

細胞死研究の最前線

-制御されたネクローシス（ネクロプトーシス）-

東邦大学医学部生化学講座 中野 裕康

Tumor necrosis factor(TNF) α は腫瘍壊死因子と日本語に訳されるが、皮肉なことに TNF α により誘導されるネクローシスの分子メカニズムの大枠が解明されたのはごく最近のことである。長らくアポトーシスは計画的細胞死（プログラム細胞死）あるいは制御された細胞死と同義語のように扱われてきたのとは対照的に、ネクローシスは偶発的な細胞死（アクシデンタルセルデス）と考えられてきた。1998年にベルギーの Vandenabeele らは L929 とよばれるマウス線維肉腫を TNF α で処理するとネクローシス様の形態で死ぬ事、またその細胞死は予想外な事にカスパーゼ阻害剤で逆に促進されることを報告した (Vercammen et al., 1998)。しかし、当時の多くの研究者は TNF α でネクローシスが誘導されるのは、L929 のような特殊な腫瘍細胞だけであり、制御された細胞死の中にカスパーゼ非依存性のネクローシスがあるとは考えていなかった。事実ヒト子宮頸がん由来の HeLa 細胞は、TNF α +タンパク質合成阻害剤で典型的なアポトーシスが誘導され、その細胞死はカスパーゼ阻害剤で完全にブロックされる。一方 2000年にスイスの Tschopp らは Jurkat 細胞の変異株を用いた研究からアポトーシスが抑制された細胞では RIPK1 と呼ばれる NF- κ B の活性化に関与するキナーゼ依存性にネクローシスが誘導されるという論文を報告したが (Holler et al., 2000)、この話もどれだけ普遍性のある現象なのかについて疑問を抱かれていた。

TNF α により誘導されるネクローシスの研究はその後しばらくの間大きな進捗はみせなかったが、2005年に米国の Yuan らがネクロスタチン-1 という化合物が Jurkat 細胞で見られる TNF α 依存性のネクローシスを抑制することを見出し (Degterev et al., 2005)、その後ネクロスタチン1の標的が RIPK1 であることが判明し (Degterev et al., 2008)、この RIPK1 \rightarrow ネクローシス（以下ネクロプトーシスと略す）という経路が一躍注目を浴びることになった。さらに米国の Wang らが 2009年に TNF α 依存性のネクロプトーシスの実行因子の一つが RIPK3 と呼ばれる RIPK1 と相同性を有するキナーゼであることを報告し (He et al., 2009)、TNF α からネクロプトーシスに至る経路に進歩がもたらされ

た。現在では RIPK1→RIPK3→MLKL へと連続的にリン酸化が誘導され、リン酸化された MLKL (シュードキナーゼドメインを持つアダプター分子) が細胞膜で孔 (ポア) を形成することによりネクロプトーシスが実行されるというモデルが提唱されている (Vanden Berghe et al., 2014; Pasparakis and Vandenabeele, 2015)。興味深いことに前述したアポトーシスしか誘導されない HeLa 細胞は RIPK3 の発現が欠損していることがその後の解析により明らかとなった。

一方で TNF 研究に従事する研究者達の長年の大きな謎の一つは、1998～2000 年に報告された *Fadd*, カスパーゼ 8、*cFlip* などの外因性アポトーシス経路に関与する遺伝子の欠損マウスがなぜ胎生 10.5 日で致死となるかについてであった (Yeh et al., 2000; Varfolomeev et al., 1998; Zhang et al., 1998)。この謎はネクロプトーシスに関与する *Ripk1* あるいは *Ripk3* の欠損マウスとこれらの遺伝子欠損マウスとを交配すると胎生致死の表現型がレスキューされることで明らかにされ、2011 年に Nature に同時に 3 報の論文が掲載された (Kaiser et al., 2011; Oberst et al., 2011; Zhang et al., 2011)。つまり、外因性アポトーシス経路に関与するこれらの遺伝子の欠損により発生過程で生じるであろうカスパーゼ 8 の活性化 (これは推測であり本当に活性化されているかは不明) が阻害され、その結果 RIPK1/RIPK3 依存性のネクロプトーシスが誘導され胎生致死となることが遺伝学的に証明された。現在ではネクロプトーシスは、虚血再還流障害、ある種のウイルス感染の排除、薬剤誘導性膵炎の発症、古典的なインフラマソームの活性化などの様々な病態に関与していることが報告されている (Vanden Berghe et al., 2014; Pasparakis and Vandenabeele, 2015)。

このように制御された細胞死はアポトーシスだけではなく、ネクロプトーシス、ピロトーシス (須田の稿参照)、フェロトーシス (Dixon and Stockwell, 2014) (今回は字数の関係で説明割愛) などの非アポトーシス細胞死が明らかとなっており、今後はそれぞれの非アポトーシス細胞死の詳細な分子メカニズムの解明と並行して、非アポトーシス細胞死がどのような病態に関与するかを明らかにすることが重要であろう。それらの解析を通してある病態の治療にはその病態に関与する細胞死を選択的に抑制するような新たな治療法の開発が期待できると考えられる。今回採択された新学術領域「ダイニングコード」の領域内外の共同研究を通して、非アポトーシス細胞死の研究が日本国内において飛躍的に進むことが期待される。

