解析から見い出された細胞死制御因子の候補遺伝子について、それぞれの遺伝子に特異的な siRNA を用いてノックダウンし、FUDR が誘導する細胞死の形態変化を調べた。Lamin-B1, cytoke-

atin-19, ATF3 は、本来 FUDR を作用させるとネクローシスを起こす F28-7 細胞でその発現が多いが、F28-7 細胞の lamin-B1, cytokeratin-19, 又は ATF3 をノックダウンすると FUDR を作用させることによってアポトーシスに特徴的な形態変化を示すことから、これらタンパク質が細胞死の形態を決める因子であることが示唆される。⁸⁻¹¹⁾ また、トランスクリプトーム及び、プロテオーム解析から、F28-7-A 細胞に比べて F28-7 細胞において heat shock protein 90 (HSP90) の cochaperone であり、HSP90 の ATPase 活性を制御する activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1 (AHA1) の発現レベルが低いことを明らかにしており、これら細胞では HSP90 の活性に違いがあるのではないかと考えた。そこで、これら細胞株に HSP90 の特異的阻害剤である geldanamycin (GA) を FUDR と併用した場合の細胞死への影響を調べた。すると、FUDR を作用させるとネクローシスを起こす F28-7 細胞に GA を併用するとアポトーシスに特徴的な細胞死形態に変化し、オリゴヌクレオソーム単位の DNA の断片化が起こることが明らかになった。さらに、F28-7 細胞に FUDR 作用後のネクローシスでは観察されないが、GA 併用によるアポトーシスではミトコンドリアからの cytochrome c の放出を伴うことがわかった。この結果は本細胞死モデルにおいて、HSP90 自身若しくは HSP90 クライアントタンパク質がネクローシスとアポトーシスの細胞死制御に関与することを示唆している。⁸⁾ 細胞死制御因子として見い出している lamin-B1, cytokeratin-19, ATF3 と HSP90 との関連を調べたところ、FUDR と GA を併用した F28-7 細胞では、これら細胞死制御因子が減少することから、HSP90 がこれら因子の発現又は、タンパク質の安定性に関与しているのではないかと考えている。

最近、筆者は翻訳阻害や mRNA の分解を介して遺伝子発現制御に関与する microRNA (miRNA)¹²⁾ に着目し、miRNA 発現アレイを用いて、ネクローシスを起こす細胞とアポトーシスを起こす細胞で発現量の異なる miRNA を複数見い出した。これら miRNA について、miRNA mimic (合成 miRNA) 及び inhibitor を用いて、細胞死におけるその役割を検討した。その結果、アポトーシスを起こす細胞で発現量の多い miRNA-351 (miR-351) について、

Fig. 2. Models of FUdR-induced Necrosis and Apoptosis in F28-7 and F28-7-A Cells

A) Treatment of F28-7-A cells with FUdR induces apoptosis. B) Treatment of F28-7 cells with FUdR induces necrosis. C) Co-treatment of the HSP90 inhibitor GA prevents the switch regulators (lamin-B1, cytokeratin-19, and ATF3) expression, and results in apoptosis. Knockdown of the switch regulators in F28-7 cells by siRNAs causes a shift from FUdR-induced necrosis to apoptosis. D) Higher expression of miR-351 or miR-743a in F28-7 cells by miR mimic prevents the expression of cell death regulators, lamin-B1 or regulator X, and results in apoptosis.

ネクローシスを起こす細胞にこの miRNA mimic を導入し過剰発現させると、本来ネクローシスを起こす細胞が FUdR を作用させることによって、アポトーシスに特徴的な形態変化を示すことを明らかにした。¹³⁾ 興味深いことに、このとき、F28-7 細胞に FUdR 作用後のネクローシスにおいて観察される high mobility group box 1 (HMGB1) の細胞外への漏出が、miR-351 mimic の導入により抑制された。また、F28-7-A 細胞に miR-351 inhibitor を導入すると FUdR 作用後に観察されるアポトーシスがネクローシスに切替わることを明らかにした。さらに、これまでの研究から見出ししている lamin-B1, cytokeratin-19, ATF3 及び、miR-351 との関係を調べたところ、miR-351 を過剰発現した F28-7 細胞では、lamin-B1 がタンパク質レベルで減少することを見出した。¹³⁾ 上記の miR-351 と同様に、アポトーシスを起こす細胞で発現量の多い miRNA として、miRNA-743a (miR-743a) を見出し、この miRNA mimic を F28-7 細胞に導入すると、本来ネクローシスを起こす F28-7 細胞が FUdR 作用によりアポトーシスを起こすことを見出した。¹³⁾ Figure 2 には、本研究から明らかとなった細胞死制

