細胞死スイッチ担当遺伝子のゲノムワイドスクリーニング

●三浦正幸

理化学研究所脳科学総合研究センター・細胞修復機構

〈研究の目的と進め方〉

生体内で細胞死は様々な発生ステージ組織で観察される他に、成体では疾患との関わりにおいても観察される。このように細胞死が起こる状況は多様化していることから、細胞死スイッチを担当する遺伝子も多く存在することが考えられる。本研究はこれらの細胞死スイッチに関与する遺伝子群のゲノムワイドなスクリーニングを目指し、ショウジョウバエを用いて、『異所発現トラップ法』により細胞死実行遺伝子の同定を行なう。

〈2002年度の研究の当初計画〉

- 1) 5000のGS系統のスクリーニングを終え、得られたGS系統の解析から神経細胞死スイッチ遺伝子を特定する。
- 2) トランスジェニックショウジョウバエやRNAiを用いて生体での遺伝子機能を明らかにしていく。
- 3) 得られた遺伝子のドミナントモディファイアースクリーニングを行い、細胞死シグナルカスケードの構成因子を明らかにする。

〈2002年度の成果〉

- 1) GS系統と、複眼特異的にGAL4タンパク質を発現する系統（GAL4系統）とを交配させ、複眼が縮小する系統（Regg: Reduced-Eye Generator with a GMR-GAL4 driver）を6つ同定した。そのうちの1つが、無脊椎動物で初めて同定されたTNF familyに属するリガンドであった（Eigerと命名）。
- 2) Eigerによる細胞死はJNK依存的・カスパーゼ非依存的な新規細胞死経路を活性化して実行されることが示された。
- 3) Eigerをショウジョウバエ複眼にて強制発現させると複眼の縮小がおこる。この表現型を軽減させる染色体領域を染色体欠損系統との交配によって同定した。その中に、TNF受容体モチーフがある遺伝子を見つけwengenと命名した。wengen inverted repeat RNAを複眼にて発現させるとEigerによる複眼縮小が回復した。よってwengenはeiger受容体を構成していることが示唆された。
- 4) ショウジョウバエで最初に同定された細胞死誘導遺伝子reaperを複眼にて強制発現させると複眼の縮小がおこる。この表現型を軽減させる染色体領域を染色体欠損系統との交配によって同定した。欠損領域に含まれるP-element挿入変異をスクリーニングしたところdtraf-1とdask-1というJNKカスケードを活性化する遺伝子が同定された。Dtraf-1の分解がDiap-1とReaperによって制御されJNKを活性化するメカニズムを明らかにした。

〈国内外の成果の位置づけ〉

Eiger/Wengenは無脊椎動物で初めて発見されたTNF/TNFRであり、その成果は細胞死研究者によって注目された。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

GS系統の同定から原因遺伝子の特定までいっていない遺

伝子が多く残されている。その原因として必ずしもGS vector 挿入部位に近い遺伝子のみがGal4依存的に強制発現させられるとは限らないからである。

〈今後の課題〉

残されたGS 系統からの遺伝子の特定を急ぎ、得られた遺伝子に関しては遺伝子の生理機能を明らかにしていく。

〈成果公表リスト〉

1. 0303201553
Kuranaga, E., Kanuka, H., Igaki, T., Sawamoto, K., Ichijo, H., Okano, H., and Miura, M, Reaper-mediated inhibition of DIAP1-induced Drosophila TRAF1 degradation leads to JNK activation. *Nature Cell Biol.*, 4, 705-710 (2002)
2. 0303201600
Takeyama, K., Ito, S., Yamamoto, A., Tanimoto, H., Furutani, T., Kanuka, H., Miura, M., Tabata, T., and Kato, S, Androgen-dependent neurodegeneration by polyglutamine-expanded human androgen receptor in Drosophila, *Neuron*, 35, 855-864 (2002)
3. 0303201606
Kanda, H., Igaki, T., Kanuka, H., Yagi, T., and Miura, M.: Wengen, a member of the Drosophila TNF receptor superfamily, is required for Eiger signaling, *J. Biol. Chem.*, 277, 28372-28375 (2002) (accelerated publication)
4. 0303201613
Igaki, T., Kanda, H., Yamamoto-Goto, Y., Kanuka, H., Kuranaga, E., Aigaki, T., and Miura, M.: Eiger, a TNF superfamily ligand that triggers the Drosophila JNK pathway, *EMBO J.*, 21, 3009-3018 (2002)
5. 0303201652
Igaki, T., Yamamoto-Goto, Y., Tokushige, N., Kanda, H., Miura, M.: Downregulation of DIAP1 triggers a novel Drosophila cell death pathway mediated by DARK and DRONC, *J. Biol. Chem.*, 277, 23103-23106 (2002) (accelerated publication)