TNF α induces both apoptosis and programmed necrosis

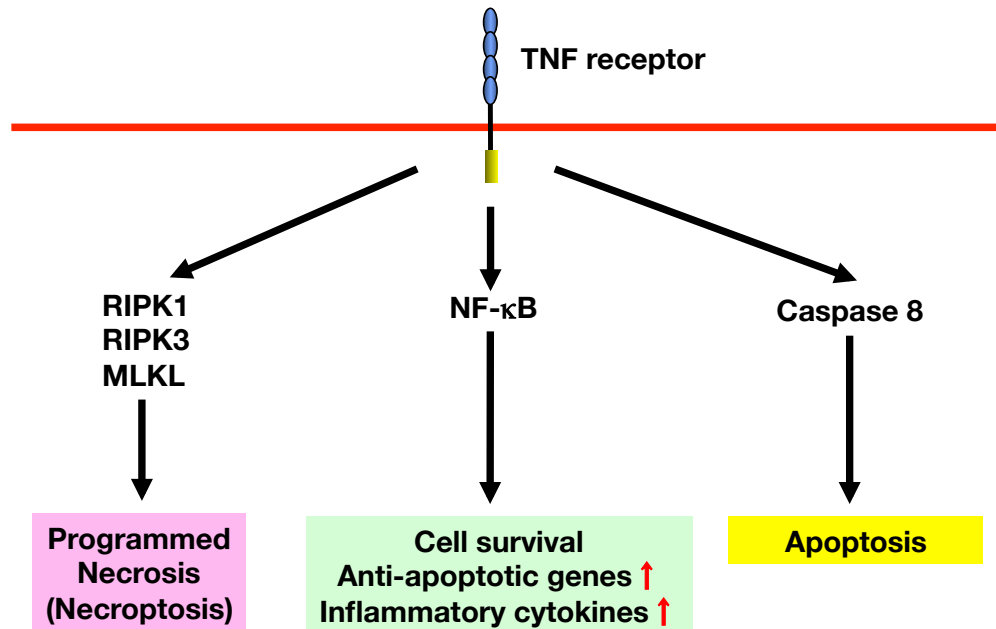


図 1. TNF α はアポトーシスとネクロプトーシスを誘導する。

参考文献

1. Vercammen, D., R. Beyaert, G. Denecker, V. Goossens, G. Van Loo, W. Declercq, J. Grooten, W. Fiers, and P. Vandenabeele. 1998. Inhibition of caspases increases the sensitivity of L929 cells to necrosis mediated by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 187:1477-1485.
2. Holler, N., R. Zaru, O. Micheau, M. Thome, A. Attinger, S. Valitutti, J.L. Bodmer, P. Schneider, B. Seed, and J. Tschopp. 2000. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nat Immunol* 1:489-495.
3. Degterev, A., Z. Huang, M. Boyce, Y. Li, P. Jagtap, N. Mizushima, G.D. Cuny, T.J. Mitchison, M.A. Moskowitz, and J. Yuan. 2005. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol* 1:112-119.
4. Degterev, A., J. Hitomi, M. Germscheid, I.L. Ch'en, O. Korkina, X.

- Teng, D. Abbott, G.D. Cuny, C. Yuan, G. Wagner, S.M. Hedrick, S.A. Gerber, A. Lugovskoy, and J. Yuan. 2008. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins. *Nat Chem Biol* 4:313-321.
5. He, S., L. Wang, L. Miao, T. Wang, F. Du, L. Zhao, and X. Wang. 2009. Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF-alpha. *Cell* 137:1100-1111.
 6. Vanden Berghe, T., A. Linkermann, S. Jouan-Lanhouet, H. Walczak, and P. Vandenabeele. 2014. Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15:135-147.
 7. Pasparakis, M., and P. Vandenabeele. 2015. Necroptosis and its role in inflammation. *Nature* 517:311-320.
 8. Yeh, W.C., A. Itie, A.J. Elia, M. Ng, H.B. Shu, A. Wakeham, C. Mirtsos, N. Suzuki, M. Bonnard, D.V. Goeddel, and T.W. Mak. 2000. Requirement for Casper (c-FLIP) in regulation of death receptor-induced apoptosis and embryonic development. *Immunity* 12:633-642.
 9. Varfolomeev, E.E., M. Schuchmann, V. Luria, N. Chiannikulchai, J.S. Beckmann, I.L. Mett, D. Rebrikov, V.M. Brodianski, O.C. Kemper, O. Kollet, T. Lapidot, D. Soffer, T. Sobe, K.B. Avraham, T. Goncharov, H. Holtmann, P. Lonai, and D. Wallach. 1998. Targeted disruption of the mouse Caspase 8 gene ablates cell death induction by the TNF receptors, Fas/Apo1, and DR3 and is lethal prenatally. *Immunity* 9:267-276.
 10. Zhang, J., D. Cado, A. Chen, N.H. Kabra, and A. Winoto. 1998. Fas-mediated apoptosis and activation-induced T-cell proliferation are defective in mice lacking FADD/Mort1. *Nature* 392:296-300.
 11. Kaiser, W.J., J.W. Upton, A.B. Long, D. Livingston-Rosanoff, L.P. Daley-Bauer, R. Hakem, T. Caspary, and E.S. Mocarski. 2011. RIP3 mediates the embryonic lethality of caspase-8-deficient mice. *Nature* 471:368-372.
 12. Oberst, A., C.P. Dillon, R. Weinlich, L.L. McCormick, P. Fitzgerald, C.

- Pop, R. Hakem, G.S. Salvesen, and D.R. Green. 2011. Catalytic activity of the caspase-8-FLIP(L) complex inhibits RIPK3-dependent necrosis. *Nature* 471:363-367.
13. Zhang, H., X. Zhou, T. McQuade, J. Li, F.K. Chan, and J. Zhang. 2011. Functional complementation between FADD and RIP1 in embryos and lymphocytes. *Nature* 471:373-376.
14. Dixon, S.J., and B.R. Stockwell. 2014. The role of iron and reactive oxygen species in cell death. *Nat Chem Biol* 10:9-17.