御因子によるネクローシス/アポトーシスの切替え制御モデルを示した。また、Table 2 には、本細胞死切替えモデル細胞系から見出された細胞死切替え制御因子の特徴をまとめる。

4. ネクローシスとアポトーシスの切替え制御因子を標的とした制がん戦略

本細胞死切替えモデル細胞系を用いて、上記のように、がん細胞のネクローシスとアポトーシスの切替え制御因子を見出すことができた。ネクローシスは抗がん剤や放射線によるがん治療において副作用となる腫瘍組織からの出血・浮腫の原因となる。また、腫瘍内に存在する微小環境の壊死部位は、抗がん剤や放射線に対して治療抵抗性であり、がん幹細胞の隠蓑になっている。したがって、このがんの治療抵抗性の原因の 1 つであるネクローシスをアポトーシスに切替えることが新たな制がん戦略として有効であると考えられる。筆者は、本研究から見出した細胞死制御因子のうち、lamin-B1, cytokeratin-19, ATF3 の発現制御を担っている HSP90 が、がんのネクローシス制御の観点において重要な役割を果たしていると考えている。Berghe らは、tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) が誘導するネクロー

Table 2. Identification of Switch Regulators, Necrosis and Apoptosis

Name	Biological process	Expression	Biological phenotype	Experiments	Observation	Reference
HSP 90	protein folding	no change	necrosis to apoptosis	inhibition (GA)	morphological feature, DNA Ladder	8
Lamin-B1	nuclear organization	higher in F28-7	necrosis to apoptosis	knockdown (siRNA)	morphological features	10
Cytokeratin-19	cell differentiation	higher in F28-7	necrosis to apoptosis	knockdown (siRNA)	morphological features	9
ATF3	transcription	higher in F28-7	necrosis to apoptosis	knockdown (siRNA)	morphological features	11
miRNA-351	mRNA expression	higher in F28-7-A	necrosis to apoptosis/apoptosis to necrosis	overexpression (miRNA _m)/inhibition (miRNA _i)	morphological features, HMGB1 release	13
miRNA-743a	mRNA expression	higher in F28-7-A	necrosis to apoptosis	overexpression (miRNA _m)	morphological features	13

GA, geldanamycin; miRNA_m, microRNA mimic; miRNA_i, microRNA inhibitor.

シスにおいて、HSP90 の特異的阻害剤である GA を用いて機能阻害をすると、その細胞死がアポトーシスに変化することを報告している。¹⁴⁾ また、TNF が誘導するネクロプトーシス (necroptosis) において、HSP90 は mixed lineage kinase domain-like (MLKL) の安定化、¹⁵⁾ その多量体化と膜移行¹⁶⁾ に関与しており、HSP90 の阻害によりネクロプトーシスが抑制されることが明らかになっている。^{15,16)} HSP90 は抗がん標的としてよく研究されており、その特異的阻害剤として、tanespimycin (17-allylamino-17-demethoxy-geldanamycin; 17-AAG), alvespimycin (17-dimethylaminoethylamino-17-demethoxy-geldanamycin; 17-DMAG) などが開発され、臨床試験が進行している。¹⁷⁾ よって、ネクローシスの制御の点からも HSP90 阻害剤は、ネクローシスとアポトーシスの切替え制御因子を標的とした制がん戦略として有効な薬剤になると考えられる。

ネクローシス制御の戦略として、miRNA によるネクローシスとアポトーシスの細胞死切替えも有効であると考えられる。本細胞死切替えモデル細胞系からは、miR-351 と miR-743a をネクローシスとアポトーシスの切替え制御因子として見い出した。また、FUdR 作用後の F28-7 細胞におけるネクローシスと F28-7-A 細胞におけるアポトーシスにおいて、発現パターンが変動する miRNA のマイクロアレイ解析から、ネクローシス又はアポトーシスにおいて特異的に発現している miRNA を複数見い出している (unpublished data)。miRNA は、1 つの miRNA が数十から数百のターゲット遺伝子の転写

