

## 研究課題別研究評価

### 1. 研究課題:線虫の発生におけるプログラム細胞死の制御機構

### 2. 研究者名:杉本亜砂子

### 3. 研究のねらい

発生過程の中で、プログラム細胞死は形態形成や細胞数の調整等のために重要な役割を果たしている。細胞が死ぬか生きるかの運命決定、細胞死の素過程、死細胞の貪食等の分子機構を明らかにするために、線虫(*C.elegans: Caenorhabditis elegans*)をモデル系として、新規細胞死関連遺伝子を探索および解析する。

### 4. 研究成果と自己評価

#### (1) 巨大な死細胞を示す *tDf6* 染色体欠失変異体の解析

これまでに分離した 20 株以上の細胞死異常を示す染色体欠失変異体のなかから、*tDf6* 染色体欠失変異体について解析を行った。*tDf6* 変異体のホモ接合胚では、死細胞が通常よりも巨大であり、また、細胞死の起こる数が顕著に減少するという表現型を示す。この表現型を引き起こしているのが *K08E3.6* 遺伝子の機能欠損によることを明らかにした。*K08E3.6* 遺伝子は Rho ファミリーの GTPase 活性化因子をコードしており、細胞質分裂の完了に必須であることが示された。*tDf6* 胚では *K08E3.6* 遺伝子の maternal 産物が使い切られる胚発生後期に細胞質分裂異常が起き、そのために生じた多核細胞の死によって巨大な死細胞が作られたと考えられた。

本研究において *K08E3.6* 遺伝子を同定したのと同時期に、Michael Glotzer らが細胞質分裂異常を示す *cyk-4* 変異体の原因遺伝子としてこの遺伝子を同定した。別個の表現型に着目して独立に行った研究ではあるが、細胞質分裂異常については本研究においてもかなりの解析を行っていただけに、論文発表が彼らより遅れてしまったのは残念であった。

興味深い遺伝子が同定できた一方で、細胞死制御の根幹の理解という当初のねらいからは若干離れてしまったという感は否めない。今回の結果によって、「変異により面白い細胞死異常の表現型を示す遺伝子が必ずしも細胞死制御の中心的因子というわけではない」という、遺伝学の避けられないリスクを再認識することとなった。

#### (2) 細胞死と形態形成に異常を示す *cdl-1* 変異体の解析

*cdl-1*(Cell Death Lethal)変異体は、胚発生期に死細胞の起きる時期が遅延するとともに、体躯および咽頭前部の伸張不全という特徴的な形態形成異常を示し胚性致死となる。*cdl-1* 遺伝子を同定したところ、脊椎動物で見いだされていた Stem-loop binding protein (SLBP)遺伝子と高い相同性を示した。SLBP はコアヒストン(ヒストン H2A, H2B, H3, H4)mRNA の 3'非翻訳領域に保存された Stem-loop 構造に結合し、ヒストン mRNA の輸送・安定性・翻訳効率などに関与していると考えられている。胚発生後期で CDL-1 の機能が失われるとヒストンの発現低下により細胞死実行時の染色体凝縮が不全となり、そのため細胞死の進行が遅れると推測された。

コスミドクローンの導入による表現型の回復が困難だったため、*cdl-1* 遺伝子のクローニングに予想以上の時間を費やすことになってしまった。しかし、*cdl-1* 遺伝子の解析により、*C. elegans* の細胞死の素過程として染色体凝縮が重要であるとの示唆が得られたことは評価できると考えている。また、他生物の SLBP は主に生化学的な解析がなされているが、その生理的機能についてはほとんど未知であった。*cdl-1* 変異体の解析から、SLBP が発生に必須であることが明確に示せたことも重要な知見である。

### (3) 一般的な自己評価

さきがけ研究の期間中に、細胞死異常を示す変異体の原因遺伝子の同定を複数行うことを目指していたので、*tDf6* と *cdl-1* の 2 つの原因遺伝子を同定できたことは最低限の目標を達成したといえる。しかし、残念ながら、私をもっとも興味を持っている「細胞が生きるか死ぬかという運命決定」に関与する遺伝子の同定には至らなかった。残りの染色体欠失変異体のなかに、そのような遺伝子欠損が含まれている可能性も大きいので、今後もこれらの変異体の解析を進めていく予定である。ただし、原因遺伝子の同定は時間と労力のかかる作業なので、どの変異体を優先的に解析するかという選択が重要となってくる。そのためには、細胞系譜の解析などにより各変異体の理解をさらに深めることが必須である。

本研究では順遺伝学的手法により新規細胞死関連遺伝子の同定を行ったが、遺伝子クローニングにかなりの時間を費やさざるを得なかった。そこで、今後は、並行して逆遺伝学的手法を用いることも検討している。具体的には、最近われわれのグループで確立した、RNAi-by-soaking 法による high-throughput な遺伝子機能破壊法を用いて、細胞死関連遺伝子の探索を行う計画である。

この 3 年間で獲得できた多くの技術的なノウハウを生かして、今後も発生における細胞死制御の理解を深めていきたいと考えている。

### 5. 領域総括の見解

多細胞生物の形態形成において重要な役割を果たすプログラム細胞死についての制御機構を解明するために、線虫の染色体欠失変異体より巨大細胞死を示す *tDf6* 変異と、胚発生後期に死細胞数が増加し体躯と咽頭前部の伸長不全の表現型を示す *cdl-1* 変異について集中的な解析を行い、それぞれの原因遺伝子を同定している。この研究進捗度は本人にとっては不満足のようなものであるが、線虫における細胞死機構の一端を確かに把握したことは評価される。さらにその反省に立って新しい戦略と実験法の開発に進んでおり、今後の発展を期待したい。

### 6. 主な論文

Ohmachi, M., Sugimoto, A., Iino, Y., and Yamamoto, M. (1999). *kel-1*, a novel Kelch-related gene in *Caenorhabditis elegans*, is expressed in pharyngeal gland cells and is required for the feeding process. *Genes Cells* 4, 325–337.

Karashima, T., Sugimoto, A., and Yamamoto, M. (2000). *Caenorhabditis elegans* homologue of the human azoospermia factor DAZ is required for oogenesis but not for spermatogenesis. *Development* 127, 1069–1079.

Maeda, I., Kohara, Y., Yamamoto, M., and Sugimoto, A. (2001). Large-scale analysis of gene function in *Caenorhabditis elegans* by high-throughput RNAi. *Current Biology*, *in press*.

Sugimoto, A., Kusano, A., Hozak, R. R., Derry, W. B., Zhu, J., and Rothman, J. H. (2001). Genomic regions required for programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*: cell death can be uncoupled from nuclear proliferation. *Genetics*, *in press*.

### 7. その他

招待講演 国内 9 件、海外 1 件