後発現を制御することから、がんを始めとして様々な疾患との関連が報告されている。^{12,18,19)} 現在、がん研究領域において、miRNA(s) は腫瘍マーカーなどのバイオマーカーとしての利用、核酸医薬の標的として開発が行われている。^{20,21)} 本細胞死切替えモデル細胞系から見い出したネクローシス/アポトーシス切替え制御性 miRNA(s) を標的とすることで、がんのネクローシスをアポトーシスに切替える新たな制がん戦略が可能であると考えている。

5. まとめと今後の展開

筆者は、本細胞死切替えモデル細胞系を用いることで、ネクローシス/アポトーシスの細胞死切替え制御因子として HSP90, lamin-B1, cytokeratin-19, ATF3, miR-351, miR-743a を見い出した。今後の課題として、これら細胞死切替え制御因子の機能阻害又は発現調節によって、他のヒトがん細胞株においてみられる各種抗がん剤処理又は、放射線照射により誘導されるネクローシスがアポトーシスに切替わるのか調べる必要がある。現在、樹立した F28-7 と F28-7-A 細胞株の全エクソシーケンズ解析から、ネクローシスとアポトーシスの細胞死切替え制御に関与する遺伝子変異の有無を網羅的に調べている。また、FUdR 作用後の F28-7 細胞におけるネクローシスと F28-7-A 細胞におけるアポトーシスにおいて、それぞれ特徴的に細胞外に漏出するタンパク質のプロテオーム解析及び、細胞死特有のエキソソームの分離・同定も行っており、今後さらに NAD⁺-poly(ADP-ribose) 代謝、エネルギー代謝の面からの研究を進めることで、がん細胞のネクロー

シスとアポトーシスの切替え機構の全容を明らかにしたいと考えている。そして、本研究から得られた知見を基にして、ネクローシスとアポトーシスの切替え制御機構を標的とする新規制がん剤の創成につなげていきたい。

謝辞 本研究を遂行するにあたりご指導頂きました東京理科大学薬学部 田沼靖一教授、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 益谷美都子教授、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 綿矢有佑名誉教授、金 惠淑准教授、早津彦哉名誉教授に厚く御礼申し上げます。本研究成果の大部分は岡山大学大学院在学時及び在職時に得られたものであり、共同研究を行ってくださった諸先生方、熱心に研究に取り組んでくれた学生諸氏に心より感謝申し上げます。本研究は JSPS 科研費 JP17K08550, JP26460310, JP24790216, JP21790078 の助成を受けて実施したものであり、ここに感謝申し上げます。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Nicotera P., Melino G., *Oncogene*, **23**, 2757–2765 (2004).
- 2) Galluzzi L., Vitale I., Abrams J. M., Alnemri E. S., Baehrecke E. H., Blagosklonny M. V., Dawson T. M., Dawson V. L., El-Deiry W. S., Fulda S., Gottlieb E., Green D. R., Hengartner M. O., Kepp O., Knight R. A., Kumar S., Lipton S. A., Lu X., Madeo F., Malorni W., Mehlen P., Nuñez G., Peter M. E., Piacentini M., Rubinsztein D. C., Shi Y., Simon H. U., Vandenabeele P., White E., Yuan J., Zhivotovsky B., Melino G., Kroemer G., *Cell Death Differ.*, **19**, 107–120 (2012).
- 3) Galluzzi L., Bravo-San Pedro J. M., Vitale I., Aaronson S. A., Abrams J. M., Adam D., Alnemri E. S., Altucci L., Andrews D., Annicchiarico-Petruzzelli M., Baehrecke E. H., Bazan N. G., Bertrand M. J., Bianchi K., Blagosklonny M. V., Blomgren K., Borner C., Bredesen D. E., Brenner C., Campanella M., Candi E., Cecconi F., Chan F. K., Chandel N. S., Cheng E. H., Chipuk J. E., Cidlowski J. A., Ciechanover A., Dawson T. M., Dawson V. L., De Laurenzi V., De Maria R., Debatin K. M., Di Daniele N., Dixit V. M., Dynlacht B. D., El-Deiry W. S., Fimia G. M., Flavell R. A., Fulda S., Garrido C., Gougeon M. L., Green D. R., Gronemeyer H., Hajnoczky G., Hardwick J. M., Hengartner M. O., Ichijo H., Joseph B., Jost P. J., Kaufmann T., Kepp O., Klionsky D. J., Knight R. A., Kumar S., Lemasters J. J., Levine B., Linkermann A., Lipton S. A., Lockshin R. A., López-Otín C., Lugli E., Madeo F., Malorni W., Marine J. C., Martin S. J., Martinou J. C., Medema J. P., Meier P., Melino S., Mizushima N., Moll U., Muñoz-Pinedo C., Nuñez G., Oberst A., Panaretakis T., Penninger J. M., Peter M. E., Piacentini M., Pinton P., Prehn J. H., Puthalakath H., Rabinovich G. A., Ravichandran K. S., Rizzuto R., Rodrigues C. M., Rubinsztein D. C., Rudel T., Shi Y., Simon H. U., Stockwell B. R., Szabadkai G., Tait S. W., Tang H. L., Tavernarakis N., Tsujimoto Y., Vanden Berghe T., Vandenabeele P., Villunger A., Wagner E. F., Walczak H., White E., Wood W. G., Yuan J., Zakeri Z., Zhivotovsky B., Melino G., Kroemer G., *Cell Death Differ.*, **22**, 58–73 (2015).
- 4) Kakutani T., Ebara Y., Kanja K., Hidaka M., Matsumoto Y., Nagano A., Wataya Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **247**, 773–779 (1998).
- 5) Santi D. V., Peña V. A., Lam S. S. M., *Biochim. Biophys. Acta*, **438**, 324–331 (1976).
- 6) Yoshioka A., Tanaka S., Hiraoka O., Koyama Y., Hirota Y., Ayusawa D., Seno T., Garrett C., Wataya Y., *J. Biol. Chem.*, **262**, 8235–8241 (1987).
- 7) Kakutani T., Ebara Y., Kanja K., Takahashi K., Wataya Y., *Nucleosides Nucleotides*, **17**, 1299–1308 (1998).
- 8) Sato A., Hiramoto A., Uchikubo Y., Miyazaki E., Satake A., Naito T., Hiraoka O., Miyake T., Kim H. S., Wataya Y., *Genomics*, **92**, 9–17 (2008).
- 9) Sato A., Satake A., Hiramoto A., Wataya Y., Kim H. S., *J. Proteome Res.*, **9**, 2329–2338 (2010).
- 10) Sato A., Hiramoto A., Satake A., Miyazaki E., Naito T., Wataya Y., Kim H. S., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **27**, 433–438

- (2008).
- 11) Sato A., Nakama K., Watanabe H., Satake A., Yamamoto A., Omi T., Hiramoto A., Masutani M., Wataya Y., Kim H. S., *FEBS J.*, **281**, 1892–1900 (2014).
- 12) Bartel D. P., *Cell*, **136**, 215–233 (2009).
- 13) Sato A., Omi T., Yamamoto A., Satake A., Hiramoto A., Masutani M., Tanuma S., Wataya Y., Kim H. S., *Plos One*, **11**, e0153130 (2016).
- 14) Vanden Berghe T., Kalai M., van Loo G., Declercq W., Vandenabeele P., *J. Biol. Chem.*, **278**, 5622–5629 (2003).
- 15) Zhao X. M., Chen Z., Zhao J. B., Zhang P. P., Pu Y. F., Jiang S. H., Hou J. J., Cui Y. M., Jia X. L., Zhang S. Q., *Cell Death Dis.*, **7**, e2089 (2016).
- 16) Jacobsen A. V., Lowes K. N., Tanzer M. C., Lucet I. S., Hildebrand J. M., Petrie E. J., van Delft M. F., Liu Z., Conos S. A., Zhang J. G., Huang D. C., Silke J., Lessene G., Murphy J. M., *Cell Death Dis.*, **7**, e2051 (2016).
- 17) Tatokoro M., Koga F., Yoshida S., Kihara K., *EXCLI J.*, **14**, 48–58 (2015).
- 18) Ambros V., *Nature*, **431**, 350–355 (2004).
- 19) Bartel D. P., *Cell*, **116**, 281–297 (2004).
- 20) Peng Y., Croce C. M., *Signal Transduct. Target. Ther.*, **1**, 15004 (2016).
- 21) Rupaimoole R., Slack F. J., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **16**, 203–222 (2017).